

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Změny ve složení tuků ryb při jejich tepelné úpravě

Diplomová práce

Bc. Annemarie Hamplová

Výživa a potraviny

Ing. Matyáš Orsák, Ph.D

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Změny ve složení tuků ryb při jejich tepelné úpravě" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4. 2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu diplomové práce Ing. Matyášovi Orsákovi, PhD. za jeho čas a ochotu, kterou mi poskytl během psaní mé diplomové práce. Mé nemalé díky patří taktéž Ing. Petru Šmídovi za jeho pomoc při přípravě vzorků a za gramatickou korekci mé práce. Nakonec bych ráda poděkovala celé mé rodině za podporu v průběhu celého studia. Zvláštní poděkování patří mému partnerovi, Bc. Josefu Srbovi, za jeho nekonečná slova podpory.

Změny ve složení tuků ryb při jejich tepelné úpravě

Souhrn

V lidském jídelníčku mají ryby nezastoupitelnou funkci. Nejenže jsou pro nás zdrojem mnoha důležitých nutrientů, ale především jsou jedním z hlavních zdrojů polynenasycených mastných kyselin, dokosahexaenové kyseliny a eikosapentaenové kyseliny. Zdrojem těchto důležitých mastných kyselin, a řady dalších, jsou tuky, které jsou obsaženy v potravinách. Bohužel tuky během skladování a následné tepelné úpravy podléhají řadě nežádoucích změn. Nejpodstatnější změnu v rámci kvality tuku představuje oxidační proces, kdy mohou vznikat až toxické produkty ohrožující zdraví jedinců. Kontrola kvality a stability tuků by tak měla být jedna z hlavních priorit potravinářského průmyslu. V rešeršní části jsou popsány nejdůležitější aspekty tuků a mastných kyselin. Dále jsou popsány možnosti skladování ryb a možné tepelné úpravy. Předposlední kapitoly se věnují samotné oxidaci tuků a jejich zdravotních následků na člověka. Poslední dvě kapitoly jsou věnovány tukovým číslům a nežádoucímu malondialdehydu.

Prvním cílem této diplomové práce bylo stanovit množství obsaženého tuku v sardinkách (*Sardina pilchardus*) a šprotech (*Sprattus sprattus*). Množství obsaženého tuku ve vzorkách bylo stanoveno Soxhletovo metodou. Druhým cílem bylo zjistit, zda existují rozdíly v tukových číslech u jednotlivých vzorků ryb, které byly tepelně upraveny pečením či smažením. K tomuto účelu byly v rámci této práce využity příslušné titrační metody. Posledním cílem diplomové práce bylo zjistit množství malondialdehydu v mase ryb, které byly smaženy a pečeny. Stanovení malondialdehydu probíhalo nejčastější metodou detekce, kdy se využívá reakce malondialdehydu s kyselinou thiobarbiturovou. Vzniklý barevný komplex byl proměřen na spektrofotometru Helios γ při vlnové délce 538 nm.

Vyhodnocení výsledků probíhalo v programu STATISTICA 12, kdy byla využita faktoriální ANOVA (Tukeyův HSD test). V rámci této diplomové práce bylo prokázáno, že se od sebe sardinky a šproty liší složením i obsahem tuku. Taktéž bylo prokázáno, že dochází ke kvalitativním změnám u tuků ryb po tepelných úpravách. Nakonec bylo i statisticky potvrzeno, že u tukových čísel dochází ke změnám výsledků po tepelných úpravách.

Klíčová slova: malondialdehyd; lipidy; oxidační stres; spektrofotometrie; tuková čísla; volumetrie

Changes in the fat composition of fish during heat processing

Summary

Fish has an irreplaceable function in the human diet. They are a source of many important nutrients for us, but above all they are one of the main sources of polyunsaturated fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. The source of these important fatty acids, and many others, are the fats found in foods. Unfortunately, fats undergo a number of undesirable changes during storage and subsequent heat treatment. The most significant change in the quality of fat is the oxidation process, which can produce toxic products that threaten the health of individuals. Controlling the quality and stability of fats should therefore be one of the main priorities of the food industry. In the research section, the most important aspects of fats and fatty acids are described. Furthermore, storage options for fish and possible heat treatments are described. The penultimate chapters deal with the oxidation of fats themselves and their health effects on humans. The last two chapters are devoted to fat numbers and undesirable malondialdehyde.

The first aim of this thesis was to determine the amount of fat contained in sardines (*Sardina pilchardus*) and sprats (*Sprattus sprattus*). The amount of fat contained in the samples was determined by the Soxhlet method. The second objective was to determine whether there were differences in the fat numbers of the fish samples that had been cooked by baking or frying. For this purpose, the appropriate titration methods were used in this work. The final aim of the thesis was to determine the amount of malondialdehyde in the flesh of fish that had been fried and baked. The determination of malondialdehyde was carried out by the most common method of detection using the reaction of malondialdehyde with thiobarbituric acid. The resulting colour complex was measured on a Helios γ spectrophotometer at a wavelength of 538 nm.

The evaluation of the results was carried out using the STATISTICA 12 program, using factorial ANOVA (Tukey's HSD test). In the framework of this thesis it was shown that sardines and sprats differ in composition and fat content. It was also shown that there are qualitative changes in the fat of the fish after heat treatment. Finally, it was also statistically confirmed that there are changes in fat numbers after heat treatment.

Keywords: malondialdehyde; lipids; oxidative stress; spectrophotometry; lipid value; volumetric

Obsah

1. Úvod.....	9
2. Vědecká hypotéza a cíle práce.....	11
3. Literární rešerše	12
3.1 Role ryb ve výživě člověka.....	12
3.2 Rybí tělo	13
3.3 Rybí tuky ve výživě člověka	14
3.3.1 Funkce lipidů v lidském organismu.....	14
3.3.2 Vybrané druhy lipidů a jejich funkce	16
3.3.3 Mastné kyseliny v tucích	19
3.3.3.1 Nasycené mastné kyseliny	20
3.3.3.2 Mononenasycené mastné kyseliny (MUFA).....	21
3.3.3.3 Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA)	22
3.3.4 Výživová doporučení	28
3.4 Skladování ryb a jejich udržitelnost.....	29
3.4.1 Chlazení	31
3.4.2 Mražení	32
3.5 Možnosti tepelné úpravy ryb	33
3.5.1 Vaření.....	34
3.5.1.1 Vaření v páře.....	34
3.5.1.2 Metoda sous-vide	35
3.5.2 Smažení.....	35
3.5.3 Uzení	36
3.6 Oxidace a žluknutí tuků	38
3.7 Vliv oxidovaných tuků na zdraví člověka	42
3.7.1 Metabolické poruchy	43
3.7.2 Nádorové bujení a teratogenita	45
3.7.3 Kardiovaskulární choroby.....	46
3.7.4 Neplodnost	47
3.8 Stanovení tukových čísel.....	49
3.8.1 Číslo kyselosti (ČK).....	49
3.8.2 Jodové číslo (JČ).....	50
3.8.3 Peroxidové číslo (PČ).....	51
3.9 Malondialdehyd (MDA)	51
4. Metodika.....	54
4.1 Použité vzorky ryb	54

4.1.1	Parametry tepelné úpravy	54
4.1.1.1	Pečení	54
4.1.1.2	Smažení	55
4.1.2	Použitá extrakční metoda	55
4.2	Stanovení obsahu tuku.....	55
4.3	Stanovení čísla kyselosti.....	56
4.3.1	Příprava a standardizace odměrného roztoku ethanolickeho 0,1 M KOH	56
4.3.1.1	Příprava odměrného roztoku KOH o koncentraci 0,1 M:	56
4.3.1.2	Příprava standardního roztoku (COOH) ₂ o koncentraci 0,05 M:56	
4.3.1.3	Stanovení titru připraveného odměrného roztoku KOH titrací na roztok základní látky (COOH) ₂ :	56
4.3.2	Postup stanovení čísla kyselosti	57
4.4	Stanovení jodového čísla dle Hanuše.....	57
4.4.1	Příprava a standardizace odměrného roztoku Na ₂ S ₂ O ₃ o koncentraci 0,1 M	57
4.4.1.1	Příprava odměrného roztoku Na ₂ S ₂ O ₃ o koncentraci 0,1 M:	57
4.4.1.2	Příprava základní látky K ₂ Cr ₂ O ₇ :.....	57
4.4.1.3	Stanovení titru odměrného roztoku Na ₂ S ₂ O ₃ titrací na navážku základní látky:	58
4.4.2	Postup stanovení jodového čísla	58
4.5	Stanovení peroxidového čísla	58
4.5.1	Příprava a standardizace odměrného roztoku Na ₂ S ₂ O ₃ o koncentraci 0,01 M	59
4.5.2	Postup stanovení peroxidového čísla	59
4.6	Stanovení malondialdehydu (MDA).....	59
4.6.1	Příprava kalibrační křivky.....	59
4.6.2	Stanovení thiobarbiturového čísla (obsahu MDA)	60
	61
5.	Výsledky	61
5.1	Tuková čísla	62
5.1.1	Číslo kyselosti	62
5.1.2	Jodové číslo.....	63
5.1.3	Peroxidové číslo.....	64
5.2	Obsah tuku ve vzorcích ryb	65
5.3	Obsah malondialdehydu v mase ryb	67
6.	Diskuze.....	71
6.1	Číslo kyselosti	71
6.2	Jodové číslo	72

6.3	Peroxidové číslo	73
6.4	Obsah tuku ve vzorcích ryb	74
6.5	Obsah malondialdehydu v mase ryb	75
7.	Závěr	77
8.	Literatura	80
9.	Seznamy	93
9.1	Seznam použitých obrázků:	93
9.2	Seznam použitých tabulek.....	94
9.3	Seznam použitých zkratk:	94
10.	Samostatné přílohy	I
10.1	Tuková čísla	I
10.1.1	Číslo kyselosti.....	I
10.1.2	Jodové číslo	II
10.1.3	Peroxidové číslo.....	III
10.2	Obsah tuku ve vzorcích.....	IV
10.3	Obsah malondialdehydu v rybím mase	V

1. Úvod

Celkový povrch země je přes 70 % tvořen vodní hladinou. Z tohoto důvodu tvoří potraviny z vodních organismů základ globálního potravinového koše. Ryby jsou pro člověka cenným zdrojem důležitých makro i mikroživin. Ty jsou navíc snáze biologicky dostupné než živiny z rostlinné stravy. V roce 2016 činila světová produkce ryb 167,2 miliónů tun ročně. Pro komerční účely je využíváno okolo 350 druhů ryb. Jednotlivé druhy ryb se pak od sebe liší zastoupením jednotlivých zdraví prospěšných složek. Zastoupení těchto jednotlivých složek pak odráží druh ryb, pohlaví a stáří ryb. V České republice je konzumace ryb na celosvětovém průměru, který je okolo 5-6 kg na osobu/rok. Pro české konzumenty je podstatná vysoká prodejní cena ryb, která není dlouhodobě příznivá. Cena je i hlavním faktorem podílejícím se na nízké konzumaci ryb v českých domácnostech. Nicméně Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) doporučuje konzumovat 2 porce tučnějších ryb týdně. Toto množství by mělo zajistit dostatečný přísun omega-3 MK, vitamínu D, jódu a selenu. Ryby, a především mořské ryby, jsou specifické pro svoji skladbu mastných kyselin, která není k nalezení v žádném jiném živočišném tuku a ani v žádném rostlinném oleji. Jedná se o kyselinu dokosahexaenovou kyselinu a eikosapentaenovou kyselinu. Dokosahexaenová kyselina je důležitým prvkem pro správnou funkci neurotransmise a řádný fyziologický přenos nervového signálu. Eikosapentaenová kyselina naopak přispívá ke snižování aterogenních činitelů v organismu, čímž vykazuje protektivní účinek v boji proti ateroskleróze.

Civilizační choroby jako je např. diabetes mellitus, ateroskleróza, vysoký krevní tlak, infarkt myokardu, nádorové bujení apod. jsou bohužel na velkém vzestupu. Tento jev mimo jiné značně souvisí s nezdravým životním stylem a s nezdravými stravovacími návyky jedinců. V posledních desetiletí velmi vzrostla obliba smažených jídel. I přes světovou osvětu ohledně zdravé výživy, smažené potraviny jsou jedny z nejvíce konzumovaných potravin po celém světě. Bohužel smažené potraviny nejsou jenom rizikem kvůli zvýšenému množství přijímaného tuku, ale smažením vzniká řada i zdraví ohrožujících látek. Mnoho z těchto látek vykazuje mutagenní a karcinogenní účinky. Mezi tyto látky se řadí např. aromatické aminy a polycyklické aromatické uhlovodíky. V rybí svalovině mohou vznikat při vystavení vysoké teplotě (150-300 °C). Mimo to se během smažení mění samotné lipidové frakce a poměr volných mastných kyselin, které se dají využívat jako indikátor kvality tuku. Pokud se smažící médium používá opakovaně, či pokud je používána nepřiměřeně vysoká teplota při tepelné úpravě, vystavujeme se riziku extrémní oxidace tuků. V potravinářském průmyslu je oxidace tuků jedna z hlavních příčin zhoršení kvality potravin. Zároveň vlivem oxidace dochází k podstatnému snížení trvanlivosti potravin. Probíhající oxidační procesy podněcují ztrátu esenciálních mastných kyselin, také dochází ke změnám sensorických vlastností potravin. Oxidace se sekundárně projevuje změnou barvy, vzhledu, struktury a chuti. Nejtypičtějším znakem oxidace je typický žluklý zápach. Bohužel se oxidace podílí i na vzniku nežádoucích produktů v potravinách. Oxidované tuky se svým podílem na vzniku nežádoucích produktů účastní široké škály patologických účinků na zdraví lidí. Mezi tyto patologické jevy se řadí ateroskleróza, rakovinné bujení, zánětlivé procesy

a urychlování stárnutí. Produkty oxidace tuků jako jsou aldehydy a ketony, působí prozánětlivě, karcinogenně a mutagenně. Jeden z nejvíce nebezpečných toxických dialdehydů je malondialdehyd, který s sebou přináší značná zdravotní rizika a v dnešní době je mu věnována velká pozornost.

To vše jsou důvody, proč by kontrola kvality a zdravotní nezávadnost potravin měla být pečlivě hlídána a měla by to být jedna z nejhlavnějších priorit v potravinářském průmyslu. Kvalita potravin se hlídá hned na několika úrovních. Pro zjištění základní kvality tuků jsou klíčové metody volumetrického a spektroskopického charakteru. Těmito metodami se dá zjistit zastoupení volných mastných kyselin, ale i množství toxického malondialdehydu v dané matrici.

2. Vědecká hypotéza a cíle práce

Vědecké hypotézy:

- 1) Je rozdíl ve složení tuku u šprotů a sardinek.
- 2) U tepelně ošetřených ryb dochází ke kvalitativní změně u tuku.
- 3) Různé typy tepelného ošetření budou mít rozdílný vliv na hodnoty vybraných tukových čísel.

Cíle práce:

- 1) Stanovit obsah a složení tuku sardinek a šprotů.
- 2) Stanovit vybraná tuková čísla u vzorků tepelně ošetřených a neošetřených.
- 3) Ve vzorcích rybího masa stanovit obsah malondialdehydu.

3. Literární rešerše

3.1 Role ryb ve výživě člověka

Významnou součástí lidské stravy představují ryby, které jsou nutričně součástí lidského jídelníčku (Pal et al. 2018). Bohužel i v dnešním světě trpí přes 30 % obyvatelstva podvýživou či nemocemi, které s příjmem potravy úzce souvisejí. Podvýživa v současné době představuje globální výzvu související se zdravotními riziky spojenými s podvýživou (Tacon & Metian 2013). Odhaduje se, že nedostatkem vitamínu A celosvětově trpí více jak 190 milionu dětí. A přibližně 2 miliardy lidí trpí nedostatečným příjmem jódu. Dále přibližně 1,6 miliardy lidí je chudokrevných. Tato chudokrevnost je z 50 % zapříčiněna nedostatečným příjmem železa (Thilsted 2012). Vzhledem k tomu, že člověk a potažmo celá populace nemůže dlouhodobě existovat bez dostatečného příjmu kvalitní potravy, i OSN hájilo právo na dostatek potravin, jako na základní lidskou potřebu (Deckers 2016). Předpokládá se, že celková světová populace přesáhne v roce 2050 9 miliard lidí, z toho velká část bude připadat na rozvojové země, které jsou náchylné na hladovění. Akvakultura, pakliže je podporována a rozvíjena citlivým způsobem, může příznivým způsobem přispívat k vymýcení hladu a podporovat řešení nedostatku potravin a omezení podvýživy (Sobral et al. 2017). Thilsted (2012) toto tvrzení podporuje. Doplňuje, že konkrétně malé ryby jsou nedílnou součástí stravy obyvatel chudých zemí, kteří taktéž trpí podvýživou. Současně zpestřuje stravu lidem z těchto oblastí. Malé ryby neobohacují jídelníček pouze po senzorycké stránce, ale přináší řadu zdravotních benefitů. Jsou plně nutričně hodnotné a obsahují celý zástup lehce stravitelných bílkovin, lipidů i esenciálních minerálů a vitamínů (Sampels 2015).

Dle statistik FAO (2016) činí světová produkce ryb 167,2 miliónů tun ročně, z čehož je k lidské spotřebě využito 146,3 miliónů tun (Pal et al. 2018). Z více než 1000 druhů ryb je komerčně využíváno 350 druhů ryb (Sikorski & Kołakowska 2011). Poptávka po kvalitních rybách meziročně stoupá především díky obsahu zdraví prospěšných látek (Pal et al. 2018). Ryby jsou pro člověka cenným zdrojem důležitých makro i mikroživin (David 2013), přičemž mikroživiny z živočišných zdrojů jsou pro člověka snázeji dostupné než ty z rostlinné stravy (Mishra 2020). Mezi vitamíny, které se v rybách nachází, patří vitamín A, D a vitamíny skupiny B. Co se týče minerálních látek, nejčastěji se objevují vápník a fosfor. Z řad mikroprvků pak jód, fluor a selen. Minerály získané z ryb mají vysokou biologickou hodnotu a jsou tedy snadno absorbovatelné v gastrointestinálním traktu člověka (Pal et al. 2018). Z globálního pohledu tvoří ryby přibližně 17 % příjmu veškerých živočišných bílkovin, které lidé konzumují. Ačkoliv tento podíl přesahuje v některých zemích až 50 % příjmu a to především v ostrovních státech (David 2013). Ryby se pyšní profilem aminokyselin, který zahrnuje obvykle většinu potřebných esenciálních aminokyselin (Pal et al. 2018). Jak uvádí Mishra (2020) pouhých 140 g ryb může splňovat až 60 % denního příjmu bílkovin pro dospělého člověka. Nicméně ryby jsou cenné zejména pro obsah a složení tuku, který představuje hlavní zdravotní benefit pro člověka.

Lipidy v rybách obsahují neocenitelné polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (PUFA), eikosapentaenovou kyselinu (EPA) a dokosahexaenovou kyselinu (DHA).

Tyto mastné kyseliny přímo ovlivňují naše tělesné i psychické zdraví. Svoji roli plní i při reprodukci a schopnosti vývinu lidského plodu (Sikorski & Kołakowska 2011). V obecné rovině lze uvést, že ryby obsahují až 80 % vody, okolo 20 % bílkovin a až 20 % tvoří tuky. Obsah těchto složek pak samozřejmě závisí na druhu ryb, pohlaví a stáří ryb (Mishra 2020). Důležitým faktorem je také původ ryb, zdali jsou původem z teplé vody, například střeozemního moře, nebo chladných vod severských zemí (Fisher et al. 2010). Ryby jsou totiž tzv. poikiloterní živočichové (studenokrevní). Teplota jejich vnitřního prostředí koresponduje s teplotou okolí (Spurný 2014).

Existuje zde jasná korelace mezi průměrnou délkou života člověka a konzumací ryb i mořských plodů (Sampels 2015). Prospěšnost v otázce zdraví přineslo pozorování Tacona & Metiona z roku 2013. Na základě jimi zjištěných skutečností se dá konstatovat, že v Japonsku, v zemi, která se pyšní nejdelší průměrnou délkou života a celkového dobrého zdravotního stavu tamních obyvatel, je celkový příjem ryb a mořských produktů výrazně vyšší než např. v USA. Naproti tomu v USA se rozmáhá epidemie obezity a s tím souvisejících kardiovaskulárních onemocnění, toto je dáváno do souvislosti s výrazně nižší konzumací ryb. Tento fakt podporuje i další pozorování prováděné na začátku 80. let. Byli porovnáváni grónští Inuité a Dánové. Grónští Inuité na rozdíl od Dánů netrpěli žádnými srdečními ani cévními chorobami. Jako příčina byla udána rozdílnost ve stravovacích zvyklostech. Inuité totiž na rozdíl od Dánů zkonzumují velké množství ryb (Kalač 2003).

3.2 Rybí tělo

Ryby patří mezi nejstarší obratlovce na Zemi, zároveň jsou druhově nejpočetnější. V průběhu vývoje se dokázaly plně zadaptovat na různé typy vod. Takové možnosti adaptace jim umožnila stavba jejich těla i jejich fyziologické funkce, které se postupně vyvíjely v čase (Spurný 2014).

V ČR je dle statistik průměrná roční spotřeba produktů rybolovu a akvakultury přibližně 6 kg na osobu/rok. Z toho cca 1,5 kg připadá na sladkovodní ryby, které byly získané produkčním chovem i lovem na udici. Přesto spotřeba mražených ryb je v ČR 2,5 × vyšší než spotřeba ryb čerstvých. Celková spotřeba ryb v ČR odpovídá celosvětovému průměru, který je 5-6 kg ryb na osobu/rok (Kavka 2017). Indická rada pro lékařský výzkum nicméně doporučuje konzumaci ryb zvýšit až na 12 kg ryb na osobu a rok (Mishra 2020). Nízká konzumace mořských ryb je zapříčiněna jejich vysokou cenou (Kavka 2017).

Hlavní konzumovanou část ryb představuje filet, který je složený ze svaloviny společně s kůží nebo bez kůže. Filet se skládá z břišních a hřbetních svalů ryby (Granata et al. 2012). Rybí sval se skládá ze světlých a tmavých svalů. Tmavý sval je využíván k pohybové aktivitě. Více tmavé svaloviny mají ty ryby, které jsou zvyklé intenzivně plavat (např. tuňák, makrela) (Gökoğlu & Yerlikaya 2015).

Typický filet je vykostěný a bez kůže. Získávají se ruční prací či úplnou mechanizací, což je pro podniky ekonomicky výhodnější (Granata et al. 2012). Dále jsou

konzumovány i vedlejší produkty jako jsou játra a jikry. V závislosti na druhu a stáří ryby představuje svalovina až 75 % objemu rybího těla (Sikorski & Kołakowska 2011). Rybí maso je považováno za libové s nižší kalorickou hodnotou i přesto, že obsahuje vysoké množství lipidů (Sampels 2015). Kosterní svalovina je tvořena až z 80 % vody, má okolo 20 % bílkovin. Obsah tuku v kosterní svalovině je pak značně druhově ovlivněn, kdy se pohybuje v rozmezí 1 – 25 % (Spurný 2014).

Mořské ryby obsahují v porovnání s jinými živočichy a rostlinnými oleji vyšší množství mastných kyselin. Ty jsou zastoupeny převážně polynenasycenými mastnými kyselinami a omega-3 polynenasycenými mastnými kyselinami s dlouhým řetězcem (omega-3 MK). Tyto mastné kyseliny jsou zdraví prospěšné, mají preventivní vliv na metabolický syndrom, obezitu, diabetes, aterosklerózu a zlepšují zdravý vývoj mozkových buněk (Sampels 2015; Sobral et al. 2017). Je důležité podotknout, že tyto mastné kyseliny ryby získávají převážně z potravy, kterou tvoří řasy a korýši (Kalač 2003).

3.3 Rybí tuky ve výživě člověka

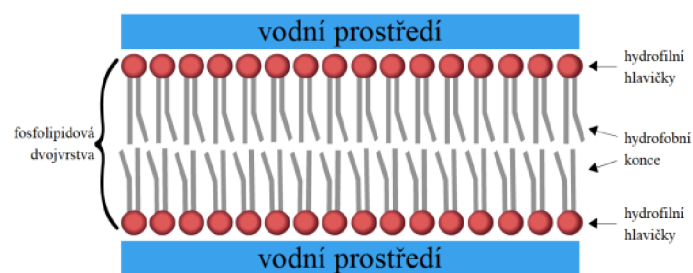
Lipidy tvoří nezbytnou součást stravy pro udržení zdraví a správného vývoje organismu. Nejedná se o přesně definovanou složku potravin (Velíšek & Hajšlová 2009), přesto nejčastější definicí je, že lipidy jsou sloučeniny obsahující vyšší mastné kyseliny a alkoholy. Jejich specifickou fyzikálně – chemickou vlastností je nerozpustnost ve vodě (Ledvina et al. 2020). Naopak vykazují velmi dobrou rozpustnost v organických rozpouštědlech – chloroform, hexan, toluen (Nollet & Toldrá 2009). Pod pojmem lipidy rozumíme řadu sloučenin, které se mezi sebou liší v chemickém složení, struktuře, polaritě a funkcích, které zastávají (Panaser & Tigher 2012). Jedná se o strukturálně a funkčně rozmanitou skupinu látek a nelze zcela jednoznačně roztrždit do skupin či kategorií. Obecně se dělí na jednoduché a složené lipidy. Jednoduché lipidy ve své struktuře obsahují mastnou kyselinu a alkohol, nejčastěji glycerol (Nollet & Toldrá 2009). Příkladem jednoduchých lipidů jsou acylglyceroly (estery glycerolu a mastných kyselin) a vosky (estery mastných kyselin a vyšších jednosytných alkoholů) (Kodíček et al. 2018). Složené lipidy pak ve své struktuře obsahují i jiné složky. Těmito složkami rozumíme kyselinu fosforečnou, různé dusíkaté deriváty a sacharidy (Paulová et al. 2021). Jako příklady takových lipidů lze uvést fosfolipidy, glykolipidy a lipoproteiny (Kodíček et al. 2018). Kodíček et al. (2018) dodávají, že se lipidy dále mohou dělit na zmydelnitelné a nezmydelnitelné. Tyto dvě skupiny se liší tím, že ze zmydelnitelných lipidů lze alkalickou hydrolýzou získat soli mastných kyselin. Příkladem nezmydelnitelného lipidů je pak hlavně isoprenoid (cholesterol) (Kodíček et al. 2018).

3.3.1 Funkce lipidů v lidském organismu

Lipidy jsou ve všech svých názvech a podobách základními stavebními prvky buněk a v rámci metabolismu se z nich získává energie prostřednictvím β – oxidace mastných kyselin (Ledvina et al. 2020). V organismu jsou součástí buněk a podílejí se na celé řadě biochemických pochodů (Panaser & Tigher 2012). Různé pokusy prokázaly, že tuková tkáň podléhá určité dynamice. Neustále v ní probíhá syntéza, degradace a výměna látek (Ledvina et al. 2020).

Organismus je schopný lipidy syntetizovat a transformovat do mnoha podob. Nicméně to neplatí o esenciálních mastných kyselinách, které nelze syntetizovat a je nutné je přijímat ve stravě (Wang et al. 2012). Hlavní funkcí lipidů v organismu je zásoba energie (Paulová et al. 2021). Energie je uložena ve triacylglycerolů v podkožním tuku (Kodíček et al. 2018). Ledvina et al. (2020) uvádějí, že spalné teplo lipidů je oproti ostatním živinám až 2× vyšší. U průměrného zdravého dospělého muže tuky představují 15 % z celkové hmotnosti a u žen je toto procento ještě vyšší. To z tuků činí nejvýznamnější zdroje energie pro tělo, kdy a z jednoho g tuku lze získat až 38 kJ energie, což je dvojnásobná hodnota oproti bílkovinám a sacharidům. (Kodíček et al. 2018).

Mastné kyseliny obsažené v tucích, které přijímáme společně s potravou, jsou prekurzory pro syntézu mnoha důležitých látek (Ledvina et al. 2020; Paulová et al. 2021). Z těchto látek je dobré zmínit prostaglandiny, thromboxany a leukotrieny (Ledvina et al. 2020). Dále se mastné kyseliny uplatňují v syntéze fyziologicky účinných látek nezbytných pro správný chod biochemických procesů. Především pak tvoří podstatné složky různých forem. V podobě fosfolipidů jsou lipidy strukturální složkou buněčných membrán (Paulová et al. 2021). Vytvářejí tak mikroskopicky i makroskopicky viditelnou strukturu sloužící k mnoha účelům. Jako podpurná tkáň se k příkladu uplatňuje v uchycení a fixaci ledvin (Ledvina et al. 2020). Polární lipidy mají ve vodném prostředí tendenci se shlukovat do tzv. lipidové dvojvrstvy. Toto uskupení vzniká tak, že polární skupiny obsažené v lipidu reagují s molekulami vody za pomoci vodíkových můstků a elektrostatických interakcí. Hydrofóbní části lipidů tvoří nepolární složku tohoto uskupení. Tento vzniklý útvar o tloušťce 6 až 10 nm je základem veškerých biologických membrán, které od sebe rozdělují jednotlivé vnitřní prostory (Kodíček et al. 2018).



Obrázek 1: Znárodnění lipidové dvojvrstvy. Zdroj: H. Josífková a M. Teplá (2020), dostupné z: http://www.studiumbiochemie.cz/materialy/meziobor/lipidy/studijni_text_lipidy.pdf

Neopomenutelnou funkcí lipidů je určitá mechanická ochrana, kterou nám poskytují. V podobě tukových polštářů nás chrání proti nárazům (Ledvina et al. 2020). Lze je také považovat za tepelný izolant, který zabraňuje nadměrným tepelným ztrátám (Paulová et al. 2021). Další významnou funkcí je vytváření prostředí pro rozpouštění lipofilních vitamínů, tedy rozpustných v tucích. Jedná se o vitamíny A, D, E a K. Svoji strukturou připomínají izoprenoidové izomery. Vstřebávání těchto vitamínů je neodmyslitelně spojeno s lipidy skladovanými v játrech a následně se vyskytujícími v tenkém střevě. Je zde nutné však zdůraznit riziko, jenž s sebou nese jejich nadměrný příjem. Nadbytek lipofilních vitamínů

je skladován v tukové tkáni. Pakliže dojde k rychlé eliminaci této tukové tkáně (radikální a rychlé zhubnutí), dochází k rychlému uvolnění depozitu takto skladovaných vitamínů, a může nastat hypervitaminóza (Ravisankar et al. 2015). Méně známým příkladem funkce lipidů může být lubrikace kloubů synoviální tekutinou či povrchově aktivní povlak na plicích. Také mají uplatnění ve funkci ochranného slzného filmu (Panaser & Tigher 2012). Ve formě lipoproteinů jsou součástí struktury myelinu, který tvoří obal axonu (výběžek nervové buňky). Myelin elektricky izoluje axon od okolí a umožňuje tak snadnější přenos nervového vzruchu (Kodiček et al. 2018).

3.3.2 Vybrané druhy lipidů a jejich funkce

Lipidy jsou směsí z mono-, di- a **triacylglycerolů** společně s mastnými kyselinami (MK). V praxi to znamená, že většina MK tvoří estery s alkoholy. V případě acylglycerolů s glycerolem (Blanco & Blanco 2017). Přičemž triacylglyceroly představují až 95 % obsahu z celkových lipidů v potravinách. (Wang et al. 2012). Jsou totiž hlavní složkou všech přírodních olejů a tuků (Blanco & Blanco 2017). Pro konzistenci triacylglycerolů je důležitý poměr mezi nasycenými a nenasycenými mastnými kyselinami. Pokud ve složení převažují nasycené MK, tak výsledný tuk má polotuhý až tuhý charakter (sádlo, máslo, palmový tuk...). Charakter olejů pak vykazují tuky, ve kterých dominují nenasycené MK (rybí olej) (Paulová et al. 2021). Téměř ve všech případech mají ve své struktuře nerozvětvené MK se sudým počtem uhlíků (Kodiček et al. 2018). Triacylglyceroly získávané z tuku zvířat jsou bohaté na nasycené MK s počtem uhlíků C16 a C18 (Sikorski & Kołakowska 2011). V obecné rovině vykazují acylglyceroly nepolární charakter, jsou zcela nerozpustné ve vodě (Paulová et al. 2021). Teplota tání acylglycerolů závisí na obsažených MK. Mastné kyseliny s delším uhlíkovým řetězcem taje při vyšší teplotě, než MK s krátkým řetězcem. Heteroacylglyceroly navíc vykazují strukturní i optickou izomerii (Blanco & Blanco 2017). Jsou přirozenou součástí adipocytů a tvoří tak zásobárnu energie. Syntéza a odbourávání triacylglycerolů je řízena hormonálně (Blanco & Blanco 2017; Kodiček et al. 2018). V procesu trávení podléhají triacylglyceroly hydrolyze lipásou [EC] a jsou štěpeny na MK a glycerol (Paulová et al. 2021).

Jako **fosfolipidy** jsou označovány lipidy, které mají esterově vázanou kyselinu fosforečnou (Wang et al. 2012; Blanco & Blanco 2017). Molekula fosfolipidů má amfifilní povahu a je tvořena hydrofobními řetězci mastných kyselin a hydrofilními částicemi. Různé třídy fosfolipidů se běžně nachází v přírodě (Melton et al. 2019). Nejčastějšími zástupci z této skupiny lipidů jsou glycerofosfolipidy, dříve nazývány jako fosfatidy (Sikorski & Kołakowska 2011). Fosforečná kyselina je navázaná na fosfolipid v podobě mono či diesteru (Wang et al. 2012). Živočišné tkáně jsou různě bohaté na fosfolipidy. Například hmotnost mozkové tkáně je až z 30 % tvořena právě fosfolipidy. Zatímco ve svalech představuje celková hmotnost fosfolipidů pouhá 2 % (Blanco & Blanco 2017). Dělí se dle donoru hydroxylové skupiny. Pokud hydroxylová skupina pochází od glycerolu, tak vznikají glycerolfosfolipidy. Pakliže je donorem hydroxylové skupiny sfingosin, tak mluvíme o sfingofosfolipidech (Paulová et al. 2021). Glycerolfosfolipidy jsou zastoupeny hojněji. Fosfolipidy jsou nejvíce zastoupeny v buněčných membránách všech buněk, zatímco jejich zastoupení v tukových buňkách je téměř

zanedbatelné. Zásadní vliv na asociaci polárních skupin obsažených ve fosfolipidech, má hodnota pH. Po kontaktu s vodou fosfolipidy dispergují a hydratují se. Hydratací pak vytváří lamelární či hexagonální fáze, které pak souvisí s funkcemi buněčných membrán (Melton et al. 2019). Zásadní přednost fosfolipidů spočívá ve vlastnosti poskytovat pro organismus aktivní sloučeniny. Obvykle mají na pozici C2 arachidonát (MK), která slouží organismu jako prekurzor eikosanoidů. Jejich další předností je úloha v buněčné signalizaci (Blanco & Blanco 2017). Významným zástupcem je fosfatidylcholin (lecithin). Jedná se o hlavní typ fosfolipidů, které lze nalézt v plasmatických membránách. Sfingomyelin patřící do skupiny sfingofosfolipidů je pak hlavní typ, který se lokalizuje v myelinových pochvách neuronů (Paulová et al. 2021). Díky jejich amfifilní povaze se využívají jako emulgátory. I když se snadno oxidují, vzhledem k zastoupení nenasycených MK, vykazují fosfolipidy dobrou antioxidační aktivitu. Komerčně je hojně využíván již zmiňovaný lecithin, u kterého byl prokázán prospěšný účinek pro lidské zdraví (Melton et al. 2019).

Lipoproteiny se řadí do komplexních lipidů (Paulová et al. 2021). Zároveň jsou nejlépe prozkoumanými komplexními lipidy vůbec (Velíšek & Hajšlová 2009). Skládají se z bílkovin, triacylglycerolů, fosfolipidů a volného či esterifikovaného cholesterolu. Bílkovinná složka (apoproteiny) lipoproteinů zajišťuje stabilizaci struktury a aktivuje enzymy metabolismu lipoproteinů (Paulová et al. 2021). Lipidy pak tvoří jádro molekuly a hydratované proteiny, fosfolipidy a cholesterol její obal (Pánek et al. 2002). To je důvod, proč se lipoproteiny rozpouštějí, či dispergují, ve vodě (Velíšek & Hajšlová 2009). Jejich hlavní a významná funkce spočívá v přenosu hydrofóbních lipidů v krvi (Paulová et al. 2021). Lipoproteiny krevního séra jsou pečlivě prozkoumané, jelikož mají vliv na onemocnění krevního oběhu (Velíšek & Hajšlová 2009). Lipoproteiny obsahují v různém poměru dané složky, které utváří jejich komplexní molekulu (Pánek et al. 2002). V obecné rovině platí, že čím více proteinů lipoprotein obsahuje, tím více má daný lipoprotein vyšší hustotu. Pokud převažují ve struktuře triacylglyceroly, je hustota lipoproteinu nižší (Paulová et al. 2021). Na základě dosažené hustoty se lipoproteiny dělí na různé frakce, přičemž každá frakce má jinou fyziologickou funkci (Pánek et al. 2002). Veškeré tkáně lidského organismu potřebují cholesterol, který právě získávají právě z lipoproteinů (Ledvina et al. 2021).

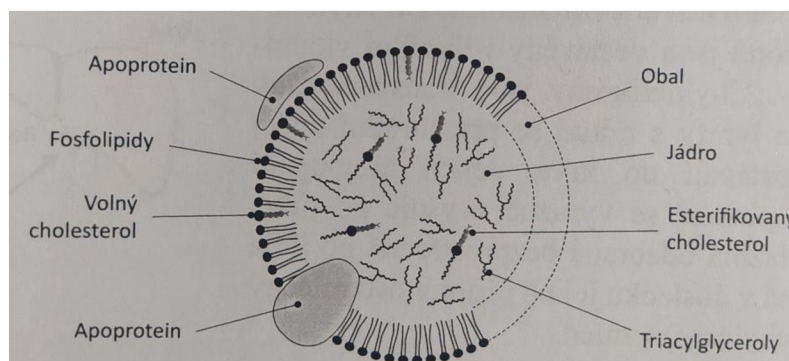
Lipoproteiny se dnes dělí na chylomikra, lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (VLDL), lipoproteiny se střední hustotou (IDL), lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL) a lipoproteiny s vysokou hustotou (HDL). Zkratky těchto lipoproteinů jsou odvozeny z anglického označení (Paulová et al. 2021).

- **Chylomikra** – jejich hustota je $0,9 \text{ g.cm}^{-3}$ (Ledvina et al. 2020). Tvorba probíhá ve střevní sliznici v enterocytech (Paulová et al. 2021). Za pomoci lymfatických cest se přenáší do krevního oběhu a odtud k periferním tkáním (Pánek et al. 2002). Transportují exogenní lipidy ze střeva do tkání. Z 90 % jsou tvořeny triacylglyceroly (Paulová et al. 2021).
- **Lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL- very low density protein)** – hustota bývá do $1,006 \text{ g.cm}^{-3}$ (Ledvina et al. 2020). Syntéza probíhá systematicky v játrech. Jejich funkce spočívá v přenášení MK z jater do periferních tkání (např. do kosterní

svaloviny). Biologický poločas je pouhých 30 minut (Pánek et al. 2002). Hlavní složkou jsou triacylglyceroly a to z 60 % (Paulová et al. 2021).

- Lipoproteiny se střední hustotou (IDL- intermediary density lipoproteins) – hustota se pohybuje od 1,006 do 1,019 g.cm⁻³ (Ledvina et al. 2020). Syntéza této frakce probíhá v krevní plasmě. Vzniká jako produkt metabolismu VLDL (Paulová et al. 2021). U zdravého člověka se vyskytují pouze v nízkých koncentracích. Biologický poločas je pouhých několik minut (Pánek et al. 2002).
- Lipoproteiny o nízké hustotě (LDL- low density lipoproteins) – hustota je variabilní, pohybuje se od 1,019 do 1,063 g.cm⁻³ (Ledvina et al. 2020). Z 50 % jsou tvořeny estery cholesterolu a vznikají v krevní plasmě. Transportují cholesterol z jater do tkání (Paulová et al. 2021). Jaterní buňky disponují LDL receptory, za pomoci kterých se cholesterol dostává zpět do jater. Vylučuje se pak v podobě žlučových kyselin (Pánek et al. 2002). Pánek et al. (2002) dále uvádějí, že osoby trpící tzv. hypercholesterolemií mají nižší počet těchto receptorů. Zvýšená plasmatická hladina této frakce patří mezi rizikové faktory podílející se na rozvoji aterosklerózy (Pánek et al. 2002).
- Lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL- high density lipoproteins) – hustota se pohybuje v rozmezí od 1,063 až po 1,210 g.cm⁻³ (Ledvina et al. 2020). Jejich struktura je z 50 % tvořena proteiny. Syntéza probíhá v enterocytech i v játrech (Paulová et al. 2021). Frakce má za funkci přenos nadbytečného cholesterolu z periférie zpět do jater. Pokud je tato frakce zastoupena ve větším množství, ukazuje se, že má pozitivní vliv v boji proti ateroskleróze (Pánek et al. 2002).

Lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL) a nízké hustotě (LDL) jsou nestabilní. Snadno tak dochází k vylučování lipidů a jejich následnému usazení v cévních stěnách (Velíšek & Hajšlová 2009). Transport mezi jednotlivými tkáněmi zastávají LDL a HDL frakce (Ledvina et al. 2021). Poměry jednotlivých frakcí mají zásadní podíl na potenciálním rozvoji kardiovaskulárních chorob (Pánek et al. 2002). Vznik aterosklerózy prokazatelně souvisí s vysokou hladinou cholesterolu pocházejícího z LDL frakce. LDL frakce může podléhat oxidaci, kdy se oxidují její nenasycené MK. Výsledným produktem této lipoperoxidace je vznik malondialdehydu, který modifikuje protein obsažený ve frakci. Dochází tak ke změně biologických vlastností a takto modifikovaná LDL frakce přestává být rozpoznávána buněčnými receptory (Ledvina et al. 2020).



Obrázek 2: Struktura plasmatického lipoproteinu. Zdroj: Paulová et al. (2021).

Pod označením **glykolipidy** je ukryta skupina látek, které jsou složeny z MK, aminoalkoholu sfingosinu a dalších komponentů, přičemž se v molekule vždy nachází sacharidová složka. Přítomnost vázaných cukrů je základní specifikací této skupiny (Paulová et al. 2021). Sacharidy jsou zastoupeny od malých sacharidových jednotek, až po velké sacharidové řetězce (Jala et al. 2022). Nejčastěji vázaným sacharidem je D-galaktosa. Lze se setkat i s D- glukosou či D-fuktosou, ty jsou však zastoupeny méně. Nachází se ve všech živých organismech od prokaryotických organismů až po člověka (Jala et al. 2022). Společně s fosfolipidy jsou součástí buněčných struktur, signálních molekul vyskytují se v lipoproteinech (Velíšek & Hajšlová 2009). Poprvé byly izolovány z mozkové tkáně Ernestem Klenkem v roce 1942. Dostává se jim velké pozornosti díky jejich rozmanitým biologickým funkcím. Podílí se totiž i na mezibuněčné komunikaci, imunitní odpovědi a fotosyntetickém transportu elektronů (Jala et al. 2022). Mají vliv na sensorické vlastnosti potravin. Jejich hydrolýzou se uvolňují volné cukry, které společně s fosfolipidem lecithinem vstupují s volnými aminokyselinami do tzv. neenzymatického hnědnutí, což má za následek zhnědnutí lecithinu a vytvoření nežádoucí vůně (Velíšek & Hajšlová 2009). V molekule může být navázán ještě glycerol, pak hovoříme o glyceroglykolipidech. Molekuly glykolipidů mohou mít navázanou fenolovou kyselinu a vykazovat tak antioxidační aktivitu (Velíšek & Hajšlová 2009). Díky jejich antioxidační aktivitě, se účastní v mnoha buněčných drahách, představují jistou formu imunoterapie vůči nádorovému bujení. Ovšem doposud nebyly nikdy komerčně využívány s ohledem na nedostatek přírodních zdrojů (Jala et al. 2022).

3.3.3 Mastné kyseliny v tucích

Vztah mezi výživou a imunitním systémem je předmětem zkoumání již přes 50 let. Všeobecně je znám fakt, že nadbytek či nedostatek některých živin může příznivě nebo negativně ovlivňovat fungování celého organismu. Mezi tyto živiny řadíme nenasycené MK, které jsou pro člověka esenciální a musí je přijímat z potravy. Mají řadu funkcí jako stavební komponenty, energetický substrát pro buňky a prekurzory mnoha látek (Langella 2012).

Maso je považováno za hlavní zdroj tuku v lidské stravě a významný zdroj nasyčených MK (Wood et al. 2003), převážně MK o délce uhlovodíkového řetězce C16 a C18. Nenasycené MK se v živočišných tucích vyskytují také, ale v menším množství. Rybí olej obsahuje oproti tomu velké množství nenasycených MK s dlouhým řetězcem. Typickými příklady pro tento typ MK je eikosapentaenová kyselina (EPA) a kyselina dokosahexaenová (DHA). Pro svůj vysoký stupeň nenasycenosti jsou pak náchylnější na oxidační procesy (Wang et al. 2012). Zájem o složení a obsah MK v mase pramení především z touhy najít způsoby, jak produkovat zdravější varianty masa, které by obsahovaly převážně polynenasycené mastné kyseliny a měly příznivou rovnováhu mezi omega-3 a omega-6 MK (Wood et al. 2003). Grofová (2010) ve svém článku taktéž zdůrazňuje potřebný poměr omega-3 a omega-6. Dodává, že správný poměr pomáhá organismu bojovat se systémovým zánětem a snížit jeho úroveň. Když se pomine otázka zdraví, tak i samotná skladba MK má významný vliv na technologickou kvalitu masa. Hovoříme především o možných variacích skladeb MK. Samotná skladba má důležitý vliv na co se týče pevnost či měkkost masa. Dále je složení MK zcela zásadní pro

trvanlivost a oxidační odolnost masa. Pokud v mase převažují polynenasycené MK, tak riziko oxidace z důvodu přítomnosti dvojných vazeb v molekule, je relevantní. Tento sklon k oxidačnímu procesu je pak zásadní pro rozvoj chuti během tepelné úpravy (Wood et al. 2003).

Po chemické stránce jsou mastné kyseliny uhlovodíkové řetězce různé délky (Panaser & Tigher 2012). Jak již bylo zmíněno- představují hlavní stavební složku lipidů (Hernandez & Kamal-Eldin 2013). Zpravidla ve svém řetězci mají 12 až 22 atomů uhlíku, kdy je tento řetězce zakončen karboxylovou skupinou. Struktura řetězce mastných kyselin podléhá různým variacím a substitucím, což vede ke vzniku rozličných druhů mastných kyselin (Sikorski & Kołakowska 2011). Jednotlivé vlastnosti konkrétních mastných kyselin jsou pak dány délkou řetězce a stupněm nasycenosti. V obecném měřítku platí, že čím delší má mastná kyselina uhlovodíkový řetězec, tím má vyšší bod tání a vykazuje více hydrofóbnější charakter. Dále také platí, že čím více má dvojných vazeb, tím má nižší bod tání a je tekutější (Panaser & Tigher 2012). Dle přítomnosti dvojných vazeb v molekule, se pak MK dělí na nasycené a nenasycené. Nenasycené MK mají ve své struktuře jednu či více dvojných vazeb (Wang et al. 2012). Většina MK byla v historii pojmenovávána triviálními názvy a to do roku 1892, kdy byla přijata mezinárodní pravidla molekulární nomenklatury. Ačkoliv dle Mezinárodní unie čisté a aplikované chemie (IUPAC) jsou jednotlivé typy MK pojmenovány systematicky, stále se běžně ve společnosti využívají jejich triviální názvy (Sikorski & Kołakowska 2011; Hernandez & Kamal-Eldin 2013). Standardně bývají MK také označeny počtem uhlíků, případně i počtem jejich dvojných vazeb (např. 18:0) (Hernandez & Kamal-Eldin. 2013). Bylo identifikováno více než 800 MK vyskytujících se v přírodě. Drtivá většina z nich má lineární řetězec a sudý počet uhlíků v molekule (Wang et al. 2012).

3.3.3.1 Nasycené mastné kyseliny

Tento typ je specifický tím, že na glycerolovou skupinu jsou navázané nasycené (saturované) MK. V jejich molekule nenalezneme žádnou nenasycenou vazbu (Grofová 2010). Chemicky jsou tak nejméně reaktivní (Moghadasian & Shahidi 2017). Zdrojem jsou především živočišné produkty- typicky se jedná o máslo a sádlo (Grofová 2010). Nejčastěji vyskytované nasycené MK v živočišných tkáních jsou s 12, 14, 16 a 18 uhlíky (Moghadasian & Shahidi 2017). Typickými zástupci jsou myristová (14:0), palmitová (16:0) a stearová kyselina (18:0) (Briggs et al. 2017). Nasycené MK lze nalézt i v rostlinných produktech- kokosový a palmový tuk. Mastné kyseliny obsahující 4 až 14 atomů uhlíku se vyskytují v mléčném tuku a v některých rostlinných olejích. MK s krátkým řetězcem se vyskytují v másle a ve výrobcích na bázi mléčného tuku. Například tuk z kravského mléka obsahuje kyselinu máselnou (C4:0) v množství přibližně 4 % (Moghadasian & Shahidi 2017). V rámci zastoupení jednotlivých MK v potravinových zdrojích běžně dochází k jejich velkému překrývání. Myristová kyselina je k nalezení v palmojádrovém oleji, kokosovém oleji a másle, zatímco palmitová kyselina je obsažena v palmovém oleji, v mléčném tuku, másle, kakaovém másle a v slunečnicovém oleji (Briggs et al. 2017). Oleje získávané z kokosu a palmy olejné obsahují významné zastoupení (až 50 %) laurové kyseliny (C12:0). Dále tyto oleje získávané především z tropických plodin obsahují významné množství myristové, kaprinové a kaprylové kyseliny. Ovšem nejrozšířenější MK z této skupiny je palmitová kyselina. Její výskyt je zaznamenán ve všech

rostlinných olejích. Méně častou je pak stearová kyselina. Ta je naopak významnou složkou kakaového másla (Moghadasian & Shahidi 2017). I přes poměrně bohaté potravinové zdroje jsou živočišové včetně člověka schopni syntetizovat si nasycené MK i *de novo* (Hernandez & Kamal-Eldin 2013).

Bod tání se zvyšuje s délkou řetězce, takže MK s delším řetězcem budou tuhé i při pokojové teplotě (Moghadasian & Shahidi 2017). Dle délky řetězce se nasycené MK dělí na MK s krátkým řetězcem (2-4 uhlíky), se středním řetězcem (8-12 uhlíků) a s dlouhým řetězcem (>13 uhlíků). Délka řetězce vyjma této skutečnosti udává i rozdíly v absorpci, transportu a samotnému cílovému určení. Vstřebávání nasycených MK se středním řetězcem z gastrointestinálního traktu je účinnější, než je tomu u MK s dlouhým řetězcem. Po vstřebání jsou hned transportovány portální žílou do jater, kde podléhají rychlé oxidaci. Naopak MK s dlouhým řetězcem jsou nejprve baleny do chylomiker a transportovány lymfatickým systémem což umožňuje jejich větší vychytávání tukovou tkání (Briggs et al. 2017). MK s dlouhým řetězcem jsou spojovány s nádorovými onemocněními a ischemickou chorobou srdeční, které v dnešní době ve vyspělých zemích představují problém (Wood et al. 2003). Bylo prokázáno, že laurová kyselina (C12:0) v porovnání s ostatními MK nejvíce zvyšuje krevní hodnotu LDL. Paradoxem je, že zároveň podporuje současné zvýšení HDL a proto dochází k snížení celkového cholesterolu. Myristová i palmitová kyselina mají srovnatelné účinky na HDL i LDL cholesterol. Obecně mají pouze malý vliv na celkový cholesterol. Oproti tomu stearová kyselina snižuje hladinu LDL cholesterolu v plasmě, ale nikterak nepodporuje ani neovlivňuje HDL cholesterol (Briggs et al. 2017).

3.3.3.2 Mononenasycené mastné kyseliny (MUFA)

Od předešlé skupiny se liší přítomností jedné dvojně vazby v molekule (Cao et al. 2022). Mají vyšší teploty tání, než mají polynenasycené mastné kyseliny (PUFA). Při pokojové teplotě jsou kapalné, stejně tak i PUFA. Ale MUFA se v chladnějším prostředí mohou vyskytovat v polotuhé či tuhé formě. Běžnými zástupci MUFA jsou palmitolejová (C₁₆H₃₀O₂) a olejová (C₁₈H₃₄O₂) kyselina. Jedná se o **cis izomery MK**, což znamená, že oba vodíky na dvojně vazbě, jsou na stejné straně molekuly. Olejová kyselina dokonce zastupuje cis MUFA v dietě až z 92% (Gillingham et al. 2011). Je rozšířená v mnoha potravinách, jak rostlinného, tak živočišného původu. Mnoho rostlinných olejů jí disponuje. Olivový olej je obzvláště cenný zdroj. Na celkovém profilu MK se olejová kyselina podílí až ze 70 %. Řepkový olej s nízkým obsahem erukové kyseliny obsahuje cca 60 % MK jako je olejová kyselina. Nejvýznamnějším zdrojem olejové kyseliny je máslo a sádlo. Palmitolejová kyselina se v malém množství nachází v mnoha rostlinných olejích a v živočišných tucích. V poměrně hojném množství ji lze nalézt v makadamovém oleji. Lidský organismus dokáže olejovou i palmitolejovou kyselinu syntetizovat *de novo*. Jsou totiž součástí fosfolipidů buněčné stěny (Calder 2015). **Trans izomery MK** mají vodíky na dvojně straně na opačných stranách molekuly. V trans formě se v dietě vyskytuje nejvíce elaidová kyselina (Gillingham et al. 2011). Trans MK jsou typem nenasycených mastných kyselin, které jsou široce využívány při výrobě margarínů a rychlého občerstvení. Konfigurace trans se v přírodě běžně nevyskytuje, vznikají průmyslově, procesem hydrogenace a pro životní prostředí představují problém. Tyto MK jsou

spojovány s aterosklerózou a ischemickou chorobou srdeční (Ohmori et al. 2017). Bylo prokázáno, že trans MK zvyšují plasmatické hladiny LDL za současného snižování HDL cholesterolu (Bláha 2005). Po požití jsou začleňovány do endoteliálních buněk, monocytů/makrofágů či do adipocytů. Elaidová kyselina je trans forma olejové kyseliny. Je to hlavní trans MK vyskytující se v částečně hydrogenovaném rostlinném oleji a margarínu. Po požití je integrována do plasmatické membrány buněk. Pokusy provedené na myších potvrdily, že tato MK je schopna vyvolat oxidační stres v důsledku indukovaného snížení plasmatické hladiny antioxidačního vitamínu E (Ohmori et al. 2017). V rámci diety je také otázka, zda trans MK pocházející z průmyslové výroby, nebo jsou přirozeného původu (živočišné produkty), neboť v obou případech mají negativní vliv stejně negativní vliv. Významný rozdíl mezi těmito zdroji spočívá v poloze dvojné vazby. Z celkového množství trans MK v živočišných tucích tvoří přibližně z 35-50 % ze všech trans forem vakcenová kyselina (trans C18:1(n-7)). Dvojná vazba u částečně hydrogenovaných tuků je nejpravděpodobněji situována mezi polohou (n12) a (n4). Dle provedených studií nebyly zaznamenány významné rozdíly. Faktem zůstává, že se ve studiích bral v potaz pouze relativní příjem, nikoliv skutečný (Bláha 2005). Clifton et al. (2004) prováděli pokus, kdy hodnotili výskyt infarktu myokardu. Porovnávali zdravou skupinu jedinců s jedinci postiženými akutním infarktem. Z hodnocení byli vyloučeni jedinci, kteří trpěli diabetem či hyperlipidémií, aby se vyloučila možnost případného zkreslení výsledků. Byl prokázán zvýšený výskyt trans MUFA v tkáních u pacientů s infarktem. Týkalo se to jak tuků živočišného původu, tak i průmyslově vyrobených tuků.

U PUFA se vždy předpokládá jejich pozitivní vliv na snížení celkové hladiny cholesterolu v krvi. U MUFA se dlouho domnívalo, že nikterak neovlivňuje hladinu cholesterolu. Tato domněnka byla nedávno vyvrácena provedenou studií, která zjistila, že dieta bohatá na MUFA by mohla snížit výskyt ischemických chorob srdečních vlivem zlepšení dyslipidemie. Studie se opírala o fakt, že prevalence ischemických chorob srdečních je ve středomořských oblastech nízká (Cao et al. 2022). Tamní zdroje jsou bohaté na olejovou kyselinu, které jsou tyto účinky připisovány (Calder 2015). Jsou specifické pro zvýšenou konzumaci oliv, olivového oleje a případně avokáda. Výsledky jednotlivých autorů jsou však rozporuplné (Cao et al. 2022).

3.3.3.3 Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA)

PUFA jsou nezbytným klíčovým prvkem celé řadě procesů odehrávajících se v organismu. Jejich přítomnost v membránách ovlivňuje fluiditu dané buňky. Tím dochází k ovlivnění ostatních buněčných funkcí. Jsou patrné změny v rámci buněčných receptorů, přenašečů, iontových kanálů i enzymů. PUFA regulují expresi genů a mají stěžejní vliv v procesu neurotransmise. Slouží jako prekurzory pro syntézu eikosanoidů, čímž ovlivňují imunitní a zánětlivé reakce organismu (Klusáčková & Skoumalová 2012). Je nutno brát v potaz, že vyjma těchto funkcí, mají významnou úlohu v modulaci imunitního systému, kdy nejvýznamnější MK jsou omega-3 MK (Langella 2012). V dnešní době jsou omega-3 jsou celosvětově nejvíce suplimentovanými MK. Přitom jejich nejvýznamnějším přirozeným zdrojem jsou rybí oleje. Různé produkty z rybího oleje, žraločí chrupavky

či ze žraločích jater jsou dostupné na trhu od počátku 20. století. (Hernandez & Kamal-Eldin 2013). Nejdůležitějším nutričním znakem rybích výrobků je jejich složení mastných kyselin. Obsahují nízkou koncentraci nasyceným MK, a naopak vysoké množství omega-3 MK (např. EPA, DHA) (Sobral et al. 2017). Především tučné ryby se mohou pyšnit vysokým zastoupením těchto cenných látek (Hernandez & Kamal-Eldin 2013). EPA ani DHA není možné nalézt v jiných potravinových zdrojích (Sobral et al. 2017). Esencialita PUFA byla poprvé popsána ve studiích prováděných na potkanech, kdy jejich nedostatek vedl k řadě negativních účinků. Nedostatek u lidí nastává zřídka. Ovšem nižší příjem může vést k dermatitidám, renální hypertenzi, poruchám mitochondriální aktivity, k diabetu II. typu, k zhoršenému vývoji mozku, artritidě, depresi a nižší odolnosti vůči infekcím (Djuricic & Calder 2021).

3.3.3.3.1 Omega-3

Jako omega-3 MK je označována skupina MK, kdy se dvojná vazba vyskytuje mezi 3 a 4 uhlíkem od methylového konce (Kaur et al. 2014). V posledním desetiletí vzrostl intenzivní zájem o možné zdravotní benefity omega-3 MK získávaných z rybích olejů. Jsou známé informace o jejich distribuci v tkáních, funkcích v buněčných membránách, úloze v gestaci a během porodu. Velmi často jsou tyto MK spojovány taktéž s prevencí proti různým civilizačním onemocněním. Především se mluví o nádorových a kardiovaskulárních onemocněních (Nollet et al. 2009). Tuto domněnku podporuje fakt, že Inuité konzumují poměrně velké množství tuku z ryb, ale prakticky se u nich žádné kardiovaskulární potíže nevyskytují. Z toho plyne předpoklad, že zvýšená konzumace ryb bohatých na omega-3 MK snižuje hladinu triglyceridů, srdeční frekvenci a krevní tlak. Dále se hovoří i o sníženém výskytu aterosklerózy. Velké množství studií epidemiologických i klinických (např. Djuricic & Kaur et al. 2014; Nelson et al. 2017; Calder 2021) soustředilo svou pozornost především na EPA a DHA (Kaur et al. 2014). Obě tyto MK mohou být postupnou cestou syntetizovány **α -linolenovou kyselinou** ($18:3\omega-3$). Tato MK je specifická tím, že jako jediná omega-3 MK pochází z potravin vyskytujících se na souši (Kim et al. 2014). Třeba **α -linolenovou kyselinu** lze najít v tkáních zelených rostlin, v semenech a ořechách. Její zastoupení v rostlinných olejích je malé, avšak výjimkou je lněný olej a lněná semena, kde představuje až 50 % obsahu všech MK. (Calder 2015). Problémem je, že pouze menšinová část populace běžně konzumuje lněný olej (Kim et al. 2014). Oproti tomu běžnější řepkový olej obsahuje pouze 10 % α -linolenové kyseliny (Calder 2015). K dispozici je málo informací ohledně jejího vstřebávání v gastrointestinálním traktu. Nicméně se předpokládá, že její vstřebávání je účinné. Míru absorpce lze určit rozdílem mezi požitou dávkou a vyloučením ve stolici. Během výzkumu, kterou prováděl Burdge (2006), byla prokázána 96% absorbovatelnost α -linolenové kyseliny, kdy byla měřena kumulativní koncentrace této MK ve stolici po dobu 5 dní. Informace o distribuci jsou také omezené. Lin & Salem (2007) prováděli pozorování, kdy se snažili popsat distribuci této MK u potkanů. Po perorálním podání prováděli pozorování u 25 tkání až po dobu 600 hodin. Během prvních 8 hodin byla naměřena nejvyšší koncentrace v žaludku, srdci, plasmě, játrech, plicích, ledvinách a ve slezině. Nejvyšší koncentrace byla nalezena v játrech. V játrech byla zároveň nejvyšší koncentrace jejích metabolitů – EPA a DHA. V průběhu času byla DHA následně deponována v mozku, míše, srdci a oku. Okolo 16–18 % α -linolenové kyseliny se nakonec uložilo primárně

do tukové tkáně, menší část pak do svalů a kůže. Přibližně 6 % bylo elongováno, desaturováno a uloženo především do svalů. Nakonec bylo vyloučeno i zbývajících 78 %. Udává se, že denní příjem 2-3 gramů α -linolenové kyseliny funguje jako prevence vůči ischemické chorobě srdeční. Zajímavé je, že je odolnější vůči oxidačním procesům podstatně více, než je tomu u EPA a DHA, které mají větší počet uhlíků (Wilhelm 2013).

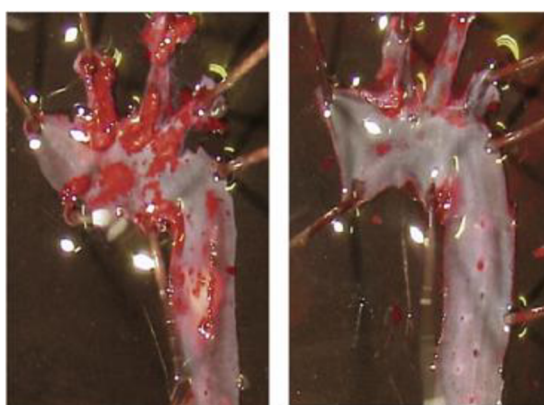
Je známá metabolická cesta, jakou může být α -linolenová kyselina přeměněna na **eikosapentaenovou kyselinu** (EPA, 20:5 ω -3) a poté až na **dokosahexaenovou kyselinu** (DHA, 22:6 ω -3). Tuto metabolickou cestu zajišťují stejné enzymy jako u metabolismu linolové kyseliny, viz níže. To znamená, že mezi metabolismy omega-3 a omega-6 existuje přímá konkurence (Simopoulos 2010; Calder 2015). Nicméně účinnost konverze je dle Rajarami (2014) velmi nízká. V publikaci hovoří o tom, že u dospělého člověka se pouhých 5 % α -linolenové kyseliny přemění na EPA a pouze <1 % na DHA. Grofová (2010) doplňuje, že u žen je míra konverze vyšší. Jako důvod udává příznivé působení estrogenů. To je potencionální důvod, proč tato konverze bývá u žen po menopauze snižena. Dále je míra konverze ovlivněna i dostupností jednotlivých substrátů. Pokud jsou omega-6 v roli substrátu v převaze, tak je míra konverze na omega-3 podstatně snižena (Fleming & Kris-Etherton 2014). V obecném měřítku se udává, že tato metabolická konverze je chudá z důvodu β -oxidace MK. Až 85 % α -linolenové kyseliny je metabolizována β -oxidací a až 67 % této oxidace probíhá v mozku (Kim et al. 2014). Z důvodu nízké konverze je doporučováno přijímat EPA a DHA přímo z ryb a rybího oleje. Panuje obecný předpoklad, že EPA a DHA jsou v rybím masu zastoupeny v poměru 2:3 (Vrablík 2008). V populaci bohužel konzumace ryb u řady lidí vyvolává obavy o jejich zdraví. Mluví se především o možných kontaminantech obsažených v rybách, jako jsou rtuť, dioxiny, polychlorované dioxiny a perzistentní organické polutanty. Tímto tématem se zabýval Ali et al. (2020). U různých druhů ryb, které byly vyloveny z řeky Karnaphuli (Bangladěš), stanovovali toxické kovy (As, Cr, Cd a Pb). Zjistili, že koncentrace těchto kovů je nad míru tolerovatelné hranice. Především koncentrace As a Pb byly nad maximální přijatelnou hranicí a tím představovaly zvýšené riziko nádorového bujení, především při každodenní konzumaci. Množství toxických kovů obsažených v rybách, záviselo na ročním období, přičemž v zimním období zpravidla docházelo k nárůstu koncentrací. Nicméně EPA i DHA, které přijímáme konzumací ryb, mají v těle řadu důležitých rolí. Podílí se na regulaci aktivního transportu aminokyselin skrz buněčnou membránu a regulují funkci sodíkových kanálů (Djuricic & Calder 2021). Především pomáhají v boji proti srdečně-cévním onemocněním. Vliv na jednotlivé rizikové faktory podílející se na rozvoji těchto onemocnění je závislý na přijaté dávce. Protektivní vliv se zpravidla začne objevovat až při podávání 2-3 g EPA + DHA denně. Ve studii DART (1989) byli po dobu 2 let sledováno 2033 mužů, kteří prodělali akutní infarkt myokardu. Došlo k randomizovanému rozdělení, kdy jedna skupina byla edukována a bylo jí doporučeno zvýšení příjmu ryb tak, aby se denní příjem EPA + DHA pohyboval okolo 900 mg. Skupina, která byla edukována a dodržovala dietní opatření, vykazovala o 32% snížení výskytu reinfarktu a mortalita ve skupině klesla o 29 %. V jiné studii (von Schacky 2003) bylo prokázáno, že existuje rozdíl v účincích mezi EPA a DHA na rizikové činitele během procesu aterogeneze. Nicméně nepůsobí protichůdně a navzájem zvyšují výsledný účinek. V boji proti těmto kardiovaskulárním onemocněním působí na mnoha úrovních. To vyplývá ze změn složení

i vlastností buněčné membrány po začlenění EPA a DHA do buňky. Dříve bylo míněno, že protektivní účinky, které nám EPA a DHA poskytují, vychází ze snížení rizika fibrilace komor a infarktu myokardu. Omega-3 MK nacházející se v rybích zdrojích mají mnoho dalších antiaterogenních a antiischemických protektivních účinků. Jak EPA, tak i DHA ovlivňují lipidové spektrum plasmy. Vzájemně podstatně snižují hladinu triglyceridů, a to zhruba o 20-25 %. Nicméně DHA současně podporuje zvýšení HDL cholesterolu. Zároveň příznivým způsobem ovlivňuje kvalitu LDL cholesterolu. Částice LDL cholesterolu jsou větší a méně aterogenní, avšak jejich koncentrace jako taková zůstává beze změny. Významně se nikterak neovlivní ani hladina celkového cholesterolu. Co se týče poklesu krevního tlaku, tak větší účinek byl pozorován u DHA, než u EPA (Vrablík 2009).

Dokosahexaenová kyselina (DHA) je považována za nejhojněji vyskytovanou MK v centrálním nervové soustavě (CNS) a v sítnici. Je zcela nezbytná pro neurotransmisi, neuroplasticitu a přenos signálu. Dále zvyšuje koncentraci serotoninu a acetylcholinu v tkáních nervové soustavy. Podstatná je také pro správné fungování zrakového a nervového systému. Je nutné také zmínit její důležitou roli při prenatálním i po prenatálním vývoji mozku a zraku. V dnešní době existují důkazy, které ukazují na zlepšení zraku či kognitivních funkcí, pakliže v těhotenství probíhá suplementace omega-3. Historicky byla vždy dávana do popředí právě DHA díky její roli při raném vývoji kognitivních funkcí a vývoji zraku. Nicméně vlivem vysokého výskytu omega-3 v mozku a v zrakovém systému, je zde předpoklad důležité role pro mozkovou aktivitu po celý život. U řady dětí trpících poruchou pozornosti spojené s hyperaktivitou, anebo u poruch autistického spektra, byl pozorován nižší výskyt hladin EPA a DHA v jejich krevním řečišti, než tomu tak bylo u zdravých dětí z kontrolní skupiny. Normalizace plasmatických hladin MK by tak mohla přinést klinický přínos ke zlepšení těchto stavů. Tato myšlenka se stala alfou a omegou řady studií zaměřujících se na tuto problematiku. Výsledky bohužel nebyly konzistentní. Někdy bylo pozorováno zlepšení, jindy nebyl pozitivní přínos prokázán. Tato nekorelace výsledku pravděpodobně pochází z toho, že prováděné studie se lišily použitou dávkou omega-3, délkou zkoumání, rovnováhou mezi EPA a DHA, a individuálními rozdílnostmi u dětí (Djuricic & Calder 2021). Vědecké výzkumy se stále zabývají otázkou výživy během těhotenství. Jak již bylo zmíněno, DHA hraje ve vývoji dítěte podstatnou roli. Dítě je v prenatálním vývoji zcela odkázáno na výživu své matky. Omega-3 MK uloženy v těle a v mozku matky jsou pak zdrojem i pro plod. To může způsobit nedostatek omega-3 u matky. Po porodu mohou být zásoby vyčerpány. Žena by měla dodržovat správné dietní návyky ještě před těhotenstvím. Měla by mít dostatek přísunu omega-3 MK, především EPA a DHA k vytvoření dostatečných zásob. Konzumace ryb před těhotenstvím či jakýkoliv jiný dostatečný příjem těchto MK zajistí dostatek od nejranější fáze těhotenství až do porodu (Moghadasian & Shahidi 2017).

Eikosapentaenová kyselinu (EPA) má oproti DHA jiné zaměření svého pozitivního účinku. Snižuje plasmatické hladiny aterogenních činitelů. Za tyto činitele jsou považovány triglyceridy, LDL cholesterol a oxidovaný LDL cholesterol. EPA jako MK vykazuje řadu potenciálních účinků, které pozitivně ovlivňují faktory podílející se na vzniku aterosklerotického plátu. Svými účinky působí protizánětlivě, antioxidačně a podporují

normální funkci endotelu. Současně s tím snižují adhezi monocytů, snižují akumulaci makrofágů a zároveň snižují akumulaci pěnových buněk. EPA je rychle začleňována do aterosklerotických plátů ve větší míře než DHA. Tento jev byl potvrzen na zvířecích modelech. Konkrétně byl pokus prováděn na myších, kdy jedné skupině byla po dobu 13 týdnů podávána EPA a druhá skupina byla ponechána jako kontrolní. Myši byly následně krmeny hypercholesterolemickým krmivem po dobu 9 týdnů. Obě skupiny byly následně léčeny různými látkami či jejich kombinacemi. Nicméně skupina, která byla před zahájením experimentu suplementována EPA vykazovala výrazně lepší výsledky. Aterosklerotický plát byl stabilnější. Zároveň byl mnohem menší výskyt ukládání lipidů a makrofágů. Byl také pozorován zvýšený počet buněk hladkého svalstva. U myších modelů bylo tedy jednoznačně prokázáno, že nízké hladiny EPA v séru jsou spojovány se zvýšeným výskytem aterosklerotických plátů bohatých na lipidy (Nelson et al. 2017).



Obrázek 3: Nalevo je vyzobrazena kontrolní skupina. Je zde patrný zvýšený výskyt aterosklerotických plátů než u skupiny suplementované EPA (napravo). Zdroj: Nelson et al. (2017).

3.3.3.3.2 Omega-6

Nejrozšířenějším zástupcem této skupiny je **linolová kyselina** (18:2 ω -6). Bohatým zdrojem této MK jsou rostlinné produkty. Je obsažena v řadě semen, ořechů a olejů rostlinného původu. Olej ze světlice barvířské obsahuje linolovou kyselinu až ze 75 %. Nezanedbatelné množství obsahuje také kukuřičný olej až 55 %. Co se týče margarínů, ty odrážejí složení MK mateřské rostliny, ze kterých jsou vyráběny. Je zapotřebí brát v potaz možnost ztráty části PUFA během výrobního procesu margarínů. V průběhu 20. století došlo ke značnému zvýšení příjmu rostlinných olejů na úkor másla a margarínů. Výsledkem bylo zvýšení příjmu linolové kyseliny v populaci (Calder 2015). V dnešní populaci je hojně konzumovaná, její příjem se za posledních 100 let zvýšil až dvojnásobně. Dieta, která je složena z příliš nízkého příjmu omega-3 a vysokého příjmu linolové kyseliny může vést k chronickému zánětu, hypertenzi a zvýšení tendence srážení krve vedoucí k infarktu či mrtvici (Kaur et al. 2014). Avšak při správné dietě může linolová kyselina přinášet zdravotní benefity a nebo může sloužit jako substrát pro syntézu dalších omega-6 MK. Linolová kyselina má velmi specifickou a jedinečnou roli ve strukturální integritě kůže a kožní bariéry. Je totiž základní složkou cereamidů. Epidermis pokožky se skládá z buněk a z extracelulárního matrixu, který je bohatý na lipidy, přičemž cereamidy představují až 50 %. Dále je v matrixu zastoupen

z 25 % cholesterol a z 15 % volné mastné kyseliny. Extracelulární matrix tvoří permeabilitu bariéry. Tekutost této bariéry je ovlivněna obsahem linolové kyseliny. Do epidermis mohou být MK dodávány přes lipoproteinové receptory a následně zde plnit svou ochrannou funkci. To je jeden z důvodů, proč PUFA mohou působit v boji proti zánětlivým kožním chorobám, např. atopické dermatidě. S největší pravděpodobností se tak děje v důsledku změn prozánětlivých a protizánětlivých eikosanoidů. Zdá se, že správná kombinace omega-3 a omega-6 má potenciál ke zmírnění zánětu probíhajícího v kůži. Zánět je běžný proces hojení a obranný mechanismus organismu. Každopádně přehnaný a nevyčleněný zánět vede nevyhnutelně k poškození tkáně a přidruženému onemocnění (Djuricic & Calder 2021).

Kyselina linolová se může metabolizovat na jiné omega-6 MK. Díky desaturaci vzniká gama-linolenová kyselina. Poté díky elongaci vzniká dihomogamalinolenová kyselina (Innes & Calder 2018). Tato kyselina se mimo jiné společně s linolovou a arachidonovou kyselinou vyskytuje ve fosfolipidech buněčné membrány. Zároveň slouží jako prekurzor pro syntézu druhé nejčastěji zastoupené MK z této řady. Další desaturací se následně metabolizuje na arachidonovou kyselinu (Calder 2015). Tato postupná syntéza z linolové kyseliny je důležitá metabolická dráha nutná k udržení hladiny arachidonové kyseliny (Djuricic & Calder 2021). Z arachidonové kyseliny se mohou tvořit látky, které v zánětlivém procesu představují důležitý aspekt. Konkrétně se jedná o prostaglandiny a leukotrieny, což jsou mediátoři zánětu. To je další důkaz o tom, že MK mohou hrát roli při podpoře či potlačení zánětlivé reakce. Arachidonová kyselina je pravděpodobně nejdůležitějším zástupcem PUFA, které se účastní zánětlivého procesu v membránách buněk. Ačkoliv existují určitá data, která udávají průměrné zastoupení této MK v buňkách, vždy bude existovat variabilita mezi jednotlivými jedinci (Innes & Calder 2018). Lidé ji přijímají z potravin živočišného původu. Jedná se především o maso, vnitřnosti a vejce. Je odhadováno, že průměrný denní příjem se pohybuje v rozmezí od 100 do 350 mg. Nedávný výzkum prováděný na dospělých jedincích došel k závěru, že zvýšení příjmu až na 1500 mg denně, neměl žádný negativní vliv na agregaci krevních destiček, na srážení krve a ani nikterak negativně neovlivnil imunitní funkce. Bylo však zaznamenáno zlepšení v oblasti kognitivních funkcí, což může být pozitivní zejména pro starší populaci. Suplementace 600 mg denně se projevila pozitivně u sportovců, kdy během tréninkových aktivit došlo ke zlepšení výkonů a byla zaznamenána i zvýšená tělesná síla (Djuricic & Calder 2021). Dále má strukturální funkci v mozku. Bylo prokázáno, že v kombinaci s DHA dochází u dětí k podpoření rozvoje kognitivních funkcí. Podstatným faktem u volné arachidonové kyseliny je její podíl na buněčné signalizaci, a to i v rámci zánětlivého procesu, především na jeho počátku. V buněčné membráně slouží jako substrát pro syntézu eikosanoidů, mezi které se řadí prostaglandiny, leukotrieny a tromboxany. Metabolismus arachidonové kyseliny na tyto látky probíhá prostřednictvím cyklooxygenázy [EC 1.14.99.1] a lipoxygenázy [EC 1.13.11.12]. Tyto výsledné metabolity hrají roli při zánětlivém procesu a bolesti. Dále regulují imunitní odpověď, agregaci a srážení krevních destiček, kontrakci hladkého svalstva. V neposlední řadě regulují proliferaci a progresi rakoviny. Eikosanoidní mediátory tvořené rozdílnými buněčnými způsoby, velmi často působí samy na sebe protichůdně. Díky této funkci mohou zajišťovat kontrolu nad biologickou odpovědí (Calder 2015).

γ -linolenová kyselina je v dietě zastoupena na podstatně nižší úrovni, než je tomu oproti předchozím MK. Její hladina v typických dietách je velmi nízká. Vyskytuje se v některých rostlinných olejích, např. v pupalkovém oleji či v brutnákovém oleji. Poměrně efektivně se převádí na **dihomo- γ linolenovou kyselinu** v mnoha tkáních a buňkách, včetně některých zánětlivých buněk. Samotná γ -linolenová kyselina má nízké hladiny v cirkulujících lipidech, buňkách a tkáních vzhledem k její rychlé konverzi na dihomo- γ linolenovou kyselinu. Naopak v jednotlivých lipidech je tato MK zastoupena mnohem více. Pokud navíc dojde ke suplementaci γ -linolenové kyseliny, tato hladina se ještě více zvýší. γ -linolenová kyselina je taktéž substrátem pro již zmiňované cyklooxygenázy [EC 1.14.99.1] a lipoxygenázy [EC 1.13.11.12]. Vzniklé metabolity mají především protizánětlivý účinek a zabraňují agregaci krevních destiček. To je důvod, proč je důležitý poměr arachidonové kyseliny současně s γ -linolenovou kyselinou. Vzájemný poměr těchto MK totiž ovlivňuje směr, jakým se ubírá zánětlivá reakce (Djuricic & Calder 2021).

3.3.4 Výživová doporučení

- Tuky a oleje jsou důležitým zdrojem esenciálních MK. EFSA ve své publikaci zaměřené na referenční příjmy udává pro příjem tuků dolní hranici pro dospělé 20 % z celkového příjmu energie. Horní hranici pak stanovila na 35 % z celkového příjmu energie. V tomto rozmezí se u zdravé populace neobjeví žádné negativní účinky na zdraví (EFSA 2017). Ovšem nikdy by příjem neměl klesnout pod 20 % přijaté energie, a to proto, aby byl zajištěn minimální příjem esenciálních mastných kyselin, sterolů a lipofilních vitamínů (Pánek et al. 2002).
- Satureované MK jsou syntetizovány v těle a jejich příjem ve stravě tak není nutný. Proto není nikterak nastavený příjem, průměrný požadavek populace či obecně adekvátní příjem. Studie dietních intervencí dokazují, že při snížené spotřebě nasycených MK za současného zvýšení příjmu omega-6 MK, bez změny celkového příjmu tuku, dochází ke snížení kardiovaskulárních příhod. Byl ustanoven závěr, že příjem této skupiny tuků ze stravy by měl být co nejnižší (EFSA 2017). Nasycené MK jsou významně obsaženy v mléce, másle, smetaně, mase a salámech. Vzhledem k tomu je mnohem vhodnější příjem rostlinných olejů či emulgovaných tuků, než příjem tuhých tuků (Paulová et al. 2021).
- Linolová kyselina je nezbytně nutná k udržení metabolické integrity. Avšak nejsou k dispozici žádná data udávající její optimální příjem. Mezi příjmem kyseliny linolové a koncentracemi LDL cholesterolu v krvi existuje příznivý vztah, který je závislý na dávce. Dále linolová kyselina podporuje snižování triacylglycerolů v krvi nalačno. Jsou již získány důkazy o tom, že omega-6 MK snižují incidenci kardiovaskulárních onemocnění v populaci. EFSA navrhuje stanovit adekvátní příjem linolové kyseliny na 4 % z celkové energie na základě odhadovaného průměrného příjmu různých skupin populace z řad evropských zemí, kde zjevné nedostatky příjmu této MK nejsou zjevné. V současnosti navíc neexistují adekvátní důkazy o tom, že by jakýkoliv příjem omega-6 MK jakkoliv měl škodlivé účinky na lidské zdraví (EFSA 2017).

- α -linolenová kyselina je považována za esenciální MK. Přesto opět nemá definovaný referenční příjem. EFSA navrhla adekvátní příjem α -linolenové kyseliny na 0,5 % E na základě nejnižšího průměrného příjmu obyvatel z řad evropských zemích, kde nejsou zjevné příznaky nedostatku příjmu této kyseliny (EFSA 2017). Lidské tělo dokáže syntetizovat EPA a DHA z alfa-linolenové kyseliny. Studie prokázaly příznivé účinky těchto MK na lidské zdraví. Především v rámci prevence kardiovaskulárních onemocnění. Snižují totiž hladinu plasmatických koncentrací triacylglycerolů, a dokonce i krevní tlak. Tyto účinky byly pozorovány při příjmu 1 g nad úrovněmi, které jsou epidemiologicky spojovány s nižším rizikem kardiovaskulárních obtíží. Epidemiologické studie spolehlivě prokázaly, že příjem tučných ryb či suplementace omega-3 (250 - 500 mg EPA+DHA), snižují rizika úmrtnosti na ischemickou chorobu srdeční a náhlého srdečního selhání. Příjem EPA v kombinaci s DHA se prokazuje jako dostatečná prevence pro zdravé obyvatelstvo (EFSA 2017).
- Optimální poměr omega-6 a omega-3 MK by měl být 4:1. Nicméně v rozvinutých zemích je tento poměr udáván na 15:1. Takto vysoký poměr omega-6 ku omega-3 může zapříčinit zvýšenou incidenci kardiovaskulárních onemocnění, karcinomů, ale i duševních onemocnění (Moghadasian & Shahidi 2017).
- Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) doporučuje 2 porce tučnějších ryb týdně, každá porce po 150 g. Tento týdenní příjem by měl zajistit plný přísun základních živin, jako jsou omega-3 MK, vitamín D, jód a selen (Sobral et al. 2017).
- Drtivá většina olejů je vhodná pouze za studena. Pokud dojde k zahřátí olejů, může docházet k peroxidaci a vzniku škodlivých produktů na lidské zdraví. Volba vhodného tuku při smažení či fritování je zásadní. Je důležité vybírat tuky s vysokou oxidační stabilitou. Za zcela nevhodné jsou považovány tuky s vyšším obsahem polynenasycených MK (např. sójový olej) (Paulová et al. 2021).
- V obecném měřítku platí, že tuky by se měly skladovat v chladu (do 10 °C) a měly by být chráněny před slunečním zářením. Mrazírenský způsob skladování není vhodný, protože tuky po rozmrazení snadněji podléhají oxidačnímu žluknutí (Pánek et al. 2002).

3.4 Skladování ryb a jejich udržitelnost

Na udržení potřebné kvality ryb se podílí řada faktorů. Těmito faktory rozumíme metodu odchytu, následné zpracování, sezónní podmínky, ale i velikost a druh ryb. Zásadním a nejdůležitějším faktorem je teplota, při které dochází k manipulaci, distribuci a konečnému zpracování ryb a jejich produktů (Abbas et al. 2008). Konečná kvalita je pak odrazem mikrobiologických, fyzikálních a chemických vlastností před a během skladování. Nejčastějším důvodem kažení potravin je přítomnost autolytických enzymů a působení bakterií. Voda je

základní složkou všech potravin. Každá potravina obsahuje určitý podíl vody, který může být značně variabilní. Z velké části dostupná volná voda určuje trvanlivost potravin. Potraviny s velkým obsahem vody, jako jsou maso, mořské plody, ryby i třeba mléko, jsou mnohem náchylnější na kažení než jiné potraviny (Granata et al. 2012). Ryby jako potraviny jsou velice specifické pro svoji rychlou zkázu (Abbas et al. 2009). Dlouhodobé skladování v podobě zmrazení potravin je nejvíce používanou metodou pro udržení kvality dané potraviny. Přestože je při velmi nízkých teplotách, pod 0 °C, zastaven růst mikroorganismů i enzymatická činnost, stále dochází k oxidaci lipidů a bílkovin. Tato nevyžádaná oxidace těchto zásadních živin způsobuje fyzikálně – chemické změny rybiho masa. K zabránění negativním změnám tohoto charakteru se využívá např. syntetický antioxidant butylhydroxytoulén (BHT). Aktivní využívání syntetických antioxidantů je v dnešní době velké téma a podléhá toxikologickému zkoumání (Zhang et al. 2020). Při běžných teplotách dochází k rychlejšímu kažení rybiho masa, než je tomu u teplotokrevných živočichů. Za určitých podmínek, jako je správná teplota v rozmezí 1-4 °C, údržnost rybiho masa přetrvává až 4 dny. Sampel (2015) ve své publikaci uvádí 4 fáze kažení:

Fáze I – dochází k autolytickým procesům vlivem enzymatické činnosti. Ulovená ryba je svěží a má jemnou chuť. Je zde pouze malá změna typické vůně a chuti. U některých druhů ryb tato fáze trvá 1 – 2 dny po ulovení.

Fáze II – stále dochází k autolytickým reakcím zajišťovaných enzymy. Typická vůně i chuť jsou značně zhoršeny. Textura rybiho masa je stále neměnná. Tato fáze by se také dala nazvat jako „neutrální“, protože stále není patrná typická pachut'

Fáze III – začínají změny na bakteriální úrovni. Jsou patrné první známky kažení. Začíná se vyskytovat nepříjemný pach. Textura se mění, buď měkne, či vysychá.

Fáze IV – ryba je již hnilá, nekonzumovatelná.

I v dnešní době existují místa, jež jsou odřízlá od elektrického proudu. Příkladem jsou některé vesnice v Jemenské republice. Zde žijící lidé nemají možnost připojení k elektrické síti. Svě potraviny včetně ryb jsou nuceni skladovat na vzduchu při vysokých teplotách. Výsledkem jsou potraviny se znehodnocenou výživovou i nutriční hodnotou s vysokým rizikem mikrobiologických kontaminací (El-Deen & El-Shamery 2010). Degradace rybiho masa je zahájena bezprostředně po smrti ryb. Během post mortem stavu dochází ke zhnědnutí svalů díky probíhající Maillardově reakci. Případně se na ztmavnutí masa podílí i enzymatická aktivita. Dochází k nárůstu rozvoje bakterií. To se děje i v důsledku uvolňování glykoproteinu mucinu, což je vynikající substrát pro bakteriální činnost. Sampels (2015) ve své publikaci uvádí, že zchlazení nezastaví mikrobiální aktivitu ani enzymatickou činnost. Procesy jsou sice zpomaleny, ale ne zcela zastaveny. Psychrofilním mikroorganismů se totiž daří i při teplotě okolo 0 °C, což může mít za následek rychlé znehodnocení. Ovšem Duarte et al. (2020) ve své publikaci uvádí jiné tvrzení. Uvádí, že pokud je ihned po smrti ryba uložena do ledu na 5-6 dní, mikroorganismy nevykazují aktivní činnost a jsou v latentní fázi. Po adaptaci mikroorganismů na nové prostředí jejich růst vykazuje exponenciální tendenci. Úhyn ryb s sebou přináší i přerušení přenosu kyslíku do tkání. Vlivem nedostatku kyslíku dochází k degradaci a anaerobnímu odbourávání glykogenu procesem glykolýzy v rybi svalovině. Tuto

fázi označujeme jako rigor mortis. Délka procesu glykolýzy je značně ovlivněna množstvím přítomného glykogenu v tkáních. Proces glykolýzy vyžaduje přítomnost ATP. Vzniklá mléčná kyselina pak snižuje hodnotu pH. V této fázi se spolu spojují kontraktilní bílkoviny a nastává posmrtná ztuhlost v důsledku vzniklé kontrakce svaloviny (Duarte et al. 2020). Výzkumy prováděné Abbasem et al. v roce 2009 na rybím mase prokázaly, že ryby skladované při teplotě v rozmezí 0 až 10 °C po dobu 28 dní, vykazovaly zvýšení hodnoty pH. Platí zde, že čím vyšší je teplota skladování, tím rychleji roste hodnota pH. Hodnoty pH lze tedy využívat jako případný marker pro kvalitu a trvanlivost ryb (Abbas et al. 2008).

3.4.1 Chlazení

První zmínky o chlazení ryb pochází z Číny, z doby téměř 1000 let před našim letopočtem. Číňané své potraviny skladovali během letního období v chladných sklepech. Řekové i Římané pro chlazení využívali sníh skladovaný v chladných sklepeních. Až v roce 1930 se podařilo Američanovi Clerancu Birdseyovi a jeho společnosti zavést mrazicí zařízení. Cesta přijetí mražených potravin v populaci byla dlouhá. V dnešní době se jedná o zcela běžnou věc. Jenom v roce 2010 se prodalo okolo 30 % mražených ryb (Boziaris 2014).

Během chlazení se teplota ryb snižuje blízko bodu mrazu, ale nikdy ne pod. Bod mrazu se u jednotlivých druhů liší. Velmi záleží na koncentraci buněčné tekutiny. Obecně se udává rozmezí bodu mrazu od -6 °C do -2,2 °C. Metod chlazení je mnoho. Mezi nejznámější patří: chlazení ryb za pomoci ledu, chlazení za pomoci studeného vzduchu, ponoření do ledové vody a chlazení suchým ledem (oxid uhličitý) (Alam 2007). K minimalizaci nežádoucích projevů a prodloužení trvanlivosti je nutno ryby co nejdříve zchladit a tuto teplotu udržovat po celou dobu zpracování a přepravy (Sampels 2015). K zabránění rychlého zkažení je nutno ryby uchovávat na krátkou dobu při teplotě 4 °C a následně je rychle zkonzumovat. Při pozdějším užití je nutno je zamrazit na teplotu pod -18 °C. Mezi známky kažení se řadí mnoho jevů, ale typickým výsledkem je změna vůně a chuti (Abbas et al. 2009).

Čerstvé ryby jsou zpravidla uchovávány a přepravovány na drceném ledu. To umožňuje udržení teploty lehce nad 0 °C (Duarte et al. 2020). K přenosu tepla dochází přímým kontaktem s ledem, vedením tepla přes ostatní ryby a prouděním vody z tajícího ledu. Voda tekoucí po ledu je znova ochlazována (Gökoğlu & Yerlikaya 2015). Pokud je led vyráběn z pitné vody, je netoxický a bezpečný. Tato metoda je plošně aplikovaná. Ryby lze tímto způsobem skladovat prakticky kdekoliv. Vyjma univerzálnosti této metody, další benefit spočívá v nízkých provozních nákladech. Led je oproti ostatním metodám levná cesta chlazení. I tající led není na škodu. Díky tomu je zachována hydratace a lesklý vzhled ryb. Bohužel často dochází k tomu, že je tato metoda v praxi nesprávně aplikována, často z důvodu neznalostí (Alam 2007). Duarte et al. (2020) provedli pokus, kdy sardinky ulovené v Maroku podrobovali analýzám po dobu 18 dní, kdy byly sardinky uchovávány na ledu. Jejich pokusy se zaměřily na stanovení histaminu, pH a počtu bakterií. Již po 9 dnech nastaly kvalitativní změny. Hodnota pH stoupla z původních 5,83 na hodnotu pH 6,36 s pozdějšími dalšími nárůsty. S nárůstem pH nejspíše koreloval i nárůst hodnoty histaminu na koncentraci 20 mg/100 g po 18 dnech

skladování, kdy původní obsah činil 1,12 mg/100 g. Výsledky, které získali Duarte et al. (2020), tak souhlasí se závěry, které již dříve získal Abbas et al. (2009).

Alternativou k ledu je chlazení studeným vzduchem v chladničkách. Jedná se o proces odvádění tepla z potravy v uzavřeném prostoru. Studený proudící vzduch velmi rychle ochladí povrch ryb. Správná cirkulace vzduchu je velmi důležitá. Pokud tomu tak není, dochází k nerovnoměrnému ochlazení ryb. Teplo musí být nutně odváděno pryč. Velká nevýhoda je brzká ztráta vlhkosti na povrchu ryb. Výsledkem je ztráta hmotnosti a zhoršení kvality (Gökoğlu & Yerlikaya 2015).

Čím dál častěji se také můžeme setkat s metodou, kdy se ledová tříšť kombinuje s vodou. Vzniklá „ledová kaše“ dokáže dostat teplotu ryby pod 0 °C díky vyšší tepelné výměnné kapacitě. Díky tomu, že je tělo ryby zcela ponořené dochází k dodatečné ochraně ryby před dehydratací a oxidací (Sampels 2015). Losada et al. (2006) touto metodou skladovali sardinky. Výsledkem byly nižší obsahy oxidačních parametrů (komplexy kyseliny thiobarbiturové) a došlo ke snížení hodnoty peroxidového čísla. Zajímavostí také bylo snížení obsahu trimethylaminového dusíku, který je udáván jako marker mikrobiální aktivity.

3.4.2 Mražení

Ve svalovině rybiho masa je vysoké procento obsahu vody. Není neobvyklý až 80% podíl vody. Při teplotě -1 °C voda začíná měnit své skupenství z kapalné na pevnou (Boziaris 2014). Drtivá většina vody (okolo 90 %) je zcela zmrazena v -25 °C. Nicméně velká část se promění na led při teplotách -1 až -5 °C. Tato fáze se nazývá jako kritický bod a je zcela zásadní pro zachování konečné kvality produktu (Gökoğlu & Yerlikaya 2015). Rybí maso je v obecně rovinně citlivé na teploty pod bodem mrazu (Kavka 2017). Mražení se může negativně podepsat na chemických a strukturních vlastnosti svalů. Může se např. zvýšit obsah volných MK (Sampels 2015). Dále může skladování v podobě zamrazování způsobit denaturaci rybích bílkovin, především těch, které jsou zodpovědné za svalovou kontrakci. Stupeň denaturace je nižší ve fázi před rigorem mortis, než po ní (Gökoğlu & Yerlikaya 2015).

Ačkoliv platí, že mražení značně minimalizuje mikrobiální i enzymatickou aktivitu, kritickou částí je tvorba ledových krystalů. Čím větší budou vzniklé krystaly, tím více budou poškozené buněčné membrány a je zde riziko zvýšené oxidační aktivity a oxidace lipidů (Sampels 2015; Kavka 2017). Čím pomalejší bude proces mražení, tím větší krystaly vzniknou. Hrozí i značné riziko denaturace proteinů. Pokud teplota bude kolísat, dojde k rekrystalizaci a výsledkem je nekvalitní produkt (Duarte et al. 2020). Rekrystalizace je proces, kdy krystaly mění svoji velikost, tvar i orientaci v prostoru. Krystaly nikdy nejsou stabilní, vždy mají tendenci růst. Jedná se o snahu systému maximálně minimalizovat svoji volnou energii. Ve své podstatě rekrystalizace odstraní malé (žádoucí) krystaly a vytvoří velké krystaly, případně dojde ke sloučení malých krystalů (Gökoğlu & Yerlikaya 2015).

Velký vliv na výsledek má i to, v jaké fázi byla ryba zmrazena. Pokud byla ryba podrobena procesu mražení před rigorem mortis, voda je v této fázi zásadně ve svalových

buňkách a budou se tvořit ledové krystaly. Po fázi rigor mortis je voda přítomna i mimo buňky, což má za následek tvorbu mnohem větších krystalů (Boziaris 2014). Proces zamrazování probíhá ve 3 fázích. V první fázi teplota produktu klesá pod 0 °C. Chlad odebírá z ryby tzv. citelné teplo (část tepla, které předává do svého okolí). Druhá fáze je typická pro konstantní teplotu -1 °C. Fáze je označována jako „fáze tepelného zastavení“. Tím se odstraní tzv. latentní teplo (energie nutná pro změnu skupenství látek). V poslední třetí fázi se teplota produktu značně sníží. Dojde ke zmrznutí zbývající vody. Další ochlazení na požadovanou teplotu odstraní kompletně citelné teplo z produktu (Gökoğlu & Yerlikaya 2015).

Dalším významným faktorem způsobující prodloužení doby zamrazení je obal a obalový materiál. Vzduch mezi obalem a potravinou bude mít negativní vliv na dobu celého procesu. Pokud nedojde k zabalení před procesem zmrazení, mělo by k němu dojít bezprostředně po. Na obaly jsou kladeny přísné nároky. Nesmí v žádném případě kontaminovat potraviny. Musí být dostatečně silné a voděodolné. Aby se zabránilo oxidaci lipidů, je nutné omezit propustnost obalu pro kyslík na minimum (Gökoğlu & Yerlikaya 2015). Modifikovaná atmosféra a vakuové obaly se využívají nejčastěji. Technika modifikované atmosféry umožňuje skladování v přesně definovaném složení plynů. K této metodě se využívá oxid uhličitý, kyslík, dusík i oxid uhelnatý. Vyšší koncentrace kyslíku umožňuje zachování přirozené barvy masa, což ve spotřebitelích evokuje čerstvost a kvalitu daného masa (Sampels 2015).

3.5 Možnosti tepelné úpravy ryb

Až na určité výjimky, jako je tatarský biftek a sushi, se maso včetně rybího konzumuje po tepelné úpravě. Tepelná úprava nejen zvyšuje sensorický požitek, ale také pomáhá vstřebatelnosti nutrientů a zvyšuje biologickou dostupnost některých živin (Sobral et al. 2017). Sladkovodní i mořské ryby lze tepelně upravovat různými metodami. Mezi nejčastější způsoby patří vaření, smažení, pečení a grilování. Tepelné úpravy mají ale i negativní následky. Všechny možnosti tepelného ošetření, pokud jsou prováděny nesprávným způsobem, mohou do značné míry snížit nutriční hodnotu potravin. Zejména pokud je potravina vystavena světlu, zvýšené teplotě či kyslíku, dochází k podstatné ztrátě živin (Bija et al. 2022). Vliv vyšších teplot může vyvolat změny v celkovém obsahu arzeny, případně se mohou tvořit jeho toxičtější formy. Výsledkem je zvýšené zdravotní riziko pro spotřebitele (Abdul 2014).

Tuky podléhají při svém skladování a následném zpracování velkému počtu chemických změn. Mezi tyto chemické změny patří procesy hydrolýzy, oxidace a změny při tepelném rozkladu (Wang et al. 2012). V rámci tepelné úpravy bohužel vznikají nežádoucí látky, mnohdy karcinogenní. Jako možné příklady těchto látek, je dobré zmínit heterocyklické aromatické aminy (HAA) a polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU). Obě zmiňované skupiny vznikají ve svalovině ryb při vystavení vysokým teplotám od 150 °C do 300 °C, což je případ smažení či uzení (Sobral et al. 2017).

3.5.1 Vaření

Proces vaření je charakterizován tepelnou úpravou okolo 100 °C. Principem je ponoření suroviny do vody, případně jiného média (např. mléko) (Sobral et al. 2017). Hlavním cílem vaření je získání potraviny, která vykazuje lepší chuť, aroma a má jemnější strukturu. Především pak během procesu vaření dochází ke zneškodnění mikroorganismů a inaktivace enzymů (Bija et al. 2022). Je nutné se vyvarovat částečného i úplného přerušování vaření. Při přerušování vaření se vytváří často nové ideální podmínky pro růst mikroorganismů (Granata et al. 2012).

Tento druh tepelné úpravy je velmi častý u masa i u ryb. Vzhledem k tomu, že se vaří při poměrně nízké teplotě, oproti smažení, tkáň měkne postupně a vařená surovina si zanechává ve velké míře svoji přirozenou vlhkost (Sobral et al. 2017). Ryby by se měly vařit do té doby, dokud jejich vnitřní teplota nedosáhne 60-63 °C po dobu 15 sekund. Syrové ryby mají svůj typický průsvitný až vodnatý vzhled. Během procesu vaření dojde k nezaměnitelné změně vzhledu. Je patrná změna barvy i samotné struktury masa ryb. Dalším znakem vaření je počínající odlupování svrchních částí ryb. Takto lze indikovat správnou míru uvaření pouhým okem (Granata et al. 2012).

V bodě varu se může zvýšit dostupnost různých nutrientů. V bodě varu lze třeba tuk hydrolyzovat na glycerol a MK, čímž se značně zvyšuje jejich dostupnost organismu. V obecné rovině, vaření velmi ovlivňuje nutriční složení potravin. Radikální změny probíhají především u sacharidů, vaření značně usnadňuje stravitelnost škrobů. Vlivem vaření škrob bobtná a gelovává (Bija et al. 2022). Oproti ostatním tepelným úpravám, vaření zachovává vysokou vlhkost, ztráta vody je tedy velmi malá. To je důvod, proč dochází k mnohem menší oxidaci bílkovin než u ostatních způsobů (Sobral et al. 2017). Bija et al. (2022) ale doplňují, že vystavení vysoké teplotě způsobuje denaturaci bílkovin. Zahřívání může vést ke koagulaci bílkovin, což se projeví ve výsledné struktuře potraviny. Dále Asghari et al. (2013) zmiňují i fakt, že při varu dochází ke ztrátám řady vitamínů a minerálů jako důsledek vyluhování.

3.5.1.1 Vaření v páře

Zahrnuje vaření masa a ryb při teplotě 100 °C. Tato teplota se může zvýšit vlivem tlaku, například v tlakovém hrnci. Ve srovnání s vařením přímo ve vodě, vykazuje vaření v páře větší efektivitu. Přenos tepla v páře je lepší než v samotné vodě a latentní teplo z páry značně pomáhá k ohřevu produktu (Sun 2012). Indukce páry pak poměrně zkracuje celý proces vaření (Pathare & Roskilly 2016). Pakliže dojde k prodloužení vaření tímto způsobem a daný produkt má vysoký obsah pojivové tkáně, stává se mnohem křehčí (Sun 2012).

3.5.1.2 Metoda sous-vide

Sous-vide je metoda vaření založená na způsobu ohřevu syrového masa zabaleného ve vakuovém sáčku ve vodní lázni, kde dochází k zahřevu (Pathare & Roskilly 2016). Tato metoda umožňuje kontrolování podmínek teploty a času. Dochází k mírnému a postupnému zahřívání suroviny na teplotu 65-95 °C po delší dobu. Ryby upravené metodou sous-vide mají zachovaný svůj přirozený svěží vzhled. Příliš vysoká teplota nicméně může zapříčinit ztrátu senzorické jakosti. Doporučené parametry ošetřování touto kulinární úpravou jsou mezi 60-80 °C po dobu 20-40 minut. Přesto se v praxi využívá nižších teplot. Pozitivum spočívá v získání atraktivní chuti, v zachování šťavnatosti a snížení tepelné stažitelnosti produktu. Případná rizika této úpravy jsou vážnějšího charakteru. V první řadě je zde riziko nerovnoměrné tepelné úpravy, kdy různé části mohou vykazovat různý stupeň propečení. Na oko se pak ryba může zdát adekvátně tepelně upravená, ale v jádře může být stále syrová a představovat zvýšené mikrobiologické riziko (Głuchowski et al. 2019).

3.5.2 **Smažení**

Smažení se definuje jako proces, kdy se k tepelné úpravě využívá tuku či oleje při vysoké teplotě (150-200 °C). Je to jedna z nejrychlejších a nejjednodušších technik úpravy, kdy výsledný produkt dostává atraktivní charakter (Zeb 2019). Dá se aplikovat na širokou škálu potravin. Lze takto upravovat ryby, maso, bramborové lupínky, koblihy, hranolky a mnoho dalších (Asokapandian et al. 2020). Celý proces má konzervační účinek, protože vlivem vysokých teplot dochází k destrukci mikroorganismů, enzymů a omezení vodní aktivity na povrchu potraviny (Oke et al. 2018). Tuk či olej funguje jako skvělé tepelné médium, kdy dochází k přenosu značného tepla z média do potraviny (Asokapandian et al. 2020). Na rozdíl od vaření se smažení může pyšnit vznikem příjemného aroma, vzhledu a křupavosti (Zeb 2019). Přesto má výsledný produkt zachovanou určitou vnitřní vlhkost a spolu s typicky utvořenou kůrkou na povrchu vytváří velice atraktivní chuť (Asokapandian et al. 2020). Přestože je prokázán negativní vliv konzumace smažených jídel na lidské zdraví, jedná se o jedny z nejvíce konzumovaných potravin po celém světě (Zaghi et al. 2019). Ke zvýšení konzumace smažených jídel přispělo značné rozšíření fastfoodů (Sikorski & Kołakowska 2011). Jenom v USA využívá 500 000 restaurací jeden milion metrických tun tuku či oleje ročně (Oke et al. 2018). V posledních letech díky větší osvětě ohledně výživy a zdravého životního stylu, mají někteří spotřebitelé potřebu vyhledávat zdravější a výživnější alternativy. Z tohoto důvodu se hledá řada alternativ nahrazující konvekční způsob smažení. Novinkou nahrazující starý způsob je tzv. smažení na vzduchu. Při této metodě probíhá intenzivní cirkulace horkého vzduchu. Dochází k ohřevu potravin ze všech stran a mnohdy není ani potřeba dodávat tuk nebo olej (Zaghi et al. 2019).

Tradiční smažení může do značné míry ovlivnit množství tuku v konečném produktu (Moradi et al. 2011). Změny konečného produktu záleží na metodě smažení (mělké, hluboké smažení), množství samotného tuku obsaženého v syrových rybách, a především na použitém tuku či oleje jako smažícího média (Moradi et al. 2011). **Mělké smažení** probíhá na pánvi a znamená, že tepelné médium je využito pouze jednou v tenčí vrstvě. Slouží především

k zabránění surovině přilepit se na pánev či k vytvoření glazury (Sikorski & Kołakowska 2011). Teplo je přenášeno pouze na spodní stranu suroviny. Vrstva smažícího média je také nerovnoměrná z důvodu nerovností na povrchu smaženého jídla. Spolu s tím únik vodní páry způsobuje teplotní výkyvy a nerovnoměrné zhnědnutí mělce smažených jídel (Oke et al. 2018). Při **hlubokém smažení (fritování)** je celá surovina pokryta tukem/olejem. Tuk/olej je dostatečně horký na to, aby „utěsnil“ povrch potraviny a vytvořil typickou kůrku na povrchu (Sikorski & Kołakowska 2011; Sobral et al. 2017). Jedná se pravděpodobně o nejstarší metodu smažení a její původ vychází ze Středomoří a má řadu nesporných výhod. Primárně je to rychlost smažení a energetická hospodárnost. Dále získá chutné a na oko lichotivé stravy. V neposlední řadě jsou při hlubokém smažení zachovány mikroživiny (Oke et al. 2018). Ze začátku dochází k úniku vody zevnitř na povrch smažené potraviny. Uniklá voda se dostává do kontaktu se smažícím médiem. Výsledkem je vznik bublin, které cirkulují v celém médiu a vytváří tak turbulence v médiu. Množství bublin se po čase snižuje v důsledku snižování vlhkosti uvnitř potraviny (Asokapandian et al. 2020).

Smažení je komplexní proces, kdy se během jednoho procesu odehrává najednou řada změn (Oke et al. 2018). Mění se např. lipidové frakce a profily MK (Sikorski & Kołakowska 2011). Dále dochází k bobtnání škrobu a denaturaci proteinů. Tyto fyzikálně-chemické změny probíhají na všech úrovních, jak na makro i mikroúrovni. Oke et al. (2018) ve svém článku popisuje proces smažení. Během hydrolyzy vodní pára reaguje s kyslíkem a společně iniciují chemické reakce. Voda je slabý nukleofil, který napadá esterovou vazbu triacylglycerolů za vzniku mono a diacylglycerolů, glycerolu a volných MK. Přičemž vzniklé volné MK jsou ukazatelem kvality tuku. Jak kyslík reaguje se smažícím médiem, dochází k tepelné oxidaci, princip je stejný jako u autooxidace. Změna spočívá v rychlosti reakce. Tepelná oxidace je rychlejší než autooxidace. V samotném článku je zmíněn fakt, že není vědecký základ v ověření samotné rychlosti mezi tepelnou oxidací a autooxidací. Vznik těkavých sloučenin je zásadní pro konečnou chuť smaženého produktu. Hlavními rozkladovými produkty smažícího média jsou netěkavé polární sloučeniny, dimery a polymery triacylglycerolu. Tyto molekuly jsou buď cyklické, nebo acyklické v závislosti na reakčním procesu a konkrétních volných MK. Samotná dimerizace a polymerace mají za následek vznik oxidačních produktů škodících zdraví. Pokud se dodržuje správná technika smažení a pravidelná výměna smažícího média, zůstává vnitřní tuk potravin nezměněn a zachovává si svoji přirozenou nutriční hodnotu. Stejně tak jsou zachovány vitamíny rozpustné v tucích. To samé platí o vitamínech rozpustných ve vodě, minerálních látkách a dalších živinách (Sikorski & Kołakowska 2011). Nicméně pokud přesto dojde k prodlouženému vystavení tuku nebo oleje vysokým teplotám, vznikají oxidované až toxické produkty (Oke et al. 2018).

3.5.3 Uzení

Jedná se o nejstarší způsob konzervace potravin. Ryby se před uzzením osolí a během uzzení následně podléhají organickým složkám získávaných ze dřeva kdy předem nasolené ryby, podléhají během procesu uzzení. Kouř obsahuje těkavé aromatické látky, které dodávají potravíně typickou chuť a vůni (Belichovska et al. 2019). Společně s procesy solení a sušení

umožňuje do značné míry omezení mikrobiální aktivity (Nollet & Toldrá 2009). Dále se na omezení degradačních faktorů podílí do značné míry hustota kouře, koncentrace aktivních složek kouře, doba a teplota uzení (Kwaghvihi et al. 2020). Celý proces uzení ryb se skládá z několika kroků. Čerstvá ryba je důkladně očištěna a umyta. Po této části dojde k odstranění vnitřnosti a případného slizu. Ryby jsou následně nasoleny a zavěšeny do udící pece. Teplota pece při uzení je okolo 80 °C, přičemž teplota samotných ryb se pohybuje okolo 60 °C (Singh & Singh 2018). Vodní aktivita (*aw*) uzených ryb musí být nižší než 0,85, aby se zajistila stabilita produktu při pokojové teplotě (Kwaghvihi et al. 2020).

Uzená ryba je chutný a výživný produkt, který se již nadále nemusí tepelně upravovat (pokud nebyla ryba uzena studeným kouřem). Výsledná kvalita je pak odrazem stáří, druhu, pohlaví ryb, ale svoji roli hraje i předchozí způsob uchovávání (mražení/chlazení) (Belichovska et al. 2019). K uzení je zapotřebí i kvalitní dřevo. Nejčastěji se jedná o tvrdé dřeviny, mezi které se řadí dub, buk, ořech a javor (Nollet & Toldrá 2009; Kwaghvihi et al. 2020). Tvrdá dřeva jsou složena z celulózy, hemicelulózy a ligninu, v poměru 2:1:1. Sušina je pak tvořena těmito látkami až z 95 %. Celulóza a hemicelulóza jsou základním materiálem pro tvorbu buněk dřeva. Při spalování karamelizují za vzniku karbonylů, které poskytují většinu barevných složek a sladkou ovocnou vůni. Lignin pak plní funkci spojování jednotlivých buněk. Při spalování poskytuje typické aromatické sloučeniny, které zajišťují štiplavou kouřovou chuť. Ligniny mohou výslednému produktu poskytnout i sladší chuť, jako je např. vanilka či hřebíček (Kwaghvihi et al. 2020). Bohužel má uzení i svoji negativní stránku. Mezi stovkami sloučenin, kterými disponuje kouř ze dřeva, je nejméně 100 sloučenin PAU a jejich alkylované deriváty, z nichž je mnoho karcinogenních. Vznikají důsledkem neúplné pyrolýzy dřeva (Stołyhwo & Sikorski 2005). Je prokázáno, že používání měkkých dřevin vede ke zvýšenému výskytu kontaminantů, k nimž se řadí i PAU. Hlavním markerem karcinogenních PAU v uzených rybách je benzo[*a*]pyren (BaP). BaP v uzených potravinách se řádově pohybuje okolo 0,1 µg/kg, či dokonce 0,01 µg/kg. U silně uzených potravin, především na jejich vnějších částech, se hodnota BaP blíží k 50 µg/kg (Stołyhwo & Sikorski 2005). Nicméně existuje důkaz, že fenolické složky v kvalitním dřevě využívaného k uzení, působí antioxidační aktivitou. Současně je uzení známé typickým organoleptickým působením (Nollet & Toldrá 2009).

Přestože obecný princip uzení je všude prakticky stejný, existují určité rozdíly. Tyto rozdíly vychází z rozdílnosti vybavení, surovinách a tradicích. Mimo to zde vstupují faktory vycházející z rozdílnosti etnických zvyklostí a regionálních preferencích (Granata et al. 2012). V tradičních systémech se ryby udí v jámách či na speciálních vyvýšených stolech, kdy je ovšem kontrola teploty prakticky neproveditelná (Kwaghvihi et al. 2020). V Evropě se prodává až 15 % z celkového množství ryb ve formě studených či za horka uzených výrobků. **Uzení za studena** se používá ke zvýšení chuti kuřecích prsou, vepřového, hovězího i lososa. Následně se takto upravené před konzumací pečou, grilují či opékají. Teplota této metody se pohybuje v rozmezí 12 až 25 °C (Sobral et al. 2017). Ryby tak získají uzenou chuť, přitom stále zůstanou relativně vlhké. Vlhkost by měla být zachována ze 75-85 %. Metoda se využívá spíše ve vyspělých zemích s možností alternativních způsobů uchovávání ryb (chlazení). Uzení za studena umožňuje zachování nutriční hodnoty. Pokud nedojde bezprostředně k dalšímu

tepelnému ošetření, musí být ryba vakuově zabalena a zchlazena z důvodu nedostatečného tepelného ošetření (Kwaghvihi et al. 2020). U **horkého uzení** se produkt vystavuje teplu a kouři při teplotě 40–100 °C. Výrobek podléhající této metodě má teplotu vnitřního prostředí cca 85 °C (Sobral et al. 2017). Pokud bude teplota menší, okolo 62 °C, tak musí uzení probíhat minimálně 30 minut, aby došlo k zabránění tvorbě toxinů *Clostridium botulinum* (Kwaghvihi et al. 2020). Ryby se takto udí až do uvaření k získání delší trvanlivosti a lepší chuti. Přesto se zachovává přirozená vlhkost. Pokud teplota přesáhne adekvátní hranici, dojde ke smršnění výsledného produktu a ekonomickým ztrátám. Stejně tak se snižuje konečná nutriční hodnota ryb (Kwaghvihi et al. 2020). Díky vysoké teplotě je zajištěna mikrobiologická bezpečnost výrobku, a nemusí se tak před konzumací tepelně upravovat (Sobral et al. 2017). Proces se skládá z 5 samostatných kroků. V první fázi dojde k povrchovému osušení ryb. Následuje uzení, pak sušení. Dalším krokem je záhřev/vaření, a nakonec se přímo v udící peci provádí ochlazení na teplotu nižší než je teplota vaření. Konečné chlazení na teplotu okolo 3,3 °C se provádí již mimo pec (Kwaghvihi et al. 2020).

3.6 Oxidace a žluknutí tuků

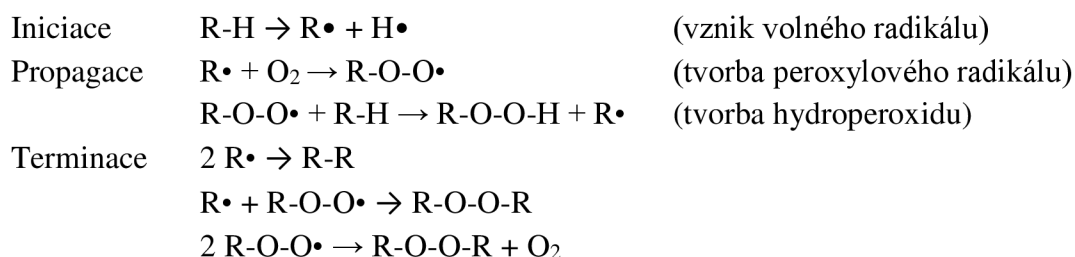
Původně pojem oxidace v chemii znamenal reakci konkrétní sloučeniny s kyslíkem za vzniku oxidu. Bylo to z toho důvodu, že kyslík byl první známý oxidační prvek. Nyní se tak označují všechny chemické procesy, na jejichž konci je výsledkem ztráta elektronů. Oxidaci tak způsobují i látky podobné kyslíku, které provádí paralelní chemické reakce (Mozuraityte et al. 2016). V olejích a tucích probíhají dvě hlavní reakce, které způsobují jejich degradaci a tím zkrácení doby trvanlivosti. Jedná se o oxidaci a hydrolýzu. Souhrnně je tento jev označován jako žluknutí tuků. Toto se netýká pouze čistých olejů a tuků, ale i všech potravin, které je obsahují (Talbot 2016). Oxidace tuků je jedna z nejpodstatnějších příčin zhoršení kvality potravin, zároveň způsobující snížení trvanlivosti (Ahmed et al. 2016). Oxidační reakce nejen zapříčiňují ztrátu esenciálních MK, ale ke změnám dochází i u ostatních sensorických aspektů potravin. Jako sekundární jev oxidace je změna barvy, vzhledu, struktury, chuti, ale především se vyskytuje typický žluklý zápach (Talbot 2016). V poslední době je trend potravinářského průmyslu omezovat či úplně odstraňovat hydrogenované tuky z potravin. Místo toho se zařazují do výroby bioaktivní nenasycené MK a nahrazují se syntetické antioxidanty přírodními. Přídavek antioxidantů do potravin je přitom velmi důležitý pro zachování antioxidační stability a zajištění potřebné trvanlivosti. Nenasycené MK v potravinách představují problém, protože jsou to právě ony, které jsou nejvíce náchylné na oxidaci. (Johnson & Decker 2015). Potravinové lipidy jsou téměř z 90 % tvořeny triacylglyceroly. Menší část zabírají fosfolipidy a steroly. Triacylglyceroly a fosfolipidy přitom ve své molekule mají MK, což jsou již zmíněné oxidovatelné části (Ahmed et al. 2016). Prevencí zpomalení oxidačních procesů je minimalizace kontaktu kyslíku s potravinou, zamezení přítomnosti přechodných kovů, inaktivace volných radikálů či pozměnění složení přítomných MK. Způsob balení či použité obaly během skladování jsou zásadní faktory. Vakuované balení či balení v modifikované atmosféře je dnes běžnou praxí. Velmi často se s ním můžeme setkat u syrového i tepelně upraveného masa. U tepelně upraveného masa se nicméně preferuje vakuové balení, protože již během tepelné úpravy vznikají oxidační sloučeniny a jejich další vznik není žádoucí. Nicméně ani vakuové balení nezaručí celkové zamezení prostupu kyslíku

skrz obalový materiál. Navíc ve vakuovém balení téměř vždy zůstane část zbytkového kyslíku (Huang & Ahn 2019). Pokusy prováděné Ahnem et al. (1992) prokázaly, že tepelně upravené maso, zabalené hned po procesu tepelné úpravy ještě horké, minimalizovalo oxidační změny během skladování. Tento fakt je způsoben tím, že se omezil vliv kontaktu kyslíku s masem na naprosté minimum.

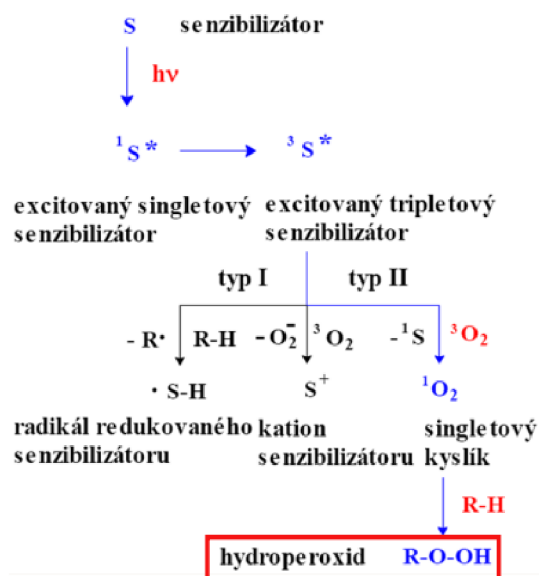
Oxidace lipidů probíhá složitou sérií reakcí (Bartosz 2014). Mechanismy oxidace a hydrolyzy probíhají zcela odlišně. Oxidace probíhá jak u triacylglycerolů, tak i u fosfolipidů. Mechanismy vzniku oxidace jsou různé. Nejčastěji k ní dochází především tvorbou reaktivních kyslíkových prekurzorů a volných radikálů. Během oxidace probíhá řada interakcí složek potravin, které vedou ke změnám a potenciální tvorbě nežádoucím produktů (Ahmed et al. 2016). Vyjma toho, produkty oxidačních procesů v potravinách podněcují tvorbu degenerativních procesů a vyvolávají řadu onemocnění (Bartosz 2014). Pro oxidaci je zapotřebí kyslíku jako iniciátora reakce (Talbot 2016). Kyslík jako všude přítomná molekula může za určitých podmínek volně reagovat s nenasycenými MK, které jsou díky přítomnosti dvojných vazeb reaktivní. Za oxidační procesy v tucích jsou zodpovědné především dvě formy kyslíku. Nejreaktivnější je singletový kyslík ($^1\text{O}_2$), běžněji je však zastoupen tripletový kyslík ($^3\text{O}_2$). Singletový kyslík vyvolává tzv. fotosenzibilizovanou oxidaci. To znamená, že vyvolává oxidaci v potravinách, kde je současně přítomný fotosenzibilizátor (riboflavin, porfíny) (Johnson & Decker 2015). Při vystavení nereaktivního $^3\text{O}_2$ světlu se může přeměnit na reaktivní formu $^1\text{O}_2$. Singletový kyslík pak přímo napadá dvojnou vazbu MK a zahajuje fotooxidaci (Mozuraityte et al. 2016). Jako volný radikál je tripletový kyslík zodpovědný za řetězové oxidační procesy v tucích (Johnson & Decker 2015). Hydrolyza naopak kyslík nepotřebuje. Může probíhat pouze za přítomnosti vody. Hydrolytické procesy mohou probíhat dvěma způsoby. První forma zahrnuje vznik ketosloučenin jako produktů reakce mezi triglyceridy a vodou za přítomnosti světla. Ketosloučeniny jsou poměrně reaktivní a snadno dojde k odštěpení oxidu uhličitého za vzniku methylketonů a hydroxylovaných MK. Čím kratší je ketonový řetěz (C3), tím více vykazuje štiplavou a sladkou chuť. Ketony s delším řetězcem (C11) vykazují sladší plnější chuť. Druhá forma hydrolyzy může probíhat pouze za přítomnosti aktivní lipázy [EC 3.1.1.3.] a vody. Triacylglyceroly se nejdříve rozštěpí na diacylglyceroly a ty se následně štěpí na samotné acylglyceroly a glyceroly. Na délce vzniklých MK pak závisí výsledná vůně/pachův potravin. Např. laurová kyselina (C11) způsobuje nepříjemný mýdlový nádech, který se vyskytuje i při velmi nízkých koncentracích jako je i 0,07 % (Talbot 2016).

Proces oxidace lze rozdělit na základě příčiny do 3 hlavních skupin – autooxidace, fotooxidace a enzymaticky katalyzovanou oxidaci (Talbot 2016). **Autooxidace** jak již název odpovídá, probíhá autokatalyticky vzdušným kyslíkem, což je tripletový kyslík ($^3\text{O}_2$) se dvěma nepárovanými elektrony. Jedná se o nejběžnější typ oxidace, s nímž je možné se setkat v rámci problematiky skladování a zpracování potravin. Počáteční energie k zahájení oxidace může být tepelného původu či být vyvolána UV zářením. Celý proces se může urychlit za působení prooxidantů jako je např. přítomnost těžkých kovů. Stejně tak existují látky, které dokážou proces zpomalit. Nazývají se jako antioxidanty (Talbot 2016). V rybím tuku nastává v důsledku vysokého obsahu polynenasycených MK, které jsou vystaveny působení kyslíku. Z polynenasycených MK jsou v rybím tuku nejvíce zastoupeny

EPA a DHA, které mají 5 až 6 dvojných vazeb (Ahmed et al. 2016). A ty jsou důvodem zvýšené náchylnosti pro oxidační procesy, během kterých vznikají hydroperoxydy (Talbot 2016). Při pokojových teplotách se mohou oxidovat pouze nenasycené MK. Pokud se však teplota zvýší, začnou se oxidovat i jinak stabilní nasycené MK. Oxidace probíhá ve 3 fázích (iniciace, propagace, terminace), souhrnně označovaných jako radikálové řetězové reakce. Během iniciační fáze vznikají volné radikály a peroxydy, kdy reaktivní kyslík začne interagovat s nenasycenými MK (Ahmed et al. 2016). Z důvodu nestability peroxidu, z něj vzniká v rámci propagace další chemický produkt, peroxylový radikál a z něj pak hydroperoxid, vykazující reaktivní charakter. Procesy propagační fáze se opakují hned několikrát po sobě a výsledkem je celkové znásobení počtu volných radikálů (Ahmed et al. 2016). V rámci závěrečné terminační fáze se zde ale již nevyskytují primární reaktivní složky. Z důvodu opětovné nestability, se z hydroperoxidů tvoří sekundární oxidační produkty. Těmito látkami jsou uhlovodíky tvořící pachutí, aldehydy a ketony (Talbot 2016). Těkavé produkty oxidace v rybím tuku jako je 1-penten-3-on hexanal, 4-(Z)-heptenal a další, jsou zodpovědné za vznik nežádoucího zápachu a slouží jako dobrý marker oxidace v rybím tuku (Ahmed et al. 2016).



Během **fotooxidace** dochází k přeměně tripletového kyslíku na singletový kyslík, který je vysoce reaktivní a reaguje s dvojnými vazbami MK. Singletový kyslík reaguje s nenasycenými MK mnohem vyšší rychlostí, než tripletový kyslík v případě autooxidace (Mozuraityte et al. 2016). Pro své působení nepotřebuje velké množství aktivační energie. Celý proces tak není závislý na faktoru teploty a může probíhat i při nízké teplotě (Ahmed et al. 2016). Což značně komplikuje zpracování a skladování potravin. Především se však tento fakt negativně odráží na samotné kvalitě potravin (Mozuraityte et al. 2016). Pokud vlnová délka slunečního světla nedosahuje 220 nm, pak nenasycené MK nemohou absorbovat světlo. V přítomnosti světelných fotosenzibilátorů ale nastává, že fotosenzibilní molekuly (fotosenzibilátory) absorbují světelnou energii a jsou schopné iniciovat přeměnu tripletového kyslíku na singletový kyslík (Ahmed et al. 2016). Dobrymi a dostačujícími fotosenzibilátory jsou ionty těžkých kovů, chlorofyly (obsahující měď) a riboflaviny. Byly identifikovány dva typy fotooxidace (Talbot 2016). Fotooxidace typu I je přímá reakce fotosenzibilátoru s molekulou tuku (R-H) za vzniku radikálů ($R\cdot$, $\cdot S-H$). Typ II je rozšířenější způsob. Energie z S^* (excitovaný singletový senzibilátor) se přenáší 3O_2 , čímž vzniká 1O_2 . Paralelně vzniká taktéž superoxidovaný anion (O_2^-) a oxidovaná forma fotosenzibilátoru (S^+). Nicméně počátek reakce je u obou typů stejný (Talbot 2016).



Obrázek 4: Znáznornění procesu fotooxidace. Převzato z prezentace VŠCHT, dostupné z: https://web.vscht.cz/~dolezala/CHPC/7%20Lipidy,%20reakce_cvi%4%8den%cc3%ad.pdf

Výsledkem fotooxidace je produkce alifatických a aromatických sloučenin (MK, ketony a aldehydy, karboxylové kyseliny, chinony, sulfoxidy, sulfony, anhydridy, fenoly a alkoholy) (Ahmed et al. 2016).

Enzymaticky katalyzovaná oxidace je katalyzována hned několika enzymy. Jako příklad lze uvést enzym lipoxygenázu (LOX) [EC 1.13.11.12], který obsahuje železo, a je přítomen i v rybích žábřácích a kožních tkáních. Tento enzym iniciuje vkládání O_2 do nenasyčených MK za vzniku hydroperoxidů (Mozuraityte et al. 2016). Vzniklý hydroperoxid je pak meziprodukt v syntéze prostaglandinů a eikosanoidů, což jsou známé zánětlivé markery. Nejčastěji vznikají oxidací arachidonové kyseliny. Vznik těchto zánětlivých látek enzymatickou cestou způsobuje i enzym cyklooxygenáza [EC 1.14.99.1] a cytochrom P450 (Ahmed et al. 2016). Zároveň se hydroxyperoxydoly mohou v rámci následujících reakcí rozkládat a vytvářet sekundární oxidační produkty, které jsou charakteristické pro své intenzivní pachy a chutě. Přítomnost LOX v chlazených či mražených rybách indikuje zahájení oxidační aktivity již během skladování. Takto poškozené ryby mají silný rybí zápach typický pro oxidační aktivitu. Aktivita tohoto enzymu se zastaví tepelnou úpravou při 80 °C po dobu cca 2 minut. Nicméně delší doba vystavení takové teplotě urychlí neenzymatickou oxidační činnost. Lipoxygenáza ze živočišného zdroje je složena přibližně z 650-750 aminokyselin. LOX mohou hydroperoxidovou skupinu umístit do různých poloh MK po napadení vazby 1,4-cis-cispentadienové skupiny. V rybách se nejčastěji vyskytují dva typy LOX a to 12-LOX a 15-LOX. Číselné označení před zkratkou lipooxygenázy indikuje polohu umístěného hydroperoxidu v molekule MK (Wang & Hammond 2010). Ahmed et al. (2016) ve svém článku znázorňuje zjednodušený proces enzymatické oxidace následovně:

- 1) Tuk + voda → volné MK + glycerol (nutná přítomnost LOX či cytochromu P450)
- 2) Volné MK → hydroperoxydy (vlivem oxidační činnosti)
- 3) Hydroperoxydy → aldehydy, ketony (vlivem nestability a degradace hydroperoxydu)

3.7 Vliv oxidovaných tuků na zdraví člověka

Vlivem narušování normálních metabolických procesů a vzniklé redoxní nerovnováhy v buňkách, se rozvíjí v organismu velká škála patofyziologických stavů (Rani et al. 2016). Největší problém oxidovaných tuků spočívá v negativním působení na lidský organismus. Je prokázáno, že se ve výrazném podílu na mnoha patologických jevech, jako je ateroskleróza, nádorové bujení, záněty a urychlování procesu stárnutí (Domínguez et al. 2019). Jako příklad vstupu oxidovaných tuků a jejich produktů do lidského organismu lze uvést extrémní oxidaci tuku při opakovaném použití oleje při tepelné úpravě, kdy se dosahuje velmi vysokých teplot. Nejedná se o zanedbatelný fakt. Až 1/3 hmotnosti smaženého jídla během hlubokého smažení může být složena z adsorbovaného tuku. Řada studií prokázala, že oxidované tuky a jejich produkty jsou velmi snadno vstřebatelné střevem a plasmatická hladina se po jídle výrazně zvyšuje (Cohn 2002). Angeli et al. (2011) prováděli výzkum, ve kterém bylo prokázáno, že hydroperoxydy vznikající oxidací tuků působí cytotoxicky na buňky i v nízké koncentraci. Produkty oxidace jako jsou aldehydy a ketony, působí prozánětlivě, karcinogenně a mutagenně (Domínguez et al. 2019; Sottero et al. 2019). Převládající oxidační a zánětlivé procesy představují hlavní faktory pro vznik nádorů, cukrovky a kardiovaskulárních onemocnění (Rani et al. 2016). Prevence vzniku oxidovaných tuků je nesmírně důležitá nejen pro zachování kvality potravin, ale především pro chránění lidského zdraví (Huang & Ahn 2019).

Udává se, že oxidované tuky se dále podílí i na vzniku neurodegenerativních onemocnění jako je např. Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba nebo amyotrofická laterální choroba. Společným rysem těchto onemocnění je oxidační poškození neuronů, které může vést k jejich odumření. Tato progresivní ztráta neuronů vede k patogenezi a rozvoji těchto závažných a neléčitelných onemocnění (Rahman et al. 2012). Bohužel dlouhodobé chronické nemoci jsou výsledkem nezdravého životního stylu dnešní doby. Kombinují se faktory environmentální, behaviorální, genetické i fyziologické. Nevhodná a současně nezdravá strava, nedostatek pohybu, vysoký krevní tlak, zvýšené hladiny glukózy a lipidů v krvi a metabolické disfunkce postihují různé věkové skupiny v různých regionech. V rámci celého světa je až 19 % veškerých úmrtí připisováno vysokému krevnímu tlaku, nadváze, obezitě a zvýšeným hodnotám glukózy v krvi.

Výskyt obezity se celosvětově od roku 1975 ztrojnásobil (Ávila-Escalante et al. 2020). Dle Světové zdravotnické organizace (WHO) v roce 2014 více než 1,9 miliard dospělých lidí trpělo nadváhou. Z toho bylo 600 000 000 lidí obézních. U obézních jedinců je relativně zvýšené riziko rakoviny tlustého střeva, žaludku, karcinomu jícnu a cholangiokarcinomu. Je zde předpoklad, že do značné míry se na tomto podílí oxidační stres, který je způsobený tzv. reaktivními formami kyslíku (ROS- reactive oxygen species) (Rani et al. 2016). Reaktivní formy kyslíku jsou obecně považovány za vedlejší produkty spotřeby kyslíku a buněčného

metabolismu, kdy vznikají částečnou redukcí kyslíku (Moloney & Cotter 2018). Do této skupiny látek se řadí i produkty oxidace tuků, jako jsou hydroperoxydy či singletové kyslíky (Rani et al. 2016). Byla navržena řada mechanismů, jak oxidační stres souvisí s nadváhou a obezitou (Dichi et al. 2014). Tzv. bílá tuková tkáň představuje největší zásobárnu energie v organismu. Při nadměrném příjmu triacylglycerolů dochází k ukládání tohoto přebytku a tvorbě bílé tukové tkáně. Případně se na tvorbě této tělesné zásoby podílí i mobilní MK. Vše záleží na daných metabolických potřebách. Pokud bude bílá tuková tkáň přetížena nadměrným příjmem živin, tak adipocyty, jež ji tvoří, mohou značně zvětšit svoji velikost a tím i kapacitu, aby byly schopné tyto zásoby pojmout. Udává se, že bílá tuková tkáň může u obézního pacienta tvořit až 50 % z celkové hmotnosti (Le Lay et al. 2014). Furukawa et al. (2004) tvrdí, že akumulace tuku u lidí a myši souvisí se systémovým oxidačním stresem. Myši, které disponovaly zvětšenou tukovou tkání, byly zatíženy nadměrnou produkcí ROS. Tato nadměrná produkce ROS následně korelovala se zvýšenou produkcí NADPH oxidázy a zároveň docházelo ke snížení exprese antioxidačních parametrů. Faktem zůstává, že produkce ROS byla zvýšena pouze v tukové tkáni. V žádných jiných tkání se tento jev nevyskytoval. To je důvod, proč tyto výsledky poukazují na to, že hlavním zdrojem ROS je tuková tkáň. S největší pravděpodobností jsou ROS v tukové tkáni produkovány právě adipocyty (Le Lay et al. 2014). Adipocyty byly identifikovány jako zdroj zánětlivých cytokinů. Cytokiny jsou silným stimulantem pro produkci ROS. Konkrétněji se udává, že cytokiny regulují aktivitu enzymů generujících oxidanty (NADPH oxidázy) (Rahman et al. 2012). Dlouhodobé účinky obezity a její značný podíl na zvýšeném riziku hypertenze, diabetu mellitusu a kardiovaskulárních chorobách, byly potvrzeny ve Framinghově experimentu. Nadváha se ve velké míře vyskytovala společně s diabetem, hypertenzí a anginou pectoris (Dichi et al. 2014). Snížení zastoupení tělesného tuku prostřednictvím diety současně s pohybovou aktivitou je účinným prostředkem ke snížení tělesného zánětu a koncentrace ROS. Bylo pozorováno, že tyto restriktce vedly po 4 týdnech ke snížení plasmatických markerů oxidačního stresu (Rahman et al. 2012).

3.7.1 Metabolické poruchy

Oxidační stres u metabolických poruch bývá také označován jako metabolický stres. V rámci metabolického stresu dochází k porušení rovnováhy homeostázy antioxidantů a prooxidantů. Narušení této fyziologické rovnováhy vede nevyhnutelně k tvorbě toxických činitelů, jako příklad lze uvést malondialdehyd, který vzniká vlivem peroxidace lipidů (Raut & Khullar 2022). Metabolické poruchy jsou nechvalně spojovány s dalšími negativními faktory, jako je vysoký krevní tlak a diabetes mellitus. Zároveň s tím se výrazně zvyšuje i riziko kardiovaskulárních chorob (Wilhelm 2011). Tyto poruchy vzniklé za současného zvýšení tělesné hmotnosti a následně i obezity dosáhly ve vyspělých zemích značných rozměrů. V rámci pokusů byly objasněny některé mechanismy, které popisují vliv oxidačního stresu na rozvoji metabolických poruch. Jedním z těchto mechanismů je dysfunkční HDL frakce, o které je všeobecně známo, že má protektivní funkci. Bylo prokázáno, že oxidativní stres současně s inzulínovou rezistencí narušuje antioxidační aktivitu HDL frakce u metabolického syndromu (Rani et al. 2016). Jedná se o stav, kdy se současně s nadváhou vyskytuje **dyslipidémie**, při které dochází k nerovnováze mezi triacylglyceroly a koncentrací HDL cholesterolu.

Triacylglyceroly jsou oproti protektivním HDL frakcím v převaze. Zároveň jsou během metabolického syndromu běžné zvýšené hladiny glukosy v krvi nalačno (Wilhelm 2011).

Primárním zdrojem ATP v organismu jsou mitochondrie. Pokud je narušena mitochondriální respirační funkce, hrozí zvýšená produkce reaktivních forem kyslíku. Mitochondrie jsou považovány za hlavní zdroj ROS v buňkách (Nishikawa & Araki 2007). Dnes je znám fakt, že na progresi a vývoj **diabetes mellitus** jsou zodpovědné mimo jiné i ROS, které vznikají prostřednictvím enzymů mitochondriálního dýchacího řetězce. Enzymy, jež se v rámci tohoto dýchacího řetězce uplatňují, jsou xantinoxidázy [EC 1.1.3.22], lipoxygenázy [EC 1.13.11.12] a cyklooxygenázy [EC 1.14.99.1] a mnoho dalších (Volpe et al. 2018). Fyziologická a žádoucí hladina glukózy v krvi je 4 až 6 mmol/l. Dlouhodobé zvýšení této hladiny vede k dalším závažným stavům. Hovoříme především o hyperglykémii a dyslipidémii, které mají negativní a škodlivý vliv na tělesné tkáně (i tukové) a orgány. Například ostrůvky slinivky břišní bývají často postiženy. Hyperglykémii spouští řada metabolických signálních drah vedoucích k zánětu (Volpe et al. 2018). Klíčovým hráčem v progresi obou typů diabetu je také chronický zánět. V rámci zánětu dochází k sekreci cytokynů a k buněčné smrti. Diabetické komplikace jsou charakterizovány jako záněty v cévách či nervech. Při postižení nervových vláken vznikají závažné stavy, jako je neuropatie či nefropatie. Zánět je zapříčiněn ROS v periférii, kosterních svalech, v tukové tkáni a v játrech. ROS, které jsou lokálně generovány v tkáních, interagují s inzulínovými receptory. Výsledkem je selhání funkce inzulínových receptorů. To vše má za následek další a další projevy metabolického syndromu (Newsholme et al. 2016). V dnešní době jsou hlášeny důkazy vlivu oxidačního stresu na patogenezi diabetu I. i II. typu. Tvorba volných radikálů neenzymatickou cestou glykací proteinů, oxidací glukózy a zvýšením peroxidace lipidů vede ke snížení aktivity enzymů, buněčného aparátu a zvýšené inzulínové rezistence v důsledku oxidačního stresu. Tato situace může potencionálně nastat, pakliže působnost antioxidačních látek je značně omezena. Jde především o významné snížení hladiny či celkovou destrukci antioxidačních enzymů jako je kataláza [EC 1.11.1.6] (CAT), superoxid dismutáza [EC 1.15.1.1] (SOD) a glutathion peroxidáza [EC 1.11.1.9] (GSH-Px) (Asmat et al. 2016). Diabetes mellitus I. typu je onemocněním především autoimunitního charakteru vyskytující se především u mladých jedinců. Při tomto typu diabetu dochází k destrukci β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu, které jsou zodpovědné za produkci inzulínu snižujícího hladinu glykémie v krvi. Bohužel je ale častěji zastoupen diabetes II. typu, který odráží především nezdravý životní styl. Ten se většinou objevuje v pozdějších letech života a drtivá většina pacientů současně trpí nadváhou.

Epidemiologické studie v posledních letech hlásí mnohonásobně zvýšenou incidenci diabetu (Newsholme et al. 2016). Přestože máme mnoho nových generací léků a pokroků v léčbě, prevalence diabetu intenzivně roste (Volpe et al. 2018). Dle WHO v současné době je 415-420 miliónů lidí zatíženo diabetem I. typu či II. typu, což je necelých 10 % celosvětové populace. Prevalence u žen je okolo 8 %, zatímco v mužské populaci je prevalence lehce vyšší, okolo 9 %. V rámci těchto čísel je častěji zastoupen diabetes II. typu. Do roku 2030 je předpoklad, že výskyt diabetu ještě rapidně poroste. Očekávaná čísla hovoří až o 640 miliónech případů (Newsholme et al. 2016).

3.7.2 Nádorové bujení a teratogenita

ROS jsou dlouho spojovány s rakovinným bujením (Moloney & Cotter 2018). Téměř ve všech případech rakovinného bujení byly v organismu zároveň zvýšené hladiny ROS tvořené nádorovými buňkami. Reaktivní formy kyslíku se významně podílejí na samotném vzniku nádoru a na progresi tohoto onemocnění. Nádorové buňky samy o sobě zvyšují hladiny antioxidantních proteinů schopných redukovat ROS. Tento fakt naznačuje, že zde existuje snaha těchto buněk udržovat intracelulární rovnováhu ROS (Liou & Storz 2010). Dále ROS působí jako signální molekuly u nádorů, přispívají k abnormálnímu růstu buněk a metastázám. Produkce ROS podněcuje ke genomové nestabilitě a poškození DNA. To je důvod rezistence k farmakoterapii a také důvod častých relapsů. Terapie, která se zaměřuje na snížení produkce a výskytu ROS v organismu se tak jeví jako dobrá terapie při léčbě nádorového onemocnění (Moloney & Cotter 2018).

Hageman et al., již v roce 1988, ve své studii frakcionovali tuky za pomoci chromatografické kolony na polární a nepolární části. **Mutagenní aktivita** polárních částí přímo korelovala s hladinou látky, která pozitivně reagovala s thiobarbiturovou kyselinou (TBA). Můžeme se tak silně domnívat, že účast produktů oxidace tuků na mutagenní aktivitě je více než oprávněná. Reaktivní formy kyslíku jako je superoxid, hydroxylový radikál a peroxid vodíku a jejich metabolity hrají důležitou roli v procesu karcinogeneze (Lobo et al. 2010). ROS podněcují poškození DNA. Reakce volných radikálů s molekulou DNA způsobuje oxidaci báze DNA a cukerných fragmentů. To přispívá ke vzniku jednovláknových zlomů a dále mohou vznikat abazická místa v řetězci DNA. Pokud jsou tato poškozená místa v těsné blízkosti, tak opravné mechanismy nemusí pokrýt všechna poškození. Výsledkem je vznik dvouvláknových zlomů DNA. Neopravené dvouvláknové řetězce jsou letální. Oxidované báze pak působí karcinogenně a cytotoxicky (Hegde et al. 2012). Zhong et al. (1999) svými pokusy prokázali, že i samotné těkavé emise vznikající z tepelného média (olej, tuk) ke kulinárním účelům jsou mutagenní. S ohledem na běžné teploty používaných na smažicí proces jsou výpary bohaté na těkavé aldehydové fragmenty, a to včetně akroleinu. Akrolein je jeden z nejvíce toxických nenasycených aldehydů vznikajících tepelnou oxidací PUFA. Tím pádem i samotné vdechování těchto mutagenních výparů má za následek zvýšené riziko rakoviny plic. Jak se dalo předpokládat, snížením teploty vaření či smažení, případně přidání antioxidantů rozpustných v tucích (jako je např. BHA), se hladiny těchto těkavých mutagenních složek snížily (Grootveld et al. 2001).

Vyjma rizika rakovinného bujení hrozí i potenciální možnost **teratogenity**. V *in vitro* podmínkách mohou vznikat volné radikály odvozené od kyslíku. Ty pak mohou zapříčinit malformaci embrya. Celý princip a mechanismus je předmět mnoha spekulací. PUFA jsou snadno oxidovány volnými radikály, což vede ke vzniku cytotoxických aldehydických látek. Tyto látky mohou zavinit chromozomální defekty. Pokud je vyvíjející se embryo vystaveno tomuto působení, vývoj nového jedince může být ohroženo malformacemi. Pokusy provedeny na březích krysách toto vysoké toxické působení potvrdily. Výsledky poukazují na možnost, že příjem oxidovaných tuků a olejů během gravidity, může být méně či více zodpovědný za defekty neurální trubice (Grootveld et al. 2001).

Vysoké BMI může vést ke vzniku mnohočetných myelomů. Obézní pacienti trpí zvýšeným rizikem rozvoje tzv. Hodgkinova lymfomu (nádorové onemocnění lymfatické tkáně). Tyto onemocnění postihují obě pohlaví bez rozdílu. Dále je u obézních jedinců relativně zvýšené riziko rakoviny tlustého střeva, žaludku, karcinomu jícnu a cholangiokarcinomu. U diabetu je situace jiná. Lidé trpící diabetem jsou častěji náchylní na karcinom tlustého střeva a slinivky břišní. U žen je pak zvýšené riziko rozvoje rakoviny prsu. Muži pak trpí více na rakovinu jater a močového měchýře. Obézní populace současně s metabolickým syndromem má zvýšený oxidační stres, který je spojený s poškozením DNA. Mechanismus této patofyziologie bohužel doposud není známý (Rani et al. 2016).

3.7.3 Kardiovaskulární choroby

Za polovinu všech úmrtí jsou zodpovědné kardiovaskulární choroby (Lobo et al. 2010). Mezi kardiovaskulární choroby patří celá řada různých onemocnění. Mezi nejznámější patří hypertenze, dislipidemie, ateroskleróza, infarkt myokardu, angina pectoris a srdeční selhání (Rahman et al. 2012). Produkce reaktivních forem kyslíku a snížení antioxidační aktivity vede k různým abnormalitám. Mezi tyto abnormality se řadí **endoteliální dysfunkce** charakterizovaná snížením biologické dostupnosti vazodilátorů, zejména oxidu dusnatého (NO) (Dichi et al. 2014). Endoteliální buňky tvoří mechanickou bariéru. Současně se udává, že se jedná o metabolicky velmi aktivní tkáň. Podílí se na regulaci cévního tonu. Dále ovlivňují permeabilitu cév a ostatní cévní funkce (Vrablík et al. 2011). Pakliže dojde k omezení dostupnosti vazodilátorů, budou v převaze látky působící vazokonstrikčně, což přispívá k rozvoji kardiovaskulárních chorob (Dichi et al. 2014).

Ateroskleróza je komplexní problém, kdy dochází k hromadění plasmatických lipoproteinů a proliferaci buněčných elementů v cévní stěně. Celý proces vede nevyhnutelně k tvorbě aterosklerotického plátu. Tento plát při dostatečné velikosti může bránit arteriálnímu průtoku krve, což může indikovat další srdeční příhody (Rahman et al. 2012). Polynenasycené MK se vyskytují jako hlavní součást lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL) (Lobo et al. 2010). Oxidace těchto lipidových částí má hlavní roli při iniciaci aterogenního procesu (Matata & Elahi 2010). Po užití jídla bohatého na tuk, se zvýší hladina lipoproteinů v oběhu a ty se pak významným způsobem podílí na výskytu a závažnosti aterosklerózy. Potvrdilo se, že jedinci konzumující velké množství tuku jsou ohroženi sníženou funkcí endotelu. Oxidovaný cholesterol v postprandiálním stavu podporuje endoteliální dysfunkci. Tím se podílí na rozvoji aterosklerózy (Cohn 2002). Bylo shromážděno dostatečné množství důkazů, které prokazují, že oxidační procesy iniciované volnými radikály a jejich vzniklé produkty hrají klíčovou roli v aterogenním procesu. Centrem všeho jsou lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL), které v rámci své cirkulace volně opouštějí plasmu, kde jsou přítomné antioxidanty, a vstupují do subendoteliálního prostoru tepen. V tomto prostoru bez přítomnosti antioxidantů, dochází k oxidaci LDL frakcí. Tato oxidovaná forma následně vytváří aterosklerotické léze. Oxidovaný LDL je vychytáván makrofágy a podněcuje tvorbu dalších buněk aterosklerotického plátu, které zachytávají další a další látky (Rahman et al. 2012). V *in vivo* podmínkách dochází, po peroxidaci složek lipoproteinu s nízkou hustotou (LDL), ke stimulaci produkce tzv. pěnových buněk z makrofágů, což je zásadní proces v patogenezi aterosklerózy (Grootveld et al. 2001).

Makrofágy kumulují ve své cytoplasmě lipidy, tím se mění na pěnové buňky, které uvolňují cytokiny. Makrofágy vznikají z monocytů. Monocyty se adhezivními molekulami vážou na endotel. V cévní stěně se přeměňují na makrofágy, které následně spolupracují s T-lymfocyty a společně vytváří nestabilní aterogenní plát (Musil 2004). Následně dochází k proliferaci hladkého svalstva. LDL v oxidovaném stavu mohou regulovat expresi adhezivních molekul. Adhezivní molekuly usnadňují vazbu leukocytů. Veškeré tyto faktory usnadňují tvorbu plaku. U mnoha pacientů součet těchto negativních faktorů povede k infarktu myokardu a cévní mozkové příhodě (Rahman et al. 2012).

Cévní mozková příhoda je jednou z hlavních příčin invalidity a úmrtnosti lidí. Stav ischemie a reperfuze, který se po cévní mozkové příhodě objevuje, je spojen s reakcemi zprostředkovanými volnými radikály, což může vést k buněčné smrti (Rahman et al. 2012). Cévní mozková příhoda je důsledkem přerušení či extrémního omezení průtoku krve v cévách (Crack & Taylor 2005) To vede k metabolickým změnám objevujícím se do několika sekund od omezení průtoku (Rahman et al. 2012). Po cévní mozkové příhodě dojde k omezení přísunu glukosy a kyslíku do neuronů a buněk, což nezvratně vede k buněčné smrti (Crack & Taylor 2005). Pokud v co nejkratší době dojde k reperfuzi, tkáň může být zachráněna. Mozkové buňky v penumbrální zóně jsou dostatečně zásobovány krví, čili mohou zůstat životaschopné po delší dobu od omezení průtoku krve (Crack & Taylor 2005). Bohužel i reperfuze může mít negativní následky. Po obnovení dodávání kyslíku (reoxygenaci) může potenciálně dojít k oxidačnímu stresu a výsledkem je celá škála neenzymatických oxidačních reakcí, jak v cytosolu, tak v jiných buněčných kompartmentech. Ischemie vede ke kaskádě reakcí vedoucí k tvorbě volných radikálů hned několika cestami. Tyto mechanismy zahrnují aktivitu xanthinoxidázy [1.1.3.22], cyklooxygenázy [EC 1.14.99.1] a jiných zánětlivých buněk. Taktéž se na tom podílí zvýšené koncentrace aspartátu a glutamátu. Všechny tyto látky přispívají k tvorbě volných radikálů excitotoxickými mechanismy. Po obnovení průtoku krve tyto vzniklé zánětlivé buňky mohou podporovat další vývoj oxidačního stresu. Důsledkem je pak velký vzestup hladiny kyslíkových radikálů (Rahman et al. 2012).

3.7.4 Neplodnost

Oxidační stres, vzniklý z různých příčin, je označován jako jeden z mnoha faktorů vedoucí k neplodnosti. Pro představu – jen samotný tabákový kouř je složen z přibližně 4000 sloučenin. Mnoho z těchto látek je reaktivní kyslíkové formy. Bylo zjištěno, že spermie kuřáků jsou mnohem náchylnější na denaturaci DNA, protože jejich spermie mají mnohem větší výskyt zlomů DNA, než mají nekuřáci. V kombinaci se stravou bohatou na oxidované tuky, a obecně s nezdravým životním stylem, je značně ohrožena reprodukční schopnost jedinců (Rahman et al. 2012). Téměř polovina problémů týkajících se neplodnosti v páru pocházejí od **muže**. Problémy s početím se týká přibližně 15 až 25 % párů (Agarwal et al. 2014). Mužská reprodukční patologie může být vrozená či získaná. Problém spočívá v narušení fyziologické spermatogeneze. Mužský organismus značně zatížený prooxidanty a oxidativními produkty může mít poškozenou DNA spermií. Předpokládá se, že takto poškozená spermie není schopná oplodnění. Klíčovými faktory plodnosti je množství a pohyblivost spermií. Tyto zásadní předpoklady bývají narušovány ROS. Nicméně určitá hladina ROS je potřebná pro zrání

a funkce spermií. Hlavním zdrojem semenných ROS jsou ještě nezralé spermie a leukocyty. Pokud hladina ROS pocházejících od spermií je neúměrně vysoká, může docházet k peroxidaci lipidů spermií a výsledkem je poškození plasmatické membrány a vznik oxidačního stresu. Abnormální a neživotaschopná spermie je pak zdrojem dalších ROS, to pak způsobuje narušení vývoje jiných spermií a jejich funkce. V nejzávažším případě dojde až k apoptóze. Role oxidačního stresu na mužskou plodnost je již detailně prozkoumaná a potvrzená (Agarwal et al. 2012).

Problémy s plodností se netýkají pouze mužů. Vlivem dnešního životního stylu a tendence obracet se k nezdravým potravinám, se neplodnost čím dál častěji vyskytuje i u žen. Oxidační stres společně s ROS podmiňuje vznik mnoha ženských reprodukčních problémů. Agarwal et al. (2012) se ve svém článku detailně zabývali vlivem oxidačního stresu způsobeným ROS. Jejich článek popisuje vliv ROS na různé gynekologické obtíže žen. Tyto obtíže zahrnují např. endometriózu, syndrom polycystických ovarií, těhotenské komplikace a neplodnost. Snížení antioxidační aktivity, zatížené nadměrným oxidačním stresem, může dále vést k výskytu spontánních potratů. Dále se ROS podílí na předčasné ruptuře fetálních membrán. Taktéž nebyla vyloučena možnost vlivu ROS na výskytu těhotenské preeklampsie (Rahman et al. 2012). Okolo 6-10 % žen v reprodukčním věku se potýká s endometriózou. **Endometrióza** je multifaktoriální benigní gynekologická porucha, která je značně závislá na estrogenu. Je charakterizována přítomností endometriální tkáně mimo dělohu. Onemocnění je spojeno s bolestí v pánevní oblasti a neplodností. Některé publikace také zmiňují, že endometrióza může být způsobena hned několika faktory. Tyto příčiny zahrnují retrográdní menstruaci, narušené imunologické problémy, genetická predispozice a přítomnost zánětlivých složek.

Studie, které se zabývaly vlivem oxidačního stresu na výskytu endometriózy, vykazovaly smíšené výsledky. Některé výsledky neprokázaly tento vliv (Wang et al. 1997; Polak et al. 2001), nicméně jiné hlásily vyšší koncentraci markerů oxidačního stresu u pacientek trpících endometriózou (Jackson et al. 2005; Mier-Cabrera et al. 2011). Zjistilo se, že u těchto pacientek se nacházel malondialdehyd, prozánětlivé cytokiny a oxidovaný LDL v peritoneální tekutině. Dále peritoneální tekutina vykazovala nižší výskyt antioxidantů, konkrétně askorbové kyseliny (Mier-Cabrera et al. 2011). Dále se ženy potýkají s výskytem syndromu **polycystických ovarií** (PCOS). Je to nejčastější endokrinologický problém žen. Prevalence je zde ještě vyšší než u endometriózy. Tento problém se týká až 18 % žen. Typickým klinickým obrazem jsou menstruační poruchy, které buď zahrnují celkové vymizení menstruace, či naopak způsobují abnormální krvácení. Dále se u pacientek objevují typické kožní problémy. Udává se, že okolo 90 % pacientek s polycystickými ovariemi není schopno otěhotnění. Stejně jako u endometriózy je toto onemocnění spojeno se sníženým zastoupením antioxidantů. To je důvod, proč se polycystické ovarie spojují s oxidačním stresem. Důvodem je snížení spotřeby kyslíku a glutathionu v mitochondriích. Tato mitochondriální disfunkce, která je spojována s PCOS, je vysvětlována zvýšenou hladinou ROS (Agarwal et al. 2012). Hned v několika studiích se potvrdil vyšší výskyt malondialdehydu (MDA) u žen s PCOS, než tomu bylo u zdravých žen. Jedna provedená analýza prokázala, že u žen se syndromem PCOS s ohledem na věk i BMI, byly zjištěny několikrát vyšší hladiny MDA, než tomu tak bylo u zdravých žen

(až o 47 %) (Mohammadi 2019). Kuşçu and Var (2009) se ve svém výzkumu také zabývali hladinou MDA v krvi u pacientek s PCOS. Prokázali, že u skupiny pacientek s PCOS došlo k několikanásobnému navýšení. Nicméně vyvrátili, že by toto zvýšení souviselo s hodnotou BMI žen. Hladina MDA tedy nesouvisí s nadváhou ani s obezitou. BMI ani věk pacientek totiž nebyly zaznamenány.

3.8 Stanovení tukových čísel

Kontrola kvality potravin je v dodavatelském potravinovém řetězci nezbytně nutná. Určující pro cenu potravin je jejich kvalita. Kvalita musí být posouzena na základě několika parametrů. Metody volumetrického a spektroskopického charakteru jsou klíčové analytické metody používané pro základní zjištění kvality tuků. Na této úrovni probíhá stanovení čísla kyselosti, peroxidové číslo, jodové číslo, a případně ansidinového čísla a čísla zmýdelnění. Všechny tyto metody byly vyvinuty a standardizovány před mnoha lety. Do dnešní doby se používají bez větších změn (Zailer 2019).

Tabulka 1: Tuková čísla a stanovované vlastnosti tuků. Zdroj: Kleckerová (2014), upraveno.

TUKOVÉ ČÍSLO	STANOVOVANÁ VLASTNOST
Číslo kyselosti	Obsah volných mastných kyselin
Jodové číslo	Obsah dvojných vazeb
Peroxidové číslo	Obsah polárních látek-tvorba hydroperoxidů
Číslo zmýdelnění	Obsah veškerých mastných kyselin
Esterové číslo	Obsah esterově vázaných mastných kyselin
Hydroxylové číslo	Obsah hydroxylových skupin
Anisidinové číslo	Obsah aldehydů (epoxidů...)

3.8.1 Číslo kyselosti (ČK)

Číslem kyselosti lze určit množství volných mastných kyselin v tuku a olejích (Zailer 2019). Stanoví se tím stupeň hydrolytického štěpení tuků, respektive uvolnění zmíněných volných MK. K tomuto jevu dochází během stárnutí tuků (Kleckerová 2014). Číslo kyselosti je vyjadřováno jako množství KOH potřebného k neutralizaci volných MK v 1 g tuku či oleje (Dijkstra 2016). Při stanovování čísla kyselosti se analyzovaný vzorek rozpustí ve směsi rozpouštědel a je titrován ethanolickým roztokem KOH. Jako indikátor bodu ekvivalence je využíván fenolftalein. Bod indikace je určován dosažením trvalého růžového zabarvení (Davídek et al. 1981). Putri et al. (2021) ve svém článku zmiňuje výsledky výzkumu prováděné Ratiem et al. (2016), kteří provedli výzkum, kdy zkoumali, jak se mění číslo kyselosti rybiho oleje z makrely. Před neutralizačním procesem měl tento rybí olej číslo kyselosti 31,52 mg KOH/g. Po neutralizačním procesu došlo ke snížení této hodnoty na hodnotu nejvýše 5,32 mg KOH/g. Poukazuje to na fakt, že neutralizační proces snižuje degradaci triacylglycerolů a tím se snižuje podíl volných MK.

3.8.2 Jodové číslo (JČ)

Jodové číslo bývá označováno jako nejčastější hodnota oleje. Je určeno hmotností navážky, která se určuje dle očekávaného jodového čísla. Pokud je předpokládaná hodnota nízká (0-5 I₂/100 g tuku či oleje), tak se navážka pohybuje okolo 3 g. Pokud je zde předpoklad vyšší hodnoty jodového čísla (>130 I₂/100 g tuku či oleje), tak se hmotnost navážky pohybuje v podstatně menších řádech, okolo 0,10 g (Dijkstra 2016). Principem stanovení je, že se na dvojnásobné vazby MK naváže halogen a přebytečné množství halogenu se stanoví jodometrickou titrací, kde se jako odměrný roztok využívá thiosíran sodný. Bod indikace na konci titrace se určuje za pomoci škrobového mazu (Davídek et al. 1981). Čím vyšší je stupeň nenasycení, tím více halogenu bude absorbováno a tím bude vyšší i jodové číslo (Cruz et al. 2014).

Tabulka 2: Tabulka vybraných druhů tuků a olejů, a jejich orientační hodnota jodového čísla. Zdroj: Cruz et al. 2014.

TYP VZORKU	HODNOTA JODOVÉHO ČÍSLA
TUK V MASE:	
Hovězí lůj	42-48
Skopový lůj	32-44
Vepřové sádlo	50-65
Drůbeží tuk	50-80
RYBÍ OLEJ:	
Losos	165,8
Sardinka	156,2
Tuňák	162,0
Treska	142,0
Chobotnice	168,0

Tabulka 3: Předpokládané hodnoty jodového čísla a k nim odpovídající navážky. Zdroj: Cruz et al. (2014).

PŘEDPOKLÁDANÁ HODNOTA JČ	NAVÁŽKA VZORKU (g)
5	3,000
5-20	1,000
21-50	0,400
51-100	0,200
101-150	0,130
151-200	0,100

Ryby mívají vyšší hodnotu jodového čísla, to poukazuje na fakt, že jsou díky vyššímu stupni nenasycení náchylnější k oxidaci. Stanovení jodového čísla by mělo probíhat v nepřítomnosti světla a za přebytku halogenu (Cruz et al. 2014). Nejběžněji se využívají dvě

hlavní modifikace stanovení – dle Wijse a dle Hanuše. Přesnost obou zmíněných metod je takřka totožná. Rozdíl spočívá pouze v rozdílnosti počátečních činidel (Davídek et al. 1981).

3.8.3 Peroxidové číslo (PČ)

Produktem časné oxidace je peroxid a hydroperoxid (Dijkstra 2016). Peroxidy či hydroperoxidy nenasycených lipidů uvolní během oxidace v kyselém prostředí z jodidu jód. Potřebná chemická reakce probíhá v přítomnosti chloroformu a kyseliny octové (Kleckerová 2014). Používá se především jodometrická titrace thiosíranem sodným, kde se jako indikátor používá škrobový maz (Davídek et al. 1981). Běžně se vyjadřuje v miliekvivalentech (mEq) peroxidů na kilo vzorku. Přestože jodometrická titrace je nejběžnější metoda pro stanovení peroxidového čísla, nejedná se o zcela přesnou metodu. Titrace je časově náročná, pracná a vyžaduje větší množství vzorku. Navíc výsledky mohou být ovlivněny vícero faktory – přítomností kyslíku, světla a absorpcí jódu nenasycenými MK ve vzorku (Cruz et al. 2014). Boran et al. (2006) ve svém článku uvádí přijatelné hodnoty peroxidového čísla v rybím oleji. U surového rybiho oleje se rozmezí pohybuje od 3-20 mEq/kg. Nicméně přijatelnost peroxidového čísla je udávána v rozmezí 7-8 mEq/kg. Peroxidace lipidů je považována za nejčastější příčinu oxidativního poškození tuků (Zailer 2019). K oxidačním procesům může docházet vlivem skladování a výsledkem je zhoršení kvality oleje. Jinými slovy lze říci, že hodnota peroxidového čísla odráží stáří daného tuku (Dijkstra 2016).

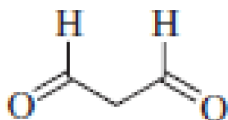
Tabulka 4: Očekávané hodnoty peroxidového čísla a k němu odpovídající navážka. Zdroj: Cruz et al. (2014).

OČEKÁVANÁ HODNOTA PČ (mEq/kg)	NAVÁŽKA VZORKU (g)
0-2	5
2-10	2
10-25	1
25-50	0,5
50-100	0,3

3.9 Malondialdehyd (MDA)

Reaktivní formy kyslíku (ROS) jsou silně reaktivní molekuly, které napadají ostatní molekuly (proteiny, DNA, PUFA). Pokud ROS interagují s PUFA, vznikají peroxidy lipidů (Tsikas 2017). Napadají především polynenasycené MK, protože v jejich molekule se nachází mnoho reaktivních míst vodíků (Jadoon & Malik 2017). Tento jev je pojmenován jako „oxidační stres“. ROS vznikají činností enzymů, ale i chemickou redukcí molekulárního kyslíku. Jako zástupce kyslíkového radikálu lze uvést např. superoxidový radikál ($\cdot\text{O}_2^-$). Lipidové peroxidy jsou samy o sobě nestabilní a rozkládají se na řadu sloučenin, jako například malondialdehyd (MDA), který si v posledních letech získává výraznou pozornost (Singh et al. 2014; Barrera et al. 2018). Díky jeho stabilitě slouží jako vhodný marker pro určování oxidačního stresu (Mohammadi 2019). Jeho syntéza v organismu je výsledkem lipidové peroxidace polynenasycených MK, především arachidonové kyseliny (Ayla et al. 2014). Ze všech možných produktů peroxidace lipidů vzniká ve velkém množství (Barrera et al. 2018).

Jedná se o toxický aldehyd nesoucí s sebou značná rizika pro organismus (Ayla et al. 2014). Článků zabývajících se problematikou oxidačního stresu rapidně přibývá. Udává se, že oxidační stres je spojen s výskytem nemocí, stárnutím a v nejhorších případech vede až k úmrtí jedince (Tsikas 2017).



Obrázek 5: 2D chemická struktura MDA. Zdroj: Nair et al. 2008

MDA je při pokojové teplotě pevná látka podobající se tvarem jehlici. Jeho molární hmotnost je $72,02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ a má vysoký bod varu $1080 \text{ }^\circ\text{C}$ (Singh et al. 2014). Čistý MDA není komerčně dostupný. Lze jej syntetizovat z komerčních prekurzorů jako je např. 1,1,3,3-tetraethoxypropan kyselou hydrolyzou (např. $0,1 \text{ M HCl}$). Sloučenina MDA je rozpustná v ethanolu, mírně rozpustná je v methylenchloridu. V diethyletheru je nerozpustná. Co se kyselosti týče, je MDA stejně kyselý, jako jsou alifatické karbonylové sloučeniny (Tsikas 2017). Taktéž podstupuje obdobné reakce, jako je např. tvorba solí (Nair et al. 2008). Reaktivita MDA je závislá na pH prostředí. Při fyziologickém pH vykazuje nízkou reaktivitu. Při snížení pH jeho reaktivita značně stoupá. Jeho vysoká reaktivita je podmíněna jeho elektrofilitou. Jeho elektrofilita způsobuje silnou afinitu k nukleofilům (Ayla et al. 2014). Velmi snadno polymerizuje a ochotně reaguje s nukleofilními centry různých molekul, jako jsou aminokyseliny, bílkoviny a DNA (Tsikas 2017). MDA je schopný ovlivňovat řadu signálních drah a může se kovalentně vázat na proteiny a DNA (Barrera et al. 2018). Především se váže na thiolové a amino skupiny bílkovin a nukleových kyselin, čímž je značně poškozuje. Jeho vysoká reaktivita je i důvodem, proč se v organismu vyskytuje především ve vázané formě. Pouze v malém množství ho lze nalézt ve volné formě (Matějčková et al. 2011).

Poprvé se možná **karcinogenita** MDA projevila v roce 1972 po podání myším. U myši byl pozorován vznik tumorů ve velmi krátké době, což nebyl obvyklý jev. Nicméně následující pokusy prokázaly relevanci tohoto jevu se již nezdařily (Marnette 1999). V dnešní době je potvrzeným faktem, že MDA je mutagenní a poškozuje DNA. V buňkách narušuje proces replikace tím, že pozměňuje báze nukleových kyselin. Uvnitř DNA reaguje s deoxyadenosinem a deoxyguanosinem. Přeměňuje guanin na thymin, adenin na guanin a cytosin na thymin. MDA dále podněcuje vážné poškození buněčných struktur (Jadoon & Malik 2017). Tvorba endogenního MDA v rámci intracelulárního buněčného stresu a jeho reakce s DNA formuje MDADNA addukty, což jsou bioindikátory endogenního poškození (Singh et al. 2014). Tato genetická změna indukovaná pomocí MDA může významně zvyšovat riziko rozvoje mnoha onkologických onemocnění a dalších genetických poruch (Ayla et al. 2014). Vyšší hladiny plasmatického MDA vykazují onkologičtí pacienti, kteří podstupují léčbu např. rakoviny plic (Matějčková et al. 2011; Singh et al. 2014). Dále byla zvýšená koncentrace MDA nalezená u pacientek s diagnostikovanou rakovinou prsu (Matějčková et al. 2011). Matějčková et al. (2011) provedli studii, ve které stanovovali hladiny MDA v krvi u pacientek léčených

s diagnózou rakoviny dělohy a vaječníků. V rámci své studie neoddělovali oba typy nádorů, ale posuzovali je společně. Pacientky byly porovnávány se zdravými ženami. Výsledky jednoznačně prokázaly vyšší koncentraci MDA u pacientek onkologicky léčených. U pacientek s karcinomem činila hodnota MDA $11,8 \pm 1,5 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, u zdravých žen byla koncentrace nižší, okolo $6,9 \pm 1,8 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$. Autoři udávají, že zvýšená hladina MDA koreluje se zvýšenou oxidační zátěží v průběhu karcinogeneze, která se projevuje zvýšenou lipoperoxidací. Prokázali tak, že hladina MDA může sloužit jako biomarker pro včasnou diagnostiku nádorových onemocnění.

I pacienti léčených na **diabetes mellitus** vykazují zvýšené hladiny MDA v plasmě. Současně s tím jsou zaregistrovány i celkové stavy snížení koncentrace plasmatických hladin α -tokoferolu a celkového obrazu antioxidantů. Každopádně je potřeba brát v potaz možné dietní chyby, kdy tyto snížené hladiny antioxidantů mohou korelovat i s neadekvátní stravou (Rodrigo 2009). Berhardt (2010) zmiňuje, že MDA se běžně používá jako marker stanovení ve studiích zabývajících se diabetickými onemocněními. Udává, že vysoká hladina MDA je podstatná pro rozvoj pozdějších diabetických komplikací. Experimenty podporují myšlenku, že existuje souvislost mezi endoteliální disfunkcí a zvýšenou hladinou glukosy v krvi. To může být zapříčiněno produkcí volných radikálů (Berhardt 2010; Nakhjavani et al. 2010). Expozice zvýšené hladiny glukosy a zároveň výskyt vyšší koncentrace mastných kyselin v krvi, může na mnoho typů buněk působit až toxicky. Souhrnně se tento stav označuje jako glukolipotoxicita. Oxidační stres u diabetu je dlouhodobě zvýšen v důsledku nadměrné glykémie a nerovnováhy mezi oxidanty a jejich antioxidanty. MDA je klíčovým hráčem v oxidačním procesu lipoproteinu o nízké hustotě (LDL) na vzniku jeho oxidované formy (ox-LDL). Jeho patologie spočívá v indukci aterogenního procesu (podpořením infiltrace monocytů a migraci s následnou proliferací buněk hladkého svalstva), v aterotrombóze (indukcí apoptózy endoteliálních buněk) až následnou erozí plaku (narušením endoteliální antikoagulační aktivity). Komplikace spojené s diabetem značně závisí na délce zatížení organismu tímto patologickým stavem. Kontroverzí stále zůstává souvislost délky diabetu a koncentrací MDA v plasmě (Nakhjavani et al. 2010). Nakhjavani se svým týmem v roce 2010 provedli pokus, ve kterém se snažili najít korelaci mezi délkou trvání diabetu a hladinou MDA v krvi. Jejich výzkum tuto korelaci objevil. Zaznamenali, že u pacientů s délkou trvání diabetu > 120 měsíců bylo pozorováno významné zvýšení hladin MDA. Zvýšené hladiny MDA v krvi byly pozorovány i u pacientů s **Alzheimerovou a Parkinsonovou chorobou** a pacientek s **preeklampsií**. Se zvýšenou zátěží MDA se setkáváme i u **kuřáků** (Matějčková et al. 2011).

MDA spadá do skupiny látek, které reagují s kyselinou thiobarbiturovou (TBA). Reakce s TBA je nejběžněji užívanou metodou pro stanovení koncentrace MDA ve vzorku (Singh et al. 2014). Analyzovaný vzorek je zahříván společně s TBA při vysoké teplotě v kyselém prostředí. Vzniká konjugát MDA-TBA, čímž dojde i k vytvoření růžového barevného komplexu. Jeho absorpční maximum se pohybuje okolo 532-535 nm (Siems & Grun 2005). Nicméně je nutné podotknout, že ačkoliv je test s thiobarbiturovou kyselinou nejčastěji používaný, nejedná se o zcela přesný test. Thiobarbiturová kyselina může reagovat i s ostatními aldehydy vyskytujícími se ve vzorku a může docházet ke zkreslování výsledků. Stanovení MDA může probíhat v různých typech vzorků, včetně séra, plasmy i v samotných tkáních. Monitorování

hladin MDA v různých biologických vzorcích slouží jako indikátor peroxidace lipidů *in vitro* i *in vivo* v rámci celé škály zdravotních problémů (Singh et al. 2014).

4. Metodika

Pro zjišťování kvality a stability tuků byly použity dva druhy ryb z čeledi sled'ovitých (*Clupeidae*). Konkrétně byly použity sardinky a šproty, které podléhaly tepelné úpravě pečením a smažením na řepkovém oleji. Část vzorků byla ponechána v syrovém stavu a sloužila jako kontrolní skupina. Pro stanovení tukových čísel byly použity titrační metody. Stanovování malondialdehydu ve vzorcích probíhalo spektrofotometrickou metodou.

4.1 Použité vzorky ryb

Byly použity sardinky (*Sardina pilchardus*) značky FISH&FRESH pocházejících z pobřeží Francie, konkrétně z oblasti Biskajského zálivu a zálivu La Manche. Vzorky přišly vakuově baleny v chlazeném stavu a byly ihned zamrazeny. Následně byly zmražené vzorky rozmrazeny při pokojové teplotě a zváženy. Bylo pracováno s celkovou hmotností 1 420 g. Pro kontrolní skupinu bylo ponecháno 420,265 g v syrovém stavu. Kontrolní skupina byla použita pro srovnání oproti sardinkám podléhajícím tepelné úpravě. Pro tepelnou úpravu pečením bylo ponecháno 498,860 g a pro tepelnou úpravu smažením na řepkovém oleji bylo připraveno 500,940 g.

Šproty (*Sprattus sprattus*) od značky KIMBEX byli vyloveni v Baltském moři. Vzorky přišly ve vakuově zabaleny v zmraženém stavu a byly i tak uchovávány. Zmražené vzorky byly rozmrazeny při pokojové teplotě a zváženy. Na počátku bylo pracováno s celkovou hmotností 2 963,881 g. Pro kontrolní skupinu bylo ponecháno 1029,037 g v syrovém stavu. Pro tepelnou úpravu pečením bylo použito 978,995 g. Pro smažení na řepkovém oleji bylo připraveno 955,849 g.

4.1.1 Parametry tepelné úpravy

4.1.1.1 Pečení

Sardinky byly rovnoměrně rozprostřeny na pekáči, přikryty alobalem a pečeny 30 minut při 200 °C v horkovzdušné peci. Po upečení hmotnost sardinek činila 373,95 g. Došlo tedy ke ztrátě 124,895 g vody. Po vychladnutí byly sardinky umístěny do uzavíratelného plastového sáčku a opětovně zmrazeny.

Obdobným způsobem byly tepelně upraveny i šproty. Byly rovnoměrně rozprostřeny na pekáči, přikryty alobalem a ponechány v horkovzdušné peci 30 minut při 200 °C. Po upečení byla celková hmotnost 795,429 g. Během pečení bylo ztraceno 183,556 g vody. Po řádném vychladnutí byly šproty přemístěny do plastového sáčku a opětovně zamrazeny.

4.1.1.2 Smažení

Pro smažení bylo použito 500,940 g sardinek. Sardinky byly smaženy dozlatova ve fritéze v řepkovém oleji při 180 °C po dobu 5 minut. Po smažení byl přebytečný olej na sardinkách osušen a sardinky byly zváženy. Celkem bylo získáno 375,481 g sardinek. Dohromady tedy bylo ztraceno 125,459 g vody. Po vychladnutí byly sardinky umístěny do uzavíratelného plastového sáčku a zamrazeny.

K účelům smažení bylo ponecháno 955,849 g šprotů. Ke smažení došlo na řepkovém oleji při 180 °C po dobu 5 minut. Po smažení byl přebytečný olej osušen a po vychladnutí byli šproty zváženy. Při smažení bylo ztraceno 231,169 g vody. Celková hmotnost šprotů nakonec činila 724,68 g.

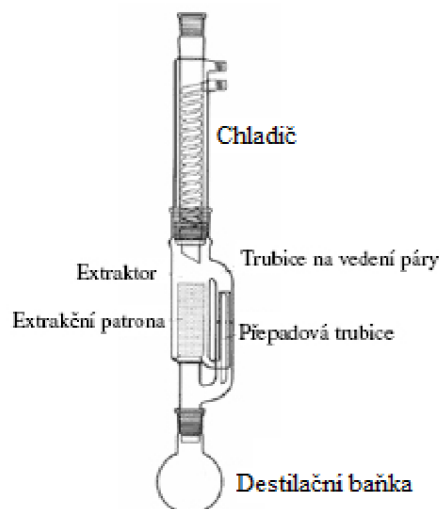
Teplně upravené sardinky i šproty byly po vymražení lyofilizovány po dobu sedmi dní a následně před další analýzou byly důkladně zhomogenizovány. Kontrolní skupiny byly po zvážení zmrazeny a taktéž podléhaly lyofilizaci s teplně upravenými vzorky po dobu 7 dní a poté homogenizaci pomocí mlýnu.

4.1.2 **Použitá extrakční metoda**

Ze zhomogenizované matrice byl tuk vyextrahován extrakční směsí ethanol:aceton:hexan (1:1:2; v/v/v). Zhomogenizovaná matrice byla ve velké kádince smíchána s extrakční směsí. Na 100 g matrice bylo spotřebováno cca 200 ml extrakční směsi. Vzniklá směs byla filtrována přes Büchnerovu nálevku do filtrační baňky. Během filtrace byla průběžně přidávána extrakční směs až do celkové spotřeby 800 ml. Vzniklý filtrát byl převeden do odparné baňky a při 40 °C odpařován na vakuové odparce. Získaný tuk byl do další analýzy uchováván v chladu, a do jednoho týdne zpracován, aby se co nejvíce zamezilo degradačním procesům.

4.2 **Stanovení obsahu tuku**

Ke stanovení obsahu tuku byl využit Soxhletův extraktor. Do střední části extraktoru byla vložena papírová patrona s matricí o hmotnosti 10,000 g. Jako rozpouštědlo byl využit hexan o objemu 150 ml. Celý proces extrakce probíhal 6 hodin a následně byl zbytek rozpouštědla odpařen na vodní lázni. Baňka se získaným tukem byla vložena do sušárny, kde byla podrobena teplotě 105 °C po dobu 10 minut. Po uplynutí 10 minut, byla baňka vyndána ze sušárny a ponechána vychladnout při pokojové teplotě. Nakonec byl zvážen vyextrahovaný tuk v baňce.



Obrázek 6: Náčrt Soxhletova extraktoru. Dostupné z: <https://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/labtech/pages/soxhlet.html>

4.3 Stanovení čísla kyselosti

Stanovení čísla kyselosti bylo prováděno dle metodiky J. Davidka (1981).

4.3.1 Příprava a standardizace odměrného roztoku ethanolickeho 0,1 M KOH

4.3.1.1 Příprava odměrného roztoku KOH o koncentraci 0,1 M:

Byla vypočtena navážka pro přípravu 500 ml roztoku o koncentraci 0,1 M hydroxidu draselného (KOH). Vypočtené množství látky bylo naváženo na předvážkách a převedeno do 250 ml odměrné baňky. Baňka byla nakonec doplněna po rysku 96% ethanolem, p.a. a řádně promíchána.

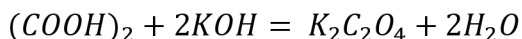
4.3.1.2 Příprava standardního roztoku (COOH)₂ o koncentraci 0,05 M:

Vypočtená navážka dihydrátu kyseliny šřavelové pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci 0,05 M byla navážena na analytické váze. Následně byla navážka kvantitativně převedena do odměrné baňky, doplněna po rysku destilovanou vodou a řádně promíchána.

4.3.1.3 Stanovení titru připraveného odměrného roztoku KOH titrací na roztok základní látky (COOH)₂:

Byreta byla nejprve propláchnuta destilovanou vodou. Pak byla naplněna odměrným roztokem KOH. Do titrační baňky bylo odměřeno přesně 20,00 ml roztoku (COOH)₂. Dále bylo do titrační baňky přidáno cca 30 ml destilované vody a pár kapek fenolftaleinu jako indikátoru.

Titrace probíhala do prvního stálého slabého růžového zbarvení. Standardizace byla prováděna 3x.



4.3.2 Postup stanovení čísla kyselosti

Do 250 ml Erlenmeyerovy baňky byl s přesností na 10 mg odvážen 1 g vzorku. Následně byl vzorek řádně rozpuštěn v 50 ml směsi ethanolu a diethyletheru (1:1). Nakonec bylo přidáno 5 kapek fenolftaleinu jako indikátoru. Titrace byla prováděna 0,1 M ethanolickým KOH do prvního trvalého slabě růžového zbarvení. Byly provedeny 3 opakování u každého vzorku rybího tuku. Slepý pokus byl připraven stejným způsobem, jen bez obsahu vzorku.

Číslo kyselosti bylo vypočteno dle následujícího vzorce:

$$\check{C}K = \frac{(a - b) \times c(\text{KOH}) \times M(\text{KOH})}{m}$$

Kde: a – spotřeba KOH při titraci vzorku (ml)
b – spotřeba KOH při titraci slepého pokusu (ml)
c (KOH) – přesná koncentrace KOH (mol/l)
M (KOH) – molární hmotnost KOH (g/mol)
m – hmotnost navážky tuku (g)

4.4 Stanovení jodového čísla dle Hanuše

Stanovení jodového čísla bylo prováděno dle metodiky J. Davidka (1981).

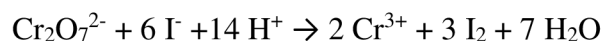
4.4.1 Příprava a standardizace odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ o koncentraci 0,1 M

4.4.1.1 Příprava odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ o koncentraci 0,1 M:

Byla vypočítána navážka pro přípravu 500 ml roztoku o koncentraci 0,1 M thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Vypočtené množství bylo odváženo na předvážkách. Odvážené množství bylo převedeno do odměrné baňky, která byla následně doplněna po rysku destilovanou vodou a řádně promíchána.

4.4.1.2 Příprava základní látky $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$:

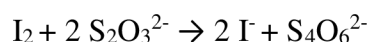
Byla vypočtena navážka dichromanu draselného ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), tak aby se spotřeba $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ pohybovala okolo 10 ml. Vypočtená navážka $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ se odvážila do titrační baňky a bylo přidáno 40 ml destilované vody. Po rozpuštění $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ byla do titrační baňky napipetována koncentrovaná 96% H_2SO_4 . Nakonec se byl přidán 1 g jodidu draselného (KI) a vznikl tmavě červený roztok.



Dichroman draselný je silné oxidační činidlo závisící na pH prostředí. Proto musí dojít k okyselení roztoku, aby reakce mohla probíhat kvantitativně. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ je nutné za pomoci nadbytku jodidu převést na ekvivalentní množství jódu.

4.4.1.3 Stanovení titru odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ titrací na navážku základní látky:

Byreta byla nejprve propláchnuta destilovanou vodou. Pak byla naplněna odměrným roztokem 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Vzniklý tmavě červený roztok $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ byl titrován $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do změny barvy na oranžovou. Po dosažení oranžové barvy bylo k roztoku přidáno pár kapek škrobového mazu a pokračovalo se v titraci do dosažení bodu ekvivalence- odbarvení roztoku. Standardizace odměrného roztoku byla provedena ve 3 opakováních.



4.4.2 Postup stanovení jodového čísla

Do Erlenmeyerovy baňky se zábrusem byl odvážen 0,1 g vzorku rybího tuku. Tuk byl rozpuštěn 10 ml chloroformu. Následně bylo k tuku přidáno 25 ml Hanušova činidla. Baňka byla uzavřena víčkem, řádně promíchána a ponechána v temnu po dobu 1 hodiny. Po uplynutí této reakční doby bylo k obsahu baňky přidáno 20 ml 10% KI a 150 ml destilované vody. Vzhledem k tomu, že jód má tendenci rychle unikat, byla opláchnuta i použitá víčka. Titrace byla uskutečněna 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ za použití škrobového mazu jako indikátoru. Stanovení probíhalo 3x u každého vzorku rybího tuku.

Jodové číslo bylo vypočteno dle následujícího vzorce:

$$J\check{c} = \frac{100 \times c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \times (V_1 - V_2) \times 0,1269}{m}$$

Kde: $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$ – skutečná koncentrace $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mol/l)
 V_1 – spotřeba $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci slepého pokusu (ml)
 V_2 – spotřeba $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci vzorku (ml)
 m – hmotnost navážky tuku (g)

4.5 Stanovení peroxidového čísla

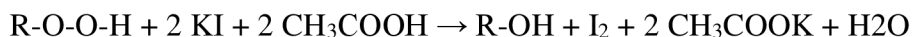
Stanovení peroxidového čísla bylo prováděno dle metodiky J. Davidka (1981).

4.5.1 Příprava a standardizace odměrného roztoku Na₂S₂O₃ o koncentraci 0,01 M

Princip přípravy a standardizace odměrného roztoku Na₂S₂O₃ je popsána v době 4.4.1. Příprava a standardizace je totožná. Jen se liší použitá navážka K₂Cr₂O₇, která odpovídá koncentraci 0,01 M Na₂S₂O₃.

4.5.2 Postup stanovení peroxidového čísla

Do baňky se zábrusem bylo odváženo 0,5 g rybího tuku. Navážený tuk byl rozpuštěn za pomoci 10 ml chloroformu. Po rozpuštění bylo přidáno 10 ml koncentrované 99% kyseliny octové (CH₃COOH). Obsah v baňce byl pečlivě promíchán. Po promíchání byl následně přidán 1 ml 50% KI. Stejně tak byl připraven i slepý pokus, pouze v něm nebyl obsažen vzorek. Baňka byla řádně protřepána, uzavřena víčkem a ponechána stát v temnu po dobu 5 minut. Po uplynutí reakční doby bylo k obsahu baňky dodáno 75 ml destilované vody a taktéž došlo k oplachu víček. Jako indikátor byl použit škrobový maz a bylo titrováno 0,01 M Na₂S₂O₃ do dosažení bodu ekvivalence. Stanovení probíhalo 3x u každého vzorku. Spotřeba u slepého pokusu by neměla překročit 0,5 ml. Do baňky se zábrusem bylo odváženo 0,5 g rybího tuku. Navážený tuk byl rozpuštěn za pomoci 10 ml chloroformu. Po rozpuštění bylo přidáno 10 ml koncentrované 99% kyseliny octové (CH₃COOH). Obsah v baňce byl pečlivě promíchán. Po promíchání byl následně přidán 1 ml 50% KI. Baňka byla řádně protřepána, uzavřena víčkem a ponechána v temnu po dobu 5 minut. Po uplynutí reakční doby bylo k obsahu baňky přidáno 75 ml destilované vody a taktéž došlo k oplachu víček. Jako indikátor byl použit škrobový maz a bylo titrováno 0,01 M Na₂S₂O₃ do dosažení bodu ekvivalence. Stanovení probíhalo 3x u každého vzorku. Obdobným způsobem byl připraven i slepý pokus, pouze byl z přípravy vynechán vzorek. Spotřeba u slepého pokusu by neměla překročit 0,5 ml.



Peroxidové číslo bylo vypočteno dle následujícího vzorce:

$$P\check{C} = \frac{1000 \times (V1 - V2) \times c (\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)}{m}$$

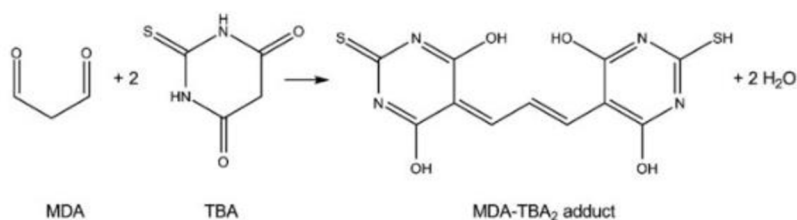
Kde: V1 – spotřeba Na₂S₂O₃ při titraci vzorku (ml)
V2 – spotřeba Na₂S₂O₃ při titraci slepého pokusu (ml)
c (Na₂S₂O₃) – přesná koncentrace Na₂S₂O₃ (mol/l)
m – hmotnost navážky tuku (g)

4.6 Stanovení malondialdehydu (MDA)

4.6.1 Příprava kalibrační křivky

Pro přípravu standardů malondialdehydu pro kalibrační křivku, byl využit prekurzor MDA, organická sloučenina 1,1,3,3-tetramethoxypropan (TEP) od firmy Sigma. Byl vytvořen

zásobní roztok TEP o koncentraci 1000 μM napipetováním 24,9 μl TEP do 100 ml odměrné baňky. Odměrná baňka byla doplněna po rysku destilovanou vodou. Z takto připraveného zásobního roztoku bylo odpipetováno 10 ml do 100 ml odměrné baňky. Ta byla následně doplněna 0,1 M HCl po rysku a vznikl tak pracovní roztok. Pracovní roztok byl umístěn ve vodní lázni o teplotě 60 °C po dobu 50 minut. Tím došlo k hydrolyze TEP za vzniku MDA. Po uplynutí reakční doby byl pracovní roztok zchlazen a byla z něho připravena kalibrační řada o koncentracích: 1 μM , 5 μM , 10 μM a 15 μM . Z pracovního roztoku se odpipetovalo 0,1 ml, 0,5 ml, 1,0 ml a 1,5 ml do příslušných skleněných zkumavek. Do všech zkumavek byla přidána 0,02 M TBA o objemu 5 ml a následně byly zkumavky doplněny 0,1 M HCl na konečný celkový objem 10 ml. Zkumavky byly umístěny do vroucí vodní lázně po dobu 35 minut. V průběhu varu došlo ke vzniku aduktu MDA-TBA₂ za současného růžového zbarvení obsahu zkumavek. Po uplynutí 35 minut byly zkumavky prudce ochlazeny a do 2 minut proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 538 nm oproti slepému pokusu. Slepý pokus byl připraven obdobným způsobem. Do zkumavky bylo napipetováno 5 ml 0,02 M TBA a 5 ml 0,1 M HCl a byla taktéž umístěna do vroucí lázně. Kalibrační řada byla připravena ve 2 opakováních a konečná kalibrační křivka je odrazem průměrů opakování.

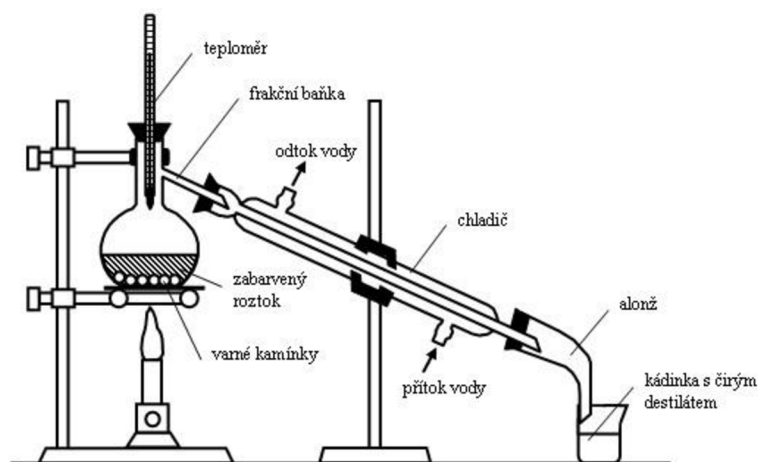


Obrázek 7: Chemická reakce MDA s TBA za vzniku jejich aduktu. Zdroj: Weitner et al. (2016), dostupné z:

https://www.researchgate.net/publication/304069866_Spectrophotometric_Determination_of_Malondialdehyde_in_Urine_Suitable_for_Epidemiological_Studies/figures?lo=1

4.6.2 Stanovení thiobarbiturového čísla (obsahu MDA)

Do destilační baňky byl s přesností na 10 mg odvážen 1 g vzorku tuku. Do baňky bylo posléze přidáno 50 ml destilované vody a 2,5 ml 3 M HCl. Obsah byl zhomogenizován mírným promícháním a do baňky byly přidány varné kamínky. Destilační baňka byla spojena s Liebigovým chladičem a zahřívána na topném hnízdě. Po 5 minutách od bodu varu byla titrace ukončena a získaný destilát byl doplněn na objem 25 ml destilovanou vodou. Po promíchání bylo 5 ml destilátu odpipetováno do skleněné zkumavky. Do zkumavky bylo k destilátu přidáno 5 ml 0,02 M TBA. Zkumavka byla uzavřena a opětovně promíchána. Poté byla umístěna na vroucí vodní lázeň na 35 minut. Po uběhnutí této doby proběhlo šokové zchlazení obsahu zkumavky. Do 2 minut po zchlazení byla změřena absorbance roztoku na spektrofotometru Helios γ při vlnové délce 538 nm oproti slepému pokusu. Slepý pokus byl připraven obdobným způsobem s tím, že místo vzorku bylo použito 5 ml destilované vody.



Obrázek 8: Nákres destilační aparatury. Dostupné z: <https://eluc.ikap.cz/verejne/lekce/2268>

5. Výsledky

V rámci této diplomové práce byly do pokusů zařazeny dva druhy ryb - sardinky (*Sardina pilchardus*) a šproty (*Sprattus sprattus*). Cílem práce bylo stanovit obsah a složení tuku u sardinek a šprotů před a po tepelné úpravě. Další cíl zahrnoval stanovení vybraných tukových čísel u vzorků tepelně ošetřených a neošetřených. Posledním cílem bylo zjistit obsah malondialdehydu v rybím mase po tepelném namáhání.

Výsledky získané ze všech stanovení byly převedeny na hmotnost sušiny z původních vzorků. Přepočtené výsledky na hmotnost sušiny byly statisticky vyhodnoceny v programu STATISTICA 12 s hladinou významnosti α 0,05 na základě analýzy rozptylu. Byla využita faktoriální ANOVA (Tukeyův HSD test). Veškeré tabulky ze statistického hodnocení jsou k dispozici v samostatných přílohách (kapitola 10).

Tabulka 5: Hmotnosti (v g) vzorků ryb před a po lyofilizaci a k nim příslušné sušiny:

DRUH RYBY	PŘED LYOFILIZACÍ	PO LYOFILIZACI	SUŠINA V LYOFILIZOVANÉM VZORKU
SARDINKY SYROVÉ	420,265 g	111,63 g	0,2656
SARDINKY PEČENÉ	373,950 g	117,101 g	0,3131
SARDINKY SMAŽENÉ	375,481 g	150,881 g	0,4018
ŠPROTY SYROVÉ	1029,037 g	289,835 g	0,2817
ŠPROTY PEČENÉ	795,429 g	254,767 g	0,3203
ŠPROTY SMAŽENÉ	724,68 g	261,228 g	0,3605

5.1 Tuková čísla

Pro účely zjištění složení tuku byla stanovena vybraná tuková čísla volumetrickými metodami. Každý vzorek byl připraven ve 3 opakováních z důvodu minimalizace případných chyb. V rámci statistického hodnocení byly porovnávány mezi sebou jednotlivé druhy ryb, samotné tepelné úpravy a k nim odpovídající výsledky tukových čísel. Posledním sledovaným faktorem byly samotné vzorky ryb a vliv jejich tepelné úpravy na tuková čísla.

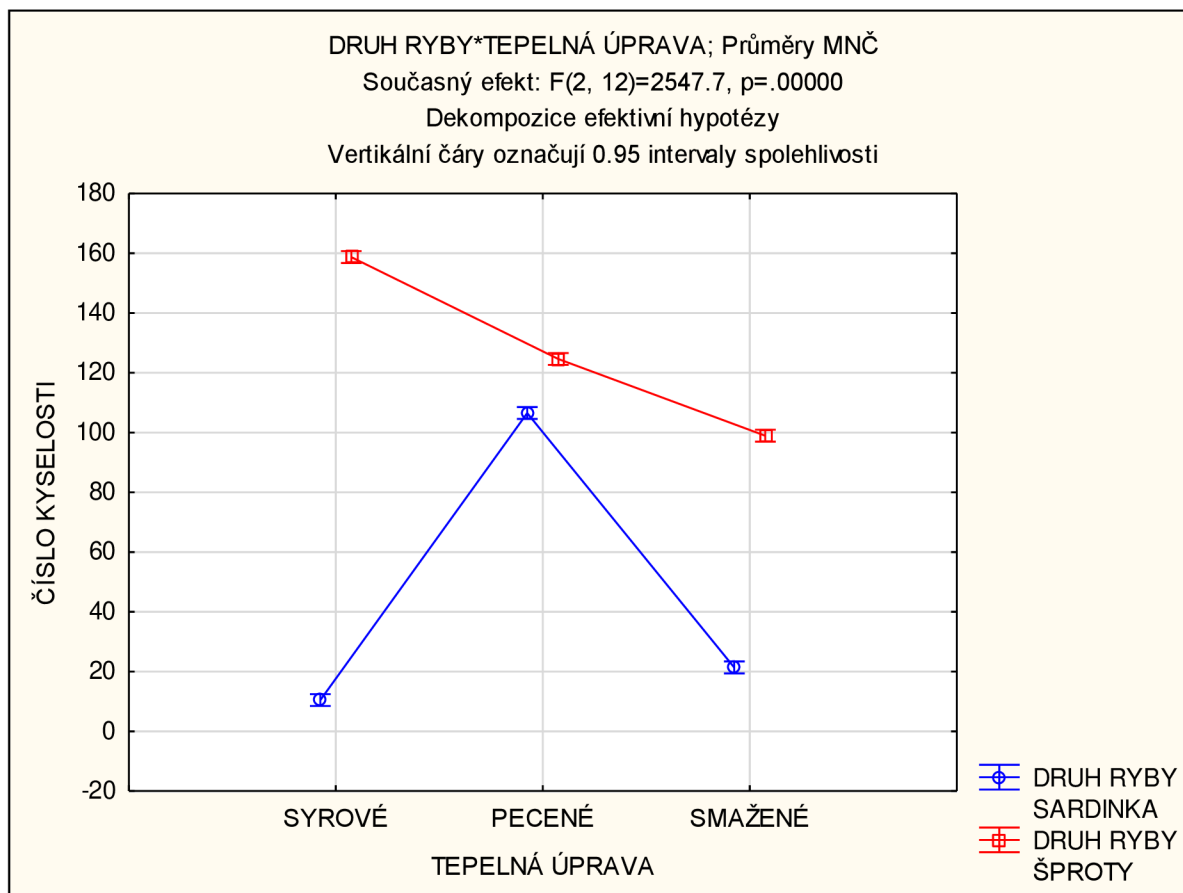
Tabulka 6: Výsledky analýz jednotlivých tukových čísel, převedených na hmotnost sušiny:

DRUH RYBY	ÚPRAVA	ČÍSLO KYSELOSTI [mg KOH/g]	JODOVÉ ČÍSLO [gI ₂ /100 g]	PEROXIDOVÉ ČÍSLO [mEq/1g]
Sardinky	Syrové	10,456	397,518	82,323
Sardinky	Syrové	10,365	373,460	83,351
Sardinky	Syrové	10,501	399,115	83,746
Sardinky	Pečené	104,650	400,278	537,378
Sardinky	Pečené	106,333	414,210	531,942
Sardinky	Pečené	108,643	432,530	534,462
Sardinky	Smažené	22,573	343,564	48,952
Sardinky	Smažené	20,757	357,444	55,334
Sardinky	Smažené	20,777	362,247	53,452
Šproty	Syrové	157,522	491,345	388,427
Šproty	Syrové	161,328	500,916	393,600
Šproty	Syrové	157,377	513,376	398,026
Šproty	Pečené	123,091	451,642	156,179
Šproty	Pečené	124,955	443,069	167,250
Šproty	Pečené	125,835	441,477	182,207
Šproty	Smažené	98,946	391,121	48,488
Šproty	Smažené	97,232	395,983	69,381
Šproty	Smažené	100,649	376,463	69,107

5.1.1 Číslo kyselosti

Na základě F-testu bylo zjištěno, že mezi vzorky v rámci analýz tukových čísel existuje statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Podrobnější výsledky byly vyhodnoceny faktoriální ANOVOU (Tukeyův HSD test). Na základě Tukeyova HSD testu byl zjištěn statisticky významný rozdíl s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$ jak u samotných druhů ryb, tak u jednotlivých tepelných úprav a v neposlední řadě i v porovnání faktoru druhů ryb

a použité tepelné úpravy. Statistické tabulky jsou k dispozici v samostatných přílohách (kapitola 10).



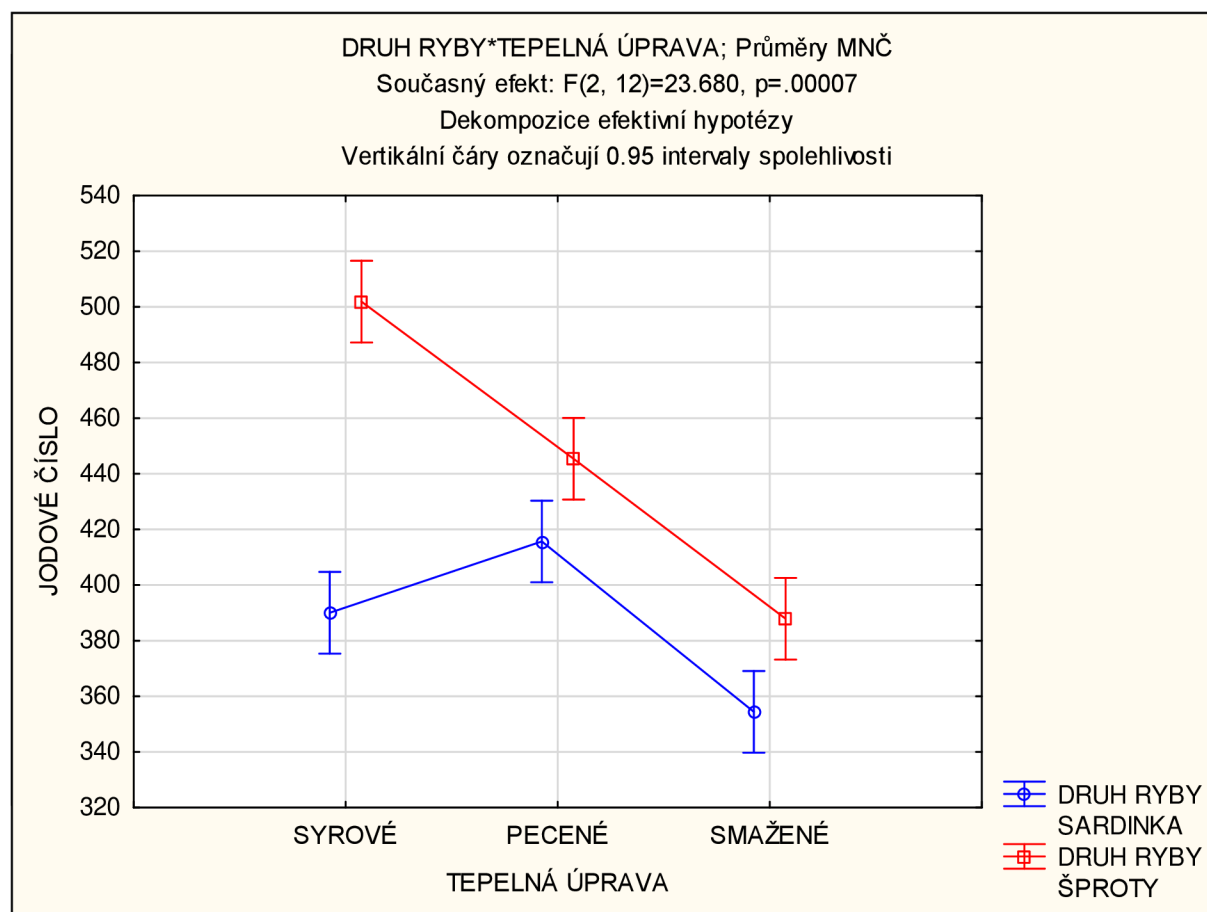
Obrázek 9: Číslo kyselosti – grafický výstup z programu STATISTICA.

Z grafického výstupu jsou na první pohled viditelné statisticky významné rozdíly ve všech porovnávaných úrovních. U sardinek se číslo kyselosti razantně zvýšilo v rámci tepelné úpravy pečením. Smažené sardinky měly oproti pečeným sardinkám číslo kyselosti podstatně nižší. Nicméně nejnižší číslo kyselosti vykazovaly syrové sardinky. Surové šproty měli naopak nejvyšší číslo kyselosti. Jejich číslo kyselosti pak téměř lineárně klesalo v rámci tepelných úprav, přičemž smažené šproty měli nejnižší číslo kyselosti.

5.1.2 Jodové číslo

Na základě F-testu a vyhodnocení parametru p , byly zjištěny v rámci vzorků statisticky významné rozdíly s hladinou významnosti $\alpha 0,05$. Na základě zjištění statisticky významných rozdílů se přistoupilo k podrobnějšímu vyhodnocení. Podrobnější vyhodnocení proběhlo za pomoci Tukeyova HSD testu. Tukeyův HSD test odhalil statisticky významný rozdíl u průměru jodového čísla mezi oběma druhy ryb. Při hodnocení jednotlivých tepelných úprav byl zjištěn statisticky významný rozdíl hodnoty jodového čísla u smažených ryb. Surové a pečené vzorky ryb v průměru nevykazovaly statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha 0,05$. V rámci statistického vyhodnocení druhu ryby a jí příslušné tepelné úpravy bylo zjištěno, že syrové sardinky a syrové šproty vykazují statisticky významné rozdíly

na hladině významnosti α 0,05 na rozdíl od ostatních druhů ryb a jejich tepelných úprav. Statistické tabulky jsou k dispozici v samostatných přílohách (kapitola 10).

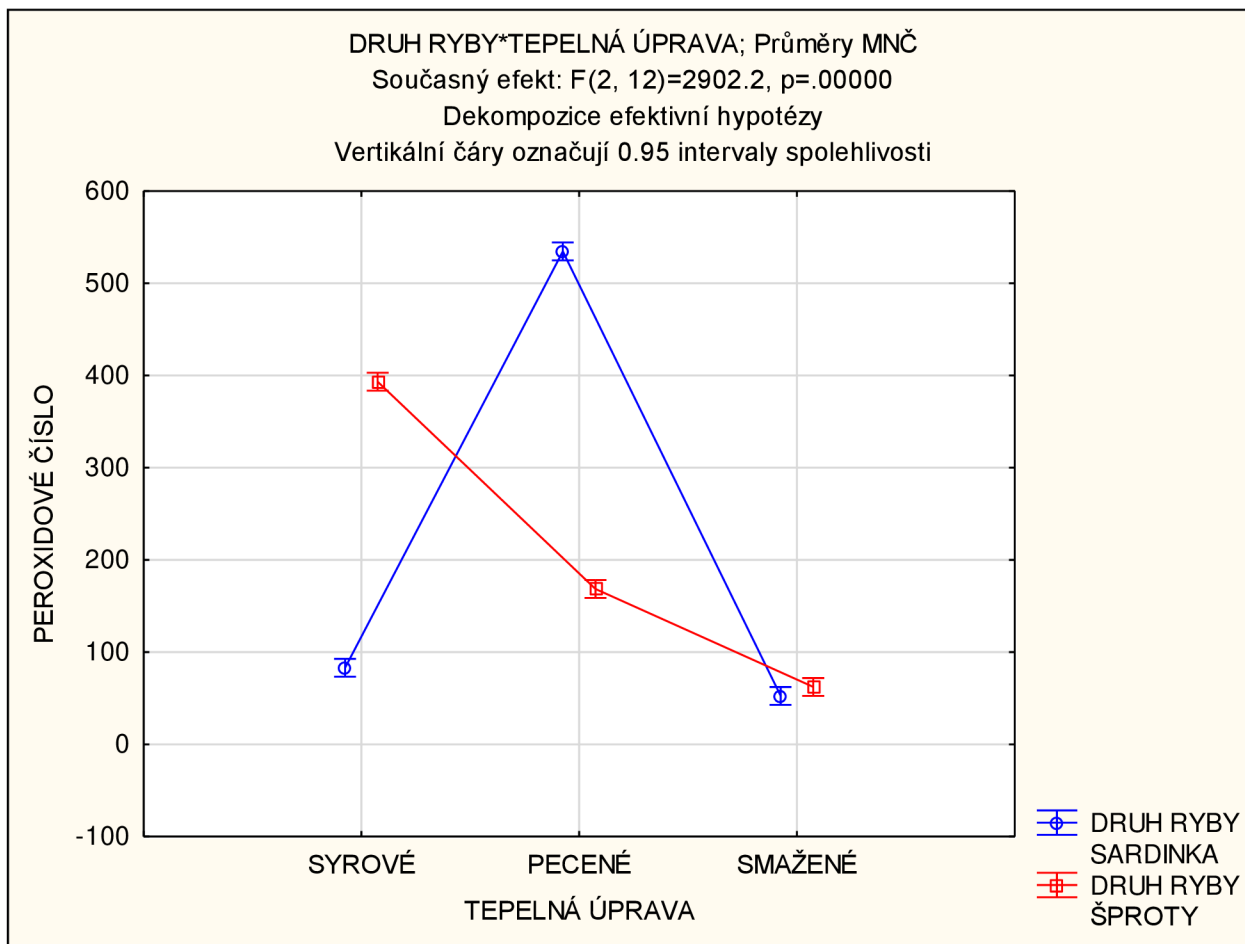


Obrázek 10: Jodové číslo – grafický výstup z programu STATISTICA.

Z grafického výstupu jsou patrné některé rozdíly týkající se výsledků jodového čísla. Smažená sardinka má nejnižší jodové číslo a statisticky se liší od ostatních vzorků. U sardinek v rámci jejich pečené tepelné úpravy došlo ke zvýšení jodového čísla v porovnání s jejím syrovým stavem. Nejvyšší jodové číslo měl syrový šprot, který vykazuje statisticky významné rozdíly od ostatních vzorků. U šprotů je opět pozorovatelný lineární trend snižování jodového čísla v rámci tepelných úprav. Stejný trend se projevował i u čísla kyselosti. Nejnižší jodové číslo měli smažené šproty, stejně jako tomu bylo u sardinek.

5.1.3 Peroxidové číslo

V rámci vyhodnocení F-testu byly na základě parametru p zjištěny statisticky významné rozdíly s hladinou významnosti α 0,05. Tyto statisticky významné rozdíly byly vyhodnoceny pomocí Tukeyova testu. Byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi oběma druhy ryb. Rozdíly byly nalezeny i v rámci jednotlivých tepelných úprav. Statisticky významné rozdíly s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$ existovaly i u posledního sledovaného faktoru, a sice u druhu ryb a jim náležící tepelné úpravě. Syrové šproty, pečené šproty a pečené sardinky vykazovaly statistické rozdíly od ostatních vzorků. Statistické tabulky jsou k dispozici v samostatných přílohách (kapitola 10).



Obrázek 11: Peroxidové číslo – grafický výstup z programu STATISTICA.

Z grafického výstupu je patrné, že mezi syrovými a smaženými sardinkami se neprokázaly statisticky významné rozdíly. U pečených sardiinek došlo k výraznému zvýšení peroxidového čísla. U syrových šprotů bylo zaznamenáno nejvyšší jodové číslo, které klesalo lineárně s tepelnými úpravami, stejně jako tomu bylo u obou předešlých případů stanovení tukových čísel.

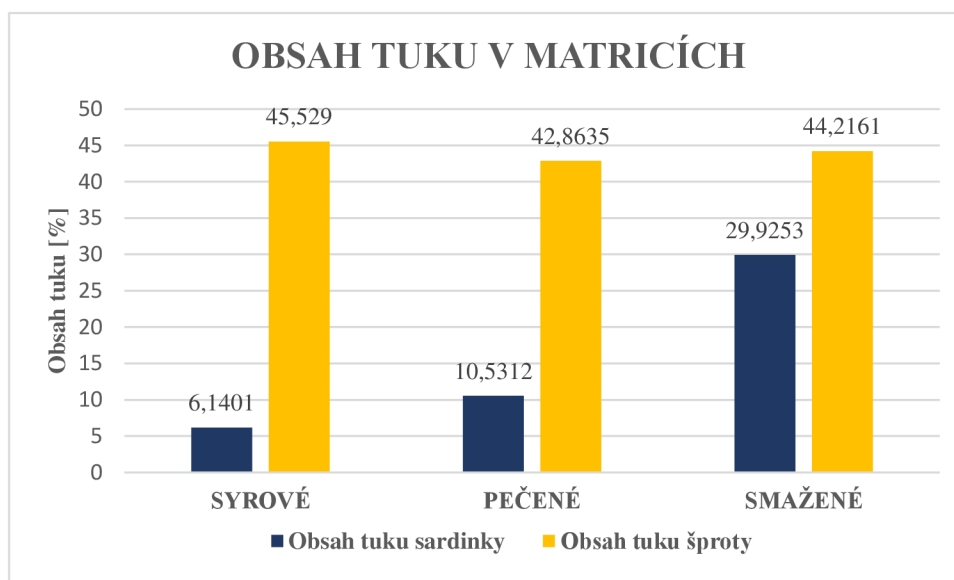
Z výsledků je patrné rozdílné chování sardiinek a šprotů na hodnoty tukových čísel. Nejvyšší hodnota peroxidového čísla byla naměřena u sardiinek upravených pečením. U šprotů ve všech případech bylo dosaženo nejvyššího tukového čísla, pokud byly zachovány v syrovém stavu.

5.2 Obsah tuku ve vzorcích ryb

Ke stanovení obsahu tuku byl využit Soxhletův způsob extrakce. Jako extrakční činidlo byl využit hexan. Výpočet vycházel z rozdílů hmotností baňek před a po extrakci. Získané hodnoty byly následně přepočteny na hmotnost matrice navážené do patrony před zahájením extrakce. Výsledky byly nakonec převedeny na procentuální zastoupení obsahu tuku v rybí matrici. Stanovení bylo provedeno ve 2 opakováních a výsledky byly vyhodnoceny z jejich průměrů.

Tabulka 7: Obsah tuku [%] v maticích při různých tepelných úpravách jednotlivých druhů ryb.

TYP TEPELNÉ ÚPRAVY	OBSAH TUKU V SARDINKÁCH [%]	OBSAH TUKU VE ŠPROTECH [%]
SYROVÉ	6,1401	45,529
PEČENÉ	10,5312	42,8635
SMAŽENÉ	29,9253	44,2161



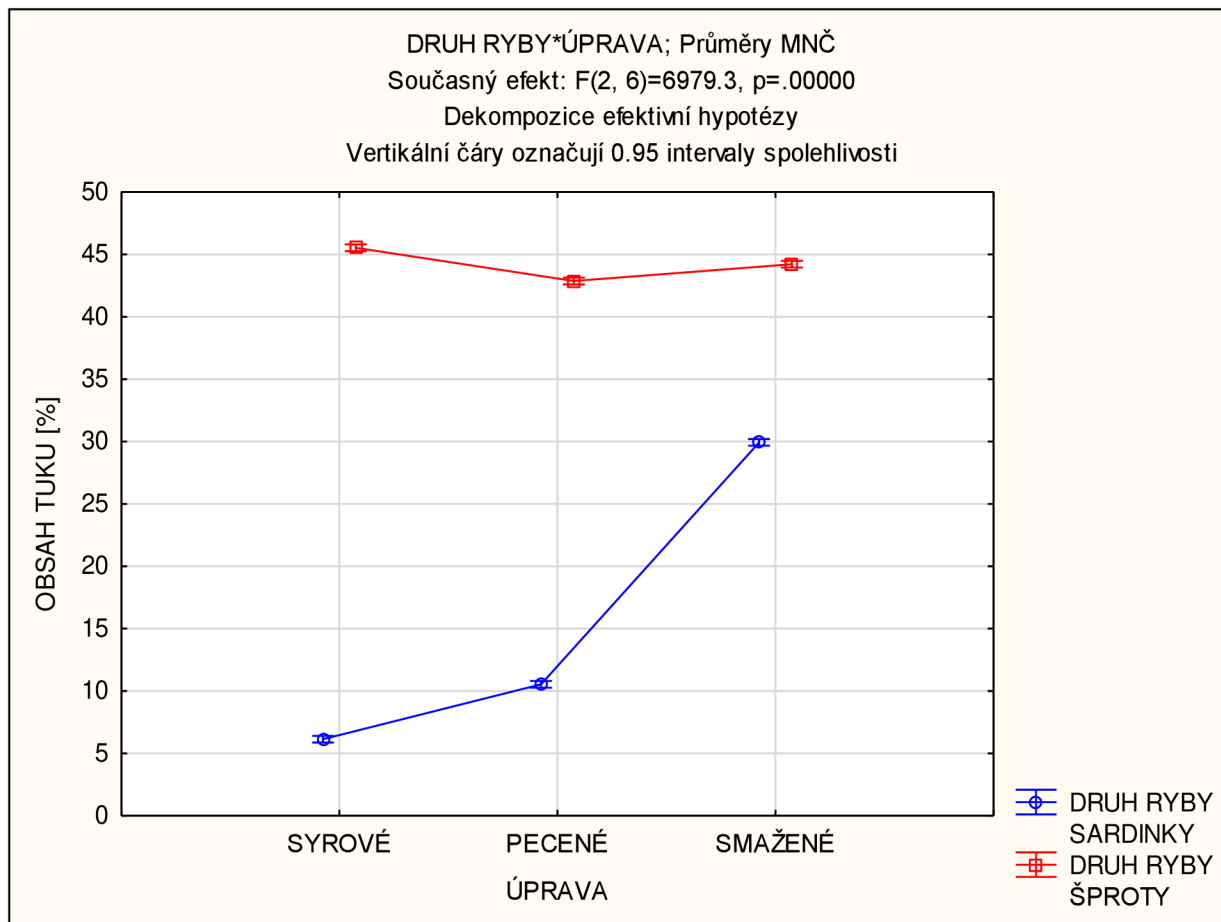
Obrázek 12: Grafické znázornění proměnlivého obsahu tuku u sardinek a šprotů.

Z grafického znázornění je patrné, že syrové šproty obsahovali o 39,39 % více tuku než syrové sardinky. U **sardinek** byl patrný zvyšující se trend v obsahu tuku v rámci jednotlivých tepelných úprav. Nejméně tuku měly syrové sardinky (6,14 %). Proces pečení zvýšil obsah tuku v matici sardinek na 10,53 %, což je o 4,39 % více než tomu tak bylo u syrových sardinek. Nejvíce zvýšil obsah tuku proces smažení v řepkovém oleji, kdy obsah tuku činil 29,93 %. Smažení zvýšilo obsah tuku v sardinkách o 23,79 % oproti jejich syrovému stavu.

Šproty nevykazovali takřka žádné rozdíly v zastoupení tuku napříč jednotlivými tepelnými úpravami. Navíc pečení a smažení paradoxně přispělo k nepatrnému snížení obsahu tuku, což je zcela opačná situace, která byla zjištěna u sardinek. Ani smažení v řepkovém oleji nepřispělo k většímu nárůstu obsahu tuku v matici. Syrové šproty obsahovali nejvíce tuku a to 45,53 %. U pečených šprotů byl stanoven obsah tuku na 42,87 %, je zde tedy patrný pokles obsahu tuku o 2,66 % oproti syrové matici. Smažené šproty obsahovali 44,22 % tuku, což je o 1,31 % méně než u jejich syrové matrice.

Obsah tuku v jednotlivých vzorcích byl podroben statistickému hodnocení. Na základě F-testu bylo potvrzeno, že existovaly statisticky významné rozdíly u vzorků na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Faktoriální ANOVA (Tukeyův HSD test) odhalila statistické rozdíly v rámci druhů ryb. Statisticky významné rozdíly s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$ byly

potvrzeny i u jednotlivých druhů ryb a k nim náležící tepelné úpravě. Statistické tabulky jsou k dispozici v samostatných přílohách (kapitola 10).

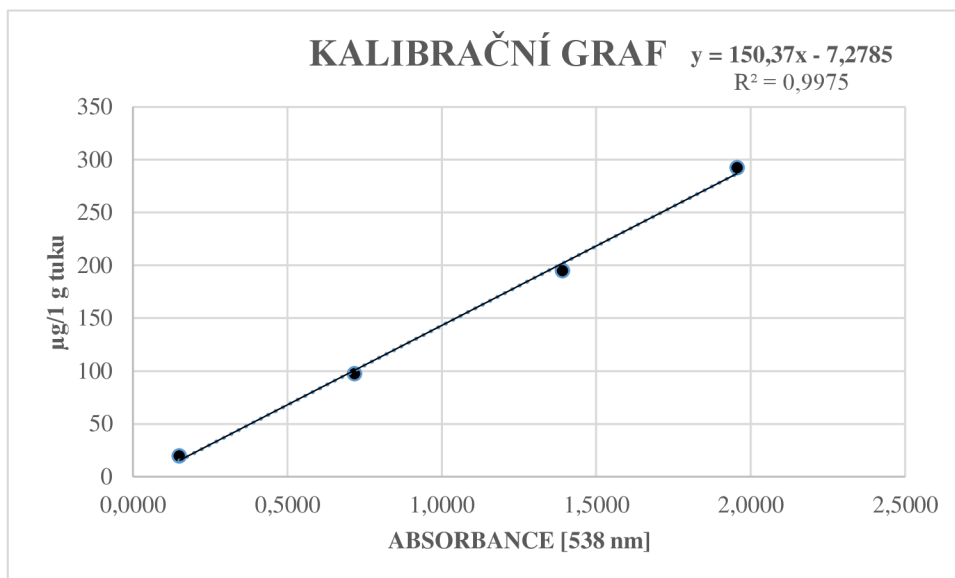


Obrázek 13: Grafické znázornění rozdílného zastoupení tuku u sardinek a šprotů během tepelných úprav

Grafický výstup znázorňuje rozdílnosti v obsahu tuku u sardinek a šprotů. Zároveň vyobrazuje rozdílnosti v zastoupení tuku v rámci jednotlivých tepelných úprav.

5.3 Obsah malondialdehydu v mase ryb

Obsah MDA byl v maticích analyzován za pomoci jeho reakce s TBA za vzniku barevného komplexu, který byl proměřen na spektrofotometru Helios γ při vlnové délce 538 nm. Vyhodnocování výsledků bylo provedeno v programu STATISTICA 12. Byla využita faktoriální ANOVA, konkrétně Tukeyův HSD test. Byly vyhodnocovány rozdíly mezi oběma druhy ryb a mezi jednotlivými tepelnými úpravami. V rámci stanovení byly provedeny 2 opakování a výsledky byly vyhodnoceny z jejich průměrů. Jednotlivé výstupy ze statistického hodnocení jsou k nahlédnutí v samostatných přílohách (kapitola 10).

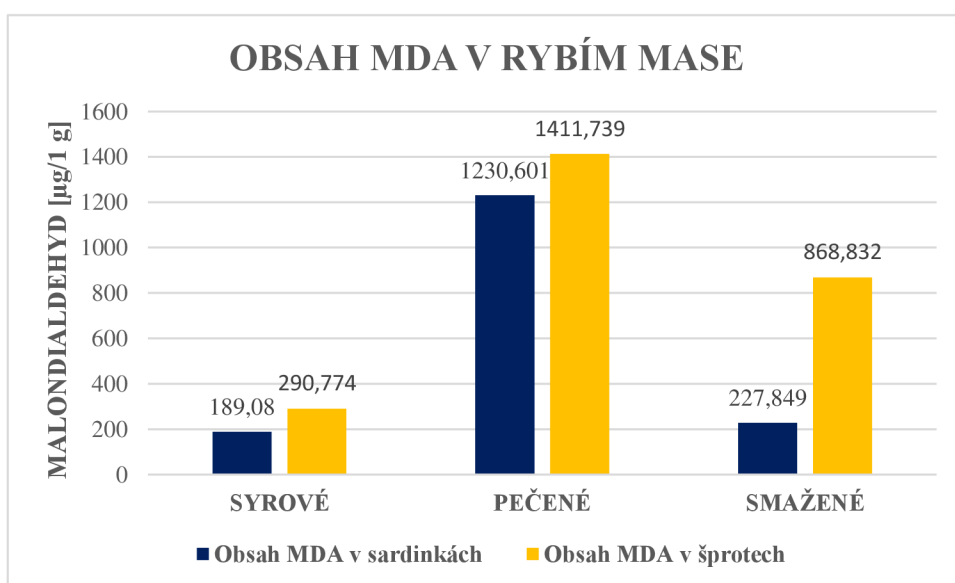


Obrázek 14: Kalibrační graf pro výpočet MDA v jednotlivých vzorcích.

Na základě kalibračního grafu byly získané hodnoty absorpance z jednotlivých vzorků přepočteny dle regresní rovnice: $y=150,37x-7,2785$ s koeficientem determinace 0,9975. Přepočtené výsledky byly nakonec vztaženy na skutečnou navážku a převedeny na hodnotu sušiny.

Tabulka 8: Obsah MDA [$\mu\text{g}/1 \text{ g tuku}$] v mase ryb při různých tepelných úpravách, vztaženo na sušinu.

TYP TEPELNÉ ÚPRAVY	OBSAH MDA V SARDINKÁCH [$\mu\text{g}/1\text{g}$]	OBSAH MDA V ŠPROTECH [$\mu\text{g}/1\text{g}$]
SYROVÉ	189,08	290,774
PEČENÉ	1230,601	1411,739
SMAŽENÉ	227,849	868,832

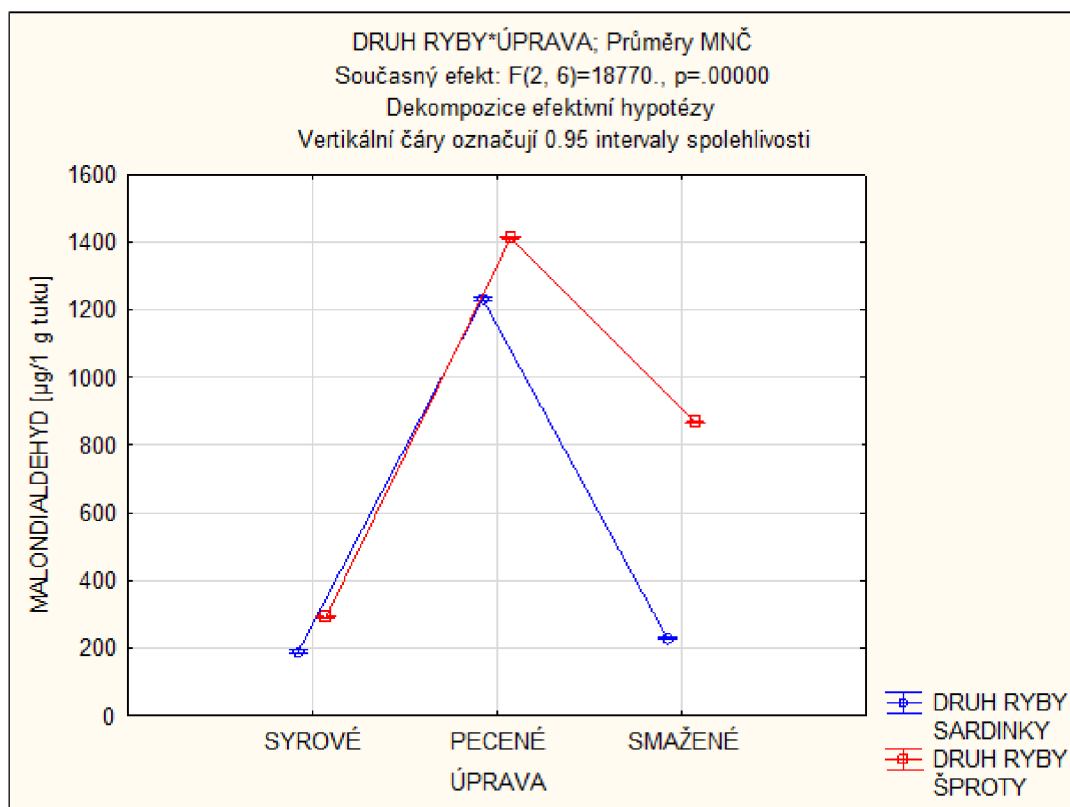


Obrázek 15: Grafické znázornění obsahu MDA v mase sardinek a šprotů.

Z grafického znázornění hodnot MDA v rybím mase jsou patrné rozdíly v obsahu MDA u obou druhů ryb i při samotných tepelných úpravách. Bylo zjištěno, že obsah MDA v mase u obou druhů ryb velmi vzrostl po tepelné úpravě pečením. V syrových **sardinkách** byl naměřen obsah MDA v mase 189,08 $\mu\text{g}/\text{g}$. Při pečení došlo u sardinek k intenzivnímu nárůstu MDA na 1230,601 $\mu\text{g}/\text{g}$, rozdíl oproti kontrole činil 1041,521 $\mu\text{g}/\text{g}$. Podstatně nižší nárůst MDA byl naměřen u sardinek upravených smažením, kdy nárůst činil pouze 38,769 $\mu\text{g}/\text{g}$ oproti kontrole.

Šproty obsahovali v mase mnohem více MDA než sardinky. Syrové šproty obsahovali 290,774 $\mu\text{g}/\text{g}$ MDA v mase. Po procesu pečení bylo v mase detekováno o 1120,965 $\mu\text{g}/\text{g}$ více MDA než u jejich syrových kontrol. Po smažení na řepkovém oleji vzrostlo MDA na hodnotu 868,832 $\mu\text{g}/\text{g}$, což je o 578.058 $\mu\text{g}/\text{g}$ více než v kontrolním vzorku syrových šprotů.

Samotný obsah MDA v rybím mase byl podroben analýze za pomoci F-testu. Na základě výsledku F-testu bylo potvrzeno, že mezi vzorky existovaly statisticky významný rozdíl s hladinou významnosti α 0,05. Vzhledem k této skutečnosti byly výsledky následně vyhodnoceny faktoriální ANOVOU (Tukeyův HSD test). Kde bylo prokázáno, že mezi sardinkami a šproty existovaly statisticky významné rozdíly. Dále bylo potvrzeno, že rozdíly existovaly i mezi použitými tepelnými úpravami. Statisticky významné rozdíly s hladinou významnosti α 0,05 pak byly prokázány i u posledního porovnávaného faktoru – mezi druhem ryb a odpovídající použitou tepelnou úpravou.



Obrázek 16: Grafické znázornění proměnlivého obsahu MDA v $\mu\text{g}/\text{g}$ u jednotlivých druhů ryb v rámci tepelných úprav.

Z grafického výstupu je na první pohled patrný vysoký podíl MDA v $\mu\text{g}/1\text{ g}$ u ryb, které podstoupily tepelnou úpravu smažením. Nejnižší obsah MDA v mase u obou druhů ryb byl detekován v syrové matrici bez tepelné úpravy.

6. Diskuze

Analýzy byly prováděny u dvou druhů pelagických ryb – u sardinek (*Sardina pilchardus*) a šprotů (*Sprattus sprattus*). V rámci stanovení nebyly zohledňovány individuální faktory (pohlaví, původ). Pro možné porovnání s autory jsou výsledky uvedeny jak v sušině, tak i v matrici. Navíc spotřebitele zajímají hodnoty vztažené přímo na matrici, nikoliv výsledky vztažené na sušinu. Symbolem * jsou proto označeny výsledky jednotlivých stanovení, které nebyly přepočteny na sušinu

6.1 Číslo kyselosti

Prvním sledovaným faktorem byly individuální změny v hodnotách tukových čísel u sardinek a šprotů v rámci různých tepelných ošetření. Jako první tukové číslo bylo stanovováno číslo kyselosti. Číslo kyselosti udává množství volných mastných kyselin ve vzorku. V čerstvém tuku je množství volných mastných kyselin nižší, než je tomu u starších tuků. Vlivem času tuky podléhají hydrolytickému štěpení. Hydrolytické štěpení způsobuje rozpad triacylglycerolů a důsledkem je nárůst volných mastných kyselin ve vzorku (Zailer 2019). Ukládání tělesného tuku a přebytek volných mastných kyselin přispívají k dyslipidémii a k nepříznivým zdravotním následkům obezity. Navíc vysoké hladiny volných mastných kyselin mohou vyvolat inzulínovou rezistenci ve svalech a v játrech (Ebbert & Jensen 2013). Nejnižší obsah volných mastných kyselin vykazovaly syrové sardinky. V syrových sardinkách bylo detekováno číslo kyselosti v průměru okolo 10,441 mgKOH/g v sušině (2,77* mgKOH/g). U syrových šprotů byla zaznamenána hodnota čísla kyselosti 158,742 mgKOH/g v sušině (44,718* mgKOH/g). Toto vyšší číslo kyselosti u syrových šprotů může být dáno dvěma faktory. První důvod by mohl spočívat v rozdílné čerstvosti námi použitých ryb (Kleckerová 2014). Dalším důvodem by mohl být vyšší obsah tuku v těle šprotů. Lipidy rybího masa jsou složeny především z fosfolipidů a triacylglycerolů, přičemž s rostoucím zastoupením tuku roste úměrně i obsah triacylglycerolů a tím se zvyšuje možnost uvolnění volných mastných kyselin (Moradi et al. 2011). Kusu et al. (1994) taktéž zjišťovali číslo kyselosti oleje získaného ze sardinek. K tomuto účelu použili dvě známé metody stanovení čísla kyselosti. Při použití typické titrační metody jim výsledek čísla kyselosti vyšel 26,8 mgKOH/g. Výsledek druhé metody stanovení potenciometrickou titrací vyšel nižší. Číslo kyselosti bylo v tomto případě 19,1 mgKOH/g. U stejné matrice tak vyšly různé hodnoty s ohledem na použitou metodu. V našem případě nejvyšší hodnotou čísla kyselosti disponovaly sardinky, které byly podrobeny pečení. Jejich průměrné číslo kyselosti se pohybovalo okolo 106,542 mgKOH/g v sušině (33,36* mgKOH/g). S největší pravděpodobností dochází během pečení k výraznějšímu kontaktu kyslíku s masem ryb. Vzdušný kyslík tak může způsobit proces autooxidace, při které dochází k rozpadu triacylglycerolů a následnému uvolnění mastných kyselin. (Talbot 2016). Smažené sardinky se lišily od syrových v hodnotě tukového čísla o 10,928 mgKOH/g v sušině (5,82* mgKOH/g), což je méně než v případě pečených sardinek. V experimentu Turhana et al. (2011) byl zjištěn pokles obsahu volných mastných kyselin ve filetech ančoviček (*Engraulis encrasicolus*), po tepelné úpravě vařením. Minimální hodnoty volných mastných kyselin byly nalezeny i u grilovaných a smažených fileťů. Důvodem je tepelný efekt během vaření, kdy

dochází k denaturaci enzymů (lipas [EC 3.1.1.3] a fosfolipas), které vedou k tvorbě volných mastných kyselin (Tokur 2007). Dalším důvodem poklesu čísla kyselosti je ztráta těkavých mastných kyselin, které mohou unikat odparem během tepelné úpravy. Tento jev byl popsán mnoha autory (Tokur 2007; Weber et al. 2008). Nízký obsah volných mastných kyselin je způsoben stupněm naředění olejem použitého při smažení a samotnou těkavou povahou mastných kyselin. Weber et al. (2008) uvádí, že obsah volných mastných kyselin u anténovky nejpodivnější (*Rhamdia quelen*) se snižoval zředěním v sójovém, řepkovém, či hydrogenovaném rostlinném oleji. Jedná se o možnou příčinu, proč v našem případě měli smažené šproty nejnižší číslo kyselosti. Oke et al. (2018) nicméně uvádějí, že během smažení dochází k tepelné oxidaci, která probíhá ještě rychleji než autooxidace. Během procesu smažení reaguje vznikající vodní pára s kyslíkem. To zapříčiní řadu chemických reakcí, jejichž výsledkem je rozpad triacylglycerolů na mono a diacylglyceroly, dále dojde k uvolnění glycerolu, ale především i volných mastných kyselin. Stanovení čísla kyselosti může být snadno zatíženo chybou. Kusu et al. (1994) ve svém článku popisují možné chyby, které se v rámci stanovení čísla kyselosti mohou objevit. Jako první zmiňují skutečnost, že indikátor fenolftalein, který se při stanovování čísla kyselosti běžně užívá, nemusí být vhodný pro vzorky, které by potenciálně mohly mít zastoupení nižších mastných kyselin. Taktéž nemusí být správně určen bod ekvivalence v rámci barevného přechodu, avšak tento fakt se dá eliminovat použitím potenciometrické titrace, která je přesnější. Všechny zmíněné skutečnosti mohou způsobit zkreslení výsledků volumetrického stanovení čísla kyselosti.

6.2 Jodové číslo

Dále se stanovovalo jodové číslo. Udává se, že slouží jako nejčastější hodnota oleje (Dijkstra 2016). Určuje stabilitu olejů vůči oxidaci a zároveň umožňuje kvalitativně určit celkovou nenasycenost daného oleje (Bako et al. 2017). Čím vyšší je hodnota jodového čísla, tím vyšší je stupeň nenasycení ve vzorku. A čím větší bude zastoupení nenasycených dvojných vazeb ve vzorku, tím více bude daný vzorek podléhat oxidačním procesům (Cruz et al. 2014). V rámci našich výsledků byla u syrových sardinek naměřena hodnota jodového čísla 390,031 gI₂/100 g v sušině (103,592* gI₂/100 g). U pečených variant byla nalezena nejvyšší hodnota jodového čísla. Hodnota jodového čísla se během pečení zvýšila na 415,672 gI₂/100 g v sušině (130,147* gI₂/100 g). Nejnižší jodové číslo bylo stanoveno u smažených sardinek, kdy hodnota jodového čísla činila 354,419 gI₂/100 g v sušině (142,405* gI₂/100 g). Nami naměřená data jsou rozdílná od dat, ke kterým došel Chantachum et al. (2000). Nejvyšší hodnotu jodového čísla v jejich případě měly vzorky, které neprošly tepelnou úpravou. Jodové číslo se vždy snížilo až po tepelné námaze. Nicméně je třeba brát v potaz, že jejich vzorky pocházely pouze z hlavové části tuňáka, nikoliv z celého těla jako v našem případě. Zároveň u jejich vzorků bylo rozmezí jodového čísla od 122 gI₂/100 g až do 174 gI₂/100 g, což ukazuje na odlišnou skladbu mastných kyselin. Navíc používali odlišné podmínky tepelného ošetření. Vzorky po dobu 30 minut podléhaly teplotě 95 °C, což je o takřka o 105 °C méně.

Jodové číslo u šprotů naopak klesalo dle očekávání v rámci tepelných úprav. Nejvyšší hodnota jodového čísla byla naměřena u syrových šprotů. Jodové číslo mělo v tomto případě hodnotu 501,879 gI₂/100 g v sušině (141,379* gI₂/100 g) Nejnižší hodnota jodového čísla byla

zaznamenána u smažených šprotů a to 387,856 gI₂/100 g v sušině (139,822* gI₂/100 g). Hodnotu jodového čísla při smažení může ovlivňovat i samotné smažící médium. Gharby et al. (2014) posuzovali tepelnou odolnost rostlinných olejů vůči vysokým teplotám. Zjistili, že během tepelného ošetření při 180 °C po dobu 30 hodin, byl pozorován menší pokles jodového čísla u všech zkoumaných rostlinných olejů. Konkrétně u řepkového oleje došlo k poklesu jodového čísla z 107,00 gI₂/100 g na hodnotu 101,00 gI₂/100 g. Autoři tento pokles přičítají zničení dvojných vazeb oxidací a polymerizací během tepelného namáhání. Podobný pokus prováděli i Chebet et al. (2016). Ti posuzovali nejen kvalitu různých médií používaných při smažení, ale zjišťovali i kvalitu smažených potravin. Došli ke stejnému závěru, jako Gharby et al. (2014). Všechny použité oleje vykazovali po smažení snížené hodnoty jodového čísla. Během hlubokého smažení (fritování) dochází v potravine primárně k dehydratačnímu procesu. Dochází k extrakci vody a hydrofilních látek z potraviny do smažícího média. Smažící média pak v přítomnosti vody a vlhkosti začnou podléhat fyzikálně-chemickým změnám. Výsledkem je typické zhoršení kvality oleje či tuku, ale negativně se odrazí i na smažených produktech. Intenzita těchto změn závisí na podobě smažícího média, na teplotě, na době smažení a na použité potravine (Chebet et al. 2016).

6.3 Peroxidové číslo

Stanovení peroxidového čísla je užitečná metoda pro zjištění primárních produktů oxidace (Turhan et al. 2011). Gurr et al. (2002) popisují, že během tepelné námahy napadají kyslíkové radikály dvojně vazby mastných kyselin obsažených v tucích a důsledkem je vznik peroxidů. V našem případě se nejvíce peroxidů nacházelo u pečených sardinek a syrových šprotů. Pečené sardinky vykazovaly hodnotu peroxidového čísla 534,594 mEq/kg v sušině (167,381* mEq/kg). Pečené šproty měli menší hodnotu peroxidového čísla a to 393,351 mEq/kg v sušině (110,807* mEq/kg). Nejmenší obsah peroxidů se u sardinek i šprotů nacházel u jejich smažené úpravy. U smažených sardinek byla zaznamenána hodnota 52,579 mEq/kg v sušině (21,126* mEq/kg). U šprotů tato hodnota činila 62,326 mEq/kg v sušině (22,468* mEq/kg). Tokur (2007) porovnával hodnotu peroxidového čísla před a po tepelné úpravě u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). U syrového pstruha detekoval hodnotu peroxidového čísla 7,70 mEq/kg, u smaženého pstruha 15,9 mEq/kg a u pečeného pstruha 34,45 mEq/kg. Došlo tedy ke zvyšování peroxidového čísla během tepelných úprav. Primární produkty oxidace lipidů, které mají na svědomí zvyšování peroxidového čísla, vznikají právě během tepelného namáhání tuků (Skufca et al. 2003). Tomu odpovídají výsledky, ke kterým jsme došli my a Tokur (2007). K jiným výsledkům v rámci své práce došel Turhan et al. (2011). V jejich pokusu byly podrobeny filety ančoviček tepelné námaze pečením, grilováním a smažením. Nejvíce zvýšilo peroxidové číslo grilování. Pečení ani smažení nemělo na hodnoty peroxidových čísel u filetů ančoviček vliv.

Nicméně došli k podobnému závěru, že vyšší teploty mají vliv na zvýšenou produkci peroxidů. Popisují, že různé úrovně peroxidového čísla se odráží v různých metodách tepelné úpravy, kdy udávajícím faktorem je délka a teplota tohoto procesu. Zkreslování hodnot peroxidového čísla bude způsobovat i nestabilita peroxidů. Existují pouze přechodně a následně se rychle rozkládají. I to může být příčina vzniklých rozdílů v rámci stanovování. Maximální

limit přijatelnosti peroxidového čísla je udáván na 25 mEq/kg (Turhan et al. 2011). Starší publikace Borana et al. (2006) udává přijatelnou hodnotu peroxidového čísla v rybím oleji v rozmezí 3-20 mEq/kg. Boran et al. (2006) ve svém článku uvádí přijatelné hodnoty peroxidového čísla v syrovém rybím oleji. U surového rybiho oleje se rozmezí pohybuje od 3 - 20 mEq/kg. Nicméně obecná přijatelnost je udávána v rozmezí 7-8 mEq/kg, což naše vzorky sardinek a šprotů nesplňovaly. Pokud bychom brali v úvahu, že délka a teplota tepelné úpravy je skutečně zodpovědná za zvýšenou hodnotu peroxidového čísla, může se jednat o potencionální důvod, proč u našich vzorků sardinek upravené procesem pečení, je peroxidové číslo ze všech úprav nejvyšší. Rybí matrice byla vystavena vysokým teplotám po delší čas. U syrových šprotů bylo nejvyšší peroxidové číslo nalezené potencionálně z důvodu započaté oxidace.

6.4 Obsah tuku ve vzorcích ryb

Rozdíly v rámci tukových čísel u sardinek a šprotů budou s největší pravděpodobností důsledkem rozdílného obsahu tuku v matrici. Šproty dle dostupné literatury obvykle obsahují ve svém těle mnohem více tuku, než sardinky (Brosset et al. 2015). Což se v rámci této diplomové práce i potvrdilo. Obsah tuku ve vzorcích byl zjištěn Soxhletovo metodou. Dle naměřených dat syrové sardinky obsahovaly 6,14 % tuku, zatímco syrové šproty 45,53 % (nepřepočteno na sušinu). Brosset et al. (2015) ve svém experimentu měřili zastoupení tuku u několika malých pelagických ryb. V tomto svém experimentu zahrnuli sardinky i šproty. Za pomoci nepřímé metody měření tuku fatmetrem zjistili, že sardinky v průměru obsahovaly 9.98 ± 3.4 % tuku a šproty 18.67 ± 6.37 % tuku. Došli tak k rozdílným výsledkům oproti námi zjištěným hodnotám. Nicméně v jejich publikaci sami zdůrazňují, že vliv na obsah a rozložení tuku v těle ryby je způsoben mnoha faktory. Jako potenciální důvody uvedli věk, pohlaví, místo odlovu a aktivitu gonád, která pozměňuje alokaci tuku. Zlatanov & Laskaridis (2007) se zaměřovali na rozdílnosti v zastoupení tuku u ryb v jednotlivých měsících v roce. Došli k závěru, že obsah tuku je po čas roku proměnlivý. Společně s obsahem tuku se taktéž mění zastoupení jednotlivých frakcí mastných kyselin. U sardinek byl zjištěn nejvyšší obsah tuku v dubnu a v červnu. Nejvyšší množství mononasyčených mastných kyselin u ryb bylo detekováno v červnu a v srpnu. Nasycené mastné kyseliny dosáhly svého vrcholu v únoru a v říjnu. To vše jsou faktory, které mohou ovlivňovat jednotlivé výsledky stanovení. Zároveň je obsah měřitelného tuku odrazem mrazírenského skladování. Brosset et al. (2015) poznamenali, že je potřeba se vyhnout mrazírenskému skladování u šprotů, což v našem případě nebylo dodrženo. U zmrazených šprotů totiž docházelo k nadhodnocování obsahu lipidů.

Dále bylo zjištěno, že u syrových sardinek došlo k navýšení obsahu tuku po tepelných úpravách. Proces smažení může ovlivnit množství obsahu tuku, lipidové frakce a profil mastných kyselin. Tyto změny velmi závisí na použité metodě smažení (mělké/hluboké smažení). Během kulinárního procesu probíhá v rybách řada změn. Do těchto změn je zahrnuta absorpce tuku do ryb, ztráta vlhkosti, vyplavování molekul rozpustných v tucích a v neposlední řadě probíhající oxidační procesy vlivem volných radikálů (Moradi et al. 2011). U hluboce smažených sardinek došlo k nárůstu obsahu tuku o 23,79 % na celkový obsah 29,93 %, což koreluje s tvrzením Moradiho et al. (2011), kteří uvádí, že během hlubokého smažení přechází

do potravy velké množství tuku a dochází k značným změnám v profilu mastných kyselin. I proces pečení mění poměry zastoupení tuku u ryb. Námi zjištěný obsah pečených sardinek byl 10,53 %. Po procesu pečení došlo k nárůstu obsahu tuku o 4,39 %. Během pečení v troubě dochází ke ztrátám vody, což vede ke zvýšení bílkovin, tuku a popela. Ztráta vody je ale v tomto případě podstatně nižší než u smažení, čemuž odpovídá i nižší obsah tuku (Weber et al. 2008). Šprotky nevykazovali takřka žádné změny v obsahu tuku ani po tepelných úpravách. Tento jev odpovídá výsledkům naměřeným i jinými autory (Pirini et al. 2010). Nicméně je nutné podotknout, že zmiňovaní autoři použili jinou přípravu šprotů. Pirini et al. (2010) šprotky nafiltovali a pekli v troubě přikryté hliníkovou fólií při 190 °C s dobou pečení minimálně 5 minut, což je mnohem kratší doba pečení než u námi zvoleného postupu. Proces pečení přerušili, jakmile bylo v jádře ryby dosaženo 70 °C. Opět zdůrazňovali rozdílnosti v obsahu tuku během ročních období. V zimě syrové šprotky obsahovaly 3,79 %, po procesu pečení obsahovaly 4,55 %. Na jaře obsah tuku v těle šprotů vzrostl na 11 % a tato hodnota se nezměnila v průběhu tepelné úpravy. Z dostupných výsledků není možno jednoznačně určit důvod tohoto jevu. K dovysvětlení a potvrzení je zapotřebí provést další pokusy.

6.5 Obsah malondialdehydu v mase ryb

Poslední vyhodnocovaný faktor se týkal obsahu malondialdehydu u vzorků ryb s různými tepelnými úpravami. Nejnižší obsah MDA byl nalezen u ryb, které byly ponechány v **syrovém stavu** a sloužily jako kontrolní skupiny. U syrových sardinek byl stanoven obsah MDA na 189,080 $\mu\text{g}/1\text{ g}$ v sušině (50,22* $\mu\text{g}/1\text{ g}$). U syrových šprotů byl obsah MDA vyšší a to 290,774 $\mu\text{g}/1\text{ g}$ v sušině (81,90* $\mu\text{g}/1\text{ g}$), nejspíše z důvodu vyššího obsahu celkového tuku v těle šprotů. Výskyt MDA v syrovém mase ryb není překvapující. Malondialdehyd vzniká v organismu již během života v důsledku oxidačního stresu a lipidové peroxidace polynenasycených mastných kyselin (Ayla et al. 2014). Intenzita syntézy MDA závisí na velikosti porušení homeostázy antioxidantů a oxidačních činitelů (Raut & Khullar 2022). V rámci této diplomové práce bylo zjištěno, že obsah malondialdehydu se během tepelných úprav zvyšuje. Nejvyšší množství MDA v těle ryb vznikalo překvapivě v procesu **pečení**, kdy u sardinek došlo k nárůstu MDA o 1041,522 $\mu\text{g}/1\text{ g}$ v sušině (335,14* $\mu\text{g}/1\text{ g}$), u šprotů se obsah MDA zvýšil o 1120,965 $\mu\text{g}/1\text{ g}$ v sušině (370,27* $\mu\text{g}/1\text{ g}$). Možný důvod tohoto jevu spočívá ve větší dostupnosti kontaktu kyslíku v horkovzdušné peci, který tak může reagovat s masem ryb. Vysvětlení tohoto jevu by se mohlo odrážet v pokusu, který prováděl Ahn et al. (1992). Autoři zabalili tepelně upravené maso, které bylo ještě horké. Působnost oxidačních procesů tím byla značně omezena. Důvodem bylo omezení přístupu kyslíku k potravíně na naprosté minimum. Kontakt vzdušného kyslíku totiž podněcuje proces autooxidace. Autooxidace je navíc potencována přítomností kovů, které se v těle ryb běžně vyskytují. V procesu autooxidace se vytváří volné radikály a hydroperoxydy, které pak následně ovlivní i hodnotu peroxidového čísla (Talbot 2016). K nárůstu MDA došlo i při tepelné úpravě **smažením**. U smažených sardinek byl stanoven obsah 227,845 $\mu\text{g}/1\text{ g}$ v sušině (91,56* $\mu\text{g}/1\text{ g}$), u šprotů 868,832 $\mu\text{g}/1\text{ g}$ v sušině (313,19* $\mu\text{g}/1\text{ g}$). Nárůst MDA u ryb po smažení zaznamenal Hejazy et al. (2021). Porovnávali různé druhy potravin, které jsou standardně upravovány smažením a zjišťovali nárůsty MDA po smažení. K svému pokusu využili reakce s TBA, stejně jako v našem případě. Nicméně využili jiný postup přípravy TBA i vzorků. Hejazy et al. (2021) před zahájením

pokusu odstranili z každého vzorku ryb kůži, hlavu, ocas a kosti. Každou rybu předem nafiletovali a smažili mělkým způsobem smažení v 5 ml slunečnicového oleje. Teplota smažícího procesu dosahovala až 220 °C. Získané výsledky uváděli v $\mu\text{M/g}$. Syrové rybí filety obsahovaly cca 0,1 $\mu\text{M/g}$. Po smažení se tato hodnota pohybovala průměrně okolo 1,2 $\mu\text{M/g}$. Tyto zvýšené hodnoty MDA odráží zvýšenou oxidaci PUFA v tělech ryb. V tělech ryb jsou z vysoké míry zastoupeny PUFA, které mají více dvojných vazeb, které jsou na oxidační procesy více náchylné. Navíc ryby disponují vyšším obsahem kovových prvků, což ještě více podporuje oxidační procesy (Johnson & Decker 2015; Hejazy et al. 2021). Zjišťování obsahu MDA za pomoci TBA je zcela běžně užívaná metoda. Bohužel není zcela přesná. Kyselina thiobarbiturová má totiž tendenci reagovat i s ostatními aldehydy ve vzorku a potencionálně může docházet ke zkreslování výsledků stanovení (Singh et al. 2014).

7. Závěr

Cílem práce bylo stanovit obsah a složení tuku u sardinek a šprotů, stanovit vybraná tuková čísla u vzorků tepelně ošetřených a neošetřených a ve vzorcích rybiho masa stanovit obsah malondialdehydu. Dále byly stanoveny 3 vědecké hypotézy, na jejichž podkladě probíhalo výsledné hodnocení.

- **Hypotéza č. 1-** je rozdíl ve složení tuku u šprotů a sardinek, byla potvrzena. V rámci diplomové práce na základě několika stanovení bylo zjištěno, že existují rozdíly ve složení tuku u šprotů a sardinek. Na základě stanovení **čísla kyselosti** vyšlo, že syrové sardinky disponovaly menším počtem volných mastných kyselin, jejich hodnota čísla kyselosti byla stanovena na 10,44 mg KOH/g v sušině (2,77* mg KOH/g). Zatímco šproty měly v syrovém stavu číslo kyselosti vyšší, jejich hodnota byla 158,74 mg KOH/g v sušině (44,718* mg KOH/g). Stanovení **jodového čísla** odhalilo, že tepelně neupravené šproty obsahují více nenasycených mastných kyselin, hodnota jodového čísla byla stanovena na 501,88 g I₂/100 v sušině (141,379* g I₂/100), než bylo nalezeno u syrových sardinek, jejichž hodnota byla 390,03 g I₂/100 v sušině (103,592* g I₂/100). Na základě stanovení **peroxidového čísla** byla zjištěna větší zátěž ve výskytu peroxidů u syrových šprotů a to na základě hodnoty peroxidového čísla 393,35 mEq/kg v sušině (110,81* mEq/kg), než bylo detekováno u tepelně neupravených sardinek, hodnota 83,14 mEq/kg (22,08* mEq/kg). Tyto vzniklé rozdíly mezi těmito druhy ryb vychází s největší pravděpodobností z faktu, že námi použité šproty obsahovali v průměru více tuku (45,53 %), než sardinky (6,14 %).
- **Hypotéza č. 2-** u tepelně ošetřených ryb dochází ke kvalitativní změně u tuku, byla potvrzena. Po tepelných úpravách docházelo u sardinek i šprotů ke změnám v kvalitě tuku. Tato hypotéza byla potvrzena na základě získaných hodnot tukových čísel a na základě stanovení nežádoucího malondialdehydu v tucích. U procesů pečení a smažení docházelo ke změnám v hodnotě tukových čísel. Důležité je v tomto ohledu **peroxidové číslo**. Největším výskytem peroxidů byly zatíženy pečené sardinky, kdy hodnota peroxidového čísla činila 534,59 mEq/kg v sušině (167,38* mEq/kg). Pečené šproty oproti tomu obsahovaly méně peroxidů a to 168,55 mEq/kg v sušině (53,99* mEq/kg). Po tepelné úpravě smažením bylo oproti tomu detekováno u obou druhů ryb nejnižší peroxidové číslo v rámci všech variant, u sardinek výsledná hodnota byla 52,58 mEq/kg v sušině (21,13* mEq/kg) a u šprotů hodnota činila 62,33 mEq/kg v sušině (22,47* mEq/kg). Proces pečení se navíc negativně projevil zvýšením koncentrace toxického **malondialdehydu**. V rámci pokusů bylo zjištěno, že dochází k rapidnímu nárůstu toxického MDA u vzorků ryb po tepelné úpravě pečením, kdy teplota dosahovala 200 °C po dobu 30 minut. U syrových sardinek byl stanoven obsah MDA na 189,08 µg/1 g v sušině (50,22* µg/1 g), u syrových šprotů pak 290,77 µg/1 g v sušině (81,90* µg/g). Oproti tomu jejich pečené varianty měly stanoven obsah MDA u sardinek 1230,60 µg/1 g v sušině (385,36* µg/1 g tuku), pečené šproty pak měly hodnotu MDA 1411,74 µg/1 g v sušině (452,16* µg/1 g tuku). I smažení na řepkovém oleji při 180 °C po dobu 5 minut zvýšilo MDA u sardinek i šprotů.

- **Hypotéza č. 3-** různé typy tepelného ošetření budou mít rozdílný vliv na hodnoty vybraných tukových čísel, byla potvrzena. V rámci volumetrického stanovení byly zaznamenány rozdíly v hodnotách tukových čísel během tepelných úprav. U sardinek došlo po procesech tepelné úpravy ke zvýšení **čísla kyselosti**, což znamená, že během pečení a smažení došlo k uvolnění volných mastných kyselin. Největší nárůst byl pozorován po tepelné úpravě pečením, kdy se hodnota čísla kyselosti zvýšila na 106,54 mg KOH/g v sušině (33,36* mg KOH/g), což činí rozdíl od kontroly 96,10 mg KOH/g v sušině (30,59* mg KOH/g). U smažení došlo k menšímu nárůstu volných mastných kyselin. Hodnota čísla kyselosti v tomto případě činila 21,37 mg KOH/g v sušině (8,57* mg KOH/g). Šproty v syrovém stavu měli naopak vyšší číslo kyselosti oproti variantám tepelně upraveným. Což znamená, že se snižoval výskyt volných mastných kyselin po tepelných úpravách. Během pečení a smažení byl pozorován pokles čísla kyselosti. Po procesu pečení se snížil výskyt volných mastných kyselin o 34,12 mg KOH/g v sušině (4,78* mg KOH/g). Nejnižší výskyt volných mastných kyselin vykazovali smažené šproty, rozdíl oproti kontrole činil 59,8 mg KOH/g v sušině (9,05* mg KOH/g). Různé tepelné úpravy měly vliv i na stupeň nenasycení tuku. Hodnota **jodového čísla** u syrových sardinek byla stanovena na 390,03 g I₂/100 g v sušině (103,59* g I₂/100 g). Nejvyšší hodnota jodového čísla byla naměřena u jejich pečených variant, kdy hodnota jodového čísla činila 415,67 g I₂/100 g v sušině (130,15* g I₂/100 g). Nejnižší jodové číslo bylo detekováno u smažených sardinek, kdy hodnota jodového čísla činila 354,42 g I₂/100 g v sušině (142,41* g I₂/100 g). U sardinek se v rámci jodového čísla projeví rozdíly ve výsledcích mezi hodnotou sušiny a čerstvou maticí. Výsledek sušiny vykazoval nejnižší jodové číslo u smažených sardinek. Důvodem bylo možné zředění smažicím médiem. Pečení naopak zvýšilo výsledek jodového čísla z důvodu zvýšené oxidace a degradace živin. Tyto jevy jsou projevem delšího působení vzdušného kyslíku, který má během pečení snazší přístup k matici. U výsledků získaných z čerstvé matrice je zaznamenán opačný trend. Tento trend je způsoben větším zastoupením vody v maticích za současného snižování obsahu tuku. Výsledkem je snížení zastoupení vody v rámci procesu pečení. U procesu smažení se naopak naabsorboval olej ze smažicího média na matrice, což současně zvýšilo hodnotu jodového čísla. Matrice získané ze šprotů se chovaly dle očekávání. Tepelně neupravené šproty vykazovaly nejvyšší stupeň nenasycení, jejich hodnota jodového čísla 501,88 g I₂/100 g v sušině (141,38* g I₂/100 g). Proces smažení u šprotů zapříčinil nejnižší hodnotu jodového čísla, a to 387,86 g I₂/100 g v sušině (139,82* g I₂/100 g). Tepelné úpravy se projeví i ve výskytu peroxidů v maticích. Syrové sardinky měly hodnotu **peroxidového čísla** 83,14 mEq/kg v sušině (22,08* mEq/kg). U pečených variant sardinek došlo ke zvýšení peroxidového čísla na hodnotu 534,59 mEq/kg v sušině (167,38* mEq/kg), což poukazuje na zvýšenou tvorbu peroxidů během tohoto procesu. Syrové matrice šprotů vykazovaly výsledek peroxidového čísla 393,35 mEq/kg v sušině (110,81* mEq/kg). Proces pečení snížil výskyt peroxidů. Hodnota peroxidového čísla po pečení byla 168,55 mEq/kg v sušině (53,99* mEq/kg). Nejmenší obsah peroxidů u sardinek i šprotů byl naměřen u tepelných úprav smažením. U smažených sardinek

byla zaznamenána hodnota 52,58 mEq/kg v sušině (21,13* mEq/kg). U smažených šprotů výsledek peroxidového čísla byl 62,33 mEq/kg v sušině (22,47* mEq/kg).

- Tepelná úprava má významný vliv na kvalitu tuku v rybí matrici. Ukázalo se, že pro lepší porozumění vlivům, které dochází během procesu smažení a pečení uvnitř ryb, by bylo zapotřebí provést širší studii s více vzorky. Na základě našich pokusů nelze s jistotou tvrdit, že by pečení či smažení bylo lepší, jelikož každá tepelná úprava s sebou nese své pro a proti.

8. Literatura

Abbas, K. A., Mohamed, A., Jamilah, B., Ebrahimian, M. 2008. A Review on Correlations between Fish Freshness and pH during Cold Storage. [Online]4 (4). 416-421. doi: 10.3844/ajbbsp.2008.416.421.

Abdul, B. A. A. (Ed.) 2014. Seafood cooking methods in nutritional quality. [Online] In: S. Kim. Sea Food science: Advances in Chemistry, Technology and Applications. 1st ed. pp. 47-79. Boca Raton. CRC Press. ISBN: 9780429089060. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/315833575_Seafood_cooking_methods_in_nutritional_quality_Sea_Food_science_Advances_in_Chemistry_Technology_and_Applications_Chapter_3_CRC_PressTaylor_Francis_ISBN_9781466595828_Pp_47-79

Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B. J., Shaman, A., Gupta, S. 2012. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. [Online]10 (1). doi: 10.1186/1477-7827-10-49.

Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., du Plessis, S. S. 2014. Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. [Online]32 (1). doi: 10.5534/wjmh.2014.32.1.1.

Ahmed, M., Pickova, J., Ahmad, T., Liaquat, M., Farid, A., Jahangir, M. 2016. Oxidation of Lipids in Foods. [Online]32 (3). 230-238. doi: 10.17582/journal.sja/2016.32.3.230.238.

Ahn, D. U., Wolfe, F. H., Sim, J. S., Kim, D. H. 1992. Packaging Cooked Turkey Meat Patties while Hot Reduces Lipid Oxidation. [Online]57 (5). 1075-1115. doi: 10.1111/j.1365-2621.1992.tb11267.x.

Alam, A. N. 2007. Chilling and Icing of Fish Chilling and Icing of Fish. [Online] In: Participatory Training of Trainers- A New Approach Applied in Fish Processing. pp. 93-112. Bangladesh. Bangladesh Fisheries Research Forum. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/342232115_Chilling_and_Icing_of_Fish_Chilling_and_Icing_of_Fish

Ali, M. M., Ali, M. L., Proshad, R., Islam, S., Proshad, Z., Kormoker, T., Al, M. A. 2020. Heavy metal concentrations in commercially valuable fishes with health hazard inference from Karnaphuliriver, Bangladesh. [Online]26 (10). 2646–2662. doi: 10.1080/10807039.2019.1676635.

Angeli, J. P. F., Garcia, C. C. M., Sena, F., Freitas, F. P., Miyamoto, S., Medeiros, M. H. G., Di Mascio, P. 2011. Lipid hydroperoxide-induced and hemoglobin-enhanced oxidative damage to colon cancer cells. [Online]51 (2). 503-515. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.015.

- Asghari, L., Zeynali, F., Sahari, M. A. 2013. Effects of boiling, deep-frying, and microwave treatment on the proximate composition of rainbow trout fillets: changes in fatty acids, total protein, and minerals. [Online]4 (29). 847–853. doi: 10.1111/jai.12212.
- Asmat, U., Abad, K., Ismail, K. 2016. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. [Online]24 (5). 547-553. doi: 10.1016/j.jsps.2015.03.013.
- Asokapandian, S., Swamy, G. J., Hajjul, H. 2020. Deep fat frying of foods: A critical review on process and product parameters. [Online]60 (20). 3400-3413. doi: 10.1080/10408398.2019.1688761.
- Ávila-Escalante, M. L., Coop-Gamas, F., Cervantes-Rodríguez, M., Méndez-Iturbide, D., Aranda-González, I. I. 2020. The effect of diet on oxidative stress and metabolic diseases—Clinically controlled trials. [Online]44 (5). doi: 10.1111/jfbc.13191.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., Argüelles, S. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. [Online]2014 . 1-31. doi: 10.1155/2014/360438.
- Bako, T., Umogbai, V. I., Awulu, J. O. 2017. Criteria for the extraction of fish oil. [Online]19 (3). 120-131. Retrieved from <https://cigrjournal.org/index.php/Ejournal/article/view/4021/2587>
- Barrera, G., Pizzimenti, S., Daga, M., Dianzani, C., Arcaro, A., Cetrangolo, G. P., Giordano, G., Cucci, M. A., Graf, M., Gentile, F. 2018. Lipid Peroxidation-Derived Aldehydes, 4-Hydroxynonenal and Malondialdehyde in Aging-Related Disorders. [Online]7 (8). doi: 10.3390/antiox7080102.
- Bartosz, G. (Ed.) 2014. Food Oxidants and Antioxidants: Chemical, Biological, and Functional Properties [Online]. 1st ed. Boca Ranton. CRC Press. ISBN: 978-1-4398-8242-9. Retrieved from Proquest
- Belichovska, K., Belichovska, D., Pejkovski, Z. 2019. Smoke and Smoked Fish Production. [Online]60 (1). 37-43. doi: 10.18485/meattech.2019.60.1.6.
- Berhardt, L. V. (Ed.) 2010. Advances in Medicine and Biology, Volume 3 [Online]. 1st ed. New York. Nova Science Publishers, Incorporated. ISBN: 9781612092195. Retrieved from databáze Proquest
- Bija, S., Luthfiyana, N., Rozi, A. 2022. The Effect of Cooking Process on Nutritional Composition of Lais Fish (*Cryptopterus* sp.). [Online]1083 (1). doi: 10.1088/1755-1315/1083/1/012012.

Bláha, V. 2005. Nové pohledy na roli lipidů ve výživě. [Online]7 (7). 346-348. Retrieved from <https://www.solen.cz/pdfs/int/2005/07/06.pdf>

Blanco, A., Blanco, G. 2017. Medical biochemistry. 1st ed. San Diego, CA. Academic Press, an imprint of Elsevier. ISBN: 978-0-12-803550-4.

Boran, G., Karaçam, H., Boran, M. 2006. Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. [Online]98 (4). 693-698. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.06.041.

Boziaris, I. S. (Ed.) 2014. Seafood Processing: Technology, Quality and Safety [Online]. 1st ed. UK. John Wiley. ISBN: 9781118346198.

Briggs, M., Petersen, K., Kris-Etherton, P. 2017. Saturated Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Replacements for Saturated Fat to Reduce Cardiovascular Risk. [Online]5 (2). doi: 10.3390/healthcare5020029.

Burdge, G. C. 2006. Metabolism of α -linolenic acid in humans. [Online]75 (3). 161-168. doi: 10.1016/j.plefa.2006.05.013.

Calder, P. C. 2015. Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health. [Online]39 (1_suppl). 18S-32S. doi: 10.1177/0148607115595980.

Cao, X., Xia, J., Zhou, Y., Wang, Y., Xia, H., Wang, S., Liao, W., Sun, G. 2022. The Effect of MUFA-Rich Food on Lipid Profile: A Meta-Analysis of Randomized and Controlled-Feeding Trials. [Online]11 (13). doi: 10.3390/foods11131982.

Clifton, P. M., Keogh, J. B., Noakes, M. 2004. Trans Fatty Acids in Adipose Tissue and the Food Supply Are Associated with Myocardial Infarction. [Online]134 (4). 874-879. doi: 10.1093/jn/134.4.874.

Cohn, J. S. 2002. Oxidized fat in the diet, postprandial lipaemia and cardiovascular disease. [Online]13 (1). 19-24. doi: 10.1097/00041433-200202000-00004.

Crack, P. J., Taylor, J. M. 2005. Reactive oxygen species and the modulation of stroke☆. [Online]38 (11). 1433-1444. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.01.019.

Cruz, R. M. S., Khmelinskii, I., Vieira, C. M. (Eds.) 2014. Methods in Food Analysis [Online]. 1st ed. New York. Taylor & Francis Group. ISBN: 978-1-4822-3196-0. Retrieved from database Proquest

David, J. 2013. Maximizing the contribution of fish to human nutrition. [Online]Food And Agriculture Organization Of The Un. Retrieved from https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agn/pdf/ICN2Fish_Nutrition.pdf

- Deckers, J. 2016. The Consumption of Animal Products and the Human Right to Health Care. [Online] In: Animal (De)liberation: Should the Consumption of Animal Products Be Banned?. pp. 13-50. London. Ubiquity Press. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/j.ctv3t5qmj.5>
- Dichi, I., Wander Breganó, J., Colado Simão, A. N., Cecchini, R. (Eds.) 2014. Role of Oxidative Stress in Chronic Diseases [Online]. 1st ed. Boca Ranton. Taylor & Francis Group. ISBN: 978-1-4822-1682-0. Retrieved from databáze Proquest
- Dijkstra, A. J. 2016. Vegetable Oils: Composition and Analysis. [Online] In: Encyclopedia of Food and Health. pp. 357-364. Elsevier. ISBN: 9780123849533.
- Djuricic, I., Calder, P. C. 2021. Beneficial Outcomes of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Human Health: An Update for 2021. [Online]13 (7). doi: 10.3390/nu13072421.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., Lorenzo, J. M. 2019. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. [Online]8 (10). doi: 10.3390/antiox8100429.
- Duarte, A. M., Silva, F., Pinto, F. R., Barroso, S., Gil, M. M. 2020. Quality Assessment of Chilled and Frozen Fish—Mini Review. [Online]9 (12). doi: 10.3390/foods9121739.
- Ebbert, J., Jensen, M. 2013. Fat Depots, Free Fatty Acids, and Dyslipidemia. [Online]5 (2). 498-508. doi: 10.3390/nu5020498.
- El-Deen, G., El-Shamery, M. R. 2010. Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage. [Online]2 (2). 65-74. doi: 10.21608/eajbsg.2010.16710.
- European Food Safety Authority (EFSA) 2017. Dietary Reference Values for nutrients Summary: Summary report. [Online]14 (12). doi: 10.2903/sp.efsa.2017.e15121.
- Fisher, J. A. D., Frank, K. T., Leggett, W. C. 2010. Global variation in marine fish body size and its role in biodiversity–ecosystem functioning. [Online]405 . 1-13. doi: 10.3354/meps08601.
- Fleming, J. A., Kris-Etherton, P. M. 2014. The Evidence for α -Linolenic Acid and Cardiovascular Disease Benefits: Comparisons with Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid. [Online]5 (6). 863S-876S. doi: 10.3945/an.114.005850.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., Shimomura, I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. [Online]114 (12). 1752-1761. doi: 10.1172/JCI21625.

Gharby, S., Harhar, H., Boulbaroud, S., Bouzoubaâ, Z., el Madani, N., Chafchaoui, I., Charrouf, Z. 2014. The stability of vegetable oils (sunflower, rapeseed and palm) sold on the Moroccan market at high temperature. [Online]2014 (5). 47-54. Retrieved from <https://www.iscientific.org/wp-content/uploads/2018/02/8-IJCBS-14-05-02-1-1.pdf>

Gillingham, L. G., Harris-Janz, S., Jones, P. J. H. 2011. Dietary Monounsaturated Fatty Acids Are Protective Against Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease Risk Factors. [Online]46 (3). 209-228. doi: 10.1007/s11745-010-3524-y.

Głuchowski, A., Czarniecka-Skubina, E., Wasiak-Zys, G., Nowak, D. 2019. Effect of Various Cooking Methods on Technological and Sensory Quality of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). [Online]8 (8). doi: 10.3390/foods8080323.

Gökoğlu, N., Yerlikaya, P. 2015. Seafood chilling, refrigeration and freezing: science and technology. 1st ed. Hoboken, NJ. John Wiley. ISBN: 9781118512180.

Granata, L. A., Flick, G. J., Martin, R. E. (Eds.) 2012. The seafood industry: species, products, processing and safety. 2nd ed. Chichester. Wiley-Blackwell. ISBN: 9780813802589.

Grofová, Z. 2010. Mastné kyseliny. [Online]7 (10). 388–390. Retrieved from <https://medicinapopraxi.cz/pdfs/med/2010/08/10.pdf>

Grootveld, M., Silwood, C. J. L., Addis, P., Claxson, A., Serra, B. B., Viana, M. 2001. Health effects of oxidized heated oils. [Online]13 (1). 41-55. doi: 10.1111/j.1745-4506.2001.tb00028.x.

Gurr, M. I., Harwood, J. L., Frayn, K. 2002. Dietary lipids. [Online] In: Lipid Biochemistry. pp. 127-170. Oxford. Blackwell Science. ISBN: 0632054093.

Hageman, G., Kikken, R., Ten Hoor, F., Kleinjans, J. 1988. Assessment of mutagenic activity of repeatedly used deep-frying fats. [Online]204 (4). 593-604. doi: 10.1016/0165-1218(88)90062-6.

Hegde, M. L., Izumi, T., Mitra, S. 2012. Oxidized Base Damage and Single-Strand Break Repair in Mammalian Genomes. [Online] In: Progress in Molecular Biology and Translational Science. pp. 123-153. Elsevier. ISBN: 9780123876652.

Hejazy, M., Khatibi, S. A., Shamsi, Z. 2021. The Effect of Frying Process on the Level of Malondialdehyde in Different Meat Products. [Online]Journal Of Nutrition And Food Security. doi: 10.18502/jnfs.v6i4.7621.

Hernandez, E., Kamal-Eldin, A. 2013. Processing and nutrition of fats and oils. 1st ed. Chichester, West Sussex, UK. Wiley Blackwell. ISBN: 9781118528792.

Huang, X., Ahn, D. U. 2019. Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. [Online]28 (5). 1275-1285. doi: 10.1007/s10068-019-00631-7.

Chantachum, S. Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads. [Online]69 (3). 289-294. doi: 10.1016/S0308-8146(99)00266-6.

Chebet, J., Kinyanjui, T., Cheplogoi, P. K. 2016. Impact of frying on iodine value of vegetable oils before and after deep frying in different types of food in Kenya. [Online]5 (5). 193-196. doi: 10.31254/jsir.2016.5508.

Innes, J. K., Calder, P. C. 2018. Omega-6 fatty acids and inflammation. [Online]132 . 41-48. doi: 10.1016/j.plefa.2018.03.004.

Jackson, L. W., Schisterman, E. F., Dey-Rao, R., Browne, R., Armstrong, D. 2005. Oxidative stress and endometriosis. [Online]20 (7). 2014-2020. doi: 10.1093/humrep/dei001.

Jadoon, S., Malik, A. 2017. A review article on the formation, mechanism and biochemistry of mda and mda as a biomarker of oxidative stress. [Online]5 (12). 811-818. doi: 10.21474/IJAR01/6024.

Jala, R. C. R., Vudhigiri, S., Kumar, C. G. 2022. A comprehensive review on natural occurrence, synthesis and biological activities of glycolipids. [Online]516 . doi: 10.1016/j.carres.2022.108556.

Johnson, D. R., Decker, E. A. 2015. The Role of Oxygen in Lipid Oxidation Reactions: A Review. [Online]6 (1). 171-190. doi: 10.1146/annurev-food-022814-015532.

Kalač, P. 2003. Funkční potraviny: kroky ke zdraví. České Budějovice. Dona. ISBN: 80-7322-029-6.

Kaur, N., Chugh, V., Gupta, A. K. 2014. Essential fatty acids as functional components of foods- a review. [Online]51 (10). 2289-2303. doi: 10.1007/s13197-012-0677-0.

Kavka, M. 2017. Ryby, ostatní vodní živočichové a výrobky z nich. 2. přepracované vydání. Praha. Sdružení českých spotřebitelů, z.ú. ISBN: 978-80-87719-52-7.

Kim, K. -B., Nam, Y. A., Kim, H. S., Hayes, A. W., Lee, B. -M. 2014. A-Linolenic acid: Nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. [Online]70 . 163-178. doi: 10.1016/j.fct.2014.05.009.

Kleckerová, A. 2014. Chemie potravin: laboratorní příručka. 1st ed. Brno. Mendelova univerzita. ISBN: 978-80-7509-170-3.

Klusáčková, Z., Skoumalová, A. 2012. Úloha mastných kyselin v rozvoji Alzheimerovy choroby. [Online]20 (41). 182–187. Retrieved from <https://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2012/2012-3/KBM12-3-Klusackova-182.pdf>

Kodíček, M., Valentová, O., Hynek, R. 2018. Biochemie: chemický pohled na biologický svět. 2. přepracované vydání. Praha. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN: 978-80-7592-013-3.

Kuşçu, N. K., Var, A. 2009. Oxidative stress but not endothelial dysfunction exists in non-obese, young group of patients with polycystic ovary syndrome. [Online]88 (5). 612-617. doi: 10.1080/00016340902859315.

Kusu, F., Fuse, T., Takamura, K. 1994. Voltammetric Determination of Acid Values of Fats and Oils. [Online]77 (6). 1686-1688. doi: 10.1093/jaoac/77.6.1686.

Kwaghvihi, O. B., Akombo, P. M., Omeji, S. 2020. Effect of Wood Smoke on the Quality of Smoked Fish. [Online]04 (02). 72-82. doi: 10.46382/MJBAS.2020.4207.

Langella, J. P. (Ed.) 2012. Saturated Fats: Metabolism, Disease Risks and Public Awareness [Online]. 1st ed. New York. Nova Science Publishers, Incorporated. ISBN: 9781620810736. Retrieved from databáze Proquest

Ledvina, M., Stoklasová, A., Cerman, J. 2020. Biochemie pro studující medicíny. 3. vydání. Praha. Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum. ISBN: 978-80-246-4748-7.

Le Lay, S., Simard, G., Martinez, M. C., Andriantsitohaina, R. 2014. Oxidative Stress and Metabolic Pathologies: From an Adipocentric Point of View. [Online]2014 . 1-18. doi: 10.1155/2014/908539.

Lin, Y. H., Salem, N. 2007. Whole body distribution of deuterated linoleic and α -linolenic acids and their metabolites in the rat. [Online]48 (12). 2709-2724. doi: 10.1194/jlr.M700369-JLR200.

Liou, G. -Y., Storz, P. 2010. Reactive oxygen species in cancer. [Online]44 (5). 479-496. doi: 10.3109/10715761003667554.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. [Online]4 (8). doi: 10.4103/0973-7847.70902.

Losada, V., Barros-Velázquez, J., Gallardo, J. M., Aubourg, S. P. 2006. Effect of previous slurry ice treatment on the quality of cooked sardine (*Sardina pilchardus*). [Online]224 (2). 193-198. doi: 10.1007/s00217-006-0321-1.

Marnett, L. J. 1999. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. [Online]424 (1-2). 83-95. doi: 10.1016/S0027-5107(99)00010-X.

Matata, B. M., Elahi, M. M. (Eds.) 2010. Oxidative Stress: A Focus on Cardiovascular Disease Pathogenesis [Online]. 1st ed. New York. Nova Science Publishers. ISBN: 978-1-61668-359-7. Retrieved from databáze Proquest

Matějčková, J., Samec, M., Jaček, M., Tůma, P. 2011. Monitorování malondialdehydu u pacientek s karcinomem dělohy a vaječníků pomocí HPLC. [Online]Chemické Listy. (105). 375-380.

Melton, L., Shahidi, F., Varelis, P. (Eds.) 2019. Encyclopedia of Food Chemistry [Online]. 1st ed. Elsevier. ISBN: 978-0-12-814045-1. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/referencework/9780128140451/encyclopedia-of-food-chemistry>

Mier-Cabrera, J., Jiménez-Zamudio, L., García-Latorre, E., Cruz-Orozco, O., Hernández-Guerrero, C. 2011. Quantitative and qualitative peritoneal immune profiles, T-cell apoptosis and oxidative stress-associated characteristics in women with minimal and mild endometriosis. [Online]118 (1). 6-16. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02777.x.

Mishra, S. P. 2020. Significance of fish nutrients for human health. [Online]3 (5). 47-49. Retrieved from <https://www.fishjournals.com/>

Moghadasian, M. H., Shahidi, F. 2017. Fatty Acids. [Online] In: International Encyclopedia of Public Health. pp. 114-122. Elsevier. ISBN: 9780128037089.

Mohammadi, M. 2019. Oxidative stress and polycystic ovary syndrome: A brief review. [Online]10 (1). doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_576_17.

Moloney, J. N., Cotter, T. G. 2018. ROS signalling in the biology of cancer. [Online]80 . 50-64. doi: 10.1016/j.semcd.2017.05.023.

Moradi, Y., Bakar, J., Motalebi, A. A., Syed Muhamad, S. H., Che Man, Y. 2011. A Review on Fish Lipid: Composition and Changes During Cooking Methods. [Online]20 (4). 379-390. doi: 10.1080/10498850.2011.576449.

Mozuraityte, R., Kristinova, V., Rustad, T. 2016. Oxidation of Food Components. [Online] In: Encyclopedia of Food and Health. pp. 186-190. Elsevier. ISBN: 9780123849533.

Musil, D. 2004. Nestabilní koronární sklerotické pláty. [Online]Interní Medicína Pro Praxi. (349). 2285–2287. Retrieved from <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2005/04/12.pdf>

Nair, V., Wang, P. G., Wang, P. G. 2004. Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis [Online]. 2nd ed. Chichester, UK. John Wiley & Sons. ISBN: 0471936235. Retrieved from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/047084289X.rm013.pub2?saml_referrer

Nelson, J. R., Wani, O., May, H. T., Budoff, M. 2017. Potential benefits of eicosapentaenoic acid on atherosclerotic plaques. [Online]Vascular Pharmacology. (91). 1-9. doi: 10.1016/j.vph.2017.02.004.

Newsholme, P., Cruzat, V. F., Keane, K. N., Carlessi, R., de Bittencourt, P. I. H. 2016. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. [Online]473 (24). 4527-4550. doi: 10.1042/BCJ20160503C.

Nishikawa, T., Araki, E. 2007. Impact of Mitochondrial ROS Production in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus and Its Complications. [Online]9 (3). 343-353. doi: 10.1089/ars.2006.1458.

Nollet, L. M. L., Toldrá, F. (Eds.) 2009. Handbook of seafood and seafood products analysis [Online]. 1st ed. Boca Raton, FL. CRC Press. ISBN: 9781420046335.

Ohmori, H., Fujii, K., Kadochi, Y., Mori, S., Nishiguchi, Y., Fujiwara, R., Kishi, S., Sasaki, T., Kuniyasu, H. 2017. Elaidic Acid, a Trans-Fatty Acid, Enhances the Metastasis of Colorectal Cancer Cells. [Online]84 (3). 144-151. doi: 10.1159/000449205.

Oke, E. K., Idowu, M. A., Sobukola, O. P., Adeyeye, S. A. O., Akinsola, A. O. 2018. Frying of Food: A Critical Review. [Online]16 (2). 107-127. doi: 10.1080/15428052.2017.1333936.

Pal, J., Shukla, B. N., Maurya, A. K., Verma, H. O., Pandey, G., Amitha 2018. A review on role of fish in human nutrition with special emphasis to essential fatty acid. [Online]6 (2). 427-430. Retrieved from <https://www.fisheriesjournal.com/archives/2018/vol6issue2/PartF/6-2-50-593.pdf>

Panaser, A., Tighe, B. J. 2012. Function of lipids – their fate in contact lens wear: An interpretive review. [Online]35 (3). 100-111. doi: 10.1016/j.clae.2012.01.003.

Pánek, J. 2002. Základy výživy. Praha. Svoboda Servis. ISBN: 80-86320-23-5.

Pathare, P. B., Roskilly, A. P. 2016. Quality and Energy Evaluation in Meat Cooking. [Online]8 (4). 435-447. doi: 10.1007/s12393-016-9143-5.

Paulová, H., Dostál, J., Králíková, M., Peš, O., Slanina, J., Táborská, E., Tomandlová, M. 2021. Biochemie pro nelékařské zdravotnické obory. Brno. Masarykova univerzita. ISBN: 978-80-210-9858-9.

- Pirini, M., Testi, S., Ventrella, V., Pagliarani, A., Badiani, A. 2010. Blue-back fish: Fatty acid profile in selected seasons and retention upon baking. [Online]123 (2). 306-314. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.04.036.
- Polak, G., Koziół-Montewka, M., Gogacz, M., Błaszowska, I., Kotarski, J. 2001. Total antioxidant status of peritoneal fluid in infertile women. [Online]94 (2). 261-263. doi: 10.1016/S0301-2115(00)00352-3.
- Putri, D. N., Manshur, H. A. A., Setyawan, T., Harini, N. 2021. Physicochemical and fatty acid profile of fish oil from red snapper heads (*lutjanus malabaricus*) refined from various naoh concentrations. [Online]15 (4). 1026-1037. doi: 10.21107/agrointek.v15i4.11098.
- Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. M. T., Shekhar, H. U. 2012. Oxidative stress and human health. [Online]03 (07). 997-1019. doi: 10.4236/abb.2012.327123.
- Rajaram, S. 2014. Health benefits of plant-derived α -linolenic acid. [Online]100 (suppl_1). 443S-448S. doi: 10.3945/ajcn.113.071514.
- Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K., Yadav, U. C. S. 2016. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. [Online]148 . 183-193. doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.002.
- Raut, S. K., Khullar, M. 2022. Oxidative stress in metabolic diseases: current scenario and therapeutic relevance. [Online]Molecular And Cellular Biochemistry. doi: 10.1007/s11010-022-04496-z.
- Ravisankar, P., Reddy, A. A., Nagalakshmi, B., Kumar, B. V., Anvith, P. S. 2015. The Comprehensive Review on Fat Soluble Vitamins. [Online]5 (11). 12-28. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Ravi-Sankar-24/publication/340871885_The_Comprehensive_Review_on_Fat_Soluble_Vitamins/links/5eacc09fa6fdcc7050a19773/The-Comprehensive-Review-on-Fat-Soluble-Vitamins.pdf
- Sampels, S. 2015. The Effects of Storage and Preservation Technologies on the Quality of Fish Products: A Review. [Online]39 (6). 1206-1215. doi: 10.1111/jfpp.12337.
- Siems, W., Grune, T. 2005. [Online] In: Free Radicals and Diseases: Gene Expression, Cellular Metabolism and Pathophysiology. 1st ed. pp. 11-21. Amsterdam. IOS Press. ISBN: 1-58603-518-5. Retrieved from databáze Proquest
- Sikorski, Z. E., Kołakowska, A. (Eds.) 2011. Chemical, biological, and functional aspects of food lipids. 2nd ed. Boca Raton. CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN: 9781439802373.
- Simopoulos, A. P. 2010. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio: health implications. [Online]17 (5). 267-275. doi: 10.1051/ocl.2010.0325.

Singh, N., Singh, I. S. 2018. Food Nutrition, Science and Technology [Online]. 1st ed. New Delhi. Woodhead Publishing India PVT. ISBN: 978-93-85059-93-3.

Singh, Z., Karthigesu, I. P., Singh, P., Kaur, P. 2014. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. [Online]3 (43). 7-16. Retrieved from <https://ijph.tums.ac.ir/index.php/ijph/article/view/4858>

Skufca, P., Brandsch, C., Hirche, F., Eder, K. 2003. Effects of a Dietary Thermally Oxidized Fat on Thyroid Morphology and mRNA Concentrations of Thyroidal Iodide Transporter and Thyroid Peroxidase in Rats. [Online]47 (5). 207-213. doi: 10.1159/000070487.

Sobral, M. M. C., Cunha, S. C., Faria, M. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O. 2017. Domestic Cooking of Muscle Foods: Impact on Composition of Nutrients and Contaminants. [Online]17 (2). 309-333. doi: 10.1111/1541-4337.12327.

Sottero, B., Leonarduzzi, G., Testa, G., Gargiulo, S., Poli, G., Biasi, F. 2019. Lipid Oxidation Derived Aldehydes and Oxysterols Between Health and Disease. [Online]121 (1). doi: 10.1002/ejlt.201700047.

Spurný, P. 2014. Základy morfologie, anatomie a fyziologie ryb. [Online]. Retrieved October 17, 2022, from https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/files/184/20366.pdf

Stołyhwo, A., Sikorski, Z. E. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish – a critical review. [Online]91 (2). 303-311. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.06.012.

Tacon, A. G. J., Metian, M. 2013. Fish Matters: Importance of Aquatic Foods in Human Nutrition and Global Food Supply. [Online]21 (1). 22-38. doi: 10.1080/10641262.2012.753405.

Talbot, G. 2016. The Stability and Shelf Life of Fats and Oils. [Online] In: Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition : Properties, Processing and Applications. 2nd ed. pp. 461-503. Cambridge. Elsevier. ISBN: 9780081004357.

Thilsted, S. H. : 2012. The potential of nutrient-rich small fish species in aquaculture to improve human nutrition and health. [Online] In: R. P. Subasinghe, J. R. Arthur, D. M. Bartley, S. S. De Silva, M. Halwart, N. Hishamunda, C. V. Mohan, & P. Sorgeloos. Farming the Waters for People and Food. pp. 57-73. Itálie, Bankog. FAO/NACA. ISBN: 978-92-5-107233-2. Retrieved from <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2013000858>

Tokur, B. 2007. The effect of different cooking methods on proximate composition and lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). [Online]42 (7). 874-879. doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.01298.x.

- Tsikak, D. 2017. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. [Online]524 . 13-30. doi: 10.1016/j.ab.2016.10.021.
- Turhan, S., Ustun, N. S., Temiz, H. 2011. Lipid Quality of Anchovy (*Engraulis Encrasicolus*) Fillets Affected by Different Cooking Methods. [Online]14 (6). 1358-1365. doi: 10.1080/10942911003672159.
- Velišek, J., Hajšlová, J. 2009. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor. OSSIS. ISBN: 978-80-86659-17-6.
- Venturini, D., Simão, A. N. C., Sripes, N. A., Bahls, L. D., Melo, P. A. S., Belinetti, F. M., Lozovoy, M. A. B., Dichi, I. 2012. Evaluation of Oxidative Stress in Overweight Subjects With or Without Metabolic Syndrome. [Online]20 (12). 2361-2366. doi: 10.1038/oby.2012.130.
- von Schacky, C. 2003. The role of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease. [Online]5 (2). 139-145. doi: 10.1007/s11883-003-0086-y.
- Vrablík, M. 2008. Omega-3 mastné kyseliny a kardiovaskulární onemocnění. [Online]4 (3). 127-129. Retrieved from https://www.praktickelekarenstvi.cz/artkey/lek-200803-0006_Omega-3_mastne_kyseliny_a_kardiovaskularni_onemocneni.php
- Vrablík, M., Janotová, M., Motyková, E., Prusíková, M. 2011. Endoteliální dysfunkce – první stadium aterosklerózy. [Online]8 (3). 119-122. Retrieved from <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2011/03/05.pdf>
- Wang, D. 2012. Food chemistry (H. Lin, J. Kan, L. Liu, X. Zeng, & G. Shen, Eds.). 1st ed. New York. Nova Science Publishers. ISBN: 9781619421363.
- Wang, T., Hammond, E. G. 2010. Lipoxygenase and lipid oxidation in foods. [Online] In: Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications. pp. 105-121. Elsevier. ISBN: 9781845696481.
- Wang, Y., Sharma, R. K., Falcone, T., Goldberg, J., Agarwal, A. 1997. Importance portance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. [Online]68 (5). 826-830. doi: 10.1016/S0015-0282(97)00343-9.
- Weber, J., Bochi, V. C., Ribeiro, C. P., Victório, A. de M., Emanuelli, T. 2008. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. [Online]106 (1). 140-146. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.05.052.
- Wilhelm, Z. 2011. Metabolický syndrom. [Online]7 (5). 223–226. Retrieved from https://www.solen.cz/artkey/lek-201105-0006_Metabolicky_syndrom.php

Wilhelm, Z. 2013. Mastné kyseliny ω -3; od teorie po klinickou praxi. [Online]10 (2). 72-76. Retrieved from <https://www.solen.cz/pdfs/med/2013/02/07.pdf>

Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., Enser, M. 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. [Online]66 (1). 21-32. doi: 10.1016/S0309-1740(03)00022-6.

Zaghi, A. N., Barbalho, S. M., Guiguer, E. L., Otoboni, A. M. 2019. Frying Process: From Conventional to Air Frying Technology. [Online]35 (8). 763-777. doi: 10.1080/87559129.2019.1600541.

Zailer, E. 2019. Holistic Control of Fats and Oils by NMR Spectroscopy. [Online] In: Encyclopedia of Food Chemistry. pp. 168-181. Elsevier. ISBN: 9780128140451.

Zeb, A. 2019. Food Frying: Chemistry, Biochemistry, and Safety [Online]. 1st ed. USA. John Wiley & Sons. ISBN: 9781119468486. Retrieved from <https://ebookcentral.proquest.com/lib/czup/detail.action?docID=5632909>.

Zhang, L., Shan, Y., Hong, H., Luo, Y., Hong, X., Ye, W. 2020. Prevention of protein and lipid oxidation in freeze-thawed bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) fillets using silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fin hydrolysates. [Online]123 . doi: 10.1016/j.lwt.2020.109050.

Zhong, L., Goldberg, M. S., Parent, M. -É., Hanley, J. A. 1999. Risk of developing lung cancer in relation to exposure to fumes from Chinese-style cooking. [Online]25 (4). 309-316. doi: 10.5271/sjweh.440.

Zlatanov, S., Laskaridis, K. 2007. Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and picarel (*Spicara smaris*). [Online]103 (3). 725-728. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.013..

9. Seznamy

9.1 Seznam použitých obrázků:

- Obrázek 1: Znázornění lipidové dvojvrstvy. Zdroj: H. Josífková a M. Teplá (2020), dostupné z: http://www.studiumbiochemie.cz/materialy/meziobor/lipidy/studijni_text_lipidy.pdf.....15
- Obrázek 2: Struktura plasmatického lipoproteinu. Zdroj: Paulová et al. (2021).18
- Obrázek 3: Nalevo je vyzobrazena kontrolní skupina. Je zde patrný zvýšený výskyt aterosklerotických plátů než u skupiny suplementovanou EPA (napravo). Zdroj: Nelson et al. (2017).26
- Obrázek 4: Znázornění procesu fotooxidace. Převzato z prezentace VŠCHT, dostupné z: https://web.vscht.cz/~dolezala/CHPC/7%20Lipidy,%20reakce_cvi%20c4%20den%20c3%20ad.pdf.41
- Obrázek 5: 2D chemická struktura MDA. Zdroj: Nair et al. 200852
- Obrázek 6: Nákres Soxhletova extraktoru. Dostupné z: <https://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/labtech/pages/soxhlet.html>56
- Obrázek 7: Chemická reakce MDA s TBA za vzniku jejich aduktu. Zdroj: Weitner et al. (2016), dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/304069866_Spectrophotometric_Determination_of_Malondialdehyde_in_Urine_Suitable_for_Epidemiological_Studies/figures?lo=160
- Obrázek 8: Nákres destilační aparatury. Dostupné z: <https://eluc.ikap.cz/verejne/lekce/2268> 61
- Obrázek 9: Číslo kyselosti- grafický výstup z programu STATISTICA.....63
- Obrázek 10: Jodové číslo- grafický výstup z programu STATISTICA.64
- Obrázek 11: Peroxidové číslo- grafický výstup z programu STATISTICA.65
- Obrázek 12: Grafické znázornění proměnlivého obsahu tuku u sardinek a šprotů.66
- Obrázek 13: Grafické znázornění rozdílného zastoupení tuku u sardinek a šprotů během tepelných úprav67
- Obrázek 14: Kalibrační graf pro výpočet MDA v jednotlivých vzorcích.68
- Obrázek 15: Grafické znázornění obsahu MDA v mase sardinek a šprotů.68

Obrázek 16: Grafické znázornění proměnlivého obsahu MDA v $\mu\text{g}/1\text{ g}$ u jednotlivých druhů ryb v rámci tepelných úprav.69

9.2 Seznam použitých tabulek

Tabulka 1: Tuková čísla a stanovované vlastnosti tuků. Zdroj: Kleckerová (2014), upraveno.49

Tabulka 2: Tabulka vybraných druhů tuků a olejů, a jejich orientační hodnota jodového čísla. Zdroj: Cruz et al. 2014.....50

Tabulka 3: Předpokládané hodnoty jodového čísla a k nim odpovídající navážky. Zdroj: Cruz et al. (2014).....50

Tabulka 4: Očekávané hodnoty peroxidového čísla a k němu odpovídající navážka. Zdroj: Cruz et al. (2014).....51

Tabulka 5: Hmotnosti (v g) vzorků ryb před a po lyofilizaci a k nim příslušné sušiny:61

Tabulka 6: Výsledky analýz jednotlivých tukových čísel, převedených na hmotnost sušiny: .62

Tabulka 7: Obsah tuku [%] v matricích při různých tepelných úpravách jednotlivých druhů ryb.66

Tabulka 8: Obsah MDA [$\mu\text{g}/1\text{ g}$ tuku] v mase ryb při různých tepelných úpravách, vztaženo na sušinu.68

9.3 Seznam použitých zkratk:

ATP- adenosintrifosfát

BaP- benzo[α]pyren

BHT- butylhydroxytoulen

CAT- kataláza

ČK- číslo kyselosti

DHA- dokosahexaenová kyselina

EFSA- European food safety authority, Evropský úřad pro bezpečnost potravin

EPA- eikosapentaenová kyselina

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations, Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů

GIT- gastrointestinální trakt

GSH-Px- glutathion peroxidáza
HDL- lipoprotein o vysoké hustotě
IDL- lipoproteiny se střední hustotou
JČ- jodové číslo
LDL- lipoproteiny o nízké hustotě
MDA- malondialdehyd
mEq- miliekvivalenty
MK- mastné kyseliny
MUFA- mononenasycené mastné kyselina
OSN- organizace spojených národů
PAU- polyaromatické uhlovodíky
PCOS- syndrom polycystických ovarii
PČ- peroxidové číslo
PUFA- polynenasycené mastné kyseliny
ROS- reactive oxygen species, reaktivní formy kyslíku
SOD- superoxid dismutáza
TBA- thiobarbiturová kyselina
TEP- 1,1,3,3-tetramethoxypropan
VLDL- lipoprotein o velmi nízké hustotě
WHO- World Health Organization, Světová zdravotnická organizace

10. Samostatné přílohy

10.1 Tuková čísla

10.1.1 Číslo kyselosti

Statistická tabulka pro F-test (ANOVA):

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro ČÍSLO KYSELOSTI (Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy)				
	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
průsečík	135544,8	1	135544,8	54172,69	0,000000
DRUH RYBY	29758,2	1	29758,2	11893,35	0,000000
TEPELNÁ ÚPRAVA	9260,1	2	4630,1	1850,48	0,000000
DRUH RYBY*TEPELNÁ ÚPRAVA	12748,9	2	6374,5	2547,65	0,000000
Chyba	30,0	12	2,5		

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby:

Tukeyův HSD test; proměnná ČÍSLO KYSELOSTI (tukova cisla_sušina); Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 2.5021, SV = 12.000					
Č. buňky	DRUH RYBY	ČÍSLO KYSELOSTI Průměr	1	2	
			1	SARDINKA	46,117
2	ŠPROTY	127,437		****	

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná ČÍSLO KYSELOSTI (tukova cisla_sušina); Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 2.5021, SV = 12.000						
Č. buňky	TEPELNÁ ÚPRAVA	ČÍSLO KYSELOSTI Průměr	1	2	3	
			3	SMAŽENÉ	60,156	****
1	SYROVÉ	84,591		****		
2	PECENÉ	115,585			****	

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby x tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná ČÍSLO KYSELOSTI (tukova cisla_sušina); Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 2.5021, SV = 12.000								
Č. buňky	DRUH RYBY	TEPELNÁ ÚPRAVA	ČÍSLO KYSELOSTI Průměr	1	2	3	4	5
				1	SARDINKA	SYROVÉ	10,441	****
3	SARDINKA	SMAŽENÉ	21,369		****			
6	ŠPROTY	SMAŽENÉ	98,942			****		
2	SARDINKA	PECENÉ	106,542				****	
5	ŠPROTY	PECENÉ	124,627					****
4	ŠPROTY	SYROVÉ	158,742					

10.1.2 Jodové číslo

Statistická tabulka pro F-test (ANOVA):

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro JODOVÉ ČÍSLO (tukova císlo_sušina) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
průsečík	3113143	1	3113143	22847,41	0,000000
DRUH RYBY	15314	1	15314	112,39	0,000000
TEPELNÁ ÚPRAVA	18727	2	9364	68,72	0,000000
DRUH RYBY*TEPELNÁ ÚPRAVA	6453	2	3227	23,68	0,000068
Chyba	1635	12	136		

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby:

Tukeyův HSD test; proměnná JODOVÉ ČÍSLO (tukova císlo_sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 136.26, SV = 12.000					
Č. buňky	DRUH RYBY	JODOVÉ ČÍSLO Průměr	1	2	
1	SARDINKA	386,707	****		
2	ŠPROTY	445,044		****	

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná JODOVÉ ČÍSLO (tukova císlo_sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 136.26, SV = 12.000					
Č. buňky	TEPELNÁ ÚPRAVA	JODOVÉ ČÍSLO Průměr	1	2	
3	SMAŽENÉ	371,137	****		
2	PECENÉ	430,534		****	
1	SYROVÉ	445,955		****	

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby x tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná JODOVÉ ČÍSLO (tukova císlo_sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 136.26, SV = 12.000							
Č. buňky	DRUH RYBY	TEPELNÁ ÚPRAVA	JODOVÉ ČÍSLO Průměr	1	2	3	4
3	SARDINKA	SMAŽENÉ	354,418	****			
6	ŠPROTY	SMAŽENÉ	387,856		****		
1	SARDINKA	SYROVÉ	390,031		****		
2	SARDINKA	PECENÉ	415,672		****	****	
5	ŠPROTY	PECENÉ	445,396			****	
4	ŠPROTY	SYROVÉ	501,879				****

10.1.3 Peroxidové číslo

Statistická tabulka pro F-test (ANOVA):

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro PEROXIDOVÉ ČÍSLO Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
průsečík	837910,2	1	837910,2	14121,03	0,000000
DRUH RYBY	1062,2	1	1062,2	17,90	0,001166
TEPELNÁ ÚPRAVA	264066,8	2	132033,4	2225,12	0,000000
DRUH RYBY*TEPELNÁ ÚPRAVA	344414,1	2	172207,1	2902,15	0,000000
Chyba	712,1	12	59,3		

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby:

Tukeyův HSD test; proměnná PEROXIDOVÉ ČÍSLO (tukova cisla_sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 59.338, SV = 12.000					
Č. buňky	DRUH RYBY	PEROXIDOVÉ ČÍSLO Průměr	1	2	
2	ŠPROTY	208,074	****		
1	SARDINKA	223,438		****	

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná PEROXIDOVÉ ČÍSLO (tukova cisla_sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 59.338, SV = 12.000					
Č. buňky	TEPELNÁ ÚPRAVA	PEROXIDOVÉ ČÍSLO Průměr	1	2	3
3	SMAŽENÉ	57,452	****		
1	SYROVÉ	238,246		****	
2	PECENÉ	351,569			****

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby x tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná PEROXIDOVÉ ČÍSLO (tukova cisla_sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 59.338, SV = 12.000								
Č. buňky	DRUH RYBY	TEPELNÁ ÚPRAVA	PEROXIDOVÉ ČÍSLO Průměr	1	2	3	4	5
3	SARDINKA	SMAŽENÉ	52,579	****				
6	ŠPROTY	SMAŽENÉ	62,325	****	****			
1	SARDINKA	SYROVÉ	83,140		****			
5	ŠPROTY	PECENÉ	168,545			****		
4	ŠPROTY	SYROVÉ	393,351				****	
2	SARDINKA	PECENÉ	534,594					***

10.2 Obsah tuku ve vzorcích

Statistická tabulka pro F-test (ANOVA):

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro OBSAH TUKU [%] (Annie_obsah tuku) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
průsečík	10704,85	1	10704,85	445953,9	0,000000
DRUH RYBY	2466,02	1	2466,02	102732,1	0,000000
ÚPRAVA	312,80	2	156,40	6515,5	0,000000
DRUH RYBY*ÚPRAVA	335,07	2	167,53	6979,3	0,000000
Chyba	0,14	6	0,02		

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná OBSAH TUKU [%] (Annie_obsah tuku) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = .02400, SV = 6.0000			
	DRUH RYBY	OBSAH TUKU [%] Průměr	1	2
1	SARDINKY	15,532	****	
2	ŠPROTY	44,203		****

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- tepelná úprava:

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná OBSAH TUKU [%] (Annie_obsah tuku) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = .02400, SV = 6.0000				
	ÚPRAVA	OBSAH TUKU [%] Průměr	1	2	3
1	SYROVÉ	25,835	****		
2	PECENÉ	26,697		****	
3	SMAŽENÉ	37,071			****

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby x tepelná úprava:

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná OBSAH TUKU [%] (Annie_obsah tuku) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = .02400, SV = 6.0000								
	DRUH RYBY	ÚPRAVA	OBSAH TUKU [%] Průměr	1	2	3	4	5	6
1	SARDINKY	SYROVÉ	6,140	****					
2	SARDINKY	PECENÉ	10,531		****				
3	SARDINKY	SMAŽENÉ	29,925			****			
5	ŠPROTY	PECENÉ	42,864				****		
6	ŠPROTY	SMAŽENÉ	44,216					****	
4	ŠPROTY	SYROVÉ	45,529						****

10.3 Obsah malondialdehydu v rybím mase

Statistická tabulka pro F-test (ANOVA):

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro MALONDIALDEHYD [$\mu\text{g}/1 \text{ g}$ tuku] (§ Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
průsečík	5932968	1	5932968	1313733	0,000000
DRUH RYBY	284478	1	284478	62992	0,000000
ÚPRAVA	2481962	2	1240981	274790	0,000000
DRUH RYBY*ÚPRAVA	169534	2	84767	18770	0,000000
Chyba	27	6	5		

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby

Tukeyův HSD test; proměnná MALONDIALDEHYD [$\mu\text{g}/1 \text{ g}$ tuku] (Statistika DP sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 4.5161, SV = 6.0000					
Č. buňky	DRUH RYBY	MALONDIALDEHYD [$\mu\text{g}/1 \text{ g}$ tuku] Průměr	1	2	
1	SARDINKY	549,177	****		
2	ŠPROTY	857,115		****	

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná MALONDIALDEHYD [$\mu\text{g}/1 \text{ g}$ tuku] (Statistika DP sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 4.5161, SV = 6.0000					
Č. buňky	ÚPRAVA	MALONDIALDEHYD [$\mu\text{g}/1 \text{ g}$ tuku] Průměr	1	2	3
1	SYROVÉ	239,927	****		
3	SMAŽENÉ	548,340		****	
2	PECENÉ	1321,170			****

Statistická tabulka pro Tukeyův test, faktor- druh ryby x tepelná úprava:

Tukeyův HSD test; proměnná MALONDIALDEHYD [$\mu\text{g}/1 \text{ g}$ tuku] (Statistika DP sušina) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 4.5161, SV = 6.0000								
Č. buňky	DRUH RYBY	ÚPRAVA	MALONDIALDEHYD [$\mu\text{g}/1 \text{ g}$ tuku] Průměr	1	2	3	4	5
1	SARDINKY	SYROVÉ	189,080	****				
3	SARDINKY	SMAŽENÉ	227,849		****			
4	ŠPROTY	SYROVÉ	290,774			****		
6	ŠPROTY	SMAŽENÉ	868,832				****	
2	SARDINKY	PECENÉ	1230,601					**