

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Vliv antioxidantů na stabilitu a profil n-3 mastných kyselin  
v doplňcích stravy**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Markéta Blažková**

**Obor studia: Kvalita potravin a zpracování zemědělských  
produktů (QUALIM)**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.**

© 2021 ČZU v Praze



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv antioxidantů na stabilitu a profil n-3 mastných kyselin v doplňcích stravy" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí 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 \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, Ing. Andree Doležalové za odborné konzultace a Ing. Kshitiz Pokhrel za asistenci v laboratoři. Dále bych ráda poděkovala rodině a přátelům, kteří mě v době studia podporovali.

# Vliv antioxidantů na stabilitu a profil n-3 mastných kyselin v doplňcích stravy

## Souhrn

Přípravky s omega-3 nenasycenými mastnými kyselinami z rybího oleje podléhají velmi rychlé degradaci při styku se vzdušným kyslíkem, přičemž tuto degradaci lze pozastavit přidáním jednoho nebo kombinací několika přírodních či synteticky vyrobených antioxidantů, které tyto procesy zpomalují.

V této práci byly shromážděny aktuální poznatky a vědění o složení a o zdrojích omega-3 nenasycených mastných kyselin a jejich pozitivním vlivu na celkové psychické i fyzické zdraví člověka. Dále byly shromážděny aktuální poznatky v oblasti jednotlivých druhů a působení antioxidantů na oxidační stabilitu omega-3 nenasycených mastných kyselin, a i na působení antioxidantů na lidské zdraví.

V praktické části byla provedena pomocí GC analýza složení obsahu jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích doplňku stravy Driphorm® HiDHA® 360 a následně byly pomocí Schaalova testu vyhodnoceny účinky různých antioxidantů na rychlost degradace omega-3 nenasycených mastných kyselin.

Analyzované vzorky obsahovaly v průměru 28,40 % SFA, 13,15 % MUFA, 58,45 % PUFA, 31,13 % omega-6 nenasycených mastných kyselin a 27,32 % omega-3 nenasycených mastných kyselin, z kterých tvořila 19,59 % DHA a 3,23 % EPA. Na zpomalení rychlé degradace omega-3 nenasycených mastných kyselin nejlépe zafungovaly antioxidanty jako askorbová kyselina a rozmarýnový extrakt. Ke zpomalení degradace přispěl také přídatek slunečnicového lecithinu, který taktéž vykazoval antioxidační vlastnosti. Přídatek vitamínu D3 měl jen minimální vliv na oxidační stabilitu produktu a přídatek vinanu L-karnitinu se neprokázal jako činitel ovlivňující antioxidační kapacitu produktu, ale předpokládá se, že směs stabilizoval.

Dále bylo zjištěno, že samotná surovina pro výrobu doplňků stravy obsahující omega-3 nenasycené mastné kyseliny má dobrou antioxidační kapacitu. Přidáním některých podpůrných surovin tato její antioxidační kapacita klesá, ale přidáním výše zmíněných, antioxidantů se její antioxidační kapacita naopak zvyšuje.

Jako nefungující pro inhibici oxidace se ukázal přídatek luteinu, což mohlo být ovlivněno jeho značnou náchylností k degradaci na světle.

Pro budoucí výrobu produktu doplňku stravy Driphorm® HiDHA® 360 lze, pro úspěšné oddálení degradace omega-3 nenasycených mastných kyselin, doporučit do produktu antioxidanty přidávat buď samostatně nebo v jejich kombinaci.

**Klíčová slova:** Omega-3 PUFA, doplňky stravy, oxidační stabilita, rybí olej, ančovičky

# Effect of antioxidants on stability and profile of n-3 fatty acids in food supplements

## Summary

Food supplements with omega-3 unsaturated fatty acids of fish oil are subject to very rapid degradation in contact with air oxygen, which may be inhibited by adding one or a combination of several natural or synthetically produced antioxidants which slow down these processes.

This work summarised up-to-date knowledge about the composition and sources of omega-3 unsaturated fatty acids and their positive impact on the overall mental and physical health of humans. In addition, up-to-date knowledge on individual species and on the effects of antioxidants on the oxidation stability of omega-3 unsaturated fatty acids, as well as on the effects of antioxidants on human Health has been included.

In the practical part, a GC analysis of the composition of individual fatty acids was carried out in samples of the Driphorm® HiDHA® 360 diet supplements and then the effects of various antioxidants on the rate of degradation of omega-3 unsaturated fatty acids were evaluated using the Schaal oven test.

The samples analysed contained on average 28,40 % SFA, 13,15 % MUFA, 58,45 % PUFA, 31,13 % omega-6 unsaturated fatty acids and 27,32 % omega-3 unsaturated fatty acids, of which 19,59 % DHA and 3,23 % EPA respectively. Antioxidants such as ascorbic acid and rosemary extract acted best to slow the rapid degradation of omega-3 unsaturated fatty acids. The addition of sunflower lecithin, which also showed antioxidant properties, also contributed to the inhibition of degradation. The addition of vitamin D3 had only a minimal effect on the oxidative stability of the product and the addition of L-carnitine tartrate has not been shown to influence the antioxidant capacity of the product, but its stabilising effect to the mixture is expected.

Furthermore, it was found that the raw material containing omega-3 unsaturated fatty acids has a good antioxidant capacity for the production of dietary supplements. By adding some supplementary raw materials, this antioxidant capacity decreases, but by adding other antioxidants, its antioxidant capacity increases. The addition of lutein has been shown to be not effective to inhibit oxidation, which may have been influenced by its considerable sensitivity to degradation in light.

For the future production of the Driphorm® HiDHA® 360 food supplement product it is recommended to add antioxidants to the product either separately or in their combination to delay the degradation of omega-3 unsaturated fatty acids.

**Keywords:** Omega-3 PUFA, food supplements, oxidative stability, fish oil, oxidative stability, anchovies

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>2</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1 Co jsou doplňky stravy</b> .....	<b>3</b>
3.1.1 Právní předpisy – legislativa .....	3
3.1.2 Označování a uvádění doplňků stravy na trhu .....	4
<b>3.2 Nejčastější doplňky stravy</b> .....	<b>4</b>
3.2.1 Vitaminy .....	4
Vitamin A.....	5
Vitamin D.....	5
Vitamin E.....	6
Vitamin K.....	6
Vitamin B <sub>12</sub> .....	6
Vitamin C.....	6
3.2.2 Minerální látky .....	7
Vápník (Ca) .....	8
Fosfor (P) .....	8
Draslík (K) .....	9
Sodík (Na) .....	9
Horčík (Mg) .....	9
Chlór (Cl) .....	10
Zinek (Zn) .....	10
<b>3.3 Nenasycené mastné kyseliny</b> .....	<b>11</b>
3.3.1 Vliv nenasycených mastných kyselin na lidské zdraví .....	11
Podporují vývoj mozku a zraku .....	12
Snižují míru deprese, působí protizánětlivě a pomáhají chránit srdce .....	12
Napomáhají lepší regeneraci a problémům s bolavými klouby .....	12
3.3.2 Doporučovaný příjem nenasycených mastných kyselin .....	12
3.3.3 Zdroje omega-3 a omega-6 mastných kyselin .....	13
Polyenové mastné kyseliny (PUFA) .....	13
Omega-3 nenasycenné mastné kyseliny z běžné stravy .....	14
<b>3.4 Složení mastných kyselin v ančovičkách</b> .....	<b>15</b>
<b>3.5 Antioxidanty</b> .....	<b>16</b>

3.5.1	Klasifikace .....	17
	Přírodní antioxidanty .....	18
	Enzymatické antioxidanty .....	19
	Neenzymatické antioxidanty .....	19
	Syntetické antioxidanty .....	22
<b>4</b>	<b>Indexy výživové kvality.....</b>	<b>22</b>
	Index atherogenicity (AI) .....	23
	Index trombogenicity (IT) .....	23
	Hypocholesterolemický/ hypercholesterolemický index (HH) .....	23
<b>5</b>	<b>Metodika.....</b>	<b>25</b>
<b>5.1</b>	<b>Metodika extrakce tuku dle Soxhleta .....</b>	<b>25</b>
5.1.1	Driphorm® HiDHA® 360 .....	25
5.1.2	Příprava vzorku .....	26
5.1.3	Analýza vzorku .....	26
	Extrakce vzorku tuku dle Soxhleta – teplá extrakce .....	26
	Rotační vakuová odparka – odpaření vzorku .....	27
	Esterifikace tuku pro stanovení MK pomocí GC .....	27
	Extrakce vzorku tuku – studená extrakce .....	28
<b>5.2</b>	<b>Metodika Schaalova testu .....</b>	<b>28</b>
5.2.1	Princip Schaalova testu .....	29
5.2.2	Příprava vzorků .....	30
<b>5.3</b>	<b>Metodika zpracování výsledků .....</b>	<b>31</b>
5.3.1	Stanovení obsahu mastných kyselin .....	31
5.3.2	Stanovení oxidační stability tuků .....	31
<b>6</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>32</b>
<b>6.1</b>	<b>Výsledky stanovení obsahu mastných kyselin .....</b>	<b>32</b>
<b>6.2</b>	<b>Výsledky stanovení oxidační stability tuků .....</b>	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>44</b>
<b>7.1</b>	<b>Složení mastných kyselin v ančovičkách.....</b>	<b>44</b>
<b>7.2</b>	<b>Indexy výživové kvality IA, IT a HH .....</b>	<b>44</b>
<b>7.3</b>	<b>Schaalův test .....</b>	<b>45</b>
<b>8</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>47</b>
<b>9</b>	<b>Seznam literatury.....</b>	<b>48</b>
<b>10</b>	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů.....</b>	<b>55</b>
<b>11</b>	<b>Seznam tabulek .....</b>	<b>56</b>



<b>12 Seznam grafů .....</b>	<b>57</b>
<b>13 Seznam rovnic.....</b>	<b>58</b>



# 1 Úvod

Přípravky s omega-3 nenasycenými mastnými kyselinami z rybího oleje patří mezi tradiční, dnes již širokou veřejností běžně používané, doplňky stravy. Omega-3 nenasyceným mastným kyselinám se především v posledních letech dostává zvýšené pozornosti nejen z řad veřejnosti, ale i z řad výrobců a společností se zaměřením jak na fyzické, tak i na celkové psychické zdraví.

Vzhledem k typickému aromatu a chuti rybího tuku, a po něm stále stoupající poptávce veřejnosti, je velká snaha ze strany výrobců o co možná největší a nejvariabilnější spektrum různých forem, ve kterých by omega-3 mastné kyseliny ve formě doplňku stravy splňovaly jak svou úlohu ve funkci pozitivního působení a vlivu na celkové fyzické a psychické zdraví, tak i úlohu ve smyslovém – senzorickém, přijetí spotřebiteli.

Základní surovina, ze které se tyto doplňky omega-3 mastných kyselin vyrábějí však podléhá velmi rychlé degradaci při styku se vzdušným kyslíkem. Tato degradace může být pozastavena přidáním jednoho nebo kombinací několika přírodních či synteticky vyrobených látek – antioxidantů, které tyto procesy zpomalují.

Všechny použité látky ve výsledném doplňku stravy pak musí před samotným uvedením na trh projít mnoha testy a kontrolami, kde musí prokázat zdravotní nezávadnost a vhodnost pro použití daného preparátu jako doplňku stravy a splnit veškerá legislativní stanovení, která spotřebiteli zajistí bezpečnost při jeho následném použití.

## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Omega-3 nenasycené mastné kyseliny z rybího oleje patří již mezi tradiční doplňky stravy. Surovina, ze které se tyto doplňky vyrábějí, podléhá velmi rychlé degradaci při styku se vzdušným kyslíkem. Tato degradace může být však zpomalena či pozastavena přidávkem přírodních nebo synteticky vyrobených látek – antioxidantů, které tyto procesy zpomalují.

Hlavním cílem této práce proto bylo nalézt nejvhodnější antioxidant, případně jejich kombinaci, pro zvolenou tukovou matici (enkapsulovaný rybí olej) tak, aby byla zajištěna co nejvyšší stabilita omega-3 nenasycených mastných kyselin po co nejdelší dobu v tomto doplňku stravy.

Další částí práce bylo vypracování literární rešerše se zaměřením zejména na antioxidanty přírodního původu, které se běžně používají v potravinářství, a dále na oxidaci omega-3 nenasycených mastných kyselin a vlivu oxidace na jejich kvalitu. K tomuto bylo zapotřebí stanovit počáteční profil nenasycených mastných kyselin v doplňcích stravy od firmy mcePharma s.r.o. a současně k matici jejich doplňků přidávat různé antioxidanty přírodního původu (fenolové sloučeniny).

Dále byla sledována indukční perioda antioxidantů a případný vliv použitého antioxidantu na profil mastných kyselin v produktech po delší době uskladnění. Díky takto získaným poznatkům bylo pak možné posoudit, který ze zkoumaných antioxidantů je pro tento účel nejvhodnější.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Co jsou doplňky stravy

Potravní doplňky neboli doplňky stravy, jsou látky zvyšující biologickou hodnotu potravy, které zahrnují vitaminy, minerální látky, aminokyseliny, některé mastné kyseliny, vlákninu a další látky s významnými biologickými účinky. Některé z těchto látek mohou být nejen potravním doplňkem a zvyšovat tak výživovou hodnotu určité potraviny, ale současně mohou být i přídatnou látkou v potravině a mít funkci např. jako barvivo nebo antioxidant.

Používání látek zvyšujících biologickou hodnotu potravin velmi úzce sleduje vývoj poznatků ve vědě o výživě a má za cíl příjmem určitých exogenních esenciálních látek předcházet různým onemocněním, která jsou často spojována se sníženou nebo zhoršenou dostupností určitých druhů potravin v závislosti na dané geografické oblasti nebo s jednostranou výživou (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Pro používání potravních doplňků proto existují dva základní důvody:

- korigovat deficienci některých výživově cenných látek
- předcházet onemocněním spojených se sníženou dostupností určitých druhů potravin

#### 3.1.1 Právní předpisy – legislativa

Pro obohacování určitých skupin potravin je povoleno používat pouze předem stanovené potravní doplňky, a to v maximální výši, kterou udává hodnota procentrického podílu referenční denní dávky. Legislativa doplňků stravy však v rámci EU není zcela sjednocená. Společně však mají to, že doplňky stravy je možné do oběhu uvádět pouze balené.

Podle zákona č. 110/1997 Sb., v platném znění, se doplňkem stravy rozumí potravina, jejímž účelem je doplňovat běžnou stravu a která je koncentrovaným zdrojem vitaminů a minerálních látek nebo dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem, obsažených v potravině samostatně nebo v kombinaci, určená k přímé spotřebě v malých odměřených množstvích (Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), 2018).

Podle směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2002/47/ES jsou doplňky stravy potraviny, jejichž účelem je doplňovat běžnou stravu a které jsou koncentrovanými zdroji živin nebo jiných látek s výživovým nebo fyziologickým účinkem, samostatně nebo v kombinaci, jsou uváděny na trh ve formě dávek, a to ve formě tobolek, pastilek, tablet, pilulek a v jiných podobných formách, dále ve formě sypké, jako kapalina v ampulích, v lahvičkách s kapátkem a v jiných podobných formách kapalných nebo sypkých výrobků určených k příjmu v malých odměřených množstvích (“Směrnice Evropského parlamentu a rady 2007/47/ES ze dne 5. září 2007,” 2007).

V rámci ČR tvoří doplňky stravy samostatnou kategorii potravin, která je upravena vyhláškou č. 58/2018 Sb., o doplňcích stravy a složení potravin, ve znění pozdějších předpisů. Tato vyhláška vznikla transpozicí směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2002/46/ES (“Vyhláška ze dne 29. března 2018 o doplňcích stravy, | epravo.cz,” n.d.).

### 3.1.2 Označování a uvádění doplňků stravy na trhu

Při označování doplňků stravy jim nesmí být přisuzovány vlastnosti týkající se prevence, léčby nebo vyléčení lidských onemocnění nebo odkazovat na tyto vlastnosti. Dále nesmí obsahovat žádné tvrzení uvádějící nebo naznačující, že vyvážená a pestrá strava obecně nemůže poskytnout dostatečné množství vitaminů nebo minerálních látek a v neposlední řadě se výživová a zdravotní tvrzení mohou na doplňku stravy uvádět pouze za podmínek stanovených nařízením (ES) č. 1924/2006.

Při uvádění doplňků stravy na trh je rovněž potřeba zvážit, zda doplněk stravy neobsahuje složky nového typu (tj. složky, které nebyly na území Evropských společenství používány k lidské spotřebě před 15. květnem 1997), které mohou být na trh uváděny pouze v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 a o zrušení nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 a nařízení Komise (ES) č. 1852/2001 (Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), 2018).

Jak je uvedeno výše, doplňky stravy jsou potraviny, nikoliv léčiva a vztahují se tedy na ně příslušná ustanovení potravinového práva. Hranice mezi doplňky stravy a některými jinými kategoriemi produktů je však velmi úzká a kategorizaci konkrétního přípravku je tedy potřeba provádět případ od případu. Problematiku hraničních přípravků ve vztahu k léčivým přípravkům řeší Státní ústav pro kontrolu léčiv. Oblastí zdravotnických prostředků se zabývá Ministerstvo zdravotnictví ČR.

## 3.2 Nejčastější doplňky stravy

Nejčastějšími doplňky stravy jsou složky, které se ve výživě vyskytují v malých množstvích, ale jejich význam a případný deficit je pro lidské zdraví zásadní. Jedná se především o hlavní skupiny vitaminů (A, D, E, K a skupinu vitaminů B-komplexu a vitamin C) a minerální látky, jako jsou např. vápník (Ca), fosfor (P), draslík (K), sodík (Na), horčík (Mg), chlór (Cl) nebo zinek (Zn).

### 3.2.1 Vitaminy

Vitaminy jsou přírodní látky, které jsou pro člověka nepostradatelné, jelikož si je, až na malé výjimky, neumí v organismu sám syntetizovat, a proto je musíme získávat ze stravy. Uvedené výjimky se týkají především vitaminu K, který produkují některé bakterie střevní mikrobioty, a vitaminu D<sub>3</sub>, který se vytváří z provitaminu přítomného v pokožce. Základní potřebu vitaminu je možné, pokud splňujeme zásady racionální výživy a při správném složení stravy, pokrýt z přirozených zdrojů potravin (Turek et al., 2016). Pokud se budeme řídit např. doporučeními Společnosti pro výživu (Dostálová et al., 2012) nebo zásadami sestavení pokrmu podle zdravého talíře z Harvardu, nepotřebujeme doplňky stravy s obsahem vitaminů a minerálních látek již dodatečně dopňovat (Chan, 2016).

Vitaminy rozdělujeme na dvě hlavní skupiny:

- vitaminy rozpustné ve vodě – komplex vitaminů skupiny B a vitamin C
- vitaminy rozpustné v tucích – A, D, E, K

Dalším dělením je dělení na vitaminy:

- přírodní neboli přirozeně se vyskytující
- synteticky vyrobené

Vitaminy ze svých přirozených zdrojů (ovoce a zelenina) budou oproti těm synteticky vyráběným lépe vstřebatelné kvůli obsahu dalších látek jako jsou např. přírodní antioxidanty flavonoidy, které jejich vstřebatelnost podporují (Vissers et al., 2011).

Vitaminy z běžné stravy se navíc vyskytují v komplexech spolu s dalšími složkami stravy jako jsou bílkoviny, sacharidy a tuky na rozdíl od většinou krystalické formy vitaminů v doplňcích stravy, což může opět hrát roli v jejich vstřebatelnosti (Thiel, 2000).

Vitaminy z ovoce a zeleniny se navíc budou vstřebávat pomaleji, a tím pádem jejich hladiny neporostou tak rychle, a tudíž doplňování vitaminů do těla bude efektivnější a tělo jich méně vyloučí bez užitku močí (Vinson et Bose, 1988). Účinky a metabolismus některých vitaminů jsou navzájem dokonce natolik provázané, že velké dávky jednoho vitaminu nebo jeho syntetická forma může narušit celkovou rovnováhu a působení ostatních vitaminů v organismu (Packer et al., 1979; Schelling et al., 1995).

### Vitamin A

Vitamin A neboli retinol, podporuje procesy vidění (nedostatek způsobuje šeroslepost) a jako růstový vitamin má význam pro obměnu buněk a regeneraci tkání. Závisí na něm správný vývoj plodu, zejména růst kosterního aparátu, krvetvorba a také vývoj a dozrávání imunitního systému. Velmi důležitý je pro ochranu jaterních buněk, ale současně jeho nadbytečný příjem je nežádoucí a organismus naopak poškozuje (Turek et al., 2016).

Zdrojem vitaminu A v potravě jsou živočišné produkty a karotenoidy přítomné v rostlinách, zejména mrkev, rajčata a listová zelenina (Havlík et Marounek, 2013). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 1 a 2.

### Vitamin D

Vitamin D neboli kalciferol, je v současnosti považován za hormon. Mezi ostatními vitaminy zaujímá zvláštní postavení, jelikož jeho potřeba pro organismus není kryta přívodem ze stravy, ale z 80–90 % se vlivem UV záření vytváří v kůži. Vyskytuje se v několika formách, kdy nejvýznamější je jako ergokalciferol – vitamin D<sub>2</sub> a cholekalciferol – vitamin D<sub>3</sub>, přičemž má v organismu různé funkce, mezi které patří regulace vstřebávání vápníku a jeho ukládání v kostech nebo podpora imunitního systému. Omezuje ukládání tuku v tukových buňkách a vznik obezity (snižuje riziko vzniku diabetu 1. a 2. stupně), také snižuje hladinu cholesterolu v krvi a hodnoty krevního tlaku. Jeho nadbytečný příjem však může mít toxické účinky a vést až k selhání ledvin.

Zdrojem vitaminu D v potravě jsou ryby, máslo, mléko, vejce a játra, ale k pokrytí jeho potřeby stačí pravidelná expozice těla na slunci (Turek et al., 2016; Havlík et Marounek, 2013). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 1 a 2.

## Vitamin E

Vitamin E je souhrnný název pro skupinu několika látek, ze kterých je nejdůležitější  $\alpha$ -tokoferol, který je současně jeho nejčastější formou. V organismu působí jako významná antioxidační látka, která dokáže chránit buněčné membrány a tím zpomalovat procesy stárnutí. Dále pomáhá v prevenci kardiovaskulárních chorob, snižuje riziko vzniku infarktu myokardu a mozkové mrtvice a rovněž je velmi důležitý pro plodnost živočichů a pro funkci imunitního systému. Případný nadbytek vitamínu E pro organismus není škodlivý, vyjma těhotných žen vzhledem k možné teratogenitě při příjmu přes 300 mg/ den.

Zdrojem vitamínu E v potravě jsou rostlinné oleje, listová zelenina a ořechy (Turek et al., 2016; Havlík et Marounek, 2013). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 1 a 2.

## Vitamin K

Vitamin K zahrnuje dvě formy: vitamin  $K_1$  – fylochinon, který je produkován v rostlinách a je tedy obsažen v potravinách a vitamin  $K_2$  – menachinon, který je produkován některými bakteriálními kmeny střevní mikrobioty. Vitamin  $K_1$  reguluje především srážení krve, jelikož ho ke své aktivitě potřebuje několik krevních koagulačních faktorů a vitamin  $K_2$  zase zajišťuje mineralizaci kostí, růst buněk a látkovou výměnu v buňkách cév. Vitamin K se ukládá v tukové tkáni, ale jeho rezerva v organismu je malá. Jeho nedostatek vede k poruchám krevní srážlivosti a zvyšuje riziko osteoporotických zlomenin.

Zdrojem vitamínu K v potravě je listová zelenina (špenát, zelí, brokolice) a některé druhy ovoce, jako například kiwi a avokádo (Turek et al., 2016; Havlík et Marounek, 2013). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 1 a 2.

## Vitamin $B_{12}$

Vitamin  $B_{12}$  neboli kobalamin, má v naší stravě nezastupitelné místo, jelikož se podílí na řadě důležitých funkcí, jako je metabolismus DNA, syntéza mastných kyselin a správný průběh krvetvorby a fungování nervového systému. Je syntetizován pouze mikroorganismy, v rostlinách se nenachází, ale jeho nedostatek je velmi vzácný. Na jeho dostatečný příjem by si měli dát pozor hlavně lidé stravující se vegansky.

Zdrojem vitamínu  $B_{12}$  v potravě je maso, vnitřnosti, mléko a mléčné výrobky (Havlík et Marounek, 2013). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 1 a 2.

## Vitamin C

Vitamin C neboli L-askorbová kyselina, představuje jeden z nejdůležitějších vitaminů, jelikož plní řadu fyziologických funkcí, jako je zlepšení vstřebávání železa, působení při syntéze adrenalinu a žlučových kyselin, je významným antioxidantem, má klíčový význam v prevenci kardiovaskulárních chorob a nádorových onemocnění, jelikož snižuje možnost metabolické aktivace řady karcinogenních látek a jak už sám jeho název napovídá, zabraňuje vzniku kurdějí neboli skorbutu.



Zdrojem vitamínu C v potravě jsou ovoce a zelenina a jeho případný nadbytek se vyloučí z těla močí (Turek et al., 2016; Havlík et Marounek, 2013). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 1 a 2.

Tabulka 1. Doporučený denní příjem vitaminů (upraveno dle DACH, 2011).

Vitamin	Muži	Ženy
Vitamin A	1 mg / den	0,8 mg / den
Vitamin D	20 µg / den	20 µg / den
Vitamin E	15 mg / den	12 mg / den
Vitamin K	70 µg / den	60 µg / den
Vitamin B <sub>12</sub>	4 µg / den	4 µg / den
Vitamin C	110 mg / den	95 mg / den

Tabulka 2. Doporučený denní příjem vitaminů (upraveno dle ("Nařízení evropského parlamentu a rady(EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směř," 2011).

Vitamin	Dospělé osoby
Vitamin A	800 µg / den
Vitamin D	5 µg / den
Vitamin E	12 mg / den
Vitamin K	75 µg / den
Vitamin B <sub>12</sub>	2,5 µg / den
Vitamin C	80 mg / den

### 3.2.2 Minerální látky

Minerální látky potravin jsou definovány jako prvky obsažené v popelu potravin nebo přesněji řečeno jako prvky, které zůstávají ve vzorku potravin po úplné oxidaci organického podílu na oxid uhličitý, vodu a další látky (Velíšek et Hajšlová, 2009). Ačkoli pro organismus nejsou zdrojem energie, tak i přesto jsou nepostradatelné, jelikož zajišťují řadu důležitých funkcí jako je například syntéza enzymů pro celkový metabolismus, přeměna energie, správná funkce nervových buněk a neurotransmiterů, dále jsou nedílnou součástí strukturálních molekul, kdy udržují pevnost a pružnost tkání, udržují rovnováhu skladby a osmotický tlak buněčných i tělesných tekutin a v neposlední řadě také vzájemně spolupracují s vitamíny, přičemž určují jejich buněčné vstřebávání, a naopak vitamíny regulují vstřebávání některých minerálních látek (Turek et al., 2016).

Minerální látky lze klasifikovat podle různých kritérií s ohledem na jejich biologický či nutriční význam, množství, účinky ve stravě nebo na jejich původ.

Minerální látky podle množství, v jakém jsou zastoupeny, rozdělujeme na:

- majoritní minerální prvky, dříve nazývané makroelementy, které se v potravinách vyskytují v množství setin až jednotek hmotnostních procent (tj.ve stovkách až desetitisících mg.kg<sup>-1</sup>) a kam řadíme Na, K, Mg, Ca, Cl, P a S
- minoritní minerální prvky, které jsou v potravinách obsaženy v menších množstvích představujících několik desítek až stovek mg.kg<sup>-1</sup> a obvykle se sem řadí Fe a Zn

- stopové prvky neboli mikroelementy, jsou zastoupeny ještě v nižších množstvích, kdy se pohybujeme v hodnotách desítek  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  a méně, a řadíme sem například Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, F, Hg, I, Mn, Mo, Ni, Pb, Se a Zn

Toto rozdělení minerálních látek v potravinách zhruba odpovídá i zastoupení těchto prvků v lidském organismu (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Dalším, často používaným dělením, je dělení podle fyziologického významu na:

- esenciální prvky, tj. prvky nezbytné, mezi které patří všechny majoritní prvky (Na, K, Mg, Ca, Cl, P, S) a řada prvků stopových (Si, B, Co, Cr, Cu, F, I, Mn, Mo, Ni, Se, Zn)
- toxické prvky, kdy k nejdůležitějším toxickým prvkům v potravinách řadíme Pb, Cd, Hg a As
- neesenciální prvky, tj. prvky fyziologicky indiferentní, u kterých není dosud známa biologická funkce v organismu, ale současně nejsou ani prvky toxickými. Řadíme mezi ně všechny ostatní chemické prvky v potravinách, které jsou zastoupeny obvykle ve stopových množstvích (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Minerální látky, které jsou přítomné v organických vazbách bývají organismem všeobecně lépe využívány, než v případě, kdy jsou ve formě anorganické (Havlík et Marounek, 2013).

Všechny minerální prvky, i jejich sloučeniny, jsou v těle neustále metabolicky odbourávány a bez zajištění jejich opětovného přísunu ze stravy by došlo k ohrožení prakticky všech životně důležitých funkcí v organismu. Konkrétní potřebné množství přijímaných minerálních látek závisí na věku, životním prostředí, klimatu, stylu života, zdravotním stavu, ale v neposlední řadě i na samotné dostupnosti a kvalitě potravin. Z tohoto hlediska musí být strava dostatečně pestrá, aby nedocházelo k nadměrnému nebo naopak k nedostatečnému příjmu jednotlivých prvků, který by mohl vyústit až v minerálovou nerovnováhu a s tím spojenými zdravotními problémy (Turek et al., 2016).

### Vápník (Ca)

Vápník neboli *calcium*, je aktivátorem mnoha enzymů, je důležitý při srážení krve a reguluje celou řadu důležitých pochodů v organismu, jako je například buněčná signalizace a přenos potenciálu v nervové soustavě. Tělo dospělého člověka obsahuje cca 1 kg vápníku, z čehož je 99 % obsaženo v kostech a zubech, přičemž kostní hmota v případě nedostatku vápníku představuje jeho zásobárnu, ze které se může mobilizovat.

Zdrojem vápníku v potravě je především mléko a mléčné výrobky, dále mořské ryby, ořechy a semena, sójové boby ale i zelenina. Vstřebatelnost vápníku je podmíněna současným dostatkem vitamínu D, přičemž z mléka a mléčných výrobků je jeho dostupnost oproti dostupnosti z rostlin vysoká (Havlík et Marounek, 2013; Turek et al., 2016). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 3 a 4.

### Fosfor (P)

Fosfor neboli *phosphorus*, je spolu s vápníkem nejvíce obsažen v kostech a zubech, kde tvoří až 85 % a jeho zbylá část je v organické podobě součástí buněčných membrán,

nukleonových kyselin a různých fosfátů a přičemž fosfor podmiňuje správnou funkci mozku, kdy se podílí na přenosu nervového vzruchu.

Zdrojem fosforu v potravě jsou mořské ryby a plody moře, maso, vnitřnosti, mléko a mléčné výrobky, obilniny, kvasnice, čokoláda a některé luštěniny jako je například čočka (Havlík et Marounek, 2013; Turek et al., 2016). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 3 a 4.

#### Draslík (K)

Draslík neboli *kalium*, je hlavním kationtem intracelulární kapaliny a podílí se na udržování vyrovnaného osmotického tlaku. Je zahrnut prakticky ve všech procesech, které v organismu probíhají a při jeho nedostatečném příjmu dochází k slabosti kosterního svalstva a poruchám funkce srdečního svalu i hladkého svalstva.

Zdrojem draslíku v potravě je libové maso, ledviny, játra, mléko, houby, celozrnné obiloviny, luštěniny, rajčata, listová zelenina, brambory a ořechy. Z ovoce pak citrusové plody, meruňky, švestky, hrozinky, banány, avokádo a rybí (Havlík et Marounek, 2013; Turek et al., 2016). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 3 a 4.

#### Sodík (Na)

Sodík neboli *natrium*, je hlavním kationtem extracelulárních tekutin a jeho hlavní funkcí je udržování osmotického tlaku, vodní rovnováhy a acidobazické rovnováhy v trávicích šťavách. Nedostatek sodíku v těle vyvolává únavu a vyčerpání, ale při jeho déle trvajícím nadměrném příjmu může dojít k zvýšení krevního tlaku a v jeho důsledku i ke zvýšenému zatěžování ledvin. Podle zdravotních doporučení by příjem soli neměl převýšit množství 5–6 g/den, což představuje necelou polovinu skutečné spotřeby soli u nás.

Zdrojem sodíku v potravě je především chlorid sodný (kuchyňská sůl), ale je obsažen i v mase, mořských plodech, mléce a mléčných výrobcích (Havlík et Marounek, 2013; Turek et al., 2016). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 3 a 4.

#### Horčík (Mg)

Horčík neboli *magnesium*, je součástí více než 300 enzymů a podobně jako fosfor je zahrnut do metabolismu bílkovin a nukleonových kyselin. Spolu s vápníkem zvyšuje využití glukózy v tkáních a sekreci inzulínu v slinivce břišní, čímž snižuje riziko vzniku diabetu melitu 2. typu.

Jeho další funkce spočívá ve snižování tvorby cholesterolu, což má velký význam pro prevenci kardiovaskulárních onemocnění. Při nedostatečném příjmu horčíku dochází k nespavosti, ranní únavě, srdeční arytmii, závratím, svalovým křečím (především v lýtkách) a v období růstu se může jeho nedostatečný příjem projevit zpomalením mentálního vývoje.

Zdrojem horčíku v potravě je červené maso, ryby, luštěniny, obiloviny, zelenina, ořechy a různá semena (Havlík et Marounek, 2013; Turek et al., 2016). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 3 a 4.

## Chlór (Cl)

Chlór neboli *chlorum*, je v těle zastoupen spolu se sodíkem v chloridu sodném a v kyselině chlorovodíkové v žaludku. Společně se sodíkem udržuje osmotický tlak tělních tekutin v normálních hodnotách, udržuje acidobazickou rovnováhu a iontovou bilanci a jako součást žaludečních trávicích šťáv usnadňuje trávení.

K nadbytku chlóru přispívá nadměrné solení a konzumace slaných potravin a může přispívat k vysokému krevnímu tlaku (Havlík et Marounek, 2013; Turek et al., 2016). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 3 a 4.

## Zinek (Zn)

Zinek neboli *zincum*, je aktivátorem přibližně 200 enzymů a je současně vázán na inzulin. S jeho nedostatkem se běžně setkáváme zejména v rozvojových zemích, kde se často spojuje s nedostatkem bílkovin ve stravě, přičemž způsobuje neplodnost, poruchy růstu nebo zhoršenou funkci zraku.

Zdrojem zinku v potravě je červené a bílé maso, přičemž červená masa mají dvojnásobný obsah zinku než masa bílá, dále pak mléko, vejce a pšeničné celozrnné výrobky (Havlík et Marounek, 2013; Turek et al., 2016). Jeho doporučený denní příjem je uveden v tabulce 3 a 4.

Tabulka 3. Doporučený denní příjem minerálních látek (upraveno dle DACH, 2011).

Minerál	Muži	Ženy
Vápník (Ca)	1000 mg / den	1000 mg / den
Fosfor (P)	700 mg / den	700 mg / den
Draslík (K)	4000 mg / den	4000 mg / den
Sodík (Na)	1500 mg / den	1500 mg / den
Horčík (Mg)	400 mg / den	310 mg / den
Chlór (Cl)	2300 mg / den	2300 mg / den
Zinek (Zn)	14 mg / den	8 mg / den

Tabulka 4. Doporučený denní příjem vitaminů (upraveno dle ("Nařízení evropského parlamentu a rady(EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směr," 2011).

Minerál	Dospělé osoby
Vápník (Ca)	800 mg / den
Fosfor (P)	700 mg / den
Draslík (K)	2000 mg / den
Sodík (Na)	2400 mg / den
Horčík (Mg)	375 mg / den
Chlór (Cl)	800 mg / den
Zinek (Zn)	10 mg / den

### 3.3 Nenasycené mastné kyseliny

Nenasycené mastné kyseliny mají pro fyzikální i chemické vlastnosti lipidů zvláštní význam. Je dobře známo, že se zvyšováním stupně nenasycenosti mastných kyselin lipidů (tj. vzrůstajícím počtem dvojných vazeb v cis-konfiguraci) se tekutost lipidů zvyšuje: snižuje se teplota tuhnutí triacylglycerolů. Nenasycené mastné kyseliny mají v důsledku cis dvojných vazeb ohnutý tvar, který už nedovoluje tak těsné uložení molekul, disperzní interakce jsou omezené a tuky s převahou monoenoových a polyenoových mastných kyselin jsou proto kapalné (Dostál, 2011).

Ve své struktuře obsahují nenasycené mastné kyseliny jednu nebo více dvojných vazeb podle jejichž počtu se mohou dále dělit na:

- Monoenoové mastné kyseliny – obsahující pouze jednu dvojnou vazbu.
- Polyenoové mastné kyseliny – obsahují dvě nebo více dvojných vazeb (Murray et al., 2012).

V živočišných tucích i rostlinných olejích se nejčastěji nacházejí nenasycené mastné kyseliny s nerozvětveným řetězcem, které mají 10–36 atomů uhlíku. Běžně se vyskytují monoenoové a polyenoové mastné kyseliny s 16–18 atomy uhlíku. Obsah nenasycených mastných kyselin, např. v tucích a olejích, se pohybuje ve velmi širokém rozmezí, od více než 90 % všech mastných kyselin (např. v řepkovém oleji) po méně než 10 % (např. v kokosovém tuku). Obsah nenasycených mastných kyselin v tucích živočichů se pohybuje v daleko menším rozmezí, obvykle mezi 50–70 %. Jedinou výjimkou jsou rybí oleje, jelikož obsahují mastné kyseliny s 20–22 atomy uhlíku a se 4–6 dvojnými vazbami.

Tuk sladkovodních ryb se svým složením mastných kyselin liší od tuku mořských ryb. Ryby tyto tuky samy nesyntetizují, ale přijímají je s potravou (jsou přítomny v planktonu, např. v korýších a řasách). Proto i vodní savci (např. velryby), kteří se živí drobnými korýši, mají tuk o podobném složení mastných kyselin jako ryby. V rostlinách je ve srovnání se živočichy daleko větší pestrost ve složení nenasycených mastných kyselin (Velíšek et Hajšlová, 2009; Blažková, 2019).

#### 3.3.1 Vliv nenasycených mastných kyselin na lidské zdraví

Omega-3 mastné kyseliny jsou pro organismus nepostradatelné (esenciální) látky, které si tělo není schopno samo vytvořit, a tak je nutné je pravidelně přijímat ve stravě či v doplňcích stravy. Jen málokterý, ve společnosti běžně konzumovaný, doplněk stravy má tak široké a komplexní využití jako právě omega 3 mastné kyseliny.

Především rybí oleje jsou velmi hodnotným zdrojem omega-3 polyenoových mastných kyselin, a to konkrétně eikosapentaenové kyseliny (EPA) a dokosahexaenové kyseliny (DHA). Příjem EPA a DHA z konzumace ryb nebo rybích olejů a koncentrátů může poskytnout celou řadu zdravotních výhod, které jsou podrobněji rozebrány v následujících podkapitolách níže, ale také dokáže poskytnout antioxidační účinky, jelikož zvýšená exprese antioxidačních enzymů a složek v rybím oleji je spojena s antimikrobiálními účinky, které také svou měrou přispívají k udržení či zlepšení lidského zdraví (Phung et al., 2020).

## Podporují vývoj mozku a zraku

Omega-3 mastné kyseliny hrají velmi významnou roli již v prenatálním období při správném vývoji mozku a zraku, jelikož je to právě složka rybího tuku, konkrétně dokosahexaenová kyselina (DHA), která je ve značném množství přítomná v mozkové tkáni a v oční sítnici (McCann et Ames, 2005). Těhotným a kojícím ženám je proto často doporučováno přijímat potraviny či doplňky stravy bohaté na omega-3 mastné kyseliny pro optimální vývoj plodu. Stejně tak jsou důležité po celý zbytek života, především v dětství a během dospívání (Koletzko et al., 2008).

## Snižují míru deprese, působí protizánětlivě a pomáhají chránit srdce

V dnešní době se deprese řadí mezi stále častěji se vyskytující zdravotní problém moderní populace, který, ať už v malé nebo velké míře, značně komplikuje každodenní život i jeho kvalitu a právě omega-3 mastné kyseliny patří mezi jedny z látek, které mohou projevy deprese zmírňovat (Häberling et al., 2019).

Nejsou to ale jen deprese. Observační studie, které porovnávaly časté konzumenty ryb (1–2 porce ryb týdně) s méně častými konzumenty ryb (méně než 1 porce týdně), došly k závěru, že pravidelná konzumace ryb dokáže ochránit mozek před snížením kognitivních funkcí spolu s přibývajícím věkem (Morris et al., 2005; Grosso et al., 2014).

Další, z neméně významných, zdravotních benefitů omega-3 mastných kyselin je jejich protizánětlivé působení, ze kterého kromě běžné populace mohou profitovat jak rekreační, tak i vrcholoví sportovci.

Ačkoliv ohledně působení omega-3 nenasycených mastných kyselin na kardiovaskulární stav organismu panuje stále mnoho diskuzí, řada předních zdravotnických institucí i přesto nadále doporučuje příjem omega-3 mastných kyselin pro ochranu srdce a udržení celkového dobrého stavu kardiovaskulárního systému (Virtanen et al., 2008).

## Napomáhají lepší regeneraci a problémům s bolavými klouby

Ve studii Philpotta (Philpott et al., 2018) prováděné na profesionálních fotbalistech bylo zjištěno, že podání rybího tuku (1100 mg) do potréninkového nápoje vedlo ke snížení bolestivosti svalů o více než 50 %. Toto zjištění, spolu s protizánětlivým působením omega-3 nenasycených mastných kyselin, může profesionálním sportovcům pomoci zvládat náročnější a častější tréninky ve vyšší kvalitě.

### **3.3.2 Doporučovaný příjem nenasycených mastných kyselin**

Na rozdíl od neměnného příjmu nasycených mastných kyselin se interval doporučených hodnot pro příjem polyenových mastných kyselin rozšířil. Podle WHO z roku 2003 by měl příjem omega 6 ( $\omega$ -6) tvořit 5–8 % a omega 3 ( $\omega$ -3) polyenových mastných kyselin 1–2 % z celkového příjmu energie (Joint WHO/FAO Expert Consultation, 2002). Podle FAO/WHO z roku 2010 jsou doporučení pro příjem omega 6 ( $\omega$ -6) 2,5–9 % a omega 3 ( $\omega$ -3) 0,5–2 % z celkového příjmu energie (Report of an Expert Consultation, 2008).

V novějších doporučeních je dolní část tohoto intervalu důležitá zejména pro zajištění základních funkcí v organismu. Osoby se zvýšenými riziky vzniku srdečně cévních onemocnění by se měly z hlediska příjmu pohybovat v horní části intervalu. Doporučení se tedy vzájemně příliš neliší, rozdílný je jen jejich přístup při stanovování cílových hodnot a doprovodný výklad (Brát, 2015).

Ve výživových doporučeních pro tuky se můžeme také setkat s různými cílovými hodnotami pro vzájemný poměr omega 6 ( $\omega$ -6) a 3 ( $\omega$ -3) mastných kyselin. Například podle Společnosti pro výživu by měl být poměr mastných kyselin řady omega 6 ( $\omega$ -6) : omega 3 ( $\omega$ -3) maximálně 5 : 1 (kolektiv autorů, 2012; Blažková, 2019).

### 3.3.3 Zdroje omega-3 a omega-6 mastných kyselin

#### Polyenové mastné kyseliny (PUFA)

Esenciální polyenové mastné kyseliny neboli nenasycené vyšší mastné kyseliny vznikají z nasycených mastných kyselin desaturací. Desaturace mastných kyselin v buňkách člověka a jiných vyšších živočichů je možná jen v částech řetězců blízkých karboxylové skupině, ne za 10. atomem uhlíku. Desaturace na kyseliny řady n-6 a n-3 probíhá pouze v rostlinách. Přitom dvacetihlíkaté polyenové mastné kyseliny těchto řad, arachidonová a eikosapentaenová, jsou nezbytnými výchozími substráty pro biosyntézu eikosanoidů. Člověk je proto odkázán na příjem nenasycených kyselin řady n-6 a n-3 potravou.

Esenciálními polyenovými mastnými kyselinami jsou linolová a  $\alpha$ -linolenová kyselina, protože linolová kyselina (n-6) může být přeměněna elongací řetězce a dvěma desaturacemi na arachidonovou a analogicky  $\alpha$ -linolenová (n-3) na eikosapentaenovou kyselinu. Hlavním zdrojem esenciálních mastných kyselin jsou rostlinné oleje, u nás nejvíce sójový, řepkový nebo slunečnicový olej a dalším významným zdrojem, zejména eikosapentaenové kyseliny, jsou rybí oleje (Blažková, 2019). Po několikaměsíční karenci esenciálních kyselin (např. při dlouhodobé parenterální výživě) byly zjištěny projevy snížené odolnosti k infekcím, zpomalené hojení ran, šupinatost kůže a další poruchy (Dostál, 2011). Příklady nejčastěji se vyskytujících polyenových mastných kyselin jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5. Polyenové mastné kyseliny (upraveno dle Mann et Truswell, 2017 a Murray et al., 2012).

Triviální název	Systematický název	Zkrácený zápis	Výskyt
Linolová	Oktadekadienová	18:2 (9,12) $\omega$ 6	Rostlinné oleje – bavlníkový, sójový, slunečnicový, kukuřičný, světlicový
$\alpha$ -linolenová (LN)	Oktadekatrienová	18:3 (9,12,15) $\omega$ 3	Rostlinné oleje – sójový, hořčičný, z vlašských ořechů, lněný
$\gamma$ -linolenová (GLA)	Oktadekatrienová	18:3 (6,9,12) $\omega$ 6	Rostlinné oleje – brutnákový olej, pupalkový olej, olej z černého rybízu Minoritní v živočišných tucích, vaječný žloutek
Dihomo- $\gamma$ -linolenová (DGLA)	Eikosatrienová	20:3 (8,11,14) $\omega$ 6	Malé množství v živočišné tkáni

Tabulka 5. Polyenové mastné kyseliny (upraveno dle Mann et Truswell, 2017 a Murray et al., 2012)-pokračování.

Triviální název	Systematický název	Zkrácený zápis	Výskyt
Arachidová (AA)	Eikosatetraenová	20:4 (5,8,11,14) $\omega$ 6	Malé množství v živočišné tkáni, podzemnicový olej
Adrenová	Dokosatetraenová	22:4 (7,10,13,16) $\omega$ 6	Malé množství v živočišné tkáni
Timnodonová (EPA)	Eikosapentaenová	20:5 (5,8,11,14,17) $\omega$ 3	Ryby, rybí tuk, vaječný žloutek
Klupadonová (DPA)	Dokosapentaenová	22:5 (7,10,13,16, 19) $\omega$ 3	Ryby, rybí tuk, živočišná tkáň (mozek)
Cervonová (DHA)	Dokosahexaenová	22:6 (4,7,10,13,16,19) $\omega$ 3	Ryby, rybí tuk, živočišná tkáň (mozek)

### Omega-3 nenasycenné mastné kyseliny z běžné stravy

Abychom z běžné stravy získali dostatečné množství omega-3 mastných kyselin musíme vybírat především ze zdrojů, ve kterých jich je obsaženo velké množství. Jelikož ale potravin bohatých na omega-3 nenasycenné mastné kyseliny není příliš mnoho, tak se zpravidla musíme uchýlit k jedné z následujících možností:

#### Tučné mořské ryby

Losos, sled' sardinky, makrela nebo tresčí játra jsou vůbec těmi nejlepšími zdroji omega-3 mastných kyselin, které lze snadno zařadit do běžného jídelníčku. Obsahují nejcennější složky rybího oleje (EPA a DHA), a také jsou navíc bohaté na cenný vitamin D, jód a kvalitní plnohodnotné bílkoviny.

Dle doporučení American Heart Association (AHA) by se ryby, zejména tučné, měly konzumovat nejméně dvakrát týdně, jelikož rybí olej lze považovat za jeden z nejbohatších zdrojů omega-3 nenasycenných mastných kyselin, ve srovnání s ostatními potravinami obsahující lipidy (Öksüz et Özyilmaz, 2010).

Pro uvedení konkrétního příkladu jedna běžná porce (150 g) lososa obsahuje průměrně 3700 mg omega-3 mastných kyselin (1293 mg EPA a 1656 mg DHA) a pokryje nám i doporučenou denní dávkou vitaminu D (Małesa-Ciećwierz et Usydus, 2015). Dvě porce tučných mořských ryb týdně jsou tedy ideálním řešením pro pokrytí příjmu omega-3 mastných kyselin.

#### Kvalitní suplementy

V případě, že se rozhodneme získat dostatečné množství omega-3 mastných kyselin z doplňků stravy, měli bychom vybírat ty kvalitnější, u kterých se nejčastěji setkáme s obsahem 300 mg nebo 550 mg EPA+DHA na 1 kapsli. Doplněk stravy s takovýmto obsahem nám tedy už v jedné dávce, většinou ve formě kapsle, poskytne základní doporučenou denní dávku EPA+DHA (250-500 mg) stanovenou předními světovými organizacemi zabývajícími se výživou a zdravím člověka (Fialkow, 2016).



### **Rostlinné zdroje bohaté na omega-3 mastné kyseliny**

Vlašské ořechy, chia semínka, lněná semínka nebo řepkový olej jsou z rostlinných zdrojů nejbohatším zdrojem omega-3 mastných kyselin, ale ani jedna z těchto potravin není zdrojem jejích nejcennějších složek EPA a DHA, jelikož obsahují pouze kyselinu alfa-linolenovou (ALA), ze které se tyto složky musí nejprve syntetizovat.

V této části ale vyvstává na povrch zásadní problém. Efektivita konverze alfa-linolenové kyseliny na cenné mastné kyseliny EPA a DHA je velmi nízká. V praxi se proto může stát, že na tu nejcennější omega-3 mastnou kyselinu (DHA), která je koncovým produktem konverze, se přemění pouze 1 % přijaté kyseliny alfa-linolenové nebo dokonce i méně. Účinnost konverze omega-3 mastných kyselin závisí na faktorech jako jsou věk, životní styl (negativně ji ovlivňuje častá konzumace alkoholu nebo kouření), pohlaví (kdy u mužů je její konverze nižší než u žen) a také ji negativně ovlivňuje přebytek omega-6 mastných kyselin ve stravě, se kterým se v dnešní době setkáváme čím dál častěji (Abedi et Sahari, 2014; Fialkow, 2016).

Typický příjem alfa-linolenové kyseliny ve stravě lidí bohužel není zdaleka dostatečný k vytvoření adekvátního množství EPA a DHA pro potřeby lidského organismu (Richter et al., 2017). Denní příjem DHA (jako koncového produktu konverze) by se měl pohybovat v rozmezí 125–250 mg dokosahexaenové kyseliny. Při výše zmíněné efektivitě konverze 1 % z ALA na DHA by pro zajištění takového množství bylo zapotřebí přijmout kolem 12 500–25 000 mg ALA z rostlinné stravy. Abychom toho dosáhli, museli bychom denně zkonsumovat přibližně 55–110 g lněných semínek, 23–46 g lněného oleje nebo 70–140 g chia semínek.

V praxi to tedy znamená, že pokud se budeme spoléhat výhradně na rostlinné zdroje omega-3 mastných kyselin, musíme vybírat z potravin bohatých na alfa-linolenovou kyselinu, která umožní tvorbu dostatečného množství významných omega-3 mastných kyselin (EPA a DHA) pro lidský organismus (Cholewski et al., 2018). V tabulce 6 jsou uvedeny nejbohatší rostlinné zdroje omega-3 mastných kyselin.

Tabulka 6. Nejbohatší rostlinné zdroje omega-3 mastných kyselin ( upraveno dle Cholewski et al., 2018).

Potravina	Množství alfa-linolenové kyseliny (ALA) na 100 g potraviny
Lněný olej	53 304 mg
Lněná semínka	22 813 mg
Chia semínka	17 552 mg
Vlašské ořechy	9 079 mg
Řepkový olej	9 138 mg

### **3.4 Složení mastných kyselin v ančovičkách**

Ančovičky jsou jedním z nejvýznamnějších druhů lovených ryb na světě, přičemž celkové množství čtyř nejběžnějších druhů ančoviček tvoří přes 10 % celosvětové produkce rybolovu a v Turecku tvoří dokonce až 60 % celkového tamního rybolovu (Boran, 2007).

Období lovu ančoviček začíná přibližně v polovině října a končí na konci dubna, přičemž někdy může zasahovat až do prvních květnových týdnů (ÖKSüz et Özyilmaz, 2010).

Ve studii prováděné Biton-Porsmoguer et al. (2020), bylo zjištěno, že složení mastných kyselin, především pak obsah omega-3 nenasycených mastných kyselin, ančoviček je ovlivněno nejen příjmem potravy, ale i její dostupností, množstvím a kvalitou, zdravotním stavem, reprodukční a vývojovou fází, podmínkami prostředí, ve kterém se vyskytují, a celkovým kontextem globálních změn (Biton-Porsmoguer et al., 2020). Obsahy jednotlivých mastných kyselin v ančovičkách jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7. Obsahy jednotlivých mastných kyselin v ančovičkách (upraveno dle ÖKSüz et Özyilmaz, 2010; Kim et al., 2014; Biton-Porsmoguer et al., 2020).

Mastná kyselina	Ančovička obecná	Ančovička japonská (mláďě)	Ančovička japonská (dospělec)	Ančovička obecná (netřoucí se)	Ančovička obecná (po tření)
C14:0	7,67	8,07	8,53	6,9	6,23
C16:0	18,65	29,48	27,29	28,89	21,39
C17:0	1,1	0,96	0,87	1,37	0,66
C18:0	5,05	6,1	5,74	5,68	2,93
C20:0	1,47	0,62	1,08	0,24	2,14
C22:0	0,4			0,08	0,04
Total SFA	35,58	45,23	43,51	43,5	33,52
C16:1	7,61	9,85	10,95	4,3	3,84
C18:1n9	17,14	9,4	11,5	11,92	9,69
C20:1n9	2,21	2,4	3,48	0,82	1,52
C22:1n9	1,9	3,97	5,64	0,1	0,53
Total MUFA	29,28	26,69	32,54	17,15	15,59
C18:2n6	2,76	1,76	1,09	1,92	2,43
C20:4n6	1,52			2,12	0,97
C18:3n3	1,23	0,64	0,19	1,07	1,37
C20:5n3 (EPA)	10,4	9,72	7,77	9,02	14,13
C22:6n3 (DHA)	15,83	13,27	8,76	25,24	32,02
Total PUFA	35,14	26,45	18,87	39,34	50,9

### 3.5 Antioxidanty

Antioxidanty jsou skupina přírodních sloučenin, které svou činností neutralizují volné radikály a reaktivní formy kyslíku (Abuajah et al., 2015).

Termín „přírodní antioxidanty“ se běžně používá k označení přirozeně se vyskytujících molekul přítomných v ovoci a zelenině, které jsou schopné působit blahodárně na lidské zdraví tím, že poskytují ochranu před poškozením způsobeným volnými radikály, které hrají důležitou roli při rozvoji mnoha chronických onemocnění jako je například onemocnění kardiovaskulárního systému, rychlejší stárnutí organismu, cukrovka, metabolický syndrom, srdeční choroby, anémie, rakovina a různé typy zánětů (Vaibhav et al., 2011). V mnoha studiích již bylo prokázáno, že pravidelná konzumace potravin bohatých na tyto látky je nezbytná pro zajištění dobrého celkového zdraví (Llauradó Maury et al., 2020).

Lidský organismus je schopný produkovat několik antioxidantů, jako jsou například redukovaný glutathion, kataláza a superoxid dismutáza, a v případě, že v organismu není nedostatek vitamínů, je tento antioxidační endogenní systém možná dokonce důležitější než účinek jakýchkoliv jiných antioxidantů, které lze přijímat z potravy. Ansary a kol. 2020 ve své studii dále uvádí, že místo hodnocení účinků někdy až nadměrné konzumace antioxidantů by se vědci měli zaměřit na to, jak jsou tyto bioaktivní sloučeniny schopné stimulovat a zvyšovat přirozené lidské adaptační a ochranné systémy, stejně jako to dělají mírně působící toxické látky. Na jedné straně aktivace těchto systémů přispívá k prevenci a léčbě mnoha chronických onemocnění, na straně druhé může pak její inaktivace představovat slibnou strategii proti rezistenci na mnoho léčiv, které svou aktivní účastí zvyšují účinnost léčby. Výsledky této studie znovu potvrzují nezbytnost konzumace potravin bohatých na bioaktivní sloučeniny, které působí synergicky tak, aby udržovaly dobré zdraví a předcházely nejčastějším nepřenositelným chronickým chorobám, ale současně vyvrací přílišný význam v přijímání jejich nadměrných dávek (Ansary et Cianciosi, 2020).

### 3.5.1 Klasifikace

Antioxidanty lze rozdělit podle jejich původu do dvou základních skupin, a to na antioxidanty syntetické a na antioxidanty přírodní. Kromě tohoto rozdělení mohou být antioxidanty dále klasifikovány jako endogenní nebo exogenní, na základě původu jejich vzniku, nebo také jako enzymatické nebo neenzymatické antioxidanty, podle jejich účinku a nebo na antioxidanty rozpustné ve vodě a rozpustné v tucích, kdy se dělí na základě druhu prostředí potřebného k jejich ideálnímu rozpuštění (Gülçin, 2012; Nimse et Pal, 2015). V tabulce číslo 8 je uvedena klasifikace antioxidantů na základě jejich původu.

Tabulka 8. Klasifikace antioxidantů na základě jejich původu (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019).

Klasifikace antioxidantů na základě jejich původu

Přírodní	Enzymatické	Primární enzymy: superoxid dismutáza (SOD), kataláza (CAT), glutathionperoxidáza (GP) Sekundární enzymy: glutathion reduktáza, glutathion 6-fosfát dehydrogenáza (G6PD)
	Neenzymatické	Proteinové: albumin, ceruloplazmin, laktoferin, transferin Neproteinové: bilirubin, ubichinol, močová kyselina Kofaktory: Koenzym Q10

Tabulka 8. Klasifikace antioxidantů na základě jejich původu (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019)- pokračování.

Klasifikace antioxidantů na základě jejich původu

	Ostatní:
	Vitamíny: Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E
	Minerální látky: selen, zinek, měď, železo
	Karotenoidy: β-karoten, lykopen, lutein, zeaxantin
	Polyfenoly, Flavonoidy
	Flavonoly: kersetin, kaempferol, flavanol, katechin
	Flavony: chrysin
	Flavanony: hesperidin
	Isoflavanoidy: genistein
	Antokyanidiny: kyanidin, pelargonidin
	Fenolové kyseliny: hydroxycinamová kyselina, gallová kyselina, ellagová kyselina
	Endogenní a exogenní
Syntetické	BHA (butylovaný hydroxytoluen), BHT (butylovaný hydroxyanisol), Trolox, TBHQ (terciální-butyhydrochinon)

### Přírodní antioxidanty

Přírodní antioxidanty jsou látky přirozeně se vyskytující v řadě rostlinných potravinářských materiálů, které slouží převážně k prodloužení údržnosti potravin tím, že zabraňují nebo zpomávají probíhající reakce v potravinách, jako je například narušení struktury dané potraviny, kyselost nebo změna barvy. Přírodní antioxidanty jsou obecně odvozeny z rostlinných zdrojů (získávané převážně ve formě rostlinných extraktů) a jejich aktivita se liší v závislosti na rostlinných druzích, rozmanitosti, metodách extrakce nebo metodách zpracování a podmínkách pěstování. Často ale mají pouze omezené použití, jelikož mohou vykazovat vůni po použitých rostlinách nebo zanechávat v potravině hořkou chuť (Velíšek et Hajšlová, 2009; Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019). Nacházejí se především v mikroorganismech, některých zvířecích tkáních a téměř ve všech rostlinách. Přírodní antioxidanty vyskytující se zejména v červeném, oranžovém a fialovém ovoci a zelenině mají velmi vysokou antioxidační aktivitu a bylo již také mnoha studiemi prokázáno, že pomeranče, citrony, borůvky, jahody, švestky, červené fazole, brokolice a mnohé další rostlinné potravinové zdroje obsahují vysoké množství antioxidantů a z tohoto důvodu byly začleněny do mnohých dietních směrů. Mezi nejdůležitější přírodní antioxidační skupiny lze uvést především tokoferoly a tokotrienoly, askorbovou kyselinu, flavonoidy, karotenoidy a fenolové kyseliny (Shebis et al., 2013; Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019). V tabulce číslo 9 je uvedena klasifikace antioxidantů na základě jejich rozpustnosti.

Tabulka 9. Klasifikace antioxidantů na základě jejich rozpustnosti (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019).

Klasifikace antioxidantů na základě jejich rozpustnosti	
Rozpustné ve vodě	Albuminy, transferiny, askorbáty, močová kyselina, cystein, flavonoidy
Rozpustné v tucích	$\alpha$ -tokoferoly, karotenoidy, chinony

### Enzymatické antioxidanty

Lidský obranný antioxidační systém je vybaven enzymatickými vychytávači radikálů, jako je superoxiddismutáza (SOD), kataláza (CAT) a glutathionperoxidáza (GP). Mezi hydrofilní lapače se řadí urát, askorbát, glutathion (GSH) a flavonoidy a mezi lipofilní radikálové lapače se pak řadí tokoferoly, karotenoidy a ubichinol (Carocho et Ferreira, 2013; Ratnam et al., 2006).

### Neenzymatické antioxidanty

Neenzymatické antioxidanty obsahují různé podskupiny, kdy mezi ty hlavní řadíme především vitamíny, enzymové kofaktory, minerální látky, peptidy, fenolové kyseliny a sloučeniny dusíku (Carocho et Ferreira, 2013; Ratnam et al., 2006). Vitamin E a vitamin C patří k nejdůležitějším přírodním antioxidantům.

Vitamin C, obsahující askorbovou kyselinu a její oxidační produkt dehydroaskorbovou kyselinu, má v lidském těle celou řadu nezastupitelných biologicky aktivních funkcí. Více než 85 % celkového příjmu vitamínu C v lidské stravě je poskytováno ze zdrojů jako je ovoce a zelenina. Askorbová kyselina je svou činností schopna odstraňovat superoxidové a hydroxylové radikály a také může regenerovat  $\alpha$ -tokoferol, což je důležité pro biosyntézu kolagenu, karnitinu a neurotransmiterů (Podsedeck, 2007).

Vitamin E je vitamin rozpustný v tucích, který ochraňuje lipidy před peroxidovým poškozením díky vysokému antioxidačnímu potenciálu. Jedná se o chirální sloučeninu obsahující osm stereoisomerů ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tokoferol a  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tokotrienol), přičemž  $\alpha$ -tokoferol vykazuje u lidí největší bioaktivitu (Pham-Huy et al., 2008). Vitamin E je všeobecně považován za jeden z neúčinnějších antioxidantů jelikož jeho antioxidační schopnost je spojena s hydroxylovou skupinou v aromatickém kruhu, která přímo poskytuje vodík k neutralizaci volných radikálů (Peh et al., 2016). Ze všech forem vitamínu E je  $\alpha$  tokoferol hlavním odstraňovačem peroxylových radikálů v biologických lipidových strukturách, jako jsou membrány nebo lipoproteiny s nízkou hustotou (Fuchs-Tarlovsky, 2013).

Karotenoidy (karoteny a xantofyly) jsou žluté, oranžové a červené pigmenty nacházející se v mnoha druzích ovoce a zeleniny které se řadí mezi neenzymatické přírodní antioxidanty (Podsedeck, 2007). Antioxidační účinky karotenoidů jsou založeny na jejich schopnosti potlačit singletový kyslík a také na schopnosti zachytit peroxylové radikály. Například o lykopenu, patřícím mezi karotenoidy, je známo, že má významně protektivní vliv především u výskytu rakoviny prostaty. Hlavním zdrojem lykopenu ve stravě je rajče, přičemž vařená

rajčata, rajčatová šťáva nebo rajčatová omáčka, jsou biologicky mnohem více aktivní a lépe dostupnější z hlediska vstřebání lykopenu než samotná syrová rajčata (Pham-Huy et al., 2008; Podsedeck, 2007).

Fenolové sloučeniny jsou sekundárními rostlinnými metabolity, ale současně jsou velmi důležitou součástí rostlinných živin. Potraviny bohaté na polyfenoly jsou v dnešní době široce studovány především kvůli jejich potenciálním pozitivním účinkům na lidské zdraví. U polyfenolů již byly mnohými studiemi prokázány různé pozitivně působící biologické účinky, jako jsou například antikancerogenní vlastnosti. Mezi fenolové sloučeniny dnes již řadíme velké množství chemických sloučenin a látek. Nejdůležitějšími fenolovými sloučeninami v rostlinách jsou flavonoidy, fenolové kyseliny a stilbeny. Jednotlivé chemické struktury se mohou lišit od velmi jednoduchých molekul až po molekuly velmi složité (Jakobek, 2015). Fenolové kyseliny tvoří přibližně jednu třetinu veškerých dietních fenolů nacházejících se v lidské stravě, přičemž v rostlinách se nacházejí jak ve volné, tak i ve vázané formě a jsou známé jako silné antioxidanty. Fenolové kyseliny svou činností odstraňují téměř všechny molekuly oxidantů, jako jsou volné radikály, svými hydroxylovými skupinami (Ignat et al., 2011; Sevgi et al., 2015).

Flavonoidy jsou velkou skupinou polyfenolových látek s nízkou molekulovou hmotností skládající se z derivátů benzo-c-pyrrolu, které hrají velmi důležitou roli v mnoha různých biologických procesech (Leopoldini et al., 2011). Interagují s řadou buněčných receptorů v rozhodujících buněčných signálních drahách v těle a vykazují celou řadu vlastností užitečných pro lidské zdraví. Flavonoidy patří do široké skupiny sekundárních metabolitů, které zahrnují více než 10 000 sloučenin a látek a řadí se mezi velmi důležité antioxidanty, především kvůli jejich vysokému redoxnímu potenciálu, který jim umožňuje vykonávat funkci redukčního činidla, donoru vodíku a také funkci singletové kyslíkového neutralizátora (Agati et al., 2012; Singh et al., 2014). Flavonoidy jsou obecně nejběžnějšími a nejrozšířenějšími fytochemikáliemi, které pomáhají chránit rostlinu před UV zářením, houbovými parazity, býložravci, patogeny a oxidačním poškozením buněk, což souvisí i s prokázaným poklesem výskytu nemocí, jako je například rakovina a srdeční choroby, u populací lidí s pravidelnou konzumací potravin obsahujících flavonoidy (Ignat et al., 2011). V tabulce číslo 10 je uvedeno využití přírodních antioxidačních sloučenin v potravinách a jejich účinky na zdraví.

Tabulka 10. Využití přírodních antioxidačních sloučenin v potravinách a jejich účinky na zdraví (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019).

Sločeniny	Použití v potravinách	Účinky na zdraví
β-karoten	Karotenoidy – dodávají různým druhům ovoce a zeleniny výraznou oranžovou, žlutou nebo červenou barvu.	Silná antioxidační kapacita, která poskytuje řadu zdravotních benefitů jako je snížení rizika srdečních onemocnění a určitých typů rakoviny, posílení imunitního systému a ochrana před makulární degenerací, která je hlavní příčinou nevratné slepoty u dospělých.

Tabulka 10. Využití přírodních antioxidačních sloučenin v potravinách a jejich účinky na zdraví (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019)- pokračování.

Sloučeniny	Použití v potravinách	Účinky na zdraví
Fenolové sloučeniny	Biologická aktivita zeleného čaje podporuje ochranný účinek antioxidačními mechanismy v biologických a potravinových systémech a předchází a zabraňuje oxidačnímu poškození způsobené prekuzory nebo reaktivními částicemi	Bioaktivita vyvíjená těmito sloučeninami byla spojena se sníženým rizikem výskytu závažných onemocnění, jako je rakovina, kardiovaskulární a neurodegenerativní onemocnění.
Fenolové sloučeniny	Mořské řasy ve formě prášku, extraktu, potravin nebo potravinových doplňků mohou vylepšit texturní vlastnosti	Potraviny obohacené o mořské řasy a výtažky z nich mají pozitivní účinky na mnohá onemocnění týkající se špatného životního stylu, jako je obezita, dyslipidemie, hypertenze nebo cukrovka.
Fenolové sloučeniny, flavonoidy, karotenoidy, pektiny	Pektiny extrahované z citrusových slupek jsou používány v široké škále potravinářských průmyslových procesů jako gelující činidlo, zahušřovadlo, texturizátor, emulgátor a stabilizátor v mléčných výrobcích. Citrusové extrakty jsou používány při vývoji funkčních potravin	Tyto složky pomáhají předcházet onemocněním jako je rakovina, kardiovaskulární a koronární onemocnění srdce, oxidačnímu poškození, gastrointestinálním onemocněním a cukrovce.
Antokyany	Antokyany hrají důležitou roli v kvalitě barvy čerstvého i zpracovaného ovoce, zeleniny a dalších rostlinných produktů.	Existují možné přínosy antioxidantů ve stravě pro lidské zdraví, které svou přítomností a aktivitou pomáhají předcházet neuronovým onemocněním, kardiovaskulárním chorobám, rakovině, cukrovce, zánětu a mnoha dalším onemocněním.
Fenolové sloučeniny z odpadu z olivových mlýnů	Zlepšují výživovou a senzoryckou kvalitu potravinářských výrobků. Aplikují se na matrici potravin a zlepšují její konzervační a antioxidační vlastnosti. Fenolové sloučeniny získané z vedlejších produktů při výrobě olivového oleje prokázaly velký potenciál ve vývoji antioxidační kapacity a senzorycké kvality u potravin vyrobených z tučného mléka.	Hydroxytazon hraje důležitou roli při transportu cholesterolu a prevenci kardiovaskulárních onemocnění. Vykazuje inhibici peroxidace lipidů na molekulách LDL cholesterolu a má potenciál předcházet Alzheimerově chorobě. Oleuropein inhibuje buněčnou proliferaci a indukuje apoptózu u buněk rakoviny prsu. Antiproliferativní účinky jsou také vykazovány u buněk hepatocelulárního karcinomu, nádorových buněk rakoviny prsu a buněk karcinomu tlustého střeva.

## Syntetické antioxidanty

Antioxidanty přírodního i syntetického původu zaujímají v potravinářském průmyslu velmi důležitou roli. Nežádoucí vlastnosti potravin (nepříjemná chuť, vůně, barva, konzistence, struktura a další nepříznivé vlastnosti), způsobené řetězovou autooxidační reakcí způsobují, a dále ještě více snižují, požadovanou kvalitu potravin. Z tohoto důvodu se běžně v potravinářském průmyslu, již po dobu více jak 60 let, začaly široce využívat antioxidační látky jako přísady do potravin, aby se zcela zastavila nebo alespoň minimalizovala rychlost oxidace lipidů v potravinářských výrobcích (Shahidi et Zhong, 2010).

Mezi tyto nejčastěji využívané přídatné látky řadíme přírodní antioxidanty, jako je například askorbová kyselina a tokoferoly, ale také syntetické antioxidanty, jako je propylgalát (PG), terciární butylhydrochinon (TBHQ), butylovaný hydroxyanisol (BHA) a butylovaný hydroxytoluen (BHT) (Saeb et al., 2011; Vaibhav et al., 2011).

V několika *in vivo* studiích, které byly provedeny v 80. a 90. letech, byla uvedena a popsána některá zdravotní rizika spojená s konzumací syntetických antioxidantů, jako je například rakovina žaludku, kožní problémy, různé alergické reakce a další. Mut-Salud a kol. 2016 ve své studii zhodnotil výsledky studie provedené v roce 1993, která ukázala, že toxické účinky vyvolané BHA a BHT se vyskytují pouze při dlouhodobém příjmu vysokých dávek těchto látek, přičemž současně v jiné studii bylo prokázáno, že normální příjem BHA a BHT v nízkých dávkách nebyl spojený s rakovinou žaludku a dalšími, výše zmíněnými zdravotními problémy. V posledních letech Evropský úřad pro bezpečnost potravin opakovaně a důkladně několikrát prostudoval všechny vzájemně si odporující publikované studie a po prozkoumání nasbíraných údajů zjistil, že přijatelné denní dávky 0,25 mg / kg / den pro BHA a 1,0 mg / kg / den pro BHT jsou bezpečné jak pro dospělé, tak i pro děti (Carocho et Ferreira, 2013; Mut-Salud et al., 2016).

I v dnešních dnech je téma bezpečnosti syntetických antioxidantů na lidské zdraví stále plné rozporů a protichůdných názorů, a proto se EFSA snaží všechny přídatné látky postupně znovu přehodnotit. Z těchto důvodů, zejména pak ve vyspělých zemích, jelikož jsou i po ekonomické stránce více vyspělé, získávají stále větší pozornost a roste významně i zájem o aktivní použití a spotřebu přírodních antioxidantů a to nejen kvůli jejich větší antioxidační aktivitě, ale i z důvodu jejich účinků na delší udržitelnost a uchování potraviny v co nejlepším stavu po co nejdelší dobu (Díaz-García et al., 2013; Muanda et al., 2011).

## 4 Indexy výživové kvality

Mezi indexy výživové kvality řadíme aterogenní index (AI), trombogenní index (TI) a hypocholesterolemický/ hypercholesterolemický index (HH). Díky těmto indexům lze vyjádřit míru závažnosti různých účinků, které by jednotlivé mastné kyseliny přijímané stravou mohly mít na lidské zdraví (Giuffrida et al., 2011).



## Index atherogenicity (AI)

Index atherogenicity udává vztah mezi součtem hlavních nasycených mastných kyselin a součtem hlavních tříd nenasycených mastných kyselin, přičemž první z nich je považována za proaterogenní a druhá antiaterogenní. Dle studie provedené Chenem a Liuem (2020) lze předpokládat, že konzumace potravin nebo výrobků s nižším IA může snížit hladinu celkového cholesterolu a LDL-CH v lidské krevní plazmě. Dobiášová a Frohlich (2006) jako první ve své studii prokázali, že index atherogenicity vzájemně koreluje s velikostí LDL-C částic a navrhli, že hodnoty AI 0,3-0,1 mohou být spojeny s nízkým, 0,1-0,24 se středním a nad 0,24 s vysokým rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Pro výpočet indexu atherogenicity byla použita Rovnice 1.

Rovnice 1. Výpočet indexu atherogenicity (IA).

$$IA = [C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0]/UFA$$

## Index trombogenicity (IT)

Index trombogenicity udává míru tendence ke vzniku sraženin v cévách krevního řečiště. Tento děj je definován jako vztah mezi protrombogenetickými a antitrombogenetickými mastnými kyselinami (Blažková, 2019; Giuffrida et al., 2011). Stejně tak jako IA lze tedy i IT použít k posouzení potenciálních účinků složení jednotlivých mastných kyselin na lidské zdraví, především pak na kardiovaskulární systém.

Dle studie provedené Chenem a Liuem (2020) složení stravy s obsahem mastných kyselin s nižším IA a IT může mít lepší nutriční kvalitu a její konzumace může například výrazně snížit riziko ischemické choroby srdeční. Dále však ve své studii upozorňují, že žádná organizace dosud neposkytla přesné doporučené hodnoty pro IA a IT (Chen et Liu, 2020). Pro výpočet indexu trombogenicity byla použita Rovnice 2.

Rovnice 2. Výpočet indexu trombogenicity (IT).

$$IT = (C14:0 + C16:0 + C18:0)/[(0.5 * \sum MUFA) + (0.5 * \sum n-6 PUFA) + (3 * \sum n-3 PUFA) + (n-3 / n-6)]$$

## Hypocholesterolemický/ hypercholesterolemický index (HH)

Dle studie provedené Chenem a Liuem (2020) může hypocholesterolemický/ hypercholesterolemický index přesněji odrážet účinek složení jednotlivých mastných kyselin na kardiovaskulární zdraví člověka, přičemž ale i on má svá určitá omezení. Podobně jako IA a IT může i HH zahrnovat více druhů mastných kyselin, přičemž různým druhům mastných kyselin přiřazuje jinou důležitost v rámci samotného výpočtu i následného hodnocení. Na základě výzkumu jednotlivých mastných kyselin ve stravě a regulace plazmového LDL-C cholesterolu charakterizuje HH vztah mezi hypocholesterolemickými mastnými kyselinami (cis-C18:1 a PUFA) a hypercholesterolemickými mastnými kyselinami (Chen et Liu, 2020).

Pro výpočet hypocholesterolemického/hypercholesterolemického indexu byla použita Rovnice 3.

Rovnice 3. Výpočet hypocholesterolemického/hypercholesterolemického indexu (HH).

$$HH = (\text{cis- C18:1} + \sum \text{PUFA}) / (\text{C12:0} + \text{C14:0} + \text{C16:0})$$

## 5 Metodika

Rybí olej z ančoviček, v mikroenkapsulované formě ve vzorcích Driphorm® HiDHA® 360 od společnosti McePharma s.r.o., byl ze vzorku extrahován pomocí metody extrakce tuku dle Soxhleta, poté byl takto upravený vzorek odpařen pomocí rotační vakuové odparky a následně byl rybí olej esterifikován, aby mohl být stanoven jeho obsah mastných kyselin pomocí plynové chromatografie (GC).

Pro měření indukční periody oxidace mastných kyselin byla použita metoda Schaalova testu, při kterém bylo použito 8 vzorků omega 3 mastných kyselin v práškové formě a jako tuk bylo zvoleno čisté 100% selské škvařené vepřové sádlo bez aditiv. Průběžně byla sledována změna hmotnosti připravených vzorků a na základě získaných údajů stanovena indukční perioda oxidace mastných kyselin.

Z laboratorní aparatury a náčiní byly pro extrakci tuku dle Soxhleta použity dvě varné baňky o objemu 250 ml, kulatá baňka o objemu 1000ml pro odpařené rozpouštědlo z vakuové rotační odparky, kádinky různých objemů pro nalévání a přelévání roztoků, chemických látek a činidel, dvě extrakční patrony, pinzeta, odměrný válec, automatická pipeta, injekční stříkačka, varný kamínek, vata na upevnění vzorku v extrakční patroně a dvě vialky pro uchování získaných vyextrahovaných vzorků rybího oleje.

Pro Schaalův test bylo z laboratorního náčiní a aparatury použito 27 kádinek o objemu 100 ml, plastová lžička a kovová špachtle.

Z laboratorního přístrojového vybavení byly pro extrakci tuku dle Soxhleta použity analytické váhy, exikátor, dva vařiče, dva chladiče, dvě varná hnízda, dva Soxhletůvy extraktory, rotační vakuová odparka a mrazák pro uchování získaných vzorků ve vialkách před následnou analýzou pomocí GC.

Pro Schaalův test byly z laboratorního přístrojového vybavení použity analytické váhy a laboratorní pec.

Z chemických látek a činidel bylo pro extrakci tuku dle Soxhleta použito 75 ml petroletheru od firmy Lach-ner s.r.o., 5 ml methanolu od firmy Lach-ner s.r.o., 5 ml n-hexanu od firmy VWR Chemicals, 1 ml 0,5M roztoku KOH od firmy VWR Chemicals.

Pro Schaalův test bylo použito 8 vzorků omega 3 mastných kyselin, každý o hmotnosti 10 g, v práškové formě zaslané společností McePharma, s.r.o. a tři 250 g balení 100% selského škvařeného vepřového sádla Pikok od společnosti Schwarz-Gruppe zakoupeného v řetězci Lidl.

### 5.1 Metodika extrakce tuku dle Soxhleta

#### 5.1.1 Driphorm® HiDHA® 360

Na experimentální část této diplomové práce byl použit výrobek Driphorm® HiDHA® 360 od společnosti McePharma s.r.o. Jedná se o jemný světle béžový snadno rozpustný sytký prášek, který byl usušený rozprašováním, obsahující 60 % koncentrované omega-3 DHA mastné kyseliny původem z vysoce rafinovaného rybího oleje ve stabilní a chráněné mikroenkapsulované formě. Driphorm® HiDHA® 360 vykazuje přívětivý sensorický profil, přičemž všechny materiály použité pro matici a použité antioxidanty splňují podmínky

použití jako potravina. Vzorky Driphorm® HiDHA® 360 byly vyrobeny na Novém Zélandu z lokálních a dovezených surovin a zabaleny do vícestěnných papírových polymerních sáčků, uzavřených pod inertním plynem.

Každý vzorek byl složený z koncentrovaného omega-3 DHA rybího oleje (obsahujícího též směs přírodních tokoferolů a askorbyl palmitát), kaseinátu sodného, monohydrátu dextrózy, sušeného glukózového sirupu a askorbátu sodného (E301). Dle výrobce byl uveden obsah celkových lipidů  $60 \pm 3$  %, obsah aktivní látky počítán jako obsah triglyceridů, kde byl započítán také glycerol z TAG, byl pro DHA  $360 \pm 50$  mg/g a pro EPA  $65 \pm 40$  mg/g a obsah aktivní látky mastných kyselin, kde již nebyl započítán glycerol, ale pouze mastné kyseliny EPA a DHA, byl pro DHA  $335 \pm 50$  a pro EPA  $60 \pm 40$  mg/g.

### 5.1.2 Příprava vzorku

Z vícestěnného papírového polymerního sáčku vzorku Driphorm® HiDHA® 360 byl odstřižen nůžkami jeden jeho konec a na analytických vahách bylo do extrakční patrony s označením "A" naváženo přesně 9,6156 g vzorku a do extrakční patrony s označením "B" naváženo přesně 9,6283 g vzorku. Na každý ze vzorků byla do extrakční patrony dána vata, která byla předem extrahována petroletherem. Cílem měření je následujícími analytickými metodami vyextrahovat a získat ze vzorků alespoň 0,5 g rybího oleje.

### 5.1.3 Analýza vzorku

Extrakce vzorku tuku dle Soxhleta – teplá extrakce

Princip extrakce vzorku tuku dle Soxhleta

Soxhletův extraktor je skleněná laboratorní aparatura umožňující extrakci pevných látek do kapaliny, v našem případě lipidů, z pevného materiálu, které jsou při použití vhodného rozpouštědla jen omezeně rozpustné nebo zcela nerozpustné. Díky této vlastnosti je možné provést extrakci velkého množství látek najednou. Značnou výhodou této metody pak je využití jen minimálního množství objemu rozpouštědla, které je během celého procesu extrakce neustále recyklováno skrz nástavec Soxhletova extraktoru (Klouda, 2016).

Postup

Na analytických vahách byly zváženy dvě varné baňky i s varným kamínkem, každá o objemu 250 ml, a označeny písmeny "A" a "B" pro následující správné přiřazení při extrakci v aparatuře s náležejícími vzorky v extrakčních patronách "A" a "B" z přípravy vzorku, přičemž varná baňka s označením "A" měla hmotnost 102,575 g a varná baňka s označením "B" měla hmotnost 102,127 g.

Do každé baňky bylo nalito 75 ml petroletheru a takto připravená baňka byla dána do varného hnízda, kde na ni byl nasazen Soxhletův nástavec, do kterého byla umístěna extrakční patrona se stejně označeným vzorkem. Dále byl na nástavec nasazen chladič, do kterého následně byla puštěna voda a v zápětí byl pod každou z varných baněk zapnut vařič.

V průběhu varu bylo u obou měření kontrolováno, zda zchlazené rozpouštědlo kape na vzorek a zda je v baňce vždy nějaký zbytek rozpouštědla. Var byl započat v 9:05 h ráno a ukončen po 5 hodinách a 40 minutách v 14:45 h odpoledne.

Po skončení extrakce, kdy již bylo promývajícím se rozpouštědlo čiré barvy, byly oba vařiče vypnuty. Poté, co se každý vzorek přestal vařit, byl chladič sundán a z nástavce byla následně pinzetou vyndána extrakční patrona. Veškeré zbylé rozpouštědlo z každého nástavce bylo nalito do příslušné varné baňky k již vyextrahovanému rybímu tuku a takto připravené varné baňky se vzorkem byly dále přeneseny na rotační vakuovou odparku.

#### Rotační vakuová odparka – odpaření vzorku

Varné baňky "A" i "B" s vyextrahovanými vzorky z extrakce tuku dle Soxhleta byly přeneseny k vakuové rotační odparce, kde byl nejdříve odpařován vzorek "A" a následně stejným způsobem i vzorek "B".

Vakuová odparka i kompresor byly zapojeny do zásuvky a v lázni byla doplněna voda (demivodou) až po rysku, poté do chladiče byla puštěna voda a následně byla zapnuta odparka.

První varná baňka, baňka "A", byla nasazena na odparku, zajištěna pevně pojistkou a následně ponořena do vody pomocí černého tlačítka na spodní části lázně odparky. Dále bylo na odparce zapnuto vyhřívání lázně (signalizované rozsvícením žlutého světla kolem spínače) a zapnuto točení varné baňky pomocí tlačítka na spodní části odparky, načež se baňka začala pravidelně otáčet. V dalším kroku byl spuštěný kompresor vypínačem on/off a pomalu utahován kohout za chladičem až do vytvoření podtlaku, při kterém se zároveň musí vzorek ve varné baňce mírně vařit. Průběžně odpařované rozpouštědlo soustavně stékalo do kulaté baňky o objemu 1000 ml.

Po odpaření vzorku bylo vypnuto otáčení varné baňky a kompresor a pomalu otáčeno krouhnutím za chladičem, dokud nebyl zrušený dříve vytvořený podtlak. Dále byla u varné baňky uvolněna pojistka a baňka byla sundána z odparky. Stejný postup byl následně zopakován pro varnou baňku se vzorkem "B".

Po dokončení obou odpařování vzorků byl vypnut ohřev lázně, vypnuta odparka pomocí spínače on/off, zavřena voda tekoucí do chladiče a kompresor i odparka byly vypojeny ze zásuvky. Nakonec byla odpařená rozpouštědla slita do odpadní láhve.

Po vychladnutí byly v exikátoru obě varné baňky opět zvaženy, přičemž varná baňka se vzorkem "A" měla po odpaření hmotnost 103,1484 g a varná baňka se vzorkem "B" měla po odpaření hmotnost 102,6629 g. Těmito analytickými metodami jsme ze vzorku s označením "A" získali 0,5734 g rybího oleje a ze vzorku s označením "B" jsme získali 0,5359 g rybího oleje, přičemž cíl byl vyextrahovat alespoň 0,5 g rybího oleje, čehož jsme těmito metodami dosáhli.

#### Esterifikace tuku pro stanovení MK pomocí GC

Do varné baňky "A" (dále jen do varné baňky), která obsahovala 0,5734 g čistého vzorku rybího oleje díky odpaření na vakuové rotační odparce, byl přidán varný kamínek a dále bylo pipetou přidáno 5 ml methanolu, 1 ml 05M KOH a 1,5 ml BF<sub>3</sub>. Takto připravená varná baňka byla vložena do topného hnízda, byl na ni nasazen chladič, do kterého byla následně vpuštěna voda, a započal var, který trval 2 hodiny. Po uplynutí daného času byl var ukončen a varná baňka se nechala v klidu stát, dokud nevychladla na teplotu stejnou s okolním laboratorním prostředím. Po vychladnutí varné baňky bylo pipetou přes vršek chladiče

přidáno 5 ml n-hexanu a po jeho odkapání byl chladič sundán, zavřen přívod vody a varná baňka vyndána z topného hnízda. Následně byl přibližně do poloviny objemu varné baňky přidán nasycený roztok NaCl a krouživým pohybem byl celý obsah promíchán. Po krátkém promíchání byl objem dolit nasyceným roztokem NaCl až do hrdla varné baňky a bylo počkáno, dokud se vrstva s naším měřeným vzorkem neoddělila na horní části.

Po oddělení a ustálení horní vrstvy našeho vzorku od nasyceného roztoku NaCl byla horní vrstva, bez nabrání či zasažení spodní vodné fáze, převedena pomocí pipety do připravené vialky, předem označené náležitým písmenem "A", s bezvodným síranem sodným. Takto připravený vzorek rybiho oleje "A" byl uskladněn v mrazáku pro následnou analýzu pomocí GC.

Stejný postup byl proveden i u vzorku "B", který byl převeden do vialky označené písmenem "B" a následně uskladněn v mrazáku vedle vzorku "A". Oba vzorky pak byly vyndány z mrazáku a použity k analýze obsahu MK pomocí GC.

#### Extrakce vzorku tuku – studená extrakce

Přibližně z 10 g vzorku byl extrahován tuk v Erlenmeyerově baňce pomocí 50 ml petroletheru. Baňka byla po promíchání vzorku s rozpouštědlem umístěna 10 minut na ultrazvukovou třepačku a ponechána dalších 10 minut v klidu. Po extrakci byl vzorek za přídavku 1,25 g bezvodého síranu sodného přefiltrován a odpařen na rotační vakuové odparce Laborota 4000. Cílem extrakce bylo šetrné získání dostatečného množství tuku pro následné stanovení oxidační stability tuku, nikoliv však kvantitativní extrakce veškerého tuku ze vzorku. Extrahovaný tuk byl následně použit ke stanovení indukční periody oxidace tuku. Výsledné množství tuku bylo dáno množstvím tuku vyextrahovaného a dále bylo přidáno 10 ml chloroformu a 10 ml kyseliny octové. V dalším kroku pak následovalo titrační stanovení za pomoci poloautomatické byrety firmy Titrette® (Německo) (Škvorová, 2020).

## 5.2 Metodika Schaalova testu

Pro měření indukční periody oxidace mastných kyselin metodou Schaalova testu bylo použito 8 vzorků (označených číslem 1-8) omega 3 mastných kyselin zaslaných společností McePhrama, s.r.o. v plastových nádobách, přičemž každý vzorek obsahoval 10 g práškové formy omega 3 mastných kyselin světle béžové barvy spolu s vloženým absorbérem kyslíku, který podporoval stabilitu omega-3 mastných kyselin. Rozpis složení jednotlivých vzorků je uveden v tabulce 11.

Jako tuk byla použita tři 250g balení 100% selského škvařeného vepřového sádla Pikok bez aditiv od společnosti Schwarz-Gruppe, zakoupená v řetězci Lidl.

Průběžně byla každý 3. den sledována změna hmotnosti připravených vzorků a na základě získaných údajů stanovena indukční perioda oxidace omega-3 mastných kyselin.

Tabulka 11. Rozpis složení vzorků od společnosti McePharma s.r.o.

vzorky	složení						
	forma - popis	omega 3	antioxidanty	plniva	ochucovadla	stabilizátory	další
1	ODT tablety – aktuální verze	Diphorm 360	marigold extrakt (10% lutein)	ludiflash, mikrokrytalická cellulosa	aroma citron, máta, tastegem, stevie	beta- cyklodextrin, carnitin tartrate, magnezium stearat	
2	Stick - základní verze	Diphorm 360		vláknina (čekanka)	aroma mango, pomeranč, tastegem, stevie	slunečnicový lecithin, beta- cyklodextrin, magnezium stearat	
3	Stick – komplet verze dle výroby	Diphorm 360	kyselina askorbová, marigold extrakt (10% lutein)	vláknina (čekanka)	aroma mango, pomeranč, tastegem, stevie	slunečnicový lecithin, beta- cyklodextrin, magnezium stearat	vitamin D3
4	Stick - základní verze + vit D	Diphorm 360		vláknina (čekanka)	aroma mango, pomeranč, tastegem, stevie	slunečnicový lecithin, beta- cyklodextrin, magnezium stearat	vitamin D3
5	Stick - základní verze + vit D + rozmarýnový extrakt	Diphorm 360	extrakt rozmarýnu	vláknina (čekanka)	aroma mango, pomeranč, tastegem, stevie	slunečnicový lecithin, beta- cyklodextrin, magnezium stearat	vitamin D3
6	Stick - základní verze + vit D + marigold extrakt	Diphorm 360	marigold extrakt (10% lutein)	vláknina (čekanka)	aroma mango, pomeranč, tastegem, stevie	slunečnicový lecithin, beta- cyklodextrin, magnezium stearat	vitamin D3
7	Stick - základní verze + vit D + karnitin	Diphorm 360		vláknina (čekanka)	aroma mango, pomeranč, tastegem, stevie	slunečnicový lecithin, beta- cyklodextrin, magnezium stearat, karnitin tartrate	vitamin D3
8	Stick - pouze omega a plnivo	Diphorm 360		vláknina (čekanka)			
9	Placebo						

### 5.2.1 Princip Schaalova testu

Schaalův test je nejběžnější metoda využívaná pro stanovení oxidační kapacity tuků, která se stanovuje z důvodu odhadu doby skladovatelnosti tuků a olejů nebo posouzení účinnosti antioxidantů. Samotná oxidační stabilita tuku závisí na mnoha faktorech, přičemž nejvýznamější roli představuje přítomnost nenasycených, především polyenových, mastných kyselin a obsah antioxidačních látek ale i chemické a fyzikální podmínky, jako jsou například

přístup kyslíku, teplota, osvětlení nebo případná přítomnost a koncentrace kovů jako je Cu nebo Fe.

Během Schaalova testu se 20-25 g tuku nebo oleje zahřívá za přístupu vzduchu na teplotu 60 °C v kádince o objemu 100-150 ml umístěných v sušárně. Průběžně v čase se ze začátku po 24h a později po několika dnech stanovuje hodnota peroxidového čísla nebo se sleduje změna hmotnosti a z křivky získaných naměřených výsledků se odečte indukční perioda, která představuje dobu potřebnou pro nastartování rychlé tvorby peroxidů (Joyner et McIntyre, 1938; Przybylski et al., 2013).

### 5.2.2 Příprava vzorků

Na přípravu vzorků bylo použito 27 kádinek o objemu 100 ml, kdy pro každý jeden vzorek byly určeny tři kádinky a tři kádinky byly použity bez navážky vzorku omega-3 mastných kyselin jako kontrola. Dvacet čtyři kádinek bylo označeno příslušným číslem vzorku podle vzoru: pro vzorek 1 náleží kádinky s označením 1 a, 1 b a 1 c a tři kádinky byly označeny jako kontrola se značením 9 a, 9 b a 9 c. Každá z kádinek byla následně zvážena na analytických vahách samostatně bez navážky a jednotlivé váhy byly zaznamenány do archu připraveného k analýze Schaalova testu.

Takto připravené kádinky byly následně použity k analýze Schaalova testu.

#### Postup

Z každé plastové nádoby se vzorkem práškové formy omega 3 mastných kyselin s označením 1-8 bylo odebráno do třech kádinek po 1 g vzorku, přičemž každá navážka byla zvlášť zvážena a zaznamenána do archu připraveného k analýze Schaalova testu a následně na každý 1 g navážky vzorku bylo na analytických vahách naneseno 20 g selského vepřového sádla. Pro lepší rozptýlení sledovaných látek byly všechny kádinky obsahující vzorek omega 3 mastných kyselin umístěny na 1-2 minuty do ultrazvukové lázně a následně krouživými pohyby promíchány.

Do třech kádinek s označením 9 a, 9 b a 9 c, sloužících jako kontrola, bylo na analytických vahách naváženo 20 g selského vepřového sádla, již bez vzorku omega-3 mastných kyselin, a vše bylo znovu zaznamenáno do archu připraveného k analýze Schaalova testu. Takto připravené vzorky byly následně umístěny do laboratorní pece, kde byly za přístupu vzduchu zahřívány na teplotu 60 °C.

Všechny kádinky byly každý 3. den vyndány a po vychladnutí zváženy na analytických vahách. Nové hmotnosti byly zaznamenány do archu připraveného k analýze Schaalova testu a kádinky se vzorky byly opět vloženy zpět do laboratorní pece, kde byly ponechány další tři dny. Tento postup byl opakován po dobu 31 dní až do chvíle, kdy došlo k prudkému zvýšení přírůstku hmotnosti v důsledku oxidace vzorku, načež byl Schaalův test ukončen. Prudké zvýšení přírůstu hmotnosti svědčilo o rozsáhle probíhající fázi propagace radikálové řetězové oxidace tuku.

Ze získaných sledovaných změn hmotností a následně z vytvořené křivky naměřených výsledků byla odečtena indukční perioda, která představovala dobu potřebnou pro nastartování rozsáhlé tvorby hydroperoxidů. Vytvořený graf představoval závislost relativní



změny hmotnosti (RI) na čase (t) ve dnech, přičemž relativní změna hmotnosti byla vypočtena dle vzorce  $RI = \frac{\text{hmotnost sádla } t - \text{hmotnost sádla v den } 0}{\text{hmotnost sádla v den } 0}$ .

## **5.3 Metodika zpracování výsledků**

### **5.3.1 Stanovení obsahu mastných kyselin**

Vzorky omega-3 mastných kyselin získané extrakcí tuku dle Soxhleta a následnou esterifikací tuku byly vyndány z uložení v laboratorním mrazáku a byl u nich stanoven obsah mastných kyselin pomocí GC/MS dle Kulma et al. (2019). Jednotlivé mastné kyseliny byly identifikovány na základě MSReportu z hmotnostních spekter detektoru a pomocí retenčních časů standardu FAME mixu 37 methyl etherů mastných kyselin separovaných za stejných podmínek na Rt-2560 koloně. Vyhodnocení obsahu v relativních procentech ploch proběhlo metodou vnitřní normalizace.

#### Princip plynové chromatografie (GC)

Vzorek látky je během stanovení pomocí GC dávkován do proudu nosného plynu, který ho plynule unáší po celé délce kolony. Aby mohl být vzorek stanovované látky kolonou transportován, musí být nejdříve ihned na počátku vstupu do kolony přeměněn na plyn. V koloně se pak jednotlivé složky vzorku rozdílně separují na základě různé schopnosti jednotlivých složek poutat se na stacionární fázi a takto oddělené složky následně opouštějí v různých retenčních časech kolonu a postupují do detektoru, který je indukuje. Signál vyslaný z detektoru je následně vyhodnocován a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek (Klouda, 2016; Kulma et al., 2019).

### **5.3.2 Stanovení oxidační stability tuků**

Ze získaných naměřených změn hmotností ze Schaalova testu zaznamenaných v archu vytvořeném pro Schaalův test byla v programu Microsoft Office Excel 2007 vytvořena tabulka dat, ze které byla následně graficky vytvořena křivka naměřených hodnot. Z grafu křivky naměřených hodnot byla odečtena indukční perioda a následně vypočten protekční faktor jako poměr indukční periody vzorku s přidavkem testované látky ku indukční periodě kontrolního vzorku bez přidavku.

Dále byla pomocí programu Statistica (StatSoft Inc verze 12) u všech vzorků provedena jedno-faktorová analýza ANOVA s následným Scheffeho testem, ve které byl vzájemně zhodnocen celkový vliv přidavku jednoho či více antioxidantů na oxidační stabilitu vzorku a zároveň bylo posouzeno, zda byl mezi průměrnými hodnotami jednotlivých vzorků zjištěn statisticky významný rozdíl na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

## 6 Výsledky

### 6.1 Výsledky stanovení obsahu mastných kyselin

Výsledky stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí studené extrakce jsou uvedeny v tabulce číslo 12. Z tabulky je patrné, že nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou byla linolenová kyselina, která dosahovala hodnoty 30,28 %. Druhou nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou byla dokosahexaenová kyselina, která dosahovala hodnoty 19,68 % a třetí nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou pak byla palmitová kyselina dosahující hodnoty 17,78 %. Dokosahexaenová kyselina (DHA) byla zastoupena 19,68 % a eikosapentaenová kyselina (EPA) 3,94 %.

Tabulka 12. Stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí studené extrakce.

RT (min)	Area (Ab*s)	% MK	C	Methyl ester (anglický název dle FAME)
24,76	1328448	0,03	C12:0	methyl laurate
27,927	11454000	0,22	C14:0	methyl myristate
29,403	2669586	0,05	C15:0	methyl pentadecanoate
29,873	903577	0,02	C14:1	methyl myristoleate ( <i>cis- 9</i> )
30,858	911741872	17,78	C16:0	methyl palmitate
31,691	5747467	0,11	C16:1	methyl palmitoleate ( <i>cis- 9</i> )
32,165	9142148	0,18	C17:0	methyl heptadecanoate
32,934	3194971	0,06	C17:1	methyl heptadecenoate ( <i>cis- 10</i> )
33,518	484424739	9,45	C18:0	methyl stearate
33,983	4803518	0,09	C18:1	methyl elaidate ( <i>trans 9</i> )
34,207	506131504	9,87	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 9</i> )
34,296	28598246	0,56	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 11</i> )
35,087	4502964	0,09	C18:2	methyl linoleaidate ( <i>trans- 9,12</i> )
35,399	1552933687	30,28	C18:2	methyl linoleate ( <i>cis- 9,12</i> )
36,051	20466674	0,40	C20:0	methyl arachidate
36,77	27854855	0,54	C20:1	methyl eicosenoate ( <i>cis- 11</i> )
37,429	6772354	0,13	C21:0	methyl heneicosanoate
38,017	6709211	0,13	C 20:2	methyl eicosadienoate ( <i>cis- 11,14</i> )
38,909	45251389	0,88	C 22:0	methyl behenate
39,607	52717354	1,03	C22:1	methyl erucate ( <i>cis- 13</i> )
39,886	16500035	0,32	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-5,8,11,14</i> )
40,499	7526512	0,15	C 23:0	methyl tricosanoate
40,85	10481685	0,20	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-8,11,14,17</i> )
41,172	1973284	0,04	C 22:2	methyl docosadienoate ( <i>cis-13,16</i> )
41,912	202137379	3,94	C 20:5	methyl eicosapentaenoate ( <i>cis-5,8,11,14,17</i> )
42,322	13431836	0,26	C 24:0	methyl lignocerate
43,261	18260415	0,36	C 24:1	methyl nervonate ( <i>cis-15</i> )
43,59	10708798	0,21	C 22:4	methyl docosatetraenoate ( <i>cis-7,10,13,16</i> )
45,654	150852815	2,94	C22:5	methyl docosapentaenoate ( <i>cis-7,10,13,16,19</i> )
46,66	1009336412	19,68	C 22:6	methyl dokosahexaenoate ( <i>cis- 4,7,10,13,16,19</i> )

Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí studené extrakce jsou uvedeny v tabulce 13.

Tabulka 13. Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při přípravě vzorku pomocí studené extrakce.

% SFA	% MUFA	% PUFA	% n-3	% n-6	IA	IT	HH
29,53	12,64	57,84	26,77	31,07	0,46	0,28	3,76

Výsledky druhého stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce jsou uvedeny v tabulce číslo 14. Z tabulky je patrné, že nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou byla linolenová kyselina, která dosahovala hodnoty 30,33 %. Druhou nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou byla dokosaheptaenová kyselina, která dosahovala hodnoty 19,57 % a třetí nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou pak byla palmitová kyselina dosahující hodnoty 16,98 %. DHA byla zastoupena 19,57 % a EPA 4,43 %.

Tabulka 14. Druhé stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.

RT (min)	Area (Ab*s)	% MK	C	Methyl ester (anglický název dle FAME)
24,76	1498914	0,03	C12:0	methyl laurate
27,928	10558666	0,23	C14:0	methyl myristate
29,403	2602221	0,06	C15:0	methyl pentadecanoate
29,873	676829	0,01	C14:1	methyl myristoleate ( <i>cis- 9</i> )
30,854	774806729	16,98	C16:0	methyl palmitate
31,687	5659832	0,12	C16:1	methyl palmitoleate ( <i>cis- 9</i> )
32,16	8199165	0,18	C17:0	methyl heptadecanoate
32,93	3069332	0,07	C17:1	methyl heptadecenoate ( <i>cis- 10</i> )
33,509	384117926	8,42	C18:0	methyl stearate
33,983	3914001	0,09	C18:1	methyl elaidate ( <i>trans 9</i> )
34,203	460113450	10,08	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 9</i> )
34,292	27491107	0,60	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 11</i> )
35,082	4005687	0,09	C18:2	methyl linoleaidate ( <i>trans- 9,12</i> )
35,395	1384154779	30,33	C18:2	methyl linoleate ( <i>cis- 9,12</i> )
36,051	18780479	0,41	C20:0	methyl arachidate
36,77	28478011	0,62	C20:1	methyl eicosenoate ( <i>cis- 11</i> )
37,429	6169390	0,14	C21:0	methyl heneicosanoate
38,017	6647318	0,15	C 20:2	methyl eicosadienoate ( <i>cis- 11,14</i> )
38,909	41627514	0,91	C 22:0	methyl behenate
39,607	57182313	1,25	C22:1	methyl erucate ( <i>cis- 13</i> )
39,886	19764027	0,43	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-5,8,11,14</i> )
40,495	7106149	0,16	C 23:0	methyl tricosanoate
40,85	11610432	0,25	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-8,11,14,17</i> )
41,172	2109302	0,05	C 22:2	methyl docosadienoate ( <i>cis-13,16</i> )
41,916	202371591	4,43	C 20:5	methyl eicosapentaenoate ( <i>cis-5,8,11,14,17</i> )
42,313	13592471	0,30	C 24:0	methyl lignocerate

Tabulka 14. Druhé stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce – pokračování.

RT (min)	Area (Ab*s)	% MK	C	Methyl ester (anglický název dle FAME)
43,256	20203442	0,44	C 24:1	methyl nervonate ( <i>cis-15</i> )
43,59	9255472	0,20	C 22:4	methyl docosatetraenoate ( <i>cis-7,10,13,16</i> )
45,658	155293960	3,40	C22:5	methyl docosapentaenoate ( <i>cis-7,10,13,16,19</i> )
46,906	893074852	19,57	C 22:6	methyl docosahexaenoate ( <i>cis- 4,7,10,13,16,19</i> )

Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při druhém stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce je uveden v tabulce 15.

Tabulka 15. Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.

% SFA	% MUFA	% PUFA	% n-3	% n-6	IA	IT	HH
27,81	13,29	58,90	27,66	31,24	0,43	0,26	4,00

Výsledky třetího stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce jsou uvedeny v tabulce číslo 16. Z tabulky je patrné, že nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou byla linolenová kyselina, která dosahovala hodnoty 30,27 %. Druhou nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou byla dokosaheptaenová kyselina, která dosahovala hodnoty 19,53 % a třetí nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou pak byla palmitová kyselina dosahující hodnoty 17,14 %. DHA byla zastoupena 19,53 % a EPA 4,42 %.

Tabulka 16. Třetí stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.

RT (min)	Area (Ab*s)	% MK	C	Methyl ester (anglický název dle FAME)
24,76	1576539	0,04	C12:0	methyl laurate
27,932	9869651	0,23	C14:0	methyl myristate
29,403	2463432	0,06	C15:0	methyl pentadecanoate
29,873	638411	0,02	C14:1	methyl myristoleate ( <i>cis- 9</i> )
30,85	723574928	17,14	C16:0	methyl palmitate
31,687	4930243	0,12	C16:1	methyl palmitoleate ( <i>cis- 9</i> )
32,16	7223342	0,17	C17:0	methyl heptadecanoate
32,934	2208387	0,05	C17:1	methyl heptadecenoate ( <i>cis- 10</i> )
33,505	360147809	8,53	C18:0	methyl stearate
33,979	2603335	0,06	C18:1	methyl elaidate ( <i>trans 9</i> )
34,194	450686382	10,68	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 9</i> )
		ND	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 11</i> )
35,078	1899198	0,04	C18:2	methyl linoleaidate ( <i>trans- 9,12</i> )
35,391	1277730665	30,27	C18:2	methyl linoleate ( <i>cis- 9,12</i> )
36,051	14732190	0,35	C20:0	methyl arachidate
36,77	24630664	0,58	C20:1	methyl eicosenoate ( <i>cis- 11</i> )
37,429	3918925	0,09	C21:0	methyl heneicosanoate
38,017	4294164	0,10	C 20:2	methyl eicosadienoate ( <i>cis- 11,14</i> )

Tabulka 16. Třetí stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.

RT (min)	Area (Ab*s)	% MK	C	Methyl ester (anglický název dle FAME)
38,905	34344210	0,81	C 22:0	methyl behenate
39,603	66444454	1,57	C22:1	methyl erucate ( <i>cis- 13</i> )
39,882	17684023	0,42	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-5,8,11,14</i> )
40,495	6153879	0,15	C 23:0	methyl tricosanoate
40,85	10126221	0,24	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-8,11,14,17</i> )
41,172	1920614	0,05	C 22:2	methyl docosadienoate ( <i>cis-13,16</i> )
41,912	186756280	4,42	C 20:5	methyl eicosapentaenoate ( <i>cis-5,8,11,14,17</i> )
42,318	12219881	0,29	C 24:0	methyl lignocerate
43,252	18198233	0,43	C 24:1	methyl nervonate ( <i>cis-15</i> )
43,586	8102415	0,19	C 22:4	methyl docosatetraenoate ( <i>cis-7,10,13,16</i> )
45,654	141383133	3,35	C22:5	methyl docosapentaenoate ( <i>cis-7,10,13,16,19</i> )
46,648	824260543	19,53	C 22:6	methyl docosahexaenoate ( <i>cis- 4,7,10,13,16,19</i> )

Poznámka: ND = nedetekováno.

Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při třetím stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce je uveden v tabulce 17.

Tabulka 17. Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.

% SFA	% MUFA	% PUFA	% n-3	% n-6	IA	IT	HH
27,87	13,51	58,62	27,54	31,08	0,43	0,26	3,98

Průměry a směrodatné odchylky všech stanovení obsahu mastných kyselin jsou uvedeny v tabulce číslo 18. Výsledky stanovení dosažené při přípravě vzorku pomocí studené extrakce byly kvalitativně srovnatelné s výsledky stanovení při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce dle Soxhleta. Směrodatné odchylky (SD) mezi jednotlivými stanoveními byly ve většině případů méně než 0,01, pouze u malého množství mastných kyselin nabývaly velmi nízkých hodnot, a to v rozmezí od 0,01 do 0,46.

Tabulka 18. Průměry a směrodatné odchylky všech stanovení obsahu mastných kyselin.

% MK průměr	% MK SD	C	Methyl ester (anglický název dle FAME)
0,03	0,01	C12:0	methyl laurate
0,23	0,01	C14:0	methyl myristate
0,06	< 0,01	C15:0	methyl pentadecanoate
0,02	< 0,01	C14:1	methyl myristoleate ( <i>cis- 9</i> )
17,30	0,42	C16:0	methyl palmitate
0,12	0,01	C16:1	methyl palmitoleate ( <i>cis- 9</i> )
0,18	< 0,01	C17:0	methyl heptadecanoate
0,06	0,01	C17:1	methyl heptadecenoate ( <i>cis- 10</i> )
8,80	0,56	C18:0	methyl stearate
0,08	0,02	C18:1	methyl elaidate (trans 9)

Tabulka 18. Průměry a směrodatné odchylky všech stanovení obsahu mastných kyselin- pokračování.

% MK průměr	% MK SD	C	Methyl ester (anglický název dle FAME)
10,21	0,42	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 9</i> )
0,58	0,03	C18:1	methyl oleate ( <i>cis- 11</i> )
0,07	0,02	C18:2	methyl linoleaidate ( <i>trans- 9,12</i> )
30,29	0,03	C18:2	methyl linoleate ( <i>cis- 9,12</i> )
0,39	0,03	C20:0	methyl arachidate
0,58	0,04	C20:1	methyl eicosenoate ( <i>cis- 11</i> )
0,12	0,02	C21:0	methyl heneicosanoate
0,13	0,02	C 20:2	methyl eicosadienoate ( <i>cis- 11,14</i> )
0,87	0,05	C 22:0	methyl behenate
1,29	0,27	C22:1	methyl erucate ( <i>cis- 13</i> )
0,39	0,06	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-5,8,11,14</i> )
0,15	0,01	C 23:0	methyl tricosanoate
0,23	0,03	C20:4	methyl arachidonate ( <i>cis-8,11,14,17</i> )
0,04	< 0,01	C 22:2	methyl docosadienoate ( <i>cis-13,16</i> )
4,27	0,28	C 20:5	methyl eicosapentaenoate ( <i>cis-5,8,11,14,17</i> )
0,28	0,02	C 24:0	methyl lignocerate
0,41	0,05	C 24:1	methyl nervonate ( <i>cis-15</i> )
0,20	0,01	C 22:4	methyl docosatetraenoate ( <i>cis-7,10,13,16</i> )
3,23	0,25	C22:5	methyl docosapentaenoate ( <i>cis-7,10,13,16,19</i> )
19,59	0,08	C 22:6	methyl docosahexaenoate ( <i>cis- 4,7,10,13,16,19</i> )

Tabulka 19. Průměrný součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH všech vzorků.

% SFA	% MUFA	% PUFA	% n-3	% n-6	IA	IT	HH
28,40	13,15	58,45	27,32	31,13	0,44	0,27	3,91

## 6.2 Výsledky stanovení oxidační stability tuků

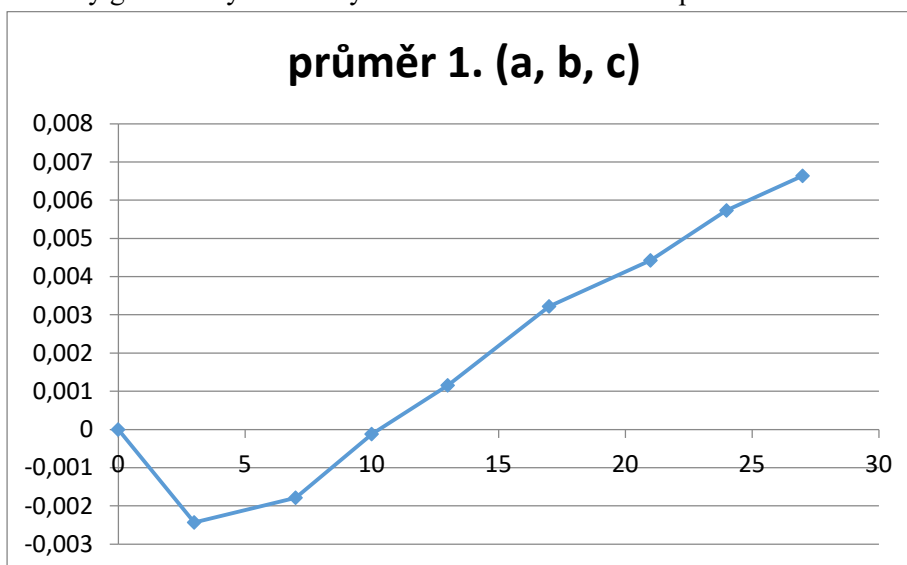
Z grafu křivky naměřených hodnot relativních změn hmotností byla odečtena indukční perioda, díky které bylo možné porovnat stabilitu jednotlivých skladovaných vzorků. Vypočtené výsledky měření indukční periody (IP) ve dnech, protěkčního faktoru (PF) a směrodatné odchylky (SD) vzorků číslo 1-9 ze Schaalova testu jsou uvedeny v tabulce číslo 20.

Tabulka 20. Výsledky měření oxidační stability tuku vzorků číslo 1-9 ze Schaalova testu.

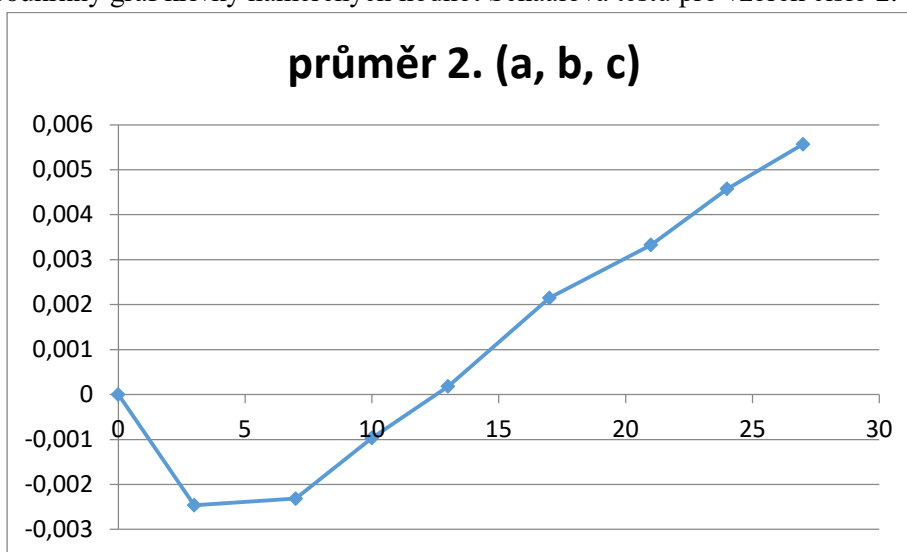
číslo vzorku	IP
1.a	7
1.b	6,6
1.c	6,6
průměr IP ± SD	6,7 ± 0,2
2.a	7
2.b	7
2.c	7
průměr IP ± SD	7,0 ± 0,0
3.a	10
3.b	11
3.c	10,3
průměr IP ± SD	10,4 ± 0,4
4.a	6,6
4.b	7,1
4.c	7
průměr IP ± SD	6,9 ± 0,2
5.a	8
5.b	8
5.c	8
průměr IP ± SD	8,0 ± 0,0
6.a	7
6.b	7
6.c	7,5
průměr IP ± SD	7,2 ± 0,2
7.a	7,5
7.b	7
7.c	7,1
průměr IP ± SD	7,2 ± 0,2
8.a	7,5
8.b	8
8.c	7,4
průměr IP ± SD	7,6 ± 0,3
9.a	4,3
9.b	3,6
9.c	4
průměr IP ± SD	4,0 ± 0,3

Na začátku souhrnného grafu křivky naměřených hodnot Schaalova testu u všech vzorků, s číslem 1-9, došlo k mírnému poklesu hodnot zřejmě z důvodu vypaření některých těkavých látek. Křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorky číslo 1-9 jsou uvedeny na grafech 1-9.

Graf 1. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 1.

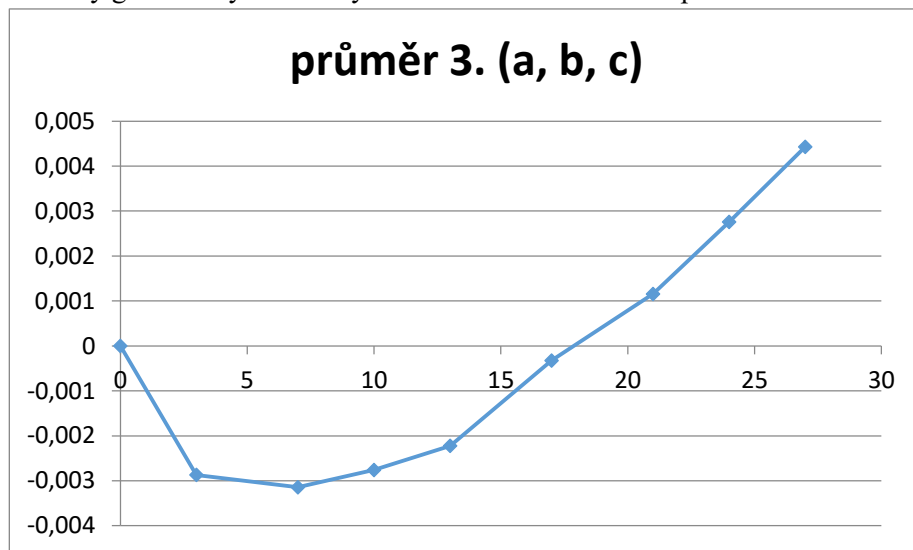


Graf 2. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 2.

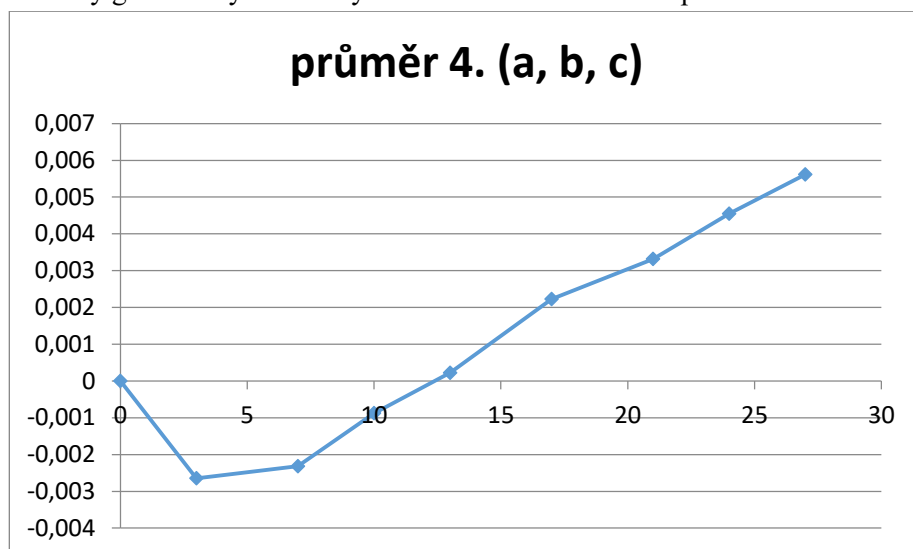




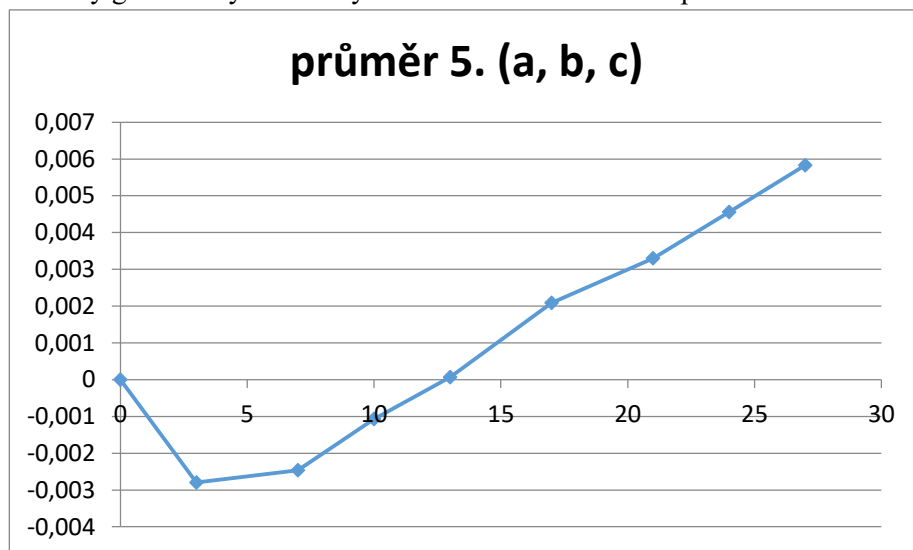
Graf 3. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 3.



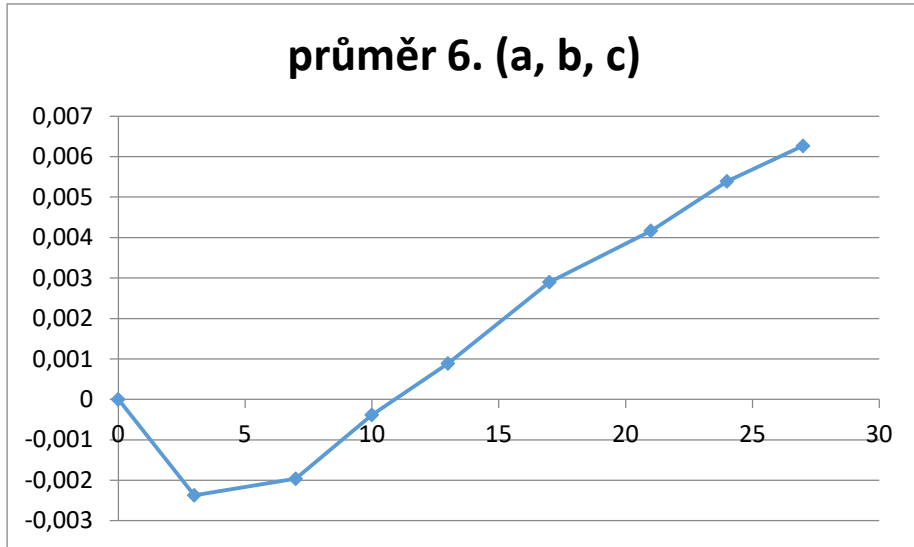
Graf 4. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 4.



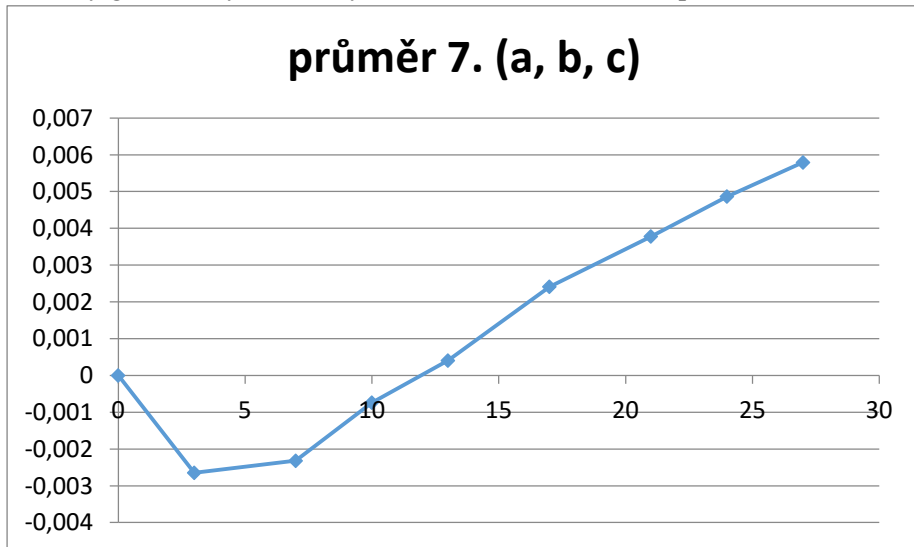
Graf 5. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 5.



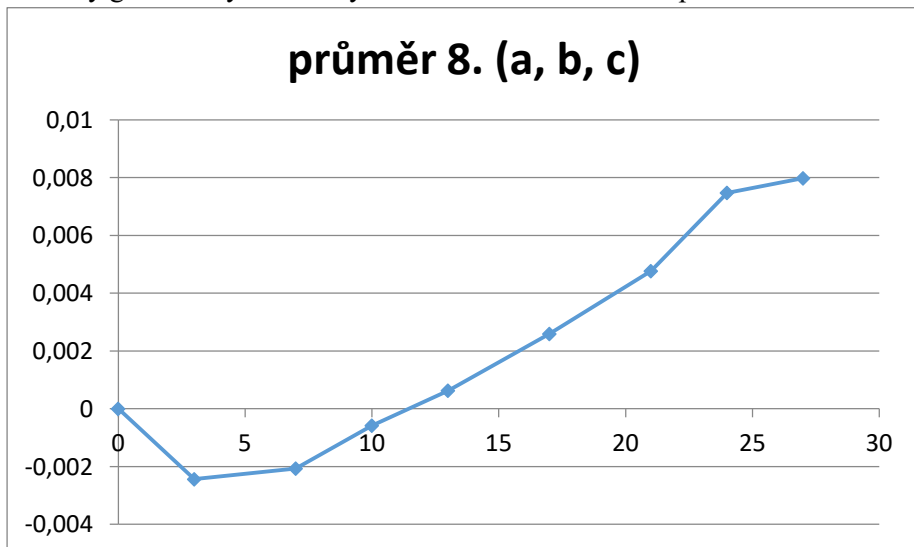
Graf 6. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 6.



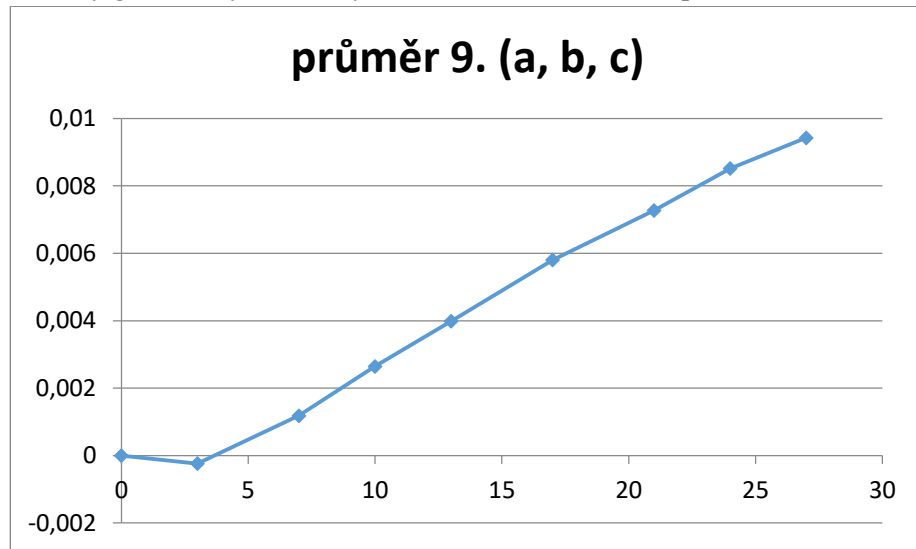
Graf 7. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 7.



Graf 8. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 8.



Graf 9. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 9 (kontrola).



Souhrnné výsledky PF pro porovnání měření vzorku číslo 1–9 jsou uvedeny v tabulce číslo 21. Ze souhrnných výsledků vyplývá, že nejvyšší hodnotu PF měl vzorek číslo 3 a nejnižší hodnotu PF měl vzorek číslo 9.

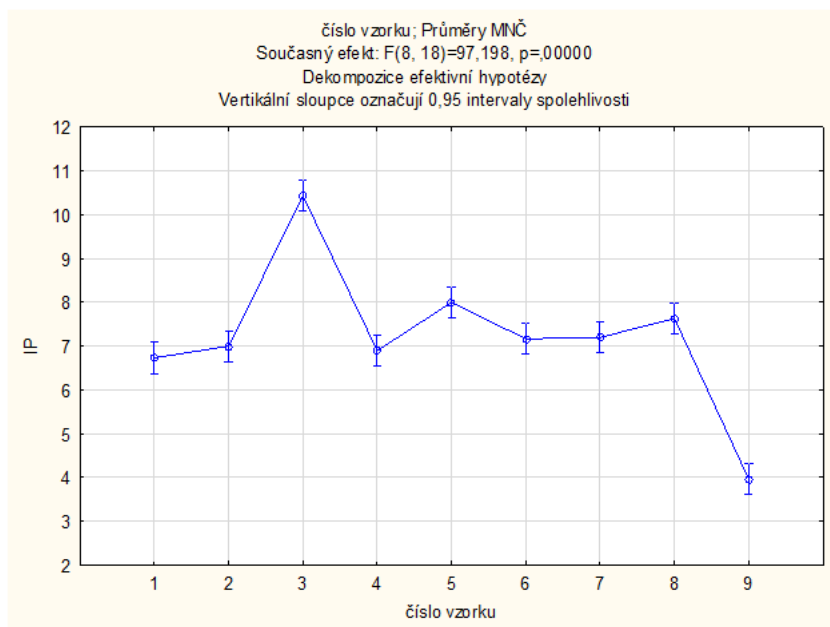
Tabulka 21. Souhrnné výsledky měření PF vzorků číslo 1-9.

číslo vzorku	PF
1	1,7
2	1,8
3	2,6
4	1,7
5	2,0
6	1,8
7	1,8
8	1,9
9	1,0

Souhrnné výsledky IP pro porovnání měření vzorku číslo 1–9 jsou uvedeny na grafu číslo 10. Ze souhrnných výsledků vyplývá, že nejdelší indukční periodu měl vzorek číslo 3 a nejkratší indukční periodu měl vzorek číslo 9, který představoval kontrolu.

Dále bylo na základě výsledků jednofaktorové ANOVA analýzy zjištěno, že vypočtená a nad grafem uvedená hodnota  $p = 0,0000$  je menší než alfa  $\alpha = 0,05$ . Díky tomu je nulová hypotéza  $H_0$ , že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými vzorky, zamítnuta. Mezi testovanými vzorky existuje statisticky významný rozdíl v délce indukční periody.

Graf 10. Souhrnný graf s výsledky IP pro porovnání měření vzorku číslo 1–9.



Výsledky Scheffého testu vzorků číslo 1-9 jsou uvedeny v tabulce číslo 22. Na základě výsledků Schaffeho testu lze říci, že každý z použitých antioxidantů určitou mírou přispěl k oxidační stabilitě testovaného vzorku doplňku stravy Driphorm® HiDHA® 360.

Vzorek číslo 1 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 6,7$  statisticky průkazný rozdíl vůči vzorkům číslo 3, 5 a 9 ale vůči vzorkům číslo 2, 4, 6, 7 a 8 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl, což ukazuje, že rozdíl byl způsobený náhodou a nikoli zákonitostí, jelikož hodnota  $p$  není větší než  $\alpha = 0,05$ . Vzorek číslo 2 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 7,0$  statisticky průkazný rozdíl vůči vzorkům číslo 3 a 9 ale vůči vzorkům číslo 1, 4, 5, 6, 7 a 8 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl. Vzorek číslo 3 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 10,4$  statisticky průkazný rozdíl vůči všem ostatním měřeným vzorkům. Vzorek číslo 4 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 6,9$  statisticky průkazný rozdíl vůči vzorkům číslo 3, 5 a 9 ale vůči vzorkům číslo 1, 2, 5, 6, 7 a 8 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl. Vzorek číslo 5 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 8,0$  statisticky průkazný rozdíl vůči vzorkům číslo 1, 3, 4 a 9 ale vůči vzorkům číslo 2, 6, 7 a 8 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl. Vzorek číslo 6 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 7,2$  statisticky průkazný rozdíl vůči vzorkům číslo 3 a 9 ale vůči vzorkům číslo 1, 2, 4, 5, 7 a 8 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl. Vzorek číslo 7 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 7,2$  statisticky průkazný rozdíl vůči vzorkům číslo 3 a 9 ale vůči vzorkům číslo 1, 2, 4, 5, 6 a 8 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl. Vzorek číslo 8 vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 7,6$  statisticky průkazný rozdíl vůči vzorkům číslo 3 a 9 ale vůči vzorkům číslo 1, 2, 4, 5, 6 a 7 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl. Vzorek číslo 9, který sloužil jako kontrola, vykazoval v průměrné délce indukční periody  $IP = 4,0$  statisticky průkazný rozdíl vůči všem ostatním měřeným vzorkům.

Tabulka 22. Výsledky Scheffeho testu vzorků číslo 1-9.

Scheffeho test; proměnná IP (MK\_IP\_PF\_stat)  
 Pravděpodobnosti pro post-hoc testy  
 Chyba: meziskup. PČ = ,08519, sv = 18,000

Č. buňky	číslo vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		6,7333	7,0000	10,433	6,9000	8,0000	7,1667	7,2000	7,6333	3,9667
1	1		0,9942	0,0000	0,9997	0,0124	0,8980	0,8550	0,1468	0,0000
2	2	0,9942		0,0000	0,9999	0,0784	0,9997	0,9992	0,5491	0,0000
3	3	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
4	4	0,9997	0,9999	0,0000		0,0401	0,9942	0,9875	0,3610	0,0000
5	5	0,0124	0,0784	0,0000	0,0401		0,2158	0,2585	0,9580	0,0000
6	6	0,8980	0,9997	0,0000	0,9942	0,2158		1,0000	0,8550	0,0000
7	7	0,8550	0,9992	0,0000	0,9875	0,2585	1,0000		0,8980	0,0000
8	8	0,1468	0,5491	0,0000	0,3610	0,9580	0,8550	0,8980		0,0000
9	9	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

## 7 Diskuze

### 7.1 Složení mastných kyselin v ančovičkách

Ve studii prováděné Biton-Porsmoguer a kol. (2020), bylo zjištěno, že složení mastných kyselin, z jejichž oleje byl vyroben testovaný doplněk stravy Driphorm® HiDHA® 360, ančoviček je ovlivněno nejen podmínkami prostředí, ve kterém se vyskytují, ale také příjmem potravy, její dostupností, množstvím, kvalitou, zdravotním stavem a reprodukční a vývojovou fází. Tyto mírné odchylky v celkovém průměrném množství obsahu mastných kyselin ve své studii vysvětlili také Kim a kol. (2014) kteří zjistili, že obsah mastných kyselin, především pak EPA a DHA, byl v procentickém zastoupení vzhledem k celkovému obsahu všech lipidů jen mírně větší u mláďete ančovičky než u dospělého.

Největší shody v naší provedené práci byly zaznamenány při porovnání našich výsledků stanovení mastných kyselin s hodnotami u ančovičky obecné ve studii prováděné Biton-Porsmoguer a kol. (2020), která se zabývala rozdíly v obsahu jednotlivých mastných kyselin u ančovičky obecné před a po období tření. Autoři ve své studii stanovili u ančovičky obecné po období tření hodnotu obsahu SFA = 33,52 %, přičemž v naší práci hodnota průměrného obsahu SFA rovna 28,40 %, hodnotu obsahu MUFA = 15,59 %, kdy v naší práci byla rovna 13,15 % a hodnotu obsahu PUFA = 50,9 %, přičemž v naší práci byla rovna 58,45 %.

Podobné průměrné hodnoty v obsahu jednotlivých mastných kyselin pak ve své studii stanovil i Öksüz a Özyilmaz (2010) sledující jejich změny během období rybolovu. Ve své studii zjistil, že existují statisticky průkazné rozdíly při hladině stanovení  $\alpha = 0,05$  kdy byla hodnota  $p < 0,05$ , při odběru vzorků oleje z ančoviček v prosinci a dubnu. Dále ve své studii zjistil, že obsah C16:0, C14:0 a C18:0 z SFA, obsah C18:1n9 z MUFA a především obsah EPA a DHA z PUFA nabýval nejvyšších hodnot právě v období rybolovu.

Na základě naměřených výsledků při stanovení obsahu mastných kyselin lze konstatovat, že nebyl zaznamenán rozdíl ve kvalitě výsledků při použití GC v případě přípravy vzorků studenou extrakcí oproti přípravě teplou extrakcí dle Soxhleta.

Vzhledem k použití lipidů z ančoviček jakožto zdroji omega-3 mastných kyselin pro výrobu doplňku stravy, který byl testován v naší práci, byla vysoká shoda v měření očekávána a tento předpoklad shody ve složení profilu mastných kyselin s dalšími, již provedenými studii, se nám tedy podařilo potvrdit.

### 7.2 Indexy výživové kvality IA, IT a HH

V naší práci byly ze stanovených obsahů jednotlivým mastných kyselin vypočteny průměrné hodnoty výživových indexů IA = 0,44, IT = 0,27 a HH = 3,91 oleje z ančoviček.

Při srovnání našich výsledků IA se studií od Łuczyńska a Paszczyka (2019) zkoumající indexy kvality lipidů u sladkovodních ryb, jsme zaznamenali největší shodu v hodnotě IA u štiky obecné s IA = 0,43 a plotice obecné s IA = 0,40. Nižší hodnotu IA ve srovnání s našimi hodnotami pak měla pražma královská s IA = 0,21, jejíž indexy kvality lipidů ve své studii zkoumal Subhadra a kol. (2006). Nejvyšších ze srovnávaných hodnot naopak dosahovala smuha královská s IA = 1,16, kterou se ve své studii zabývali González-Félix

a kol. (2016), který řešil vliv lipidů ve stravě a nahrazení rybího oleje olejem sójovým v krmných směsích smuhy královské. Další velkou shodu v hodnotách IA jsme zaznamenali se studií provedou Fernandesem a kol. (2014) u makrely obecné s  $IA = 0,48$ , autoři se zabývali výživovými indexy a lipidovými profily u mořských druhů ryb z Brazílie.

Při srovnání našich výsledků IT se studií od Łuczyńska a Paszczyka (2019), jsme zaznamenali největší shodu u cejna velkého s  $IT = 0,23$ . Nižší hodnotu IT ve srovnání s našimi hodnotami pak měla pražma zlatá s  $IT = 0,14$ , kterou ve své studii zkoumající možné dopady období rybolovu a skladování v chladu na profil mastných kyselin pražmy zlaté, hodnotil Senza a kol. (2007). Nejvyšších ze srovnávaných hodnot naopak dosahoval tlamoun nilský s  $IT = 0,87$ , jehož indexy výživové kvality zkoumal ve své studii Tonial a kol. (2014) zabývající se změnami ve složení lipidového profilu mastných kyselin během jeho jednotlivých vývojových stádií.

Při porovnání námi vypočtené hodnoty  $HH = 3,91$  se studií od Hosseiniho a kol. (2014) jsme zaznamenali největší shodu u černomořské plotice s  $HH = 2,04- 4,83$ . Nejnižší  $HH = 0,87$  měl sled' atlantský, jehož výživovými indexy se ve své studii zabýval Fernandes a kol. (2014).

Chen a Liu (2020) však ve své souhrnné studii ohledně výživových indexů upozorňují na fakt, že žádná organizace dosud neposkytla přesné doporučení pro hodnoty IA, IT a HH, které by se daly v rámci prevence vzniku kardiovaskulárních chorob brát jako relevantní měřítko, zda je daná potravina s touto hodnotou ještě vhodná či již nikoli.

### 7.3 Schaalův test

Na základě naměřených výsledků při stanovení oxidační stability tuků lze konstatovat, že nejlepší antioxidační vlastnosti z použitých vzorků vykazoval vzorek číslo 3, vzorek číslo 5 a vzorek číslo 8. Porovnáním s kontrolním vzorkem lze říci, že každý z použitých antioxidantů určitou mírou přispěl k oxidační stabilitě testovaného vzorku doplňku stravy Driphorm® HiDHA® 360.

Vzorek číslo 3 byl ve formě stick kompletní verze dle aktuální výroby produktu doplňku stravy Driphorm® HiDHA® 360. V průměrné délce indukční periody  $IP = 10,4$  vykazoval statisticky průkazný rozdíl ( $p < 0,05$ ) vůči všem ostatním měřeným vzorkům. Pozitivní účinek na oxidační stabilitu vzorku číslo 3 byl, na základě výsledků našich měření, dán především účinností askorbové kyseliny jakožto použitého antioxidantu. Její pozitivní vliv na oxidační stabilitu ve své studii potvrzují také Zehiroglu et Ozturk Sarikaya (2019), kteří ve výsledcích své studie uvádí, že mezi nejdůležitější přírodní antioxidační skupiny lze pak kromě askorbové kyseliny řadit také především tokoferoly a tokotrienoly, flavonoidy, karotenoidy a fenolové kyseliny.

Extrakt marigoldu (10% lutein) měl nižší vliv na výslednou oxidační stabilitu doplňku stravy, ale je možné, že tento nižší vliv byl ovlivněn jeho náchylností k degradaci na světlo, na kterém se vyskytoval při manipulaci se vzorky během pravidelného převažování hmotností během testování oxidační stability. Nižší účinnost luteinu ve své studii potvrzují také Dey a kol. (2019), kteří zkoumali vliv volného luteinu a vliv luteinu jako polynenasyceného esteru mastné kyseliny. Cílem jeho studie bylo zjistit, zda může esterifikace stabilizovat obě bioaktivní molekuly. Na základě výsledků se však ukázalo, že jak volný lutein, tak lutein jako

polynenasycený ester mastné kyseliny významně podporoval oxidační stabilitu rybího oleje. Na základě vztahu dávka-odezva se ukázalo, že ester luteinu a polynenasycených mastných kyselin je při ochraně rybího oleje před sekundární oxidací účinnější než volný lutein, čímž se prodlužuje jejich trvanlivost. Autoři ve své studii dospěli k závěru, že vzhledem k vysoké nutriční hodnotě, silnému antioxidačnímu potenciálu a organickému původu je vhodné začlenit pouze estery luteinu jakožto přírodní konzervační látky a stabilizátory do jedlých olejů (Dey et al., 2019). Tato studie také potvrzuje výsledky našeho stanovení, kdy nejnižší antioxidační vlastnosti z použitých vzorků vykazoval vzorek číslo 6 s antioxidantem z marigoldového extraktu (10% lutein). Vzorek číslo 6 vykazoval v průměrné délce indukční periody IP = 7,2 statisticky průkazný rozdíl ( $p < 0,05$ ) vůči vzorkům číslo 3 a 9 ale vůči vzorkům číslo 1, 2, 4, 5, 7 a 8 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl.

K celkové stabilitě produktu přispěl i slunečnicový lecithin, který také vykazoval antioxidační vlastnosti. Tento pozitivní vliv na oxidační stabilitu byl potvrzen i ve studii od Park a kol. (2006), kteří zkoumali mimo jiné i vliv sójového lecithinu, extraktu ze semen grapefruitu, zeleného čaje a astaxantinu přičemž i ostatní zmíněné antioxidanty vykazovaly pozitivní vliv na oxidační stabilitu.

Vzorek číslo 5 vykazoval v průměrné délce indukční periody IP = 8,0 statisticky průkazný rozdíl ( $p < 0,05$ ) vůči vzorkům číslo 1, 3, 4 a 9. Pozitivní účinek na oxidační stabilitu vzorku číslo 5 přisuzujeme především přidavku rozmarýnového extraktu jakožto použitého antioxidantu. Dále se ukázalo, že přídavek extraktu rozmarýnu má vyšší vliv na stabilitu produktu, než tomu bylo u přídavku marigoldu, u kterého však mohla hrát roli degradace na světle. Tento pozitivní antioxidační vliv rozmarýnového extraktu ve své studii potvrdili i Elhafez a kol. (2020), kteří se zabývali možnostmi zvýšení kvality zmrazených filetů tilapie nilské pomocí rozmarýnového a tymiánového oleje. Významnou antioxidační aktivitu extraktů z rozmarýnu, ale i extraktů z tymiánu a vavřínu ve své studii hodnotili také Yeşilsu a Özyurt (2019) a to především z hlediska ochrany rybího oleje během mikroenkapsulace a následné degradace vyvolané teplem. Výsledky studie ukázaly, že výtažky z rozmarýnu a vavřínu lze úspěšně použít na olej z ančoviček pro zlepšení oxidační stability produktu při mikroenkapsulaci sušením rozprašováním.

Vzorek číslo 8 byl pouze ve formě stick s omega-3 nenasycenou mastnou kyselinou a plnivem produktu doplňku stravy. V průměrné délce indukční periody IP= 7,6 vykazoval statisticky průkazný rozdíl ( $p < 0,05$ ) vůči vzorkům číslo 3 a 9 ale vůči vzorkům číslo 1, 2, 4, 5, 6 a 7 statisticky průkazný rozdíl nalezen nebyl. Ukázalo se však, že už samotná surovina omegy má dobrou antioxidační kapacitu, jelikož již sama antioxidanty obsahuje, a že přídavkem dalších surovin tato kapacita klesá, přičemž přídavkem dalších antioxidantů se naopak ještě zvyšuje. Toto naše zjištění potvrzuje i studie od Culler a kol. (2021), ve které autoři mimo jiné zjistili, že rybí olej ve směsi se slunečnicovým olejem také prokázal značný ochranný účinek vůči oxidaci nenasycených mastných kyselin. Autoři studie dále uvádí, že tedy lze použít ke zvýšení oxidační stability polyenových mastných kyselin přídavek slunečnicového oleje, i když již sám rybí olej ochranný účinek vykazoval.



## 8 Závěr

Analyzované vzorky obsahovaly v průměru 28,40 % SFA, 13,15 % MUFA, 58,45 % PUFA, 31,13 % omega-6 nenasycených mastných kyselin a 27,32 % omega-3 nenasycených mastných kyselin, z kterých tvořila 19,59 % DHA a 3,23 % EPA. Pro zabránění rychlé degradace omega-3 nenasycených mastných kyselin u doplňku stravy ve vzorcích Driphorm® HiDHA® 360 od společnosti McePharma s.r.o. při styku se vzdušným kyslíkem nejlépe zafungovaly antioxidanty jako askorbová kyselina a rozmarýnový extrakt. Ke zpomalení degradace přispěl také přídavek slunečnicového lecithinu, který taktéž vykazoval antioxidační vlastnosti. Přídavek vitamínu D3, jakožto doplňkové suroviny, měl jen minimální vliv na oxidační stabilitu produktu, ale pozitivním přínosem testování bylo zjištění, že lze omega-3 nenasycené mastné kyseliny kombinovat s vitamínem D3, aniž by byla výsledná stabilita produktu negativně ovlivněna.

Dále bylo zjištěno, že už samotná surovina obsahující omega-3 nenasycené mastné kyseliny má dobrou antioxidační kapacitu, jelikož sama již antioxidanty obsahuje. Přídatkem dalších podpůrných surovin tato její antioxidační kapacita klesá, přičemž přídatkem dalších, výše zmíněných, antioxidantů se její antioxidační kapacita naopak ještě zvyšuje.

Jako nefungující se naopak ukázal přídavek luteinu, což mohlo však být ovlivněno i jeho značnou náchylností k degradaci na světlo.

Dále bylo zjištěno, že aktuálně vyráběná směs na sticky doplňku Driphorm® HiDHA® 360 má nejvyšší antioxidační kapacitu, ale i přesto je oxidační stabilita výsledného produktu nedostačující. Dle informace od výrobce vykazuje balení do sáčku o hmotnosti 2 g po 4 měsících typický zápach rybiny.

ODT tablety (vzorek 1), přestože se ukázaly jako forma vykazující nejnižší antioxidační kapacitu, však byly stabilní, když byly baleny s absorberem kyslíku. Předpokládá se, že toto bylo dáno nižším povrchem tablety oproti poměrně velkému povrchu při balení v práškové formě. Dle informace od výrobce byl doplněk ve formě ODT tablety i po 10 měsících sensoricky stabilní bez typického zápachu rybiny, pouze se známkami ztmavnutí povrchové části tablet. Bylo by proto dobré se na sensorické změny těchto doplňků stravy během jejich skladování zaměřit v dalším výzkumu.

Z hlediska technologie výroby sáčků by bylo v budoucích pracích vhodné otestovat stabilitu produktu v balení s ochrannou atmosférou obsahující dusík, namísto současné atmosféry s kyslíkem, která ale s největší pravděpodobností nezpůsobuje oxidační nestabilitu produktu.

Pro budoucí výrobu samotného produktu doplňku stravy Driphorm® HiDHA® 360 lze, pro úspěšné oddálení degradace omega-3 nenasycené mastné kyseliny, doporučit do produktu antioxidanty přidávat buď samostatně nebo v jejich kombinaci.

## 9 Seznam literatury

- Nařízení evropského parlamentu a rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směr. 2011. . Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32011R1169#d1e1266-18-1>
- Směrnice Evropského parlamentu a rady 2007/47/ES ze dne 5. září 2007. 2007. . Retrieved September 13, 2020, from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/LSU/?uri=CELEX:32002L0046>
- Vyhláška ze dne 29. března 2018 o doplňcích strava | epravo.cz. (n.d.). Retrieved September 13, 2020, from <https://www.epravo.cz/top/zakony/sbirka-zakonu/vyhlaska-ze-dne-29-brezna-2018-o-doplncich-stravy-a-slozeni-potravin-22090.html>
- Abedi, E., Sahari, M. A. 2014. , September 1 Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Science and Nutrition*. Wiley-Blackwell.
- Abuajah, C. I., Ogbonna, A. C., Osuji, C. M. 2015. Functional components and medicinal properties of food: a review. *Journal of Food Science and Technology*. 52 (5). 2522–2529. doi: 10.1007/s13197-014-1396-5.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., Tattini, M. 2012. , November Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*. *Plant Sci*.
- Ansary, J., Cianciosi, D. 2020. Natural antioxidants: Is the research going in the right direction? *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*. 13 (3). 187–191. doi: 10.3233/MNM-200484.
- Biton-Porsmoguer, S., Bou, R., Lloret, E., Alcaide, M., Lloret, J. 2020. Fatty acid composition and parasitism of European sardine ( *Sardina pilchardus* ) and anchovy ( *Engraulis encrasicolus* ) populations in the northern Catalan Sea in the context of changing environmental conditions . *Conservation Physiology*. 8 (1). 1–14. doi: 10.1093/conphys/coaa121.
- Blažková, M. B. 2019. Posouzení nutriční kvality rostlinných a živočišných lipidů pomocí indexů atherogenicity a trombogenicity. *Česká zemědělská univerzita v Praze*.
- Boran, M. 2007. Seasonal Changes in Proximate Composition of. . 31 (2008). 503–513.
- Brát, J. 2015. Vývoj výživových doporučení pro tuky. *Výživa a Potraviny*. 146–148. doi: 10.1371/journal.pone.0009434.
- Carocho, M., Ferreira, I. C. F. R. 2013. , January A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. *Food Chem Toxicol*.
- Chan, H. T. H. 2016. Healthy Eating Plate & Healthy Eating Pyramid | The Nutrition Source | Harvard T.H. Chan School of Public Health. . Retrieved from <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/healthy-eating-plate-vs-usda-myplate/>
- Chen, J., Liu, H. 2020. Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review. *International Journal of Molecular Sciences*. 21 (16). 1–24. doi: 10.3390/ijms21165695.
- Cholewski, M., Tomczykowa, M., Tomczyk, M. 2018. , November 4 A comprehensive

- review of chemistry, sources and bioavailability of omega-3 fatty acids. *Nutrients*. MDPI AG.
- Culler, M. D., Inchingolo, R., McClements, D. J., Decker, E. A. 2021. Impact of Polyunsaturated Fatty Acid Dilution and Antioxidant Addition on Lipid Oxidation Kinetics in Oil/Water Emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 69 (2). 750–755. doi: 10.1021/acs.jafc.0c06209.
- DACH 2011. Referenční hodnoty pro příjem živin. Praha: Společnost pro výživu. p. 197. ISBN: 978-80-254-6987-3. Retrieved from <https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/>
- Dey, T. K., Maiti, I., Chakraborty, S., Ghosh, M., Dhar, P. 2019. Enzymatic synthesis of lipophilic lutein–PUFA esters and assessment of their stabilization potential in EPA–DHA rich fish oil matrix. *Journal of Food Science and Technology*. 56 (5). 2345–2354. doi: 10.1007/s13197-019-03588-x.
- Díaz-García, M. C., Obón, J. M., Castellar, M. R., Collado, J., Alacid, M. 2013. Quantification by UHPLC of total individual polyphenols in fruit juices. *Food Chemistry*. 138 (2–3). 938–949. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.061.
- Dobiasova, M. 2006. AIP - Atherogenic index of plasma like significant predictor of cardiovascular risk: From research to practice. *Vnitřní Lekarství*.
- Dostál, J. 2011. *Lékařská chemie II: bioorganická chemie*. 3.vyd. Brno. Masarykova univerzita. p. 165. ISBN: 9788021055384.
- Dostálová, J., Dlouhý, P., Tláškal, P. 2012. Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky – Společnost pro výživu. Retrieved September 13, 2020, from <http://www.vyzivaspol.cz/vyzivova-doporuceni-pro-obyvatelstvo-ceske-republiky/>
- Elhafez, M. A., Yehia, N., Amin, R., Emam, W., Hamouda, S., El-Magd, M. A. 2020. Quality enhancement of frozen Nile tilapia fillets using rosemary and thyme oil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 72 (5). 1821–1829. doi: 10.1590/1678-4162-11855.
- Fernandes, C. E., Vasconcelos, M. A. D. S., De Almeida Ribeiro, M., Sarubbo, L. A., Andrade, S. A. C., Filho, A. B. D. M. 2014. Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brazil. *Food Chemistry*. 160. 67–71. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.03.055.
- Fialkow, J. 2016. Omega-3 fatty acid formulations in cardiovascular disease: Dietary supplements are not substitutes for prescription products. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 16 (4). 229–239. doi: 10.1007/s40256-016-0170-7.
- Fuchs-Tarlovsky, V. 2013. , January 1 Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*. Elsevier.
- Gibney, M. J., Lanham, S. A., Cassidy, A., Vorster, H. H. 2009. Natural antioxidants to improve stability of refined anchovy oil against oxidation. Published in 2009 in Chichester, West Sussex, U.K.; Ames, Iowa: [London] by Wiley-Blackwell; *Nutrition Society*. 15 (2). 371. Retrieved from <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:001698214>
- Giuffrida, D., Rando, R., Garaffo, M. A., Dugo, G., Nengas, Y., Lembo, E., Maisano, R., Vassallo-Agius, R. 2011. Fatty Acids Profile, Atherogenic (IA) and Thrombogenic (IT) Health Lipid Indices, of Raw Roe of Blue Fin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) and Their Salted Product “Bottarga.” *Food and Nutrition Sciences*. 02 (07). 736–743. doi: 10.4236/fns.2011.27101.

- González-Félix, M. L., Maldonado-Othón, C. A., Perez-Velazquez, M. 2016. Effect of dietary lipid level and replacement of fish oil by soybean oil in compound feeds for the shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*). *Aquaculture*. 454 . 217–228. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.12.021.
- Grosso, G., Galvano, F., Marventano, S., Malaguarnera, M., Bucolo, C., Drago, F., Caraci, F. 2014. Omega-3 fatty acids and depression: Scientific evidence and biological mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Landes Bioscience.
- Gülçin, I. 2012. , March Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*. Arch Toxicol.
- Häberling, I., Berger, G., Schmeck, K., Held, U., Walitza, S. 2019. Omega-3 Fatty Acids as a Treatment for Pediatric Depression. A Phase III, 36 Weeks, Multi-Center, Double-Blind, Placebo-Controlled Randomized Superiority Study. *Frontiers in Psychiatry*. 10 . 863. doi: 10.3389/fpsy.2019.00863.
- Havlík, J., Marounek, M. 2013. Živiny a živinové potřeby člověka. ISBN: 978-80-213-2374-2. Retrieved from <https://eshop.czu.cz/ziviny-a-zivinove-potreby-cloveka.html>
- Hosseini, H., Mahmoudzadeh, M., Rezaei, M., Mahmoudzadeh, L., Khaksar, R., Khosroshahi, N. K., Babakhani, A. 2014. Effect of different cooking methods on minerals, vitamins and nutritional quality indices of kutum roach (*Rutilus frisii kutum*). *Food Chemistry*. 148 . 86–91. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.10.012.
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V. I. 2011. , June 15 A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. Food Chem.
- Jakobek, L. 2015. , May 15 Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd.
- Joint WHO/FAO Expert Consultation 2002. DIET, NUTRITION AND THE PREVENTION OF CHRONIC DISEASES. Geneva, Switzerland. Retrieved from [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO\\_TRS\\_916.pdf;jsessionid=D4861CF804EE2E2385273BA52E9235E7?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO_TRS_916.pdf;jsessionid=D4861CF804EE2E2385273BA52E9235E7?sequence=1)
- Joyner, N. T., McIntyre, J. E. 1938. The oven test as an index of keeping quality. *Oil & Soap*. 15 (7). 184–186. doi: 10.1007/BF02639526.
- Kim, J. Y., Kim, H., Choi, M. S., Lee, H. M., Bai, S. C. 2014. Spatial and temporal variations of the trophodynamics of anchovy (*Engraulis japonicus*) in the southern coastal waters of Korea using fatty acid trophic markers. *Animal Cells and Systems*. 18 (6). 425–434. doi: 10.1080/19768354.2014.982706.
- Klouda, P. 2016. Moderní analytické metody - Pavel Klouda - Pavel Klouda - Lékařské knihkupectví ::... p. 176. ISBN: 978-80-86369-22-8. Retrieved from <https://www.lekarskeknihy.cz/produkt/109265-moderni-analyticke-metody/>
- kolektiv autorů 2012. Referenční hodnoty pro příjem živin. Forsapi. p. 197. ISBN: 978-80-254-6987-3.
- Koletzko, B., Lien, E., Agostoni, C., Böhles, H., Campoy, C., Cetin, I., Decsi, T., Dudenhausen, J. W., Dupont, C., Forsyth, S., Hoesli, I., Holzgreve, W., Lapillonne, A., Putet, G., Secher, N. J., Symonds, M., Szajewska, H., Willatts, P., Uauy, R. 2008. , January 1 The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: Review of current knowledge and consensus recommendations. *Journal of Perinatal Medicine*. J Perinat Med.

- Kulma, M., Kouřimská, L., Plachý, V., Božik, M., Adámková, A., Vrabc, V. 2019. Effect of sex on the nutritional value of house cricket, *Acheta domestica* L. *Food Chemistry*. 272 . 267–272. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.08.049.
- Leopoldini, M., Russo, N., Toscano, M. 2011. , March 15 The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd.
- Llauradó Maury, G., Méndez Rodríguez, D., Hendrix, S., Escalona Arranz, J. C., Fung Boix, Y., Pacheco, A. O., García Díaz, J., Morris Quevedo, H. J., Ferrer Dubois, A., Isaac Aleman, E., Beenaerts, N., Méndez Santos, I. E., Orberá Ratón, T., Cos, P., Cuypers, A. 2020. Antioxidants in plants: A valorization potential emphasizing the need for the conservation of plant biodiversity in cuba. *Antioxidants*. 9 (11). 1–39. doi: 10.3390/antiox9111048.
- Łuczyńska, J., Paszczyk, B. 2019. Health risk assessment of heavy metals and lipid quality indexes in freshwater fish from lakes of Warmia and Mazury Region, Poland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 16 (19). doi: 10.3390/ijerph16193780.
- Małesa-Ciećwierz, M., Usydus, Z. 2015. Vitamin D: Can fish food-based solutions be used for reduction of vitamin D deficiency in Poland? *Nutrition*. 31 (1). 187–192. doi: 10.1016/j.nut.2014.07.003.
- Mann, J., Truswell, A. S. 2017. *Essentials of Human Nutrition, SECOND EDITION. 5 Revised edition*. Velká Británie. Oxford University Press. p. 720. ISBN: 9780198752981. Retrieved from [http://ssu.ac.ir/cms/fileadmin/user\\_upload/Mtahghighat/taghzie\\_imani/book/Essentials of Human Nutrition.pdf](http://ssu.ac.ir/cms/fileadmin/user_upload/Mtahghighat/taghzie_imani/book/Essentials_of_Human_Nutrition.pdf)
- McCann, J. C., Ames, B. N. 2005. Is docosahexaenoic acid, an n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? An overview of evidence from cognitive and behavioral tests in humans and animals. *American Journal of Clinical Nutrition*. American Society for Nutrition.
- Morris, M. C., Evans, D. A., Tangney, C. C., Bienias, J. L., Wilson, R. S. 2005. Fish consumption and cognitive decline with age in a large community study. *Archives of Neurology*. 62 (12). 1849–1853. doi: 10.1001/archneur.62.12.noc50161.
- Muanda, F. N., Soulimani, R., Diop, B., Dicko, A. 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *LWT - Food Science and Technology*. 44 (9). 1865–1872. doi: 10.1016/j.lwt.2010.12.002.
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, Victor W.P. Weil, A. 2012. *Harperova ilustrovaná biochemie. 1.vydání*. Galén. p. 730. ISBN: 978-80-7262-907-7.
- Mut-Salud, N., Álvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aránega, A., Rodríguez-Serrano, F. 2016. Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Publishing Corporation.
- Nimse, S. B., Pal, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*. 5 (35). 27986–28006. doi: 10.1039/c4ra13315c.
- Öksüz, A., Özyilmaz, A. 2010. Changes in Fatty Acid Compositions of Black Sea Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) During Catching Season. *Turkish Journal of Fisheries*

- and Aquatic Sciences. 10 (3). 1–8. doi: 10.4194/trjfas.2010.0311.
- Packer, J. E., Slater, T. F., Willson, R. L. 1979. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C [13]. *Nature*. *Nature*.
- Park, D. C., Jr, H. S., Lee, H., Kim, J. J., Jung, Y. M., Gyoung, Y., Kang, S. N., Kim, S. B. 2006. Natural antioxidants to improve stability of refined anchovy oil against oxidation. *Food Science and Biotechnology*.
- Peh, H. Y., Tan, W. S. D., Liao, W., Wong, W. S. F. 2016. , June 1 Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol. *Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Inc.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. 2008. , June Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*. Master Publishing Group. Retrieved from [www.ijbs.org](http://www.ijbs.org)
- Philpott, J. D., Donnelly, C., Walshe, I. H., MacKinley, E. E., Dick, J., Galloway, S. D. R., Tipton, K. D., Witard, O. C. 2018. Adding fish oil to whey protein, leucine, and carbohydrate over a six-week supplementation period attenuates muscle soreness following eccentric exercise in competitive soccer players. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 28 (1). 26–36. doi: 10.1123/ijsnem.2017-0161.
- Phung, A. S., Bannenber, G., Vigor, C., Reversat, G., Oger, C., Roumain, M., Galano, J. M., Durand, T., Muccioli, G. G., Ismail, A., Wang, S. C. 2020. Chemical compositional changes in over-oxidized fish oils. *Foods*. 9 (10). doi: 10.3390/foods9101501.
- Podsedek, A. 2007. , January 1 Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology*. Academic Press.
- Przybylski, R., Wu, J., Eskin, N. A. M. 2013. A rapid method for determining the oxidative stability of oils suitable for breeder size samples. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*. 90 (7). 933–939. doi: 10.1007/s11746-013-2240-1.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., Kumar, M. N. V. R. 2006. , July 20 Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. *J Control Release*.
- Report of an Expert Consultation 2008. Fats and fatty acids in human nutrition Report of an expert consultation FAO food and nutrition paper. Vol. 91. Rome/Geneva. p. 180. ISBN: 9789251067338.
- Richter, C. K., Bowen, K. J., Mozaffarian, D., Kris-Etherton, P. M., Skulas-Ray, A. C. 2017. Total Long-Chain n-3 Fatty Acid Intake and Food Sources in the United States Compared to Recommended Intakes: NHANES 2003–2008. *Lipids*. 52 (11). 917–927. doi: 10.1007/s11745-017-4297-3.
- Saeb, K., Gholamrezaee, S., Asadi, M. 2011. Variation of antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves extracts during the different stages of plant growth. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 4 (2). 237–243. doi: 10.13005/bpj/288.
- Schelling, G. T., Roeder, R. A., Garber, M. J., Pumfrey, W. M. 1995. Bioavailability and Interaction of Vitamin A and Vitamin E in Ruminants. *The Journal of Nutrition*. 125 (suppl\_6). 1799S–1803S. doi: 10.1093/jn/125.suppl\_6.1799S.
- Senso, L., Suárez, M. D., Ruiz-Cara, T., García-Gallego, M. 2007. On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*. 101 (1). 298–307. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.01.036.

- Sevgi, K., Tepe, B., Sarikurkcü, C. 2015. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*. 77 . 12–21. doi: 10.1016/j.fct.2014.12.006.
- Shahidi, F., Zhong, Y. 2010. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 112 (9). 930–940. doi: 10.1002/ejlt.201000044.
- Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., Yehoshua, Y. 2013. Natural Antioxidants: Function and Sources. *Food and Nutrition Sciences*. 04 (06). 643–649. doi: 10.4236/fns.2013.46083.
- Singh, M., Kaur, M., Silakari, O. 2014. , September 12 Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Elsevier Masson SAS.
- Škvorová, P. 2020. Změny stability potravin vůči žluknutí po ošetření mikrovlnným zářením.
- Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI) 2018. Právní předpisy vztahující se k doplňkům stravy o obecné informace o doplňcích stravy. . Retrieved September 13, 2020, from <https://www.szpi.gov.cz/clanek/pravni-predpisy-vztahujici-se-k-doplncikum-stravy-a-obecne-informace-o-doplncich-stravy.aspx?q=Y2hudW09Mg%3D%3D>
- Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S., Chen, R. 2006. Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*. 255 (1–4). doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.043.
- Thiel, R. J. 2000. Natural vitamins may be superior to synthetic ones. *Medical Hypotheses*. 55 (6). 461–469. doi: 10.1054/mehy.2000.1090.
- Tonial, I. B., Oliveira, D. F., Coelho, A. R., Matsushita, M., Coró, F. A. G., De Souza, N. E., Visentainer, J. V. 2014. Quantification of Essential Fatty Acids and Assessment of the Nutritional Quality Indexes of Lipids in Tilapia Alevins and Juvenile Tilapia Fish (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Food Research*. 3 (3). 105. doi: 10.5539/jfr.v3n3p105.
- Turek, B., Šíma, P., Michalová, I. 2016. A ZDRAVÍ. . Retrieved from [https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/publikace/vyvazena\\_strava\\_web.pdf](https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/publikace/vyvazena_strava_web.pdf)
- Vaibhav, A. D., Wahi, A. kumar, Pawdey, A. M., Sonawane, A. 2011. Antioxidants as immunomodulator: An expanding research avenue. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 3 (1). 8–10.
- Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin 2*. OSSIS. p. 644. ISBN: 978-80-86659-16-9.
- Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin I*. p. 580. ISBN: 978-80-86659-15-2. Retrieved from <https://www.databazeknih.cz/dalsi-vydani/chemie-potravin-i-39133>
- Vinson, J. A., Bose, P. 1988. Comparative bioavailability to humans of ascorbic acid alone or in a citrus extract. *American Journal of Clinical Nutrition*. 48 (3). 601–604. doi: 10.1093/ajcn/48.3.601.
- Virtanen, J. K., Mozaffarian, D., Chiuve, S. E., Rimm, E. B. 2008. Fish consumption and risk of major chronic disease in men. *American Journal of Clinical Nutrition*. 88 (6). 1618–1625. doi: 10.3945/ajcn.2007.25816.
- Vissers, M. C. M., Bozonet, S. M., Pearson, J. F., Braithwaite, L. J. 2011. Dietary ascorbate intake affects steady state tissue concentrations in vitamin C-deficient mice: Tissue

deficiency after suboptimal intake and superior bioavailability from a food source (kiwifruit). *American Journal of Clinical Nutrition*. 93 (2). 292–301. doi: 10.3945/ajcn.110.004853.

Yeşilsu, A. F., Özyurt, G. 2019. Oxidative stability of microencapsulated fish oil with rosemary, thyme and laurel extracts: A kinetic assessment. *Journal of Food Engineering*. 240 . 171–182. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2018.07.021.

Zehiroglu, C., Ozturk Sarikaya, S. B. 2019. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*. 56 (11). 4757–4774. doi: 10.1007/s13197-019-03952-x.



## 10 Seznam použitých zkratek a symbolů

$\omega$ -6/n-6 = omega 6 mastné kyseliny

$\omega$ -3/n-3 = omega 3 mastné kyseliny

PUFA = polyenové mastné kyseliny

EPA = eikosapentaenová kyselina

DHA = dokosahexaenová kyselina

ALA = alfa-linolenová kyselina

SOD = superoxididismutáza

CAT = kataláza

GP = glutathionperoxidáza

G6PD = glutathion 6-fosfát dehydrogenáza

BHA = butylovaný hydroxytoluen

BHT = butylovaný hydroxyanisol

TBHQ =terciální-butylhydrochinon

Rt = retenční čas

IP = indukční perioda

PF = protékční faktor

SD = směrodatná odchylka

IA = index atherogenicity

IT = index trombogenicity

HH = hypocholesterolemický/hypercholesterolemický index

## 11 Seznam tabulek

- Tabulka 1. Doporučený denní příjem vitaminů (upraveno dle (DACH, 2011))
- Tabulka 2. Doporučený denní příjem vitaminů (upraveno dle (“Nařízení evropského parlamentu a rady(EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směr,” 2011))
- Tabulka 3. Doporučený denní příjem minerálních látek (upraveno dle (DACH, 2011))
- Tabulka 4. Doporučený denní příjem vitaminů (upraveno dle (“Nařízení evropského parlamentu a rady(EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směr,” 2011))
- Tabulka 5. Polyenové mastné kyseliny (upraveno dle Mann et Truswell, 2017 a Murray et al., 2012).
- Tabulka 6. Nejbohatší rostlinné zdroje omega-3 mastných kyselin ( upraveno dle Cholewski et al., 2018).
- Tabulka 7. Obsahy jednotlivých mastných kyselin v ančovičkách (upraveno dle ÖKSüz et Özyilmaz, 2010; Kim et al., 2014; Biton-Porsmoguer et al., 2020)
- Tabulka 8. Klasifikace antioxidantů na základě jejich původu (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019)
- Tabulka 9. Klasifikace antioxidantů na základě jejich rozpustnosti (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019)
- Tabulka 10. Využití přírodních antioxidačních sloučenin v potravinách a jejich účinky na zdraví (upraveno dle Zehiroglu et Ozturk Sarikaya, 2019).
- Tabulka 11. Rozpis složení vzorků od společnosti McePharma s.r.o.
- Tabulka 12. Stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí studené extrakce.
- Tabulka 13. Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při přípravě vzorku pomocí studené extrakce.
- Tabulka 14. Druhé stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.
- Tabulka 15. Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.
- Tabulka 16. Třetí stanovení obsahu mastných kyselin při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.
- Tabulka 17. Součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH při přípravě vzorku pomocí teplé extrakce.
- Tabulka 18. Průměry a směrodatné odchylky všech stanovení obsahu mastných kyselin.
- Tabulka 19. Průměrný součet procentického obsahu SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 a hodnoty IA, IT a HH všech vzorků.
- Tabulka 20. Výsledky měření oxidační stability tuku vzorků číslo 1-9 ze Schaalova testu.
- Tabulka 21. Souhrnné výsledky měření PF vzorků číslo 1-9.
- Tabulka 22. Výsledky Scheffeho testu vzorků číslo 1-9.

## 12 Seznam grafů

Graf 1. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 1.

Graf 2. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 2.

Graf 3. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 3.

Graf 4. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 4.

Graf 5. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 5.

Graf 6. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 6.

Graf 7. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 7.

Graf 8. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 8.

Graf 9. Souhrnný graf křivky naměřených hodnot Schaalova testu pro vzorek číslo 9 (kontrola).

Graf 10. Souhrnný graf s výsledky IP pro porovnání měření vzorku číslo 1–9.

## 13 Seznam rovnic

Rovnice 1. Rovnice pro výpočet indexu atherogenicity (IA).

Rovnice 2. Rovnice pro výpočet indexu trombogenicity (IT).

Rovnice 3. Rovnice pro výpočet hypocholesterolemického/ hypercholesterolemického indexu (HH).