

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

**Stanovení spektra mastných kyselin ve vybraných
ztužených tucích**

bakalářská práce

Autor práce: Kristina Janešíková
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant (ZLP)
Vedoucí práce: doc. Ing. Jiří Špička, Csc.

Datum odevzdání práce: 13. 8. 2012

Abstrakt

Stanovení spektra mastných kyselin ve vybraných ztužených tucích

Cílem této práce je seznámit se s metodou stanovení spektra mastných kyselin ve ztužených tucích pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie.

V teoretická části jsou uvedeny informace o druzích lipidů, jejich složení, vlastnostech mastných kyselin zejména v olejích a ve ztužených pokrmových tucích a o základních metodách ztužení olejů. Tato část je zaměřena na metodu stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie s využitím kvalitativní identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie.

Mastné kyseliny byly stanoveny v některých komerčních tucích (Albert, Ceres Soft, Iva, Lando, Lira, Omega, Varoma).

Ve všech tucích byla nejvíce zastoupena kyselina palmitová (kyselina hexadekanová), zaujímala 36-45,5%, dále byla hojně zastoupena kyselina olejová (cis-oktadek-9-enová) z 32,2-39%. Poslední více zastoupenou kyselinou je kyselina linolová (cis, cis-oktadeka-9,12-dienová). Je zastoupena od 7,7% do 10,5%. Nižší množství kyseliny linolové obsahuje tuk Albert. Tato kyselina zaujímá pouze 4,5%.

Zajímavý je obsah kyselin typických pro mléčný tuk přežvýkavců, jedná se o kyselinu kaprylovou (oktanová), kaprinovou (dekanová) a laurovou (dodekanová), a obsah *trans*-kyselin. Ztužený tuk Albert má nejvyšší obsah *trans*-kyselin, ve výrobku zaujímají tyto kyseliny 23,4%. Z tohoto výsledku je možné usoudit, že tento výrobek má pravděpodobně nižší kvalitu, než výrobky ostatní. Obsah kyselin typických pro mléčný tuk je v porovnání s ostatními tuky vyšší u tuku Lando a Iva. Výsledky tímto naznačují, že do těchto výrobků byl mléčný tuk při výrobě pravděpodobně přidán.

V úseku jednoho roku nebyly zaznamenány výrazné změny ve složení vybraných ztužených tuků, ale z dlouhodobého hlediska je patrná výrazná změna ve složení u ztuženého tuku Ceres Soft a Omega, při čemž zásadní byl velký pokles *trans*-kyselin.

Abstract

Determination of the fatty acids composition in selected hardened fats

The aim of this work is to get oneself acquainted with the method of spectrum evaluation of fatty acids in hardened fats by means of gas chromatography and mass spectrometry.

The theoretical part deals with information concerning the types of lipids, their compositions, properties of fatty acids especially in oils and hardened cooking fats and with basic information regarding the methods of oil hardening. This part is concentrated on the evaluation method of fatty acids by means of gas chromatography with the use of qualitative using the mass spectrometry.

The fatty acids were evaluated in some commercially available fats (Albert, Ceres Soft, Iva, Lando, Lira, Omega, Varoma).

Palmitic acid (hexadecane acid) was represented in the highest proportion in all fats, it was 36-45.5%, frequently represented was also oleic acid (cis-octadec-9-ane) with its 32.2-39%. The last of the more frequently represented acids is the linoleic acid (cis, cis-octadeca-9.12-diene) with its 7.7% to 10.5%. A lower amount of the linoleic acid is contained in the Albert fat, where it is represented with 4.5% only.

Interesting is the content of acids being typical for milk fat of ruminants, it includes the caprylic acid (octane), capric acid (decane) and lauric acid (dodecane) and the content of *trans*-acids. The hardened Albert fat has the highest content of *trans*-acids, they occupy 23.4% of the product. On the base of this result it can be deducted that this product has probably a lower quality than other ones. In comparison with other fats, the content of acid typical for milk fat is higher in the Lando and Iva fats. This results indicate the milk fat was probably added in these products during the production.

In the time period of one year no considerable changes in the composition of selected hardened fats were registered, however, from the long termed point-of-view, there is an evident marked alternation in the composition of the Ceres Soft and Omega hardened fats being accompanied with a basic decrease of *trans*-acids.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 13. 8. 2012

.....
(jméno a příjmení)

Poděkování

Děkuji doc. Ing. Jiřímu Špičkovi, Csc. za odborné vedení bakalářské práce a za cenné teoretické i praktické rady.

Obsah

ÚVOD.....	9
1 SOUČASNÝ STAV.....	10
1.1 Lipidy.....	10
1.1.1 Homolipidy.....	10
1.1.1.1 Estery glycerolu.....	10
1.1.2 Heterolipidy.....	11
1.1.2.1 Lipoproteiny.....	11
1.2 Mastné kyseliny.....	12
1.2.1 Nasycené mastné kyseliny.....	12
1.2.2 Nenasycené mastné kyseliny.....	13
1.2.2.1 Monoenové kyseliny (nenasycené kyseliny s jednou dvojnou vazbou)	13
1.2.3 Polyenové kyseliny (nenasycené kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami).....	14
1.3 Další mastné kyseliny.....	15
1.4 Mastné kyseliny a zdraví člověka.....	15
1.4.1 Esenciální mastné kyseliny.....	16
1.5 Získávání tuků pro tukový průmysl.....	16
1.6 Výroba ztužených tuků.....	17
1.7 Stanovení mastných kyselin.....	18
1.7.1 Princip.....	19
1.7.2 Plynový chromatograf.....	19
1.7.2.1 Chromatografické kolony.....	20
1.7.2.1.1 Náplňové kolony.....	20
1.7.2.1.2 Kapilární kolony.....	20
1.7.2.2 Stacionární fáze pro GLC	21
1.7.2.3 Mobilní fáze – nosný plyn (pro GLC)	21
1.7.2.4 Detektory.....	22
1.7.2.4.1 Plamenově ionizační detektor - FID (flame ionization detector) 22	

1.7.3 Příprava vzorku pro chromatografickou analýzu.....	23
1.7.3.1 Kyselá katalyzovaná esterifikace.....	23
1.7.3.2 Zásaditě katalyzovaná esterifikace.....	24
1.7.4 Atomová hmotnostní spektrometrie.....	25
1.7.4.1 Princip.....	25
1.7.4.2 Iontové zdroje.....	25
1.7.4.2.1 Ionizace nárazem pomalých elektronů.....	26
1.7.4.2.2 Ionizace v elektrostatickém poli.....	26
1.7.4.2.3 Chemická ionizace.....	26
1.7.4.3 Separace iontů	26
1.7.4.3.1 Kvadrupólový analyzátor a iontová past.....	27
1.7.4.4 Detektory.....	28
1.7.4.4.1 Elektronový násobič.....	28
2 CÍL PRÁCE.....	29
3 MATERIÁL A METODIKA.....	30
3.1 Materiál	30
3.2 Přístrojové vybavení	31
3.3 Parametry přístrojů.....	31
3.3.1 Poznámka.....	32
3.4 Příprava vzorku.....	32
3.5 Vyhodnocení a zpracování výsledků.....	33
4 VÝSLEDKY A DISKUZE	33
4.1 Výběr mastných kyselin pro výsledky.....	33
4.2 Albert.....	34
4.3 Ceres Soft.....	36
4.4 Iva.....	37
4.5 Lando.....	38
4.6 Lira.....	40
4.7 Omega.....	41
4.8 Varoma.....	42

4.9 Porovnání aktuálních výsledků a výsledků z 90. let.....	43
4.10 Analýza hlavní komponenty.....	44
5 ZÁVĚR.....	48
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	49
7 KLÍČOVÁ SLOVA.....	52

Úvod

V dnešní době se často setkáváme s nahrazováním kvalitních surovin surovinami levnějšími a méně kvalitními. V literatuře a na internetu se hovoří o důležitosti nasycených a nenasycených kyselin v potravě, ale bývá opomíjena praktická část – tedy obsah jednotlivých mastných kyselin v potravinách dostupných pro obvyčejného člověka. Z tohoto důvodu bylo vybráno právě toto téma, protože o poměru mastných kyselin ve ztužených tucích se toho dozvídáme jen velmi málo, ačkoliv právě tyto tuky objevíme téměř v každé kuchyni.

Cílem práce je seznámení se s metodou stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie.

V teoretické části budou uvedeny informace o druzích lipidů, o složení a vlastnostech mastných kyselin zejména v olejích a ve ztužených pokrmových tucích a o základních metodách ztužení olejů. Dále je tato část zaměřena na metodu stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie s využitím kvalitativní identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie.

V praktické části je stanoveno spektrum mastných kyselin v některých komerčních tucích. Z výsledků bude usouzeno, zda-li došlo ke změně složení výrobků během jednoho roku. Dále budou u některých tuků porovnány výsledky současné analýzy a výsledky z analýzy z 90. let.

1 Současný stav

1.1 Lipidy

Lipidy jsou přírodní organické sloučeniny rostlinného i živočišného původu. Z chemického hlediska se nejčastěji jedná o estery alkoholů a vyšších mastných kyselin, ale vazba může být i jiná než esterová (např. u sfingolipidů je acyl mastné kyseliny vázaný amidově). Jsou to většinou hydrofóbní látky, jsou rozpustné v nepolárních organických rozpouštědlech a nerozpustné ve vodě (polární rozpouštědlo), ale jsou známy i výjimky.

Lipidy jsou stavebními látkami buněčných membrán, zdrojem energie, vytvářejí prostředí pro vstřebávání některých látek (např. vitamíny rozpustné v tucích), tvoří tepelnou izolaci a mechanickou ochranu některých orgánů ⁽¹⁾.

1.1.1 Homolipidy

Homolipidy se skládají pouze z mastných kyselin navázaných na alkoholy. Rozdělujeme je zásadně podle struktury vázaného alkoholu, kterým je ve většině přírodních lipidech glycerol, méně častěji se objevují ethery glycerolu nebo hemiacetaly vyšších alifatických aldehydů, glykoly, vyšší jednosytné alifatické alkoholy, alifatické a alicyklické terpenoidní sloučeniny (např. xanthofyly) nebo různé steroidní sloučeniny.

Homolipidy tvoří hydrofóbní vrstvu na povrchu organismů – např. u živočichů na pokožce, vlasech, srsti či peří, u rostlin se vyskytují na povrchových vrstvách listů, plodů a dalších nadzemních částech. Zabraňují ztrátě vody odpařováním (transpiraci). Dále mohou mít lipidy funkci energetické rezervy uložené v tukové tkáni živočichů nebo olejnatých plodech rostlin ⁽²⁾.

1.1.1.1 Estery glycerolu

Tyto estery patří mezi potravinářsky nejvýznamnější lipidy. Tradičně bývají označovány podle jejich skupenství jako tuky nebo oleje, nicméně označení „tuky“ by správně měly nést pouze přírodní produkty obsahující převážně triacylglyceroly (tuhé

při teplotě okolí) a neměly by tak být nazývány individuální sloučeniny. Stále ale nemáme vhodné náhradní termíny ⁽²⁾.

Tuky, které jsou kapalné za pokojové teploty, nazýváme oleje. Oleje se dělí podle jejich chování na vzduchu po natření v tenkém filmu na oleje nevysychavé (např. olejový, kokosový, palmový), polovysychavé (např. slunečnicový, sójový, bavlníkový) a vysychavé (např. perillový, lněný). Mezi skupinami nejsou přesné hranice ⁽²⁾.

1.1.2 Heterolipidy

Tento typ lipidů obsahuje nejen vázané mastné kyseliny a alkoholy, ale i další složky, podle kterých je dále rozdělujeme na fosfolipidy, glykolipidy a sulfolipidy.

Skupina fosfolipidů je nejvýznamnější skupinou heterolipidů. Tyto lipidy obsahují esterově vázanou kyselinu fosforečnou. Jsou nezbytnou složkou téměř všech organismů, jsou součástí buněčných a vnitrobuněčných membrán. Velký význam mají v nervových tkáních, především v mozku.

Glykolipidy obsahují ve své struktuře navázané cukry. Mohou mít také navázaný glycerol, pak se nazývají glyceroglykolipidy, obsahují-li sfingosin nebo jeho příbuzné sloučeniny, hovoříme o sfingoglykolipidech. Glykolipidy většinou doprovázejí fosfolipidy a jsou součástí buněčných struktur.

Sulfolipidy obsahují vázanou kyselinu sírovou ⁽²⁾.

1.1.2.1 Lipoproteiny

Lipoproteiny jsou nejlépe prozkoumanými a také nejdůležitějšími komplexními lipidy. Skládají se z bílkovin a lipidů, přičemž lipidy tvoří nejčastěji jádro makromolekuly a hydratované proteiny tvoří její obal. Z tohoto důvodu se lipoproteiny rozpouštějí nebo alespoň dispergují ve vodě a slouží k transportu lipidů ⁽²⁾.

1.2 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou podstatnou a nejvýznamnější složkou všech lipidů. Ty, které jsou vázány v přírodních lipidech, se od sebe liší délkou a charakterem uhlíkového řetězce (např. alkinové kyseliny, rozvětvené kyseliny, cyklické kyseliny = struktura řetězce), stupněm nenasycenosti (nasyčené a nenasycené kyseliny) a někdy také podle navázaných substituentů (mohou obsahovat např. hydroxyskupinu, kyanoskupinu, atom chloru, furanový kruh). Uhlíkový řetězec může obsahovat jednu nebo i více karboxylových skupin. Podle počtu karboxylových skupin rozlišujeme kyseliny na jednosytné, dvousytné a vícesytné. V lipidech však nejčastěji nalezneme kyseliny jednodokarboxylové.

Pro jejich pojmenování se používají systematické názvy (odvozené od uhlovodíků), ale v praxi se častěji používají názvy triviální. V literatuře se můžeme setkat i se zkrácenými zápisy, např. ve formě C_N:M, kde N je počet atomů uhlíků v molekule a M je počet dvojných vazeb^(3,4).

1.2.1 Nasyčené mastné kyseliny

Nasyčené mastné kyseliny, někdy také nazývané satureované kyseliny, jsou běžnou složkou přírodních lipidů. Obvykle mívají sudý počet atomů uhlíku, rovný a nerozvětvený uhlíkový řetězec. Uhlíkový řetězec se skládá ze 4 až 26-ti atomů uhlíků.

Mastné kyseliny se sudým počtem atomů uhlíku jsou často doprovázeny malým množstvím mastných kyselin s lichým počtem atomů uhlíků (nejčastěji kyselina pentadecylová (pentadekanová) a margarová (heptadekanová), méně častěji kyselina valerová (pentanová), enanthová (heptanová), pelargonová (nonanová) a další kyseliny). Mastné kyseliny s lichým počtem atomů uhlíku se vyskytují stopově v různých lipidech (např. v tuku přežvýkavců).

Mezi nejrozšířenější mastné kyseliny se sudým počtem atomů uhlíku patří kyselina palmitová (hexadekanová), která se vyskytuje prakticky ve všech živočišných a rostlinných lipidech, a to v triacylglycerolech a fosfolipidech. Dále je častá kyselina stearová (oktadekanová).

Nižší mastné kyseliny (10-14 atomů uhlíku), zvláště kyselina laurová (dodekanová), jsou hlavní složkou tuku palmových semen, kyseliny se šesti až deseti atomy uhlíku jsou z velké části zastoupeny v mléčných tucích. Vyšší kyseliny (22-36 atomů uhlíku) se vyskytují ve voscích ^(2,3).

1.2.2 Nenasycené mastné kyseliny

Nenasycené mastné kyseliny, nazývané též nesaturované mastné kyseliny, jsou vázány v jedlých tucích a jiných lipidech potravin a mohou obsahovat jednu (monoenuové kyseliny) nebo i několik dvojných vazeb (polyenuové kyseliny).

Obsah nenasycených mastných kyselin v přírodních lipidových materiálech, např. v tucích a olejích, se pohybuje ve velmi širokém rozmezí, od více než 90% (řepkový olej) všech mastných kyselin po méně než 10% (kokosový tuk).

Obsah nenasycených mastných kyselin v tucích živočichů se pohybuje obvykle mezi 50-70%.

Jedinou výjimkou jsou rybí oleje, protože obsahují ve vyšším množství mastné kyseliny s 20-ti až 22-ti atomy uhlíku a se 4 až 6-ti dvojnými vazbami. Tuk sladkovodních ryb obsahuje méně těchto kyselin než tuk ryb mořských.

V rostlinách je ve srovnání se živočichy daleko větší pestrost ve složení nenasycených kyselin ^(2,3).

1.2.2.1 Monoenuové kyseliny (nenasycené kyseliny s jednou dvojnou vazbou)

Nenasycené kyseliny s jednou dvojnou vazbou se navzájem liší počtem atomů uhlíku, polohou dvojných vazeb a její prostorovou konfigurací. V přírodních lipidech má dvojná vazba výhradně konfiguraci *cis* nebo také *Z*, vazba *trans* neboli *E* se vyskytuje mnohem méně.

Nejčastější monoenuovou kyselinou je kyselina olejová (*cis*-oktadec-9-enuová), která je ve většině lipidů nejhojnější mastnou kyselinou a v dalších lipidech se vyskytuje

alespoň v menším množství. Dále je poměrně častá kyselina palmitolejová (cis-hexadec-9-enová), která je obsažena především v živočišných tucích.

V mléčném tuku se vyskytuje např. kyselina kaprolejová (cis-dodec-9-ová), palmitolejová (cis-hexadec-9-enová) a vakcenová (trans-oktadec-11-enová).

Rybí a velrybí tuky obsahují větší množství kyseliny myristolejové (cis-tetradec-9-ové), palmitolejové (cis-hexadec-9-enové) a selacholejové (cis-tetracos-15-enové).

Další monoenoové kyseliny se vyskytují v semenech a v oplodí rostlin. Z těchto částí rostlin se dále vyrábějí tuky nebo oleje (např. kokosový tuk, palmový tuk, slunečnicový olej, řepkový olej a další).

Monoenoové kyseliny s vazbou *trans* jsou v přírodě poměrně vzácné, setkáváme se s nimi např. v depotním i mléčném tuku přežvýkavců, v hydrogenovaných tucích. Mezi nejznámější *trans*-kyseliny patří elaidonová kyselina (trans-oktadec-9-ová), stereoisomer olejové (cis-oktadec-9-enové) kyseliny, a vakcenová kyselina (trans-oktadec-11-enová) z mléčného tuku. Nachází se i v mateřském mléce^(2,3).

1.2.3 Polyenové kyseliny (nenasycené kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami)

Mastné kyseliny se dvěma izolovanými dvojnými vazbami (dienové) jsou velice důležité ve výživě. Konjugované polyenové kyseliny se vyskytují v tucích, a to jen stopově (např. v tucích přežvýkavců, v hydrogenovaných tucích nebo ve žluklých olejích).

Mezi polyenovými kyselinami zaujímá zvláštní postavení skupina tzv. esenciálních mastných kyselin, která je charakteristická tím, že obsahuje na ve svém řetězci dvě dvojně vazby v poloze *cis* na šestém a třetím uhlíku od methylového konce řetězce.

Kyseliny s dvojnou vazbou v poloze *cis* na šestém uhlíku se také nazývají n-6 kyseliny nebo ω -6 kyseliny. Kyseliny s dvojnou vazbou v poloze *cis* na třetím uhlíku můžeme nalézt i pod názvem n-3 kyseliny nebo ω -3 kyseliny.

Kromě uvedených dvou dvojných vazeb mohou být v molekule esenciální mastné kyseliny ještě další dvojně vazby. Pokud se nalézají mezi zmíněnou dvojitou nenasycených vazeb a karboxylem, biologická účinnost se nemění nebo se ještě zvýší,

nalézají se však směrem ke koncovému methyly, biologická účinnost je značně snížena. Změnou konfigurace dvojných vazeb z *cis* na *trans* se biologická účinnost zcela zruší.

Nejvýznamnější esenciální a polyenovou mastnou kyselinou pro člověka je kyselina linolová (*cis*, *cis*-oktadeka-9,12-dienová), která se v organismu přeměňuje na kyselinu arachidonovou (*all-cis*-eikosa-5,8,11,14-tetraenová), která je pro metabolismus nejdůležitější mastnou kyselinou. Kyselina linolová (*cis*, *cis*-oktadeka-9,12-dienová) se vyskytuje hojně v rostlinných olejích, zvláště ve slunečnicovém, sójovém a podzemnicovém, v menším množství ji nalezneme v živočišných tucích. Tato kyselina představuje asi 90% esenciálních mastných kyselin v dietě.

Linolenová kyselina (*all-cis*-oktadeka-9,12,15-trienová) často doprovází kyselinu linolovou v rostlinných lipidech, ale bývá přítomna ve značně nižším množství.

Řada polyenových mastných kyselin s 20-22-ti atomy uhlíku a 2-6-ti dvojnými vazbami se nalézá v lipidech ryb a jiných mořských živočichů^(3,4).

1.3 Další mastné kyseliny

Dále se můžeme setkat s mastnými kyselinami obsahující hydroxyskupinu, ketoskupinu, epoxidovou skupinu, kyanovou skupinu, jeden nebo dva atomy chloru v molekule, s mastnými kyselinami odvozených od oxiranu a od furanu⁽²⁾.

1.4 Mastné kyseliny a zdraví člověka

Tuky, které bychom měli přijímat potravou, by měly obsahovat nasycené, monoenoové a polyenoové mastné kyseliny v poměru asi 1:2:1. Nasycené kyseliny mají zaujímat méně jak 10% celkového denního příjmu energie, polyenoové kyseliny s dvojnou vazbou na šestém uhlíku by se měly pohybovat v rozmezí 4-8% (průměr je kolem 5%) a kyseliny s dvojnou vazbou na třetím uhlíku by měly krýt cca 1% celkového denního příjmu energie.

Některé nenasycené mastné kyseliny mají značnou účinnost v prevenci kardiovaskulárních onemocnění – např. eikosapentaenová kyselina (EPA) a dokosahexaenová kyselina (DHA).

Některé kyseliny, např. hydroxykyseliny, *trans*-nenasyčené kyseliny, kyseliny s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem, se špatně metabolizují a jsou určitou zátěží pro organismus, pokud se ve stravě vyskytují ve větším množství.

Trans-nenasyčené mastné kyseliny nepříznivě ovlivňují poměr LDL (lipoproteiny o nízké hustotě, „špatný cholesterol“) a HDL (lipoproteiny o vysoké hustotě, „hodný cholesterol“) v krevním séru, vytlačují a navazují se na místo nasycených kyselin ve fosfolipidech v membránách nervové tkáně. Proto by měly krýt méně jak 2% celkového příjmu energie pocházejícího z lipidů^(2, 4).

1.4.1 Esenciální mastné kyseliny

Lipidy jsou jediným zdrojem esenciálních mastných kyselin. Denní potřeba u dětí a mladistvých je mezi 4 až 10 g, u dospělých je potřeba o něco nižší. Nedostatek esenciálních mastných kyselin se projeví až po delší době, nejnápadněji se projeví poruchami pokožky.

Esenciální mastné kyseliny mají v organismu více úloh. Jsou prekurzory biologicky aktivních látek nazývaných eikosaniody, modulační složky biologických membrán (ovlivňují jejich fluiditu a flexibilitu)^(2, 3).

1.5 Získávání tuků pro tukový průmysl

V současnosti se tuky a oleje získávají lisováním (mechanickým oddělení za použití tlaku) a extrakcí do organického rozpouštědla (např. do hexanu). Tyto pochody slouží k oddělení mechanických nečistot.

Následně vchází oba oleje do procesu rafinace, kdy se odstraňují hlavní doprovodné látky triacylglycerolů.

Prvním rafinačním krokem je odstranění nepolárních látek (tzv. odslizení). Vedlejším produktem jsou fosfolipidy.

Druhý rafinační krok představuje odkyselování, což je chemický postup odstraňování volných mastných kyselin. Nejpoužívanější je alkalická rafinace, která je založena na neutralizaci volných mastných kyselin vodným roztokem hydroxidu

sodného. Vzniklá mýdla jsou převáděny do vodní fáze a dále zpracovávány. Tímto procesem získáváme odkyselený olej a tzv. mýdlový kal, který se dále zpracovává na technické účely.

Dalším krokem rafinace je odstranění přírodních barviv. Jedná se především o karotenoidní a feofytinová barviva. Tyto barviva se odstraňují bělením neboli adsorbí (chemisorbci). U obtížné bělitelných olejů je přidáváno aktivní uhlí. Olej se dále filtruje v uzavřených automaticky pracujících filtrech.

Po těchto třech krocích jsou získány tzv. polorafinované oleje, které se již mohou přímo použít pro ztužování.

Posledním rafinačním stupněm je dezodorace. Dezodorace je destilace s vodní parou při určité teplotě a tlaku. Tímto procesem odstraňujeme nežádoucí pachy a chutě způsobené např. aldehydy, ketony nebo alkoholy, volné mastné kyseliny, dále dezodorace odstraňuje steroly a tokoferoly, ale jejich odstranění je nežádoucí, jelikož se snižuje nutriční hodnota oleje i jeho oxidační stabilita.

Protože dochází k narušení původní oxidační stability, přidává se určité množství kyseliny citronové k izolaci železa a dalších kovů od zbytku směsi. Kovy mají katalytický vliv na autooxidační reakce.

Do rafinovaného oleje se mohou také přidávat vitamíny, např. vitamin A a vitamin E, většinou se používají syntetické deriváty ⁽⁵⁾.

1.6 Výroba ztužených tuků

Mezi základní procesy při výrobě ztužených tuků patří ztužování neboli hydrogenace, interesterifikace a frakcionace.

Hydrogenace je nejrozšířenější technologie, při které dochází k částečnému nasycení dvojných vazeb vodíkem za přítomnosti hydrogenačního katalyzátoru, který bývá na bázi niklu. Vedle nasycování dvojných vazeb dochází současně ke geometrické izomeraci dvojných vazeb z polohy *cis* do energeticky výhodnější polohy *trans*. Dochází ke hromadění mastných kyselin, které obsahují jednu dvojnou vazbu s převažující konfigurací *trans*. *Trans*- izomery mastných kyselin zvyšují bod tání směsi.

Hydrogenace nebo částečná hydrogenace byla hojně používána až do začátku 90. let, kdy byla kvůli vysokému obsahu *trans*-izomerů mastných kyselin nahrazena novější technologií interesterifikace.

Interesterifikace nebo také přeesterifikace je moderní proces, při kterém dochází ke změně polohy acylu v molekule triacylglycerolu nebo k jeho výměně mezi dvěma molekulami triacylglycerolů. Oba pochody probíhají vždy souběžně, většinou do dosažení rovnováhy (randomizace). Interesterifikace se provádí mezi olejem a úplně hydrogenovaným olejem. Tato reakce bývá alkalicky katalyzována. Nejčastějším katalyzátorem bývá metoxid sodný nebo přímo elementární sodík, případně směs sodíku s draslíkem. Rovnováha v reakci nastane při teplotách kolem 100°C během několika minut. Směs tuků by měla obsahovat minimum volných mastných kyselin, vody a dalších látek, které rozkládají alkalický katalyzátor. Cílem této reakce je také výroba tuku s hrubou charakterizací konzistence podle bodu tání (30-40°C), jedná se o tzv. strukturální tuk. Úkolem interesterifikace je vyloučení *trans*-izomerů z produktů.

Frakcionace je dalším způsobem, jakým můžeme získat směs triacylglycerolů o odpovídající konzistenci jako v předchozích dvou případech. Pro ten to typ ale potřebujeme vhodné směsi, kterými mohou být směsi získané při interesterifikaci, případně při hydrogenaci (frakcionace v tomto případě tyto procesy doplňuje) nebo přírodní směsi triacylglycerolů (palmový olej, jiné tuky z palem, živočišné tuky).

Frakcionace je proces dělení směsi triacylglycerolů podle bodu tání na jednotlivé složky za určité teploty (pro případ krystalizace v tavenině) nebo podle rozpustnosti jednotlivých složek ve vhodném rozpouštědle (mastné kyseliny s dvojnými vazbami mají větší rozpustnost) ^(5,6).

1.7 Stanovení mastných kyselin

V dnešní době dochází při výrobě ztužených tuků k nahrazování kvalitních tuků tuky méně kvalitními a levnějšími.

Pro detekci mastných kyselin se používají různé separační techniky, z nichž má především plynová chromatografie (GC) pro toto stanovení mnoho výhod.

Pomocí plynové chromatografie můžeme získat za relativně krátký čas komplexní kvantitativní analýzu mastných kyselin ve vzorku.

Pro analýzu tuků se používá i HPLC (vysokotlaká kapalinová chromatografie). Ale její nevýhodou je krátká kolona a s tím související nedostatečné dělení. HPLC se používá především k analýze celých molekul lipidů^(7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 23).

1.7.1 Princip

Chromatografie je závislá na dělení mezi dvěma fázemi. První fáze je pohyblivá, může jí být plyn nebo kapalina a je bez ohledu na skupenství označována jako fáze mobilní. Druhá fáze je nepohyblivá, neboli stacionární, může mít rozdílnou formu. Stacionární fáze se u GSC (Gas – Solid - Chromatography) nazývá sorbentem.

Chromatografie se nejčastěji dělí podle povahy mobilní fáze na plynovou a kapalinovou.

Při plynové chromatografii jsou v plynném stavu jak mobilní fáze, tak separované složky. Při analýze kapalných vzorků je třeba taková teplota, aby byly molekuly dělených složek v podobě par.

Stacionární fáze se nachází v koloně. Kolonou postupuje určitou rychlostí mobilní fáze. Po styku stacionární fáze s analyty dochází k vzájemným interakcím.

Kolona má při analýze určitou teplotu. Na základě této teploty můžeme provádět analýzu izotermální (po celou analýzu je nastavena stejná teplota) nebo analýzu s teplotním gradientem (v průběhu analýzy se může teplota měnit).

1.7.2 Plynový chromatograf

Plynový chromatograf je sestaven ze čtyř základních částí. Z injektoru, kolony a detektoru a regulátorů průtoku plynu.

Vzorek je vpraven do injektoru, kde dojde k jeho převedení do plynné fáze. V koloně dochází k interakci směsi analytů se stacionární fází a tím k separaci jednotlivých složek - k rozdělení analytů. Detektorem protéká mobilní fáze obsahující analyt. Detektor reaguje na změnu složení a časový průběh získaného signálu tvoří

chromatogram. Výsledkem procesu je eluční křivka (pík). Velikost signálu závisí na koncentraci a druhu složek, které jsou obsaženy v mobilní fázi ^(9, 10, 18).

1.7.2.1 Chromatografické kolony

Pro účely plynové chromatografie jsou používány dva základní typy kolon. Jedná se o kolony náplňové a kapilární ^(18, 19, 20, 21).

1.7.2.1.1 Náplňové kolony

Náplňové kolony byly první používané kolony. Tyto kolony byly po mnoho let vyráběny z nerezavějící oceli, ale jejich problémem jsou možné reakce na stěně kolony. Dalšími materiály, ze kterých se kolony vyráběly, patří hliník, nikl a měď.

Nejčastěji jsou kolony vyráběny ze skla, jsou inertní a můžeme snáze pozorovat naplnění kolony. Nevýhodou těchto kolon je jejich křehkost.

Délka náplňových kolon může být i 5 metrů s vnitřním průměrem 2-6 milimetrů. Tento typ kolon má vyšší kapacitu než kapilární kolony, ale jejich dělicí účinnost je nižší ^(18, 19, 20, 21).

1.7.2.1.2 Kapilární kolony

Kapilární kolony se vyrábějí skleněné, křemenné nebo ve formě kovové trubice, které využívají své vnitřní stěny jako nosiče stacionární fáze (SCOT, WCOT a PLOT). Kapilární kolony z křemenného skla bývají kvůli pevnosti potažené vrstvičkou polyimidu, který způsobuje hnědé zbarvení kolony.

SCOT (Support-coated open tubular) jsou úzké trubice obsahující jemnou, práškovitou, pevnou vrstvičku nosiče se zakotvenou kapalinou fází (1-5 μ m).

WCOT (Wall-coated open tubular) jsou úzké trubice vyrobené ze skla nebo z křemenného skla. Vnitřní stěny trubice jsou potaženy kapalnou fází (0,01-1 μ m). Používají se nejčastěji.

PLOT (Porous-layer open tubular) jsou kolony, kde je vrstvička pevného sorbentu na vnitřní stěně (10 μ m).

Tento typ kolon má vysokou dělicí účinnost, ale menší kapacitu.

Tyto kolony mívají délku od 15 do 100 metrů (až i 1000 metrů) s vrstvou stacionární fáze 0,01 – 10 μm . Kolony se vyrábějí s různým vnitřním průměrem v desetinách mm, nejčastěji 0,25 mm nebo 0,32 mm ^(18, 19, 20, 21).

1.7.2.2 Stacionární fáze pro GLC

Kapalinové fáze používané v plynové chromatografii jsou hlavním faktorem determinujícím dosažení přirozené separace zkoumaného vzorku. Pro různé typy látek se používají různé typy stacionárních fází.

Kapalinové fáze se rozdělují do čtyř skupin podle jejich polarit – s nejvyšší polaritou, s vysokou polaritou, se střední polaritou a s nízkou polaritou.

Pro stanovení mastných kyselin se nejčastěji používají kolony se střední až vysokou polaritou. Tyto fáze jsou výborné pro separaci nenasycených mastných kyselin s více dvojnými vazbami a mají velký význam při separaci *cis* a *trans* izomerů. Fáze s nízkou polaritou mají rozdělení *cis* a *trans* izomerů o poznání horší.

Pro stanovení mastných kyselin se používají fáze polyethylenglykolové, např. Carbowax 25-M (20) nebo také Omegawax (rozděluje mastné kyseliny podle polohy dvojných vazeb, ale horší rozdělení je u *cis* a *trans* izomerů). Dalšími fázemi jsou polární silikonové fáze (např. Select FAME - kapalná fáze přímo určená pro stanovení mastných kyselin) a kyanidové fáze (např. SP-2380, SP-2560) ⁽²²⁾.

1.7.2.3 Mobilní fáze – nosný plyn (pro GLC)

Na základě toho, jaký typ detektoru je použit, volíme vhodný nosný plyn, který může ovlivnit účinnost dělení.

Vodík má nezaměnitelné výhody při použití ve WCOT kolonách pro dělicí schopnost. Ale při jeho použití je třeba dbát na zvýšenou opatrnost, je zde riziko exploze, kterou může způsobit např. elektrický výboj.

Helium je o mnohem bezpečnější a podává výborné výsledky.

V náplňových i v kapilárních kolonách podává dobré výsledky dusík a hlavně helium, které se používá především při spolupráci plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.

Argon je výhodný při analýze citlivých složek, ale je finančně nákladný.

Pro všechny nosné plyny ale platí pravidlo, že nesmí obsahovat kyslík a ani vodu. Obsah těchto látek má vliv na senzitivitu a životnost kolony⁽²²⁾.

1.7.2.4 Detektory

Detektor je určen k zachycení rozdílu ve složení samotného nosného plynu a nosného plynu obsahujícího eluovanou složku na výstupu z kolony chromatografu. V některých případech při použití kapilárních kolon prochází detektorem i přídavné množství nosného plynu, tzv. make-up. Základem úspěšné detekce je správné rozdělení analyzované látky na koloně.

Pro detektor je důležité, aby byl vysoce citlivý a dostatečně rychle reagoval na změnu složení procházejícího eluentu.

Mezi nejznámější detektory patří tepelně vodivostní detektor (katarometr – TCD) a ionizační detektory, mezi které patří plameno-ionizační detektor (FID), termoionizační detektory se solí alkalického kovu (AFID), plamenofotometrický detektor (FPD), detektor elektronového záchytu (ECD) a heliový detektor (HeD).

Pro stanovení mastných kyselin je prováděno plynovou chromatografií se používá jako detektor nejčastěji plameno-ionizační detektor^(16, 20).

1.7.2.4.1 Plameno-*ionizační detektor - FID (flame ionization detector)*

Jedná se o univerzální detektor pro detekci organických sloučenin. Má jednoduchou konstrukci a obsluhu, je vysoce spolehlivý i po dlouhém používání. Slouží pro kvantitativní analýzu, tzn. pomocí detektoru určujeme množství (kvantitu) jednotlivých látek ve vzorku. Další jeho výhodou je, že má stejnou odezvu mastných kyselin bez ohledu na délku řetězce, takže není třeba kalibrovat všechny kyseliny.

Mez detekce tohoto typu detektoru je teoreticky až 10^{-11} molů a lineární dynamický rozsah je až 10^7 . Detektor je málo citlivý pro vzácné plyny, vodík, dusík, kyslík, chlor, amoniak, sulfan, vodu, oxid uhličitý a sirouhlík.

Molekuly analytu (organické sloučeniny) jsou spalovány v kyslíko-vodíkovém plamenu. Tak vznikají ionty, které zvyšují vodivost plamene. Vznikající elektrický proud je detekován mezi dvěma elektrodami^(18,22).

1.7.3 Příprava vzorku pro chromatografickou analýzu

Aby mohla proběhnout analýza mastných kyselin plynovou chromatografií, je třeba převést mastné kyseliny na těkavé látky odstraněním vodíkových vazeb. Těkavými látkami mohou být například methylestery mastných kyselin. Tomuto procesu se také říká derivatizace nebo esterifikace.

Stanovení složení mastných kyselin se provádí v několika krocích. Nejprve se lipidy extrahují ze vzorku rozpouštědlem, dále se izolované lipidy esterifikují nebo transesterifikují do formy methylderivátů (někdy také nazývané FAMES) a tyto methylderiváty jsou následně analyzovány pomocí plynového chromatografu.

Mezi nejzákladnější typy derivatizací při stanovení mastných kyselin patří kysele nebo zásaditě katalyzované esterifikace.

Zásaditě katalyzovaná esterifikace má mono zastánců mezi analytiky, jejíž při jejím užití dochází k menším degradacím materiálu než u jiných dosud objevených metod.

V jiných laboratořích má své zastánce kysele katalyzovaná esterifikace, ačkoliv při této reakci dochází k nevyhnutelným změnám v konfiguraci některých látek⁽²³⁾.

1.7.3.1 Kysele katalyzovaná esterifikace

Esterifikace mastných kyselin probíhá v tomto případě zahříváním v přebytku bezvodého metanolu v přítomnosti kyselých katalyzátorů. Přítomnost vody může zabránit úplné reakci. Nejběžnějším činidlem je 5% bezvodá kyselina chlorovodíková v metanolu. S 1-2% roztokem koncentrované kyselině sírové v metanolu probíhá

esterifikace stejným způsobem. Nejčastěji se vzorek lipidů s činidlem zahřívá zhruba 2 hodiny pod zpětným chladičem. K dalším katalyzátorům patří fluorid boritý v metanolu (12-14% roztok).

Při nedbalém používání činidel, hlavně při použití příliš starých nebo příliš koncentrovaných roztoků, může dojít k rozkladu nebo k velké ztrátě polynenasycených mastných kyselin.

Nepolární lipidy (např. estery cholesterolu nebo triacylglycerolů) se velmi pomalu rozpouštějí v činidlech, které se skládají z větší části z methanolu, pokud nepřidáme další rozpouštědlo. Dříve se pro tyto účely používal benzen, ale pro jeho vysokou toxicitu je vhodnější použít jiné rozpouštědlo, např. toluen nebo tetrahydrofuran. Vzniklé deriváty mastných kyselin jsou po samotné esterifikaci vytřepávány do organického rozpouštědla (např. hexan nebo heptan). Vzniklá směs je vysušena bezvodým síranem sodným. Případný přebytek rozpouštědla můžeme odstranit za sníženého tlaku na rotační vakuové odparce nebo odpařením rozpouštědla v proudu dusíku či helia⁽²³⁾.

1.7.3.2 Zásaditě katalyzovaná esterifikace

Esterifikace lipidů probíhá při použití tohoto typu esterifikace velmi rychle. Prostředí pro reakci tvoří bezvodý metanol a bazický katalyzátor. Nejběžnějším činidlem pro bazicky katalyzované reakce je roztok metoxidu sodného v bezvodém metanolu (0,5 M). K dalším používaným činidlům řadíme metoxid draselný, hydroxid draselný nebo hydroxid sodný v metanolu. Methylderiváty mastných kyselin jsou stejně jako u kyselých katalyzovaných reakcí extrahovány do hexanu či heptanu. Vzniklá vrchní vrstva je vysušena bezvodým síranem sodným.

Pro rozpuštění nepolárních lipidů (např. estery cholesterolu) je třeba přidat další rozpouštědlo, kterým může být např. tetrahydrofuran. Pokud ale ve vzorku obsaženy nejsou, další rozpouštědlo přidávat nemusíme⁽²³⁾.

1.7.4 Atomová hmotnostní spektrometrie

Atomová hmotnostní spektrometrie patří mezi nejrychleji se rozvíjející techniky. Slouží pro různé typy analýz, ale ve spojení s plynovou chromatografií při stanovení mastných kyselin, slouží ke zkvalitnění a upřesnění výsledků a je využívána jako speciální detektor.

Mezi hlavní části hmotnostního spektrometru patří iontový zdroj (ionizační komora), analyzátor a detektor. Dalšími součástmi dále bývá dávkovací zařízení, iontová optika, registrační zařízení a řídicí počítač ^(16, 24, 25, 26, 27).

1.7.4.1 Princip

Metoda atomové hmotnostní spektrometrie je založena na ionizaci molekul zkoumaných látek nevratným odštěpením valenčních elektronů. Takto vzniklé ionty a z nich vzniklé fragmenty jsou rozlišovány podle poměru hodnot relativní hmotnosti (m) ku náboji iontu (e). Převážně se využívá pouze kladně nabitých iontů. Hmotové spektrum ukazuje závislost četnosti jednotlivých iontů na jejich hodnotách m/e .

Každý hmotnostní spektrometr pracuje ve třech etapách zařazených v sérii (v prostoru, ale i v čase). V první etapě dochází převedení látky do plynného stavu, pokud je to potřeba, ve druhé etapě dochází k ionizaci vzniklé plynné fáze a ve třetí etapě probíhá rozdělení plynné fáze podle hmotnosti iontů, ale častěji podle poměru m/e ⁽²⁸⁾.

1.7.4.2 Iontové zdroje

Zde dochází ke tvorbě kladně nabitých molekulárních iontů a jejich fragmentů.

K ionizaci může dojít různými postupy: nárazem pomalých elektronů, v elektrostatickém poli nebo chemickou ionizací, při čemž nejpoužívanější metodou je elektronová ionizace, protože je vysoce reprodukovatelná (existují rozsáhlé knihovny hmotnostních spekter) ^(25, 29).

1.7.4.2.1 Ionizace nárazem pomalých elektronů

Iontový zdroj je tvořen komůrkou, ve které ve vakuu protéká proud elektronů mezi žhavenou katodou a anodou. Komůrka má kladný náboj, který slouží k vypuzení kladně nabitých částic.

Při interakcích elektronů a molekul záleží výsledek srážky na energii elektronů. Čím větší energii elektrony mají, tím více stoupá fragmentace. Vzniklé fragmenty jsou důležité pro analýzu struktury ⁽²⁵⁾.

1.7.4.2.2 Ionizace v elektrostatickém poli

Ionizace s elektrostatickém poli nebo také ionizace polem je další, ale méně běžný postup. Vysoký kladný náboj se vloží na ostrý břit nebo drátek. Jakmile se přiblíží molekula, dojde k deformaci jejího elektrického pole a k vytržení valenčního elektronu. Vzniklý pozitivní iont je okamžitě odpuzen. Při daných podmínkách se tvoří hlavně molekulární ionty a jen velmi malé množství fragmentů ⁽²⁵⁾.

1.7.4.2.3 Chemická ionizace

Chemická ionizace je založena na reakci měřené látky (analytu) s kladně nabitou částicí. Pro vznik těchto ionizujících částic se nejčastěji používají plyny, ale dají se použít i některé kapalně látky. Nejčastěji se používá methan, isobutan a amoniak. Méně často používanými látkami jsou propan, methanol, dusík a vzácně plyny (např. helium nebo argon). Tato metoda je měkčí než ostatní metody.

Nejprve dochází k ionizaci činidla, poté ion činidla působí na analyt a způsobí jeho primární ionizaci. Existují různé mechanismy ionizace. Rozpadem analytu získáme charakteristické chemické spektrum ^(25, 28).

1.7.4.3 Separace iontů

Separace iontů slouží k oddělení a separaci nežádoucích iontů. K tomuto účelu se používají analyzátoři rozdělující ionty pomocí magnetického nebo elektrického pole, dále se využívají interakce s různými ionty o různé rychlosti a hmotnosti.

Je znám analyzátor magnetický, elektrostatický a kvadrupólový. Historicky nejužívanější je analyzátor magnetický, nejmodernějším užívaným analyzátozem je analyzátor kvadrupólový⁽¹⁶⁾.

1.7.4.3.1 Kvadrupólový analyzátor a iontová past

V dnešní době se kvadrupólové analyzátozy široce využívají jako samostatné hmotnostní spektrometry, např. jako detekční přístroje v chromatografii.

Známe 2 typy kvadrupólového analyzátozu – lineární a prostorový (3D nebo tzv. iontová past).

Kvadrupólový analyzátoz je nemagnetický analyzátoz a dochází v něm k separaci iontů ve vysokofrekvenčním elektrickém poli.

Skládá se ze čtyř tyčí kruhového průřezu, které jsou symetricky rozloženy kolem společné podélné osy. Na tyto tyče je vloženo stejnosměrné napětí se superponovanou vysokofrekvenční složkou tak, aby vždy dvě protilehlé tyče byly na společném potenciálu. Částice se pohybují v dlouhém poli, které se skládá vždy ze složky vysokofrekvenční a statické. Za daných podmínek se v poli separátoru pohybují po stabilní dráze pouze ionty s určitou hodnotou m/e . Ostatní ionty příčně oscilují, až dopadnou na některou z elektrod nebo na clonku na konci analyzátozu⁽¹⁶⁾.

Iontová past je ve své podstatě trojrozměrný kvadrupól. Je složen z prstencové střední elektrody a dvou kruhových elektrod (vše s hyperbolickým průřezem), které prstenec volně uzavírají. Na prstenec je vloženo stejnosměrné a vysokofrekvenční napětí, díky kterému dochází ke stabilním oscilacím iontů v pasti.

Iontová past má schopnost selektivního uchování jednotlivých iontů a další práci s nimi, dále umí ionizovat další odděleně přivedené médium a následně umožní jeho další reakci s uchovanými ionty⁽²⁵⁾.

1.7.4.4 Detektory

K detekci iontového proudu se obvykle používá elektronový násobič. Dalším typem detektoru je scintilační krystal. Dále bývají hmotnostní spektrometry vybaveny systémem pro vyhodnocování a zpracování dat ^(16,29).

1.7.4.4.1 Elektronový násobič

Elektronový násobič se skládá ze série elektrod, kdy každá elektroda má vždy kladnější potenciál než elektroda předchozí. Jakmile elektron dopadne na první emisní povrch, dochází k vyražení elektronu, který dále naráží na další elektrodu. Takto děj pokračuje z elektrody na elektrodu, každá elektroda odštěpí další určitý počet elektronů. Každý jednotlivý elektron je schopen vygenerovat určitý specifický elektrický signál ⁽²⁹⁾.

2 Cíl práce

- I. Seznámit se s metodou stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie ve spolupráci s hmotnostní spektrometrií.
- II. Z výsledků analýzy usoudit, zda-li došlo ke změně složení tuků v průběhu jednoho roku a v průběhu několika let.

3 Materiál a metodika

Materiálem pro analýzu jsou ztužené rostlinné tuky na smažení. Proběhly tři odběry tuku v určitém časovém období. Z každého tuku jsou odebrány vždy tři vzorky pro analýzu.

3.1 Materiál

Tabulka 1: Popis materiálu

Název výrobku	Dovozce/prodávající/výrobce	Datum odběru	Získáno
Albert	AHOLD Czech Republic, a.s.	20.6.2011	Albert Hypermarket
		7.10.2011	
		9.2.2012	
Ceres Soft	K&K Cz, s. r. o.	20.6.2011	Kaufland
		7.10.2011	
		9.2.2012	
Iva	K&K Cz, s. r. o.	20.6.2011	K&K
		7.10.2011	
		9.2.2012	
Lando	Kaufland SR, s. r. o.	20.6.2011	Kaufland
		7.10.2011	
		9.2.2012	
Lira	Vandermoortele Deutschland GmbH	20.6.2011	Kaufland
		8.10.2011	
		9.2.2012	
Omega	K&K Cz, s. r. o.	20.6.2011	Kaufland
		7.10.2011	
		9.2.2012	
Varoma	K&K Cz, s. r. o.	30.6.2011	COOP
		7.10.2011	
		9.2.2012	

3.2 Přístrojové vybavení

K provedení výzkumu byl použit plynový chromatograf typ 3800 firmy Varian Techtron s detektorem FID, hmotnostní spektrometr typ 4000 firmy Varian Techtron, standardy od firmy Supelco pro kalibraci kyselin s 8-12 uhlíky a další běžné laboratorní vybavení.

Tabulka 2: Standardy

Firma Supelco	Supelco 37 Component FAME Mix 47885-U
Použití	Kvantitativní kalibrace odezvy GC pro kyseliny se 4-8 uhlíky v řetězci

3.3 Parametry přístrojů

Tabulka 3: Nastavení chromatografu

Typ chromatografu	Typ 3800 firmy Varian Techtron (USA)
Použitá kolona	Select FAME
	Délka/průměr: 50m/25mm
Injektor	Teplota: 250 °C
	Split: 10
Teplota termostatu	S teplotním gradientem
	55 °C po dobu 5 min
	170 °C s nárůstem teploty 40 °C/min, bez zádrže
	196 °C s nárůstem teploty 2 °C/min, bez zádrže
	210 °C s nárůstem 10 °C/min po dobu 7,73 min
Celková doba analýzy jednoho vzorku	30,01 min
Průtok helia	1,8 ml/min
Teplota detektoru FID	250 °C
Make-up	25 ml/min
H ₂ Flow	30 ml/min

Air Flow	300 ml/min
----------	------------

Tabulka 4: Nastavení hmotnostního spektrometru

Typ hmotnostního spektrometru	Typ 4000 firmy Varian Techtron (USA)
Chemická ionizace	Acetonitril
	Parametry nastavení výrobce pro acetonitril
Teplota iontové pasti	180 °C
Snímání m/z	70 - 450
Mrtvý čas	4,1 min

3.3.1 Poznámka

Konstrukce chromatografu umožňuje pomocí speciálního ventilu přepínat mezi detektory FID a MS. Nastavení parametrů MS pro acetonitril bylo podle doporučení výrobce, ale použil se průtok plynu 1,5 ml/min kvůli výstupu z kolony plynového chromatografu do vakua (ne do atmosférického tlaku).

3.4 Příprava vzorku

U vybraného ztuženého rostlinného tuku jsou odebrány tři vzorky každý o hmotnosti 5mg (+/-0,5mg). Toho množství je naváženo na analytických vahách v malé lahvičce.

Po navážení vzorku je na řadě derivatizace. Zásaditá derivatizace je prováděna tak, že se k naváženému vzorku přidá 1ml petroletheru, malé množství bezvodého síranu sodného, který slouží k odstranění vody ze směsi, a 0,2 ml 2M roztoku KOH/CH₃OH (přeesterifikace) a lahvička se důkladně uzavře víčkem.

Vzniklá směs je po dobu 2 minut třepána ve vodní lázni o teplotě 60°C. Po ukončení třepání jsou lahvičky vyjmuty z vodní lázně a nechávají se vychladnout. Přebytek hydroxidu je zneutralizován přidáním 0,4ml 1M roztoku HCl/CH₃OH a směs je naředěna 2ml petroetheru. Celou směs je třeba dobře promíchat, aby došlo k oddělení

2 fází. Z vrchní vrstvy, která slouží k přímé analýze v plynovém chromatografu, je odebráno 1,5ml do malých lahviček s víčkem.

3.5 Vyhodnocení a zpracování výsledků

Pro vyhodnocení a zpracování vzorků byly použity dva programy Microsoft Excel – Statistické programy a Program Statistica, verze 9.1 od firmy StatSoft CR. s.r.o.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Výběr mastných kyselin pro výsledky

Vzhledem k velkým relativním směrodatným odchylkám ve výsledcích u kyselin, které jsou v tuku obsaženy v malém množství, byly kyseliny s obsahem pod 0,5% z konečných výsledků vyloučeny. Výjimkou byly kyseliny typické pro mléčný tuk (C8 – 12:0) a *trans*-kyseliny. Tyto mastné kyseliny jsou ukazatelem postupu výroby ztuženého tuku, proto byly v konečných výsledcích ponechány. Obsahy kyselin typických pro mléčný tuk byly sečteny dohromady, obsahy *trans*-kyselin také (C18:xt). Množství vyloučených výsledků tvoří méně než 1 %.

V tabulce jsou uvedeny jednotlivé průměrné obsahy kyselin, které byly zastoupeny od 0,1 % do 1,0 %, a průměrná relativní směrodatná odchylka pro daný obsah.

Tabulka 5: Výběr mastných kyselin pro výsledky

Průměrný obsah kyseliny [%]	Relativní směrodatná odchylka [%]
0,1	12,31
0,2	12,73
0,3	15,4
0,4	6,4
0,5	5,6
0,6	2,4
1,0	4,7

Tabulka 6: Vysvětlivky pracovní zkratk

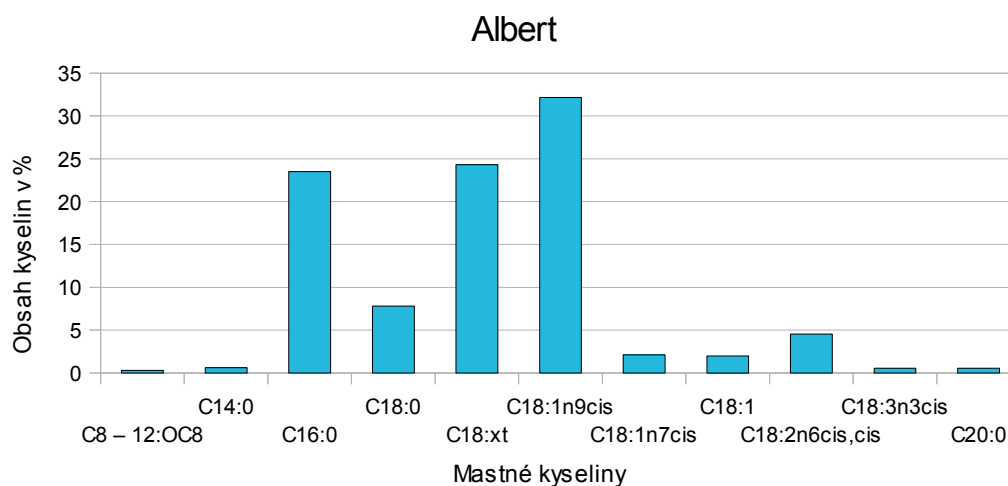
Pracovní zkratka	Mastné kyseliny (MK)
C8 – 12:0	MK typické pro mléčný tuk přežvýkavců; kyselina kaprylová (C8:0, oktanová), kaprinová (C10:0, dekanová), laurová (C12:0, dodekanová)
C14:0	Kyselina myristová (tetradekanová)
C16:0	Kyselina palmitová (hexadekanová)
C18:0	Kyselina stearová (oktadekanová)
C18:xt	<i>Trans</i> -kyseliny s různým počtem dvojných vazeb
C18:1n9cis	Kyselina olejová (cis-oktadec-9-enová)
C18:1n7cis	Kyselina vakcenová (oktadec-11-enová)
C18:1	Kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má kyselina olejová (není možno přesně stanovit)
C18:2n6cis,cis	Kyselina linolová (cis, cis-oktadeca-9,12-dienová)
C18:3n3cis	Kyselina linolenová (all-cis-oktadeca-9,12,15-trienová)
C20:0	Kyselina arachidonová (all-cis-eikosa-5,8,11,14-tetraenová)

4.2 Albert

Tabulka 7: Albert – obsah mastných kyselin (v %)

Mastné kyseliny	1. odběr [%]	2. odběr [%]	3. odběr [%]
C8 – 12:0	0,14	0,24	0,53
C14:0	0,57	0,60	0,71
C16:0	23,08	23,91	23,47
C18:0	7,77	8,07	7,61
C18:xt	25,00	23,98	23,97
C18:1n9cis	31,21	33,41	31,82
C18:1n7cis	2,42	1,55	2,36
C18:1	2,18	1,70	2,10
C18:2n6cis,cis	5,34	4,27	3,96
C18:3n3cis	0,83	0,86	1,14
C20:0	0,57	0,57	0,54

Graf 1: Albert – obsah mastných kyselin (v %)



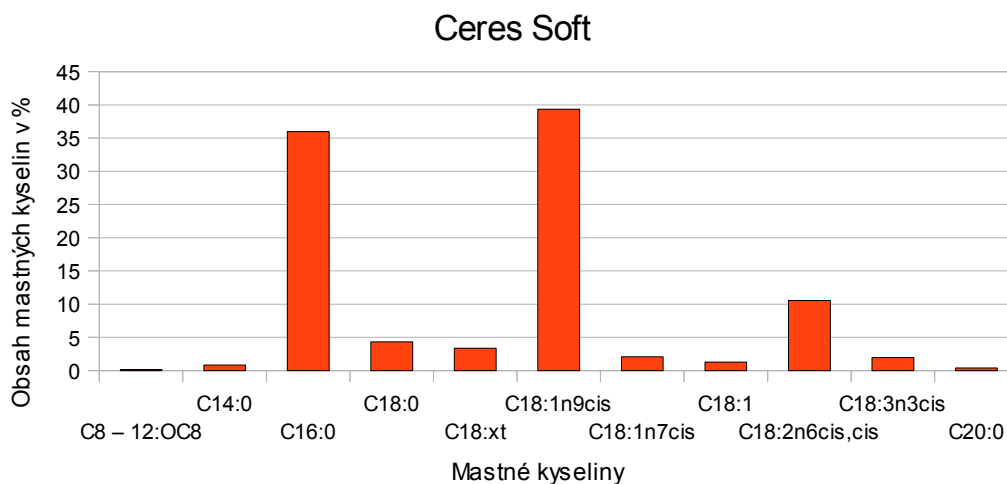
Ztužený tuk Albert obsahuje nejvíce kyseliny palmitové (cca 23,1–23,5%), kyseliny olejové (cca 31,2–33,4%) a také nejvíce *trans*-kyselin (23,9–25%). Méně zastoupena je kyselina stearová (7,6–8,1%), vakcenová (1,6–2,4%) a kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má kyselina olejová (1,7–2,2%). Dalšími kyselinami, které jsou obsaženy ve vzorku, jsou kyselina linolová (4–5,3%), kyselina myristová (0,6–0,7%), kyselina linolenová (do 0,8–1,1%) a kyselina arachidová (do 0,6%). Tuk obsahuje mastné kyseliny typické pro mléčný tuk přežvýkavců, tj. kyselina kaprylová, kaprinová a laurová (celkem 0,1–0,5%)

4.3 Ceres Soft

Tabulka 8: Ceres Soft – obsah mastných kyselin (v %)

Mastné kyseliny	1. odběr [%]	2. odběr [%]	3. odběr [%]
C8 – 12:0	0,20	0,13	0,13
C14:0	0,90	0,81	0,83
C16:0	35,77	36,04	36,04
C18:0	4,42	4,29	4,33
C18:xt	3,43	3,12	3,51
C18:1n9cis	38,89	40,23	38,90
C18:1n7cis	2,49	1,67	2,12
C18:1	0,04	0,07	0,40
C18:2n6cis,cis	10,46	10,60	10,62
C18:3n3cis	1,97	1,98	1,97
C20:0	0,41	0,42	0,39

Graf 2: Ceres Soft – obsah mastných kyselin (v %)



Největší podíl mastných kyselin ve ztuženém tuku Ceres Soft tvoří kyselina olejová (38,9-40,2%) a kyselina stearová (do 36%). Další o něco méně obsaženou kyselinou je kyselina linolová (cca 10,6%), kyselina stearová (do 4,4%), kyselina vakcenová (1,7-2,5%), kyselina linolenová (do 2%) a kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má

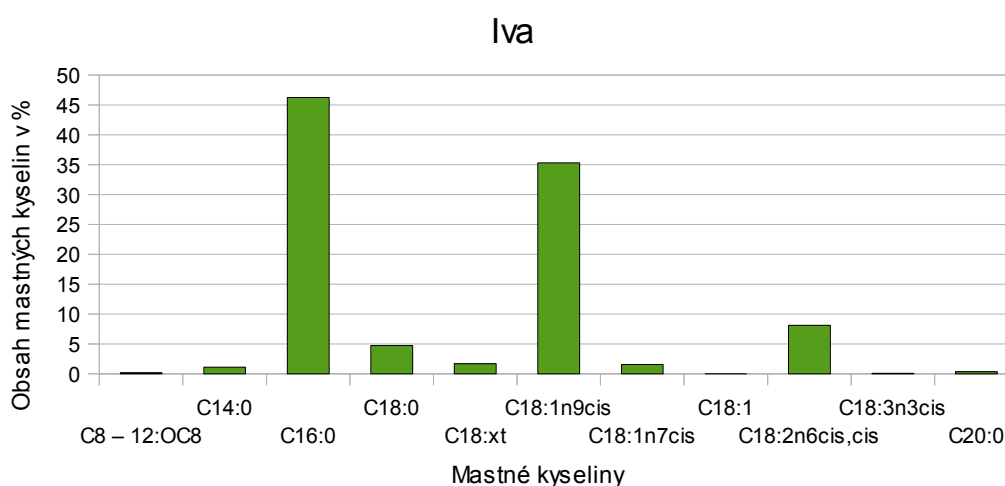
kyselina olejová (do 0,7%). *Trans*- kyseliny zde tvoří 3,1-3,5%. Nejmenší podíl tvoří kyselina myristová (do 0,9%), kyselina arachidová (0,4%) a kyseliny typické pro mléčný tuk přežvýkavců (do 0,2%).

4.4 Iva

Tabulka 9: Iva – obsah mastných kyselin (%)

Mastné kyseliny	1. odběr [%]	2. odběr [%]	3. odběr [%]
C8 – 12:0	0,17	0,14	0,21
C14:0	1,16	1,07	1,18
C16:0	45,80	45,47	47,48
C18:0	4,88	4,94	4,44
C18:xt	2,40	2,02	0,63
C18:1n9cis	34,98	35,74	35,18
C18:1n7cis	2,01	0,86	1,80
C18:1	0,00	0,02	0,00
C18:2n6cis,cis	7,70	8,67	8,05
C18:3n3cis	0,01	0,12	0,14
C20:0	0,36	0,37	0,33

Graf 3: Iva – obsah mastných kyselin (v %)



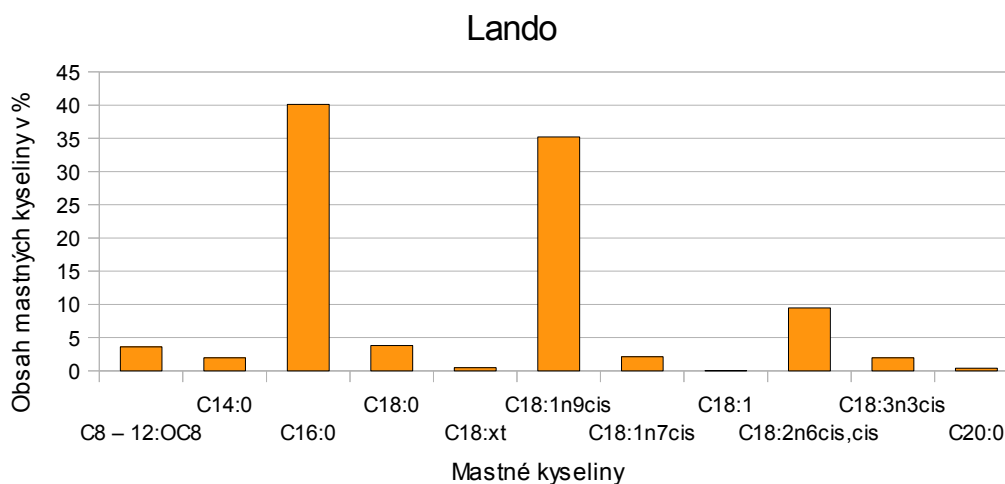
V tomto vzorku nalezneme velký obsah kyseliny palmitové (45,5-47,5%). Vyšší část zaujímá kyselina olejová (35-35,7%) a kyselina linolová (7,7-8,7%). Nižší zastoupení nalezneme u kyseliny stearové (4,4-5%), kyseliny vakcenové (0,9-2%), kyseliny myristové (1,1-1,2%) a kyseliny arachidové (do 0,4%). Stopově nalezneme kyselinu linolenovou (do 0,2%). Kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má kyselina olejová, se ve vzorku v podstatě nevyskytují. Trans- kyseliny se vyskytují v rozmezí 0,6-2,4%, kyseliny typické pro mléčný tuk do 0,2%.

4.5 Lando

Tabulka 10: Lando – obsah mastných kyselin (v %)

Mastné kyseliny	1. odběr [%]	2. odběr [%]	3. odběr [%]
C8 – 12:0	4,06	3,43	3,34
C14:0	2,11	1,83	1,88
C16:0	40,50	39,69	40,17
C18:0	3,83	3,86	3,78
C18:xt	0,53	0,39	0,51
C18:1n9cis	34,01	35,38	35,26
C18:1n7cis	2,27	1,68	2,38
C18:1	0,00	0,00	0,16
C18:2n6cis,cis	9,60	9,49	9,34
C18:3n3cis	1,88	2,00	2,03
C20:0	0,39	0,41	0,35

Graf 4: Lando – obsah mastných kyselin (v %)



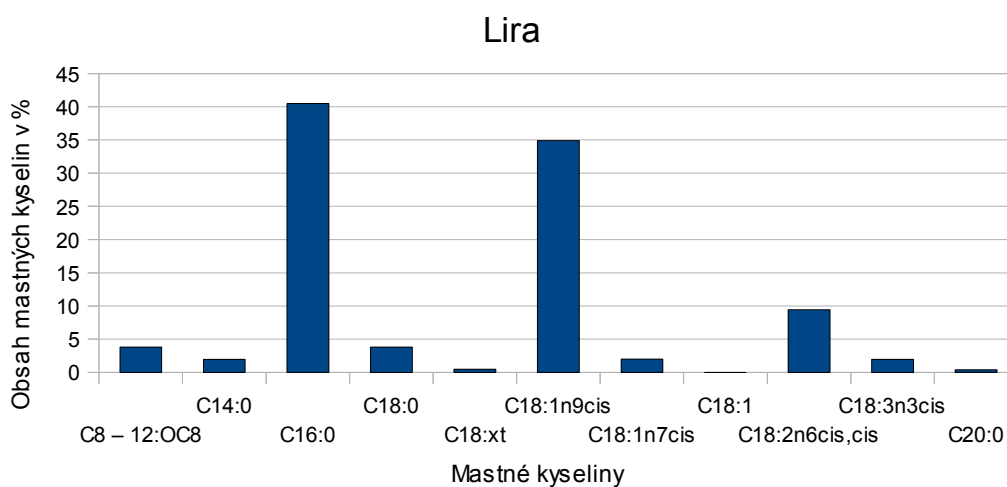
Ztužený tuk Lando tvoří ze 39,7-40,5% kyselina palmitová, z 34-35,4% kyselina olejová, z 9,3-9,6% kyselina linolová, do 3,8% kyselina stearová, z 1,7-2,4% kyselina vakcenová, do 2% z kyseliny linolenové, do 2,1% z kyseliny myristové, do 0,4% zaujímá kyselina arachidová. Kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má kyselina olejová, se ve vzorku téměř nevyskytují, *trans*- kyseliny se vyskytují do 0,5% a kyseliny mléčných tuků zaujímají 3,3-4,1%.

4.6 Lira

Tabulka 11: Lira – obsah mastných kyselin (v %)

Mastné kyseliny	1. odběr [%]	2. odběr [%]	3. odběr [%]
C8 – 12:0	4,20	3,78	3,42
C14:0	2,07	1,98	1,81
C16:0	40,59	40,32	40,50
C18:0	3,78	3,90	3,77
C18:xt	0,53	0,44	0,46
C18:1n9cis	33,79	35,10	35,81
C18:1n7cis	2,43	1,68	1,91
C18:1	0,00	0,04	0,00
C18:2n6cis,cis	9,62	9,56	9,14
C18:3n3cis	1,95	1,91	2,01
C20:0	0,39	0,36	0,38

Graf 5: Lira – obsah mastných kyselin (v %)



Ztužený tuk Lira je cca ze 40,5% tvořen kyselinou palmitovou, z cca 35% kyselinou olejovou, 9,1-9,6% tvoří kyselina linolová. Dalšími kyselinami jsou kyselina stearová (3,8%), kyselina vakcenová (cca 1,7-2,4%), kyselina linolenová (do 2%), kyselina myristová (do 2%) a kyselina arachidová (do 0,4%). Kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má kyselina olejová, se v tuku v podstatě nevyskytují, obsah

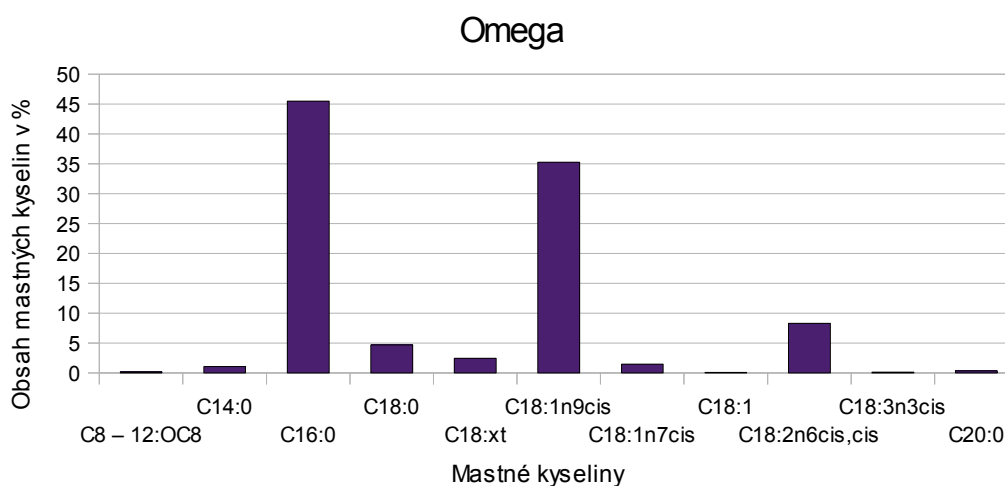
trans- kyselin je do 0,5% a mléčné tuky tvoří 3,4-4,2% celkového obsahu mastných kyselin.

4.7 Omega

Tabulka 12: Omega – obsah mastných kyselin (v %)

Mastné kyseliny	1. odběr [%]	2. odběr [%]	3. odběr [%]
C8 – 12:0	0,18	0,21	0,19
C14:0	1,11	1,07	1,07
C16:0	45,45	45,07	45,87
C18:0	4,62	4,45	5,03
C18:xt	2,33	2,72	2,29
C18:1n9cis	34,82	36,05	34,94
C18:1n7cis	1,93	1,12	1,40
C18:1	0,00	0,09	0,12
C18:2n6cis,cis	8,62	8,11	8,11
C18:3n3cis	0,13	0,18	0,13
C20:0	0,33	0,37	0,34

Graf 6: Omega – obsah mastných kyselin (v %)



Ve ztuženém tuku Omega nalezneme 45-45,8% kyseliny palmitové, 34,8-36,1% kyseliny olejové, 8,1-8,6% kyseliny linolové, 4,5-5% kyseliny stearové, 1,1-1,9% kyseliny vakcenové, do 1,1% kyseliny myristové. V menším množství zde nalezneme

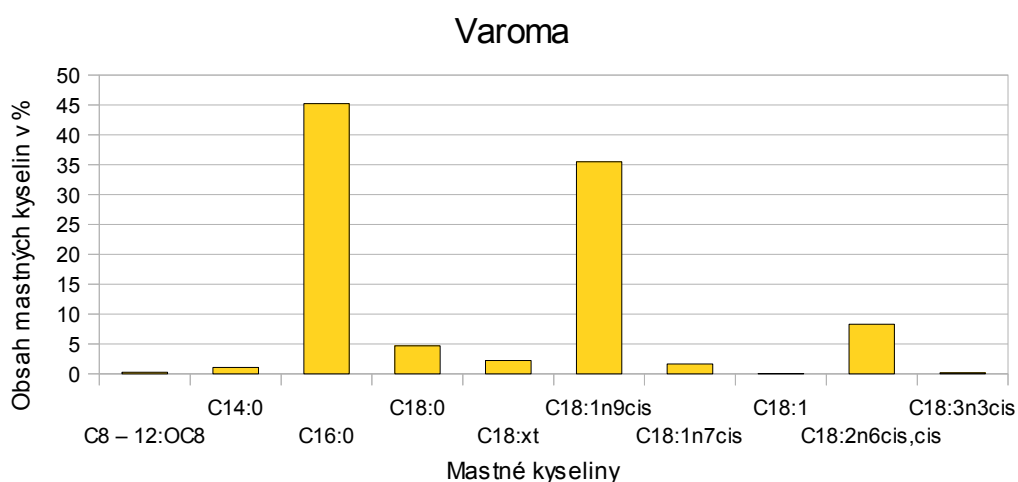
kyseliny arachidovou (do 0,4%) a kyselinu linolenovou (do 0,2%). Kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má kyselina olejová, se v tuku vyskytují (do 0,1%). *Trans*-kyseliny tvoří 2,3-2,7% a mléčné kyseliny se zde vyskytují do 0,2%.

4.8 Varoma

Tabulka 13: Varoma – obsah mastných kyselin (v %)

Mastné kyseliny	1. odběr [%]	2. odběr [%]	3. odběr [%]
C8 – 12:0	0,19	0,36	0,19
C14:0	1,15	0,96	1,07
C16:0	46,27	44,06	45,24
C18:0	4,42	4,67	5,00
C18:xt	2,04	2,50	2,21
C18:1n9cis	34,78	36,32	35,29
C18:1n7cis	2,06	1,58	1,36
C18:1	0,00	0,06	0,10
C18:2n6cis,cis	8,19	8,33	8,37
C18:3n3cis	0,16	0,20	0,17
C20:0	0,32	0,36	0,35

Graf 7: Varoma – obsah mastných kyselin (v %)



V tomto vzorku tvoří největší podíl kyselina palmitová (44,1-46,3%) a kyselina olejová (34,8-36,3%). Kyselina linolová tvoří do 8,4%, kyselina stearová 4,4-5%, kyselina vakcenová 1,4-2,1% a kyselina myristová do 1,1%. Méně je obsažena kyselina arachidová (do 0,4%) a kyselina linolenová (do 0,2%). Kyseliny s dvojnou vazbou na jiném místě, než má kyselina olejová, se v tomto vzorku vyskytují do 0,05%, *trans*-kyseliny do 2,2-2,5% a mléčné kyseliny se zde objevují cca 0,2-0,4%.

4.9 Porovnání aktuálních výsledků a výsledků z 90. let

V literatuře byly získány výsledky stanovení mastných kyselin v tuku Ceres Soft a Omega z 90. let ⁽³⁰⁾.

Tabulka 14: Porovnání tuku Ceres Soft dnes a v 90. letech

Ceres Soft	90. léta [%]	Dnes [%]
Nasyčené mastné kyseliny	22,85	42,99
Mononenasyčené mastné kyseliny	29,21	41,43
Polynenasycené mastné kyseliny (n-3 a n-6)	14,7	12,23
<i>Trans</i> -kyseliny	22,34	3,35

U tuku Ceres Soft vidíme výrazné změny ve složení, především nárůst nasyčených a mononenasyčených kyselin, mírný pokles polynenasycených mastných kyselin a velký pokles *trans*-kyselin.

Tabulka 15: Porovnání tuku Omega dnes a v 90. letech

Omega	90. léta [%]	Dnes [%]
Nasyčené mastné kyseliny	33,93	51,85
Mononenasyčené mastné kyseliny	32,79	36,75
Polynenasycené mastné kyseliny (n-3 a n-6)	7,8	8,43

<i>Trans</i> -kyseliny	25,1	2,45
------------------------	------	------

U tuku Omega byl zjištěn nárůst nasycených mastných kyselin, mírný nárůst mononenasycených a polynenasycených mastných kyselin a velký pokles *trans*-kyselin.

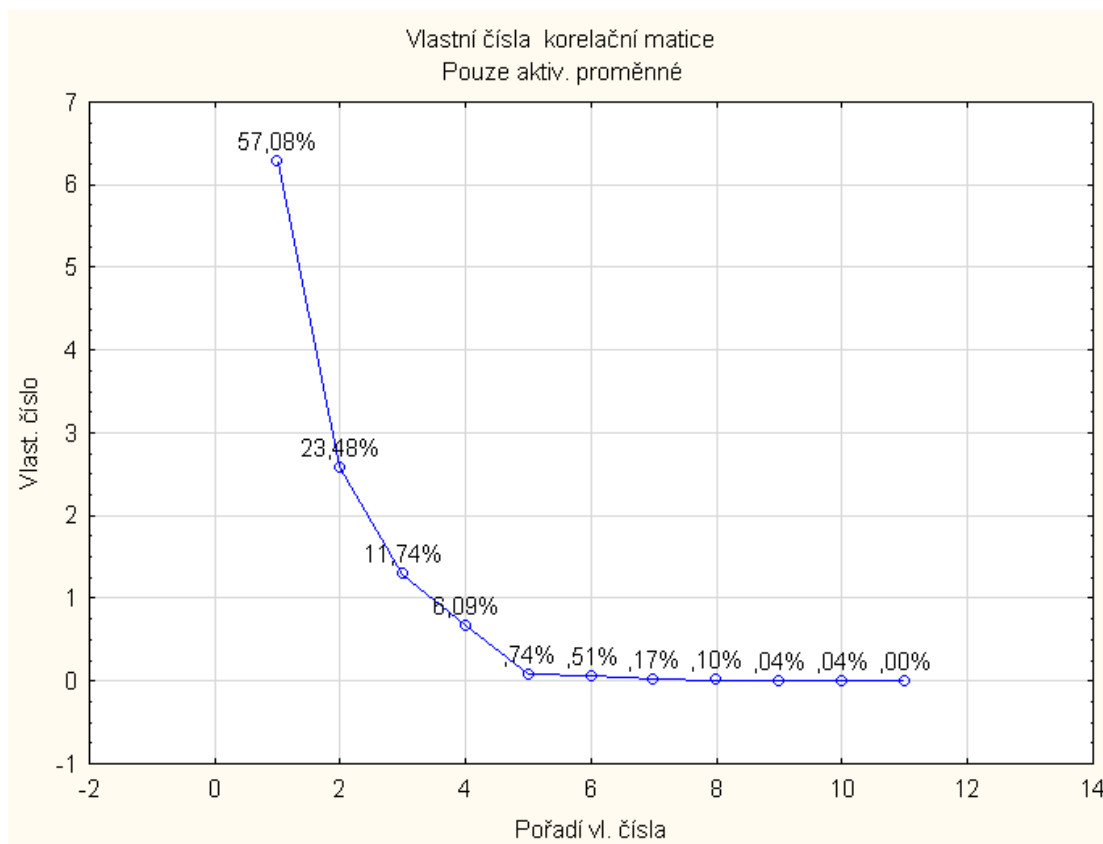
4.10 Analýza hlavní komponenty

Analýza hlavní komponenty hledá kombinace původních proměnných, které lépe vystihují data než původní proměnné a objasnit jejich význam. Dále hledá struktury a souvislosti v datech, které charakterizují jednotlivé zdroje a jejich možné vazby. A nakonec identifikuje nevýznamné kombinace složek a vybočující zdroje ⁽³¹⁾.

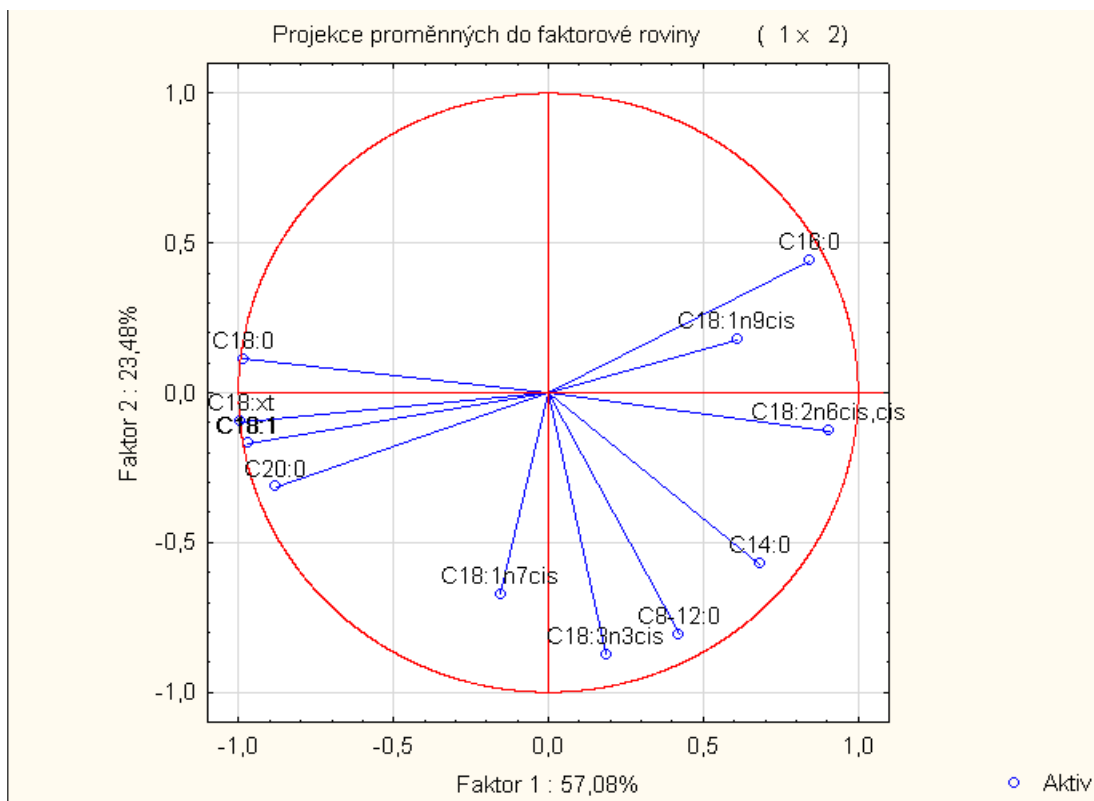
Tato analýza vyhledá faktory, které jsou nějakým způsobem společné pro všechny vzorky (pro tuky). Z kolika procent jsou jednotlivé faktory společné pro vzorky, ukazuje obr. 1. Tento graf ukazuje jaké procento celkové variability vystihuje jednotlivé faktory. V případě naší analýzy jsou důležité první dva faktory. Součet procent obou faktorů dává přes 80%, což je běžně považováno za dostatečné pro další zpracování dat.

První faktor tvoří 57,08%, faktor druhý 23,48%. Co je první a druhým faktorem, zobrazuje obr. 2. Faktor 1 tedy tvoří C18:n7cis, C18:3n3cis, C8-C12:0 a C14:0. Faktor 2 je tvořen C18:0, C18:xt, C18:1 a C20:0.

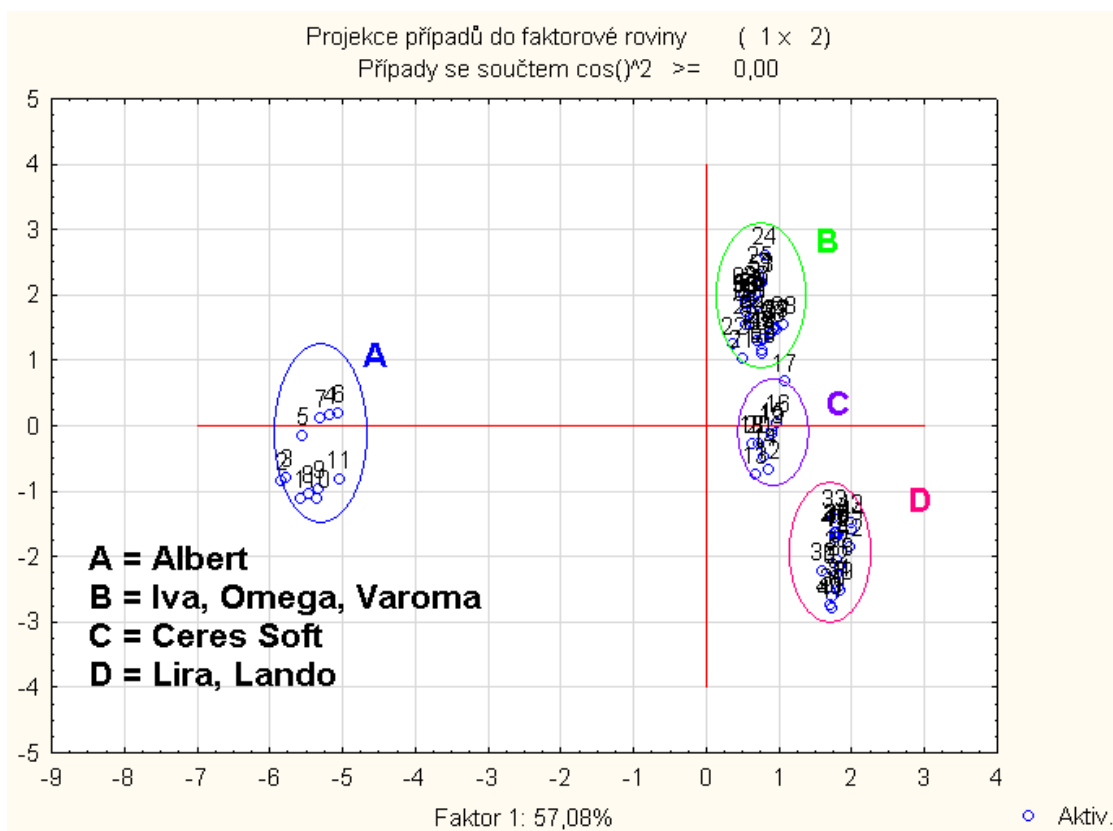
Obr. 1: Vlastní čísla korelační matice



Obr. 2: Projekce proměnných do faktorové roviny



Obr. 3: Projekce případů do faktorové roviny



Pro lepší znázornění jednotlivých faktorů se využívá projekce případů do faktorové roviny (viz obr. 3).

Zanalyzované vzorky lze rozdělit do čtyř skupin podle faktorů a absolutní velikosti určitých kyselin. Ve skupině A se jedná o *trans*-kyseliny, ve skupině B o kyseliny C16:0, C18:1n9cis, co skupiny C je zařazen tuk s obsahem C18:2n6cis, cis a do skupiny D tuky s obsahem C8-C12:0.

Při využití tohoto znázornění je zřejmé, že skupina A, která zahrnuje pouze tuk Albert, se výrazně liší od ostatních.

5 Závěr

Ve všech tucích byla zjištěna kyselina palmitová (kyselina hexadekanová), která zaujímala 36-45,5%. Dále byla hojně zastoupena kyselina olejová (cis-oktadek-9-enová) z 32,2-39%. Poslední více zastoupenou kyselinou je kyselina linolová (cis, cis-oktadeka-9,12-dienová). Je zastoupena od 7,7% do 10,5%. Nižší množství kyseliny linolové obsahuje tuk Albert. Tato kyselina zaujímá pouze 4,5%.

Zajímavý byl obsah kyselin typických pro mléčný tuk přežvýkavců, jedná se o kyselinu kaprylovou (oktanová), kaprinovou (dekanová) a laurovou (dodekanová), a obsah *trans*-kyselin. Ztužený tuk Albert měl nejvyšší obsah *trans*-kyselin, ve výrobku zaujímaly tyto kyseliny 23,4%. Z tohoto výsledku je možné usoudit, že tento výrobek má pravděpodobně nižší kvalitu, než výrobky ostatní. Obsah kyselin typických pro mléčný tuk byl v porovnání s ostatními tuky vyšší u tuku Lando a Iva. Výsledky tímto naznačují, že u těchto tuků byl při výrobě využit mléčný tuk.

V úseku jednoho roku nebyly zaznamenány výrazné změny ve složení vybraných ztužených tuků, ale z dlouhodobého hlediska jsem je patrná výrazná změna ve složení u ztuženého tuku Ceres Soft a Omega, při čemž zásadní byl velký rozdíl v obsahu *trans*-kyselin.

6 Seznam použitých zdrojů

- 1 BENEŠOVÁ, M., SATRAPOVÁ, H., 2002. *Odmaturuj z chemie*. 1. vydání. Brno, Didaktis, s. 173-174.
- 2 VELÍŠEK, J., 2002. *Chemie potravin 1*. 2. vydání. Tábor, OSSIS. s. 75-88
- 3 DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J., 1983. *Chemie potravin*. 1. vydání. Praha, SNTL, s. 54-60.
- 4 KALAČ, P., 1999. *Chemie potravin pro obchodně podnikatelský obor*. 1. vydání. České Budějovice, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích - Zemědělská fakulta, s. 38-40.
- 5 ČEPIČKA, J. a kol., 1995. *Obecná potravinářská technologie*. 1. vydání. Praha, VŠCHT Praha, s. 69-79.
- 6 ANDĚL, M., DLOUL, P., 2006. Margaríny a ateroskleróza. *Vesmír*, **85**(1): 686.
- 7 KUMAR, A., LAL, D., SETH, R., SHARMA, V., 2010. Detection of milk fat adulteration with admixture of foreign oils and fats using a fractionation technique and the apparent solidification time test. *International Journal of Dairy Technology*, **63**(1): 1-12.
- 8 ROMBAUT, R., DE CLERCQ, N., FOUBERT, I., DEWETTINCK, K., 2009. K. Triacylglycerol Analysis of Fats and Oils by Evaporative Light Scattering Detection. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **86**(1): 19-25.
- 9 WEI, G., ZENG, E., 2011. Gas chromatography-mass spectrometry and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in quantifying fatty acids. *Trends in Analytical Chemistry*, **30**(1): 1429-1436.
- 10 CRUZ-HERNANDEZ, C., DESRAILLATS, F., 2009. Recent Advances in Fast Gas-Chromatography: Application to the Separation of Fatty Acid. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **32**(1) : 1672-1688
- 11 WEISS, J., 2004. *Handbook of Ion Chromatography, volume 1*. 3. vydání. Weinheim, Wiley-VCH, s. 1-2.
- 12 GUTIÉRREZ, R., VEGA, S., DIAZ, G., SÁNCHEZ, J., CORONAD, M., PÉREZ, J., GONZÁLES, M., SCHETTINO, B., 2009. Detection of non-milk fat

- in milk fat by gas chromatography and linear discriminant analysis. *Journal of Dairy Science*, **92**(1): 1846-1855.
- 13 AGUIRRE, M., MARMESAT, S., MÉNDEZ, M., DOBARGANES, M., 2010. Application of high-temperature gas chromatography to the analysis of used frying fats. *Grasas y Aceites*, **61**(1): 197-202.
- 14 JUNG, H., LEE, W., CHUNG, B., CHOI, M., 2009. Mass spectrometric profiling of saturated fatty acid esters of steroids separated by high-temperature gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1216**(1): 1463-1468.
- 15 SKARTLAND, K., Mjøs, S., GRUNG, B., 2011. Experimental designs for modeling retention patterns and separation efficiency in analysis of fatty acid methyl esters by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal Of Chromatography*. **1218**(1): 6823-6831.
- 16 DRBAL, K., KŘÍŽEK, M., 1999. *Analytická chemie*. 1. vydání. České Budějovice, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích - Zemědělská fakulta, s. 136-159.
- 17 HOLZBECHER, Z., CHURÁČEK, J. A KOL., 1987. *Analytická chemie*. 1. vydání. Praha, SNTL, s. 435-436.
- 18 ROMANSKÝ, L., 2011. *Mastné kyseliny a možnosti jejich stanovení v rostlinném materiálu pomocí plynové chromatografie*. [Bakalářská práce]. Brno, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, ústav chemie, 40s.
- 19 MIKEŠ, O. A KOL., 1961. *Příručka laboratorních metod*. 1. vydání. Praha, SNTL, s. 324-325.
- 20 POPL, M., KUBÁT, J., 1979. *Základy chromatografie*. 1. vydání. Praha, SNTL, s. 39-77.
- 21 KISILEV, A. V., JAŠIN, J. I., 1988. *Adsorpční plynová a kapalinová chromatografie*. 1. vydání. Praha, SNTL, s. 29-30.
- 22 CHRISTIE, W. W., 1989. *Gas chromatography and lipids: a practical guide*. 3. vydání. The Oily Press, s. 37-39, 50-51, 160-161.
- 23 URL: http://lipidlibrary.aocs.org/GC_lipid/04_deriv/index.htm – staženo dne 15.4.2012.

- 24 URL: <http://www.okbpavlin.cz/prirucka/JVATS.htm> – staženo dne 15.4.2012.
- 25 POPL, M. A KOL., 1978. *Základy instrumentální analýzy*. 1. vydání. Praha, VŠCHT Praha a Pardubice, s. 145-148.
- 26 PRZECEK, B., 1997. *Metrologické zabezpečení v atomové absorpční spektrometrii*. 1. vydání. Praha, CHEMMEA Bohemia s.r.o., s. 46-47.
- 27 JOSKA, L., PŘIKRYLOVÁ, K., 1990. *Speciální chemické a instrumentální analytické metody*. 1. vydání. Praha, VŠCHT Praha, s. 114-115.
- 28 URL: <http://ach.upol.cz/user-files/intranet/im-ms-2010-1288707080.pdf> – staženo dne 15.4.2012.
- 29 ROBINSON, J. W., 1975. *Atomic Absorption Spectroscopy*. 2. vydání. New York, MARCEL DEKKER, INC., s. 33-35.
- 30 DOSTÁLOVÁ, J., BRÁT, J., 2004. Složení mastných kyselin jedlých tuků z tržní sítě České republiky. *Výživa a potraviny*, **59**(6): 157-159.
- 31 URL: <http://meloun.upce.cz/docs/publication/127a.pdf> – staženo dne 19.7.2012

7 Klíčová slova

tuky

mastné kyseliny

plynová chromatografie

hmotnostní spektrometrie