

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Nutriční hodnota a oxidační stabilita rybích olejů a
doplňků stravy obsahujících n-3 mastné kyseliny**

Diplomová práce

Autor práce: Michaela Krlínová

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Jan Pánek, CSc.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Nutriční hodnota a oxidační stabilita rybích olejů a doplňků stravy obsahujících n-3 mastné kyseliny" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu doc. Ing. Janu Pánkovi, CSc. za odborné vedení diplomové práce. Děkuji také paní prof. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za pomoc s provedením praktické části, Ing. Petře Škvorové za asistenci v laboratoři, Ing. Josefovi Soukupovi za pomoc s Schaalovým testem a Bc. Alžbětě Hroudové za pomoc s esterifikací mastných kyselin.

Nutriční hodnota a oxidační stabilita rybích olejů a doplňků stravy obsahujících n-3 mastné kyseliny

Souhrn

Vzhledem k nízké konzumaci ryb v mnoha západních zemích, se doplňky stravy jeví jako dobrý způsob, jak zvýšit příjem omega-3 mastných kyselin. Nejvýznamnějšími omega-3 mastnými kyselinami jsou kyselina eikosapentaenová (EPA) a kyselina dokosaheptaenová (DHA), které se řadí mezi polynenové mastné kyseliny (PUFA). Tyto mastné kyseliny mají příznivý vliv na zdraví člověka, nicméně kvůli jejich vysokému počtu dvojných vazeb, jsou velmi náchylné k oxidaci. Na základě kvality výchozí suroviny, způsobu jejího zpracování a formy podání, se může lišit nutriční hodnota a oxidační stabilita těchto doplňků stravy.

Zadaná diplomová práce hodnotí dosavadní poznatky o omega-3 mastných kyselinách, jejich výskytu a účincích na zdraví člověka. V teoretické části práce je diskutováno složení mastných kyselin tuku některých druhů ryb a faktory toto složení ovlivňující. Zmíněny jsou i jiné zdroje omega-3 mastných kyselin, jako jsou mořské řasy nebo antarktický krill. Praktická část práce je zaměřena na stanovení profilu mastných kyselin prostřednictvím plynové chromatografie u pěti vybraných doplňků stravy. U vzorků byla dále stanovena oxidační stabilita pomocí Schaalova testu a obsah sušiny sušením do konstantní hmotnosti.

Na základě stanovených profilů mastných kyselin bylo zjištěno, že nejvíce omega-3 mastných kyselin obsahoval výrobek Reflex Nutrition Omega 3 (54,71 %, z toho 51,45 % EPA a DHA) a nejméně Möller's rybí olej z tresčích jater (20,71 %, z toho 18,50 % EPA a DHA). Podle procentuálního zastoupení EPA a DHA bylo vypočteno, v jakém množství by musel být každý doplněk stravy denně přijat, aby byla splněna doporučená denní dávka 250 mg, 2 g a 3 g EPA + DHA.

Na základě naměřených hodnot ze Schaalova testu se nám podařilo potvrdit hypotézu stanovenou na začátku této práce. U rybích olejů s vyšším zastoupením omega-3 mastných kyselin byla zjištěna kratší indukční perioda a oleje podléhaly mnohem rychleji oxidačnímu zluknutí. Naopak u olejů s nižším množstvím omega-3 mastných kyselin a s přidávkou antioxidantů došlo k prodloužení indukční periody a zpomalení oxidačního procesu. Bylo zjištěno, že krilový olej od značky Reflex Nutrition byl pravděpodobně již zoxidovaný, i přesto, že minimální trvanlivost uvedená na obalu byla do května 2023. Také bylo zjištěno, že na výrobku Health Institute Opti Omega-3 orange nebylo uvedeno množství obsažených tokoferolů, což je dle vyhlášky č. 58/2018 Sb. o doplňcích stravy a složení potravin povinné.

Klíčová slova: rybí olej, n-3 mastné kyseliny, doplňky stravy, EPA, DHA

Nutritional value and oxidative stability of fish oils and food supplements containing n-3 fatty acids

Summary

Given the low consumption of fish in many Western countries, dietary supplements appear to be a good way to increase omega-3 fatty acid intake. The most important omega-3 fatty acids are eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), which are classified as polyunsaturated fatty acids (PUFAs). These fatty acids have a beneficial effect on human health, however, due to their high number of double bonds, they are very susceptible to oxidation. The nutritional value and oxidative stability of these dietary supplements may vary based on the quality of the starting material, the method of processing and the form of administration.

The thesis evaluates the current knowledge on omega-3 fatty acids, their occurrence and effects on human health. The theoretical part of the thesis discusses the fatty acid composition of the fat of some fish species and the factors influencing this composition. Other sources of omega-3 fatty acids, such as seaweed and Antarctic krill, are also mentioned. The practical part of the thesis focuses on the determination of the fatty acid profile by gas chromatography of five selected dietary supplements. The oxidative stability of the samples was further determined by the Schaal test and the dry matter content by drying to constant weight.

On the basis of the fatty acid profiles determined, it was found that Reflex Nutrition Omega 3 product contained the most omega-3 fatty acids (54,71 %, of which 51,45 % EPA and DHA) and Möller's cod liver oil the least (20,71 %, of which 18,50 % EPA and DHA). Based on the percentage of EPA and DHA, the amount of each dietary supplement that would need to be consumed daily to meet the recommended daily intake of 250 mg, 2 g and 3 g of EPA + DHA was calculated.

Based on the measured values from Schaal's test, we were able to confirm the hypothesis stated at the beginning of this paper. The fish oils with higher omega-3 fatty acid content were found to have a shorter induction period and the oils underwent oxidative rancidity much faster. In contrast, oils with lower amounts of omega-3 fatty acids and with the addition of antioxidants showed a prolonged induction period and a slower oxidative process. It was found that the krill oil from Reflex Nutrition was probably already oxidised, even though the minimum shelf life indicated on the packaging was until May 2023. It was also found that the Health Institute Opti Omega-3 orange product did not indicate the amount of tocopherols contained, which is mandatory according to Decree No 58/2018 Coll. on food supplements and food composition.

Keywords: fish oil, n-3 fatty acids, nutrition supplements, EPA, DHA

Obsah

1	Úvod	9
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	10
2.1	Hypotéza.....	10
2.2	Cíle práce	10
3	Literární řešerše.....	11
3.1	Mastné kyseliny	11
3.1.1	Klasifikace	11
3.2	Omega-3 mastné kyseliny a jejich zdroje.....	12
3.2.1	Kyselina α -linolenová.....	12
3.2.2	Kyselina eikosapentaenová a kyselina dokosahexaenová	13
3.3	Oxidační stabilita omega-3 mastných kyselin.....	14
3.3.1	Oxidační reakce	15
3.3.2	Průběh oxidace.....	16
3.3.3	Antioxidanty	16
3.3.4	Hodnocení oxidačního stavu.....	17
3.4	Doplňky stravy obsahující omega-3 mastné kyseliny	17
3.4.1	Legislativa.....	17
3.4.2	Získávání rybích olejů	18
3.4.2.1	Extrakce.....	18
3.4.2.2	Rafinace.....	19
3.4.3	Forma podání	19
3.5	Nutriční význam omega-3 mastných kyselin	20
3.5.1	Doporučený příjem omega-3 a ostatních mastných kyselin	20
3.5.2	Přínos konzumace omega-3 mastných kyselin	21
3.5.2.1	Kardiovaskulární onemocnění.....	21
3.5.2.2	Centrální nervová soustava	22
3.5.2.3	Těhotenství a kojení	23
3.5.2.4	Nádorová onemocnění.....	23
3.5.3	Riziko a vedlejší účinky konzumace omega-3 mastných kyselin.....	24
3.6	Faktory působící na obsah tuku a složení mastných kyselin tuku ryb.....	25
4	Materiál a metody	27
4.1	Materiál.....	27
4.1.1	Reflex Nutrition Omega 3.....	27
4.1.2	Reflex Nutrition Krill Oil	27
4.1.3	Health Institute Opti Omega-3 orange.....	28
4.1.4	Zinzino BalanceOil+	29

4.1.5	Möller's rybí olej z tresčích jater.....	29
4.2	Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie	30
4.2.1	Materiál, pomůcky a přístroje.....	31
4.2.2	Postup	31
4.3	Stanovení obsahu sušiny	31
4.3.1	Materiál, pomůcky a přístroje.....	32
4.3.2	Postup	32
4.4	Stanovení oxidační stability Schaalovým testem	33
4.4.1	Materiál, pomůcky a přístroje.....	33
4.4.2	Postup	33
5	Výsledky	34
5.1	Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie	34
5.2	Stanovení obsahu sušiny	36
5.3	Stanovení oxidační stability Schaalovým testem	36
6	Diskuze	40
6.1	Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie	40
6.2	Stanovení obsahu sušiny	41
6.3	Stanovení oxidační stability Schaalovým testem	42
7	Závěr.....	43
8	Literatura.....	44
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	48

1 Úvod

Se vzrůstajícím zájmem o vlastní zdraví, roste v posledních letech poptávka po různých doplňcích stravy, mezi nimiž vzrůstá obliba rybího oleje a dalších doplňků stravy obsahujících omega-3 mastné kyseliny (MK). Protože mnoha lidem ryby nechutnají nebo je nemohou konzumovat ze zdravotních či jiných důvodů, jsou tyto doplňky stravy jednou z možností, jak nedostatek ryb v jídelníčku nahradit.

Nejvýznamnějšími omega-3 MK jsou kyselina eikosapentaenová (EPA) a kyselina dokosahexaenová (DHA), které se řadí mezi polynenové MK (PUFA). Jejich příznivý vliv na srdce, cévy, mozek, zrak a vývoj jedince potvrzuje řada vědeckých studií. Aby bylo dosaženo žádoucích zdravotních účinků, doporučuje Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) konzumaci minimálně 250 mg EPA + DHA za den. Problémem je jejich vysoký počet dvojných vazeb, díky němuž jsou velmi náchylné k oxidaci. Tento proces způsobuje nejen změnu vůni a chuti, ale vede i ke ztrátě nutriční kvality a negativnímu vlivu na zdraví člověka.

Při výběru doplňku stravy s omega-3 MK je důležité dbát kvalitu. Jedním z ukazatelů kvalitního doplňku stravy je obsah EPA a DHA, který se může lišit na základě použité výchozí suroviny a jejího původu. Například každá ryba má jiné složení MK v závislosti na jejím druhu, prostředí, ve kterém žije, genetickém původu, pohlaví, věku, zdravotním stavu a dalších faktorech. Kvalita doplňků stravy se liší také na základě jeho způsobu zpracování a formy podání. Cílem výrobců je dosáhnout co nejčistšího doplňku stravy s co nejvyšším poměrem EPA a DHA a vysokou vstřebatelností pro lidský organismus.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Hypotéza

Oxidační žluknutí je soubor reakcí, které vedou ke zhoršení kvality a sensorických vlastností tuků. Obecně platí, že čím více MK obsahuje dvojných vazeb, tím více je k oxidaci náchylná tzn. rybí oleje a doplňky stravy s omega-3 MK budou vzhledem k vysokému množství PUFA náchylné vůči oxidaci a kvalita doplňků stravy se bude lišit v závislosti na původu, zpracování a formě podání.

2.2 Cíle práce

Cílem práce bylo porovnat složení MK a stabilitu vůči oxidaci u vzorků rybích olejů a doplňků stravy s obsahem omega-3 MK. Zhodnotit jejich nutriční přínos a kvalitu.

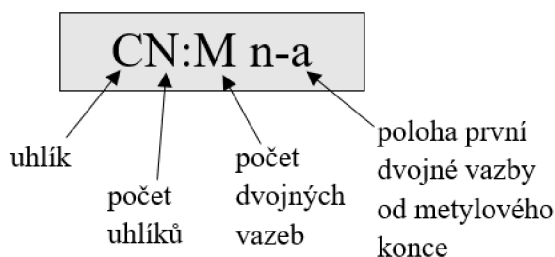
3 Literární řešerše

3.1 Mastné kyseliny

Lipidy patří, spolu s bílkovinami a sacharidy, mezi tři základní živiny, které by ve stravě neměly chybět. I když je mnohdy jejich účinek považován za negativní, v určité míře jsou pro lidský organismus nezbytné a zdraví prospěšné. Jsou zdrojem esenciálních MK, umožňují vstřebávání lipofilních vitaminů, zvyšují jemnost chuti potravin a vyvolávají pocit sytosti (Havlík & Marounek, 2013).

Lipidy jsou složeny z MK, které se mohou vyskytovat ve formě triacylglycerolů, fosfolipidů nebo cholesterolu. Z hlediska výživy jsou nejdůležitějšími lipidy estery glycerolu a MK tzv. triacylglyceroly. Většinou mají sudý počet atomů uhlíku, protože jejich syntéza vychází z dvouuhlíkaté jednotky acetyl-CoA. Specifické zastoupení MK určuje jejich nutriční hodnotu (kvalitu), ale i jejich strukturu a vlastnosti. Čím delší mají MK uhlíkatý řetězec, tím více jsou hydrofóbnější (klesá jejich rozpustnost ve vodě) a roste bod tání. Se stupněm nenasyčenosti (s počtem dvojných vazeb) roste tekutost, náchylnost k oxidačnímu žluknutí a rozpustnost ve vodě (resp. v krevní plazmě). Rozpustnost v krevní plazmě je velmi pozitivní, protože lipidy mají menší tendenci se srážet, naopak náchylnost k oxidačnímu žluknutí je velmi negativní (Grofová, 2010; Havlík & Marounek, 2013).

K popisu mastných kyselin se využívají zkrácené zápisy. První číslo udává počet uhlíků, druhé číslo počet dvojných vazeb a třetí číslo polohu první dvojné vazby od metylového konce (uhlík s označením omega ω) (Grofová, 2010).



Obrázek 1: Zkrácený zápis mastných kyselin

3.1.1 Klasifikace

Podle délky řetězce lze MK rozdělit na krátké (2-4 uhlíky), středně dlouhé (8-12 uhlíků) a dlouhé (14-22 uhlíků). Dlouhé MK lze dále dělit podle počtu dvojných vazeb na nasycené a nenasyčené (Grofová, 2010).

Nasycené MK (saturated fatty acids, SFA) neobsahují žádnou dvojnou vazbu. Vyskytují se především v tucích živočišného původu (sádlo, máslo, tučné maso, tučné mléčné výrobky), ale mohou se vyskytovat i v tucích rostlinného původu (kokosový a palmový olej) (Grofová, 2010).

Nenasycené MK (unsaturated fatty acids, UFA) obsahují jednu a více dvojných vazeb. Nenasycené MK s jednou dvojnou vazbou se nazývají monoenoové (monounsaturated fatty acids, MUFA). Nejběžnější je kyselina olejová (omega-9), která je hojně zastoupena

v olivovém oleji. Dále se nachází např. v makadamovém, mandlovém, řepkovém, slunečnicovém oleji, v ořechích nebo v drůbežím tuku a sádle. Nenasycené MK se dvěma až šesti dvojnými vazbami se nazývají polyenové (polyunsaturated fatty acids, PUFA). Dělí se na omega-3 a omega-6 MK podle toho, jaká je poloha první dvojně vazby od metylového konce (Grofová, 2010). Do skupiny nenasycených MK patří také trans nenasycené MK (TFA). Jak již název napovídá, dvojná vazba je prostorově uspořádána do trans-konfigurace, což má za následek změnu tvaru i vlastností molekuly. Rovným řetězcem a tuhou formou připomínají spíše nasycené MK. Vznikat mohou např. při průmyslové hydrogenaci (ztužování tuků), dezodoraci nebo při přepalování tuků a olejů. Najdeme je ve většině průmyslově zpracovaných výrobcích, sladkostech a fast-foodu. Jejich zastoupení v našem jídelníčku by mělo být co nejmenší. Existuje i přirozená forma trans MK, která se vyskytuje v produktech přežvýkavců. Jedná se o konjugovanou kyselinu linolovou (CLA), jejíž příjem není pro náš organismus nebezpečný. (Brát, 2004).

Omega-6 MK (někdy také n-6 MK) najdeme hlavně v potravinách rostlinného původu. Významným zdrojem je slunečnicový olej, kukuřičný olej a rostlinné margaríny. Částečně jsou obsaženy i v živočišném tuku. Nejvýznamnější je kyselina linolová (LA), která se v organismu konvertuje na kyselinu γ -linolovou (GLA) a kyselinu arachidonovou (AA). Vzhledem k přítomnosti více dvojných vazeb mají tyto tuky charakter olejů a při pokojové teplotě netuhnou (Grofová, 2010).

3.2 Omega-3 mastné kyseliny a jejich zdroje

Označení „omega-3“, někdy také „n-3“, vyjadřuje umístění první dvojně vazby na třetím uhlíku od metylového konce. Všechny obsažené dvojně vazby se nachází v cis-konfiguraci. Mezi nejvýznamnější omega-3 MK patří kyselina α -linolenová (ALA), kyselina eikosapentaenová (EPA) a kyselina dokosahexaenová (DHA). Dále pak kyselina dokosapentaenová (DPA) a kyselina stearidonová (STN) (Stark et al., 2008).

3.2.1 Kyselina α -linolenová

ALA obsahuje osmnáct atomů uhlíku a tři dvojně vazby. Spolu s omega-6 MK LA patří mezi esenciální MK. Znamená to, že lidské tělo si je nedokáže samo vyrobit a musí být přijímány ve stravě. ALA se přirozeně vyskytuje v potravinách rostlinného původu, významným zdrojem jsou vlašské ořechy, len, řepka, sója a listová zelenina (Harris, 2004).

Tabulka 1 : Porovnání zastoupení ALA v některých rostlinných zdrojích (Šimek, 2008).

rostlinný zdroj	ALA (v %)
lněný olej	48 – 58
vlašské ořechy	7 – 15
řepkový olej	6 – 14
sójový olej	4 – 11
olivový olej	max. 0,9
slunečnicový olej	0,1 – 1,8

V těle je ALA využívána primárně jako zdroj energie, pouze omezené množství může být v játrech přeměněno na kyseliny s velmi dlouhým řetězcem – EPA, DPA a DHA. První krok přeměny je desaturace, kdy enzym delta-6-desaturáza zavede další dvojnou vazbu do řetězce MK a vznikne kyselina stearidonová (STN). Následuje elongace a po ní zavedení další dvojně vazby, tentokrát pomocí enzymu delta-5-desaturáza. Takto vznikne EPA, která postupnou desaturací a elongací může být přeměněna až na DPA a DHA (Rodriguez-Leyva et al., 2010). Obecně lze říci, že konverze ALA na EPA a DHA je u člověka, kvůli nízké aktivitě enzymu delta-6-desaturázy, velmi slabá. Limitujícími faktory jsou i věk a pohlaví. Schopnost konverze klesá s věkem a daleko nižší schopnost konverze mají muži. Zajímavé je, že u žen během těhotenství, kdy jsou omega-3 MK potřeba pro vývoj dítěte, efektivita přeměny vzrůstá. (Yuan et al., 2021). Jak už bylo řečeno, kritickým bodem přeměny ALA na EPA a DHA je velmi nízká aktivita enzymu delta-6-desaturázy. Řešením tohoto problému by mohla být konzumace potravin či doplňků stravy bohatých na STN. Tímto způsobem by byl vynechán krok katalyzovaný enzymem delta-6-desaturázou. Významným zdrojem STN je nepř. olej z hadince jitrocelového (*Echium plantagineum*) nebo olej z kamejky rolní (*Buglossoides arvensis*). Obsahují mj. i relativně vysokou koncentraci tokoferolů, které chrání před oxidací. Problémem je, že tyto rostliny z čeledi brutnákovité syntetizují vysoce toxické pyrrolizidinové alkaloidy, které se sice nedostávají do oleje, ale mohly by být potenciální hrozbou pro dobytek a medonosné rostliny. Dalším zdrojem je geneticky modifikovaný sójový olej tzv. SDA soy, který ale není kvůli genetické modifikaci v Evropě povolen (Saini et al., 2021; Whelan, 2009). Nízká míra konverze ALA na EPA a DHA může být způsobená i mj. tím, že omega-3 a omega-6 MK soutěží o delta-6-desaturázu tzn. pokud bude v organismu nadbytek omega-6 MK, delta-6-desaturáza bude přednostně použita na přeměnu omega-6 LA (Wilhelm, 2013).

3.2.2 Kyselina eikosapentaenová a kyselina dokosahexaenová

EPA a DHA se označují jako MK s velmi dlouhým řetězcem. EPA obsahuje dvacet atomů uhlíků a pět dvojných vazeb, DHA dvacet dva atomů uhlíků a šest dvojných vazeb. Obě tyto MK sice nejsou esenciální, ale jak už bylo uvedeno výše, přeměna ALA v játrech na EPA a DHA je omezená, a proto je vhodný jejich příjem stravou nebo suplementace dopňky stravy (Vrablík, 2007).

Nejvýznamnějším zdrojem jsou ryby žijící v chladných vodách (losos, sled', makrela, sardinky, ančovičky, treska, tuňák). Obecně platí, že ryby žijící v chladné vodě mají vyšší zastoupení MK s dlouhým řetězcem než ryby žijící v teplé vodě. Je to dáno podstatou fungování MK v buněčných membránách. Pokud by byla membrána složená z MK s krátkým řetězcem, při nízkých teplotách by ztuhla. A protože bod tuhnutí MK s dlouhým řetězcem a s více dvojnými vazbami je nižší, membrána zůstane v chladných vodách fluidnější (tekutější) (Belitz & Grosch, 2009). V tabulce 2 je porovnán obsah EPA a DHA u některých druhů ryb.

Tabulka 2: Porovnání obsahu EPA a DHA v některých druzích ryb (Belitz & Grosch, 2009).

ryba	EPA (g/100 g)	DHA (g/100 g)	EPA + DHA
losos	1,30	1,70	3,00
sleď	2,04	0,68	2,72
tuňák	0,63	1,70	2,33
makrela	0,65	1,10	1,75
pstruh	0,22	0,62	0,84
okoun	0,17	0,47	0,64
treska	0,18	0,27	0,45
štika	0,07	0,19	0,26
platýs	0,11	0,11	0,22

Nejlepší variantou je konzumace čerstvých ryb, neboť omega-3 MK obsažené v rybách mají až stoprocentní vstřebatelnost, což znamená, že veškerý obsah EPA a DHA se dostane do požadovaných buněk. U doplňků stravy je vstřebatelnost nižší. Na základě jejich kvality se může pohybovat od 10 % do 90 % (Mu, 2008).

Ryby tyto MK samy nevytvářejí, ale získávají je konzumací mikrořas, proto je možné využívat i suplementy vyrobené přímo z mořských řas. Na výrobu těchto olejů se používají např. labyrintuly neboli „vodní hlenky“, konkrétně se jedná o rody *Schyzochytrium* a *Thraustochytrium aureum*. V tropických oblastech u pobřeží Austrálie a Nového Zélandu se těží řasy rodu *Ulkenia* (Chang et al., 2014). Omega-3 MK se vyskytují také v mořské řase Nori, která se nejčastěji využívá k přípravě sushi, ve sladkovodní řase rodu *Chlorella* nebo v sinici rodu *Spirulina* (Tokuşoglu & Ünal, 2003).

Dalším zdrojem EPA a DHA může být krilový olej (krill oil). Jedná se o extrakt lipidů z vysušeného antarktického krilu. *Euphausia superba* neboli krunýřovka krillová je asi 6 cm dlouhý korýš žijící ve velkých hejnech v chladných oceánech jižní polokoule (Kwantes & Grundmann, 2015).

3.3 Oxidační stabilita omega-3 mastných kyselin

Oxidace tuků neboli oxidační žluknutí je soubor reakcí, které vedou ke zhoršení kvality a senzorických vlastností rybiho tuku. Díky vysokému obsahu nenasycených MK má rybí tuk velmi nízkou oxidační stabilitu. Oproti nasyceným MK, které se začínají oxidovat až při teplotách nad 100 °C, se nenasycené MK oxidují i za běžných teplot. Také platí, že čím více bude MK obsahovat dvojných vazeb, tím více bude k oxidaci náchylná tzn. nejméně stabilní bude DHA s šesti dvojnými vazbami, o něco více stabilní EPA s pěti dvojnými vazbami, dále AA se čtyřmi dvojnými vazbami, ALA se třemi dvojnými vazbami a nejvíce stabilní LA se dvěma dvojnými vazbami. Oxidačnímu žluknutí lze částečně zabránit dodržáním správných podmínek skladování v chladu, temnu a bez přístupu kyslíku (Odstrčil & Odstrčilová, 2006).

3.3.1 Oxidační reakce

MK mohou být oxidovány různými způsoby. Fotooxidace je oxidace v důsledku vystavení světlu, kde se kyslík aktivuje fotosenzibilizací. V tuku se vyskytují sloučeniny tzv. fotosenzibilizátory, které jsou schopny absorbovat světlo a dále přenášet absorbovanou energii. Excitací tripletového kyslíku vzniká singletový kyslík, který reaguje s nenasycenými MK mnohem rychleji než tripletový kyslík. Dalším způsobem je enzymová oxidace, což je reakce katalyzovaná endogenními enzymy, jako jsou lipoxygenázy, které inkorporují molekulární kyslík do MK, což vede k tvorbě hydroperoxidů. Enzymové oxidaci i fotooxidaci lze do značné míry zabránit ochranou rybiho oleje před přímým slunečním zářením a inaktivací enzymů tepelným zpracováním při rafinaci (Miyashita, 2019).

Mnohem složitější je zabránit autooxidaci, ke které dochází vzdušným (tripletovým) kyslíkem. Autooxidace uhlovodíkového řetězce probíhá mechanismem radikálové řetězové reakce, která se skládá ze tří fází: iniciace, propagace a terminace. Iniciace je velmi rychlá reakce, při které se homolyticky rozštěpí vazba C – H, vznikne volný radikál ($R\bullet$) a atomický vodík ($H\bullet$). K hemolytickému štěpení dochází vlivem UV záření, radioaktivního záření, viditelného světla, tepla, také reakcí s jiným volným radikálem nebo přechodnými kovy (Miyashita, 2019).

Rovnice 1: Iniciace



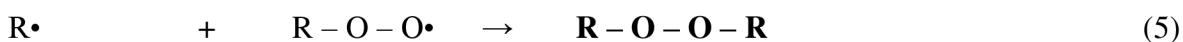
Následuje propagační reakce. Vzniklý volný radikál ($R\bullet$) je velmi reaktivní a snadno se slučuje s molekulou kyslíku (O_2) za vzniku peroxylového radikálu ($R - O - O\bullet$). Peroxylový radikál reaguje s další MK ($R - H$) za vzniku hydroperoxidu ($R - O - O - H$) a dalšího volného radikálu ($R\bullet$). Tyto dvě reakce se mohou až několikanásobně opakovat (Miyashita, 2019).

Rovnice 2 a 3: Propagace



K ukončení celé řetězové reakce může dojít reakcí dvou radikálů, ze kterých vznikne relativně stabilní neradikálový produkt. Tato fáze se nazývá terminace (Miyashita, 2019).

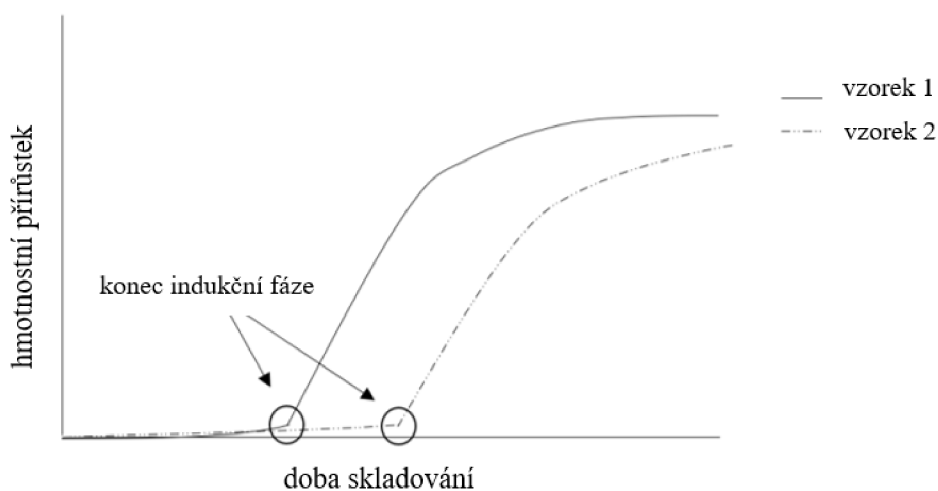
Rovnice 4, 5 a 6: Terminace



Výsledkem oxidačního procesu jsou nežádoucí produkty, které negativně ovlivňují chuť, vůni i zdravotní účinky rybiho tuku. Primárními produkty jsou sensoricky neutrální hydroperoxydy, a protože jsou nestabilní, rozkládají se dále na alkoxylové a peroxylové radikály, které jsou klíčové při tvorbě sekundárních oxidačních produktů. Reakcí hydroperoxidů a jejich radikálů vznikají hydroxykyseliny, oxokyseliny, těkavé aldehydy (hlavně akrolein), uhlovodíky a další. Právě tyto produkty jsou hlavní příčinou žluklé hořké chuti a nepříjemného zápachu (Miyashita, 2019).

3.3.2 Průběh oxidace

V rané fázi oxidace se netvoří téměř žádné produkty, reakční rychlost je nízká a dopady oxidace téměř zanedbatelné. Tato fáze se nazývá indukční fáze. Její délku ovlivňují podmínky skladování, přítomnost antioxidantů a stupeň nenasycenosti. Čím více budou MK nenasycené, tím budou náchylnější k oxidaci a budou mít kratší indukční fázi. Po indukční fázi následuje exponenciální fáze. V této fázi se rychlost rozkladu prudce zvyšuje. Hromadí se primární produkty, kterými jsou převážně hydroperoxydy a v důsledku ztráty PUFA se kvalita rybích olejů snižuje. Postupem času začne koncentrace hydroperoxidů klesat, protože rychlost tvorby klesne pod rychlost rozkladu. Průběh celé oxidace je znázorněn křivkou na obrázku 2 (Frankel, 2005).



Obrázek 2: Křivka průběhu oxidace a znázornění rozdílně dlouhých indukčních fází u dvou vzorků (Frankel, 2005).

3.3.3 Antioxidanty

Surové rybí oleje sice antioxidanty přirozeně obsahují, ale bohužel jsou často odstraněny během zpracování v důsledku např. zvýšených teplot. Aby výrobci podpořili oxidační stabilitu a prodloužili trvanlivost rybích olejů, cíleně přidávají antioxidanty do svých produktů zpět. Přidáním antioxidantů se sice oxidačnímu procesu částečně zabrání, ale i přesto tam bude probíhat dále. Jak moc a jak rychle bude oxidace probíhat je ovlivněno mnoha faktory. Záleží na složení MK, přítomnosti kyslíku, světla, vody, těžkých kovů, teplotě a množství antioxidantů. (Jairoun et al., 2020).

3.3.4 Hodnocení oxidačního stavu

Mezi metody používané pro hodnocení stupně žluklosti patří např. stanovení peroxidového čísla (PV), stanovení anisidinového čísla (AV) a stanovení thiobarbiturového čísla (TBARS). Všechny tyto metody jsou založeny na kvantifikaci specifických oxidačních produktů a jsou prováděny chemickou analýzou. Pro stanovení oxidační stability se používají zrychlené oxidační testy např. Schaalův test, který je založen na principu zvýšení hmotnosti při oxidaci tuků a olejů v důsledku vazby kyslíku a vzniku oxidačních produktů. Zrychlené oxidační testy jsou časově náročné, a proto se dnes při jejich provádění používají často automatické přístroje (Shahidi, 2005).

3.4 Doplnky stravy obsahující omega-3 mastné kyseliny

Vzhledem k nízké spotřebě ryb v mnoha západních zemích, se doplňky stravy jeví jako nejjednodušší způsob, jak zvýšit příjem omega-3 MK. Zvýšená poptávka vede k velkochovům ryb, které obsahují méně omega-3 MK a jiných mikronutrientů než volně žijící ryby, a proto je nutné při výběru doplňků stravy dbát na kvalitu. Nejdůležitějšími kvalitativními znaky jsou koncentrace omega-3 MK, oxidační stabilita a čistota rybích olejů (Kolanowski, 2010). Na trhu je v současné době dostupný tekutý rybí olej nebo želatinové kapsle (pelety) s rybím či krilovým olejem. Pro vegany, vegetariány nebo ty, kteří chtějí ušetřit chovný průmysl ryb, existuje varianta produktů s omega-3 MK z mořských řas.

3.4.1 Legislativa

Doplňky stravy, vzhledem ke svému složení a způsobu použití, leží na rozhraní mezi potravinami a léky. Z legislativního hlediska ale patří mezi potraviny a platí pro ně potravinářská legislativa. Regulace doplňků stravy spadá do kompetence Ministerstva zemědělství podle zákona č. 110/1997 Sb. o potravinových a tabákových výrobcích a vyhlášky č. 58/2018 Sb. o doplňcích stravy a složení potravin. Vyhláška č. 58/2018 Sb. vznikla transpozicí směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2002/46/ES o sbližování právních předpisů členských států týkajících se doplňků stravy. Doplnky stravy jsou vyráběny za účelem doplnění běžné stravy, nikoli jako její náhrada. Před uvedením na trh posuzuje Ministerstvo zemědělství jejich zdravotní nezávadnost. Podle zákona nesmí zdravotně ublížit a nemohou propagovat vlastnosti, jako je prevence, léčba nebo vyléčení onemocnění. Do oběhu se uvádí pouze balené.

Při označování doplňků stravy a v reklamách se používá řada výživových a zdravotních tvrzení. S cílem zajistit vysokou úroveň ochrany spotřebitelů, poskytnout jim pravdivé informace a usnadnit jim výběr, se mohou výživová a zdravotní tvrzení uvádět pouze za podmínek stanovených nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin. V nařízení Komise (EU) č. 116/2010, které doplňuje nařízení 1924/2006, je uveden seznam výživových tvrzení týkajících se omega-3 MK. Aby mohlo být na potravinářském výrobku uvedeno „zdroj omega-3 mastných kyselin“, musí obsahovat alespoň 0,3 g ALA/100g (a na 100 kcal) nebo alespoň 40 mg EPA + DHA/100g (a na 100 kcal). Pro označení „s vysokým obsahem omega-3 mastných kyselin“ musí obsahovat alespoň 0,6 g ALA/100g (a na 100 kcal) nebo alespoň 80 mg

EPA + DHA/100g (a na 100 kcal). Seznam schválených zdravotních tvrzení je uveden v Nařízení Komise (EU) č. 432/2012.

Tabulka 3: Schválená zdravotní tvrzení pro ALA, EPA a DHA (Nařízení Komise EU č. 432/2012)

Tvrzení	Příznivého účinku bude dosaženo při příjmu:
ALA přispívá k udržení normální hladiny cholesterolu v krvi	2 g/den
DHA přispívá k udržení normální funkce mozku	250 mg/den
DHA přispívá k udržení dobrého zraku	250 mg/den
DHA přispívá k normálnímu vývoji zraku kojence do věku 1 roku	100 mg/den
Příjem DHA u budoucích a kojících matek podporuje normální vývoj zraku a mozku plodu, resp. kojence	250 mg EPA+DHA/den
DHA a EPA přispívají k udržení normálního krevního tlaku	3 g/den (ale nepřesáhnout 5 g/den)
DHA a EPA přispívají k udržení správné hladiny triglyceridů v krvi	2 g/den (ale nepřesáhnout 5 g/den)
EPA a DHA přispívají k udržení normální činnosti srdce	250 mg/den

3.4.2 Získávání rybích olejů

Rybí olej lze získat z různých druhů ryb v závislosti na oblasti produkce. Surovina se skládá ze tří hlavních frakcí – pevná složka, olej a voda. Cílem je tyto složky co nejlépe oddělit, přičemž se běžně získává rybí moučka a rybí olej. Surový olej obsahuje nečistoty, jejichž obsah závisí na použité extrakční metodě. Aby bylo dosaženo kvalitativních vlastností přijatelných pro lidskou konzumaci, je třeba nečistoty odstranit, ale zároveň zachovat co nejvíce omega-3 MK a dalších PUFA. Z tohoto důvodu je proces rafinace navržen tak, aby se minimalizovaly ztráty oleje a maximalizovala dostupnost prospěšných složek (Bonilla-Méndez & Hoyos-Concha, 2018).

3.4.2.1 Extrakce

Nejčastěji používanou metodou je extrakce rybího oleje mokrým lisováním, která probíhá ve čtyřech fázích: vaření ryb, lisování, filtrování a odstředění konečného produktu. Nevýhodou této metody jsou drastické teplotní a tlakové podmínky používané pro srážení bílkovin a následné uvolňování oleje, které mohou snížit množství přítomných PUFA (Bonilla-Méndez & Hoyos-Concha, 2018).

Dalším konvenčním postupem je extrakce pomocí rozpouštědel, která se používá pro analytické účely, nikoli pro průmyslovou výrobu. Tento postup je založen na rozpustnosti lipidů v organických rozpouštědlech a jejich nerozpustnosti ve vodě, díky čemuž lze olej oddělit od vody. Hlavním omezením této techniky je, že vyžaduje relativně suchý vzorek, který se zničí, trvá dlouho, a navíc při ní vzniká velké množství zbytkového rozpouštědla (Bonilla-Méndez & Hoyos-Concha, 2018).

Superkritická fluidní extrakce (SFE) je nová extrakční technologie využívající rozpouštědla. V posledních letech si získala velký zájem díky výhodám, jako je použití mírné teploty, prostředí bez kyslíku a extrakce lipidů s nízkou polaritou, což zabraňuje extrakci nečistot. Superkritické kapaliny mají nižší viskozitu a vyšší difuzivitu než konvenční rozpouštědla, což zlepšuje přenos hmoty a obecně zkracuje dobu potřebnou k extrakci. Její nevýhodou jsou vysoké náklady na použití (Bonilla-Méndez & Hoyos-Concha, 2018).

Rybí siláž je polotekutý produkt vyrobený z celých ryb nebo jejich částí, do kterého se přidávají kyseliny (chemická siláž), enzymy (enzymatická siláž) nebo bakterie mléčného kvašení (biologická siláž), které způsobují hydrolýzu bílkovin. Tento proces se ukázal jako dobrá alternativa k tradičním metodám, protože může být jednodušší a levnější z hlediska investičních nákladů a energetických výdajů. Kromě toho tato technologie nepoužívá rozpouštědla ani vysoké teploty a způsobené fyzikálně-chemické a mikrobiologické změny mohou nejen zlepšit výkonnost extrakce, ale také zabránit nežádoucím procesům, tj. oxidaci tuku. Kromě toho lze získat esenciální MK a další funkční složky, jako je mj. proteinový hydrolyzát a kolagen (Bonilla-Méndez & Hoyos-Concha, 2018).

3.4.2.2 Rafinace

Po extrakci rybího oleje se provádí jeho čištění, protože obsahuje nerozpustné nečistoty, primární oxidační produkty, perzistentní organické znečišťující látky (POP), těžké kovy aj. Tradiční proces rafinace zahrnuje několik fází hydratace, neutralizace, bělení, dezodorizace a v některých případech i winterizaci. Každá z těchto fází je důležitá pro odstranění různých tříd sloučenin (Bonilla-Méndez & Hoyos-Concha, 2018).

3.4.3 Forma podání

Na trhu existuje několik forem, v jakých lze doplňky stravy s omega-3 MK přijímat. Tyto formy se liší hlavně ve své biologické dostupnosti, tedy v tom, jak velkou schopnost má daná látka se vstřebat do organismu. Pro nás je nepřírozanější triacylglycerolová forma, ve které se vyskytuje asi 95 % tuků přijatých ze stravy. Nevýhodou této formy je nízká koncentrace EPA/DHA a obsah nečistot. Naopak vysoký podíl EPA/DHA a nízký obsah nečistot má syntetická ethylesterová forma vyrobená esterifikací. Nevýhodou je její nízká vstřebatelnost a využitelnost v organismu. Ethylesterová forma může být pomocí reesterifikace přeměněna zpět na triglycerolovou formu, která se nazývá syntetická triacylglycerolová forma. Tato forma je našemu tělu přírozanější a obsahuje i vyšší koncentrace EPA a DHA, avšak její výroba je finančně náročná. Vysokou biologickou dostupností se vyznačují omega-3 MK ve formě fosfolipidů. Vysoký podíl fosfolipidů obsahuje např. krilový olej pocházející z antarktického krilu (*Euphausia superba*) (Dyerberg et al., 2010).

3.5 Nutriční význam omega-3 mastných kyselin

3.5.1 Doporučený příjem omega-3 a ostatních mastných kyselin

Tabulka 4: Doporučení Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) pro tuky a mastné kyseliny (EFSA, 2017).

	doporučený příjem za den
celkový příjem tuků	20 – 35 %
SFA	co nejméně
trans-MK	co nejméně
PUFA	bez doporučení
LA	4 %
ALA	0,5 %
EPA + DHA	250 mg
poměr omega-3 : omega-6	bez doporučení
MUFA	bez doporučení

Podle Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) by množství přijatých tuků za den mělo tvořit 20 – 35 % z celkové energie, přičemž množství SFA a TFA by mělo být co nejmenší. Doporučení pro MUFA a celkové PUFA bylo zrušeno. Nově se objevilo doporučení pro příjem LA, která by měla tvořit 4 % z celkové energie, ALA, která by měla tvořit 0,5 % z celkové energie a EPA + DHA bychom měli přijmout v množství 250 mg/den. Hodnoty pro poměr omega-3 a omega-6 MK EFSA nestanovuje. Dříve se doporučoval poměr 1 : 2 až 1 : 5 (omega-3 : omega-6), ale jelikož se v reálném životě poměr pohybuje od 1 : 15 do 1 : 20 a k doporučení to má velmi daleko, usoudila EFSA, že nemá smysl tuto hodnotu stanovovat (EFSA, 2017).

Tabulka 5: Doporučení Světové organizace pro výživu a zemědělství (FAO) a Světové zdravotnické organizace (WHO) pro tuky a mastné kyseliny (FAO, 2010).

	doporučený příjem za den
celkový příjem tuků	20 – 35 %
SFA	<10 %
trans-MK	<1 %
PUFA	6 – 11 %
omega-6 PUFA	2,5 – 9 %
omega-3 PUFA	0,5 – 2 %
poměr omega-3 : omega-6	bez doporučení
MUFA	dopočet mezi tuky a MK

Světová organizace pro výživu a zemědělství (FAO) a Světová zdravotnické organizace (WHO) doporučuje, stejně jako EFSA, příjem tuků v množství 20 – 35 % z celkové energie. Množství SFA by nemělo překračovat 10 % a množství TFA by nemělo překračovat 1 % z celkové energie. Intervaly pro omega-3 a omega-6 MK jsou hodně široké, spodní část

intervalu odpovídá fyziologickým potřebám a horní část intervalu je doporučena jako prevence proti kardiovaskulárním nemocem. Omega-3 MK by měly tvořit 0,5 – 2 % z celkového příjmu energie. K dosažení odpovídajícího příjmu se doporučuje pravidelná konzumace ryb, pokud možno tučnějších, alespoň dvakrát týdně. Cílové hodnoty pro poměr omega-3 a omega-6 MK FAO a WHO, ze stejného důvodu jako EFSA, také nestanovuje (FAO, 2010; Cejpek et al., 2021).

3.5.2 Přínos konzumace omega-3 mastných kyselin

Výsledky posledních studií ukazují, že omega-3 MK živočišného původu mají pro vývoj organismu větší význam než omega-3 MK rostlinného původu. EFSA potvrzuje příznivý vliv EPA a DHA na srdce, cévy, mozek, zrak a vývoj jedince. Jejich důležitou rolí je zprostředkování zánětlivých reakcí. Všeobecně se dá jejich účinek považovat za protizánětlivý, na rozdíl od omega-6 MK, jejichž účinek je prozánětlivý. Z EPA (omega-3) a z AA (omega-6) vznikají eikosanoidy, mezi které patří prostanoidy (prostaglandiny, prostacykliny, tromboxany) a leukotrieny. Jsou klíčovými mediátory zánětu, zajišťují buněčnou signalizaci, ovlivňují kontrakci a relaxaci hladké svaloviny, srážení krve a brání produkci prozánětlivých cytokinů (Wilhelm, 2013; Back & Hansson, 2019). Je důležité v těle udržet rovnováhu mezi omega-3 protizánětlivými eikosanoidy a omega-6 prozánětlivými eikosanoidy, neboť v důsledku jejich nerovnováhy může docházet k rozvoji chronických zánětů, které mohou vést k poškození tkání a rozvoji vážných nemocí, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, rakovina, diabetes, artritida, neurodegenerativní onemocnění aj (So et al., 2021).

3.5.2.1 Kardiovaskulární onemocnění

Kardiovaskulární onemocnění je souhrnné označení pro onemocnění srdce a cév. Jednat se může např. o ischemickou chorobu srdeční, srdeční selhání, arytmií, hypertenzi, cévní mozkovou příhodu, trombózu, embolii a další. Ve většině případů jsou tyto nemoci způsobené aterosklerózou, která vzniká v důsledku ukládání aterogenních látek (zejména lipidů) do stěny tepny. Rizikovými faktory vzniku jsou obezita, nepříznivé lipidové spektrum, diabetes, vysoký krevní tlak, kouření a sedavý způsob života (Dufek, 2003).

Existují studie dokazující příznivé působení EPA a DHA proti kardiovaskulárním nemocem. Bylo zjištěno, že dlouhodobá konzumace rybích omega-3 MK má antitrombotické, hypolipidemické a antiaterogenní účinky (Slíva, 2019). Z krve lze vyšetřit tzv. lipidové spektrum. Jedná se o stanovení hodnot celkem tří druhů krevních lipidů – LDL cholesterolu, HDL cholesterolu a triglyceridů (jednoduché tuky). Mori & Beilin (2004) ve své studii uvádí, že EPA i DHA snižují množství triglyceridů přibližně o 20–25 %. DHA současně zvyšuje HDL cholesterol a příznivě ovlivňuje kvalitu LDL částic (jsou větší a méně aterogenní). Koncentrace celkového a LDL cholesterolu nejsou příjmem EPA a DHA významně ovlivněny (Mori & Beilin, 2004). Účinky EPA a DHA jsou souhrnně zaznamenány v tabulce 4.

Tabulka 6: Souhrn účinků EPA a DHA (Vrablík, 2007).

	EPA	DHA
↓ triglyceridů	++	++
↑ HDL	-	+
↓ malých denzních LDL	-	+
↓ krevního tlaku	+/-	+
zlepšení funkce endotelu	-	+
↓ tepové frekvence	-	+
↓ agregability trombocytů	+	++
↓ aktivace trombocytů	+	-
↑ fibrinolýzy	-	-
↑ glykemie	+	+/-
↓ zánětlivé odpovědi	-	+/-
↓ oxidačního stresu	+	+

3.5.2.2 Centrální nervová soustava

Dalším přínosem omega-3 MK je příznivé působení na činnost centrální nervové soustavy (CNS). Omega-3 MK se uplatňují především při vzniku nových neuronů a přenosu nervových vzruchů, podílejí se na tvorbě oxidu dusnatého, zvyšují koncentraci acetylcholinu a také jsou prekurzory pro vznik neuroprotektivních sloučenin (lipoxinů, resolvinů a neuroprotektinu D1), které chrání nervovou soustavu před škodlivými stimuly (Slíva, 2019). Jelikož se podílejí na vývoji mozku, jejich nedostatek může vést k rozvoji neurovývojových poruch (hyperkinetická porucha, dyspraxie, dyslexie, autismus), kognitivních poruch (Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, demence), schizofrenie, deprese a jiných psychických poruch (Das, 2008).

Dyspraxie, někdy označována zkratkou DCD, je porucha motoriky vyznačující se narušenou schopností provádět složitější pohybové úkony. Problémy se mohou týkat jak hrubé, tak i jemné motoriky. Nejčastěji se projevuje u dětí ve školním věku a přetrvává až do dospělosti, přičemž častěji postihuje chlapce než dívky. Problémy s koordinací pohybů jsou často doprovázeny i problémy psychosociálními jako jsou potíže se psaním, opisováním, učením, dítě je nesoustředěné, stále se vrtí a neobvykle se chová ve společnosti. Ve většině případů se u dětí s DCD vyskytuje současně i další neurovývojová porucha – hyperkinetická porucha (ADHD), dyslexie nebo autismus. V roce 2005 Richardson a Montgomery provedli randomizovanou, dvojitě zaslepenou studii, ve které sledovali účinky omega-3 a omega-6 MK na léčbu DCD. Klinická studie trvala 6 měsíců a zúčastnilo se jí 117 dětí ve věku 5-12 let. Děti byly rozděleny do dvou skupin, přičemž první skupině byl po celou dobu podáván potravinový doplněk obsahující 80 % rybiho oleje a 20 % pupalkového oleje. V denní dávce (šest kapslí) bylo obsaženo 558 mg EPA, 174 mg DHA, 60 mg LA a 9,6 mg vitamínu E. Druhé skupině bylo tři měsíce podáváno placebo v podobě vzhledově i chuťově upraveného olivového oleje a další tři měsíce přešly na aktivní léčbu jako první skupina. Výsledky neprokázaly žádný účinek na motorické dovednosti, ale hned po prvních třech měsících se u první skupiny s aktivní léčbou projevilo významné zlepšení ve čtení, pravopisu a chování, oproti druhé skupině. Po přestupu

druhé skupiny na aktivní léčbu byly pozorovány podobné změny, zatímco děti pokračující v aktivní léčbě si svůj pokrok udržely nebo zlepšily (Richardson et al., 2005).

DHA je hlavní součástí fosfolipidů v mozku a v sítnici. Conquer et al. (2000) zjistili, že u pacientů trpících Alzheimerovou chorobou je toto množství DHA v mozku a také v krevním séru sniženo. Johnson & Schaefer (2006) ve své studii uvádějí, že denní příjem 180 mg DHA snižuje o 50 % riziko vzniku demence nebo makulární degenerace, což je onemocnění sítnice projevující se ztrátou centrálního vidění ve stáří. Dávka odpovídá průměrné konzumaci ryb 2,7krát týdně nebo suplementaci 1 g rybího oleje denně.

Conklin et al. (2007) ve své studii uvádí, že užívání vyšších dávek omega-3 MK podporuje tvorbu šedé hmoty mozku a tím ovlivňuje emoční stav jedince. Nízká hladina omega-3 MK pravděpodobně vede k impulzivnímu chování a větším sklonům k depresi, naopak lidé s vysokou hladinou omega-3 MK jsou tolerantnější a emočně stabilnější. Parker et al. (2006) zpracoval souhrn několika dvojité zaslepených placebem kontrolovaných studií, které dokazují spojitost mezi zvýšeným příjmem EPA a DHA a delší dobou remise u pacientů s depresí.

3.5.2.3 Těhotenství a kojení

V období těhotenství a kojení se zvyšují nároky na příjem PUFA, zejména DHA a EPA. Děti, jejichž matky mají ve stravě dostatek omega-3 MK, se pravděpodobně lépe učí mluvit, mají větší slovní zásobu a ostřejší vidění. V klinické studii z roku 2003 byly porovnávány skupiny dětí kojených, dětí krmených umělou výživou neobsahující DHA a AA a dětí krmených umělou výživou obsahující DHA a AA. Cílem bylo zjistit, zda DHA a AA má vliv na celkový vývoj dítěte, psychomotorickou aktivitu, poznávací schopnosti a imunitní systém. Byl pozorován příznivý účinek na zrakové, mentální a psychomotorické funkce dítěte. Koncentrace mastných kyselin v plazmě a červených krvinkách u dětí krmených výživou s DHA a AA se blížila více koncentracím u kojených dětí (Vyhnánková, 2007).

3.5.2.4 Nádorová onemocnění

EPA a DHA přinášejí mnohé zdravotní benefity i pro onkologické pacienty. Je známo, že zánětlivé prostředí přispívá k urychlení kancerogeneze a protizánětlivé látky tento proces zpomalují tzn. aby se projevily protizánětlivé účinky EPA a DHA, je nutno zajistit jejich dostatečný příjem, ale současně i snížit příjem prozánětlivě působících omega-6 MK, kterých je v našem jídelníčku nadbytek. Kromě protizánětlivého účinku, bylo prokázáno působení EPA a DHA na inhibici proliferace a aktivaci apoptózy nádorových buněk, inhibici angiogeneze, invazivity a metastázování, vliv na mezibuněčné spojení a příznivé působení na imunomodulaci. Na základě dostupných preklinických dat se zdají být omega-3 MK slibné jak v prevenci, tak i v kombinaci s onkologickou léčbou na základě jejich synergistického efektu s radioterapií, chemoterapií a cílenou léčbou (Neuwirthová et al., 2016).

3.5.3 Riziko a vedlejší účinky konzumace omega-3 mastných kyselin

Konzumace omega-3 MK je obecně brána za bezpečnou. Pouze dlouhodobá nadměrná konzumace tzn. více než 5 g denně, by mohla vykazovat nežádoucí účinky. Takové množství je obtížné přijmout stravou, ale mohlo by k tomu dojít při nadměrném užívání doplňků stravy. Vysoké riziko hrozí především lidem s nízkou srážlivostí krve nebo lidem užívajícím léky proti srážení krve, u nichž by mohlo způsobit krvácení do gastrointestinálního traktu nebo do mozku. V dosavadních studiích však nebyly zmíněny žádné závažné krvácivé příhody. Pro pacienty s plánovanou operací se doporučuje tři až sedm dní před operací vynechat konzumaci PUFA (Trebatická & Ďuračková, 2015; Goel et al., 2018).

Nadměrný příjem omega-3 MK může způsobovat gastrointestinální dyskomfort (průjem, zácpa, nechutenství, nevolnost, pálení žáhy, říhání a další). Říhání a rybí pachů v ústech je pro mnoho lidí nepříjemná a často také kvůli ní doplňky stravy odmítají. Ruprich et al. v roce 2019 zahájili intervenční studii „Omega-3 index“, ve které respondenti i mj. subjektivně hodnotili výskyt různých zdravotních efektů po pravidelném užívání rybího oleje. Studie se zúčastnilo 28 dospělých osob, kterým byla po dobu čtyř měsíců, minimálně pětkrát týdně, podávána dávka 10 ml rybího oleje Möller's. Olej z tresčích jater s citronovou příchutí obsahoval 2000 mg EPA+DHA a vitaminy A, D, E. Vyhodnocen byl silný vztah mezi konzumací rybího oleje a výskytem říhání (ve 14 % případů), zácpy (v 7 %), nespavosti (ve 4 %), horší nálady, vyšší krvácivosti (např. z nosu) a vyšší tvorbě modřin. Naopak 4 % případů uvedli zlepšení nálady a 7 % případů snížení bolesti kloubů. Téměř polovina všech respondentů uvedla menší počet onemocnění v době intervenční studie, téměř třetina uvedla mírnější průběh symptomů (pokud se onemocnění vyskytlo) a čtvrtina uvedla kratší dobu trvání akutních onemocnění (Ruprich et al., 2021).

Někteří lidé mají obavy z potenciálního příjmu toxinů a dalších kontaminantů jako jsou dioxiny, polychlorované bifenylly (PCB) nebo těžké kovy při konzumaci ryb a doplňků stravy s rybím olejem. Těžké kovy se v rybách vyskytují většinou ve stopovém množství, proto se člověk nemusí otrávit ihned, nicméně dlouhodobá konzumace a kumulace těchto látek v těle nevěští nic dobrého. Vysoké zdravotní riziko představuje organická forma rtuti tzv. methylrtuť. Pozor by si měly dát především těhotné/kojící matky a malé děti, u nichž může dojít k poškození nervové soustavy, zejména mozku. Vysoké koncentrace rtuti obsahují velké dravé ryby živící se menšími rybami, které už v sobě určité množství rtuti mají. Z mořských ryb se jedná o tuňáka, mečouna, žraloka a ze sladkovodních ryb o štika, candáta a bolena. Mezi ryby s nižším obsahem rtuti se řadí treska, sardinky, šproty, ančovičky, kapr, pstruh a další. Státní zdravotní ústav (SZÚ), aby vyvrátil fámy a obavy lidí, provedl v roce 2020 analýzu rybích produktů prodávaných na českém trhu. Uvedli, že aby bylo dosaženo toxikologického limitu, musely by děti sníst týdně 550 g výrobku (jedenáct porcí po 50 g) a dospělé osoby 1900 g výrobku (devatenáct porcí po 100 g) s nejvyšším zjištěným obsahem rtuti, což je nereálné. Toxikologické limity jsou velmi přísné, aby byla zajištěna vysoká ochrana spotřebitele. Nemělo by dojít k poškození zdraví ani pokud by je spotřebitel krátkodobě překročil. Navíc podle údajů Evropské komise sníme v ČR třikrát méně ryb, než je průměr v zemích EU (Ruprich et al., 2020).

3.6 Faktory působící na obsah tuku a složení mastných kyselin tuku ryb

Ryby mají velmi příznivou nutriční hodnotou a jsou pro nás, oproti masu ostatních živočichů, snadno stravitelné. Obsahují vitamin D, vitamin A, jód, vápník, fosfor, zinek, selen, jsou zdrojem plnohodnotných bílkovin, a také mají příznivé složení MK. Podle obsahu tuku je lze rozdělit na málo tučné s obsahem tuku do 2 % (candát, štika, treska), středně tučné s obsahem tuku 2-10 % (pstruh, kapr, sumec, tuňák, žralok) a tučné, které obsahují více jak 10 % tuku (losos, makrela, sled', úhoř). Na obsah tuku a složení MK má vliv řada faktorů. Složení MK ve výsledku určuje nutriční hodnotu (kvalitu), strukturu i vlastnosti rybího tuku (Zajíc et al., 2011).

Tuk v rybím mase je velmi proměnlivou složkou a závisí na vnitřních i vnějších faktorech, které jsou vzájemně provázané a často spolu úzce korespondují. Vnitřními faktory jsou druh, genetický původ, pohlaví, fáze dospívání, typ tkáně, věk a zdravotní stav ryb. Vnějšími faktory jsou salinita, teplota prostředí, výživa a také finální zpracování ryb (Zajíc et al., 2011).

Šimat et al. (2020) ve svém výzkumu pozorovali vliv ročního období na profil MK u Sardinky evropské (*Sardina pilchardus*). Každý měsíc v jednom roce nakoupili v místní chorvatské prodejně ryb přibližně 8 kg sardinek ulovených ve středním Jadranu a ještě ten den provedli analýzu. Výsledky ukázaly, že nejvíce MK bylo v rybách obsaženo v období intenzivního krmení během léta a nejméně v období tření (podzim/zima). Množství SFA bylo nejvyšší od července do září, převažovala kyselina palmitová a následovala ji kyselina myristová a stearová. Nejvyšší hodnoty MUFA byly naměřeny také během července, srpna a září. Dominantní byla kyselina olejová a palmitolejová. Nejvyšší obsah PUFA byl v červenci a v srpnu (více než 3 g/100 g). Dominantní byla EPA a DHA, přičemž DHA tvořila větší podíl než EPA. Nejnižší množství EPA a DHA bylo naměřeno v lednu, únoru a březnu (rozmezí od 0,13 do 0,31 g/100 g). Omega-6 MK byly, ve srovnání s omega-3 MK, v průběhu roku obsaženy ve velmi nízkých hladinách, což vedlo k příznivému poměru omega-3 : omega-6. Výsledky ukazují, že sardinky jsou cenným zdrojem EPA a DHA a lze je považovat za dobrou volbu po celý rok. Rozdílné zastoupení MK během roku je důsledkem krmné aktivity sardinek a sezónních přeměn planktonu, protože profil MK ze sardinek odpovídal profilu MK planktonu. Složení MK odráží všežravé stravovací návyky sardinek, které mohou být býložravé nebo masožravé v závislosti na dostupnosti potravy (Šimat et al., 2020).

Ve studii od Biton-Porsmoguer et al. (2020) byl hodnocen vliv reprodukčního období na profil MK sardele obecné (*Engraulis encrasicolus*). Vzorky dospělých sardelí byly odebrány podél severního Katalánského pobřeží během období tření (jaro/léto, od dubna do června) a v období mimo tření. Analyzováno bylo 9 vzorků v době tření a 13 vzorků mimo tření. Vzorky byly vytvořeny z náhodně vybraných 15 až 90 sardelí podobné délky. Protože vliv pohlaví a délky na obsah lipidů a hladiny MK nebyl významný, seskupili vzorky dohromady. Výsledky ukázaly, že celkový obsah lipidů byl vyšší v době tření než mimo tření (2,46 % vs. 0,89 %). SFA tvořily 33,52 – 43,50 % z celkového množství MK. Nejhojněji byla zastoupena kyselina palmitová. Celkové množství SFA bylo nižší u sardelí v době tření. MUFA byly zastoupeny v množství 15,59 – 17,15 %. Nejhojněji se vyskytovala kyselina olejová, jejíž podíl byl nižší u sardelí v době tření. Naopak tomu bylo u kyseliny erukové, které bylo méně u sardelí ulovených mimo dobu tření. PUFA tvořily 39,34 – 50,90 % z celkového množství MK. Z toho 35,31 –

47,53 % tvořily omega-3 MK. Větší množství EPA a LA bylo naměřeno u sardelí v době tření. Naopak v období mimo tření bylo naměřeno více AA. DHA bylo naměřeno vysoké množství v období tření i v období mimo tření (Biton-Porsmoguer et al., 2020).

Kromě sardelí byly v této studii pozorovány i sardinky evropské (*Sardina pilchardus*), u nichž období tření připadá na podzim/zimu (od listopadu do ledna). Analyzováno bylo 10 vzorků sardinek v době tření a 15 vzorků sardinek mimo tření. Vzorky byly vytvořeny z náhodně vybraných 15 až 40 sardinek podobné délky. V tomto případě vyšel opačný výsledek než u sardelí, tedy že celkový obsah lipidů v době tření byl výrazně nižší než mimo tření (1,78 % vs. 5,86 %). Zároveň to odpovídá předchozí studii od Šimat et al., kde bylo uvedeno, že nejvíce MK bylo obsaženo v sardinkách v období intenzivního krmení během léta a nejméně v období tření. SFA tvořily 37,49 – 46,33 % z celkového množství MK. Nejhojněji zastoupená byla také kyselina palmitová. Celkový podíl SFA byl výrazně vyšší u sardinek v období tření, což je naopak než u sardelí. MUFA tvořily 20,33 – 23,61 % z celkového množství MK. Nejhojněji zastoupena byla také kyselina olejová a celkový podíl MUFA byl nižší v době tření. PUFA tvořily 33,32 – 38,88 % a z toho 30,13 – 35,75 % tvořily omega-3 MK. V období tření i v období mimo tření bylo opět naměřeno vysoké množství DHA. V období tření bylo naměřeno nižší množství EPA, ALA a LA (Biton-Porsmoguer et al., 2020).

4 Materiál a metody

4.1 Materiál

V experimentální části práce bylo analyzováno pět doplňků stravy s obsahem omega-3 MK. Jednalo se o doplněk stravy s čistým rybím olejem Omega 3 Reflex Nutrition, krilový olej značky Reflex Nutrition, rybí olej s tokoferoly Opti Omega-3 orange od výrobce Health Institute, směs rybích olejů a extra panenského olivového oleje Zinzino BalanceOil+ a rybí olej Möller's z tresčích jater s vitamínem E a extraktem tokoferolů. Všechny výrobky byly zakoupeny v červnu roku 2021.

4.1.1 Reflex Nutrition Omega 3

Reflex Nutrition je britská společnost vyrábějící od roku 1996 doplňky stravy a sportovní výživu. Výrobek Omega-3 ve formě želatinových kapslí (pelet) obsahuje koncentrát čistého rybiho oleje. Bližší specifikace rybiho oleje není uvedena. Želatinová kapsle je složena z hovězí želatiny, zvlhčovač (glycerolu) a vody. Datum minimální trvanlivosti uvedený na obalu byl do listopadu 2022. Deklarované složení MK výrobku Reflex Nutrition Omega 3 je uvedeno v tabulce 7 (reflexnutrition.cz).

Tabulka 7: Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Reflex Nutrition Omega 3.

Nutriční hodnota a obsah v:	1 kapsle
Rybí olej koncentrát	1000 mg
z toho EPA	330 mg
z toho DHA	220 mg

Výrobce doporučuje brát jednu kapsli třikrát denně s jídlem tzn. při pravidelné konzumaci by přijaté množství odpovídalo 990 mg EPA, 660 mg DHA, dohromady celkem 1650 mg (1,65 g) EPA + DHA, což splňuje doporučenou denní dávku 250 mg.

4.1.2 Reflex Nutrition Krill Oil

Krilový olej od stejného výrobce Reflex Nutrition je zpracován opět do formy želatinových kapslí. Želatinové kapsle se skládají z hovězí želatiny, zvlhčující látky (glycerolu) a vody. Krilový olej pochází z antarktického krillu *Euphausia superba*. Získané omega-3 MK, jsou vázány na fosfolipidy, díky nimž jsou dobře vstřebatelné pro organismus. Kromě omega-3 MK je zdrojem přírodního antioxidantu astaxantinu, který aktivně odbourává volné radikály. Jedná se o červené karotenoidní barvivo přirozeně se vyskytující v mořských řasách. Krilovému oleji dodává tmavě červenou barvu. Krilový olej je také zdrojem přírodního cholinu, který přispívá k normálnímu metabolismu homocysteinu, k normálnímu metabolismu lipidů a k udržení normální činnosti jater. Datum minimální trvanlivosti uvedený na obalu byl do května 2023. Deklarované složení MK výrobku Reflex Nutrition Krill Oil je uvedeno v tabulce 8 (reflexnutrition.cz).

Tabulka 8: Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Reflex Nutrition Krill Oil.

Nutriční hodnota a obsah v:	1 kapsle
Krilový olej	500 mg
z toho fosfolipidy	210 mg
Omega-3 mastné kyseliny	120 mg
z toho EPA	60 mg
z toho DHA	32 mg
Astaxanthin	150 µg

Výrobce doporučuje konzumaci jednou až dvakrát denně, přičemž konzumace ráno je možná s jídlem i na lačno. Při pravidelné konzumaci by denní příjem omega-3 MK vycházel na 240 mg z toho 120 mg EPA a 64 mg DHA. Dohromady celkem 184 mg (0,184 g) EPA + DHA, což nesplňuje doporučenou denní dávku 250 mg.

4.1.3 Health Institute Opti Omega-3 orange

Opti Omega-3 orange je tekutý rybí olej s příchutí pomeranče vyrobený českou firmou Health Institute založenou v roce 2008. Jedná se o trojitě filtrovaný rybí olej původem z Islandu obohacen o směs tokoferolů. Jaké druhy ryb byly použity na výrobu není na produktu uvedeno. Skladován byl v tmavé skleněné 200 ml lahvičce. Minimální trvanlivost uvedená na obalu byla do listopadu 2022. Deklarované složení MK výrobku Health Institute Opti Omega-3 orange je uvedeno v tabulce 9.

Tabulka 9: Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Health Institute Opti Omega-3 orange.

Nutriční hodnota a obsah v:	100 g
Energetická hodnota	3750 kJ
Sacharidy	0
Bílkoviny	0
Tuk	100 g
Nasyčené mastné kyseliny	25 – 28 g
Mononenasycené mastné kyseliny	22 – 25 g
Polynenasycené mastné kyseliny	48 – 51 g
Omega-3 mastné kyseliny	38 – 41 g
z toho EPA	18 – 19,5 g
z toho DHA	11,8 – 13,1 g

Výrobce doporučuje konzumovat půl až jednu polévkovou lžici oleje denně, nejlépe po jídle. Toto množství odpovídá zhruba 5 – 10 g rybího oleje a v přepočtu by mělo obsahovat 1900 – 3800 mg omega-3 MK, z toho 900 – 1800 mg EPA a 590 – 1180 g DHA. Dohromady celkem 1490 – 2980 mg (1,49 – 2,98 g) EPA + DHA, což splňuje doporučené množství 250 mg.

4.1.4 Zinzino BalanceOil+

BalanceOil+ od značky Zinzino je prezentován jako polyfenolový doplněk stravy pro vyváženost omega-3 MK. Jedná se o směs olejů z malých ryb ulovených ve volné přírodě (ančoviček, makrel, sardinek) a extra panenského olivového oleje s přidavkem tokoferolů a vitamínu D₃ (cholecalciferolu). Olivový olej je vyroben ze španělských oliv Picual předsklizňové kvality. Odstraněním pecky a lisováním plodů za studena vznikne extra panenský olivový olej, který je bohatým zdrojem polyfenolů, fytonutrientů, omega-9 MK a zvyšuje oxidační stabilitu omega-3 MK. Polyfenoly se vážou na omega-3 MK a působí jako antioxidanty, zajišťují přenos a bezpečné uložení omega-3 MK do buněčných membrán. Používané tokoferoly jsou vyráběny z destilátů oleje ze sójových bobů, který je bez genetické modifikace a vysoce rafinovaný. Tyto destiláty procházejí další rafinací, aby neobsahovaly žádné sójové proteiny tzn. že v přípravku nejsou přítomny žádné alergeny. Výrobce uvádí, že BalanceOil+ obsahuje alfa-, beta-, gama- a delta-tokoferoly. Používaný vitamin D₃ se vyrábí rozpuštěním prekurzoru vitamínu D₃ z lanolinu, což je tuk z ovčí vlny. Poté je chemicky upraven a aktivován působením ultrafialového (UV) záření. Tento chemický proces je srovnatelný s tím, co se děje v lidské kůži při vystavení slunečnímu záření. Výrobek měl pomeranč-citrón-máta příchut' a byl umístěn ve skleněné tmavé 300 ml lahvičce. Minimální trvanlivost uvedená na obalu byla do září 2023. Deklarované složení MK výrobku Zinzino BalanceOil+ je uvedeno v tabulce 10 (zinzino.com).

Tabulka 10: Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Zinzino BalanceOil+.

Nutriční hodnota a obsah v:	7,5 ml	12 ml
Rybí tuk	4142 mg	6627 mg
Omega-3 mastné kyseliny	1549 mg	2478 mg
z toho EPA	802 mg	1283 mg
z toho DHA	427 mg	683 mg
Olivový olej	2557 mg	4092 mg
z toho kyselina olejová (omega-9)	1918 mg	3069 mg
z toho polyfenoly	2,2 mg	3,5 mg
Vitamin D ₃	12,6 µg (250 % DDD)	20 µg (400 % DDD)

Výrobce doporučuje užívání 0,15 ml doplňku stravy na kilogram tělesné hmotnosti. Doporučená dávka pro dospělého s tělesnou hmotností do 50 kg je 7,5 ml denně, což odpovídá 1549 mg omega-3 MK, z toho 802 mg EPA a 427 mg DHA. Dohromady celkem 1229 mg EPA + DHA. Doporučená dávka pro dospělého s tělesnou hmotností do 80 kg je 12 ml denně, což odpovídá 2478 mg omega-3 MK, z toho 1283 mg EPA a 683 mg DHA. Dohromady celkem 1966 mg EPA + DHA, což splňuje doporučené množství 250 mg.

4.1.5 Möller's rybí olej z tresčích jater

Nejstarší norská značka Möller's byla založena v roce 1854 lékárníkem Peterem Möllem. Zprvu byl rybí olej používán jako olej do lamp a jako impregnace vlny a kůže. Již v roce 1645 se objevily první zprávy o tom, že by rybí olej mohl být prospěšný pro zdraví, ale

pro svou špatnou chuť a kvalitu nebyl vhodný ke konzumaci. V roce 1854 přišel Peter Möller se svým novým vylepšeným rybím olejem z tresčích jater, kde se hromadí tuk společně s vitaminy A, D a E. Výrobce uvádí, že tresky používané na výrobu rybího oleje jsou loveny v severní oblasti Norského moře u ostrovů Lofoty v hlavní lovné sezoně od února do května. Díky zpracovatelským závodům umístěným podél pobřeží Lofot je rybí olej extrahován pomocí parní technologie z čerstvých tresek nejpozději následující den po ulovení a rychle ošetřen dusíkem jako ochrana před oxidací. Získaný olej je převezen do závodu Peter Möller's v Oslu, kde prochází kontrolou oxidace a obsahu omega-3 MK. Pokud splňuje kontrolu kvality, odstraní z něj nasycené tuky (přirozeně se vyskytující v tresčích játrech), bílkoviny (aby mohly rybí tuk užívat i osoby s alergií na ryby), zbytky vody z odpařování a vyčistí ho od případných znečišťujících látek a produktů oxidace (mollersomega3.cz).

Rybí olej byl zakoupen v tmavě zelené skleněné 250 ml lahvičce. Obsahoval citrónové aroma, DL-alfa-tokoferyl-acetát (vitamin E) a extrakt s vysokým obsahem tokoferolů. Minimální trvanlivost uvedená na obalu byla do února 2023. Před otevřením má trvanlivost dva roky, po otevření musí být spotřebován do tří měsíců a skladován v lednici. Deklarované složení MK výrobku Möller's rybí olej z tresčích jater je uvedeno v tabulce 11.

Tabulka 11: Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Möller's rybí olej z tresčích jater.

Nutriční hodnota a obsah v:	5 ml
Omega 3 mastné kyseliny	1 200 mg
z toho EPA	400 mg
z toho DHA	600 mg
Vitamin E	3 mg (25 % DDD)
Vitamin A	250 µg (31 % DDD)
Vitamin D	10 µg (200 % DDD)

Výrobce doporučuje konzumovat 5 ml rybího oleje denně, ve kterém by mělo být obsaženo 1200 mg omega-3 MK, z toho 400 mg EPA a 600 mg DHA. Dohromady celkem 1000 mg EPA + DHA, což splňuje doporučené množství 250 mg.

4.2 Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie

Jednou z možností, jak kvantitativně i kvalitativně určit složení rybích olejů je metoda plynové chromatografie (GC). Aby bylo možné stanovit profil MK, bylo nutné MK převést na těkavější deriváty (methylestery). Toho bylo dosaženo pomocí metody kyselé esterifikace tzv. transesterifikace, při níž byly volné MK esterifikovány zahříváním v přebytku methanolu za přítomnosti kyselého katalyzátoru (fluoridu boritého). Vzniklé methylestery byly extrahovány do hexanu (Klouda, 2003).

GC je analytická separační metoda, jejímž principem je rozdělení složek obsažených ve vzorku mezi stacionární a mobilní fázi. Jednotlivé složky vzorku byly v koloně separovány na základě odlišné afinity ke stacionární fázi a následně postupně vymývány nosným plynem (mobilní fázi). Frakce směsi byly na výstupu z kolony detekovány, a z časového průběhu signálu byl určen druh a kvantitativní zastoupení složek (Klouda, 2003).

4.2.1 Materiál, pomůcky a přístroje

Profily MK byly stanoveny u pěti výše zmíněných doplňků stravy obsahujících omega-3 MK: Reflex Nutrition Omega 3, Reflex Nutrition Krill Oil, Health Institute Opti Omega-3 orange, Zinzino BalanceOil+ a Möller's rybí olej z tresčích jater. K provedení této analýzy byl použit petroleter, methanol, methanolický hydroxid draselný (0,5 M KOH), fluorid boritý (BF₃), síran sodný bezvodý, hexan a nasycený roztok chloridu sodného (NaCl). Dále byly použity 100 ml varné baňky, nálevka, filtrační papír, kádinky, pipety, rotační vakuová odparka Laborota 4000, Soxhletův extraktor a GC.

4.2.2 Postup

Do 100 ml kádinek byly na analytických vahách naváženy cca 2-3 g vzorku. Vzorky byly zalaty 50 ml petroletheru a na tři minuty vloženy do ultrazvukové třepačky. Mezitím byla připravena 100 ml varná baňka, do které byla vložena nálevka s filtračním papírem. Po promíchání na ultrazvukové třepačce byl vzorek přefiltrován do varné baňky a odpařen na rotační vakuové odparce za sníženého tlaku. Po odpaření bylo do vzorku přidáno 5 ml methanolu, 3 ml methanolického KOH, 1,5 ml BF₃ a varný kamínek. Podle návodu měl být přidán 1 ml methanolického KOH, ale protože se jednalo o hodně nenasyčené vzorky, u nichž esterifikace trvá déle, byly vzhledem k předešlým zkušenostem přidány rovnou 3 ml KOH. Takto připravená varná baňka byla vložena do topného hnízda, byl na ni nasazen chladič, do kterého byla vpuštěna studená voda a vařila se 45 minut. Mezitím byl vytvořen přesycený roztok chloridu sodného a byly připraveny vialky s trochou síranu sodného bezvodého. Pokud se po 45 minutách na dně varné baňky stále vyskytovala mastná skvrna, byly do vzorku přidány další 2 ml methanolického KOH a vzorek se nechal dalších 15 minut vařit. Takto bylo opakováno, dokud mastná skvrna nezmizela. Po vymizení mastné skvrny byla varná baňka vyndána z topného hnízda a zchlazena na laboratorní teplotu. Poté bylo přes vršek chladiče přidáno pipetou 5 ml hexanu. Po odkapání byl z varné baňky chladič vytažen a uzavřen kohoutek studené vody. Do poloviny objemu varné baňky byl přidán nasycený roztok NaCl, krouživým pohybem obsah baňky promíchán a dolit roztokem NaCl až do hrdla baňky. 30 minut se vzorek nechal v klidu, aby se od sebe oddělily dvě fáze, poté byla horní vrstva opatrně převedena pipetou do připravených vialek s bezvodým síranem sodným. Vialky byly uloženy do mrazáku, do té doby, než byly analyzovány na GC.

4.3 Stanovení obsahu sušiny

Obsah sušiny ve vzorcích byl stanoven metodou zvanou sušení do konstantní hmotnosti. Principem stanovení sušiny je zahřátí vzorku na takovou teplotu, při níž se odpaří voda. V tomto případě probíhalo sušení při teplotě 103 °C. Z rozdílů hmotností byl vypočten obsah sušiny (resp. vody) v procentech.

4.3.1 Materiál, pomůcky a přístroje

Stanovení obsahu sušiny bylo provedeno u pěti výše zmíněných doplňků stravy obsahujících omega-3 MK: Reflex Nutrition Omega 3, Reflex Nutrition Krill Oil, Health Institute Opti Omega-3 orange, Zinzino BalanceOil+ a Möller's rybí olej z tresčích jater. K pokusu byly použity keramické kelímky, lžička, pískem, analytické váhy, exsikator a sušárna Memmert nastavená na 103 °C.

4.3.2 Postup

Do 10 keramických kelímků (ke každému vzorku dvě opakování) byly naváženy 2 g písku, aby se při sušení olej na povrchu nesrazil a nevznikla krusta. Kelímky s pískem se daly přes noc vyžít do sušárny nastavené na 103 °C. Druhý den byly kelímky vyndány a 40 minut chlazeny v exsikatoru. Zchlazené vyžítané kelímky s pískem byly zváženy na analytických vahách a jejich hmotnost zaznamenána s přesností na čtyři desetinná místa. Poté byl do kelímku navážen jeden gram vzorku a váha kelímku s pískem a se vzorkem opět zaznamenána. Kelímky s pískem a se vzorkem byly opět vloženy do sušárny nastavené na 103 °C a tři hodiny sušeny. Po vyndání byly 40 minut chlazeny v exsikatoru, zváženy a opět vloženy zpět do sušárny. Tentokrát byly vyndány po jedné hodině, zchlazeny a zváženy. Takto bylo opakováno, dokud rozdíl dvou po sobě jdoucích vážení nebyl menší než 0,001 gramu. Jelikož vzorky Reflex Nutrition Omega 3 a Health Institute Opti Omega-3 orange po vložení do sušárny začly ihned oxidovat a výsledky z prvního pokusu nebyly použitelné, byl u nich proveden druhý pokus, při kterém byly hmotnosti zaznamenávány po 30 minutách sušení. I přesto u vzorku Reflex Nutrition Omega 3 vyšel výsledek pouze u jednoho opakování. Z naměřených hmotností byl vypočten procentuální obsah sušiny (resp. obsah vody). Od naměřené hmotnosti kelímku s pískem a se vzorkem před sušením byla odečtena hmotnost kelímku s pískem a se vzorkem po sušení, vyšlé číslo bylo vyděleno hmotností vzorku před sušením a vynásobeno stem. Takto byl vypočten obsah vody v procentech (viz rovnice 7). Obsah sušiny byl zjištěn odečtením procentuálního zastoupení vody od sta procent (viz rovnice 8).

Rovnice 7: rovnice pro výpočet obsahu vody (w).

$$\text{obsah vody} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100 (\%) \quad (7)$$

kde:

m_1 = hmotnost kelímku s pískem před sušením (v gramech)

m_2 = hmotnost kelímku s pískem a se vzorkem před sušením (v gramech)

m_3 = hmotnost kelímku s pískem a se vzorkem po sušení (v gramech)

Rovnice 8: rovnice pro výpočet obsahu sušiny.

$$\text{obsah sušiny} = 100 - \text{obsah vody} (\%) \quad (8)$$

4.4 Stanovení oxidační stability Schaalovým testem

Stanovení oxidační stability se provádí z důvodu odhadu doby skladovatelnosti tuku (oleje) nebo posouzení účinnosti antioxidantů. Jednou z možností, jak sledovat oxidační stabilitu je metoda zvaná Schaalův test. Díky tomu, že byly vzorky vystaveny zvýšeným teplotám a přítomnosti kyslíku, došlo ke zrychlené oxidaci. Oxidační proces by se měl vyvíjet přibližně stejně jako při pokojové teplotě, pouze rychleji. Test by měl být prováděn ve tmě, aby se zabránilo oxidaci vyvolané světlem, počáteční kvalita oleje by měla být vysoká a poměr povrchu k objemu by měl být u všech vzorků stejný. Délka indukční fáze odráží oxidační stabilitu vzorku. Krátká indukční fáze naznačuje nízkou oxidační stabilitu vzorku. Výhodou tohoto testu je jeho jednoduchost a nízké požadavky na vybavení. Nevýhodou může být časová náročnost (O'Keefe & Pike, 2010).

4.4.1 Materiál, pomůcky a přístroje

Stanovení oxidační stability bylo provedeno u pěti výše zmíněných doplňků stravy obsahujících omega-3 MK: Reflex Nutrition Omega 3, Reflex Nutrition Krill Oil, Health Institute Opti Omega-3 orange, Zinzino BalanceOil+ a Möller's rybí olej z tresčích jater. K provedení tohoto pokusu bylo použito třináct 100 ml kádinek, skalpel na proříznutí želatinových kapslí, analytické váhy a horkovzdušná sušárna s nucenou cirkulací a časovačem Binder FED 115.

4.4.2 Postup

Ze senzorické laboratoře bylo zapůjčeno třináct 100 ml kádinek označených vyrytými čtyřmístnými čísly. Do každé kádinky bylo na analytických vahách naváženo zhruba 20 g příslušného doplňku stravy. Od každého doplňku stravy byly vytvořeny vždy tři paralelní vzorky, kromě krilového oleje od značky Reflex Nutrition, ze kterého byl vytvořen pouze jeden vzorek, neboť se krilový olej obtížně dostával ven z želatinových kapslí. Otevřené kádinky se vzorky byly umístěny do horkovzdušné sušárny a zahřívány na 60 °C za přítomnosti kyslíku. Po dobu jednoho měsíce byly kádinky pravidelně váženy na analytických vahách a byl sledován jejich hmotnostní nárůst, který poukazoval na tvorbu oxidačních produktů ve vzorku. Zprvu byly vzorky váženy po 24 hodinách, a poté dvakrát až třikrát do týdne. Před vážením byly vždy nechány cca 30 minut vychladnout. Relativní nárůst hmotnosti byl vypočítán podle vzorce m_t/m_0 , kde m_t představuje hmotnost oleje v jednotlivých dnech vážení a m_0 hmotnost oleje v nultý den vážení, tedy v den, kdy byl pokus založen. Vypočtené hodnoty byly vyneseny do grafu v programu Microsoft Office 365 Excel, výsledné grafy byly porovnány a vyhodnoceny rozdíly v indukčních fázích mezi jednotlivými vzorky.

5 Výsledky

5.1 Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie

Stanovení profilů MK je zpracováno do dvou tabulek. Přehled hlavních MK analyzovaných v doplňcích stravy je uveden v tabulce 12. Celkový obsah SFA se u vzorků pohyboval v rozmezí 7,28 % až 38,70 %, celkový obsah MUFA v rozmezí 18,27 % až 44,54 % a celkový obsah PUFA v rozmezí 20,71 % až 54,71 %. V tabulce 13 je uveden součet EPA a DHA, celkové množství omega-3 a omega-6 MK a některé poměry.

Tabulka 12: Přehled hlavních MK (v %) v analyzovaných doplňcích stravy s omega-3 MK.

mastná kyselina	zkrácený zápis	Reflex Nutrition Omega 3	Reflex Nutrition Krill Oil	Health Institute Opti Omega-3 orange	Zinzino Balance Oil+	Möller's rybí olej z tresčích jater
kaprylová	C8:0	0,31	0,52	0,29	1,38	0,98
kaprinová	C10:0	0,27	0,36	-	-	0,17
laurová	C12:0	-	0,14	0,14	0,10	0,20
myristová	C14:0	0,11	8,86	8,02	5,31	4,43
pentadekanová	C15:0	-	0,49	0,56	0,35	0,36
palmitová	C16:0	0,64	25,92	11,45	10,94	9,62
heptadekanová	C17:0	0,28	0,15	0,33	0,22	0,11
stearová	C18:0	2,95	1,60	2,52	2,80	2,22
arachidová	C20:0	1,94	0,42	0,59	0,64	0,21
heneikosanová	C21:0	0,48	0,24	0,49	0,25	0,63
behenová	C22:0	0,30	-	0,10	0,12	0,11
celkem SFA		7,28	38,70	24,49	22,11	19,04
myristolejová	C14:1	-	0,11	0,14	0,15	0,11
palmitoolejová	C16:1	0,56	5,42	8,53	6,91	8,31
heptadecenová	C17:1	0,13	0,17	0,16	0,14	0,28
olejová	C18:1 n-9	9,55	17,91	13,78	35,17	16,61
asklepová	C18:1 n-11 <i>cis</i>	1,57	0,40	-	-	-
eikosenová	C20:1 n-9	2,58	0,57	1,06	1,12	12,96
cetolejová	C22:1 n-11	2,50	-	0,44	0,39	-
eruková	C22:1 n-9	0,55	0,63	0,17	0,27	1,25
nervonová	C24:1	0,83	0,15	0,56	0,39	0,65
celkem MUFA		18,27	25,36	24,84	44,54	40,17

Tabulka 12: Přehled hlavních MK (v %) v analyzovaných doplňcích stravy s omega-3 MK – pokračování.

mastná kyselina	zkrácený zápis	Reflex Nutrition Omega 3	Reflex Nutrition Krill Oil	Health Institute Opti Omega-3 orange	Zinzino Balance Oil+	Möller's rybí olej z tresčích jater
ALA	C18:3 n-3	1,16	0,77	0,99	0,75	0,76
eikosatrienová	C20:3 n-3	0,30	0,12	0,11	-	0,17
EPA	C20:5 n-3	28,90	16,41	17,29	12,40	7,94
DPA	C22:5 n-3	1,80	-	2,52	1,46	1,28
DHA	C22:6 n-3	22,55	8,82	13,36	6,48	10,56
LA	C18:2 n-6 <i>cis</i>	1,04	2,31	1,33	3,12	2,15
linolelaidová	C18:2 n-6 <i>trans</i>	0,59	0,28	0,18	0,21	0,36
eikosadienová	C20:2 n-6	1,94	1,78	3,42	1,87	2,64
dokosadienová	C22:2 n-6	1,62	0,29	0,93	0,61	0,67
GLA	C18:3 n-6	0,15	0,15	0,29	0,16	0,15
di homo- γ -linolenová	C20:3 n-6	0,31	-	0,21	0,14	6,52
AA	C20:4 n-6	2,35	0,56	1,13	0,93	0,45
celkem PUFA		62,71	31,49	41,76	28,13	33,65

Ostatní MK detekovány v množství pod 0,5 %.

Tabulka 13: Součet EPA a DHA, celkové množství omega-3 a omega-6 MK a vypočtené poměry.

	Reflex Nutrition Omega 3	Reflex Nutrition Krill Oil	Health Institute Opti Omega-3 orange	Zinzino Balance Oil+	Möller's rybí olej z tresčích jater
EPA + DHA	51,45	25,23	30,65	18,88	18,50
omega-3 celkem	54,71	26,12	34,27	21,09	20,71
omega-6 celkem	7,41	5,09	3,89	6,83	12,58
omega-3 : omega-6	7,38:1	5,13:1	8,81:1	3,09:1	1,65:1
SFA : MUFA : PUFA	1:2,51:8,61	1,53:1:1,24	1:1,01:1,71	1:2,01:1,27	1:2,11:1,77

5.2 Stanovení obsahu sušiny

Stanovený obsah vody a sušiny v analyzovaných doplňcích stravy s omega-3 MK je uveden v tabulce 14. Obsah sušiny se u vzorků pohyboval v rozmezí od 96,5 % do 99,9 %. Nejméně sušiny obsahoval Reflex Nutrition Krill Oil, naopak nejvíce sušiny Reflex Nutrition Omega 3.

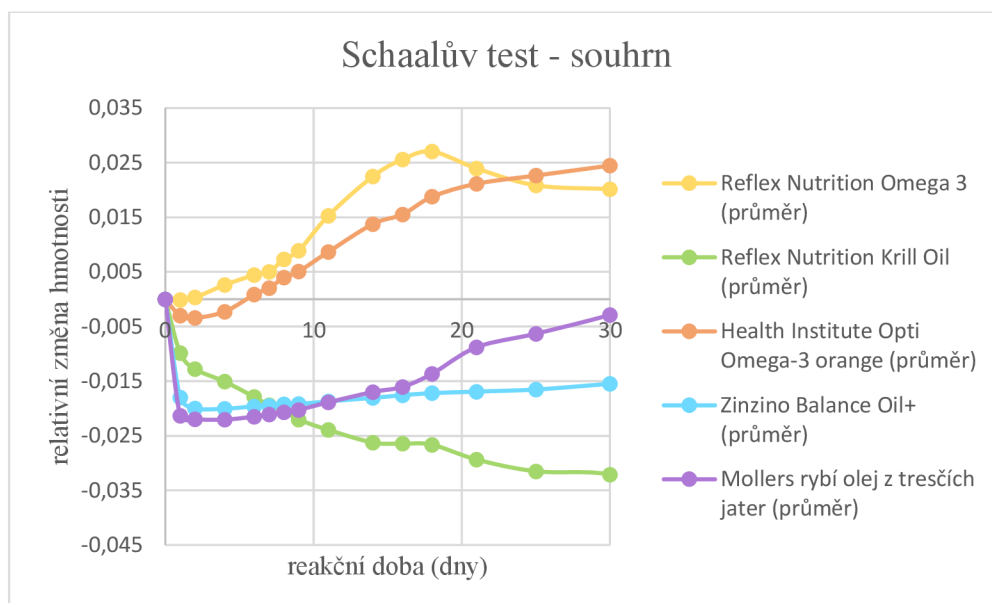
Tabulka 14: Stanovený obsah sušiny a vody (v %) u doplňků stravy s omega-3 MK (\pm SD).

vzorek	obsah vody (%)	průměr (%) \pm SD	obsah sušiny (%)	průměr (%)
Reflex Nutrition Omega 3	-	0,0483	-	99,9
	0,0483		99,9517	
Reflex Nutrition Krill Oil	3,5188	3,4817 \pm 0,0371	96,4812	96,5
	3,4446		96,5554	
Health Institute Opti Omega-3 orange	0,0295	0,0893 \pm 0,0598	99,9705	99,9
	0,1490		99,8510	
Zinzino BalanceOil+	0,9317	0,9438 \pm 0,0121	99,0683	99,0
	0,9560		99,0440	
Möller's rybí olej z tresčích jater	1,4045	1,4974 \pm 0,0929	98,5955	98,5
	1,5903		98,4097	

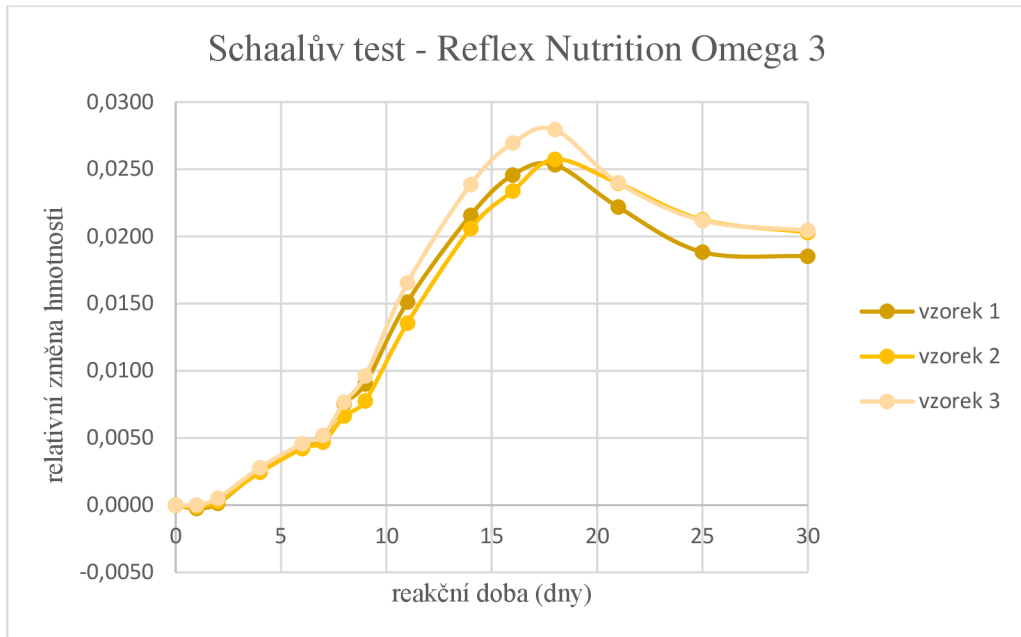
5.3 Stanovení oxidační stability Schaalovým testem

V grafu 1 jsou souhrnně znázorněny křivky Schaalova testu všech analyzovaných vzorků. Z křivek vynesných na grafech 2-6 byly odečteny indukční periody (IP), které jsou zaznamenány v tabulce 15. Na základě indukčních period byla porovnána oxidační stabilita jednotlivých vzorků.

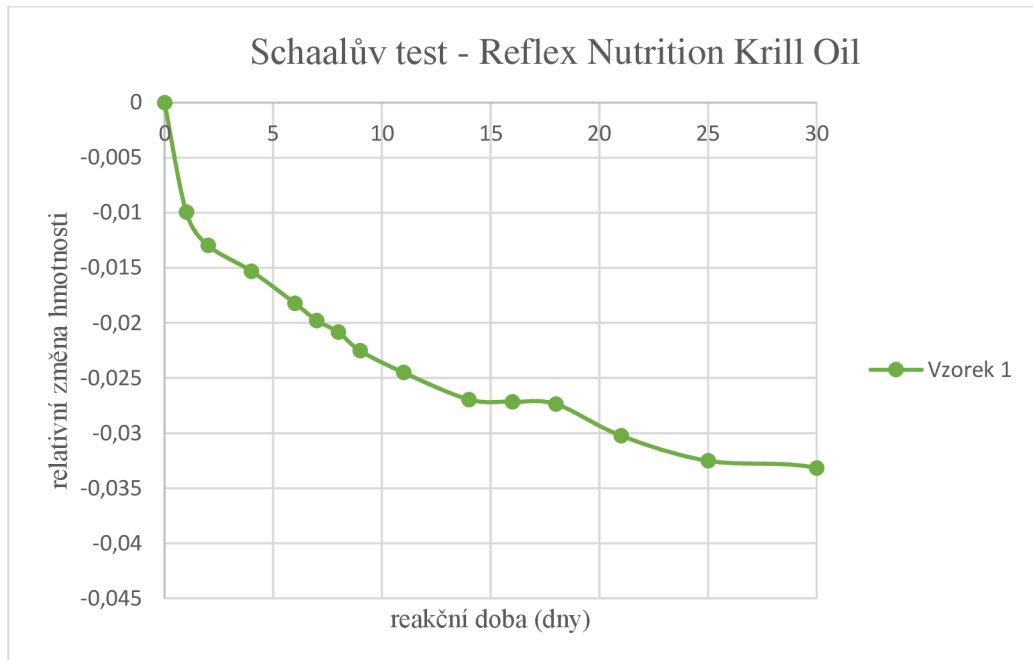
Graf 1: Souhrnný graf naměřených hodnot Schaalova testu pro všechny analyzované vzorky.



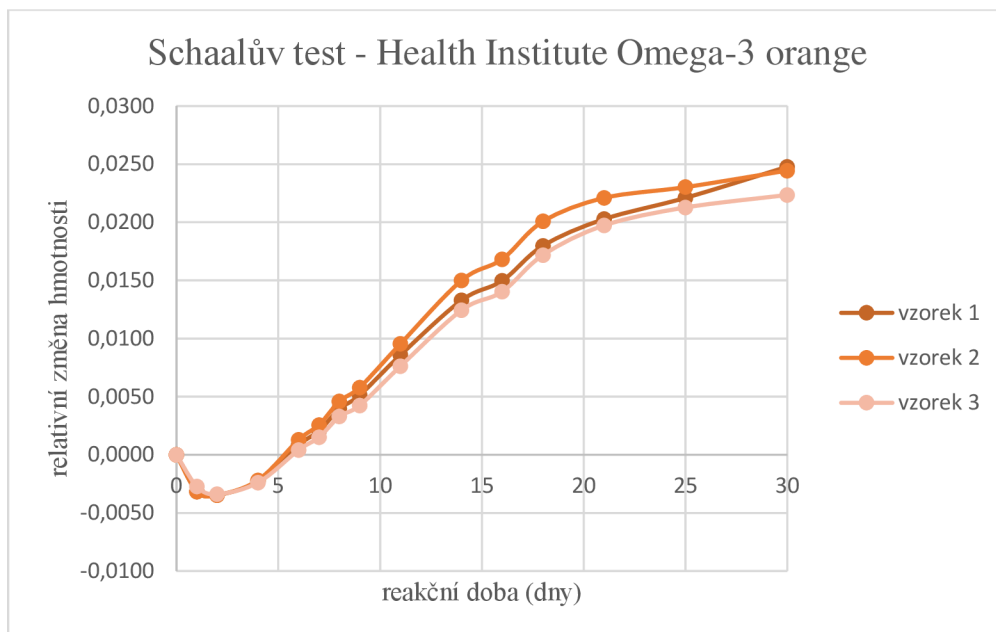
Graf 2: Křivka naměřených hodnot Schaalova testu pro tři vzorky doplňku stravy Reflex Nutrition Omega 3.



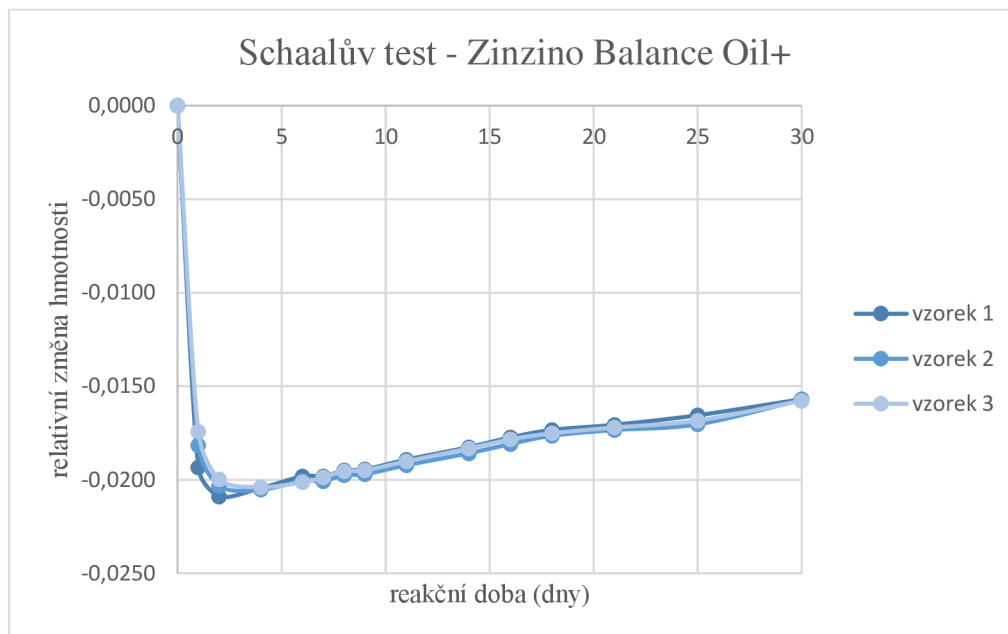
Graf 3: Křivka naměřených hodnot Schaalova testu pro jeden vzorek doplňku stravy Reflex Nutrition Krill Oil.



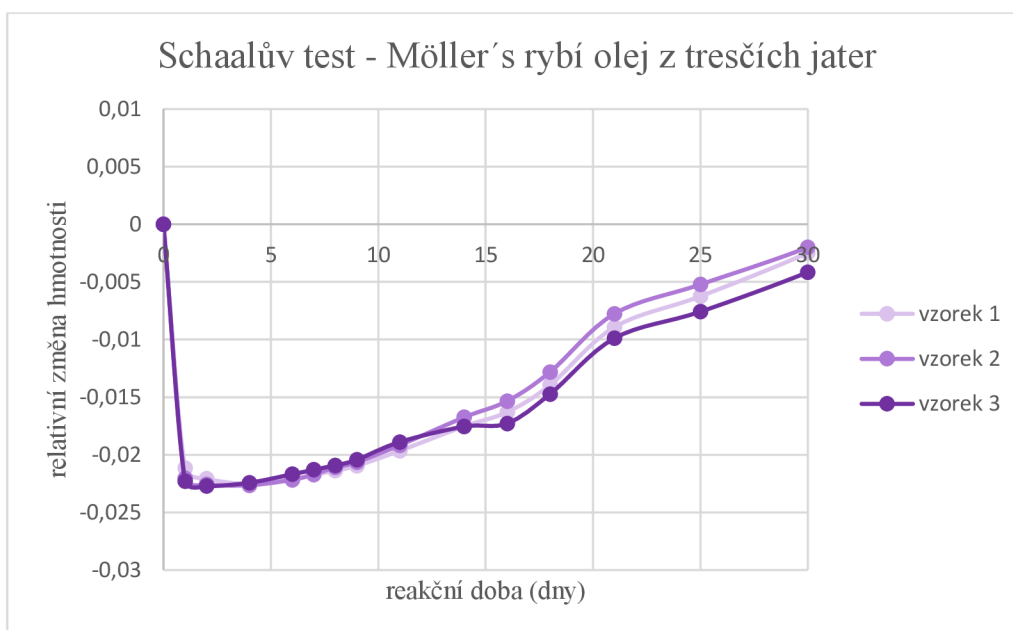
Graf 4: Křivka naměřených hodnot Schaalova testu pro tři vzorky doplňku stravy Health Institute Omega-3 orange.



Graf 5: Křivka naměřených hodnot Schaalova testu pro tři vzorky doplňku stravy Zinzino Balance Oil+.



Graf 6: Křivka naměřených hodnot Schaalova testu pro tři vzorky doplňku stravy Möller's rybí olej z tresčích jater.



Tabulka 15: Indukčních periody (dny) stanovené z relativního nárůstu hmotnosti.

doplňěk stravy	IP (dny)
Reflex Nutrition Omega 3	2
Reflex Nutrition Krill Oil	-
Health Institute Opti Omega-3 orange	4
Zinzino BalanceOil+	>30
Möller's rybí olej z tresčích jater	8

6 Diskuze

6.1 Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie

Nejhojněji zastoupenými SFA v analyzovaných doplňcích stravy byly kyselina palmitová, kyselina myristová a kyselina stearová. Nejvíce kyseliny palmitové (25,92 %) obsahoval krilový olej, což je o více než polovinu oproti ostatním olejům. Nejhojněji zastoupenými MUFA byly kyselina olejová, kyselina palmitoolejová a kyselina eikosenová. Výrazně větší množství kyseliny olejové obsahoval, oproti ostatním olejům, Zinzino Balance Oil+ s přídavkem olivového oleje (35,17 %). Výrazně větší množství kyseliny eikosenové, oproti ostatním vzorkům, bylo obsaženo v Möller's rybím oleji z tresčích jater (12,96 %).

Pokud bychom si měly výrobky seřadit sestupně podle analyzovaného množství PUFA, na prvním místě, s největším množstvím PUFA, by se umístil výrobek Reflex Nutrition Omega 3, který obsahoval 62,71 % PUFA. Na druhém místě Health Institute Opti Omega-3 orange s celkem 41,76 % PUFA. Na třetím místě Möller's rybí olej z tresčích jater s celkem 33,65 % PUFA. Na čtvrtém místě Reflex Nutrition Krill Oil s 31,49 % PUFA. A na pátém místě Zinzino Balance Oil+ s přídavkem olivového oleje, který obsahoval 28,13 % PUFA. To znamená, že podle zastoupení PUFA by měl být nejméně stabilní vůči oxidaci čistý Omega 3 od značky Reflex Nutrition a nejvíce stabilní Zinzino Balance Oil+, který obsahoval nejméně PUFA a zároveň obsahoval olivový olej, který díky vysokému obsahu polyfenolů zpomaluje oxidační proces.

Co se týče obsahu omega-3 MK, tak by bylo pořadí výrobků trochu jiné. Na prvním místě by se umístil výrobek Reflex Nutrition Omega 3, který obsahoval dohromady 54,71 % omega-3 MK (z toho 51,45 % EPA a DHA). Druhé místo je také shodné a patří výrobku Health Institute Opti Omega-3 orange, který obsahoval dohromady 34,27 % omega-3 MK (z toho 30,65 % EPA a DHA). U těchto dvou olejů výrobci neuvedli, z jakých druhů ryb byly oleje získány, a proto je komplikované námi získané výsledky porovnat s již dříve zveřejněnými výsledky. Na třetím místě by se v tomto případě umístil krilový olej od značky Reflex Nutrition, který obsahoval 26,12 % omega-3 MK (z toho 25,23 % EPA a DHA). Krilový olej analyzovaný ve studii Castro-Gómez et al. (2015) obsahoval 21,45 % a ve studii Fuller et al. (2020) 19,1 % EPA + DHA, což je v obou případech o trochu méně než v našem vzorku (Castro-Gómez et al., 2015). Na čtvrtém místě by se umístil Zinzino BalanceOil+ s celkem 21,09 % omega-3 MK (z toho 18,88 % EPA a DHA). Zinzino BalanceOil+ je získán z ančoviček, makrel i sardinek, tudíž je také komplikované porovnat jeho složení s jinými oleji. Na pátém místě by se umístil Möller's rybí olej z tresčích jater s celkem 20,71 % omega-3 MK (z toho 18,50 % EPA a DHA). Nicméně rozdíl mezi čtvrtým a pátým místem (Zinzino Balance Oil+ a Möller's rybí olej z tresčích) jsou minimální. Olej z tresčích jater analyzovaný ve studii od Guil-Guerrero et al. obsahoval dohromady 21,57 % EPA a DHA a ve studii od Indartia et al. 19,8 % EPA a DHA, což je v porovnání s našim vzorkem o trochu víc (Indartia et al., 2005; Guil-Guerrero & Belarbi, 2001).

Pokud bychom měli zhodnotit doplňky stravy z hlediska, poměru omega-3 : omega-6 MK nejlépe dopadl výrobek Health Institute Opti Omega-3 orange s poměrem 8,81 : 1 a Reflex Nutrition Omega 3 s poměrem 7,38 : 1. Z hlediska poměru SFA : MUFA : PUFA byl na tom nejlépe výrobek Reflex Nutrition Omega 3 s poměrem 1 : 2,51 : 8,61.

6.2 Stanovení obsahu sušiny

Výrobek Reflex Nutrition Omega 3 obsahoval 99,9 % sušiny. Pokud bychom procentuální zastoupení omega-3 MK přepočítali na gramy, vyjde nám, že 100 g výrobku obsahovalo 54,44 g omega-3 MK, z toho 28,75 g EPA a 22,44 g DHA (dohromady 51,19 EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství 250 mg EPA + DHA za den, museli bychom zkonsumovat 0,49 g tohoto výrobku (cca půlka želatinové kapsle). Abychom přijali 2 g EPA + DHA, které přispívají k udržení správné hladiny triglyceridů v krvi, museli bychom zkonsumovat 3,91 g tohoto výrobku (cca 4 želatinové kapsle). Abychom přijali 3 g EPA + DHA, které přispívají k udržení normálního krevního tlaku, museli bychom zkonsumovat 5,86 g tohoto výrobku (cca 6 želatinových kapslí). Výrobce deklarované množství v jedné želatinové kapsli, která váží 1000 mg, je 550 mg EPA + DHA (viz tabulka 7). Podle naší analýzy 1000 mg výrobku obsahuje 512 mg EPA + DHA, což by znamenalo, že výrobcem deklarované množství nebylo splněno.

Výrobek Reflex Nutrition Krill oil obsahoval 96,5 % sušiny. Pokud bychom procentuální zastoupení omega-3 MK přepočítali opět na gramy, vyjde nám, že 100 g výrobku obsahovalo 25,21 g omega-3 MK, z toho 15,84 g EPA a 8,51 g DHA (dohromady 24,35 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství 250 mg EPA + DHA za den, museli bychom zkonsumovat 1,03 g tohoto výrobku (cca 2 želatinové kapsle). Abychom přijali 2 g EPA + DHA, museli bychom zkonsumovat 8,21 g tohoto výrobku (cca 16 želatinových kapslí). A bychom přijali 3 g EPA + DHA, museli bychom zkonsumovat 12,32 g tohoto výrobku (cca 24 želatinových kapslí). Deklarované množství výrobcem v jedné želatinové kapsli, která váží 500 mg, je 92 mg EPA + DHA (viz tabulka 8). Podle naší analýzy 500 mg výrobku obsahuje 120 mg EPA + DHA tzn. výrobcem deklarované množství bylo splněno.

Výrobek Health Institute Opti Omega-3 orange obsahoval 99,9 % sušiny. Z přepočtu procentuálního zastoupení omega-3 MK na gramy vychází, že 100 g výrobku obsahoval 34,24 g omega-3 MK, z toho 17,27 g EPA a 13,35 g DHA (dohromady 30,62 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství 250 mg EPA + DHA za den, museli bychom zkonsumovat 0,82 g tohoto výrobku (cca 1/5 čajové lžičky). Abychom přijali 2 g EPA + DHA, museli bychom zkonsumovat 6,53 g tohoto výrobku (cca 1 čajová lžička). A bychom přijali 3 g EPA + DHA, museli bychom zkonsumovat 9,80 g tohoto výrobku (cca 2 čajové lžičky). Výrobce deklaruje ve 100 g tohoto výrobku 29,8 – 32,6 g EPA + DHA (viz tabulka 9). Podle naší analýzy je ve 100 g obsaženo 30,62 g EPA + DHA tzn. výrobcem deklarované množství bylo splněno.

Výrobek Zinzino BalanceOil+ obsahoval 99,0 % sušiny. Z přepočtu procentuálního zastoupení omega-3 MK na gramy vychází, že 100 g výrobku obsahoval 20,88 g omega-3 MK, z toho 12,28 g EPA a 6,42 g DHA (dohromady 18,7 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství 250 mg EPA + DHA za den, museli bychom zkonsumovat 1,34 g tohoto výrobku (cca 1/5 čajové lžičky). Abychom přijali 2 g EPA + DHA, museli bychom zkonsumovat 10,70 g tohoto výrobku (cca 2 čajové lžičky). A bychom přijali 3 g EPA + DHA, museli bychom zkonsumovat 16,04 g tohoto výrobku (cca 3 čajové lžičky). Pokud bychom uvažovali, že 1 ml oleje odpovídá zhruba 1 g oleje, potom výrobcem deklarované množství ve 12 g tohoto výrobku je 1,97 g EPA + DHA (viz tabulka 10). Podle naší analýzy je ve 12 g obsaženo 2,24 g EPA + DHA tzn. výrobcem deklarované množství bylo splněno.

Výrobek Möller's rybí olej z tresčích jater obsahoval 98,5 % sušiny. Z přepočtu procentuálního zastoupení omega-3 MK na gramy vychází, že 100 g výrobku obsahoval 20,40 g omega-3 MK, z toho 7,82 g EPA a 10,40 g DHA (dohromady 18,22 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství 250 mg EPA + DHA za den, museli bychom zkonzumovat 1,37 g tohoto výrobku (cca 1/5 čajové lžičky). Abychom přijali 2 g EPA + DHA, museli bychom zkonzumovat 10,98 g tohoto výrobku (cca 2 čajové lžičky). A bychom přijali 3 g EPA + DHA, museli bychom zkonzumovat 16,47 g tohoto výrobku (cca 3 čajové lžičky). Pokud bychom uvažovali, že 1 ml oleje odpovídá zhruba 1 g oleje, potom výrobcem deklarované množství v 5 g tohoto výrobku je 1,00 g EPA + DHA (viz tabulka 11). Podle naší analýzy je v 5 g obsaženo 0,91 g EPA + DHA, což by znamenalo, že výrobcem deklarované množství nebylo splněno.

6.3 Stanovení oxidační stability Schaalovým testem

Na základě naměřených indukčních period lze konstatovat, že nejméně stabilním vzorkem byl Reflex Nutrition Omega 3 (IP = 2), jak bylo vzhledem k vysokému počtu PUFA a nepřítomnosti antioxidantů předpokládáno. Jako druhý v pořadí začal oxidovat rybí olej Health Institute Opti Omega-3 orange obohacený o směs tokoferolů (IP = 4). Z křivky znázorněné na grafu 4 si lze všimnout, že ze začátku došlo k mírnému poklesu hmotnosti vzorku, zřejmě z důvodu vypaření vody nebo některých těkavých látek. Přesné množství tokoferolů obsažených ve výrobku není na obalu uvedeno, přičemž podle vyhlášky č. 58/2018 Sb. o doplňcích stravy a složení potravin musí být pro spotřebitele na obalu uveden číselný údaj o množství vztažené na doporučenou denní dávku a údaje o obsahu v procentech referenční hodnoty příjmu. Jako třetí v pořadí (IP = 8) začal oxidovat Möller's rybí olej z tresčích jater s obsahem 3 mg vitamínu E a 250 µg vitamínu A. Ze začátku došlo opět k poklesu hmotnosti (graf 6), pravděpodobně ze stejného důvodu jako u předchozího vzorku. Jak je patrné z křivky znázorněné na grafu 3, u doplňku stravy Reflex Nutrition Krill Oil docházelo stále k poklesu hmotnosti, a proto nemohla být indukční perioda odečtena. Krilový olej byl pravděpodobně již zoxidovaný, i přesto, že minimální trvanlivost uvedená na výrobku byla do května 2023. Indukční perioda nebyla odečtena ani u výrobku Zinzino BalanceOil+, neboť Schaalův test byl plánovaně ukončen po 30 dnech a rybí olej se nedostal do fáze prudkého nárůstu. Pokud by Schaalův test pokračoval dál, s největší pravděpodobností by indukční perioda tohoto oleje byla nejdelší, neboť obsahoval nejnižší množství PUFA, a díky přítomnosti olivového oleje s vysokým obsahem polyfenolů byl oxidační proces zpomalen. Za vysokou stabilitu olivového oleje je podle Gunstone (2005) a Firestone (2005) mj. zodpovědný i vysoký obsah kyseliny olejové podpořený přítomností řady nezmýditelných složek.

7 Závěr

Na základě naměřených výsledků se nám podařilo potvrdit hypotézu stanovenou na začátku této práce. U rybích olejů s vyšším zastoupením omega-3 MK byla zjištěna kratší indukční fáze a oleje podléhaly mnohem rychleji oxidačnímu žluknutí. Naopak u olejů s nižším množstvím omega-3 MK a s přidavkem antioxidantů došlo k prodloužení indukční fáze a zpomalení oxidačního procesu. Kolik omega-3 MK výsledný produkt obsahoval záviselo především na druhu, původu a způsobu zpracování výchozí suroviny. Každý druh ryby měl jiné složení MK v závislosti na věku, pohlaví, výživě, genetice, prostředí a mnoha dalších faktorech.

Bylo zjištěno, že krilový olej od značky Reflex Nutrition byl pravděpodobně již zoxidovaný, i přesto, že minimální trvanlivost uvedená na obalu byla do května 2023. Také bylo zjištěno, že na výrobku Health Institute Opti Omega-3 orange nebylo uvedeno množství obsažených tokoferolů, což je dle vyhlášky č. 58/2018 Sb. o doplňcích stravy a složení potravin povinné. Jelikož nedošlo u rybího oleje Zinzino BalanceOil+ během 30 dnů k prudkému nárůstu hmotnosti a nemohla být odečtena indukční perioda, a proto by bylo vhodné Schaalův test pro tento vzorek ještě jednou zopakovat.

Do budoucna by mohly být výrobky otestovány na obsah těžkých kovů či jiných toxických látek, které jsou nebezpečné pro zdraví člověka. Také by mohla být věnována větší pozornost jednotlivým antioxidantům a jejich vlivu na oxidační stabilitu produktů. Přínos konzumace rybích olejů pro zdraví člověka, by mohl být zhodnocen aterosogenním a trombogenním indexem vypočteným ze stanovených obsahů MK.

8 Literatura

- Bäck M, Hansson GK. 2019. Omega-3 fatty acids, cardiovascular risk, and the resolution of inflammation. *The FASEB Journal* **33**: 1536-1539.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*. Springer Science & Business Media.
- Biton-Porsmoguer S, Bou R, Lloret E, Alcaide M, Lloret J. 2020. Fatty acid composition and parasitism of European sardine (*Sardina pilchardus*) and anchovy (*Engraulis encrasicolus*) populations in the northern Catalan Sea in the context of changing environmental conditions. *Conservation physiology*: **8**: coaa121. Available from <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa121>.
- Bonilla-Méndez JR, Hoyos-Concha JL. 2018. Methods of extraction refining and concentration of fish oil as a source of omega-3 fatty acids. *Corpoica cienc. tecnol. agropecu* **19**: 645-668.
- Brát J. 2004. Transizomery mastných kyselin – mýty a fakta. *Výživa a potraviny* **59**: 144-146.
- Castro-Gómez MP, Holgado F, Rodríguez-Alcalá LM. 2015. Comprehensive Study of the Lipid Classes of Krill Oil by Fractionation and Identification of Triacylglycerols, Diacylglycerols, and Phospholipid Molecular Species by Using UPLC/QToF-MS. *Food Anal. Methods* **8**: 2568–2580.
- Cejpek K editor. 2018. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin. Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT v Praze, Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i. Praha.
- Conquer JA, Tierney MC, Zecevic J, Bettger WJ, Fisher RH. 2000. Fatty acid analysis of blood plasma of patients with Alzheimer's disease, other types of dementia, and cognitive impairment. *Lipids* **35**:1305–1312.
- Conklin SM, Gianaros PJ, Brown SM, Yao JK, Hariri AR, Manuck SB, Muldoon MF. 2007. Long-chain omega-3 fatty acid intake is associated positively with corticolimbic gray matter volume in healthy adults. *Neuroscience letters* **421**: 209-212.
- Das UN. 2008. Folic acid and polyunsaturated fatty acids improve cognitive function and prevent depression, dementia, and Alzheimer's disease—But how and why?. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **78**: 11-19.
- Dufek M. 2003. Ateroskleróza v neurologii. *Interní medicína – mezioborové přehledy* **5**: 16-21.
- Dyerberg J, Madsen P, Møller JM, Aardestrup I, Schmidt EB. 2010. Bioavailability of marine n-3 fatty acid formulations. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* **83**: 137-141.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2017. Dietary Reference Values for nutrients Summary report. EFSA supporting publication **14**: e15121. Available from <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.e15121>.
- FAO. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation. *FAO Food Nutr Pap* **91**: 55-62.
- Firestone D. 2005. Olive oil in: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (6th Edition). John Wiley & Sons, New Jersey.

- ForActiv s.r.o. reflexnutrition.cz. Available from <https://www.reflexnutrition.cz/omega-3-90-kapsli/d-70331/> (accessed April 2022).
- ForActiv.cz s.r.o. reflexnutrition.cz. Available from <https://www.reflexnutrition.cz/krill-oil-90-kapsli/d-70328/> (accessed April 2022).
- Frankel EN. 2005. Lipid oxidation. Bridgewater : The Oily Press Lipid Library Series, England.
- Fuller ID, Cumming AH, Card A, Burgess EJ, Barrow CJ, Perry NB, Killeen DP. 2020. Free Fatty Acids in Commercial Krill Oils: Concentrations, Compositions, and Implications for Oxidative Stability. *J Am Oil Chem Soc* **97**: 889-900.
- Goel A, Pothineni NV, Singhal M, Paydak H, Saldeen T, Mehta JL. 2018. Fish, Fish Oils and Cardioprotection: Promise or Fish Tale?. *International journal of molecular sciences*, **19**: 3703. Available from <https://doi.org/10.3390/ijms19123703>.
- Grofová Z. 2010. Mastné kyseliny. *Medicina pro praxi* **7**: 388-390.
- Guil-Guerrero JL, Belarbi EH. 2001. Purification Process for Cod Liver Oil. *JAACS* **78**: 477-484.
- Gunstone FD. 2005. Vegetable Oils. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, F. Shahidi (Ed.). Available from <https://doi.org/10.1002/047167849X.bio018>.
- Harris WS. 2004. Fish oil supplementation: Evidence for health benefits. *Cleveland Clinic Journal Of Medicine* **71**: 208-221.
- Havlík J, Marounek M. 2013. Živiny a živinové potřeby člověka. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Johnson EJ, Schaefer EJ. 2006. Potential role of dietary n-3 fatty acids in the prevention of dementia and macular degeneration. *The American journal of clinical nutrition* **83**: 1494S–1498S. Available from <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1494S>
- Lee Chang KJ, Nichols CM, Blackburn SI, Dunstan GA, Koutoulis A, Nichols PD. 2014. Comparison of *Thraustochytrids Aurantiochytrium sp.*, *Schizochytrium sp.*, *Thraustochytrium sp.*, and *Ulkenia sp.* for production of biodiesel, long-chain omega-3 oils, and exopolysaccharide. *Marine biotechnology* **16**: 396-411.
- Indartia E, Majid MIA, Hashim R, Chong A. 2005. Direct FAME synthesis for rapid total lipid analysis from fish oil and cod liver oil. *Journal of Food Composition and Analysis* **18**: 161-170.
- Jairoun AA, Shahwan M, Zyoud SH. 2020. Fish oil supplements, oxidative status, and compliance behaviour: Regulatory challenges and opportunities. *PLoS ONE*. **15**: e0244688. Available from <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244688>.
- Johnson EJ, Schaefer E. 2006. Potential role of dietary n–3 fatty acids in the prevention of dementia and macular degeneration. *The American Journal of Clinical* **83**: 1494S-1498S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1494S>.
- Klouda P. 2003. Moderní analytické metody. Pavel Klouda, Ostrava.
- Kolanowski W. 2010. Omega-3 Lc Pufa Contents and Oxidative Stability of Encapsulated Fish Oil Dietary Supplements. *International Journal of Food Properties* **13**: 498-511.
- Kwantes JM, Grundmann O. 2015. A Brief Review of Krill Oil History, Research, and the Commercial Market. *Journal of Dietary Supplements* **12**: 23-35.
- Ministerstvo zemědělství. 2018. Vyhláška č. 58/2018 Sb. ze dne 29. března 2018 o doplňcích stravy a složení potravin. Česká republika.

- Miyashita K. 2019. Prevention of Fish Oil Oxidation. *Journal of Oleo Science* **68**: 1-11. Available from <https://doi.org/10.5650/jos.ess18144>.
- Mori TA, Beilin LJ. 2004. Omega-3 fatty acids and inflammation. *Curr Atheroscler Rep.* **6**: 461-467.
- Mu H. 2008. Bioavailability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids from foods. *Agro Food Industry Hi-Tech.* **19**: 24-26.
- Neuwirthová J, Gál B, Smilek P, Urbánková P, Kostřica R. 2016. Protinádorový efekt rybího oleje - mýtus, nebo realita? *Klinická onkologie* **29**: 100-106.
- O'Keefe SF, Pike OA. 2010. *Food Analysis: Fat Characterization 4th Edition*, Springer Science and Business Media, New York, 239-260. Available from https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1_14 Springer, 2010. - stránky 239–260.
- Odstrčil J, Odstrčilová M. 2006. *Chemie potravin*. Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno.
- Orkla Health. [mollersomega3.cz](https://www.mollersomega3.cz). Available from <https://www.mollersomega3.cz/produkt/mollers-rybi-olej-z-trescich-jater-z-norska-s-citronovou-prichuti>
- Parker G, Gibson NA, Brotchie H, Heruc G, Rees AM, Hadzi-Pavlovic D. 2006. Omega-3 fatty acids and mood disorders. *The American journal of psychiatry* **163**: 969–978.
- Parlament České republiky. 1997. Zákon č. 110/1997 Sb. ze dne 24. dubna 1997 o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. Česká republika.
- Richardson AJ, Montgomery P. 2005. The Oxford-Durham Study: A Randomized, Controlled Trial of Dietary Supplementation With Fatty Acids in Children With Developmental Coordination Disorder. *Pediatrics* **115**: 1360-1366.
- Rada Evropské unie. 2006. Nařízení Evropského parlamentu a Rady EU č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin. Brusel.
- Rada Evropské unie. 2010. Nařízení komise EU č. 116/2010 ze dne ze dne 9. února 2010, kterým se mění nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006, pokud jde o seznam výživových tvrzení. Brusel.
- Rada Evropské unie. 2012. Nařízení komise EU č. 432/2012 ze dne ze dne 16. května 2012, kterým se zřizuje seznam schválených zdravotních tvrzení při označování potravin jiných než tvrzení o snížení rizika onemocnění a o vývoji a zdraví dětí. Brusel.
- Rodriguez-Leyva D, Dupasquier CM, McCullough R, Pierce GN. 2010. The cardiovascular effects of flaxseed and its omega-3 fatty acid, alpha-linolenic acid. *The Canadian journal of cardiology* **26**: 489–496.
- Ruprich J et al. 2020. Nebojte se rtuti v rybích výrobcích na trhu v ČR. SZÚ Brno, CZVP Brno, Praha.
- Ruprich J, Bischofová S, Pernicová H, Měřinská Z, Horáková K, Dvořáková Š, Ostrovská D, Kalivodová M, Řehůřková I. 2021. Omega-3 mastné kyseliny v lidské krvi – omega-3 index. *Acta Hyg Epidemiol Microbiol* **2**: 1-111.
- Saini RK, Prasad P, Sreedhar RV, Akhilender Naidu K, Shang X, Keum YS. 2021. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs): Emerging Plant and Microbial Sources, Oxidative Stability, Bioavailability, and Health Benefits-A Review. *Antioxidants* **10**: 1627. Available from <https://doi.org/10.3390/antiox101016273>.

- Shahidi F. 2005. Bailey's industrial oil and fat products. WileyInterscience, Portland.
- Slíva J. 2019. Omega-3 mastné kyseliny nezbytné pro centrální nervový systém. *Medicina pro praxi* **16**: 118-120.
- So J, Wu D, Lichtenstein AH, Tai AK, Matthan NR, Maddipati KR, Lamon-Fava S. 2021. EPA and DHA differentially modulate monocyte inflammatory response in subjects with chronic inflammation in part via plasma specialized pro-resolving lipid mediators: A randomized, double-blind, crossover study. *Atherosclerosis*, **316**: 90–98.
- Stark AH, Crawford MA, Reifen R. 2008. Update on alpha-linolenic acid. *Nutrition Reviews* **66**: 326-332.
- Šimat V, Hamed I, Petričević S, Bogdanović T. 2020. Seasonal Changes in Free Amino Acid and Fatty Acid Compositions of Sardines, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792): Implications for Nutrition. *Foods* **9**: 867. Available from <https://doi.org/10.3390/foods9070867>
- Šimek J. 2008. Přístup k výběru a konzumaci rostlinných olejů. *Výživa a potraviny* **6**: 142-144.
- Tokuşoglu Ö, Ünal MK. 2003. Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. *Journal of food science* **68**: 1144-1148.
- Třebatická J, Ďuračková Z. 2015. Můžu omega-3 mastné kyseliny ovplyvnit duševné zdravie?. *Česká a slovenská psychiatrie* **111**: 215-221.
- Vrablík M. 2007. Omega-3 mastné kyseliny a kardiovaskulární onemocnění. *Interní medicína pro praxi* **9**: 262–264.
- Vyhnánková L. 2007. PUFA omega-3 a jejich působení. *Pediatric pro praxi* **3**: 140–143.
- Whelan J. 2009. Dietary Stearidonic Acid Is a Long Chain (n-3) Polyunsaturated Fatty Acid with Potential Health Benefits. *The Journal of Nutrition* **139**: 5–10.
- Wilhelm Z. 2013. Mastné kyseliny ω -3; od teorie po klinickou praxi. *Medicína pro praxi* **10**: 72–76.
- Yuan Q, Xie F, Huang W, Hu M, Yan Q, Chen Z, Zheng Y, Liu L. 2022. The review of alpha-linolenic acid: Sources, metabolism, and pharmacology. *Phytotherapy research : PTR* **36**: 164–188.
- Zajíc T, Mráz J, Kozák P, Picková J. 2011. Možnosti produkce sladkovodních ryb s vysokým obsahem omega-3 mastných kyselin. JČU, České Budějovice.
- Zinzino Nordic AB. zinzino.com. Available from <https://www.zinzino.com/site/CZ/cs-CZ/products/Health/Balance/300000>

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

AA	kyselina arachidonová
ADHD	hyperkinetická porucha
ALA	kyselina α -linolenová
AV	anisdinové číslo
CLA	konjugovaná kyselina linolová
CNS	centrální nervová soustava
DCD	dyspraxie
DHA	kyselina dokosahexaenová
DPA	kyselina dokosapentaenová
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EPA	kyselina eikosapentaenová
EU	Evropská unie
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství
GC	plynová chromatografie
GLA	kyselina γ -linolová
LA	kyselina linolová
MK	mastná kyselina
MUFA	monoenová mastná kyselina
PCB	polychlorované bifenyly
POP	perzistentní organické polutanty
PUFA	polyenová mastná kyselina
PV	peroxidové číslo
SFA	nasyčená mastná kyselina
SFE	superkritická fluidní extrakce
STN	kyselina stearidonová
SZÚ	Státní zdravotní ústav
TBARS	thiobarbiturové číslo
TFA	trans nenasycená mastná kyselina
UFA	nenasycená mastná kyselina
WHO	Světová zdravotnická organizace