

Chemické vlastnosti konopných olejů

Bc. Alžběta Bočánová

Diplomová práce
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Alžběta Bočánová**
Osobní číslo: **T19454**
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**
Studijní obor: **Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Chemické vlastnosti konopných olejů**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Student postupně prostuduje a zpracuje tyto okruhy:

1. Biologie konopí setého.
2. Využití konopného oleje.
3. Technologie výroby konopného oleje, lisování, extrakce.
4. Chemické a fyzikální vlastnosti konopného oleje.

II. Praktická část

Student provede následující testy na komerčně dostupných olejích:

1. Základní charakterizaci konopných olejů tukovými čísly.
2. Stanoví množství nezmýdelnitelných látek.
3. Připraví si methyl-estery mastných kyselin a ty následně analyzuje pomocí plynového chromatografu.
4. Oleje podrobí akcelerovanému oxidačnímu testu s přísávkem antioxidantu nebo prooxidantu.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] KAMAL-ELDIN, A., J. POKORNY. Analysis of lipid oxidation: preparation, properties and uses. 3rd ed. Champaign, Ill.: AOCS Press, c2005. ISBN 18-939-9786-3.
- [2] GUNSTONE, F. D. Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses. Hoboken: Wiley-Blackwell. c2011. ISBN 978-1-4443-3268-1.
- [3] GUNSTONE, F. D., J. L. HARWOOD, A. J. DIJKSTRA. The lipid handbook with CD-ROM. Boca Raton: CRC Press. c2007. ISBN 978-0-8493-9688-5.
- [4] PARKER, T. D., D. A. ADAMS, K. ZHOU, M. HARRIS, L. YU. Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cold-pressed Edible Seed Oils. Journal of Food Science. 2003, 68(4), 1240-1243. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb09632.x.
- [5] GAO, F., J. BIRCH. Oxidative stability, thermal decomposition, and oxidation onset prediction of carrot, flax, hemp, and canola seed oils in relation to oil composition and positional distribution of fatty acids. European Journal of Lipid Science and Technology. 2016, 118(7), 1042-1052. DOI: 10.1002/ejlt.201500208.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Ondřej Rudolf, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

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: Alžběta Bočánová

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je věnována charakterizaci konopných olejů. V teoretické části práce bylo nejprve představeno konopí jako rostlina. Dále byl zmíněn způsob pěstování této rostliny a její největší vývozci. Krátce bylo zmíněno využití konopí jako rostliny. Poté byl charakterizován konopný olej, jeho získávání, vlastnosti, složení oleje a také využití konopného oleje. Dále je teoreticky zmíněné, jak lze konopný olej charakterizovat. V praktické části této práce je olej charakterizován pomocí vybraných metod. Byla zvolena charakterizace pomocí tukových čísel, dále charakteristika mastných kyselin metodou methylesterů na plynové chromatografii a nakonec analýza oxidace konopných olejů na přístroji Rancimat. Při stanovení tukových čísel byla hodnota peroxidového čísla v rozmezí 7–34 $\mu\text{val}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku, jodové číslo se pohybovalo v rozmezí 107–121 %, číslo kyselosti dosahovalo hodnot 0,8–2,4 $\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$ a číslo zmydelnění 199–215 $\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejhojněji vyskytující se mastnou kyselinou v konopném oleji je kyselina linolová s obsahem v rozmezí 57–61 %. Oxidace na rancimatu byla provedena při různých teplotách.

Klíčová slova: konopí, konopný olej, tuková čísla, plynová chromatografie, rancimat

ABSTRACT

This diploma thesis is devoted to the characterization of hemp oils. In the theoretical part of the work, cannabis was first introduced as a plant. The method of growing this plant and its largest exporters were also mentioned. The use of cannabis as a plant was briefly mentioned. Then, hemp oil was characterized, its acquisition, properties, oil composition and also the use of hemp oil. It is also theoretically mentioned how hemp seed oil can be characterized. In the practical part of this work, the hemp seed oil is characterized using selected method. The characterization using fat numbers, the characterization of fatty acids by the method of methyl esters on gas chromatography and finally the analysis of the oxidation of hemp oils on the Rancimat device were chosen. When determining the fat numbers, the value of the peroxide number was in the range of 7–34 $\mu\text{val}\cdot\text{g}^{-1}$ fat, the iodine number was in the range of 107–121 %, the acid number reached values of 0,8–2,4 $\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$ and saponification number 199–215 $\text{mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$. The most abundant fatty acid in hemp oil is linoleic acid with a content in the range of 57–61 %. Oxidation on rancimat was performed at different temperatures.

Keywords: hemp, hemp seed oil, fat numbers, gas chromatography, rancimat

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu mé práce Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D, za cenné rady a užitečné připomínky při zpracování práce. Dále bych chtěla poděkovat celé rodině za podporu v průběhu studia jak psychickou, tak finanční. Nakonec bych chtěla poděkovat všem přátelům, kteří se mnou i přes to všechno chtějí udržovat nějaký kontakt. Já vím, bylo to náročné. Ještě jednou všem děkuji.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 KONOPÍ.....	11
1.1 BOTANICKÉ ZAŘAZENÍ KONOPÍ.....	11
1.2 PĚSTOVÁNÍ KONOPÍ	13
1.2.1 Legislativa v České republice	13
1.3 PRODUKCE KONOPÍ.....	14
1.4 KONOPNÁ SEMENA	14
1.5 VYUŽITÍ KONOPÍ.....	16
2 KONOPNÝ OLEJ	17
2.1 ZÍSKÁVÁNÍ KONOPNÉHO OLEJE.....	18
2.2 MASTNÉ KYSELINY VYSKYTUJÍCÍ SE V KONOPNÉM OLEJI	20
2.2.1 Kyselina linolová	25
2.2.2 Kyselina α -linolenová.....	25
2.2.3 Kyselina γ -linolenová.....	26
2.3 TRIACYLGLYCEROLY VYSKYTUJÍCÍ SE V KONOPNÉM OLEJI	26
2.4 MINORITNÍ SLOŽKY VYSKYTUJÍCÍ SE V KONOPNÉM OLEJI.....	27
2.5 VYUŽITÍ KONOPNÉHO OLEJE	29
3 CHARAKTERIZACE KONOPNÉHO OLEJE.....	30
3.1 TUKOVÁ ČÍSLA	30
3.1.1 Peroxidové číslo	30
3.1.2 Anisidinové číslo.....	30
3.1.3 Thiobarbiturové číslo	31
3.1.4 Číslo kyselosti	31
3.1.5 Číslo zmýdelnění.....	31
3.1.6 Jodové číslo	31
3.2 ANALÝZA POMOCÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRFIE	32
3.3 OXIDAČNÍ STABILITA	32
3.3.1 Schaalův test.....	33
3.3.2 Rancimat	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
4 CÍL PRÁCE	36
5 VYBRANÉ KONOPNÉ OLEJE.....	37
6 TUKOVÁ ČÍSLA	42
6.1 MATERIÁLOVÉ A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	42
6.2 METODIKA	42

6.2.1	Peroxidové číslo	42
6.2.2	Jodové číslo	43
6.2.3	Číslo kyselosti a číslo zmýdelnění	44
6.3	VÝSLEDKY A HODNOCENÍ.....	45
6.3.1	Peroxidové číslo	45
6.3.2	Jodové číslo	49
6.3.3	Číslo kyselosti	49
6.3.4	Číslo zmýdelnění.....	50
7	PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE	51
7.1	MATERIÁLOVÉ A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	51
7.2	METODIKA	51
7.3	VÝSLEDKY A HODNOCENÍ.....	52
7.3.1	Konopný olej Rekord	54
7.3.2	Konopný olej Zelená země.....	55
7.3.3	Konopný olej Bewit	55
7.3.4	Konopný olej Saloos	56
7.3.5	Konopný olej Nobilis Tilia.....	57
8	OXIDAČNÍ STABILITA.....	59
8.1	MATERIÁLOVÉ A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	60
8.2	METODIKA	60
8.3	VÝSLEDKY A HODNOCENÍ.....	60
	ZÁVĚR	66
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	68
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	73
	SEZNAM OBRÁZKŮ	74
	SEZNAM TABULEK.....	76

ÚVOD

Popularita výrobků z konopí v posledních letech roste. Na trhu se dnes již běžně setkáváme s celou řadou konopných produktů. Na trhu můžeme najít čistý konopný olej, který lze využít jak v kuchyni, tak v péči o pokožku. Setkáváme se s textilními výrobky z konopí, s konopným papírem. Konopí lze využít i ve stavebnictví. V poslední době na nás na každém rohu vyskakují tzv. CBD oleje, které by měly mít spoustu blahodárných účinků na naše zdraví.

Tato práce je věnována konopnému oleji a jeho popisu. Na úvod bylo zmíněno pár informací o konopí jako rostlině, o jeho využití a pěstování. Hlavní části teoretické práce byly zaměřeny na konopný olej a jeho charakterizaci. U konopného oleje bylo uvedeno jeho rámcové složení, porovnání konopného oleje s jinými oleji a také rozdíly mezi jednotlivými kultivary této rostliny. Z minoritních látek vyskytujících se v konopném oleji byly zmíněny zejména antioxidanty. Těm bylo věnováno více pozornosti z důvodu analýzy oxidační stability konopných olejů v praktické části práce. U charakterizace oleje bylo zmíněno několik metod, které lze využít obecně a jsou vhodné pro použití i v případě konopného oleje.

Praktická část práce byla zaměřena právě na analýzu různých druhů komerčně dostupných konopných olejů na českém trhu. Nejjednodušší metodou jak olej charakterizovat jsou tuková čísla. U námi vybraných olejů bylo nejprve stanoveno číslo peroxidové, jako ukazatel primární oxidace olejů. Pro zjištění obsahu volných mastných kyselin bylo stanoveno číslo kyselosti. Číslo zmýdelnění bylo stanoveno z důvodu zjištění celkového obsahu mastných kyselin jak vázaných, tak volných. Pro zjištění míry nenasycenosti vazeb bylo stanoveno číslo jodové. Dále byly oleje podrobeny methylesterifikaci a analyzovány na plynovém chromatografu na přítomnost jednotlivých mastných kyselin. V poslední řadě byly oleje podrobeny urychlené oxidaci.

Tato diplomová práce navazuje na bakalářskou práci Konopné oleje jako kosmetická ingredience. Bakalářská práce byla vypracována formou literární rešerše, kdy bylo popsáno konopí, konopný olej a jeho využití zejména v kosmetickém průmyslu.¹

¹ BOČÁNOVÁ, Alžběta. *Konopné oleje jako kosmetická ingredience*. Zlín, 2019. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KONOPÍ

Konopí je široce využívanou plodinou, která je nezbytná v celé škále různých odvětví. Je pěstováno pro získání vláken, která jsou potřebná například pro výrobu konopných lan či konopných tkanin. Potřebná jsou také v papírenském průmyslu. Další široké uplatnění má tato plodina v potravinářském a medicínském průmyslu. V potravinářství se nejvíce využívá konopných semen, která se mohou konzumovat jako taková nebo se z nich získává konopný olej. Stále častěji se však můžeme setkat s konopím i v dalších formách, například konopný protein nebo konopná mouka. [1]

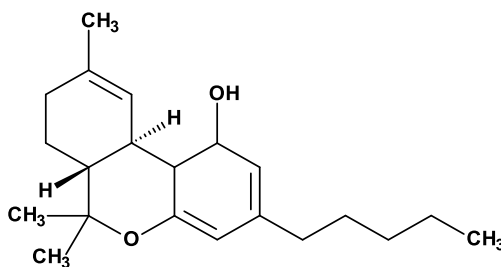
Začátek pěstování konopí je datován okolo roku 2700 př. n. l. v Číně. Pravděpodobně došlo k rozšíření konopí přes Asii do Evropy, z které se pak dostalo do Ameriky a potažmo celého světa. Dříve bylo široce využíváno pro své širokospektrální aplikace pro výrobu lan, papíru i textilu. Konopí bylo využíváno v tradiční orientální medicíně po celá tisíciletí. Lze předpokládat, že konopí je jednou z prvních plodin, která byla pěstována cíleně pro své benefity, ať už se jedná o průmysl, potraviny či medicínu. [1][2]

V posledních letech zažívá konopí velký návrat. Oproti roku 2000 narostl počet vědeckých prací, které se zabírají právě konopím několikanásobně. Nejčastěji se jedná o využití konopí v potravinářském průmyslu, dále ve farmaceutickém a kosmetickém odvětví. [1]

1.1 Botanické zařazení konopí

Konopí je bylina patřící do čeledi konopovité (*Cannabiaceae*). Do této čeledi patří i jiné významné plodiny jako například chmel otáčivý (*Humulus lupulus*). Rostliny patřící do této čeledi jsou zejména jednoleté až vytrvalé. Jejich lodyha je většinou přímá nebo ovíjivá a vyznačuje se vstřícným postavením listů. Plodem rostlin z této čeledě je nažka a květy jsou ve většině případů dvoudomé. [1][3]

Nejčastěji se můžeme setkat s označením Konopí seté (*Cannabis sativa*). Konopí seté má dřevnatějící hranatou a dutou lodyhu. Vlákna tvrdého lýka této rostliny jsou sklerenchymatická. Tento druh má dva poddruhy a to *Cannabis sativa* subsp. *indica* a *Cannabis sativa* subsp. *sativa*. Poddruh *indica* je známý zejména pro svůj vysoký obsah psychoaktivního kanabinoidu Δ^9 -tetra-hydrokannabinol neboli THC (obr. 1). Díky vysokému obsahu této látky bývá konopí zneužíváno jako droga a je známé pod pojmem marihuana. Druhý poddruh *sativa*, má nízký obsah tohoto THC a nevyužívá se jako droga. Jeho využití tkví v celé řadě průmyslových odvětví. [1][2][3]



Obrázek 1: Strukturální vzorec THC²

Oba tyto poddruhy se mohou domestikovat, ale nacházejí se i v divoké formě. Domestikované formy jsou *Cannabis sativa* subsp. *sativa* var. *sativa* (obr. 2) a *Cannabis sativa* subsp. *indica* var. *indica*. Divoké formy jsou *Cannabis sativa* subsp. *sativa* var. *spontanea* a *Cannabis sativa* subsp. *indica* var. *kafiristanica*. [1][2]



Obrázek 2: Konopí seté <https://leporelo.info/konopi-sete> [cit. 19. 1. 2021]

Vzhledem k tomuto systému zařazení se pro medicínské účely využívá zejména subsp. *indica* a pro ostatní průmyslová odvětví se používá subsp. *sativa*. Ačkoliv se zdá rozdělení velmi přesné a striktní, existuje spousta hybridů těchto poddruhů a variant a ty rozostřují zavedené hranice mezi jednotlivými typy. Z tohoto důvodu je přesné zařazení rostliny poněkud obtížné a při určení se využívá genetika rostlin. Je možné, že se v budoucnu setkáme s jiným taxonomickým rozřazením. [1][2]

² Všechny strukturální vzorce v této diplomové práci byly vytvořeny pomocí programu BIOVIA draw 2019

Konopí je typicky dvoudomý, křížově opylovaný druh s diploidním genomem ($2n = 20$), ačkoliv se vyskytují i jednodomé druhy. Je to druh geneticky složitý a proto má významnou variabilitu fenotypu a genotypu. [1]

1.2 Pěstování konopí

Pěstování konopí je více efektivní a méně náročné než pěstování ostatních zemědělských plodin. Konopí je vhodnou rostlinou pro ekologicky šetrné zemědělství. Díky rychlému růstu, samotná rostlina brání dopadu slunečního světla na půdu pod ní a tím brání růstu plevelů. Takovéto rostliny není třeba postříkovat pesticidy nebo herbicidy. Rostliny brání i před vodní a větrnou erozí, právě díky tomu, že nedochází k takovému odpařování vody z půdy. [1][4][5]

Konopí může být pěstováno na různých druzích půdy a za rozličných podmínek. Nejlépe se jí daří na písčitéch půdách při vhodné zálivce a teplotě od 16 do 27 °C. Z minerálních látek postačují základní, jako je například draslík, fosfor nebo dusík. Tato plodina má tendenci růst velmi rychle. Kořenový systém konopí pomáhá k provzdušnění půdy. Listy konopí, které opadnou, slouží k návratu živin do půdy. [1][3][4][5]

Hustotou výsadby lze ovlivnit, k jakému účelu je konopí pěstováno. Pro konopí, ze kterého se získávají vlákna, je vhodná velmi hustá výsadba, která podpoří růst rostliny do výšky a tím zvětší objem vláken. Takto pěstované rostliny mohou dosáhnout výšky okolo 5 metrů. Kultivary konopí, které se pěstují primárně pro svá vlákna, se sklízí ve fázi květu, což je obvykle v srpnu. Poté co vzrostl zájem o konopná semena jakožto nutričně bohaté komponenty, se muselo upravit i pěstování této plodiny. Rostliny, které jsou pěstovány za účelem výnosu semen, jsou pěstovány dále od sebe, aby bylo podpořeno jejich rozvětvení a tím vyšší počet květu. Tyto rostliny dosahují pouze do výšky okolo jednoho metru. Rostliny pro získávání konopných semen jsou sklizeny později, a to v září. [1][2][5]

1.2.1 Legislativa v České republice

V České republice se pěstování konopí řídí zákonem č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů. Pěstování konopí je legální pouze v případě, že pěstujeme tzv. technické konopí. V tomto případě obsah THC nesmí být vyšší než 0,3 % jak v rostlině, tak v sušených částech rostliny. Pokud je plocha pro pěstování tohoto technického konopí ve výměře větší než 100 m², je nutno o této

skutečnosti informovat příslušné státní orgány. Stejná povinnost informovat platí například i pro mák setý. Náležitosti jsou blíže specifikovány v § 29 výše zmíněného zákona. [6]

Odrůdy konopí, jež mají vyšší obsah THC jak zmíněných 0,3 % nelze na území České republiky volně legálně pěstovat. Tyto odrůdy lze legálně pěstovat jen v případě, že pěstitel má licenci na pěstování konopí pro léčebné účely. Tuto licenci zřizuje Státní ústav pro kontrolu léčiv. Výjimku mohou mít pouze specializovaná lékařská a vědecká pracoviště, jež jsou zřízena státem. Tato pracoviště si musí opatřit povolení od ministerstva zdravotnictví. [6]

1.3 Produkce konopí

Globální trh v produkci konopí využívaného pro svá vlákna je v Číně. Až polovina celosvětové produkce se nachází právě v Asii. Trend v pěstování konopí lze přičíst poptávce po udržitelných zemědělských postupech při pěstování plodin, vysoké kvalitě konopných vláken a v neposlední řadě i nutriční aspekt plodiny. V roce 2011 bylo vydáno 340 licencí na pěstování průmyslového konopí ve střední a západní Kanadě. Plodina byla v tomto roce pěstována na 39 000 akrech³ půdy. V roce 2018 se na tom samém místě pěstovalo konopí na 77 000 akrech půdy. Co se týče pěstování průmyslového konopí ve Spojených státech amerických, od roku 2014 se rozměr akrů zvýšil z nuly na 90 000. Na konci roku 2019 byla výměra pro pěstování průmyslového konopí v USA 146 000 akrů. Počet licencí od roku 2014 do roku 2018 vzrostl z 292 na 3 852. Budoucnost pěstování průmyslového konopí v USA je nejasná. Existuje soutěž s jinými plodinami a roste obliba pěstování konopí v dalších zemích, což snižuje jeho tržní hodnotu. [1]

Evropská komise zahrнула konopí mezi hospodářsky využitelnou plodinu. V databázi je zahrnuto 67 variant konopí, které lze legálně pěstovat. Největším producentem konopných semen v Evropě je Francie. [2]

1.4 Konopná semena

Konopná semena jsou velmi bohatá na celou řadu makroživin a fytochemikálií. Jedná se o vyvážený produkt s bioaktivními složkami, které se podílejí na podpoře zdraví nad rámec základní výživy. Z konopných semen se získává konopný olej. Tématu konopného oleje je věnována další kapitola této práce. Loupaná semena (obr. 3) se využívají v potravě.

³ Akr je jednotka plochy používána v anglicky mluvících zemích. Jeden hektar se rovná 2,4711 akrů. 39 000 akrů se rovná přibližně 15 782,5 hektarů.

Konopný olej se získává z neloupaných konopných semen (obr. 4). Rozdíly mezi loupanými a neloupanými semeny jedné odrůdy rostliny jsou minimální, co se týče složení mastných kyselin. [1][2]



Obrázek 3: Konopné semeno loupané <https://www.zodo.cz/konopna-seminka-loupana/> [cit. 19. 1. 2021]



Obrázek 4: Konopné semeno neloupané <https://www.ipavelvana.eu/cs/konopi/123-konopne-seminko-neloupane-250-g-8595058901871.html> [cit. 19. 1. 2021]

Hlavními složkami konopného semene jsou proteiny (20–25 %), vysoké obsahy lipidů (25–35 %) a sacharidy (20–30 %). Konopná semena mají také vysoký obsah vlákniny (27–36 %). V semenech lze nalézt celou řadu prospěšných látek, například vitamíny A, C nebo E. Dále se zde vyskytuje draslík, síra, fosfor, vápník či hořčík. Konopná semena mohou vážit od 8 do 27 mg. Pokud jsou semena zralá mají tmavě zelenou až hnědou barvu. Konopná semena jsou vhodná pro celiaky, jelikož neobsahují gluten. [1][7][8][9]

V tabulce 1 je znázorněna základní charakteristika semen. Tato agronomická a průmyslová charakterizace semen je základem k pěstování rostliny. Pro technické využití je důležitý zejména nízký obsah THC. Vybrané kultivary jsou z katalogu národní federace producentů konopí (NFHP) a jsou schválené Evropskou unií. [10]

Tabulka 1: Charakterizace semen konopí[10]

Kultivar	Santhica 27	Epsilon 68	Futura 75
Květenství	průměrné	pozdní	pozdní
Rok registrace	2002	1996	1998
Pěstitel	NFHP	NFHP	NFHP
Obsah THC [%]	<0,001	0,04	0,06
Váha tisíce semen (PMG)	16,8	19,3	18,9
Obsah vláken [%]	35,81	30,45	30,77

Konopný protein je vhodný jak pro lidskou, tak pro zvířecí výživu. Skládá se zejména z lehce stravitelných a vysoce kvalitních bílkovin, mezi které řadíme edestin a albumin. Tyto bílkoviny jsou obsaženy v poměru 1:2. Jedná se o bílkoviny, které jsou bohaté na esenciální aminokyseliny. [1][2][7]

1.5 Využití konopí

Konopí má širokou škálu použití v různých odvětvích průmyslu. Konopná vlákna lze využít například na výrobu textilu, malířských pláten a papíru nebo ve stavebnictví. Můžeme se setkat i s konopnými plasty. [4][5][11]

Textil vyrobený z konopí je méně ekologicky zatížený než textil vyrobený například z bavlny, jelikož je pěstování konopí méně náročné než pěstování bavlny. Také při zpracování konopí je využité menší množství vody než při zpracování jiných spřadných rostlin. Konopné textilie jsou odolné, dobře odvádí vlhkost a jsou pevné. Konopí se využívá i pro výrobu bot, kdy v tomto případě mohou být boty vyrobené pouze z konopí. U oblečení se většinou využívají směsi konopí a například bavlny, kdy poměr obou rostlin je individuální a záleží na následném využití látky. [4][5][11]

Co se týče papíru z konopí, jedná se taktéž o ekologičtější alternativu oproti běžnému papíru vyrobenému ze dřeva. Konopný papír má nižší obsah ligninu a proto se snáze bělí a zpracovává. [4][5][11]

Ve stavebnictví může konopí nahradit celou škálu jiných materiálů. Konopí může být náhradou dřeva na výrobu desek a dalšího zpracování. Takové dřevo lze využít při výrobě nábytku. Beton lze nahradit specifickými směsi konopí taktéž. Konopí lze využít i jako izolační materiál, kdy jsou konopná vlákna obdobou minerální a skelné vaty. [12]

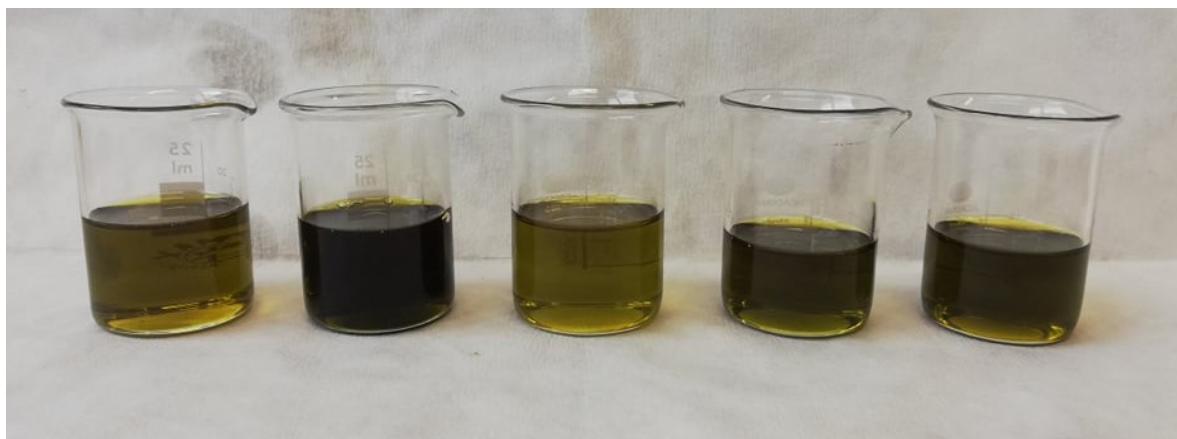
2 KONOPNÝ OLEJ

Konopný olej patří mezi vysoce nenasycené rostlinné oleje. Oblíbenost konopného oleje v posledních letech roste a není se čemu divit. Jedná se o ideální nutriční zdroj. V konopném oleji najdeme esenciální mastné kyseliny, spoustu vitamínů a řadu minerálních látek. Mezi oleje, které se svým složením dají srovnat s konopným olejem, patří například lněný olej nebo olej makový. [8][14][15] [16][22]

Nerafinovaný konopný olej má zelenou barvu a lehce oříškovou vůni i chuť. Jednotlivé konopné oleje se od sebe liší intenzitou barvy i intenzitou vůně. Rozdíl v odstínu barvy lze vidět na obrázku 5. Na tomto obrázku jsou vybrané oleje z praktické části diplomové práce a lze říci, že rozdíly v barvě mohou být výrazné. Nerafinovaný konopný olej obsahuje všechny důležité nutriční komponenty. Tento nerafinovaný olej je používán převážně v potravinářském průmyslu. V kosmetickém průmyslu se můžeme setkat s používáním rafinovaného konopného oleje. Ten je bezbarvý a je bez minerálních látek a vitamínů. [8] [11][15] [18]

Mezi největší přednosti konopného oleje patří právě jeho složení. Konopný olej je znám ideálním poměrem $\omega 6$ a $\omega 3$ mastných kyselin 3:1. Udává se, že toto složení je vhodné na podporu funkce kardiovaskulárního systému, příznivě ovlivňuje metabolismus lipidů a jeho benefity lze využít i při zevní péči o pokožku. Konopnému oleji je přisuzováno snížení cholesterolu a krevního tlaku. Může preventivně působit proti rakovině a srdečním nemocem. [8] [11][15] [18]

Konopný olej má velmi široké portfolio využití. Využití konopného oleje je věnována jedna z podkapitol níže.



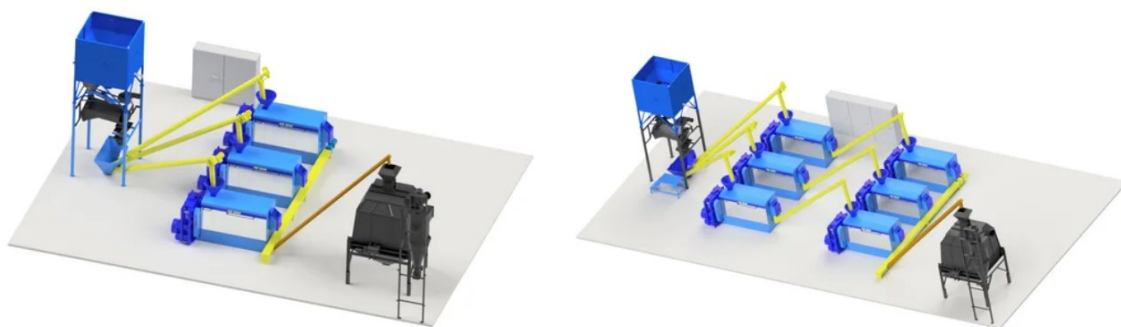
Obrázek 5: Konopné oleje vybrané z praktické části diplomové práce

2.1 Získávání konopného oleje

Konopný olej se jako mnohé další oleje získává lisováním za studena. Lisování olejů za studena má mnohé výhody. Jednou z výhod je fakt, že takto získaný olej si zachovává prospěšné nutriční látky, antioxidanty a mnohé jiné. Jelikož nedochází při lisování k zahřívání oleje, nedochází tak ani k jeho předčasné oxidaci. Oleje získané touto metodou nemusí být rafinovány a jsou pouze přečištěny pomocí vody, přefiltrovány a odděleny pomocí centrifugy. Jedná se o kvalitnější oleje, které jsou na trhu populární a jejich obliba roste. Oleje získané lisováním za studena mají intenzivní chuť, vůni a také barvu. Tato metoda se využívá zejména pro semena obsahující vysoké procento oleje nebo pro dužnaté plody jako jsou olivy. Lisování olejů za studena je průmyslově velmi výhodná metoda. Jedná se o metodu mechanické extrakce, při které není potřeba takové množství energie jako u jiných metod, což je ekonomicky výhodnější. Mechanická extrakce je rychlým, jednoduchým a levným způsobem získávání olejů. Při této metodě nejsou potřeba žádná další rozpouštědla, která by mohla například snižovat kvalitu výsledného oleje. [17][19]

Nevýhodou této metody je její nízká výtěžnost a také horší dosažení stejné kvality u olejů. Po vylisování semen v nich zůstává přibližně 7 % zbytkového oleje. Tento obsah je možný snížit predehřátím semen na konečných 4–6 %. Na druhou stranu, v zahřátých semenech může docházet k nežádoucím procesům. [17]

Nejčastěji využívanou metodou je lisování pomocí šnekových lisů, kdy změnou tvaru šnekovice dochází ke stlačování lisovaného materiálu a tím k uvolnění oleje ze semen. Lisování může být jednostupňové nebo dvojestupňové. Rozdíl mezi nimi je ten, že při dvojestupňovém lisování, jsou výlisky po prvním lisování podrobeny dalšímu lisování. Schéma těchto lisů je uvedeno na obrázku 6. Přístroj na lisování olejů za studena má jeden vstupní otvor, do kterého se přivádí připravená semena a dva vývody, kdy z jednoho teče vylisovaný olej a z druhého neolejové zbytky, tzv. koláč. Obecně lze tyto přístroje rozdělit na expelery, expandery a dvojitě chlazené přístroje. Dvojitě chlazené systémy se v dnešní době využívají pouze v laboratorních podmínkách. Expelery jsou nejstaršími přístroji a k prvnímu lisování na nich došlo již v roce 1902, jedná se o nejběžnější druh lisování. [17][19] [20]



Obrázek 6: Schéma rozdílu mezi jednostupňovým a dvoustupňovým lisem
<https://www.farmet.cz/cs/lisovani-za-studena> [cit. 7. 4. 2021]



Obrázek 7: Jednostupňový lis firmy Farnet <https://www.farmet.cz/cs/cp1-jednostupnovel-isovani-za-studena#tab-Photogallery> [cit. 7. 4. 2021]

Na obrázku 7 vidíme jednostupňový lis určený pro lisování za studena od firmy Farnet. Pomocí tohoto lisu můžeme získat velmi kvalitní oleje lisováním slunečnice, řepky, konopí, vinných semínek, lnu, máku, ostropestřce a řadě dalších. [19]

Získaný olej obsahuje i zbytky semen tzv. prolis, proto je nutné olej přefiltrovat. K filtraci jsou nejčastěji využívány deskové naplavovací filtry. Samotný prolis slouží jako filtrační médium. Neolejové zbytky tzv. výlisky (obr. 8) jsou významným zdrojem snadno stravitelných a kvalitních bílkovin a aminokyselin. Tyto zbytky jsou potenciální surovinou pro další zpracování v potravinářském průmyslu. Výlisky mají své uplatnění při výrobě živočišných krmiv. Konopné výlisky jsou vhodné pro menší zvířata i pro velká hospodářská zvířata jako jsou koně. [20]



Obrázek 8: Konopné vylisky <https://www.zelenazeme.cz/obchod/konopne-pokrutiny-20-kg>
[cit. 7. 4. 2021]

Kritickými parametry při extrakci za studena jsou vlastnosti suroviny jako například přítomnost skořápky nebo slupky, vlhkost suroviny, obsah oleje a druh surového materiálu. Také záleží na teplotě, která je použita a na použité předúpravě suroviny. [17]

2.2 Mastné kyseliny vyskytující se v konopném oleji

V konopném oleji se obvykle vyskytuje 33 různých mastných kyselin. Nejvíce zastoupenými kyselinami jsou: kyselina linolová (C18:2, ω 6, LA) a kyselina α -linolenová (C18:3, ω 3, ALA). Dále se v oleji vyskytují kyselina olejová (C18:1, ω 9), stearová (C18:0), γ -linolenová (C18:3, ω 6, GLA) a také kyselina palmitová (C16:0). V minimálním zastoupení se setkáváme i s kyselinami arachová (C20:0), eikosenovou (C20:1, ω 6), eikosadienovou (C20:2, ω 6), palmitoolejovou (C16:1, ω 9) a kyselinou behenovou (C22:0). Obsah mastných kyselin v konopném oleji je uveden v tabulce 2. Co se týče nasycených MK celkově (SFA), mononenasycených MK celkově (MUFA), polynenasycených MK celkově (PUFA) a celkového počtu ω 3 a ω 6 MK, jsou tato množství uvedena v tabulce 3. [8][9][14][15]

Složení mastných kyselin se liší podle způsobu pěstování, podle typu kultivaru i podle místa pěstování. Rozdíly mezi jednotlivými typy jsou zaznamenány v tabulce 4. Jedná se o zastoupení mastných kyselin v neloupaných konopných semenech, nikoliv v konopném oleji. Hodnoty v tabulce byly získány přímou transesterifikací. Konopí bylo pěstováno na území Polska. [2] V tabulce 5 jsou uvedeny obsahy mastných kyselin v konopném oleji z konopí pěstovaného v Maroku. Oleje byly získány z třech různých kultivarů konopí. V tabulce 6 je uvedeno složení konopného oleje v porovnání s jinými druhy olejů. Vybrány

byly běžné řepkové a olivové oleje. Dále také oleje, které jsou podobné konopnému. Mezi tyto řadíme olej makový či lněný.

Tabulka 2: Obsah mastných kyselin v konopném oleji stanovený pomocí plynové chromatografie

	Obsah [%] [15]	Obsah [%] [10]	Obsah [%] [10]	Obsah [%] [9]	Obsah [%] [21]
C16:0	5,9 ± 0,3	7,32 ± 0,02	7,70 ± 0,03	5,62 ± 0,04	6,26 ± 0,34
C18:0	2,2 ± 0,0	2,40 ± 0,02	2,44 ± 0,04	2,68 ± 0,12	2,27 ± 0,03
C18:1, ω9	9,0 ± 0,2	12,80 ± 0,04	13,30 ± 0,03	11,90 ± 0,35	11,72 ± 0,04
C18:2, ω6	55,3 ± 0,1	57,70 ± 0,10	56,71 ± 0,10	55,05 ± 0,47	59,96 ± 0,23
C18:3, ω3	20,3 ± 0,0	14,72 ± 0,03	13,66 ± 0,04	16,70 ± 0,08	19,33 ± 0,08

V tabulce 2 jsou zobrazeny nejvýznamnější zástupci z mastných kyselin u konopného oleje. Je zde porovnáno několik různých olejů. Z tabulky je patrné, že jsou si hodnoty velice podobné a nedochází k výraznějším změnám u jednotlivých olejů. Hodnoty byly stanoveny pomocí plynového chromatografu, kdy nejprve bylo nutné vybraným způsobem převést mastné kyseliny na příslušné methylestery, ty pak byly následně analyzovány.

Tabulka 3: Zastoupení kyselin v konopném oleji

	Obsah [%] [7]	Obsah [%] [15]	Obsah [%] [10]	Obsah [%] [10]	Obsah [%] [10]
SFA	8	11	11	11	11
MUFA	9	10	14	14	14
PUFA	82	80	70	72	72
ω3 celkem	24	20	14	15	15
ω6 celkem	58	60	57	57	58

Hodnoty uvedené v tabulce 3 jsou zaokrouhleny na celá procenta. Hodnoty v tabulce nám potvrzují složení mastných kyselin v konopném oleji. Dle procentuálního zastoupení nasycených a nenasycených MK, lze skutečně potvrdit, že konopný olej je vysoce nenasycený. Co se týče poměrů ω3 a ω6 MK i tady lze potvrdit poměr ω3:ω6 a to zhruba 1:3. Jak již bylo několikrát zmíněno, v olejích mohou být nepatrné rozdíly. Obecně lze říci, že porovnáním několika studií došlo k potvrzení hodnot, které jsou pro konopný olej notoricky známé.

Tabulka 4: Rozdíly ve složení MK v neloupaných semenech konopí u různých kultivarů [2]

	Obsah [%]				
	Bialobrzeskie	Carmagnola	Fedora 17	Kompolti	Tiborszallasi
C16:0	8,21 ± 0,21	8,30 ± 0,01	7,07 ± 0,28	7,08 ± 0,01	7,95 ± 0,03
C18:0	2,52 ± 0,08	2,33 ± 0,03	2,99 ± 0,16	2,86 ± 0,01	2,35 ± 0,02
C18:1, ω9	13,42 ± 0,12	12,86 ± 0,23	13,43 ± 0,21	17,31 ± 0,22	14,94 ± 0,12
C18:2, ω6	56,52 ± 0,30	56,65 ± 0,14	55,64 ± 0,31	54,99 ± 0,12	56,82 ± 0,09
C18:3, ω6	3,27 ± 0,06	1,29 ± 0,06	2,88 ± 0,01	0,86 ± 0,01	2,02 ± 0,04
C18:3, ω3	12,85 ± 0,23	15,87 ± 0,09	15,09 ± 0,33	14,45 ± 0,09	13,28 ± 0,07
C20:0	0,81 ± 0,01	0,78 ± 0,01	0,91 ± 0,02	0,92 ± 0,01	0,86 ± 0,01
C22:0	0,39 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,43 ± 0,01	0,42 ± 0,01

Z tabulky 4 je patrné, že rozdíly mezi kultivary nejsou nijak závratné. Většina hodnot si je velmi podobná. Rozdíly odpovídají rozdílům, se kterými se setkáváme u konopného oleje. Každý olej má nepatrně jiné složení mastných kyselin, a to právě odpovídá druhu rostliny z níž byl olej vylisován. U producentů konopného oleje se setkáváme s faktem, že každá šarže má specifické složení MK. Z tohoto důvodu je pěstování konopí náročnější, jelikož není snadné splnit podmínky pěstování tak, aby si jednotlivé šarže olejů byly co nejpodobnější.

Tabulka 5: Rozdíly v zastoupení MK v konopném oleji u různých kultivarů konopí[10]

	Obsah [%]		
	Santhica 27	Epsilon 68	Futura 75
C16:0	7,70 ± 0,03	7,40 ± 0,04	7,32 ± 0,02
C16:1, ω9	0,20 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,20 ± 0,01
C18:0	2,44 ± 0,04	2,60 ± 0,04	2,40 ± 0,02
C18:1, ω9	13,30 ± 0,03	13,13 ± 0,03	12,80 ± 0,04
C18:2, ω6	56,71 ± 0,10	57,12 ± 0,10	57,70 ± 0,10
C18:3, ω6	3,10 ± 0,05	2,74 ± 0,05	2,80 ± 0,04
C18:3, ω3	13,66 ± 0,04	14,80 ± 0,06	14,72 ± 0,03
C20:0	0,92 ± 0,05	0,90 ± 0,05	0,92 ± 0,05
C20:1	0,82 ± 0,02	0,70 ± 0,02	0,84 ± 0,02

V tabulce 5 vidíme, že jednotlivé rozdíly ve složení mastných kyselin jsou opravdu minimální. Je možné, že pokud by byly tyto kultivary pěstovány na jiném území, byly by rozdíly výraznější. Jelikož se jedná o pěstování různých kultivarů, ale na stejném území a za stejných podmínek, nejsou rozdíly nikterak závratné.

Mastné kyseliny konopného oleje byly převedeny transesterifikací pomocí methanolického roztoku KOH na methyl estery. Byla použita kapilární kolona Carbowax 20M (25 m × 0,32 mm × 0,25 μm). Byl použit chromatograf Agilent s teplotou detektoru 260 °C a dusíkem jako nosným plynem. Analýzy byly prováděny v izotermě při 200 °C. Stanovení mastných kyselin bylo provedeno pomocí retenčních časů, kdy porovnáním retenčních časů se standardy vybraných mastných kyselin bylo určeno o jaké MK se jedná.

Tabulka 6: Rozdíly v obsahu mastných kyselin mezi různými druhy olejů

	Konopný olej* [%] [16]	Olivový olej** [%] [10]	Lněný olej* [%] [16]	Řepkový olej* [%] [16]	Makový olej*** [%] [22]
C16:0	5,98 ± 0,02	10,11	5,76 ± 0,09	4,75 ± 0,11	8,35 ± 0,02
C16:1, ω9	0,08 ± 0,01	0,83	0,11 ± 0,02	0,26 ± 0,06	0,10 ± 0,00
C18:0	2,41 ± 0,09	3,73	2,70 ± 0,18	1,43 ± 0,01	1,96 ± 0,01
C18:1, ω9	9,15 ± 0,17	78,66	15,13 ± 0,41	57,56 ± 0,13	15,2 ± 0,07
C18:2, ω6	55,64 ± 1,21	5,44	16,20 ± 0,68	22,67 ± 0,09	67,0 ± 0,05
C18:3, ω6	5,30 ± 0,12	-	0,23 ± 0,16	-	-
C18:3, ω3	18,02 ± 0,19	0,67	58,84 ± 0,91	11,47 ± 0,02	1,02 ± 0,01
C20:0	0,93 ± 0,01	0,40	0,37 ± 0,02	0,53 ± 0,09	0,10 ± 0,00

V tabulce 6 vidíme, jak je na tom konopný olej v porovnání s jinými dostupnými oleji, co se týče procentuálního zastoupení mastných kyselin. Byl vybrán olej lněný a makový. Tyto dva by měli být konopnému oleji velmi podobné. Zastoupení MK je zejména u makového oleje téměř identické. Dále byl vybrán olej řepkový a olivový. Lze říci, že tyto dva oleje se od konopného výrazně liší. U řepkového oleje je největším rozdílem obsah kyseliny olejové. Co se týče olivového oleje tak nejradikálnější změnou je obsah kyseliny olejové, které je v olivovém oleji daleko více. Další změnou u olivového oleje je obsah kyseliny linolové, které je v olivovém oleji téměř desetkrát méně.

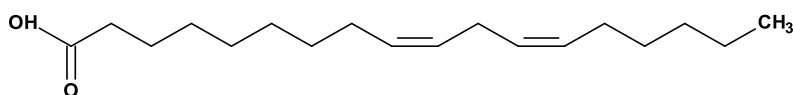
* Konopný, řepkový a lněný olej byl analyzován pomocí analýzy methylesterů mastných kyselin na plynovém chromatografu, kde jako detektor sloužil hmotnostní spektrometr. Methyl-esterifikace byla provedena methanolickým roztokem KOH a následně BF₃ v diethyletheru. Izolované methyl-estery byly analyzovány na plynovém chromatografu Hewlett Packard 6809N s použitou kolonou BPX-70 (100 m × 0,22 mm × 0,25 μm). Ohřev kolony byl gradientový. Teplota injektoru byla 250 °C. Nosným plynem bylo hélium. Methylestery byly identifikovány pomocí standardu. (Standardy, jež jsou komerčně dostupné: NuCheck Prep, Elysian, Minnesota a Sigma, St. Louis, Missouri) [16]

** Hodnoty pro olivový olej byly získány stejnou metodou, která je uvedena pod tabulkou 5.

*** Makový olej byl stanovován pomocí plynového chromatografu s FID detektorem. Mastné kyseliny byly upraveny na metylestery. Vzorek oleje byl spolu s kyselinou pentadekanovou jako inertním standardem rozpuštěn v roztoku metanol:chloroform:kyselina sírová v poměru 100:100:1 a dvě hodiny vařen při teplotě 100 °C. Poté byla provedena analýza pomocí plynového chromatografu Perkin Elmer Clarus 600) s kolonou Supelcowax 10 (30 m × 0,32 mm × 0,25 μm). Teplota kolony byla 190 °C, teplota injektoru byla 250 °C a teplota detektoru taktéž 250 °C. Jako nosný plyn bylo využito hélium. Metylestery mastných kyselin byly identifikovány pomocí softwaru Totalchrom. [23]

2.2.1 Kyselina linolová

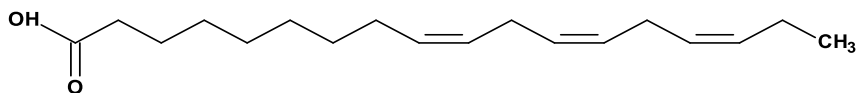
Kyselina linolová je polynenasycenou mastnou kyselinou, je členem skupiny $\omega 6$ mastných kyselin. Kyselina linolová patří mezi esenciální kyseliny a je nutné ji přijímat potravou. Je prekurzorem kyseliny γ -linolenové (viz odstavec o GLA). Kyselina linolová se účastní řady metabolických procesů. Výzkumy poukazují na možnou pomoc při boji s arteriosklerózou nebo obezitou. Kyselina linolová dokáže snižovat cholesterol v krvi a pomáhá při stabilizaci hladiny cukru v krvi. [2][24]



Obrázek 9: Strukturální vzorec kyseliny linolové

2.2.2 Kyselina α -linolenová

Kyselina α -linolenová je polynenasycenou kyselinou patřící k $\omega 3$ mastným kyselinám. Tato kyselina je důležitou součástí řízení organismu, kde se podílí na správné funkci buněčných stěn, správné funkci nervů, ovlivňuje chování imunitního a také kardiovaskulárního systému. [25]

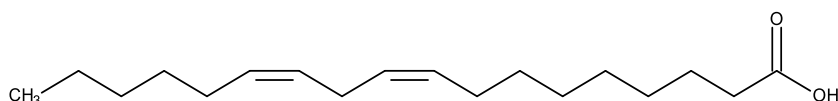


Obrázek 10: Strukturální vzorec kyseliny α -linolenové

2.2.3 Kyselina γ -linolenová

Konopný olej má významný obsah kyseliny γ -linolenové. Jedná se o polynenasycenou mastnou kyselinu, patřící mezi $\omega 6$ mastné kyseliny. V těle je tato kyselina biosyntetizována enzymem $\Delta 6$ -desaturázou z kyseliny linolové. V lidském těle je syntéza GLA nízká a má omezenou rychlost. Negativní vliv na tuto syntézu může mít například nedostatek vitamínů a minerálů, stejně tak i některé chronologické patologické stavy jako cukrovka nebo hypertenze. [2]

GLA je metabolickým meziproduktem v biosyntéze k protizánětlivým eikosanoidům. Eikosanoidy mohou ovlivnit patologické jevy v těle. Působí například jako modulátory imunitních reakcí a vykazují i protirakovinné účinky. Mezi další účinky GLA patří antiagregační a vazodilatační vlastnosti. GLA může také snižovat hladinu cholesterolu v krvi. Doplnky stravy, které obsahují GLA byly v některých případech přínosné v léčbě kožních poruch. [2]



Obrázek 11: Strukturální vzorec kyseliny γ -linolenové

2.3 Triacylglyceroly vyskytující se v konopném oleji

Triacylglyceroly jsou molekuly, v nich jsou všechny tři vodíky hydroxylových skupin na glycerolu nahrazeny mastnou kyselinou. O jaké triacylglyceroly (TAG) se jedná, lze zjistit například pomocí kapalinového chromatografu. Metoda HPLC-ESI-MS byla využita pro konopný olej. Obsah TAG v konopném oleji je uveden v tabulce 7.

Tabulka 7: Zastoupení TAG v konopném oleji stanovené pomocí HPLC-ESI-MS [16]

Triacylglycerol	Obsah [%]
LnLnLn*	6,0
LnLnL*	15,3
LnLL*	18,7
LLL, LnLP*	21,9
LLO, LLP*	13,8
LOO, LOP*	9,5
OOO*	2,6
SOO*	2,6

* Ln je kyselina linolenová, L je kyselina linolová, P je kyselina palmitová, O je kyselina olejová a S je kyselina stearová

Separace TAG byla provedena na koloně Phenomenex C18 Phenosphere-Next (250 × 4,6 × 5 μm) a přístroji Agilent 1260 infinity bio-inertní kvartérní HPLC s detektorem diodového pole G4212A. Sběr separovaných TAG byl proveden za použití sběrače analytické bio-inertní frakce Agilent 1260 infinity. Detekce složek byla u konopného oleje měřena při vlnové délce 205 nm. Vzorek byl poté zaveden do gradientového systému s použitím směsi acetonitril:methanol v objemovém poměru 7:5. Výsledky byly zaznamenány pomocí software ChemStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Získané frakce byly analyzovány pomocí systému hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací. [16]

Pokud jsou na jednom řádku dva TAG, znamená to, že měli stejný retenční čas a nejde touto metodou, separačními podmínkami přesně určit o který TAG se jedná.

2.4 Minoritní složky vyskytující se v konopném oleji

Složení oleje je velmi závislé na daném typu kultivaru plodiny, jakožto i na jejím pěstování a zpracování. Minoritních látek v konopném oleji můžeme najít do 2 %. [1]

Nejdůležitějšími minoritními složkami pro náš typ práce jsou antioxidanty. Těm se v následující kapitole budu věnovat přednostně. Jelikož bylo mým cílem, zaměřit se mimo jiné i na oxidační stabilitu konopného oleje.

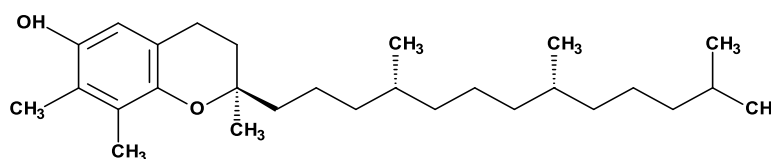
Konopný olej obsahuje značné množství tokoferolových izomerů jako například β -tokoferol, γ -tokoferol, α -tokoferol a δ -tokoferol. Z těchto izomerů je γ -tokoferol zastoupen v nejvyšším množství. Množství tokoferolů na 100 g oleje je znázorněno v tabulce 8. Běžně se obsah tokoferolů pohybuje v rozmezí od 80 mg·100 g⁻¹ oleje až po 150 mg·100 g⁻¹ oleje. Tokoferoly jsou přírodními antioxidanty, které snižují riziko oxidace tuku a jeho následnou degradaci. Nevýhodou tokoferolů je, že při styku se světlem nebo při zahřátí dochází k jejich oxidaci a tím ztrácí svou antioxidační aktivitu. [1]

Tabulka 8: Obsah tokoferolů v konopném oleji

Druh tokoferolu	Obsah [mg·100 g ⁻¹ oleje]* [9]	Obsah [mg·100 g ⁻¹ oleje]**[27]
α -tokoferol	3,22 ± 0,65	2,56 ± 0,06
β -tokoferol	0,81 ± 0,16	0,60 ± 0,01
γ -tokoferol	73,38 ± 2,86	59,79 ± 1,21
δ -tokoferol	2,87 ± 0,83	3,97 ± 0,15
celkový obsah	80,28 ± 4,50	66,92 ± 1,43

* Obsah tokoferolů byl stanoven pomocí kapalinové chromatografie (HPLC) metodou IUPAC 2432. Rozpuštěný vzorek byl analyzován na chromatografu Perkin-Elmer s izokratickou pumpou LC200 a UV detektorem LC295. Byla použita kolona s normální fází Lichrosphere Si60 (250 mm × 4,6 mm × 5 μ m). Absorbance byla měřena při 295 nm. Výsledky byly vyjádřeny jako mg tokoferolu na 100 g oleje. [9]

** Obsah tokoferolů byl stanoven pomocí HPLC. Separace probíhala na koloně s normální fází Inertsil NH2 (250 mm × 4,6 mm × 5 μ m). Teplota kolony byla 30 °C. Separace tokoferolů probíhala na základě izokratické eluce s průtokem. Eluát byl sledován při vlnové délce 292 nm pomocí detektoru fotodiodového pole. Tokoferoly byly identifikovány porovnáním retenčních časů a UV spekter se standardy. [27]



Obrázek 12: Strukturální vzorec γ -tokoferolu

V oleji byla také zjištěna přítomnost terpenů a polyfenolů, které přispívají k vůni a chuti oleje a také mají antioxidační aktivitu. [1]

2.5 Využití konopného oleje

Konopný olej můžeme využít v potravinářském a kosmetickém průmyslu. Využití konopného oleje můžeme najít i v jiných odvětvích.

Konopný olej rychle polymeruje, tato vlastnost je využita při výrobě různých nátěrů. Tyto nátěry lze využít při moření dřeva, ale také při výrobě tiskařských nebo uměleckých barev. Konopný olej může být využíván i na promazávání strojů v průmyslu. Konopný olej můžeme použít pro izolaci tenzidů, které následně využíváme při výrobě celé řady čisticích prostředků. Z konopného oleje můžeme těžit i při výrobě tepla nebo ho využít jako zdroj pro bionaftu. [5][11][12]

V potravinářském průmyslu konopný olej najde využití zejména ve studené kuchyni. Díky svému složení je vhodný do salátových zálivek, dresinků nebo majonéz.

V kosmetickém průmyslu obliba konopného oleje v posledních letech výrazně narůstá. Konopný olej je ingrediencí celé řady krémů či mastí, můžeme se setkat i s pleťovým konopným olejem buď čistým, či s přidavkem dalších vitamínů či antioxidantů. Na trhu můžeme narazit na firmy, které celý svůj marketing založili na konopném oleji. Nejčastěji je konopný olej využíván v péstící kosmetice, ale můžeme se s konopným olejem setkat i v kosmetice dekorativní. Konopný olej nezanechává na pokožce mastný film, velmi snadno a rychle se vstřebává do pokožky, má výborné hydratační účinky, je snadno kombinovatelný s jinými oleji a je hypoalergenní. Konopný olej je vhodný i pro citlivou nebo dětskou pokožku.

3 CHARAKTERIZACE KONOPNÉHO OLEJE

K charakterizaci olejů se nejčastěji využívají tuková čísla. Pomocí těchto čísel můžeme zjistit přítomnost primárních oxidačních produktů, obsah volných kyselin i míru nenasyčenosti oleje. Mezi základní tuková čísla patří peroxidové číslo, číslo kyselosti, číslo zmýdelnění, jodové číslo nebo číslo anisidinové a thiobarbiturové. Většina těchto čísel byla stanovována i na námi vybraných vzorcích konopných olejů v rámci praktické části této práce. Mezi další způsoby charakterizace oleje patří jeho analýza pomocí plynového nebo kapalinového chromatografu, spektrofotometrické stanovení, kalorimetrické stanovení nebo využití NMR. Vybrané metody byly využity v praktické části této práce.

3.1 Tuková čísla

Jak již bylo psáno výše, tuková čísla se řadí mezi nejběžnější a nejrychlejší metody testování olejů. Jedná se o jednoduchou a rychlou metodu pro základní hodnocení oleje. Získáme představu o jeho složení, díky primárním oxidačním produktům zjistíme představu o jeho čerstvosti a také nám tyto metody pomou blíže pochopit chování daného oleje.

3.1.1 Peroxidové číslo

Peroxidové číslo je měřítkem množství primárních oxidačních produktů ve vzorku. Nejčastěji je vyjadřováno jako μval na 1 g tuku nebo jako μg aktivního kyslíku na 1 g tuku. Tato metoda patří mezi nejběžnější a nejstarší způsob jak zjistit rozsah oxidace tuků a olejů. Peroxidové číslo může být stanoveno jodometrickou metodou odměrné analýzy. Mezi další způsoby stanovení peroxidového čísla patří kolorimetrická metoda, instrumentálně lze stanovit pomocí metody NIR nebo FTIR. [28][31]

Peroxidové číslo je stanovováno v praktické části.

3.1.2 Anisidinové číslo

Anisidinové číslo je ukazatelem obsahu sekundárních oxidačních produktů, zejména aldehydů. Nejčastěji se jedná o obsah 2-alkenalů. Toto číslo je nepřímo úměrné čerstvosti tuků a olejů. Bývá stanovováno spektrofotometricky. Absorbance se měří při vlnové délce 350 nm. Anisidinové číslo bývá vyjadřováno jako 100 násobek absorbance roztoku obsahujícího 1 g zkoušeného vzorku ve 100 ml směsi rozpouštědel a činidel při tloušťce vrstvy 10 mm. [32]

3.1.3 Thiobarbiturové číslo

Thiobarbiturové číslo slouží podobně jako anisidinové číslo k vyjádření sekundárních oxidačních produktů. A to zejména k vyjádření malondialdehydu a 2-alkenalů. S těmito oxidačními produkty reaguje thiobarbiturová kyselina červeným zbarvením, kdy se absorbance měří při 530 nm. Při vzniku žlutých produktů se jedná o alkanaly. Jestliže vzorek tuku či oleje obsahuje polyenové MK, je thiobarbiturové číslo vhodné pro určení střední fáze žluknutí tohoto tuku. Thiobarbiturové číslo bývá vyjádřeno jako zvýšení absorbance vyvolané reakcí vzorku s činidlem, v roztoku 1 mg tuku v 1 ml.

3.1.4 Číslo kyselosti

Číslo kyselosti slouží ke stanovení obsahu volných mastných kyselin v tucích a olejích. Bývá vyjadřováno jako množství KOH (v miligramech) potřebné k neutralizaci volných kyselin obsažených v 1 g analyzovaného tuku. Hodnoty čísla kyselosti bývají velmi malé. Stanovuje se titrací odměrným roztokem KOH na vhodný indikátor, nejčastěji fenolftalein. Jak olej stárne dochází ke štěpení TAG, uvolňují se MK a číslo kyselosti roste. Číslo kyselosti je ukotveno v normě ČSN ISO 660 (58 8756). [29][30][31][33]

Číslo kyselosti je stanoveno v praktické části této práce.

3.1.5 Číslo zmýdelnění

Číslo zmýdelnění slouží k vyjádření obsahu všech mastných kyselin ve vzorku. Jedná se o kyseliny, které jsou volné i vázané. Toto číslo se vyjadřuje jako množství KOH (v mg) potřebné k neutralizaci volných mastných kyselin a k zmýdelnění (hydrolyze) esterů mastných kyselin v 1 g tuku. Stanovuje se nepřímou titrací KOH v nadbytku pomocí odměrného roztoku HCl. Stanovení čísla zmýdelnění je uvedeno v normě ČSN ISO 58 8763. [29][30][31][33]

Tato metoda je využita v praktické části diplomové práce.

3.1.6 Jodové číslo

Jodové číslo je ukazatelem nenasycenosti tuků a olejů. Je odrazem počtu dvojných vazeb v nenasycených mastných kyselinách ve vzorku. Jodové číslo bývá udáváno jako procentuální množství halogenu (přepočteno na jod), které je schopno se navázat na tuk za daných podmínek. Stanovení jodového čísla se odráží od použitého činidla a podmínek reakce. Jodové číslo taktéž poukazuje na žluknutí tuků, kdy nižší hodnota jodového čísla je

ukazatelem čerstvějšího oleje (v rámci porovnání jednoho druhu oleje). Tuky s nižší hodnotou jodového čísla bývají hustější než tuky s vyššími hodnotami. Provedení jodového čísla je zaznamenáno v normě ČSN ISO 3961 (58 8761). [29][30][31][33]

Jodové číslo bylo stanovováno v praktické části.

3.2 Analýza pomocí plynové chromatografie

Jaké mastné kyseliny se v daném vzorku vyskytují je možno zjistit pomocí plynové chromatografie. První částí této analýzy je převedení mastných kyselin na příslušné estery, nejčastěji methylestery. Methylestery můžeme získat několika různými způsoby:

- Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH
- Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH_3ONa a toluenem
- Kysele katalyzovaná esterifikace s H_2SO_4
- Kysele katalyzovaná esterifikace s H_2SO_4 a toluenem
- Kysele katalyzovaná esterifikace s BF_3

Takto derivatizované vzorky jsou poté nastříknuty do proudu nosného plynu v chromatografu. Vzorky jsou v injektoru za vysoké teploty odpařeny do plynového skupenství a poté vedeny do kolony. V koloně se složky vzorků separují v určitém pořadí. Pomocí počítačového softwaru je toto pořadí zobrazeno jako signály a příslušné retenční časy v chromatogramu. Porovnáním retenčních času vzorků a standardů dochází k určení o jaký analyt se jedná. [34]

Tato metoda byla využita k analýze vybraných vzorků konopného oleje v praktické části této práce.

3.3 Oxidační stabilita

Stanovení oxidační stability tuků je důležité zejména pro způsob jejich skladování a používání. Také lze touto metodou analyzovat účinnost antioxidantů. Oxidační stabilita tuku závisí na obsahu nenasycených MK ve vzorku, na množství antioxidantů ve vzorku a také na fyzikálních a chemických podmínkách skladování. Z fyzikálního hlediska jde především o teplotu a světelné podmínky při skladování. Z chemického hlediska se jedná zejména o přístup kyslíku a také o koncentraci kovů, především prooxidantů jako je železo či měď. Oxidace se provádí za upravených podmínek (zvýšená teplota), jelikož při běžných

teplotách (například teplota místnosti) by test trval příliš dlouho. Nejběžnějšími metodami zrychlené oxidace je tzv. Schaalův test nebo oxidace na přístroji Rancimat a jeho obdobách. [35][36]

3.3.1 Schaalův test

Jedná se o nejběžnější způsob testování urychlené oxidace tuků a olejů. Při této metodě jsou vzorky uchovány v otevřených nádobách v sušárně při teplotě v rozmezí 60–70 °C (na základě zvolené metody). V určených intervalech (většinou 24 hod.) jsou ze sušárny odebrány vzorky olejů, které jsou následně hodnoceny senzory na základě pachu, chuti, barvy a dále je u nich stanoveno peroxidové číslo. Tato metoda je spíše orientační, jelikož hodnocení pachu a vzhledu může být velmi subjektivní. Na druhou stranu, při tomto testu nejsou dosahovány tak vysoké teploty jako u jiných testů a dalo by se říci, že tato metoda se nejvíce blíží reálné oxidaci při pokojových teplotách. [35] [36]

3.3.2 Rancimat

Při oxidaci tuků a olejů vzniká celá škála různých chemických sloučenin od primárních oxidačních produktů (peroxy a hydroperoxy) přes sekundární produkty (aldehydy a ketony) až po terciární produkty (krátké organické kyseliny). Na oxidaci má vliv spousta různorodých faktorů. Někteří činitelé slouží k urychlení oxidace (teplota, světlo, nenasycenost MK, aj.) někteří naopak ke zpomalení (antioxidanty, tokoferoly, fosfolipidy, aj.). Organické kyseliny, které mohou vznikat při oxidaci (např.: mravenčí, octová propionová a máselná) jsou poměrně těkavé a dají se jímat ve vhodném rozpouštědle. Poté může být obsah těchto kyselin stanovován například titračně či měřením vodivosti. Právě na principu měření vodivosti je založena norma ISO 6886:2016. V této normě je obecně uvedeno schéma přístroje pro urychlenou oxidaci. Tuto metodu lze využít při oxidaci čistých tuků a olejů, ale i jejich směsí či finálních výrobců jako například finální kosmetické nebo potravinářské výrobky. [35]

Rancimat funguje na principu urychlení oxidačního procesu, kdy jsou vzorky vystaveny zvýšené teplotě a současně proudu vzduchu či kyslíku. Z rostoucí vodivostní křivky v měřící kyvetě se stanovuje oxidační parametr. Parametrem oxidace této metody je indukční čas (IT) nebo oxidační stabilní index (OSI). Nejčastěji bývá průtok vzduchu nastavený v rozsahu 10–20 l/hod a teploty v rozsahu 100–120 °C (pro oleje jako řepkový a slunečnicový), 60–80 °C (nenasycené oleje jako konopný) a 130–160 °C (stabilní oleje jako kokosový).

Nastavení se také často upravuje podle zkušeností operátora, povahy vzorků a požadavků na výsledky od zadavatele úkolu.[35]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo charakterizovat vybrané konopné oleje, které se dají běžně pořídit a jsou dostupné v obchodní síti. V teoretické části práce bylo za úkol vypracovat literární rešerši. Úkolem bylo popsat plodinu konopí, konopný olej a metody analýzy konopného oleje. Teoreticky bylo vypracováno, jakými metodami, lze konopný olej zkoumat. V praktické části této práce byly vyzkoušené některé z výše zmíněných metod. K analýze bylo vybráno 5 olejů od českých dodavatelů. Oleje byly zkoumány pomocí plynové chromatografie, kdy bylo cílem zjistit zastoupení mastných kyselin a jejich obsah ve vzorcích. U olejů byla stanovena tuková čísla. Konkrétně se jedná o číslo peroxidové, jodové, číslo zmýdelnění a kyselosti. V poslední části byly oleje podrobeny urychlené oxidaci na přístroji Rancimat 892, kdy byla zkoumána jejich indukční perioda. Při této analýze olejů, byly použity i antioxidanty a byl zkoumán jejich vliv na oxidaci olejů.

5 VYBRANÉ KONOPNÉ OLEJE

Dva z vybraných konopných olejů byly zakoupeny v kamenných prodejnách. Konopný olej Rekord byl zakoupen v prodejně Penny market a konopný olej Zelená země byl zakoupen v prodejně se zdravou výživou. Další tři vzorky olejů byly zakoupeny přes internetové obchody, a to konkrétně oleje od firmy Saloos, Bewit a Nobilis Tilia. Nejlevnějším z olejů byl konopný olej Bewit. U tohoto oleje stálo 100 ml pouze 39,4 Kč. Naopak nejdražším olejem byl konopný olej firmy Nobilis Tilia, kdy 100 ml stojí 159,6 Kč. Na závěr této kapitoly jsou v tabulce 9 uvedeny nutriční hodnoty jednotlivých olejů.

Konopný olej Rekord

Jedná se o jednodruhový rostlinný olej, 100% konopný. Je získáván ze semen konopí setého výhradně mechanickým lisováním. Země původu je uvedena Česká republika. Výrobce je Severofrukt a.s., Travčice 178, 411 55 Terezín. Je deklarováno, že 100 ml oleje obsahuje 14,4 g ω 3 mastných kyselin a 51,5 g ω 6. Cena oleje byla 149,90 Kč za 250 ml, 100 ml oleje stojí 59,96 Kč.



Obrázek 13: Konopný olej Rekord

Konopný olej Zelená Země

Tento olej je také jednodruhový a 100% konopný. Je získáván lisováním z konopných semen. Jedná se o produkt ekologického zemědělství. Výrobce je Zelená země s.r.o. Wuchterlova 523/5, 160 00 Praha 6. Země původu je na obale označeno jako Evropská unie.

Na obale je uvedeno, že 100 ml oleje obsahuje 12 g mononenasycených MK a 77 g polynenasycených MK. Cena oleje byla 265,5 Kč za 250 ml, 100 ml oleje stojí 106,20 Kč.



Obrázek 14: Konopný olej Zelená země

Konopný olej Bewit

Jedná se o jednodruhový olej 100% konopný, který je získáván lisováním za studena z konopných semen. Jedná se o produkt ekologického zemědělství. Výrobce je BEWIT FRANCHISE s.r.o., Michalská 2030, Slezská Ostrava, 710 00 Ostrava. Země původu je Čína. Prodejce na obale uvádí, že 100 ml oleje obsahuje 25,8 g mononenasycených MK a 79,5 g polynenasycených MK. Cena oleje byla 197 Kč za 500 ml, 100 ml stojí 39,4 Kč.



Obrázek 15: Konopný olej Bewit

Konopný olej Saloos

Jedná se rovněž o jednodruhový 100% konopný olej. Je taktéž získáván lisováním za studena. Jedná se o produkt ekologického zemědělství. Výrobcem je M+H, Míča a Harašta s.r.o., Terronská 19, Praha. Země původu tohoto oleje je Německo. Cena oleje byla 279 Kč za 250 ml, 100 ml stojí 111,6 Kč.



Obrázek 16: Konopný olej Saloos

Tabulka 9: Nutriční hodnoty konopných olejů

Průměrné nutriční hodnoty ve 100 ml ⁴					
	Rekord	Zelená Země	Bewit	Saloos	Nobilis Tilia
Energie [kj/kcal]	3404/812,4	3700/900	3367/819	3700/900	3404/828
Tuky [g]	91,9	100	100	–	92
- z toho nasycené mastné kyseliny [g]	9,8	11	13,1	–	8,6
Sacharidy [g]	< 0,3	0	0	–	0
- z toho cukry [g]	0	0	0	0	0
Bílkoviny [g]	< 0,3	0	0	0	0
Sůl [g]	0	0	0	0	0

⁴ Nutriční hodnoty jsou brány z etiket jednotlivých produktů, co na etiketě nebylo uvedeno je v tabulce označeno pomlčkou.

6 TUKOVÁ ČÍSLA

V rámci praktické části diplomové práce byly oleje nejprve analyzovány metodami tukových čísel. Stanovení základních tukových čísel slouží jako nejjednodušší způsob analýzy olejů. Bylo stanoveno číslo peroxidové, číslo jodové, číslo kyselosti a číslo zmýdelnění.

6.1 Materiálové a přístrojové vybavení

Chemikálie: jodid draselný p.a., škrobový maz 1%, chloroform p.a., kyselina octová ledová, kyselina chlorovodíková 35%, thiosíran sodný, dichroman draselný, Hanušovo činidlo (jodmonobromid), xylen, neutrální ethanol, fenolftalein 1% v ethanolu, hydroxid draselný ethnolický

Přístrojové vybavení: předvážky, analytické váhy, topná hnízda, běžné laboratorní sklo

6.2 Metodika

Návody a postupy podle kterých se pracovalo jsou převzaty z laboratorních návodů předmětu Technologie tuků.

6.2.1 Peroxidové číslo

Nejprve bylo stanoveno číslo peroxidové, jako ukazatel primární oxidace tuků a olejů. O tomto čísle bylo již psáno v teoretické části práce. Na začátek experimentu byl připraven roztok KI. Pro každé stanovení musel být připraven čerstvý roztok, který byl uchováván v tmavé láhvi. Byl připraven roztok o koncentraci 83 % (m/m).

- **Příprava a stanovení přesné koncentrace thiosíranu sodného**

Roztok thiosíranu sodného o koncentraci 0,01M byl připraven odpipetováním 25 ml 0,1M roztoku do 250ml odměrné baňky a doplněním po rysku. Ke stanovení jeho přesné koncentrace bylo do Erlenmayerovy baňky odpipetováno 10 ml 0,01N $K_2Cr_2O_7$, 2 ml koncentrované HCl a 1 ml roztoku KI. Baňka byla promíchána, uzavřena zátkou a ponechána v temnu 5 minut. Po uplynutí doby bylo do baňky přidáno 20 ml destilované vody a několik kapek škrobového mazu. Titrovalo se připraveným 0,01M roztokem $Na_2S_2O_3$ do odbarvení. Byla provedena dvě stanovení.

Přesná koncentrace $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ byla vypočtena podle rovnice:

$$M = \frac{0,01 \cdot b}{a}$$

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

b... objem 0,1N $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [ml]

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

- **Vlastní stanovení peroxidového čísla**

Do 250ml Erlenmayerovy baňky bylo odváženo 0,5 g vzorku oleje. Vzorek se rozpustil v 25ml směsi chloroform:kyselina octová 1:1. K roztoku byl přidán 1 ml roztoku KI. Baňka se uzavřela zátkou a byla ponechána v temnu 5 minut. Poté bylo k roztoku přidáno 75 ml destilované vody, 2 ml škrobového mazu. Roztok byl titrován za intenzivního míchání 0,01M roztokem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do odbarvení. Stejným způsobem byl proveden i slepý pokus. Peroxidové číslo bylo vypočteno podle rovnice:

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

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

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 oleje [g]

6.2.2 Jodové číslo

Jodové číslo bylo stanovováno k analýze nenasyčenosti olejů. Teorie k jodovému číslu je uvedena v teoretické části práce.

- **Stanovení jodového čísla**

Do Erlenmayerovy baňky bylo naváženo 0,12 g vzorku oleje, ten byl rozpuštěn v 25ml chloroformu. K roztoku bylo připipetováno 25 ml Hanušova činidla, vzorek byl protřepán, baňka zazátkována a ponechána stát v temnu po dobu 1 hodiny. Po uplynutí doby bylo ke vzorku přidáno 20 ml 10% roztoku jodidu draselného, zátka byla opláchnuta destilovanou vodou a bylo přidáno dalších asi 100 ml destilované vody. Za stálého míchání byl vzorek titrován 0,1M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do žlutého zbarvení. Poté byl přidán 1 ml škrobového mazu a vzorek

byl dotitrován za intenzivního třepání do odbarvení. Stejným způsobem byl proveden i slepý pokus. Jodové číslo bylo vypočteno podle rovnice:

$$J. \text{ č.} = \frac{(a - b) \cdot c_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot M_{\text{I}_2} \cdot 100}{2 \cdot n \cdot 1000}$$

Kde: a...spotřeba 0,1M roztoku Na₂S₂O₃ při slepém pokusu [ml]

b... spotřeba 0,1M roztoku Na₂S₂O₃ při vlastním stanovení [ml]

c_{Na₂S₂O₃}...přesná koncentrace 0,1M roztoku Na₂S₂O₃ [mol·l⁻¹]

M_{I₂}... molární hmotnost I₂ [M = 253,809 g·mol⁻¹]

n... navážka vzorku [g]

6.2.3 Číslo kyselosti a číslo zmydlení

Tato čísla jsou stanovována zároveň. Slouží k určení počtu mastných kyselin vázaných i volných v daném oleji. Více o těchto číslech je v teoretické části práce.

- **Vlastní stanovení čísla kyselosti**

Do 250ml zábrusových baněk s kulatým dnem byly naváženy 2 g vzorku oleje. Ke vzorku bylo přidáno 5 ml xylenu, 30 ml neutrálního ethanolu a 20 kapek fenolftaleinu. Do baňky byly vloženy varné kamínky a na topných hnízdech pod zpětným chladičem byly vzorky opatrně zahřívány pod refluxem po dobu cca 10 minut. Zahřátý roztok byl přímo v baňce titrován za horka 0,5M ethanolickým roztokem KOH do růžového zbarvení stálého 10 sekund. Spotřeba roztoku KOH byla zaznamenána. Slepý pokus byl stanoven tak, že bylo smícháno 30 ml neutrálního ethanolu, 5 ml xylenu a 20 kapek fenolftaleinu. Tento roztok byl titrován do slabě růžového zbarvení. Číslo kyselosti bylo vypočteno podle rovnice:

$$\text{č. K.} = \frac{(a - b) \cdot c_{\text{KOH}} \cdot M_{\text{KOH}}}{n}$$

Kde: a... spotřeba 0,5M roztoku KOH při vlastním stanovení [ml]

b... spotřeba 0,5M roztoku KOH při slepém pokusu [ml]

c_{KOH}... koncentrace odměrného roztoku KOH [mol·l⁻¹]

M_{KOH}... molární hmotnost KOH [M = 56,106 g·mol⁻¹]

n... navážka vzorku

- **Vlastní stanovení čísla zmýdelnění**

Ke stanovení čísla zmýdelnění byl použit vzorek po stanovení čísla kyselosti. Po titraci roztokem KOH bylo k vzorku přidáno takové množství roztoku KOH, aby jeho celkový objem byl 20 ml. (20 ml - spotřeba KOH při titraci na stanovení čísla kyselosti). Na topných hnízdech pod zpětným chladičem byl vzorek udržován ve varu po dobu 2 hodin. Po uplynutí této doby bylo ke vzorku přidáno 10 kapek fenolftaleinu a vzorek byl titrován 0,5M HCl do zmizení červeného zbarvení. Vzorek byl poté znovu povařen, a pokud by se objevilo červené zbarvení byl by opět titrován. Titrace byla ukončena, až když po provaření nedocházelo k červenému zbarvení. Slepý pokus byl stanoven stejným způsobem. Číslo zmýdelnění bylo vypočteno podle rovnice:

$$\text{č. Z.} = \frac{(b - a) \cdot c_{\text{HCl}} \cdot M_{\text{KOH}}}{n}$$

Kde: a... spotřeba 0,5M roztoku HCl při vlastním stanovení [ml]

b... spotřeba 0,5M roztoku HCl při slepém pokusu [ml]

c_{HCl} ... koncentrace odměrného roztoku HCl [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]

M_{KOH} ... molární hmotnost KOH [$M = 56,106 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$]

n... navážka vzorku

6.3 Výsledky a hodnocení

Výsledky jsou uvedeny pro každé z tukových čísel zvlášť. Výsledky jsou diskutovány s literaturou a dalšími výzkumy, které se zabývali podobnou tematikou.

6.3.1 Peroxidové číslo

Stanovení peroxidového čísla (PČ) bylo provedeno u všech výše popsanych vzorků. Bylo provedeno dle metodiky, která je rovněž popsána výše. Stanovení proběhlo nejméně 3krát u každého vzorku. Naměřená peroxidová čísla jsou uvedena v tabulce 10 jako průměr a směrodatná odchylka. První čísla jsou získané hodnoty u nově otevřených olejů. Vzorky olejů byly také ponechány v průhledných baňkách a nechány stát v laboratoři při teplotě místnosti a na světle. Po určité době byla peroxidová čísla opět stanovena. Vzhledem k současné situaci nemohlo dojít u všech vzorků k naměření po stejně uplynulé době. Měření, která nebyla provedena jsou v tabulce zaznačena pomlčkou. Peroxidová čísla byla stanovena i u olejů, jenž byly ponechány v původním obale v lednici. K tomuto stanovení

došlo u konopného oleje Rekord a Zelená země po 4 měsících. U konopných olejů Bewit, Saloos a Nobilis Tilia došlo ke stanovení čísel z lednice po 2 měsících. Rozdíly mezi způsobem skladování i jeho délkou jsou patrné z obrázku 19.

Tabulka 10: Peroxidová čísla konopných olejů

Konopný olej	nový olej	měsíc stání	2 měsíce stání	4 měsíce stání	lednice
	[$\mu\text{val}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku]				
Rekord	11,95 ± 0,41	–	207,82 ± 3,87	239,89 ± 1,32	13,77 ± 1,75
Zelená Země	18,53 ± 0,90	–	302,57 ± 1,77	474,73 ± 1,01	13,11 ± 0,49
Bewit	6,56 ± 1,17	142,80 ± 1,97	254,02 ± 1,90	–	7,12 ± 1,05
Saloos	31,80 ± 2,54	206,65 ± 0,96	446,43 ± 1,08	–	30,10 ± 1,41
Nobilis Tilia	33,35 ± 1,14	143,23 ± 0,94	249,72 ± 1,35	–	26,29 ± 1,18

Na základě zjištěných hodnot peroxidových čísel lze soudit, že nejčerstvějším olejem s nejnižším peroxidovým číslem byl konopný olej značky Bewit. Naopak nejvyšší peroxidové číslo bylo zjištěno u oleje Nobilis Tilia.

Celkově lze říci, že peroxidová čísla byla v rozmezí peroxidových čísel dohledaných z jiných literárních zdrojů. V jedné ze studií se hodnota peroxidového čísla u nového oleje pohybovala v rozmezí od $4,31 \pm 0,37$ po $22,14 \pm 1,88$ mekv $\text{O}_2\cdot\text{g}^{-1}$, což koresponduje s našimi výsledky.[26]

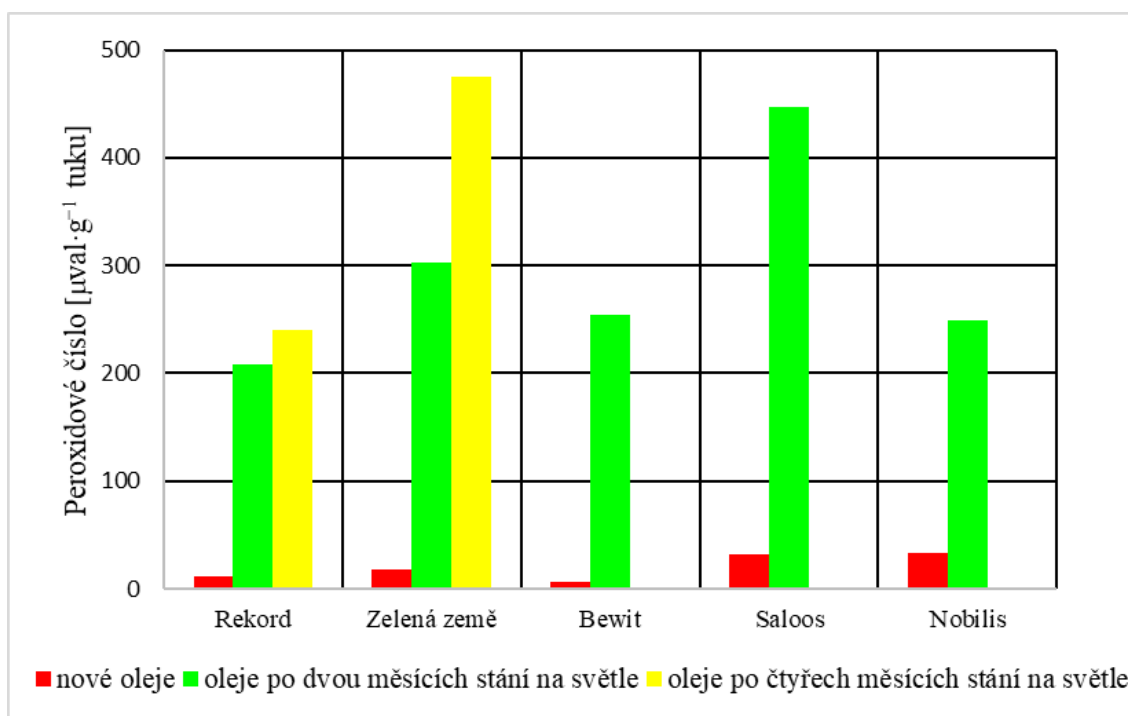
Při porovnání výsledku s diplomovou prací paní Pihrtové⁵ dostaneme podobné hodnoty. Paní Pihrtová ve své práci došla k peroxidovému číslu u konopného oleje značky Topvet na hodnotu $19,88 \pm 1,26$ mekv $\text{O}_2\cdot\text{g}^{-1}$, což taktéž odpovídá našim výsledkům.

Paní Slezáková⁶ se ve své diplomové práci taktéž věnovala tukovým číslům. Co se hodnot peroxidového čísla týče, zkoumala konopný olej Nobilis Tilia a M + H (dnešní výrobce Saloos). U oleje Nobilis Tilia byla hodnota peroxidového čísla $13,2 \pm 0,74$ mekv $\text{O}_2\cdot\text{g}^{-1}$. Tato hodnota se od námi získané liší, je skoro 3krát nižší. U konopného oleje Saloos zjistila

⁵ PIHRTOVÁ, Monika. *Sledování oxidace kosmetických olejů*. Zlín, 2019. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Ondřej Rudolf.

⁶ SLEZÁKOVÁ, Veronika. *Konopný olej, jeho charakterizace a použití v emulzích*. Zlín, 2013. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Věra Kašpárková.

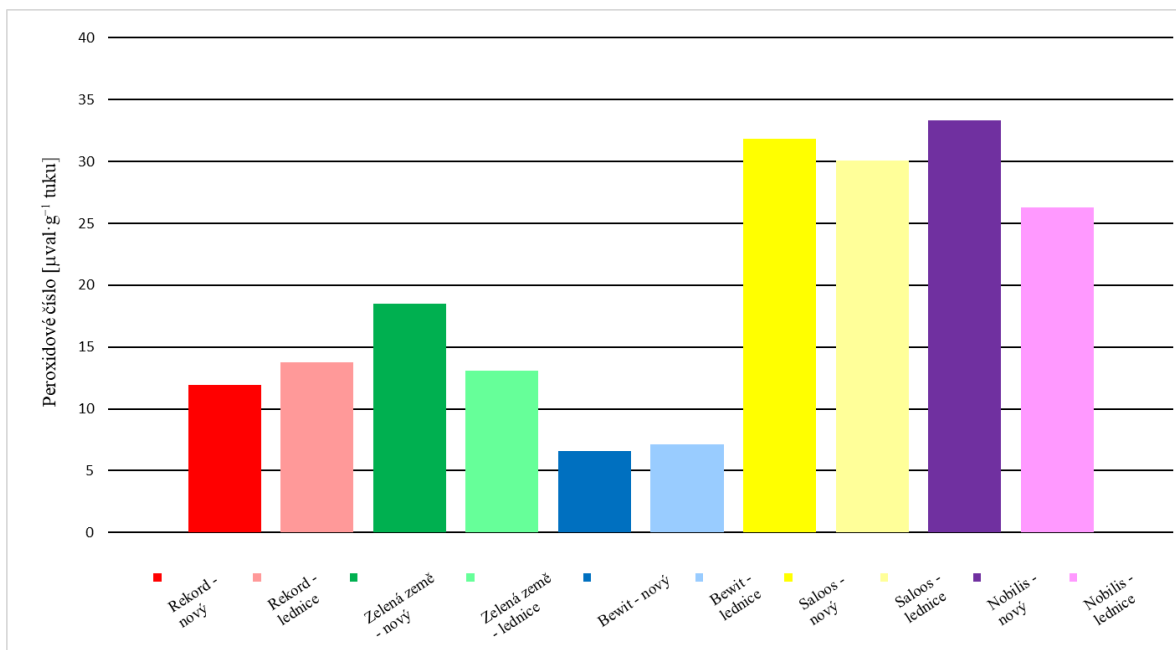
hodnotu $48,8 \pm 3,09$ mekv $O_2 \cdot g^{-1}$. Tato hodnota je o něco větší než naše, ale nejde o velký rozdíl.



Obrázek 19: Grafické znázornění peroxidového čísla rozdíl mezi novým olejem a olejem ponechaným na světle

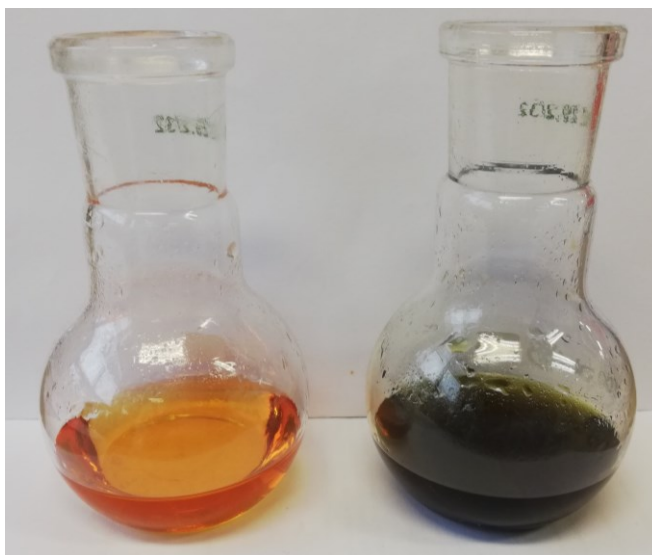
Z obrázku 19 je zřetelné, že počáteční hodnoty peroxidových čísel u všech olejů byly výrazně nižší než hodnoty, kterých bylo dosaženo po stání na světle po dobu dvou měsíců. K největší změně došlo u oleje značky Saloos. U oleje Rekord a Zelená země byly stanoveny hodnoty peroxidového čísla i po čtyřech měsících. U oleje Rekord nebyl skok tak výrazný jako u oleje Zelená země.

Při porovnání počátečních hodnot peroxidového čísla a hodnot získaných z olejů jenž byly uchovány v lednici po dobu několika měsíců dojdeme k závěru, že tyto hodnoty se téměř neliší. Vizualní hodnocení je na obrázku 20. Z tohoto obrázku lze soudit, že uchování konopných olejů v lednici má své opodstatnění. Primární oxidační produkty při tomto druhu skladování nerostou. Ovšem je možné, že v olejích dochází k jiným změnám, které nejsou pomocí této metody zjištělné.



Obrázek 20: Grafické znázornění rozdílu peroxidového čísla u oleje nového a oleje skladovaného v lednici

Na obrázku 21 vidíme rozdíl v barvě u oleje který stál 4 měsíce na světle a oleje který byl po tuto dobu uchován v původní láhvi v lednici. Z obrázku je patrné, že olej v průběhu stárnutí ztrácí svou sytě zelenou barvu. Ke stejnému jevu došlo i na přístroji Rancimat, viz kapitola o urychlené oxidaci.



Obrázek 21: Rozdíl mezi oxidovaným a neoxidovaným konopným olejem, vzorek Zelená země

6.3.2 Jodové číslo

Stanovení jodového čísla (JČ) bylo provedeno u nově otevřených vzorků podle metodiky popsané výše. Jodové číslo bylo stanovováno dvakrát pro každý vzorek. Výsledky jsou zaznamenány v tabulce 11.

Tabulka 11: Jodová čísla konopných olejů

	Rekord	Zelená Země	Bewit	Saloos	Nobilis Tilia
JČ [%]	116	113	111	108	105
	125	113	120	116	108
průměr	121	113	116	112	107

Z tabulky 11 je patrné, že nejvyšší jodové číslo měl olej Rekord, 121 % I₂. Naopak nejnižší jodové číslo vykazoval olej od firmy Nobilis Tilia, 107 % I₂. Z toho lze soudit, že nejvyšší procento nenasycených mastných kyselin je obsaženo v oleji Rekord a nejnižší v oleji Nobilis Tilia. Celkově jsou jodová čísla vybraných vzorků podobná a není zde žádná odlehlá hodnota.

Všechna jodová čísla vyšla tak, jak bylo předpokládáno. Při porovnání s výsledky diplomové práce paní Slezákové zjistíme, že naše hodnoty jsou poněkud nižší než její získané hodnoty. U oleje Nobilis Tilia došla k hodnotě $158,0 \pm 3,23 \text{ g I}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a u oleje Saloos došla k hodnotě $167,4 \pm 0,61 \text{ g I}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. I tato hodnota je vyšší než námi získaná hodnota.

6.3.3 Číslo kyselosti

Stanovení čísla kyselosti (ČK) bylo provedeno u všech vzorků podle metodiky popsané výše. Čísla byla pro každý vzorek stanovena dvakrát. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 12 jako průměr a jeho směrodatná odchylka.

Tabulka 12: Čísla kyselosti a čísla zmýdelnění konopných olejů

	Rekord	Zelená Země	Bewit	Saloos	Nobilis Tilia
ČK [mg KOH·g ⁻¹]	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	0,8 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,2 ± 0,1
ČZ [mg KOH·g ⁻¹]	213,5 ± 0,2	211,9 ± 0,1	214,8 ± 0,3	200,9 ± 1,3	199,2 ± 3,8

Na základě tabulky 12 lze soudit, že nejvyšší obsah volných mastných kyselin obsahoval olej značky Saloos. Nejvíce podobný je tomuto oleji olej Nobilis Tilia. Na druhou stranu

nejméně volných mastných kyselin obsahoval konopný olej Bewit. Oleje Rekord a Zelená Země jsou téměř identické, co se týče obsahu volných mastných kyselin.

Tato čísla kyselosti odpovídají číslům kyselosti, se kterými se běžně setkáváme u tohoto druhu oleje. Číslo kyselosti se běžně pohybuje od 0,40 do 4,15 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. [26]

Při porovnání výsledků s diplomovou prací paní Slezákové dojdeme k závěru, že její hodnoty jsou nižší než ty naše. U konopného oleje Nobilis Tilia zjistila hodnotu čísla kyselosti $1,4 \pm 0,01 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$ a u oleje Saloos dospěla k hodnotě $0,7 \pm 0,00 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$.

6.3.4 Číslo zmýdelnění

Čísla zmýdelnění (ČZ) byla analyzována pomocí metodiky popsané výše. Pro každý vzorek byla provedena dvě paralelní stanovení. Výsledky jsou zaznamenány v tabulce 12 a jsou uvedeny jako průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

Dle tabulky 12 lze soudit, že konopné oleje Rekord, Zelená Země a Bewit jsou si velmi podobné. Zbylé dva oleje Saloos a Nobilis Tilia jsou si také velmi podobné. Ovšem mezi těmito skupinami je nepatrný rozdíl. Z výsledků lze říci, že první skupina s vyšším číslem zmýdelnění má vyšší obsah vázaných i volných mastných kyselin oproti druhé skupině.

Tyto výsledky odpovídají hodnotám zjištěným z jiných zdrojů. Paní Slezáková má ve své diplomové práci uvedené hodnoty čísla zmýdelnění u oleje Nobilis Tilia $207,2 \pm 1,89 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$ a u oleje Saloos hodnoty $202,2 \pm 3,94 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$. Obě tyto hodnoty odpovídají námi zjištěným hodnotám.

7 PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE

Vzorky olejů byly analyzovány metodou plynové chromatografie. Nejprve bylo nutné převést mastné kyseliny na jejich methylestery. Metodika je uvedena níže. Poté byly tyto methylestery analyzovány pomocí plynového chromatografu Shimadzu (obr. 22). Tato metoda je využívána pro stanovení obsahu mastných kyselin v tucích a olejích obecně. Pro určení, o jakou mastnou kyselinu se jedná, se využívají standardy mastných kyselin. Pomocí této metody lze mastné kyseliny určit jak kvantitativně tak kvalitativně.

7.1 Materiálové a přístrojové vybavení

Chemikálie: petrolether, toluen, 1% CH₃ONa v methanolu, Na₂SO₄, chlorid sodný

Přístrojové vybavení: běžné laboratorní sklo, topná hnízda, plynový chromatograf Shimadzu GC 14A



Obrázek 22: Plynový chromatograf Shimadzu

7.2 Metodika

Před samotným stanovením je potřeba převést mastné kyseliny na methylestery mastných kyselin, které lze analyzovat pomocí chromatografu.

- **Příprava methylesterů – Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH_3ONa a toluenem**

Do 100 ml varné baňky bylo naváženo 0,5 g vzorku konopného oleje. Vzorek byl rozpuštěn v 7,5 ml 1% CH_3ONa a v 1 ml toluenu. Vzniklá směs byla ponechána pod zpětným chladičem ve varu nejméně 15 minut. Po uplynutí doby byl baňka ochlazena pod tekoucí vodou a obsah byl převeden do dělicí nálevky. Varná baňka byla promyta 5ml petroletheru a roztok byl přidán do dělicí nálevky. Do dělicí nálevky bylo také přidáno 5 ml 15% roztoku NaCl . Obsah nálevky byl řádně protřepán a vodná fáze byla oddělena. Do nálevky bylo přidáno dalších 5 ml 15% roztoku NaCl . Obsah nálevky byl znovu řádně protřepán a vodná fáze byla znovu oddělena. Vzniklá petroletherová fáze byla vysušena pomocí bezvodého Na_2SO_4 . Vzorky byly převedeny do 5ml odměrné baňky. Pro samotné stanovení byly vzorky naředěny 1:4, tudíž 200 μl vzorku a 800 μl rozpouštědla.

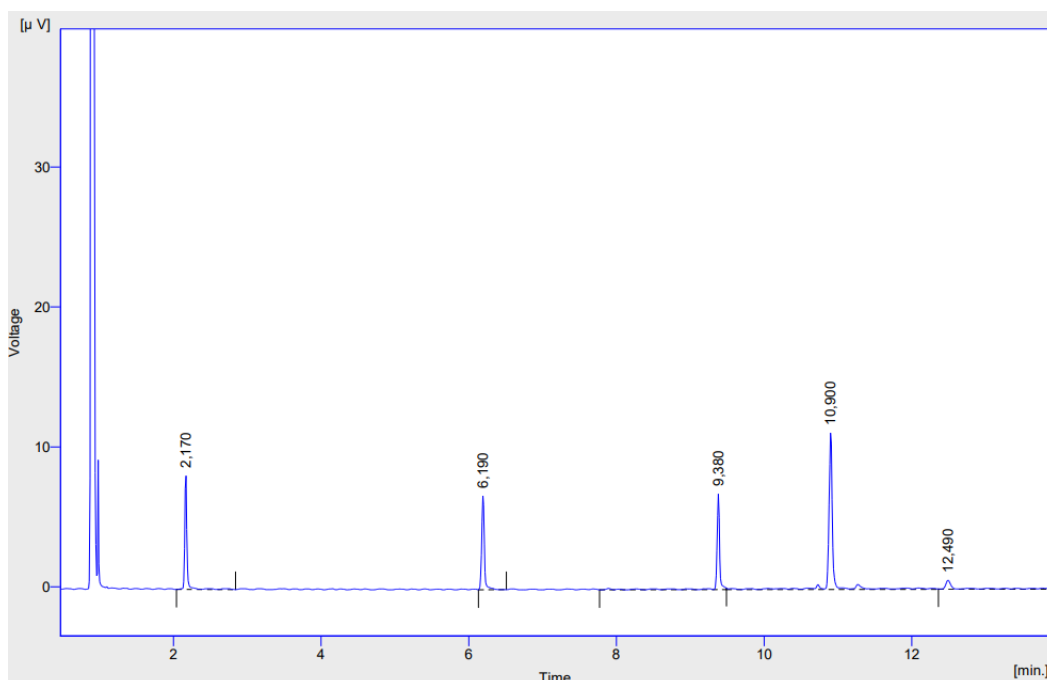
- **Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie**

Stanovení methylesterů mastných kyselin probíhalo na plynovém chromatografu Shimadzu GC 14A s plamenoionizačním detektorem. Použitou kolonou byla polární kolona Agilent DB-Wax (25 m \times 0,2 mm \times 0,2 μm) s dusíkem jako nosným plynem. Teplota nástřiku byla 225 $^\circ\text{C}$ a teplota detektoru byla nastavena na 230 $^\circ\text{C}$. Při stanovení MK byl nastaven teplotní gradient, kdy první 3 minuty byla teplota 110 $^\circ\text{C}$, poté byla teplota zvýšena na 220 $^\circ\text{C}$ s rychlostí zahřívání 15 $^\circ\text{C}/\text{min}$. Při konečné teplotě běžela analýza 10 minut. Přes septum byly mikrostříkačkou nadávkovány nejprve standardy a poté vzorky methylesterů jednotlivých konopných olejů. Jednotlivé vzorky byly dávkovány v objemu 2 μl . Vzorky byly rozpoznány pomocí porovnání retenčních časů se standardy. Výsledky byly zpracovány v programu CSW32.

7.3 Výsledky a hodnocení

Všech 5 vzorků konopných olejů bylo převedeno na methylestery metodou popsanou výše a následně byly podrobeny analýze na plynovém chromatografu. Po nástřiku vzorku bylo spuštěno měření na přístroji a zároveň spuštěna analýza v počítačovém programu. Doba měření jednotlivých vzorků byla nanejvýš 20 minut. Odezvy jednotlivých methylesterů byly zaznamenány v počítači a vyobrazeny jako píky. Čas, při kterém se vyobrazily na ose x, je udáván jako retenční čas. Právě díky porovnání těchto retenčních časů vzorků a standardů, lze určit o jakou mastnou kyselinu se jedná. Jako standard byl

použit SUPELCO™ FAME Mix RM-1, vyhodnocení signálů jednoho z mixu MK standardu jsou uvedeny na obrázku 23.



Obrázek 23: Signály standardu v počítačovém programu CSW32

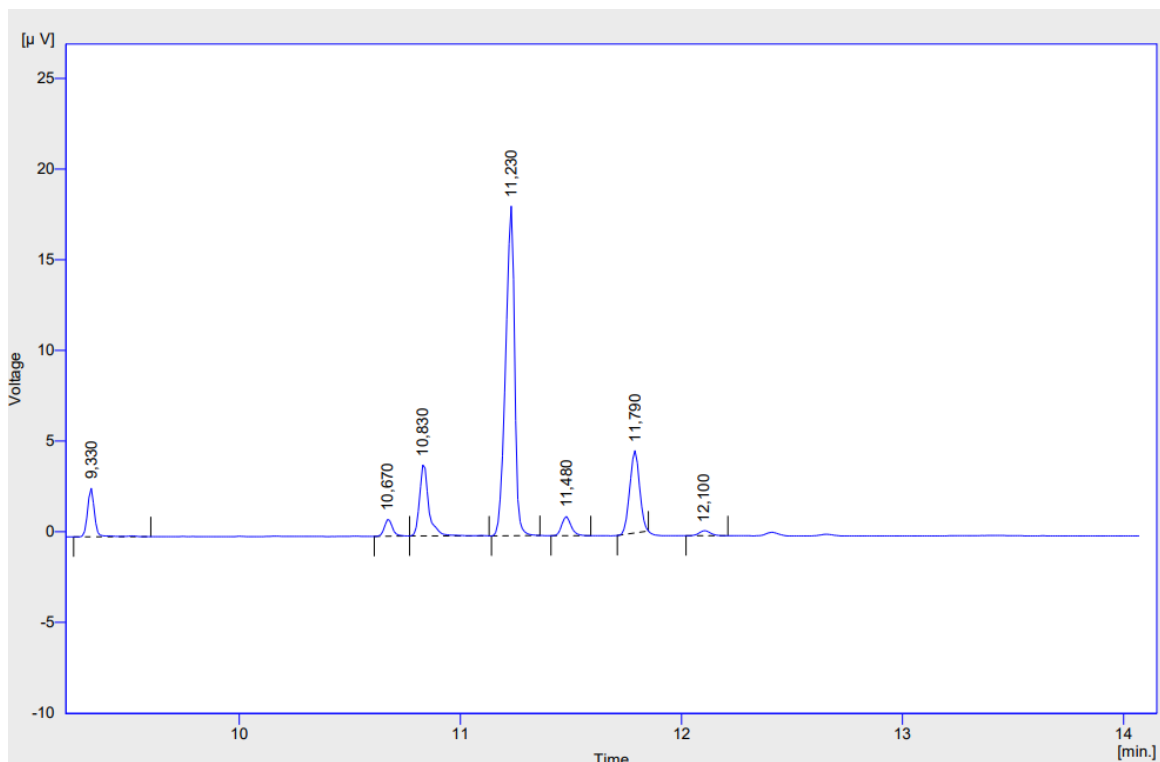
V tabulce 13 jsou uvedeny zjištěné retenční časy standardů odpovídající daným mastným kyselinám. V tabulce jsou uvedeny pouze ty retenční časy a MK, které byly analyzovány i u vybraných konopných olejů. Pomocí těchto zjištěných retenčních časů byly určeny jednotlivé mastné kyseliny vyskytující se v analyzovaných vzorcích konopných olejů.

Tabulka 13: Retenční časy standardů a jim odpovídající mastné kyseliny

Retenční čas [min]	Odpovídající MK
2,17	C8:0
6,19	C12:0
9,38	C16:0
10,80	C18:0
10,97	C18:1, ω9
11,37	C18:2, ω6
11,96	C18:3, ω3
12,49	C20:0

7.3.1 Konopný olej Rekord

Vzorek konopného oleje rekord byl podroben esterifikaci a následně analyzován na GC. Signály, které se zobrazily na počítači jsou zobrazeny na obrázku 24.



Obrázek 24: Signály vzorku konopného oleje Rekord v počítačovém programu CSW32

Porovnáním signálů s retenčními časy standardů byly ve vzorku konopného oleje Rekord analyzovány kyseliny, které jsou uvedeny v tabulce 14. Z tabulky je parné, že nejvyšší zastoupení z mastných kyselin má kyselina linolová 57,7 %, další v pořadí je kyselina α -linolenová 15,6 % a třetí nejobsáhlejší kyselinou je kyselina olejová 12,8 %. V minimálním množství je zde zastoupena kyselina stearová 2,6 % a kyselina arachová 1,2 %. Analyzované hodnoty odpovídají obsahu mastných kyselin v konopném oleji. Tento obsah je uveden v teoretické části práce.

Tabulka 14: Vyhodnocení signálu z GC pro konopný olej Rekord

Retenční čas [min]	Odpovídající MK	Výška píku [%]	Plocha píku [%]
9,33	palmitová	8,5	6,6
10,67	stearová	2,9	2,6
10,83	olejová	12,4	12,8
11,23	linolová	57,5	57,7
11,48	γ -linolenová	3,4	3,5
11,79	α -linolenová	14,4	15,6
12,10	arachová	0,9	1,2

7.3.2 Konopný olej Zelená země

Vzorek konopného oleje byl esterifikován a zanalyzován pomocí GC. V tabulce 15 jsou uvedeny zjištěné retenční časy, odpovídající kyseliny a výška s plochou píků uvedené v chromatogramu získaném analýzou konopného oleje Zelená země. Na základě získaných hodnot je patrné, že nejhojněji zastoupenou kyselinou je kyselina linolová 57,0 % a kyselina α -linolenová 17,3 % s kyselinou olejovou 13,8 %. Nejnižší obsah je znám u kyseliny γ -linolenové 0,8 % a kyseliny arachové 0,7 %. Tyto hodnoty odpovídají hodnotám uvedeným ve studiích zmíněných v teoretické části.

Tabulka 15: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Zelená země

Retenční čas [min]	Odpovídající MK	Výška píku [%]	Plocha píku [%]
9,34	palmitová	9,3	7,0
10,68	stearová	4,2	3,4
10,84	olejová	14,9	13,8
11,24	linolová	54,2	57,0
11,48	γ -linolenová	0,7	0,8
11,80	α -linolenová	16,1	17,3
12,41	arachová	0,6	0,7

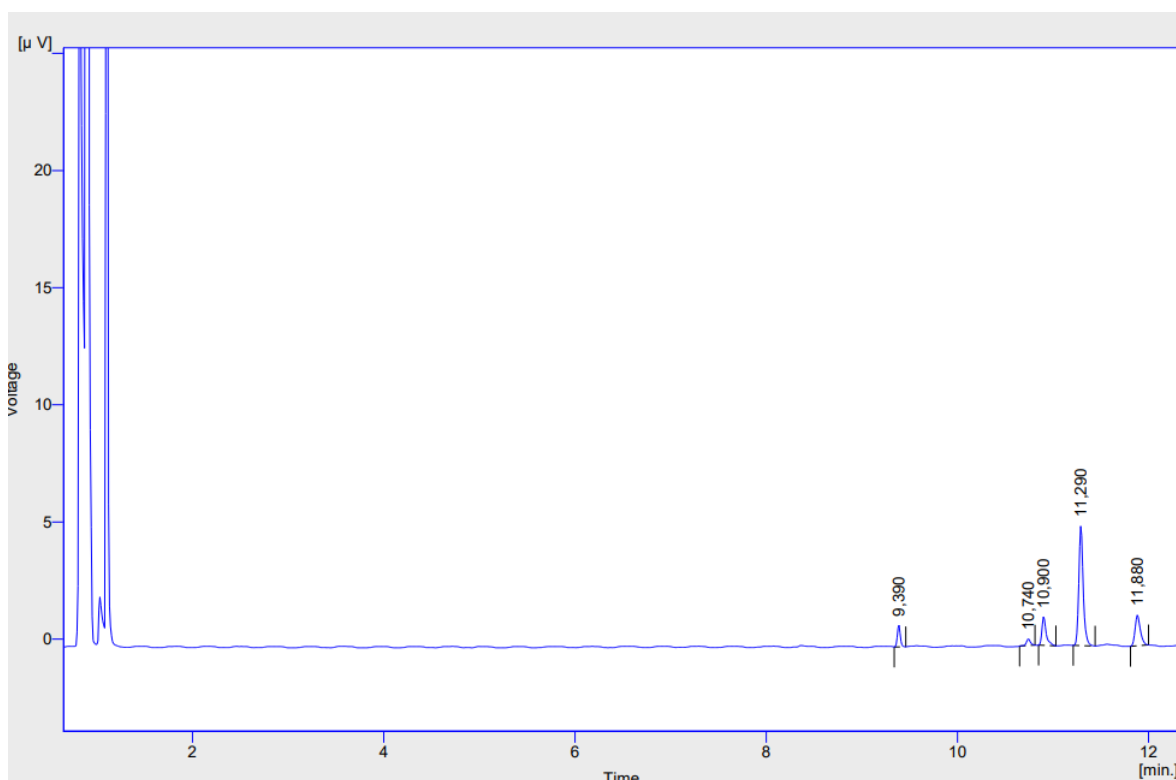
7.3.3 Konopný olej Bewit

Esterifikovaný vzorek oleje byl analyzován na přístroji GC. Zjištěné signály jsou uvedeny na obrázku 25. První dva zobrazené píky jsou použita rozpouštědla. Pomocí plynové chromatografie bylo získáno zastoupení mastných kyselin vyskytujících se v konopném oleji

Bewit. Porovnáním retenčních časů bylo zjištěno o jaké kyseliny se jedná. Zjištěné výsledky jsou uvedeny v tabulce 16. Dle tabulky je patrné, že v největší míře se ve vzorku vyskytovala kyselina linolová 58,7 % a kyselina α -linolenová 17,9 %. V menší míře se zde vyskytují kyseliny palmitová 7,0 % a stearová 2,9 %. Kyselina γ -linolenová a kyselina arachová nebyly v tomto vzorku detekovány, na rozdíl od vzorků konopných olejů Rekord a Zelená země. I tyto hodnoty odpovídají hodnotám z teoretické části.

Tabulka 16: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Bewit

Retenční čas [min]	Odpovídající MK	Výška píku [%]	Plocha píku [%]
9,39	palmitová	10,5	7,0
10,74	stearová	3,2	2,9
10,90	olejová	13,8	13,5
11,29	linolová	57,6	58,7
11,80	α -linolenová	14,9	17,9



Obrázek 25: Signály vzorku konopného oleje Bewit v počítačovém programu CSW32

7.3.4 Konopný olej Saloos

Konopný olej byl esterifikován a následně analyzován na GC. Získané záznamy z chromatogramu jsou uvedeny v tabulce 17. Na základě tabulky lze říci, že nejvyšší

zastoupení v tomto vzorku má kyselina linolová 58,5 %, následuje ji kyselina α -linolenová 17,5 % a kyselina olejová 14,4 %. Kyselina γ -linolenová a kyselina arachová nebyly ani v tomto vzorku detekovány. V nejnižší míře je zastoupena kyselina stearová 2,7 %. Získané hodnoty odpovídají procentuálnímu zastoupení mastných kyselin uvedeném v teoretické části této práce.

Tabulka 17: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Saloos

Retenční čas [min]	Odpovídající MK	Výška píku [%]	Plocha píku [%]
9,38	palmitová	9,6	6,8
10,73	stearová	3,1	2,7
10,90	olejová	14,5	14,4
11,29	linolová	57,9	58,5
11,87	α -linolenová	14,9	17,5

7.3.5 Konopný olej Nobilis Tilia

Esterifikovaný vzorek konopného oleje byl analyzován pomocí metody GC. Díky plynové chromatografii byly zjištěny hodnoty, které jsou zaznamenány v tabulce 18. V tabulce lze rozpoznat, že kyselinou s největším zastoupením je opět kyselina linolová 61,0 %. Nižší obsah mají kyseliny α -linolenová 17,0 % a kyselina olejová 12,4 %. Nejméně zastoupenou kyselinou z detekovaných kyselin je kyselina stearová 2,8 %. Kyselina γ -linolenová a kyselina arachová nebyly v tomto vzorku detekovány.

Tabulka 18: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Nobilis Tilia

Retenční čas [min]	Odpovídající MK	Výška píku [%]	Plocha píku [%]
9,38	palmitová	9,2	6,8
10,74	stearová	3,2	2,8
10,90	olejová	14,3	12,4
11,30	linolová	58,8	61,0
11,88	α -linolenová	14,5	17,0

V následující tabulce 19 je provedeno srovnání obsahů nasycených a nenasycených MK vyskytujících se v konopném oleji jako sumy MK–nasycených, mono a polynenasycených. Tabulka 3 porovnávací stejné hodnoty je uvedena i v teoretické části této práce. Toto

procentuální zastoupení slouží k rychlé orientaci o složení daného oleje a může vést k předběžným závěrům o chování oleje ve vztahu k oxidační stabilitě.

Tabulka 19: Procentuální zastoupení nasycených a nenasycených MK v konopných olejích

	Rekord	Zelená země	Bewit	Saloos	Nobilis Tilia
	Obsah [%]				
SFA	10,4	11,1	9,9	9,5	9,6
MUFA	12,8	13,8	13,5	14,4	12,4
PUFA	76,8	75,1	76,6	76,0	78,0

Jak již bylo zmíněno, konopný olej je vysoce nenasycený. Z tabulky vyplývá, že největší zastoupení je sumy polynenasycených mastných kyselin PUFA. Obsah PUFA u námi analyzovaných olejů se pohybuje v rozmezí 75,1–78 %. U olejů uvedených v teoretické části práce je toto rozmezí 70–82 %. Obsah mononenasycených kyselin MUFA je u našich olejů v rozmezí 12,4–14,4 % a u olejů z teoretické části 9–14 %. Obsah nasycených kyselin SFA je v konopném oleji nízký. Námi analyzované oleje dosahovaly hodnot v rozmezí 9,5–11,1 %, u olejů z teoretické části jsou tyto hodnoty v intervalu 8–11 %.

U námi analyzovaných vzorků, dosahovala největšího procentuálního zastoupení kyselina linolová. Ta se vyskytovala u vzorků v rozsahu 57,0–61,0 %. Nejvyššího zastoupení dosáhla tato kyselina u vzorku Nobilis Tilia a to 61,0 %, na druhé příčce je olej Bewit s obsahem kyseliny linolové 58,7 %. Třetí místo s obsahem 58,6 % kyseliny linolové patří oleji Saloos. Čtvrté místo s 57,7 % této kyseliny zaujímá olej Rekord. Nejnižší zastoupení kyseliny linolové vykazoval olej Zelená země. Její hodnota byla 57,0 %. Kyselinou, která se podařila detekovat v nejnižším zastoupení byla kyselina arachová. Tuto kyselinu se podařilo detekovat pouze u oleje Rekord 1,2 % a Zelená země 0,7 %. Kyselinou olejovou, zastupující mononenasycené kyseliny se ve vzorcích pohybovala v rozmezí 12,4–14,4 %. Nejvyšší hodnoty dosahovala u oleje Nobilis Tilia a naopak nejvyšší hodnotu měla u oleje Saloos.

8 OXIDAČNÍ STABILITA

Oxidační stabilita konopných olejů byla analyzována pomocí přístroje Rancimat 892 Metrohm (obr. 26). Touto metodou byly vzorky analyzovány při různých teplotách. Teploty se pohybovaly od 100 °C do 120 °C. Vyšší teploty neměly při analýze smysl, jelikož konopný olej je velmi nenasycený. K olejům byly následně přidány vybrané antioxidanty a byl zkoumán jejich vliv na oxidaci oleje. Jako antioxidanty byly vybrány rozmarýnový extrakt a tokoferol acetát.

Při testování tokoferolu jako antioxidantu nebyly dosaženy takové výsledky, jaké byly z našich znalostí očekávatelné. Při přidání 1 % tokoferolu k oleji, byly výsledky srovnatelné s výsledky oxidace čistého oleje. Je možné, že při přípravě vzorků, došlo k neúplné homogenizaci. Tím pádem nebyl olej s tokoferolem řádně promíchán a výsledky byly nepublikovatelné.

Naproti tomu rozmarýnový extrakt se ukázal, jako efektivní antioxidant. Rozmarýnový extrakt byl použit při koncentraci 0,5 %. U výrobce je uveden rozsah pro použití tohoto antioxidantu u polynenasycených olejů v rozmezí 0,2–0,4 %. Obsah 0,5 % byl zvolen pro snadnější manipulaci. Olej byl spolu s extraktem navážen ve větším množství a následně mícháním homogenizován. Byla vyzkoušena i navážka 1 % rozmarýnového extraktu pro konopný olej Rekord a Zelená země. U oleje Rekord byl při teplotě 100 °C odečten indukční čas mezi 21,6 až 23,3 h. Naproti tomu u oleje Zelená země se indukční čas nepodařilo za stejné teploty odečíst. Proto jsme zvolili pro další testy nižší navážku antioxidantu nebo vyšší teploty stanovení oproti čistým olejům.



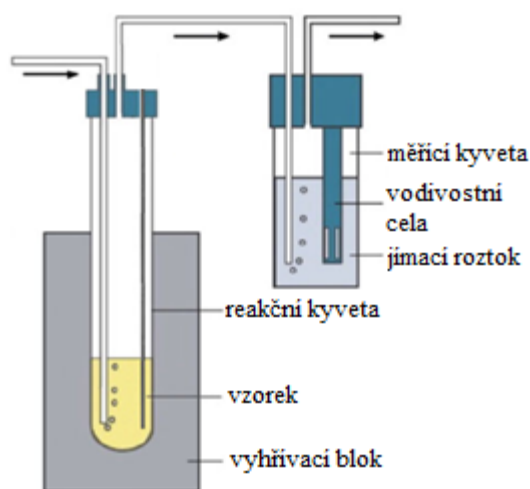
Obrázek 26: Přístroj Rancimat 892 Metrohm

8.1 Materiálové a přístrojové vybavení

- Chemikálie: vitamín E, rozmarýnový extrakt (dle INCI *Rosmarinus officinalis* leaf extract 35–40 % + *Helianthus annuus* seed oil 60–65 %)
- Přístrojové vybavení: Rancimat 892 Metrohm, běžné laboratorní sklo

8.2 Metodika

Vzorky olejů byly naváženy do reakčních kyvet a následně propojeny s měřicími kyvetami (obr. 27). Do reakčních kyvet byly naváženy 3 g oleje. Do měřících kyvet bylo dáno 50 ml destilované vody. Oba druhy kyvet byly propojeny pomocí trubiček a silikonových hadiček s přístrojem Rancimat. Přístroj byl ovládán pomocí počítače a softwaru StabNet. V programu byl zvolen průtok vzduchu na 20 l/hod. Teploty byly nastavovány různě, a to konkrétně na 100 °C, 110 °C a 120 °C. Po spuštění analýzy jsou hodnoty vodivosti zaznamenány přímo v programu StabNet a je zde vykreslována křivka závislosti vodivosti na čase (viz obr. 28).



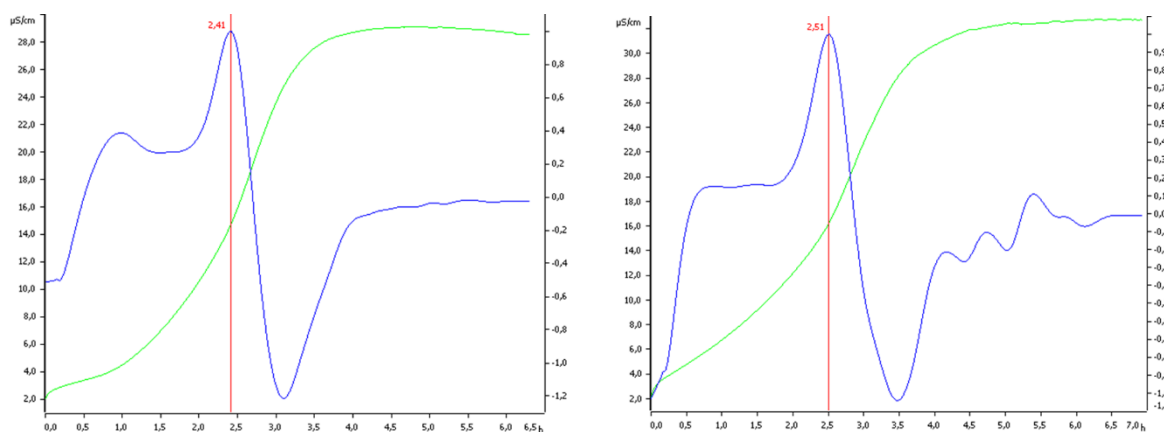
Obrázek 27: Schéma reakční a měřící kyvety (upraveno)

8.3 Výsledky a hodnocení

Na přístroji Rancimat 892 byla měřena oxidační stabilita konopných olejů. Vzorky olejů byly analyzovány při teplotě 100 °C a 110 °C, výjimečně při teplotě 120 °C.

Tato metoda využívá urychlené oxidace, ke které dochází během zahřívání vzorku v reakční kyvetě a je podporována vhnáním vzduchu do objemu vzorku. Vzniklé těkavé produkty jsou jímány v nádobě s destilovanou vodou, které se zvyšujícím se množstvím současně zvyšují odečítanou vodivost jímacího roztoku. Jako indukční doba je označena doba,

po kterou dochází k nárůstu vodivosti. Tato hodnota je automaticky zaznamenávána počítačovým softwarem StabNet. V grafu se znázorňoval růst vodivosti, ta je uvedena v $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Analýza byla ukončena po dosažení požadovaných hodnot automaticky nebo došlo k vypnutí analýzy manuálně operátorem. Na obrázku 28 je ukázán graf, který je výstupem analýzy. Další grafy jsou pro přehlednost přepracovány. V grafech je zelenou barvou znázorněna křivka narůstající vodivosti, modrá barva znázorňuje její druhou derivaci a červeně je vyznačena indukční perioda.



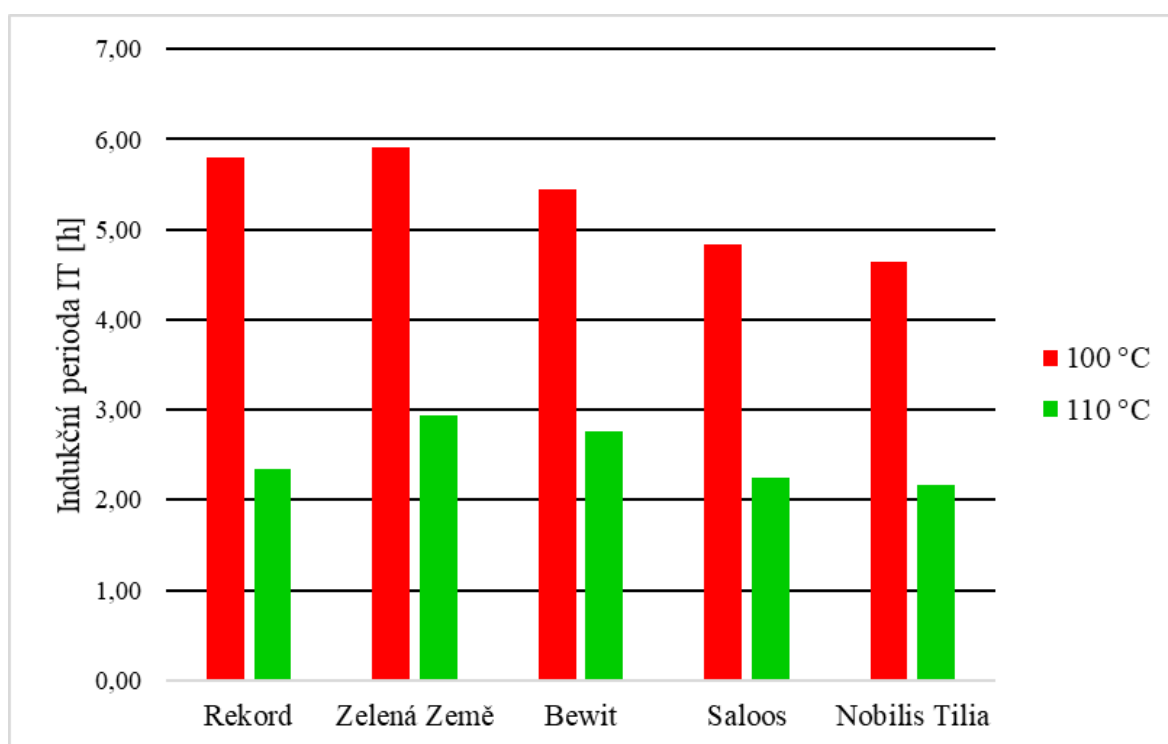
Obrázek 28: Ukázka grafů z přístroje Rancimat 892

Oleje se ve většině případů v průběhu oxidace odbarvovaly z tmavě zelené barvy až po žlutou či temně žlutou. Ve většině případů oleje na dně reakční květy polymerovaly po delším reakčním, měřicím čase. K některým olejům byl přidán antioxidant a byly měřeny při vyšší teplotě a byl takto zkoumán vliv na prodloužení indukčního času.

V tabulce 20 jsou zaznamenány výsledné hodnoty z přístroje Rancimat. V tabulce je vždy uvedena hmotnost vzorků jako průměr a daná směrodatná odchylka. K tomu je v tabulce uvedena odpovídající hodnota indukční periody opět jako průměr a směrodatná odchylka. V tabulce jsou uvedeny hodnoty pro všechny konopné oleje při dvou teplotách stanovení a to teplotě 100 °C a 110 °C. Čisté oleje nemělo smysl při vyšších teplotách analyzovat. Díky jejich nenasycenosti nebyly výsledky relevantní. Z tabulky je patrné, že indukční doby při teplotě 110 °C jsou zhruba o polovinu kratší než při teplotě 100 °C. Graficky je rozdíl znázorněn na obrázku 29.

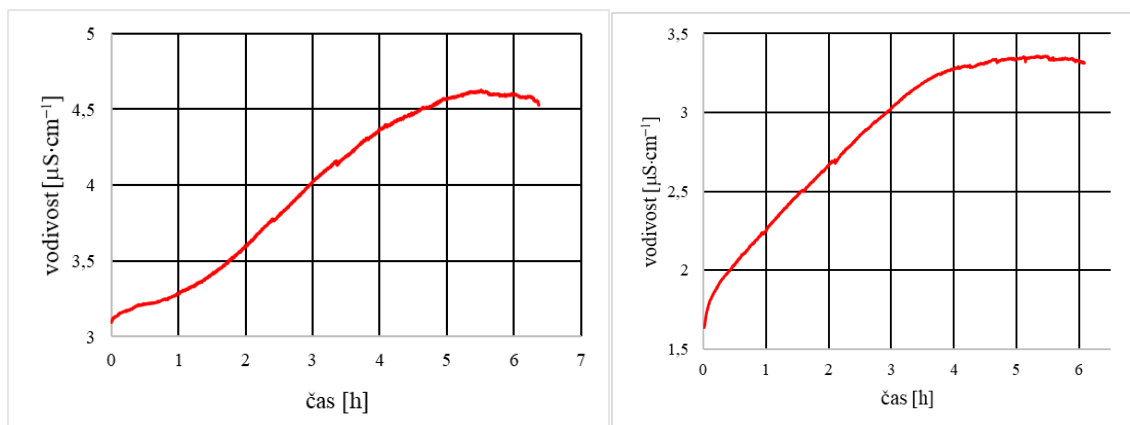
Tabulka 20: Výsledné hodnoty z přístroje Rancimat 892 pro čisté konopné oleje

Konopný olej	Teplota analýzy 100 °C		Teplota analýzy 110 °C	
	m [g]	IT [h]	m [g]	IT [h]
Rekord	3,01 ± 0,00	5,79 ± 0,07	3,02 ± 0,00	2,35 ± 0,13
Zelená země	3,02 ± 0,00	5,91 ± 0,15	3,01 ± 0,00	2,93 ± 0,10
Bewit	3,02 ± 0,00	5,44 ± 0,09	3,02 ± 0,01	2,77 ± 0,05
Saloos	3,02 ± 0,01	4,84 ± 0,20	3,02 ± 0,01	2,25 ± 0,11
Nobilis Tilia	3,01 ± 0,00	4,64 ± 0,21	3,02 ± 0,00	2,16 ± 0,32



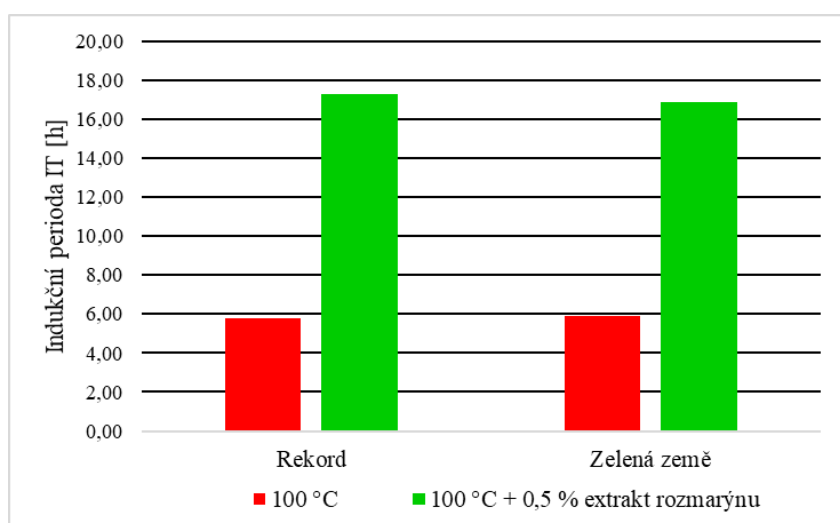
Obrázek 29: Grafické znázornění indukční periody konopných olejů při teplotách 100 °C a 110 °C

Na obrázku 30 vidíme grafické znázornění vodivosti na čas. Takto probíhá měření na přístroji Rancimat, kdy je čas uveden v sekundách (pro přehlednost v grafu převedeno na hodiny) a vodivost v $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. V grafu nejsou zobrazeny všechny hodnoty, po dosažení maxima došlo k malému poklesu, ale dále se graf již neměnil. Přístroj sám vyhodnotí derivaci hodnot a z ní je odečtena indukční perioda.



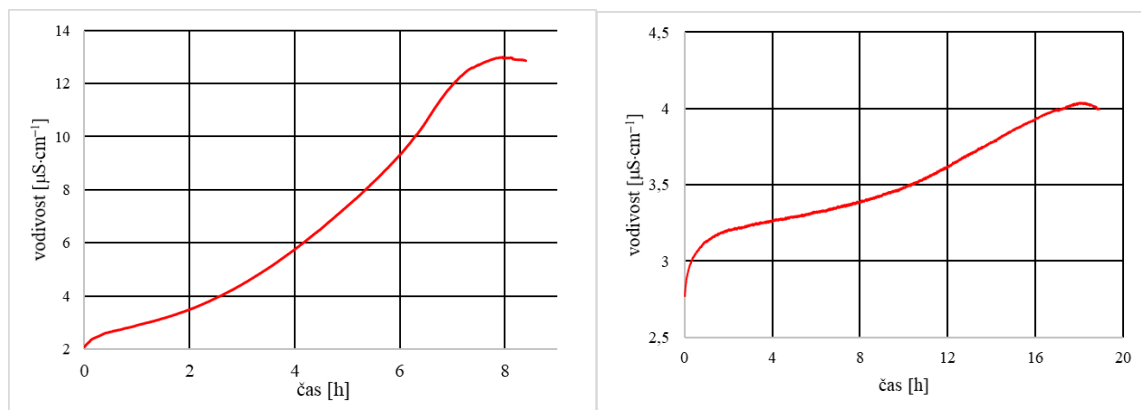
Obrázek 30: Grafické znázornění vodivosti na čase u konopného oleje Rekord při teplotě 100 °C (vlevo) a při teplotě 110 °C (vpravo)

Obrázek 31 nám ukazuje rozdíl mezi indukčními časy pro čistý konopný olej a olej s použitím rozmarýnového extraktu jako antioxidantu. Vzorky olejů byly testovány při 100 °C. Lze vidět, že indukční doba u čistého konopného oleje Rekord byla nízká a to $5,79 \pm 0,07$ h. Na rozdíl od indukční periody konopného oleje Rekord spolu s 0,5 % extraktem z rozmarýnu. Kdy v tomto případě byla indukční perioda mnohem vyšší a to $17,28 \pm 0,64$ h. U konopného oleje Zelená země došlo k podobnému jevu. U čistého oleje dosahovala hodnota indukční periody $5,91 \pm 0,15$ h a u oleje s přídavkem rozmarýnového extraktu dosáhla hodnota indukčního času $16,88 \pm 0,21$ h. Dle těchto výsledků, lze potvrdit, že rozmarýnový extrakt jako antioxidant pro konopné oleje je účinným prostředkem k potlačení oxidačních procesů. Indukční perioda se několikanásobně zvýšila, a na základě toho lze soudit, že by zabránila případné oxidaci oleje při běžných podmínkách skladování a několikanásobně by prodloužila jeho životnost.



Obrázek 31: Grafické znázornění rozdílu indukční periody při použití rozmarýnového extraktu jako antioxidantu

Na obrázku 32 vidíme rozdíl mezi závislostí vodivosti na čase u oleje Zelená země. Pro porovnání jsou uvedeny dva grafy. Levý graf je pro čistý olej při teplotě 100 °C. Pravý graf je pro stejný olej, při stejné teplotě 100 °C jen s přidavkem antioxidantu.

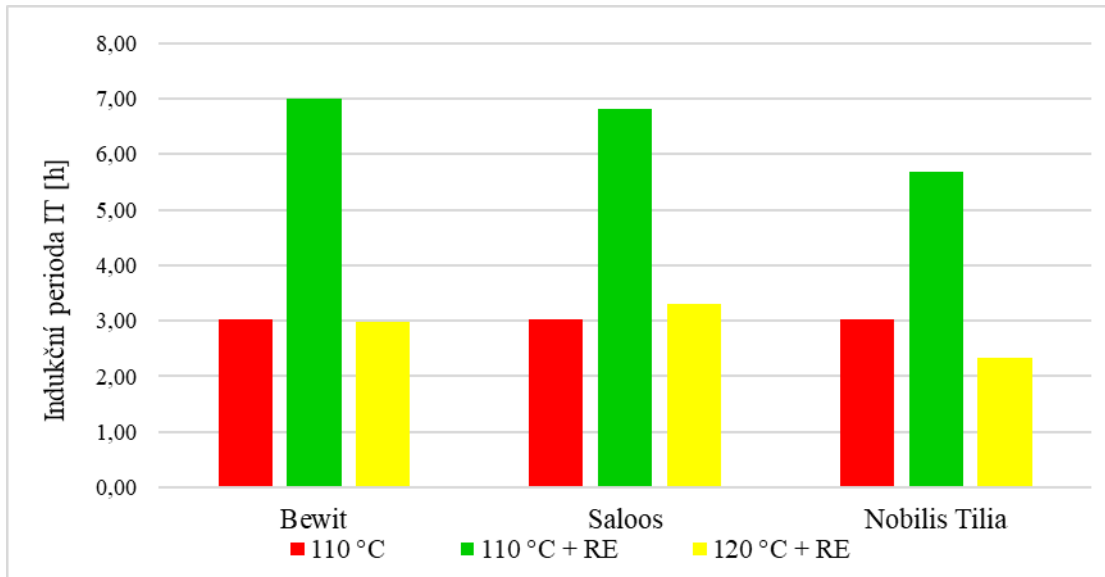


Obrázek 32: Grafické znázornění vodivosti na čase pro konopný olej Zelená země při teplotě 100 °C bez antioxidantu (vlevo) a s přidavkem antioxidantu (vpravo)

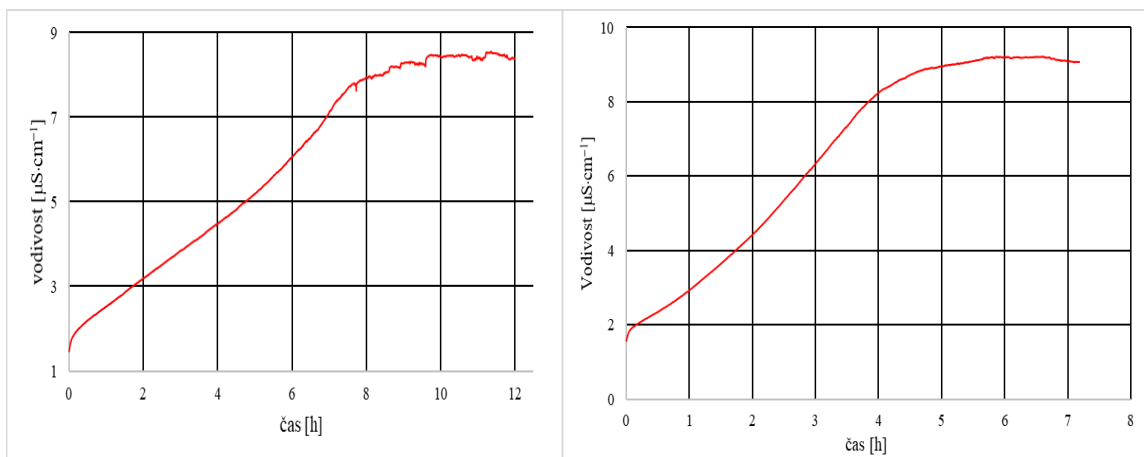
V tabulce 21 máme porovnání analýzy konopných olejů s 0,5 % přidavkem rozmarýnového extraktu jako antioxidantu. U těchto vzorků byly nastaveny vyšší teploty, než v testu s konopným olejem Rekord a Zelená země, a to 110 °C a 120 °C. V grafickém znázornění (obr. 33) byly k hodnotám z této tabulky uvedeny hodnoty indukční periody, které dosahovaly čisté oleje při teplotě 110 °C. I v tomto případě lze říci, že rozmarýnový extrakt jako antioxidant funguje. Při teplotě 110 °C jsou indukční periody olejů s antioxidantem přibližně dvakrát delší než u čistého oleje. Při teplotě 120 °C dosahují oleje s přidavkem antioxidantů přibližně stejných hodnot jako při 110 °C bez antioxidantů. Při 110 °C měl nejdelší indukční periodu konopný olej Bewit $7,00 \pm 0,24$ h a nejkratší olej Nobilis Tilia $5,68 \pm 0,39$. Při 120 °C si nejlépe vedl olej Saloos $3,31 \pm 0,25$ h a nejhůře na tom byl olej Nobilis Tilia $2,33 \pm 0,30$ h. Pro konopný olej Nobilis Tilia jsou grafy závislosti vodivosti na čase zaznamenány na obrázku 34.

Tabulka 21: Výsledné hodnoty z přístroje Rancimat 892 pro konopné oleje s 0,5 % přidavkem rozmarýnového extraktu

Konopný olej	Teplota analýzy 110 °C		Teplota analýzy 120 °C	
	m [g]	IT [h]	m [g]	IT [h]
Bewit	$3,01 \pm 0,00$	$7,00 \pm 0,24$	$3,02 \pm 0,00$	$2,97 \pm 0,43$
Saloos	$3,02 \pm 0,01$	$6,82 \pm 0,26$	$3,01 \pm 0,00$	$3,31 \pm 0,25$
Nobilis Tilia	$3,01 \pm 0,00$	$5,68 \pm 0,39$	$3,01 \pm 0,00$	$2,33 \pm 0,30$



Obrázek 33: Grafické znázornění rozdílu indukčních period u čistých olejů a olejů s přidavkem 0,5 % rozmarýnového extraktu (RE)



Obrázek 34: Grafické znázornění vodivosti na čase pro konopný olej Nobilis Tilia s přidavkem 0,5 % rozmarýnového extraktu při teplotě 110 °C (vlevo) a při teplotě 120 °C (vpravo)

ZÁVĚR

Konopný olej patří mezi oblíbené rostlinné oleje využívané jak ve studené kuchyni, tak v péči o pokožku. Olej obsahuje vysoké procento nenasycených mastných kyselin a také spoustu prospěšných látek jako jsou antioxidanty a podobně. Diplomová práce je zaměřena na charakterizaci vybraných komerčních konopných olejů. Všechny vybrané oleje jsou běžně dostupné na našem trhu.

Nejprve byly vzorky podrobeny analýze pomocí metod tukových čísel. Jako ukazatel primární oxidace byla stanovena peroxidová čísla. Peroxidová čísla byla stanovena u nových olejů, dále u olejů, které byly ponechány na světle po dobu několika měsíců. Pro porovnání vlivů skladování byly na konci experimentu změřeny peroxidová čísla i u olejů co byly skladovány v původních láhvích v lednici. Všechny změřená peroxidová čísla jsou uvedena v tabulce 10. U nových olejů bylo nejnižší peroxidové číslo stanoveno u oleje Bewit $6,56 \pm 1,17 \mu\text{val}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku a naopak nejvyšší u oleje Nobilis Tilia $33,35 \pm 1,14 \mu\text{val}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku. Při měření vzorků po době 2 měsíců bylo nejvyšší číslo u konopného oleje Saloos $446,43 \pm 1,08 \mu\text{val}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku a naopak nejnižší peroxidové číslo u vzorku Rekord $207,82 \pm 3,87 \mu\text{val}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku. Z výsledků lze soudit, že právě olej Rekord byl nejméně zoxidován. Co se týče porovnání peroxidových čísel u olejů nových a těch co byly skladovány v lednici, peroxidová čísla se významně nezměnila. Na základě těchto výsledků, je nejlepším způsobem skladování konopného oleje právě uchování v lednici.

Jodové číslo bylo analyzováno pro stanovení obsahu nenasycenosti mastných kyselin. Hodnoty všech jodových čísel jsou uvedeny v tabulce 11. Nejnižší jodové číslo ze všech bylo u oleje Nobilis Tilia 107 % a nejvyšších hodnot dosahoval olej Rekord 121 % .

Dalším tukovým číslem, které bylo stanoveno bylo číslo kyselosti. Číslo kyselosti by u čerstvých olejů nemělo být nijak zvlášť vysoké, jelikož vyšší číslo kyselosti značí hydrolyzu TAG. U našich olejů, byla čísla kyselosti nízká. Hodnoty jsou uvedeny v tabulce 12. Nejnižší číslo bylo u oleje Bewit $0,8 \pm 0,1 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$ a naopak nejvyšší bylo u oleje Saloos $2,4 \pm 0,1 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$.

Posledním číslem, které bylo stanoveno bylo číslo zmýdelnění. Číslo zmýdelnění nám udává obsah všech mastných kyselin, volných i esterově vázaných. Hodnoty čísla zmýdelnění pro všechny vzorky jsou uvedeny v tabulce 12. Nejvyššího čísla bylo dosaženo u konopného oleje $214,8 \pm 0,3 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejnižší hodnoty vykazoval olej Nobilis Tilia $199,2 \pm 3,8 \text{ mg}_{\text{KOH}}\cdot\text{g}^{-1}$.

Další analýzou, kterou oleje prošly byla plynová chromatografie. Pomocí této metody bylo stanoveno jaké mastné kyseliny se v konopném oleji vyskytují. Nejprve bylo nutné vzorky převést na methylestery mastných kyselin, to bylo provedeno bazicky katalyzovanou esterifikací CH_3ONa a toluenem. Takto připravené vzorky byly analyzovány pomocí plynového chromatografu Shimadzu GC 14A. Porovnáním retenčních času vzorků s retenčními časy standardů byly analyzovány mastné kyseliny. Nejvyšší zastoupení měla kyselina linolová od 57,0 do 61,0 %, další hojně zastoupenou kyselinou byla kyselina α -linolenová 15,6–17,9 %. Třetí nejvýznamnější kyselinou je kyselina olejová s rozsahem 12,4–14,4 %. V nejnižší míře byla analyzovaná kyselina arachová 0,7–1,2 %, ta byla detekovaná pouze u vzorku konopného oleje Rekord a Zelená země. Nejvyšší zastoupení kyseliny linolové bylo nalezeno u konopného oleje Nobilis Tilia 61,0 %. Nejnižší zastoupení této kyseliny bylo u vzorku Zelené země 57,0 %. Všechny zjištěné hodnoty odpovídají hodnotám zaznamenaným v teoretické části diplomové práce.

Posledním úkolem praktické části bylo analyzovat oleje při urychlené oxidaci na přístroji Rancimat 892. Oleje byly podrobeny oxidaci při teplotách 100 °C, 110 °C a 120 °C. Oxidaci byly podrobeny čisté oleje i oleje s přídavkem 0,5 % rozmarýnového extraktu. Indukční periody čistých olejů jsou uvedeny v tabulce 20, v tabulce 21 jsou uvedeny indukční periody pro oleje s přídavkem antioxidantu. Nejdélší indukční perioda čistého oleje při teplotě 100 °C byla u vzorku Zelená země $5,91 \pm 0,15$ h. Nejkratší indukční periodu při 100 °C měl olej Nobilis Tilia $4,64 \pm 0,21$ h. Při 110 °C byla nejkratší perioda opět u oleje Nobilis Tilia $2,16 \pm 0,32$ h a nejdélší u oleje Zelená země $2,93 \pm 0,10$ h. Při analýze olejů s antioxidantem byly hodnoty při 110 °C přibližně dvakrát delší než u samotného oleje. Při teplotě 120 °C odpovídaly hodnoty s přídavkem antioxidantů hodnotám čistých olejů při 110 °C.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] RUPASINGHE, H. P. Vasantha, Amy DAVIS, Shanthanu K. KUMAR, Beth MURRAY a Valtcho D. ZHELJAZKOV. Industrial Hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) as an Emerging Source for Value-Added Functional Food Ingredients and Nutraceuticals. *Molecules* [online]. 2020, 25(18) [cit. 2021-01-09]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25184078
- [2] ALONSO-ESTEBAN, José Ignacio, María José GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, Dmitri FABRIKOV, et al. Hemp (*Cannabis sativa* L.) Varieties: Fatty Acid Profiles and Upgrading of γ -Linolenic Acid-Containing Hemp Seed Oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. 2020, 122(7), 4976-4986 [cit. 2021-01-09]. ISSN 1438-7697. Dostupné z: doi:10.1002/ejlt.201900445
- [3] JAHODÁŘ, L. *Farmakobotanika: semenné rostliny*. Vyd. 3., upr. a dopl. Praha: Karoli-num, 2011. ISBN 978-80-246-2015-2.
- [4] HARPER, J. K., G. W. ROTH, L. KIME a H. E. MANZO. Industrial Hemp Production. Penn State Extension [online]. 2.7.2018 [cit. 2021-1-19]. Dostupné z: <https://extension.psu.edu/industrial-hemp-production>
- [5] RUMAN, M. a L. KLVAŇOVÁ. *Konopí: staronový přítel člověka*. Chvaleč: Konopa, 2008, 31 s. ISBN 978-80-254-1825-3
- [6] ČESKÁ REPUBLIKA. Zákon 167/1998 Sb. Zákon o návykových látkách a změně některých dalších zákonů. In: *Sbírka zákonů*. Praha, 1998, 57/1998.
- [7] KOŁODZIEJCZYK, P., L. OZIMEK a J. KOZŁOWSKA. The application of flax and hemp seeds in food, animal feed and cosmetics production. *Handbook of Natural Fibres*. Elsevier, 2012, 2012, 329-366. DOI: 10.1533/9780857095510.2.329. ISBN 9781845696986.
- [8] DITRÓI, K., D. KLEINER, A. BÖSZÖRMÉNYI, K. SZENTMIHÁLYI a H. FÉBEL. The alimentary impact of the hemp seed. *Acta Alimentaria*. 2013, 42(3), 410-416. DOI: 10.1556/AAlim.42.2013.3.14. ISSN 0139-3006. Dostupné také z: <http://www.akademiai.com/doi/abs/10.1556/AAlim.42.2013.3.14>
- [9] MONTSERRAT-DE LA PAZ, S., F. MARÍN-AGUILAR, M. D. GARCÍA-GIMÉNEZ a M. A. FERNÁNDEZ-ARCHE. Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil: Analytical and Phyto-chemical Characterization of the Unsaponifiable Fraction.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2014, 62(5), 1105–1110. DOI: 10.1021/jf404278q. ISSN 0021-8561.
- [10] *Hemp seed oil: Chemical characterization of three non-drug varieties cultivated in Morocco.* 2018, 6(5), 37-41. ISSN 24557005. Dostupné z: doi:10.7324/JABB.2018.60506
- [11] SAPINO, S., M.E. CARLOTTI, E. PIERA a M. GALLARATE. Hemp-seed and olive oils' Their stability against oxidation and use in O/IAf emulsions. JOURNAL OF COSMETIC SCIENCE. 2005, 56, 227-251.
- [12] VONDRA, N. Jak se konopí využívá ve stavebnictví?. České stavby [online]. 22. 7. 2014 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: <https://www.ceskestavby.cz/clanky/jak-se-konopi-vyuzivave-stavebnictvi-23216.html>
- [13] ELSOHLY, M. A. Marijuana and the cannabinoids. 1. Totowa, N.J.: Humana Press, c2007. ISBN 9781592599479.
- [14] LEIZER, C., D. RIBNICKY, A. POULEV, S. DUSHENKOV a I. RASKIN. The Composition of Hemp Seed Oil and Its Potential as an Important Source of Nutrition. Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods. The Haworth Press, 2000, 2(4), 35–53.
- [15] MIKULCOVÁ, V., V. KAŠPÁRKOVÁ, P. HUMPOLÍČEK a L. BUŇKOVÁ. Formulation, Characterization and Properties of Hemp Seed Oil and Its Emulsions. Molecules. 2017, 1–13. DOI: 10.3390.
- [16] MUNGURE, T. a E. BIRCH. Analysis of intact triacylglycerols in cold pressed canola, flax and hemp seed oils by HPLC and ESI-MS. SOP Transactions on Analytical Chemistry. 2014, 1(1), 48–61. DOI: 10.15764/ACHE.2014.01005. ISSN 23746300. Dostupné také z: <http://www.scipublish.com/journals/ACHE/papers/769>
- [17] ÇAKALOĞLU, Büşra a . Cold press in oil extraction. A review. Ukrainian Food Journal. Bornova, 2018, 7(4), 640-654. ISSN 2304974X.
- [18] LIANG, J., A. APPUKUTTAN AACHARY a U. THIYAM-HOLLÄNDER. Hemp seed oil: Minor components and oil quality. Lipid Technology. 2015, 27(10), 231–233. DOI: 10.1002/lite.201500050. ISSN 0956666X. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/lite.201500050>

- [19] Lisování za studena. *Farmet* [online]. [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: <https://www.farmet.cz/cs/lisovani-za-studena>
- [20] KAVÁLEK, Michal. Technologie výroby konopného oleje. *Zemědělský týdeník* [online]. 2016, **2016**(20) [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: <https://www.farmet.cz/Media/ContentItems/2246/technologie-vyroby-konopneho-oleje-casopis-zemedelsky-tydenik.pdf>
- [21] PARKER, T.D., D.A. ADAMS, K. ZHOU, M. HARRIS a L. YU. Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cold-pressed Edible Seed Oils. *Journal of Food Science*. 2003, 68(4), 1240–1243. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb09632.x. ISSN 0022-1147. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09632.x>
- [22] FOTSCHKI, Bartosz, Paulina OPYD, Jerzy JUŚKIEWICZ, et al. Comparative Effects of Dietary Hemp and Poppy Seed Oil on Lipid Metabolism and the Antioxidant Status in Lean and Obese Zucker Rats: Fatty Acid Profiles and Upgrading of γ -Linolenic Acid-Containing Hemp Seed Oils. *Molecules* [online]. 2020, 25(12), 4976-4986 [cit. 2021-01-09]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: [doi:10.3390/molecules25122921](https://doi.org/10.3390/molecules25122921)
- [23] JURGOŃSKI, Adam, Bartosz FOTSCHKI a Jerzy JUŚKIEWICZ. Disparate metabolic effects of blackcurrant seed oil in rats fed a basal and obesogenic diet. *European Journal of Nutrition* [online]. 2015, 54(6), 991-999 [cit. 2021-01-26]. ISSN 1436-6207. Dostupné z: [doi:10.1007/s00394-014-0775-z](https://doi.org/10.1007/s00394-014-0775-z)
- [24] SLIMÁKOVÁ, M. Kyselina linolová. *Margit* [online]. [cit. 2021-01-19]. Dostupné z: <https://www.margit.cz/encyklopedie/kyselina-linolova/>
- [25] JUN, D. Kyselina alfa-linolenová (ALA). *Ordinace. cz* [online]. Hradec Králové, 22.1.2007 [cit. 2021-01-19]. Dostupné z: <https://www.ordinace.cz/clanek/kyselina-alfa-linolenova-ala/>
- [26] SPANO, Mattia, Giacomo DI MATTEO, Mattia RAPA, et al. Commercial Hemp Seed Oils: A Multimethodological Characterization. *Applied Sciences* [online]. 2020, **10**(19) [cit. 2021-03-29]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: [doi:10.3390/app10196933](https://doi.org/10.3390/app10196933)

- [27] ULUATA, Sibel a Nurhayat ÖZDEMİR. Antioxidant Activities and Oxidative Stabilities of Some Unconventional Oilseeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2012, **89**(4), 551-559. ISSN 0003-021X. Dostupné z: doi:10.1007/s11746-011-1955-0
- [28] Čmolík, J. (ed.). Zborník přednášok z XLIV. Mezinárodnej konferencie z technologie a analytiky tukov : príčiny nejednotného vyjadřování výsledků stanovení peroxidového čísla. Bratislava, SR, 10.-12.5.2006, 2006, 180 p., (str. 120-125), ISBN 80-86238-32-6
- [29] Hrstka M., Vespálcová M.: Praktikum z analytické chemie potravin (skripta), VUT Brno, fakulta chemická, Brno 2006
- [30] RNDr. Pecha, Ing. Janyš: Laboratorní cvičení pro odborná učiliště a učební obor 1207 lučebník tuků, Státní pedagogické nakladatelství Praha, 1972, 1. vydání, 104 stran
- [31] Prof. Ing. Příbela, DrSc.: Analýza potravin, vydala Slovenská technická univerzita v Bratislavě v Edičním stredisku STU Bratislava, 1991, 2. vydání, 394 stran, ISBN 80-227- 0398-2
- [32] ISO 6885: 2006 (E): Animal and vegetable fats and oils – Determination of anisidine value
- [33] POUSTKOVA, I., L. BABIČKA, L. KOUŘIMSKÁ, G. SIEGROVÁ a L. STARUCH. QUALITY OF HEMP SEED OIL DEPENDING ON ITS OBTAINING. *Potravinárstvo*. 2010, 4(3), 53–57. DOI: 10.5219/32. ISSN 1337-0960. Dostupné také z: <http://www.potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/32>
- [34] Gas chromatography: Module 3: Introduction to Gas Chromatography and Its Parts. Lab-training.com: Experience beyond books [online]. New Delhi: Arbro Pharmaceuticals Pvt. Ltd. (Analytical Division), 2017 [cit. 2021-05-03]. Dostupné z: <http://lab-training.com/landing/gc-module-3/>.
- [35] KAMAL - ELDIN, A. a J. POKORNÝ. Analysis of Lipid Oxidation. American Oil Chemists' Society Press. [online]. Champaign, Illinois, 2005 [cit. 2021-04-29].

- [36] PRZYBYLSKI, R. A Rapid Method for Determining the Oxidative Stability of Oils Suitable for Breeder Size Samples. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society* [online]. 2013, 7(90), 933-939 [cit. 2021-04-29]. DOI: 10.1007/s11746-013-2240-1.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

μm	mikrometr
μS	mikroSiemens
°C	stupeň Celsia
ALA	kyselina α-linolenová
FTIR	infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
GLA	kyselina γ-linolenová
h	hodina
HPLC	kapalinový chromatograf
INCI	mezinárodní názvosloví kosmetických ingrediencí
IT	indukční perioda
LA	kyselina linolová
m	metr
min	minuta
MK	mastná kyselina
ml	mililitr
mm	milimetr
MUFA	monoenové mastné kyseliny
NFHP	Národní federace producentů konopí
NIR	blízká infračervená spektrometrie
NMR	nukleární magnetická resonance
OSI	oxidační stabilitní index
PUFA	polyenové mastné kyseliny
SFA	nasyčené mastné kyseliny
TAG	triacylglycerol
THC	Δ ⁹ -tetra-hydrokannabiol

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Strukturní vzorec THC</i>	12
<i>Obrázek 2: Konopí seté https://leporelo.info/konopi-sete [cit. 19. 1. 2021]</i>	12
<i>Obrázek 3: Konopné semeno loupané https://www.zodo.cz/konopna-seminka-loupana/ [cit. 19. 1. 2021]</i>	15
<i>Obrázek 4: Konopné semeno neloupané https://www.ipavelvana.eu/cs/konopi/123-konopne-seminko-neloupane-250-g-8595058901871.html [cit. 19. 1. 2021]</i>	15
<i>Obrázek 5: Konopné oleje vybrané z praktické části diplomové práce</i>	17
<i>Obrázek 6: Schéma rozdílu mezi jednostupňovým a dvoustupňovým lisem https://www.farmet.cz/cs/lisovani-za-studena [cit. 7. 4. 2021]</i>	19
<i>Obrázek 7: Jednostupňový lis firmy Farmet https://www.farmet.cz/cs/cp1-jednostupnoveliso-vani-za-studena#tab-Photogallery [cit. 7. 4. 2021]</i>	19
<i>Obrázek 8: Konopné výlisky https://www.zelenazeme.cz/obchod/konopne-pokrutiny-20-kg [cit. 7. 4. 2021]</i>	20
<i>Obrázek 9: Strukturní vzorec kyseliny linolové</i>	25
<i>Obrázek 10: Strukturní vzorec kyseliny α-linolenové</i>	25
<i>Obrázek 11: Strukturní vzorec kyseliny γ-linolenové</i>	26
<i>Obrázek 12: Strukturní vzorec γ-tokoferolu</i>	28
<i>Obrázek 13: Konopný olej Rekord</i>	37
<i>Obrázek 14: Konopný olej Zelená země</i>	38
<i>Obrázek 15: Konopný olej Bewit</i>	39
<i>Obrázek 16: Konopný olej Saloos</i>	39
<i>Obrázek 17: Konopný olej Nobilis Tilia</i>	40
<i>Obrázek 18: Vzorky konopných olejů</i>	40
<i>Obrázek 19: Grafické znázornění peroxidového čísla rozdíl mezi novým olejem a olejem ponechaným na světle</i>	47
<i>Obrázek 20: Grafické znázornění rozdílu peroxidového čísla u oleje nového a oleje skladovaného v lednici</i>	48
<i>Obrázek 21: Rozdíl mezi oxidovaným a neoxidovaným konopným olejem, vzorek Zelená země</i>	48
<i>Obrázek 22: Plynový chromatograf Shimadzu</i>	51
<i>Obrázek 23: Signály standardu v počítačovém programu CSW32</i>	53
<i>Obrázek 24: Signály vzorku konopného oleje Rekord v počítačovém programu CSW32</i> ...	54
<i>Obrázek 25: Signály vzorku konopného oleje Bewit v počítačovém programu CSW32</i>	56
<i>Obrázek 26: Přístroj Rancimat 892 Metrohm</i>	59
<i>Obrázek 27: Schéma reakční a měřicí kyvety (upraveno)</i>	60
<i>Obrázek 28: Ukázka grafů z přístroje Rancimat 892</i>	61

<i>Obrázek 29: Grafické znázornění indukční periody konopných olejů při teplotách 100 °C a 110 °C</i>	<i>62</i>
<i>Obrázek 30: Grafické znázornění vodivosti na čase u konopného oleje Rekord při teplotě 100 °C (vlevo) a při teplotě 110 °C (vpravo)</i>	<i>63</i>
<i>Obrázek 31: Grafické znázornění rozdílu indukční periody při použití rozmarýnového extraktu jako antioxidantu</i>	<i>63</i>
<i>Obrázek 32: Grafické znázornění vodivosti na čase pro konopný olej Zelená země při teplotě 100 °C bez antioxidantu (vlevo) a s přidavkem antioxidantu (vpravo)</i>	<i>64</i>
<i>Obrázek 33: Grafické znázornění rozdílu indukčních period u čistých olejů a olejů s přidavkem 0,5 % rozmarýnového extraktu (RE).....</i>	<i>65</i>
<i>Obrázek 34: Grafické znázornění vodivosti na čase pro konopný olej Nobilis Tilia s přidavkem 0,5 % rozmarýnového extraktu při teplotě 110 °C (vlevo) a při teplotě 120 °C (vpravo).....</i>	<i>65</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Charakterizace semen konopí[10]</i>	16
<i>Tabulka 2: Obsah mastných kyselin v konopném oleji stanovený pomocí plynové chromatografie</i>	21
<i>Tabulka 3: Zastoupení kyselin v konopném oleji</i>	21
<i>Tabulka 4: Rozdíly ve složení MK v neloupaných semenech konopí u různých kultivarů [2]</i>	22
<i>Tabulka 5: Rozdíly v zastoupení MK v konopném oleji u různých kultivarů konopí[10]</i>	23
<i>Tabulka 6: Rozdíly v obsahu mastných kyselin mezi různými druhy olejů</i>	24
<i>Tabulka 7: Zastoupení TAG v konopném oleji stanovené pomocí HPLC-ESI-MS [16]</i>	27
<i>Tabulka 8: Obsah tokoferolů v konopném oleji</i>	28
<i>Tabulka 9: Nutriční hodnoty konopných olejů</i>	41
<i>Tabulka 10: Peroxidová čísla konopných olejů</i>	46
<i>Tabulka 11: Jodová čísla konopných olejů</i>	49
<i>Tabulka 12: Čísla kyselosti a čísla zmýdelnění konopných olejů</i>	49
<i>Tabulka 13: Retenční časy standardů a jim odpovídající mastné kyseliny</i>	53
<i>Tabulka 14: Vyhodnocení signálu z GC pro konopný olej Rekord</i>	55
<i>Tabulka 15: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Zelená země</i>	55
<i>Tabulka 16: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Bewit</i>	56
<i>Tabulka 17: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Saloos</i>	57
<i>Tabulka 18: Vyhodnocení signálů z GC pro konopný olej Nobilis Tilia</i>	57
<i>Tabulka 19: Procentuální zastoupení nasycených a nenasycených MK v konopných olejích</i>	58
<i>Tabulka 20: Výsledné hodnoty z přístroje Rancimat 892 pro čisté konopné oleje</i>	62
<i>Tabulka 21: Výsledné hodnoty z přístroje Rancimat 892 pro konopné oleje s 0,5 % přídatkem rozmarýnového extraktu</i>	64