

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

MICHAELA DRÁBKOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav chemie a biochemie



**Plynová chromatografie mastných kyselin ve
vybraných živočišných tkáních**
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Veronika Rozíková, Ph.D.

Vypracoval:
Bc. Michaela Drábková

Brno 2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci Plynová chromatografie mastných kyselin ve vybraných živočišných tkáních vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí své diplomové práce Ing. Veronice Rozíkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, velikou trpělivost a rovněž za velmi přátelské jednání během vypracovávání této práce.

Poděkování patří také mým rodičům a příteli za jejich trpělivost a morální podporu v průběhu celého studia.

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo stanovit pomocí plynové chromatografie mastné kyseliny ve vybraných živočišných tkáních. Konkrétně se jednalo o svalovou, jaterní, plicní a viscerální tukovou tkáň prasat. Celkem 32 kusů prasat bylo rozděleno do dvou skupin po 16 kusech. Každé skupině byla během 75denního výkrmu podávána krmná dávka, která se lišila druhem přidávaného oleje. Pokusná skupina dostávala krmnou dávku s přídavkem 2,5 % rybího oleje a kontrolní skupina krmnou dávku s přídavkem 2,5 % palmového oleje. Zvířata byla krmena *ad libitum*. Po porážce byly odebrány vzorky vybraných tkání, jež byly následně lyofilizovány. Metodou extrakce dle autorů Hara a Radin (1978) byly z lyofilizovaných vzorků tkání vyextrahovány lipidy a v nich přítomné mastné kyseliny byly procesem derivatizace převedeny na těkavější methylestery mastných kyselin. Ty byly pak stanoveny pomocí plynové chromatografie. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny.

Ve všech vybraných tkáních prasat dostávajících krmnou dávku s přídavkem rybího oleje byl zjištěn zvýšený obsah PUFA n-3 ($P < 0,01$). Přídavek palmového oleje do krmné dávky měl vliv na zvýšení obsahu ($P < 0,05$) SFA, MUFA v testovaných tkáních.

Klíčová slova: mastné kyseliny, plynová chromatografie, prase, palmový olej, rybí olej, svalovina, viscerální tuková tkáň, játra, plíce

ABSTRACT

The aim of this diploma thesis was to determine – using gas chromatography – fatty acids in selected animal tissues. Specifically, the muscle, liver, pulmonary and adipose tissues were observed. A total of 32 piglets were divided into two groups with 16 pigs in each group. During 75 days of fattening, each group was given a feed mixture differing in the type of oil added. The experimental group was fed a basic feed mixture with the addition of 2,5 % fish oil, whilst the control group with the addition of 2,5 % palm oil. The animals were fed *ad libitum*. After slaughter, samples of selected tissues were taken and the process of lyophilisation was carried out. Using extraction method according to Hara, Radin (1978), lipids from lyophilized tissue samples were extracted. Fatty acids present within these lipids were then transformed into more volatile fatty acid methyl esters by the process of derivatization. These were then determined by gas chromatography and the results were statistically evaluated.

The effect of fish oil in the feed mixture resulted in the increase of PUFA n-3 ($P < 0.01$) in all of the tested tissues. The addition of palm oil, on the other hand, had an effect on the content ($P < 0.05$) of SFA, MUFA in the tested tissues.

Keywords: fatty acids, gas chromatography, pig, palm oil, fish oil, muscle, adipose tissue, liver, pulmonary tissue

OBSAH

1	ÚVOD	10
2	CÍL PRÁCE	11
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	12
3.1	Lipidy	12
3.1.1	Rozdělení lipidů	13
3.1.2	Trávení lipidů	15
3.1.3	Resorpce lipidů	17
3.1.4	Poruchy trávení a resorpce lipidů	18
3.2	Mastné kyseliny	18
3.2.1	Zdroje a účinky jednotlivých skupin mastných kyselin na organismus ...	21
3.2.1.1	Nasyčené mastné kyseliny	22
3.2.1.2	Mononenasyčené mastné kyseliny	23
3.2.1.3	Polynenasycené mastné kyseliny	23
3.2.1.4	Trans-mastné kyseliny	26
3.2.1.5	Konjugovaná kyselina linolová	27
3.2.2	Role mastných kyselin ve vztahu k civilizačním onemocněním	28
3.3	Vepřové maso	28
3.4	Stanovení mastných kyselin metodou plynové chromatografie	29
3.4.1	Příprava vzorku	29
3.4.1.1	Extrakce	30
3.4.1.2	Derivatizace mastných kyselin	31
3.4.1.3	Plynová chromatografie	31
4	MATERIÁL A METODIKA	36
4.1	Materiál	36
4.1.1	Chemikálie	37
4.1.2	Přístrojové vybavení a laboratorní pomůcky	38
4.2	Metodika	39

4.2.1	Lyofilizace	39
4.2.2	Extrakce celkových lipidů	39
4.2.3	Derivatizace	40
4.2.4	Stanovení mastných kyselin.....	40
4.2.5	Statistické vyhodnocení	41
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	42
5.1	Výsledky	42
5.1.1	Krmná dávka s přídatkem palmového a rybího oleje	42
5.1.2	Posouzení depozice mastných kyselin ve vybraných tkáních prasat	44
5.2	Diskuze.....	54
6	ZÁVĚR	58
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	59
8	SEZNAM OBRÁZKŮ	69
9	SEZNAM TABULEK	70
10	SEZNAM ZKRATEK	71

1 ÚVOD

„Vzhledem k hlavnímu problému tzv. západního typu stravy, tj. typu diety s vysokým obsahem tuků, vedoucímu k obezitě a riziku poruchy lipidového metabolismu s následky aterosklerotického procesu na cévách, je třeba dodržovat základní pravidla kontrolovaného příjmu tuků.“, uvádí Svačina (2008). Z výživového hlediska jsou nejdůležitější složkou tuků mastné kyseliny. Mastné kyseliny se ve výživě člověka mohou uplatňovat jako vektor rizikových či naopak ochranných faktorů při vzniku a rozvoji některých chronických degenerativních onemocnění. Mastné kyseliny přítomné v potravinách lze v podstatě rozdělit do tří skupin. Jedná se o nasycené, mononenasycené a polynenasycené mastné kyseliny. Každá z těchto skupin má velmi odlišný vliv na lidské zdraví.

Celkově se doporučuje v potravě snížit příjem nutričně nepříznivě působících nasycených mastných kyselin. Velmi často jsou nasycené mastné kyseliny dávány do souvislosti s potravinami živočišného původu. Je třeba si však uvědomit, že podíl tuků v jednotlivých potravinách živočišného původu se značně liší a liší se i poměrové zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin. V posledních několika letech roste zájem konzumentů o tzv. zdraví prospěšné potraviny, respektive o potraviny, které mají optimální zastoupení základních živin.

V České republice je velmi oblíbenou potravinou živočišného původu vepřové maso, jeho spotřeba je stále na vysoké úrovni. Vepřové maso bývá často označováno jako potravina s vysokým obsahem tuku a ze zdravotního hlediska tedy nepříliš vhodná ke konzumaci. Ke všemu se v tuku vepřového masa nachází jen velmi malé množství prospěšných polynenasycených mastných kyselin. V mnohých studiích se však prokázalo, že na profil mastných kyselin v mase a tuku prasat má zásadní vliv složení krmiva. Přídavkem různých olejů lze tedy poměrně snadno upravovat složení mastných kyselin ve svalové a tukové tkáni jatečných prasat. Nabízí se tak způsob, jakým je možné ve vepřovém mase zvýšit obsah polynenasycených mastných kyselin, a tím tak zvýšit jeho nutriční hodnotu. Zvýšení obsahu polynenasycených mastných kyselin ve vepřovém mase znamená rovněž i snížení poměru PUFA n-6/n-3, který se ve vepřovém mase pohybuje okolo hodnoty 7. Odborníky na výživu je však doporučován poměr PUFA n-6/n-3 5:1 a nižší. Jako vhodný olej pro úpravu profilu mastných kyselin ve vepřovém mase a tuku z hlediska snížení poměru PUFA n-6/n-3 se jeví například lněný nebo rybí olej.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce s názvem Plynová chromatografie mastných kyselin ve vybraných živočišných tkáních bylo prostudovat vliv zastoupení mastných kyselin ve výživě člověka na metabolické pochody v jeho organismu a ve vztahu k rozvoji a prevenci civilizačních onemocnění. Zaměřit se zvláště na možnosti analýzy mastných kyselin metodou plynové chromatografie a provést tuto analýzu na vybraných živočišných tkáních a získané výsledky statisticky vyhodnotit.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Lipidy

Lipidy představují velmi heterogenní skupinu látek biologického původu. Jejich společnou vlastností je nerozpustnost ve vodě. Obecně se tedy vyznačují hydrofobním charakterem, který je dán nízkou přítomností polarizujících atomů kyslíku, dusíku, síry a fosforu. Naopak dobře rozpustné jsou v organických nepolárních rozpouštědlech, jako je methanol, aceton, chloroform nebo benzen (Kraml, 2008).

Lipidy patří, spolu s bílkovinami a sacharidy, mezi základní živiny. Jednou z hlavních funkcí základních živin je poskytovat organismu energii. Lipidy jsou energeticky nejvydatnějším potravním zdrojem, neboť jejich rozkladem se získá více než dvojnásobné množství energie v porovnání s bílkovinami či sacharidy. Z 1 g tuku se tedy uvolní až 38 kJ (Komprda, 2009). Kromě toho, že jsou lipidy pro organismus významným zdrojem energie, představují také důležitou energetickou rezervu, a to v podobě triacylglycerolů, které jsou uloženy ve specializovaných buňkách tukové tkáně – adipocytech. Podle potřeby jsou odtud mobilizovány ve formě volných mastných kyselin, jež mohou být dále oxidovány v mitochondriích příslušných tkání (Kraml, 2008). V biologických systémech zastávají lipidy řadu důležitých funkcí. Jednou z těchto funkcí je funkce stavební, kdy tvoří základní kostru všech biologických membrán. Velkou roli hrají také v tepelné izolaci organismu a jeho termoregulaci. V podobě podkožního tuku a tukových obalů některých vnitřních orgánů (např. srdce, ledvin) slouží jako mechanická ochrana (Fellnerová et al., 2014). Lipidy jsou rovněž významnou složkou nervové tkáně, podílejí se na přenosu nervových vzruchů. Myelin, který obaluje axony, což jsou dlouhé výběžky nervových buněk, je z velké části tvořen lipidy. V podstatě se jedná o lipoproteinový komplex. V periferním nervovém systému (PNS) je myelin tvořen v procesu myelinizace Schwannovými buňkami, v centrálním nervovém systému (CNS) je tvořen oligodendrocyty. V průběhu aktivní fáze myelinizace vytvoří tyto buňky obrovské množství lipidů v relativně krátkém časovém období. Hlavní funkcí lipidů v myelinové pochvě, jež obklopuje axony, je elektrická izolace, díky níž je usnadněn přenos nervových vzruchů (Schmitt et al., 2015). Lipidy jsou zároveň výchozími substráty pro syntézu některých látek (steroidních hormonů, prostaglandinů atd.), nezbytné jsou i pro vstřebávání vitaminů rozpustných v tucích (Klimešová, Stelzer, 2013). Uplatňují se také v buněčné signalizaci, kdy například

steroidy, eikosanoidy a některé fosfolipidy fungují jako signální molekuly, a to tak, že vykonávají funkci hormonů, mediátorů nebo tzv. druhých messengerů (Kraml, 2008). Lipidy mají značný vliv i na sensorické vlastnosti potravin, zvýrazňují chuť a aroma konzumované potraviny (Shahidi, 2006).

Nadměrný příjem lipidů a jejich nevhodné složení má negativní dopad na zdravotní stav, což vyplývá z celé řady epidemiologických a klinických studií, jež se zabývaly vztahem mezi vysokým příjmem lipidů a výskytem dyslipoproteinémie, aterosklerózy a nadváhy. Na základě výsledků těchto studií se doporučuje příjem lipidů snížit (Společnost pro výživu, 2011). U dospělého, lehce pracujícího člověka by denní příjem lipidů neměl překročit 30 % z celkového energetického příjmu, v případě zvýšeného energetického výdeje by neměl překročit 35 % (Dostálová et al., 2012). Z hlediska zajištění dostatečného příjmu esenciálních mastných kyselin a vitaminů rozpustných v tucích by zároveň příjem lipidů neměl klesnout pod 20 % (Kunešová, 2016).

3.1.1 Rozdělení lipidů

V současné době existuje několik způsobů dělení lipidů (Matouš, 2010). Jedním z těchto způsobů je rozdělení na jednoduché a složené lipidy. Mezi jednoduché lipidy patří acylglyceroly a vosky. Acylglyceroly jsou estery vyšších mastných kyselin a trojsytného alkoholu glycerolu. Podle počtu esterifikovaných hydroxylových skupin glycerolu se rozlišují monoacylglyceroly, diacylglyceroly a triacylglyceroly (Fellnerová et al., 2014). Monoacylglyceroly a diacylglyceroly se vyskytují převážně jen jako meziproducty metabolismu nebo jako signální molekuly (Kodíček et al., 2015). Biologicky největší význam mají triacylglyceroly (TAG), které jsou hlavními složkami většiny přírodních tuků a olejů. Rozdíl mezi tuky a oleji je ve skupenství při pokojové teplotě (Gunstone et al., 2007). O bodu tání rozhoduje délka řetězce a zastoupení dvojných vazeb v mastných kyselinách vázaných v triacylglycerolech. Bod tání je tím nižší, čím kratší jsou řetězce mastných kyselin nebo čím více dvojných vazeb obsahují (Koolman, Röhm, 2012). Tuky jsou při pokojové teplotě tuhé, protože jsou složeny z triacylglycerolů obsahujících převážně nasycené mastné kyseliny. Naopak oleje, jejichž triacylglyceroly obsahují hlavně nenasycené mastné kyseliny, jsou při pokojové teplotě tekuté (Svačina, 2008). Podle biologického původu rozlišujeme rostlinné a živočišné tuky a oleje (Matouš, 2010). Vedle acylglycerolů spadají pod jednoduché lipidy i vosky. Jedná se o estery vyšších mastných kyselin a vyšších jednosytných

alkoholů. Vyskytují se přirozeně jak u rostlin, tak u živočichů. Charakteristická je pro ně odolnost vůči hydrolýze a vůči enzymatickému štěpení, proto jsou pro živočichy nestravitelné (Szűčová, 2011).

Složené lipidy obsahují kromě alkoholu a mastných kyselin ještě další látky, například kyselinu fosforečnou, sacharidy, proteiny aj. Nejvýznamnějšími zástupci této skupiny jsou fosfolipidy, glykolipidy a lipoproteiny. Lipoproteiny zajišťují transport lipidů ve vodném prostředí krve. Glykolipidy a zejména pak fosfolipidy jsou základními stavebními prvky všech biologických membrán (Fellnerová et al., 2014). Membránové lipidy se vyznačují amfipatickým (amfifilním) charakterem, neboť jejich molekuly jsou tvořeny jak hydrofobní, tak hydrofilní částí. Hydrofobní části molekul se snaží styk s vodou minimalizovat, kdežto hydrofilní části naopak dávají styku s vodným prostředím přednost. Díky této skutečnosti vytvářejí amfipatické molekuly lipidů ve vodném prostředí uspořádané struktury. To má zásadní význam pro tvorbu biologických membrán (Aureli et al., 2015).

Dalším možným způsobem dělení lipidů je rozdělení na homolipidy, heterolipidy a komplexní lipidy. V komplexních lipidech se vyskytují jak homolipidy, tak i heterolipidy, avšak uplatňují se zde i jiné vazby než kovalentní, například vodíkové vazby nebo hydrofobní interakce. V tomto případě pak do skupiny komplexních lipidů spadají právě lipoproteiny (Velíšek, Hajšlová, 2009). Analytický, ale i fyziologický význam má dělení na lipidy nepolární (neutrální) a lipidy polární (Komprda, 2003). Mezi nepolární lipidy patří triacylglyceroly a mezi polární lipidy fosfolipidy a steroly (Svačina, 2008).

Specifickou skupinou fyziologicky účinných látek, jež s lipidy úzce souvisí, jsou steroidy. Základní kostru steroidů tvoří tetracyklický uhlovodík steran, a právě tím se steroidy od samotných lipidů liší. Jejich společnou vlastností je pak nerozpustnost ve vodě (Matouš, 2010). Mezi steroidy patří řada pro organismus významných sloučenin, například steroidní alkoholy – steroly, pohlavní hormony, hormony kůry nadledvin nebo žlučové kyseliny (Sikorski, Kołakowska, 2003). Steroly lze podle původu rozdělit na rostlinné (fytoosteroly), živočišné (zoosteroly) a steroly hub a plísní (mykosteroly; Matouš, 2010).

3.1.2 Trávení lipidů

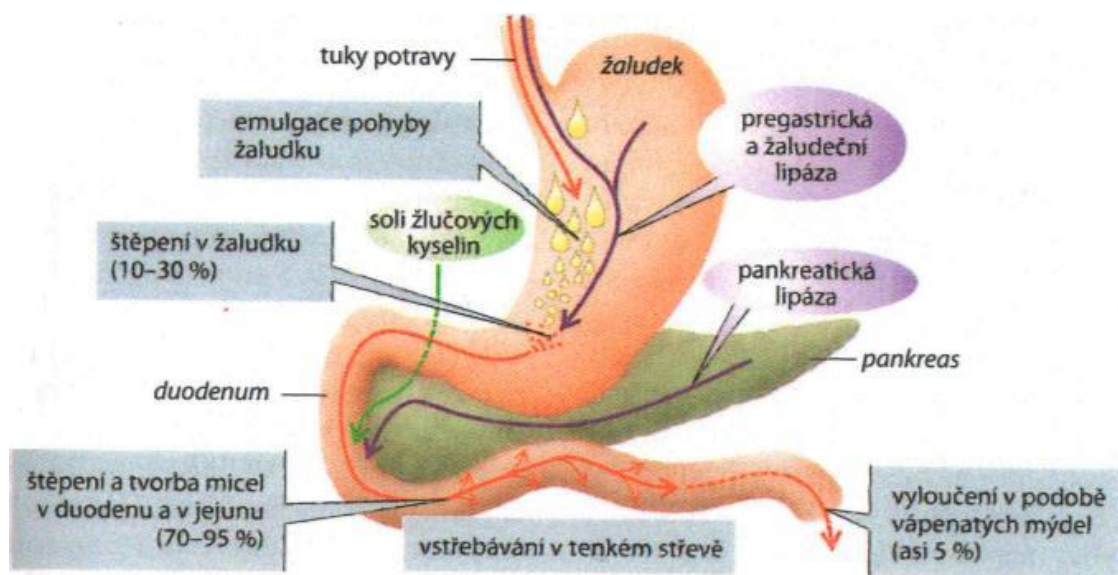
Dospělý člověk během dne přijme v potravě asi 70-150 g lipidů. Hlavními lipidy přijímanými v potravě jsou triacylglyceroly. Ty představují zhruba 90 % všech lipidů přijímaných potravou. Zbytek pak tvoří cholesterol, jeho estery, fosfolipidy a volné mastné kyseliny (Matouš, 2010; Holeček, 2016). Všechny lipidy významné pro metabolické pochody v organismu člověka obsahují jako základní stavební složku alkohol (glycerol nebo sfingosin), na něhož jsou esterově navázány MK (Koolman, Röhm, 2012). Cholesterol se řadí mezi doprovodné látky lipidů. Z hlediska strukturního patří mezi steroidy (Komprda, 2006).

Malá část lipidů, převážně tedy triacylglycerolů, je štěpena již v dutině ústní jazykovou (linguální) lipázou, která je produkována Ebnerovými žlázami na dorzálním povrchu jazyka (Holeček, 2016; Ganong, 2005). Tato lipáza je odolná vůči kyselému prostředí a pokračuje tedy ve štěpení lipidů i v žaludku. V žaludku na triacylglyceroly působí žaludeční (gastrická) lipáza produkována žaludečními žlázami, tedy především hlavními buňkami a buňkami krčků (Kittnar, 2011). Asi 10-30 % triacylglycerolů se rozštěpí již v žaludku, kde je kyselé pH, které je pro činnost jazykové a žaludeční lipázy optimální (Silbernagl, Despopoulos, 2016). Pro optimální činnost lipáz je nezbytná také emulgace tuků, která nabízí enzymům větší povrch ke štěpení. V žaludku jsou tuky emulgovány mechanicky – motilitou žaludku (Kittnar, 2011). Trávení lipidů v žaludku nemá u dospělých jedinců příliš velký význam. Uplatňuje se hlavně u kojenců, pro které je tuk hlavním zdrojem energie. Aktivita žaludeční lipázy je u kojenců vysoká a postupně klesá. Působením této lipázy dochází k uvolňování mastných kyselin s krátkým řetězcem, které se běžně vyskytují v mléčném tuku. Tyto kyseliny se v žaludku vstřebávají a následně přecházejí do portálního oběhu (Havlík, Marounek, 2013).

Většina lipidů přijatých potravou je štěpena až v tenkém střevě působením pankreatické lipázy, která je produkována acinárními buňkami pankreatu. V tenkém střevě, tedy zejména v duodenu (dvanáctník) a horním jejunu (lačnick) dojde k rozštěpení dalších asi 70-90 % lipidů přijatých potravou. Je zde neutrální pH, které je pro činnost pankreatické lipázy optimální. Nejvýznamnějšími emulgátory v tenkém střevě jsou soli žlučových kyselin a lecitin, které se do duodena dostávají žlučí vznikající v játrech (Ganong, 2005; Kittnar, 2011). Působením solí žlučových kyselin a lecitinu vznikají tukové kapénky o velikosti 1-2 μm . Lipolytický účinek pankreatické

lipázy je podmíněn přítomností kolipázy, což je enzym pankreatické šťávy, který vytváří na povrchu kapének emulgovaných tuků komplex se žlučovými kyselinami a zpřístupňuje tak jednotlivé molekuly triacylglycerolů hydrolytickému štěpení (Kittnar, 2011; Holeček, 2016). Působením pankreatické lipázy se z triacylglycerolů přednostně odštěpují MK vázané v poloze 1 a 3, kdežto MK vázané uprostřed molekuly, tedy v poloze 2 jsou odštěpovány jen velmi pomalu. Produkty této hydrolýzy jsou 2-monoacylglyceroly a volné MK. Úplné hydrolýze podléhá jen asi čtvrtina triacylglycerolů (Havlík, Marounek, 2013). Výsledkem trávení triacylglycerolů je tedy směs diacylglycerolů a monoacylglycerolů s mastnými kyselinami a glycerolem (Kittnar, 2011).

Obdobně podléhají štěpení i další potravou přijímané lipidy (estery cholesterolu a fosfolipidy). Na jejich štěpení se podílejí další enzymy pankreatické šťávy (Kittnar, 2011). Estery cholesterolu jsou hydrolyzovány působením pankreatické cholesterolesterázy a produktem této hydrolýzy je cholesterol a volné MK. Fosfolipidy jsou štěpeny vlivem fosfolipázy A₂, která odštěpuje mastnou kyselinu navázanou v poloze 2 fosfolipidu za vzniku lysofosfolipidu a volné MK. Fosfolipáza A₂ se ve formě proenzymu tvoří v pankreatu a aktivována je trypsinem v duodenu (Matouš, 2010). Spolu s lipidy (triacylglyceroly, fosfolipidy, sfingolipidy) a s cholesterolem se do střev dostávají i vitamíny rozpustné v tucích (Ledvina et al., 2009). Trávení lipidů v žaludku a v tenkém střevě je znázorněno na obr. 1.



Obr. 1 Trávení lipidů v žaludku a v tenkém střevě (Silbernagl, Despopoulos, 2016)

Trávení lipidů reguluje peptidový hormon cholecystokinin, který produkují buňky mukosy duodena a horního jejunu. Tento hormon působí jak na sekreci žluče, tak i na exokrinní buňky pankreatu. Kromě toho snižuje motilitu žaludku, a tím reguluje množství tráveniny (chymu), která přichází do duodena. Dalším peptidovým hormonem, který vzniká ve střevních buňkách, je sekretin, ten zvyšuje produkci pankreatické šťávy a hydrogenuhličitanu, který je potřebný pro vytvoření optimálního pH střevního obsahu, čímž zajišťuje optimální funkci trávicích enzymů (Matouš, 2010).

3.1.3 Resorpce lipidů

Resorpce lipidů je největší v horních částech tenkého střeva, kde se při běžném složení potravy resorbují více než 95 % lipidů. Produkty trávení lipidů vytvářejí ve střevním lumen společně se žlučovými kyselinami micely. Ty jsou velmi dobře rozpustné ve vodném prostředí střevního lumen. Uprostřed micel se nacházejí monoacylglyceroly, cholesterol a mastné kyseliny, na povrchu jsou polární konce žlučových kyselin a fosfolipidů. Po kontaktu micel s mikroklyky difundují jejich lipidové složky, tedy mastné kyseliny, cholesterol a monoacylglyceroly do střevních buněk – enterocytů. Na transportu mastných kyselin se vedle prosté difuze podílí i facilitovaná difuze, a to pomocí systému FATP (fatty acid transport protein). FATP je skupina nejméně šesti odlišných proteinů exprimovaných ve střevě, tukové tkáni a v kosterním svalstvu (Holeček, 2016).

Žlučové kyseliny z rozpadlých micel postupují střevem dál a vstřebávají se až v ileu (kyčelník) aktivním transportem. Zhruba 5-10 % žlučových kyselin přechází do stolice. Vstřebané žlučové kyseliny se portální krví vrací do jater a poté jsou opět secernovány do žluče. Jedná se o enterohepatální oběh žlučových kyselin (Havlík, Marounek, 2013).

Resorbované mastné kyseliny jsou v cytozolu enterocytů transportovány ve vazbě na FABP (fatty acid binding protein) k hladkému endoplazmatickému retikulu, kde jsou společně s monoacylglyceroly použity k resyntéze triacylglycerolů nebo k esterifikaci cholesterolu. Syntéza triacylglycerolů v enterocytech probíhá monoacylglycerolovou dráhou, v níž se 2-monoacylglyceroly získané hydrolýzou triacylglycerolů nebo fosfolipidů potravy postupně přeměňují pomocí monoacylglyceroltransferázy a diacylglyceroltransferázy na 1,2-diacylglyceroly a triacylglyceroly (Holeček, 2016). Za opětovnou acylaci lysofosfolipidů a cholesterolu ve střevních buňkách, tedy

za tvorbu fosfolipidů a esterů cholesterolu jsou rovněž odpovědné specifické acyltransferázy (Matouš, 2010).

Vzhledem k tomu, že jsou triacylglyceroly i cholesterol hydrofobní látky, shlukují se v cytoplazmě střevních buněk a tyto shluky se obklopují amfipatickými lipidy (fosfolipidy, cholesterol), čímž se tak vytváří základ pro transportní částice označované jako chylomikra. Plně vytvořená chylomikra mají na svém povrchu i specifické proteiny syntetizované střevními buňkami (Matouš, 2010). Chylomikra se uvolňují exocytózou do mezibuněčných prostorů a odtud jsou přenášena lymfatickými cévami do krve (Holeček, 2016).

Část mastných kyselin s krátkým a středním uhlovodíkovým řetězcem (do 10 atomů uhlíku) není po vstupu do enterocytu využita pro tvorbu triacylglycerolů, ale je transportována portální žílou (*vena portae*) přímo do jater. Tyto mastné kyseliny, jež mají polární charakter, jsou v krevním oběhu asociovány s albuminem (Holeček, 2016; Matouš, 2010).

3.1.4 Poruchy trávení a resorpce lipidů

K poruchám trávení a vstřebávání lipidů dochází nejčastěji při onemocnění exokrinní části pankreatu, žlučových cest a jater. V takovém případě se ve stolici nachází velké množství tuků a tento stav se označuje jako steatorhea. Zároveň dochází i k poruchám resorpce látek rozpuštěných v tucích (např. vitamínů). Porucha trávení a vstřebávání lipidů provázená steatorheou může vzniknout i při inhibici pankreatické lipázy nízkým pH v duodenu, například při nadměrné produkci kyselé žaludeční šťávy u gastrinomu (Holeček, 2016; Ledvina et al., 2009).

3.2 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou základním stavebním prvkem lipidů, velký význam mají i z hlediska nutričního (Velíšek, Hajšlová, 2009). Základem jejich struktury je alifatický uhlovodíkový řetězec, na jehož jednom konci se nachází karboxylová skupina (-COOH) a na druhém konci methylová skupina (CH₃-). Prostřednictvím karboxylové skupiny tvoří snadno estery s alkoholy, například s glycerolem, sfingosinem nebo také s cholesterolem. Vyskytují se však i v neesterifikované formě jako volné mastné kyseliny (Nicolaou, Kokotos, 2004). Většina běžně se vyskytujících MK má lineární řetězec, který je obvykle tvořen sudým počtem uhlíkových atomů (Gurr et al., 2002).

Nejčastější jsou MK s 12-24 atomy uhlíku (Svačina, 2008). V minoritním množství se vyskytují i MK s rozvětveným řetězcem, s lichým počtem atomů uhlíku v řetězci a také substituované MK (Gurr et al., 2002).

Mastné kyseliny lze podle délky řetězce rozdělit na MK s krátkým řetězcem, které mají méně než 6 atomů uhlíku (SCFA – short chain fatty acids), se středně dlouhým řetězcem tvořené 6-10 atomy uhlíku (MCFA – medium chain fatty acids), s dlouhým řetězcem tvořené 12-18 atomy uhlíku (LCFA – long chain fatty acids) a s velmi dlouhým řetězcem, které mají více jak 18 atomů uhlíku (VLCFA – very long chain fatty acids; Pohanka, 2015; Koolman, Röhm, 2012).

Dle stupně nasycení se mastné kyseliny dělí na nasycené a nenasycené. V nasycených MK, označovaných často také jako satureované MK (SFA), se nevyskytuje žádná dvojná vazba. Naopak v nenasycených MK se vyskytuje jedna nebo více dvojných vazeb a na základě toho se pak rozlišují mononenasycené MK (MUFA) s jednou dvojnou vazbou a polynenasycené MK (PUFA) s více dvojnými vazbami (Erdman et al., 2012). V polynenasycených MK jsou dvojně vazby obvykle odděleny jednou methylenovou skupinou (-CH₂-), tvoří tak izolovaný systém dvojných vazeb. Existují však i MK s konjugovaným systémem dvojných vazeb, kdy jsou od sebe sousední dvojně vazby odděleny pouze jednou jednoduchou vazbou. Čím více dvojných vazeb MK obsahují, tím více jsou náchylné k oxidaci (Belitz et al., 2008).

Pro dvojně vazby nacházející se v molekulách nenasycených MK je typická geometrická izomerie. Atomy vodíku vázané na atomech uhlíku, mezi nimiž je dvojná vazba, mohou zaujmout vzhledem k rovině, která touto dvojnou vazbou pomyslně prochází, různou polohu. Na základě toho mohou být dvojně vazby v nenasycených MK v *cis*- nebo v *trans*-konfiguraci. Jestliže jsou oba atomy vodíku na stejné straně dvojně vazby, jedná se o *cis*-konfiguraci, v případě, že je však každý atom vodíku na jiné straně, jedná se o *trans*-konfiguraci (Akoh, Min, 2008). Tento nepatrný rozdíl se projeví ve tvaru uhlovodíkového řetězce a následně také ve fyzikálně-chemických vlastnostech MK (Holeček, 2016). U MK s dvojnými vazbami v *cis*-konfiguraci dochází v místě této dvojně vazby k ohybu řetězce. Prostorové zakřivení uhlovodíkového řetězce se zvětšuje s rostoucím počtem *cis*-dvojných vazeb. Například v molekule kyseliny arachidonové jsou čtyři takovéto dvojně vazby a její řetězec tak svým tvarem připomíná písmeno U. Přítomnost dvojně vazby v konfiguraci *trans*- naopak nemá na vzhled molekuly příliš velký vliv. Řetězec *trans*-mastné kyseliny je napřímený a podobá se tak řetězci

nasyčené MK (Belitz et al., 2008). MK jako součást fosfolipidů tvoří základní strukturu všech buněčných membrán. Počet dvojných vazeb v *cis*-konfiguraci významně ovlivňuje fluiditu membrán. Vzhledem k přítomnosti těchto vazeb je řetězec MK zakřiven a zaujímá tak větší prostor, což se projeví zvýšenou fluiditou. Naopak přítomnost MK s dvojnými vazbami v *trans*-konfiguraci vnáší do membrány rovné řetězce, které zaujímají menší prostor a snižují tak její fluiditu (Žák, Macásek, 2011).

Ve většině přirozeně se vyskytujících nenasycených MK převažuje *cis*-konfigurace, proto se obvykle v názvu MK ani speciálně neoznačuje (Klimešová, Stelzer, 2013). *Cis*-konfigurace a určitá poloha dvojných vazeb v řetězci je předpokladem pro biologickou účinnost esenciálních MK a pro tvorbu eikosanoidů (Společnost pro výživu, 2011). Pokud je však dvojná vazba v *trans*-konfiguraci, má daná MK při stejném sumárním chemickém vzorci zcela odlišné fyziologické vlastnosti (Komprda, 2003).

Na délce řetězce, počtu a izomerii dvojných vazeb významně závisí fyzikálně-chemické vlastnosti MK. Bod tání MK se zvyšuje s rostoucí délkou řetězce a klesá s přibývajícím počtem dvojných vazeb a současně *trans*-izomery mají vyšší bod tání než *cis*-izomery (Klimešová, Stelzer, 2013).

Pro označování MK se velmi často používají triviální názvy, méně často pak názvy systematické. K přesnému vyjádření struktury se používá i zkrácený zápis vycházející ze vzorce CN:pn-x, kde C je atom uhlíku, N představuje celkový počet uhlíkových atomů, p je počet dvojných vazeb a x vyjadřuje polohu první dvojně vazby v řetězci (Žák, Macásek, 2011). Uhlíkové atomy se číslují od karboxylového uhlíku (uhlík číslo 1). Další uhlíkové atomy vedle tohoto karboxylového uhlíku (čísla 2, 3, 4 atd.) se označují také jako α -, β -, γ -uhlíky (Murray, 2012). Pro vyjádření polohy první dvojně vazby se však naopak čísluje od koncového methylového uhlíku, který je označován jako n-uhlík (Holeček, 2016). Z hlediska fyziologie výživy má velký význam dělení nenasycených MK do řad n-3, n-6 a n-9 (Komprda, 2003). Přehled nejčastěji se vyskytujících mastných kyselin v potravinách, jejich triviální a systematické názvy včetně zkrácených zápisů uvádí tab. 1.

Tab. 1 Přehled nejčastěji se vyskytujících MK v potravinách (Erdman et al., 2012)

Triviální název	Systematický název	Zkratka
Nasyčené mastné kyseliny		
k. máselná	k. butanová	C 4:0
k. kapronová	k. hexanová	C 6:0
k. kaprylová	k. oktanová	C 8:0
k. kaprinová	k. dekanová	C 10:0
k. laurová	k. dodekanová	C 12:0
k. myristová	k. tetradekanová	C 14:0
k. palmitová	k. hexadekanová	C 16:0
k. stearová	k. oktadekanová	C 18:0
Mononenasyčené mastné kyseliny		
k. palmitolejová	k. <i>cis</i> -9-hexadecenová	C 16:1n-7
k. olejová	k. <i>cis</i> -9-oktadecenová	C 18:1n-9
k. elaidová	k. <i>trans</i> -9-oktadecenová	C 18:1n-9
Polynenasycené mastné kyseliny		
k. linolová (LA)	k. all- <i>cis</i> -9,12-oktadekadienová	C 18:2n-6
k. α -linolenová (ALA)	k. all- <i>cis</i> -9,12,15-oktadekatrienová	C 18:3n-3
k. γ -linolenová (GLA)	k. all- <i>cis</i> -6,9,12-oktadekatrienová	C 18:3n-6
k. arachidonová (AA)	k. all- <i>cis</i> -5,8,11,14-eikosatetraenová	C 20:4n-6
k. eikosapentaenová (EPA)	k. all- <i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentaenová	C 20:5n-3
k. dokosahexaenová (DHA)	k. all- <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová	C 22:6n-3

3.2.1 Zdroje a účinky jednotlivých skupin mastných kyselin na organismus

Mastné kyseliny člověk přijímá v potravě většinou vázané v neutrálních lipidech – triacylglycerolech nebo ve fosfolipidech a glykolipidech. Jak již bylo zmíněno, přibližně 90 % přijímaných lipidů tvoří právě triacylglyceroly (Komprda, 2003, Klouda, 2013). MK jako součást triacylglycerolů jsou z hlediska výživy nejen důležitým zdrojem energie, ale jsou i významným faktorem ovlivňujícím zdraví. Z hlediska rozvoje některých závažných onemocnění se MK uplatňují jako vektor rizikových nebo naopak preventivních (ochranných) faktorů. Tuky v potravě jsou v podstatě složeny

z mastných kyselin tří skupin, přičemž každá skupina má velmi odlišný vliv na lidské zdraví. Jedná se o nasycené, mononenasycené a polynenasycené MK. V potravě se všechny tři skupiny MK obvykle nacházejí společně (Štejfa, 2007).

3.2.1.1 *Nasycené mastné kyseliny*

Nasycené MK se vyskytují ve vyšším množství v tukích živočišného původu (s výjimkou rybího oleje) a také v některých tucích rostlinného původu (např. kokosový, palmový a palmojádrový olej; Babička, 2016).

Nadbytek některých nasycených MK ve stravě nepříznivě ovlivňuje cholesterolémii a hladinu lipoproteinů podporujících rozvoj aterosklerózy (Mourek, 2007). Účinky nasycených MK na lidský organismus se liší podle délky uhlovodíkového řetězce. Nasycené MK s krátkým a středně dlouhým řetězcem, tedy všechny nasycené MK do délky řetězce C10, jsou resorbovány a transportovány portální žílou (*vena portae*) přímo do jater, kde se metabolizují, a nemají tudíž vliv na hladinu sérového cholesterolu. Tyto MK jsou obsaženy zejména v mléčném tuku (Kunešová, 2016; Havlík, Marounek, 2013).

Z nasycených MK mají z hlediska výživy největší význam kyseliny s dlouhým řetězcem: kyselina laurová (C 12:0), myristová (C 14:0), palmitová (C 16:0) a stearová (C 18:0; EFSA, 2010). Tyto MK představují 80-90 % všech nasycených MK přijímaných potravou (Žák, Macášek, 2011). Kyseliny laurová, myristová a palmitová bývají označovány jako aterogenní, neboť snižují aktivitu LDL receptorů na povrchu jaterních buněk (hepatocytů), čímž brání přechodu cholesterolu do jater a následně do žluče (Havlík, Marounek, 2013). Celkově působí negativně na hladinu sérového cholesterolu, zvyšují hladinu LDL-cholesterolu (nepříznivá frakce), snižují hladinu HDL cholesterolu (příznivá frakce) a zvyšují také hladinu celkových triacylglycerolů (Komprda, 2003). Jejich účinek na vzrůst hladiny LDL-cholesterolu klesá v řadě C 12:0 > C 14:0 > C 16:0 a účinek na pokles hladiny HDL-cholesterolu v řadě C 14:0 > C 12:0 > C 16:0 (Žák, Macášek, 2011). Kvůli svým negativním účinkům na krevní lipidy zvyšují tyto nasycené MK celkové kardiovaskulární riziko (Štejfa, 2007). Kyselina stearová, ačkoliv je nasycenou MK, se ve vztahu k cholesterolu chová neutrálně (Havlík, Marounek, 2013). Při příjmu tuků do 30 % energetického příjmu by měl podíl nasycených MK tvořit maximálně jednu třetinu veškerého příjmu, což odpovídá 10 % celkové energie (Společnost pro výživu, 2011).

3.2.1.2 Mononenasyčené mastné kyseliny

Mononenasyčené MK se hojně vyskytují především v olivovém, řepkovém a sójovém oleji, dále například v avokádu a ořeších (Klimešová, Stelzer, 2013). Kvantitativně nejdůležitějším zástupcem mononenasyčených MK ve stravě je kyselina olejová (C 18:1n-9). Jejím nejbohatším zdrojem je olivový olej, který obsahuje více než 70 % této MK (EFSA, 2010).

Kyselina olejová vykazuje antiaterogenní a antitrombotické účinky. Antiaterogenní poměr HDL-cholesterolu k LDL-cholesterolu příznivě ovlivňuje tím, že zvyšuje hladinu HDL-cholesterolu a snižuje hladinu LDL-cholesterolu a triacylglycerolů a dále také snižuje agregabilitu krevních destiček. Pozitivně působí i z hlediska oxidace lipoproteinů, neboť její inkorporací do plazmatických lipidů se zvýší jejich odolnost vůči lipoperoxidaci (Žák, Macášek, 2011). Lopez-Huertas (2010) uvádí, že náhradí-li se zhruba 5 % energie přijaté z nasycených MK kyselinou olejovou dojde ke snížení rizika koronárního srdečního onemocnění o 20-40 %, a to hlavně díky snížení hladiny LDL-cholesterolu. Podíl mononenasyčených MK na celkovém energetickém příjmu by měl být 10-15 % (Béder, 2005).

3.2.1.3 Polynenasycené mastné kyseliny

Jako polynenasycené MK se označují MK obsahující v molekule dvě až šest dvojných vazeb (Komprda et al., 2015). Mezi polynenasycenými MK se rozlišují MK řady n-6, jejichž hlavním zástupcem je kyselina linolová (LA; C 18:2n-6), a MK řady n-3 s hlavním zástupcem kyselinou α -linolenovou (ALA; C 18:3n-3; Kunešová, 2016). Obě tyto MK jsou pro člověka esenciální, tudíž je nutné je přijímat v potravě. Jejich endogenní syntéza není možná, protože organismus člověka není schopen zavést dvojnou vazbu na určitá místa v molekule MK (Bradbury, 2011). Hlavními zdroji kyseliny linolové jsou rostlinné oleje, například slunečnicový, sójový, sezamový a olej z kukuřičných klíčků (Béder, 2005). Zdrojem kyseliny α -linolenové jsou hlavně lněná semínka, vlašské ořechy, řepkový olej, méně pak lískové ořechy a mandle. Ve velkém množství se nachází hlavně ve lněném oleji (Svačina, Bretšnajdrová, 2008). Esenciální MK jsou hojně obsaženy také v mateřském mléce, neboť jsou důležité pro rychle se rozvíjející organismus, zejména pro centrální nervový systém dítěte (Zlatohlávek, 2016).

Při nedostatku esenciálních MK dochází v mnoha tkáních (hlavně v buněčných membránách) ke změnám ve složení lipidů a zároveň se také snižuje účinnost oxidace MK v mitochondriích (Svačina, 2010). V buněčných membránách jsou chybějící esenciální MK nahrazeny neesenciálními, a to především MK patřícími do řady n-9 (Zadák, 2008). Pokud je ve výživě nedostatek kyseliny linolové projevuje se to suchostí kůže, ztrátou vlasů a zhoršeným hojením ran. Pravděpodobná je i porucha růstu a reprodukce (Svačina, 2010). Při nedostatku kyseliny α -linolenové se mohou vyskytovat poruchy vidění, svalová slabost, třes a poruchy povrchového i hlubokého cití (Společnost pro výživu, 2011). U dospělého člověka by se denní příjem kyseliny linolové měl pohybovat v množství okolo 2,5 % celkového energetického příjmu, v případě kyseliny α -linolenové by celkový energetický příjem měl být zhruba 0,5 %. Vzhledem k zásobám v tukové tkáni, ale i relativně malé potřebě a jejich hojnému zastoupení v potravinách se nedostatek esenciálních MK u dospělých osob téměř nevyskytuje. S nedostatkem je však nutné počítat u osob, které trpí chronickou malabsorpcí tuků nebo při umělé výživě neobsahující tukové emulze (Zadák, 2008; Společnost pro výživu, 2011).

Obě esenciální MK jsou dále metabolizovány stejnou sadou enzymů, a sice elongázami, které molekulu MK prodlužují a desaturázami, které v molekule MK zvyšují počet dvojných vazeb (Komprda et al., 2015). Fyziologicky nejvýznamnějším metabolitem kyseliny linolové je kyselina arachidonová (AA; C 20:4n-6; Komprda, 2003). Kyselina arachidonová se primárně vyskytuje ve fosfolipidech buněčných membrán. V potravě je přítomna především v živočišných produktech, například v mase, játrech a vejcích (Havlík, Marounek, 2013). Nejvýznamnějšími metabolity kyseliny α -linolenové jsou kyseliny eikosapentaenová (EPA; C 20:5n-3) a dokosahexaenová (DHA; C 22:6n-3; Komprda, 2003). Zdrojem těchto dvou polynenasycených MK kyselin jsou hlavně tučné mořské ryby, jako například makrela, tuňák nebo losos (Svačina, Bretšnajdrová, 2008). Komprda (2003) uvádí, že by příjem EPA a DHA měl být ideálně 1,25 g/den. Podle Hallenstvedt et al. (2010) má již příjem pouhých 500 mg/den zajistit snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění.

Kyseliny arachidonová, eikosapentaenová a dokosahexaenová jsou dále metabolizovány pomocí enzymů cyklooxygenáz a lipoxygenáz na biologicky účinné eikosanoidy, což jsou cyklické struktury s dvaceti uhlíky, mezi něž patří prostaglandiny tvořené v trombocytech (krevní destičky), leukotrieny vznikající v endotelových

buňkách (cévní výstelka) a tromboxany syntetizované v leukocytech (složka imunitního systému). Eikosanoidy mají v organismu člověka rozdílné fyziologické účinky (Komprda et al., 2015; Komprda, 2003).

Eikosanoidy vytvořené z kyseliny arachidonové a z kyseliny eikosapentaenové ovlivňují funkce hladkého svalstva, endotelií, monocytů, trombocytů a rovněž i imunitní a zánětlivé reakce. Přitom působí částečně antagonisticky (Společnost pro výživu, 2011). Ty eikosanoidy, které jsou odvozeny od kyseliny arachidonové působí prozánětlivě, proagregačně a vazokonstrikčně (smrštění cév), čímž zvyšují riziko kardiovaskulárních a autoimunitních onemocnění. Naopak eikosanoidy odvozené od kyseliny eikosapentaenové a dokosahexaenové mají účinky protizánětlivé, antitrombotické, vazodilatační (uvolnění cév) a antiarytmické, díky čemuž hrají významnou roli v prevenci aterosklerózy, kardiovaskulárních onemocnění, hypertenze, zánětlivých a autoimunitních onemocnění, některých druhů rakoviny a diabetu (Komprda, 2006).

Polynenasycené mastné kyseliny jsou tedy nezbytné pro tvorbu eikosanoidů, fosfolipidů a prostřednictvím transkripčních faktorů (např. SREBP a PPAR) se účastní regulace exprese genů, které řídí metabolismus lipidů a sacharidů (Holeček, 2016). Dobrý fyziologický stav člověka je z významné části podmíněn optimálním poměrem PUFA řady n-6 a n-3. (Mourek, 2007). Poměr PUFA n-6/n-3 v lidské stravě by se měl ideálně co nejvíce blížit hodnotě 1. V hospodářsky vyspělých zemích je však podstatně vyšší, často dosahuje hodnoty 20-30. Důsledkem nevyváženého poměru PUFA n-6/n-3 je zvýšené riziko chronických degenerativních onemocnění. Jelikož v rámci současné stravy tzv. západního typu není prakticky možné poměru 1 : 1 dosáhnout, mělo by být dosahováno alespoň kompromisního poměru 5 : 1 (Komprda, 2009).

Polynenasycené mastné kyseliny mají na organismus příznivé účinky pouze tehdy, pokud jsou jejich dvojně vazby v *cis*-konfiguraci. Po přeměně na *trans*-formu, např. při průmyslové hydrogenaci nebo oxidaci se pozitivní účinky vytrácejí a naopak se tak polynenasycené mastné kyseliny stávají rizikovějšími než nasycené mastné kyseliny (Béder, 2005). Polynenasycené mastné kyseliny, především ty s větším počtem dvojných vazeb, jsou náchylné k oxidaci a jejich příjem by tak měl být krytý dostatečným příjmem vitamínu E, což je významný, v tucích rozpustný antioxidant. Doporučuje se příjem 0,6 mg vitamínu E na 1 g polynenasycených mastných kyselin (Komprda, 2003).

3.2.1.4 *Trans-mastné kyseliny*

Jak mononenasyčené, tak polynenasycené MK mají své *trans*-izomery (Štejf, 2007). MK s dvojnými vazbami v *trans*-konfiguraci vznikají přirozeně činností bakterií v trávicím traktu přežvýkavců a jsou tedy obsaženy v tuku těchto zvířat, tudíž se běžně vyskytují v hovězím a jehněčím mase, mléce a mléčných produktech (Watson, 2009).

Ve větším množství jsou *trans*-mastné kyseliny obsaženy v průmyslově vyráběných tucích, k jejichž výrobě se používá proces označovaný jako parciální katalytická hydrogenace. Při tomto procesu dochází jednak k nasycení některé z dvojných vazeb přítomných v řetězci a jednak ke konverzi *cis*-izomeru na *trans*-izomer. Proces hydrogenace vede ke změně fyzikálních, ale i sensorických vlastností daného, původně kapalného rostlinného oleje. Výsledný tuk má tuhou konzistenci (*trans*-izomery mají vyšší bod tání než *cis*-izomery), je stabilnější vůči oxidaci a má i delší trvanlivost (Watson, 2009; Ganguly, Pierce, 2015). Ke vzniku *trans*-izomerů dochází také tehdy, jestliže jsou oleje vystaveny působení příliš vysokých teplot, což je například při smažení, kdy teplota dosahuje 160-195 °C nebo při dezodoraci, což je jeden z kroků rafinace rostlinných olejů, při němž je dosahováno teploty 240-270 °C (Chow, 2008). Výrobky s vysokým obsahem *trans*-mastných kyselin jsou margaríny, shorteningy, dále pak trvanlivé pečivo, cukrářské výrobky, sušenky, smažené potraviny, potraviny typu fast food a některé další (Ganguly, Pierce, 2015).

Trans-mastné kyseliny zvyšují hladinu LDL-cholesterolu a snižují hladinu HDL-cholesterolu. Celkově tak působí negativně na krevní lipidy. V mnohých epidemiologických studiích se prokázalo, že kvůli těmto negativním účinkům zvyšuje nadměrný příjem *trans*-mastných kyselin riziko kardiovaskulárních onemocnění (Ascherio, 2006). Nejnovější studie poukazují na to, že jejich vliv může být dokonce 2,5-10krát horší než vliv SFA. Nepříznivě působí i při vývoji diabetu 2. typu a obezity. Popsány byly i možné negativní účinky na lidský plod (Kunešová, 2016). Na základě doporučení světové zdravotnické organizace (WHO) by měl být příjem *trans*-mastných kyselin co nejnižší a neměl by překročit 1 % z celkového energetického příjmu, což je cca 2,5 g/den (Dostálová et al., 2012).

Vzhledem k negativním účinkům na lidské zdraví se v posledních několika letech výrobci snaží obsah *trans*-mastných kyselin v potravinách minimalizovat. Zavádějí proto nové technologie, při nichž nedochází ke vzniku *trans*-izomerů. Při výrobě

tak využívají procesu interesterifikace v kombinaci s frakcionací (Chow, 2008). Tab. 2 uvádí významné zdroje jednotlivých skupin mastných kyselin.

Tab. 2 Významné zdroje jednotlivých skupin mastných kyselin (Mourek, 2007)

Mastné kyseliny	Zdroje
SFA	máslo, tučné mléčné výrobky, tučné maso, masné výrobky, pečivo, sádlo, ztužené tuky, palmový a kokosový olej
MUFA	olivky, řepka, ořechy (pistácie, mandle, lískové ořechy, kešu a pekanové ořechy), arašídy, avokádo a oleje z nich vyrobené
PUFA řady n-6	slunečnicová semena, pšeničné klíčky, sezam, vlašské ořechy, sója, kukuřice
PUFA řady n-3	losos, makrela, sledř, pstruh (vysoký obsah MK eikosapentaenové a dokosahexaenové), vlašské ořechy, lněná semínka, řepka, sója a jejich oleje (hlavně vysoký obsah kyseliny α -linolenové)
Trans-MK	některé tuky na smažení a pečení, tuky používané při průmyslové výrobě sušenek a koláčů, tučné mléčné výrobky, hovězí a jehněčí maso

3.2.1.5 Konjugovaná kyselina linolová

Konjugovaná kyselina linolová (CLA) představuje skupinu pozičních a geometrických izomerů kyseliny linolové. Izomery mají dvojně vazby v konjugované poloze. To znamená, že dvojně vazby od sebe nejsou odděleny methylenovou skupinou, jak je tomu u ostatních mastných kyselin s dvěma a více dvojnými vazbami (Hadaš, 2014). Jejím výlučným zdrojem ve výživě člověka je tuk přežvýkavců. Nachází se tedy v jejich mase a mléce (Komprda, 2003). Aluko (2012) uvádí, že v mléčném tuku je 5-7 mg CLA na g tuku. Nejvíce zastoupenými izomery jsou *cis*-9 *trans*-11 CLA a *trans*-10 *cis*-12 CLA (Hadaš, 2014).

V posledních několika letech zájem o CLA vzrostl, neboť byly v mnohých pokusech na zvířatech zjištěny její příznivé účinky na organismus (Hadaš, 2014). Dle Komprdy (2003) má CLA entikarcinogenní, antiaterogenní a antioxidační účinky. Hadaš (2014) uvádí, že CLA působí na organismus pozitivně například i při diabetu.

Aby bylo těchto účinků dosaženo, musela by CLA být konzumována v dávkách, které jsou při běžné stravě prakticky nedosažitelné (Komprda, 2003).

3.2.2 Role mastných kyselin ve vztahu k civilizačním onemocněním

Různé mastné kyseliny mají ve vztahu ke zdraví, především k ateroskleróze, různý význam. Cholesterolémii zvyšují nasycené mastné kyseliny označované jako aterogenní, jsou to kyselina laurová, myristová a palmitová. Stejný účinek mají i *trans*-mastné kyseliny. Naopak polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 cholesterolémii snižují, a to tak, že zvyšují aktivitu receptorů LDL-cholesterolu a zároveň také zvyšují aktivitu hydrolázy cholesterolu, která cholesterol mění na žlučové kyseliny. Polynenasycené mastné kyseliny řady n-6 snižují koncentraci triacylglycerolů v krevním séru. PUFA obou řad jsou tím, že snižují sérové koncentrace cholesterolu a triacylglycerolů přínosem ke snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění. PUFA n-3, konkrétně kyselina α -linolenová (ALA) a dokosahexaenová (DHA), snižují krevní tlak u lidí s hypertenzí (Havlík, Marounek, 2013). Polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 hrají určitou roli i u nádorových onemocnění. U nádorového onemocnění obecně indukují procesy apoptózy, potlačují proliferaci buněk, angiogenezi, invazivní růst nádoru a rozvoj metastáz (Wilhelm, 2013).

Polynenasycené mastné kyseliny jsou velmi náchylné k oxidaci. Dojde-li k jejich oxidačnímu poškození v lipoproteinech, mohou být poškozené lipoproteiny zabudovány do cévní stěny a působit tak aterogenně. Mononenasycené mastné kyseliny podléhají oxidaci minimálně (Havlík, Marounek).

Za fyziologických podmínek je profil mastných kyselin v lipoproteinech i buňkách jednotlivých tkání určen především geneticky, je však ovlivněn i dietním příjmem (mastné kyseliny i další složky diety), působením hormonů a některými dalšími faktory. Řada patologických stavů je spojena s charakteristickými změnami ve složení mastných kyselin, které se většinou projeví zvýšeným obsahem SFA a sníženým obsahem PUFA. Takto se projevuje například dyslipidémie, malnutrice, zánět, oxidativní stres a poruchy metabolismu (metabolický syndrom, diabetes mellitus 2. typu aj.; Žák, Macášek, 2011).

3.3 Vepřové maso

Vepřové maso obsahuje průměrně asi 60 % vody, 30 % pak tvoří proteiny a pouze asi 2 % lipidy. Při posuzování celkové kvality masa je potřeba přihlídnout nejen k jeho

nutričním a senzorickým hodnotám, ale též k vlastnostem technologickým a hygienicko-toxickým. Jedním z nejdůležitějších parametrů masa je jeho konečná hodnota pH. Ta úzce souvisí též s technologií zpracování, neboť nejen ovlivňuje barvu a křehkost masa, ale do značné míry též vypovídá o schopnosti masa vázat vodu. Špatná vaznost vody je z hlediska technologie zpracování a balení nevhodná.

Tuk se v těle prasat ukládá jako povrchový, intermuskulární a intramuskulární, přičemž pro výrobu masných výrobků je důležitá kvalita tuku povrchového, senzorické kvality pak ovlivňuje nejvíce intramuskulární. Ten je však v libovém mase obsažen v množství do 2 g na 100 g masa a na jeho množství má vliv např. plemenná příslušnost, pohlaví, relativní podíl svaloviny a tukové tkáně v těle aj.

Tuk obsažený v mase, resp. jeho množství a chemické složení má zásadní význam na jeho nutriční hodnotu a senzorické vlastnosti. Nedostatek tuku v mase způsobuje chuťovou nevýraznost, maso je tuhé a suché. Na druhé straně je z hlediska výživy nejpodstatnější zastoupení jednotlivých MK, především pak samotný poměr nasycených a nenasycených MK. Nutriční a technologické požadavky na vlastnosti masa jdou v určitém směru proti sobě – z výživového hlediska je vysoký obsah nenasycených MK prioritní, naproti tomu z technologického pohledu je požadavek přesně opačný, neboť vyšší podíl nenasycených MK zvyšuje náchylnost k oxidaci tuku, má vliv na snížení konzistence sádla apod.

Obsah MK a jejich skladba v intramuskulárním tuku je ovlivněn z menší míry geneticky, z větší pak samotnou výživou, resp. nutričními hodnotami krmiva, kdy největší měrou působí zvýšení obsahu olejin či olejů s vysokým obsahem PUFA n-3 (Smítal, 2009).

3.4 Stanovení mastných kyselin metodou plynové chromatografie

3.4.1 Příprava vzorku

Obecně se metodika stanovení mastných kyselin skládá ze tří kroků – extrakce, derivatizace a vlastního stanovení pomocí plynové chromatografie. Podle povahy vzorku může extrakci předcházet lyofilizace (Koláčková, 2016). Lyofilizace neboli sušení mrazem je proces, při němž je z materiálu odstraňována zmrzlá voda (led) sublimací. Materiál je nejprve zmražen a poté je vystaven vysokému vakuu, přičemž se zmrzlá voda odpařuje přímo, aniž by roztála, tedy sublimuje. Sublimace je tedy

přímý přechod z pevného skupenství do skupenství plynného. Uvolňovaná vodní pára je obvykle při velmi nízké teplotě zachytávána na povrchu kondenzátoru (Berk, 2013). Zbylá pevná část má speciální pórovitou strukturu, která je tvořena kanálky vzniklými po sublimaci zmrzlé vody (Okáčová et al., 2010). Odstraněním vody ze vzorku se zkrátí doba extrakce a zároveň se zvýší výtěžnost lipidů z daného materiálu (Rozíková, 2014).

3.4.1.1 Extrakce

Cílem extrakce je převedení lipidů do rozpouštědla, které se potom odstraní. Tím je izolován čistý tuk, který se následně stanoví gravimetricky. Pro úspěšnou separaci lipidů je zásadní správně zvolený typ extrakce a rovněž i správně zvolené rozpouštědlo, které bude pro extrakci použito. Nepolární rozpouštědla (např. hexan nebo petrolether) jsou vhodná pro extrakci neutrálních lipidů. Pro komplexní lipidy a fosfolipidy musí být použita polárnější rozpouštědla (např. metanol). Proto jsou při extrakci celkových lipidů nejčastěji používány směsi polárních a nepolárních rozpouštědel (Koláčková, 2016).

Metoda dle Hara a Radin

Jedná se o jedнокrokovou extrakci rozpouštědlem hexan/isopropanol v poměru 3 : 2 zahrnující filtraci a promytí vodným roztokem síranu sodného. Výhodou této metody je použití netoxického rozpouštědla (Koláčková, 2016).

Metoda dle Soxhleta

Tato metoda spočívá v extrakci sušeného vzorku rozpouštědly: hexan, petrolether a diethylether v Soxhletově extraktoru po dobu 4-6 hodin. Metoda dle Soxhleta patří mezi nejrozšířenější metody pro extrakci lipidů z potravin. Metoda je doporučována hlavně pro vzorky s vysokým obsahem neutrálních tuků a s nízkým obsahem vody a sacharidů (např. olejniny; Koláčková, 2016).

Metoda dle Folche

Jedná se o metodu, při níž se jako rozpouštědlo využívá roztok chloroformu/metanolu v poměru 2 : 1. K vymytí nelipidických složek slouží solný roztok. Metoda dle Folche se uplatňuje u vzorků bohatých na bílkoviny a vodu (např. maso; Koláčková, 2016).

3.4.1.2 Derivatizace mastných kyselin

Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (méně než 10 C) mohou být analyzovány přímo, ostatní mastné kyseliny musí být podrobeny procesu derivatizace. Derivatizací vzniká těkavější forma MK a dochází k poklesu polaritě MK. Derivatizací vznikají methylestery mastných kyselin (FAME). Methylestery mastných kyselin se získávají zahříváním volných mastných kyselin s přebytkem bezvodého metanolu za přítomnosti kyselého nebo bazického činidla. Podle použitých činidel se rozlišuje kyselá a zásaditá transesterifikace. Při kyselé transesterifikaci se jako činidlo používá kyselina chlorovodíková, sírová, bortrifluorid (tzv. Lewisova kyselina) a acetylchlorid v metanolu. Činidlem používaným při zásadité transesterifikaci je sodný a draselný methoxid (Koláčková, 2016).

3.4.1.3 Plynová chromatografie

V analýze potravin představuje plynová chromatografie (GC) jednu z hlavních separačních technik používaných pro stanovení různých skupin těkavých látek. Vysoká separační účinnost v kombinaci s celou řadou detektorů, které se v GC používají, dělá z GC důležitou separační metodu pro stanovení některých látek vyskytujících se v tak komplexních maticích, jakými jsou potraviny (Ötles, 2009). Tato metoda má zásadní význam při analýze složení lipidů, neboť umožňuje v relativně krátkém čase stanovit všechny MK, které jsou v daných lipidech obsaženy. Vlastnímu stanovení předchází derivatizace – převedení MK na těkavé estery, nejčastěji methylestery, i když v některých případech se MK převádějí i na jiné estery. Estery MK jsou těkavější a dají se tak pomocí GC snadno stanovit (Christie, 1993). Pro metodu GC je charakteristická hlavně účinná a rychlá separace složitých směsí a práce s malými množstvími vzorku za použití relativně jednoduché aparatury (Motyka, Hlaváč, 2009).

GC je metoda založená na rozdělování složek mezi dvě fáze, fází mobilní – pohyblivou a fází stacionární – nepohyblivou. V GC je mobilní fází plyn, který se označuje jako nosný plyn (Štěpánková et al., 2016). Nosný plyn má za úkol obstarávat transport složek kolonou, přitom se sám separačního procesu neúčastní (Kříženecká, Synek, 2014). Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně (Štěpánková et al., 2016). Podle použité stacionární fáze je možné GC rozdělit na plynovou adsorpční chromatografii (GSC – *Gas Solid Chromatography*), kdy stacionární fází je pevná látka a plynovou rozdělovací chromatografii (GLC – *Gas*

Liquid Chromatography), kdy stacionární fází je kapalná látka zakotvená na pevném nosiči. V případě GSC dochází k separaci na principu adsorpce nebo síťového efektu, u GLC se složka rozděluje mezi plynnou mobilní fází a kapalnou stacionární fází. V praxi se více uplatňuje metoda GLC. Rozdělené složky jsou nosným plynem vynášeny z kolony a následně vstupují do detektoru, kde je jejich množství zaznamenáno v souvislosti s časem či objemem proteklého nosného plynu (Praus, Vontorová, 2015; Křížek, Šíma, 2015). Aby mohl být vzorek unášen nosným plynem a tedy separován pomocí GC, musí se okamžitě po nástřiku do kolony přeměnit na plyn. Tato nezbytná podmínka použití GC jako separační metody je splněna pro látky, jež mají dostatečný tlak nasycené páry, jsou termostabilní, a jejichž relativní molekulová hmotnost je menší než 1000 (Kohutiar et al., 2016).

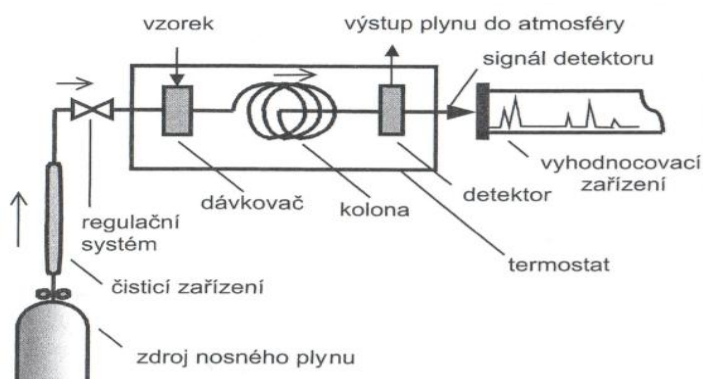
Instrumentace v plynové chromatografii

Zařízení pro plynovou chromatografii neboli plynový chromatograf se skládá z několika částí, jsou to:

- zdroj nosného plynu – tlaková láhev obsahující vodík, dusík, helium nebo argon,
- čistící zařízení nosného plynu – zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu a zbavuje ho nežádoucích stop ostatních plynů, hlavně reaktivního kyslíku, který nevratně poškozuje stacionární fází v koloně,
- systém pro regulaci průtoku nosného plynu – zajišťuje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu,
- dávkovací zařízení – slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu,
- termostat – zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, tak aby byl vzorek udržen v plynném stavu
- chromatografická kolona – část chromatografu, v níž je umístěna stacionární fáze, dochází v ní k separaci složek,
- detektor – slouží k detekci látek v nosném plynu, signalizuje jejich přítomnost,
- vyhodnocovací zařízení – zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku (chromatogram) a vyhodnocuje ji (Klouda, 2016).

Při výběru nosného plynu je velmi důležité, aby zvolený nosný plyn byl inertní vůči všem složkám vzorku, které jsou kolonou unášeny. Nosný plyn tudíž nemá přímý vliv na separaci. Dalšími kritérii při výběru nosného plynu je volba chromatografické kolony

a detektoru (Kohutiar et al., 2016). Schéma plynového chromatografu je znázorněno na obr. 2.



Obr. 2 Schéma plynového chromatografu (Klouda, 2016)

Dávkování vzorku

Dávkování vzorku do chromatografické kolony lze provádět několika technikami.

K nejvíce využívaným technikám patří:

- dávkování s děličem toku (*split injection*)
- dávkování bez děliče toku (*splitless injection*)
- dávkování přímo do kolony (*on column injection*)
- dávkování s programově zvyšovanou teplotou vypařování vzorku

Způsob dávkování se volí v závislosti na požadavcích analýzy (Motyka, Hlaváč, 2009; Praus, Vontorová, 2015). Podle Eder (1995) je dávkování s děličem toku nejčastěji používaným způsobem právě při analýze methylesterů MK. Splitovací poměr může být různý, obvykle se však pohybuje od 1 : 10 do 1 : 100. Při analýze methylesterů MK je hlavní nevýhodou to, že ve vzorku mohou být přítomny MK jak s krátkým, tak s dlouhým řetězcem a jelikož délka řetězce ovlivňuje bod varu je tím ovlivněno i zplyňování vzorku a v důsledku toho i přesnost výsledků analýzy. Pro zvýšení přesnosti výsledků se používají vnitřní standardy, které pokryjí širokou škálu bodů varu (Nollet, Toldrá, 2015). Například pro stanovení MK s krátkými řetězci se doporučuje použít jako vnitřní standard methylester kyseliny valerové, a to za předpokladu, že daný vzorek kyselinu valerovou neobsahuje. Nejčastěji používanými vnitřními standardy jsou methylestery kyseliny valerové (C 5:0), pentadekanové (C 15:0), heptadekanové (C 17:0; ÚKZÚZ, 2015) a podle Nollet, Toldrá (2015) i methylestery kyseliny heneikosanové (C 21:0). Eder (1995) uvádí, že způsob

dávkování s programově zvyšovanou teplotou vypařování vzorku je nejméně vhodný pro vzorky s vysokým obsahem methylesterů polynenasycených MK, neboť při náhlém a prudkém vzestupu teploty po nástřiku vzorku může docházet k jejich rozkladu. Při analýze methylesterů MK s více než 10 atomy uhlíku poskytuje tento způsob dávkování vcelku přesné výsledky analýzy. Ovšem výsledky analýzy methylesterů MK s méně než 10 atomy uhlíku nejsou tak přesné. Příčinou je zřejmě to, že při nástřiku vzorku je po určitou dobu v nástřikové komoře nižší teplota, tudíž dojde k odpaření těkavějších methylesterů MK (s nižším počtem atomů uhlíku) ještě předtím, než se teplota prudce zvýší na teplotu nutnou ke zplynění vzorku (Eder, 1995).

Chromatografické kolony

V plynové chromatografii jsou používány dva základní typy kolon, a sice kolony náplňové a kolony kapilární. Kolony náplňové se dnes již moc nevyužívají, proto budou přednostně popsány kolony kapilární (Kříženecká, Synek, 2014).

Kapilární kolony jsou tenké kapiláry zhotovené z taveného křemene. Jedná se o velmi křehký materiál, proto se kapiláry pokrývají polyimidovou vrstvou, díky níž se křehký materiál kolony stává pružným. Kapilární kolony využívají jako nosiče stacionární fáze své vnitřní stěny. Vnitřní průměr těchto kolon se pohybuje v intervalu 0,1-0,6 mm, tloušťka filmu stacionární fáze je 0,25-5 μm , délka kolony je 15-60 m a účinnost 1000-3000 teoretických pater na 1 m. Kapilární kolony mají několikanásobně vyšší účinnost separace než kolony náplňové (Klouta, 2016). Účinnost separace se vyjadřuje pomocí tzv. počtu teoretických pater kolony. Předpokládá se, že kolona je rozdělena na velký počet elementárních jednotek – pater, přičemž na každém patře kolony dochází k ustavení rovnováhy. Dále se také předpokládá, že difúze ve směru pohybu mobilní fáze je zanedbatelná a průtok mobilní fáze kolonou není kontinuální, ale uskutečňuje se po malých přírůstcích, jež mají objem patra (Křížek, Šíma, 2015). Roste-li vnitřní průměr a tloušťka stacionární fáze účinnost separace se snižuje (Klouta, 2016).

Podle způsobu uložení stacionární fáze na vnitřní stěně kapiláry se rozlišují tři typy kapilárních kolon:

- WCOT (*wall coated open tubular*) – kapalná stacionární fáze je zakotvena přímo na vnitřní stěně kapiláry.

- SCOT (*support coated open tubular*) – na vnitřní stěně kapiláry je vrstva pevného nosiče, na němž je zakotvena kapalná stacionární fáze.
- PLOT (*porous layer open tubular*) – na vnitřní stěně kapiláry je tenká vrstva pevného aktivního sorbentu (Motyka, Hlaváč, 2009).

Detektory

Detektor reaguje na změnu signálu procházejícího nosného plynu. Signál detektoru je zpracován a vyhodnocen (Koláčková, 2016). Získaný signál je úměrný množství látky procházející detektorem. Analyt vycházející z chromatografické kolony do detektoru způsobí nárůst nebo pokles měřeného signálu, který se projeví v chromatogramu jako chromatografický pík. V plynové chromatografii se nejčastěji používají detektory: plamenově-ionizační (FID), detektor elektronového záchytu (ECD), tepelně-vodivostní (TCD), hmotnostní spektrometr (MS; Rozíková, 2014).

Vlastní stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií

Plynová chromatografie je nejpoužívanější analytickou metodou pro stanovení MK se širokým uplatněním v nutriční, biochemické, biomedicínské a zemědělské oblasti. Celý proces analýzy se skládá ze čtyř kroků: nástřik, separace, detekce a vyhodnocení. Nástřik vzorku je považován za nejkritičtější krok analýzy. Vzorek je nejčastěji aplikován pomocí děliče toku (*split injection*). Množství vzorku aplikovaného do kolony vyjadřuje rozdělovací koeficient (*split ratio*). Separace vzorku probíhá v chromatografické koloně na základě rozdílné schopnosti se vázat na stacionární fázi. Dalším stěžejním krokem je detekce. Detektor detekuje látky přítomné v nosném plynu. Vyhodnocení zahrnuje identifikaci a kvantifikaci mastných kyselin výpočetní technikou, jež zpracovává signál z detektoru. Výsledkem je chromatogram.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Vzorky, které byly v tomto experimentu analyzovány, pocházely z 32 kusů prasat, jejichž průměrná živá hmotnost se pohybovala okolo 25 kg ($\pm 1,15$ kg). Jednalo se o plemena Large White a Landrace. Prasata byla rozdělena do dvou skupin po 16 kusech a každé skupině byla podávána krmná dávka, která se lišila druhem přidávaného oleje. Pokusná skupina dostávala krmnou dávku s přídatkem 2,5 % rybího oleje (komerční *oleum jecoris aselli*; skupina dále označována jako Ryba). Rybí olej pro prasata představoval zdroj polynenasycených mastných kyselin, konkrétně kyseliny eikosapentaenové (EPA) a dokosahexaenové (DHA). Kontrolní skupina dostávala krmnou dávku, do níž bylo přidáváno 2,5 % palmového oleje (skupina dále označována jako Palma). V palmovém oleji je vysoký obsah aterogenně působících nasycených mastných kyselin (SFA). Prasata byla krmena *ad libitum*, tedy podle libosti. Obsah jednotlivých mastných kyselin v rybím a palmovém oleji je uveden v tab. 3.

Po 75 dnech byl výkrm ukončen a prasata byla uvedena do bezvědomí směsí TKX (12,5 mg/ml ketamin, 12,5 mg/ml xylazin, 12,5 mg/ml tiletamin, 12,5 mg/ml zolazepam), jež byla aplikována intramuskulárně v celkovém objemu 0,2 ml/kg živé hmotnosti. Prasata byla následně poražena vykrvením. Po porážce byly odebrány vzorky svaloviny (*m. quadriceps femoris*), viscerální tukové tkáně, levého jaterního laloku a levého plicního laloku. Vzorky všech těchto tkání byly použity ke stanovení celkového spektra mastných kyselin.

Tab. 3 Obsah mastných kyselin v rybím a palmovém oleji (v mg/100 g oleje)

Mastná kyselina (triviální název)	Rybí olej	Palmový olej
14:0 (myristová)	2,40	0,75
16:0 (palmitová)	17,75	32,8
16:1 (palmitoolejová)	4,85	0,95
18:0 (stearová)	3,40	1,45
18:1 (olejová)	25,00	30,95
18:2n6 (linolová)	30,20	30,20
18:3n3 (α -linolenová)	0,10	0,05
20:2n6 (eikosadienová)	0,30	0,10
20:3n6 (homo- γ -linolenová)	0,10	0,05
20:4n6 (arachidonová)	0,45	0,25
20:5n3 (eikosapentaenová)	4,60	0,10
22:4n6 (dokosatetraenová)	0,20	0,10
22:5n3 (dokosapentaenová)	0,95	0,20
22:6n3 (dokosahexaenová)	7,05	0,10

4.1.1 Chemikálie

Chemikálie použité na extrakci celkových lipidů:

- směs dvou organických rozpouštědel: hexan/2-propanol v poměru 3 : 2 (označeno jako HIP 1) a v poměru 7 : 2 (označeno jako HIP 2),
- vodný roztok síranu sodného (66,6 g bezvodé soli na 1000 ml vody),
- bezvodý síran sodný.

Chemikálie použité na derivatizaci mastných kyselin:

- isooktan,
- methanolát sodný (kovový sodík v množství 1,15 g na 100 ml methanolu),

- methanolický roztok fluoridu boritého (BF₃; koncentrace 14 %),
- nasycený roztok chloridu sodného (NaCl).

Standardy a nosný plyn použitý při plynové chromatografii:

- standard 16 FAME (methylestery mastných kyselin; GLC Reference Standard 455, NU-CHECK PREP, Inc., Elysian MN, USA),
- methylpentadekanoát 98,5% GC standard,
- nosný plyn: dusík (čistota 99,999 %).

4.1.2 Přístrojové vybavení a laboratorní pomůcky

Přístrojové vybavení:

- analytické váhy: typ ABJ 220 – 4M (KERN a Sohn GmbH, Německo),
- lyofilizátor: Christ Alpha 1-2 LD (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Německo),
- homogenizátor: Heidolf Universal 32 (Hettich, Německo),
- ultrazvuková lázeň: PS10000 (Notus-Powersonic, Vráble, Slovensko),
- rotační vakuová odparka: RB 05-ST 1P-B model (IKA Labortechnik, Německo),
- vodní lázeň: K 10 E 1 Medingen (Labortechnik Medingen, Freital, Německo),
- plynový chromatograf: Fisons 8000 Series (Fisons Instruments S.p.A., Rodano, Itálie) vybavený plamenově-ionizačním detektorem (FID), autosamplerem HT300A (HTA, Brescia, Itálie) a kapilární kolonou DB-23 (60 m × 0,25 mm × 0,25 μm; Agilent Technologies, Santa Clara CA, USA).

Laboratorní pomůcky:

- laboratorní sklo: Erlenmeyerova baňka (250 ml), dělicí (extrakční) nálevka (100 ml), odměrná baňka (50 ml), analytická nálevka, extrakční baňka se zábrusem (250 ml), varná baňka se zábrusem (50 ml), filtrační baňka (250 ml), vialky se šroubovacím uzávěrem, kádinky, zpětný chladič,
- další laboratorní pomůcky: Büchnerova nálevka, pipety, špičky na pipety, pinzety, plastové zkumavky, stojan s držáky, filtrační papír, stojan na chromatografické vialky.

4.2 Metodika

Pro stanovení mastných kyselin ve vybraných tkáních byl použit postup podle Komprdy et al. (2015). Tento postup zahrnuje lyofilizaci, homogenizaci, extrakci celkových lipidů, derivatizaci mastných kyselin a vlastní stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie. Metoda extrakce, kterou ve své studii použili autoři Komprda et al. (2015), a která byla rovněž použita pro extrakci celkových lipidů v experimentální části předkládané diplomové práce, je modifikována dle autorů Hara a Radin (1978). Jak vyplývá z prací Komprda et al. (2015), Rozíková (2014) a Komprda et al. (2013), je metodou extrakce dle autorů Hara a Radin (1978) dosahováno vyšší výtěžnosti.

Všechny kroky předcházející stanovení mastných kyselin včetně samotného stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií byly s ohledem na vybavení prováděny v laboratoři Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně.

4.2.1 Lyofilizace

Vzorky tkání, každý o hmotnosti cca 15 g, byly zváženy, rozkrájeny na kousky o velikosti cca 0,5 cm, zmrazeny při teplotě $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a v hliníkových miskách vloženy do lyofilizátoru Christ Alpha 1-2 LD. Lyofilizace proběhla za následujících podmínek: hlavní sušení při $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodin a finální dosušení při $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 3 hodin.

4.2.2 Extrakce celkových lipidů

Navážka cca 5 g lyofilizovaného vzorku byla přibližně 2 minuty homogenizována přístrojem Heidolf Universal 32 za současného přídavku 30 ml HIP 1 (směs rozpouštědel hexan/2-propanol v poměru 3 : 2). Homogenizací došlo k důkladnému rozmělnění materiálu, čímž byl usnadněn kontakt analytu s rozpouštědlem. Zhomogenizovaná směs byla následně převedena do 250ml Erlenmeyerovy baňky a 15 minut sonifikována v ultrazvukové lázni PS 10000. Působením ultrazvuku se podpořilo uvolňování buněčného obsahu do rozpouštědla. Poté byla směs přefiltrována přes Büchnerovu nálevku a k filtrátu bylo přidáno 24 ml vodného roztoku síranu sodného o koncentraci 0,5 mol/l. Vzorek byl kvantitativně převeden (vše propláchnuto HIP 1) do dělicí nálevky, v níž byl 3 minuty pomalu promícháván. V dělicí nálevce došlo k ustanovení rovnováhy a směs se tak rozdělila na dvě nemísitelné fáze. Horní hexanová fáze byla tvořena lipidy a hexanem a dolní vodná

fáze 2-propanolem a vodným roztokem síranu sodného. Po oddělení hexanové vrstvy do 50ml odměrné baňky byla vodná vrstva reextrahována 10 ml HIP 2 (směs rozpouštědel hexan/2-propanol v poměru 7 : 2). Opět došlo k ustanovení rovnováhy a nově vytvořená hexanová vrstva byla spojena s hexanovou vrstvou z první extrakce v 50ml odměrné baňce. Takto vzniklá směs byla přefiltrována přes 0,5 g bezvodého síranu sodného do předem zvážené extrakční baňky se zábrusem. Následovalo odpaření rozpouštědla na rotační vakuové odparce při 40 °C a 50 otáčkách za minutu do 15 minut. Rezidua rozpouštědla byla odpařena v proudu dusíku. Obsah celkových lipidů byl ve vzorku stanoven gravimetricky.

4.2.3 Derivatizace

Nejprve bylo do 50ml varné baňky se zábrusem a plochým dnem naváženo cca 0,05 g vyextrahovaného tuku. Byly přidány 3 ml isooktanu s vnitřním standardem pentadekanové kyseliny (koncentrace 1 mg/ml) a po rozpuštění tuku další 3 ml methanolátu sodného (1,15 g kovového sodíku/100 ml methanolu). Následně byla směs zahřívána pod zpětným chladičem ve vodní lázni při 60 °C. Při tomto procesu došlo k rozrušení vazby mezi triacylglycerolem a mastnými kyselinami, ze kterých se v přítomnosti methanolátu sodného vytvářely methylestery mastných kyselin. Po 10 minutách byly přes zpětný chladič přidány 3 ml methanolickeho roztoku fluoridu boritého (BF₃; koncentrace 14 %) a směs byla pod zpětným chladičem zahřívána ještě dalších 5 minut. Přídavkem BF₃ došlo k reesterifikaci dosud neesterifikovaných mastných kyselin. Po uplynutí stanovené doby byla směs odstavena a byly do ní přidány 2 ml isooktanu. Následovalo přidání 5 ml nasyceného roztoku chloridu sodného (NaCl) a obsah baňky byl důkladně promíchán. Po vychladnutí došlo k oddělení organické vrstvy (5 ml) obsahující methylestery mastných kyselin. Tato vrstva byla následně odebrána do vialky pro stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií.

4.2.4 Stanovení mastných kyselin

Stanovení mastných kyselin bylo prováděno na plynovém chromatografu Fisons 8000 Series s plamenově-ionizačním detektorem a autosamplerem HT300A. Separace methylesterů mastných kyselin (FAME) probíhala na kapilární koloně DB-23 o rozměrech 60 m × 0,25 mm × 0,25 μm. Jako nosný plyn byl použit dusík s čistotou 99,999 %. Nastavení plynového chromatografu a použitý teplotní program uvádí tab. 4.

Tab. 4 Nastavení plynového chromatografu a použitý teplotní režim

Nosný plyn:	N ₂ , průtok 1,23 ml/min
Tlak na kolonu:	200 kPa
Teplota injektoru:	250 °C
Teplota detektoru (FID):	260 °C
Teplotní program:	140 °C/1 min gradient 5 °C/min do 200 °C se zadržím 2 min gradient 3 °C/min do 260 °C se zadržím 15 min
Objem vzorku:	1 µl
Nástřík vzorku:	režim split, splitovací poměr 1 : 20

Pro kalibraci byl použit standard 16 FAME GLC 455 s přidavkem vnitřního standardu (methylpentadekanoát). Vyhodnocení vzorků probíhalo metodou vnitřního standardu. Kvantitativní a kvalitativní zpracování analýzy bylo provedeno na počítači v programu Clarity (Software Data Apex, Česká republika). Výsledky byly vyjádřeny jako obsah dané mastné kyseliny v mg/100 g čerstvého materiálu.

4.2.5 Statistické vyhodnocení

Výsledky stanovení mastných kyselin ve vybraných tkáních prasat po aplikaci krmiva s přidavkem rybího a palmového oleje (Ryba, Palma) a rovněž i výsledky stanovení mastných kyselin v samotném krmivu byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). V programu byly vypočteny základní statistické charakteristiky a rozdíly v obsahu mastných kyselin mezi skupinami Ryba a Palma u jednotlivých tkání byly vyhodnoceny jednofaktorovou analýzou rozptylu (one-way ANOVA) za použití *post-hoc* Tukeyova testu. V programu MS Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) byly dále výsledky získané statistickým vyhodnocením zpracovány do tabulek a znázorněny graficky pomocí sloupcových grafů.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Výsledky

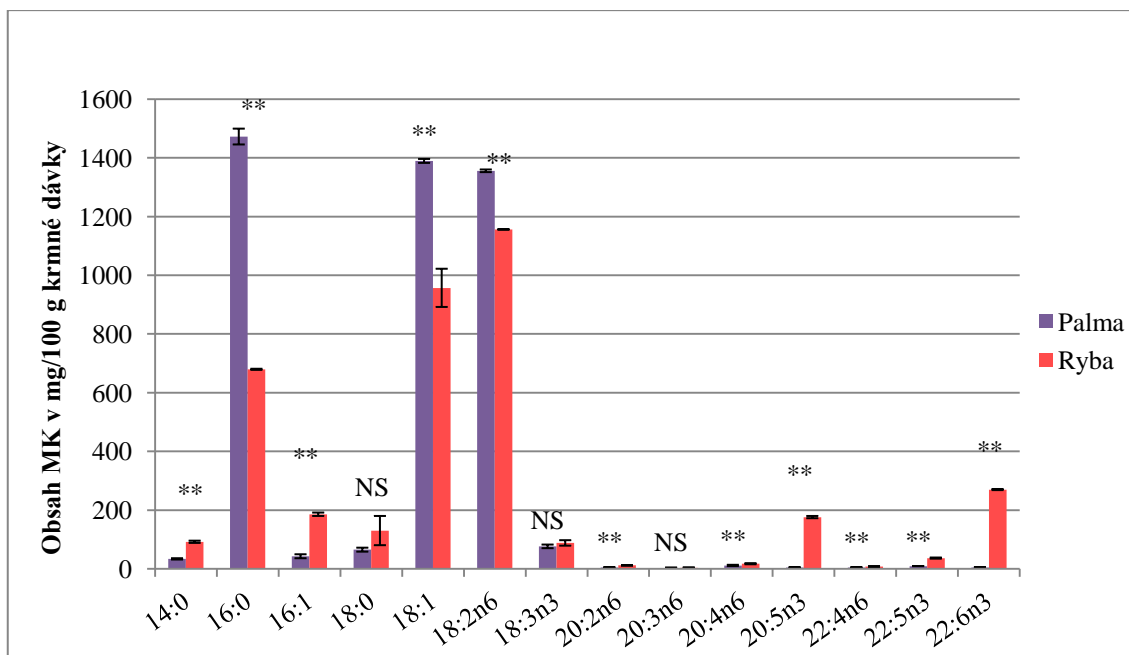
5.1.1 Krmná dávka s přidavkem palmového a rybího oleje

Tento experiment byl proveden za účelem zjistit, jaký vliv bude mít u prasat příjem krmiva s přidavkem rybího a palmového oleje na zastoupení mastných kyselin ve svalové, jaterní, plicní a viscerální tukové tkáni. Obsah mastných kyselin v krmné dávce s přidavkem rybího a palmového oleje uvádí tab. 5. Pro větší přehlednost byly tyto údaje zpracovány i do grafu. Grafické znázornění obsahu mastných kyselin v krmné dávce s přidavkem olejů je uvedeno na obr. 3.

Tab. 5 Obsah mastných kyselin v krmné dávce s přidavkem rybího, resp. palmového oleje (mg/100 g krmné dávky)

Mastná kyselina	Ryba	Palma
14:0	92 ± 3,8	34 ± 2,2
16:0	679 ± 1,9	1472 ± 26,9
16:1	186 ± 5,7	43 ± 6,7
18:0	130 ± 49,8	65 ± 6,7
18:01	957 ± 65,1	1389 ± 6,7
18:2n6	1156 ± 0,5	1356 ± 4,5
18:3n3	88 ± 9,3	76 ± 6,1
20:2n6	11 ± 0,1	4 ± 0,2
20:3n6	4 ± 0,5	2 ± 1,2
20:4n6	17 ± 1,9	11 ± 2,2
20:5n3	176 ± 3,8	4 ± 0,0
22:4n6	8 ± 0,2	4 ± 0,0
22:5n3	36 ± 1,9	9 ± 0,0
22:6n3	270 ± 1,9	4 ± 0,0

Ryba – krmná dávka s přidavkem 2,5 % rybího oleje; Palma – krmná dávka s přidavkem 2,5 % palmového oleje; průměr ± střední chyba průměru.



Obr. 3 Obsah mastných kyselin v krmné dávce s přidavkem rybího, resp. palmového oleje (mg/100 g krmné dávky).

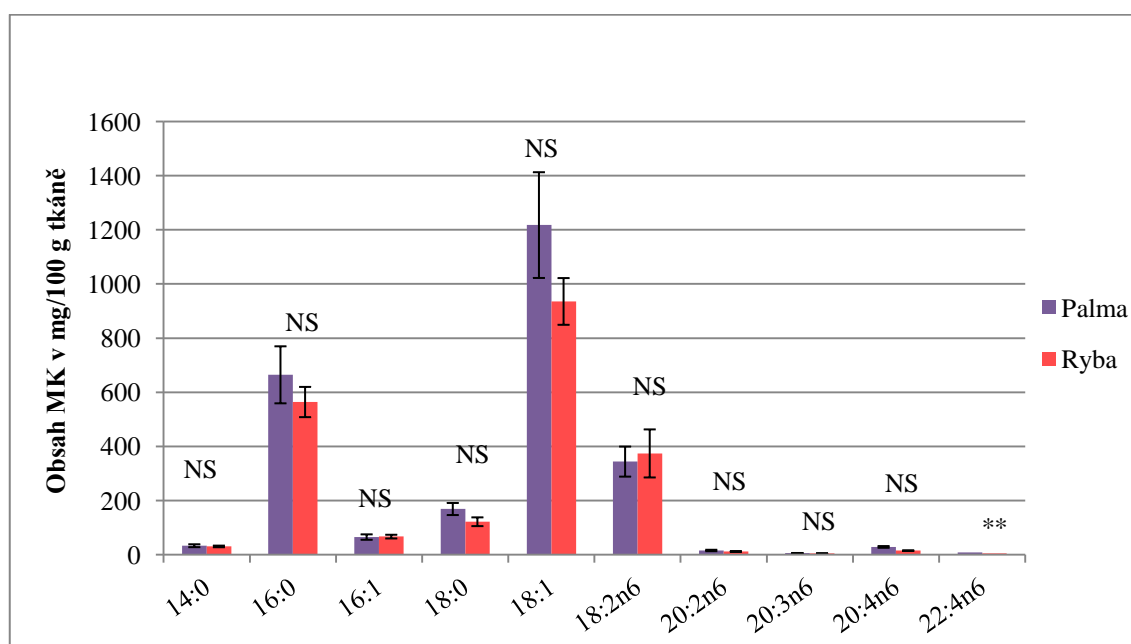
*Palma – krmná dávka s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – krmná dávka s přidavkem 2,5 % rybího oleje; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 4$.*

Z hodnot uvedených na obr. 3 vyplývá, že signifikantní rozdíl ($P < 0,01$) v obsahu mastných kyselin mezi krmnou dávkou s přidavkem palmového oleje a krmnou dávkou s přidavkem rybího oleje byl u všech sledovaných mastných kyselin s výjimkou kyseliny stearové (18:0), α -linolenové (18:3n3) a homo- γ -linolenové (20:3n6). U těchto tří mastných kyselin nebyl v jejich obsahu mezi krmnými dávkami s přidavkem uvedených olejů prokázán významný rozdíl ($P < 0,05$). Krmná dávka s přidavkem palmového oleje obsahovala ve srovnání s krmnou dávkou s přidavkem rybího oleje dvojnásobné množství ($P < 0,01$) kyseliny palmitové (16:0). V krmné dávce s palmovým olejem byl rovněž i významně vyšší obsah ($P < 0,01$) kyseliny olejové (18:1) a kyseliny linolové (18:2n6). U krmné dávky s přidavkem rybího oleje byl zase naopak podstatně vyšší obsah ($P < 0,01$) polynenasycených mastných kyselin řady n-3, konkrétně kyseliny eikosapentaenové (EPA; 20:5n3), dokosapentaenové (DPA; 22:5n3) a dokosahexaenové (DHA; 22:6n3). Krmná dávka s rybím olejem obsahovala oproti krmné dávce s palmovým olejem ($P < 0,01$) také více kyseliny myristové (14:0),

palmitoolejové (16:1), eikosadienové (20:2n6), arachidonové (AA; 20:4n6) a dokosatetraenové (DTA; 22:4n6).

5.1.2 Posouzení depozice mastných kyselin ve vybraných tkáních prasat

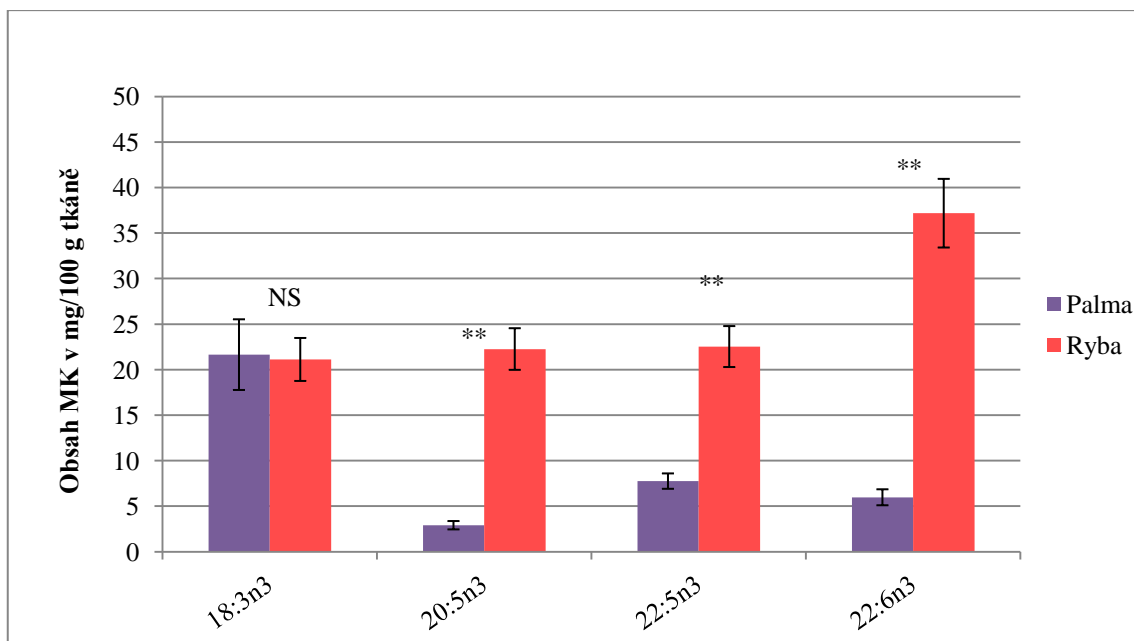
Srovnání vlivu diety s přidavkem palmového, resp. rybího oleje na zastoupení mastných kyselin ve svalové tkáni prasat je znázorněno na následujících obrázcích (obr. 4, obr. 5, obr. 6).



Obr. 4 Obsah SFA, MUFA, PUFA n-6 ve svalové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přidavkem palmového a rybího oleje.

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; *Ryba* – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybího oleje; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

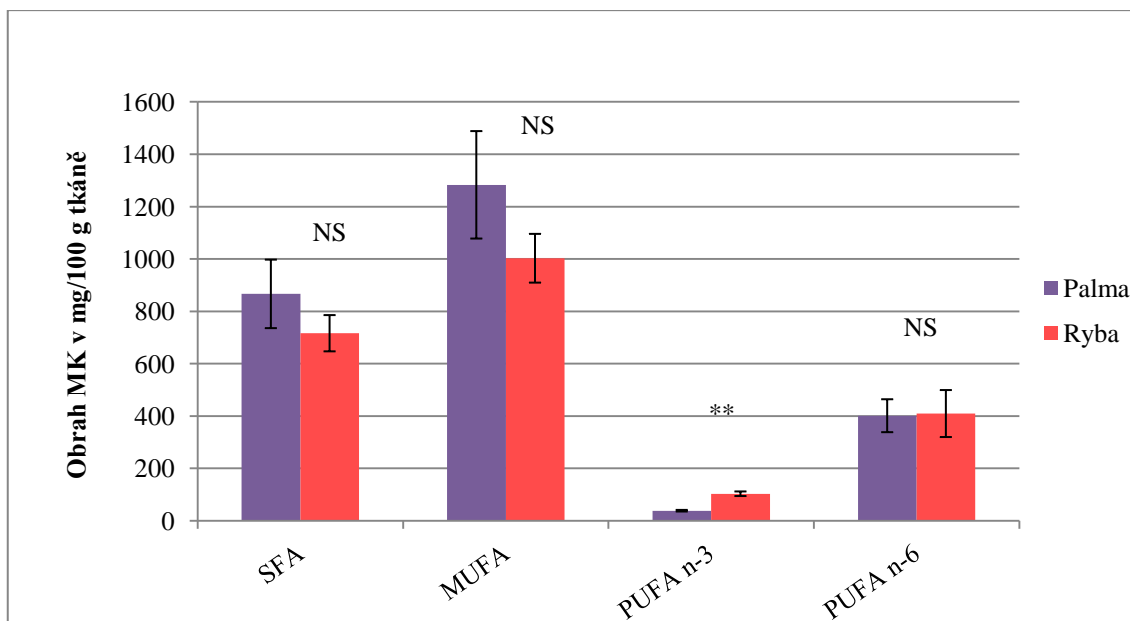
Z obr. 4 je patrné, že přidavek ani jednoho z olejů do krmné dávky, jež byla prasatům podávána, nijak podstatně neovlivnil obsah SFA, MUFA a PUFA n-6 ($P < 0,05$) ve svalové tkáni prasat. Výjimkou byla v tomto případě pouze kyselina dokosatetraenová (DTA; 22:4n6) patřící mezi PUFA n-6, jejíž vyšší obsah ($P < 0,01$) byl zjištěn ve svalové tkáni prasat, do jejichž krmné dávky byl přidáván palmový olej.



Obr. 5 Obsah PUFA n-3 ve svalové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přidavkem palmového a rybího oleje.

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybího oleje; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

Ve svalové tkáni prasat krmených dietou s přidavkem rybího oleje byl zjištěn významně vyšší obsah ($P < 0,01$) kyseliny eikosapentaenové (EPA; 20:5n3), dokosapentaenové (DPA; 22:5n3) a dokosahexaenové (DHA; 22:6n3) než ve svalové tkáni těch prasat, jež byla krmena dietou s přidavkem palmového oleje. Z hlediska zastoupení kyseliny α -linolenové (ALA; 18:3n3) se mezi vzorky svaloviny obou skupin prasat neprojevil významný rozdíl ($P > 0,05$). Z těchto čtyř PUFA n-3 je v největším množství zastoupena kyselina dokosahexaenová (DHA; 22:6n3), zbývající kyseliny se ve svalové tkáni prasat krmených dietou s přidavkem rybího oleje nacházejí zhruba v podobném množství ($P < 0,01$; obr. 5).

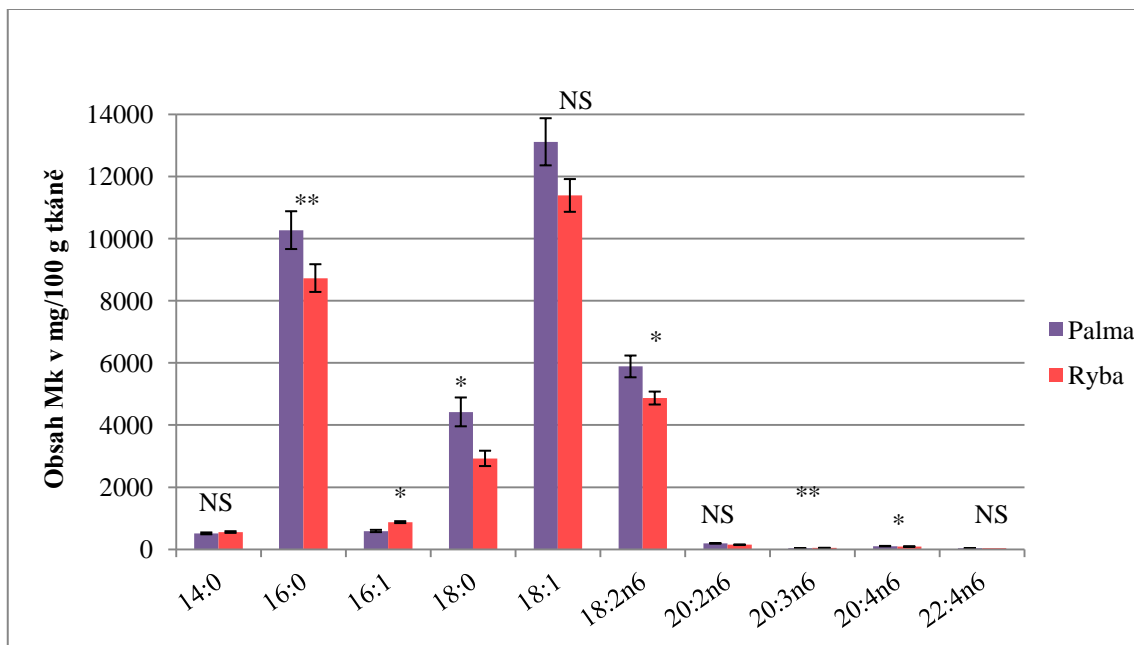


Obr. 6 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin ve svalové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přidavkem palmového a rybiho oleje.

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybiho oleje; SFA – nasycené mastné kyseliny (14:0, 16:0, 18:0), MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny (16:1, 18:1), PUFA n-3 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 (18:3n3, 20:5n3, 22:5n3, 22:6n3), PUFA n-6 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-6 (18:2n6, 20:2n6, 20:3n6, 20:4n6, 22:4n6); ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

V porovnání mezi skupinou pokusnou a kontrolní byl ze všech skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA n-3 a PUFA n-6) u svalové tkáně vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$) jen v případě PUFA n-3. Ke zvýšení zastoupení PUFA n-3 ve svalové tkáni došlo u těch prasat, která byla krmena dietou doplněnou o rybí olej (obr. 6). To koresponduje s výsledky uvedenými na obr. 5, z něhož je patrné, že zvýšení obsahu mastných kyselin patřících do skupiny PUFA n-3 bylo opravdu výrazné ($P < 0,01$). Z hlediska zastoupení ostatních skupin mastných kyselin (SFA, MUFA, PUFA n-6) ve svalové tkáni prasat se neprojevil výrazný rozdíl ($P < 0,05$) vlivem zkrmovaných olejů v krmné dávce prasat. Vlivem přidavku rybiho oleje došlo ke snížení poměru PUFA n-6/PUFA n-3 ve svalové tkáni takto krmených prasat.

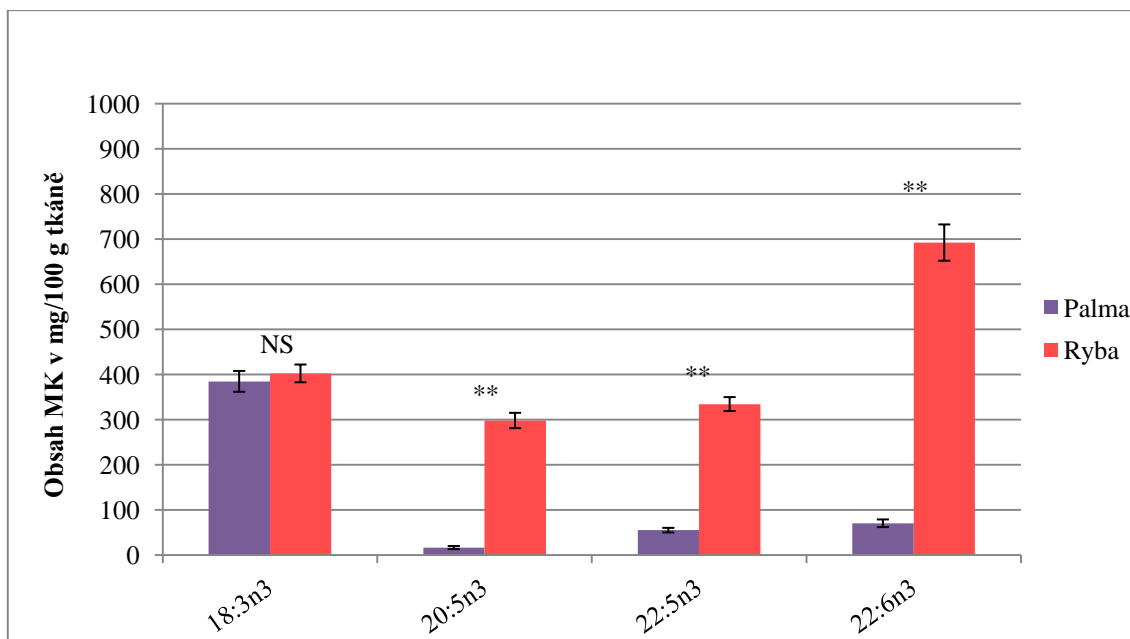
Vliv palmového a rybího oleje na zastoupení mastných kyselin ve viscerální tukové tkáni prasat je uveden na obr. 7, obr. 8 a obr. 9. Oproti svalové tkáni byl vliv diety na skladbu mastných kyselin ve viscerální tukové tkáni více průkazný.



Obr. 7 Obsah SFA, MUFA, PUFA n-6 ve viscerální tukové tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).

*Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybího oleje; * – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,05$; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.*

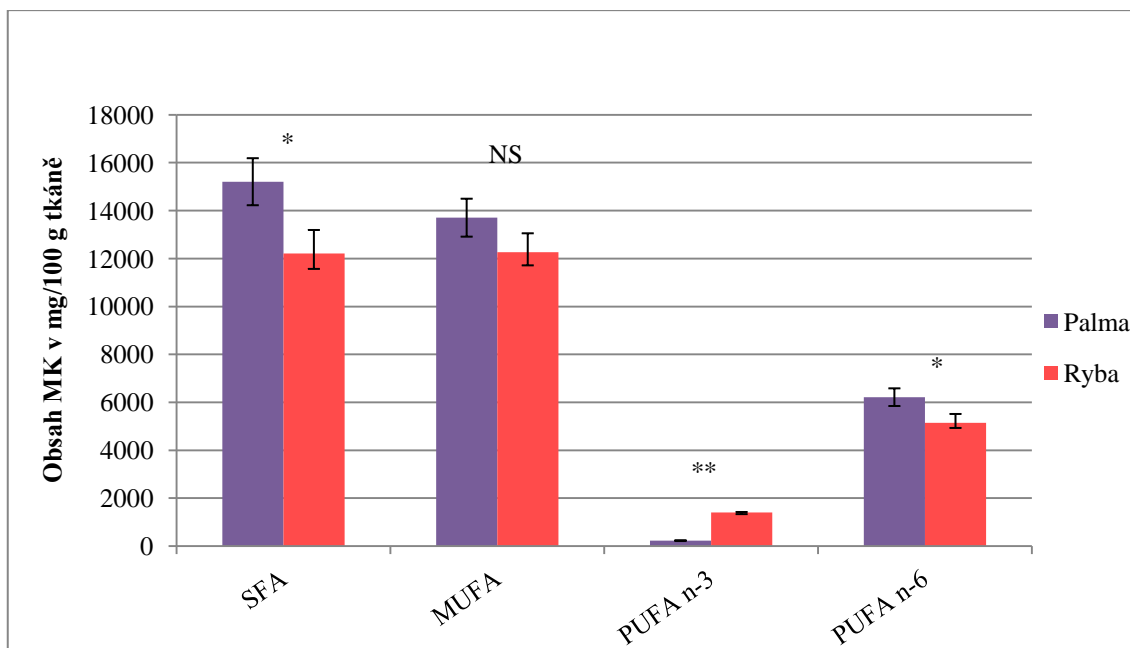
Z obr. 7 vyplývá, že statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$) byl zaznamenán ve viscerální tukové tkáni u kyseliny palmitové (16:0), resp. stearové (18:0) a linolové (18:2n6), kde došlo k jejich zvýšení u kontrolní skupiny oproti pokusné skupině. Naproti tomu ve viscerální tukové tkáni prasat dostávajících krmnou dávku s přidavkem rybího oleje došlo k mírnému zvýšení obsahu ($P < 0,05$) kyseliny palmitoolejové (16:1) patřící mezi MUFA. Obsah kyseliny myristové (14:0), olejové (18:1) a eikosadienové (20:2n6) ve viscerální tukové tkáni obou skupin prasat se nijak výrazně nelišil ($P < 0,05$).



Obr. 8 Obsah PUFA n-3 ve viscerální tukové tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybiho oleje; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

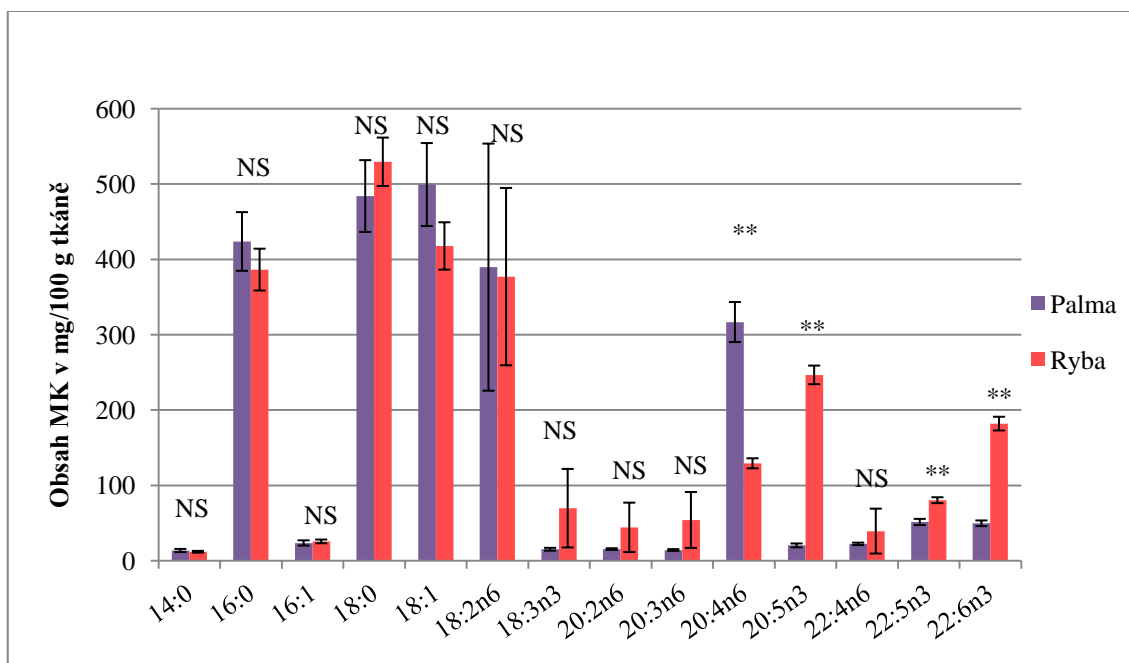
Jak ukazuje obr. 8, u viscerální tukové tkáně prasat krmených dietou s rybím olejem byl v porovnání s kontrolní skupinou mnohonásobně vyšší obsah ($P < 0,01$) kyseliny eikosapentaenové (EPA; 20:5n3), dokosapentaenové (DPA; 22:5n3) a dokosahexaenové (DHA; 22:6n3). Mezi oběma skupinami prasat nebyl významný rozdíl v obsahu ($P < 0,05$) kyseliny α -linolenové (ALA; 18:3n3). Nejvíce zastoupenou PUFA n-3 ($P < 0,01$) byla ve viscerální tukové tkáni kyselina dokosahexaenová (DHA; 22:6n3).



Obr. 9 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin ve viscerální tukové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přidavkem palmového a rybího oleje. Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybího oleje; SFA – nasycené mastné kyseliny (14:0, 16:0, 18:0), MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny (16:1, 18:1), PUFA n-3 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 (18:3n3, 20:5n3, 22:5n3, 22:6n3), PUFA n-6 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-6 (18:2n6, 20:2n6, 20:3n6, 20:4n6, 22:4n6); * – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,05$; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

Obr. 9 srovnává zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin ve viscerální tukové tkáni. Vyplývá z něj, že signifikantní rozdíl mezi skupinami ($P < 0,01$) byl v případě PUFA n-3, kdy viscerální tuková tkáň prasat dostávajících krmnou dávku s přidavkem rybího oleje vykazovala značně vyšší obsah PUFA n-3 než viscerální tuková tkáň prasat krmených dietou s palmovým olejem. Průkazný rozdíl ($P < 0,05$) byl zaznamenán i u SFA a PUFA n-6. Vyšší obsah obou těchto skupin mastných kyselin byl v tukové tkáni prasat krmených dietou s přidavkem palmového oleje. Z hlediska obsahu MUFA ve viscerální tukové tkáni se mezi skupinami prasat neprojevil příliš velký rozdíl ($P < 0,05$).

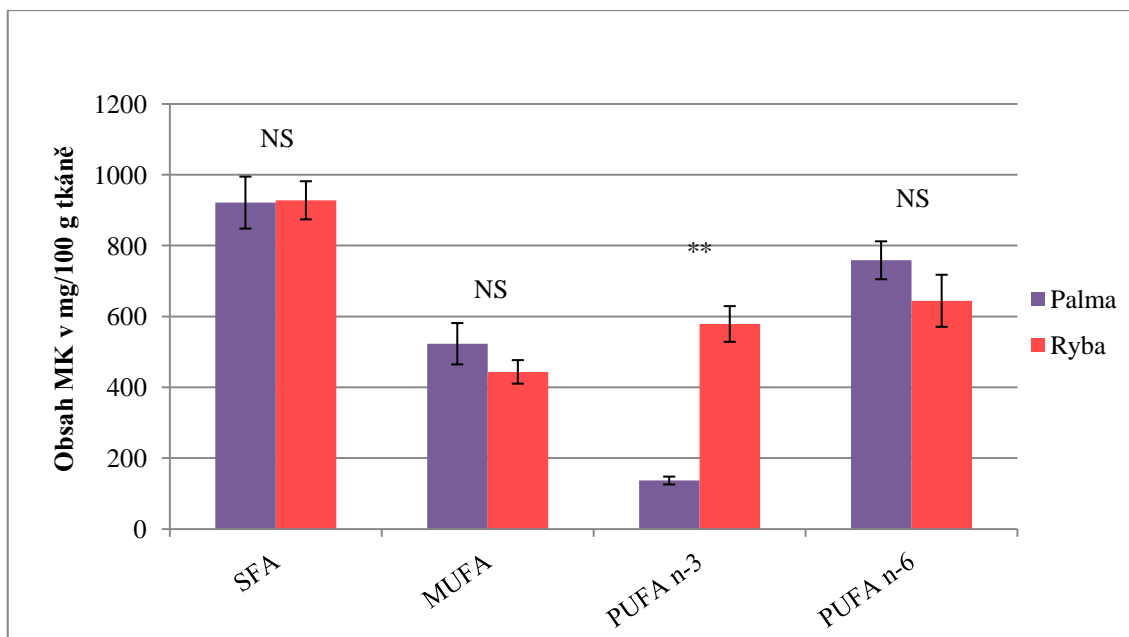
Porovnání vlivu krmné dávky s přísávkem palmového a rybího oleje na zastoupení mastných kyselin v jaterní tkáni prasat je znázorněno na následujících obrázcích (obr. 10 a obr. 11).



Obr. 10 Obsah mastných kyselin v jaterní tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přísávkem 2,5 % palmového oleje; *Ryba* – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přísávkem 2,5 % rybího oleje; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

V případě jaterní tkáně (obr. 10) se statisticky významný rozdíl ($P < 0,01$) mezi skupinami prasat, jejichž dieta se lišila druhem přidávaného oleje, projevil u kyseliny arachidonové (AA; 20:4n6), eikosapentaenové (EPA; 20:5n3), dokosapentaenové (DPA; 22:5n3) a dokosahexaenové (DHA; 22:6n3). Více než dvojnásobné množství kyseliny arachidonové ($P < 0,01$) bylo zjištěno v jaterní tkáni prasat dostávajících krmnou dávku s přísávkem palmového oleje. Naproti tomu v jaterní tkáni prasat dostávajících krmnou dávku s rybím olejem byl vysoký obsah PUFA n-3 (EPA, DPA, DHA; $P < 0,01$). Z hlediska obsahu ostatních sledovaných mastných kyselin se v jaterní tkáni obou skupin prasat neprojevil významný rozdíl ($P < 0,05$).

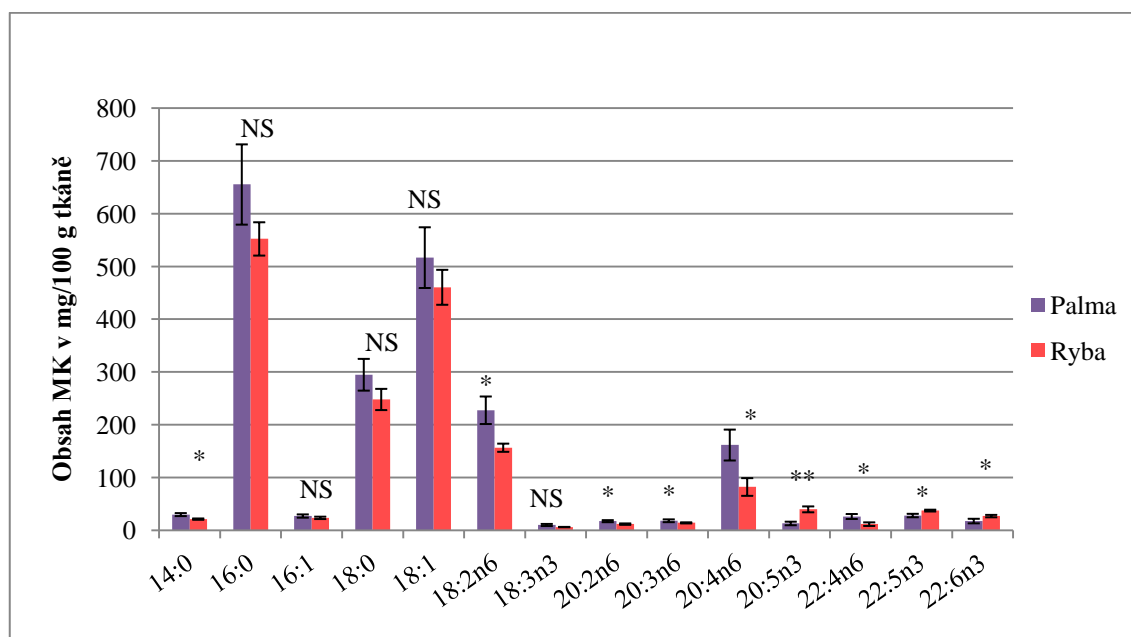


Obr. 11 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin v jaterní tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přidavkem palmového a rybího oleje.

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybího oleje; SFA – nasycené mastné kyseliny (14:0, 16:0, 18:0), MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny (16:1, 18:1), PUFA n-3 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 (18:3n3, 20:5n3, 22:5n3, 22:6n3), PUFA n-6 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-6 (18:2n6, 20:2n6, 20:3n6, 20:4n6, 22:4n6); ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

V jaterní tkáni se podstatný rozdíl v zastoupení SFA, MUFA, PUFA n-3 a PUFA n-6 prokázal pouze u PUFA n-3 ($P < 0,01$), a to u skupiny prasat dostávající krmnou dávku s rybím olejem. Zastoupení SFA, MUFA a PUFA n-6 bylo statisticky neprůkazné ($P < 0,05$). Obsah PUFA n-3 byl několikanásobně větší ($P < 0,01$) v jaterní tkáni prasat, do jejichž krmiva byl přidáván rybí olej ve srovnání s prasaty dostávajícími krmnou dávku s palmovým olejem (obr. 11).

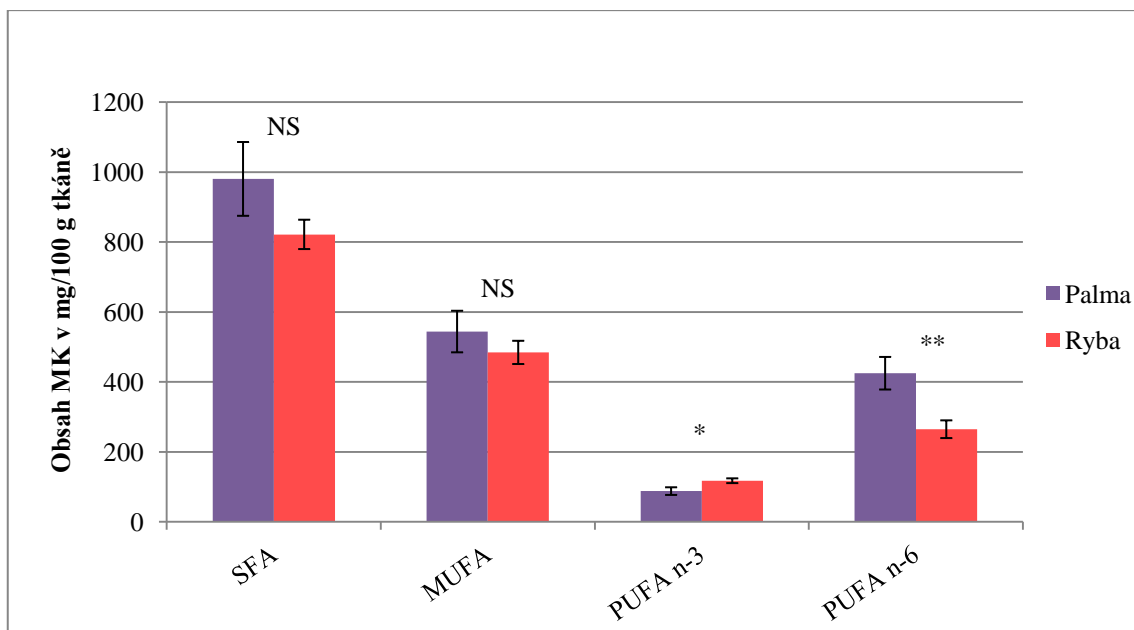
Na obr. 12 a obr. 13 je znázorněno srovnání vlivu diety s přidavkem palmového a rybího oleje na zastoupení mastných kyselin v plicní tkáni prasat.



Obr. 12 Obsah mastných kyselin v plicní tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybího oleje; * – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,05$; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

Při srovnání plicní tkáně obou skupin prasat byl zjištěn významný rozdíl ($P < 0,01$) v obsahu kyseliny eikosapentaenové (EPA; 20:5n3) u prasat dostávajících krmnou dávku s rybím olejem. U této skupiny prasat byl zjištěn i vyšší obsah ($P < 0,05$) PUFA n-3, konkrétně kyseliny dokosapentaenové (DPA; 22:5n3) a dokosahexaenové (DHA; 22:6n3). Naopak v plicní tkáni těch prasat, jež dostávala krmnou dávku s palmovým olejem, byl oproti skupině s rybím olejem zjištěn vyšší obsah ($P < 0,05$) kyseliny myristové (14:0), eikosadienové (20:2n6), homo- γ -linolenové (20:3n6), arachidonové (AA; 20:4n6) a dokosatetraenové (DTA; 22:4n6). V zastoupení ostatních sledovaných mastných kyselin nebyl zjištěn mezi skupinami prasat statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$).



Obr. 13 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin v plicní tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přidavkem palmového a rybiho oleje.

Palma – kontrolní skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % palmového oleje; Ryba – pokusná skupina prasat dostávající krmnou dávku s přidavkem 2,5 % rybiho oleje; SFA – nasycené mastné kyseliny (14:0, 16:0, 18:0), MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny (16:1, 18:1), PUFA n-3 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 (18:3n3, 20:5n3, 22:5n3, 22:6n3), PUFA n-6 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-6 (18:2n6, 20:2n6, 20:3n6, 20:4n6, 22:4n6); * – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,05$; ** – statisticky průkazný rozdíl při $P < 0,01$; NS – statisticky neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$); jednofaktorová analýza rozptylu, post-hoc Tukeyův test; $n = 32$.

Z obr. 13 vyplývá, že podstatný rozdíl ($P < 0,01$) v zastoupení PUFA n-6 v plicní tkáni byl u skupiny prasat krmených dietou s palmovým olejem. Na druhé straně v plicní tkáni prasat krmených dietou s rybím olejem byl oproti prasatům krmených palmovým olejem prokázán vyšší obsah PUFA n-3 ($P < 0,01$). Rozdíl v zastoupení SFA a MUFA v plicní tkáni obou skupin prasat byl neprůkazný ($P < 0,05$).

5.2 Diskuze

Předkládaná diplomová práce byla zaměřena na stanovení mastných kyselin ve svalové, jaterní, plicní a viscerální tukové tkáni 32 kusů prasat (plemena Large White, Landrace). Prasata byla rozdělena do dvou skupin, přičemž každé skupině byla podávána krmná dávka lišící se druhem přidávaného oleje. Do krmných dávek pro jednotlivé skupiny prasat bylo přidáváno během 75denního výkrmu 2,5 % palmového oleje, resp. 2,5 % rybího oleje. Zvířata byla krmena *ad libitum*. Po porážce byly odebrány vzorky vybraných tkání a pomocí plynové chromatografie v nich byly stanoveny mastné kyseliny. Sledován byl vliv přídatku oleje na zastoupení jednotlivých mastných kyselin v dané tkáni.

Kameník (2014) uvádí, že vzhledem ke způsobu trávení lze u prasat poměrně snadno upravovat složení mastných kyselin v tukové a svalové tkáni prostřednictvím krmiva s obsahem různých olejů. V pokusu autorů Intarapichet et al. (2008) byl sledován vliv přídatku palmového oleje a konjugované kyseliny linolové (CLA) na zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve svalové tkáni (*m. longissimus dorsi*) prasat. Pokus byl proveden se 48 prasaty, jejichž plemenná příslušnost byla Duroc, Large White a Landrace. Jejich počáteční hmotnost byla cca 60 kg. Prasata byla rozdělena do tří skupin. Kontrolní skupina dostávala krmnou dávku, do níž byly přidávány 2,0 % palmového oleje. Do krmných dávek pro obě pokusné skupiny byly přidávány rovněž 2,0 % palmového oleje, avšak krmné dávky se lišily přídatkem CLA (0,5 % a 1 %). Zvířata byla krmena *ad libitum* po dobu 6 týdnů, poté byla porážena a následně byly odebrány vzorky svaloviny pro analýzu mastných kyselin. Ve svalovině prasat, jež dostávala krmnou dávku pouze s přídatkem palmového oleje, byl zjištěn ze všech sledovaných mastných kyselin nejvyšší obsah u kyseliny palmitové (16:0), stearové (18:0), olejové (18:1) a linolové (18:2n6). Z těchto kyselin dosáhla nejvyšší hladiny kyselina olejová. Ve svalovině prasat krmných dietou s 2,0 % palmového oleje bylo zjištěno 682,8 mg kyseliny olejové na 100 g svaloviny. Výsledky studie Intarapichet et al. (2008) jsou srovnatelné s výsledky předkládané práce, kde byl ve svalovině prasat krmných dietou s přídatkem 2,5 % palmového oleje zjištěn přibližně stejný obsah kyseliny palmitové (16:0), stearové (18:0) a linolové (18:1) jako v uvedené studii. Zajímavé ovšem je, že v předkládané práci byl zjištěn obsah kyseliny olejové (18:1) ve svalovině 1217,9 mg/100 g svaloviny, což je téměř dvojnásobné množství, než jaké bylo stanoveno v pokusu provedeném autory Intarapichet et al.

(2008). Příčinou toho může být o 0,5 % vyšší přídavek palmového oleje do krmné dávky nebo delší doba výkrmu. Nicméně u ostatních kyselin nebyly rozdíly v množství tak markantní.

Olivares et al. (2009) zkoumali vliv přídavku oleje s vysokým obsahem SFA (palmový olej) a oleje s vysokým obsahem PUFA n-6 (sójový olej) na profil mastných kyselin ve svalové tkáni (*m. longissimus dorsi*) různých plemen prasat (Duroc, Large White a Landrace). Výsledkem jejich výzkumu bylo zjištění, že profil mastných kyselin po aplikaci krmných dávek s přídavkem různých olejů byl značně variabilní mezi plemeny (Olivares et al., 2009). Podle Václavkové (2011) mají na skladbu mastných kyselin ve svalové a tukové tkáni prasat vliv genetické faktory. Rozdíly ve skladbě mastných kyselin mezi různými plemeny a genotypy lze vysvětlit rozdíly v obsahu libové svaloviny a obsahu tuku u jednotlivých plemen (Václavková, 2011).

V pokusu Olivares et al. (2009) bylo do krmných dávek pro jednotlivé skupiny prasat přidáváno 2,5 % palmového oleje, resp. 2,5 % sójového oleje. Ve svalovině prasat plemene Duroc byl zjištěn mnohem větší obsah SFA po aplikaci krmné dávky s přídavkem palmového oleje, než ve svalovině prasat plemene Large White a Landrace, jež dostávala stejnou krmnou dávku obsahující palmový olej. Mezi plemeny Large White a Landrace byla celkově ve svalovině z hlediska zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin zjištěna velká podobnost. Ve svalové tkáni prasat obou těchto plemen, jež byla krmena dietou s přídavkem 2,5 % palmového oleje, byl zjištěn obsah SFA 38,9 %, MUFA 53,9 % a obsah PUFA 7,1 % (Olivares et al., 2009). V předkládané práci bylo zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin ve svalovině prasat krmených dietou s přídavkem 2,5 % palmového oleje následující: 866,389 mg SFA/100g tkáně odpovídá 33,5 % SFA, 1282,941 mg MUFA/100 g tkáně odpovídá 49,6 % MUFA a 439,364 mg PUFA/100 g tkáně odpovídá 17 % PUFA. Zastoupení SFA a MUFA ve svalovině prasat se podobá výsledkům pokusu Olivares et al. (2009). Jak je však z předkládané práce patrné, obsah PUFA ve svalovině prasat byl o 10 % vyšší než ve studii Olivares et al. (2009).

Podle Teye et al. (2006) ovlivňuje skladba mastných kyselin několik aspektů kvality svaloviny, potažmo masa. Obecně platí, že vyšší poměr PUFA/SFA má z hlediska stability vůči oxidaci horší vliv na trvanlivost masa, má však příznivý vliv na jeho nutriční hodnotu. Z pohledu výživy člověka je vhodný poměr PUFA/SFA 0,4 a vyšší. Z toho plyne, že poměr PUFA/SFA byl z nutričního hlediska příznivější ve svalovině

prasat, jež byla zkoumána v předkládané práci, ale z hlediska oxidační stability byl optimálnější poměr PUFA/SFA spíše v práci Olivares et al. (2009). Na vyšší stabilitu vůči oxidaci u svaloviny pocházející z prasat krmných dietou s přidavkem palmového oleje poukazují i autoři Eder et al. (2005).

Sobol et al. (2015) zkoumali, jakým způsobem se změní obsah mastných kyselin, a zejména pak obsah PUFA řady n-3 ve svalové tkáni prasat, jež byla krmna dietou obohacenou o 1-2 % rybího oleje. Experiment byl proveden na 24 prasnicích (Duroc, Large White a Landrace), které byly rozděleny do čtyř skupin. Ve svalovině (*m. longissimus dorsi*) prasnic dostávajících nejvyšší dávku rybího oleje (2%) byl zjištěn vysoký obsah kyseliny eikosapentaenové (20:5n3; 30 mg/100 g svaloviny), dokosapentaenové (22:5n3; 40 mg/100 g svaloviny) a dokosaheptaenové (22:7n3; 40 mg/100 g svaloviny; Sobol et al., 2015). V předkládané práci bylo dosaženo podobného výsledku u kyseliny dokosaheptaenové (22:7n3; 37 mg/100 g svaloviny). Obsah kyseliny eikosapentaenové (20:5n3; 22 mg/100 g svaloviny) a dokosapentaenové (22:5n3; 22,5 mg/100 g svaloviny) byl nižší, což je poněkud paradoxní, neboť do krmných dávek pro prasata bylo přidáváno ještě o 0,5 % více rybího oleje než v pokusu provedeném Sobol et al. (2015). Příčinou toho může být například rozdílné složení krmných dávek. V pokusu Sobol et al. (2015) byly do krmných dávek přidávány vitamíny A, D, E a dále vitamíny skupiny B. Rey, López-Bote (2001) uvádějí, že přidavkem některých vitamínů do krmných dávek může být ovlivněna hladina nenasycených mastných kyselin v tkáních prasat. V jejich pokusu se například potvrdilo, že ve svalovině prasat dostávajících krmnou dávku obohacenou o vitamin E byl vyšší obsah PUFA n-3 než ve svalovině prasat, která dostávala krmnou dávku bez přidavku vitamínu E (Rey, López-Bote, 2001).

Vedle již zmíněného poměru PUFA/SFA má z hlediska výživy člověka velký význam i poměr PUFA n-6/n-3, který by měl být 5 : 1 a nižší (Prudíková et al. 2016). Jak uvádí Sobol et al. (2015) poměr PUFA n-6/n-3 ve vepřovém mase se pohybuje okolo 7 : 1. Rybí olej je bohatým zdrojem PUFA n-3 (zejména EPA a DHA), jeho zkrmováním dojde ke zvýšení obsahu PUFA n-3 ve svalové tkáni prasat (Sobol et al., 2015), čímž dojde ke snížení poměru PUFA n-6/n-3, který se tak přiblíží doporučené hodnotě (Prudíková et al., 2016). Ve svalové tkáni prasat, jež dostávala krmnou dávku obohacenou o 2 % rybího oleje, dosáhli Sobol et al. (2015) snížení poměru PUFA n-6/n-3 z hodnoty 7,3 na hodnotu 5,2. Hallenstvedt et al. (2010) provedli pokus na 72

prasatech (Large White, Landrace a Duroc), které rozdělili do šesti skupin a každé skupině podávali krmnou dávku s přidavkem jiného oleje. Výjimkou byla první skupina, do jejíž krmné dávky nebyl přidáván žádný olej. Ve svalové tkáni této skupiny prasat dosahoval poměr PUFA n-6/n-3 hodnoty 7,1. U skupiny prasat, jež dostávala krmnou dávku s přidavkem 0,5 % rybího oleje, byla zjištěna hodnota poměru 6,51 (Hallenstvedt et al., 2010). V předkládané práci po aplikaci 2,5 % rybího oleje do krmné dávky došlo ve svalovině prasat ke snížení poměru PUFA n-6/n-3 na hodnotu 4. Naopak při přidavku stejného množství palmového oleje se poměr ve svalovině zvýšil až na hodnotu 10,5.

Duran-Montgé et al. (2009) se zabývali stanovením mastných kyselin ve svalové, tukové a jaterní tkáni 56 prasat (Duroc a Landrace), které rozdělili do 7 skupin. Každá skupina dostávala krmnou dávku, do které byl přidáván určitý druh oleje. Do jedné z krmných dávek bylo přidáváno 3,8 % rybího oleje, nicméně do téže dávky bylo přidáváno i 5 % lněného oleje. Ve svalové, tukové a jaterní tkáni prasat byly jednotlivé mastné kyseliny ve srovnání s předkládanou prací zastoupeny v daleko větším množství. Při srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin (SFA, MUFA a PUFA) byly ve svalové a tukové tkáni nejvíce zastoupeny MUFA a v jaterní tkáni PUFA, což se shoduje s výsledky předkládané práce. Vysoký obsah PUFA v jaterní tkáni koresponduje se značným snížením poměru PUFA n-6/n-3.

6 ZÁVĚR

Lipidy patří, spolu s bílkovinami a sacharidy, mezi základní živiny. Vzhledem ke své dvojnásobné energetické denzitě v porovnání se sacharidy či proteiny přispívají k podstatnému zvyšování celkově přijaté energie. Základním stavebním prvkem všech lipidů přijímaných potravou jsou mastné kyseliny. Množství a spektrum jednotlivých mastných kyselin v tukové složce potravin má z nutričního a následně i ze zdravotního hlediska velký význam.

Cílem předkládané diplomové práce bylo stanovit mastné kyseliny ve svalové, jaterní, plicní a viscerální tukové tkáni prasat. Celkem 32 kusů prasat bylo rozděleno do dvou skupin po 16 kusech. Každá skupina byla krmena dietou obohacenou o jiný druh oleje (2,5 % palmového oleje × 2,5 % rybího oleje). Ve vybraných tkáních byl sledován vliv přídavku oleje na zastoupení jednotlivých mastných kyselin.

Bylo zjištěno, že ve svalové tkáni prasat nebyl obsah SFA, MUFA a PUFA n-6 ovlivněn žádným ze zkrmovaných olejů. Na druhé straně přídavek rybího oleje měl značný vliv na zvýšení množství PUFA n-3 ($P < 0,01$) ve svalové tkáni prasat dostávajících krmnou dávku s přídavkem tohoto oleje. Zejména byl zjištěn vysoký obsah kyseliny dokosaheptaenové (DHA), jejíž vyšší příjem v potravě působí příznivě na snižování rizika kardiovaskulárních onemocnění. Obdobných výsledků bylo dosaženo u viscerální tukové tkáně. Lze si povšimnout podobného vzoru, jakým působila dieta s přídavkem rybího oleje na obsah jednotlivých PUFA n-3 ve viscerální tukové tkáni, resp. ve svalové tkáni. Poměrné zastoupení těchto kyselin bylo u obou tkání zhruba stejné, v tukové tkáni bylo však absolutní množství těchto kyselin řádově větší. V jaterní tkáni prasat bylo zaznamenáno velké zvýšení obsahu kyseliny arachidonové (AA) u prasat krmených dietou s palmovým olejem. Jaterní tkáň prasat dostávajících krmnou dávku s rybím olejem vykazovala velké zvýšení v obsahu kyseliny eikosapentaenové (EPA) a dokosaheptaenové (DHA). V plicní tkáni se více projevil přídavek palmového oleje zvýšením kyseliny dokosatetraenové (DTA) patřící mezi PUFA n-6.

Zjištění, že přídavkem olejů lze poměrně snadno ovlivňovat obsah některých mastných kyselin v tkáních prasat může mít velký význam z nutričního hlediska, neboť vepřové maso a další produkty získávané z jatečných prasat jsou v současné době velmi oblíbenými potravinami živočišného původu.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AKOH, C. C., MIN, D. B., 2008: *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 3. vyd., 928 s., ISBN 978-1-4200-4663-2.

ALUKO, R. E., 2012: *Functional foods and nutraceuticals*. New York, NY: Springer, 1. vyd., 155 s., ISBN 978-1-4614-3479-5.

ASCHERIO, A., 2006: Trans fatty acids and blood lipids. *Atherosclerosis Supplements*, roč. 7, č. 2, s. 25-27.

AURELI, M., GRASSI, S., PRIONI, S., SONNINO, S., PRINETTI, A., 2015: Lipid membrane domains in the brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, roč. 1851, č. 8, s. 1006-1016.

BABIČKA, L., 2016: *Nutričně významné látky v potravinách*. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny. Publikace České technologické platformy pro potraviny, 1. vyd., 53 s., ISBN 978-80-88019-15-2.

BÉDER, I., 2005: *Výživa a dietetika*. Bratislava: Univerzita Komenského, 1. vyd., 186 s., ISBN 80-223-2007-2.

BELITZ, H. D., GROSCHE, W., SCHIEBERLE, P., 2008: *Food chemistry*. New York: Springer, 4. vyd., 1070 s., ISBN 978-3-540-69933-0.

BERK, Z., 2013: *Food process engineering and technology*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2. vyd., 690 s., ISBN 978-0-12-415923-5.

BRADBURY, J., 2011: *Docosahexaenoic Acid (DHA): An Ancient Nutrient for the Modern Human Brain*, roč. 3, č. 5, s. 529-554.

DOSTÁLOVÁ, J., DLOUHÝ, P., TLÁSKAL, P., 2012: Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky. *Výživa a potraviny*, č. 3, s. 80-82.

DURAN-MONTGÉ, P., THEIL, P. K., LAURIDSEN, C., ESTEVE-GARCIA, E., 2009: Fat metabolism is regulated by altered gene expression of lipogenic enzymes and regulatory factors in liver and adipose tissue but not in semimembranosus muscle of pigs during the fattening period. *Animal*, roč. 3, č. 11, s. 1580-1590.

EDER, K., MÜLLER, G., KLUGE, H., HIRCHE, F., BRANDSCH, C., 2005: Concentrations of oxysterols in meat and meat products from pigs fed diets differing in the type of fat (palm oil or soybean oil) and vitamin E concentrations. *Meat Science*, roč. 70, č. 1, s. 15-23.

EDER, K., 1995: Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, roč. 671, č. 1, s. 113-131.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA), 2010: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, roč. 8, č. 3, 107 s.

ERDMAN, J. W., MACDONALD, I., ZEISEL, S. H., 2012: *Present knowledge in nutrition*. Ames: International Life Sciences Institute, 10. vyd., 1305 s., ISBN 978-0-4709-5917-6.

FELLNEROVÁ, I., HLAVÁČEK, L., ČELECHOVSKÝ, A., 2014: *Obecná fyziologie I: chemické a buněčné základy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 1. vyd., 143 s., ISBN 978-80-244-4014-9.

GANGULY, R., PIERCE, G. N., 2015: The toxicity of dietary trans fats. *Food and Chemical Toxicology*, roč. 78, s. 170-176.

GANONG, W. F., 2005: *Přehled lékařské fyziologie*. Praha: Galén, 890 s., ISBN 80-7262-311-7.

GUNSTONE, F. D., HARWOOD J. L., DIJKSTRA, A. J., 2007: *The lipid handbook with CD-ROM*. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis, 3. vyd., 781 s., ISBN 978-1-4200-0967-5.

GURR, M. I., HARWOOD, J. L., FRAYN, K. N., 2002: *Lipid biochemistry*. Malden, Mass.: Blackwell Science, 5. vyd., 337 s., ISBN 0-632-05409-3.

HADAŠ, Z., 2014: *Využití konjugované kyseliny linolové ve výživě prasnic*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 21 s., ISBN 978-80-7403-124-3.

HARA, A., RADIN, N. S., 1978: Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*, roč. 90, č. 1, s. 420-426.

HAVLÍK, J., MAROUNEK, M., 2013: *Živiny a živinové potřeby člověka: učebnice pro studenty ČZU v Praze*. V Praze: Česká zemědělská univerzita, 2. vyd., 131 s., ISBN 978-80-213-2374-2.

HALLENSTVEDT, E., KJOS, N. P., REHNBERG, A. C., ØVERLAND, M., THOMASSEN, M., 2010: Fish oil in feeds for entire male and female pigs: Changes in muscle fatty acid composition and stability of sensory quality. *Meat Science*, roč. 85, č. 1, s. 182-190.

HOLEČEK, M., 2016: *Regulace metabolismu základních živin u člověka*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2. vyd., 251 s., ISBN 978-80-246-2976-6.

CHOW, CH. K., 2008: *Fatty acids in foods and their health implications*. Boca Raton: Taylor & Francis, 3. vyd., 1256 s., ISBN 0-8493-7261-5.

CHRISTIE, W. W., 1993: Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. *Advances in lipid methodology*, roč. 2, č. 69, s. 69-111.

INTARAPICHET, K. O., MAIKHUNTHOD, B., THUNGMANEE, N., 2008: Physicochemical characteristics of pork fed palm oil and conjugated linoleic acid supplements. *Meat Science*, roč. 80, č. 3, s. 788-794.

KAMENÍK, J., 2014: *Maso jako potravina: produkce, složení a vlastnosti masa*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 1. vyd., 327 s., ISBN 978-80-7305-673-5.

KITTNAR, O., 2011: *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada, 1. vyd., 790 s., ISBN 978-80-247-3068-4.

KLIMEŠOVÁ, I., STELZER, J., 2013: *Fyziologie výživy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, 1. vyd., 177 s., ISBN 978-80-244-3280-9.

KLOUDA, P., 2013: *Základy biochemie*. Ostrava: Pavko, 3. vyd., 220 s., ISBN 978-80-86369-16-7.

KLOUDA, P., 2016: *Moderní analytické metody*. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 3. vyd., 176 s., ISBN 978-80-86369-22-8.

KODÍČEK, M., VALENTOVÁ, O., HYNEK, R., 2015: *Biochemie: chemický pohled na biologický svět*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 1. vyd., 399 s., ISBN 978-80-7080-927-3.

KOHUTIAR, M., CHMÁTALOVÁ, Z., ILLNER, J., POPELKOVÁ, T., 2016: *Praktická cvičení z lékařské chemie a biochemie*. 2. přepracované a doplněné vydání. Praha: Pro Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol vydala Fakultní nemocnice v Motole, 2. vyd., 252 s., ISBN 978-80-87347-24-9.

KOLÁČKOVÁ, M., 2016: *Obsah PUFA n-6 a n-3 ve vybraných živočišných tkáních*, diplomová práce, Mendelova univerzita v Brně, 69 s.

KOMPRDA, T., ANSORGOVÁ, A., ROZÍKOVÁ, V., NĚMCOVÁ, B., 2015: Chromatografické stanovení polynenasycených mastných kyselin ve vybraných živočišných tkáních. *Chemické listy*, roč. 109, č. 2, s. 140-146.

KOMPRDA, T., ZORNÍKOVÁ, G., ROZÍKOVÁ, V., BORKOVCOVÁ, M., PRZYWAROVÁ, A., 2013: The effect of dietary *Salvia hispanica* seed on the content of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in tissues of selected animal species, including edible insects. *Journal of food composition and analysis*, roč. 32, č. 1, s. 36-43.

KOMPRDA, T., 2009: *Výživou ke zdraví*. Velké Bílovice: TeMi CZ, 1. vyd., 110 s., ISBN 978-80-87156-41-4.

KOMPRDA, T., 2006: Kyselina arachidonová a polynenasycené mastné kyseliny řady n-3: fyziologický význam a obsah ve vybraných živočišných produktech. In INGR, I. *Sborník souhrnů sdělení XXXIII. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, s. 7. ISBN 80-7157-930-0.

KOMPRDA, T., 2006: Cholesterol a jeho oxidační produkty v potravinách živočišného původu. *Veterinářství*, sv. 56, č. 2, s. 121-125.

KOMPRDA, T., 2003: *Základy výživy člověka*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1. vyd., 162 s., ISBN 80-7157-655-7.

KOOLMAN, J., RÖHM, K. H., 2012: *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 1. české vyd., 498 s., ISBN 978-80-247-2977-0.

KRAML, P., 2008: *Hyperlipoproteinémie v klinické praxi*. Praha: Tigris, 1. vyd., edice: Horizonty diabetologie, 128 s., ISBN 978-80-903750-5-5.

KŘÍŽEK, M., ŠÍMA, J., 2015: *Analytická chemie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 1. vyd., 214 s., ISBN 978-80-7394-486-5.

KŘÍŽENECKÁ, S., SYNEK, V., 2014: *Základy analytické chemie*. Ústí nad Labem: Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, 1. vyd., 143 s., ISBN 978-80-7414-804-0.

KUNEŠOVÁ, M., 2016: *Základy obezitologie*. Praha: Galén, 1. vyd., 172 s., ISBN 978-80-7492-217-6.

LEDVINA, M., STOKLASOVÁ, A., CERMAN, J., 2009: *Biochemie pro studující medicíny*. V Praze: Karolinum. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze, 2. vyd., 274 s. ISBN 978-80-246-1414-4.

LOPEZ-HUERTAS, E., 2010: Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*, roč. 61, č. 3, s. 200-207.

MATOUŠ, B., 2010: *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha: Galén, 1. vyd., 540 s., ISBN 978-80-7262-702-8.

MOTYKA, K., HLAVÁČ, J., 2009: *Stručný přehled separačních metod*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. Studijní texty, 1. vyd., 45 s., ISBN 978-80-244-2304-3.

MOUREK, J., 2007: *Mastné kyseliny Omega-3: zdraví a vývoj*. Praha: Triton, 1. vyd., 174 s., ISBN 978-80-7254-917-7.

MURRAY, R. K., 2012: *Harperova ilustrovaná biochemie*. Praha: Galén, 5. české vyd., 730 s., ISBN 978-80-7262-907-7.

NICOLAOU A., KOKOTOS, G., 2004: *Bioactive lipids*. Bridgwater: Oily Press, 1. vyd., 314 s., ISBN 978-0-9531949-7-1.

NOLLET, L. M., TOLDRÁ, F., 2015: *Handbook of Food Analysis, -Two Volume Set*. CRC Press, 1530 s., ISBN 978-1-4665-5654-6.

OKÁČOVÁ L., VETCHÝ, D., FRANC, A., RABIŠKOVÁ, M., KRATOCHVÍL, B., 2010: Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek jejich modifikací. *Chemické listy*, roč. 104, č. 1, s. 21-26.

OLIVARES, A., DAZA, A., REY, A. I., LOPEZ-BOTE, C. J., 2009: Interactions between genotype, dietary fat saturation and vitamin A concentration on intramuscular fat content and fatty acid composition in pigs. *Meat Science*, roč. 82, č. 1, s. 6-12.

ÖTLES, S., 2009: *Handbook of food analysis instruments*. Boca Raton: CRC Press, 1. vyd., 525 s., ISBN 978-1-4200-4566-6.

POHANKA, M., 2015: *Přehled biochemie: učební text pro vysokoškolskou výuku*. V Hradci Králové: Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, 64 s., ISBN 978-80-7231-358-7.

PRAUS, P., VONTOROVÁ, J., 2015: *Analytická chemie II*. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 1. vyd., 157 s., ISBN 978-80-248-3734-5.

PRUDÍKOVÁ, M., ROZÍKOVÁ, V., KOMPRDA, T., FALDYNA, M., 2016: The effect of fish and palm oil addition on fatty acids content of pig tissues. In *MendelNet 2016: Proceedings of International PhD Students Conference*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 1. vyd. s. 616-621, ISBN 978-80-7509-443-8.

REY, A., LÓPEZ-BOTE, C. J., 2001: Effect of dietary copper and vitamin E supplementation, and extensive feeding with acorns and grass on Longissimus muscle composition and susceptibility to oxidation in Iberian pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, roč. 85, s. 281–292.

ROZÍKOVÁ, V., 2014: *Analýza vybraných zemědělských produktů z hlediska optimálního poměru n-3 a n-6 polynenasycených mastných kyselin*, disertační práce, Mendelova univerzita v Brně, 119 s.

SCHMITT, S., CASTELVETRI, L. C., SIMONS, M., 2015: Metabolism and functions of lipids in myelin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, roč. 1851, č. 8, s. 999-1005.

SHAHIDI, F., 2006: *Nutraceutical and specialty lipids and their co-products*. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis, 1. vyd., 584 s., ISBN 978-1-4200-1591-1.

SIKORSKI, Z. E., KOŁAKOWSKA, A., 2003: *Chemical and functional properties of food lipids*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1. vyd., 365 s., ISBN 978-1-4200-3199-7.

SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A., 2016: *Atlas fyziologie člověka*. Praha: Grada Publishing, 4. vyd., překlad 8. německého vyd., 434 s., ISBN 978-80-247-4271-7.

SMÍTAL, F., 2009: Vepřové maso je zdravé. Dostupné z: <http://www.agrovenkov.cz/service.asp?act=email&val=91865>

SOBOL, M., SKIBA, G., RAJ, S., 2015: Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid intake on its deposition in the body of growing-finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, roč. 208, s. 107-118.

SPOLEČNOST PRO VÝŽIVU, 2011: *Referenční hodnoty pro příjem živin*. Praha: Společnost pro výživu, v ČR 1. vyd., 192 s., ISBN 978-80-254-6987-3.

SVAČINA, Š., 2010: *Poruchy metabolismu a výživy*. Praha: Galén, 1. vyd., 505 s., ISBN 978-80-7262-676-2.

SVAČINA, Š., BRETŠNAJDROVÁ, A., 2008: *Dietologický slovník*. Praha: Triton, 1. vyd., 271 s., ISBN 978-80-7387-062-1.

SVAČINA, Š., 2008: *Klinická dietologie*. Praha: Grada, 1. vyd., 381 s., ISBN 978-80-247-2256-6.

SZŮČOVÁ, L., 2011: *Chemie pro biology II*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 1. vyd., 109 s., ISBN 978-80-244-2723-2.

ŠTEJFA, M., 2007: *Kardiologie*. Praha: Grada, 3. přeprac. a dopl. vyd., 722 s., ISBN 978-80-247-1385-4.

ŠTĚPÁNKOVÁ, Š., KRÁLOVCOVÁ, P., KANĎÁR, R., 2016: *Laboratorní cvičení z obecné a klinické biochemie*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 1. vyd., 152 s., ISBN 978-80-7395-958-6.

TEYE, G. A., SHEARD, P. R., WHITTINGTON, F. M., NUTE, G. R., STEWART, A., WOOD, J. D., 2006: Influence of dietary oils and protein level on pork quality. 1. Effects on muscle fatty acid composition, carcass, meat and eating quality. *Meat Science*, roč. 73, č. 1, s. 157-165.

ÚKZÚZ, 2015: Stanovení obsahu mastných kyselin v olejích a tucích metodou GC. Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv, 1. vyd., 14 s. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/246167/_10040._1_Stanoveni_obsahu__mastnych_kyseliny_metodou_GC.pdf.

VÁCLAVKOVÁ, E., 2011: Vepřové maso jako funkční potravina. *Zemědělec, odborný a stavovský týdeník*, roč. 20, č. 48, s. 11.

VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J., 2009: *Chemie potravin I*. Tábor: OSSIS, 3. vyd., 580 s., ISBN 978-80-86659-17-6.

WATSON, R. R., 2009: *Fatty acids in health promotion and disease causation*. Urbana, Ill.: AOCS Press, 1. vyd., 865 s., ISBN 978-1-893997-65-3.

WILHELM, Z., 2013: Mastné kyseliny ω -3; od teorie po klinickou praxi. *Medicína pro praxi*, roč. 10, č. 2, s. 72-76.

ZADÁK, Z., *Výživa v intenzivní péči*. Praha: Grada, 2. vyd., 542 s., ISBN 978-80-247-2844-5.

ZLATOHLÁVEK, L., 2016: *Klinická dietologie a výživa*. Praha: Current Media, Medicus, 1. vyd., 422 s., ISBN 978-80-88129-03-5.

ŽÁK, A., MACÁŠEK, J., 2011: *Ateroskleróza: nové pohledy*. Praha: Grada, 1. vyd., 183 s., ISBN 978-80-247-3052-3.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Trávení lipidů v žaludku a v tenkém střevě (Silbernagl, Despopoulos, 2016)...	16
Obr. 2 Schéma plynového chromatografu (Kluda, 2016).....	33
Obr. 3 Obsah mastných kyselin v krmné dávce s přídavkem rybího, resp. palmového oleje (mg/100 g krmné dávky).....	43
Obr. 4 Obsah SFA, MUFA, PUFA n-6 ve svalové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přídavkem palmového a rybího oleje.	44
Obr. 5 Obsah PUFA n-3 ve svalové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přídavkem palmového a rybího oleje.....	45
Obr. 6 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin ve svalové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přídavkem palmového a rybího oleje.	46
Obr. 7 Obsah SFA, MUFA, PUFA n-6 ve viscerální tukové tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).....	47
Obr. 8 Obsah PUFA n-3 ve viscerální tukové tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).....	48
Obr. 9 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin ve viscerální tukové tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přídavkem palmového a rybího oleje.	49
Obr. 10 Obsah mastných kyselin v jaterní tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).....	50
Obr. 11 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin v jaterní tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přídavkem palmového a rybího oleje.	51
Obr. 12 Obsah mastných kyselin v plicní tkáni kontrolní a pokusné skupiny prasat (mg/100 g tkáně).....	52
Obr. 13 Srovnání zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin v plicní tkáni prasat (mg/100 g tkáně) krmených dietou s přídavkem palmového a rybího oleje.	53

9 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Přehled nejčastěji se vyskytujících MK v potravinách (Erdman et al., 2012).....	21
Tab. 2 Významné zdroje jednotlivých skupin mastných kyselin (Mourek, 2007)	27
Tab. 3 Obsah mastných kyselin v rybím a palmovém oleji (v mg/100 g oleje)	37
Tab. 4 Nastavení plynového chromatografu a použitý teplotní režim.....	41
Tab. 5 Obsah mastných kyselin v krmné dávce s přídatkem rybiho, resp. palmového oleje (mg/100 g krmné dávky).....	42

10 SEZNAM ZKRATEK

AA – kyselina arachidonová
ALA – kyselina α -linolenová
ANOVA – analysis of variance
CLA – konjugovaná kyselina linolová
CNS – centrální nervový systém
DHA – kyselina dokosaheptaenová
ECD – detektor elektronového záchytu
EFSA – European Food Safety Authority
EPA – kyselina eikosapentaenová
FABP – fatty acid binding protein
FAME – methylestery mastných kyselin
FATP – fatty acid transport protein
FID – plamenově ionizační detektor
GC – gas chromatography
GLA – kyselina γ -linolenová
GLC – gas liquid chromatography
GSC – gas solid chromatography
HDL – high density lipoprotein
HIP – hexan/isopropanol
LA – kyselina linolová
LCFA – long chain fatty acids
LDL – low density lipoprotein
MCFA – medium chain fatty acids
MK – mastné kyseliny
MS – hmotnostní spektrometr
MUFA – monounsaturated fatty acid
NS – not significant
PLOT – porous layer open tubular
PNS – periferní nervový systém
PUFA – polyunsaturated fatty acid
SCFA – short chain fatty acids
SCOT – support coated open tubular

SFA – saturated fatty acid

TAG – triacylglyceroly

TCD – tepelně vodivostní detektor

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

USA – United States of America

VLCFA – very long chain fatty acids

WCOT – wall coated open tubular

WHO – World Health Organisation