

Oxidační stabilita cereálních směsí s netradiční surovinovou skladbou

Bc. Zlata Lysáčková

Diplomová práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

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

Jméno a příjmení: **Bc. Zlata Lysáčková**
Osobní číslo: **T18381**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Oxidační stabilita cereálních směsí s netradiční surovinovou skladbou**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Popsat výrobu/přípravu vybraných cereálních směsí a výrobků, charakterizovat blíže netradiční suroviny použité při jejich výrobě v experimentální části, s důrazem na lipidovou složku, popsat procesy žluknutí v potravinách

II. Praktická část

1. U vybraných cereálních směsí a výrobků s netradiční surovinovou skladbou nastavit podmínky měření a stanovení indexu stability na zařízení Rancimat, stanovit u nich obsah celkových lipidů, celkových polyfenolů a hodnotu antioxidační aktivity

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN isbn978-80-86659-17-6.
[2] SHAHIDI, Fereidoon a Ying ZHONG. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. Chemical Society Reviews [online]. 2010, 39 (11) [cit. 2019-03-14]. DOI: 10.1039/b922183m. ISSN 0306-0012.
[3] BARRIUSO, Blanca, Iciar ASTIASARÁN a Diana ANSORENA. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. European Food Research and Technology [online]. 2013, 236 (1), 1-15 [cit. 2019-03-14]. DOI: 10.1007/s00217-012-1866-9. ISSN 1438-2377.
[4] CHOE, Eunok a David B. MIN. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety [online]. 2006, 5 (4), 169-186 [cit. 2019-03-14]. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x. ISSN 1541-4337.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **17. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá cereálními směsmi s netradiční surovinovou skladbou se zaměřením na jejich oxidační stabilitu. V teoretické části jsou popsány lipidy, jejich základní rozdělení, reaktivita a analýza. Dále teorie uvádí některé lipidické složky obsažené ve směsích, především jejich obsah tuků a zastoupení mastných kyselin. Praktická část je zaměřena na analýzu vzorků müsli směsí a sušenek, jejich obsah lipidů, antioxidační aktivitu a oxidační stabilitu.

Klíčová slova: müsli, cereální směsi, netradiční obiloviny, jedlé květy, lipidy, antioxidační aktivita, oxidační stabilita

ABSTRACT

The diploma thesis deals with cereal mixtures with a non-traditional raw material composition with a focus on their oxidative stability. The theoretical part describes lipids, their basic distribution, reactivity and analysis. Furthermore, the theory lists some lipid components contained in mixtures, especially their fat content and fatty acid content. The practical part is focused on the analysis of samples of muesli mixtures and biscuits, their lipid content, antioxidant activity and oxidative stability.

Keywords: muesli, cereal mixtures, non-traditional cereals, edible flowers, lipids, antioxidant activity, oxidative stability

Na prvním místě bych chtěla poděkovat doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce, za její trpělivost, ochotu a pomoc při interpretaci výsledků. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Lence Fojtíkové za pomoc při práci v laboratoři.

Děkuji Ing. Ondřejovi Rudolfovi, Ph.D. za pomoc a cenné rady při měření na přístroji Rancimat a při zpracování výsledků.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za veškerou podporu po celou dobu mého studia a svým přátelům, zejména Terezce za pomoc a oporu.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 LIPIDY	11
1.1 KLASIFIKACE LIPIDŮ	11
1.1.1 Mastné kyseliny	12
1.1.2 Homolipidy	17
1.1.3 Heterolipidy	20
1.1.4 Komplexní lipidy	21
1.1.5 Doprovodné látky lipidů	21
1.2 REAKTIVITA LIPIDŮ	21
1.2.1 Oxidační reakce	23
1.2.2 Žluknutí tuků	26
1.3 ANALÝZA LIPIDŮ A JEJICH SLOŽEK	26
1.3.1 Stanovení celkového tuku	26
1.3.2 Tukové charakteristiky	27
1.3.3 Stanovení oxidace a stupně žluklosti lipidů	27
2 LIPIDICKÉ SLOŽKY V CEREÁLNÍCH SMĚSÍCH	29
2.1 MÁSLO	29
2.2 SLUNEČNICOVÝ OLEJ	30
2.3 ŘEPKOVÝ OLEJ	30
2.4 MANDLE	31
2.5 LEN SETÝ	32
2.6 KONOPNÁ SEMÍNKA	32
2.7 CHIA SEMÍNKA	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	34
3 CÍL PRÁCE	35
4 METODIKA	36
4.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	36
4.2 POUŽITÉ POMŮCKY A PŘÍSTROJE	36
4.3 CHARAKTERISTIKA PŘIPRAVENÝCH VZORKŮ	37
4.4 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU LIPIDŮ DLE SOXHLETA	39
4.7 STANOVENÍ OBSAHU VOLNÝCH POLYFENOLŮ FOLIN-CIOCALTEUHO METODOU	41
4.7.1 Kalibrační křivka pro stanovení obsahu polyfenolů Folin- Cioalteuovou metodou	41
4.8 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH	41

4.8.1	Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH.....	42
4.9	STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY POMOCÍ METODY NA ZAŘÍZENÍ RANCIMAT	42
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	44
5.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU LIPIDŮ DLE SOXHLETA.....	44
5.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU VOLNÝCH POLYFENOLŮ FOLIN-CIOCALTEUHO METODOU.....	45
5.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH.....	48
5.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY POMOCÍ METODY S PŘÍSTROJEM RANCIMAT	52
	ZÁVĚR	59
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	60
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	66
	SEZNAM OBRÁZKŮ	67
	SEZNAM TABULEK	68

ÚVOD

V dnešní době čím dál více lidí inklinuje k jakémusi návratu k přírodě a k využití surovin v pokrmech ne až tolik obvyklých, které příroda volně poskytuje k užítku. Mezi surovinami zatím převážně moderní gastronomie tak můžeme nalézt i jedlé květy a různé netradiční obiloviny. Nabízí se široká škála neobvyklých pokrmů i jejich mnohdy speciální příprava. Patří sem i tzv. rawfood kuchyně, kde se setkáváme s jídly, která byla připravena například s minimální tepelnou úpravou, aby tak byly zachovány důležité nutriční vlastnosti surovin.

Také výrobci se snaží dodávat na trh stále nové produkty, aby tak rozšířili nabídku a uspokojili poptávku spotřebitelů. Vzhledem ke stále se měnícím trendům v životních stylech je potřeba obměňovat stávající produkty i přicházet s novými nápady. Mezi lidmi je oblíbená snídaně ve formě müsli směsí, neboť je velmi snadná a rychlá na přípravu. Řada producentů snídaňových cereálií tak má snahu nabízet jejich stále nové varianty, aby zaujali konzumenty a poskytli jim i možnost poznat například nové chutě a vyzkoušet nezvyklé potraviny.

Při výrobě nových cereálních müsli směsí a jiných produktů je nutná analýza konečného výrobku, ať už z důvodu uvedení jeho složení na obalu, nebo kvůli skladovatelnosti. Pro vyhodnocení údržnosti takovýchto směsí je potřeba znát kromě obsahu tuku také jejich oxidační stabilitu. Při správném skladování je pak minimální riziko pro spotřebitele, aby se setkali s předčasným zhoršením organoleptických vlastností z důvodu žluknutí tuků obsažených ve výrobcích.

V potravinářství se ke stanovování oxidační stability výrobků využívá různých analytických metod a přístrojů. Poměrně nově se například můžeme setkat s metodou Rancimat, která zaručuje rychlé vyhodnocení oxidační stability výrobků nejen v kapalně ale i v pevné fázi. Jedná se o metodu, při které se využívá naprogramovaný přístroj 892 Professional Rancimat a která stanovuje čas, kdy je zaznamenána tvorba těkavých senzoričticky aktivních látek zodpovědných za žluknutí. Díky tomu je pak možné stanovit dobu minimální trvanlivosti cereálních směsí za stanovených skladovacích podmínek.

Cílem této diplomové práce je vyhodnocení údržnosti cereálních müsli směsí a sušenek z netradičních surovin. Vyhodnocení je provedeno stanovením oxidační stability pomocí zmíněné metody Rancimat, dále také stanovením obsahu polyfenolů a antioxidační aktivitou.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LIPIDY

Tuky tvoří spolu s bílkovinami a sacharidy nezastupitelnou složku potravy ve výživě člověka. Pro organismus se jedná o nejbohatší energetický zdroj a hraje roli jednoho z hlavních zásobních zdrojů energie. V rámci prevence kardiovaskulárních chorob a jiných civilizačních onemocnění je potřeba dbát na rovnováhu mezi výdejem a příjmem energie, tedy na vhodnou a dostatečnou pohybovou aktivitu a omezení nadměrného energetického příjmu. Podle výživových doporučení týkajících se tuků je důležité věnovat pozornost nejenom kvantitativním aspektům, ale také jejich kvalitě (jejich složení), a to především zastoupení mastných kyselin. Mezi další velmi důležité funkce lipidů patří mechanická a tepelná ochrana organismu. Jsou složkou buněčných membrán a prekurzory pro syntézu steroidních hormonů. Podílí se také na transportu biologicky aktivních látek, např. lipofilních vitaminů. Ze všech uvedených úloh lipidů v organismu jasně vyplývá jejich nepostradatelnost pro jeho správné fungování [1, 2].

Lipidy jsou přírodní sloučeniny různých chemických struktur, živočišného i rostlinného původu, jejichž společným znakem bývá hydrofóbnost. Zpravidla lipidy obsahují estericky vázané mastné kyseliny o více než třech atomech uhlíku v molekule anebo také jejich deriváty. Dále sestávají z alkoholových složek na bázi glycerolu, laurylalkoholu apod. a dalších sloučenin nebo funkčních skupin obsahujících ve své molekule atomy H, O, C, N, P nebo S. Obecně jsou nerozpustné ve vodě (př. tuky a oleje) nebo jsou velmi slabě polární (př. fosfolipidy). Rozpouštějí se v organických rozpouštědlech jako je diethyléter, hexan, benzen, chloroform nebo methanol. Fosfolipidy tvoří hlavní strukturální složku biologických membrán, což je jejich typická funkce. Některé mastné kyseliny, vážící se v molekulách lipidů, si lidé nedokážou syntetizovat, takže se pak stávají esenciálními v lidské stravě. Mezi esenciální mastné kyseliny se řadí kyseliny linolová a α -linolenová [3, 4, 5, 6].

1.1 Klasifikace lipidů

Klasifikace lipidových struktur je možná na základě fyzikálních vlastností při pokojové teplotě (kapalné a pevné), jejich polaritě (polární a neutrální lipidy), nebo jejich chemické struktury (homolipidy, heterolipidy, komplexní lipidy a doprovodné látky lipidů, jejichž struktura je od té lipidické odlišná a často neobsahují ani navázané mastné kyseliny) [3, 5].

1.1.1 Mastné kyseliny

Z hlediska výživy jsou mastné kyseliny nejvýznamnější stavební složkou lipidů. Jako mastné kyseliny označujeme karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem mající víc než čtyři atomy uhlíku. V lipidech se vyskytují tyto skupiny mastných kyselin:

- nasycené mastné kyseliny,
- nenasyčené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (monoenové),
- nenasyčené mastné kyseliny s více dvojnými vazbami (polyenové),
- mastné kyseliny s trojnými vazbami a s různými substituenty (acyklickým, popř. cyklickým uhlíkatým řetězcem nebo polárními funkčními skupinami – kyslíkaté, dusíkaté a sírné).

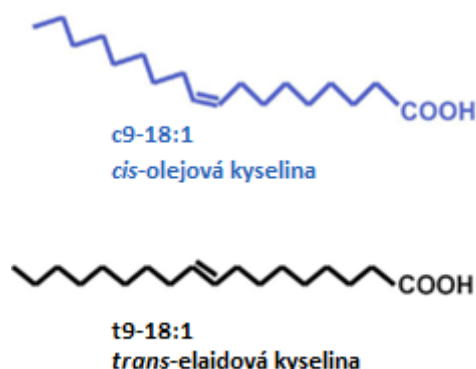
Nasyčené mastné kyseliny jsou obvyklou součástí přírodních lipidů v rostlinných i živočišných zdrojích. Zpravidla mají sudý počet uhlíků spojených jednoduchými vazbami. Tuky bohaté na nasycené mastné kyseliny mají teploty tání vyšší než oleje, které jsou bohatší na nenasyčené mastné kyseliny. Nasyčené mastné kyseliny s lichým počtem uhlíků často doprovázejí ve stopovém množství ty se sudým počtem (např. v tucích přežvýkavců), ale hojně se vyskytují i v lipidech bakterií. Výběr nejběžnějších nasycených mastných kyselin je uveden v tabulce 1 [3, 7].

Tabulka 1: Nejběžnější nasycené mastné kyseliny

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Triviální název
butanová	4	máselná
hexanová	6	kapronová
oktanová	8	kaprylová
dekanová	10	kaprinová
dodekanová	12	laurová
tetradekanová	14	myristová
hexadekanová	16	palmitová
oktadekanová	18	stearová
eikosanová	20	arachová

Mastné kyseliny s krátkým řetězcem, jako je kyselina máselná (C4:0), se vyskytují v kravském mléčném tuku. Kokosové oleje a oleje z palmových jader jsou primárními zdroji kyseliny laurové (C12:0) a myristové (C14:0). Kyselina palmitová (C16:0) se vyskytuje téměř ve všech rostlinných olejích ze semen a také v živočišných lipidech. Z nasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem (C12:0 až C18:0) je tak nejobvyklejší součástí tuků a olejů. Průmyslově využívaná množství kyseliny palmitové se získávají především z palmového a bavlníkového oleje. Kyselina stearová (C18:0) se nachází v tucích v mnohem nižších koncentracích než kyselina palmitová. Jejím zdrojem je sádlo a lůj, ale také kakao a bambucké máslo. Mnoho nasycených mastných kyselin lze připravit z odpovídajících nenasycených mastných kyselin hydrogenací. Nasycené mastné kyseliny, které mají alkylové řetězce delší než 18 atomů uhlíku, se v minimálních množstvích nacházejí v semenech podzemnice olejné nebo třeba řepky [7].

Monoenové mastné kyseliny (MUFAs – Monounsaturated fatty acids) se mezi sebou neliší jen počtem uhlíků a polohou dvojné vazby, ale také prostorovým uspořádáním molekuly (obrázek 1). Nejběžnější pozicí dvojné vazby u monoenových mastných kyselin v přírodě je Δ^9 a převládající prostorovou konfigurací je *cis* (Z). Konfigurace MK *trans* (E) se vyskytuje zřídka, a to v bakteriích a deodorovaných a částečně hydrogenovaných olejích. Všeobecně převaha *trans* nenasycených mastných kyselin vzniká při hydrogenačních procesech. Lze je nalézt v tuku přežvýkavců (u kterých se na jejich tvorbě podílí činnost mikroorganismů), ve ztužených tucích a vznikají také při smažení. Jedná se o antinutriční mastné kyseliny, které nemají pozitivní vliv na lidské zdraví. Každý typ uvedených konfigurací ovlivňuje podstatným způsobem fyzikální vlastnosti.



Obrázek 1: Znázornění *cis*-olejové kyseliny a *trans*-elaidové kyseliny [10]

Monoenové mastné kyseliny *cis* s 18 nebo méně atomy uhlíků jsou obvykle kapalné při pokojové teplotě, zatímco ty, které mají více než 18 atomů uhlíků, jsou pevné látky s nízkou teplotou tání. Monoenové mastné kyseliny mající konfiguraci dvojně vazby *trans* mají vyšší teploty tání, které jsou podobné bodům tání odpovídajících nasycených mastných kyselin. Kromě geometrické konfigurace ovlivňuje bod tání také poloha dvojně vazby. V přírodě bylo identifikováno více než 100 monoenových mastných kyselin, avšak nejčastěji z nich se vyskytuje kyselina olejová. Příklady některých nenasyčených mastných kyselin s jednou dvojnou vazbou, které jsou běžně zastoupeny v lipidech, jsou uvedeny v tabulce 2 [3, 5, 7].

Tabulka 2: Příklady nejběžnějších monoenových mastných kyselin

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Poloha dvojně vazby	Isomer	Triviální název
hexadecenová	16	9	<i>cis</i>	palmitolejová
oktadecenová	18	9	<i>cis</i>	olejová
oktadecenová	18	9	<i>trans</i>	elaidová
dokosenová	22	13	<i>cis</i>	eruková

Jak již byla uvedena u nasycených mastných kyselin kyselina palmitová jako nejčastější zástupce v tucích a olejích, u monoenových kyselin je tímto zástupcem právě kyselina olejová (C18:1 Δ^{9cis}), která se vyskytuje ve většině běžných olejů a živočišných tuků často spolu s kyselinou palmitolejovou. Ve vyšších koncentracích se nachází v olivovém oleji, oleji podzemnice olejné, palmovém, řepkovém a slunečnicovém oleji, ale také v sádle a loji. Kyselina palmitolejová (C16:1 Δ^{9cis}), jako minoritní kyselina, se vyskytuje v živočišných lipidech a rybích olejích a dále také v makadamových ořeších. Kyselina eruková (C22:1 Δ^{9cis}) je přítomna ve vysokých koncentracích hlavně v semenech řepky nebo hořčice a ačkoli přírodní formy jejich lipidů obsahují vyšší hladiny kyseliny erukové, komerčně pěstovaná řepka má tyto hladiny cíleně snižené. Dochází k tomu kvůli nepříznivému účinku kyseliny erukové na zdraví člověka, především na srdce, při expozici jejímu zvýšenému množství [7, 8].

Nenasycené mastné kyseliny s více dvojnými vazbami (PUFAs – Polyunsaturated fatty acids) se v přírodě ve větším množství až tolik nevyskytují, o to pak významnější roli hrají ve výživě člověka. Řadí se mezi ně esenciální mastné kyseliny, které jsou velmi důležité pro

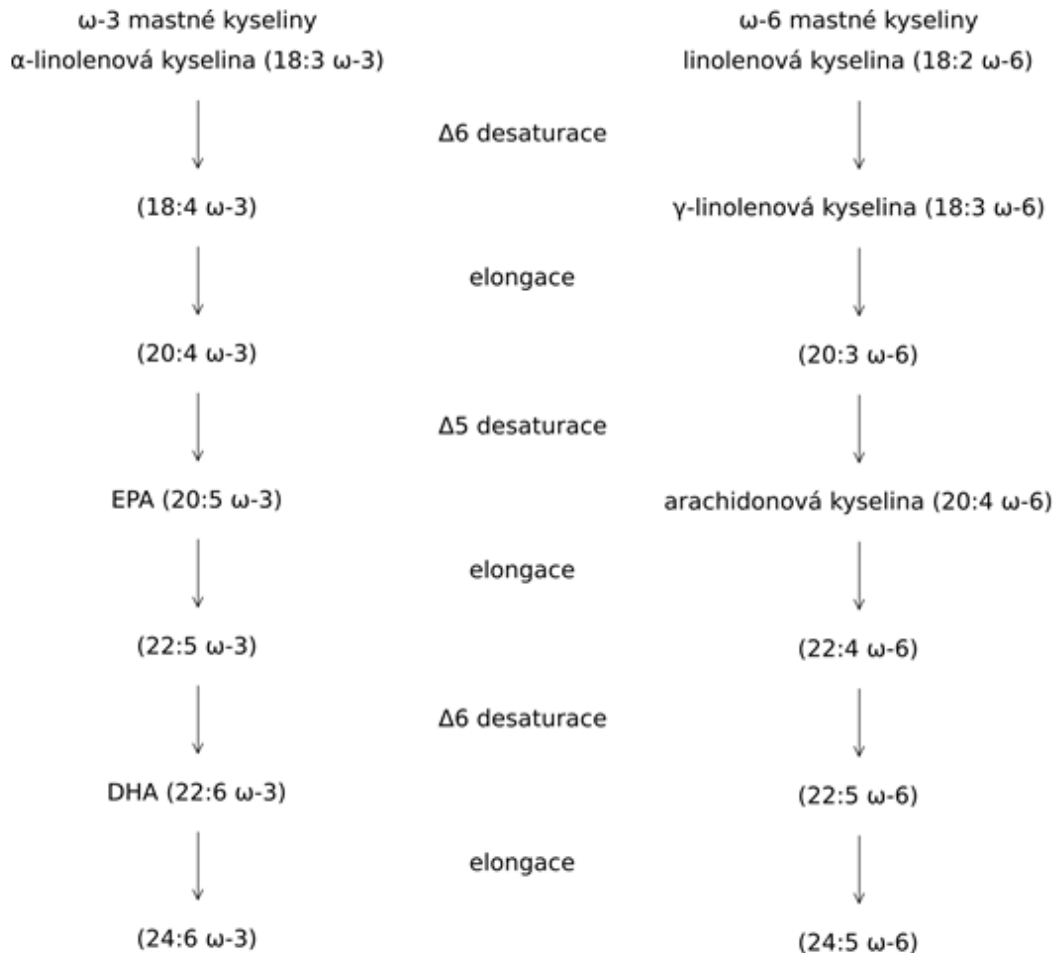
lidské zdraví. Přírodní polyenové mastné kyseliny obsahují dvě až šest dvojných vazeb, obvykle v *cis*-konfiguraci, které jsou nekonjugované a navzájem odděleny methylenovými (CH₂) skupinami. Obecně jsou polyenové mastné kyseliny kapalné při pokojové teplotě a mohou být dále klasifikovány do dvou hlavních skupin označených jako n-3 (ω -3) a n-6 (ω -6) mastné kyseliny. Označení n-3 a n-6 se vztahuje na polohu dvojných vazeb v uhlíkovém řetězci od koncového methyly, ne na systematické číslování od karboxylového konce. V organismu mají vliv na různé fyziologické procesy, ovlivňující zdraví nebo chronická onemocnění u člověka, jako je regulace hladin lipidů v plazmě, kardiovaskulární a imunitní funkce, působení inzulínu a vývoj neuronů. Přijímání polynenasycených mastných kyselin pak vede k jejich distribuci prakticky do každé buňky v těle s účinky na složení a funkci membrán, buněčnou signalizaci a regulaci genové exprese. Přehled nejvýznamnějších polyenových mastných kyselin uvádí tabulka 3 [3, 7, 9].

Tabulka 3: Výběr některých významných polyenových mastných kyselin

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Poloha dvojných vazeb	Konfigurace dvojných vazeb	Triviální název
oktadekadienová	18	9, 12	<i>cis, cis</i>	linolová
oktadekatrienová	18	9, 12, 15	<i>all-cis</i>	α -linolenová
oktadekatrienová	18	6, 9, 12	<i>all-cis</i>	γ -linolenová
eikosatetraenová	20	5, 8, 11, 14	<i>all-cis</i>	arachidonová
eikosapentaenová	20	5, 8, 11, 14, 17	<i>all-cis</i>	EPA
dokosaheptaenová	22	4, 7, 10, 13, 16, 19	<i>all-cis</i>	DHA

Skupiny n-3 a n-6 jsou odvozeny od dvou esenciálních mastných kyselin, které nelze syntetizovat v organismu, proto musí být přijímány potravou. Jedná se o linolovou kyselinu (C18:2 $\Delta^{9cis,12cis}$), která je prekurzorem pro ostatní n-6 polyenové mastné kyseliny. Pro n-3 polyenové mastné kyseliny je tímto prekurzorem α -linolenová kyselina (C18:3 $\Delta^{9,12,15all-cis}$). Kyselinu α -linolenovou pak lze desaturovat a protáhnout na kyseliny eikosapentaenovou (EPA – C20:5 $\Delta^{5,8,11,14,17all-cis}$) a dokosaheptaenovou (DHA – C22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19all-cis}$). Kyselina linolová se desaturuje na kyselinu γ -linolenovou (C18:3 $\Delta^{6,9,12all-cis}$). Některé polyenové mastné kyseliny s dlouhým řetězcem mohou být oxidovány za vzniku eikosanoidů, což jsou

hormonům podobné signální molekuly zapojené do důležitých biologických procesů. Desaturace a elongace ω -3 a ω -6 mastných kyselin je znázorněno na schématu (obrázek 2) [11].



Obrázek 2: Metabolismus a elongace kyseliny linolové a α -linolenové [12]

Kyselinu linolovou nalezneme v semenech bavlníku, kukuřici, sóji nebo slunečnici. V játrech pak může být kyselina linolová enzymaticky metabolizována na kyselinu arachidonovou. Kyselina arachidonová může být přijímána i ve stravě, a to především díky konzumaci masa a ryb. Dalším členem řady n-6 polynenasycených mastných kyselin je γ -linolenová kyselina, která je zároveň isomerem α -linolenové kyseliny. V menší míře ji lze nalézt v živočišných tucích. Kyselina α -linolenová se vyskytuje ve většině rostlinných olejů, a to ze sóji, řepky nebo lněných semen, dále ve vlašských ořeších a také některých živočišných tucích. Stejně jako linolová kyselina je α -linolenová považována za esenciální mastnou kyselinu a jaterní desaturázové a elongační enzymy ji přeměňují na řadu n-3 polyenových mast-

ných kyselin s dlouhým řetězcem, jako je EPA a DHA. Právě tyto kyseliny jsou velmi zajímavé vzhledem ke svému zdravotním přínosům. Zřídka se vyskytují v rostlinách, ale běžně se vyskytují v rybím oleji, který se získává hlavně z čerstvých jater některých druhů tresek. Obecně je doporučováno zařadit do jídelníčku právě mořské ryby, kvůli obsahu tolik prospěšných ω -3 mastných kyselin [7, 13].

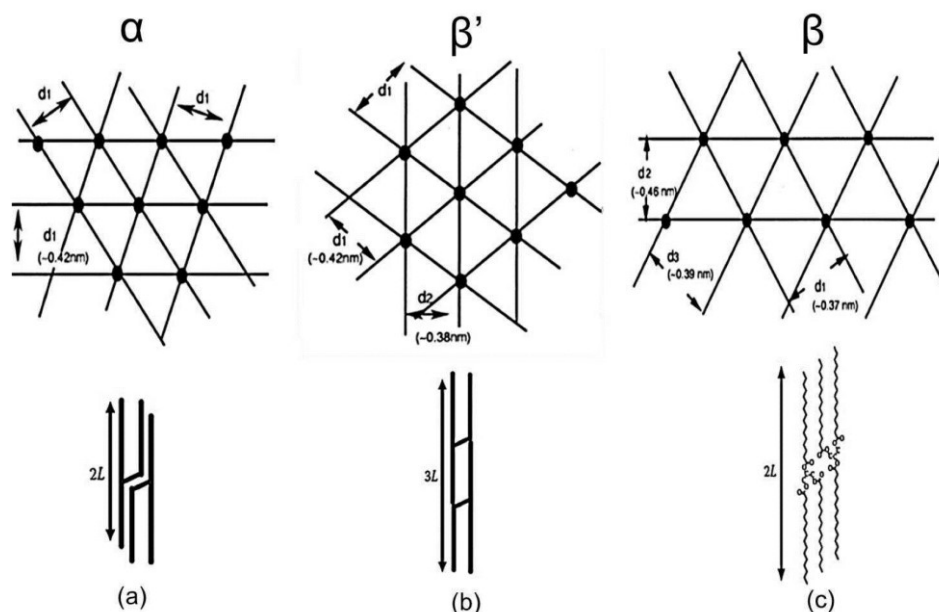
Alkinové, rozvětvené a cyklické mastné kyseliny nemají v potravinářství a ve výživě člověka až takový význam. Alkinové kyseliny jsou toxické a nalezneme je v lipidech mechů, jätrovek a některých tropických rostlin. Kyselina isovalerová, rozvětvená mastná kyselina jako součást triacylglycerolů, je důležitou složkou tuku ryby vyzy velké. Vyšší isokyseliny se dále vyskytují v depotním a mléčném tuku přežvýkavců. Z cyklických mastných kyselin pak za zmínku stojí kyselina laktobacilová objevující se v lipidech bakterií, přesněji v triacylglycerolech např. *Lactobacillus arabinosus*. Epoxymastné kyseliny odvozené od oxiranu nebo od furanu se mohou vyskytovat v olejích semen rostlin. Furanové kyseliny se také nacházejí v jaterním tuku ryb, u některých sladkovodních zastupují až 25 % mastných kyselin. Některé hydroxykyseliny jsou součástí sfingolipidů u živočichů či rostlin a vosků na povrchu rostlin, dále je také nalezneme v některých druzích ovoce, kde z nich po zahřátí vznikají aromatické látky příslušného druhu ovoce. Mezi hydroxymastné kyseliny řadíme také kyselinu ricinolejovou, která představuje hlavní složku ricinového oleje, jenž se využívá pro technické účely. Oxokyseliny nejsou tolik běžné, stopová množství se nacházejí např. v mléčném tuku [3].

1.1.2 Homolipidy

Jako homolipidy označujeme estery mastných kyselin a jednosytných nebo vícesytných alkoholů. U jednosytných alkoholů se jedná především o vosky, které mají široké uplatnění v kosmetickém průmyslu, a o sterolové estery. Vícesytné alkoholy pak zastupují zejména estery glycerolu, které tvoří všechny známé tuky a oleje [3].

Estery glycerolu patří k nejvýznamnějším lipidům v potravinářství. Dle skupenství se dříve dělily na tuky (při pokojové teplotě tuhé) a oleje (při pokojové teplotě kapalné), odtud název zaštiťující skupinu esterů mastných kyselin a vícesytných alkoholů zejména glycerolu. Dle počtu vázaných mastných kyselin se dělí na monoacylglyceroly, diacylglyceroly a triacylglyceroly. Pokud nejsou všechny tři skupiny esterifikovány stejnou kyselinou, existují polo-hové izomery a pokud je každá skupina navíc esterifikována rozdílně, existují izomery optické, protože prostřední uhlík se stává chirálním. Triacylglyceroly tuků a olejů se organizují

do krystalických sítí na základě polymorfních uspořádání, tzv. modifikací α , β a β' (obrázek 3). Při krystalizaci tak může nestálá α -forma přecházet do metastabilní β' -formy až do stabilní β -formy. Krystalové struktury a navázané mastné kyseliny určují tání a tuhnutí tuků a olejů. To má pak velký význam pro některé potravinářské výrobky, jako je margarín, zmrzlina a čokoláda [3, 4].



Obrázek 3: Prostorové projekce krystalických forem α , β' a β . Uspořádání: a) hexagonální, b) ortorombické, c) triklinické [14]

Podle původu se tuky dělí na živočišné a rostlinné. Tuk rostlin se získává především ze semen a oplodí a je možné jej nalézt i v klíčku. Mezi významné rostlinné oleje využívané v potravinářství patří sójový, palmový, řepkový, slunečnicový, olivový, arašídový, bavlníkový, palmojádřový a kokosový. Rostlinné oleje se získávají extrakcí nebo lisováním oleje ze zdroje (olejnatých semen). Přibližný procentuální obsah oleje ve vybraných olejninách je uveden v tabulce 4. Dříve se především používaly metody lisování za studena nebo za horka. Tyto metody byly z velké části nahrazeny extrakcí rozpouštědlem nebo spojením těchto dvou metod, tedy předlisováním a následnou extrakcí, které poskytují lepší výtěžek oleje. Nejdříve je potřeba narušit pletiva semen mletím a působením vody za zvýšené teploty. Poté se surovina obsahující olej lisuje na šnekových lisech za vysokého tlaku nebo se extrahuje rozpouštědlem, zpravidla hexanem, který lze pak díky jeho značné těkavosti zcela odpařit z roztoku na odparkách. Panenský olej, jako je například olivový, se získává pouze lisováním za studena. Vytěžené surové rostlinné oleje obsahují řadu dalších látek, jako jsou proteiny nebo volné mastné kyseliny, které zhoršují organoleptické vlastnosti oleje, a musí být

proto odstraněny následným zpracováním, aby se získal požadovaný olejový produkt. Naopak bývá také potřeba přidávat jiné látky, které například zvyšují jejich údržnost. Dochází tak k několikastupňové rafinaci. Při ní je potřeba ze surového oleje odseparovat heterolipidy, rostlinné slizy, sacharidy a bílkoviny do hydratačního kalu odsazením (hydratací). Dále se olej odkyselí, tedy odstraní se volné mastné kyseliny neutralizací pomocí NaOH a vzniklá sodná mýdla se odstraní. Použitím hlinitokřemičitanových sorbentů nebo aktivního uhlí se z oleje odstraňují barviva a olej je tak vybělen. Pro odstranění pachových látek neboli deodoraci se využívá destilace s vodní parou za sníženého tlaku [3, 15].

Tabulka 4: Přibližný procentuální obsah oleje ve vybraných olejninách [16]

Olejnína	Obsah oleje [%]	Olejnína	Obsah oleje [%]
arašídy	44 – 55	řepka	28 – 45
sója	18 – 21	kokos	40 – 70
slunečnicová semena	40 – 50	semena světlice barvířské	29 – 45
rýžové otruby	18 – 20	kukuřičné klíčky	30 – 40
plody palmy olejné	20 – 25	vlašský ořech	40 – 65
sezamová semena	45 – 50	lněná semena	29 – 44
bavlníková semena	33 – 40		

Mezi živočišné tuky získávané od suchozemských živočichů patří především mléčné a depotní tuky. U mořských živočichů jsou to pak tuky mořských savců a rybí tuky. Získávají se vyplavením horkou vodou a následným oddělením tuku od vodné fáze. V domácnostech se mohou také získávat škvařením, tedy použitím horké páry. Produktem je pak sádlo a škvarky. Mléčný tuk se získává postupně z mléka odstředěním smetany, která je bohatá na tuk. Ten se oddělí i od podmásli a získáváme tak máslo, které má minimálně 80 % tuku. Přibližné obsahy tuků ve vybraných živočišných surovinách a produktech jsou uvedeny v tabulce 5 [3].

Tabulka 5: Přibližný procentuální obsah tuku ve vybraných živočišných surovinách a produktech [3]

Živočišná surovina nebo produkt	Obsah tuku [%]	Živočišná surovina nebo produkt	Obsah tuku [%]
libové vepřové maso	18	ryby	1 – 16
vepřové tučné maso	41	mléko polotučné	1,5
hovězí maso	2 – 36	mléko plnotučné	3,5
maso drůbeže hra- bavé	1 – 35	máslo	80
maso drůbeže vodní	17 – 33	vaječný žloutek	33
uzeniny	25 – 48		

1.1.3 Heterolipidy

Heterolipidy obsahují vázané mastné kyseliny, alkoholy, a navíc další složky, podle kterých se dále dělí na fosfolipidy, glykolipidy a sulfolipidy.

Fosfolipidy lze obecně považovat za lipidy s esterově navázaným zbytkem kyseliny fosforečné. Tím je dána amfifilní povaha fosfolipidů, neboť fosfát představuje část polární neboli hydrofilní a lipidická část je naopak nepolární tedy hydrofobní. Při nízkých koncentracích jsou tak rozpustné ve vodě a nad tzv. kritickou micelární koncentrací se shlukují a vytváří micely, tedy různé makromolekulární struktury v přítomnosti vody, přičemž hlavní strukturou je dvojvrstva, ve které polární oblasti mají tendenci se orientovat směrem k vodné fázi a hydrofobní oblasti se od vody odlučují. Fosfolipidy jsou velmi důležitou součástí biomembrán, kde poskytují bariéru propustnosti mezi vnějším a vnitřním prostředím a představují tak jednu z jejich nejdůležitějších funkcí v biologické membráně. Nalezneme je především v živočišných nervových tkáních a ve vaječném žloutku, z rostlin obsahují větší množství fosfolipidů sójové boby. Fosfolipidy se dále dělí v závislosti na struktuře alkoholové kostry. Základním řetězcem může být glycerol nebo sfingosin. Podle dalších navázaných zbytků se dělí na fosfatidy, lyzofosfatidy, plazmalogeny a sfingofosfolipidy. Rozdíly ve struktuře pak ovlivňují jejich chemickou reaktivitu [3, 5].

Fosfatidy jsou deriváty fosfatidylu, u kterých je na třetím uhlíku glycerolu navázána kyselina fosforečná. Na kyselině bývá navázán další zbytek a tím existují významné látky jako je fosfatidylcholin (dříve lecitin), fosfatidyletanolamin (dříve kefalin), fosfatidylserin nebo fosfatidylinositol. Lecitin je mimo jiné hojně využíván v potravinářství jako přírodní emulgátor. Díky amfifilní povaze působí jako stabilizátor dvou nemísitelných kapalných fází v emulzi tím, že se adsorbuje na rozhraní těchto dvou fází a snižuje svým amfipatickým charakterem mezifázové napětí [3, 5].

1.1.4 Komplexní lipidy

Složené (komplexní) lipidy jsou makromolekulární látky, jejichž lipidová část se váže na nelipidovou část vodíkovými můstky, hydrofobními interakcemi a jinými fyzikálními vazbami a mohou se uplatňovat i kovalentní vazby. Nelipidovou složkou bývá často protein nebo polysacharid a další složky či jejich směsi. K významným komplexním lipidům patří lipoproteiny krevního séra. Jsou tvořeny nepolárním lipidovým jádrem a polárním proteino-
vým obalem. Lipoproteiny krevního séra se dělí podle jejich hustoty, čím vyšší je obsah nepolárních lipidů, tím nižší je jejich hustota. Rozlišujeme tak lipoproteiny o velmi nízké (VLDL), nízké (LDL), vysoké (HDL) a velmi vysoké (VHDL) hustotě. Lipoproteiny s nízkou hustotou jsou méně stabilní a snadno se z nich vylučují lipidy, které se následně mohou usazovat do stěn cév [3, 17].

1.1.5 Doprovodné látky lipidů

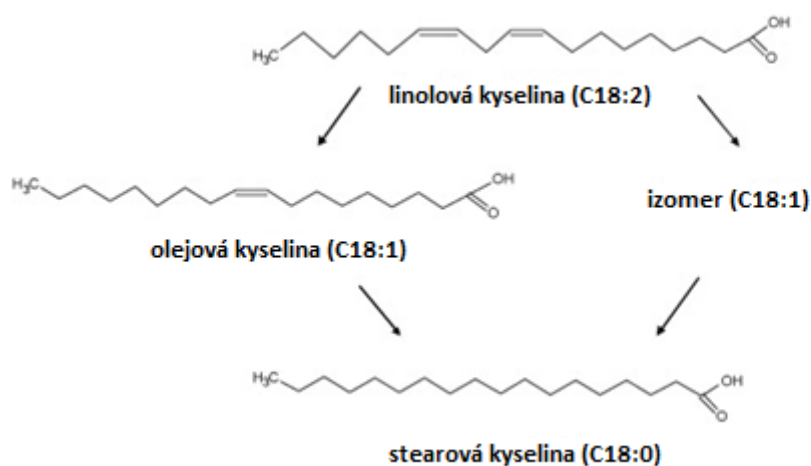
K lipidům se řadí také jejich doprovodné látky. Jsou to sloučeniny nepolárního charakteru a patří mezi ně steroidy, vyšší uhlovodíky, alkoholy, ketony, vitamíny, barviva apod. Steroidy jsou největší skupinou doprovodných látek lipidů a řadí se mezi isoprenoidy (terpenoidy). Vyskytují se v lipoproteinech a biomembránách. Ze zoosterolů, což je jedna z podskupin steroidů, je nejvýznamnějším zástupcem cholesterol, který hraje důležitou roli při syntéze steroidních hormonů a žlučových kyselin a je také prekurzorem vitamínu D. Vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K) a barviva (karotenoidy a chlorofylová barviva) jsou další významné doprovodné látky lipidů [3].

1.2 Reaktivita lipidů

Reaktivitu lipidů ovlivňují především navázané mastné kyseliny a při chemických reakcích se uplatňuje jak jejich karboxylová skupina, tak hlavně jejich nenasycenost, tedy přítomnost

dvojných vazeb. Obecně rozlišujeme několik druhů reakcí lipidů, z nichž za velmi významnou zejména v potravinářství se považuje oxidace lipidů.

Polární část mastných kyselin reaguje s anorganickými zásadami za vzniku solí. Jedná se o typickou neutralizaci, zásadou je zpravidla hydroxid s jednomocným nebo dvojmocným kationtem. Při reakci hydroxidu s triacylglycerolem pak vzniká glycerol a příslušné soli mastných kyselin. Dále může karboxylová skupina mastné kyseliny reagovat s hydroxylovou skupinou alkoholu za vzniku esteru při kyselé nebo enzymatické (lipázy) katalýze. Další velmi důležitou reakcí nenasycených mastných kyselin je izomerace, a to buď geometrická (*cis*, *trans*) nebo polohová (posun dvojně vazby). V přírodě se naprostá většina nenasycených mastných kyselin vyskytuje v konfiguraci *cis*, avšak například zahřevem nad 200 °C přecházejí dvojně vazby do konfigurace *trans*. K této reakci může docházet i při autooxidaci a hydrogenaci tuků a bývá zpravidla doprovázena i následným posunem dvojně vazby nenasycené mastné kyseliny. Při hydrogenaci tuků dochází k nasycení dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin plynným vodíkem při katalýze kovem (například niklem, od čehož už se v poslední době ustupuje) a zvýšené teplotě. Polyenové mastné kyseliny se tak hydrogenují na monoenové a dále až na nasycené mastné kyseliny, tedy například kyselina linolová se dvěma dvojnými vazbami přechází na kyselinu olejovou s jednou dvojnou vazbou a ta může být hydrogenována až na kyselinu stearovou (obrázek 4). Mění se teplota tání a kapalné oleje tak mohou přecházet na pevné tuky, proto se bavíme o ztužování tuků.



Obrázek 4: Schéma katalytické hydrogenace [18]

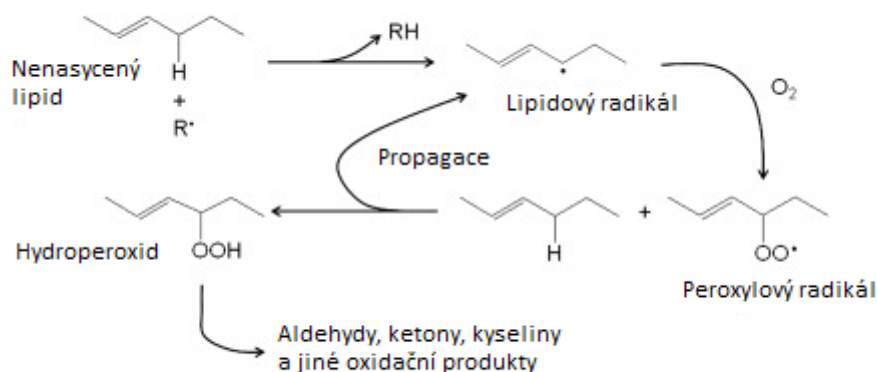
U nenasycených mastných kyselin při vyšších teplotách (například při smažení) dochází k jejich cyklizaci v pětičlenné až šestičlenné cykly a také k polymeraci za vzniku cyklických a lineárních polymerů [3, 7, 10, 21].

1.2.1 Oxidační reakce

Lipidy jsou náchylné k oxidaci různými cestami. Jejich oxidační stabilita závisí na řadě vnitřních a vnějších faktorů, mezi něž patří mimo jiné nenasycení jejich mastných kyselin, složení minoritních složek, podmínky prostředí a přítomnost antioxidantů. Oxidace lipidů má škodlivé účinky jak na kvalitu potravin, tak na lidské zdraví. Je hlavní příčinou zhoršení kvality potravin a negativně ovlivňuje integritu biologických systémů. Oxidační změny v potravinách vedou k vývoji nežádoucích příchutí, ztrátě živin a bioaktivních látek, a dokonce k tvorbě potenciálně toxických sloučenin. Proto je třeba usilovat o minimalizaci oxidace a zlepšení oxidační stability lipidových produktů. Lipidy v živých organizmech mohou také podléhat oxidaci během normálního aerobního metabolismu nebo při expozici jiným oxidačním činidlům. Oxidace může mít destruktivní účinky pro buňky a je spojena s řadou chorob a zdravotních stavů včetně zánětu, aterosklerózy, rakoviny a stárnutí.

Lipidy jsou citlivé na oxidaci v přítomnosti katalytických systémů, jako je světlo, teplo, enzymy, kovy, metaloproteiny a mikroorganismy, což vede ke složitým procesům autooxidace, fotooxidace, tepelné nebo enzymatické oxidace, z nichž většina zahrnuje volné radikály a jiné reaktivní částice, které vznikají jako meziprodukty. Autooxidace je nejběžnějším procesem ze všech a je definována jako spontánní reakce lipidů s atmosférickým kyslíkem prostřednictvím řetězové reakce volných radikálů. Proces může být urychlen při vyšších teplotách jako při tepelné oxidaci. Fotooxidace zahrnuje excitaci fotosenzibilizátoru a přenos energie na lipidové molekuly nebo kyslík. Oxidaci lze také katalyzovat určitými enzymy, jako jsou lipoxygenázy. Nenasycené mastné kyseliny jsou hlavními reaktanty ovlivněnými těmito reakcemi, ať už jsou přítomny jako volné mastné kyseliny, jednoduché alkylestery, acylglyceroly nebo fosfolipidy. Polynenasycené mastné kyseliny v membránových fosfolipidech a cholesterolu a zejména lipoprotein LDL jsou hlavními cílovými substráty oxidace v živých buňkách a způsobují jejich nevratné poškození.

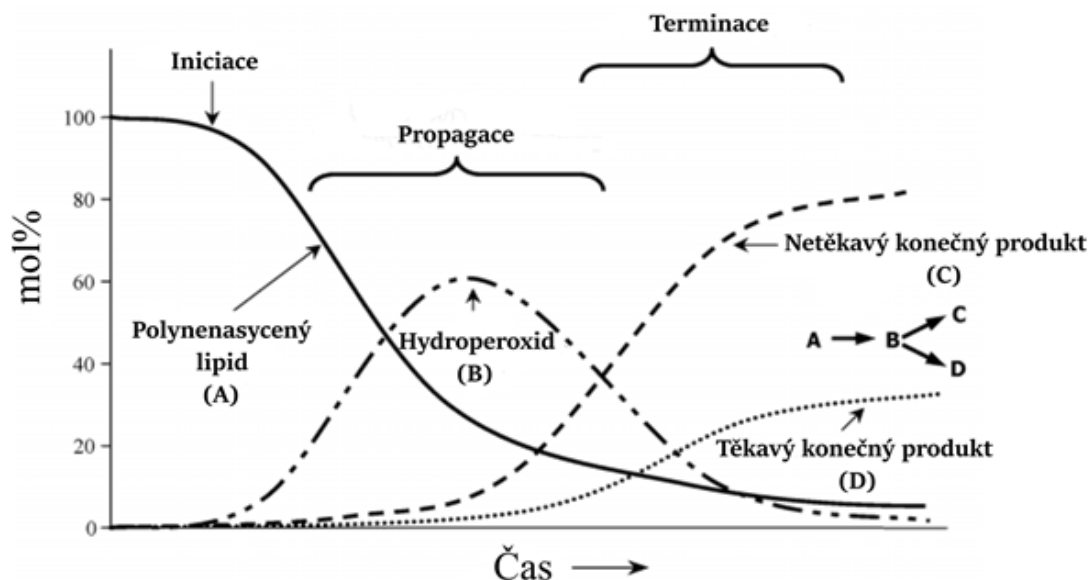
Autooxidace může probíhat již při běžné teplotě a zúčastňují se jí pouze nenasycené mastné kyseliny. K autooxidaci lipidů dochází prostřednictvím mechanismu volných radikálů, který probíhá třemi různými fázemi a to iniciací, propagací a terminací, což vede k řadě komplexních chemických změn (obrázek 5).



Obrázek 5: Zjednodušené schéma vysvětlující mechanismus autooxidace [19]

Nenasycené lipidové molekuly v přítomnosti iniciátorů R^\bullet ztrácejí atom vodíku a produkují volné radikály. Lipidové radikály pak reagují s kyslíkem za vzniku peroxylových radikálů, které reagují s novou lipidovou molekulou. Tato reakce se může během propagace několikrát opakovat, dokud není k dispozici žádný zdroj vodíku nebo dokud není řetězec přerušen například antioxidanty. Během propagace vznikají lipidové hydroperoxydy jako primární produkty oxidace. Jsou nestabilní a rozkládají se na širokou škálu sekundárních produktů oxidace včetně aldehydů, ketonů, alkoholů, uhlovodíků, těkavých organických kyselin a epoxidových sloučenin, z nichž některé mají nežádoucí pachy. Typ vznikajících sekundárních produktů závisí na složení substrátů mastných kyselin a reakčních podmínkách. Aldehydy vytvořené rozkladem hydroperoxidu mohou být dále oxidovány na organické kyseliny a další terciární produkty oxidace. Hydroperoxydy a mnoho sekundárních oxidačních produktů jsou samy vysoce reaktivní a mohou iniciovat další oxidační reakce. Autooxidace je zpočátku pomalá a nedochází k žádným významným změnám. S narůstajícím časem se zvyšuje i množství hydroperoxidů a tím i reaktivních skupin a reakce se urychluje, až dosáhne svého vrcholu a poté se hydroperoxydy začínají rozkládat. V terminační fázi oxidace se radikály navzájem neutralizují za vzniku stabilních neradikálových produktů (obrázek 6). Vznikají tak epoxykyseliny a hydroxykyseliny, u kterých nedošlo ke změně počtu atomů

uhlíku v molekule, štěpením uhlíkatého řetězce se tvoří aldehydy a uhlovodíky nebo se řetězec polymerační reakcí prodlužuje a vznikají různé polymerní produkty [3, 20, 21, 22].



Obrázek 6: Časový průběh autooxidace nenasycených mastných kyselin (lipidů): snižování koncentrace polynenasycených lipidů (A), vznik a rozklad reaktivních hydroperoxidů (B) a zvyšování koncentrace netěkavých (C) a těkavých (D) konečných produktů [23]

Pro minimalizaci oxidace olejů a tuků nebo jejímu zabránění se doporučuje během jejich zpracování a skladování snížit teplotu, vyloučit světlo a kyslík, odstranit kovy a oxidační sloučeniny a použít vhodné koncentrace antioxidantů. Ve většině jedlých olejů se antioxidanty vyskytují přirozeně. Jsou to například tokoferoly, tokotrienoly, karotenoidy, fenolické sloučeniny a steroly. Antioxidanty prodlužují dobu indukce oxidace nebo zpomalují její rychlost, zachycují volné radikály, zhášejí singletový kyslík a inaktivují senzibilizátory. Jedná se především o monohydroxy- nebo polyhydroxyfenolické sloučeniny s různými substitucemi aromatických kruhů, které jsou schopny poskytnout atomy vodíku volným radikálům a převádět je tak na stabilnější neradikální produkty. Do olejů jsou tak záměrně přidávány, aby zlepšily jejich oxidační stabilitu [21].

1.2.2 Žluknutí tuků

Žluknutím je označován proces zhoršování sensorických vlastností tuků a olejů a tím i výrobků. Příčinou se stává převážně jejich autooxidace, ale při skladování způsobuje žluknutí i řada dalších reakcí. Lze rozlišit různé druhy žluknutí. U hydrolytického žluknutí dochází pomocí enzymů hydroláz k hydrolyze triacylglycerolových mastných kyselin a jejich uvolnění a mastné kyseliny především s krátkým uhlovodíkovým řetězcem pak způsobují nepříjemný pach. Takto dochází například ke kažení másla nebo kokosového tuku. Dalším druhem žluknutí je oxidační, kdy při rozkladu hydroperoxidů, jako primárních oxidačních produktů, vznikají sekundární produkty oxidace. Jedná se především o těkavé sensoricky aktivní látky, aldehydy, uhlovodíky a ketony, které zapříčiňují žluklou chuť. U olejů obsahujících více polyenových mastných kyselin může docházet k chuťové reverzi. Nepříjemné pachy pocházející ze žluknutí se dají odstranit rafinací oleje, ale po čase se objeví znovu [3, 24].

1.3 Analýza lipidů a jejich složek

Při analýze lipidů hraje důležitou roli jak rozebíraná složka či charakteristika, kterou je třeba zjistit nebo stanovit, tak je podstatný i samotný analyzovaný vzorek, například jeho stav a konzistence. Podle těchto faktorů se pak volí vhodná metoda analýzy s přihlédnutím k předpokládanému chování vzorku při jednotlivých krocích analýzy.

1.3.1 Stanovení celkového tuku

Stanovení celkového tuku tedy lipidů znamená součet všech lipidických látek, které byly pomocí rozpouštědel vyextrahovány ze vzorku. Důležitá je volba vhodného rozpouštědla či jeho směsi a metody extrakce. Metod pro stanovení celkového tuku se nabízí hned několik, většinou se liší používanými rozpouštědly a úpravou vzorků před extrakcí. Hojně se využívá například Soxhletova metoda, při níž se velmi často používají ethyléter, diethyléter nebo hexan jako rozpouštědla a které se následně odpařují od lipidové části na odparce. Po odpaření se samostatný lipidový podíl zváží. U metody podle Folche se jako extrakční činidlo využívá směs chloroformu s methanolem. U dalších metod jako je například dle Grossfelda nebo dle Röseho a Gottlieba je potřeba nejdříve vzorek hydrolyzovat, aby se tak odstranily bílkoviny, sacharidy nebo voda. Automatizace principu některých metod dala za vznik zařízením jako je například Soxtec. Extrakce tak může trvat kratší dobu s menšími objemy rozpouštědel [25].

1.3.2 Tukové charakteristiky

Tukové charakteristiky nebo také nazývány tuková čísla udávají obsah různých složek v tuku a tím i jeho charakter. Číslo kyselosti udává obsah všech volných mastných kyselin v tuku. Principem stanovení je neutralizace mastných kyselin odpovídajícím množstvím KOH. Provádí se titrace tuku rozpuštěného ve směsi ethanolu s diethyléterem alkoholickým KOH na fenolftalein a je možné tím posoudit i míru hydrolytického žluknutí či jiných procesů, při kterých se mastné kyseliny uvolňují. Číslo zmýdelnění představuje obsah všech mastných kyselin, ať už volných či esterově vázaných. Vzorek se neutralizuje nadbytkem KOH a jeho přebytek se pak stanovuje titrací pomocí HCl. Odečtením dvou předchozích čísel dostaneme esterové číslo, tedy obsah esterově vázaných kyselin ve vzorku. Jodové číslo udává množství dvojných vazeb mastných kyselin obsažených v tuku. Jod se naváže na dvojně vazby nenasyčených mastných kyselin a jeho přebytek se pak stanoví titrací thiosíranem. Jodové číslo by mohlo potenciálně předurčovat i míru oxidace tuků, ta ale závisí na mnoha dalších faktorech [5].

1.3.3 Stanovení oxidace a stupně žluklosti lipidů

Přítomnost hydroperoxidů jako primárních produktů oxidační reakce a jejich koncentrace se stanovuje pomocí peroxidového čísla. Tento indikátorový test je nejvyužívanějším prokázáním již počátečního stupně oxidace a také jejího průběhu, neboť podle koncentrace hydroperoxidů je možno určit i její fázi. Hydroperoxydy se stanovují jodometricky. Pro indikaci jejich štěpení se využívá anisidinové číslo. Při rozkladu hydroperoxidů vznikají sekundární produkty oxidace, jako jsou aldehydy. Ty reagují s anisidinem za vzniku barevných produktů, které jsou následně měřeny spektrofotometricky. Spektrofotometrická metoda se využívá i při stanovení obsah aldehydů thiobarbiturovým číslem, kde aldehydy reagují s kyselinou 2-thiobarbiturovou za vzniku produktů červené barvy. Stanovení oxidační stability tuků je velmi důležitá úloha při výrobě jedlých tuků a olejů, ale především důležitá informace pro jejich skladování. Využívá se například aktivní kyslíkové metody (AOM), při které je vzorek provzdušňován při vysoké teplotě nebo Schaalova testu, kde je vzorek zahříván na nižší teploty za přístupu vzduchu po dobu až několika dní. U obou metod se pak stanovuje peroxidové číslo [5, 26].

V potravinářském průmyslu je rozhodující rychlé změření oxidační stability olejů při jejich výrobě, ale také stanovení oxidační stability pro různé jiné produkty v pevné fázi. Pracné titrační metody jsou zdlouhavé, nereprodukovatelné a zahrnují použití toxických chemikálií. Proto byla poměrně nově vynalezena zrychlená metoda na zařízení Rancimat, kterou lze

měřit nejen tekuté ale i tuhé vzorky. Je tak možné měřit oxidační stabilitu rostlinných olejů a živočišných tuků v jejich čisté formě, ale také potravin či kosmetiky, které jsou na tuky bohaté. Metoda naprogramovaného přístroje spočívá v měření vodivosti destilované vody, do které jsou zařízením přiváděny těkavé sloučeniny. Ty vznikají během oxidace jako sekundární produkty. Oxidace je docílena přístupem kontrolovaného objemu vzduchu a zvýšené teploty. Čas do zaznamenání sekundárních těkavých produktů, a tedy nárůstu měřené vodivosti, se nazývá indukční čas a charakterizuje oxidační stabilitu olejů a tuků. Oxidační stabilitu lze také vyhodnotit indexem stability (SI = Stability Index), který je vztažen na referenční vzorek čistého tuku nebo oleje [27, 28].

Primární, sekundární i terciární produkty oxidace stejně tak i jiné frakce lipidů lze stanovovat, identifikovat či separovat pomocí modernějších metod a na přístrojích, které se stále zdokonalují. Využívá se kapalinová chromatografie, a to buď na tenké vrstvě (TLC), nebo vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), dále plynová chromatografie (GC), NMR spektrometrie, hmotnostní spektrometrie (MS) nebo také infračervená spektroskopie (FT-IR). Produkty oxidace mohou být měřeny monitorováním změn vodivosti systému. Je také zkoumán potenciál aplikace technologie multispektrálního zobrazování (MSI) s více vlnovými délkami pro hodnocení žluknutí například v máslových sušenkách [26, 29].

2 LIPIDICKÉ SLOŽKY V CEREÁLNÍCH SMĚSÍCH

Některé surovinové složky přidávané do cereálních směsí či těst mohou mít rozmanité lipidické složení, proto mohou být potenciálními substráty pro oxidační reakce. Od míry oxidační stability takovýchto složek se pak také odvíjí udržitelnost finálních cereálních produktů. Následně jsou blíže charakterizovány ty suroviny lipidového charakteru, které byly součástí směsí analyzovaných v experimentální části.

2.1 Máslo

Máslo je tuk živočišného původu vyrobený z kravského mléka. Podle nařízení 1234/2007/ES musí být máslo vyrobeno pouze z mléčného tuku, který tvoří máslo nejméně z 80 % (voda jej tvoří nejvýše z 16 %). Do másla se nesmí přidávat aditiva ani jiné tuky. Máslo se vyrábí ze smetany, která se před procesem pasteruje, dále vychladí a nechává zrát. Poté se stlouká na máselná zrna a podmáslí. Máselná zrna jsou dále oprána a hnětena a dále formována do příslušných tvarů a balena. Složení másla je uvedeno v tabulce 6 [30].

Tabulka 6: Průměrné složení másla [30]

Složka	Obsah [%]
voda	15,3
bílkoviny	0,67
tuky	83,2
sacharidy	0,72
minerální látky	0,11

Přibližné zastoupení konkrétních mastných kyselin v másle je následující: máselná 2,6 %, kapronová 1,5 %, kaprylová 0,9 %, kaprinová 2 %, laurová 2 %, myristová 8,1 %, palmitová 21,1 %, stearová 9,7 %, myristoolejová 1,2 %, palmitoolejová 1,8 %, olejová 30,1 %, linolová 1,8 % a linolenová 1,2 % [29]. Rychlost autooxidace v másle závisí na složení mastných kyselin (například kyselina linolová oxiduje desetkrát rychleji než kyselina olejová), přítomnosti antioxidantů (α - tokoferol, kyselina askorbová a karotenoidy) a prooxidantů (peroxydy a těžké kovy) a na vnějších faktorech jako je sluneční světlo, teplota, pH apod. Prooxidanty, jako jsou ionty železa a mědi, se mohou přirozeně vyskytovat v másle nebo pocházet z kovových zařízení používaných při výrobě másla. Primární produkty autooxidace jako hydroperoxydy kyseliny linolové nezapáchají. Sekundární produkty z terminace autooxidace, jako jsou uhlovodíky, aldehydy a ketony, může charakterizovat intenzivní zápach, který pak při

vyšších koncentracích může způsobovat nepříjemnou chuť. Oxidací kyseliny linolové se ve velké míře tvoří hexanal, dále také například (*E*)-2-nonenal a 1-okten-3-on. (*Z*)-1,5-oktadien-3-on pochází z kyseliny linolenové a (*Z*)- a (*E*)-2-nonenal z kyseliny palmitoolejové [31].

2.2 Slunečnicový olej

Slunečnicový olej se získává ze semen slunečnice roční (*Helianthus annuus* L.) lisováním nebo extrakcí. Obsah oleje v semenech se pohybuje kolem 50 %. Slunečnicový olej obsahuje více než 85 % nenasycených mastných kyselin, přičemž více než dvě třetiny všech mastných kyselin tvoří kyselina linolová, jejíž obsah pak závisí na klimatických podmínkách, ve kterých se slunečnice pěstuje. Poměrně nově se získává olej z geneticky vyvinuté slunečnice, která obsahuje více kyseliny olejové na úkor kyseliny linolové. Zastoupení mastných kyselin slunečnicového oleje je uvedeno v tabulce 7 [30].

Tabulka 7: Zastoupení MK slunečnicového oleje [30]

Kyselina	Obsah [%]
palmitová	6,3
stearová	3,5
olejová	21,6
linolová	67,3
linoleová	0,1

Při oxidaci slunečnicového oleje podporované například působením vyšší teploty se jako sekundární produkty tvoří především aldehydy z nejvíce zastoupené polynenasycené mastné kyseliny linolové. Slunečnicový olej obsahuje poměrně vysoké množství vitamínu E (tokoferoly), které jsou známé antioxidanty a podílí se tak na oxidační stabilitě oleje [32].

2.3 Řepkový olej

Olej z řepky olejné (*Brassica napus* subsp. *napus*) je nyní považován za nejlepší dostupný jedlý olej především po významném zlepšení a úpravě jeho původu, kdy byla hladina kyseliny erukové snížena na méně než 2 % a ve většině v současnosti vyráběných řepkových

olejích je tak nižší než 1 % z celkových mastných kyselin. Zastoupení mastných kyselin řepkového oleje je uvedeno v tabulce 8 [33].

Tabulka 8: Zastoupení mastných kyselin řepkového oleje [33]

Kyselina	Obsah [%]
palmitová	3,6
stearová	1,5
olejová	61,6
linolová	21,7
linoleová	9,6

Oxidační stabilita řepkového oleje je ovlivněna přítomností kyseliny linolenové, chlorofylu a jeho produktů rozkladu a dalších minoritních složek, jako jsou stopová množství mastných kyselin obsahujících více než tři dvojnásobné vazby, které se často vytvářejí během rafinace a bělení [33].

2.4 Mandle

Mandle (*Prunus amygdalus dulcis*) se řadí mezi výživné potraviny s rozsáhlým přínosem pro lidské zdraví, jejich konzumace se spojuje s přispíváním ke snížení rizika chronických onemocnění, jako je srdeční choroba a diabetes II. typu, stejně tak pro udržování a kontrolu hmotnosti. Mohou být konzumovány celé (čerstvé nebo pražené) nebo jako mandlové máslo či mohou být použity zpracované například v podobě mandlové mouky. Mandle obsahují asi 50 % tuku, avšak složení mastných kyselin je velmi příznivě rozděleno především mezi mononenasycené a polynenasycené mastné kyseliny. Zastoupení mastných kyselin v mandlích je uvedeno v tabulce 9. Dále obsahují například vitamín E, který je v mandlích významným antioxidantem. Nebezpečí pro lidské zdraví představují mandle hořké (*Amygdalus amara*), které obsahují vyšší množství amygdalinu, což je toxická kyanogenní látka, jejímž rozkladem vzniká kyanovodík [34].

Tabulka 9: Zastoupení mastných kyselin v mandlích [34]

Kyseliny	Obsah [%]
nasyčené	3,7
MUFA (olejová)	30,6
PUFA (linolová)	12,1

2.5 Len setý

Semínka lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) se rychle stávají novým doplňkem jídel v mnoha dietách kvůli zdravotním výhodám jeho oleje. Hlavní fyziologické přínosy lněného oleje jsou přisuzovány především vysokému obsahu kyseliny α -linolenové. Zastoupení mastných kyselin ve lněném oleji je uvedeno v tabulce 10 [35].

Tabulka 10: Zastoupení mastných kyselin ve lněném oleji [35]

Kyselina	Obsah [%]
palmitová	6,9
stearová	4,6
olejová	15,1
linolová	14,0
α -linoleová	58,3

Lněný olej obsahuje významné množství α -tokoferolu, důležitého antioxidantu, avšak vysoký stupeň polyneenasycení vzhledem k α -linolenové kyselině přesto snižuje oxidační stabilitu oleje [35].

2.6 Konopná semínka

Konopí (*Cannabis sativa* L.), jednoletá bylinná rostlina, se po mnoho století v zemědělství pěstuje pro svá vlákna a olej. Konopná semínka díky své nutriční hodnotě prokázala pozitivní zdravotní přínosy včetně snížení cholesterolu a vysokého krevního tlaku. Najdeme je v potravinových výrobcích i v lidových léčivých přípravcích. Konopná semínka obsahují 20 – 25 % bílkovin, 20 – 30 % sacharidů, 25 – 35 % tuku, 10 – 15 % nerozpustné vlákniny a

bohatou škálu minerálních prvků. Konopný olej se výborně hodí pro lidskou výživu především díky vyváženému zastoupení esenciálních polynenasycených mastných kyselin (kyseliny linolové a α -linolenové jsou zastoupeny v poměru 3:1) [36].

2.7 Chia semínka

Chia semínka produkuje rostlina šalvěj hispánská (*Salvia hispanica* L.). Z nutričního hlediska jsou chia semínka ceněnou potravinou. V Brazílii, původní zemi šalvěje hispánské, se chia konzumuje nejen ve formě semen, ale také mouky. Spotřeba chia se zvýšila díky blahodárným účinkům spojenými s obezitou, kardiovaskulárními chorobami, cukrovkou a některými typy rakoviny. Obsahují vysoké koncentrace lipidů 31,2 %, bílkovin 18,9 %, vlákniny 35,3 % a také vitamin E je zastoupen ve vyšší koncentraci. Hlavním typem mastných kyselin, které se nacházejí v chia semínkách, jsou polynenasycené mastné kyseliny, zejména α -linolenová a linolová kyselina [37].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části diplomové práce bylo shrnout klasifikaci lipidů, jejich reaktivitu, především oxidační reakce a stabilitu, a také jejich analýzu. Součástí teoretické části byla i kapitola věnována lipidickým komponentům sušenek a müsli směsí.

Cílem experimentální části diplomové práce bylo nejprve stanovení faktorů ovlivňujících oxidační stabilitu sušenek a müsli směsí, tedy celkový obsah lipidů, obsah fenolických látek a antioxidační aktivity. Následně byla stanovena oxidační stabilita sušenek a müsli směsí a pro porovnání také oxidační stabilita mandlí, konopných semínek a másla.

4 METODIKA

4.1 Použité chemikálie

- *n*-hexan – Ing. Lukeš,
- metanol – Penta, ČR,
- etanol – Penta, ČR,
- Folin-Ciocalteuovo činidlo – Sigma Aldrich, Německo,
- uhličitan sodný – Lachema, ČR,
- kyselina gallová – Acros Organics, Belgie,
- trolox – Sigma Aldrich, Německo,
- DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) – Sigma Aldrich, Německo.

4.2 Použité pomůcky a přístroje

- kuchyňský mixér Braun – MR 6550 MCA, ČR,
- analytické váhy – AFA 210 LC, Schoeller, ČR,
- elektrická sušárna – Venticell 111 Comfort, BTM a.s., ČR,
- extrakční patrony, Verkon, Praha,
- Soxtherm – Gerhard, Německo,
- vodní lázeň – Memmert, Německo,
- ultrazvuková lázeň TESLA, Československo,
- magnetické míchadlo Wisd WiseStir MSH-20D s ohřevem, Německo,
- odstředivka EBA 20 – Hettich Zentrifugen, Německo,
- vortex V-1 plus, Biosan,
- stříkačkové filtry o průměru 0,22 μm, Cronus,
- spektrofotometr Lambda 25 – Perkin Elmer Inc., USA,
- 892 Professional Rancimat,
- běžné laboratorní sklo a pomůcky.

4.3 Charakteristika připravených vzorků

Jednotlivá stanovení byla prováděna u vzorků máslových sušenek a müsli směsí z netradičních surovin. Müsli směsi byly připraveny podle receptur navážením a smícháním jednotlivých komponent: cereálních vloček, lyofilizovaného ovocného podílu, sušených jedlých květů, semen a skořápkových plodů. Stejně tak byly u sušenek naváženy jednotlivé suroviny, ovocné podíly a skořápkové plody byly nakrájeny na menší kousky. Všechny složky byly smíchány a bylo vypracováno těsto v hnětači. Z těsta byl poté vyválen plát a z něj byly vykrojeny sušenky kulatého tvaru o průměru asi 7 cm. Následně byly sušenky upečeny při 175 °C asi 7 minut. Vzorky sušenek byly před analýzou nadrceny v třecích miskách a vzorky müsli směsí byly zhomogenizovány tyčovým mixérem. Všechny vzorky pak byly převedeny do označených plastových lahví. Surovinové skladby müsli směsí a sušenek jsou uvedeny v tabulkách 11 a 12.

Tabulka 11: Surovinová skladba vzorků müsli směsí (hm. %)

Surovina	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3	Vz. č. 4
Oves	20	20		
Červená pšenice	20			
Žito	20	20		
Kamut		20		
Rýže červená			20	20
Rýže černá				20
Teff		20		
Quinoa bílá				20
Quinoa černá			20	
Malina	7			7
Dřišťál	6	6	7	6
Jablko	7	8		7
Borůvka	7	8	7	7
Višeň			7	

Surovina	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3	Vz. č. 4
Jahoda		5		
Mochyně			6	
Růže		2		
Ibišek	2,5			
Chrpa červená			1,5	
Chrpa modrá			1,5	2
Levandule	0,5			
Sléz		1		
Konopí	2	2	2	2
Mandle	8	8	8	8

Tabulka 12: Surovinová skladba vzorků máslových sušenek (hm. %)

Surovina	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3	Vz. č. 4	Vz. č. 5	Vz. č. 6
Máslo	28,05	23,44	24,26	28,73	26,26	26,56
Cukr moučka	14,92	12,58	12,90	14,67	14,14	14,18
Žloutek	7,99	6,72	6,95	7,67	7,05	7,12
Hladká mouka	45,90	6,79	14,97			
Vanilinový cukr	3,06	2,60	2,67	2,60	2,66	2,60
Sůl	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Špalda		30,76				
Sušené meruňky		16,71				
Levandule		0,33			0,33	
Kamut			19,85			
Mango			15,04			

Surovina	Vz. č. 1	Vz. č. 2	Vz. č. 3	Vz. č. 4	Vz. č. 5	Vz. č. 6
Matcha			1,87			
Jasmín			1,40			1,40
Rýžová mouka				46,27	4,32	29,89
Červená quinoa					38,30	
Karob					1,93	
Sušený rybíz					4,92	
Teff světlý						12,78
Goji						1,86
Pistácie						3,53

Pro stanovení celkového obsahu lipidů a oxidační stability byl zhomogenizován vzorek mandlí (Mandle plátky, Zdraví z přírody s.r.o.), konopného semínka a oxidační stabilita byla stanovována i u vzorku másla (Milko, Polabské mlékárny a.s.).

4.4 Stanovení celkového obsahu lipidů dle Soxhleta

Předem vysušené extrakční nádoby s varnými kamínky byly zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Do prázdných extrakčních patron byly naváženy 2 g vzorku. Patrony byly poté vloženy do drátěných držáků, které byly vloženy do zvážených extrakčních nádobek. Poté bylo do extrakčních nádobek nalito 100 ml *n*-hexanu (extrakčního činidla) a patrona byla překryta smotkem vaty. Extrakční nádoby byly vloženy do přístroje Soxtherm a poté následovala extrakce po dobu 2 hodin a 22 minut. Po skončení extrakce byly extrakční nádoby vyjmuty z přístroje a nádoby s odstraněnými patrony byly sušeny v sušárně při 65 °C pro odpaření zbytkového hexanu. Poté byly nádoby zváženy a byl vypočítán obsah lipidů ve vzorku. Průměrná hodnota lipidů ve vzorku byla vypočítána ze tří stanovení.

Výpočet obsahu lipidů [%]:

$$S_L = \frac{m_2 - m_1}{m_{vz}} \cdot 100 \quad (1)$$

kde: m_1 – hmotnost prázdné nádoby s varnými kamínky [g],

m_2 – hmotnost vysušené nádoby s lipidy [g],

m_{vz} – hmotnost navážky vzorku [g].

4.5 Vyloužení lipidového podílu ze vzorků sušenek

Do 75ml tmavé lékovky bylo naváženo 8 g zhomogenizovaného vzorku sušenky a k němu bylo přidáno odměrným válcem 40 ml *n*-hexanu. Směs byla 1 hodinu míchána na magnetickém míchadle při laboratorní teplotě. Po uběhnutí 1 hodiny se směs nechala chvíli odstát a poté se extrakt pomocí Pasteurovy pipety stáhl do zkumavek Eppendorf, které se vložily do odstředivky na 15 minut při 12300xg. Po odstředění se hexan s vylouženým lipidovým podílem odstranil a pevný podíl po odstředění spolu s pevným podílem z lékovky se kvantitativně převedl na Petriho misku. Zbytky v lékovce se omyly etanolem a přidaly k pevnému podílu na Petriho misku. Pevný podíl se dosušil v sušárně na 40 °C maximálně 1 hodinu. Vysušený odtučněný vzorek se uložil do tmavé lékovky a byl tak nachystán pro extrakci polyfenolů.

Pro další výpočty je nutné znát index pro přepočet obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity na původní hmotnost vzorku sušenky. Tímto indexem se násobí navážka odtučněného vzorku pro extrakci polyfenolů.

Výpočet indexu [1]:

$$I = \frac{m_0}{m_1} \quad (2)$$

kde: m_0 – navážka vzorku na vyloužení lipidů [g],

m_1 – hmotnost pevného podílu po vyloužení lipidů [g].

4.6 Extrakce volných polyfenolů

Do dvou tmavých lékovek bylo naváženo vždy po 1,5 g vzorku (odtučněné vzorky sušenek připravené postupem uvedeným v kapitole 4.5 a zhomogenizované vzorky müsli) s přesností na 0,1 mg. Ke každé navážce bylo přidáno 15 ml 80% metanolu. Lékovky byly dány na magnetické míchadlo a po 1 hodinu byl jejich obsah za stálého míchání extrahován. Po uplynutí doby se ponechaly 10 minut v klidu a extrakt byl odsát Pasteurovou pipetou do keramické odpařovací misky. Takto získaný vzorek byl na vodní lázni odpařen do sucha. Zbytek po extrakci byl znovu extrahován s 10 ml 80% metanolu. Po extrakci byl vzorek opět pone-

chán 10 minut v klidu a extrakt byl odsát Pasteurovou pipetou. Dále byl extrakt přidán k prvnímu odpařenému extraktu do keramické misky a znovu byl odpařen do sucha. Takto byly získány 2 misky s odpařenými extrakty od každého vzorku, které byly postupně zregenerovány 10 ml 80% metanolu tak, aby mohly být vzorky kvantitativně převedeny do odměrných baněk o objemu 10 ml. Odměrné baňky byly na 1 minutu vloženy do ultrazvukové lázně, pokud bylo patrné zakalení, byly vzorky dále přefiltrovány přes syring filtr (nylon 0,2 μm). Takto byly extrakty, které obsahovaly volné polyfenoly, připraveny na analýzy pro stanovení celkových polyfenolů a antioxidační aktivity.

4.7 Stanovení obsahu volných polyfenolů Folin-Ciocalteuho metodou

Do zkumavek se špičatým dnem bylo pipetováno 5 ml destilované vody, ke které bylo přidáno 200 μl extraktu vzorku, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 1,5 ml 20% Na_2CO_3 . Obsah zkumavky byl promíchán na vortexu a umístěn na 30 minut do temna. Po uplynutí této doby bylo provedeno měření absorbance při vlnové délce 765 nm na spektrofotometru Lambda 25 oproti blanku. Stanovení bylo provedeno pro každou frakci vzorku čtyřikrát, pro každý vzorek müsli nebo sušenky tak bylo získáno 8 hodnot. Z naměřených hodnot byl pomocí rovnice lineární regrese kalibrační křivky standardu vypočítán obsah polyfenolů ve vzorku, vyjádřený jako ekvivalentní množství mg kyseliny gallové v 1 g vzorku.

4.7.1 Kalibrační křivka pro stanovení obsahu polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou

Jako standard byla použita kyselina gallová, jejíž zásobní roztok byl vytvořen rozpuštěním v metanolu na koncentraci 4 000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Ředěním byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 100, 200, 400, 500, 600 a 800 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Do 10 ml odměrné baňky bylo pipetováno 5 ml destilované vody, ke které bylo přidáno 200 μl standardu, 500 μl Folin-Ciocalteuova činidla, 1,5 ml 20% Na_2CO_3 a odměrná baňka byla doplněna po rysku. Obsah odměrné baňky byl promíchán a umístěn na 30 minut do temna. Poté byly jednotlivé koncentrace proměřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 765 nm. Z naměřených hodnot byla sestavena kalibrační křivka jako závislost absorbance A na koncentraci c kyseliny gallové [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$].

4.8 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Potřebný zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 24 mg DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu) ve 100 ml metanolu. Ze zásobního roztoku byl dle spotřeby potřebné ke stanovení připraven pracovní roztok v poměru 10 ml zásobního roztoku DPPH na 45 ml metanolu.

Byla změřena absorbance pracovního roztoku A_0 proti metanolu jako blanku při vlnové délce 515 nm. Při měření extraktů vzorků bylo do zkumavky pipetováno 8,55 ml pracovního roztoku DPPH a potřebné množství extraktu vzorku. Směs se nechala 60 minut reagovat v temnu. Po uplynutí doby byla změřena absorbance A_1 při vlnové délce 515 nm. Z naměřených hodnot úbytku absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace. Výsledná antioxidační aktivita byla vypočtena pomocí rovnice lineární regrese a byla vyjádřena jako ekvivalentní množství mg troloxu a kyseliny askorbové na 1 g vzorku. Stanovení bylo provedeno pro každou frakci vzorku dvakrát, pro každý vzorek müsli nebo sušenky tak bylo získáno 8 hodnot.

Výpočet inaktivace [%]:

$$Inaktivace = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (3)$$

4.8.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Jako standardy byly použity trolox a kyselina askorbová, jejichž zásobní roztoky byly připraveny rozpuštěním v metanolu na koncentraci $800 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Jejich ředěním byly připraveny kalibrační řady o koncentracích 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160 a $180 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ pro trolox a 20, 40, 60, 80, 100 a $120 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ pro kyselinu askorbovou. Jednotlivé koncentrace byly přidávány k 8,55 ml pracovního roztoku v množství 450 μl a po 60 minutách v temnu měřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 515 nm. Z naměřených hodnot úbytků absorbancí byly sestaveny kalibrační křivky jako závislosti inaktivací na koncentracích troloxu a kyseliny askorbové [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$].

4.9 Stanovení oxidační stability pomocí metody na zařízení Rancimat

Měření bylo prováděno na přístroji 892 Professional Rancimat (obrázek 7). Nejdříve byly zapnuty topné bloky, aby se zahřívaly na příslušnou teplotu. Poté se měřicí nádoby naplnily 50 ml deionizované vody, umístily do přístroje společně s jejich kryty a bylo zajištěno ponoření všech elektrod do měřicího roztoku. Dále bylo do čtyř reakčních zkumavek naváženo 4x po 3 g vzorku. Díky celkem osmi pozicím v topných blocích bylo možné měřit současně dva různé vzorky při stejné teplotě nebo stejné či různé vzorky při dvou rozdílných teplotách. Reakční zkumavky byly uzavřeny víčky smontovanými se vstupní trubicí vzduchu. Před zahájením měření musela být teplota topného bloku stabilní. Dvě hadičky mezi přístrojem a reakční zkumavkou a mezi reakční zkumavkou a měřicí nádobkou byly spojeny. Poté se

reakční zkumavky vložily do topných bloků, byl zajištěn přívod vzduchu o průtokovém objemu $20 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}$ a okamžitě se zahájilo měření. Stanovení probíhalo při teplotách $80 \text{ }^\circ\text{C}$, $100 \text{ }^\circ\text{C}$ a $120 \text{ }^\circ\text{C}$. Indukční čas byl automaticky vyhodnocen maximem druhé derivace měřící křivky. Pokud nebyl vyhodnocen automaticky, použilo se ruční vyhodnocení pomocí tečny. Příslušný vyhodnocovací software StabNet 1.1 je součástí zařízení. Oxidační stabilita pak byla vyhodnocena jako indukční čas, kdy se začíná vzorek oxidačně degradovat.



Obrázek 7: 892 Professional Rancimat [38]

4.10 Statistické vyhodnocení dat

Odlehlost výsledků byla testována Dean-Dixonovým testem. Výsledky jsou uvedeny ve formě středních hodnot se směrodatnými odchylkami SD. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí parametrického testu srovnáním střední hodnoty dvou nezávislých souborů (Studentův t -test) s hladinou významnosti 5 %.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Výsledky stanovení obsahu lipidů dle Soxhleta

V tabulce 13 jsou uvedeny hodnoty obsahu lipidů ve vzorcích, které byly stanoveny podle metody uvedené v kapitole 4.4.

Tabulka 13: Obsah lipidů ve vzorcích sušenek, müsli směsí, mandlí a konopného semínka

	Vzorek	Obsah lipidů ± SD [%]
Müsli	1	7,3 ± 0,3 ^a
	2	9,0 ± 0,3 ^b
	3	7,0 ± 0,1 ^c
	4	8,3 ± 0,2 ^d
Sušenky	1	28,5 ± 0,2 ^a
	2	25,0 ± 0,2 ^b
	3	25,3 ± 0,3 ^b
	4	26,3 ± 0,1 ^c
	5	28,9 ± 0,3 ^d
	6	27,6 ± 0,2 ^e
Mandle		55,1 ± 0,2 ^a
Konopné semínko		30,1 ± 0,4 ^b

Hodnoty ve sloupcích pro danou komoditu, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).

Mandle byly analyzovány zvlášť jako hlavní lipidový komponent v müsli směsích. Hodnota obsahu tuku v mandlích byla stanovena na 55,1 %, tzn. více jak polovina jejich složení, což je ve shodě s hodnotami uváděnými v literatuře [34]. Müsli směsi se od sebe lišily v lipidovém podílu signifikantně. Do všech müsli směsí byly ve stejném poměru přidány mandle a konopná semínka, které přispěly k celkovému obsahu lipidů. Příčinou rozdílného obsahu lipidů proto mohlo být přidání vloček různého cereálního původu do směsí, které obsahují různé množství lipidového podílu. Obsah lipidů v obilovinách se pohybuje v rozmezí kolem

1 – 3 % (u ovsu to může být i vysoko přes 5 %) [39]. Nejvyšší hodnotu obsahu tuku z müsli směsí měl vzorek č. 2, a to 9,0 %, a nejnižší hodnota 7,0 % byla stanovena u vzorku č. 3. Vzorek č. 2 totiž obsahoval vločky ovesné a žitné, které mají vyšší lipidový podíl.

Do sušenek bylo přidáváno máslo a tvořilo tak hlavní lipidickou složku. Recepturní přídavek se různil u každého vzorku a obsah tuku v sušenkách se pohyboval v rozmezí 25 – 28,9 %. Nejvyšší hodnotu obsahu lipidů měl vzorek sušenek č. 5 (obsahoval v receptuře červenou quinou a karob). Nejnižší hodnota byla stanovena u vzorků č. 2 (špaldové sušenky) a 3 (sušenky kamutové s matchou). Do těchto vzorků také bylo podle receptur přidáno nejméně másla.

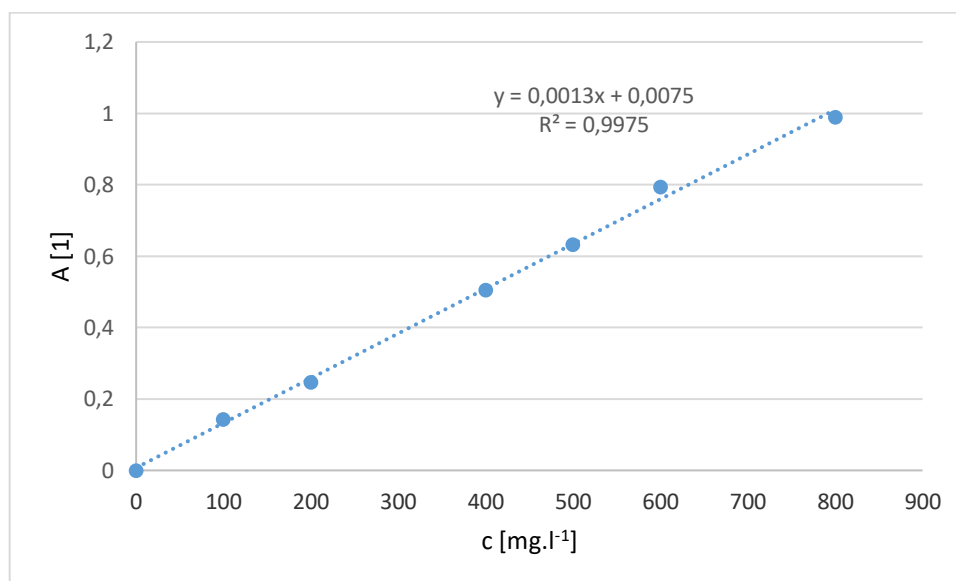
Máslo v sušenkách je během skladování citlivé na oxidaci a následné žluknutí. Oxidační reakce lipidů jsou hlavním faktorem vedoucím ke zhoršení kvality máslových sušenek. Takové sušenky nemají pouze zhoršené sensorické vlastnosti, ale mohou obsahovat mnoho toxických látek, které ohrožují lidské zdraví. Proto by měly být nejenom sušenky na máslové bázi, ale i jiné výrobky bohaté na lipidy podléhající žluknutí, chráněny před prooxidanty, jako je vzdušný kyslík, zvýšená teplota či světlo. Toho se dá docílit především balením výrobků do obalů nepropustných pro plyny a správným skladováním v chladu a temnu. Při samotné výrobě se také obvykle přidávají různé antioxidanty, vychytávající volné radikály a bránící tak oxidaci [29, 41].

5.2 Výsledky stanovení obsahu volných polyfenolů Folin-Ciocalteuho metodou

Pro stanovení volných polyfenolů byla pro sestrojení kalibrační křivky jako standard použita kyselina gallová, která je silným antioxidantem. Podle postupu v kapitole 4.7.1 byla sestrojena závislost absorbance na její koncentraci. Jednotlivé koncentrace k nim naměřené absorbance jsou uvedeny v tabulce 14. Na obrázku 8 je graf závislosti naměřené absorbance na koncentraci kyseliny gallové. Díky rovnici lineární regrese $y = 0,0013x + 0,0075$ byl vypočítán obsah polyfenolů.

Tabulka 14: Hodnoty absorbance pro jednotlivé koncentrace kyseliny gallové

c kyseliny gallové [mg.l ⁻¹]	A [1]
0	0
100	0,143
200	0,248
400	0,506
500	0,632
600	0,794
800	0,989



Obrázek 8: Závislost naměřené absorbance A na koncentraci c kyseliny gallové

Pro stanovení polyfenolů byl ze sušenek nejdříve extrahován lipidový podíl podle postupu uvedeného v kapitole 4.5. Z rovnice (2) byl získán index pro přepočítání na obsah polyfenolů v původní navážce neodtučněného vzorku sušenek. Dále podle kapitoly 4.6 byly vzorky od-tučněných sušenek a zhomogenizovaných müsli směsí extrahovány 80% metanolem, který je účinným rozpouštědlem při extrakci volných fenolických látek v rostlinných maticích [40].

Extrakty vzorků poté byly proměřeny spektrofotometricky podle metody v kapitole 4.7 a z naměřených hodnot byl pomocí rovnice lineární regrese kalibrační křivky standardu vypočítán obsah polyfenolů ve vzorku, vyjádřený jako ekvivalentní množství mg kyseliny gallové v 1 g vzorku. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 15.

Tabulka 15: Výsledky stanovení volných polyfenolů v müsli směsích a sušenkách

	Vzorek	Volné TPC \pm SD [mg GAE.g ⁻¹]
Müsli	1	4,28 \pm 0,20 ^a
	2	4,11 \pm 0,11 ^b
	3	3,10 \pm 0,11 ^c
	4	5,08 \pm 0,12 ^d
Sušenky	1	0,80 \pm 0,02 ^a
	2	1,54 \pm 0,05 ^b
	3	3,06 \pm 0,04 ^c
	4	0,27 \pm 0,01 ^d
	5	1,13 \pm 0,01 ^e
	6	1,35 \pm 0,01 ^f

Hodnoty ve sloupcích pro danou komoditu, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). TPC – Total phenolic content (celkové polyfenoly), GAE – Gallic acid equivalent (ekvivalenty kyseliny gallové).

V müsli směsích se obsah volných polyfenolů pohyboval v rozmezí 3,10 – 5,08 mg GAE.g⁻¹. Nejvyšší hodnota obsahu volných polyfenolů byla stanovena u vzorku č. 4. Do této müsli směsi byla z jedlých květů přidána chrpa modrá (*Centaurea cyanus*), u níž poslední studie poukazují na velmi dobrou antioxidační aktivitu a předpoklad k použití extraktu z chrpy jako terapeutického činidla. Celkový obsah polyfenolů v chrpě byl stanoven na 719 mg GAE ve 100 g vzorku [42]. Dále bylo přidáno především bobulovité ovoce, které je známé svým vysokým obsahem polyfenolů. Například borůvka obsahuje asi 475 mg GAE na 100 g vzorku. Naproti tomu v jablku je znatelně méně polyfenolů, asi 126 mg GAE ve 100 g vzorku bez slupky. Ovoce obecně dodává do výrobků řadu fenolických sloučenin [43]. Do

müsli směsí byly přidány vločky z obilovin s barevnými obalovými vrstvami. Polyfenolické sloučeniny obsažené v barvivech těchto vrstev mohou přispívat k vyšším hodnotám obsahu polyfenolů.

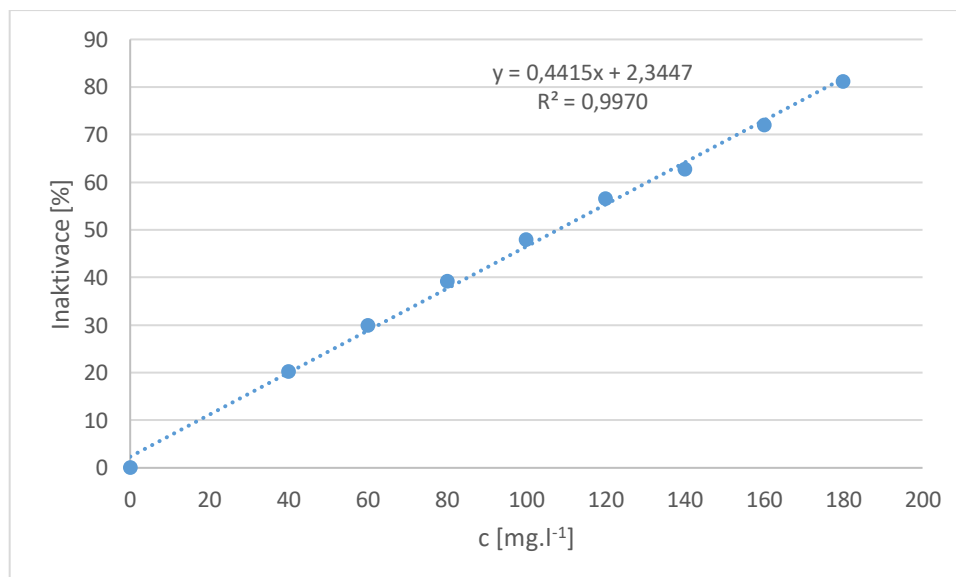
Ve vzorcích sušenek byl nejnižší obsah volných polyfenolů stanoven u rýžových sušenek (vzorek č. 4), které měly koncentraci volných polyfenolů $0,27 \text{ mg GAE.g}^{-1}$. Do těchto sušenek nebyly přidány jedlé květy, ovoce ani oříšky. Stejně tak nebyly tyto komponenty přidány ani do pšeničných sušenek (vzorek č. 1), u kterých byla rovněž stanovena druhá nejnižší hodnota v koncentraci polyfenolů $0,80 \text{ mg GAE.g}^{-1}$. Nejvyšší hodnota ($3,06 \text{ mg GAE.g}^{-1}$) byla stanovena u sušenek č. 3. Tento výsledek ovlivnilo použití netradiční suroviny, kterou byla matcha. Pro matchu je charakteristický vysoký obsah polyfenolů zahrnujících flavonoidy a to převážně katechiny, které jsou silnými antioxidanty [44].

5.3 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Antioxidační aktivita müsli směsí a sušenek byla hodnocena na základě měření aktivity vychytávání radikálů DPPH pomocí metanolových extraktů vzorků získaných podle kapitoly 4.6. V této metodě je barevný stabilní radikál DPPH redukován v přítomnosti antioxidantu nebo donoru vodíku na neradikálový DPPH-H a redukce barvy je pak sledována v průběhu času [39]. Nejdříve byly podle kapitoly 4.8.1 sestaveny kalibrační křivky pro standardy troloxu a kyseliny askorbové. Z rovnice lineární regrese $y = 0,4415x + 2,3447$ pro trolox a $y = 0,6416x + 1,9261$ pro kyselinu askorbovou byly vypočteny hodnoty oxidační aktivity (AOA) pro jednotlivé vzorky.

Tabulka 16: Závislost inaktivace na koncentraci troloxu

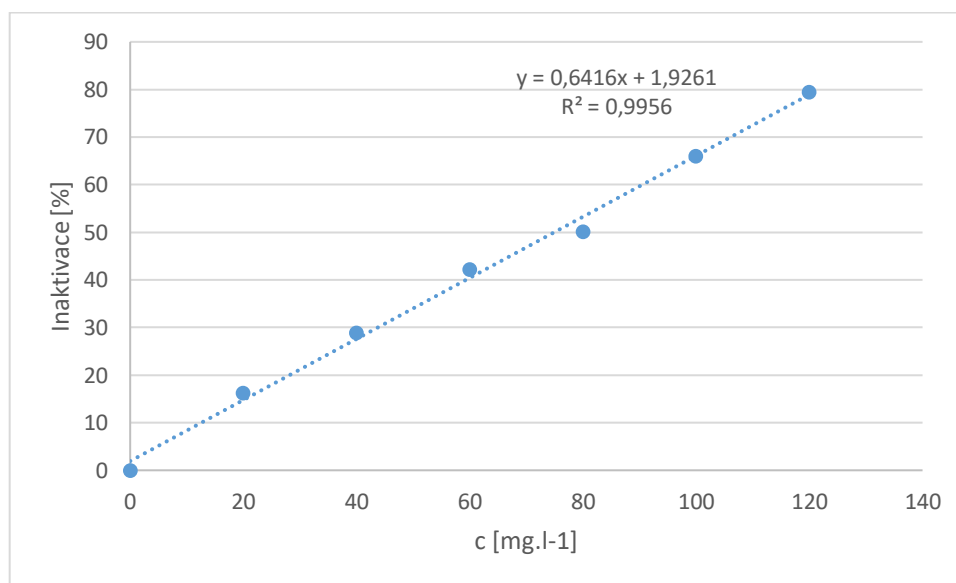
c troloxu [mg.l ⁻¹]	A [1]	Inaktivace [%]
0	0	0
40	0,916	20,3
60	0,804	29,9
80	0,698	39,2
100	0,598	47,9
120	0,500	56,5
140	0,428	62,7
160	0,322	72,0
180	0,216	81,2



Obrázek 9: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci troloxu

Tabulka 17: Závislost inaktivace na koncentraci kyseliny askorbové

c kyseliny askorbové [mg.l ⁻¹]	A [1]	Inaktivace [%]
0	0	0
20	0,972	28,9
40	0,825	33,1
50	0,776	42,2
60	0,671	50,2
80	0,578	66,0
100	0,395	79,5
120	0,238	16,3



Obrázek 10: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci kyseliny askorbové

Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno u extraktů ze vzorků mšlí směsí a sušenek podle metody uvedené v kapitole 4.8. Úbytky absorbancí byly přepočteny na % inaktivace a na základě rovnic lineárních regresí vyjádřených z kalibračních křivek přepočteny na ekvivalentní množství mg troloxu a kyseliny askorbové na 1 g vzorku. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 18.

Tabulka 18: Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH u müsli směsí a sušenek

Vzorek		AOA \pm SD [mg TE.g ⁻¹]	AOA \pm SD [mg AAE.g ⁻¹]
Müsli	1	6,97 \pm 0,17 ^a	4,52 \pm 0,11 ^a
	2	8,96 \pm 0,26 ^b	5,79 \pm 0,17 ^b
	3	5,55 \pm 0,12 ^c	3,60 \pm 0,08 ^c
	4	7,20 \pm 0,10 ^d	4,67 \pm 0,06 ^d
Sušenky	1	0,16 \pm 0,01 ^a	0,11 \pm 0,01 ^a
	2	0,74 \pm 0,01 ^b	0,48 \pm 0,01 ^b
	3	4,09 \pm 0,05 ^c	2,66 \pm 0,03 ^c
	4	0,17 \pm 0,01 ^a	0,12 \pm 0,01 ^a
	5	1,74 \pm 0,03 ^d	1,12 \pm 0,02 ^d
	6	1,01 \pm 0,02 ^e	0,66 \pm 0,01 ^e

Hodnoty ve sloupcích pro danou komoditu, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$). TE – trolox equivalent (ekvivalenty troloxu), AAE – Ascorbic acid equivalent (ekvivalenty kyseliny askorbové), AOA – Antioxidant activity (antioxidační aktivita).

Srovnávat spolu číselně jednotlivé naměřené hodnoty antioxidačních aktivit s hodnotami uváděnými v literatuře je složité a často ne zcela možné. Metody se liší v uspořádání experimentu, použitém standardu, rozpouštědle, délce reakce, koncentraci radikálů DPPH, stanovení závisí také na oblasti pH vzorku. Suroviny, které výrazně ovlivňují hodnotu antioxidační aktivity, jsou zejména ovoce (především bobulovité) a sušené jedlé květy, které jsou významnými nositeli látek z řad antioxidantů. Mezi významné antioxidanty se řadí polyfenolické látky, z nich zejména flavonoidy s podskupinou katechinů, dále polyfenolické kyseliny, potom kyselina askorbová (vitamín C) tokoferoly a tokotrienoly (vitamín E), minerální prvky jako Se a Zn, barviva ze skupin karotenů, xantofylů, betainů apod. Tyto látky reakcí s volnými radikály zabraňují škodlivým oxidačním procesům nejenom v potravinách, ale především v lidském organismu [39, 42, 43].

Nejvyšší hodnota antioxidační aktivity 8,96 mg TE.g⁻¹ nebo 5,79 mg AAE.g⁻¹ byla stanovena u vzorku č. 2 müsli směsi. Tento vzorek obsahoval jako jediný z müsli směsí sléz a růži,

kteřé jsou známé svou dobrou antioxidační aktivitou, která je dána obsahem většiny antioxidačtů uvedených v předchozím odstavci. Díky tomu jsou také používány například ve farmacii [45, 46]. U sušenek byla opět stanovena nejvyšší hodnota antioxidační aktivity u vzorku č. 3 s matchou, a to 4,09 mg TE.g⁻¹ a 2,66 mg AAE.g⁻¹. Nízkou antioxidační aktivitu vykazovaly vzorky č. 1 a 4, tedy pšeničné a rýžové sušenky. Do těchto sušenek nebyly přidány suroviny, které zvyšují hodnotu antioxidační aktivity, tj. ovoce a jedlé květy.

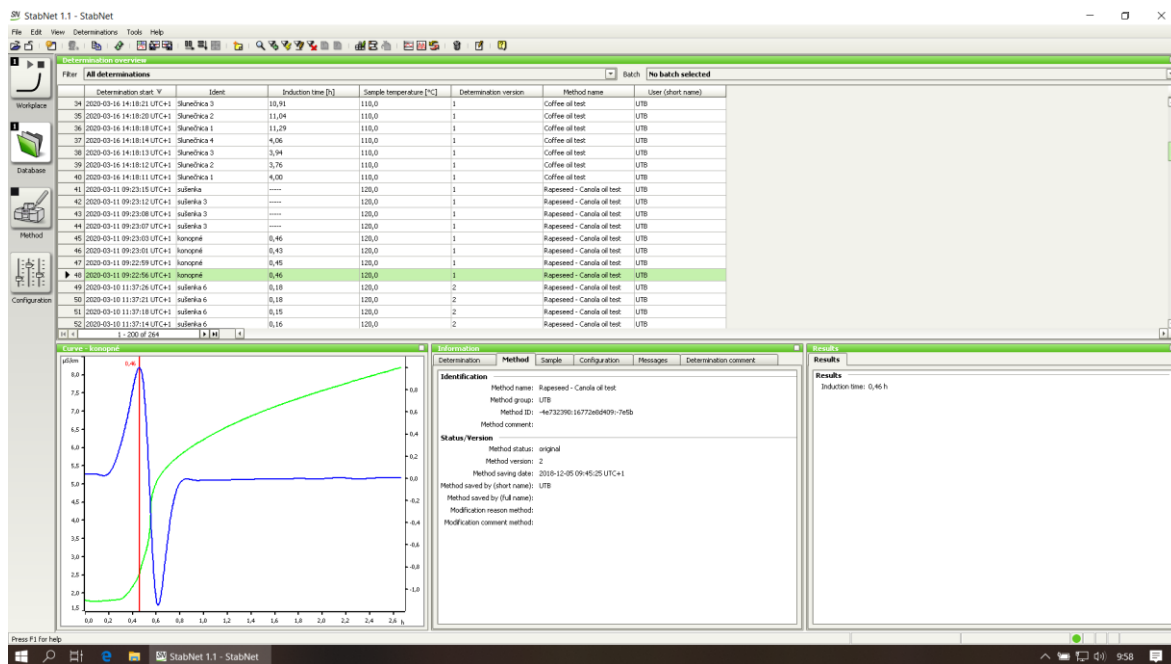
5.4 Výsledky stanovení oxidační stability pomocí metody s přístrojem Rancimat

Stanovení oxidační stability vzorků bylo prováděno podle metody s přístrojem Rancimat uvedené v kapitole 4.9. Hodnocení probíhalo pomocí přístroje 892 Professional Rancimat (obrázek 7) a softwaru StabNet 1.1 (obrázek 11). Jednotlivé hodnoty indukčních časů byly odečteny z měřicích křivek. Na ose x uveden čas [h] a na ose y vodivost [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$]. Přístroj pomocí vodivostního detektoru zaznamená tvorbu sekundárních oxidačních produktů, jejichž vznik je iniciován příslušnou teplotou a probubláváním vzorku vzduchem. Tato iniciace, projevující se změnou vodivosti, je tzv. indukčním časem. Indukční časy vzorků uvedené v tabulce 19 jsou průměry celkem ze čtyř stanovení. Hodnoty jsou uvedeny jako díly z jedné hodiny (60 min). Údaj ND znamená, že při dané teplotě nebyla získána hodnota indukčního času pro vzorek.

Tabulka 19: Stanovené indukční časy u vzorků müsli směsí, sušenek, másla, mandlí a konopných semínek

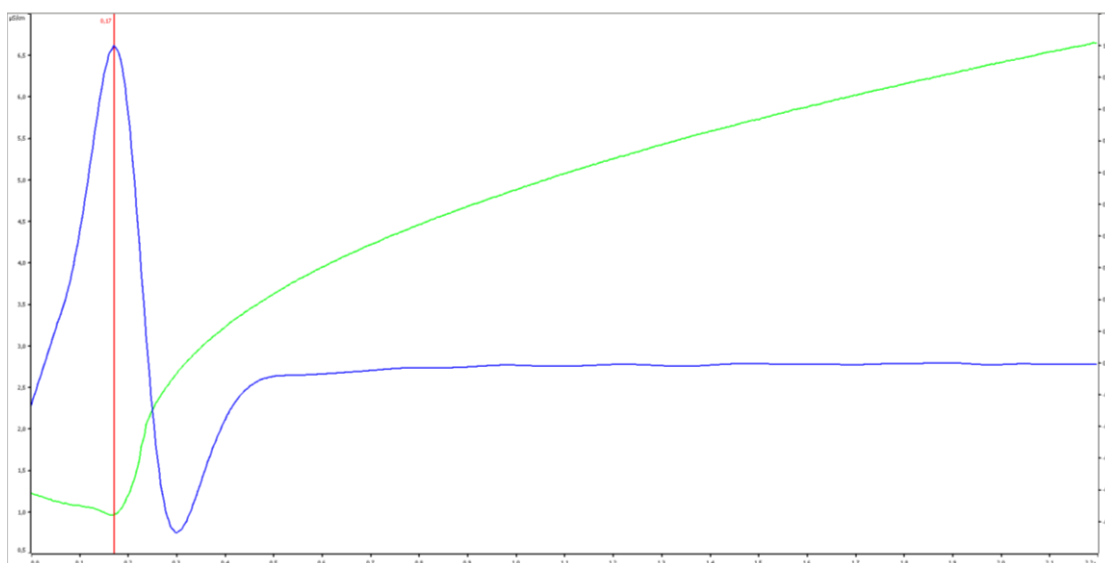
Vzorek		Indukční čas \pm SD [h]		
		80 °C	100 °C	120 °C
Máslu		5,78 \pm 0,03	3,08 \pm 0,08	0,35 \pm 0,05
Mandle		ND	3,64 \pm 0,04 ^a	0,17 \pm 0,01 ^a
Konopné semínko		ND	4,05 \pm 0,04 ^b	0,45 \pm 0,02 ^b
Müsli	1	ND	0,45 \pm 0,01 ^a	0,46 \pm 0,04 ^a
	2	ND	0,49 \pm 0,02 ^b	0,51 \pm 0,02 ^b
	3	ND	0,37 \pm 0,02 ^c	0,47 \pm 0,01 ^{a,c}
	4	ND	0,37 \pm 0,01 ^c	0,48 \pm 0,01 ^c
Sušenky	1	ND	ND	0,16 \pm 0,02 ^{a,c,e}
	2	ND	ND	0,17 \pm 0,01 ^b
	3	ND	ND	0,32 \pm 0,02 ^{a,e}
	4	ND	ND	0,14 \pm 0,01 ^{c,e}
	5	3,05 \pm 0,07	2,72 \pm 0,05	0,18 \pm 0,01 ^d
	6	2,65 \pm 0,03	ND	0,17 \pm 0,02 ^e

Hodnoty ve sloupcích pro danou komoditu, které mají stejné malé písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$), hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné malé písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ($P < 0,05$).



Obrázek 11: Celkový náhled na vyhodnocovací software StabNet 1.1

Ve většině případů byly indukční časy vyhodnoceny ručně z tečen měřicí křivky. Nejdříve bylo proměřeno máslo jako hlavní lipidická složka sušenek a mandle jako hlavní lipidická složka u müsli směsí a samotná konopná semínka. U másla je jasně patrné zkracování indukčního času se zvyšující se teplotou. Při 80 °C za neustálého přístupu vzduchu se začaly tvořit sekundární oxidační produkty za 5,78 h, což odpovídá 5 hodinám a 47 minutám. Naopak při 120 °C docházelo k oxidaci už za 0,35 h, tedy za 21 minut.

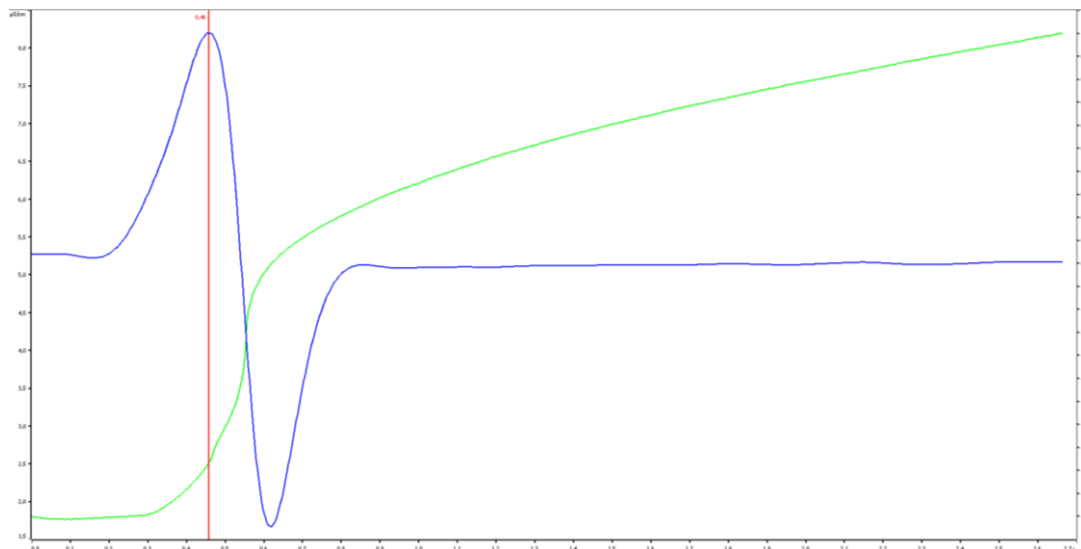


Obrázek 12: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek mandle při 120 °C



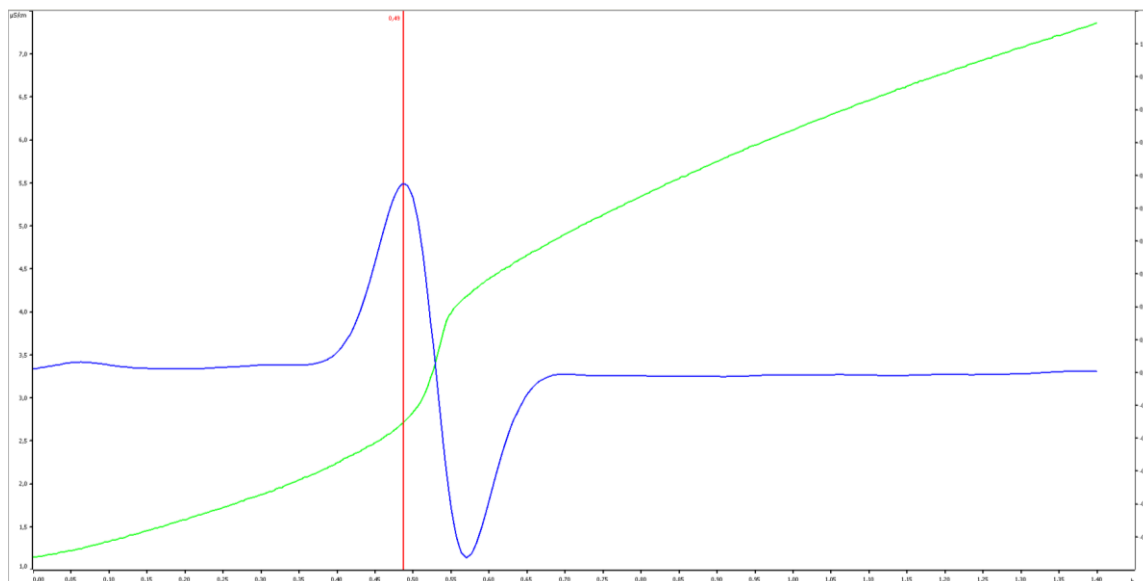
Obrázek 13: Vzorek mandlí před (vlevo) a po (vpravo) vyhodnocení oxidační stability

Mandle bylo možné vyhodnotit při 120 °C, kdy byl indukční čas 0,17 h, což odpovídá 10 minutám. Při 100 °C byl získán indukční čas trojnásobný. Při teplotě 80 °C nedošlo k uvolnění sekundárních produktů oxidace. Vyhodnocení indukčního času pomocí softwaru je uvedeno na obrázku 12. Obrázek 13 zobrazuje vzorek mandlí před (vlevo) a po (vpravo) měření v přístroji Rancimat. Viditelná je změna barvy ze světle béžové na tmavší hnědou. Je tedy zřejmé, že během oxidačních změn při zvýšených teplotách probíhají i Maillardovy reakce zodpovědné za hnědnutí vzorků. Mandlový olej se produkuje pouze v malém měřítku a bez rafinace. V gastronomii se používá především ve studené kuchyni například jako zálivka do salátů. Vzhledem k velkému obsahu mono- a polynenasycených mastných kyselin mandlí je olej vysoce citlivý na oxidační reakce vyvolané faktory prostředí, jako je teplota, obsah světla a kyslíku ve skladovací atmosféře [34, 47].



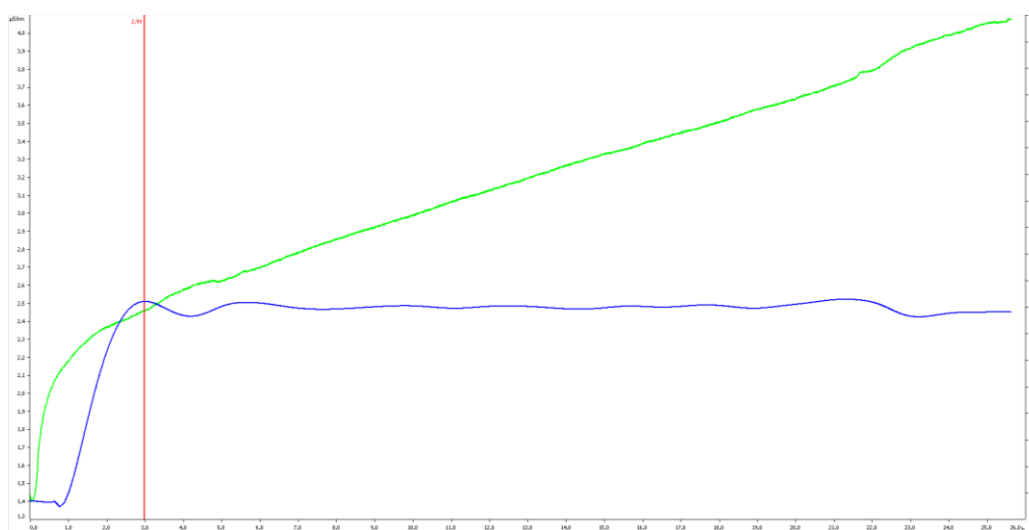
Obrázek 14: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek konopného semínka při 120 °C

Indukční čas pro konopné semínko byl stanoven při 100 °C na 4,05 h a při 120 °C na 0,45 h (obrázek 14). Konopný olej je bohatým zdrojem esenciálních mastných kyselin, zejména kyseliny linolové, ale také α -linolenové, což z něj dělá z nutričního hlediska velmi cenný olej [36]. Dále obsahuje významný antioxidant γ -tokoferol, přesto je však, stejně jako mandlový olej, citlivý na prooxidanty z prostředí. Proto je potřeba tyto oleje skladovat v chladu, temnu a zamezit přístupu vzdušného kyslíku (jsou prodávány v tmavých těsně uzavíratelných lahvích). Při výrobě se do olejů přidávají také antioxidanty například v podobě různých rostlinných extraktů, které snižují rychlost iniciace oxidace a zvyšují tak stabilitu olejů. Jedná se o čištěné složky odvozené z přírodních rostlinných extraktů, jako je karnosol, isorosmanol, kyselina karnosová, rosmanol, epirosmanol a galdosol, které vykazují silnou antioxidační aktivitu [41, 48].

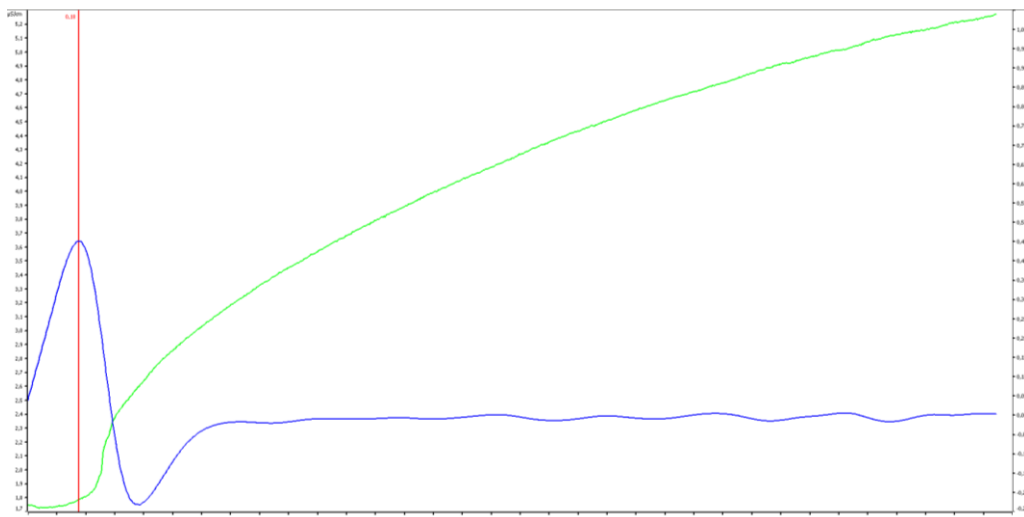


Obrázek 15: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek müsli směsi č. 4 při 120 °C

U vzorků müsli směsí nedocházelo při 80 °C k pozorovatelné oxidaci. Při 100 °C a 120 °C byly hodnoty indukčních časů blízké, pohybovaly se do 0,5 h, tedy 30 minut (obrázek 15). Proto nelze přesně jednoznačně korelovat výsledky z předchozích měření se stanovením oxidační aktivity pro jednotlivé vzorky müsli směsí. Avšak u vzorku č. 2 byla hodnota indukčního času nejvyšší, konkrétně 0,51 h, tedy přes 30 minut, a zároveň měl tento vzorek stanovenou nejvyšší antioxidační aktivitu 8,96 mg TE.g⁻¹ nebo 5,79 mg AAE.g⁻¹. Dalo by se tedy říct, že vzorek byl vzhledem k vyšší hodnotě antioxidační aktivity stabilnější a proto byl i čas iniciace rozkladu delší.



Obrázek 16: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek sušenky č. 5 při 80 °C



Obrázek 17: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek sušenky č. 1 při 120 °C

U vzorků sušenek č. 5 a 6 byla snaha o vyhodnocení indukčních časů při všech teplotách, avšak při těch nižších (80 °C a 100 °C) měla měřící křivka hůře vyhodnotitelný průběh (obrázek 16) a stanovení indukčního času by tak nebylo úplně spolehlivé. Proto byly všechny další sušenky proměřeny pouze při 120 °C, kde bylo stanovení indukčního času přesnější (obrázek 17). Oxidačně nejstabilnější byl vzorek sušenky č. 3. U této sušenky, obsahující matchu, byl stanoven indukční čas 0,32 h (asi 19 min). Zároveň měl tento vzorek nejvyšší hodnotu obsahu volných polyfenolů (3,06 mg GAE.g⁻¹) a také nejvyšší antioxidační aktivitu (4,09 mg TE.g⁻¹ a 2,66 mg AAE.g⁻¹). Tím bylo potvrzeno, že matcha je silným antioxidantem a udržuje tak máslovou sušenku déle stabilnější. Naopak vzorek rýžové sušenky č. 4 degradoval nejrychleji ze všech měřených vzorků. Indukční čas byl 0,14 h (něco přes 8 minut). Současně byl pro tento vzorek stanoven i nejnižší obsah volných polyfenolů a nízká antioxidační aktivita, neboť do těchto sušenek nebyl přidán žádný ovocný podíl ani sušené jedlé květy. Data získaná touto metodou ukazují, že podíl lipidů ve vzorcích neměl významný vliv na degradaci u vzorků müsli směsí a u sušenek.

ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá tématem oxidační stability cereálních směsí, jejichž komponenty nejsou tolik obvyklé. Oxidační stabilita je považována za velmi důležitou z hlediska údržnosti potravin různého původu. Na tomto faktoru se podílí jak lipidické složení produktu, tak obsah látek s antioxidační aktivitou.

V teoretické části byly shrnuty lipidy, jak jsou klasifikovány a jakým reakcím podléhají. Nejvíce byl kladen důraz na oxidační reakce, jejichž následkem bývá žluknutí tuků. Dále byla v teorii věnována kapitola i analýze lipidů nebo produktů zmíněných reakcí. U cereálních směsí bylo poukázáno podrobněji zejména na jejich lipidické složky, u kterých se následně vyhodnocovala jejich stabilita, a dále na polyfenolické látky.

Experimentální část byla věnována stanovení celkového obsahu lipidů podle Soxhleta u vzorků sušenek, müsli směsí, mandlí a konopného semínka. Dále byl stanoven obsah celkových polyfenolů na standard kyseliny gallové metodou Folin-Ciocalteuho a pomocí metody s DPPH byla vyhodnocena oxidační aktivita na standard troloxu a kyseliny askorbové. Poslední část se zabývala stanovením oxidační stability metodou Rancimat, která je poměrně nová, ale v potravinářském průmyslu nachází čím dál větší uplatnění. Byly určeny indukční časy začátku tvorby sekundárních produktů oxidace.

Obsah lipidů neměl znatelný vliv na oxidační stabilitu mezi vzorky müsli směsí a sušenek. Obecně lze říct, že vzorky máslových sušenek, které měly přibližně trojnásobný podíl lipidů na rozdíl od müsli směsí, byly také méně oxidačně stabilní a hodnoty jejich indukčních časů byly poloviční než hodnoty indukčních časů müsli směsí.

U müsli směsí docházelo k oxidační degradaci při 120 °C do 30 minut. Bylo také stanoveno, že vzorek s vyšší antioxidační aktivitou mírně oddálil tvorbu sekundárních produktů oxidace, nicméně rozdíly mezi obsahy volných polyfenolů a antioxidační aktivitou u vzorků müsli směsí nebyly tolik výrazné.

U sušenek byl vliv antioxidační aktivity a obsahu volných polyfenolů na oxidační stabilitu vzorků více znatelný. Sušenky s matchou, jakožto silným antioxidantem, stabilizovaly vzorek máslové sušenky a indukční čas byl při 120 °C za 19 minut od začátku měření. Tedy o skoro 10 minut později než u ostatních sušenek. Rýžové sušenky, do kterých nebylo přidáno ovoce ani sušené jedlé květy, degradovaly při 120 °C již po 8 minutách. Přídavek surovin obsahujících antioxidanty tedy velmi příznivě ovlivňoval oxidační stabilitu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] DLOUHÝ, Pavel a Michal ANDĚL. *Jak se mění pohled na tuky ve výživě*. Interní Med. 2009, 11(12), 549–551.
- [2] LÍSKOVCOVÁ, Ilona a Vladimír VURM. *KREVŇÍ TUKY, METABOLICKÝ SYNDROM A MOŽNOSTI JEJICH OVLIVNĚNÍ*. KONTAKT – Journal of nursing and social sciences related to health and illness. 2011, 13(2), 230–241. ISSN 1212-4117.
- [3] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 9788086659176.
- [4] HERNANDEZ, Ernesto a Afaf KAMAL-ELDIN. *Processing and nutrition of fats and oils*. Chichester, West Sussex, UK: Wiley Blackwell, 2013. ISBN 978-0-8138-2767-4.
- [5] AKOH, Casimir C. a David B. MIN. *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, c2008. ISBN 978-1-4200-4663-2.
- [6] HARDIN, Charles a James KNOPP. *Biochemistry: essential concepts*. New York: Oxford University Press, c2013. ISBN 978-0-19-976562-1.
- [7] AHMAD, Moghis U. *Fatty acids: chemistry, synthesis, and applications* / edited by Moghis U. Ahmad, Jina Pharmaceuticals, Inc., Libertyville, IL, United States. London: Academic Press, an imprint of Elsevier, c2017. ISBN 978-0-12-809521-8.
- [8] KNUTSEN, Helle Katrine, Jan ALEXANDER, Lars BARREGÅRD, et al. *Erucic acid in feed and food*. EFSA Journal [online]. 2016, 14(11). DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4593. ISSN 18314732.
- [9] BENATTI, Paola, Gianfranco PELUSO, Raffaella NICOLAI a Menotti CALVANI. *Polyunsaturated Fatty Acids: Biochemical, Nutritional and Epigenetic Properties*. Journal of the American College of Nutrition [online]. 2004, 23(4), 281-302. DOI: 10.1080/07315724.2004.10719371. ISSN 0731-5724.
- [10] PFEUFFER, Maria a Gerhard JAHREIS. *Trans fatty acids. Origin, metabolism, health risks*. Ernährungs Umschau [online]. 2018, 65(12), 196–203. DOI: 10.4455/eu.2018.047.
- [11] SAAVEDRA, Jose M. a Anne DATTILO. *Early nutrition and long-term health: mechanisms, consequences, and opportunities*. Amsterdam: Elsevier/Woodhead Publishing,

2017. Woodhead Publishing in food science, technology, and nutrition. ISBN 978-0-08-100168-4.

[12] LEIKIN-FRENKEL, Alicia. *Is there A Role for Alpha-Linolenic Acid in the Fetal Programming of Health?* Journal of Clinical Medicine [online]. 2016, 5(4). DOI: 10.3390/jcm5040040. ISSN 2077-0383.

[13] FINLEY, John W. a Fereidoon SHAHIDI. *The Chemistry, Processing, and Health Benefits of Highly Unsaturated Fatty Acids: An Overview*. [online]. Washington, DC: American Chemical Society, 2001, s. 2-11. ACS Symposium Series. DOI: 10.1021/bk-2001-0788.ch001. ISBN 0-8412-3688-7.

[14] DOMINGUES, Maria Aliciane Fontenele, Ana Paula Badan RIBEIRO, Theo Guenter KIECKBUSCH, Luiz Antonio GIOIELLI, Renato GRIMALDI, Lisandro Pavie CARDOSO a Lireny Aparecida Guaraldo GONÇALVES. *Advances in Lipids Crystallization Technology*. MASTAI, Yitzhak, ed. Advanced Topics in Crystallization [online]. InTech, 2015. DOI: 10.5772/59767. ISBN 978-953-51-2125-1

[15] *FOOD FATS AND OILS*. Ninth edition. Institute of Shortening and Edible Oils 1750 New York Avenue, NW, Suite 120 Washington, DC 20006, 2006.

[16] *Oil content of various seeds and oilseed processing methods*. In: Huatai [online]. 17/5/2019. Dostupné z: <http://www.huataioilmachine.com/>

[17] HEGELE, Robert A. *Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications*. Nature Reviews Genetics [online]. 2009, 10(2), 109-121 [cit. 2020-05-07]. DOI: 10.1038/nrg2481. ISSN 1471-0056.

[18] MÄKI-ARVELA, P., J. KUUSISTO, E.Mateos SEVILLA, I. SIMAKOVA, J.-P. MIKKOLA, J. MYLLYOJA, T. SALMI a D.Yu. MURZIN. *Catalytic hydrogenation of linoleic acid to stearic acid over different Pd- and Ru-supported catalysts*. Applied Catalysis A: General [online]. 2008, 345(2), 201-212. DOI: 10.1016/j.apcata.2008.04.042. ISSN 0926860X.

[19] LOFTSSON, Thorsteinn. *Degradation Pathways. Drug Stability for Pharmaceutical Scientists* [online]. Elsevier, 2014, 2014, s. 63-104. DOI: 10.1016/B978-0-12-411548-4.00003-9. ISBN 9780124115484.

[20] SHAHIDI, Fereidoon a Ying ZHONG. *Lipid oxidation and improving the oxidative stability*. Chemical Society Reviews [online]. 2010, 39(11). DOI: 10.1039/b922183m. ISSN 0306-0012

- [21] CHOE, Eunok a David B. MIN. *Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2006, 5(4), 169-186. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x. ISSN 1541-4337.
- [22] VILLAMENA, Frederick A. *Electrochemical, Mass Spectroscopic, Immunochemical, and Nuclear Magnetic Resonance Techniques. Reactive Species Detection in Biology* [online]. Elsevier, 2017, s. 253-322. DOI: 10.1016/B978-0-12-420017-3.00008-6. ISBN 9780124200173.
- [23] CHAN, H. W.-S. *Food Science and Technology* (Ed.: B. S. Schweigert), Academic Press Inc., London, 1987.
- [24] VELASCO, J., C. DOBARGANES a G. MÁRQUEZ-RUIZ. *Oxidative rancidity in foods and food quality. Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages* [online]. Elsevier, 2010, 2010, s. 3-32. DOI: 10.1533/9781845699260.1.3. ISBN 9781845694951.
- [25] SELF, Ron. *Extraction of Organic Analytes from Foods – A Manual of Methods*. Royal Society of Chemistry, 2005.
- [26] BARRIUSO, Blanca, Iciar ASTIASARÁN a Diana ANSORENA. *A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task*. *European Food Research and Technology* [online]. 2013, 236(1), 1-15. DOI: 10.1007/s00217-012-1866-9. ISSN 1438-2377.
- [27] ANWAR, Farooq, M. I. BHANGER a T. G. KAZI. *Relationship between rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* [online]. 2003, 80(2), 151-155. DOI: 10.1007/s11746-003-0668-2. ISSN 0003021X.
- [28] KOWALSKI, Bolesław, Katarzyna RATUSZ, Dorota KOWALSKA a Witold BEKAS. *Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat measurements*. *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. 2004, 106(3), 165-169. DOI: 10.1002/ejlt.200300915. ISSN 1438-7697.
- [29] XIA, Qing, Changhong LIU, Jinxia LIU, Wenjuan PAN, Xuzhong LU, Jianbo YANG, Wei CHEN a Lei ZHENG. *Rapid and non-destructive determination of rancidity levels in butter cookies by multi-spectral imaging*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2016, 96(5), 1821-1827. DOI: 10.1002/jsfa.7292. ISSN 00225142.

- [30] BOCKISCH, Michael. *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, 1998. ISBN: 978-0-935315-82-0.
- [31] MALLIA, Silvia, Felix ESCHER a Hedwig SCHLICHOTHERLE-CERNY. *Aroma-active compounds of butter: a review*. European Food Research and Technology [online]. 2008, 226(3), 315-325. DOI: 10.1007/s00217-006-0555-y. ISSN 1438-2377.
- [32] ROMAN, Olesea, Bertrand HEYD, Bertrand BROYART, Roberto CASTILLO a Marie-Noëlle MAILLARD. *Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, high oleic sunflower and rapeseed oils subjected to heat treatment, under controlled conditions*. LWT – Food Science and Technology [online]. 2013, 52(1), 49-59. DOI: 10.1016/j.lwt.2012.12.011. ISSN 00236438.
- [33] DAUN, James K., N. A. Michael NESKIN a Dave HICKLING. *Canola – Chemistry, Production, Processing and Utilization*. AOCS Press, 2011. ISBN: 978-0-9818936-5-5.
- [34] GIBSON, Glenn R. *Food Science and Technology Bulletin – Functional Foods, Volume 6 - 4.2.1 Almonds as a Source of Energy and Macronutrients*. International Food Information Service (IFIS Publishing), 2010. DOI: 10.1616/1476-2137. ISSN 1476-2137.
- [35] BOZAN, B a F TEMELLI. *Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils*. Bioresource Technology [online]. 2008, 99(14), 6354-6359. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.12.009. ISSN 09608524.
- [36] OOMAH, B.Dave, Muriel BUSSON, David V GODFREY a John C.G DROVER. *Characteristics of hemp (Cannabis sativa L.) seed oil*. Food Chemistry [online]. 2002, 76(1), 33-43. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00245-X. ISSN 03088146.
- [37] DA SILVA, Bárbara Pereira, Pamella Cristine ANUNCIACÃO, Jessika Camila da Silva MATYELKA, Ceres Mattos DELLA LUCIA, Hércia Stampini Duarte MARTINO a Helena Maria PINHEIRO-SANT'ANA. *Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places*. Food Chemistry [online]. 2017, 221, 1709-1716. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.115. ISSN 03088146.
- [38] 892 *Professional Rancimat* [online]. Dostupný z: <https://www.metrohm.com/cs-cz/products-overview/stability-measurement/rancimat/28920010>
- [39] MCKEVITH, Brigid. *Nutritional aspects of cereals*. Nutrition Bulletin [online]. 2004, 29(2), 111-142. DOI: 10.1111/j.1467-3010.2004.00418.x. ISSN 1471-9827.

- [40] RAGAE, S., E ABDELAAL a M NOAMAN. *Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use*. Food Chemistry [online]. 2006, 98(1), 32-38. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.04.039. ISSN 03088146.
- [41] KOCHHAR, S. Parkash a C. Jeya K. HENRY. *Oxidative stability and shelf-life evaluation of selected culinary oils*. International Journal of Food Sciences and Nutrition [online]. 2009, 60(sup7), 289-296. DOI: 10.1080/09637480903103774. ISSN 0963-7486.
- [42] MARIAN, Eleonora, Laura Gratiela VICASĂ a Jurca TUNDE. *A comparative study on the biologic activity of Centaurea Cyanus Versus Calendula Officinalis*. Farmacia. 2017, 65(6), 940-946.
- [43] ÁLVAREZ, Rudy, Héctor ARAYA, Rosa NAVARRO-LISBOA a Carol LOPEZ DE DICASTILLO. *Evaluation of Polyphenols and Antioxidant Capacity of Fruits and Vegetables Using a Modified Enzymatic Extraction Method*. Food Technology and Biotechnology [online]. 2016, 54(4). DOI: 10.17113/ftb.54.04.16.4497. ISSN 13309862.
- [44] JAKUBCZYK, Karolina, Joanna KOCHMAN, Aleksandra KWIATKOWSKA, Justyna KAŁDUŃSKA, Karolina DEC, Dorota KAWCZUGA a Katarzyna JANDA. *Antioxidant Properties and Nutritional Composition of Matcha Green Tea*. Foods [online]. 2020, 9(4). DOI: 10.3390/foods9040483. ISSN 2304-8158.
- [45] NICOLAI, Marisa, Paula PEREIRA, Rute F. VITOR, Catarina Pinto REIS, Amilcar ROBERTO a Patrícia RIJO. *Antioxidant activity and rosmarinic acid content of ultrasound-assisted ethanolic extracts of medicinal plants. Measurement* [online]. 2016, 89, 328-332. DOI: 10.1016/j.measurement.2016.04.033. ISSN 02632241.
- [46] NG, T. B., Z. F. PI, M. FU, et al. *A polysaccharopeptide complex and a condensed tannin with antioxidant activity from dried rose (Rosa rugosa) flowers*. Journal of Pharmacy and Pharmacology [online]. 2006, 58(4), 529-534. DOI: 10.1211/jpp.58.4.0013. ISSN 00223573.
- [47] MARTÍNEZ, Marcela L., Ma. Cecilia PENCI, Ma. Andrea MARIN, Pablo D. RIBOTTA a Damián M. MAESTRI. *Screw press extraction of almond (Prunus dulcis (Miller) D.A. Webb): Oil recovery and oxidative stability*. Journal of Food Engineering [online]. 2013, 119(1), 40-45. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.05.010. ISSN 02608774.
- [48] KITTS, David D., Anika SINGH, Farahnaz FATHORDOOBADY, Brenda DOI a Anubhav PRATAP SINGH. *Plant Extracts Inhibit the Formation of Hydroperoxides and*

Help Maintain Vitamin E Levels and Omega-3 Fatty Acids During High Temperature Processing and Storage of Hempseed and Soybean Oils. Journal of Food Science [online]. 2019, 84(11), 3147-3155. DOI: 10.1111/1750-3841.14817. ISSN 0022-1147.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AOA	Antioxidační aktivita
AOM	Aktivní kyslíková metoda
DHA	Dokosahexanová kyselina
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EPA	Eikosapentaenová kyselina
HCl	Kyselina chlorovodíková
HDL	Lipoprotein o vysoké hustotě
KOH	Hydroxid draselný
LDL	Lipoprotein o nízké hustotě
MK	Mastná kyselina
MUFA	Monoenová mastná kyselina
Na ₂ CO ₃	Uhličitan sodný
NaOH	Hydroxid sodný
PUFA	Polyenová mastná kyselina
SD	Směrodatná odchylka
SI	Index stability
VHDL	Lipoprotein o velmi vysoké hustotě
VLDL	Lipoprotein o velmi nízké hustotě

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Znázornění <i>cis</i> -olejové kyseliny a <i>trans</i> -elaidové kyseliny [10]	13
Obrázek 2: Metabolismus a elongace kyseliny linolové a α -linolenové [12]	16
Obrázek 3: Prostorové projekce krystalických forem α , β 'a β . Uspořádání: a) hexagonální, b) ortorombické, c) triklinické [14].....	18
Obrázek 4: Schéma katalytické hydrogenace [18].....	22
Obrázek 5: Zjednodušené schéma vysvětlující mechanismus autooxidace [19]	24
Obrázek 6: Časový průběh autooxidace nenasycených mastných kyselin (lipidů): snižování koncentrace polynenasycených lipidů (A), vznik a rozklad reaktivních hydroperoxidů (B) a zvyšování koncentrace netěkavých (C) a těkavých (D) konečných produktů [23]	25
Obrázek 7: 892 Professional Rancimat [38]	43
Obrázek 8: Závislost naměřené absorpance A na koncentraci c kyseliny gallové	46
Obrázek 9: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci troloxu.....	49
Obrázek 10: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci kyseliny askorbové ..	50
Obrázek 11: Celkový náhled na vyhodnocovací software StabNet 1.1	54
Obrázek 12: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek mandle při 120 °C	54
Obrázek 13: Vzorek mandlí před (vlevo) a po vyhodnocení oxidační stability	55
Obrázek 14: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek konopného semínka při 120 °C...	56
Obrázek 15: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek müsli směsi č. 4 při 120 °C.....	57
Obrázek 16: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek sušenky č. 5 při 80 °C.....	57
Obrázek 17: Vyhodnocení indukčního času pro vzorek sušenky č. 1 při 120 °C.....	58

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Nejběžnější nasycené mastné kyseliny	12
Tabulka 2: Příklady nejběžnějších monoenových mastných kyselin.....	14
Tabulka 3: Výběr některých významných polyenových mastných kyselin	15
Tabulka 4: Přibližný procentuální obsah oleje ve vybraných olejninách [16]	19
Tabulka 5: Přibližný procentuální obsah tuku ve vybraných živočišných surovinách a produktech [3].....	20
Tabulka 6: Průměrné složení másla [30]	29
Tabulka 7: Zastoupení MK slunečnicového oleje [30]	30
Tabulka 8: Zastoupení mastných kyselin řepkového oleje [33]	31
Tabulka 9: Zastoupení mastných kyselin v mandlích [34].....	32
Tabulka 10: Zastoupení mastných kyselin ve lněném oleji [35]	32
Tabulka 11: Surovinová skladba vzorků müsli směsí (hm. %)	37
Tabulka 12: Surovinová skladba vzorků máslových sušenek (hm. %).....	38
Tabulka 13: Obsah lipidů ve vzorcích sušenek, müsli směsí, mandlí a konopného semínka	44
Tabulka 14: Hodnoty absorpance pro jednotlivé koncentrace kyseliny gallové	46
Tabulka 15: Výsledky stanovení volných polyfenolů v müsli směsích a sušenkách.....	47
Tabulka 16: Závislost inaktivace na koncentraci troloxu	49
Tabulka 17: Závislost inaktivace na koncentraci kyseliny askorbové	50
Tabulka 18: Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH u müsli směsí a sušenek.....	51
Tabulka 19: Stanovené indukční časy u vzorků müsli směsí, sušenek, másla, mandlí a konopných semínek.....	53