

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Fakulta rybářství a ochrany vod**

**Ústav akvakultury**

Bakalářská práce

**Určení a kvantifikace mastných kyselin ve vybraných rybích  
produktech**

**Autor:** Petr Ondrouch

**Vedoucí bakalářské práce:** RNDr. Aleš Tomčala, PhD.

**Studijní program a obor:** Rybářství

**Forma studia:** Kombinovaná

**Ročník:** čtvrtý

## Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum:

Podpis studenta:

## Poděkování

Tímto chci poděkovat vedoucímu své práce, panu RNDr. Aleši Tomčalovi, PhD., za ochotu a erudici s jakou mi pomáhal, za motivaci vydržet a dokončit co jsem začal, za veškerý čas který mi obětoval. Bez jeho pomoci by bylo dokončení mé bakalářské práce zcela nemožné. Dále chci poděkovat kolektivu studijního pracoviště, neboť nebýt jejich obrovského nasazení, se kterým vycházejí vstříc studentům řešícím nejrůznější patálie, ztroskotal bych na první překážce vzešlé ze studia při zaměstnání. V neposlední řadě, bych rád poděkoval své ženě, Mgr. Zuzaně Ondrouchové, za veškerou podporu, klid a teplo domova, a na konec děkuji všem, kteří se jakkoli podíleli svou pomocí na realizaci této bakalářské práce.

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Petr ONDROUCH**  
Osobní číslo: **V18B006K**  
Studijní program: **B4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Téma práce: **Určení a kvantifikace mastných kyselin ve vybraných rybích produktech**  
Zadávající katedra: **Ústav akvakultury a ochrany vod**

### Zásady pro vypracování

Cílem práce je seznámení se s problematikou příjmu esenciálních mastných kyselin a jejich vlivem na zdraví. Dále pak zvládnout metodiku stanovení mastných kyselin v různých matricích a to především v potravinách. Benefity příjmu esenciálních mastných kyselin pro člověka jsou známou věcí. Dnešní západní dieta však obsahuje těchto mastných kyselin velmi málo a právě jejich absence ve stravě vede až k tak závažným onemocněním jako je metabolický syndrom a jeho veškeré sekundární projevy např. diabetes. Esenciální mastné kyseliny tzv. omega nenasycené mastné kyseliny jsou klíčové také pro vývoj centrální nervové soustavy u dětí. Právě toto je cílová skupina projektu zabývající se hledáním nových produktů z ryb, které by právě děti přijaly a oblíbily by si je. Mimo atraktivitu těchto výrobků jako je chuť a vzhled je také nutné kvantifikovat obsah jednotlivých mastných kyselin a porovnat ho s tradičními produkty.

V první fázi práce tedy dojde k vypracování literární rešerše zabývající se jednak prospěšností esenciálních mastných kyselin a jejich obsah v klasických pokrmech západní diety. V další části rešerše se student bude věnovat chemickým vlastnostem a metodám determinace a kvantifikace mastných kyselin jako celku.

Laboratorní část práce bude prováděna v laboratoři výživy (Husova třída, ČB), kde budou zpracovány vzorky komerčně dostupných produktů přímo rybích či s příměsí ryb a porovnány s klasickými produkty bez ryb a pak se samotnými rybami. Vzorek bude homogenizován, extrahován, transmetylván, změřen pomocí metody GC-FID a výsledky budou zpracovány v MS excel a statistickém programu.

Rozsah pracovní zprávy: **30-50 stran**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

### Seznam doporučené literatury:

- Appelqvist, L.A., 1968. Rapid methods of lipid extraction and fatty acid methyl ester preparation for seed and leaf tissue with special remarks on preventing accumulation of lipid contaminants. *Arkiv for Kemi* 28, 551-+.
- Barcelo-Coblijn, G., Murphy E.J., 2009. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progress in Lipid Research* 48, 355-374.
- Hara, A., Radin N.S., 1978. Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent. *Anal. Biochem.* 90, 420-426.
- Ichihara, K., Shibahara A., Yamamoto K., Nakayama T., 1996. An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids (vol 31, pg 535, 1996). *Lipids* 31, 889-889.
- Williams, C.M., 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zotech.* 49, 165-180.

Zahradníčková, H., Tomčala A., Berková P., Schneedorferová I., Okrouhlík J., Šimek P., Hodková M., 2014. Cost effective, robust, and reliable coupled separation techniques for the identification and quantification of phospholipids in complex biological matrices: Application to insects. Journal of Separation Science 37, 2062-2068.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Aleš Tomčala, Ph.D.**  
Ústav akvakultury a ochrany vod

Konzultant bakalářské práce: **MSc. Hui JIA**  
Ústav akvakultury a ochrany vod

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. května 2021**

  
\_\_\_\_\_  
prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
děkan

LS.

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Jan Kašpar  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 7. února 2020

## Obsah

1	Úvod .....	8
2	Literární přehled .....	10
2.1	Mastné kyseliny .....	10
2.1.1	Lipidy a jejich dělení: .....	12
2.1.2	Zdroje, fyziologická úloha a účinky LCFA (Long chain fatty acids) .....	13
2.1.3	Optimální a doporučený příjem Lipidů/MK v potravě .....	17
2.2	Sumeček africký .....	18
2.3	Analytické metody .....	22
2.3.1	Extrakce liquid/liquid .....	22
2.3.2	Derivatizace .....	22
2.3.3	Plynová chromatografie (gas chromatography - GC) .....	23
3	Materiály a Metody .....	25
3.1	Materiály užití v práci .....	25
3.1.1	Chemikálie: .....	25
3.1.2	Vzorky produktů: .....	25
3.2	Metodika analýz .....	28
3.2.1	Extrakce tuku .....	28
3.2.2	Metylace .....	28
3.2.3	GC FID .....	28
3.2.4	Metodika zpracování statistických dat .....	29
4	Výsledky .....	30
4.1	Kalibrace dle standardů GC FID .....	30
4.2	Obsah tuku .....	31
4.3	Obsah mastných kyselin .....	31
4.3.1	PCA obsahu mastných kyselin .....	36
4.3.2	RDA obsahu mastných kyselin .....	37

5	Diskuze.....	39
6	Závěr.....	42
7	Zdroj literatury .....	43
8	Seznam tabulek a grafů .....	46
9	Abstrakt .....	47
10	Abstract .....	48

# 1 Úvod

Dle WHO (Světové zdravotnické organizace) je největším zdravotním problémem dneška obezita. Kvůli obezitě dochází až k 4,7 milionu předčasných úmrtí ročně. V Evropě má potíže s nadváhou průměrně 53% populace a obezitou 15%. Česká republika není v Evropě výjimkou, ba naopak, a to co se hlavně mužů týče. Nadváhou trpí takřka 70% mužské populace (WHO 2015). Obezita je úzce spojena se zvýšeným rizikem vzniku chronických onemocnění, jako jsou například kardiovaskulární choroby, diabetes 2. typu a některé druhy rakoviny (Williams 2000, Žák 2011).

Dle Českého statistického úřadu (ČSÚ 2020) na kardiovaskulární onemocnění v letech 2011-2020 zemřelo více než půl milionu lidí, v průměru tedy 50 tisíc za rok, a to je 40% všech zaznamenaných úmrtí v tomto období. Pro srovnání, na COVID-19 v roce 2020 umřelo 10 539 pacientů, tedy 8% všech úmrtí. Z těchto údajů naprosto jasně vyplývá, že česká populace nepatří právě mezi nejzdravější a mohou za to stravovací návyky. Téma výživy a stravovacích návyků je velmi obsáhlé. My se zaměříme na tuky obecně. Tuků přijímaných s potravou jsou dvě skupiny, jednak tzv. fosfolipidy, ze kterých se skládají buněčné membrány a které jsou obsaženy prakticky v jakékoliv potravě, jak původu rostlinného, tak živočišného; a jednak jsou zde jako druhá skupina triacylglyceroly, zásobní lipidy pocházející převážně ze živočišných zdrojů, zvířat z hospodářských chovů, případně lisované jako oleje z rostlin a jejich plodů (Dostálová, 2011). Primární složkou obou těchto skupin tuků jsou mastné kyseliny, mající dle svých strukturních vlastností klíčový vliv na fungování metabolismu. Pozitivní zdravotní účinky mají hlavně vysoce nenasycené mastné kyseliny (PUFA a HUFA). Podle vlivu na metabolismus jdou tyto mastné kyseliny dělit na dvě skupiny, omega-3 a omega-6. Omega-3 jsou nejvíce prospěšné, mají protizánětlivé účinky, působí preventivně proti kardiovaskulárním onemocněním a obezitě (Williams 2000, Connor 2000). Zástupci nejznámějších a nejprospěšnějších z nich jsou eikosapentaenová kyselina (EPA) a dokosahexaenová kyselina (DHA). Omega-6 mastné kyseliny jsou prozánětlivé (což má samozřejmě v organismu taky svůj přínos, například při hojení ran), a kromě jiného také zvyšují riziko nadváhy a tím i vznik chronických kardiovaskulárních nemocí. Správný poměr n-3 a n-6 PUFA (a HUFA) by měl být 1:2-1:4. V Evropě a Severní Americe je tento poměr aktuálně okolo 1:20-30, dle jiných, optimističtějších, tvrzení 1:15-17 (Simopoulos 2008, 2016). Toto je jeden z nejdůležitějších faktorů výživy, jehož projevem jsou extrémně vysoké statistiky úmrtí na kardiovaskulární nemoci. Má se za to, že byl-li by tento poměr v populaci optimalizován, úmrtnost na tato onemocnění by se snížila až o 60% a byla by ovlivněna



incidence dalších onemocnění, jako jsou poruchy imunity, alergie, rakovina a dokonce i některá psychiatrická onemocnění (Connor 2000, Grofová 2010).

Jako nejefektivnější řešení, které se jeví poměrně jednoduše, je doporučené zvýšení konzumace ryb a rybích produktů, což je taky cílem tohoto výzkumu. Rozšířená nabídka produktů z ryb může přitáhnout větší procento populace. Vzhledem k velmi konzervativním stravovacím návykům v Česku se však jedná o úkol značně obtížný.

V této práci jsem se zaměřil na stanovení obsahu mastných kyselin ve vybraných rybích produktech plynovou chromatografií a statistickými metodami a tím jejich ověření jako zdroje n-3 mastných kyselin. Dále pak na srovnání obsahu mastných kyselin v produktech obsahujících rybí maso a produktech, které rybí maso neobsahují.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou společně s proteiny a sacharidy jedny ze základních kamenů všech organismů (Žák a kol., 2003, Holeček a kol., 1983, Špička, 2004). MK jsou zpravidla alifatické uhlíkové řetězce, acyklické, obsahující na jednom konci karboxylovou skupinu (Murray a kol., 2002). Obvykle se nevyskytují volně, ale ve formě esterů, vázané na glycerolovou kostru, tvoří nejrozmanitější skupinu lipidů a to glycerolipidy. Mohou se však také vyskytovat volné, neesterifikované, v transportní formě, a to v krevní plazmě (Murray a kol., 2002). Délka řetězce MK je velmi variabilní a dosahuje rozsahu od 2 do 36 atomů uhlíků (Žák a kol., 2003, Holeček a kol., 1983, Špička, 2004). MK lze dělit na základě délky řetězce, a to na MK s krátkým řetězcem (SCFA, short chain fatty acids, 2-4 uhlíky), sem patří kyselina octová, propionová a máselná; MK se střední délkou řetězce (MCFA, medium chain fatty acids, 8-12 uhlíků) a MK s dlouhým řetězcem (LCFA long chain fatty acids, 14-22 uhlíků), (Grofová, 2010). Nejčastější MK vyskytující se v přírodě se však skládají z 12-22 atomů uhlíku, a to buď jako nasycené (neobsahující dvojnou vazbu) nebo nenasyčené obsahující jednu či více dvojných vazeb. V případě nasycených MK používáme zkratku SFA – saturated fatty acid. Pokud je řetězec mastné kyseliny nasycen jednou, má jednu dvojnou vazbu hovoříme o MUFA – monounsaturated fatty acid. Pokud je však řetězec mastné kyseliny o délce do 18 uhlíků nasycen více jak dvakrát (dvě dvojně vazby) hovoříme o PUFA – polyunsaturated fatty acids a pakliže přesáhne délku 20 uhlíků, hovoříme o HUFA – highly unsaturated fatty acids. Pro jasnost byl zvolen zápis MK následovným vzorcem X:Y n-Z kde X je počet atomů uhlíku, Y je počet dvojných vazeb, Z značí polohu dvojně vazby od opačného konce, než na kterém se nachází skupina COOH (n) (Grofová, 2010, Žák a kol., 2003). Dále lze MK rozdělit na cis a trans, což určuje poloha dvojně vazby a prostorová orientace molekuly vůči ní, přirozeně se MK vyskytují v cis konfiguraci. (Murray a kol., 2002). Přehled metabolicky aktivních MK lze nalézt v tabulce 1.

Úloha MK v živých organismech je celá řada. Od základních strukturních součástí fosfolipidů tvořících všechny buněčné membrány, přes zdroj energie v triacylglycerolech, po funkci energetické zásobárny a termické izolace v tukových tkáních. (Žák a kol., 2003, Grofová, 2010)

**Tabulka 1:** Mastné kyseliny důležité pro metabolické pochody (Žák a kol., 2003)

Značení	Systematický název (IUPAC)	Triviální název	Zkratka
12:0	Dodekanová	Laurová	
14:0	Tetradekanová	Myristová	MA
14:1 n-5	cis-9-tetradecenová	Myristoolejová	MOA
16:0	Hexadecenová	Palmitová	PA
16:1 n-9	cis-7-hexadecenová		
16:1 n-7	cis-9-hexadecenová	Palmitoolejová	POA
18:0	Oktadekanová	Stearová	SA
18:1 n-9	cis-9-oktadecenová	Olejová	OA
18:1 n-7	cis-11-oktadecenová	Vakcenová	VA
18:2 n-6	Cis,cis-9,12-oktadekadienová	Linolová	LA
18:3 n-6	Cis,cis,cis-6,9,12-oktadekatrienová	Gama-linolenová	GLA
18:3 n-3	Cis,cis,cis-9,12,15 -oktadekatrienová	Alfa-linolenová	ALA
18:4 n-3	Cis,cis,cis-6,9,12,15- oktadekatetraenová	Stearidová	
20:0	Eikosanová	Arachová	
20:1 n-11	cis-9-eikosenová	Gadolová	
20:1 n-9	cis-11-eikosenová	Gondoová	
20:2 n-6	Cis,cis- 11,14 -eikosadienová		
20:3 n-9	Cis,cis,cis-5,8,11-eikosatrienová	Meadová	
20:3 n-6	Cis,cis,cis- 8,11,14-eikosatrienová	Dihomo-gama-linolenová	DHGLA
20:4 n-6	Cis,cis,cis,cis-5,8,11,14-eikosatetraenová	Arachidonová	AA
20:5 n-3	Cis,cis,cis,cis,cis-5,8,11,14,17-eikosapetaenová	Timmnodonová	EPA
22:0	Dokosanová	Behenová	
22:1 n-11	cis-11-dokosenová	Cetolová	
22:1 n-9	cis-13-dokosenová	Eruková	
22:4 n-6	Cis,cis,cis,cis-7,10,13,16-docosatetraenová	Adrenová	
22:5 n-3	Cis,cis,cis,cis-7,10,13,16-dokosapentaenová		DPA-3
22:5 n-6	Cis,cis,cis,cis,cis-4,7,10,13,16-docosapentaenová		DPA-6
22:6 n-3	Cis,cis,cis,cis,cis,cis-4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová	Klupadonová	DHA
24:0	Tetrakosanová	Lignocerová	
24:1 n-9	cis-15-tetrakosenová	Nervonová	NA

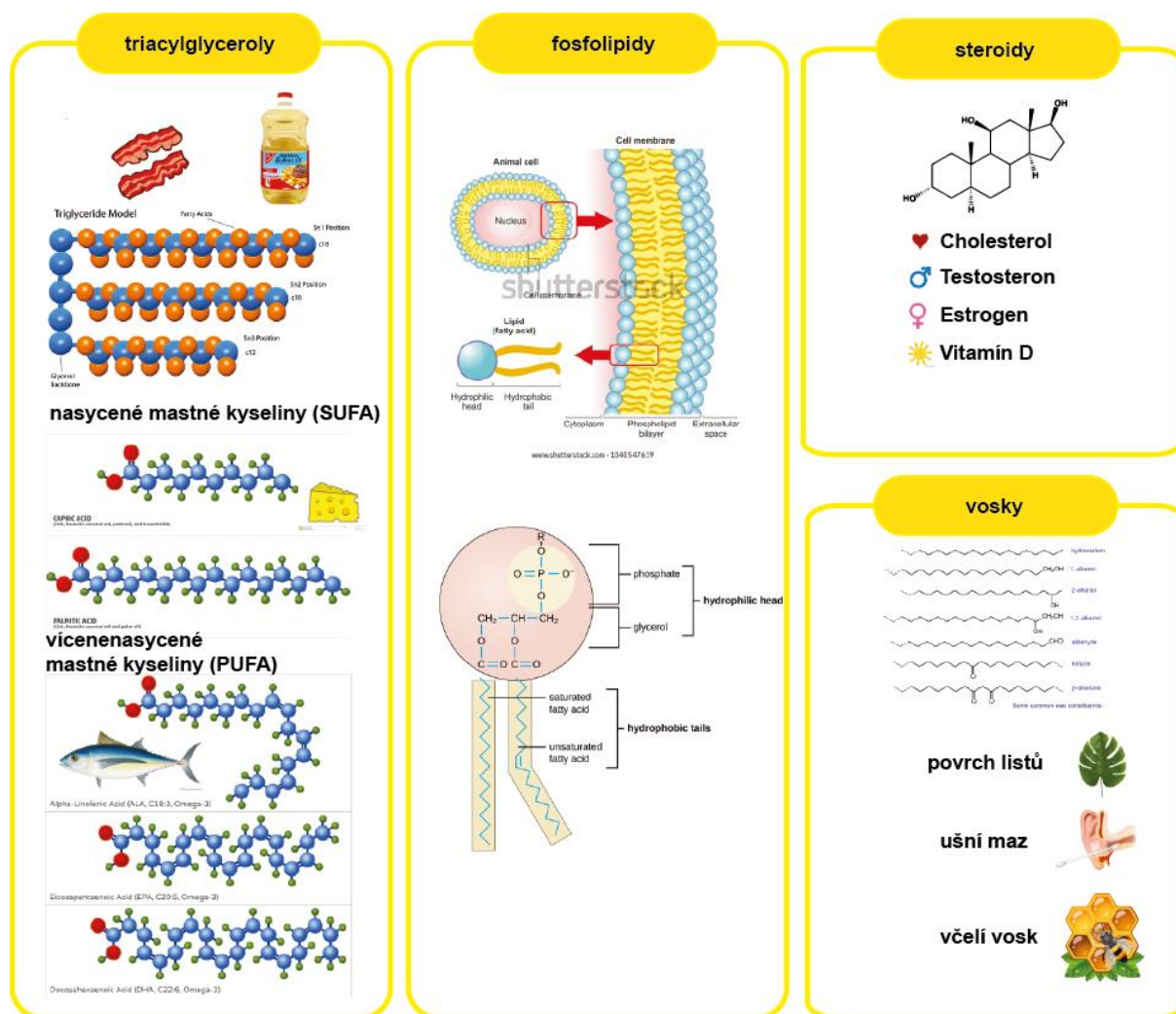
### 2.1.1 Lipidy a jejich dělení:

Lipidy jako skupina látek zahrnuje rozmanité molekuly o podobných vlastnostech. Existuje mnoho různých rozdělení. Vzhledem k bohatosti této skupiny a s rozmachem analytické chemie dochází k objevování nových struktur a z toho důvodu je klasifikace poměrně dynamická. Celosvětově vědecky uznávanou je webová platforma lipidmaps.org. Pro účely této práce bylo zvoleno zjednodušené rozdělení založené na funkcích jednotlivých tříd lipidů (tabulka 2 a obrázek 1).

**Tabulka 2:** Rozdělení lipidů na základě lipidomického jádra a funkce (Murphy a kol., 2006)

Lipidická třída	Lipidický druh	Lipidy	
Neutrální lipidy	Mono-, Di -, Triacylglyceroly	funkční	
Mastné kyseliny	Volné mastné kyseliny, amidy mastných kyselin		
Steroly	Isoprenoidy, cholesterol, steroidy, steroly, žlučová kyselina		
Glycerofosfolipidy	Fosfolipidy, kardiolipiny, lyso fosfolipidy, plasmalogeny		strukturní
Sfingolipidy/ Glykosfingolipidy	Sfingomyelin, glykosfingolipidy, ceramidy, sfingosin		

Dále se dají lipidy dělit na jednoduché, složené, a prekurzory a odvozeniny, kde za jednoduché považujeme estery MK a alkoholů, tuky estery s glycerolem, vosky s vyššími jednosytnými alkoholy. Složené kromě MK a alkoholu obsahují i další funkční skupiny; fosfolipidy kyselinu fosforečnou, podle alkoholu je rozlišujeme na glycerofosfolipidy a sfingofosfolipidy; glykolipidy (MK+sfingosin+cukerná složka) a ostatní složené lipidy jako jsou sulfolipidy, aminolipidy a lipoproteiny. Mezi předchůdce a odvozeniny počítáme MK, glycerol, steroidy, alkoholy a další mastné látky (Murray a kol., 2002).



Obrázek 1.: Lipidy dle výskytu a struktury, upraveno dle Tomčala, 2022; osobní sdělení

## 2.1.2 Zdroje, fyziologická úloha a účinky LCFA (Long chain fatty acids)

### 2.1.2.1 Nasycené mastné kyseliny (SFA)

Mezi tyto MK patří kyseliny laurová (12:0), myristová (14:0), palmitová (16:0), stearová (18:0). Jedná se až o 90% ze všech nasycených kyselin, které přijímáme s potravou. V organismu mají vysokou aterogenní a trombogenní tendenci. Jejich konzumace zvyšuje hladinu LDL cholesterolu, který pravděpodobně souvisí s ischemickou chorobou srdeční (Simopoulos, 2008). Kyselina stearová zvyšuje z výše jmenovaných MK hladinu cholesterolu nejméně. Zdrojem těchto MK jsou především kokosový olej, palmový olej, máslo, sádlo, lůj (Žák a kol., 2003). Dále sem patří MK označované jako VLCFA (Very long chain fatty

acids), což jsou MK s velmi dlouhým řetězcem (např. kyselina arachová, 20:0) a jejich koncentrace v krevním séru jsou dávány do souvislosti s vrozenými poruchami metabolismu. Tyto poruchy mohou být léčeny s využitím n-3 PUFA a HUFA (Holeček a kol., 1983).

#### 2.1.2.2 Mononenasyčené mastné kyseliny (MUFA)

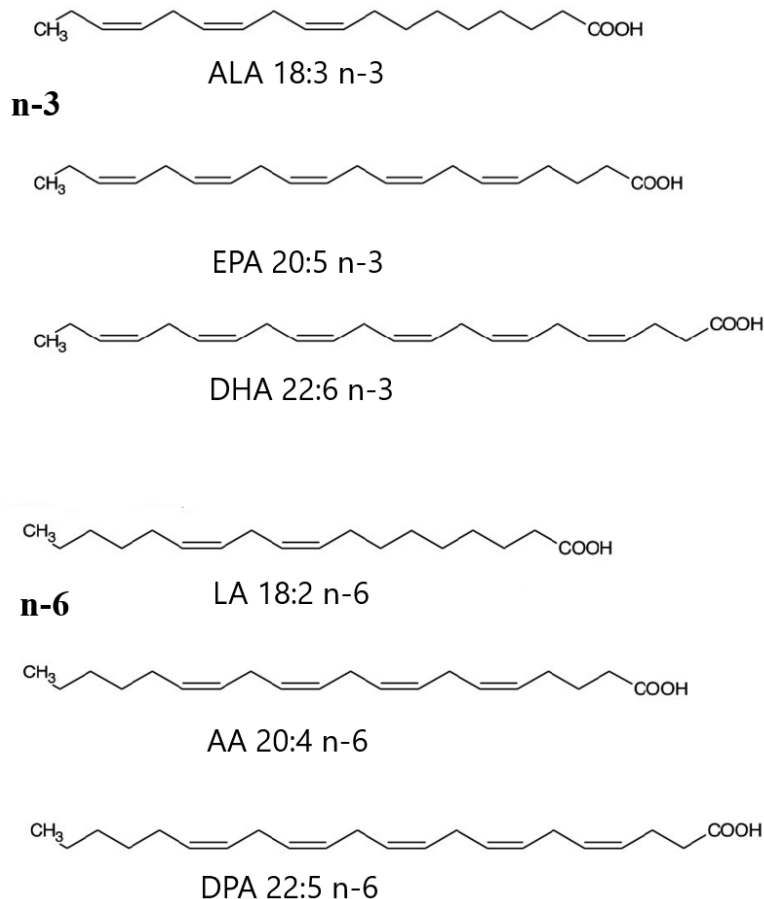
Hlavními MUFA exogenního původu jsou kyselina olejová (18:1 n-9), vakcenová (18:1 n-7) a palmitolejová (16:1 n-7). Dále pak gadolová (20:1 n-11), eruková (trans) a cetolová (22:1 n-11). MUFA endogenního původu jsou kyseliny myristolejová (14:1 n-5), gondoová (20:1 n-11), eruková (22:1 n-9) a nervonová (24:1 n-9), jejich zastoupení je však marginální (Holeček a kol., 1983). Zdrojem nejznámější z MUFA, kyseliny olejové, je především řepkový a olivový olej. Kyselina olejová působí za podmínek nižšího příjmu tuků (do 30%) jak protiatteroskleroticky, tak antitrombogenně. Řepka však obsahuje přirozeně také kyselinu erukovou, která je kardiotoxická. Byla tedy vyšlechtěna řepka bezeruková, případně kanola (řepka vyšlechtěná pro zvýšený obsah kyseliny stearové), která se používá k výrobě margarínů (Žák a kol., 2003, Grofová, 2010).

#### 2.1.2.3 Vícenenasycené mastné kyseliny (PUFA) a vysocenenasyčené MK (HUFA)

Při nedostatku vnějších zdrojů je lidský organismus schopen si mastné kyseliny z řady n-9 syntetizovat sám. Nicméně tzv. PUFA/HUFA esenciální, tzn. PUFA/HUFA z řad n-6 a n-3 není schopen syntetizovat sám a musí je přijímat v potravě. Rozdíly z hlediska strukturního mezi řadou n-6 a n-3 lze nalézt na obrázku 2. PUFA/HUFA působí výrazně proti trombóze i ateroskleróze tím, že působí v metabolismu celkově na tekutost membrán, na funkci membránových enzymů a receptorů, regulují krevní tlak, koncentrace lipoproteinů v plazmě, a ovlivňují další složky metabolismu (Žák a kol., 2003).

#### 2.1.2.4 PUFA a HUFA n-6

Vysoký obsah PUFA n-6 (větší než 60 procent) má olej sójový a slunečnicový a hlavní PUFA n-6 je kyselina linolová (LA, 18:2, n-6). Vícenenasycené PUFA n-6 působí jako regulátory LDL i HDL cholesterolu. Kyselina arachidonová (20:4 n-6) je zdrojem pro syntézu eikosanoidů, které fungují jako intra- i extracelulární signální molekuly (Žák a kol., 2003). V organismu se LA mění na kyselinu gama-linolenovou, dále na kyselinu dihomogama-linolenovou, ta na kyselinu arachidonovou následně pak vznikají prostaglandiny podporující zánětlivé a trombické procesy, tedy procesy které podporují hojení ran (Grofová, 2010).



**Obrázek 2.:** Strukturální vzorce esenciálních n-6 a n-3 MK (Zdroj obrázku: Kashiwagi a Huang 2012)

#### 2.1.2.4.1 PUFA a HUFA n-3

Hlavní PUFA je kyselina alfa-linolenová (ALA, 18:3 n-3), jejími produkty v organismu pak HUFA EPA (20:5n-3) a DHA (22:6, n-3). Tyto jsou však mnohem efektivněji konvertovány vodními organismy než lidským metabolismem a proto je většina těchto MK v organismu vnějšího původu (Žák a kol., 2003). Nicméně jak uvádí Barceló-Coblijn a Murphy (2009), ALA lepší ničeho. I samotná ALA, je-li navýšen její příjem s potravou, má vliv na celkové navýšení obsahu n-3 MK v tkáních. Nejen dle Connora (2000), n-3 PUFA jsou v lidské výživě nezbytné (Connor, 2000; Williams, 2000; Simonopoulos 2008, 2016), podílí se významně na stavbě fosfolipidových membrán ve všech tkáních organismu, a zvláště hojně se vyskytují v buněčných membránách sítnice, mozku a spermií, kde tvoří DHA (22:6 n-3) prakticky 1/3 všech MK. Pro membrány v těchto tkáních je obzvláště důležitá fluidita

možná díky vyššímu počtu dvojných vazeb MK v nich obsažených. Není tedy divu, že nedostatek n-3 MK v sítnici může zapříčinit omezení vidění, případně úplnou slepotu.

Zásadním faktem je, že n-3 MK mohou působit terapeuticky i preventivně proti tzv. civilizačním chorobám, které se díky nesprávné životosprávě vyskytují v západní civilizaci. K chorobám, které mohou n-3 MK a jejich příjem ovlivnit patří ischemická choroba srdeční a mrtvice, nedostatek esenciálních MK v kojeneckém věku (špatný vývoj sítnice a mozku), autoimunitní poruchy (např. lupus a nefropatii), Crohnova nemoc, rakoviny prsu, tlustého střeva a prostaty, mírná hypertenze a revmatoidní artritida (Connor, 2000; Williams, 2000; Simonopoulos 2008, 2016).

Nejmarkantněji je prokázán poměr mezi n-3 MK a nemocemi na vztahu nepřímé úměrnosti obsahu n-3 MK ve stravě (a tím v krvi a v tkáních), projevy výskytu ICHS (Ischemické choroby srdeční) a komplikací s touto chorobou spojených. Přestože cholesterol a nasycené tuky jsou v případě ICHS v potravě nebezpečné až smrtelné, n-3 MK z ryb a dalších mořských plodů jsou schopné tyto účinky kompenzovat a různými mechanismy bránit úmrtí na tato onemocnění. N-3 MK tedy mohou ovlivnit kardiovaskulární choroby různými způsoby, např. brání arytmií, jsou prekurzory prostaglandinu a leukotrienu, mají protizánětlivé vlastnosti, inhibují syntézu cytokinů a mitogenů, stimulují endoteliální oxid dusnatý, jsou antitrombotické, účinkují hypolipidemicky na TAG, LDL i HDL cholesterol a brání tak ateroskleróze (Connor 2000, Williams, 2000, Simonopoulos 2008, Grofová, 2010).

Tyto výjimečné vlastnosti n-3 MK byly poprvé zjištěny u Eskymáků v Grónsku. Jejich strava byla převážně živočišného původu a obsahovala velké množství tuku tuleního, velrybího i rybího. I přes vysoký příjem živočišných tuků měli velmi nízký výskyt různých srdečních chorob. Dalšími výzkumy bylo zjištěno, že důvodem tohoto paradoxu je vysoký podíl HUFA o velkých délkách řetězce v přijímané potravě, a to EPA (eikosapentaenová kyselina) a DHA (dokosahexaenová kyselina), které se ve velkém množství nachází v rybách, korýších a mořských savcích (do potravního řetězce se dostávají z mořských řas, fytoplanktonu) a které se u suchozemských živočichů i rostlin vyskytují vzácně nebo vůbec. Suchozemské rostliny poskytují další n-3 MK, ALA (18 uhlíkatou alfa-linolenovou kyselinu), kterou lze metabolicky využít k syntéze EPA a DHA, a která má sama o sobě zdravotní přínosy (Connor 2000, Grofová 2010, Simonopoulos 2016).



### 2.1.3 Optimální a doporučený příjem Lipidů/MK v potravě

Vzhledem k předchozím výzkumům a nutričním zkušenostem byla určena optimální množství příjmu tuků a MK v potravě, které lze nalézt v tabulce 3. Je doporučeno konzumovat co nejméně nasycených (SFA) a trans nenasycených mastných kyselin (TFA). Jak uvádí Žák a kol. (2003), trans-MK mají všeobecně škodlivější zdravotní účinky než MK v cis konfiguraci. Dále pak, optimální poměr n-3 a n-6 PUFA by byl 1:2-1:4. V Evropě a Severní Americe je tento poměr aktuálně okolo 1:20-30, dle optimističtějších tvrzení 1:15-17. S přihlédnutím k vysoké úmrtnosti na kardiovaskulární onemocnění (až 50%) se předpokládá, že přechod zpět na „eskymácký“ poměr (1:4) by mohl snížit úmrtnost na tato onemocnění o 60% a významně ovlivnit další onemocnění (autoimunitní, alergická, některá psychiatrická onemocnění a nádory) (Harika a kol. 2013, WHO 2015).

**Tabulka 3:** Optimální příjem tuků v potravě (Grofová 2010, Harika a kol. 2013)

<b>lipidy celkově</b>	<b>25-35%</b>
nasycené a trans-nenasycené (SFA, TFA)	do 10 %
mononenasycené (MUFA)	20%
polynenasycené (PUFA)	nad 5 %
linolová (omega - 6)	3-5 %
linolenová (omega - 3), ALA, EPA, DHA	0,5-1 %

Nejjednodušším doporučovaným krokem k úpravě poměru n-3 a n-6 MK je zvýšit konzumaci ryb (Grofová 2010).

Pro ilustraci stávající situace byly vybrány nejčastěji používané tuky v gastronomii. Poměry mastných kyselin lze nalézt v tabulce 4. Tyto tuky se běžně používají v gastronomii na smažení, eventuálně, v případě rostlinných tuků, pro přípravu salátů. Nutno dodat, že v případě vepřového sádla byly použity hodnoty nejlepšího toskánského vepřového tuku (Serra 2014), kterých běžně komerčně dostupné vepřové sádlo nedosahuje. Z uvedených hodnot se nejlépe z hlediska poměru n-6/n-3 umístil olivový olej. Z uvedeného přehledu MK a jejich působení na zdravotní stav můžeme v rámci prevence především doporučit snížení příjmu SFA (živočišných i rostlinných), vyhnout se konzumaci trans-MK a tedy ztuženým tukům (informace na obalech potravin), omezit smažené potraviny a fastfood. A hlavně, zvýšit příjem ryb na 2x až 3x za týden (Grofová, 2010).

**Tabulka 4.:** Srovnání obsahu FA v rostlinných a živočišných zdrojích

MK (%)	řepkový olej	olivový olej	vepřové sádlo
10:0	0,01	-	-
15:0	0,02	-	0,04
16:0	4,60	16,50	18,86
17:0	0,04	-	0,30
18:0	1,70	2,30	8,64
20:0	-	0,43	0,19
22:0	-	0,15	-
16:1	0,21	1,80	2,45
17:1 (n-7)	-	-	0,03
18:1is (n-9)	63,30	66,40	37,61
18:1trans (n-9)	0,14	-	0,25
20:1(n-9)	9,10	0,30	1,08
18:2is (n-6)	19,60	16,40	7,33
18:3 (n-3)	1,20	1,60	0,39
20:5 (n-3)	-	-	-
22:6 (n-3)	-	-	-
SFAs	9,30	19,40	29,34
MUFAs	72,80	68,20	44,60
PUFAs	20,90	18,00	8,60
n-3 PUFAs	1,20	1,60	0,51
n-6 PUFAs	19,60	16,40	8,00

Převzato od Serra 2014, Orsavová 2015

## 2.2 Sumeček africký

Keříčkovec červenolemý (obrázek 3.), zvaný též sumeček africký nebo clarias (*Clarias gariepinus*, Burchell) je druh sladkovodní ryby z čeledi keříčkovcovitých (Clariidae). Tělo je bez šupin, torpédovitě protáhlé, hřbet a bok je tmavě šedé až olivové, břišní partie jsou bílé. Hlava je shora zploštělá, překrytá silnou kostěnou strukturou lebky, okolo úst se nacházejí 4 páry dlouhých vousů. Hřbetní ploutev zasahuje až k ocasnímu násadci a obsahuje 68-79 měkkých paprsků. První paprsky prsních ploutví jsou tvrdé a na vnitřní straně jsou ozubené (Hamáčková a kol., 2007).



**Obrázek 3:** Sumeček africký (*Clarias gariepinus*), (Zdroj obrázku: Ing. Jan Matoušek, FROV)

Pohlavní dimorfismus je zřetelný, samci (mlíčáci) se vyznačují delší pohlavní papilou kónického tvaru, samice (jikernačky) mají papilu hvězdicového tvaru, v období před výtěrem mají viditelně zvětšenou břišní partii (Hamáčková a kol., 2007). Kromě žaberního aparátu, kterým *Clarias gariepinus* dýchá kyslík rozpuštěný ve vodě, disponuje i velmi dobře vyvinutým labyrintním orgánem pro příjem atmosférického kyslíku. Berka (1988) uvádí, že při redukci obsahu rozpuštěného kyslíku připlouvají ryby k vodní hladině a svou kyslíkovou potřebu doplňují ze vzduchu. Labyrint se nachází v horní části žaberní dutiny za žábrami, z dorsální strany je chráněný 11 výběžky dozadu zasahujících lebečních kostí a umožňuje přežívání sumečků i ve vodách s nulovým obsahem kyslíku, tj. převážně v obdobích sucha, kdy se voda v periodicky zaplavovaných územích v místech jeho původního výskytu často udrží jen v malých jezírcích, resp. napajedlech. Právě schopnost dýchat i atmosférický kyslík je jedním z podstatných důvodů, proč byl úspěšně zaveden chov tohoto druhu. Jiné druhy nesnesou tak nízké hodnoty kyslíku ve vodě a mimořádně vysoké hustoty obsádek, při jakých bývá *Clarias gariepinus* běžně odchováván (Hamáčková a kol., 2007). *Clarias gariepinus* se vyznačuje převážně večerní a noční aktivitou. Při simulaci nočních podmínek snížením intenzity světla, klesá u chovaných *Clarias gariepinus* agresivita a mírní se projevy kanibalismu. (Hossain a kol., 1998). V přirozeném prostředí se živí dravě. Jako hlavní potrava mu slouží různí bezobratlí, jejich vývojová stádia, obojživelníci a v dospělosti hlavně drobné ryby. V místě původního výskytu dorůstá maximálně do 140 cm a výjimečně do hmotnosti přes 60 kg. Průměrně však nepřesahuje délku 70 cm (Hamáčková a kol., 2007). V Evropě je chován převážně v recirkulačních akvakulturních systémech (RAS) (Mota a kol., 2015).

**Tabulka 5.:** Srovnání výsledků měření obsahu vybraných MK ve svalovině z *C. gariepinus*

zdroj	Rosa a kol. 2007	Ng a kol. 2003	Ozório a kol. 2001
extrakční metoda	Bligh-Dyer	Bligh-Dyer	Soxhlet
14:0	0,46	2,91	3,89
16:0	24,57	26,38	33,53
18:0	6,50	4,88	7,10
16:1	5,79	6,13	5,89
18:1	19,33	37,80	23,64
20:1	3,61	0,83	4,18
22:1	2,48	0,21	2,66
18:2n-6	12,42	11,11	7,03
18:3n-6	0,23	0,00	0,00
18:3n-3	1,93	4,57	0,70
20:4n-6	0,57	0,31	0,39
20:5n-3	6,80	1,25	2,75
22:5n-6	2,04	1,56	0,89
22:6n-3	13,27	2,08	7,36
Σ SFA	31,53	34,16	44,51
Σ MUFA	31,21	44,96	36,38
Σ PUFA n-6	15,27	12,98	8,31
Σ PUFA n-3	22,00	7,89	10,81
n3/n6	0,69	1,64	0,77

Údaje v tabulce jsou pro srovnání uvedeny v %

Autoři, zabývající se problematikou chovu *Clarias gariepinus* jak v klasické akvakultuře (zde se jedná o v Africe jednu z nejpreferovanějších ryb), tak v RAS, se shodují, že vzhledem k nenáročnosti na prostor a hustotu obsádky a snášenlivosti proměnlivé kvality vody včetně velmi nízké hladiny kyslíku a odolnosti vůči chorobám, stejně jako vysoká konverze krmiva a rychlý přírůstek, z něj činí jeden z nejvhodnějších rybích druhů pro intenzivní chovy. Maso je velmi kvalitní, hodí se k širokému potravinářskému využití a koncový spotřebitel ocení nejen jeho nutriční, ale i chuťové vlastnosti (Akinwole a Faturoti, 2006, Huisman a Richter, 1987, Hamáčková a kol., 2007). A co více, jak uvádí např. Mustapha a kol. (2014), maso sumečka afrického obsahuje kromě kvalitního proteinu i to, co

nelze v nezanedbatelném množství získat z běžně konzumovaného masa vepřového ani hovězího, esenciální mastné kyseliny (EPA, DHA), které mají význam pro prevenci i léčbu mnoha nejen civilizačních chorob (Connor 2000, Williams, 2000, Simonopoulos 2008, Osibona a kol., 2009, Grofová, 2010).

*Clarias gariiepinus* je díky své popularitě předmětem mnoha výzkumů a složení jeho tkání s ohledem na MK, kterými se v této práci zabývám, je poměrně dobře analyzováno, a to za použití nejrůznějších metod. Tabulka 5 ukazuje porovnání obsahu MK různými autory. Jak je vidět, výsledky měření se mohou významně lišit. Tyto rozdíly lze přisuzovat odlišnému složení potravy, z níž ryby ve velké míře základní MK přejímají. Toto tvrzení lze podložit pracemi Ng a kol. (2003) a Rosa a kol. (2007), které se tímto fenoménem podrobně zabývají. Zásadním faktem zůstává, že nehladě na krmení zůstává maso z *Clarias gariiepinus* bohatým zdrojem n-6 a n-3 PUFA (tabulka 5).

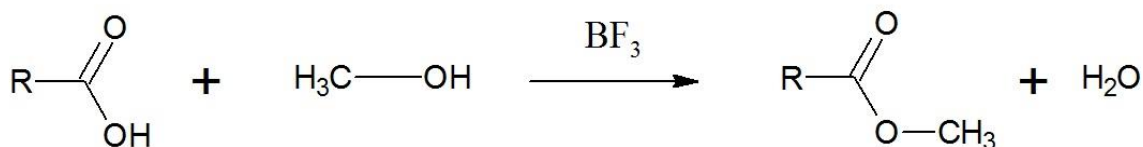
## 2.3 Analytické metody

### 2.3.1 Extrakce liquid/liquid

Jakákoliv extrakce má za úkol oddělit cílový analyt nebo skupinu analytů od substrátu či matrice. V případě této extrakce se využívá nemísitelnosti dvou kapalin a afinity analytu/ů k jedné z těchto kapalin. V našem případě je nutné z vodné matrice (rybí maso, či výrobek z ryb) získat surové lipidy, tedy nepolární látky, ty se extrahují organickým rozpouštědlem díky jeho chemickým a fyzikálním vlastnostem. Převodění všech nepolárních látek do organického rozpouštědla se umožní jejich další analýza. Již dlouho stojí vědci před problémem jaké extrakční činidlo je nejvhodnější vzhledem k jejich potřebám. Pro extrakci mastných kyselin/lipidů potřebujeme extrakční činidlo nepolární, které bude substrát rozpouštět a nebude s ním reagovat. V tabulce 5 jsou uvedeny dva z mnoha přístupů extrakce lipidů technikou liquid/liquid. Prvním je extrakce dle Bligh a Dyer (Ng a kol., 2003, Rosa a kol., 2007), kde je cílovým rozpouštědlem toxický chloroform. Druhý přístup využívá extrakci Soxhletem, tady je cílovým rozpouštědlem například těkavý a vysoce hořlavý diethylether. Pro náš účel bylo zvoleno činidlo, které je relativně málo toxické a nehrozí zásadní komplikace, způsob extrakce dle Hara a Radin (1978), využívající směsi hexanu a isopropanolu (HIP).

### 2.3.2 Derivatizace

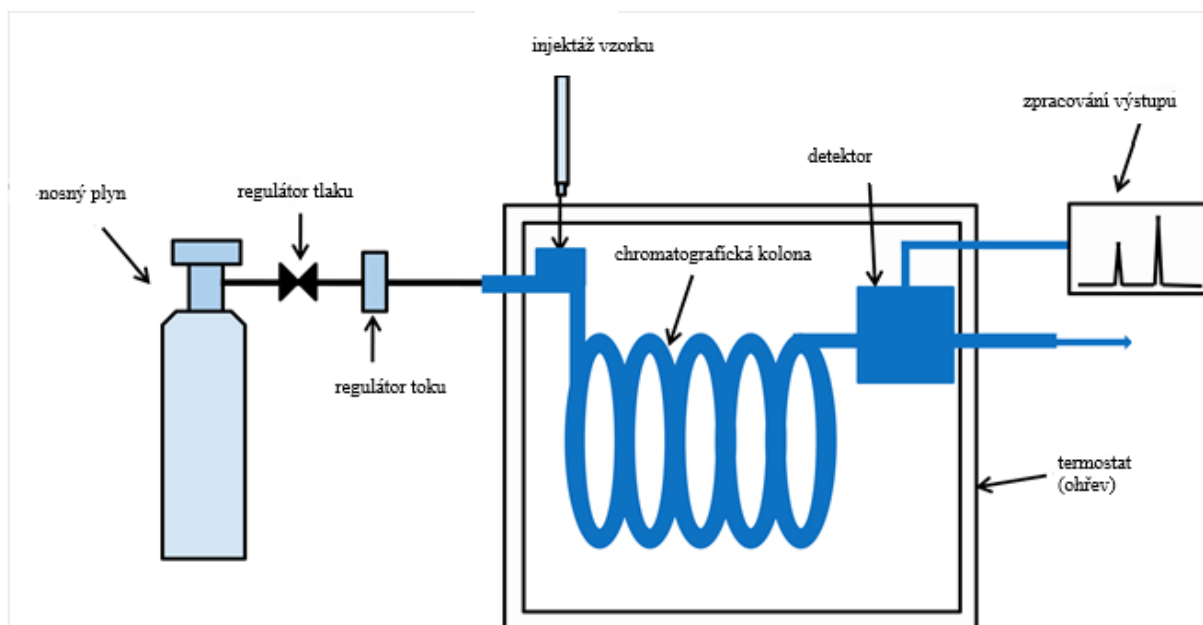
Derivatizace je zásadním krokem při přípravě vzorku na analýzy, markantně zlepšuje detekci, někdy prakticky umožňuje její provedení. Principem je změna recipientu (látky, kterou hodláme analyzovat) zavedením funkčních skupin, či atomů do molekulární struktury této látky. Tím dochází ke změně chemických vlastností analytu. Takto můžeme zvýšit jak citlivost, tak selektivitu a tím snadněji rozpoznat řadu látek. Konkrétně v chromatografii plynové toto potřebujeme jednak kvůli vyšší těkavosti analyzovaných látek (obtížný převod mnoha organických substancí do plynné formy), jednak jak již bylo zmíněno, ke zvýšení citlivosti a selektivity a v neposlední řadě chceme, pokud možno, eliminovat sorpci a co nejvíce snížit detekční mez. Pro MK je trans-esterifikace nejpoužívanější derivatizační procedurou, v naší laboratoři je zavedena derivatizace využívající  $\text{BF}_3$  jako derivatizačního činidla (obrázek 3.). Estery jsou v porovnání s volnými kyselinami těkavější, nemají tendence se spojovat vodíkovými můstky, nedochází k disociaci, dimerizaci, apod. Nejčastěji se připravují methylestery MK (FAME) (Churáček a kol., 1991).



**Obrázek 3:** Schéma průběhu derivatizace s BF<sub>3</sub> (Zdroj obrázku: Knapp 1979)

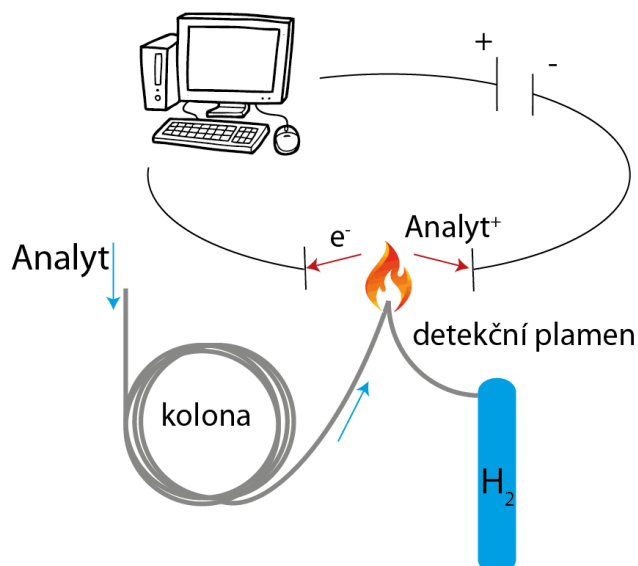
### 2.3.3 Plynová chromatografie (gas chromatography - GC)

Plynová chromatografie je jednou z nejvýznamnějších analytických metod. Je jednoduchá, citlivá a vysoce účinná. Lze jí stanovovat jak látky plynné, tak látky které se dají převést na páry. GC dělíme na GLC a GSC, kde GLC (Gas-Liquid-Chromatography) znamená kapalnou stacionární fázi kotvenou na nosiči a GSC (Gas-Solid-Chromatography) znamená tuhou fázi. Zásadní rozdíl je pouze v principu dělení. U GSC se jedná o dělení na základě rozdílné adsorpce, u GLC se principiálně rozdělují látky mezi kapalinou kotvenou na nosiči a nosným plynem (Bilyk, Nemeč, 1988, Churáček a kol., 1991, Zýka a kol., 1979). Velmi zjednodušené schéma se základními částmi plynového chromatografu můžeme nalézt na obrázku 4.



**Obrázek 4:** Schématický nákres plynového chromatografu (Zdroj obrázku: Evers 2014, upraveno).

Plyn ze zásobníku (He nebo H<sub>2</sub>) je očištěn a do jeho proudu je dávkován zplyněný vzorek, se kterým pokračuje do chromatografické kolony. Tam se směs rozdělí a vstupuje do detektoru. Informace z detektoru zpracovává výstupní zařízení, většinou počítač. Detekční proces je udržován při konstantní teplotě termostatem (Drbal, Křížek, 1999, Churáček a kol., 1991, Zýka a kol., 1979). K vyhodnocení analýzy jsou využívány různé typy detektorů (TDC, ECD, MS), v našem případě byl využit detektor FID (plamenový ionizační detektor). Princip FID spočívá v chemoionizační reakci vedoucí ke vzniku iontů, probíhající v kyslíkovo-vodíkovém plameni, jehož zdrojem je hořáček v centru detektoru. Spalování různých molekul z kolony se ionizační proud mezi elektrodami (hořáček = záporná elektroda) mění (obrázek 5.). Odezvu dávají prakticky veškeré organické látky (Drbal, Křížek, 1999, Churáček a kol., 1991, Zýka a kol., 1979).



**Obrázek 5.:** Schématický náčrt FID detektoru (upraveno dle Zýka a kol., 1979)



### 3 Materiály a Metody

Laboratorní část bakalářské práce byla prováděna v laboratoři výživy (Ústav akvakultury a ochrany vod, Husova třída 458/102 37005 České Budějovice) v období srpen-říjen 2021. Kde jsme zpracovávali vzorky ryb, komerčně dostupných produktů rybích či s příměsí ryb a klasické uzenářské produkty.

#### 3.1 Materiály užitě v práci

##### 3.1.1 Chemikálie:

Pro extrakci byly využity n-hexane Chromsolv (Honeywel); 2-propanole for HPLC Sigma-Aldrich) a Na<sub>2</sub>S<sub>0</sub><sub>4</sub> (Penta) a pro derivatizaci Methanol Supersolv (Honeywel), NaCl (Penta) a BF<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich).

##### 3.1.2 Vzorky produktů:

Pro výzkum byla zvolena jednak syrová ryba (*Clarias gariepinus*), dále pak rybí produkty obsahující maso sumečka afrického (*Clarias gariepinus*), (Tilapia s.r.o.) a pro porovnání byly zvoleny klasické uzenářské produkty obsahující maso vepřové (Kostelecké uzeniny a.s., Tesco Stores ČR a.s.). Níže lze nalézt přepis etiket jednotlivých produktů:

##### **Sumeček africký – filet bez kůže**

Výrobce: Tilapia s.r.o., Tábor

Složení: rybí filet bez kůže ze sumečka afrického (*Clarias gariepinus*)chlazený

##### **Malawi – uzený filet**

Výrobce: Tilapia s.r.o., Tábor

Složení: uzená ryba sumeček africký (*Clarias gariepinus*) filet s kůží, jedlá sůl (max 3 %), dusitanová sůl s jódem (sůl, dusitan sodný, jodičnan draselný)

##### **Burundi- rybí párky**

Výrobce: Tilapia s.r.o., Tábor

Složení: rybí maso ze sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) 92%, bramborový škrob, dusitanová sůl s jódem (sůl, dusitan sodný, jodičnan draselný), voda, směs koření, hořčičná mouka,celer, dextróza, laktóza, antioxidant E316 a E301, stabilizátor E451, látka zvýrazňující chuť a vůni E621, sůl, aroma. Přírodní skopové střívko.

### **Niger –rybí klobása**

Výrobce: Tilapia s.r.o., Tábor

Složení: rybí maso ze sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) 92 %, škrob bramborový, dusitanová sůl s jodem (sůl, dusitan sodný, jodičnan draselný), voda, směs koření, stabilizátory (E450,E451), antioxidanty ( kyselina L-askorobová, E301), látka zvýrazňující chuť a vůni E621. Přírodní vepřové střívko.

### **Kongo- rybí klobása**

Výrobce: Tilapia s.r.o., Tábor  
Složení: rybí maso ze sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) 92 %, škrob bramborový, dusitanová sůl s jodem (sůl, dusitan sodný, jodičnan draselný), voda, směs koření, stabilizátor E451, antioxidant E316, dextróza, látka zvýrazňující chuť a vůni E 621, jedlá sůl, karamelové barvivo E150c. Přírodní vepřové střívko.

### **Tatarák ze sumečka afrického**

Výrobce: Tilapia s.r.o., Tábor

Složení: rybí maso ze sumečka afrického (*Clarias gariepinus*) 78 %, cibule, hořčice, voda, ocet (vinný, lihový), hořčičná semena (16 %), cukr, sůl, slunešnicová olej, směs koření (semena koriandru, kurkuma), zahušťovadlo (xanthan), barvivo (karoteny), aroma, kečup (voda, rajčatový protlak, cukr, ocet, modifikovaný kukuřičný škrob, jedlá sůl, sušená zelenina (cibule, česnek), koření), dusitanová sůl s jodem (sůl, jodičnan draselný), koření, polévkové koření (tekutý bílkovinný hydrolyzát (soja, pšeničný lepek), sůl), worčester (pitná voda, ocet, cukr, sůl, stolní víno, švestková povidla (švestky, jablka, pektin, kyselina citronová), směs koření (barvivo E150d, sušený rajčatový protlak, aromata, chilli extrakt, česnekový extrakt), sojová omáčka (pitná voda, sojový hydrolyzát 26 %, stolní víno, cukr, chuťové látky (E621,E631,E627), barvivo E 150d, kvasnicový výtažek, švestková povidla (švestky, jablka, pektin), rajčatový protlak, aromata, směs koření)). Může obsahovat stopy vajec, mléka, celeru, vlčího bobu.

### **Poctivé vídeňské párky**

Výrobce: Kostecké uzeniny a.s., Kostelec

Složení: vepřové maso 90 %, pitná voda, jedlá sůl, stabilizátory E250, E451, koření, aromata, antioxidant erythorban sodný, cukr, malodextrin, česnekový prášek, skopové střívko.

## Ostravská klobása

Výrobce: neuveden, prodávající Tesco Stores ČR a.s.

Složení: vepřové maso (86 %), pitná voda, bramborový škrob, jedlá sůl, stabilizátory (dusitan sodný, trifosforečnany), antioxidant (erythorban sodný), želírující látka (guma Euchema), česnek, koření, glukózo-fruktózový sirup, přírodní aroma, glukózový sirup, jedlé vepřové střívko.

**Tabulka 6:** Výživové údaje vybraných produktů dle výrobců

<b>Výživové údaje ve 100g výrobku v g.</b>							
	energie	tuky	nasyčené	sacharidy	cukry	bílkoviny	sůl
Čerstvý filet	neuvedeno	-	-	-	-	-	-
Malawi	741KJ/177kcal	11	4,1	0	0	21	2,8
Burundi	927KJ/223 kcal	18	6,9	4,0	0	11	2,4
Kongo	660 KJ/158kcal	9,4	3,7	3,2	0	15	2,4
Tatarák	neuvedeno	-	-	-	-	-	-
Niger	648 KJ/155 kcal	8,8	3,5	2,8	0	16	2,4
Ostravská klobása	710 KJ/169kcal	12	5,1	<0,5	<0,5	15	2,7
Poctivé vídeňské párky	1099KJ/265kcal	22,9	8,7	1,8	< 0,5	13	2,3

## 3.2 Metodika analýz

### 3.2.1 Extrakce tuku

Extrakce lipidů byla provedena dle metody Hara a Radin (1978). Pomocí Ultra Turrax (T25, Janke a Kunkel, IKA Werke, Německo), bylo homogenizováno přibližně 100g výrobku, z toho bylo k extrakci použito přesně asi 1 g vzorku, ten byl rehomogenizován v 10 ml hexan-isopropanolu (3 : 2). Poté bylo přidáno 6 ml Na<sub>2</sub>S<sub>0</sub><sub>4</sub> (6,67%, m/m). Vzorek byl intenzivně promíchán a následně centrifugován při 3000g po dobu 5 minut (Megafuge 16R Thermo Scientific, Osterode am Harz, Německo). Horní lipidová frakce byla přenesena do předem zvážených zkumavek a následně odpařena pomocí proudu N<sub>2</sub>. Obsah lipidů byl stanoven gravimetricky (Mettler Toledo XP6 Excellence Plus XP Micro Balance, 6.1g x 1Ug, Greifensee, Švýcarsko).

### 3.2.2 Metylace

K analýze mastných kyselin byla nutná derivatizace celkových lipidů. Metylace mastných kyselin byla provedena podle metody Appelqvista a kol. (1968). Jako vnitřní standard byl použit methylester tricosanové kyseliny (C23:0). Ve zkratce, 250 µl vzorku bylo přidáno k 1 ml metanolu a 10 µl interního standartu (c= 1mg/ml). Zkumavka byla zahřáta na 60°C po dobu 10 minut, pak bylo přidáno 1,5 ml BF<sub>3</sub>. Zkumavka byla opět inkubována při 60°C po dobu 10 minut. Pak byl přidán 1 ml 20% NaCl (m/m) a 2 ml hexanu. Zkumavka byla intenzivně promíchána a uložena do chladu cca na 20 minut. Po oddělení vrstev byla odebrána horní hexanová fáze s metylestery mastných kyselin. Poté byl opět přidán hexan a poslední krok se opakoval. Získaný extrakt byl odpařen do sucha, rozpuštěn ve 400 µl hexanu a uložen do -80°C před samotnou analýzou.

### 3.2.3 GC FID

Složení methylesterů mastných kyselin bylo analyzováno plynovou chromatografií (GC) (Trace Ultra FID; Thermo Scientific, Milán, Itálie) za použití kapilární kolony BPX-70 50 m (id. 0,22 mm, tloušťka filmu 0,25 µm, SGE, USA). Teplotní gradient začíná na 70 °C a udržuje se 0,5 minuty. Poté teplota stoupne o 30 °C za minutu, dokud nedosáhne 150 °C. Poté teplota stoupne na 220 °C rychlostí 1,5 °C za minutu a udržuje se 11 minut. Celá analýza trvá 60 minut. Teplota injektoru PVT byla 170 °C a detektoru 260 °C. Identifikace a kvantifikace FA byla provedena v softwaru Thermo Xcalibur 3.0.63 (Thermo Fisher Scientific Inc.) a to porovnáním retenčních časů a ploch píku s retenčními časy a plochami píku standardní směsi

Supleco 37 Component FAME mix (Sigma-Aldrich). Kvantifikace byla získána na základě sedmibodové kalibrační křivky ( $15 \mu\text{g.ml}^{-1}$  -  $1\text{mg.ml}^{-1}$ ).

### **3.2.4 Metodika zpracování statistických dat**

Získaná data byla podrobena multivariátní statistické analýze a to metodě PCA (principal component analysis) a její kanonické verzi RDA (redundancy analysis). Signifikance rozdílů mezi vzorky byla testována pomocí Monte-Carlo testu ( $n = 999$ ) v programu CANOCO 4.5 (Biometrics, Plant Research International, Wageningen, Nizozemí). Plochy peaků stály v testech jako proměnné a sumy SFA, MUFA, PUFA byly do testu brány jako nenominální proměnné a jednotlivé vzorky v RDA testu stály jako kategorické prediktory.

Grafy a tabulky byly zpracovány v programu Excel 2007 od firmy Microsoft.

## 4 Výsledky

### 4.1 Kalibrace dle standardů GC FID

Výsledky hodnot zastoupení a koncentrace ve 100g vzorku byly získány na základě kalibračních křivek pro každou MK. Kalibrační křivky jsme získali dvoubodovým ředěním komerčně dostupného standardu (Supleco 37 Sigma-Aldrich) na sedmi koncentračních hladinách. Výsledné rovnice proložené lineární křivky a regresní číslo jsou v tabulce 7.

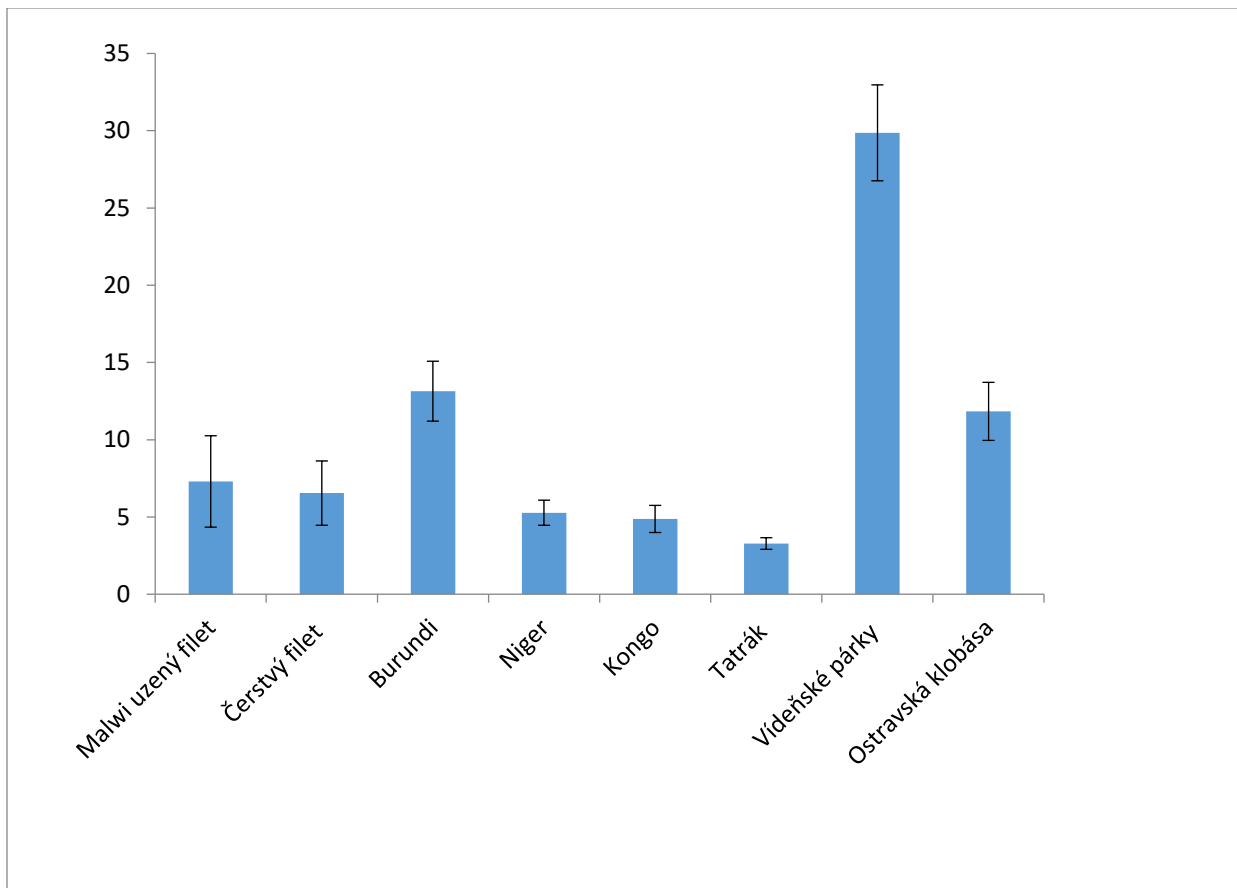
**Tabulka 7:** Rovnice a regresní čísla ke kalibračním křivkám MK

MK	rovnice kalibrační křivky	R <sup>2</sup>
12:0	$y = 78574x + 31608$	0,9981
13:0	$y = 77543x + 20213$	0,9956
14:0	$y = 78762x + 40146$	0,9961
14:1	$y = 77241x + 20086$	0,9962
15:0	$y = 80151x + 20728$	0,9961
16:0	$y = 83286x + 63547$	0,9961
16:1	$y = 80352x + 20539$	0,996
17:0	$y = 82873x + 21078$	0,996
18:0	$y = 83297x + 41758$	0,996
18:1n9	$y = 40814x + 19834$	0,9958
18:2n6	$y = 82875x + 21071$	0,996
18:3n6	$y = 79263x + 19770$	0,996
18:3n3	$y = 76167x + 19087$	0,996
20:0	$y = 84878x + 44163$	0,9958
20:1n9	$y = 84264x + 21232$	0,9957
21:0	$y = 162210x + 3880,8$	0,989
20:3n6	$y = 80710x + 19920$	0,9958
20:4n6	$y = 76471x + 18248$	0,9961
20:3n3	$y = 80653x + 19408$	0,9958
22:0	$y = 85303x + 43385$	0,9956
22:1n9	$y = 84180x + 20659$	0,9957
20:5n3	$y = 79350x + 19340$	0,9957
24:0	$y = 85557x + 47165$	0,9954
24:1n9	$y = 85209x + 21135$	0,9956
22:6n3	$y = 37757x + 18931$	0,9965

R<sup>2</sup> blíží se hodnotami k číslu 1,0 značí, že křivky jsou téměř úplně lineární, což znamená, že odezva přístroje v těchto sedmi koncentračních hladinách je lineární.

## 4.2 Obsah tuku

Jak je patrné z grafu č. 1., výrobky ze Sumečka afrického obsahují až na výjimku ve formě párků Burundi (13 %) v porovnání s Vídeňskými párky z vepřového masa (29,9 %) mnohem méně tuku. Ostatní vyjma Burundi do 7 %. Nad důvody, proč se tento produkt z poměrně libového rybího masa umístil ve srovnání obsahu tuku ve vzorcích až nad Ostravskou klobásou (11 %), se dále zamyslíme v diskusní části.



**Graf 1:** Obsah surového tuku po extrakci ze vzorků (%)

## 4.3 Obsah mastných kyselin

Dle očekávání je zjištěné složení výrobků z vepřového masa chudší, MK s délkou řetězce 22 a více se v nich téměř nevyskytují. EPA (20:5 n-3) a DHA (22:6 n-3) v nich zcela chybí (tabulka 8.). Obsah omega-3 MK ve výrobcích z vepřového masa prakticky zachraňuje pouze ALA (18:3 n-3). Ve výrobcích z *C.Gariepinus* jsou obě tyto mastné kyseliny (EPA a DHA) zastoupené v nezanedbatelném množství a lze tedy tyto výrobky považovat za jejich zdroj pro výživu.

**Tabulka 8** popisuje obsah mastných kyselin v mg na 100g výrobku a jejich odchylku (n=3)

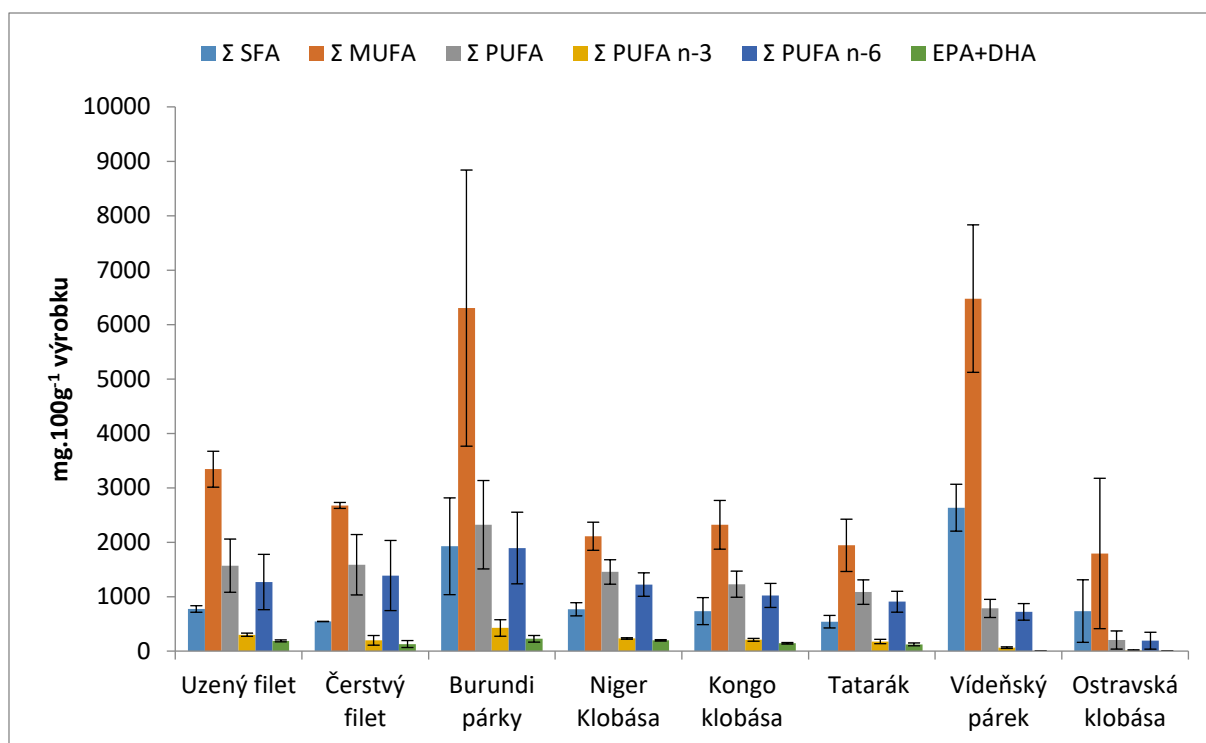
mg.100g <sup>-1</sup>	Čerstvý filet	Uzený filet	Burundi párky	Niger Klobása	Kongo klobása	Tatarák	Vídeňský párek	Ost.klobása
12:0	24.6 ± 13.2	41.9 ± 14.6	36.4 ± 4.5	49.1 ± 26.0	203.4 ± 218.8	70.1 ± 25.2	57.7 ± 50.1	0.0 ± 0.0
13:0	0.6 ± 1.3	1.3 ± 1.8	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6	0.0 ± 0.0	1.3 ± 2.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
14:0	9.2 ± 3.7	25.4 ± 3.6	60.9 ± 30.4	38.0 ± 5.2	15.4 ± 5.7	15.4 ± 4.3	92.0 ± 20.7	20.6 ± 18.7
15:0	0.9 ± 0.9	3.0 ± 0.5	8.2 ± 5.1	2.5 ± 0.4	1.4 ± 0.6	1.0 ± 0.6	1.3 ± 1.2	0.0 ± 0.0
16:0	350.2 ± 9.2	511.7 ± 38.0	1342.6 ± 624.8	490.1 ± 64.6	373.6 ± 70.9	330.9 ± 68.1	1590.2 ± 268.5	448.7 ± 345.4
17:0	1.3 ± 0.7	2.9 ± 0.3	11.1 ± 6.4	2.5 ± 0.5	1.3 ± 0.8	0.8 ± 0.8	19.8 ± 3.9	3.2 ± 4.4
18:0	134.7 ± 16.4	165.6 ± 28.0	404.4 ± 186.2	169.6 ± 23.5	126.1 ± 20.9	110.2 ± 21.0	852.4 ± 87.9	260.2 ± 202.4
20:0	5.7 ± 0.9	7.2 ± 2.2	23.3 ± 12.8	3.2 ± 1.0	3.5 ± 1.6	2.4 ± 1.5	6.1 ± 1.8	0.6 ± 1.0
21:0	3.5 ± 1.4	4.8 ± 0.1	11.2 ± 5.1	3.4 ± 0.2	3.3 ± 0.5	2.7 ± 0.6	15.4 ± 3.3	2.2 ± 2.9
22:0	12.3 ± 9.3	9.2 ± 7.5	21.5 ± 9.9	9.1 ± 2.5	6.9 ± 2.3	5.5 ± 1.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
24:0	1.0 ± 1.9	0.9 ± 1.6	5.9 ± 4.5	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
14:1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
16:1	25.8 ± 9.2	52.7 ± 4.3	144.9 ± 65.6	80.7 ± 11.2	38.1 ± 9.0	35.7 ± 7.7	170.7 ± 38.2	45.1 ± 36.5
18:1n9trans	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	10.2 ± 6.9	0.5 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	11.8 ± 9.6	0.0 ± 0.0
18:1n9	2523.7 ± 173.5	3123.5 ± 434.3	5935.5 ± 2455.7	1899.1 ± 236.0	2137.0 ± 411.4	1768.9 ± 453.1	5799.8 ± 1201.8	1612.2 ± 1235.3
18:1n7	98.0 ± 99.7	118.8 ± 102.9	93.6 ± 162.0	110.4 ± 9.8	116.3 ± 21.2	96.6 ± 24.8	441.0 ± 93.4	123.9 ± 98.0
20:1n9	28.4 ± 9.1	44.2 ± 0.6	105.3 ± 47.4	19.7 ± 2.4	28.7 ± 5.9	27.5 ± 4.7	53.6 ± 11.9	12.8 ± 11.9
22:1n9	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	6.4 ± 4.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	14.0 ± 12.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
24:1n9	0.5 ± 0.5	2.2 ± 0.1	6.6 ± 4.3	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.5	0.8 ± 0.5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
16:2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.2 ± 2.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
16:3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
18:2n6	1333.5 ± 673.8	1170.1 ± 515.7	1734.6 ± 583.0	1161.4 ± 211.2	963.0 ± 210.5	858.0 ± 179.7	687.0 ± 142.2	184.5 ± 146.5
18:3n6	15.2 ± 7.1	35.2 ± 4.0	53.7 ± 24.9	3.8 ± 0.5	15.5 ± 3.8	12.0 ± 4.4	6.1 ± 2.5	0.0 ± 0.0
18:3n3	67.9 ± 24.8	113.5 ± 12.4	195.6 ± 88.6	33.6 ± 2.6	63.4 ± 14.0	53.5 ± 15.0	55.8 ± 11.9	12.3 ± 11.1
20:3n6	17.0 ± 8.4	26.4 ± 2.3	40.6 ± 18.8	6.3 ± 0.5	16.3 ± 2.3	12.9 ± 3.6	2.9 ± 2.5	0.0 ± 0.0
20:4n6	9.3 ± 5.9	14.8 ± 1.7	16.9 ± 8.3	10.7 ± 0.9	10.3 ± 1.3	8.5 ± 1.9	21.3 ± 4.5	6.8 ± 8.5
20:3n3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.0 ± 2.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	7.2 ± 2.5	0.0 ± 0.0
20:5n3	11.5 ± 5.9	21.6 ± 2.9	30.1 ± 14.6	49.7 ± 5.1	14.5 ± 2.8	14.6 ± 2.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
22:5n6	13.8 ± 8.2	22.9 ± 2.0	48.5 ± 23.5	40.2 ± 4.0	17.7 ± 3.7	15.8 ± 3.8	3.5 ± 3.3	0.0 ± 0.0
22:6n3	118.3 ± 58.1	165.9 ± 14.7	196.0 ± 46.4	148.3 ± 7.5	129.4 ± 11.1	108.4 ± 24.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – mononenasycené mastné kyseliny, PUFA – polynenasycené mastné kyseliny, EPA – eikosapentaenová kyselina, DHA – dokosahexaenová kyselina



mg.100g <sup>-1</sup>	Čerstvý filet	Uzený filet	Burundi párky	Niger Klobása	Kongo klobása	Tatarák	Vídeňský párek	Ost.klobása
ΣSFA	544.0 ± 2.0	774.0 ± 59.9	1925.8 ± 889.1	768.0 ± 121.5	734.8 ± 248.2	540.1 ± 115.4	2634.9 ± 430.6	735.5 ± 574.6
ΣMUFA	2676.6 ± 54.9	3342.3 ± 329.7	6302.6 ± 2537.4	2110.4 ± 258.3	2320.6 ± 447.6	1943.6 ± 480.5	6476.9 ± 1354.9	1793.9 ± 1381.7
ΣPUFA n-3	197.7 ± 88.8	301.0 ± 30.0	424.8 ± 151.4	231.7 ± 13.6	207.4 ± 26.0	176.5 ± 39.9	63.0 ± 14.4	12.3 ± 11.1
ΣPUFA n-6	1371.7 ± 644.2	1242.9 ± 508.4	1853.7 ± 658.3	1216.1 ± 215.3	1006.6 ± 220.7	894.4 ± 191.8	718.0 ± 152.1	191.3 ± 154.9
EPA+DHA	129.9 ± 64.0	187.5 ± 17.6	226.2 ± 60.8	198.0 ± 12.6	143.9 ± 13.4	123.0 ± 26.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
n-6/n-3	6.9	4.1	4.4	5.2	4.9	5.1	11.4	15.5

SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – mononenasycené mastné kyseliny, PUFA – polynenasycené mastné kyseliny, EPA – eikosapentaenová kyselina  
DHA – dokosahexaenová kyselina

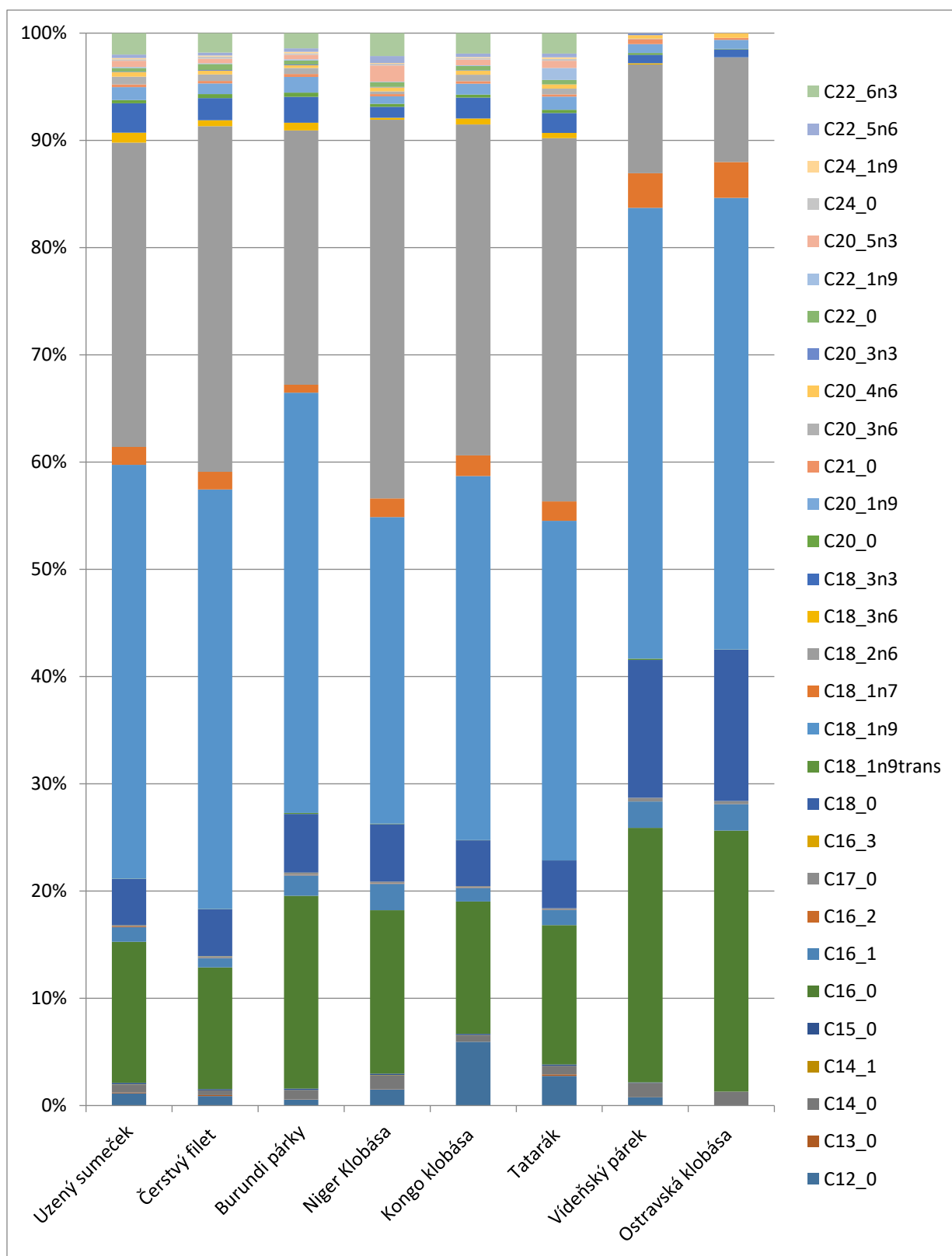


**Graf 2:** Obsah SFA, MUFA, PUFA n-3 a n-6 a EPA+DHA v mg na 100g výrobku – průměry s odchylkami (n=3).

Jak vidno z grafického srovnání, výrobky z vepřového masa opět vedou co do obsahu nasycených MK (modrá). Zároveň jsou mezi výrobky které obsahují i nejvíce mononenasycených MK. Naopak v zastoupení polynenasycených (n-3 i n-6) MK zásadně převažuje skupina výrobků obsahujících rybí maso.

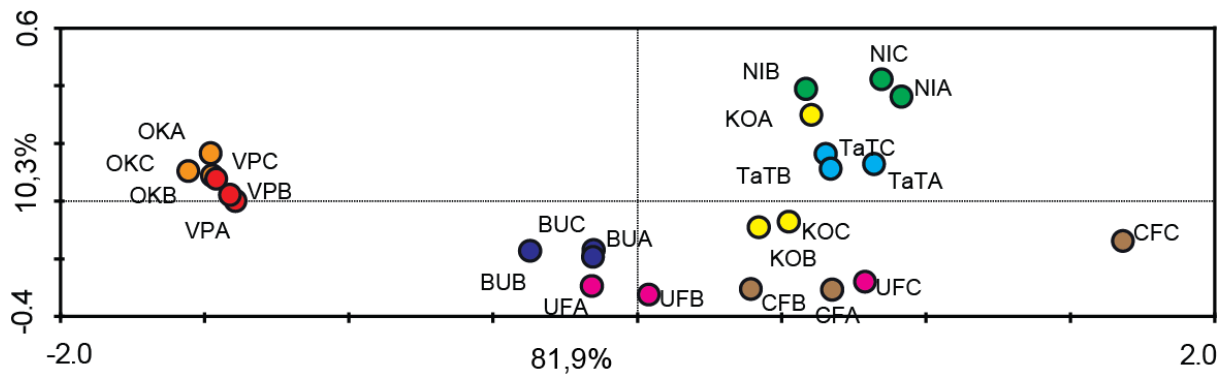
Poměrně zajímavý je vysoký podíl kyseliny olejové (18:1 n-9) ve všech výrobcích. Dá se předpokládat, že většina jí má původ v krmivu podávaném jak rybám tak prasatům (řepka). Stejného původu může být kyselina eruková zjištěná v některých vzorcích, ta se v jiných než řepkových produktech nevyskytuje.

V klobásách Kongo ze sumečka byl naměřen poměrně vysoký poměr kyseliny laurové (12:0) (graf 3.). Zde se jedná o zajímavé zjištění, nicméně vzhledem k tomu, že se jedná o SFA s poměrně nízkou specifitou, nebude možné přesněji vystopovat její pravděpodobný původ.



**Graf 3:** Poměrné zastoupení jednotlivých MK v produktech, výsledky z GC FID (%)

### 4.3.1 PCA obsahu mastných kyselin

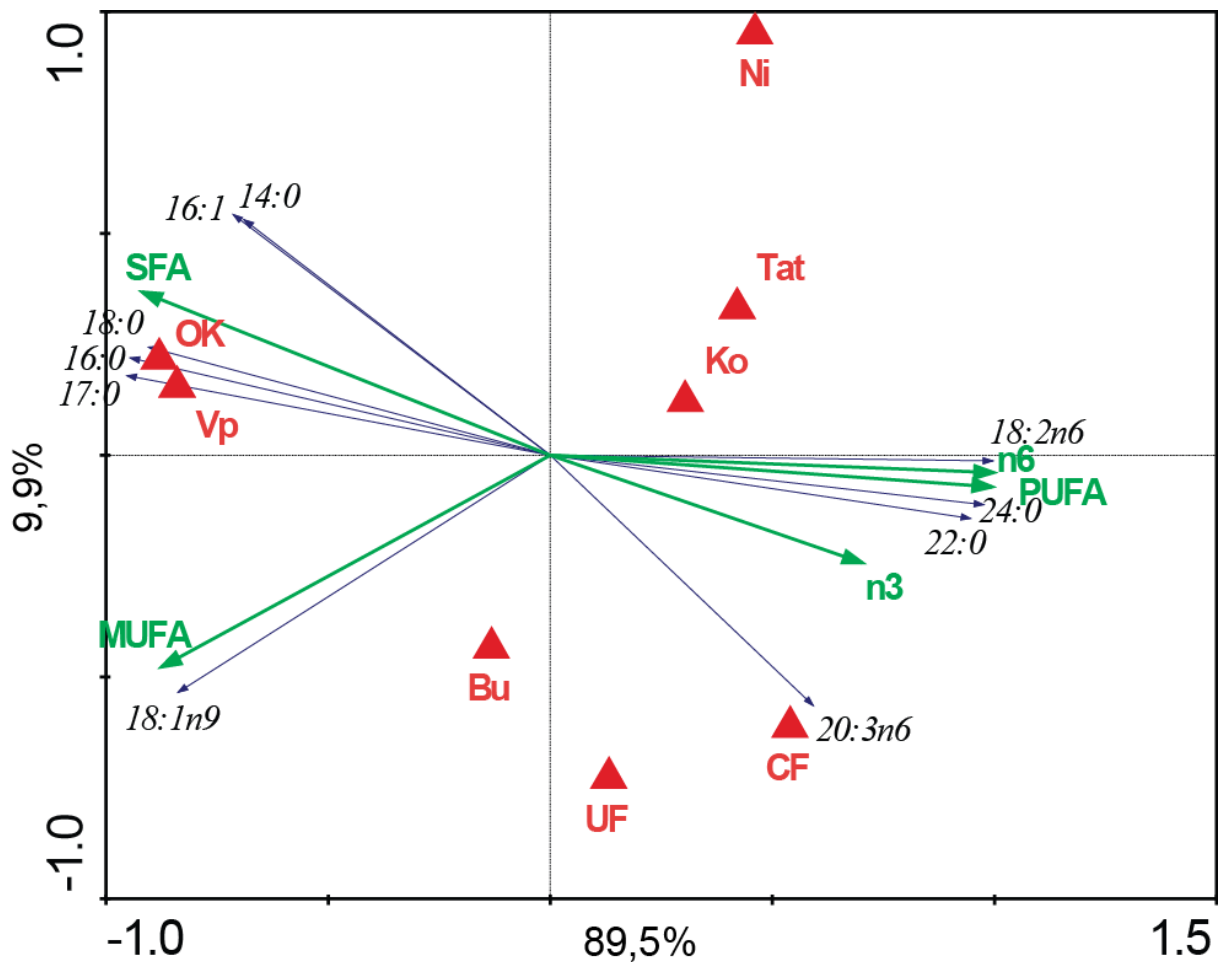


**Obrázek 6.:** PCA diagram vysvětluje variabilitu datasetu z 81,9% na ose x a z 10,3% na ose y. Na obrázku jsou vizualizovány všechny měřené vzorky, každá varianta ve třech opakováních A-C na konci značky. CF je pro čerstvý filet (hnědá), UF je pro uzený filet (růžová), BU Burundi párky (tmavě modrá), NI - Niger klobása (zelený), KO – Kongo klobása (žlutá), Ta – Tatarák (světle modrá), VP – Vídeňský párek (červená), OK – Ostravská klobása (oranžová).

Vizualizace dat zastoupení mastných kyselin v jednotlivých vzorcích můžeme vidět na obrázku 6. Jednotlivé vzorky jsou vizualizovány jako kóty v prostoru a jejich distribuce je závislá na jejich podobnosti. Lapidárně řečeno podobný k podobnému. Z výsledného diagramu lze říci, že dochází ke shlukování dat do dvou jasně ohraničených oblastí. První naprosto jasný shluk tvoří klasické uzenářské výrobky neobsahující rybí maso, a to ostravská klobása a vídeňské párky (oranžové a červené body). Druhý shluk je mnohem více různorodý, ale až na vzorek CFC (čerstvý filet třetí opakování), který je zcela mimo tvoří rybí výrobky jasně ucelenou oblast.

### 3.3.2 RDA obsahu mastných kyselin

Trojúhelníky na obrázku 7. odpovídají jednotlivým vzorkům, a vyjadřují jejich distribuci v prostoru vizualizovanou programem Canoco, zelené šipky odpovídají proměnným v nominální hodnotě, délka šipky značí sílu parametru a směr šipky orientaci parametru. Například satureované mastné kyseliny (SFA) mají směr ke vzorku ostravských klobás a vídeňských párků. To reflektuje vysokou míru zastoupení SFA v těchto produktech, což lze nalézt v tabulce 8. Modré šipky znázorňují jednotlivé mastné kyseliny, jejich orientace značí vyšší výskyt a jejich směr jejich síly. Například čerstvý filet je nejbohatší na mastnou kyselinu C20:3 n6 což si lze ověřit v tabulce 8.



**Obrázek 7.:** RDA diagram CF je pro čerstvý filet, UF je pro uzený filet, BU Burundi párky, NI - Niger klobása, KO – Kongo klobása, TA – Tatarák, VP – Vídeňský pártek, OK – Ostravská klobása. SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – mononenasycené mastné kyseliny, PUFA – polynenasycené mastné kyseliny

Opět lze vidět zásadní rozdíly mezi produkty s rybím masem a bez něj. Ve výrobcích ostravská klobása a vídeňské párky je zřejmé vysoké zastoupení nasycených mastných kyselin do velikosti 18 uhlíků, což reflektuje skutečnost, že základem pro tyto potraviny je živočišný tuk, v tomto případě prasečí sádlo, jež je bohaté na nasycené mastné kyseliny (Serra 2014). Stejně zastoupení jako u nasycených mastných kyselin lze pozorovat u mononenasycených mastných kyselin, jež nejenom, že reflektují přítomnost vepřového sádla, ale také rostlinných olejů (Orsavová, 2015). Z diagramu lze také vyčíst, že vzorky s rybím masem obsahují mnohem větší množství polynenasycených mastných kyselin a to jak omega 3, tak omega 6.

## 5 Diskuze

**Tabulka 9:** Srovnání získaných výsledků s některými jinými studii

zdroj	Rosa a kol. 2007	Ng a kol. 2003	Ozório a kol. 2001	Ondrouch 2022
extrakční metoda	Bligh-Dyer	Bligh-Dyer	Soxhlet	Hara-Radin
14:0	0,46	2,91	3,89	0,20
16:0	24,57	26,38	33,53	7,54
18:0	6,50	4,88	7,10	2,90
16:1	5,79	6,13	5,89	0,56
18:1	19,33	37,80	23,64	54,37
20:1	3,61	0,83	4,18	0,61
22:1	2,48	0,21	2,66	0,01
18:2n-6	12,42	11,11	7,03	28,73
18:3n-6	0,23	0,00	0,00	0,33
18:3n-3	1,93	4,57	0,70	1,46
20:4n-6	0,57	0,31	0,39	0,20
20:5n-3	6,80	1,25	2,75	0,25
22:5n-6	2,04	1,56	0,89	0,30
22:6n-3	13,27	2,08	7,36	2,55
Σ SFA	31,53	34,16	44,51	10,64
Σ MUFA	31,21	44,96	36,38	55,54
Σ PUFA n-6	15,27	12,98	8,31	29,55
Σ PUFA n-3	22,00	7,89	10,81	4,26
n3/n6	0,69	1,64	0,77	6,94

Vzhledem k různému složení podávané potravy, se výsledky měření poměrného zastoupení jednotlivých MK ve svalovině *C.gariepinus* různí. Lze se domnívat, že jedním ze zdrojů lipidů v krmivu těchto ryb je i zdroj palmového oleje (viz k. palmitová a palmitoolejová ve vzorcích).

Náš vzorek rybího masa *C.gariepinus* (čerstvý filet) obsahoval oproti ostatním výrazně větší množství MK 18:2 n-6 (kyseliny linolové) a zvýšené množství 18:1 n-9 (kyseliny olejové). Zdůvodnění proč by tomu tak mělo být, najdeme například v práci Ng a kol. (2003). Při krmení *C.gariepinus* v rámci experimentu dosáhli podobně vysokých hodnot obsahu kyseliny linolové v masě pokusných ryb u skupiny, kde byl zdrojem tuků v krmivu slunečnicový olej. Vzhledem k podobným hodnotám se můžeme domnívat, že zdrojem tuku

v krmivu ryby, ze které pocházel náš filet, byl rostlinný olej, velmi pravděpodobně slunečnicový nebo řepkový, případně jejich směs.

Zajímavým zjištěním bylo zvýšené zastoupení kyseliny olejové (18:1 n-9) v kombinaci s kyselinou erukovou (22:1 n-9) v rybích párcích Burundi a tataráku ze sumečka. U tataráku můžeme usuzovat na původ těchto tuků v řepkovém oleji pocházejícím z olejových kořenících extraktů, viz složení vzorku uvedené výrobcem. V párcích Burundi si lze i s ohledem na zvýšený obsah surového tuku, podobný jako v Ostravské klobáse (viz graf č. 1), vysvětlit vyšší množství MUFA jako výsledek přidání tuku z jiného zdroje než je rybí maso, a to kvůli lepší homogenizaci směsi na výrobu jemných a lahodných párků. K tomuto byl velmi pravděpodobně použit řepkový olej v množství okolo 5g na 100g směsi k výrobě párků.

**Tabulka č. 10:** Srovnání obsahů tuků (max.) uváděných výrobcem a naměřených hodnot

Výživové údaje ve 100 g.	tuky		nasycené	
	výrobce	naměřeno	výrobce	naměřeno
Uzený filet Malawi	11 g	7,3 g	4,1 g	1,5 g
Čerstvý filet	-	6,5 g	-	1,1 g
Párky Burundi	18 g	13,1 g	6,9 g	3,5 g
Klobása Kongo	9,4 g	4,9 g	3,7g	1,2 g
Ostravská klobása	12 g	11,8 g	5,1 g	4,8 g
Tatarák	-	3,3 g	-	0,7 g
Klobása Niger	8,8 g	5,3 g	3,5 g	1,3 g
Poctivé vídeňské párky	22,9 g	<b>29,9 g</b>	8,7 g	<b>11,9g</b>

Jak je vidět v tabulce č. 10, zpracovatel rybích produktů šel raději cestou uvést obsahy tuků vysokou tolerancí tak, aby i v případě výkyvu obsahů živin v produktech při změně kvality vstupní suroviny, nepřesáhl uváděná maxima. Tedy i párky Burundi, do kterých byl dle mého přidán řepkový olej, nepřesáhly tuto mez a jediné co by bylo možné výrobcem vytknout, je zamlčení přídavku jinak poměrně zdravého tuku kvůli jemnější textury výrobku.



Naopak u výrobců produktů z vepřového masa se v případě Ostravské klobásy produkt vešel do tolerance velmi těsně, v řádech desetin procenta, v případě Vídeňských párků se výrobce do udávaných hodnot absolutně nevešel. Správné nomen-omen tohoto produktu by tak nebylo Poctivé vídeňské párky, nýbrž Velmi nepoctivé vídeňské párky. Rozdíl o 7 gramů tuků celkem a o 3,2 gramu nasycených tuků v pouhých 10dkg vzorku je poměrně tristní.

## 6 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo mimo jiné získání přehledu o zdravotních účincích mastných kyselin, o sumci *Clarias gariepinus* jako jejich vhodném a na chov nenáročném zdroji, a v neposlední řadě o analytických metodách používaných k měření jejich obsahu, čímž se zabývá její první část. V praxi, na kterou je zaměřena další část, byly aplikovány metody extrakce, derivatizace a analýzy vzorků metodou GC FID. Výsledky byly následně zpracovány s pomocí nejmodernější výpočetní techniky a statistického software, a tak byla získána relevantní výzkumná data ve formě tabulek a grafických výstupů.

Při porovnání zjištěných výsledků s výsledky jiných podobných analýz jsme zjistili, že podíl jednotlivých MK v mase *C. Gariepinus* se může lišit podle původu ryb a hlavně složení jejich potravy, přičemž toto může mít větší vliv na složení tuku v rybím mase, než použití různých způsobů extrakce tuku.

Díky porovnání různých vzorků jsme došli k několika zajímavým zjištěním. Zvýšený obsah surového tuku a některých MK (olejová, eruková) může poukazovat na výrobcem nedeklarované přidání řepkového oleje do párků Burundi, pravděpodobně kvůli lepší homogenizaci směsi k výrobě jemných párků.

U rybích produktů deklaruje výrobce ve složení celkový obsah tuků a nasycených tuků s velkou rezervou, prakticky na hodnotách odpovídajících výrobkům z vepřového masa. Těchto hodnot tyto výrobky zdaleka nedosahují (u klobásy Kongo např. deklarováno 9,4g tuku ve 100g výrobku, zjištěno pouze 4,9 g tuku ve 100g výrobku). I v poměrně tučných párcích Burundi bylo místo deklarovaných 18g tuku ve 100g výrobku naměřeno pouze 13,1 g tuku, tedy o 4,9g ve 100g méně. Naproti tomu se Ostravská klobása z vepřového masa vešla do deklarovaných hodnot velmi přesně a Poctivé vídeňské párky je překročily o 7g tuku ve 100g produktu (celkem 29,9g ve 100g) a o 3,2g SFA ve 100g výrobku (celkem 11,9g). To z nich činí ještě nezdravější potravinu, než se spotřebitel dozví na obalu výrobku.

Zjistili jsme, že jsou výrobky z rybího masa globálně mnohem libovější (do 7% tuku) než z vepřového (až 29,9% tuku) a obsahují poměrně malé množství nasycených MK (většinou max. okolo 750mg/100g), navíc se výrobky obsahující maso *C. gariepinus* ukázaly, na rozdíl od výrobků z masa vepřového (kde nebyla detekována přítomnost EPA a DHA vůbec), vhodným zdrojem n-3 HUFA pro výživu; a to nehledě na jejich zpracování; k tomu mohou svým lákavým vzhledem motivovat ke konzumaci i konzervativního spotřebitele, který by si samotné čerstvé rybí maso k dalšímu zpracování nekoupil.

## 7 Zdroj literatury

- Akinwole, A. and E. Faturoti 2007. "Biological performance of African Catfish (*Clarias gariepinus*) cultured in recirculating system in Ibadan." *Aquacultural engineering* 36(1): 18-23
- Barceló-Coblijn, G. and E. J. Murphy 2009. "Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels." *Progress in Lipid Research* 48(6): 355-374
- Berka, R., 1988: Ryby známé i neznámé: Africký sumeček. *Rybníkářství* č. 3, s. 81 –83
- Bilyk, I., Nemeč, R., 1988. Vybrané laboratorní metody. Avicenum, zdravotnické nakladatelství, Praha. 472 s.
- Dostálová, J., 2011. Tuky v potravinách a jejich nutriční hodnocení. *Interní Med.* 2011; 13(9): 347–349
- Drbal, K., Křížek, M., 1999. Analytická chemie. Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Č. B., České Budějovice, 186 s.
- Connor, W. E. 2000. "Importance of n-3 fatty acids in health and disease." *The American journal of clinical nutrition* 71(1): 171S-175S
- Eke-Ejiofor, J. and E. Ansa 2018. "Effect of Extraction Methods on the Quality Characteristics of Catfish (*Clarias gariepinus*) Oil." *Am. J. Food Sci. Technol* 6: 199-203
- Evers, F. R. 2014. Development of a liquid chromatography ion trap mass spectrometer method for clinical drugs of abuse testing with automated on-line extraction using turbulent flow chromatography, University of Portsmouth.
- Grofová, Z. 2010. "Mastné kyseliny." *Medicína pro praxi* 7(10): 388-390
- Hamackova, J., J. Kouril, J. Masar and R. Turansky 2007. "Technologie chovu kerickovce jihoafrickeho–sumecka africkeho (*Clarias gariepinus*)." *VURH Vodnany, Methodology Edition* 79: 19
- Hara, A. and N. S. Radin 1978. "Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent." *Analytical Biochemistry* 90(1): 420-426. DOI: 10.1016/0003-2697(78)90046-5
- Harika, R. K., Eilander, A., Alsema, M, Osendarp, S. J. M., Zock P. L., 2013. Intake of Fatty Acids in General Populations Worldwide Does Not Meet Dietary Recommendations to Prevent Coronary Heart Disease: A Systematic Review of Data from 40 Countries. *Ann Nutr Metab* 2013;63:229-238. doi: 10.1159/000355437
- Hossain, M. A., M. C. Beveridge and G. S. Haylor 1998. "The effects of density, light and shelter on the growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) fingerlings." *Aquaculture* 160(3-4): 251-258
- Holeček, V., Stárka, L., Bielik, E., 1983. Biochemie. Avicenum, zdravotnické nakladatelství, Praha, 304 s.
- Huisman, E. and C. Richter 1987. "Reproduction, growth, health control and aquacultural potential of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822)." *Aquaculture* 63(1-4): 1-14
- Churáček, J. a kol., 1991. Plynová a kapalinová chromatografie. Vysoká škola chemicko-technologická v Pardubicích, katedra analytické chemie, Pardubice, 295 s.

- Ivanovs, K. and D. Blumberga 2017. "Extraction of fish oil using green extraction methods: A short review." *Energy Procedia* 128: 477-483
- Kashiwagi, S. and P. L. Huang 2012. *Dietary Supplements and Cardiovascular Disease: What is the Evidence and What Should We Recommend?*, ISBN.
- Knapp, D. R. 1979. *Handbook of analytical derivatization reactions*, John Wiley & Sons.
- Mota, V. C., P. Limbu, C. I. Martins, E. H. Eding and J. A. Verreth 2015. "The effect of nearly closed RAS on the feed intake and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), African catfish (*Clarias gariepinus*) and European eel (*Anguilla anguilla*)." *Aquacultural engineering* 68: 1-5
- Murphy, R. C., Krank, J., Barkley, R. B., LC/MS methodology in lipid analysis and structural characterization of novel lipid species. *Functional Lipidomics*. Edited by L. Feng and G.D: Pretswich: 17-57, Taylor and Francis group 2006.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W., 2002. *Harperova Biochemie*. 23. vydání, Nakladatelství H+H, Vyšehradská s.r.o., Jinčany, 873 s.
- Mustapha, R. A., Bolajoko, O., and Akinola, O., 2014. "Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids Potential of Smoked and Boiled Catfish (*Clarias gariepinus*)." *Current Research in Nutrition and Food Science Journal* 2(2): 94-97
- Ng, W.-K., P.-K. Lim and P.-L. Boey 2003. "Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscle  $\alpha$ -tocopherol concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*." *Aquaculture* 215(1-4): 229-243
- Orsavova, J., L. Misurcova, J. V. Ambrozova, R. Vicha and J. Mlcek 2015. "Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids." *International journal of molecular sciences* 16(6): 12871-12890
- Osibona, A., K. Kusemiju and G. Akande 2009. "Fatty acid composition and amino acid profile of two freshwater species, African catfish (*Clarias gariepinus*) and tilapia (*Tilapia zillii*)." *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 9(1): 608-621
- Ozório, R. A., J. A. Uktoseja, E. Huisman and J. J. Verreth 2001. "Changes in fatty acid concentrations in tissues of African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, as a consequence of dietary carnitine, fat and lysine supplementation." *British Journal of Nutrition* 86(5): 623-636
- Rosa, R., N. M. Bandarra and M. L. Nunes 2007. "Nutritional quality of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822): a positive criterion for the future development of the European production of Siluroidei." *International journal of food science & technology* 42(3): 342-351
- Serra, A., A. Buccioni, M. Rodriguez-Estrada, G. Conte, A. Cappucci and M. Mele 2014. "Fatty acid composition, oxidation status and volatile organic compounds in "Colonnata" lard from Large White or Cinta Senese pigs as affected by curing time." *Meat Science* 97(4): 504-512
- Shadyeva, L., E. Romanova, V. Romanov, E. Spirina, V. Lyubomirova, T. Shlenkina and Y. Fatkudinova (2019). Forecast of the nutritional value of catfish (*Clarias gariepinus*) in the spawning period. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 403 (2019) 012218, IOP Publishing.

Simopoulos, A. P. 2008. "The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease." *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 17

Simopoulos, A. P. 2016. Evolutionary aspects of the dietary omega-6/omega-3 fatty acid Ratio: Medical implications. *Evolutionary thinking in medicine*, Springer: 119-134.

Špička, J., 2004. *Biochemie*. Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, 150 s.

Williams, C. M. 2000. "Dietary fatty acids and human health." *Annales De Zootechnie* 49(3): 165-180

Zýka, J. a kol., 1979. *Analytická příručka* 1. 3. vyd. SNTL Nakladatelství technické literatury, Praha, 680 s.

Žák, A., Macášek, J., Slabý, A., Staňková, B., Tvrzická, E., Vařeka, T., Vecka, M., Vitek, L., Zeman, M., 2011. *Ateroskleróza Nové pohledy*. Grada Publishing s.r.o., Praha, 182 s.

#### Internetové zdroje:

- <https://www.biolib.cz>
- <https://www.fishbase.se>
- [https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/223/216/bf3\\_methanol.pdf](https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/223/216/bf3_methanol.pdf)
- World Health Organization, 2015. Nutrient profile model. WHO Regional Office for Europe. Dostupné z: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/diseaseprevention/nutrition/publications/2015/who-regional-office-for-europe-nutrient-profile-model2015>
- <https://www.czso.cz/csu/czso/ceska-republika-podle-pohlavi-a-veku-20112020>

## 8 Seznam tabulek a grafů

Tabulka 1: Mastné kyseliny důležité pro metabolické pochody (Žák a kol., 2003)

Tabulka 2: Rozdělení lipidů na základě lipidomického jádra a funkce (Murphy a kol., 2006)

Tabulka 3: Optimální příjem tuků v potravě (Grofová 2010, Harika a kol. 2013)

Tabulka 4.: Srovnání obsahu FA v rostlinných a živočišných zdrojích

Tabulka 5.: Srovnání výsledků měření obsahu vybraných MK ve svalovině z *C. gariepinus*

Tabulka 6: Výživové údaje vybraných produktů dle výrobců

Tabulka 7: Rovnice a regresní čísla ke kalibračním křivkám MK

Tabulka 8 popisuje obsah mastných kyselin v mg na 100g výrobku a jejich odchylku (n=3)

Tabulka 9: Srovnání získaných výsledků s některými jinými studiemi

Tabulka. 10: Srovnání obsahů tuků (max.) uváděných výrobcem a naměřených hodnot

Graf 1: Obsah surového tuku po extrakci ze vzorků (%)

Graf 2: Obsah SFA, MUFA, PUFA n-3 a n-6 a EPA+DHA v mg na 100g výrobku – průměry s odchylkami (n=3).

Graf 3: Poměrné zastoupení jednotlivých MK v produktech, výsledky z GC FID (%)

Obrázek 1.: Lipidy dle výskytu a struktury, upraveno dle Tomčala, 2022; osobní sdělení

Obrázek 2.: Strukturní vzorce esenciálních n-6 a n-3 MK (Zdroj obrázku: Kashiwagi a Huang 2012)

Obrázek 3: Sumeček africký (*Clarias gariepinus*), (Zdroj obrázku: Ing. Jan Matoušek, FROV)

Obrázek 4: Schématický náčrt plynového chromatografu (Zdroj obrázku: Evers 2014, upraveno).

Obrázek 5.: Schématický náčrt FID detektoru (upraveno dle Zýka a kol., 1979)

Obrázek 6.: PCA diagram vysvětluje variabilitu datasetu z 81,9% na ose x a z 10,3% na ose y. Na obrázku jsou vizualizovány všechny měřené vzorky, každá varianta ve třech opakováních A-C na konci značky. CF je pro čerstvý filet (hnědá), UF je pro uzený filet (růžová), BU Burundi párky (tmavě modrá), NI - Niger klobása (zelený), KO – Kongo klobása (žlutá), Ta – Tatarák (světle modrá), VP – Vídeňský párek (červená), OK – Ostravská klobása (oranžová).

Obrázek 7.: RDA diagram CF je pro čerstvý filet, UF je pro uzený filet, BU Burundi párky, NI - Niger klobása, KO – Kongo klobása, TA – Tatarák, VP – Vídeňský párek, OK – Ostravská klobása. SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny, PUFA – polynenasycené mastné kyseliny

## 9 Abstrakt

### Určení a kvantifikace mastných kyselin ve vybraných rybích produktech

Byla provedena literární rešerše zabývající se zdravotními účinky mastných kyselin na lidský organismus, základy biologie sumce *Clarias gariepinus*. Práce také řeší složení jeho masa, s přihlédnutím k obsahu mastných kyselin a to pomocí chemicko-analytických metod: extrakce lipidů, derivatizace a plynové chromatografie (GC FID). Náhodně bylo vybráno 8 masných výrobků (z toho 6 z rybího masa), které byly podrobeny analýze obsahu mastných kyselin za pomoci GC FID. Všechny výrobky z masa *C. gariepinus* obsahovaly n-3 PUFA, včetně kyseliny docosahexaenové a eikosapentaenové, které ve výrobcích z vepřového masa úplně chyběly, měly většinou také nižší celkový obsah tuku a nasycených mastných kyselin. Výrobky z masa *C. gariepinus* se jeví jako kvalitní zdroj n-3 PUFA a díky formě zpracování (např. jako klobásy) jsou více atraktivní pro konzervativního koncového spotřebitele. Tímto mohou pomoci zvýšit pravidelný přísun klíčových n-3 PUFA a tak pozitivně ovlivnit zdravotní stav české populace snížením výskytu kardiovaskulárních onemocnění a dalších civilizačních chorob.

Klíčová slova: Mastné kyseliny, EPA, DHA, PUFA, HUFA, GC FID, tuky, rybí výrobky, *Clarias gariepinus*

## 10 Abstract

### Determination and quantification of fatty acids in chosen fish products

This study is dealing with fatty acids, their nutritional value for human health and the prevention of cardiovascular and other civilization diseases. We introduced catfish *Clarias gariepinus* biology and importance for the aquaculture and also as a candidate for a valuable source of n-3 PUFAS. The chemical-analytical approach was used to determine content of fatty acids in chosen meat products from mentioned extraordinary fish. Extraction of lipids, derivatization of fatty acids and gas chromatography (GC FID) were performed. Furthermore, the meat products from the *Clarias gariepinus* were compared with classical pork products - sausages. The results showed that fish products seem to be a valuable source of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid, the "classical" sausages, on the contrary, contain none of the desired fatty acids. Additionally, the fish products are designed as sausages and therefore resemble the "classical" ones which could be attractive even for the conservative consumers. Consumption of fish products will lead to elevation of daily intake of n-3 PUFAs and thus positively influence the common health by preventing cardiovascular and other civilisation diseases.

Keywords: Fatty acid, EPA, DHA, PUFA, HUFA, GC FID, fat, fish products, *Clarias gariepinus*