MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

AGRONOMICKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2016

Mendelova univerzita v Brně

Agronomická fakulta

Ústav Technologie potravin

Stanovení mastných kyselin ve vybraných živočišných tkáních

Diplomová práce

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

Vypracovala:
Tereza Piknerová

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci 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 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

Mé poděkování patří hlavně Ing. Veronice Rozíkové, Ph.D za odborné vedení mé diplomové práce. Děkuji za opravdu, velice užitečné rady, velikou trpělivost a hlavně ochotu.

Dále velké poděkování mojí rodině za morální a finanční podporu během mého studia.

ABSTRAKT

Moje diplomová práce se skládá z teoretické části a praktické části. V teoretické části se zabývám informacemi o mastných kyselinách. Jejich skladbou, funkcemi a vlivem na naše zdraví. V neposlední řadě jsem se věnovala onemocnění, které může vzniknout na základě špatného přísunu mastných kyselin. Jedná se o aterosklerózu.
Druhou části mé práce je již zmíněná praktická část. Která se skládala z odběru vzorku prasat, kde se odebíraly veškeré živočišné tkáně a následnému stanovení mastných kyselin. V mé práci se zabývám jaterními tkáněmi a svalovou tkáni. Tyto vzorky se odebíraly z prasat, která měla ve stravě přidaný palmový nebo rybí olej.
Stanovení se provádělo pomocí lyofilizace, extrakce, derivatizace a plynovou chromatografií. Na základě výsledků jsem provedla statistické vyhodnocení pomocí grafů a konečné vyhodnocení výsledků.

Klíčová slova: prase, jaterní tkáň, svalová tkáň, mastné kyseliny, ateroskleróza, rybí olej, palmový olej

ABSTRACT

My thesis consists of a theoretical part and a practical part. In theoretical part I deal with information about the fatty acids and its structure, functions and influence on our health. Last but not least I focused on diseases that may arise due to bad intake of fatty acids. It is the atherosclerosis.
The second part of my thesis is the already mentioned practical part. This consisted of a samples of pigs in which were taken all animal tissues and subsequent determination of the fatty acids. In my thesis I deal with liver and muscle tissue. These samples were taken from pigs that had fish or palm oil in the diet.
The determination was done by lyophilization, extraction, derivatization and gas chromatography. Based on the results, I conducted a statistical evaluation using graphs and a final evaluation of the results.

Keywords: pig, liver tissue, muscle tissue, fatty acids, atherosclerosis, fish oil, palm oil

Obsah

1 ÚVOD DO PRÁCE 7
2 CÍL PRÁCE 8
3 TEORETICKÁ ČÁST 9
3.1 Charakteristika lipidů 9
3.1.1 Funkce lipidů 10
3.1.2 Trávení lipidů 11
3.1.3 Vstřebávání lipidů 12
3.2 Mastné kyseliny 13
3.2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti mastných kyselin 14
3.2.2 Rozdělení mastných kyselin 15
3.2.3 Doporučený příjem mastných kyselin 22
3.3 Ateroskleróza 24
3.3.1 Vývoj a vznik aterosklerotických plátů 25
3.3.2 Příčiny aterosklerózy 26
3.4 Teorie plynové chromatografie pro stanovení mastných kyselin 28
3.4.1 Charakteristika plynové chromatografie 29
4 MATERIÁL A METODIKA 31
4.1 Materiál 31
4.2 Metodika 33
4.2.1 Příprava vzorků 33
4.2.2 Extrakce tuku 34
4.2.3 Derivatizace 34
4.2.4 Stanovení mastných kyselin 35
5 VÝSLEDKY 36
6 DISKUZE 41
7 ZÁVĚR 44
8 SEZNAM OBRÁZKŮ 46
9 ZDROJE 47

1 ÚVOD DO PRÁCE

Jak pro lidský tak i pro živočišný orgasmus jsou mastné kyseliny velice důležité. Nesmí se zapomínat, že tuky hrají v našem těle nezastupitelnou úlohu. Slouží jako zdroj energie, podílí se na tvorbě buněčných membrán a také jsou součásti nervové tkáně. Mají samozřejmě mnoho dalších důležitých funkcí. Jejich denní příjem by však neměl přesáhnout 30 % v přijaté stravě za den.

Mezi lidmi často panuje domněnka, že jsou tuky pro lidské tělo škodlivé. Je pravda, že v živočišném tuku je velký obsah nasycených mastných kyselin, ale také jsou tam důležité mastné kyseliny, které se v jiném tuku nevyskytují. Lehkým příkladem je máslo, které obsahuje konjungovanu kyselinu linolenovou. Stejně jak u živočišných, tak i u rostlinných tuků nemůžeme říci, že jsou prospěšné. Například kokosový olej, nebo olej z palmových jader obsahuje velké množství nasycených mastných kyselin.

Pro živočišný organismus jsou esenciální dvě kyseliny, kyselina linolová a kyselina α-linolenová. Aby docházelo ke správné syntéze polynenasycených mastných kyselin řady n-3 a n-6 musíme přijímat vyváženou stravu. Ovšem ne jenom strava je důležitým faktorem pro správnou syntézu již zmíněných mastných kyselin. Důležité faktory jsou i fyzická aktivita, genetika, hormonální činnost a mnoho dalšího.

Polynenasycené mastné kyseliny z řady n-3 vykazují převážně jen pozitivní účinky na náš organismus. Mezi jeho hlavní účinky patří správný vývoj organismu, zlepšení imunitních reakcí, dále má velice pozitivní vliv na červené krvinky. Je ovšem důležité dodržovat doporučený poměr polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3, který by neměl překročit 5:1 (Mourek, 2007).

2 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem mojí diplomové práce bylo zjištění vlivu mastných kyselin ve výživě člověka. Zjištění možností stanovení mastných kyselin ve vybraných živočišných tkáních.

Závěrem provést analýzu mastných kyselin ve vybraných vzorcích živočišných tkáních, konkrétně jaterní tkáně a svalové tkáně. Výsledné hodnoty statisticky zpracovat a provést zhodnocení současně s porovnáním se zahraniční a tuzemskou literaturou.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Charakteristika lipidů

Lipidy neboli tuky představují estery mastných kyselin a alkoholů, případně také jejich deriváty. Patří mezi důležité složky, které se podílejí na stavbě buněk. Lipidy jsou rozpustné pouze v organických rozpouštědlech (např. chloroform, ethanol), nikoli ve vodě.

Hlavními lipidy v lidském organismu jsou mastné kyseliny, které se nacházejí ve formě glyceridů, fosfolipidů a volného esterifikovaného cholesterolu a jsou součástí lipoproteinů. Kromě výše zmíněných máme také minoritní lipidy (sfingolipidy, gangliolipidy), které se podílejí na metabolismu neuronů a steroidních molekul (Kastnerová, 2011).

Základní rozdělení lipidů podle jejich skladby je na jednoduché a složené. Mezi jednoduché patří glyceridy a vosky. Glyceridy jsou estery vyšších mastných kyselin a glycerolu. Glyceridy se dále dělí podle počtu esterifikovaných hydroxylových skupin na triacylglyceridy (triglyceridy), ty mají esterifikované všechny tři hydroxylové skupiny. Dále máme diacyglyceroly (diglyceridy), obsahující pouze dvě esterifikované hydroxylové skupiny a poslední skupinu tvoří acylglyceroly (monoglyceridy), které mají pouze jednu esterifikovanou hydroxylovou skupinu. Pro nás mají největší význam triacylglyceroly, které se vyskytují v přírodních tucích a olejích. Takové látky jsou neutrální a vyskytují se v tukové tkáni živočichů, v mléce a plodech (např. v olivách).

Další skupinu tvoří vosky, což jsou různé směsi vyšších mastných kyselin a vyšších jednosytných alkoholů. Patří sem například cetyalkohol (C11), cerylalkohol (C22), myricilalkohol (C30).

Mezi složené lipidy zařazujeme fosfolipidy, glykolipidy, sfingolipidy, lipoproteiny a další. Rozdíl mezi jednoduchými a složenými lipidy spočívá v tom, že složené lipidy obsahují vedle hydrofobní složky hydrofilní část. Jednoduché lipidy mají pouze hydrofilní část. Toto je i klíčový důvod, proč se lipidy podílejí na stavbě buněčných membrán. Pokud se v molekule vyskytuje zároveň hydrofobní a hydrofilní skupina, je umožněno vytváření ve vodných roztocích útvarů koloidních rozměrů tzv. micel nebo tvoří dvojvrstvy, které se následně podílejí na stavbě buněčných membrán.

Výše již zmíněné fosfolipidy se vyskytují hlavně v mozkové a nervové tkání, dále ve vaječném žloutku ve formě lecitinu.

Zajímavou skupinou tvoří sfingomyeliny (sfingofosfolipidy), které obsahují místo glycerolu sfingosin. Ten se také vyskytuje v mozkové tkáni. Tato skupina se dále dělí podle charakteru cukerné složky na cerebrosidy, které obsahují galaktózu vázanou na sfingomyelin. Cerebrosidy jsou obsaženy v mozku, nervové tkáni, v menším množství v játrech, ledvinách a plících. Další podskupinou jsou gangliosidy, obsahující oligosacharidový řetězec galaktózy a glukózy vázaný na glycerol. Vyskytuje se v gangliích nervových buněk, v šedé kůře mozkové. Gangliosidy se podílejí na specifické charakteristice krevních skupin a orgánové a tkáňové specifitě.

Mezi lipidy patří i skupina látek, které jsou od lipidů odvozené. Dá se říci, že veškeré odvozené lipidy patří z biochemického hlediska mezi izoprenoidy. Tím, že mají hydrófobní charakter jsou řazeny do skupiny látek nerozpustných ve vodě. Do této skupiny zahrnujeme prostaglandiny, které působí jako regulátory stahů hladké svaloviny, žaludeční sekrece a dalších metabolických pochodů. Dalšími látkami patřící do této skupiny jsou steroidy, karotenoidy, lipofilní vitamíny (Burdychová, 2009).

Oproti sacharidům a proteinům nám lipidy poskytují až dvojnásobné množství energie. Stejně jako sacharidy jsou tvořeny atomy uhlíku, vodíku a kyslíku. Organismus lipidy využívá jako zdroj energie převážně v době odpočinku, hladovění, případně při fyzické aktivitě. Lipidy, které se nachází v živočišných produktech, mají převážně tuhou konzistenci, kvůli obsahu nasycených mastných kyselin. Mezi takové produkty patří sádlo, máslo. Naopak rostlinné lipidy mají tekutou konzistenci, protože obsahují nenasycené mastné kyseliny. Rostlinné oleje potom máme řepkový, slunečnicový, olivový a další (Klimešová, Stelzer 2013).

3.1.1 Funkce lipidů

Kromě toho, že jsou tuky významným zdrojem energie ve stravě, kde 1g tuku představuje 9 kcal=38 kJ, tak má i další významné funkce. Pokud přijmeme více tuku, než zrovna potřebuje, tak se nám ukládá do zásob. Organismus v lidském těle uloží až 50 000 kcal. Lipidy mají také strukturní funkci, jsou totiž stavební složkou biologických membrán. Jsou také součástí nervové tkáně, podílejí se tedy i na přenosu podnětů. Udává se, že nervová tkáň je složena až ze 40 % z lipidů. Lipidy zajišťují také ochranu orgánů před mechanickým poškozením. Také mají izolační funkci, zabraňují unikání

tepla a vody, dále taky napomáhají vstřebávání vitamínů rozpustných v tucích. (Kastnerová, 2011).

3.1.2 Trávení lipidů

Linguální lipáza, která napomáhá vstřebávání lipidů je uvolňována Ebnerovými žlázami na dorzální části jazyka. Také žaludek seceneruje lipázu. Gastrická, tedy žaludeční lipáza se podílí při insuficienci, tedy selhávání pankreatu. Linguální lipáza, je v žaludku aktivní, stráví až 30 % triacylglycerolů v potravě.

Trávení tuků začíná v duodemu, zde je pankreatická lipáza, která se aktivně podílí na tomto procesu. Pankreatická lipáza hydrolyzuje v triacylglycerolech snadno vazby 1 a 3, avšak na vazbu 2 působí velmi pomalu a proto jsou jeho základními produkty v tomto procesu volné mastné kyseliny a 2-monoglyceridy. Dokáže působit pouze na lipidy, které byly už emulgovány. Amfipatický helix dokáže její aktivitu zvýšit.

Protein kolipáza má molekulovou hmotnost kolem 11 000 a je uvolňován ve formě neaktivního proenzymu. Kolipáza je aktivována pomocí trypsinu ve střevní dutině.

Důležitá je také pankreatická lipáza, která je aktivována pomocí žlučových solí. Tato lipáza představuje zhruba 4 % všech proteinů v pankreatické šťávě. U dospělých je tato lipáza mnohem aktivnější a to až 60 krát více než u dětí. Lipáza, která je aktivovaná žlučovými soli se liší od pankreatické šťávy tím, že katalyzuje hydrolýzu esterů cholesterolu, esterů vitamínů rozpustných v tucích a fosfolipidů stejně jako u triacylglycerolů. Enzym s podobnými vlastnostmi můžeme najít také v lidském mléku.

Většina přijímaného cholesterolu je ve formě cholesterylesterů, kde tyto estery jsou ve střevním lumen hydrolyzovány pomocí cholesterylhydrolázy.

Dále jsou tuky emulgovány v tenkém střevě pomocí solí žlučových kyselin, lecitinu a monoacylglycerolů. Pokud je v organismu zvýšená koncentrace žlučových kyselin, jak se tomu děje při kontrakci žlučníku, tak se lipidy a soli žlučových kyselin spojí a vytvářejí tak zvané micely.

Koncentrace lipidů v těchto micelách je velice proměnlivá. V hydrofobní části obsahují mastné kyseliny, monoacylglyceroly a cholesterol. Tvorba micel způsobí rozpouštění lipidů a jejich následný transport do enterocytů. Pohyb micel je dán podle

jejich koncentračního spádu směrem ke kartáčovému lemu slizničních buněk. Lipidy se dostávají ven z micel a jejich nasycený roztok se udržuje v kontaktu z již zmíněným kartáčovým lemem slizničních buněk.

3.1.3 Vstřebávání lipidů

Vždy bylo uváděno, že lipidy vstupují do buněk sliznice pomocí pasivní difúze, nyní však existují důkazy o tom, že se na přenosu lipidů do buněk sliznice podílejí přenašeče. Poté co se dostanou lipidy do buněk, jsou rychle esterifikovány, tím se udržuje koncentrační spád z lumen střeva do buněk. Sliznice jujena vstřebává žlučové soli pomalu a tím je způsobeno, že velká část těchto solí zůstává v lumen střeva, kde slouží pro tvorbu nových micel.

Při transportu mastných kyselin záleží na jejich velikosti. Pokud mají mastné kyseliny méně než 10-12 atomů uhlík, tak jejich přechod je z buněk přímo do portální krve, kde jsou transportovány jako volné neesterifikované mastné kyseliny. Pokud mastné kyselin obsahují vyšší počet atomů uhlíků než 10-12, dochází k jejich reesterifikaci v buňkách sliznice na triacylglyceroly. Současně se esterifikuje také část cholesterolu, který je vstřebán. Tyto triacylglyceroly a cholesterolestery jsou následně obalené vrstvou proteinů, cholesterolu a fosfolipidů. V této kombinaci tvoří tak zvané chylomikrony, které po opuštění buňky vstupují do lymfatických cév.

V buňkách sliznice jsou z velké části triacylglyceroly tvořeny tak zvanou acylací vstřebaných 2-monoacylglycerolů, a to převážně v hladkém endoplazmatickém retikulu. Malé množství triacylglycerolů je tvořeno z glycerofosfátu, který vzniká jako produkt při katabolismu glukózy. Glycerofosfát se mění v průběhu vstřebávání na glycerofosfolipidy a také se podílí na tvorbě chylomikronů. Acylace tohoto glycerolfosfátu probíhá v hrubém endoplazmatickém retikulu.

V Golgiho aparátu se připojují cukerné složky, které se napojují na proteiny a následně jsou hotové chylomikrony vylučovány exocytózou z bazální nebo laterální strany buňky.

Vstřebávání mastných kyseliny, které mají dlouhý řetězec, je největší v horní části tenkého střeva, ale také velké množství se vstřebává v ileu. Pokud přijmeme ve stravě menší podíl těchto kyselin, tak se jich vstřebá 95 % někdy i více.

Procesy, které se podílejí na vstřebávání lipidů, nejsou vyvinuty hnedka po narození, proto kojenci nedokážou 10-15 % z přijatého tuku vstřebat. Z tohoto důvodu jsou kojenci náchylnější k výskytu některých chorob, které snižují vstřebávání lipidů.

3.1.3.1 Vstřebávání cholesterolu a ostatních sterolů

Cholesterol je vstřebáván ze střeva za současného působení žluči, matných kyselin a pankreatické šťávy.

Steroidy rostlinného původu, které jsou cholesterolu podobné, se vstřebávají mnohem hůře. Dá se říci, že veškerý vstřebaný cholesterol se dostane do chylomikronů, které dále putují do krevního oběhu lymfatických cév, jak již je výše uvedeno. Rostlinné steroidy, které se nevstřebají, například steroly v rostlinných bobech, snižují vstřebávání cholesterolu, a to tím, že je vytěsňují z esterifikace s mastnými kyselinami (Ganong, 2005).

3.2 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou strukturní součástí lipidů, které společně se sacharidy a proteiny představují důležité složky živé hmoty. Velmi často jsou mastné kyseliny vyjadřovány schématickým vzorcem CN:p n-x, kde CN znamená tzv. uhlíkové číslo, které nám udává počet atomů uhlíku, písmeno p ve vzorci ukazuje kolik má mastná kyselina dvojných vazeb, x určuje polohu první dvojné vazby od methylové skupiny, která se značí písmenem n (Žák, 2011).

Mastné kyseliny se vyskytují ve dvou konfiguracích cis a trans. Konfigurace cis nastává v případech, pokud sloučenina obsahuje dvojnou vazbu, čímž je znemožněno otáčení uhlíkových atomů kolem vazby konfiguraci. To způsobuje, že substituenty připojené k dvojné vazbě mají fixní polohu, kterou nemění. Pokud jsou dva stejné substituenty umístěny na stejné straně roviny od dvojné vazby, označujeme právě tuto konfiguraci za cis. V případě, že nejsou ve stejné rovině, jedná se o konfiguraci trans (Arnoštová, 2013).

Molekuly se stejným druhem atomů a odlišným sterickým uspořádáním jsou nazývány izomery (Burdychová, 2009).

V našich organismech mají mastné kyseliny velké množství úloh. Jsou součástí fosfolipidů, tvoří tedy základní strukturu buněčných membrán. Mastné kyseliny uložené v tukové tkáni nám slouží jako zdroj energie a tepelná izolace. V našich tělech mohou

být v neomezeném množství. Mastné kyseliny jsou důležité pro jejich určité vlastnosti nejen z nutričního hlediska, jejich uplatnění je mimo to také v různých potravinářských odvětvích.

3.2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti mastných kyselin

1)Teplota tání- teplota závisí na počtu uhlíků. Platí, že se bod tání mastných kyselin zvětšuje se zvětšujícím se počtem uhlíku v řetězci. Naopak klesá, pokud se zvětšuje počet dvojných vazeb. Tyto projevy se nám promítají do sloučenin, kde mastné kyseliny vykazují důležitou složku např. fosfolipidy, triacygliceridy (Žák, 2011).

Ovšem pokud mastná kyselina obsahuje více jak 20 uhlíků, tak už rozdíly v teplotě tání nejsou tak markantní. Obecně platí, že kyseliny s lichým počtem uhlíků mají teplotu tání nižší než kyseliny se sudým počtem uhlíků. Hlavním faktorem, který ovlivňuje teplotu, je vazba cis, která umožňuje ohyb řetězce o 42°, tím je způsobeno, že právě cis izomery mají nižší teplotu tání než trans izomery.

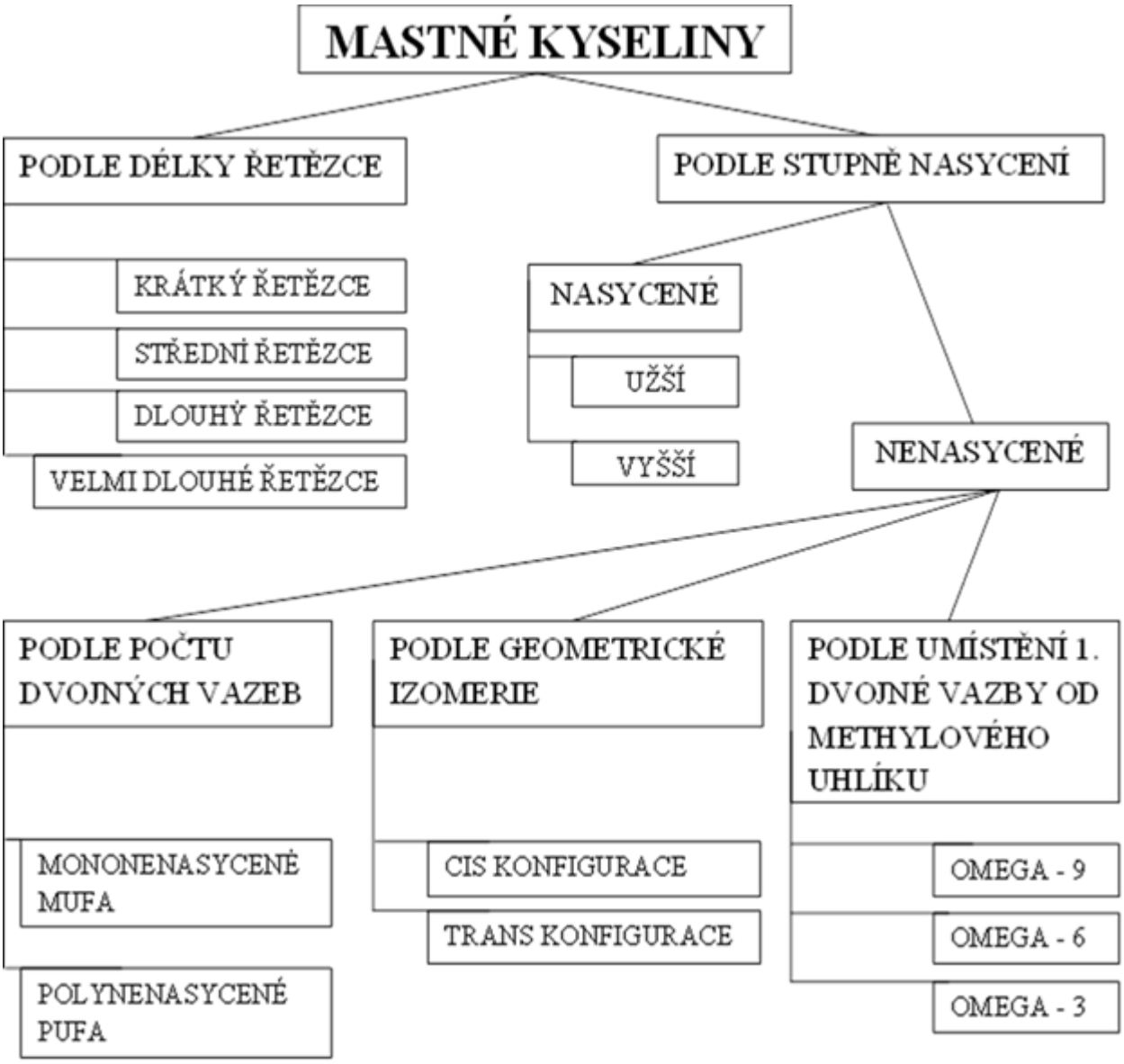
Počet dvojných vazeb v cis konfiguraci značně ovlivňuje mikroviskozitu buněčných membrán, dále jejich tloušťku a také funkce proteinů spojených s membránami. Mezi tyto látky patří například enzymy, buněčné receptory, membránové transportéry, iontové kanálky (Žák, 2011).

2)Teplota varu je ovlivněna počtem atomů uhlíků a dvojných vazeb.

3)Rozpustnost- zde platí, že s přibývajícím počtem uhlíků rozpustnost klesá. Například kyselina máselná je v libovolném poměru rozpustná ve vodě, hůře jsou potom rozpustné ve vodě například kyseliny kapronová a kaprylová, které jsou odlišné počtem uhlíků. Ostatní kyseliny jsou nerozpustné ve vodě. Veškeré mastné kyseliny jsou dobře rozpustné v diethyletheru a ethanolu (Samková, 2008).

3.2.2 Rozdělení mastných kyselin

Obr.1.schéma rozdělení mastných kyselin (Fialová, 2014)



3.2.2.1 Podle délky řetězce

Mastné kyseliny můžeme rozdělit dle délky řetězce na:

- Mastné kyseliny s krátkým řetězcem- méně než 6 atomů uhlíku
- Mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem- 6-12 atomů uhlíku
- Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem- 14-20 atomů uhlíku
- Mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem- více jak 20 atomů uhlíku

3.2.2.2 Podle nasycenosti

Nasycené mastné kyseliny neobsahují žádnou dvojnou vazbu v molekule. Vysoký obsah nasycených mastných kyselin se nachází v živočišných produktech, kde slouží jako energetická rezerva (Kastnerová, 2011).

Rostlinné tuky, ve kterých najdeme právě nasycené mastné kyseliny, jsou ve velkém množství obsaženy v kokosovém tuku, palmojádrovém tuku, kakaovém másle a palmovém tuku. Již zmíněné tuky mají při pokojové teplotě tuhé skupenství, proto nepatří mezi oleje. Nenasycené mastné kyseliny jsou odolné vůči oxidaci a žluknutí. Jsou tedy vhodné ke kulinářskému použití (Burdychová, 2009).

Příklady nasycených mastných kyselin:

1. Kyselina myristová ($CH_3(CH_2)_{12}COOH$)
2. Kyselina palmitová ($CH_3(CH_2)_{14}COOH$)
3. Kyselina stearová ($CH_3(CH_2)_{16}COOH$)
4. Kyselina kaprylová ($CH_3(CH_2)_6COOH$)
5. Kyselina kaprinová ($CH_3(CH_2)_8COOH$)
6. Kyselina laurová ($CH_3(CH_2)_{10}COOH$)
7. Kyselina arachová ($CH_3(CH_2)_{18}COOH$)

Nenasycené mastné kyseliny, jsou látky, mezi jejichž hlavní funkce patří stavba buněčných membrán, čímž dodávají membránám pružnost a schopnost navázání vody.

Nejdůležitější a nezbytné nenasycené mastné kyseliny pro zdraví člověka jsou označované jako kyselina eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová (DHA). Tyto mastné kyseliny zařazuje do skupiny n-3. Tyto kyseliny můžeme najít také pod názvem PUFA (=polyunsaturated fatty acids).

EPA a DHA jsou pro lidský organismus téměř esenciální, v našich organismech se dokáže konverzovat pouze minimální množství a to zhruba 2 %. Musíme je tedy přijímat ve stravě, abychom docílili požadovaného množství, které nám pokryje doporučený denní příjem (Kastnerová, 2011).

Pokud shrneme většinu přírodních nenasycených kyselin, tak se vyskytují v převážné míře v cis konfiguraci. Jedná-li se o mononenasycené mastné kyseliny v již zmíněné konfiguraci, mluvíme o prospěšnější variantě z nutričně-fyziologického hlediska. MK v konfiguraci trans se běžně vyskytují v mikroorganismech, v semenech některých rostlin dále v tuku a mléku přežvýkavců. V lidském těle trans MK vznikají

v menším množství v mitochondriích při β- oxidaci. Také se tvoří při ohřevu tuků nad 240°C obsahující nenasycené mastné kyseliny. Nemalé množství mastných kyselin v konfiguraci trans se vytváří při katalytické hydrogenaci, která se používá pro ztužování tuků MK (Kastnerová, 2011, Burdychová, 2009).

Nenasycené mastné kyseliny dělíme ještě do dalším skupin, podle toho kolik obsahují dvojných vazeb.

1)Mononenasycené (MUFA)- jejich řetězec obsahuje jednu dvojnou vazbu. Převážná část mononenasycených mastných kyselin se vyskytuje v konfiguraci *cis* (Kastnerová, 2011).

Mezi hlavní zástupce patří kyselina olejová a palmitolejová. Můžeme sem zařadit také kyselinu myristolejovou, gondoovou, erukovou, ovšem tyto kyseliny zastupují skupinu mononesasycených mastných kyselin v minoristním množství. Již zmíněná významná kyselina olejová má významné antiaterogenní účinky, také zvyšuje poměr HDL-C/LDL-C. Pokud se kyselina olejová stane součástí plazmatických lipidů, zvyšuje tím jejich odolnost vůči lipoperoxidaci. Tuto velice zdraví prospěšnou kyselinu najdeme například v olivovém oleji, kultivovaném řepkovém oleji (TVRZICKÁ a kol. 2009).

2) Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) obsahují ve svém řetězci dvě a více dvojné vazby. Do této skupiny kyselin patří významné esenciální mastné kyseliny n-3 a n-6 mastné kyseliny. Polynenasycené mastné kyseliny mají významný antitrombotický a antiaterogenní účinek, který je zapříčiněný jejich souhrnným působením na fluiditu membrán, koncentraci lipoproteinů, metabolismem minerálních látek a také regulací krevního tlaku. Větší počet dvojných vazeb způsobuje nežádoucí efekt v molekule, který s rostoucím počtem dvojných vazeb snadněji podléhá lipoperoxidaci.

Mezi hlavní zástupce patří kyselina linolová z řady n-6 MK, dále kyseliny gama-linolenová a arachidonová kyselina. Polynenasycené mastné kyseliny z řady n-3 mají největšího zástupce kyselinu alfa-linolenovou, dále potom eikosapentaenovou (EPA) a dokosahexaenovou (DHA) kyselinu. V menším množství sem patří také kyselina dokosapentaenová kyselina (DPA), (TVRZICKÁ a kol. 2009).

Největší objem kyseliny linolové a α-linolové přijímáme z potravin rostlinného původu. Obecně polynenasycené mastné kyseliny označujeme podle polohy, kde se vyskytuje první dvojná vazba od methylového (-CH_3) konce. Tedy například n-6 nám ukazuje, že dvojná vazba se nachází na šestém uhlíkovém atomu od –CH_3 konce.

Stejným způsobem nám ukazuje, že n-3 mastné kyseliny mají umístěnou dvojnou vazbu na třetím uhlíku od $–CH_3$ konce.

Když se kyselina linolová a α-linolenová dostane do lidského organismu, prodlužuje svůj řetězec o 2 uhlíky pomocí enzymu elongásy. Pomocí enzymu delta 6-desaturásy a delta 5-desaturasy se tvoří v řetězci další dvojné vazby, a tím vznikají n-3 a n-6 mastné kyseliny s 20-24 uhlíky a 3-6 dvojnými vazbami v jejich molekule. Tyto dvojné vazby slouží jako hlavní složka biologických membrán, to znamená, že mají vliv na jejich pružnost a fluiditu. Z niž zmíněných n-3 a n-6 mastných kyselin se tvoří v organismu živočichů biologicky aktivní látky, které nazýváme eikosanoidy. Tyto eikosanoidy nám slouží jako tkáňové hormony, podílející se na nezbytných reakcí (např, sekreční, růstové, reprodukční, imunitní, tvorby hormonů atd.). Jedna z významných kyselin, kyselina dokosahexaenová, je nezbytná pro správný vývoj mozku a oční sítnice (Burdychová, 2009).

Jak již bylo zmíněné, tak obě kyseliny linolová a α- linolenová řadící se do skupiny n-3 mastné kyseliny s dlouhými řetězci jsou esenciálními kyselinami. Doporučený příjem jednotlivých kyselin je rozdílný, avšak jejich vzájemný poměr n-6 a n-3 kyselin je velmi důležitý pro správnou syntézu eikosanoidů. V západních průmyslově vyspělých zemích je poměr 10:1, je tedy výrazně posunut ve prospěch n-6 mastných kyselin.

Kyselina linolová i α-linolenová používají při své přeměně na kyselinu arachidonovou případně eikosapentaenovou a dokosahexaenovou stejný enznymový systém. Z tohoto vyplývá, že převážné množství n-3 mastných kyselin s dlouhým řetězcem EPA a DHA se mohou tvořit jen, pokud není nadbytek kyseliny linolové, takže pouze při optimálním poměru 5:1 (Kasper, 2015).

Správný poměr n-6 a n-3 mastných kyselin ve stravě vede ke zlepšení zdravotního stavu. Jedná se hlavně o snížení hmotnosti intracelulárního tuku a normalizace srdeční činnosti. To je způsobeno hlavně tím, že n-3 kyseliny se převádějí na protizánětlivý eikosanoidy, zatímco n-6 na prozánětlivý eikosanoidy.

Při správném příjmu esenciálních mastných kyselin lze předejít spoustě onemocnění, jako je například cukrovka, obezita, revmatoidní artritidě, Crohnova nemoc (Aluko, 2012).

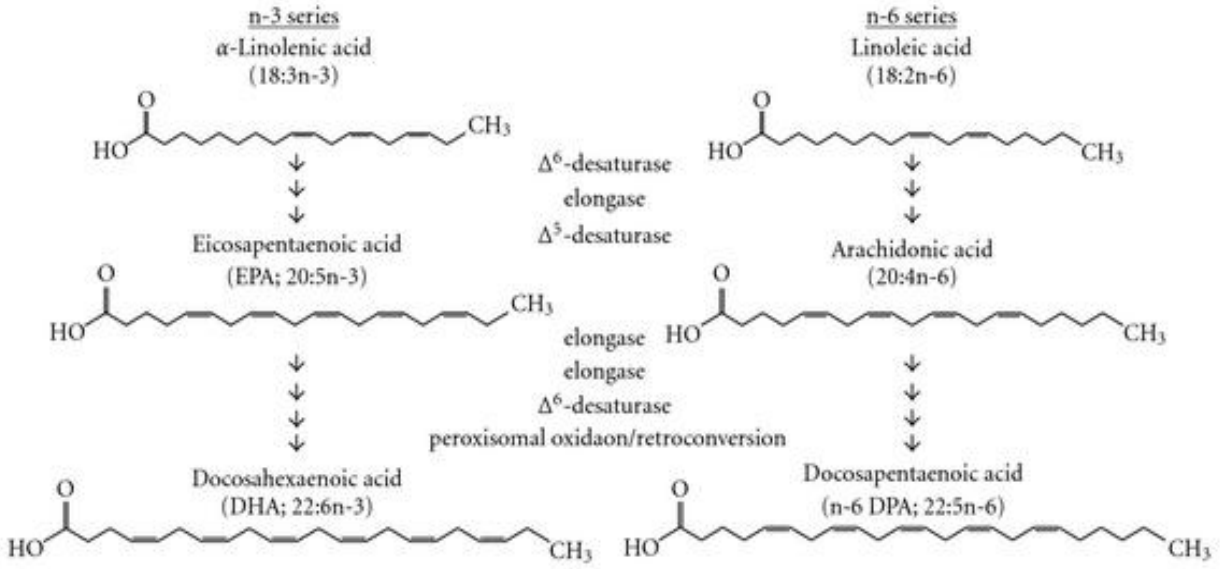
Metabolismus esenciálních mastných kyselin

Pro náš metabolismus je syntéza vyšších mastných kyselin velice důležitá. V potravě přijímáme převážně prekurzory, mezi které patří kyselina linolová a alfa-linolenová. Z těchto kyselin jsou poté syntetizovány v našich organismech další významné mastné kyseliny. Tyto kyseliny vznikají postupným střídáním tak zvané desaturace, kde se vytvářejí nové dvojné vazby, to způsobí vznik mastných kyselin s 20-22 atomy uhlíku a dále mastných kyselin s 4-6 dvojnými vazbami. Tento proces můžeme vidět na obrázku číslo 2. Enzymy, které se podílejí na desaturaci a elongaci esenciálních mastných kyselin n-3 a n-6 jsou stejné. Ovšem desaturace a elongace probíhá snadněji u n-3 mastných kyselin.

Mezi hlavní faktory, které ovlivňují aktivitu těchto enzymů, patří věk, samozřejmě u starších lidí tedy je aktivita menší, dalším faktorem je výživa, kde snižuje aktivitu enzymů ethanol, dále negativně působí nedostatek vitamínu B6, biotinu, Mg a Ca. Pokud budeme trpět stresem, nebo často prodělávat virové infekce tak se nám také sníží aktivita daných enzymů.

Kyselina arachidonová a EPA mají hlavní funkci jako prekurzory řady biologicky aktivních látek nazývaných souhrnně eikosanoidy. Dále slouží jako složky buněčných membrán, kde ovlivňují jejich fluiditu a flexibilitu. Do této skupiny dále patří prostaglandiny, prostacykliny, leukotrieny, thromboxany a lipoxiny. Tyto látky se podílejí na regulaci syntézy a dopravě cholesterolu, regulaci funkce leukocytů (Velíšek, 1999; Samková, Pešek, Špička, 2008).

Obr.2 Metabolismus esenciálních mastných kyselin



n-3 series α-linolenic acid = mastná kyseliny α-linolenová z řady n-3, eicosapentaenoic acid = eikosapentaenová kyseliny (EPA), docosahexaenoic acid = dokosahexaenová kyselina (DHA), n-6 linoleic acid = kyseliny linoleová z řady n-6, arachidonic acid = arachidonová kyselina, docosapentaenoic acid = dokosapentaenová kyseliny (DPA), desaturase = enzym, který katalyzuje odštěpení vodíku z nasycené mastné kyseliny za vzniku dvojn vazby v cis – konfiguraci, elongase = enzym elongasa, který slouží k podloužení uhlíkového řetězce, peroxisomal oxidaon = peroxizomální oxidace.

N-3 mastné kyseliny jsou často nazývány rybím tukem. Řadí se k již zmíněným esenciálním mastným kyselinám. Mezi hlavní zástupce této skupiny patří kyseliny alfa-linolenová (LNA) a kyseliny eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová (DHA) (Felix, 2002).

Pokud nekonzumujeme v potravě dostatečné množství n-3 mastných kyselin a konzumujeme velké množství alkoholu, zažíváme hodně stresových situací, nepřijímáme dostatek vlákniny, vitamínu, minerálních látek, tak se právě nedostatek n-3 mastných kyselin projevuje příznaky, které moc neřešíme, jako je například nachlazení, bolest kloubů, podrážděnost (Frej, 2004).

Pozitivní účinky n-3 mastných kyselin jsou velice průkazné. Například snižují riziko srdečních chorob. Udržují triacylgyceroly na spodní hranici přijatelného množství, dále snižují krevní tlak. Podílejí se na údržnosti pružnosti cév. Pokud tyto vlastnosti shrneme, tak nám n-3 mastné kyseliny napomáhají ke správně funkci krevního oběhu.

Kromě těchto pozitivních příznaků mají tyto kyseliny další široké spektrum pozitivních účinků na náš organismus (např. součást šedé kůry mozkové, zabránění vysušení pokožky, snižují riziko rakoviny).

N-3 mastné kyseliny se vyskytují jak v živočišných tak rostlinných produktech. Kyselina alfa-linolenová se vyskytuje v rostlinných potravinách a kyseliny EPA a DHA v živočišných, konkrétně v rybích potravinách (Felix, 2002).

Druhou skupinu esenciálních mastných kyselin tvoří n-6 mastné kyseliny. Mezi hlavní zástupce n-6 mastných kyselin patří kyselina linolová, gama-linolenová a kyselina arachidonová (Samková, Pešek, Špička, 2008).

Ve stravě se přijímá dostatečné množství těchto kyselin. Spíše je vzácný nedostatek. Vysoký obsah je hlavně v rostlinných olejích (Frej, 2004).

Dále například kuřecí, krůtí nebo hlavně vepřové maso obsahuje velké množství n-6 mastných kyselin, naopak n-3 zanedbatelně. Pokud používáme pro kuchyňské účely tyto tuky v podobě margarínů, majonéz, dresinků a další pokrmy, tak je jejich množství vysoce nadměrné. V dnešní době je to velký fenomém, oproti dřívější době, kdy jejich výroba byla pomocí ručních lisů a byly dostupné pouze v sezóně (Felix, 2002).

Doporučení denní příjem je 1-2 % denně, to je zhruba 3 gramy za den. U nás se konzumuje až 6x takové množství. Pokud máme nadměrný příjem těchto kyseliny, tak se nám nabourává imunitní systém, zvyšuje riziko výskytu rakoviny, infekční onemocnění a také porucha pohlavních orgánů.

Sice z n-6 mastných kyselin vznikají prostaglandiny, které mohou být pro náš organismus nevhodné, ale v jisté míře jsou pro nás tyto kyseliny z řady n-6 nezbytné.

Kyselina gama-linolenová je zdraví prospěšná, je syntetizována z kyseliny linolové. S narůstajícím věkem, konzumací nezdravích pokrmů, vysokou konzumací alkoholu se může objevit nedostatek kyseliny gama-linolenové.

Nejbohatším zdrojem těchto kyselin je brutnákový, pupalkový a rybízový olej, mateřské mléko. Z těchto olejů má vysoký vliv na naše zdraví pupalkový olej, který působí na prsní tkáň, snižuje krevní tlak, působí na akné, snižuje riziko vzniku obezity. Mezi další zdroje n-6 mastných kyselin patří živočišné výrobky například červené maso, vnitřnosti, vaječný žloutek (Frej, 2004).

3.2.3 Doporučený příjem mastných kyselin

Mezi hlavní důvody vzniku srdečně cévních onemocnění patří například zvýšený příjem exogenního tuku, nadbytek nasycených mastných kyselin, ale hlavně také zvýšený poměr n-6 a n-3 mastných kyselin. Tento poměr by se měl co nejvíce blížit k číslu 1. Podle studií by poměr mezi n-6 a n-3 měl být 5:1. Pokud se však tento poměr nedodržuje, vede to k vážným zdravotním komplikacím.

Jestli-že bychom měli vysoký příjem kyseliny linolové, která patří do n-6 a zároveň nízký příjem n-3 mastných kyselin (např. kyselina α-linolenová, a mastné kyseliny obsažené v rybím tuku) docházelo by k nevyrovnané tvorbě látek, které nám v lidském organismu vznikají. Jde hlavně o eikosanoidy, protože právě ty jsou pro nás významné tím, že ovlivňují zdravotní stav našich cév, hlavně tedy jejich stěn. Důležité také je, z jakých kyselin již zmíněné eikosanoidy vznikají. Pokud máme převahu vzniklých eikosanodů z n-6 mastných kyselin, dochází k ulpívání krevních destiček v cévních stěnách, což zvyšuje riziko srdečně cévních onemocnění. Riziko se zvyšuje u lidí, kteří trpí vysokým tlakem.

Naopak pokud se v našem organismu budou vyskytovat převážně eikosanoidy vzniklé z n-3 polynenasycených mastných kyselin, tak je účinek opačný. Zjednodušeně dochází ke snížení rizika ulpívání krevních destiček na cévní stěně, přesněji dochází k uvolňování a blokaci již zmíněných krevních destiček. Závěrem je samozřejmě snížení rizika vzniku srdečně cévních onemocnění. Tento účinek n-3 mastných kyselin je jeden z mnoha důvodů proč se doporučuje přijímat v potravě hlavně mořské ryby, které obsahují EPA a DHA.

Pokud se tedy někdy doporučuje snížit příjem živočišných tuků, z čehož vyplývá dávat přednost masům libovým před tučným, tak u ryb je to naopak. Abychom zvýšili příjem n-3 mastných kyselin měli bychom konzumovat tučné ryby až 3x do týdne.

Jestli-že se budeme bavit o rostlinných olejích, určitě dáme přednost řepkovému oleji před slunečnicovým. Hlavně proto, že slunečnicový olej obsahuje velké množství kyseliny linolové, zatímco řepkový olej má mnohem vyrovnanější poměr kyseliny linolové a α-linolenové.

Co se týče mononenasycených kyselin, hlavně tedy kyselina olejová, která je ve velkém množství zastoupena v olivovém oleji. Existují různě výzkumy, které tvrdí, že ve středozemních zemích, kde se konzumuje vetší množství, tak je mnohem nižší výskyt srdečně cévních onemocnění. Ovšem nesmíme význam kyselin olejové

přeceňovat. Snižuje nám sice obsah LDL cholesterolu, ale na HDL nemá žádný vliv. Proto se její účinky projeví pouze, pokud je přijímám místo nasycených živočišných tuků, které jsou opravdu pro náš organismus negativní.

Většina nasycených mastných kyselin zvyšuje nežádoucí LDL cholesterol. Kyseliny z řady n-6 nám snižují krevní lipidy, to je pro náš organismus určitě pozitivní, ale také snižuje HDL cholesterol. Proto kyseliny z řady n-3 pro náš organismus působí nejpříznivěji, snižují totiž celkové krevní lipidy i LDL cholesterol, ale působí také na HDL a to tak, že jeho podíl zvyšuje (Komprda, 2009).

Nutno ještě zmínit tak zvané trans-nenasycené mastné kyseliny. Za normálních okolností výživové doporučení doporučujeme v protikladu s nenasycenými a nasycenými kyseliny. Samozřejmě s tím, že nenasycené hodnotíme jako kladnou součást našich jídelníčků. Avšak u trans-nenasycených je to přesně naopak, dokonce je prokázané, že zvyšují dokonce několikanásobně riziko vzniku srdečních onemocnění v porovnání s rizikem onemocnění tohoto typu u konzumace nasycených mastných kyselin.

Zdrojem již zmíněných trans-nenasycených mastných kyselin je mléčný tuk, kde je obsažen až v 6-8% z veškerých mastných kyselin. Sice množství v mléčném tuku je dost veliké, ale největší podíl těchto mastných kyselin najdeme ve ztužených tucích a margarínech. Je nutno podotknout, že výrobci těchto margarínů, které slouží jako náhrada másla, si už dávají pozor a používají moderní výrobní technologie, aby právě obsah trans-nenasycených mastných kyselin nebyl vyšší než v másle.
Mezi další zdroj, kde jsou obsaženy tyto kyseliny ve velkém množství, jsou sušenky, müsli tyčinky, mražené krémy. V těchto výrobcích se vyskytují v tak zvané skryté formě.

V neposlední řadě, nejde zapomenout na významnou konjugovanou kyselinu linolovou, která také vzniká přirozeně v bachoru přežvýkavců, takže se samozřejmě vyskytuje v tuku této skupiny živočichů. Oproti výše zmíněných trans-nenasycených mastných kyselin, které na náš organismus působily velice negativně, tak konjugovaná kyselina linolová má na naše zdraví velice pozitivní účinky. Zatím se však účinnost této kyseliny prováděla jen na zvířatech. Mělo by se snižovat riziko vzniku rakoviny, srdečné cévních onemocnění a hlavně také posilovat naši imunitu. Ovšem velkým problémem je tyto účinky prokázat na člověku, a to kvůli objemu, který by člověk musel přijmout. Je dáno, že 100g mléčného tuku obsahuje o něco málo více než půl

gramu konjugované kyseliny linolové. Jeden litr standardizovaného mléka obsahuje zhruba 40g mléčného tuku. Takže pomocí rychlého výpočtu zjistíme, že pokud denně přijmeme maximální množství mléčných výrobků, tak konjugované kyseliny linolové přijmeme čtvrt maximálně půl gramu denně. Vzhledem k faktu, že příznivé účinky na naše zdraví se projeví až po konzumaci několika gramů za den, tak bohužel nemůžou být zmíněné účinky prokázané na lidský organismus.

Shrnutí doporučených příjmů:

Obecně je dáno, že denní příjem tuků by neměl překročit 30 % z celkové přijímané energie. V přepočtu to je tedy přibližně 80 g. Z tohoto množství by polovinu měli tvořit mononenasycené mastné kyseliny vyskytující se v rostlinných olejích a rybách, dále potom menší třetinu nasycené mastné kyseliny, tedy maso a masné výrobky. U kyseliny linolové, by měl být denní příjem 7-10 gramů, dále kyselina α-linolenová, která se vyskytuje v řepkovém oleji a výrobkách, které obsahují lněné semínko 1-2 gramy za den. U kyselin EPA+DHA (tučné mořské ryby), je příjem potom přes jeden gram. V poslední řadě musíme také zmínit denní příjem cholesterolu, který by neměl překročit 300 gramu za den.

Důležitý je také příjem vitamínu E, vzhledem k vysokému přijmu polynenasyceným kyselinám. Vitamín E slouží jako ochrana před oxidací. Nejlepším a samozřejmě největším zdrojem vitamínu E je olej z pšeničných klíčků. Další možností je přijímat daný vitamín ve formě suplementů neboli doplňkem stravy (Komprda, 2009).

3.3 Ateroskleróza

Jedná se o chronické zánětlivé onemocnění, které postihuje cévní stěnu z pohledu chemického a fyzikálního. Vyznačuje se tvorbou aterosklerotických plátů. Její průběh může vést až k arteriální trombóze (Ateroskleróza, 2012).

Pokud mluvíme o ateroskleróze, tak máme na mysli onemocnění, které se vyvíjí několik let. U postižených se toto onemocnění koncentruje převážně ve specifické části krevního řečiště a to například mozkových arteriích, v epikardiálních arteriích myokardu a v arteriích dolních končetin. Je samozřejmé, že poškození cév, které je způsobené aterosklerotickým onemocněním také souvisí s chronickým a mechanickým poškozováním vnitra arterií tlakovými nárazy krve (Nečas, 2003).

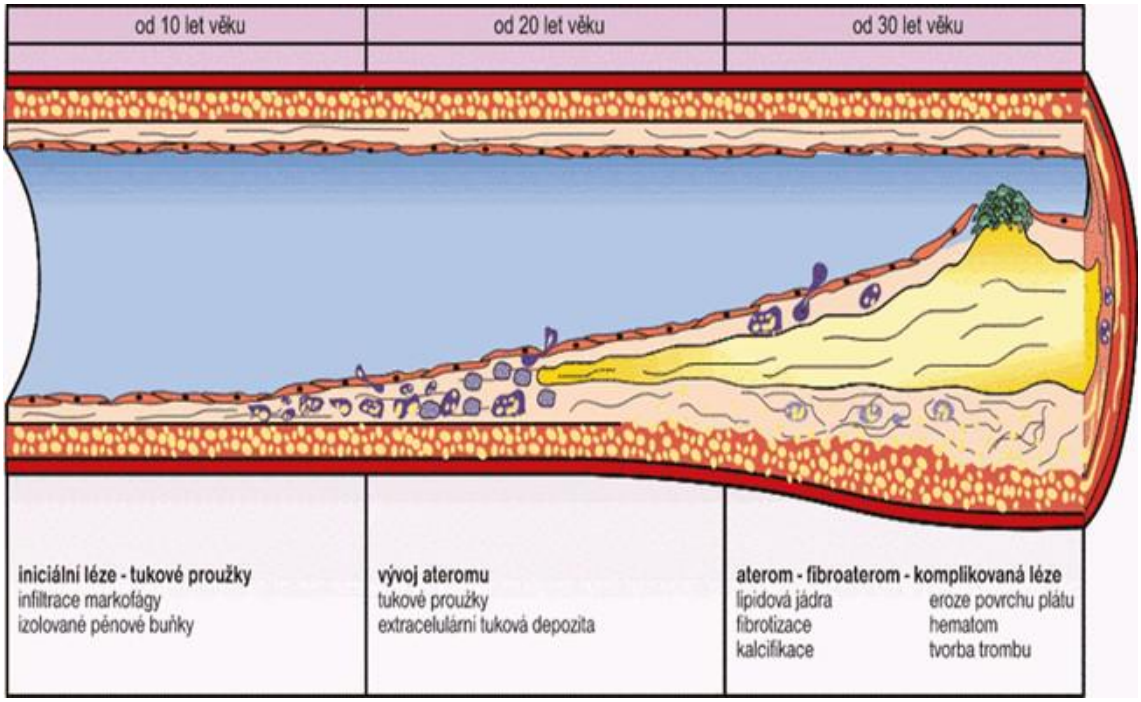
3.3.1 Vývoj a vznik aterosklerotických plátů

Na počátku nám vzniká vratná změna, která je známá pod pojmem endotelová dysfunkce. Mezi hlavní faktory, které tuto fázi vyvolávají, patří například kouření, obezita, diabetes, hyperglykémie, zánět, infekce, hypertenze.

Aktivace endotelu je doprovázena tvorbou cytokinů, adhezních molekul a růstových faktorů. Pomocí chemických signálů se z místa léze přemísťují do subendotelového místa, kde se monocyty přeměňují na makrofágy. Tím je zvýšená permeabilita endotelové výstelky a dochází k průchodu lipoproteinových částic do subendotelového prostoru. Zde jsou lipoporoteinové částice chemicky modifikovaný. V tomto místě působí kyslíkové a dusíkové radikály, dochází zde tedy k lipoperoxidaci. Oxidovaný cholesterol a další lipidy jsou pohlcovány již zmíněnými makrofágy a vznikají pěnovité buňky. Takto přeplněné pěnovité buňky nejsou schopny se vrátit zpět do oběhu. Lipidy se tedy shromažďují v extracelulárním prostoru subintimy a jsou součástí tzv. lipidového jádra aterosklerotického plátu. V průběhu tvorby aterosklerotického plátu se stěna cév ztlušťuje. Primárně směrem ven, ale poté se zesiluje směrem do vnitra cévy, tudíž se zmenšuje její průchod. Povrch vzniklého plátu je velice náchylný k poškození, může dojít například k vylití jeho obsahu do lumen cévy. V jiných případech se může objevit sekundární infekce a lokální akutní vzplanutí zánětlivé reakce (Ateroskleróza, 2012).

Formy aterosklerózy mají tři různé formy, které na sebe navazují. První stádium jsou tak zvané tukové proužky, které se vyskytují nejčastěji v dětském věku. Jejich výskyt je v intimně velkých cév, mají žlutou barvu a jsou to typické pěnové buňky. V tomto stádiu není omezen průtok krve, ale může přejít do další formy, kde se vytváří tak zvané fibrózní pláty (=ateromy). Tyto pláty jsou už větší a tužší ložiska, která jsou ohraničena šedou barvou. Jsou součástí hladkého svalstva, makrofágů a lymfocytů. V tomto stádiu dochází k částečné nebo úplné obstrukci. Posledním stádiem, tedy tím nejhorším je tak zvaná komplikovaná léze. Tato léze vzniká degenerativními změnami a vede až k trombóze, která vytváří cévní uzávěr. Celý tento proces je znázorněn na obr. 3 (Čechová, 2005).

Obr.3 Vznik aterosklerotického plátu (Čechová, 2005)



3.3.2 Příčiny ateroskleróza

V žádném případě toto onemocnění nevyvolá jedna příčina, ale je jich vždy celá řada. U každého jedince se to projevuje jinak, záleží na mnoha okolnostech, které způsobují jistou míru výskytu rizikových faktorů.

Celkový vývoj tohoto onemocnění trvá desítky let, jedná se tedy o velice dlouhodobý proces. Proto je to velice záludné onemocnění, protože větší část vývinu zůstává bez příznaků.

Rizikové faktory aterosklerózy

Je vhodné si rizikové faktory rozdělit do dvou základních skupin:

1) Neovlivnitelná rizika
    a) Věk -patří do nejsilnějšího rizikového faktoru a to hlavně po 45. roce.
    b) Osobní anamnéza- v důsledku předchozího výskytu příslušného jedince se samozřejmě zvětšuje pravděpodobnost výskytu daného onemocnění.
    c) Rodinný výskyt – v případě vzniku tohoto onemocnění do 65 let je ukazatelem dědičnosti, tedy genetických předpokladů k ateroskleróze. Je důležité si uvědomit, že se dědí také rodinné zvyklosti, například způsob stravování.

d) Příslušnost mužskému pohlaví - u mužů je zvýšené riziko vzniku oproti ženám hlavně do doby menopauzy, vzhledem k odlišnému vlivu hormonů. Důležité ale je, že po menopauze se u žen riziko výskytu ateroskleróz rapidně zvyšuje a vyrovnává se s muži ve věkové skupině 70-79 roků.

2) Ovlivnitelná rizika -zde zařadíme hlavně dvě skupiny:

Faktory životního stylu a biochemické a fyziologické charakteristiky, které jsou uvedeny níže na obr. 4 (centrum prev.med.,2016).

Obr.4 Schéma ovlivnitelných ukazatelů u aterosklerózy (centrum prev.med.,2016)

U každého se onemocnění projevuje jiným způsobem, v některých případech způsobí mozkovou příhodu tzv. mrtvičku, jinde srdečním infarktem. Případně může člověk dostat jen Anginu pectoris, což je onemocnění, které se projeví bolestí na hrudi, které je způsobeno nedokrveným srdečním svalem.

Nejčetnějším způsobem projevu je avšak srdeční infarkt. Jsou však jisté způsoby jak můžeme aterosklerózy zabránit, nebo alespoň snížit riziko jejího výskytu. Hlavní způsob, jak můžeme předcházet vzniku již zmíněnému onemocnění, jsou správné stravovací návyky, dále zvýšit pohybově aktivity, přestat kouřit. Bohužel jsou zde ale

vlivy, které člověk nemá šanci ovlivnit. Mezi tyto vlivy patří genová dispozice, dále s vyšším věkem roste riziko, hlavně tedy u mužů, kteří mají podstatně vyšší riziko pro vznik aterosklerózy. U žen se riziko na toto onemocnění zvyšuje až po menopauze.
Na toto onemocnění trpí nejvíce obyvatelstvo ve vyspělých státech Evropy a USA, v těchto zemích na aterosklerózou umřelo více jak 50 % lidstva. Bohužel Česká republika se nachází na předních příčkách v počtu úmrtí na aterosklerózu (Hrnčířová, Rambousková, 2012).

3.4 Teorie plynové chromatografie pro stanovení mastných kyselin

Plynová chromatografie je separační metoda, která slouží pro rozdělení stacionární a mobilní fáze. Dělení probíhá na základě rozdílů v těkavosti a struktuře. Tato metoda je vhodná pro látky, které mají přijatelnou těkavost. To je takový stav, že při 350°C musí být částečně v plynném stavu. Dále jsou to látky, které jsou termostabilní a nereaktivní s ostatními látkami. Naopak je plynová chromatografie nevhodná pro anorganické sloučeniny.

Separace jednotlivých látek nastane, je-li produkce jejich molekul rozdílná mezi stacionární a mobilní fází. Separaci můžeme také zdokonalit a to například zvýšením rozdílů v retenčních časech (termodynamický aspekt), nebo zúžením píků (kinetický aspekt), který vytvoříme například změnou rozměru kolony, rychlosti mobilní fáze.

Mezi faktory, které nějakým způsobem ovlivňují separaci patří stacionární fáze, struktura analytu, teplota, rozměr kolony, nosný plyn a jeho rychlost (Izol.a sep.metody).
Chromatografické metody můžeme rozdělit:

1) Podle povahy fází
   - Plynová chromatografie
   - Kapalinová chromatografie
2) Podle uspořádání fází
   - Kolonová chromatografie
   - Plošná chromatografie
3) Podle děje, který zde probíhá
   - Rozdělovací chromatografie
   - Gelová chromatografie
   - Iontově výměnná chromatografie

- Adsorpční chromatografie (Jančářová, Jančář, 2003)

3.4.1 Charakteristika plynové chromatografie

Základem principu plynové chromatografie jsou děje, které probíhají na koloně. Jedná se tedy o fyzikálně chemickou metodu, ve které dochází k separaci látek. Máme zde dva typy složek, z čehož jedna složka je stacionární, tou je aktivní forma látky a druhá je mobilní složka, kterou tvoří plyn.

Jsou i faktory, které ovlivňují kvalitu chromatografické křivky, jako je například podélná složka difúze, rozdílné chování proudu na vnějším povrchu kolony i uvnitř částic. Je možné, že tyto vlivy způsobují různé poškození složek, které procházejí kolonou.

Máme několik typů chromatografických metod. Eluční metoda, jejímž základem je vymývaní inertním plynem. V této metodě se aplikuje vzorek přímo do nosného plynu před vstupem na kolonu. Rychlost se udává pomocí distribučních konstant. Tato metoda je považována za nejpoužívanější chromatografickou metodou pro oddělení s možností dávkování malého množství vzorku a v docela krátkých intervalech za sebou. Závěrem nám vyjde přehledný chromatografický záznam. Pokud chceme, aby tato metoda byla přesná, je důležité ji provádět za konstantního tlaku a teploty. Také složky se nesmí moc po fyzikální stránce lišit.

Termochromatografie neboli chromatografie s teplotním gradientem. U této metody si můžeme přímo naprogramovat teplotu, která zrychluje nebo případně zpomaluje průběh vzorku kolonou.

Chromatografie s programovaným tlakem, funguje podobně jako s programovanou teplotou. Umožňuje tedy měnit průtokovou rychlost plynu. Dále máme frontální analysu, která nám umožňuje kontinuální dávkování vzorku do kolony. Složky vzorku se zachytávají o stacionární fázi, dokud nedojde k vytvoření jejich rovnováhy. Mobilní fázi v tomto případě tvoří směsi komponentu, jejichž skladba je přímo úměrná distribučním konstantám.

Vytěsňovací metoda je založená na jednorázovém dávkování vzorku do proudu plynu a to před vstupem do kolony. Látky, které se oddělí, se shromažďují ve stacionární fázi a pohybují se kolonou, kde jejich tloušťku určuje koncentrace daných

látek. Výsledek je chromatogram, který vytváří stupně, kde výška je charakteristická pro oddělené látky.

Poslední metodou je kombinace dvou metod a to eluční a frontální. Tato metoda se nazývá také vakantochromatografie. V tomto způsobu chromatografie náš vzorek prochází kontinuálně kolonou (Smolková, 1983).

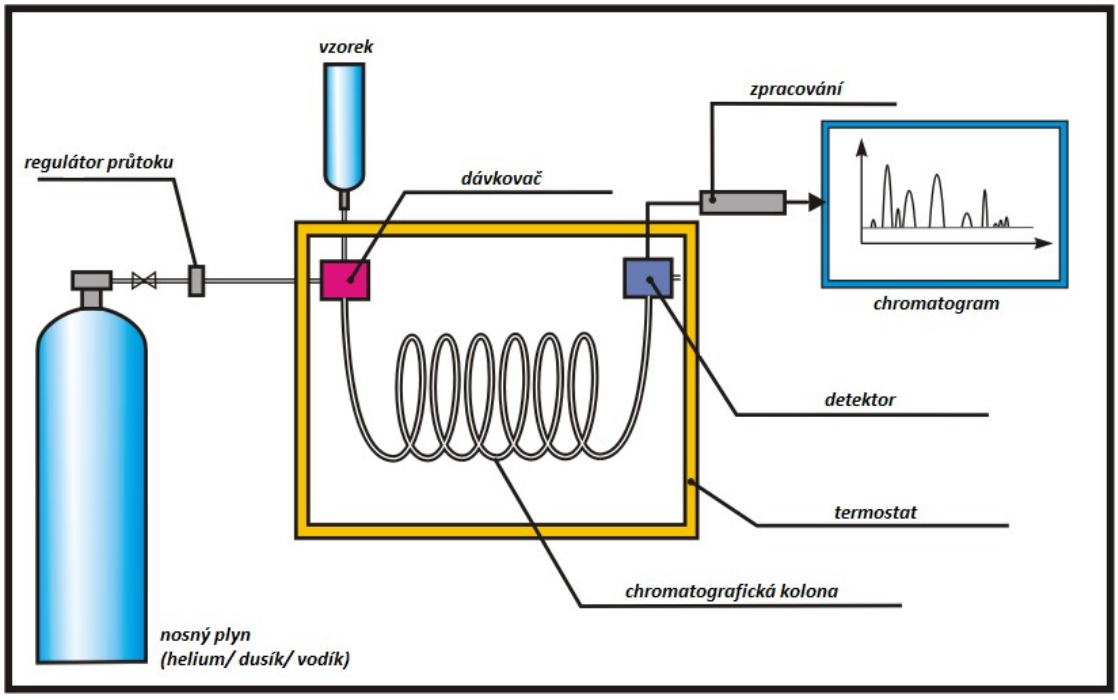
Přístrojové vybavení plynového chromatografu, schematicky znázorněno na obr. 5.

- zásobník nosného plynu
- zařízení na regulaci tlaku, respektive průtoku plynné fáze
- dávkovací zařízení
- chromatografická kolony
- termostat se zařízením pro izotermickou analýzu a pro analýzu

s programovanou změnou teploty

- detektor
- vyhodnocovací zařízení (Churáček, 1990)

Obr.č.5. Přístrojové vybavení plynové chromatografie (Schéma plynové chromatografie, 2006)



4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Jako materiál nám posloužil modelový organismus pro člověka prase, byl proveden experiment na dvou skupinách, každá o 10 kusech. Počáteční hmotnost prasat byla v rozmezí 30-35kg. Pokusná skupina byla krmena dietou s přídavkem 2,5 % rybího oleje, konkrétně komerční oleum jecoris aselli do krmné dávky. Rybí olej je zdrojem polynenasycených mastných kyselin řady n-3, zvláště eikosapentaenové kyseliny (EPA) a dokosahexaenové kyseliny (DHA). Naopak kontrolní skupina prasat byla krmena dietou s přídavkem 2,5 % palmového oleje do krmné dávky (vysoký obsah aterogenně působích nasycených mastných kyselin). Výkrm trval 75 dní, po kterých byla zvířata usmrcena. Prasata byla uvedena do bezvědomí intramuskulární aplikací směsí TKX (12.5 mg/ml ketamin, 12.5 mg/ml xylazin, 12.5 mg/ml tiletamin, 12.5 mg/ml) v celkovém objemu 0.2 ml/kg živé hmotnosti a poražena vykrvením. Následně byla odebrána jaterní tkáň (levý lalok) a svalová tkáň (m. quadriceps femoris).

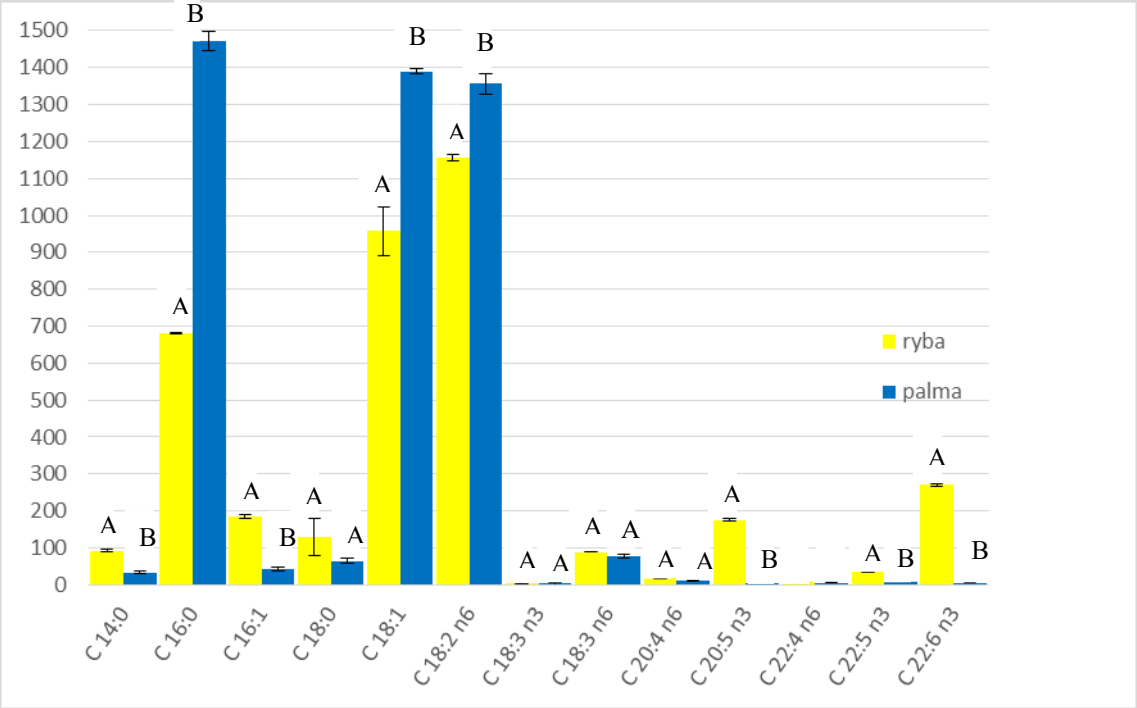
Tab.1 Procentuální zastoupení jednotlivých mastných kyselin v krmivu

Druh kyseliny	Palma (%)	Ryba (%)
Myristová	1,5	5,55
Palmitová	40,3	15,3
Palmitolejová	0,15	11,7
Stearová	1,55	2,55
Olejová	43,8	25,1
Linolenová	11,3	3,8
Linolenová n-3	0	0,25
Gama-linolenová n-6	0,25	1,35
Arachidonová	0,05	0,65
EPA	0,35	11,75
DTA	0,1	0,25
DPA	0,1	2,1
DHA	0,1	18,55

Palma % – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce ;ryba % – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce

V tabulce máme znázorněný procentuální obsah jednotlivých mastných kyselin v krmivu, které bylo podáváno prasatům. Pro přehlednost jsou uvedeny přepočtené obsahy jednotlivých mastných kyselin v mg/100g čerstvé váhy pokusného zvířete v následujícím grafu.

Obr. 6 Obsah jednotlivých mastných kyselin zastoupených v krmivu



Palma – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce; ryba – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce.. A, B – průměry označené různými písmeny se liší při P < 0, 05 (jednoduché třídění analýzy rozptylu, posthoc Tukeyův test).

Mastné kyseliny v krmivu mají statisticky průkazné (P < 0,05) vyšší obsahy kyseliny palmitové, olejové a linolové z řady n-6 v kontrolní skupině palma v porovnání s pokusnou skupinou ryba. Naopak v pokusné skupině ryba jsou průkazné (P < 0,05) vyšší obsahy kyseliny myristové, eikosapentaenové adokosahexaenové v porovnání s kontrolní skupinou palma.

4.2 Metodika

4.2.1 Příprava vzorků

Vzorek tkáně byl nejprve před extrakcí a dalšími pracovními postupy lyofilizován. Lyofilizace vzorku je vakuové sublimační sušení. Znamená to odstranění vody z látek pomocí sublimace pod hodnotami trojného bodu vody (Syslová, 2012). Vzorky tkání (svalovina - 20g; játra - 20 g) byly vloženy do hliníkových misek a rozkrájeny na 0,2 cm kousky a zmraženy při teplotě -30 °C. Lyofilizace byla provedena na přístroji Alpha 1-2 LO (Christ, Labicom, Česká republika) v programu: u jaterní tkáně: hlavní

sušení při -45˚C po dobu 24 hodin a konečné dosušení probíhalo 3 hodiny při -50 ˚C, vzorky svalové tkáně byly sušeny 30 hodin při -45 ˚C, dosoušeny 3 hodiny při -50 ˚C.

4.2.2 Extrakce tuku

Navážka cca 5 g lyofilizovaného vzorku byla pomocí přístroje Heindolf, Universal 32 (Hettich, Německo) se současným přídavkem směsi rozpouštědel hexan/2-propanol v poměru 3:2 (HIP 1) zhomogenizována. Zhomogenizovaná směs byla následně sonifikována po dobu 15 min v přístroji PS10000 (Notus-Powersonic, Vráble, Slovakia). Poté byla směs zfiltrována přes Bühnerovu nálevku.

Následně se do filtrátu přidalo 60 ml roztoku síranu sodného (66,6 g bezvodé soli na 1000 ml vody). Vytvořená směs se 3 minuty promíchávala v dělící nálevce, kde se oddělila hexanová vrstva do 50 ml odměrné baňky. Vodná vrstva, která zůstala v dělící baňce, byla re-extrahována HIP 2 (hexan/2-propanol v poměru 7:2). Znovu vzniklá hexanová vrstva se přidala do 50 ml odměrné baňky a byla zfiltrována přes 0,5 g bezvodého síranu sodného do extrakční baňky ze zábrusem. Rozpouštědlo jsme ze vzorku odpařili pomocí rotační odparky (RV 05-ST 1P-B model, IKA Labortechnik, Německo) při teplotě 40 °C do 15 minut. Zbytky rozpouštědla, které ve vzorku zůstalo, se odpařilo v proudu dusíku.

4.2.3 Derivatizace

Derivatizace slouží jako chemická reakce pro určitý typ sloučenin. Hlavním důvodem provádění derivatizace je podpora pro identifikaci daného analytu, aby se převedl na vhodný derivát pro analýzu. Důsledkem je zlepšení separační účinnosti a odstranění nežádoucích vedlejších interakcí polárních skupin analytů na koloně. Pokud derivatizaci provedeme správně tak podpoříme selektivitu a citlivost detekce (Balíková, 2013).

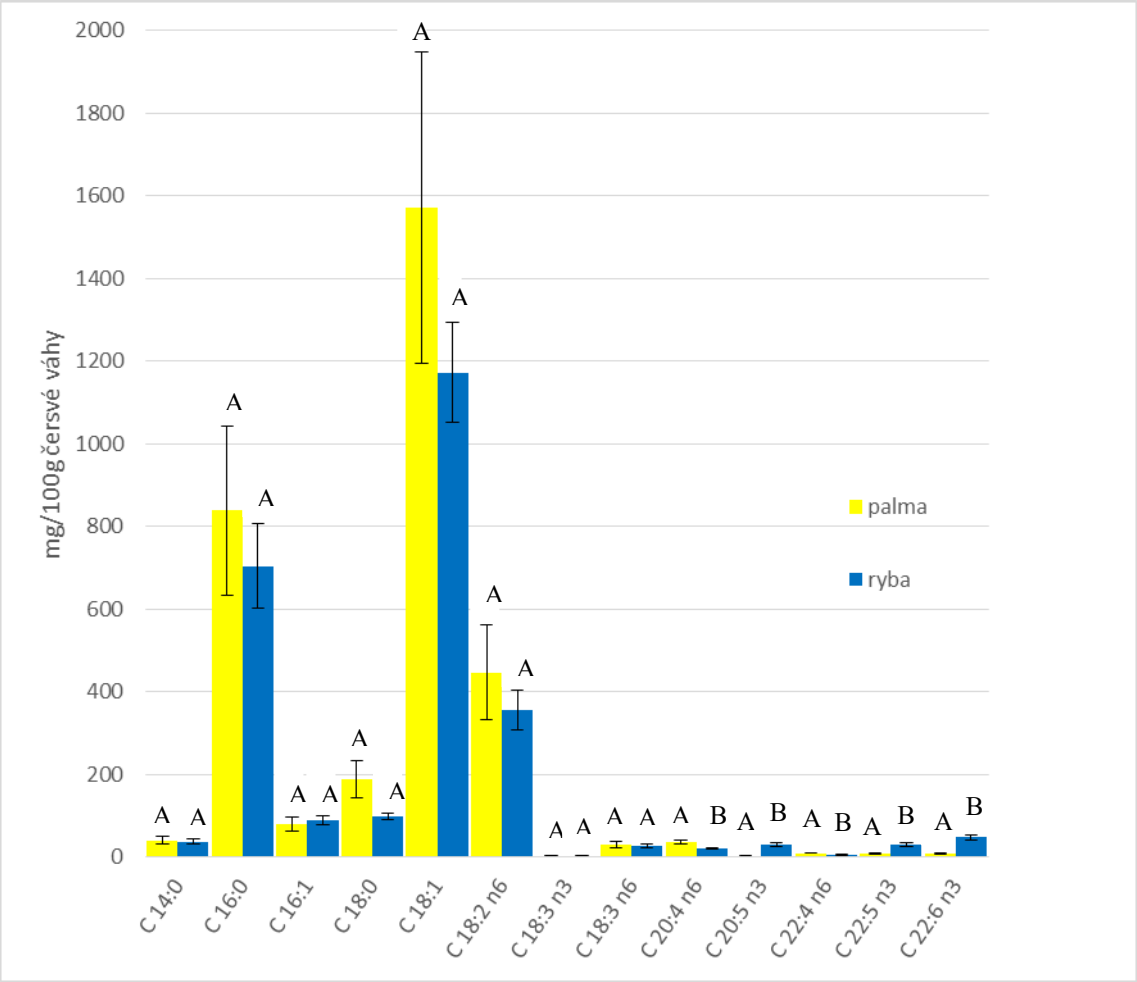
U našeho vzorku jsme derivatizaci provedli následovně. Z každého vzorku bylo odváženo 50 mg tuku, do kterého bylo přidány 3 ml izooktanu a 3 ml methanolátu sodného. Směs byla zahřívána15 minut ve vodní lázni, která byla předehřátá na 65 °C, pod zpětným chladičem. Následně byly přidány 3 ml BF3 a znovu zahříván ve vodní lázni po dobu 5 minut. Po uplynutí dané doby se byly do vzorku přidány 2ml isooktanu a 5 ml NaCl a protřepáno 1 minutu. Následně byla oddělena organická vrstva do vialky pro stanovení mastných kyselin.

4.2.4 Stanovení mastných kyselin

Ke konečné detekci methylesterů mastných kyselin byl použit přístroj Fisons GC 8000 series s plamenově ionizačním detektorem a kapilární kolonou DB-23 (60 m x 0.25 mm x 0.25 µm, Agilent J & W Scientific, USA). Teplotní program byl nastaven: 140 ˚C/ 1 min, gradient 5 ˚C/ min až do teploty 200 ˚C/ 1 min, dále gradient 3 ˚C/ min do 240 ˚C, kde byla zádrž 15 minut. Teplota injektoru je 250 °C, teplota detektoru 260 °C, nosným plynem byl dusík, průtok je 1ml/min., tlak byl 200 kPa, split je 20:1 a nástřik je 1µl. Pro kvalifikaci methylesterů mastných kyselin byl použit standard ME FAME 16 GLC – 455 (Chromservis, Česká republika).

5 VÝSLEDKY

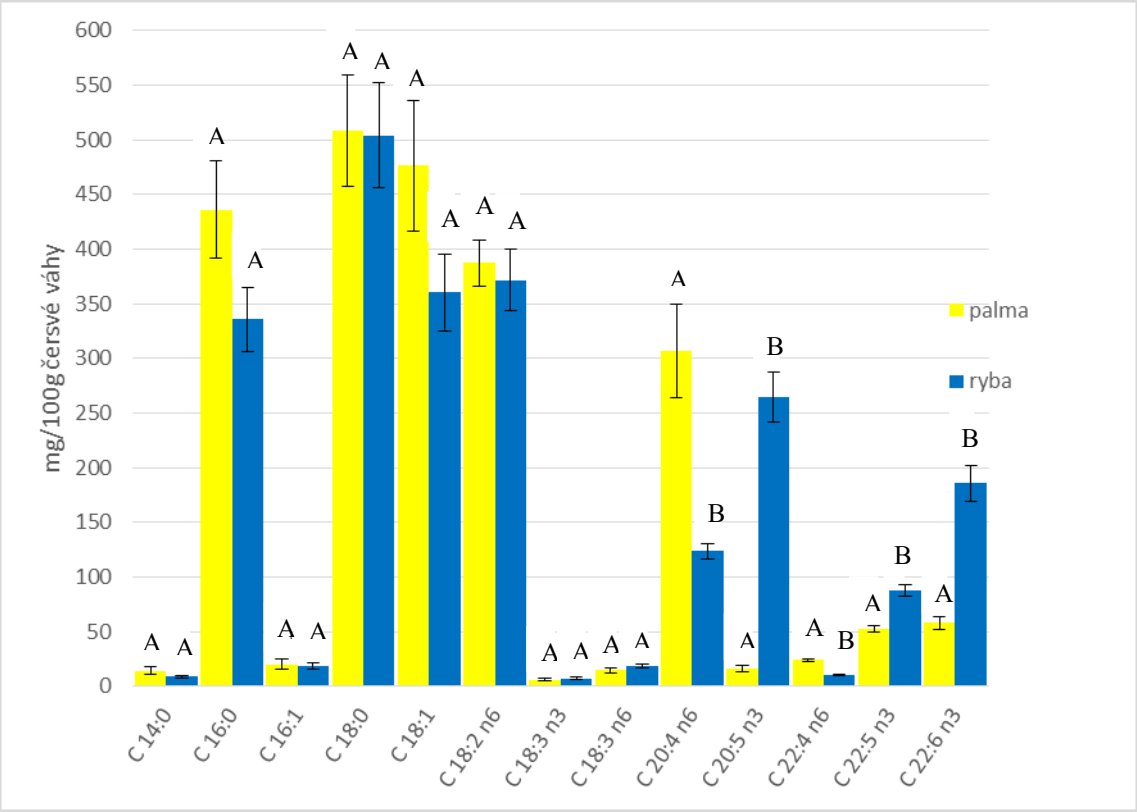
Obr. 7 Obsah mastných kyselin ve svalové tkáni



Palma – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce ;ryba – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce.. A, B – průměry označené různými písmeny se liší při P < 0, 05 (jednoduché třídění analýzy rozptylu, posthoc Tukeyův test).

Ve svalové tkáni bylo nejvyšší zastoupení kyseliny palmitové a olejové u pokusné skupiny (palma) i u testované skupiny (ryba). Přídavek rybího oleje do krmné dávky prasat způsobil průkazné zvýšení (P < 0,05) obsahu kyseliny eikosapentaenové, dokosapentaenové a dokosaheaxenové u skupiny ryba v porovnání se skupinou palma.

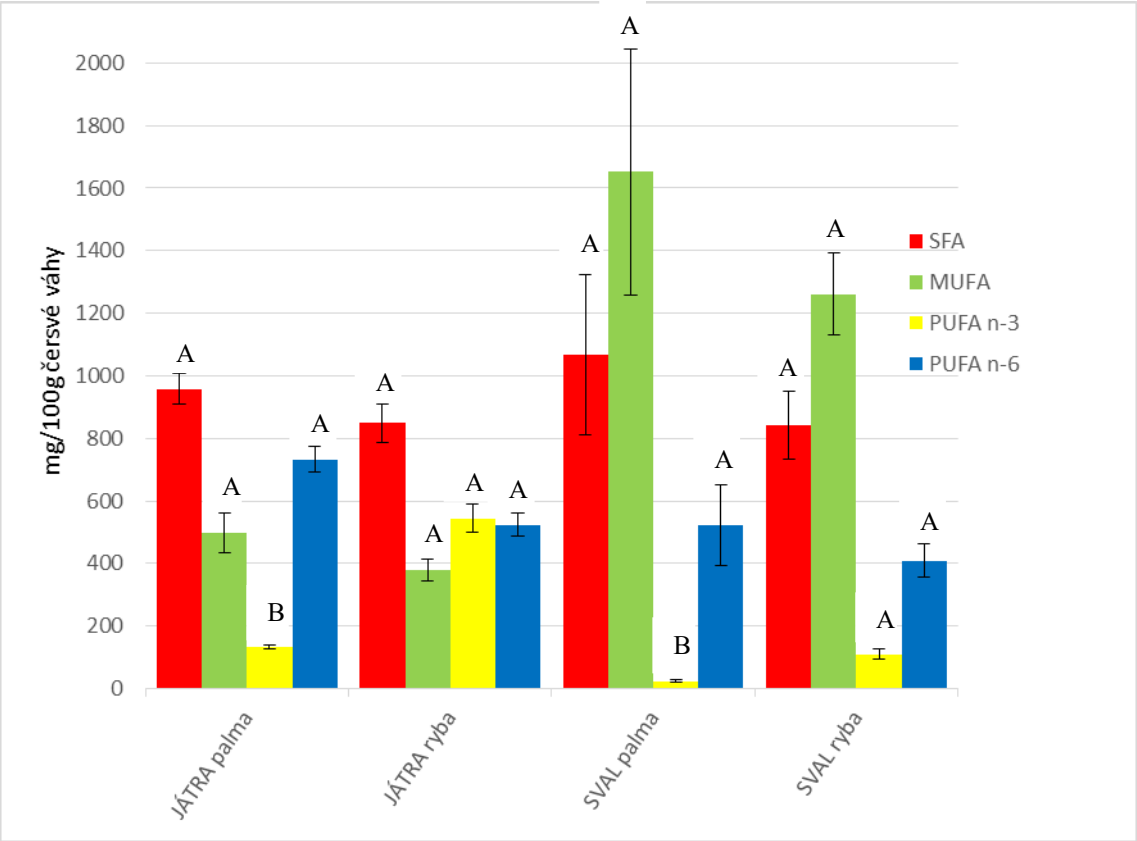
Obr. 8 Obsah mastných kyselin v játrech



Palma – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce; ryba – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce.. A, B – průměry označené různými písmeny se liší při P < 0, 05 (jednoduché třídění analýzy rozptylu, posthoc Tukeyův test).

V jaterní tkáni bylo nejvyšší zastoupení kyseliny palmitové a olejové u kontrolní skupiny (Palma). Přídavek rybího oleje do krmiva prasat v pokusné skupině způsobil průkazné zvýšení ($P < 0,05$) obsahu kyseliny dokosahexaenové, eikosapentaenové a dokosapentaenové oproti kontrolní skupině palma. Průkazné zvýšení ($P < 0,05$) se ukázalo u obsahu kyseliny arachidonové u kontrolní skupiny palma v porovnání s pokusnou skupinou ryba.

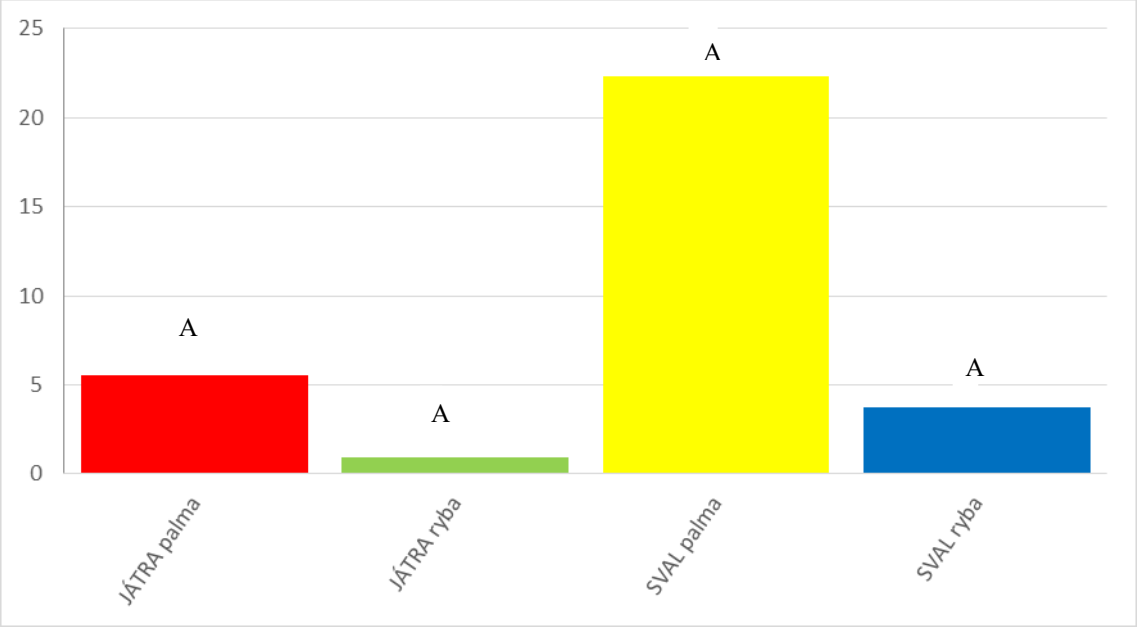
Obr. 9 Obsah mastných kyselin podle počtu dvojných vazeb v řetězci v játrech a svalech prasat



Palma játra – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce, odebrány vzorky z jater ;ryba játra – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce, odebrány vzorky z jater; Palma sval – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce, odebrán vzorek ze svalové tkáně; ryba sval – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce, odebrán vzorek ze svalové tkáně. A, B – průměry označené různými písmeny se liší při P < 0, 05 (jednoduché třídění analýzy rozptylu, posthoc Tukeyův test); SFA – nasycené mastné kyseliny (14:0, 16:0, 18:0), MUFA – mononenasycené mastné kyseliny (18:1,16:1), PUFA n-3 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 (18:3, 20:5, 22:4, 22:6), PUFA n-6 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-6 (18:2, 20:4, 18:3).

Obsah mastných kyselin podle počtu dvojných vazeb je průkazný u skupiny játra palma, kde jsou prokazatelně vyšší ($P < 0,05$) hodnoty SFA, MUFA, PUFA n-3 v porovnání s PUFA n-3. Dále jsou stejné skupiny mastných kyselin SFA, MUFA, PUFA n-6 prokazatelně vyšší ($P < 0,05$) oproti PUFA n-3 ve skupině sval palma.

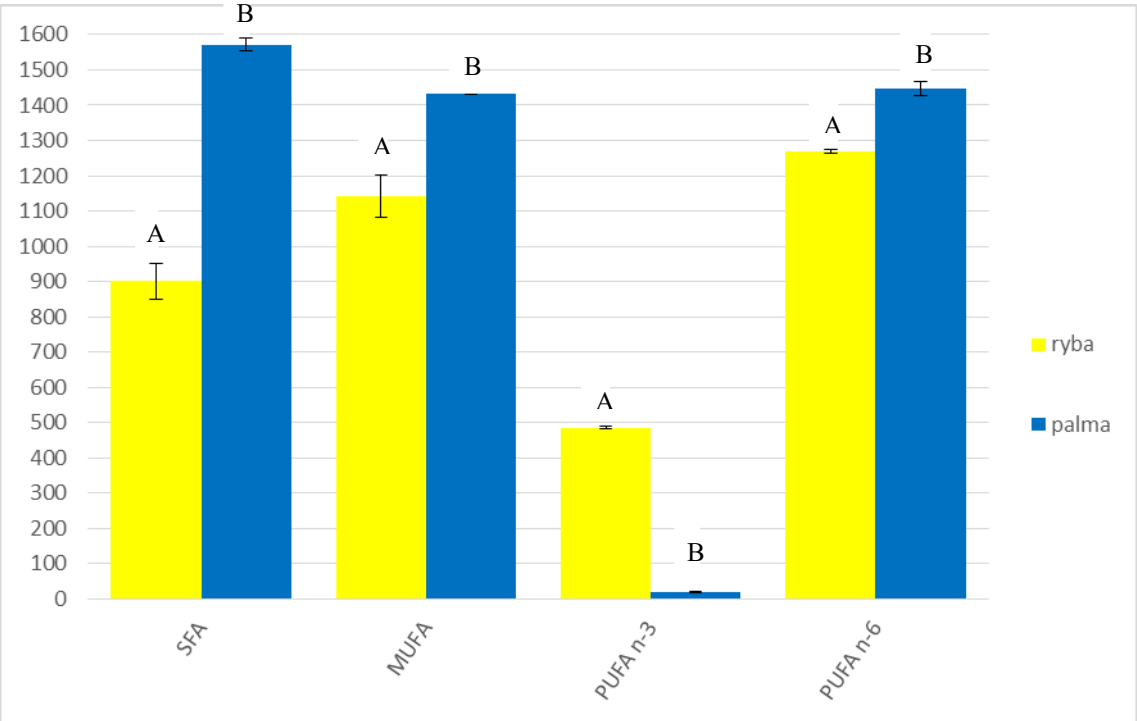
obr. 10 znázornění poměru polynenasycenách mastných kyselin skupin n-3 a n-6 v živočišných tkáních (sval, játra) u prasat



Palma játra – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce, odebrány vzorky z jater ;ryba játra – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce, odebrány vzorky z jater; Palma sval – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce, odebrán vzorek ze svalové tkáně ;ryba sval – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce, odebrán vzorek ze svalové tkáně.. A – průměry označené různými písmeny se liší při P < 0, 05 (jednoduché třídění analýzy rozptylu, posthoc Tukeyův test). Játra- jaterní tkáň; sval- svalovina.

Poměr mastných kyselin n-6/n-3 je nejvyšší u skupiny sval palma, naopak nejnižší hodnotu prokazuje skupina játra ryba.

Obr. 11 Obsah jednotlivých skupiny mastných kyselin v krmivu



Palma – kontrolní skupiny prasat krmena 2,5 % palmového oleje v krmné dávce ryba – pokusná skupina krmena 2,5 % rybího oleje v krmné dávce. A, B – průměry označené různými písmeny se liší při P < 0, 05 (jednoduché třídění analýzy rozptylu, posthoc Tukeyův test); SFA – nasycené mastné kyseliny (14:0, 16:0, 18:0), MUFA – mononenasycené mastné kyseliny (18:1,16:1), PUFA n-3 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 (18:3, 20:5, 22:4, 22:6), PUFA n-6 – polynenasycené mastné kyseliny řady n-6 (18:2, 20:4, 18:3).

Zastoupení skupin mastných kyselin podle počtu dvojných vazeb v řetězci je prokazatelně (P < 0,05) vyšší obsah SFA, MUFA, PUFA n-6 v kontrolní skupině palma v porovnání s pokusnou skupinou ryba. Naopak mastné kyseliny skupiny PUFA n-3 mají statisticky průkazný (P < 0,05) vyšší obsah v pokusné skupině ryba v porovnání s kontrolní skupinou palma.

6 DISKUZE

V naší práci jsme se zaměřili na vliv palmového a rybího oleje na skladbu mastných kyselin v živočišných tkáních prasete. Kde jsme následně statisticky vyhodnotili vliv těchto olejů na skladbu mastných kyselin v jaterní a svalové tkáni. Dále o ovlivnění poměru polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3. Podobným tématem se zabývali i mnohé další studie, například Popovič a spol. Jejich výsledky jsou uvedeny dále spolu s dalšími studiemi.

Popovič a spol. (2011) zkoumali účinky polynenasycených mastných kyselin a jejich suplementace na plasmu a játra pomocí fosfolipidové kyseliny. Tato studie se prováděla na profilu starých krys Wistar. Konkrétně se jednalo o dospělé samce těchto krys, které vážily zhruba 280 g.

Experimentální skupině se podávalo 200 µl rybího tuku, 45 mg EPA a 30 mg DHA. U kontrolní skupiny byl podáván pouze fyziologický roztok. Krysám se tyto látky podávaly každé ráno po dobu 6 týdnů. Výsledky ukázaly, že parametry lipidů se mění už po 6-ti týdenním užívání rybího oleje. Ovšem výsledky ukázaly statisticky významné zvýšení plazmatické hladiny fosfolipidů, gama-linolenové kyseliny, EPA, DHA, po doplnění rybího oleje. Plasmatické koncentrace SFA, MUFA, PUFA, n-3 a n- 6 nezaznamenaly žádné výrazné statistické změny. Naopak v játrech koncentrace SFA, MUFA, PUFA a n-3 se zvýšila. PUFA n-6 a poměr mezi n-6/n-3 se ve srovnání s kontrolní skupinou snížil po doplnění rybího oleje. Dále se v játrech prokázaly zvýšené koncentrace kyseliny EPA A DPA a výrazně se snížila koncentrace kyseliny arachidonové po přidání rybího oleje než tomu bylo v kontrolní skupině (Popovič a spol., 2011).

V našich výsledkách nám vyšlo u pokusné skupiny prasat, která měla součástí krmiva 2,5 % rybího tuku velké zvýšení u kyseliny olejové palmitové ve svalové tkáni. Koncentrace gama-linolenové kyseliny, EPA, DHA nám vyšli velice nízké. Na rozdíl od jaterní tkáně, kde výsledky vyšly obdobně jako ve výzkumu. EPA zaznamenala nárůst hodnoty, stejně tak DHA. Jinak hodnoty u jaterní tkáně vyšly v jiných případech obdobně jako u svalové tkáně. Obsah kyseliny stearové zde byl nejvyšší, poté hned kyseliny palmitová, olejová a kyseliny linolová z řady PUFA n-6, které prokázaly téměř stejné hodnoty u pokusné skupiny, která dostávala krmivo s přídavkem 2,5 % rybího oleje.

Wojtašík a spol zkoumali účinky diet obohacenými polynenasycenými kyseliny z řady n-3 a jejich vlastnosti na profil mastných kyselin intramuskulárního a podkožního tuku u prasat. Prasata byla krmena třemi typy experimentálních diet. První typ diety obsahovala 1 % řepkového oleje, 2% rybího oleje a 0,5 % sádla. Druhý typ stravy obsahoval 2,5 % řepkového oleje a 1 % lněného oleje a poslední kombinace se skládala z 2,5 % lněného oleje a 1 % rybího oleje. Různé směsi olejů ve stravě neměly žádný obrovský dopad na skladbu podkožní tukové tkáně, ani na hmotnost dokonce ani obsah tuku v mase se nějak výrazně nelišil.

Na základě výsledků, z této studie lze říci, že složení mastných kyselin v podkožním a intramuskulárním tuku prasat je úměrné koncentraci mastných kyselin ve stravě. Stejným obsahem kyseliny linolové a ve stravě bohaté na n-3 mastné kyseliny, které obsahují lněný a rybí olej, lze získat nejvýhodnější poměr PUFA / SFA a n-6/n-3 v těle prasete. Zároveň správná skladba olejů ve stravě prasat může vést k výrobě kvalitního vepřového masa, která podpoří naše zdraví (Wojtašík a spol.,2012).

V našich výsledcích se u experimentální skupiny, která dostávala v krmné dávce 2,5 % rybího tuku, se prokázalo snížení polynenasycených mastných kyselin, které je ve studii vyšší v dietách, které neobsahovaly vůbec, nebo pouze 1 % rybího tuku než u diety s vyšším příjmem. Nutno podotknout, že v mé práci se vliv rybího tuku na skladbu mastných kyselin prováděl ve svalové a jaterní tkáni, tím pádem se výsledky mohou lišit.

Rozíková a spol. zkoumali vliv přídavku palmového a losového oleje na zastoupení mastných kyselin v tkáních potkana. Cílem této studie bylo potvrzení, že zvýšený příjem polynenasycených mastných kyselin má pozitivní vliv na zastoupení mastných kyselin v tkáních. Pro tento pokus bylo použito 30 laboratorních potkanů, kteří byly rozděleny do 3 skupin. Kdy jedna ze skupin přijímala krmivo s přídavkem palmového oleje, který má vysoký podíl nasycených mastných kyselin (kyselina palmitová 39,8 %). Po 48 dnech byla zvířata usmrcena. Poté byly analyzovány tukové, jaterní a svalové tkáně. Výsledkem této studie, bylo největší zastoupení polynenasycených mastných kyselin u skupiny, která konzumovala losový olej, který obsahuje významné polynenasycené mastné kyseliny (linolenová kyselina, EPA, DHA) (Rozíková a spol, 2012).

V našich výsledkách můžeme částečně souhlasit s uvedenou studií. Kontrolní skupina palma, která měla součástí krmiva palmový olej, nevykázala v případě svalové

tkáně žádné vysoké hodnoty u polynenasycených mastných kyselin. U jaterní tkáně vyšly jiné výsledky. Uvedená kontrolní skupina prokázala v našich výsledcích vysoké hodnoty u kyseliny linolové z řady n-6 a kyseliny arachidonové z řady n-3 v porovnání s pokusnou skupinou, která byla krmena s přídavkem rybího oleje. Jiné hodnoty polynenasycených mastných kyseliny nebyly tak výrazné, i když jsou rozhodně vyšší než u svalové tkáně.

Feillet-Coudray a spol. ve své studii zkoumali vliv mastných kyselin na poměr polynenasycených mastných kyselin n-6 a n-3 v jaterní a svalové tkáni. Pokus se prováděl na tři skupiny a každá skupina měla jinou skladbu lipidů v krmivu. První skupina měla vyšší obsah smíšených lipidů (40 % sádla + 25 % slunečnicového oleje + 25% olivového oleje + 10 % řepkového oleje), druhá skupina (90 % sádla + 10 % slunečnicového oleje), třetí skupina měla přídavek rybího oleje (35 % sádla + 20 % slunečnicového oleje + 20 % olivového oleje + 5 % řepkového oleje + 20 % rybího oleje). Výsledky této studie ukázaly poměr polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 v jaterní tkáni vyšel u první skupiny 5,0, u druhé 5,9 a poslední třetí skupiny 1,7. Ve svalové tkáni tato studie vykázala výsledky v poměru polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 u první skupiny 3,3, u druhé 3,0 a u poslední skupiny 1,1 (Feillet-Coudray a spol. 2013).

V předkládané práci vyšly výsledky poměru polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 v jaterní tkáni s přídavkem 2,5% rybího oleje v krmivu 0,96 a ve svalové tkáni 3,73. Studie vykazuje v jaterní tkáni vyšší hodnoty poměru polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 u skupiny, které mělo v krmivu přídavek rybí olej a ve svalové tkáni jim naopak vyšla menší hodnota daného poměru polynenasycených mastných kyselin.

7 ZÁVĚR

Mastné kyseliny mají velice pozitivní vliv na organismus jak člověka, tak zvířete. Prokázalo se, že polynenasycené mastné kyseliny z řady n-3 mají velice pozitivní vliv na organismus. Doporučený poměr již zmíněných polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 je udáván 5:1, který nám výrazně snižuje riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění, ateroskleózy a spousty dalších zdravotních komplikací.

Při zjišťování jednotlivých mastných kyselin zastoupených v krmivu, se statisticky prokázalo vysoké zastoupení palmitové, olejové a linolové n-6 kyselin v kontrolní skupině palma, která dostávala v krmné dávce 2,5 % palmového oleje ve srovnání s pokusnou skupinou ryba, která v krmivu přijímala 2,5 % rybího oleje. Oproti tomu pokusná skupina ryba vykázala statisticky vyšší hodnoty v zastoupení myristové, palmitolejové, eikosapentaenové, dokosahexaenové, dokosapentenové kyseliny.

Zastoupení mastných kyselin dle počtu dvojných vazeb v řetězci se nám podařilo statisticky prokázat u všech skupin rozdíl vlivu daných olejů na obsah mastných kyselin. Nasycené mastné kyseliny, mononenasycené mastné kyseliny a polynenasycené mastné kyseliny z řady n-6 prokazují vyšší zastoupení v kontrolní skupiny palma v porovnání s pokusnou skupinou ryba. Oproti tomu polynenasycené mastné kyseliny z řady n-3 statisticky dokázaly větší obsah v pokusné skupiny ryba ve srovnání s kontrolní skupinou palma.

Ve svalové tkáni se statisticky prokázalo, že přídavek rybího oleje do krmiva, které přijímala pokusná skupina prasat, zvýšilo zastoupení polynenasycených mastných kyselin z řady n-3 v porovnání s kontrolní skupinou palma. Naopak polynenasycené mastné kyseliny z řady n-6 prokazují větší zastoupení u kontrolní skupiny palma, která konzumovalo v krmivu přídavek palmového oleje než u pokusné skupiny ryba. Z odebraných vzorků a z nichž následně získaných dat pro zpracování se nám nepodařilo statisticky dokázat ovlivnění palmového a rybího oleje na obsah nasycených a mononenasycených mastných kyselin.

Obdobné výsledky tykající se obsahu mastných kyselin v živočišných tkáních jsou také u jaterní tkáně.

Při zjišťování obsahu mastných kyselin podle počtu dvojných vazeb se podařilo statisticky prokázat pouze snížení obsahu polynenasycených mastných kyselin řady

n-3 u kontrolní skupiny palma játra, palma sval v porovnání s ostatními skupinami mastných kyseliny (SFA, MUFA, PUFA n-6).

Poměr polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 se nám nepodařil statisticky prokázat. Avšak z grafického znázornění je patrné zvýšení daného poměru v kontrolní skupině palma především ve svalové tkáni.

Přídavkem rybího nebo palmového oleje se značně změnilo množství jednotlivých kyselin mezi jaterní tkání a svalovou tkání.

Obsah mastných kyselin v krmivu prasat, případně i jiných zvířat velice ovlivňuje skladbu mastných kyselin v mase, které se poté konzumuje.

V předložené diplomové práci bylo ve většině případů prokázané, že skladba mastných kyselin v mase je přímo závislá skladbě mastných kyselin v krmivu, proto je velice důležité zvířata krmit správnou potravou.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obr. 1 Schéma rozdělení mastných kyselin……...str.15
Obr. 2 Metabolismus esenciálních mastných kyselin……str.20
Obr. 3 Vznik aterosklerotického plátu…….....str.26
Obr. 4 Schéma ovlivnitelných ukazatelů u aterosklerózy…….....str.27
Obr. 5 Přístrojové vybavení plynového chromatografu…….str.30
Obr. 6 Obsah jednotlivých mastných kyselin v krmivu…….str.33
Obr. 7 Obsah mastných kyselin ve svalové tkáni…….....str.36
Obr. 8 Obsah mastných kyselin v jaterní tkáni…….....str.37
Obr. 9 Obsah mastných kyselin podle počtu dvojných vazeb v játrech a svalu……str. 38
Obr. 10 Znázornění poměru polynenasycených mastných kyselin skupin n-3 a n-6.str.39
Obr. 11 Obsah jednotlivých skupin mastných kyselin v krmivu……str.40

Tab.1 Procentuální zastoupení jednotlivých mastných kyselin v krmivu…….str. 33

9 ZDROJE

ALUKO, Rotimi E., Functional foods and nutraceuticals. New York: Springer, c2012. Food science text series. ISBN 978-1-4614-3479-5.

BALÍKOVÁ M., Plynová chromatografie: Aplikace v toxikologii. Plynová chromatografie: Aplikace v toxikologii [online]. LF UK v Praze, 2013 [cit. 2015-12-17].

BURDYCHOVÁ R., Preventivní výživa. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2009, 113 s. ISBN 978-80-7375-280-4.

Feillet-Coudray, C., Aoun, M., Fouret, G., Bonafos, B., Ramos, J., Casas, F., Cristol, J., P., Coudray, Ch., 2013: Effects of long-term administration of saturated and n-3 fatty acid-rich diets on lipid utilisation and oxidative stress in rat liver and muscle tissues, British Journal of Nutrition, 110, 1789–1802.

FELIX C., Vše o tucích typu omega-3: [odpovědi na základní otázky týkající se mastných kyselin typu omega-3, proč je potřebujeme, v jakém množství a mnohem více informací]. Praha: Pragma, 2002. Pragma o zdraví. ISBN 80-7205-886-X.

FREJ D., Zdravé tuky omega: chrání před nemocemi srdce, rakovinou, cukrovkou a podporují hubnutí. Praha: EB, 2004. ISBN 80-903234-1-3.

GANONG, William F. Přehled lékařské fyziologie: dvacáté vydání. Praha: Galén, c2005. ISBN 80-7262-311-7.

HRNČÍŘOVÁ D., a RAMBOUSKOVÁ J.,. Výživa a zdraví. Praha: Ministerstvo zemědělství, odbor bezpečnosti potravin, 2012, 36 s. ISBN 978-80-7434-071-0.

CHURÁČEK J., Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-03-00569-8.

JANČÁŘOVÁ I., a JANČÁŘ L.,. Analytická chemie. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-7157-647-6

KASPER, HEINRICH. Výživa v medicíně a dietetika. 1. české vyd. Praha: Grada, 2015, xiii, 572 s. ISBN 978-80-247-4533-6.

KASTNEROVÁ M., Poradce pro výživu. 1. vyd. České Budějovice: Nová Forma, 2011, 377 s. ISBN 978-80-7453-177-4.

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

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

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

NEČAS E.,. Patologická fyziologie orgánových systémů. Praha: Karolinum, 2003. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0675-5.

POPOVIČ T., BOROZAN S., ARSIĆ A., DEBELJAK-MARTAČIĆ J., VUČIĆ V., MILOVANOVIĆ I., TRBOVIĆ A., a GLIBETIĆ M., Effects of n–3 Supplementation on Plasma and Liver Phospholipid Fatty Acids Profile in Aged Wistar Rats [online]. aInstitute for Medical Research, University of Belgrade, Tadeusa Koscuska 1,11000 Belgrade,Serbia, 2011 [cit. 2016-04-25]. ISSN 0011-1643.

ROZÍKOVÁ, V. , ZORNÍKOVÁ, G.,- GREGOR, T.,KOMPRDA, T.., KROBOT, R. Vliv přídavku palmového a losového oleje na zastoupení mastných kyselin v tkáních potkana. In MendelNet 2012 - Proceedings of International Ph.D. Students Conference. 1. vyd. Brno, Czech Republic: Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy, 2012, s. 820--826. ISBN 978-80-7375-656-7.

SAMKOVÁ E., PEŠEK M., a ŠPIČKA J., Mastné kyseliny mléčného tuku skotu a faktory ovlivňující jejich zastoupení: vědecká monografie = Fatty acids of cow milk fat and factors affecting their composition : a review. 1. vyd. V Českých Budějovicích: Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, 2008, 90 s. ISBN 978-80-7394-104-8.

SMOLKOVÁ E., PACÁKOVÁ V., a FELTL L.,. Plynová chromatografie. 3. [díl], Kvalitativní a kvantitativní analýza /. Praha : Státní pedagogické nakladatelství, 1976. Skripta. Karlova univerzita.

TVRZICKÁ, E., STAŇKOVÁ, B., VECKA, M., ŢÁK, A. Mastné kyseliny: 1. Výskyt a biologický význam. Časopis lékařů českých, 2009, roč. 148, č. 1, s.16-24. ISSN 0008-7335

VELÍŠEK J., Chemie potravin. Vyd. 1. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-4-5.

WOJTASIK, M., S. RAJ, G. SKIBA, D. WEREMKO a M. CZAUDERNA. The effects of diets enriched in omega-3 fatty acids on carcass characteristics and the fatty acid profile of intramuscular and subcutaneous fat in pigs. Journal of Animal and Feed sciences: Department of Protein and Energy Metabolism [online]. The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, 2012, 21, 635-647 [cit. 2016-04-25].

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

Internetové zdroje:

1) http://pfyziollfup.upol.cz/castwiki2/?p=1771 [cit. 2016-03-26], 13,00h
2) http://www.med.muni.cz/centrumprevence/informace-pro-vas/rizika-nemoci/6-priciny-kardiovaskularnich-onemocneni.html[cit. 2016-03-26], 13,30h
3) http://lekarske.slovniky.cz/pojem/apolipoprotein[cit. 2015-10-30], 15,00h
4) http://www.celostnimedicina.cz/omega-3-mastne-kyseliny.htm[cit. 2015-12-05], 21,00h
5) http://www.pufa.cz/mastne-kyseliny/polynenasycene-mastne-kyseliny-omega-6/[cit. 2015-12-06], 19,00
6) http://www.margit.cz/encyklopedie/kyselina-linolova/[cit. 2015-12-06], 9,00h
7) http://tresen.vscht.cz/kot/wp-content/uploads/LYOFILIZACE.pdf[cit. 2015-12-17], 9,00h
8) http://biochemie.euweb.cz/Biochemie/Stereochemie_web.pdf2013 [cit. 2016-03-25], 9,00h
9) http://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20Cz-11%20GC_TEORIE_1007.pdf[cit. 2016-03-26].12,00h
10) https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/81/SchemaGC.png[cit. 2016-03-28].12,00h
11) http://slideplayer.cz/slide/3960392/#[cit. 2016-04-24], 20,00h