

Oxidační stabilita pupalkového oleje

Markéta Březková



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Markéta Březková**
Osobní číslo: **T22081**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Oxidační stabilita pupalkového oleje**

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

Vypracujte literární rešerši na zadané téma.

Vysvětlete oxidační stabilitu rostlinných olejů a diskutujte možnosti, jak lze oxidační stabilitu olejů zvýšit.

Věnujte se rovněž vlastnostem pupalkového oleje a jeho využití v kosmetice.

Praktická část:

V praktické části charakterizujte složení pupalkového oleje a stanovte jeho oxidační stabilitu.

Následně vyberte vhodné rostlinné extrakty s antioxidačním účinkem a stanovte jejich vliv na oxidační stabilitu oleje.

Získané výsledky přehledně zpracujte a formulujte závěry práce.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Blasi, F.; Cossignani, L. An Overview of Natural Extracts with Antioxidant Activity for the Improvement of the Oxidative Stability and Shelf Life of Edible Oils. *Processes* **2020**, *8*, 956.
- [2] Fadda, A.; Sanna, D.; Sakar, E.H.; Gharby, S.; Mulas, M.; Medda, S.; Yesilcubuk, N.S.; Karaca, A.C.; Gozukirmizi, C.K.; Lucarini, M.; et al. Innovative and Sustainable Technologies to Enhance the Oxidative Stability of Vegetable Oils. *Sustainability* **2022**, *14*, 849.
- [3] Blaak J, Staib P. An updated review on efficacy and benefits of sweet almond, evening primrose and jojoba oils in skin care applications. *Int J Cosmet Sci.* 2022; 44: 1–9.
- [4] Taghvaei, M.; Jafari, S. M.; Mahoonak, A. S.; Nikoo, A. M.; Rahmadian, N.; Hajitabar, J.; Meshginfar, N. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *LWT – Food Science and Technology* **2014**, *56*, 124–130.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- 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 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Rostlinné oleje představují významnou složku v kosmetickém průmyslu, a to díky jedinečnému složení, které je bohaté na bioaktivní látky. Vysoký obsah nenasycených mastných kyselin však tyto oleje činí náchylnými k oxidaci a dalším degradačním procesům. Tato bakalářská práce se zaměřuje na sledování oxidační stability pupalkového oleje s přidanými přírodními antioxidanty, konkrétně s rozmarýnovým extraktem a vitamínem E. V teoretické části je popsána problematika oxidační stability rostlinných olejů, způsoby jejího prodloužení, metody stanovení oxidační stability. Následně je podrobněji popsán pupalkový olej, jeho vlastnosti, využití v kosmetice a účinky na kůži. Praktická část práce je zaměřena na experimentální stanovení oxidační stability pupalkového oleje. Složení mastných kyselin bylo určeno pomocí plynové chromatografie. Průběh oxidace byl sledován jodometrickou titrací, která umožnila stanovit peroxidové číslo. Přítomnost primárních a sekundárních oxidačních produktů byla hodnocena pomocí UV/Vis spektrofotometrie stanovením konjugovaných dienů a trienů. Oxidační stabilita pupalkového oleje byla dále testovaná pomocí přístroje Rancimat, který simuluje zrychlené stárnutí oleje.

Klíčová slova: pupalkový olej, antioxidant, oxidační stabilita, peroxidové číslo

ABSTRACT

Vegetable oils are an important ingredient in the cosmetic industry due to their unique composition, which is rich in bioactive substances. However, the high content of unsaturated fatty acids makes these oils susceptible to oxidation and other degradation processes. This bachelor thesis focuses on monitoring the oxidative stability of evening primrose oil with added natural antioxidants, specifically rosemary extract and vitamin E. The theoretical part describes the problems of oxidative stability of vegetable oils, methods of its prolongation, methods of determination of oxidative stability. Subsequently, evening primrose oil, its properties, use in cosmetics and effects on the skin are described in detail. The practical part of the work is focused on the experimental determination of the oxidative stability of evening primrose oil. The fatty acid composition was determined by gas chromatography. The course of oxidation was monitored by iodometric titration, which allowed to determine the peroxide value. The presence of primary and secondary oxidation products was evaluated by UV/Vis spectrophotometry by determining conjugated dienes and trienes. The oxidative stability of the evening primrose oil was further tested using the Rancimat apparatus, which simulates accelerated ageing of the oil.

Keywords: evening primrose oil, antioxidant, oxidative stability, peroxide value

Ráda bych poděkovala vedoucí své bakalářské práce Ing. Lucii Urbánkové, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný přístup, trpělivost a za všechny čas, který mi věnovala. Také bych ráda poděkovala Ing. Markétě Kudláčkové, Ph.D. za pomoc v laboratoři.

Dále bych chtěla poděkovat firmě Nobilis Tilia za poskytnutí vzorků pupalkového oleje, který byl použit v experimentální části práce.

OBSAH

ÚVOD.....	13
I TEORETICKÁ ČÁST.....	14
1 OXIDAČNÍ STABILITA ROSTLINNÝCH OLEJŮ	15
1.1 AUTOOXIDACE A PRIMÁRNÍ OXIDAČNÍ PRODUKTY	15
1.2 SEKUNDÁRNÍ OXIDAČNÍ PRODUKTY	16
1.3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ OXIDAČNÍ STABILITU OLEJE	16
2 ZLEPŠENÍ OXIDAČNÍ STABILITY OLEJŮ	18
2.1 MÍCHÁNÍ OLEJŮ.....	18
2.2 ENKAPSULACE	18
2.3 ANTIOXIDANTY	19
2.3.1 Vitamín E	20
2.3.2 Karotenoidy.....	21
2.3.3 Rozmarýnový extrakt.....	22
2.3.4 Extrakt z kávových slupek	23
3 METODY STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY.....	24
3.1 MĚŘENÍ ABSORBCE KYSLÍKU	24
3.2 MĚŘENÍ PRIMÁRNÍCH OXIDAČNÍCH PRODUKTŮ	24
3.2.1 Peroxidové číslo – jodometrická titrace.....	24
3.2.2 Rancimat	25
3.2.3 Konjugované dieny a trieny	26
3.2.4 Komplexy iontů železa.....	26
3.3 MĚŘENÍ SEKUNDÁRNÍCH OXIDAČNÍCH PRODUKTŮ	26
3.3.1 p – Anisidinové číslo.....	26
3.3.2 Plynová chromatografie	27
4 PUPALKOVÝ OLEJ	28
4.1 VYUŽITÍ V KOSMETICE A PÉČI O PLEŤ	29
4.1.1 Účinky na kůži	29
5 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	31
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	33
6 CÍL PRÁCE	34
7 MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	35
7.1 MATERIÁL.....	35
7.2 CHEMIKÁLIE.....	35
7.3 PŘÍSTROJE A POMŮCKY	36
8 METODIKA	37
8.1 PŘÍPRAVA METHYLESTERŮ PUPALKOVÉHO OLEJE	37

8.2	PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE	37
8.3.1	Příprava vzorků pro stanovení peroxidového čísla	38
8.3.2	Příprava nasyceného roztoku jodidu draselného	38
8.3.3	Příprava roztoku thiosíranu sodného	39
8.3.4	Stanovení přesné koncentrace roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	39
8.3.5	Peroxidové číslo	39
8.4	STANOVENÍ KONJUGOVANÝCH DIENOVÝCH A TRIENOVÝCH MASTNÝCH Kyselín UV/VIS SPEKTROFOTOMETRIÍ	40
8.4.1	Stanovení	40
8.5	RANCIMAT	41
9	VÝSLEDKY A DISKUZE	42
9.1	PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE – ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN PUPALKOVÉHO OLEJE	42
9.2	ANALÝZA VÝSLEDKŮ STANOVENÍ PEROXIDOVÉHO ČÍSLA	45
9.3	STANOVENÍ KONJUGOVANÝCH DIENŮ A TRIENŮ	48
9.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY PŘÍSTROJEM RANCIMAT	53
	ZÁVĚR	56
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	57
	SEZNAM OBRÁZKŮ	61
	SEZNAM TABULEK	62
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	63

ÚVOD

Tuky a oleje provázejí lidstvo od nepaměti, ať už v oblasti výživy, péče o tělo nebo v kuchyni. Dnes již víme, že jejich základní chemické složení tvoří estery mastných kyselin a glycerolu, to je zásadní pro pochopení jejich vlastností, zejména při skladování a technologickém zpracování.

Získávají se lisováním nebo extrakcí ze semen či plodů různých rostlin. Jejich konečné složení je ovlivněno nejen druhem suroviny, ale také podmínkami pěstování a způsobem zpracování. Kromě triacylglycerolů obsahují i další biologicky aktivní látky, například tokoferoly, karotenoidy nebo fytosteroly, které pozitivně ovlivňují jak výživovou hodnotu, tak i stabilitu oleje. Mnohé z těchto látek zároveň působí jako přírodní antioxidanty.

Jedním z hlavních problémů je jejich náchylnost k oxidaci. Oxidace je přirozený proces, který postupně snižuje kvalitu oleje, zhoršuje jeho senzorické vlastnosti a snižuje nutriční hodnotu. K oxidaci dochází zejména působením kyslíku, tepla, světla nebo přítomnosti kovových iontů. Významnou roli zde hraje obsah nenasycených mastných kyselin, které jsou vůči oxidaci výrazně citlivější než nasycené.

Pro hodnocení oxidační stability olejů se využívá řada analytických metod. Mezi tradiční metodu patří stanovení peroxidového čísla. Moderní přístupy zahrnují například spektrofotometrii nebo metodu urychlené oxidace pomocí přístroje Rancimat, který umožňuje simulovat stárnutí oleje za definovaných podmínek a porovnávat jeho stabilitu v kratším časovém horizontu.

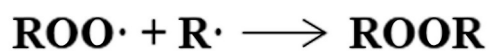
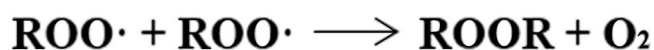
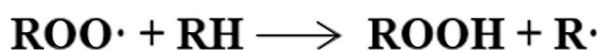
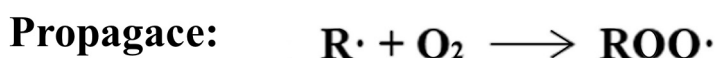
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OXIDAČNÍ STABILITA ROSTLINNÝCH OLEJŮ

Oxidační stabilita rostlinných olejů, tedy jejich schopnost odolávat procesům spojených s oxidací, je důležitým faktorem pro jejich využití v potravinářství, kosmetice i farmacii. Významnou roli přitom hraje složení mastných kyselin. Nasycené mastné kyseliny jsou vůči oxidaci velmi odolné, naopak nenasycené jsou náchylnější k tomuto typu degradace. Platí, že čím více dvojných vazeb mastná kyselina obsahuje, tím je náchylnější k oxidaci. Kromě složení ovlivňují stabilitu také vnější faktory, například teplota, světlo, vlhkost a přítomnost kyslíku. Tyto podmínky oxidaci urychlují a zhoršují kvalitu oleje, což se projevuje žlutým zápachem a změnou barvy [1]. Mezi hlavní příčiny oxidace lipidů patří autooxidace (peroxidace), termooxidace a fotooxidace.

1.1 Autooxidace a primární oxidační produkty

Autooxidace nenasycených mastných kyselin probíhá prostřednictvím mechanismu volných radikálů. Rychlost oxidace závisí na stupni nenasycenosti mastných kyselin a zvyšuje se s rostoucím počtem dvojných vazeb. Tento mechanismus zahrnuje napadení kyslíkem na allylové pozici, což vede k tvorbě hydroperoxidů. Hydroperoxidy jsou primárními produkty oxidace a mohou se dále rozkládat na sekundární oxidační produkty. Proces autooxidace lipidů se skládá ze tří hlavních fází: iniciace, propagace a terminace (Obrázek 1) [2].



Obrázek 1 - Mechanismus autooxidace

(zdroj [3])

V první fázi, nazývané iniciace, jsou lipidy vystaveny iniciátoru, jako je teplo, světlo nebo kovové ionty. Tyto faktory způsobí odtržení atomu vodíku z dvojné vazby v molekule lipidu, tím vzniká alkylový radikál ($R\bullet$), který je nezbytný pro zahájení oxidačního procesu. V následující fázi, propagaci, alkylový radikál reaguje s molekulárním kyslíkem (O_2), čímž vzniká peroxylový radikál ($ROO\bullet$). Tento peroxylový radikál dále reaguje s vodíkem z jiných molekul lipidů a vytváří hydroperoxidy ($ROOH$) a nové alkylové radikály ($R\bullet$), to vede k šíření oxidačního procesu a umožnění jeho dalšího průběhu. V poslední fázi, terminaci, dochází ke kombinaci volných radikálů, například dvou alkylových radikálů ($R\bullet$) nebo dvou peroxylových radikálů ($ROO\bullet$). V tu chvíli se oxidační reakce zastaví a proces oxidace končí [2].

1.2 Sekundární oxidační produkty

Sekundární oxidační produkty vznikají, když se hydroperoxidy rozkládají a přeměňují na složitější sloučeniny, které mohou zahrnovat aldehydy, ketony, kyseliny a cyklické sloučeniny. Tyto produkty mohou mít významný vliv na chuť, vůni či celkovou kvalitu potravin a olejů. Mnoho z těchto sekundárních produktů, jako jsou aldehydy (např. hexanal, pentanal), mají charakteristický nepříjemný zápach a jsou silnými indikátory pokročilé oxidace. V potravinářství jsou sekundární produkty oxidace často sledovány jako ukazatele zhoršení kvality potravin a jejich nutriční hodnoty [4].

1.3 Faktory ovlivňující oxidační stabilitu oleje

Mezi hlavní faktory, které ovlivňují oxidační stabilitu oleje, patří environmentální faktory, profil mastných kyselin, rozdělení do jednotlivých tříd lipidů a přítomnost minoritních složek [5]. V následujících oddílech budou tyto kategorie podrobněji rozebrány.

Rychlost oxidace lipidů není určena pouze jejich chemickou povahou, ale i podmínkami prostředí, kterými jsou ovlivněny během zpracování a skladování. Během komerčního získávání tuků a olejů, kdy probíhá extrakce a rafinace, mohou být lipidy vystaveny, právě těm faktorům (vysoká teplota, světlo atd.), které mohou negativně ovlivnit oxidační stabilitu. Kromě toho může být proces rafinace zodpovědný za změny v minoritních složkách, které jsou klíčové pro stabilitu oleje. Oxidační změny mohou nastat i během skladování olejů, jejich balení nebo zpracování potravin, jako je smažení či pražení. Všechny tyto faktory přispívají k degradaci lipidů [5].

Mastné kyseliny a jejich složení určují rychlost a rozsah oxidace lipidů. Klíčovým faktorem je stupeň jejich nenasycení, který lze vyjádřit například indexem methylenových můstků (MBI), tj. průměrným počtem bisallylových methylenových pozic. Vyšší hodnota MBI, typická pro polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), zvyšuje náchylnost lipidů k oxidaci, a to vede k rychlejšímu vzniku oxidačních produktů. Oleje s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin, kterými jsou některé rostlinné oleje nebo oleje pocházející z mořských zdrojů (např. oleje z řas nebo ryb) vykazují nižší oxidační stabilitu. Nenasycené mastné kyseliny, jakožto hlavní reaktanty, během oxidace podléhají změnám složení, které odrážejí míru probíhající oxidace [5].

Různé třídy lipidů se liší svou oxidační stabilitou. Volné mastné kyseliny oxidují rychleji než jejich estery glycerolu, což je pravděpodobně způsobeno jejich zvýšenou schopností tvořit komplexy se stopovými kovy. Fosfolipidy vykazují nižší oxidační stabilitu než triacylglyceroly, a to může přispívat například ke zhoršení chuti masa po ohřevu. Nižší stabilitu fosfolipidů lze přičíst zejména jejich vyššímu obsahu polynenasycených mastných kyselin, které jsou náchylnější k oxidaci. V rámci fosfolipidové třídy se oxidační stabilita liší v závislosti na složení mastných kyselin a charakteru polárních skupin [5].

Minoritní složky v tucích a olejích ovlivňují jejich oxidační stabilitu jak pozitivně, tak negativně. Fosfolipidy například působí synergicky s lipofilními antioxidanty, zejména s vitamínem E, takto se zvyšuje celková antioxidační účinnost. Karotenoidy, žlutočervené pigmenty tvořené nenasycenými tetraterpeny a jejich kyslíkatými deriváty, vykazují antioxidační aktivitu a přispívají ke stabilitě surových olejů, ve kterých jsou zachovány i po rafinaci. Fenolické sloučeniny, jako jsou oleuropein, ligstrosid, tyrosol, hydroxytyrosol a lignany, patří mezi významné přírodní antioxidanty a jsou hojně zastoupeny například v olivovém oleji. Na druhou stranu chlorofyly, které dodávají rostlinným produktům zelenou barvu, ve tmě fungují jako antioxidanty, avšak při vystavení světlu se chovají jako fotosenzitizéry a katalyzují fotooxidaci lipidů. Oxidační stabilitu dále ovlivňují i nelipidové složky, například volné aminokyseliny, peptidy a produkty Maillardovy reakce, které mohou stabilitu zvyšovat, zatímco stopové kovy, některé enzymy a hemové sloučeniny působí jako katalyzátory oxidačních reakcí. Kvalitativní a kvantitativní kontrola těchto složek je proto nezbytná pro zajištění stability a kvality výrobků založených na lipidech [5].

2 ZLEPŠENÍ OXIDAČNÍ STABILITY OLEJŮ

Jak již bylo popsáno výše, rostlinné oleje jsou během skladování, manipulace i tepelné úpravy vystaveny riziku oxidace lipidů, což vede k jejich degradaci. Během oxidace lipidů mohou vznikat vedlejší produkty, jako jsou reaktivní karbonylové sloučeniny, které za určitých podmínek přispívají k tvorbě potenciálně škodlivých konečných produktů pokročilé oxidace lipidů. Tento proces je ovlivněn chemickým složením oleje, jako je stupeň nenasycení mastných kyselin, přítomnost antioxidantů nebo stopových kovů, a také vnějšími faktory, například teplotou či přítomností kyslíku, které oxidaci výrazně urychlují [6]. Existuje několik možností, jak lze zlepšit/prodloužit oxidační stabilitu olejů. Mezi různé postupy se řadí např. míchání olejů, enkapsulace nebo přidávání antioxidantů, které budou popsány v následujících kapitolách.

2.1 Míchání olejů

Míchání rostlinných olejů je efektivní metodou pro zlepšení jejich funkčních, nutričních a oxidačních vlastností. Jednotlivé oleje často vykazují určité nedostatky, a to například nízkou oxidační stabilitu nebo nevyvážený profil mastných kyselin, proto lze jejich kombinací vytvořit produkty s lepšími vlastnostmi. Sezamový a olivový olej mají nízký obsah kyseliny linolenové, zatímco řepkový a sójový olej obsahují více této esenciální mastné kyseliny, ale jsou méně stabilní vůči oxidaci. Kombinace různých olejů, například sezamového s palmovým olejem, přispívá ke zlepšení sensorických vlastností a zároveň zvyšuje odolnost vůči oxidaci. Míchání olejů navíc umožňuje optimalizovat poměr omega-6 a omega-3 mastných kyselin, zvýšit obsah antioxidantů a snížit riziko tvorby trans mastných kyselin [7].

Tato metoda představuje rovněž ekonomicky výhodnou metodu, jak zlepšit složení mastných kyselin a obohatit oleje o přírodní bioaktivní látky. Vhodnou kombinací olejů lze zlepšit jak nutriční hodnotu, tak i odolnost oleje vůči oxidaci. V praxi se tento přístup osvědčil jako účinný způsob výroby kvalitních a cenově dostupných produktů v potravinářském průmyslu [7].

2.2 Enkapsulace

Enkapsulace rostlinných olejů je účinnou strategií, jak zvýšit jejich oxidační stabilitu a prodloužit jejich trvanlivost. Tento proces spočívá v enkapsulaci olejů do ochranného materiálu, nejčastěji biopolymerního původu, jako jsou maltodextrin, arabská guma nebo

chitosan. Vzniklá vrstva chrání olej před nepříznivými vnějšími vlivy, zejména před kyslíkem, světlem a vysokými teplotami, tím zpomaluje nebo zcela brání jeho oxidaci. Kromě ochrany před degradací přináší enkapsulace i další výhody, umožňuje řízené uvolňování bioaktivních látek a usnadňuje jejich skladování i dávkování [8].

Mezi nejčastěji používané metody enkapsulace patří sušení rozprašováním (spray drying), které je velmi vhodné pro teplotně citlivé oleje díky krátkému času sušení a minimálnímu teplotnímu zatížení. Dalšími rozšířenými technikami jsou lyofilizace (freeze drying) a koacervace, jež umožňují zachovat vysoký obsah aktivních složek a dosáhnout vysoké enkapsulační účinnosti. Úspěch závisí na správné volbě obalových materiálů i optimalizaci technologických parametrů, jako je teplota, velikost částic nebo obsah vlhkosti. Nevhodné podmínky, například příliš vysoké teploty nebo nesprávně zvolená matrice, mohou vést k poklesu enkapsulační účinnosti a ke zvýšení rizika oxidace oleje. Tento inovativní přístup, výrazně zlepšuje stabilitu, vlastnosti rostlinných olejů, a rozšiřuje jejich využití v potravinářství, kosmetice i farmacii [8].

2.3 Antioxidanty

Použití antioxidantů patří mezi nejúčinnější, a zároveň ekonomicky výhodné metody zpomalování oxidace lipidů. Potravinářský průmysl využívá antioxidanty k prodloužení trvanlivosti produktů a zajištění jejich kvality. V oblasti zdravotnictví jsou antioxidanty ceněny pro svůj ochranný účinek proti oxidačnímu stresu, který je spojován s rozvojem řady chronických onemocnění. Antioxidanty lze definovat jako látky, které i při nízké koncentraci oproti oxidovatelnému substrátu významně zpomalují nebo inhibují jeho oxidaci. Mechanismus jejich účinku spočívá ve schopnosti stabilizovat reaktivní formy kyslíku a zabránit progresi oxidačních reakcí. Do této skupiny patří látky neutralizující volné radikály, zhášecí singletového kyslíku, deaktivátory peroxidů a dalších reaktivních forem kyslíku, chelatační činidla kovových iontů, inhibitory sekundárních oxidačních produktů a enzymů podporujících oxidaci. Podle mechanismu účinku se antioxidanty rozdělují na primární, ty přerušují oxidační řetězovou reakci eliminací volných radikálů, a sekundární, které snižují rychlost oxidace nepřímými mechanismy. Sekundární antioxidanty mohou působit například chelatací kovových iontů, které katalyzují oxidační reakce. Potlačením iniciátorů oxidace nebo regenerací primárních antioxidantů [5].

V posledních letech roste zájem o přírodní antioxidanty, které představují alternativu k těm syntetickým. Podle své funkce se dělí na primární a sekundární. Primární antioxidanty

bývají většinou přírodního původu. Patří sem vitaminy C a E, minerální látky jako selen, zinek, měď nebo mangan a také rostlinné antioxidanty známé jako fytoantioxidanty. Obecně platí, že minerální antioxidanty jsou kofaktory enzymatických antioxidantů [9].

Naopak sekundární antioxidanty jsou zpravidla syntetické. Jejich hlavní úlohou je zachycovat volné radikály a přerušit řetězové reakce, které by jinak mohli znehodnotit kosmetické přípravky. Mezi běžně používané syntetické antioxidanty patří například BHA (butylovaný hydroxyanisol), BHT (butylovaný hydroxytoluen) nebo propylgalát [9].

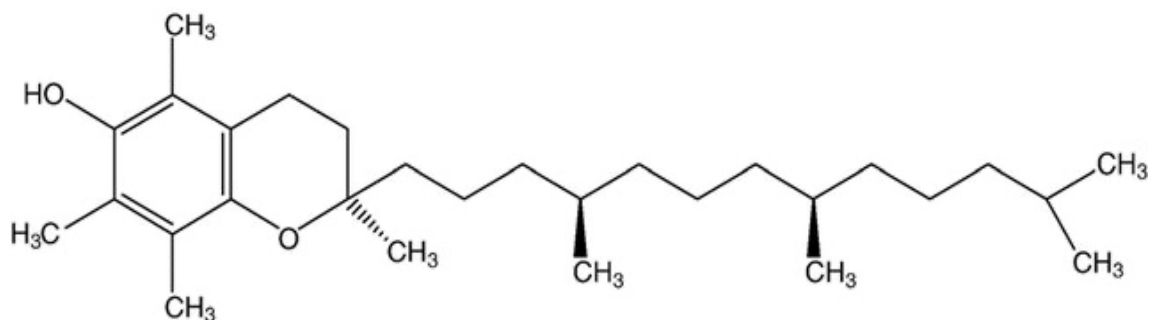
Přírodní antioxidanty, ať už ve formě čistých sloučenin nebo směsi látek z rostlinných extraktů, mají v kosmetice velký potenciál částečně či zcela nahradit syntetické látky. Obvykle se dělí na polyfenoly a terpeny. Rozdíl mezi nimi spočívá zejména v jejich molární hmotnosti, rozpustnosti a polaritě. Mezi polyfenoly patří například flavonoidy nebo stilbeny. Mezi terpeny zařazujeme karotenoidy, které působí jako zhášecí singletového kyslíku [9].

Aby byly antioxidanty v kosmetice účinné, musí zůstat chemicky stabilní, nesmí vstupovat do reakcí s jinými složkami přípravku a zároveň by se samy neměly přeměňovat na volné radikály. Při jejich výběru je důležité zohlednit, zda jde o látky rozpustné ve vodě, nebo v tucích, protože to ovlivňuje jejich využití v různých typech formulací. Ideálně by měl být výběr antioxidantů založen na jejich účinku a stabilitě, v praxi často rozhoduje také jejich cena, která může mít dopad na kvalitu výsledného produktu [9].

V této bakalářské práci se budu věnovat pouze vlastnostem přírodních antioxidantů.

2.3.1 Vitamín E

Vitamin E představuje jednu z nejvýznamnějších skupin antioxidantů rozpustných v tucích, které hrají klíčovou roli v ochraně buněk před oxidačním stresem. Tuto skupinu tvoří tokoferoly a tokotrienoly, přičemž biologicky nejaktivnější formou je α -tokoferol. Strukturně se molekula vitamínu E skládá z aromatického kruhu s hydroxylovou skupinou, která podmiňuje jeho antioxidační vlastnosti, a hydrofobního isoprenoidního postranního řetězce, který umožňuje jeho integraci do lipidových membrán. Struktura molekuly vitamínu E je na obrázku 2. Díky těmto vlastnostem vitamin E přispívá ke stabilizaci membránových struktur, chrání buňky před poškozením volnými radikály a podporuje jejich správnou funkci [5].



Obrázek 2 - Struktura α -tokoferolu (vitamin E)

(Zdroj [10])

Tokoferoly a tokotrienoly, známé jako tokoly, nacházejí uplatnění nejen v biologických systémech, ale také v potravinářství, kosmetice a farmacii, kde přispívají ke zvýšení oxidační stability lipidických složek. Tokoly fungují jako primární antioxidanty, které neutralizují peroxylové radikály a přerušují řetězové oxidační reakce, to vede ke vzniku stabilnějších tokoferoxylových radikálů [5].

Tokoferoly se vyskytují přirozeně hlavně v rostlinných olejích. Nejvyšší obsah byl zaznamenán v sójovém oleji a deodorizačních destilátech vznikajících při rafinaci. Tokotrienoly se oproti tokoferolům vyznačují vyšší antioxidační aktivitou. Díky nenasycenému isoprenoidnímu řetězci se lépe rozptylují a ukotvují v lipidových membránách. Najdeme je zejména v palmovém oleji, oleji z rýžových otrub, pšeničných klíčcích a v některých obilovinách a luštěninách [5].

Díky svým vlastnostem se tokoferoly a tokotrienoly široce využívají nejen v potravinářství, ale i v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. Uplatňují se jako přírodní antioxidanty, které zpomalují oxidaci lipidických složek, chrání aktivní látky před degradací a přispívají k delší stabilitě i vyšší kvalitě finálních produktů [5] [11].

2.3.2 Karotenoidy

Karotenoidy jsou lipofilní pigmenty žluté, oranžové a červené barvy, které se běžně vyskytují v zelených rostlinách, ovoci a zelenině. Jedná se o izoprenoidy (tetraterpeny) s 40 uhlíky a různorodou strukturou vykazující významné antioxidační vlastnosti. Tyto látky působí převážně jako sekundární antioxidanty tím, že zhášejí singletový kyslík. Mohou se uplatnit i jako primární antioxidanty zachycující volné radikály. Singletový kyslík je totiž vysoce reaktivní a jeho interakce s lipidy může vést k tvorbě volných radikálů, což urychluje oxidaci. V přítomnosti karotenoidů, například β -karotenu, dochází k přenosu energie ze singletového kyslíku na karotenoid, tím se snižuje reaktivita kyslíku a potlačí se tvorba

škodlivých radikálů. Tento proces přispívá k ochraně lipidových složek před peroxidací a degradací. To je klíčové pro udržení stability buněčných membrán i potravinářských produktů [12].

Všechny barevné druhy ovoce a zeleniny představují bohatý zdroj karotenoidů. Jejich vstřebávání je vzhledem k lipofilní povaze závislé na přítomnosti tuků či olejů v potravě. Různé formy karotenu se obzvláště vyskytují v tmavě zelených a žlutooranžových listech, přičemž tmavší odstíny často svědčí o vyšším obsahu těchto látek. Mezi karotenoidy je nejhojněji zastoupený β -karoten, který má nejvyšší aktivitu provitamínu A. Tento karotenoid se ve velkém množství nachází například u některých odrůd dýně, mrkve, ořechů, plodů šípku a také v palmě olejné. Palma olejná je považována za vynikající zdroj β -karotenu, protože nemá rostlinnou bariéru, to umožňuje jeho lepší vstřebávání [13].

Přestože mají karotenoidy významný potenciál jako antioxidanty, jejich praktické využití je omezeno nestabilitou vůči faktorům, jako jsou kyslík, teplo, světlo, pH či přítomnost kovů. Například β -karoten je známý svou nízkou rozpustností ve většině běžných rozpouštědel a vysokou reaktivitou, což komplikuje jeho aplikaci v potravinářství. Zlepšení stability karotenoidů by mohlo otevřít cestu k jejich širšímu využití v různých průmyslových odvětvích [12].

2.3.3 Rozmarýnový extrakt

Rozmarýnový extrakt nachází široké uplatnění zejména v potravinářství díky svým jedinečným vlastnostem. Mezi jeho hlavní aktivní složky patří kyselina karnosová, karnosol a kyselina rozmarýnová. Kyselina karnosová a karnosol zajišťují více než 90 % jeho antioxidační aktivity. Tyto látky jsou silnými inhibitory peroxidace lipidů, účinně vychytávají peroxidové radikály, a tím chrání lipidy před oxidací. Kromě ochrany lipidů vykazuje rozmarýnový extrakt další příznivé vlastnosti. Bylo prokázáno, že snižuje obsah polárních sloučenin a brání polymeraci olejů, díky tomu se nezvyšuje jejich viskozita. Při smažení potravin se rozmarýnový extrakt osvědčil jako prostředek, který nejen zpomaluje oxidaci, ale také významně snižuje tvorbu akrylamidu. Toxické sloučeniny vznikající reakcí oxidačních produktů lipidů při vysokých teplotách. Díky těmto vlastnostem je rozmarýnový extrakt cenným přídavkem při ochraně kvality a bezpečnosti produktů obsahujících rostlinné oleje [14][15].

2.3.4 Extrakt z kávových slupek

Kávové slupky, vznikají při suchém zpracování kávy, jsou bohatým zdrojem bioaktivních látek. Tento vedlejší produkt obsahuje slupku, dužinu, mucilaginózní vrstvu, pergamen a části stříbrné slupky. Kávové slupky jsou bohaté na kofein, třísloviny a další bioaktivní sloučeniny. Mají vysoký obsah polyfenolů, jako jsou chlorogenové kyseliny, flavonoidy a další fenolické látky s výraznými antioxidačními účinky. Tyto vlastnosti dělají kávové slupky cenným materiálem pro využití nejen v potravinářském průmyslu a zároveň pomáhají snižovat ekologický dopad tohoto odpadu. Příkladem může být enkapsulace extraktu z kávových slupek pomocí polyvinylpyrolidonu (PVP), která představuje efektivní způsob, jak zvýšit obsah fenolických sloučenin a zlepšit jejich antioxidační aktivitu. Postup současně umožňuje maskovat nežádoucí chuť, zvyšovat rozpustnost bioaktivních látek ve vodě a tím i jejich biologickou dostupnost [16].

3 METODY STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY

K hodnocení oxidace lipidů se běžně využívá široká škála analytických metod. Neexistuje však univerzální metoda schopná detekovat všechny typy oxidačních změn napříč různými systémy. Výběr vhodné metody je proto nezbytný a závisí na konkrétní aplikaci. Metody lze rozdělit do pěti kategorií podle sledovaných parametrů: absorpce kyslíku, úbytek výchozích látek, tvorba volných radikálů, primárních či sekundárních oxidačních produktů. K měření oxidace lipidů se využívá řada fyzikálních, chemických a instrumentálních metod [17].

3.1 Měření absorpce kyslíku

Během autooxidace tuků a olejů dochází k absorpci kyslíku, to vede ke zvýšení jejich hmotnosti. Tato změna je ukazatelem míry oxidace. Metoda spočívá v zahřívání vzorků při stanovené teplotě bez cirkulace vzduchu a pravidelném vážení. Změny hmotnosti reflektují absorpci kyslíku. Tato metoda má i své limity. Časté vážení znemožňuje sledování rychlých kinetických změn a při nižších teplotách je analýza časově náročná, zejména u vzorků méně náchylných k oxidaci. Proces pravidelného zahřívání a následného ochlazování vzorků může vést k nekonzistentním výsledkům, pokud není přesně řízen. Navíc vyžaduje vysokou míru lidské účasti, a parametry jako velikost vzorku, tvar nádoby nebo teplota mohou výsledky ovlivnit. Výhodou této metody je její nenáročnost na vybavení, nízké náklady a možnost současné analýzy velkého množství vzorků [18].

3.2 Měření primárních oxidačních produktů

Pro hodnocení primárních oxidačních produktů, existují různé metody jako je stanovení peroxidového čísla, např. jodometrickou titrační metodou či infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací (FTIR), nebo analýza konjugovaných dienů a trienů. Některé z těchto metod budou podrobněji rozebrány v následujících kapitolách.

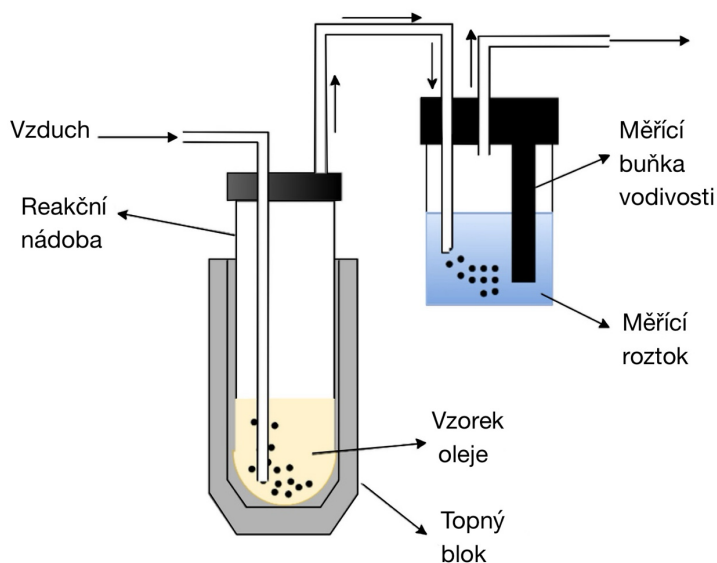
3.2.1 Peroxidové číslo – jodometrická titrace

Oxidace lipidů zahrnuje tvorbu hydroperoxidů jako primárních produktů, které se následně rozkládají na různé sekundární produkty, a to jak netěkavé, tak těkavé. V počátečních fázích oxidace je tvorba hydroperoxidů rychlejší než jejich rozklad, což se v pozdějších fázích obrací. Peroxidové číslo (PČ) je tedy indikátorem počáteční fáze oxidace, kdy je měřena koncentrace hydroperoxidů. Sleduje-li se vývoj této koncentrace v čase, lze stanovit, zda lipidy prochází fází růstu nebo rozpadu hydroperoxidů. PČ vyjadřuje celkový obsah

hydroperoxidů a je běžně používaným ukazatelem kvality tuků a olejů při výrobě a skladování. Pro stanovení PV existuje několik metod, mezi nimiž jsou nejvíce využívány jodometrická titrace a infračervená spektroskopie [17].

3.2.2 Rancimat

Metoda Rancimat je jednou z nejčastěji používaných zrychlených technik pro hodnocení oxidační stability olejů a tuků. Princip této metody spočívá v kontinuálním probublávání proudu suchého vzduchu vzorkem zahřátým na konstantní zvýšenou teplotu, to vede k urychlené oxidaci mastných kyselin. Vznikající těkavé sekundární oxidační produkty, zejména nízkomolekulární karboxylové kyseliny, jsou následně transportovány proudem vzduchu do měřicí nádoby obsahující deionizovanou vodu, kde se rozpouštějí a způsobují postupný nárůst elektrické vodivosti měřicího roztoku. Princip této metody je uveden na obrázku 3.



Obrázek 3 - Princip metody Rancimat

(Zdroj [19])

Klíčovým parametrem této metody je indukční doba, označovaná také jako index oxidační stability. Tento parametr odpovídá času, který uplyne do okamžiku prudkého nárůstu vodivosti, ten signalizuje akumulaci oxidačních produktů v měřicím roztoku. Díky své jednoduchosti, automatizaci a vysoké reprodukovatelnosti se metoda Rancimat široce využívá při hodnocení stability potravinářských olejů a tuků. K výhodám patří i to, že není nutné používat organická rozpouštědla. Tato vlastnost ji odlišuje od jiných metod hodnocení oxidační stability [20].

3.2.3 Konjugované dieny a trieny

Během tvorby hydroperoxidů z nenasycených mastných kyselin dochází k přeskupení dvojných vazeb a následnému vzniku konjugovaných dienů a trienů. Konjugované dieny vykazují intenzivní absorpci při vlnové délce kolem 234 nm, zatímco trieny absorbují při 268 nm. Tato UV absorpce odpovídá tvorbě primárních oxidačních produktů v tucích a olejích a tím umožňuje sledovat oxidační změny. Zvýšená absorpce v těchto vlnových délkách obecně odráží růst primárních oxidačních produktů. Metoda je rychlá, nevyžaduje chemické činidlo a postačuje malé množství vzorku, avšak citlivost a specifita jsou nižší ve srovnání s peroxidovým číslem [17].

3.2.4 Komplexy iontů železa

Rozšířená je i další chemická metoda založená na oxidaci železnatého iontu (Fe^{2+}) na železitý ion (Fe^{3+}) v kyselém prostředí a následné tvorbě komplexů železa. Tato metoda stanovuje schopnost lipidových hydroperoxidů oxidovat železnaté ionty na železité ionty, které pak tvoří barevné komplexy s činidly, jako je thiokyanatan nebo xylenolová oranž. Například thiokyanatan železnatý tvoří červenofialový komplex, který absorbuje světlo při vlnové délce 500–510 nm. Intenzita absorbance je spektrofotometricky analyzována a odpovídá koncentraci hydroperoxidů jako primárních produktů oxidace [17]. Metoda je jednoduchá a spolehlivá, její úspěch závisí na precizní kontrole experimentálních podmínek, jako je kalibrace a teplota. Díky své nenáročnosti na vybavení a schopnosti poskytovat reprodukovatelné výsledky patří mezi efektivní postupy pro hodnocení primárních oxidačních produktů. Současně vyniká rychlostí a citlivostí, což umožňuje detekci hydroperoxidů mono a polynenasycených mastných kyselin [21].

3.3 Měření sekundárních oxidačních produktů

K měření sekundárních oxidačních produktů se používají metody jako test p-anisidinu, stanovení TBA (thiobarbiturové kyseliny) nebo hodnota TOTOX. Tyto metody slouží k detekci aldehydů a dalších látek vznikajících při pokročilé oxidaci lipidů.

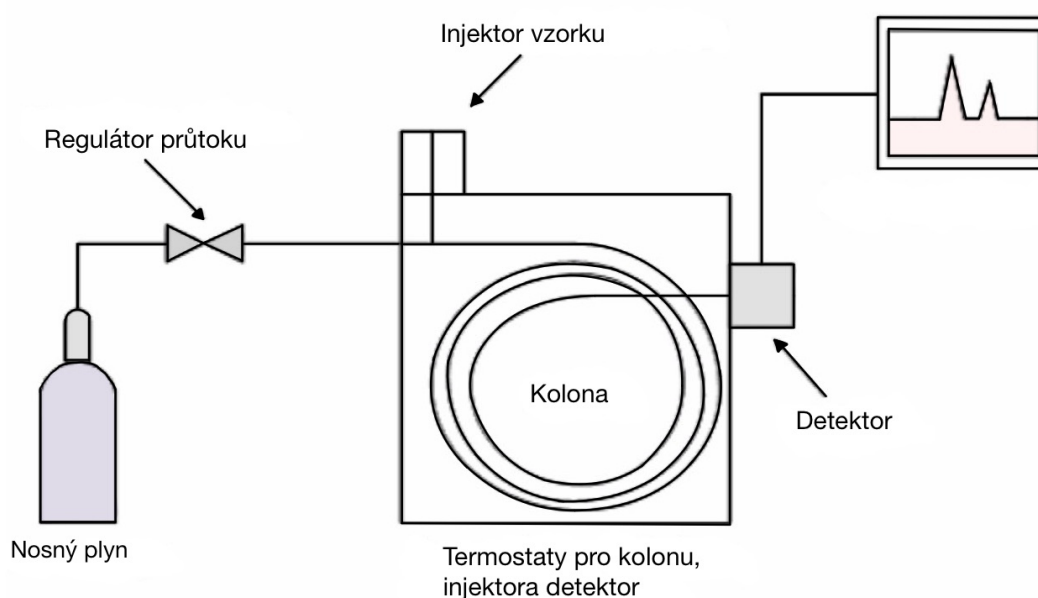
3.3.1 p – Anisidinové číslo

Stanovení p-anisidinového čísla (p-AnV) je ukazatelem obsahu aldehydů v oleji, především 2,4–dienalů a 2–alkenalů, které vznikají jako sekundární oxidační produkty během oxidace lipidů. Aldehydy patří mezi hlavní těkavé látky produkované při oxidaci lipidů a tvoří významnou část těkavých sloučenin odpovědných za změny chuti a vůně olejů během jejich

degradace. Tato metoda byla navržena jako bezpečnější alternativa k benzidinovému testu, který se již nepoužívá kvůli karcinogenním vlastnostem benzidinu. Peroxidové číslo a p-anisidinové číslo jsou často kombinovány do tzv. oxidační hodnoty („Totox“), která poskytuje komplexní přehled o celkové úrovni oxidace oleje. Tato metoda umožňuje efektivní hodnocení kvality oleje během skladování, tepelného zpracování a využití v potravinářství [22].

3.3.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je separační analytická metoda určená k rozdělení, identifikaci a kvantifikaci těkavých organických a anorganických látek ve směsi. Princip spočívá v rozdílné distribuci analyzovaných složek mezi mobilní a stacionární fází. Vzorek je do systému zaveden v plynném nebo zplyněném stavu. Pomocí nosného plynu je transportován kolonou, kde dochází k oddělení jednotlivých složek na základě jejich fyzikálně-chemických vlastností, především těkavosti a interakce se stacionární fází. Vyhodnocení chromatogramu probíhá pomocí detektoru, který zaznamenává přítomnost oddělených složek na výstupu z kolony [23]. Schéma plynové chromatografie je na obrázku 4. Pomocí plynové chromatografie lze stanovit aldehydy, ketony, těkavé uhlovodíky a estery, což jsou látky, které vznikají oxidací olejů.



Obrázek 4 - Schéma plynové chromatografie

(Zdroj [24])

4 PUPALKOVÝ OLEJ

Pupalka (*Oenothera L.*) je rostlina patřící do čeledi pupalkovitých (Onagraceae). Rod *Oenothera L.* zahrnuje přibližně 145 druhů, které se vyskytují v mírném a tropickém podnebném pásu Severní a Jižní Ameriky. Některé z těchto druhů se přizpůsobily novým prostředím a rozšířily se také do oblastí evropského kontinentu. Nejrozšířenějším druhem rodu *Oenothera L.* je *Oenothera biennis* (pupalka dvouletá), která je zároveň nejlépe prozkoumaná díky své významné biologické aktivitě.

Pupalka dvouletá (obrázek 5) obsahuje řadu biologicky aktivních látek, které se liší v závislosti na části rostliny. Nadzemní části rostliny jsou bohaté na fenolové kyseliny (např. kyselina gallová a ellagová) a flavonoidy, jako jsou quercetin a kaempferol v různých formách. Vodné extrakty z listů obsahují ellagitanniny, sacharidy jako je glukóza a galaktóza. Kořeny pupalky obsahují steroly (např. sitosterol), triterpeny (kyselina maslinová a oleanolová) a xanthony. Semena obsahují asi 20 % oleje, získávaného lisováním za studena. Složení oleje je z 98 % z triacylglycerolů, s malým množstvím jiných lipidů a nezmýdelnitelných látek (1–2 %). Pupalkový olej (PO, evening primrose oil) je bohatý na kyselinu linolovou a gama-linolenovou, které jsou klíčové pro jeho příznivé účinky [25].



Obrázek 5 - Pupalka dvouletá

(Zdroj [26])

PO obsahuje také alifatické alkoholy, mastné kyseliny, steroly a polyfenoly. Jak už bylo zmíněno, mezi jeho hlavní charakteristiky patří vysoký obsah esenciálních nenasyčených mastných kyselin, především kyseliny linolové (LA, 70–74 %) a gama-linolenové (GLA, 8–10 %). GLA se v lidském těle tvoří také jako meziprodukt metabolismu LA a slouží jako prekurzor eikosanoidů, které hrají důležitou roli ve správném fungování tkání. Jejich náchylnost k oxidaci je spojována s nežádoucím pachem, který snižuje atraktivitu produktu pro komerční využití [25]. V tabulce č. 1 je uvedeno procentuální zastoupení mastných kyselin v PO dle článku [25].

Tabulka 1 – Obsah hlavních mastných kyselin v PO

Mastná kyselina	Obsah v PO [%]
linolová	73,88 ± 0,09
γ-linolenová	9,24 ± 0,05
olejová	6,93 ± 0,02
palmitová	6,31 ± 0,14
stearová	1,88 ± 0,02
eikosenová	0,55 ± 0,01
arachová	0,31 ± 0,03
behenová	0,10 ± 0,01

4.1 Využití v kosmetice a péči o pleť

PO si získal oblibu v přírodní kosmetice díky vysokému obsahu kyseliny linolové, která podporuje funkci kožní bariéry a pomáhá snižovat transepidermální ztrátu vody (TEWL). Tělo si kyselinu linolovou nedokáže samo vyrobit, je třeba ji získávat zvenčí a PO je jejím bohatým přírodním zdrojem. Tato mastná kyselina hraje klíčovou roli při tvorbě ceramidů, které jsou klíčové pro udržení hydratace a pružnosti pokožky. Posílením kožní bariéry a zabráněním ztrátě vody se PO osvědčuje zejména u suché, podrážděné nebo šupinaté pokožky. Jeho zvláčňující vlastnosti dále zvyšují hladkost pokožky, což z něj činí cennou složku hydratačních přípravků [27].

4.1.1 Účinky na kůži

Jak již bylo uvedeno, PO obsahuje významné množství esenciálních mastných kyselin, které jsou klíčové pro zdraví pokožky. Díky nim PO přispívá k posílení epidermální bariéry, zlepšuje hydrataci a elasticitu pokožky a působí protizánětlivě. Kromě mastných kyselin obsahuje také bioaktivní sloučeniny jako jsou flavonoidy a fenoly, které mu dodávají antioxidační a protizánětlivé vlastnosti. Tato kombinace účinných látek pomáhá

neutralizovat volné radikály a chrání pokožku před oxidačním stresem a předčasným stárnutím. Díky těmto vlastnostem se často využívá v kosmetických přípravcích zaměřených na zklidnění projevů kožních problémů, jako jsou atopická dermatitida, ekzémy, lupénka čákné [28].

Atopická dermatitida (AD) je chronické zánětlivé onemocnění kůže projevující se suchostí, ekzematózními lézemi a intenzivním svěděním. Její příčiny jsou multifaktoriální, zahrnují genetické predispozice i vlivy prostředí. U některých jedinců se projevuje snížená schopnost přeměny mastných kyselin, to může vést k oslabení obranyschopnosti kůže proti zánětům. V rámci léčby se stále častěji využívá olej z PO, který je bohatým zdrojem kyseliny gama-linolenové. Tato mastná kyselina se v těle přeměňuje na kyselinu dihomogama-linolenovou (DGLA), známou svými protizánětlivými účinky. Pravidelné používání může pomoci zlepšit stav pokožky tím, že podporuje hydrataci, regeneraci a tlumí zánětlivé projevy [29].

5 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Vědecké studie se čím dál více zaměřují na oxidační stabilitu olejů rostlinného původu. Zajímavá je kombinace PO se slunečnicovým olejem (SAO). Vzhledem k vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin, zejména kyseliny linolové a gama-linolenové, je PO velmi náchylný k oxidaci, to může negativně ovlivnit jeho nutriční hodnotu i možnosti využití. Jako účinné řešení se ukazuje smíchání PO s oleji s odlišným profilem mastných kyselin, například se SAO, který je bohatý na mononenasycené mastné kyseliny a obsahuje přírodní antioxidanty, jako jsou tokoferoly a fytosteroly. Výsledky experimentálních studií, které využívaly 3D modely lidské kůže, ukázaly, že směs PO a SAO má výrazný ochranný účinek. Kombinace obou olejů účinně zmírnila podráždění pokožky a snížila fototoxicitu způsobenou UV zářením. Tento efekt je přisuzován především antioxidačním a protizánětlivým účinkům bioaktivních složek obsažených v obou olejích, zejména polyfenolovým sloučeninám a esenciálním mastným kyselinám. Lze tedy říct, že kombinace PO a SAO nejen zvyšuje oxidační stabilitu, ale také posiluje příznivé účinky na pokožku, což otevírá nové možnosti využití PO v dermokosmetických přípravcích [30].

Vznik nežádoucího aroma omezuje kvalitu a komerční využitelnost PO. Studie prokázala, že ošetření PO UV zářením v přítomnosti TiO_2 po dobu 5 minut výrazně snížilo koncentrace klíčových těkavých sloučenin: E-2-decenalu, 1-okten-3-olu a kyseliny hexanové o 50 %, 75,2 % a 61,4 %. Analýza aromatického profilu oleje metodami OAV (hodnota pachové aktivity) a HCA (hierarchické shlukování) ukázala, že změny po ošetření byly zanedbatelné a profil zůstal téměř totožný s původním. Fyzikálně-chemické vlastnosti oleje se krátkodobým UV/ TiO_2 ošetřením prakticky nezměnily, což potvrzuje, že tato metoda je vhodná pro deodorizaci PO bez negativního vlivu na jeho kvalitu [31].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo stanovení oxidační stability pupalkového oleje s využitím přírodních antioxidantů pomocí jodometrické titrace. Dílčími cíli bylo porovnání výsledků s metodou zrychlené oxidace na přístroji Rancimat 892 a analýza profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie.

7 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

V této kapitole jsou uvedeny seznamy chemikálií a přístrojového vybavení, které byly použity v experimentální části této bakalářské práce.

7.1 Materiál

Pupalkový olej, lisovaný za studena, byl dodán společností Nobilis Tilia (obrázek 6). Tato společnost se specializuje na výrobu přírodní a bio kosmetiky, která je založena na principech aromaterapie a využívá pečlivě vybrané suroviny. Olej byl skladován ve tmě při laboratorní teplotě $21 \pm 2^\circ\text{C}$.



Obrázek 6 – Pupalkový olej Nobilis Tilia

(Zdroj [32])

7.2 Chemikálie

- Thiosíran sodný (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Chloroform (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Kyselina octová (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Jodid draselný (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Dichroman draselný (Ing. Petr Švec –Penta, Praha)
- Škrobový maz (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice)

- Hydroxid draselný (Ing. Petr Švec –Penta, Praha)
- n-Hexan (Ing. Petr Švec –Penta, Praha)
- NaCl (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Síran sodný (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice)
- Vitamin E (Cosphatec GmbH, Německo)
- Rozmarýnový extrakt (M+H,Míča a Harašta s.r.o)
- Standard SUPELCO 37 Component FAME Mix (Sigma Aldrich, Německo)

7.3 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy
- UV/Vis spektrofotometr (PhotoLab 6600 UV-VIS, Německo)
- Rancimat 892 (Metrohm, Švýcarsko)
- Plynový chromatograf Shimadzu GC 14A a Shimadzu GC 2010 Pro
s plamenově ionizační detekcí (Shimadzu GmbH, Praha)
- Běžné laboratorní sklo
- Fialové sklo pro uchování olejů

8 METODIKA

Tato kapitola obsahuje postup prací a metod, které byly použity pro charakterizaci PO a stanovení jeho oxidační stability.

8.1 Příprava methylesterů pupalkového oleje

Do 100ml varné baňky bylo naváženo 0,5 g pupalkového oleje s přesností na 0,001g. K oleji bylo následně přidáno 20 ml methanolu a 0,5 ml 1M methanolického hydroxidu draselného. Pro zajištění rovnoměrného varu a k zabránění tajného varu byly do roztoku přidány varné kamínky. Takto připravená směs byla refluxována pod zpětným chladičem po dobu 30 minut na topném hnízdě. Po uplynutí reakční doby byla směs ochlazená na laboratorní teplotu. Následně byla převedena do dělicí nálevky. Baňka byla promyta 10 ml hexanu, který byl přidán do dělicí nálevky spolu s 15 ml 20% roztoku NaCl. Celý obsah dělicí nálevky se důkladně protřpal. Vodná fáze byla oddělena do druhé dělicí nálevky, do které se přidalo 5 ml hexanu. Obsah druhé nálevky se opět protřpal a obě fáze byly odděleny. Hexanové fáze z obou dělicích nálevek se sloučily a protřpaly s 15 ml 20% roztoku NaCl. Po oddělení vodné fáze byla organická fáze vysušena síranem sodným v Erlenmayerově baňce. Vysušený roztok byl přefiltrován přes papírový filtr do 5ml odměrné baňky.

8.2 Plynová chromatografie

Analýza připravených vzorků methyl-esterů byla provedena pomocí plynového chromatografu Shimadzu GC-14 (kolona polární Agilent DB-wax, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, teplota nástřiku 225 °C, teplota detektoru 230 °C, gradientový ohřev kolony s rychlostí 5 °C/min, počáteční teplota 165 °C, konec ohřevu 240 °C, s následným zdržením na této teplotě po dobu 10 min). Druhá analýza methylesterů byla provedena na novém chromatografu GC-2010 Pro s plamenově ionizačním detektorem (FID) za použití kolony SH-FAME (30 m délka; 0,25 mm vnitřní průměr; 0,25 μ m tloušťka filmu). Teplota nástřiku činila 250 °C, teplota detektoru 260 °C, a teplota kolony opět s gradientovým ohřevem (ze 165 °C na 240 °C).

Methylestery mastných kyselin byly identifikovány srovnáním retenčních časů elučních píků vzorků s retenčními časy elučních píků standardu SUPELCO™ 37 Component FAME Mix. Chromatogramy byly vyhodnoceny pomocí softwaru Clarity. Kvantifikace byla založena na plochách chromatografických píků metodou vnitřní normalizace.

8.3 Stanovení peroxidového čísla jodometrickou titrací

Metoda je založena na interakci hydroperoxidů v oleji s jodidem draselným v kyselém prostředí, což způsobuje uvolnění jodu. Uvolněný jod je následně kvantifikován titrací pomocí thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), a to umožňuje stanovit peroxidové číslo a posoudit oxidační degradaci oleje.

8.3.1 Příprava vzorků pro stanovení peroxidového čísla

V rámci experimentu byl analyzován pupalkový olej, který byl rozdělen na několik vzorků, které byly uchovávány v různých typech skla (čiré/fialové) nebo s přidavkem antioxidantu (AO), a to buď rozmarýnového extraktu (RE) nebo vitamínu E (Vit E). Vzorky bez AO byly připraveny navážením 100g oleje do čiré Erlenmayerovy baňky se zábrusem, následně i do lahvičky z fialového skla. K dalším vzorkům PO (100 g) v Erlenmayerově baňce byly přidány antioxidanty ve dvou koncentracích, které byly doporučeny výrobcem AO. Takto připravené oleje byly následně uloženy v laboratoři při laboratorní teplotě a za přístupu denního světla. Přehled vzorků a navážek jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka 2 – Přehled připravených vzorků PO

Vzorek	Zkratka vzorku	Navážka oleje [g]	Navážka AO [g]
Pupalkový olej – čiré sklo 1	PO1	100,73	-
Pupalkový olej – čiré sklo 2	PO2	100,09	-
Pupalkový olej – fialové sklo	PO-FS	100,07	-
Pupalkový olej + 0,25 % rozmarýnový extrakt	PO-RE 0,25%	100,00	0,2607
Pupalkový olej + 0,5 % rozmarýnový extrakt	PO-RE 0,5%	100,40	0,5017
Pupalkový olej + 0,15 % Vit E	PO-Vit E 0,15%	100,07	0,1653
Pupalkový olej + 0,2 % Vit E	PO-Vit E 0,2%	100,06	0,2273

8.3.2 Příprava nasyceného roztoku jodidu draselného

Na předvážkách bylo odváženo 12,5 g jodidu draselného (KI) a rozpuštěno v 15 ml destilované vody. Připravený roztok byl uchováván v tmavé láhvi, která slouží k ochraně před světlem, a pro úplnost byl navíc uložen ve tmě. Intenzivní žluté zabarvení roztoku nebylo žádoucí, protože signalizuje částečnou oxidaci jodidových iontů.

8.3.3 Příprava roztoku thiosíranu sodného

Ředěním zásobního roztoku 0,1M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ byl připraven roztok o koncentraci 0,01M. Nedělitelnou pipetou bylo odměřeno 25 ml 0,1M roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, který byl následně převeden do 250ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou až po rysku. Baňka byla poté uzavřena a důkladně promíchána.

8.3.4 Stanovení přesné koncentrace roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Do Erlenmayerovy baňky o objemu 100 ml bylo odpipetováno 10 ml 0,01M $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a následně přidány 2 ml koncentrované HCl a 1 ml připraveného roztoku KI . Roztok byl důkladně promíchán, baňka byla uzavřena zátkou a ponechána v temnu po dobu 5 minut. Poté byla do baňky přidána destilovaná voda o objemu 20 ml a několik kapek (6-10) škrobového mazu. Vše bylo titrováno 0,01M roztokem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do odbarvení. Byly provedeny dvě stanovení a vypočtena koncentrace dle rovnice 1.

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

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

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

Zásobní roztok thiosíranu sodného byl připravován vždy čerstvý ve stejných časových intervalech jako bylo provedeno stanovení peroxidového čísla. Vždy proběhlo i stanovení přesné koncentrace 0,01M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

8.3.5 Peroxidové číslo

Do 250ml Erlenmayerovy baňky bylo s přesností na 0,0001 g naváženo přibližně 1–1,5 g vzorku rostlinného oleje. Následně bylo přidáno 25 ml směsi chloroformu a kyseliny octové v poměru 1:1 a 1 ml roztoku KI . Baňka byla uzavřena, důkladně promíchána a poté ponechána na 5 minut v temnu při pokojové teplotě. Poté bylo přidáno 75 ml destilované vody, 2 ml škrobového mazu, vše bylo opět důkladně promícháno. Titrace byla prováděna roztokem 0,01M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ až do odbarvení indikátoru. Současně byla provedena titrace slepého pokusu. Stanovení probíhalo pravidelně jednou týdně. U první sady vzorků PO1 a PO-RE probíhalo po dobu 21. týdnů. Následně se pokračovalo se stanovením peroxidového čísla (PČ) u druhé sady vzorků, a to u vzorků PO2, PO-FS a PO-Vit E.

Stanovení PČ druhé sady probíhalo z časových důvodů po kratší dobu (9 týdnů). Peroxidové číslo bylo vypočteno podle vzorce 2.

$$P\check{C} = \frac{1000 \cdot M \cdot (a-b)}{n} \quad [\mu\text{val} \cdot \text{g}^{-1} \text{tuku}] \quad (2)$$

Kde: M – přesná koncentrace roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

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

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

n – navážka tuku [g]

8.4 Stanovení konjugovaných dienových a trienových mastných kyselin UV/Vis spektrofotometrií

UV/Vis spektroskopie je analytická metoda, která využívá interakci elektromagnetického záření v ultrafialové a viditelné oblasti se vzorkem. Molekuly ve vzorku absorbují fotony specifických vlnových délek, což je zapříčiněno jejich elektronovou strukturou, a vytváří tak charakteristické absorpční spektrum. Tato technika je široce používána pro identifikaci analytů, kvantifikaci jejich koncentrace a analýzu elektronových přechodů. Mezi typické aplikace patří například studium konjugovaných dvojných vazeb, jako jsou konjugované dieny a trieny, jejichž absorpční maxima leží v UV oblasti spektra [33].

8.4.1 Stanovení

Vzorky byly připravovány do 50ml odměrné baňky. Navážka oleje činila vždy pouze jednu kapku (cca 0,02 g), která byla rozpuštěna v n-hexanu doplněným po rysku v odměrné baňce. Absorpční spektra vzorků byla změřena pomocí UV/Vis spektrofotometru 6600 Photo Lab. Měření probíhalo v křemenných kyvetách v rozsahu vlnových délek 200–400 nm. Hodnoty absorbance byly odečítány při vlnových délkách 233, 262, 268 a 274 nm. Vlnová délka 233 nm je charakteristická pro absorpci konjugovaných dienů, zatímco vlnové délky 262, 268 a 274 nm jsou spojeny s konjugovanými trieny. Obsah konjugovaných dienů a trienů byl vypočten dle rovnic 3 a 4.

Obsah konjugovaných dienů (CD):

$$CD = 0,91(a_{233} - 0,07)[\%] \quad (3)$$

Obsah konjugovaných trienů (CT):

$$CT = 1,316(a_{268} - 0,5 \cdot (a_{262} - a_{274})) [\%] \quad (4)$$

Kde

$$a = A_{\lambda} \cdot V / \ell \cdot m$$

A_{λ} – absorbance stanovená pro příslušnou vlnovou délku

m – hmotnost navážky [mg]

V – výsledný objem roztoku [ml]

ℓ – délka kyvety v cm

8.5 Rancimat

Pro stanovení oxidační stability olejů byl použit přístroj Rancimat 892 Metrohm. Měření bylo provedeno v souladu s normou ISO 6886:2016. Toto zařízení má osm měřících pozic, které jsou uspořádány do dvou samostatně nastavitelných topných bloků. Teplotu každého bloku je možné nastavit samostatně, čímž je umožněno provádět měření vzorků při různých teplotách během jediného měření. Pro každé měření bylo do reakční nádoby naváženo přibližně $3 \pm 0,1$ g vzorku, analýza probíhala při teplotách 90, 100, 110 a 120 °C. Proud vzduchu procházející reakčními nádobami byl nastaven na 20 l/h. Těkavé oxidační produkty byly zachytávány v měřících nádobách obsahujících 50 ml destilované vody, kde byla následně sledována změna vodivosti.

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

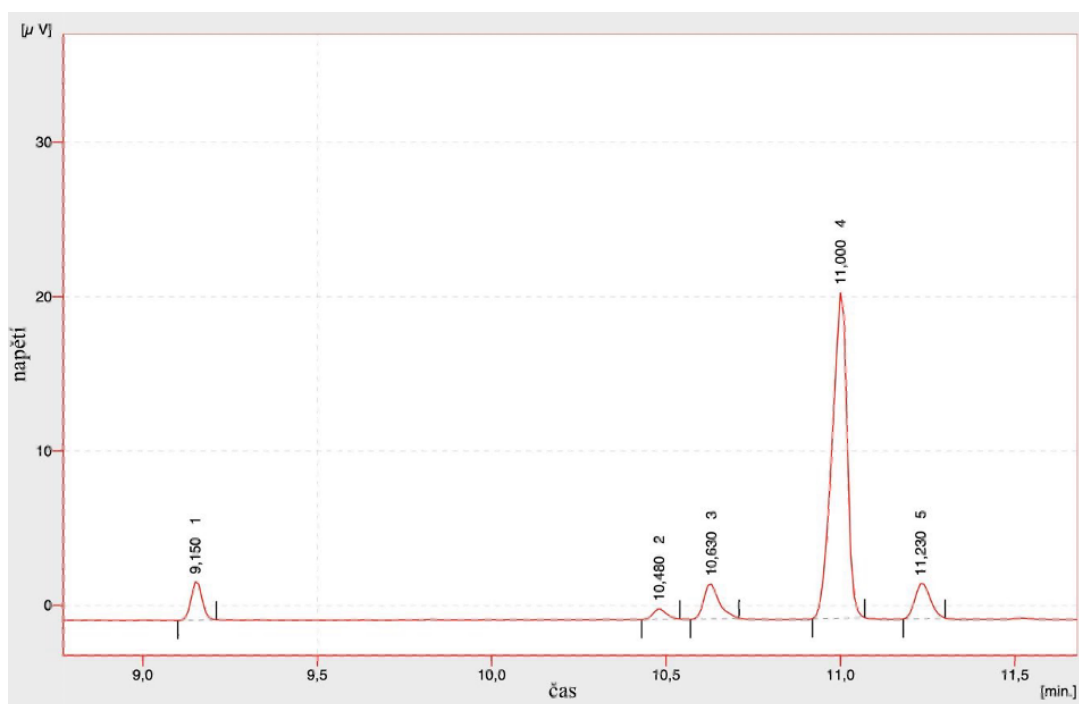
V následující části budou prezentovány získané výsledky ze stanovení oxidační stability pupalkového oleje. Nejdříve ale byla provedena analýza zastoupení mastných kyselin v pupalkovém oleji.

9.1 Plynová chromatografie – zastoupení mastných kyselin pupalkového oleje

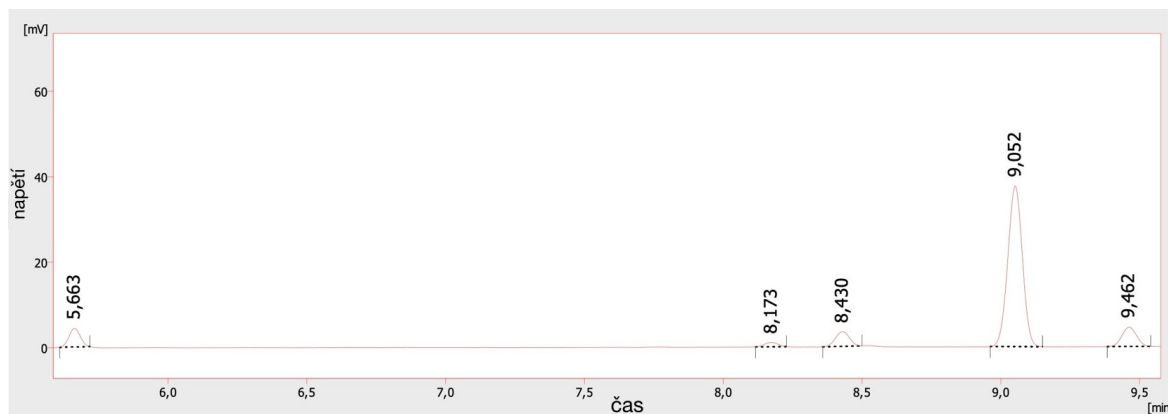
Vzorek pupalkového oleje od společnosti Nobilis Tilia byl nejprve převeden na methylestery mastných kyselin (FAMES) a následně analyzován pomocí plynové chromatografie. K analýze byly využity dva přístroje – starší model Shimadzu GC-14 a modernější GC-2010 Pro, což umožnilo srovnání výsledků z obou zařízení.

Vzorek byl naředěn hexanem, a to v poměru 60:1000 μl přes septum chromatografu bylo nastříknuto 1 μl naředěného vzorku. Analýza probíhala po dobu 20 minut a každé měření se opakovalo dvakrát. Retenční časy jednotlivých složek byly zaznamenány pomocí softwaru a následně porovnány se standardem SUPELCOTM 37 Component FAME Mix.

Na obrázku 7 a 8 jsou zobrazeny výsledné chromatogramy z analýzy methylesterů PO z přístroje GC-14 a GC-2010. Z chromatogramů je zřejmé, že v pupalkovém oleji je nejvíce zastoupeno pět typů mastných kyselin, přičemž jedna z MK je zastoupena v největší míře.



Obrázek 7 - Chromatogram methylesterů pupalkového oleje (GC-14)



Obrázek 8 - Chromatogram methylesterů pupalkového oleje (GC-2010 Pro)

Jako první byla provedena analýza methylesterů na starším přístroji GC-14 (tabulka 3 a obrázek 7). Na základě analýzy vzorku pupalkového oleje byla jako hlavní mastná kyselina určena kyselina linolová s podílem přibližně 75,2 % z celkového profilu. Výraznější zastoupení vykazovaly také kyselina linolenová (8,2 %) a olejová (8,1 %). Nižší podíl připadal na kyselinu palmitovou (6,4 %) a stearovou (2,1 %). Měření bylo pro porovnání zopakováno na přístroji Shimadzu GC-2010 Pro.

Tabulka 3 – Identifikace a kvantifikace mastných kyselin v PO

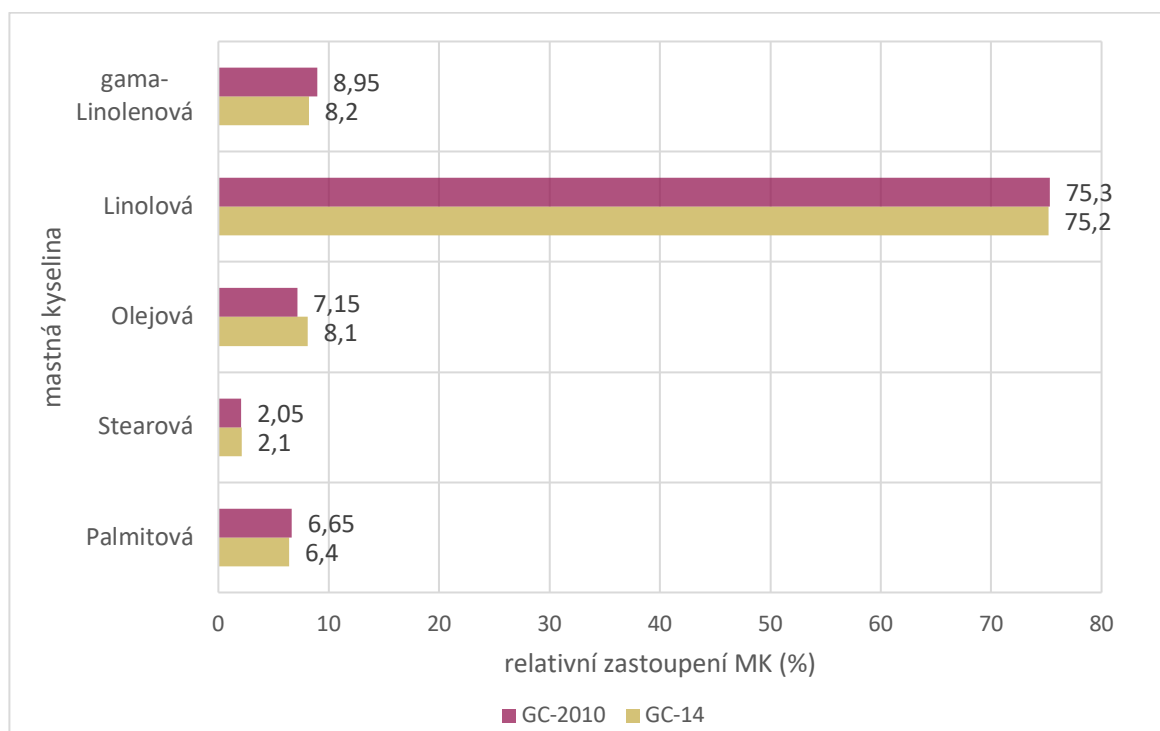
Identifikovaná MK	GC-14		GC-2010	
	Rt (min)	Zastoupení MK (%)	Rt (min)	Zastoupení MK (%)
Palmitová	9,15	6,4	5,665	6,65
Stearová	10,48	2,1	8,175	2,05
Olejová	10,63	8,1	8,435	7,15
Linolová	11,00	75,2	9,055	75,30
gama-Linolenová	11,23	8,2	9,465	8,95

Měření na přístroji Shimadzu GC-2010 Pro (tabulka 3, obrázek 8) ukázalo, že pupalkový olej tvoří především kyselina linolová (75,3 %), následovaná gama-linolenovou (8,95 %) a kyselinou palmitovou (6,65 %). Kyseliny olejová (7,15 %) a stearová (2,05 %) byly zaznamenány v nižším zastoupení. Naměřené hodnoty byly následně porovnány s literárními údaji uvedenými ve studii Christie's (1999), která popisuje zastoupení mastných kyselin v pupalkovém oleji [39]. Přehled těchto údajů je shrnut v tabulce 4.

Tabulka 4 - Zastoupení hlavních MK v PO dle literatury [39]

Mastná kyselina	Zastoupení [%]
palmitová (16:0)	6,44
stearová (18:0)	1,81
olejová (18:1)	9,76
linolová (18:2)	71,2
gama-linolenová (18:3)	8,72

Naměřené hodnoty z obou chromatografů Shimadzu GC-14 a GC-2010 Pro (obrázek 9) jsou si velmi blízké, zejména u linolové (75,2 % / 75,3 %) a gama-linolenové kyseliny (8,2 % / 8,95 %), které tvoří hlavní podíl mastných kyselin. Ve srovnání s literaturou viz tabulka 4 (71,2 % linolová, 8,72 % gama-linolenová) jsou hodnoty téměř totožné. U olejové kyseliny byly naměřené hodnoty nižší (8,1 % / 7,15 %) oproti literární hodnotě (9,76 %). Palmitová a stearová kyselina se lišily pouze nepatrně. Rozdíly mezi stanovením MK jsou vůči literatuře minimální a odpovídají běžné variabilitě přírodních olejů.

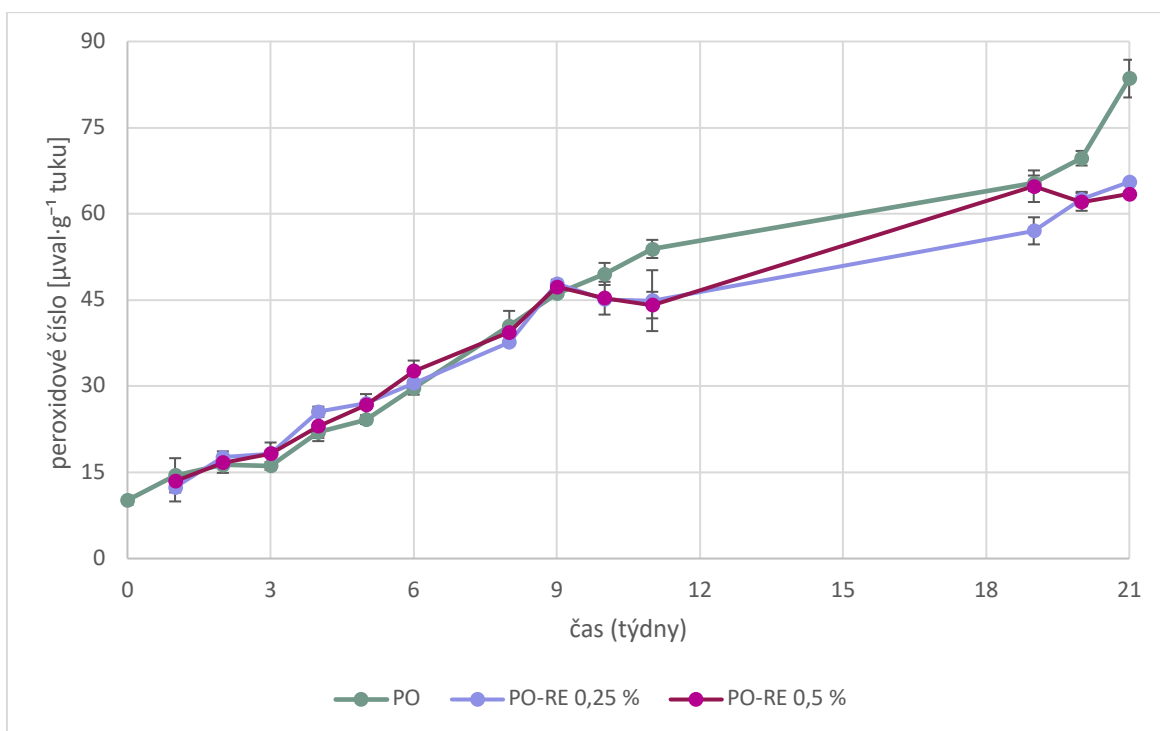


Obrázek 9 – Srovnání zastoupení MK stanovené pomocí dvou přístrojů

9.2 Analýza výsledků stanovení peroxidového čísla

Jako první bylo peroxidové číslo sledováno u sady vzorků PO s rozmarýnovým extraktem (PO-RE) s koncentracemi 0,25 % a 0,5 %, zároveň byl testován PO bez přídavku AO v čirém skle (PO1). Peroxidové číslo PO1 a PO-RE bylo opakovaně měřeno po dobu přibližně 5 měsíců. Vzorky se uchovávaly na světle při laboratorní teplotě v čirých Erlenmayerových baňkách. Všechny vzorky byly pravidelně jodometricky titrovány třikrát vedle sebe. Výsledky jsou uvedeny jako průměrné hodnoty peroxidového čísla a doplněny o směrodatnou odchylku.

Z obrázku 10 je patrné, že u čistého PO1 byl nárůst PČ pozorován po celou dobu skladování, to odpovídá skutečnosti, že oleje při vystavení světla a pokojové teplotě oxidují. Do 8. týdne nebyly pozorovány výrazné změny PČ mezi PO1 a PO s rozmarýnovým extraktem, změny mezi vzorky nastaly od 8. týdne, od této fáze začíná být rozdíl mezi jednotlivými vzorky zřetelnější. Nejvýraznější zvýšení PČ u PO1 nastalo od 20. týdne, kde byly rozdíly mezi PO a PO-RE největší.

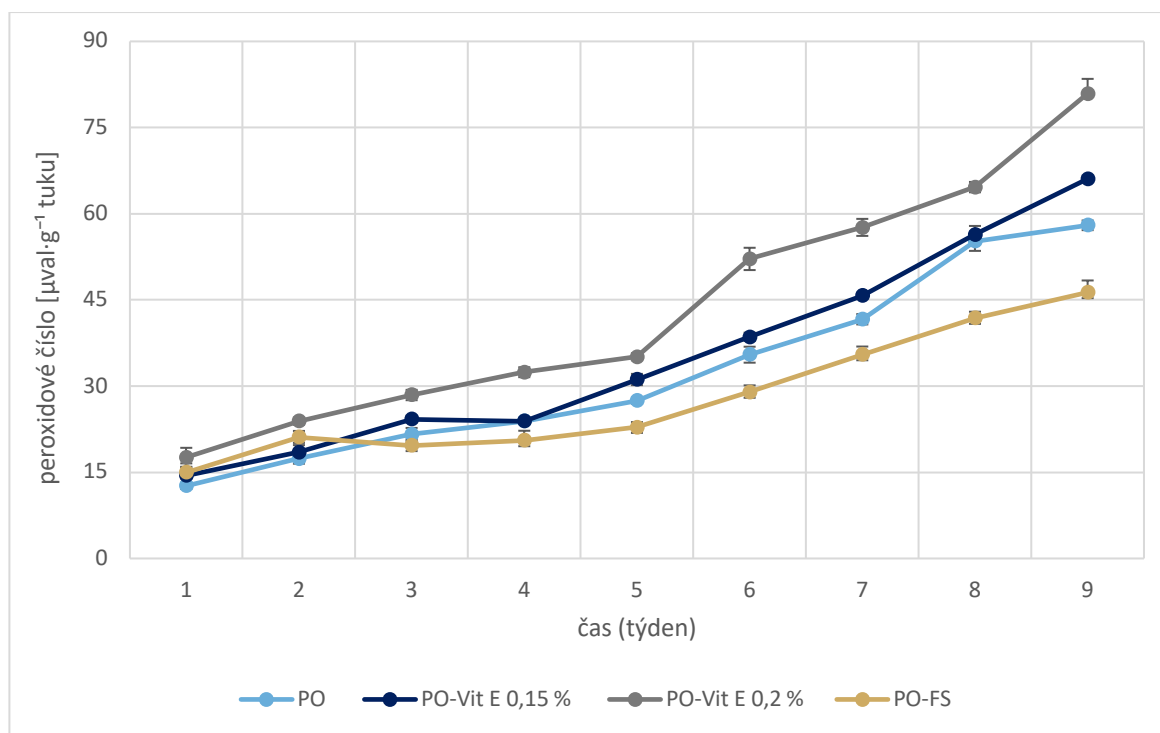


Obrázek 10 – Srovnání peroxidového čísla PO a PO s rozmarýnovým extraktem v průběhu 21 týdnů

U vzorků PO s přídavkem RE (0,25 % a 0,5 %) můžeme vidět mezi 2. a 8. týdnem spíše prooxidační účinek rozmarýnového extraktu. Změna nastává od 9. týdne, kdy se RE začíná chovat jako antioxidant. Výraznější odchylka v měření byla zaznamenána v 19. týdnu, kdy PČ PO-RE 0,25 % dosáhlo hodnoty 57,04 μval·g⁻¹ tuku. Tento výkyv mohl být způsoben

chybou v měření. Z výsledků nelze usoudit, zda byla jedna ze zvolených koncentrací RE účinnější, jelikož PČ se v průběhu týdnů příliš nelišilo. Celkově tedy vyplývá, že rozmarýnový extrakt měl určitý ochranný efekt, který se začal projevovat až po delší době skladování oleje. Jeho účinek nebyl okamžitý ani zcela dostatečný pro plnou ochranu oleje, ale přesto zpomalil oxidaci ve srovnání se vzorkem pupalkového oleje bez antioxidantu.

V další části experimentu byla sledována oxidační stabilita druhé sady vzorků, kde byl srovnán účinek barvy skleněného obalu na oxidaci PO, a to u vzorků v čirém (PO2) a fialovém skle (PO-FS), a v přítomnosti jiného antioxidantu – vitamínu E v koncentraci 0,15 % (PO-Vit E 0,15 %) a v koncentraci 0,2 % (PO-Vit E 0,2 %). Výsledky ze stanovení PČ v průběhu 9 týdnů jsou zobrazeny na obrázku 11.

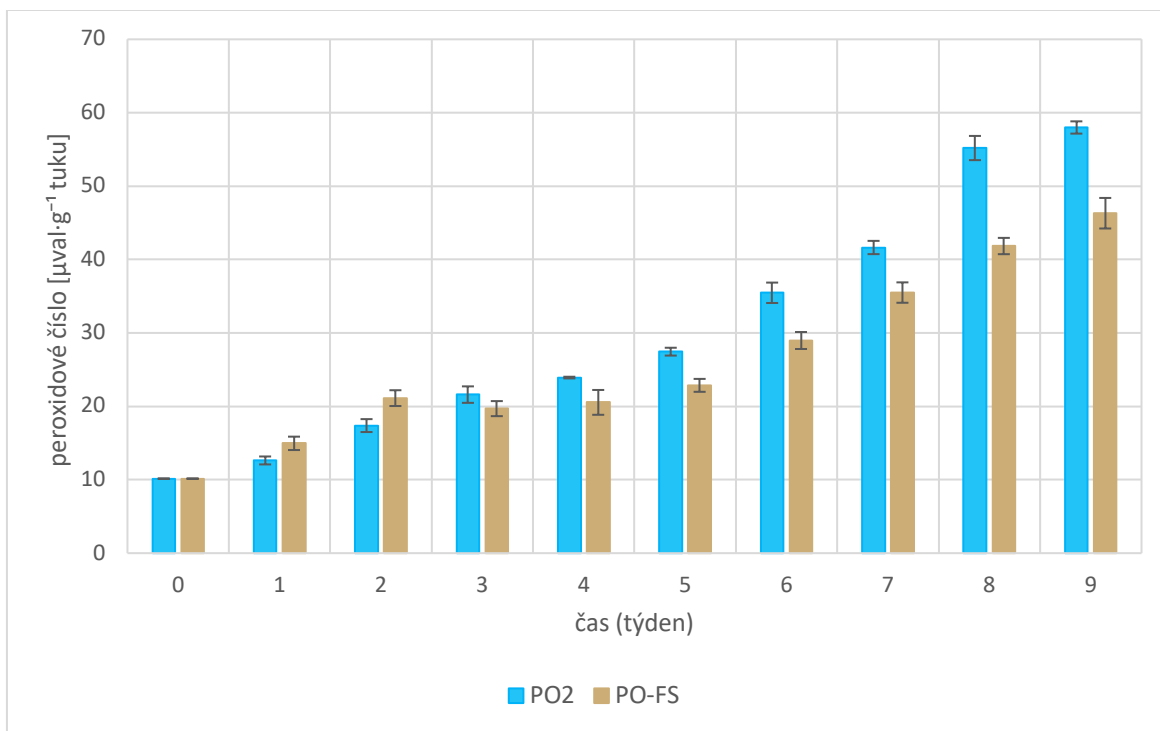


Obrázek 10 - Peroxidové číslo PO, PO s Vit E a PO ve fialové skle v průběhu 9 týdnů

Z výsledků je patrné, že všechny vzorky během 9 týdnů postupně oxidovaly, peroxidová čísla se u všech vzorků postupně zvyšovala. Nejvyšší hodnoty PČ byly naměřeny u vzorku s vitamínem E v koncentraci 0,2 %, tato skutečnost je trochu překvapivá, protože by se dalo očekávat, že vyšší koncentrace antioxidantu poskytne lepší ochranu. Největší rozdíl se začal projevovat od 6. týdne. Právě čistý PO (PO2) a PO-Vit E 0,1 % vykazovaly po většinu času nižší hodnoty PČ než PO-Vit E 0,2 %.

Nejnižší hodnoty PČ měl po celou dobu vzorek uchovávaný v tmavé láhvi z fialového skla (PO-FS). Jeho peroxidové číslo rostlo mnohem pomaleji než u ostatních vzorků, tím se

potvrdilo, že světlo významně urychluje oxidaci oleje. Z toho vyplývá, že samotné podmínky skladování mají zásadní vliv na ochranu olejů před oxidací, možná dokonce ještě větší než přidání antioxidantů. Vliv volby barvy skla pro skladování oleje je zobrazen na obrázku 12. Vzorek uchovaný v tmavé (fialové) lahvi vykazoval nejmenší nárůst PČ dokonce napříč všemi vzorky.

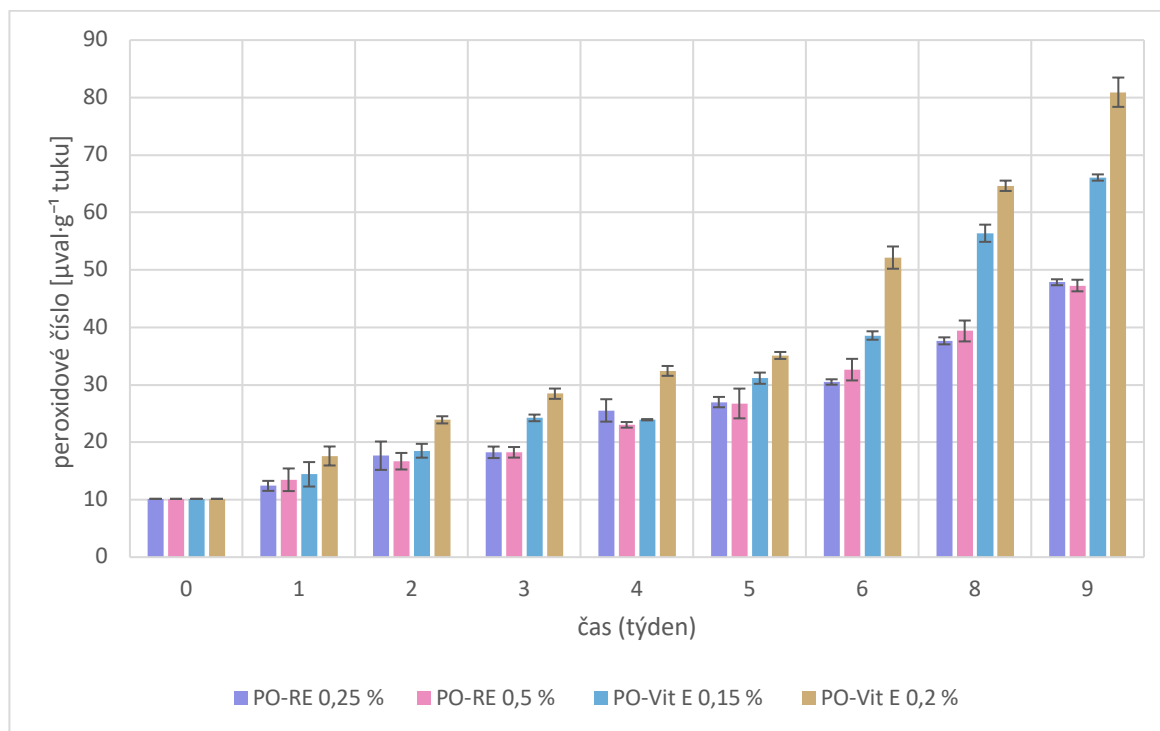


Obrázek 11 – Peroxidové číslo PO v čirém a fialovém skle v průběhu 9 týdnů

Z výsledků vyplývá, že rozmarýnový extrakt zpomaluje růst PČ (oxidaci oleje) lépe než vitamín E, to potvrzuje i článek [38], který se zabýval porovnáním RE, tokoferolů a tokotrienolů v PO a jejich indukční periodou. Podobné výsledky uvádí studie [34], která hodnotila antioxidační účinnost RE oproti syntetickým antioxidantům pomocí Rancimat a Schaalova testu. Prokázala, že RE zvyšuje antioxidační kapacitu, obsah fenolů, snižuje peroxidové číslo a zpomaluje degradaci ve větší míře než syntetické antioxidanty.

Srovnání účinku antioxidantů na oxidační stabilitu PO v průběhu 9 týdnů je zobrazeno na obrázku 13, kde můžeme pozorovat prooxidační účinek vit E. Zároveň lze vidět, že vyšší koncentrace tohoto antioxidantu má vyšší prooxidační účinek. Největší rozdíl v účinnosti antioxidantů můžeme zaznamenat od 6. týdne, kdy PČ PO-Vit E 0,2 % dosáhlo hodnoty 52,14 μval·g⁻¹ tuku v porovnání s 32,64 μval·g⁻¹ tuku u PO-0,5 % RE, rozdíl je téměř 20 μval·g⁻¹ tuku. Proto byl jako účinnější antioxidant vyhodnocen RE.

Prooxidační účinek Vit E byl potvrzen ve studii [35], která sice byla provedena na sójovém oleji, ale vzhledem k podobnému profilu nenasycených mastných kyselin lze její závěry považovat za relevantní i pro PO. Studie ukázala, že přidavek α -tokoferolu urychluje nástup oxidace a snižuje oxidační stabilitu oleje.

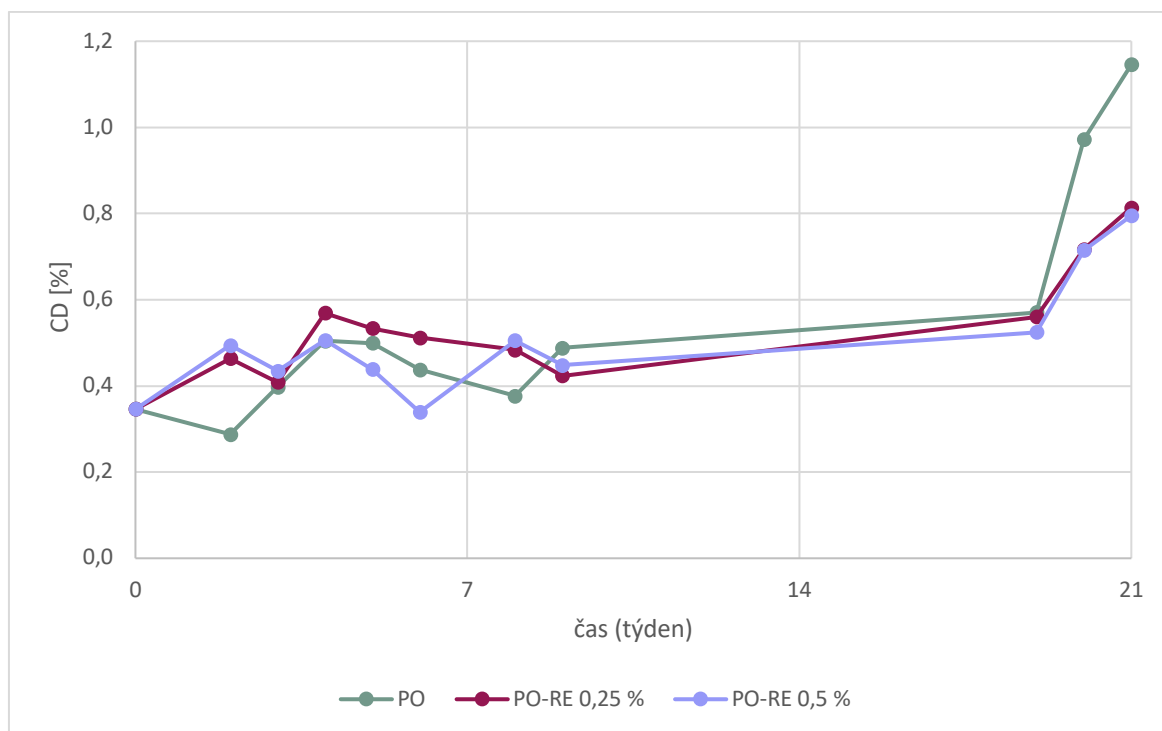


Obrázek 12 - Vývoj peroxidového čísla ve vzorcích s antioxidanty v průběhu času

9.3 Stanovení konjugovaných dienů a trienů

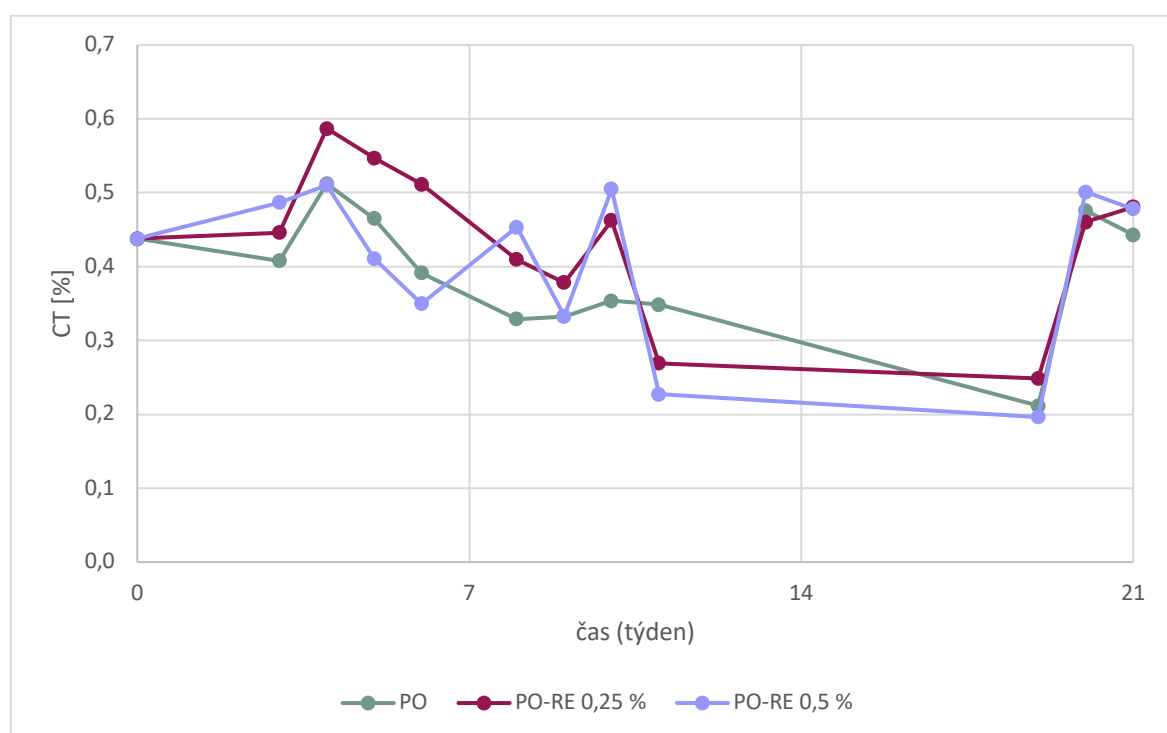
V rámci sledování oxidačních změn PO byla měřena absorbance při vlnových délkách charakteristických pro konjugované dieny a trieny. Výsledky byly použity k odhadu míry primární oxidace, která je úzce spojena právě s těmito sloučeninami. Pro každý vzorek byly získány tři spektra, ze kterých se poté odečetly hodnoty absorbance pro odpovídající vlnovou délku. Následně byly tyto hodnoty přepočítány na relativní absorbance, které sloužily jako podklad pro výpočet obsahu konjugovaných dienů a trienů, dle rovnic 3 a 4. Hodnoty z 3. týdne byly odlehle, pravděpodobně kvůli chybě měření, proto nebyly do grafů zohledněny.

Obsah konjugovaných dienů v první sadě vzorků (PO a PO-RE) vykazoval během skladování v prvních týdnech kolísavý průběh (obrázek 14). V dalších týdnech, zejména mezi 4.–19., byly u vzorků PO-RE zaznamenány konstantní hodnoty CD s mírnými výkyvy. Nejvýraznější změna v obsahu CD je pozorována od 19. týdne, kde je viditelný výrazný nárůst CD, především u čistého PO. Zde se začíná projevovat antioxidační účinek RE. Což je v souladu i s daty ze stanovení peroxidového čísla.



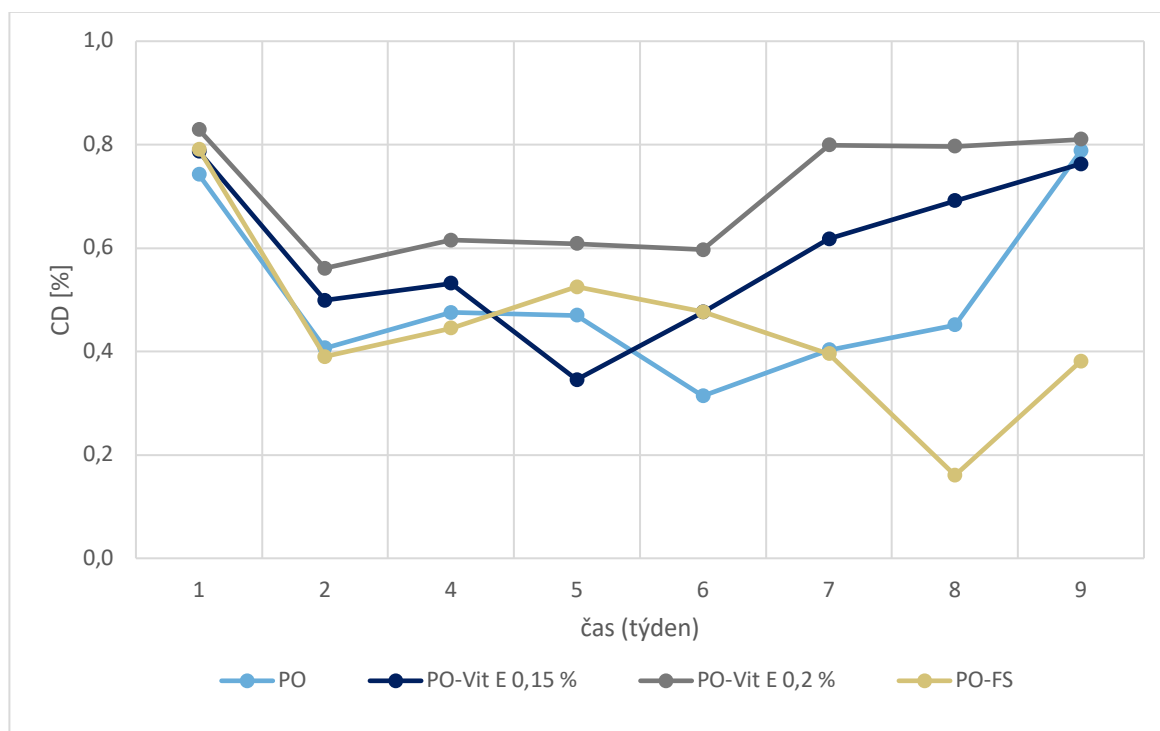
Obrázek 13 - Obsah konjugovaných dienů PO a PO s rozmarýnovým extraktem

Ze sledování změn obsahu CT (obrázek 15) je až do 19. týdne jasně viditelný kolísavý průběh. V 19. týdnu bylo zaznamenáno zvýšení, což může naznačovat nástup pokročilejší fáze oxidace, nicméně nebyl pozorován výrazný rozdíl v množství konjugovaných trienů u vzorků s antioxidantem a u čistého pupalkového oleje.



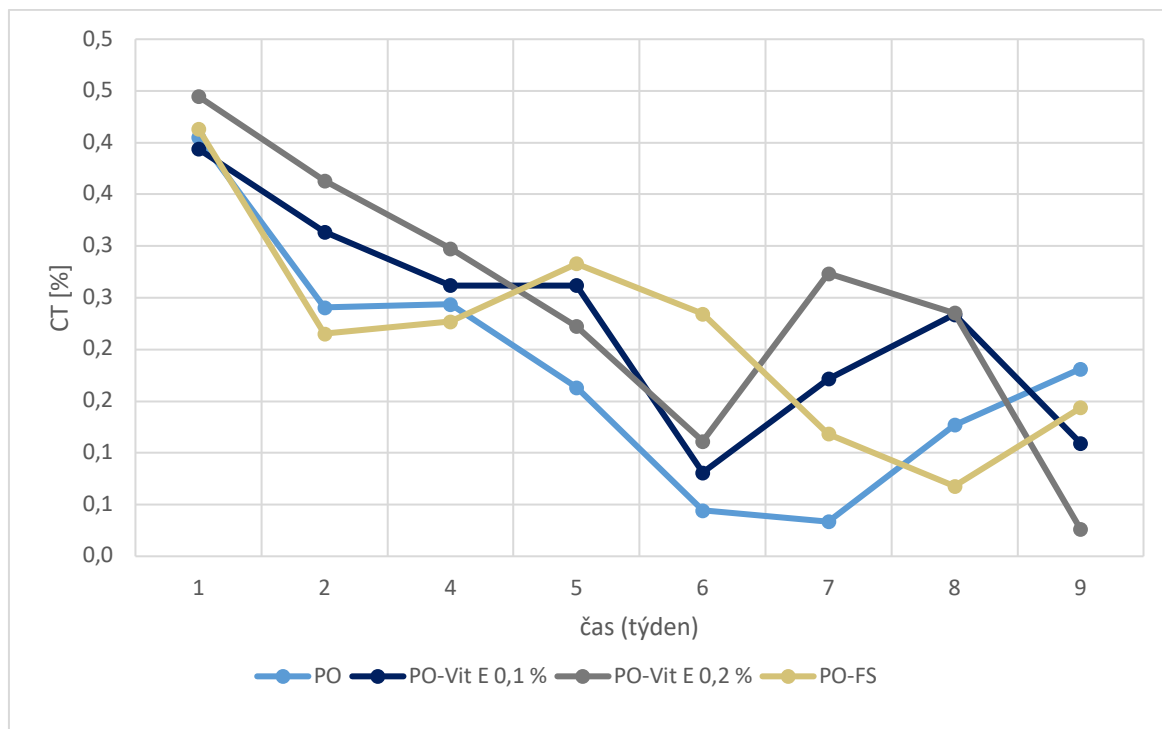
Obrázek 14 - Obsah konjugovaných trienů PO a PO s rozmarýnovým extraktem

Průběh obsahu CD v PO-Vit E zejména s koncentrací 0,2 % (obrázek 16), prokázal nejvyšší obsah dienů po celou dobu experimentu. Může to souviset s omezenou účinností α -tokoferolu, jehož antioxidační aktivita závisí nejen na koncentraci, ale i na vnějších faktorech. Mohlo dojít k vyčerpání jeho antioxidační vlastnosti, a tím ke ztrátě schopnosti zpomalit oxidaci. Tyto výsledky korelují i s výsledky ze stanovení PČ, kde právě tento vzorek s vitamínem E prokázal nejnížší oxidační stabilitu. Zajímavé je, že čistý PO byl v prvních týdnech celkem stabilní, dokonce v 6. týdnu prokázal nejnížší obsah CD. Výsledky opět ukazují, že jako nejúčinnější se z dlouhodobého hlediska jeví uchovávat PO v tmavé láhvi. Další možností je přidat k vitamínu E antioxidant se synergickým účinkem např. vitamín C. Ze studie [36] vyplývá, že vit. C pomáhá regenerovat oxidovaný vit. E a tím prodloužit jeho antioxidační účinek.



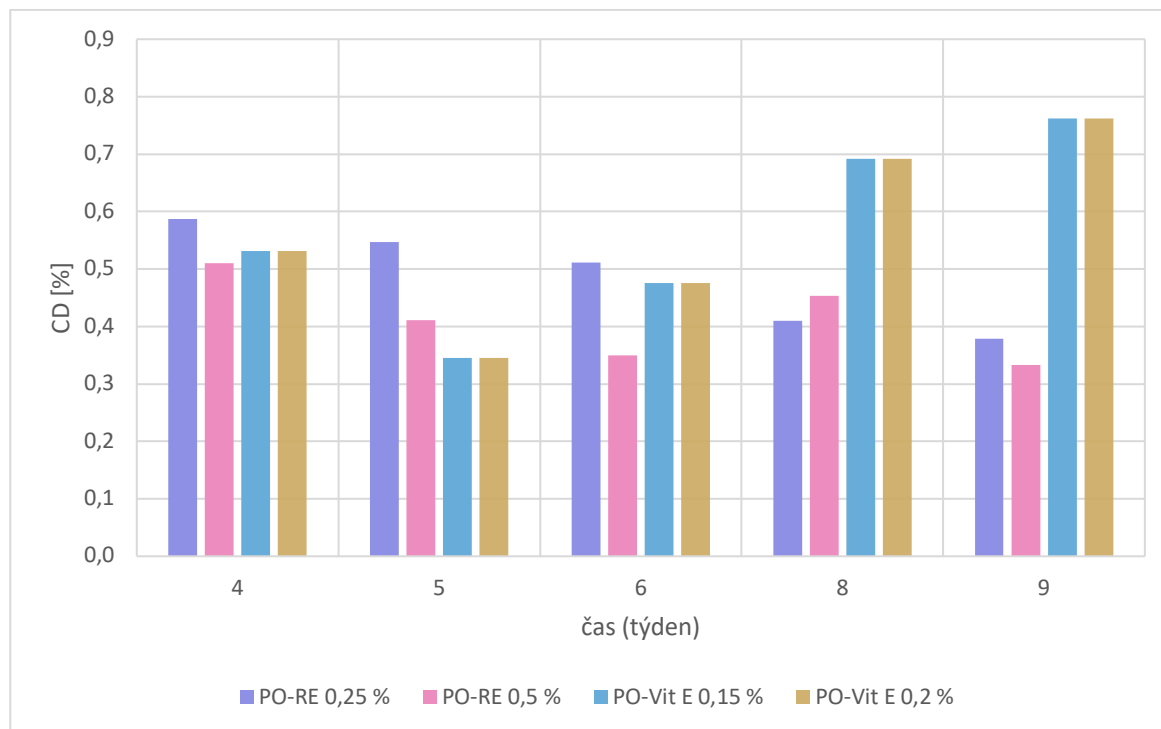
Obrázek 15 - Obsah konjugovaných dienů PO, PO s vitamínem E a PO ve fialovém skle

Obrázek 17 ukazuje, že vzorek PO, co se týká obsahu CT, je celkem stabilní, dokonce měl nejnížší obsah CT mezi týdny 4–6, poté hodnoty CT vzrostly. Obsah CT u vzorků PO-Vit E (0,15 i 0,2 %) byl značně variabilní, bez jednoznačného trendu. Ovšem od 8. týdne obsah CT klesl, kde se mohl projevit možný antioxidační účinek vitamínu E. PO v láhvi z fialového skla vykazoval od 4. do 7. týdne opačný trend než PO v čirém skle, poté se obsah CT v tomto vzorku opět snížil.



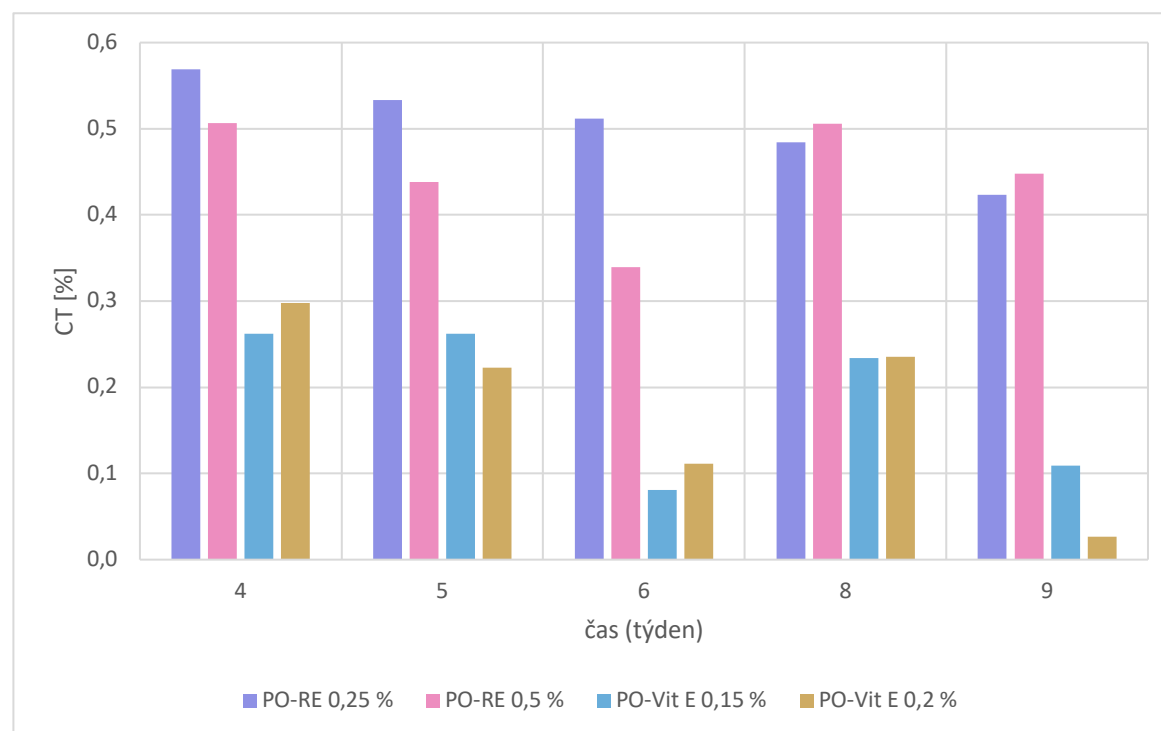
Obrázek 16 - Obsah konjugovaných trienů PO, PO s vitamínem E a PO ve fialovém skle

Porovnání CD ve vzorcích s antioxidanty (RE vs. Vit E) ukázalo rozdíly v obsahu CD (obrázek 18). Jedny z nejvyšších hodnot byly zaznamenány u vzorku PO s přídatkem vit. E v koncentraci 0,2 %, a podobné hodnoty se objevily také u koncentrace 0,15 %. Tento výsledek naznačuje, že vitamín E nemusí být vhodným antioxidantem pro stabilizaci PO. Naopak vzorky s RE měly celkově nižší obsah CD, což svědčí o jeho vyšší účinnosti, zejména v počátečních fázích oxidace.



Obrázek 17 – Srovnání obsahu konjugovaných dienů u vzorků s antioxidantem

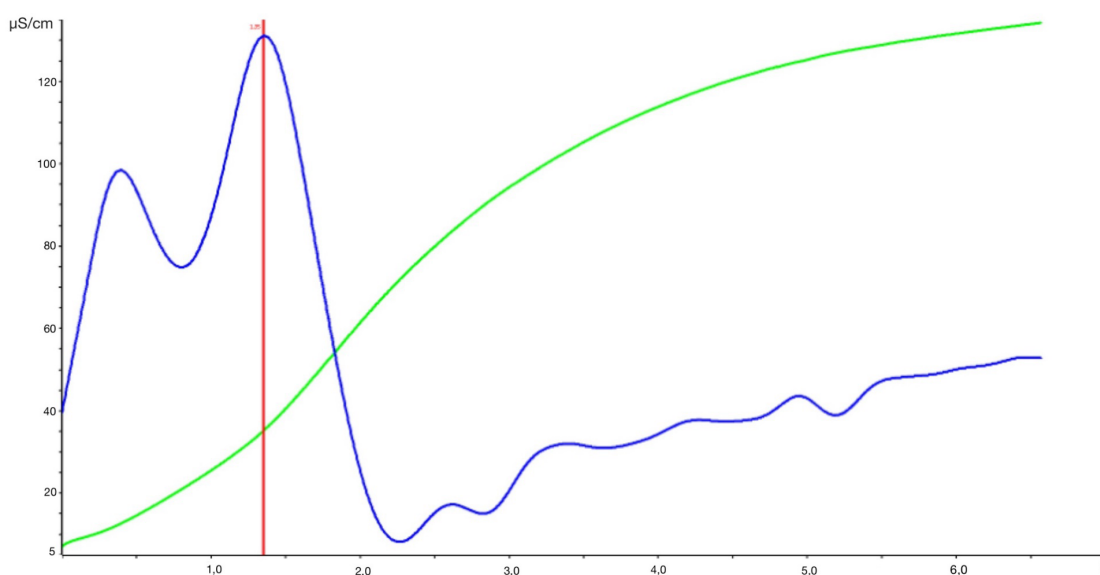
Z obrázku 19 lze vidět opačný trend, vzorky PO s vit. E vykazovaly vyšší podíl CD, ale nižší obsah CT ve srovnání s PO-RE.



Obrázek 18 - Srovnání obsahu konjugovaných trienů u vzorků s antioxidantem

9.4 Výsledky stanovení oxidační stability přístrojem Rancimat

Oxidační stabilita vzorku pupalkového oleje byla hodnocena pomocí přístroje Rancimat 892. Testování probíhalo opakovaně, avšak z technických důvodů bylo možné úspěšně vyhodnotit pouze měření při teplotách 90, 100, 110 a 120 °C. Z časových důvodů nebyly proměřeny vzorky s antioxidanty. Obrázek 20 představuje příklad závislosti změny vodivosti na čase při teplotě 120 °C, kde zeleně je křivka vodivosti, modrá je její druhá derivace a červeně je vyznačena doba vzniku oxidačních produktů jako indukční perioda.



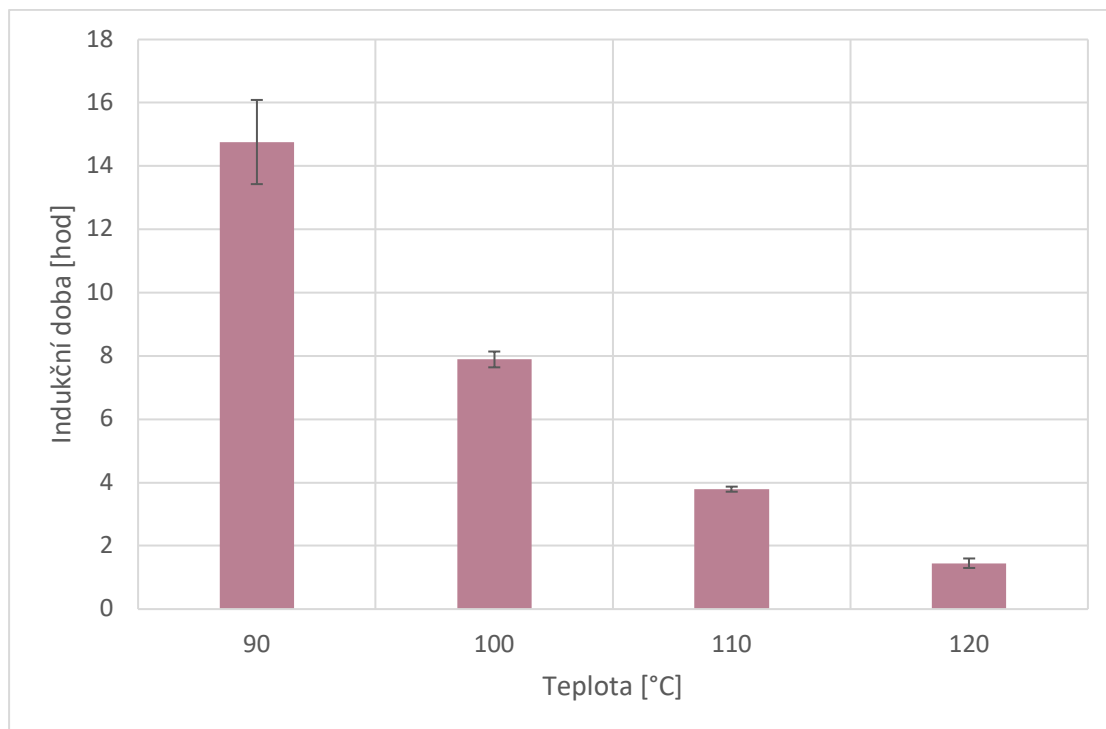
Obrázek 19 - Záznam průběhu měření a vyhodnocení při teplotě 120 °C

Výsledky jednotlivých indukčních časů, jejich průměr a směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5 -Indukčních časy při různých teplotách

Teplota [°C]	Indukční doba [hod]	Průměr + Směrodatná odchylka
90	13,06	14,76 ± 1,33
	14,49	
	15,26	
	16,21	
100	8,19	7,89 ± 0,25
	7,73	
	7,98	
	7,65	
110	3,70	3,79 ± 0,08
	3,74	
	3,75	
	3,89	
120	1,31	1,45 ± 0,15
	1,35	
	1,49	
	1,64	

Z obrázku 21 je patrné, že s rostoucí teplotou se indukční čas výrazně zkracuje. Při 90 °C se oxidační produkty začaly tvořit v průměru po 14,76 hodinách, to odpovídá vyšší oxidační stabilitě za nižších podmínek. Při zvýšení teploty o 10 °C na teplotu 100 °C byla tato doba přibližně poloviční – průměrně 7,89 hodin. Při 110 °C indukční doba dále klesla na 3,79 hodin. Nejnižší stabilitu měl vzorek při 120 °C, kdy k oxidaci docházelo už po 1,45 hodině. Takto krátká indukční doba pravděpodobně souvisí s tím, že při vyšších teplotách potřebují molekuly mnohem méně energie pro zahájení oxidačních reakcí než při teplotách nízkých. Všechny procesy proto budou pomalejší při teplotách pod 100 °C, tak jak bylo prokázáno ve studii [37].



Obrázek 20 – Závislost indukční doby na teplotě

Pro objektivnější zhodnocení bylo provedeno také srovnání s literárními daty uvedenými ve studii [37]. Podle těchto údajů pupalkový olej vykazuje při teplotě 100 °C indukční dobu 7,20 hodiny, při 110 °C 3,65 hodiny a při 120 °C 1,85 hodiny. Porovnání s vlastními výsledky (tab. 5) ukazuje, že při teplotě 110 °C byl indukční čas 3,79 hodiny srovnatelný s publikovanými údaji (3,65 hodiny). Také při teplotě 120 °C byl rozdíl minimální, kdy jsme naměřili 1,45 hodiny oproti 1,85 hodině ve studii. Výraznější odchylku lze pozorovat u teploty 100 °C, kde naše indukční doba činila 7,89 hodiny, tedy přibližně o 3 hodiny více než uváděné literární hodnoty (4,94 hodiny).

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zaměřila na hodnocení oxidační stability pupalkového oleje a vliv přírodních antioxidantů na jeho prodloužení. Cílem bylo ověřit, zda přídavek antioxidantu (rozmarýnového extraktu nebo vitamínu E) zlepšuje odolnost oleje vůči oxidaci. Analýza profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie potvrdila, že největší zastoupení tvořila kyselina linolová (C18:2), která představovala přibližně 75 % celkového obsahu. Tato hodnota je v souladu s literárními údaji a potvrzuje, že pupalkový olej je bohatým zdrojem polynenasycených mastných kyselin, které jsou náchylné k oxidaci.

Oxidační stabilita byla sledována prostřednictvím několika metod. Jodometrická titrace ukázala, že nejvyšší peroxidové číslo měl vzorek pupalkového oleje s přídavkem 0,2 % vitamínu E. Naopak vzorek s rozmarýnovým extraktem vykazoval relativně nízké hodnoty peroxidového čísla, avšak nejnižší hodnoty měl po celou dobu sledování vzorek uložený v láhvi z fialového skla.

Sledování obsahu konjugovaných dienu a trienů ukázalo, že vzorky s rozmarýnovým extraktem měly nižší obsah dienu, zatímco vzorky s vitamínem E vykazovaly vyšší hodnoty, dokonce vyšší než čistý pupalkový olej. Nejnižší hodnoty dienu byly opět zaznamenány u vzorku uloženého v tmavé láhvi. Co se týče konjugovaných trienů, situace byla opačná, vzorkem s vitamínem E měl nižší hodnoty než vzorek s rozmarýnovým extraktem. Test zrychlené oxidační stability na přístroji Rancimat potvrdil, že se zvyšující se teplotou klesá čas, kdy začíná oxidace.

Na základě těchto výsledků lze říct, že rozmarýnový extrakt měl v rámci sledovaného období příznivější vliv na oxidační stabilitu pupalkového oleje než vitamín E. Nelze to však tvrdit s jistotou, protože PO s vitamínem E byl sledován pouze po dobu 9 týdnů, zatímco PO s rozmarýnovým extraktem po dobu 21 týdnů. Delší sledování by tak mohlo přinést odlišné výsledky nebo naznačit jiný trend. Nejlepší stabilitu po celou dobu vykázal olej uchovávaný v tmavé láhvi z fialového skla, to potvrzuje, že volba vhodného obalu hraje klíčovou roli při ochraně olejů před oxidací, v některých případech i významnější než přídavek antioxidantů. Do budoucna by bylo vhodné provést delší sledování, zaměřit se na různé koncentrace antioxidantů i jejich možné kombinace a dále zkoumat vliv skladovacích podmínek na stabilitu olejů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] C RUSTAN, Arild a A DREVON, Christian. *Fatty Acids: Structures and Properties*. Online. 2005, s. 1-7. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.1038/npg.els.0003894>. [cit. 2025-04-27].
- [2] MACHADO, Manuela; RODRIGUEZ-ALCALÁ, Luís M.; GOMES, Ana M a PINTADO, Manuela Pintado. *Vegetable oils oxidation: mechanisms, consequences and protective strategies*. Online. *Food Reviews International*. 2022, roč. 39, č. 7, s. 4181-4192. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2026378>. [cit. 2025-04-27].
- [3] CHEMAT, Aziadé; SONG, Mengna; LI, Ying a FABIANO-TIXIER, Anne-Sylvie. *Shade of Innovative Food Processing Techniques: Potential Inducing Factors of Lipid Oxidation*. Online. *Molecules*. 2023, roč. 28, č. 24, s. -. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules28248138>. [cit. 2025-05-14].
- [4] FRANKEL, Eric N. *Autoxidation of Unsaturated Lipids*. Online. *Chemistry and Physics of Lipids*. 1987, roč. 44, č. 2-4, s. 251-283. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(80\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0163-7827(80)90006-5). [cit. 2025-04-27].
- [5] SHAHIDI, Fereidoon a ZHONG, Ying. *Lipid oxidation and improving the oxidative stability*. Online. *Journal of Food Science and Technology*. 2010, roč. 5, č. 4, s. 387-406. Dostupné z: <https://doi.org/DOI: 10.1039/b922183m>. [cit. 2025-04-27].
- [6] FADDA, A.; SANNA, D.; GHARBY, E.H.; MULAS, S.; MEDDA, M. et al. *Innovative and Sustainable Technologies to Enhance the Oxidative Stability of Vegetable Oils*. Online. *Sustainability*. 2022, roč. 14, č. 2, s. 849. ISSN 2071-1050. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/su14020849>. [cit. 2025-04-27].
- [7] HASHEMPOUR-BALTORK, Fataneh; TORBATI, Mohammadali; AZADMARD-DAMIRCHI, Azadmard-Damirchi; SODEIF, Mohammad a SAVAGE, Geoffrey P. *Vegetable oil blending: A review of physicochemical, nutritional and health effects*. Online. *Trends in Food Science & Technology*. 2016, roč. 57, č. -, s. 52-58. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.007>. [cit. 2025-04-28].
- [8] BHUVA, S.S. a DHAMSANIYA, N.K. *Encapsulation of Vegetable Oils for Enhancing Oxidative Stability of PUFA*. Online. *Biological Forum - An International Journal*. 2023, roč. 15, č. 2, s. 271-284. Dostupné z: <https://www.researchtrend.net/bfij/pdf/Encapsulation-of-Vegetable-Oils-for-Enhancing-Oxidative-Stability-of-PUFA-S.S.-Bhuva-46.pdf>. [cit. 2025-04-28].
- [9] KUSUMAWATI, Idha a INDRAYANTO, Gunawan. *Natural Antioxidants in Cosmetics*. Online. *Food Chemistry*. 2013, roč. 40, č. -, s. 485-505. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59603-1.00015-1>. [cit. 2025-04-28].
- [10] , abcam. *Vitamin E (DL-alpha-Tocopherol), Fat-soluble antioxidant*. Online. In: Abcam. Dostupné z: <https://www.abcam.com/en-us/products/biochemicals/vitamin-e-dl-alpha-tocopherol-fat-soluble-antioxidant-ab142968>. [cit. 2025-05-14].

- [11] THE NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). Vitamin E. Online. The National Institutes of Health (NIH). 2021. Dostupné z: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-HealthProfessional/>. [cit. 2025-04-28].
- [12] AKOH, Casimir C. a MIN, David B. (ed.). *Food Lipids*. Online. 2. vyd. CRC Press, 2002. ISBN 9780203908815. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/9780203908815>. [cit. 2025-04-28].
- [13] MEZZOMO, Natália a FERREIRA, Sandra R. S. Carotenoids Functionality, Sources, and Processing by Supercritical Technology: A Review. Online. *Journal of Chemistry*. 2016, roč. 2016, č. č.7, s. 1-16. ISSN 2090-9063. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2016/3164312>. [cit. 2025-04-28].
- [14] MOUFAKKIR, Chaimae; KHARBACH, Yassine; TANGHORT, Mariam; DASSOULI, Abdelilah a REMMAL, Adnane. Preserving Soybean Oil for the Frying of Breaded Butterfly Shrimp Using Natural Rosemary Antioxidant. Online. *International Journal of Food Science*. 2023, roč. 2023, č. ID 5984636, s. 8. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2023/5984636>. [cit. 2025-04-29].
- [15] KIM, Hun; CADWALLADER, Keith R.; KIDO, Hirotsugu a WATANABE, Yuko. Effect of addition of commercial rosemary extracts on potent odorants in cooked beef. Online. *Meat Science*. 2013, roč. 94, č. 2, s. 170-176. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.005>. [cit. 2025-04-29].
- [16] DE OLIVEIRA, Anielle; MOREIRA, Thaysa F.M.; SILVA, Beatriz Paes; OLIVEIRA, Grazielle; TEIXEIRA, Valérie Marie C. et al. Characterization and bioactivities of coffee husks extract encapsulated with polyvinylpyrrolidone. Online. *Food Research International*. 2024, roč. 78, č. 113878, s. -. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113878>. [cit. 2025-04-29].
- [17] SHAHIDI, Fereidoon. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Online. 6. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. ISBN 0-471-38460-7. Dostupné z: <https://www.wiley.com/en-us/Bailey's+Industrial+Oil+and+Fat+Products%2C+Volumes+1+-+6%2C+Set%2C+6th+Edition-p-9780471384601>. [cit. 2025-04-28].
- [18] SHAHIDI, F. a WANASUNDARA, U.N., AKOH, C.C a MIN, D.B. (ed.). *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Online. 2. 2. New York: Marcel Dekker, 2002. ISBN 9780429221378. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1201/9780203908815.ch14>. [cit. 2025-04-29].
- [19] KONGOLO, Emmanuel; D JAGER, Debbie; EMMANUEL, Ameh a OYEKOLA, Oluwaseun O. Improvement of the Oxidation Stability of Waste Cooking Oil Biodiesel Using Natural Antioxidants. Online. In: . Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/375224183_Improvement_of_the_Oxidation_Stability_of_Waste_Cooking_Oil_Biodiesel_Using_Natural_Antioxidants. [cit. 2025-05-14].
- [20] FARHOOSH, Reza a MOOSAVI, Seyed Mohammad Reza. RANCIMAT TEST FOR THE ASSESSMENT OF USED FRYING OILS QUALITY. Online. *Journal of Food Lipids*. 2007,

roč. 14, č. 3, s. 263-271. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2007.00084.x>. [cit. 2025-04-29].

- [21] ABEYRATHNE, Edirisingha Dewage Nalaka Sandun; NAM, Kichang a AHN, Dong Uk. *Analytical Methods for Lipid Oxidation and Antioxidant Capacity in Food Systems*. Online. *Antioxidants*. 2021, roč. 10, č. 10, s. ID 1587. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox10101587>. [cit. 2025-04-29].
- [22] TOMPKINS, C. a PERKINS, E.G. *The Evaluation of Frying Oils with the p-Anisidine Value*. Online. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1999, roč. 76, č. 8, s. 945-947. Dostupné z: <https://doi.org/>. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0111-6>. [cit. 2025-04-29].
- [23] *Basic Gas Chromatography*. Online. New York: John Wiley & Sons, 1998. ISBN 0-471-17261-8. Dostupné z: https://web.archive.org/web/20170810122111id_/http://files.instrument.com.cn/FilesCenter/20081209/20081291894585989.pdf. [cit. 2025-04-29].
- [24] URBAN, Jiri. *Gas chromatography*. Online. In: . 2009. Dostupné z: <http://www.chromatographer.com/gas-chromatography/>. [cit. 2025-05-14].
- [25] TIMOSZUK, Magdalena; BIELAWSKA, Katarzyna a SKRZYDLEWSKA, Elżbieta. *Evening Primrose (Oenothera biennis) Biological Activity Dependent on Chemical Composition*. Online. *Antioxidants*. 2018, roč. 7, č. 8, article 108, s. 1-11. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox7080108>. [cit. 2025-05-07].
- [26] *Wild Evening Primrose*. Online. In: . Dostupné z: <https://store.experimentalfarmnetwork.org/products/wild-evening-primrose>. [cit. 2025-05-14].
- [27] BLAAK, Jürgen a STAIB, Peter. *An updated review on efficacy and benefits of sweet almond, evening primrose and jojoba oils in skin care applications*. Online. *International Journal of Cosmetic Science*. 2022, roč. 44, č. 1, s. 1-9. Dostupné z: <https://doi.org/DOI:10.1111/ics.12758>. [cit. 2025-05-07].
- [28] SHARIFI, Melika; NOURANI, Nasim; SANAIE, Sarvin a HAMEDEYAZDAN, Sanaz. *The effect of Oenothera biennis (Evening primrose) oil on inflammatory diseases: a systematic review of clinical trials*. Online. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2024, roč. 24, č. -, article 89, s. -. Dostupné z: [https://doi.org/The effect of Oenothera biennis \(Evening primrose\) oil on inflammatory diseases: a systematic review of clinical trials](https://doi.org/The effect of Oenothera biennis (Evening primrose) oil on inflammatory diseases: a systematic review of clinical trials). [cit. 2025-05-07].
- [29] SIMON, Dagmar; ENG, Petr A.; BORELLI, Siegfried; KÄGI, Roland; ZIMMERMANN, Christian et al. *Gamma-Linolenic Acid Levels Correlate with Clinical Efficacy of Evening Primrose Oil in Patients with Atopic Dermatitis*. Online. *Advances in Therapy*. 2014, roč. 31, č. 2, s. 180-188. Dostupné z: <https://doi.org/DOI:10.1007/s12325-014-0093-0>. [cit. 2025-05-07].

- [30] FECKER, Ramona; MAGYARI-PAVEL, Ioana Zinuca; COCAN, Ileana; ALEXA, Ersilia; POPESCU, Iuliana Maria et al. *Oxidative Stability and Protective Effect of the Mixture between Helianthus annuus L. and Oenothera biennis L. Oils on 3D Tissue Models of Skin Irritation and Phototoxicity*. Online. *Plants*. 2022, roč. 11, č. 21, s. 1-18. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/plants11212977>. [cit. 2025-05-07].
- [31] PAN, F.G.; CHEN, X.M.; YANG, E.Q. a LIU, B.Q. *The degradation of some volatile compounds in evening primrose oil under UV/TiO2 process*. Online. *Grasas y Aceites*. 2023, roč. 74, č. 3, s. -. Dostupné z: <https://doi.org/10.3989/gya.0992221>. [cit. 2025-05-07].
- [32] BIO Pupalkový olej. Online. In: . Dostupné z: https://www.nobilis.cz/produkt/bio-pupalkovy-olej-250-ml-fialove-sklo/?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=PER_PMAX_MIX_CZ~Profitable&utm_id=17871916004&gad_source=1&gad_campaignid=17180952178&gbraid=0AAAAADm7YNgrtt6EtBoPZkHBAlmpqa3un&gclid=CjwKCAjw_pDBBhBMEiwAmY02NuQo3ZBS8VsSetwP-YtfnfcgbdK-pAVtDKPgTjv80_5q60L6-6yVNhoCrrYQAvD_BwE. [cit. 2025-05-14].
- [33] ČÁSLAVSKÝ, Josef a ŠEVČÍK, Jiří G. K. *Organická analýza*. Online. 2022, s. 450. ISSN 978-80-88279-17-4. Dostupné z: <https://gcms.cz/products/634>. [cit. 2025-05-07].
- [34] YANG, Yong; SONG, Xiaoxiao; SUI, Xiaonan; QI, Baokun; WANG, Zhongjiang et al. *Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability*. Online. *Industrial Crops and Products*. 2016, roč. 80, č. -, s. 141-147. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.044>. [cit. 2025-05-14].
- [35] MARTIN-RUBIO, A.S.; SOPELANA, P.; IBARGOITIA, M.L. a GUILLÉN, María D. *Prooxidant effect of α -tocopherol on soybean oil. Global monitoring of its oxidation process under accelerated storage conditions by 1H nuclear magnetic resonance*. Online. *Food Chemistry*. 2018, roč. 245, č. -, s. 312-323. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.098>. [cit. 2025-05-14].
- [36] CARLOTTI, M.Eugenia; GALLARATE, Marin; GASCO, M.Rosa; MOREL, Silvia; SERAFINO, Anna et al. *Synergistic action of vitamin C and amino acids on vitamin E in inhibition of the lipoperoxidation of linoleic acid in disperse systems*. Online. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997, roč. 155, č. -, s. 251-261. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00168-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00168-3). [cit. 2025-05-10].
- [37] SYMONIUK, Edyta; WRONIAK, Małgorzata; NAPIÓRKOWSKA, Katarzyna; BRZEZIŃSKA, Rita a RATUSZ, Katarzyna. *Oxidative Stability and Antioxidant Activity of Selected Cold-Pressed Oils and Oils Mixtures*. Online. *Foods*. 2022, roč. 11, č. 11, s. -. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods11111597>. [cit. 2025-05-11].
- [38] SHUKLA, Vijai. *The Magic of Rosemary*. Online. 2004. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/331936226_The_Magic_of_Rosemary. [cit. 2025-05-14].

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1 - Mechanismus autooxidace</i>	<i>15</i>
<i>Obrázek 2 - Struktura α-tokoferolu (vitamin E)</i>	<i>21</i>
<i>Obrázek 3 - Princip metody Rancimat.....</i>	<i>25</i>
<i>Obrázek 4 - Schéma plynové chromatografie.....</i>	<i>27</i>
<i>Obrázek 5 - Pupalka dvouletá</i>	<i>28</i>
<i>Obrázek 6 – Pupalkový olej Nobilis Tilia</i>	<i>35</i>
<i>Obrázek 7 - Chromatogram methylesterů pupalkového oleje (GC-14).....</i>	<i>42</i>
<i>Obrázek 8 - Chromatogram methylesterů pupalkového oleje (GC-2010 Pro).....</i>	<i>43</i>
<i>Obrázek 9 – Srovnání zastoupení MK stanovené pomocí dvou přístrojů.....</i>	<i>44</i>
<i>Obrázek 11 - Peroxidové číslo PO, PO s Vit E a PO ve fialové skle v průběhu 9 týdnů</i>	<i>46</i>
<i>Obrázek 12 – Peroxidové číslo PO v čirém a fialovém skle v průběhu 9 týdnů.....</i>	<i>47</i>
<i>Obrázek 13 - Vývoj peroxidového čísla ve vzorcích s antioxidanty v průběhu času</i>	<i>48</i>
<i>Obrázek 14 - Obsah konjugovaných dienů PO a PO s rozmarýnovým extraktem</i>	<i>49</i>
<i>Obrázek 15 - Obsah konjugovaných trienů PO a PO s rozmarýnovým extraktem.....</i>	<i>49</i>
<i>Obrázek 16 - Obsah konjugovaných dienů PO, PO s vitamínem E a PO ve fialovém skle.</i>	<i>50</i>
<i>Obrázek 17 - Obsah konjugovaných trienů PO, PO s vitamínem E a PO ve fialovém skle</i>	<i>51</i>
<i>Obrázek 18 – Srovnání obsahu konjugovaných dienů u vzorků s antioxidantem.....</i>	<i>52</i>
<i>Obrázek 19 - Srovnání obsahu konjugovaných trienů u vzorků s antioxidantem.....</i>	<i>52</i>
<i>Obrázek 20 - Záznam průběhu měření a vyhodnocení při teplotě 120 °C</i>	<i>53</i>
<i>Obrázek 21 – Závislost indukční doby na teplotě</i>	<i>55</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1 – Obsah hlavních mastných kyselin v PO</i>	<i>29</i>
<i>Tabulka 2 – Přehled připravených vzorků PO.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabulka 3 – Identifikace a kvantifikace mastných kyselin v PO</i>	<i>43</i>
<i>Tabulka 4 - Zastoupení hlavních MK v PO dle literatury [39]</i>	<i>44</i>
<i>Tabulka 5 -Indukčních časy při různých teplotách</i>	<i>54</i>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PO	Pupalkový olej
PČ	Peroxidové číslo
BHA	Butylhydroxyanisol
BHT	Butylhydroxytoluen
PG	Propylgalát
TBHQ	terc-butylhydrochinon
CD	konjugované dieny
CT	konjugované trieny
GC	Plynová chromatografie
LA	Kyselina linolová
GLA	gama-Linolenová kyselina
TEWL	Transepidermální ztráta vody
AD	Atopická dermatitida
SAO	Slunečnicový olej
OAV	Hodnota pachové aktivity
HCA	Hierarchické shlukování
FID	Plamenoionizační detektor
FS	fialové sklo
RE	Rozmarýnový extrakt
Rt	Retenční čas
Vit E	Vitamín E
MK	Mastná kyselina
TiO ₂	Oxid titaničitý
NaCl	Chlorid sodný
Na ₂ S ₂ O ₃	Thiosíran sodný
KI	jodid draselný
HCl	kyselina chlorovodíková