

Izolace a stanovení B-komplexu v netradičních obilovinách

Bc. Veronika Bieleszová

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Veronika BIELESZOVÁ**
Osobní číslo: **T09526**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Izolace a stanovení B-komplexu v netradičních obilovinách**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. stručně charakterizovat skupinu vitaminů B s důrazem na jejich fyziologii a fyzikálně-chemické vlastnosti.
2. popsat princip kapalinové chromatografie.

II. Experimentální část

1. vyizolovat vitaminy sk. B ze vzorků a stanovit je metodou HPLC s UV detekcí.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDÍNSKÝ, P. Potravinářská biochemie II. 1.vyd. Zlín: UTB, 2006.

[2] KNOBLOCH, E. Fyzikálně chemické metody stanovení vitaminů, Praha, 1956.

[3] HRABĚ, J., ROP, O., HOZA, I. Technologie výroby potravin rostlinného původu 1.vyd., Zlín UTB, 2006.

[4] KOHAJDOVÁ, Z., KAROVICOVÁ, J. Nutrition value and baking applications of spelt wheat. 2008.

[5] CHURAČEK, J. a kol. Analytická separace látek, 1. vydání, SNTL, Praha 1990.

[6] PRYDE, A., GILBERT, M. T. Applications of high performance liquid chromatography, 1. vyd., USA, 1979.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

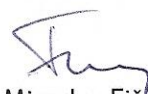
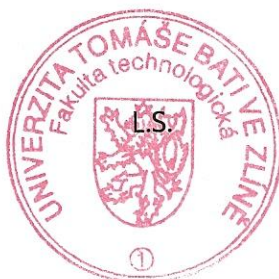
Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Hlavním cílem diplomové práce bylo izolovat a stanovit vitaminy skupiny B v netradičních cereáliích, které byly následně analyzovány metodou HPLC s UV detekcí. Separace proběhla na koloně Supelcosil LC 8 (15 cm x 4,6 mm; 5 µm). Mobilní fáze byla složena z metanolu a 0,12 mol.dm⁻³ CH₃COONa. Eluce proběhla gradientově, průtok byl 0,8 ml.min⁻¹. Uvedená metodika byla aplikovaná na 15 různých druhů cereálií.

Klíčová slova: vitamin B, cereálie, chromatografie, HPLC

ABSTRACT

The main purpose of this thesis was the isolation and determination of the vitamins B in cereals. Cereals were analyzed by the HPLC method with UV detection. Separation was performed on column Supelcosil LC 8 (15 cm x 4,6 mm; 5 µm). As a mobile phase methanol and 0.12 mol.dm⁻³ CH₃COONa was used. Elution passed in gradient mode, selected flow rate was 0,8 ml.min⁻¹. This method was applied on fifteen different types of cereals.

Keywords: vitamin B, cereals, chromatography, HPLC

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucí Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D., nejen za odborné vedení diplomové práce, ale také za trpělivost, cenné rady, připomínky a diskuzi.

Rovněž patří můj dík rodině za psychickou a finanční podporu při studiu.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvolněno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně

.....
Podpis diplomanta

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 VITAMINY	11
1.1 FUNKCE VITAMINŮ A JEJICH VYUŽITÍ.....	11
1.1.1 Ztráty vitaminů.....	12
1.2 DĚLENÍ VITAMINŮ DLE ROZPUSTNOSTI.....	12
1.3 DOPORUČENÉ VÝŽIVOVÉ DÁVKY.....	13
1.4 HYPOVITAMINÓZA A HYPERVITAMINÓZA	14
2 STABILITA VITAMINŮ SKUPINY B	15
2.1 IZOLAČNÍ PODMÍNKY	17
3 FYZIOLOGICKÝ VÝZNAM A VÝSKYT STANOVOVANÝCH VITAMINŮ SKUPINY B	20
3.1 TIAMIN - B ₁	20
3.2 RIBOFLAVIN - B ₂	21
3.3 KYSELINA NIKOTINOVÁ A JEJÍ AMID - B ₃	22
3.4 KYSELINA PANTOTENOVÁ - B ₅	24
3.5 PYRIDOXIN - B ₆	25
4 CEREÁLIE	27
4.1 OBILOVINY Z POHLEDU VÝŽIVY	29
4.2 STRUKTURNÍ USPOŘÁDÁNÍ OBILNÉHO ZRNA.....	30
4.3 OBIILKA, JEJÍ ČÁSTI A VLASTNOSTI.....	30
4.4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ OBILOVIN.....	31
4.4.1 Vitaminy v cereáliích	32
4.5 CELOZRNNÉ POTRAVINY	33
5 NETRADIČNÍ DRUHY CEREÁLIÍ	35
5.1 „KAMUT“	35
5.2 „GRÜNKERN“	37
5.3 „PŠENICE ŠPALDA“	37
5.3.1 „Špaldové kernotto“	38
5.4 „PŠENICE OZIMÁ“	38
5.5 „RÝŽE“	39
6 HPLC - VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE	40
6.1 RŮZNÁ HLEDISKA DĚLENÍ CHROMATOGRRAFIE	40
6.2 ROZDĚLENÍ DLE SEPARAČNÍ FUNKCE A ZÚČASTNĚNÝCH FÁZÍ.....	40
6.3 KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE	41
6.4 VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE - HPLC.....	41
6.4.1 Příslušenství HPLC	42
6.4.1.1 Chromatografické kolony a její náplně.....	43
6.4.1.2 Detektory	44

II	PRAKTICKÁ ČÁST	45
7	METODIKA	46
7.1	VZORKY - STANDARDY	46
7.2	PŘÍSTROJE A PŘÍSLUŠENSTVÍ	46
7.2.1	Pomůcky.....	47
7.3	CHEMIKÁLIE.....	47
7.4	ANALYZOVANÉ VZORKY	48
7.4.1	Kamut.....	49
7.4.2	Špalda loupaná	50
7.4.3	Špaldové kernotto.....	51
7.4.4	Grünkern	52
7.4.5	Pšenice ozimá.....	52
7.4.6	Rýže parboiled s indiánskou rýží	53
7.4.7	Rýže basmati	54
7.4.8	Rýže sushi	55
7.4.9	Rýže natural	56
7.4.10	Rýže parboiled	56
7.4.11	Rýže kulatozrná loupaná.....	57
7.4.12	Rýže dlouhozrná loupaná.....	57
7.4.13	Směs pšenice a žita 90:10 – VZOREK č. 13	57
7.4.14	Směs pšenice a žita 50:50 – VZOREK č. 14	57
7.4.15	Směs pšenice a žita 10:90 – VZOREK č. 15	57
8	ANALÝZA NETRADIČNÍCH CEREÁLÍ POMOCÍ HPLC.....	58
8.1	IZOLACE B-KOMPLEXU	58
8.2	PŘÍPRAVA MOBILNÍ FÁZE.....	58
8.3	STANOVENÍ OBSAHU VITAMINŮ B ₁ , B ₂ , B ₃ VE VZORCÍCH NETRADIČNÍCH CEREÁLÍ POMOCÍ HPLC	58
8.4	MĚŘENÍ KALIBRAČNÍ KŘIVKY PRO STANOVENÍ VIT. B ₁ , B ₂ A B ₃ METODOU HPLC.....	59
9	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	60
9.1	VÝSLEDKY ANALYZOVANÝCH VZORKŮ NETRADIČNÍCH CEREÁLÍ POMOCÍ METODY HPLC	60
9.2	VÝSLEDKY IZOLACE VITAMINŮ SKUPINY B	60
9.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU VITAMINŮ B ₁ , B ₂ , B ₃ VE VZORCÍCH NETRADIČNÍCH CEREÁLÍ POMOCÍ HPLC.....	60
9.4	VÝSLEDKY MĚŘENÍ KALIBRAČNÍCH KŘIVEK PRO STANOVENÍ VIT. B ₁ , B ₂ A B ₃ METODOU HPLC	63
	ZÁVĚR	66
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	68
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	73
	SEZNAM OBRÁZKŮ	75
	SEZNAM TABULEK.....	76
	SEZNAM GRAFŮ	77
	SEZNAM PŘÍLOH.....	78

ÚVOD

Vitaminy jsou látky, které si organismus většinou nedokáže vytvořit, ale potřebuje je k fungování enzymů, hormonů nebo k likvidaci nebezpečných volných radikálů. Tyto organické sloučeniny, které jsou nezbytné pro správnou činnost lidského těla, se podílejí na celé řadě fyziologických pochodů. Ten, kdo podcení jejich význam a má jich nedostatek, se brzy potýká se zdravotními problémy. A to je taky jeden z hlavních důvodů, proč je důležité dbát na to, aby naše strava byla vyvážená. Jedině z pestré stravy totiž získáme látky, bez kterých se naše tělo neobejde. Vitaminy skupiny B potřebuje lidské tělo pravidelně doplňovat. Jsou to vitaminy rozpustné ve vodě, a proto z těla rychle odchází močí. B-komplex má širokou škálu pozitivních účinků. Mezi nejdůležitější vlastnosti patří účast na metabolických přeměnách sacharidů, bílkovin i tuků v energii, podílí se na vývoji organismu, aktivně snižuje hladinu cholesterolu, pozitivně ovlivňuje kvalitu kůže a je nezbytný pro správnou krevetvorbu, aj. Mezi hlavní zdroje těchto vitaminů řadíme mimo jiné i obilniny. A právě tyto by měly tvořit podstatnou část našeho jídelníčku. Cereálie a cereální výrobky zaujímají důležité místo ve výživě. Vzhledem k tomu, že cereálie poskytují řadu zdraví prospěšných složek, může být jejich spotřeba spojena se snížením rizika vzniku chronických onemocnění. Celosvětový podíl obilovin na lidské výživě je odhadován na 60 - 79 %, jsou důležitým zdrojem energie a sacharidů. Jejich přínosem pro naše zdraví je vysoký obsah vlákniny, obsahují rostlinné oleje a tuky, bílkoviny, které mohou vhodně doplňovat i vegetariánskou stravu. Nevýhodou je, že většinu nejběžnějších obilovin nemožou kvůli obsahu lepku konzumovat lidé nemocní celiakií. Chceme-li zpestřit jídelníček, což je důležité zejména u celiaků nebo vegetariánů, měli bychom věnovat pozornost také méně tradičním obilovinám. Většině populace nic neříká například kamut, grünkern, špaldové kernoto aj. Právě o těchto netradičních cereáliích může více napovědět tato práce.

Cílem bylo najít optimální postup izolace vitaminů skupiny B z netradičních cereálií a jejich stanovení pomocí HPLC (High Performance Liquid Chromatography, Vysokoučinná kapalinová chromatografie).

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VITAMINY

Vitaminy jsou biologicky aktivní látky, které lidský organismus není schopen sám syntetizovat a musí je přijímat ve stravě. Mají zcela odlišné chemické struktury a různé funkce. Působí jako prekurzory biokatalyzátorů, například kofaktorů enzymů a hormonů, nebo jako antioxidanty [1,2]. Tyto povětšinou exogenní, esenciální nízkomolekulární sloučeniny jsou nezbytné pro život, v potravinách se vyskytují v nízkých koncentracích a většina z nich je relativně velmi citlivá na fyzikálně-chemické vlivy [3,4]. Vitaminy získáváme buď z potravin, nebo je přijímáme ve formě doplňků stravy, které lze zakoupit jako tablety, kapsle, roztoky, prášky nebo injekce [5].

1.1 Funkce vitaminů a jejich využití

Dnes jsou vitaminy využívány k obohacování potravinářských výrobků, k tzv. **fortifikaci** a **restituci**. Restitucí se myslí doplnění jejich obsahu na původní hladiny v surovině, fortifikace je obohacování na koncentrace vyšší, než bylo jejich původní množství [6].

Vzhledem k tomu, že vitaminy jsou látky labilní, snaží se výrobci vitaminů stále jednotlivé formy vitaminů stabilizovat tak, aby k uvolnění aplikovaného vitamínu došlo až v organismu. Obohacují se jednak potraviny široké spotřeby, např. nápoje nebo margaríny nebo se obohacují cíleně potraviny určené pro určité skupiny populace, např. děti, sportovce atd. Vzhledem ke ztrátám při vymílání obilí, především pšenice, zahájila většina zemí obohacování mouky vitaminy B₁, B₂ a vápníkem na hodnoty původně obsažené v obilném zrna [7]. Dále jsou používány jako indikátory šetrnosti skladování, technologických a kulinárních operací, slouží jako přírodní barviva (vitamin B₂, provitaminy A) a antioxidanty (vitamin C a jeho deriváty, vitamin E) [6].

Naše legislativa prochází trvale úpravami a změnami. Podle vyhlášky 53/2002 Sb. je k obohacování bez speciálního schvalování dovoleno užít následující potravní doplňky: vitamin B₁, B₂, C, E, kyselinu listovou, niacin a β-karoten, a to do výše hodnoty stanoveného procentuálního podílu referenční dávky. Po posledních úpravách je vyhláška 53/2002 Sb. nyní označována jako vyhláška 306/2004 Sb. V současné době se připravuje novelizace tak, aby vyhovovala předpisům platným v EU [7].

1.1.1 Ztráty vitaminů

Je pravda, že přísun vitaminů a minerálních látek průměrnou stravou občana ČR není na potřebné úrovni. Přitom je nutno brát v úvahu ztráty, ke kterým dochází při různých vzájemných reakcích některých látek současně přítomných v potravě. Daleko důležitější jsou však možné ztráty, které vznikají při nesprávném skladování surovin nebo nevhodným způsobem přípravy stravy. Ke snížení jejich obsahu může vést už pouhé čištění či jiné mechanické opracování. K dalším ztrátám může dojít při vyluhování. Obsah může nepříznivě ovlivnit i tepelná úprava. Dalším nepříznivým faktorem je záření, zejména ultrafialové paprsky. V praxi to znamená, že ke ztrátám dochází už působením denního světla. Další významnou příčinou znehodnocování potravin je působení kyslíku. Ze surovin při čištění a mechanické úpravě odstraňujeme pokud možno co nejmenší části. Potraviny omýváme vždy v celku, nerozkrájené. Tepelnou úpravu provádíme pouze po dobu, která je nezbytně nutná k přípravě stravy. Je nutno dbát i na správné uložení a skladování potravin, zejména ovoce, zeleniny a brambor [9].

1.2 Dělení vitaminů dle rozpustnosti

Pro označení vitaminu se používají buď písmena abecedy, přičemž vitaminy s podobnými fyziologickými účinky jsou dále rozlišeny číselnými indexy, nebo názvy odvozenými od chemického složení vitaminů. Rozlišovacím znakem vitaminů je jejich rozpustnost, podle níž je lze rozdělit na vitaminy rozpustné v tucích - **lipofilní** a ve vodě - **hydrofilní** [3]. Vitaminy lipofilní se ukládají nejčastěji v játrech. Funkce hydrofilních vitaminů spočívá v jejich katalytickém účinku. Uplatňují se zejména jako kofaktory různých enzymů v metabolismu nukleových kyselin, proteinů, sacharidů, lipidů apod. Tyto vitaminy nebývají v organismu skoro vůbec skladovány a jejich přebytek je vylučován močí.

Vitaminy rozpustné v tucích - lipofilní:

vitamin A - retinol a jeho provitaminy - karotenoidy,

vitamin D - cholekalciferol (D₃) a ergokalciferol (D₂),

vitamin E - α , β , γ , δ - tokoferoly a tokotrienoly,

vitamin K - fylochinony (K₁), farnochinony (K₂).

Vitaminy rozpustné ve vodě – hydrofilní:

- skupina vitaminu B-komplexu:

vitamin B₁ - tiamin,

vitamin B₂ - riboflavin,

vitamin B₃ - kyselina nikotinová a nikotinamid,

vitamin B₅ - kyselina pantotenová,

vitamin B₆ - pyridoxin - (pyridoxol, pyridoxal, pyridoxamin),

vitamin B₉ - kyselina listová,

vitamin B₁₂ - kyanokobalamin,

kyselina lipoová,

biotin,

- vitamin C - kyselina L-askorbová a L-dehydroaskorbová [6,12].

1.3 Doporučené výživové dávky

Poslední návrh doporučených výživových dávek byl přijat v roce 1989. Očekává se, že v nejbližší době budou vydány nové doporučené dávky. Tyto výživové dávky vyjadřují doporučená množství energie, základních živin, minerálních látek a vitaminů. Cílem doporučení je informovat zejména širokou veřejnost o zásadách zdravé (správné, racionální) výživy. Toto doporučení je odpovídající všestranným fyziologickým potřebám jednotlivých skupin a podskupin obyvatelstva [10].

1.4 Hypovitaminóza a hypervitaminóza

Pro každý vitamin existuje optimální denní dávka. Při nižším příjmu vitaminu se po čase vytvoří **hypovitaminóza**, která se projevuje většinou nespecifickými poruchami. V tomto případě hovoříme o lehčí formě, která se projevuje z nedostatku vitaminů a u živých organismů se projeví chorobnými příznaky. Diagnóza jejich příčin bývá obtížná. Při úplné eliminaci vitaminu ze stravy vzniká forma těžší, a to **avitaminóza**, která se projevuje již zcela specifickými poruchami [3].

Zvýšený příjem vitaminů je třeba u každého z nás a je nezbytný v období zimy a blížícího se jara. Je to způsobeno tím, že konzumujeme menší množství čerstvé zeleniny a ovoce než v létě, ale také tím, že tato rostlinná surovina obsahuje v tomto období menší množství vitaminů. Dostatečné zásobování vitaminy skupiny B zajišťuje pestrá strava. V určitých případech však mohou nastat problémy, např. při vegetariánské stravě u kyanokobalaminu. Při hodnocení výživové situace se sleduje pouze příjem tiaminu a riboflavinu, popř. pyridoxinu. Všechny tyto vitaminy mají podobné zdroje v potravě, a proto je při dostatečném příjmu možno předpokládat, že nevznikne deficit ani u ostatních vitaminů skupiny B [3,12]. K nedostatečné resorpci dochází zpravidla onemocněním zažívacího traktu, např. zánětlivá a průjmová onemocnění. Proto je nutno dbát při těchto chorobách na dostatečný přísun vitaminů. Je třeba také počítat se zvýšenou potřebou vitaminů za některých fyziologických podmínek nebo při infekčních onemocněních. Resorpci vitaminů skupiny B snižují taktéž užívaná léčiva (antibiotika, laxativa, antirevmatika), užívání vyšších dávek alkoholu či látek omamných a psychotropních [6].

2 STABILITA VITAMINŮ SKUPINY B

K faktorům, které působí na stabilitu vitaminů, se řadí teplota, vlhkost, tlak, oxidačně-redukční reakce, UV složka slunečního záření, denní světlo, vzdušný kyslík, pH, přítomnost interferujících chemikálií, které mohou vázat vitaminy do neúčinných komplexů. Jejich účinek se může při různých podmínkách či výrobních technologiích lišit [15]. Stabilita vitaminů v konkrétní potravíně je ovlivněna dalšími různými faktory, které působí během její výroby, zpracování surovin a během jejich skladování.

Celkově vitaminy skupiny B jsou poměrně málo stálé. Jejich stabilita je navíc snižována stykem s některými kovy (Fe, Cu, porušené smaltované nádoby). Navíc, tím že jsou rozpustné ve vodě, se při vaření jejich obsah v potravíně vyluhováním snižuje. Při kulinárních úpravách nastávají menší ztráty při blanšírování. Přesto, za 5 minut blanšírování se ztrácí 45 % vitaminů skupiny B. Při prolévání horkou vodou jsou ztráty menší. Ke ztrátám dochází také přidávkem kypřících prášků [17].

V potravinách, vitaminy B₁, B₂ a B₆ mohou být přítomny ve formě volné (tiamin, riboflavin, pyridoxol, pyridoxal a pyridoxamin) a formě fosforylované (tiamindifosfát - TDP, flavinmononukleotid - FMN, flavinadenindinukleotid - FAD a pyridoxalfosfát). Kromě této formy se mohou vázat pevně nebo nekovalentně na proteiny či sacharidy [13,14].

Tiamin patří mezi termolabilní látky, kdy v silně kyselém prostředí je hlavním produktem oxytiamin, v neutrálním a alkalickém prostředí se rozkládá na pyrimidovou a tiazolovou složku. Také patří mezi látky oxylabilní, a to hlavně v neutrálním a alkalickém prostředí (autooxidace) a dochází k degradaci působením ultrafialového záření. Dále může reagovat s bílkovinami za vzniku různých vázaných forem [8]. Tiamin patří k nejméně stálým vitaminům. Je částečně labilní vůči UV a vyšší teplotě, při pasteraci mléka dosahují ztráty 3 - 4 % a při sterilaci 20 - 45 % [6,16].

Riboflavin je relativně stabilní, ovšem v neutrálním a alkalickém prostředí je citlivý na záření. Riboflavin se působením UV paprsků rozkládá za vzniku lumichromu (kyselé nebo neutrální pH) nebo lumiflavinu (zásadité pH) [6]. Zvláště není stálý při ozáření viditelným i UV světlem, kdy se odštěpuje ribitolový zbytek [8]. Silná oxidační činidla, jako je např. KMnO₄, jej ničí velmi rychle [21,22]. V kyselém prostředí je stálý při vyšších teplotách i při běžné kuchyňské úpravě pokrmů. Může se vyluhovat při blanšírování a poškozovat světlem. Katalyzuje různé oxidační procesy živých organismů [21].

Kyselina nikotinová je velmi stabilní, nikotinamid je odolný vůči oxidaci. Jejich hydrolyzou dochází k rozkladu amidu na kyselinu [8,20]. Tento vitamin je v zásadě termostabilní, jeho stabilita na denním světle je dobrá, pokud jej nevystavíme teplotě přesahující 120 °C, jeho stabilita klesá. Nepříznivě na něj působí silné kyseliny a oxidativní prostředí [16].

Kyselina pantotenová je vitamin velmi labilní, který podléhá snadné hydrolyze v kyselém i alkalickém prostředí, na β -alanin a pantoovou kyselinu v alkalickém prostředí, na β -alanin a lakton pantoové kyseliny v kyselém prostředí [8]. Tento vitamin je termostabilní, při pasteraci dochází k minimálním změnám, při sterilaci se část rozkládá, ale při ozáření je citlivý [16].

Ostatní vitaminy skupiny B a jejich vlastnosti: vitamin B₉ je poměrně stabilní, ¼ se váže na bílkoviny a zbytek zničí záhřev. Biotin je termostabilní, ale citlivý na kyseliny a oxidaci. Vitamin B₁₂ je stabilní vůči zvýšené teplotě, svoji aktivitu ztrácí na světle, za přístupu vzduchu a v alkalickém prostředí [16].

Tab. 1. Úbytek vitaminů při záhřevu mléka [16]

Vitamin	Tepelné ošetření			
	Pasterace 74 °C/15 s	Var 100 °C	UHT 135 °C/1 s	Sterilace 120 °C/10 min.
B ₁	< 1	5	< 1	2 – 10
B ₆	5	5 – 10	5 – 10	20 – 50
B ₉	< 5	5	< 20	< 30
B ₁₂	< 10	5 – 20	5 – 20	20 – 80
C	5 – 25	5 – 50	5 – 30	> 50

Tab. 2. Citlivost nechráněných vitaminů vůči vnějším faktorům

Vitamin	Teplota	Kyslík	Vlhkost	Světlo	pH	
					Kyselé	Zásadité
A	+	+	0	+	0	-
D	0	+	0	0	0	-
E	-	0	-	0	0	+
K	0	0	+	-	+	-
B ₁	0	0	0	-	-	+
B ₂	-	-	0	0	-	0
B ₃	-	-	-	-	-	-
B ₅	0	-	+	-	-	-
B ₆	+	-	0	0	0	-
B ₉	+	-	0	+	+	-
B ₁₂	+	0	0	0	-	-
Biotin	0	-	-	-	-	-
C	+	+	+	-	-	0

- necitlivý až silně citlivý, 0 mírně citlivý až citlivý, + velmi citlivý

2.1 Izolační podmínky

▪ Tiamin

Při použití enzymatické hydrolyzy se vzorek nejprve hydrolyzuje kyselinami (nejčastěji v autoklávu) 0,1 mol.dm⁻³ HCl, 0,1 mol.dm⁻³ H₂SO₄ při teplotě 100 až 120 °C po dobu 30 minut. Po ochlazení na laboratorní teplotu a úpravě pH na 4 až 5 se vázaný tiamin odhydrolyzuje *takadiastázou* nebo *β-amylázou* při teplotě 37 °C po dobu 16 hodin nebo při teplotě 45 - 50 °C po dobu 3 až 15 hodin [18].

▪ Riboflavin

K uvolnění vázaného riboflavinu z bílkoviny se používá enzymatická hydrolyza v kombinaci s kyselou hydrolyzou, která je nezbytná k uvolnění z esterické vazby s kyselinou fosforečnou. Používá se *takadiastáza* a 0,1 mol.dm⁻³ HCl. Kyselá hydrolyza probíhá při teplotě 70 °C, enzymatická při teplotě 38 °C a pH 5,2 po dobu 2 hodin. Při analýze celkového obsahu riboflavinu v potravinách by neměla být enzymatická hydrolyza nikdy opomenuta. Vzhledem k chemickým vlastnostem riboflavinu se příliš neliší separační podmínky na reverzní fázi C₈ nebo C₁₈, co do složení a pH mobilní fáze a rozdílů jsou

minimální. Protože je riboflavin v alkalickém prostředí nestabilní a rozkládá se, pH mobilní fáze se upravuje pufrý nebo kyselinou octovou, resp. fosforečnou na hodnoty 3- 6. Ve finálních potravinách se používá specifická fluorimetrická detekce s excitační vlnovou délkou 440 - 460 nm a emisní 520 - 535 nm. Jako další enzymy se mohou použít *papain* (500 mg) a *diastáza* či *fosfatáza* [18].

▪ **Kyselina nikotinová a nikotinamid**

Kyselá i alkalická hydrolyza může být použita ke konverzi nikotinamidu na kyselinu nikotinovou, která se pak stanoví jako celkový obsah obou vitamérů. Alkalická hydrolyza je doplňována enzymatickou hydrolyzou a k tomuto účelu se používá *takadiastáza* (*papain* nebo *claráza*). Jako činidlo k alkalické hydrolyze se používá $\text{Ca}(\text{OH})_2$ nebo NaOH , přičemž se nikotinamid hydrolyzuje na kyselinu nikotinovou a obsah obou vitamérů se stanoví jako suma kyseliny nikotinové a nikotinamidu. Při použití $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se nadbytek činidla odstraňuje kyselinou šťavelovou, kdy se sráží málo rozpustný šťavelan vápenatý. Extrakt pak může být přečištěn technikou SPE (Solid Phase Extraction, Extrakce pevným sorbentem). Při HPLC stanovení kyseliny nikotinové a nikotinamidu v potravinách se uplatňují rozdílné chromatografické systémy, ale nejvíce se používá reverzní fáze. Stanovení kyseliny nikotinové a nikotinamidu metodami HPLC bylo popsáno v cereáliích, fortifikovaných potravinách i krmivech. Tato metoda používá UV detekci při 263 až 264 nm. Biologicky dostupný niacin se stanoví kyselou hydrolyzou pomocí $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ HCl v autoklávu, ovšem je často doplněn hydrolyzou enzymovou (*papain*, *takadiastáza*) [18].

Tab. 3. Možnosti HPLC stanovení pro vit. B₃ [18]

Analyt	Matrice	HPLC kolona	Mobilní fáze	Detekce
Celkový niacin jako kyselina nikotinová a její amid	Pšeničná mouka, sýr	LC-18-DB	Acetonitril - voda obsahující 1 g H_3PO_4 a 1 g sodné soli dodecylsulfátu, průtok $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$	UV 254 nm
Celkový niacin	Potraviny	PRP-X100	Kyselina octová, průtok $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$	UV 254 nm

Analyt	Matrice	HPLC kolona	Mobilní fáze	Detekce
Celkový niacin	Džem	Asahipak NH ₂ P-50	Acetonitril - 75 mol.dm ⁻³ octan sodný, průtok 0,5 ml.min ⁻¹	UV 261 nm
Nikotinamid	Krmivo	A: RP-18 B: Nucleo-sil 5 SA	A: 10 mol.dm ⁻³ KH ₂ PO ₄ B: 10 mol.dm ⁻³ KH ₂ PO ₄ - acetonitril	UV 264 nm

▪ Kyselina pantotenová

Extrakce kyseliny pantotenové se uskutečňuje pomocí enzymatické hydrolyzy za použití *papainu*, *clarázy*, *takadiastázy* nebo přímo kyselinou chloristou. Stanovení vit. B₅ v potravinách je poměrně obtížný úkol a existuje poměrně málo metod. Molekula kyseliny pantotenové neobsahuje žádný výrazný chromofor a bez derivatizace této kyseliny je UV nebo fluorescenční detekce velmi málo citlivá. Rovněž je nutné výrazně přečistit extrakt nebo použít přepínání kolon k odstranění všech interferentů. Kyselina pantotenová je extrahována vodou při 50 °C, přidá se NaCl a extrakt se protřepe s n-hexanem. Vodná vrstva se použije přímo k HPLC analýze. Jako mobilní fáze k předseparaci se používá acetonitril-voda, pH 2,1, obsahující 1,5 mol.dm⁻³ 1-heptasulfonovou kyselinu. UV detekce se používá při 210 nm. Jako vhodnější metody stanovení se ukazují metody plynové chromatografie, popřípadě GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry, Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí) [18].

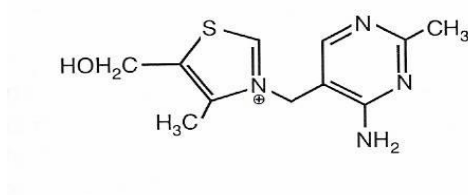
▪ Pyridoxin

Kromě základní triády pyridoxinu je přítomen vitamin B₆ ve vázané formě jejich esterů 5'-fosfátů. Všechny fosfáty jsou stabilní v alkalickém prostředí, ale v kyselém prostředí se snadno hydrolyzují. Použití HCl a H₂SO₄ jako extrakčního činidla za vysokého tlaku (v autoklávu) je vhodné pouze ke stanovení triády pyridoxinu. K extrakci všech forem vitamérů B₆ se používá kyselina chloristá nebo sulfosalicylová. Použití enzymatické hydrolyzy vede rovněž ke zvýšení obsahu vitaméru B₆ při jeho stanovení v přírodním materiálu [18].

3 FYZIOLOGICKÝ VÝZNAM A VÝSKYT STANOVOVANÝCH VITAMINŮ SKUPINY B

3.1 Tiamin - B₁

Dříve nazývaný aneurin je po chemické stránce 2,5-dimetyl-6-aminopyrimidin vázaný metylovým můstkem na 4-metyl-5-hydroxyetyltiazol.



Tiamin

Biochemicky aktivní formou je tiamindifosfát (TDP), vznikající z tiaminu účinkem enzymu *tiaminokinázy* v různých orgánech. Podílí se také na konečném odbourávání metabolických produktů sacharidů, lipidů a proteinů. Druhou účinnou formou je tiamin trifosfát (TTP), který působí v nervech a pravděpodobně i ve svalech při aktivaci chloridových iontů. Tiamin se vyskytuje jak v rostlinných surovinách, kde se nachází převážně ve volné formě, tak v živočišných produktech, kde je vázán ve formě TDP, který musí být před absorpcí v organismu enzymaticky rozštěpen [6]. Nalezneme ho například v mase (masné výrobky a maso vepřové), vnitřnostech (játra, srdce, ledviny), pivovarských kvasnicích či tmavé mouce [3,5].

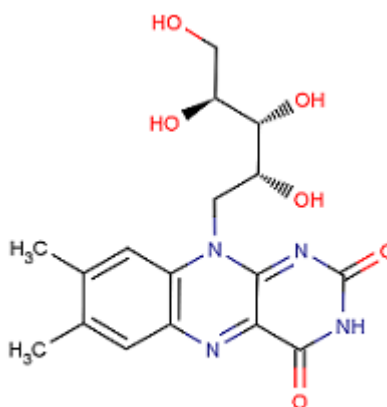
Tab. 4. Zdroje tiaminu [19]

Údaje v mg na 1 kg potravin			
Pšeničná mouka hladká	2,27	Žitná mouka výrazková	0,67
Pšeničná mouka hrubá	0,80	Žitný chléb Vita	2,4
Pšeničná mouka výběr polohrubá	0,61	Ovesné vločky	4,85
Pšeničné klíčky	2,0	Rýže	1,16

Vitamin B₁ se lehce ničí varem a pečením. Látkami či mechanismy zhoršujícími jeho resorpci či stabilitu jsou kofein, alkohol, konzervační procesy, vzduch, voda, estrogeny, látky neutralizující žaludeční šťávu aj. [5].

3.2 Riboflavin - B₂

Po chemické stránce je tato žlutá krystalická látka 7,8-dimetyl-10-(-1-D-ribityl)-izoalloxazin.



Riboflavin

Riboflavin patří do skupiny flavinů, jejíž vodné roztoky fluoreskují. Základem struktury riboflavinu je izoalloxazinové jádro, na které je vázán ribitol, alditol odvozený od D-ribózy. Procesu vidění se riboflavin účastní tím, že převádí krátkovlnné modré paprsky na žlutozelené a tím umožňuje vidění za šera. Jednou z nejvýznamnějších chemických vlastností je možnost účastnit se oxidačně-redukčních reakcí. Flavínové enzymy jsou považovány za akceptory vodíkových atomů z redukovaných pyridinových koenzymů (NADH, NADPH). V biochemických systémech se vyskytuje volný nebo vázaný ve formě flavinových koenzymů oxidoredukčních enzymů. Téměř vždy se vyskytuje jako součást flavinových kofaktorů FMN a FAD. Jako volný se nachází pouze v sítnici, syrovátce a moči [6].

Mezi živočišné zdroje se řadí maso, játra, ledviny, vejce a mléčné výrobky. V potravinářství se B₂ používá pro fortifikaci potravin (cereálie, dětská výživa, multivitaminové nápoje), rovněž se používá jako barvivo v instantních produktech.

Tab. 5. Zdroje riboflavinu [19]

Údaje v mg na 1 kg potravin			
Pšeničná mouka hladká	0,64	Žitná mouka výrazková	0,30
Pšeničná mouka hrubá	0,27	Žitný chléb Vita	2,4
Pšeničná mouka výběr polohrubá	0,40	Ovesné vločky	1,54
Pšeničný chléb	0,76	Rýže	0,41

Vzhledem k jeho působení v energetickém metabolismu a metabolismu bílkovin je výše denního příjmu závislá na obsahu bílkovin a energetické hodnotě stravy. Tato doporučená dávka by měla být v souladu s energetickým výdejem a tělesnou hmotností konzumenta [3,5].

3.3 Kyselina nikotinová a její amid - B₃

Dříve označovaný jako vitamin P-P (Pelagra-Preventive vitamin). Kyselina nikotinová je po chemické stránce kyselina 3-pyridinkarboxylová a její amid, nikotinamid.



Kyselina nikotinová a její amid

Obě tyto látky jsou biologicky stejně účinné. Termín niacin se používá pro celou skupinu příbuzných látek tvořenou kyselinou nikotinovou, jejím amidem a jejich deriváty. Lidský organizmus je schopen omezeně vytvářet niacin z aminokyseliny tryptofanu pomocí enzymů obsahujících jako kofaktor vitamin B₆ (pyridoxin). Pro biosyntézu 1 mg niacinu je zapotřebí asi 60 mg tryptofanu. V biochemických systémech vznikají z kyseliny nikotinové dva koenzymy, které mají neobyčejně významnou úlohu. Tyto koenzymy *pyridinových dehydrogenáz* jsou nikotinamidadenindinukleotid (NAD⁺, NADH) a nikotinamidadenindi-

nukleotidfosfát (NADP^+ , NADPH). *Oxidoreduktázy* s NAD^+ nebo NADP^+ se účastní syntézy a odbourávání sacharidů, koenzymy katalyzují oxidace primárních a sekundárních alkoholů, aldehydů, α -aminokyselin nebo také α - a β -hydroxykarboxylových kyselin [6]. Volná kyselina se vyskytuje převážně v rostlinách a v živočišných tkáních její amid. Jejich nejbohatším zdrojem jsou kvasnice, z hlediska nutričního maso a vnitřnosti (játra). Obiloviny jsou rovněž bohaté na kyselinu nikotinovou, jelikož se nachází především v obalových vrstvách zrna a v klíčku, její obsah v moukách závisí na stupni vymletí [5].

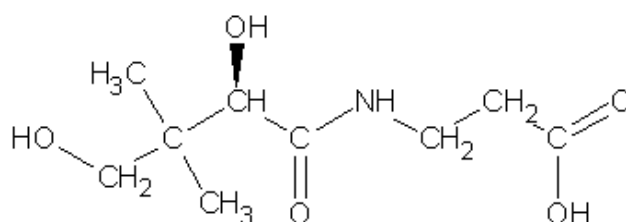
Tab. 6. Zdroje niacinu [23,24]

Údaje v mg na 100 g potravin			
Pšeničná mouka bílá	0,9 – 1,2	Pšeničná mouka Celozrnná	3,1 – 5,7
Pšeničný chléb	1,2	Celozrnné těstoviny	7,0
Žitná mouka	0,7 – 1,6	Otruby	5,0 – 20,8

Při stanovení doporučeného příjmu kyseliny nikotinové je třeba započítat nejen niacin z potravy, ale také ten, který byl syntetizován v játrech a ledvinách z tryptofanu. Smíšená dieta obsahující 60 g bílkovin je tedy zdrojem 600 mg tryptofanu, ze kterého může teoreticky vzniknout až 10 mg niacin-ekvivalentu. Místo kyseliny nikotinové bývá při suplementaci doporučován nikotinamid, který je lépe tolerován [5].

3.4 Kyselina pantotenová - B₅

Po chemické stránce patří k velmi jednoduchým vitaminům. Molekula je složená z pantoové kyseliny a β-alaninu [1]. Přítomnost β-alaninu ve struktuře kyseliny pantotenové je nezbytná, je-li nahrazen jinou látkou, je fyziologicky neúčinný nebo dokonce vykazuje antivitaminovou aktivitu. Tento vitamin je velmi dobře rozpustný ve vodě a zahříváním s kyselinami nebo zásadami se hydrolyzuje. V přírodě se kyselina pantotenová nejčastěji vyskytuje jako přirozená součást koenzymu A (CoA), který vzniká v heterotrofních organizmech z volné kyseliny pantotenové.



Kyselina pantotenová

Koenzym A se účastní klíčových reakcí v metabolismu aminokyselin, tuků a sacharidů. Zasahuje také do biosyntézy cholesterolu, steroidních hormonů, porfyrinu a hemoglobinu. Savčí organismus, kvasinky a bakterie nemohou kyselinu pantotenovou syntetizovat, jsou schopny ji jen přenášet do molekuly koenzymu A a do speciálního proteinu označovaného jako ACP (Acyl Carrier Protein). Hlavní biochemickou funkcí koenzymu A je přenos acylových skupin prostřednictvím tioesteru, za katalytického působení enzymu *acetyl-CoA-syntetázy*. Kyselina pantotenová zasahuje prostřednictvím koenzymu A do významných metabolických cyklů, jako je β-oxidace mastných kyselin a citrátový cyklus [8]. Živočišné produkty jsou bohatšími zdroji, rostlinné kromě luštěnin, jí obsahují zpravidla velmi málo. Dobrymi zdroji jsou například játra, ledviny, rybí maso, kvasnice, sýry, mléko, vejce (vaječný žloutek), tmavá mouka, luštěniny, rýže, zelenina se zelenými listy a houby [5,25].

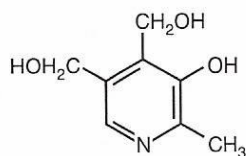
Tab. 7. Zdroje kyseliny pantotenové [23,24]

Údaje v mg na 100 g potravin			
Celozrnný chléb	2,0	Ovesné vločky	1,1
Údaje v µg na 100 g			
Bílý chléb	4,0	Žitný chléb	5,0
Žitná mouka tmavá	14,1	Žitná mouka světlá	7,2

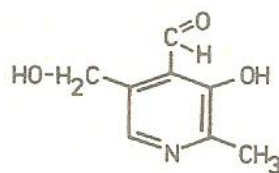
Nadbytečná množství se z organismu odvádí močí, menší část se metabolizuje na CO₂. V organismu se vitamin uchovává po dobu 4 - 10 dní. Na základě směrnice 46/2002 O doplňcích stravy vydala v červnu 2006 komise EU zprávu, která se zabývá bezpečností příjmu vitaminů a minerálních látek, z níž jasně vyplynulo, že žádné riziko při nadměrné konzumaci kyseliny pantotenové neexistuje. Spolehlivě ho ničí konzervační postupy, průmyslové zpracování jídel, kofein, alkohol, antikoncepční prostředky či léky na spaní. Varem se ztrácí až 50 %, při technologickém zpracování - mletí, zmrazování i konzervování - pak téměř 80 %. Na druhé straně, že při pasterizaci mléka jsou ztráty jen minimální [27]. Ještě účinnější formou než samotná kyselina je příslušný alkohol pantenol. Jako farmaceutický preparát je kyselina pantotenová ve formě vápenaté soli [21].

3.5 Pyridoxin - B₆

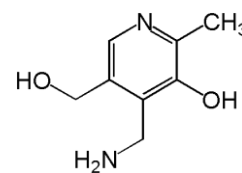
Do skupiny B₆ náleží tři navzájem příbuzné látky, které všechny prokazují biologický účinek vitamínu. Jsou to pyridoxol (2-metyl-3-hydroxy-4,5-bishydroxymetylpyridin), pyridoxal (2-metyl-3-hydroxy-4-formyl-5-hydroxymetylpyridin) a pyridoxamin (2-metyl-3-hydroxy-4-amino-metyl-5-hydroxymetylpyridin).



Pyridoxol



Pyridoxal



Pyridoxamin

Vitamin B₆ je proto označován jako pyridoxinová triáda. V biochemických systémech vystupuje pyridoxin ve formě fosfátových derivátů pyridoxalfosfátu a pyridoxaminfosfátu. Pyridoxalfosfát se jako kofaktor *dekarboxyláz* zúčastňuje reakcí v metabolismu aminokyselin. Z reakcí se jedná hlavně o transaminaci, při níž je pyridoxalfosfát koenzymem *aminotransferáz*, o dekarboxylaci aminokyselin a jejich racemizace [6,25].

Vitamin B₆ je široce rozšířen v rostlinných i živočišných potravinách. Ve vyšších koncentracích se vyskytuje v droždí, ve zvířecích vnitřnostech, ve vepřovém, drůbežím a rybím mase. Z rostlinných potravin je nejhojněji obsažen v pšeničných klíčcích, cereáliích, celozrnných produktech a v sójových bobech. Rovněž brambory, zelí, kukuřice, mrkev, banány, zelené fazole a hrách jsou dobrými zdroji tohoto vitamínu. Poměrně nízký je jeho obsah v pasterizovaném mléce [5].

Tab. 8. Zdroje pyridoxinu [23,24]

Údaje v mg na 100 g potraviny			
Knackebrot	2,7	Pšeničné otruby	2,5
Pšeničný celozrnný chléb			0,35
Údaje v µg na g ⁻¹			
Pšeničná mouka bílá	1,2 – 6,0	Pšeničný chléb	1,0

K příjmu toho vitamínu přispívá do určité míry i střevní mikroflóra. Díky špatné kvalitě střevní mikroflóry dochází k nedostatečnému vstřebávání tohoto vitamínu a následně k avitaminóze. Pyridoxin hraje klíčovou roli v metabolismu aminokyselin, proto se jeho denní dávka zvyšuje, jestliže stoupá příjem bílkovin [5]. Při přípravě stravy je pyridoxin celkem termostabilní, při ozáření světlem se postupně rozkládá.

4 CEREÁLIE

Cereálie nebo obiloviny jsou strategickou a historicky nejvýznamnější plodinou [27]. Obiloviny si udržely v průběhu tisíciletí výlučné postavení základní potraviny. Teprve později dochází k poklesu přímé spotřeby obilovin až na 60 - 65 kg ročně, přičemž ve vyspělých zemích bylo obilovinami pokryto pouze 20 % denní energetické potřeby [28]. V České republice jsou obiloviny nejdůležitější zemědělskou plodinou, jsou základní surovinou pro řadu potravinářských výrob, pro krmivářský průmysl i průmyslovou surovinou. Jako potravina kryjí asi 33 % energetické hodnoty, dále zajišťují 30 % konzumovaných bílkovin, 56 % sacharidů a 10 % tuků. Ročně se vyrobí 6,8 - 7,1 mil. tun obilovin, z toho 2,1 mil. tun se zpracovává na výrobu potravin [28]. Význam obilovin je obzvláště pozoruhodný vzhledem k příjmu vápníku, železa a vitaminů skupiny B [29].

Obiloviny se zpracovávají na řadu výrobků, jejichž výživová hodnota závisí na stupni vymílání mouky a přidavku dalších složek. Z hlediska výživového si více ceníme výrobků celozrnných z tmavých mouk, které obsahují více obalových vrstev zrna (slupky, klíčky, aleuronové buňky), a tím i více bílkovin, esenciálních mastných kyselin, vitaminů, minerálních látek a vlákniny a méně energie. Bílé (nízkovymílané) mouky jsou energeticky bohaté, ale chudé na výživově cenné látky. V poslední době se propagují některé méně známé druhy obilovin (proso, špalda, pohanka, amarant aj.). Jejich výživová hodnota není výrazně vyšší než u ostatních obilovin, i když mají některé přednosti, např. pohanka má vysoký obsah rostlinných sterolů a rutinu (látek, které působí protiskleroticky), amarant má poměrně vysoký obsah bílkovin s příznivým aminokyselinovým složením. Navíc neobsahují lepek a dají se použít v bezlepkové dietě [30].

Tab. 9. Přehled běžných obilovin běžně pěstovaných
a využívaných pro potravinářské účely [30]

Česky	Latinsky
Pšenice obecná	<i>Triticum aestivum</i>
Pšenice tvrdá	<i>Triticum durum</i>
Žito seté	<i>Secale cereale</i>
Trikitale, žitovec	<i>Triticale</i>
Ječmen víceřadý	<i>Hordeum vulgare</i>
Ječmen dvouřadý	<i>Hordeum distichum</i>
Oves setý	<i>Avena sativa</i>
Rýže setá	<i>Oryza sativa</i>
Kukuřice setá	<i>Zea mays</i>
Proso seté	<i>Panicum miliceum</i>
Čirok	<i>Sorghum sp.</i>

Pro lidskou výživu se přímo používá z obilovin výhradně zrno. Obiloviny (cereálie) patří botanicky mezi traviny. Téměř všechny známé obiloviny patří do čeledi lipnicovité, latinsky *Poaceae*. Výjimku tvoří pohanka, laskavec a merlík [30].

4.1 Obiloviny z pohledu výživy



Obr. 1. Obiloviny

Potrava, kterou přijímáme, podmiňuje nejen naše zdraví, ale i naše chování, náladu či pohodu. Například agresivita může být vyvolána nedostatkem hořčíku, vápníku a litia se současnou avitaminózou vitamínu E a B. Deprese vzniká nedostatkem hořčičných solí a tiaminu. Všechny buňky našeho těla se neustále tvoří z jednotlivých složek přijímané potravy a kvalita těchto buněk závisí na kvalitě konzumovaného jídla. Tato kvalita se posuzuje podle obsahu živin obsažených v potravě a biologické hodnotě potravin. Živiny dodávající energii jsou sacharidy, bílkoviny a tuky, živiny nedávající energii jsou minerální látky, vitamíny, vláknina, stopové prvky a voda. Biologická hodnota závisí na stupni ponechání v přírodním stavu a době, která uplynula od sklizně. Snižuje ji stupeň průmyslového zpracování, tepelného zpracování, způsob skladování nebo použitá konečná tepelná úprava před servírováním [27].

V dnešní době je důležité, aby rafinované potraviny (z bílé mouky nebo bílého cukru, tj. zbavené vlákniny) byly doplněny nebo nahrazeny výrobky s vyšším obsahem hrubé vlákniny. Cennými zdroji jsou právě cereální výrobky, zejména otruby, celozrnné chleby a pečivo, obilné klíčky a vločky nebo těstoviny z celozrnných mouk. Kromě zvýšení obsahu vlákniny v cereálních výrobcích se stále častěji některé výrobky obohacují pektiny, které mají schopnost vázat škodliviny i bakterie a odvádět je z těla [27].

4.2 Strukturní uspořádání obilného zrna

Morfologická skladba zrna všech obilovin je zhruba shodná. Zrna se liší především tvarem, velikostí a podílem jednotlivých vrstev. Tvary zrna jsou od tenkých protáhlých až po téměř kulatá, zastoupení a pořadí jednotlivých vrstev je však shodné. Absolutní rozměry zrna se mohou poněkud lišit i pro stejný druh obiloviny v závislosti na odrůdě, klimatických podmínkách každého roku a lokalit, kvalitě půdy a agrotechnice (především přihnojování) [30].

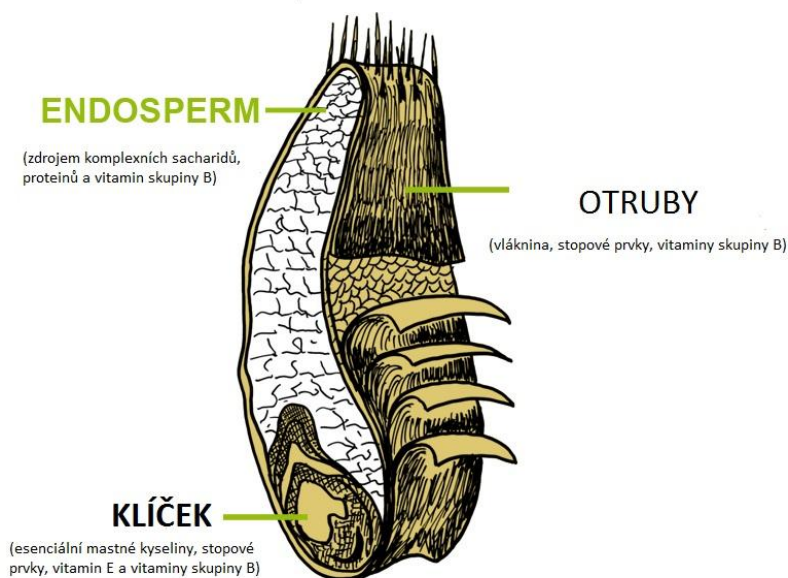
4.3 Obilka, její části a vlastnosti

Každá obilka se skládá z endospermu, klíčku a obalových vrstev.

Endosperm představuje 84 – 86 % hmotnosti zrna, je tvořen velkými hranolovitými buňkami, které obsahují především škrob a bílkoviny. Od obalových vrstev je oddělen vrstvou aleuronových buněk obsahujících bílkoviny, minerální látky, tuky a vitaminy. Endosperm zajišťuje výživu zárodku a při výživě a krmení je hlavním zdrojem energie a bílkovin.

Klíček tvoří nejmenší část obilky (např. u pšenice je to pouze 3 % hmotnosti). Klíček je oddělen od endospermu štítkem, který obsahuje 33 % bílkovin. Obsahuje mnoho živin, protože slouží jako zárodek nové rostliny. Mimo jednoduchých cukrů obsahuje klíček bílkoviny, aminokyseliny, vitaminy rozpustné ve vodě a značné množství vitamínu E. V klíčku je rovněž obsažen tuk, který velmi rychle podléhá oxidačním a enzymovým změnám. Hlavně proto jsou klíčky před mletím z obilky odstraňovány tak, aby v získané mouce nebyl tuk hydrolyzován a nevznikla žluklá chuť.

Obaly tvoří 8 - 14 % hmotnosti zrna. Jsou tvořena několika vrstvami buněk, které chrání endosperm a klíček před vysycháním a mechanickým poškozením. Obalové vrstvy se skládají z oplodí a osemení. Oplodí (perikarp) tvoří pokožka (epidermis), buňky podélné (epikarp), buňky příčné (mezocarp) a buňky hadicové (endocarp). Osemení (perisperm) je tvořeno vrstvou barevnou a hyalinní (skelnou) [28].



Obr. 2. Složení obilky, zpracováno autorem [31]

4.4 Chemické složení obilovin

Tab. 10. Chemické složení obilovin v % [28]

Obiloviny, Zrniny	Sacharidy	Bílkoviny	Tuk	Minerální látky	Vláknina
Žito	70,7	9,0	1,7	1,7	1,9
Pšenice durum	65,0	13,2	2,4	1,7	2,5
Ječmen s pluchami	67,0	9,5	2,1	2,5	4,0
Oves s pluchami	56,4	10,3	4,8	3,2	10,3
Kukuřice	67,2	11,0	4,4	1,5	2,2
Proso loupané	68,1	11,5	3,9	1,8	2,3
Rýže Paddy	68,4	6,9	1,6	4,0	8,9
Sója loupaná	35,7	24,6	18,0	4,1	2,6

4.4.1 Vitaminy v cereáliích

Obecně je třeba říci, že endosperm obilovin je na vitaminy chudý. Vitaminy se vyskytují v jiných anatomických částech, zejména v obalových vrstvách, klíčku, zejména ve štítku a aleuronových vrstvách. Nicméně, i přesto je možno obiloviny považovat za zdroj vitamínů skupiny B.

Tiamin a riboflavin se vyskytují v obalových vrstvách většiny obilovin a v klíčcích. Ve světlých moukách zbývá podle stupně vymletí jen cca 10 - 20 % původního obsahu vitamínů skupiny B v zru. V tmavých moukách může být zachováno až 40 % původního obsahu. Se zvyšujícím se vymletím se zvyšuje obsah tiaminu v mouce. Při pečení se termickým rozkladem jeho obsah snižuje až o 30 %. Rovněž tak skladováním při vyšší vlhkosti se za rok obsah tiaminu snižuje až o 80 %. U riboflavinu jsou tyto ztráty nižší. Kyselina nikotinová a nikotinamid jsou ve vyšších množstvích přítomny v pšenici a ječmeni. Tento vitamin je termostabilní a stálý vůči oxidaci. Je lokalizován do aleuronové vrstvy, a proto hlavní podíl přechází do otrub. Kyselina pantotenová je obsažena v pšenici, zejména sklovité, především v okrajových částech zrna. Pyridoxin je lokalizován rovněž v aleuronové vrstvě a ve štítku. Vitamin C – kyselina L-askorbová se ve zralém obilí nevyskytuje, její obsah prudce vzrůstá ve vyklíčeném obilí. Z lipofilních vitamínů je třeba se zmínit o vitaminu E, který se ve vysoké koncentraci vyskytuje v pšeničných klíčcích, z nichž se dokonce izoluje při výrobě vitaminových preparátů ve farmaceutickém průmyslu. Vitamin A je obsažen ve formě svého provitaminu β -karotenu v klíčcích. Vitamin D se v obilovinách taktéž nachází pouze ve formě provitaminů - sterolů. Na vitamin se mění ozářením UV paprsky [28,30].

Cílem studie (Lebiedzinská a kol.) bylo stanovit obsah tiaminu, riboflavinu a pyridoxinu v obilí, obilovinách, výrobcích z obilovin a semen, zjištěním procenta realizované doporučené dávky (RDA - Recommended Dietary Allowance) u dospělých osob na vitaminy skupiny B. Koncentrace vitamínů byla stanovena na základě mikrobiologických a analytických metod. Výsledky ukázaly, že existují velké rozdíly ve vitamínech skupiny B, a to ve složení odrůd analyzovaných produktů [31]. Celá obilná zrna a výrobky z nich, jsou lepšími zdroji těchto vitamínů než technologicky zpracované produkty, a proto více ve výživě účinné. Obilí a obilné potravinářské výrobky představují důležitou součást lidské stravy, která poskytuje vysoký podíl sacharidů, bílkovin, tuků, vlákniny, minerálních látek a vitamínů skupiny B. V mnoha zemích se najde větší využití dietních přípravků pro léčbu a prevenci cukrovky, kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny tlustého střeva a při potře-

bě snížení hladiny cholesterolu v krvi, což také naznačuje jejich možné terapeutické využití ve výživě člověka. Obecné doporučení je, aby lidé konzumovali ovoce, zeleninu, celozrnné obiloviny a chléb, méně mastné výrobky. V tradiční polské stravě jsou největší součástí jídelníčku celozrnné výrobky a krupice. Obilí, cereálie, sója a produkty ze semen mohou poskytnout lidskému organismu obsah vitaminů B₁ odpovídající 11,3 - 48 %, B₂ (5,1 - 21,9 %), B₆ (19,2 - 28,8 %) a B₃ (8,0 - 31,9 %) z RDA vitaminů skupiny B. Proto jsou výrobky z obilovin důležitým zdrojem mnoha živin, včetně právě zmiňovaných vitaminů skupiny B [32].

4.5 Celozrnné potraviny

Zavádějící je už samostatný pojem „cereální“. Cereálie mohou být celozrnné, ale může se jednat i o hladkou mouku. Kritéria pro výběr cereálií jsou jasná: energetická hodnota, obsah cukru, typ a množství tuků, vlákniny, soli a glykemický index. Cereálie jsou potraviny ze své podstaty značně koncentrované, sacharidového typu, to znamená, že většinu jejich energetické hodnoty musí tvořit sacharidy a tuky. Bílkovin je v nich naopak málo. Energetická hodnota se může pohybovat v rozmezí od 1 220 do 2 060 kJ na 100 g cereálií. Tuto energetickou hodnotu může snížit jen vláknina, je-li přítomna ve velkém množství. Zvyšuje ji naopak cukr (hlavně sacharóza, glukóza, fruktóza), ořechy, kousky čokolády, nejrůznější polevy, jimiž jsou někdy cereální lupínky „dochuceny“. Obecně tedy platí, že čím méně technologických zásahů, tím lépe [33].

Pojmy „celozrnný výrobek“ a „celozrnná mouka“ nebo „podíl celého zrna“ jsou definovány ve vyhlášce č. 333/1997 Sb. Ministerstva zemědělství k zákonu č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích. V současné době se v odborných kruzích diskutuje o nejvhodnější podobě definice, přijatelné jak pro potřeby vědy, výzkumu a výroby, tak zejména pro spotřebitele. Současná definice formulovaná Americkou asociací cereálních chemiků (AACC - American Association of Cereals Chemists), která je rozhodující pro vývoj nových výrobků a jejich průmyslovou výrobu, považuje za **celozrnný** takový produkt, který by měl obsahovat intaktní, drcenou nebo vločkovanou obilku, jejíž základní anatomický endosperm, klíček a otruby jsou ve stejných relativních proporcích jako v původní intaktní obilce. Tato definice, ale není považována za nejvhodnější pro spotřebitele ani pro účely nutriční osvěty, a proto jsou zpracovány a předkládány veřejnosti k posouzení návrhy na aktualizaci a rozšíření dosavadní podoby definice. Mimo AACC se tímto problémem zabývá např. Úřad pro potravinové standardy pro Austrálii a Nový

Zéland (FSANZ – Food Standards Australia New Zealand), australský biomedicínský institut pro výzkum obilovin (BRI – Biomedical Research Institute) a rovněž americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA – Food and Drug Administration). Oficiální definice termínu „celozrnný“, navržená WGC (Whole Grain Council, rada zabývající se celozrnnými výrobky sídlící v USA, Bostonu) byla schválena v květnu 2004 ve znění: **„Celá zrna nebo potraviny z nich vyrobené obsahující veškeré esenciální části a přírodně se vyskytující živiny celého neporušeného obilného zrna.“** Za obecně akceptované celozrnné potraviny a mouky jsou při konzumaci považovány otruby, klíčky a endosperm. WGC obdobně jako FDA považují za celozrnné potraviny amarant, ječmen, pohanku, kukuřici, čirok, oves, quinou, rýži, žito, proso, tritikale, pšenici, kamut a planou rýži [34].

5 NETRADIČNÍ DRUHY CEREÁLÍ

5.1 „Kamut“

Tento nejstarší druh pšenice byl znovu objeven v r. 1948 v hrobce egyptského Dakare. Mack Quin nalezená zrna v r. 1977 rozmnožil a po r. 1989 se začalo s prvními pekařskými pokusy [35]. Staroegyptsky „duše země“ nebo-li kamut je prastarý příbuzný dnešní pšenici.

Jedná se o *Triticum turgidum*, která má nejblíže k pšenici *Triticum durum*. Prodává se pod obchodním označením Kamut. Zrna mají stejný tvar jako běžné druhy pšenice, jsou ovšem minimálně dvakrát tak velká, mají v průměru o 30 % více proteinu a zvýšený obsah vitaminů E, B₁, B₂, B₅, fosforu, hořčíku, zinku, mědi a komplexních sacharidů [36,37]. Kompletní nutriční analýza kamutu dokazuje, že obsahuje na energii bohatší složky než ostatní druhy pšenice. Ve srovnání s běžnou pšenicí obsahuje asi 17 % bílkovin, což je asi o 40 % více, dále o 65 % více aminokyselin a také se může pochlubit vyšším obsahem lipidů a mastných kyselin. Má o 30 - 35 % více hořčíku a zinku, z vitaminů o 30 % více vitamínu E a 1,8 % popela [38].

Obecně lze říci, že kamut je velmi zdravá obilovina. Nedávný výzkum prováděný Mezinárodní asociací pro potravinové alergie (IFAA – International Food Allergy Association) dokonce naznačil, že „pro většinu senzitivních osob může být kamut vynikající náhradou běžných druhů pšenice“. Pacienti s celiakií ovšem musí při eventuálním zařazování kamutu do svého jídelníčku postupovat velmi obezřetně, nejlépe po poradě s lékařem, protože testy prokázaly, že zhruba 30 % osob s alergií na pšenici je alergických rovněž na kamut. V některých případech mohou být reakce na kamut ještě horší než na běžnou pšenici. Na druhé straně, ale řada lidí, kteří pšenici nemohou jíst s kamutem žádné problémy nemají. Proto je tato cereálie často spojována v souvislosti s celiakií a bezlepkovou dietou [36].

Mletý kamut dává vysoce biologicky hodnotnou nažloutlou mouku s ořechovou příchutí, je lehce stravitelná a je mimo jiné bohatá na vysoký obsah nenasycených mastných kyselin a samozřejmě selenu, zinku a hořčíku [35]. Tento prapůvodní druh pšenice, na rozdíl od jiných druhů obilí, neprošel procesem hybridizace či genetických úprav. Zachovává si stále svou kvalitu a patří mezi nejméně alergizující potraviny. Tento biovýrobek je vhodný do polévek, pomazánek, salátů, k zapékání, dušení i jako příloha.



Obr. 3. Kamut nezralý



Obr. 4. Kamut

Přednosti BIO Kamutu:

- je pěstován výhradně v podmínkách certifikovaného ekologického zemědělství,
- není kontaminovaný jakýmkoliv typem moderní pšenice, není GMO (Geneticky modifikovaný organizmus),
- obsahuje o 20 - 40 % více bílkovin než běžná pšenice,
- má mimořádně vysoký obsah selenu, což je mnohem více, než u běžných druhů obilovin,
- má také vysoký obsah nenasycených mastných kyselin, zinku, hořčíku,
- dodává energii a proto je vhodný pro všechny s aktivním životním stylem,
- posiluje imunitní systém,
- příprava je stejná jako u běžné pšenice,
- kamutová mouka není rafinovaná ani bělená, čímž si udržuje všechny výživové vlastnosti,
- kamutová mouka má dobré kynoucí vlastnosti a pečivo s jejím přidavkem má krásně zbarvenou kůrku,
- vyznačuje se lehkou stravitelností,
- má mírnou nasládlou oříškovou chuť a vůni [38].

5.2 „Grünkern“

Tato jihoněmecká specialita se vyrábí ze špaldových zrn sklizených v tzv. mléčné zralosti, tedy ještě před úplným dozráním. Tato zrna se pak restují nad ohněm z bukového dřeva. Tím se docílí jemně uzené a výjimečně aromatické chuti a vůně. Tato netradiční pochoutka je rovněž známá pod názvem „zelený kaviár“. Je nenadýmavá a lehce stravitelná. Používá se podobně jako zrno špaldy. Tradičně byl grünkern používán v polévkách jako závažka a ve formě škrobu, posléze v omáčkách, pudincích a těstovinách, také jako součást zeleninových a masových směsí, do salátů nebo jako příloha k hlavním jídlům. Senzorické vlastnosti byly popsány jako „kouřové“ a „bohaté v aromatu“ [39].

5.3 „Pšenice špalda“

Jedná se o starověký nešlechtěný druh, který je příbuzný pšenici (*Triticum aestivum* L.). Tato evropská plodina je velice kvalitní obilovina s mnoha příznivými účinky na organismus a skvělými výživovými vlastnostmi. Tato stará odrůda pšenice je významnou obilovinou pěstovanou téměř výhradně pro výrobu biopotravin. Dnes se zvyšuje zájem o pšenici špaldu, a to především s rozvojem ekologického zemědělství [40,41]. Pšenice špalda má jak ozimé, tak jarní formy, v Evropě převládají formy ozimé [42]. Tato pšenice obsahuje téměř všechny základní složky důležité pro zdraví, včetně bílkovin, tuků, sacharidů, vitamínů a minerálních látek. Vzhledem k většímu podílu aleuronové vrstvy obsahuje špalda v průměru 16 - 17 % bílkovin, což je mnohem více než u pšenice seté (12 - 14 %). Obsah lepku se pohybuje v rozmezí 35 - 45 %, jeho kvalita je vysoká. Také je výborným zdrojem vitamínů skupiny B, především tiaminu (B_1 , 0,6 mg na 100 g), riboflavinu (B_2), ale také niacinu (B_3) [43]. V pšenici byly Kohajdovou a kol. analyzovány tři vitaminy skupiny B, tiamin, riboflavin a niacin a bylo zjištěno, že jen množství niacinu bylo vyšší (o 5 %) v pšenici špaldě v porovnání s tvrdou pšenicí ozimou [44]. Zajímavý je obsah β -karotenu, vyšší obsah draslíku, síry a hořčíku. Obsah stravitelného škrobu se u Pšenice špaldy téměř rovná Pšenici seté, obsah stravitelných cukrů je však podstatně nižší, nerozpustné vlákniny je o něco méně. Obsahuje relativně značné množství nenasycených mastných kyselin a neobsahuje cholesterol. Z hlediska zdravotního se špaldě přisuzují pozitivní účinky na stimulaci imunitního systému, cení se její lehká stravitelnost a vhodnost při léčení některých alergií. Konzumace špaldy alergií v některých případech vůbec nevyvolává [43].

I při nízkém hnojení dává dobrou sklizeň a má lepší zastoupení minerálních látek ve srovnání s Pšenicí ozimou. V některých postupech alternativní medicíny byla špalda navržena

pro zařazení do stravy pacientů léčebných pro zdravotní problémy, jako je vysoká hladina cholesterolu v krvi, revmatoidní artritida, deprese a rakovina. Ale jelikož obsahuje lepek, je problematický pro jedince trpící celiakií [45,46]. Tato pšenice je potenciální surovinou pro nové potravinářské produkty s vysokým obsahem vlákniny a okouzlí její oříšková příchut'. Vyrábějí se z ní základy nebo přísady do těstovin, tvoří přísadu müsli i vánočního pečiva, zrna špaldy se dále zpracovávají na kroupy, krupici či vločky vhodné na kaši nebo do polévek. Chléb s přísadou špaldové mouky má výraznou chlebovou vůni, velký objem, popraskanou kůrku, výborně chutná a vydrží dlouho vláčný a čerstvý [43].

5.3.1 „Špaldové kernotto“

Jedná se o kroupy získané z pšenice špaldy. Vznikají loupáním a broušením tvrdých obalových vrstev zrn, čímž oproti špaldovému zrnu při vaření rychleji měkne a je pro většinu lidí lépe stravitelné [47].

5.4 „Pšenice ozimá“

Tato obilnina je nejrozšířenější a nejvýznamnější v České republice [44]. Celková produkce pšenice v roce 2009 byla 4358,1 tis. tun, a z tohoto množství 4229,3 tis. tun Pšenice ozimé a 128,8 tis. tun Pšenice jarní [48].

Je to ozimá forma Pšenice obecné. Tento druh je velmi náročný na půdní podmínky a živiny. Pěstuje se prakticky ve všech výrobních oblastech a může být využívána k potravinářským, krmivářským, technickým a energetickým účelům. V posledních letech je stále ve větším rozsahu pěstována i v ekologickém zemědělství [49]. Má velmi dobrou klíčivost, vysoký obsah vlákniny a některých biologicky cenných látek jako jsou vitaminy skupiny B, vitamin E, β -karoten, z minerálních látek draslík, fosfor, křemík a vápník. Pšenice se pouze čistí, je tak v přirozeném stavu, proto se s úspěchem používá ke kuchyňskému nakličování a ke kuchyňským úpravám (máčení, vaření, pražení, mletí a šrotování) [50].

5.5 „Rýže“

Rýže, stejně jako pšenice, proso a ječmen, patří mezi jednoleté trávy nebo obiloviny. Lidem, kteří konzumují jejich semena, poskytují vysoký příjem sacharidů, ze kterých naše tělo získává energii [51,52]. Obilky rýže se liší od jiných obilných druhů nízkým obsahem dusíkatých látek – lepku a vyšším obsahem sacharidů. Stejně jako obiloviny patří rýže do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Nejjednodušším rozdělením rodu rýže (*Oryza*) je členění na rýži setou (*Oryza sativa*) a rýži horskou (*Oryza montana*). Rýže setá má nejkvalitnější odrůdy vhodné k vaření. Rýže horská má delší vegetační dobu, daří se jí v oblastech s vyšší nadmořskou výškou a poskytuje zrna nižší kvality [53,54]. Rýži můžeme dělit i dle technologické úpravy na loupanou, neloupanou a pololoupanou neboli natural. Dále vyhláška č. 333/1997 po novele č. 93/2000 Sb. definuje rýži dle délky zrna a poměru jeho délky a šířky na rýži dlouhozrnnou, střednězrnnou a kulatozrnnou [53,54,55]. Na trhu se většinou rozlišuje rýže bílá, basmati, parboiled, jasmínová a rýže patna [53, 54]. Četné studie prokázaly, že základní složky v ovoci, zelenině a v obilných zrnech, včetně rýže jsou spojeny se snížením rizika vzniku chronických onemocnění, jako jsou kardiovaskulární choroby, *diabetes mellitus* typu II. a dokonce některé druhy rakovinných onemocnění [56]. Směsná rýže kombinuje speciálně zpracovanou dlouhozrnnou parboiled a divokou dlouhozrnnou indiánskou rýži, která je ve skutečnosti semeno severoamerické vodní trávy. Zpracování parboiled rýže spočívá v užití vysokého tlaku, díky kterému vitaminy, minerály i stopové látky prostoupí ze slupky do samotného zrna, proto jsou její výživové hodnoty nesrovnatelně vyšší než u klasické bílé rýže. Basmati je nejrozšířenějším druhem rýže na indickém subkontinentu. Pro svou jemně oříškovou chuť a jedinečnou vůni ji místní nazývají královskou vůní, což ostatně slovo basmati znamená. Tato bílá leštěná rýže bez vnější slupky je přirozeně bez lepku i snadno a rychle stravitelná. Její dlouhá zrna jako příloha výborně ladí se všemi kuchyněmi, nejen s indickou. Sushi se zrodilo v jihovýchodní Asii a je původně jídlem přístavních dělníků, vykladačů rybářských lodí. Byli chudí, proto do práce chodili jen s trochou suché rýže. Během vykládání nákladů ryb si občas z té, kterou právě nesli přes rameno, kousek syrového masa uřízli, schovali ho do válečku rýže v dlani a měli o vyvážené jídlo postaráno. Dnes má sushi mnoho podob s mnoha ingrediencemi, ale na počátku to byl váleček rýže a kousek syrové ryby v dlani přístavního rybníka.

6 HPLC - VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE

Tato metoda je jedna z nejvýznamnějších analytických metod. Umožňuje dělení, identifikaci a stanovení velkého počtu organických i anorganických látek. Pod název chromatografické metody zahrnujeme dnes všechny operace, při nichž dochází k postupnému, mnohonásobně opakovanému vytváření rovnovážných stavů dělených látek mezi dvěma, popř. i více fázemi. Jedna fáze, zvaná stacionární, je umístěna v koloně, druhá, která unáší separované látky ložem stacionární fáze, je fáze mobilní. Při styku stacionární i mobilní fáze s dělenými látkami dochází k vzájemným interakcím, které jsou základním předpokladem pro jejich úspěšnou separaci. Interakce dělených látek se stacionární a mobilní fází má rozdílnou kvantitu, tj. velikost vzájemně působících sil, i kvalitu, tj. povahu interakcí. Stacionární fáze, představující nepohyblivou složku, má specifické vlastnosti, které zprostředkovávají interakci s dělenými látkami. Na základě typů vzájemných interakcí, jež se podílejí na distribučním procesu, je možno klasifikovat jednotlivé chromatografické metody [56]. Chromatografické separace u většiny hydrofilních vitaminů a jejich fosforečných esterů přítomných v potravinách probíhají právě technikami HPLC, včetně analýzy vitaminů v kapslích a multivitaminových tabletách [63].

6.1 Různá hlediska dělení chromatografie

- povaha mobilní fáze: plynová (GC, Gas Chromatography), kapalinová (LC, Liquid Chromatography),
- způsob provedení: kolonová (sloupcová), plošná (planární),
- princip separace: rozdělovací, adsorpční, iontově výměnná, afinitní,
- pracovní způsob: eluční (analytická ch.), frontální, vytěšňovací,
- účel: analytická, preparativní (preparační) [56].

6.2 Rozdělení dle separační funkce a zúčastněných fází

- Kolonová chromatografie: CC (Column Chromatography),
- Plynová chromatografie: GC (Gas Chromatography),
- Kapalinová chromatografie: LC (Liquid Chromatography),
- Chromatografie v systému plyn – tuhá látka: GSC (Gas-Solid Chromatography),
- Chromatografie v systému plyn – kapalina: GLC (Gas-Liquid Chromatography),

- Chromatografie v systému kapalina – kapalina: LLC (Liquid-Liquid chromatography),
- Chromatografie v systému kapalina – tuhá látka: LSC (Liquid-Solid Chromatography),
- Papirová chromatografie: PC (Paper Chromatography),
- Tenkovrstvá chromatografie: TLC (Thin Layer Chromatography),
- Ionexová chromatografie: IC (Ion Exchange Chromatography),
- Gelová permeační chromatografie: GPC (Gel Permeation Chromatography) [59].

6.3 Kapalinová chromatografie

Umožňuje dělení všech organických méně těkavých kapalných i tuhých látek, které jsou rozpustné v běžných organických rozpouštědlech a ve vodě nebo ve zředěných minerálních kyselinách. Podle toho zůstane-li složení mobilní fáze při eluci konstantní, mluvíme o eluci izokratické, mění-li se složení mobilní fáze s časem, jedná se o eluci gradientovou. Polohy maxima elučního píku látky lze využít k její identifikaci, zatím co z plochy či výšky elučního píku usuzujeme na kvantitativní složení vzorku [60].

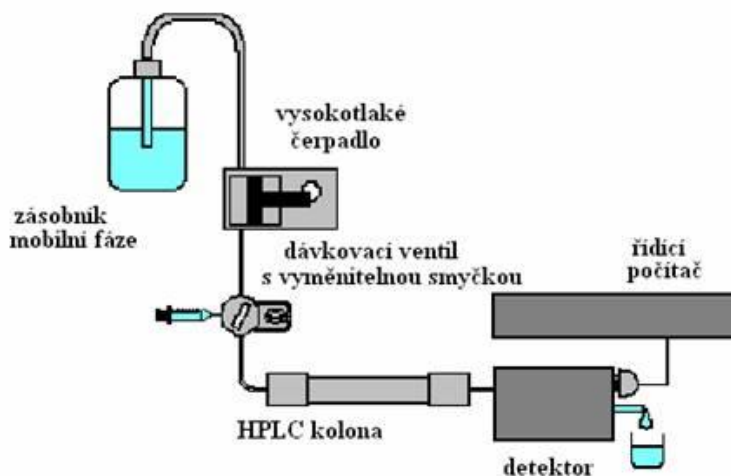
6.4 Vysokoučinná kapalinová chromatografie - HPLC



Obr. 5. HPLC HP 1100 [62]

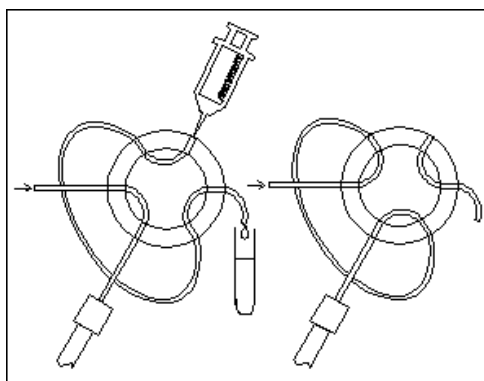
6.4.1 Příslušenství HPLC

Mobilní fáze z vhodného zásobníku je dávkována vysokotlakým čerpadlem přes filtr tuhých částic a průtočný tlumič pulsů, po té přes zařízení pro dávkování vzorků do chromatografické kolony a detektoru [61].

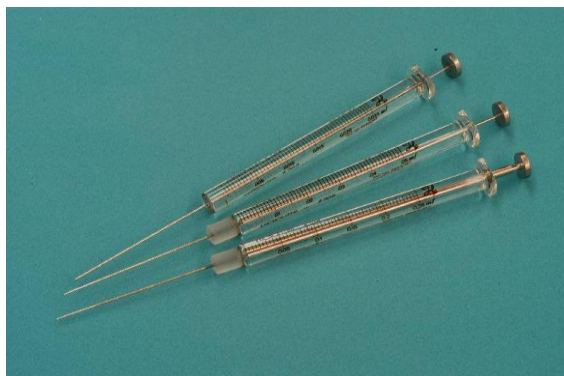


Obr. 6. Obecné schéma HPLC

Čerpadla musí být konstruována z materiálu odolných vůči korozi i při použití poměrně agresivních mobilních fází, k čemuž se hodí nerezová ocel či některé keramické materiály. Musí být schopna dávkovat kapaliny plynule bez kolísání (pulzů) průtoku, a to při průtocích od $0,1$ do $5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ pro analytické aplikace. Konstrukce zařízení pro dávkování vzorku na chromatografickou kolonu může významně ovlivnit účinnost separace. Byly zavedeny tři odlišné způsoby dávkování vzorků: přímý nástřik injekční stříkačkou přes septum, dávkování vzorku dávkovacím ventilem se smyčkou a dávkování vzorku automatickými dávkovači (běžně se používají autosamplery).



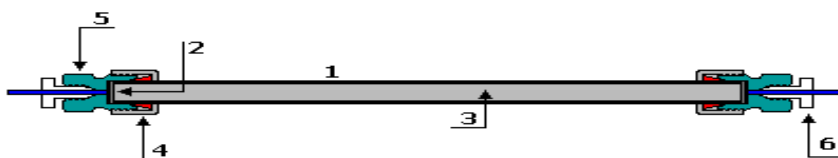
Obr. 7. Dávkovací kohouty
s dávkovací smyčkou



Obr. 8. Injekční stříkačka Hamilton

6.4.1.1 Chromatografické kolony a její náplně

Volba vhodné kolony má rozhodující význam, neboť výsledek chromatografické analýzy je především určován kvalitou kolony a její náplně. Kolony jsou rovné trubice s hladkým vnitřním povrchem, zhotovené z materiálu, který musí odolávat jak relativně vysokým pracovním tlakům (až 60 MPa), tak i chemickému působení mobilní fáze a separovaných látek. Jako materiál se většinou používá kvalitní antikorozi (nerezové) oceli. Délka kolony se volí podle druhu použitého sorbentu. Čím je velikost zrn sorbentu menší, tím kratší kolonu použijeme.

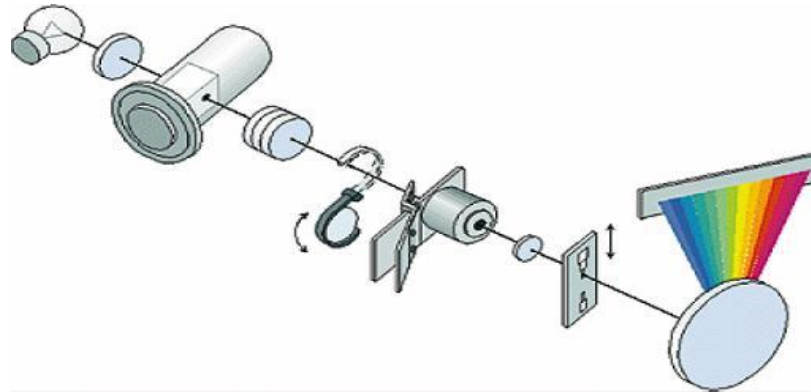


Obr. 9. Kolona HPLC

Vlastní klasická HPLC kolona se skládá z kovového pláště (1), který je uzavřen porézní kovovou fritou (2), která zabraňuje uvolňování stacionární fáze (3) z kolony a současně umožňuje plynulý průtok mobilní fáze. Oba konce kolony jsou ukončeny ochranným kroužkem (4) a koncovou hlavicí (5), ve které je navrtán vstup pro kapiláru se šroubem (6).

6.4.1.2 Detektory

V podstatě všechny typy detektorů, které se používají u kapalinové chromatografie, jsou koncentrační, tj. poskytují signál úměrný koncentraci látek v eluátu.



Obr. 10. UV/VIS DAD detektor [62]

Typy detektorů, které jsou využívány pro kapalinou chromatografii:

- spektrofotometrický UV-VIS (DAD, Diode Array Detector),
- fluorimetrický,
- elektrochemický,
- refraktometrický,
- vodivostní,
- hmotnostní [57,59].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 METODIKA

7.1 Vzorky - standardy

- Standard vit. B₁ (Supelco, USA)
- Standard vit. B₂ (Supelco, USA)
- Standard vit. B₃ - nikotinamid (Supelco, USA)
- Standard vit. B₅ (Supelco, USA)
- Standard vit. B₆ (Supelco, USA) - stanoven jako celá pyridoxinová triáda

7.2 Přístroje a příslušenství

- aparatura pro HPLC (Hewlett Packard 1100)
 - UV/VIS detektor – DAD 61315A, Hewlett Packard 1100 (USA)
 - vakuovaný odplyňovací modul G1322A
 - binární pumpy G1312A
 - termostat kolon G1316A
 - detektor UV/VIS DAD G1315A
 - dávkovací ventil (smyčka o objemu 20 µl)
 - kolona Supelcosil- LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5 µm, Supelco, USA)
 - PC s vyhodnovacím programem ChemStation - Instrumen1 (Agilent, USA)
- dávkovací mikro stříkačka (Hamilton, USA)
- temperovaná vodní lázeň s třepačkou, Memmert, SRN
- pH metr (HANNA instrument, pH 211 Microprocessor pH metr),
míchadlo (Heidolph instrument, HR 1000) a míchadélko
- analytické váhy (Adam - Afa - 210LC)
- chladnička (Samsung - Calex, CZ)

7.2.1 Pomůcky

- laboratorní sklo
- stojan, filtrační kruh, nálevka + modrý filtrační papír pro kvantitativní analýzu KA1 (Papírna Pernštejn s.r.o)
- pipetovací balónek a pipeta
- plastová stříkačka
- mikrofiltr o velikosti pórů 0,45 μm , (Supelco, USA)
- stříčka s redestilovanou vodou
- alobal

7.3 Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková – HCl (Ing. Petr Švec, Penta)
- Kyselina trichloroctová – $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ (Ing. Petr Švec, Penta)
- Metanol pro HPLC – CH_3OH (J.T.Baker)
- Octan sodný – CH_3COONa (Lachema N.P.Brno)
- Kyselina mravenčí 85% - čistá – CH_2O_2
- Izopropanol – $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ (Ing. Petr Švec, Penta)

7.4 Analyzované vzorky



Obr. 11. Analyzované cereálie

Netradiční i tradiční druhy obilovin (obr. 11) či výrobků byly zakoupeny a zaslány firmou PRO-BIO, s.r.o., ČR. Všechna balení pocházela z jedné šarže, balené 25.11.2010. Tyto netradiční obiloviny je nutno skladovat při teplotě do 25 °C a relativní vlhkosti nejvýše 75 % v temnu.

Kromě těchto biovýrobků byly analyzovány různé druhy rýže, různých značek. Tyto byly zakoupeny v obchodním řetězci Makro 30.11.2010. Výrobci analyzovaných vzorků: Podravka – Lagris, a.s., ČR, při skladování a teplotě 25 °C, relativní vlhkosti vzduch 70 % a značka ARO.

A jako poslední vzorky byly analyzovány směsi mouk pšenice a žita. Jedná se o žitnou mouku chlebovou, datum výroby 13.12.2011 a pšeničnou mouku T 530, datum výroby 8.1.2011. Výrobce Penam a.s., Brno, mlýn Kroměříž.

7.4.1 Kamut



Obr. 12. Kamut

Země původu: Kanada

Tab. 11. Průměrné nutriční hodnoty kamutu udávané výrobcem na obalu

Průměrné nutriční hodnoty ve 100 g	
Energetická hodnota	1 507 kJ (359 kcal)
Bílkoviny	18,8 g
Sacharidy	66,0 g
Tuky	2,8 g
Tiamin	0,46 mg (30 % DDD)
Niacin	5,54 mg (31 % DDD)
Fosfor	411 mg (51 % DDD)
Hořčík	153 mg (51 % DDD)
Zinek	4,3 mg (8 % DDD)
Železo	4,0 mg (30 % DDD)

PVC obal, 500 g,

DDD - denní doporučená dávka

7.4.2 Špalda loupaná



Obr. 13. Špalda

Země původu: Slovensko

Tab. 12. Průměrné nutriční hodnoty špaldy loupané uvedené výrobcem na obalu

Průměrné nutriční hodnoty ve 100 g	
Energetická hodnota	1 480 kJ (353 kcal)
Bílkoviny	18,0 g
Sacharidy	88,0 g
Tuky	8,6 g
Tiamin	0,8 mg (43 % DDD)
Niacin	4,3 mg (24 % DDD)
Hořčík	250 mg (83 % DDD)

PVC obal, 1000 g

7.4.3 Špaldové kernotto



Obr. 14. Špalda

Země původu: Česká republika

Tab. 13. Průměrné nutriční hodnoty špaldového kernotta udávané výrobcem

Průměrné nutriční hodnoty ve 100 g	
Energetická hodnota	1 480 kJ (353 kcal)
Bílkoviny	16,0 g
Sacharidy	68,0 g
Tuky	2,5 g
Tiamin	0,6 mg (43 % DDD)
Niacin	4,3 mg (24 % DDD)
Hořčík	250 mg (83 % DDD)

PVC obal, 500 g

7.4.4 Grünkern



Obr. 15. Grünkern

Země původu: Rakousko

Tab. 14. Průměrné nutriční hodnoty grünkernu udávané výrobcem

Průměrné nutriční hodnoty ve 100 g	
Energetická hodnota	1 380 kJ (389 kcal)
Bílkoviny	16,3 g
Sacharidy	62,5 g
Tuky	3,8 g

PVC obal, 300 g

7.4.5 Pšenice ozimá



Obr. 16. Pšenice ozimá

Země původu: Česká republika

Tab. 15. Průměrné nutriční hodnoty pšenice ozimé udávané výrobcem na obalu

Průměrné nutriční hodnoty ve 100 g	
Energetická hodnota	1 199 kJ (285 kcal)
Bílkoviny	18,0 g
Sacharidy	67,0 g
Tuky	1,9 g
Vitamin A	0,12 mg (15 % DDD)
Hořčík	90,0 mg (30 % DDD)
Železo	5,9 mg (48 % DDD)

PVC obal, 1000 g

7.4.6 Rýže parboiled s indiánskou rýží



Obr. 17. Rýže parboiled s indiánskou

Složení: rýže dlouhozrná parboiled (*Oryza sativa* L.), rýže dlouhozrná indiánská (*Zizania aquatica*).

Tab. 16. Průměr. nutriční hodnoty rýže parboiled s indiánskou udávané na obalu výrobcem

Nutriční hodnoty ve 100 g výrobku	
Energetická hodnota	1474 kJ/353 kcal
Bílkoviny	8,0 g
Sacharidy	77,5 g
Tuky	0,5 g

Papírový obal, 500 g

7.4.7 Rýže basmati



Obr. 18. Rýže basmati

Složení: rýže setá (*Oryza sativa* L.)

Tab. 17. Průměrné nutriční hodnoty rýže basmati

Nutriční hodnoty ve 100 g výrobku	
Energetická hodnota	1474 kJ/352 kcal
Bílkoviny	7,0 g
Sacharidy	78,4 g
Tuky	0,6 g

Papírový obal, 500 g

7.4.8 Rýže sushi



Obr. 19. Rýže sushi

Složení: rýže setá (*Oryza sativa* L.)

Tab. 18. Průměrné nutriční hodnoty rýže sushi

Nutriční hodnoty ve 100 g výrobku	
Energetická hodnota	1474 kJ/353 kcal
Bílkoviny	7,17 g
Sacharidy	78,5 g
Tuky	0,54 g

Papírový obal, 500 g

7.4.9 Rýže natural

Složení: rýže setá (*Oryza sativa* L.)

Tab. 19. Průměrné nutriční hodnoty rýže natural

Nutriční hodnoty ve 100 g výrobku	
Energetická hodnota	7384 kJ/415 kcal
Bílkoviny	9,7 g
Sacharidy	85,4 g
Tuky	3,3 g
Vitamin B	0,53 mg (48 % DDD)
Fosfor	429 mg (61 % DDD)

PVC obal, 500 g

7.4.10 Rýže parboiled

Složení: rýže setá (*Oryza sativa* L.)

Tab. 20. Průměrné nutriční hodnoty rýže parboiled

Nutriční hodnoty ve 100 g výrobku	GDA
Energetická hodnota 1590kJ/378 kcal	23,6 %
Bílkoviny 7,0 g	17,5 %
Sacharidy 77,0 g	35,6 %
Tuky 0,3 g	0,5 %

GDA: hodnoty představují doporučenou denní dávku živin dospělého člověka založenou na spotřebě 2000 kcal. Osobní požadavky závisí na věku, pohlaví a fyzické aktivitě individuální osoby.

PVC obal, 1000 g

7.4.11 Rýže kulatozrnná loupaná

Složení: rýže setá (*Oryza sativa* L.)

Vyrobena v Itálii

PVC obal, 1000 g

7.4.12 Rýže dlouhozrnná loupaná

Složení: rýže setá (*Oryza sativa* L.), vyrobeno v Itálii, obal, hmotnost

PVC obal, 1000 g

7.4.13 Směs pšenice a žita 90:10 – VZOREK č. 13

7.4.14 Směs pšenice a žita 50:50 – VZOREK č. 14

7.4.15 Směs pšenice a žita 10:90 – VZOREK č. 15

8 ANALÝZA NETRADIČNÍCH CEREÁLÍ POMOCÍ HPLC

8.1 Izolace B-komplexu

Na analytických vahách s přesností na 0,0001g bylo odváženo 10 g vzorku, ke kterému bylo přidáno 60 ml 0,1 mol.dm⁻³ HCl a zbylé množství bylo vypláchnuto 20 ml 0,1 mol.dm⁻³ HCl. Erlenmayerova baňka byla obalena hliníkovou fólií a poté vložena do třepací vodní lázně při 95 - 97 °C. V 50 minutě ohřevu byly přidány 2 ml 80 % TCA (kyselina trichloroctová), v 60 minutě byly opět přidány 2 ml 80 % TCA a po 10 minutovém protřepání v této vodní lázni byla baňka ochlazena ve studené vodní lázni na pokojovou teplotu 20 - 25 °C. Takto připravený vzorek byl následně převeden do 100 ml odměrné baňky a objem doplněn redestilovanou vodou po rysku. Vzorek byl dvojestupňově zfiltrován, a to nejprve přes papírový filtr a poté přes nylonový mikrofiltr o velikosti pór 0,45 µm. Veškeré operace prováděné se vzorkem musely probíhat za nepřítomnosti světla, a to z důvodu fotolability některých vitaminů skupiny B.

8.2 Příprava mobilní fáze

Bylo připraveno 500 ml mobilní fáze A, kterou byl 0,12 mol.dm⁻³ octan sodný o pH 4,8, které bylo upraveno 85% kyselinou mravenčí. Jako mobilní fáze B byl použit metanol.

8.3 Stanovení obsahu vitaminů B₁, B₂, B₃ ve vzorcích netradičních cereálií pomocí HPLC

Do chromatografu byl nadávkován připravený zfiltrovaný vzorek, postupem uvedeným v kapitole 8.1, a to v alikvotním podílu 20 µl. Separace probíhala na koloně Supelcosil LC8 (15 x 4,6 mm; 5 µm). Jako mobilní fáze A byl použit 0,12 mol.dm⁻³ octan sodný a jako mobilní fáze B metanol. Eluce vzorku probíhala gradientově o počátečním poměru 87:13 (A : B) v čase 0 až 3 min. Poté byl poměr jednotlivých mobilních fází plynule měněn, a to ve 3 až 15 min. až na 0:100 (A : B). Dále mezi 15 až 30 min. analýzy byl vzorek eluován jen metanolem. Průtok mobilní fáze byl stanoven na 0,8 ml.min⁻¹ a termostat kolony na 30 °C. Signál byl snímán detektorem DAD při vlnových délkách 230; 254 a 270 nm. Celková doba analýzy byla 30 minut. Vyhodnocení výsledků bylo provedeno za použití chromatografického systému ChemStation – Instrument 1 (Agilent Technologies) a pomocí regresní rovnice kalibrační křivky.

8.4 Měření kalibrační křivky pro stanovení vit. B₁, B₂ a B₃ metodou HPLC

Pro měření kalibrační křivky byly použity standardy, které jsou uvedeny v kapitole 7.1. Postupně byly připraveny jednotlivé zásobní roztoky standardů, ze kterých byly připraveny různé koncentrace jednotlivých standardů. Zásobní roztok byl připraven čerstvý a ihned byl dále ředěn. U standardu pro vitamin B₁ byla použita koncentrace 4; 8; 12; 16 a 20 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Pro standard vitaminu B₂ byla použita koncentrace 0,1; 0,25; 0,50; 1,0 a 2,0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. U standardu vitaminu B₃ byla použita koncentrace 1; 2; 3; 4 a 8 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Měření proběhlo za stejných chromatografických podmínek jako je uvedeno v kapitole 8.3. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost naměřené plochy píků (mA.V.s) na koncentraci příslušného vitaminu ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$).

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

9.1 Výsledky analyzovaných vzorků netradičních cereálií pomocí metody HPLC

Izolace probíhala za stanovených podmínek uvedených v kapitole 8.1. Vyizolovaný vzorek byl ještě přečištěn přes nylonový filtr 0,45 μm . Nejlépe proběhla izolace u 5 vzorků z 15, a to především o kamut, špalda loupaná, špaldové kernotto, pšenice ozimé a lagris rýže parboiled s indiánskou. U grünkernu, rýže basmati a rýže sushi se nevyizoloval vitamin B₃ a u rýže dlouhozrné, kulatozrné a směsi mouk vitamin B₂.

9.2 Výsledky izolace vitaminů skupiny B

Před samotnou úpravou vzorku byly cereálie vždy pomlety na mouku. Ze všech uvedených cereálií v kapitole 7.4. byl připraven vzorek postupem uvedeným v kapitole 8.1. Pro analýzu bylo použito 15 vzorků a každý byl 5x proměřen.

9.3 Výsledky stanovení obsahu vitaminů B₁, B₂, B₃ ve vzorcích netradičních cereálií pomocí HPLC

U zkoumaných vzorků byly pro vitaminy B₁, B₂ a B₃ zjištěny retenční časy, kterou jsou uvedeny v tab. 21. Výsledky naměřených ploch píků, jejich koncentrace a příslušné množství jsou uvedeny v tabulce 23. Plochy píků jsou uvedeny jako průměr z pěti stanovení. Vypočítané výsledky jsou uvedeny v tab. 24. Tyto výsledky jsou uvedeny s příslušnými směrodatnými odchylkami.

Tab. 21. Retenční časy vitaminů B ve vzorcích

Retenční čas (min.)		
vitamin B ₁	vitamin B ₂	vitamin B ₃
6,9	8,8	3,9

Tab. 22. Výsledky stanovení vitaminů B ve vzorcích metodou HPLC v mg.kg^{-1}
dle soustavy SI

Vzorek	Vitamin B ₂ Ø plocha píků (mA.V.s)	Koncentrace vit. B ₂ ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	Množství vit. B ₂ (mg.kg^{-1}) ± S.D.	Vitamin B ₃ Ø plocha píků (mA.V.s)	Koncentrace vit. B ₃ ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	Množství vit. B ₃ (mg.kg^{-1}) ± S.D.
1	7,28	0,06	5,89 ± 0,05	28,35	2,13	21,29 ± 0,05
2	6,42	0,04	4,32 ± 0,06	26,31	1,87	18,72 ± 0,02
3	4,97	0,02	1,65 ± 0,65	25,14	1,72	17,24 ± 0,04
4	7,35	0,06	6,02 ± 0,09	59,72	-	-
5	14,25	0,19	1,87 ± 0,08	22,84	1,43	14,33 ± 0,43
6	20,87	0,31	3,09 ± 0,06	27,01	1,96	19,59 ± 0,09
7	20,74	0,31	3,07 ± 0,03	-	-	-
8	28,41	0,45	4,48 ± 0,06	-	-	-
9	8,34	0,08	0,78 ± 0,26	23,95	1,57	15,74 ± 0,02
10	4,39	0,01	5,8 ± 0,28	30,27	2,37	23,70 ± 0,05
11	-	-	-	30,14	2,35	23,54 ± 0,03
12	-	-	-	21,66	1,29	12,85 ± 0,07
13	-	-	-	16,92	0,69	6,88 ± 0,03
14	-	-	-	17,47	0,76	7,56 ± 0,05
15	-	-	-	14,26	0,35	3,51 ± 0,06

S.D. – směrodatná odchylka

U vitamínu B₁ nebylo možné stanovit její obsah ve zjišťovaných cereáliích, jelikož jeho plocha píku byla pod detekčním limitem.

Analyzované vzorky všech cereálií byly již po datumu doporučené spotřeby, tudíž se ani nemůže očekávat deklarované množství vitamínů skupiny B, které je uvedeno na obalech výrobcem. Hlavním úkolem tedy nebylo stanovit kvantitativní množství jako takové, ale vypracovat separační a izolační postup pro stanovení tiaminu, riboflavinu a niacinu. Uvedené výsledky nemohou být tudíž zcela konfrontovány s údaji výrobce, ale mohou být jen přibližně srovnány s literárními údaji.

U vitamínu B₁ byl kvalitativně stanoven pouze retenční čas, jeho plocha píku byla pod detekčním limitem a tudíž jej nebylo možno kvantifikovat. Ovšem dle literárních údajů je koncentrace v obilí a obilných produktech odlišná. Zejména rýže parboiled je dobrým zdrojem tiaminu (0,182 mg.100 g⁻¹), dále hnědá a divoké rýže. U jiných druhů rýže a výrobků z nich jejich obsah výrazně klesá.

U vitamínu B₂ jeho množství nelze porovnat, jelikož jeho obsah není uveden ani na jednom obalu daného vzorku. I přesto bylo zjištěno množství vitamínu B₂ v rozmezí od 0,78 – 6,02 mg na 1 kg, a to u všech cereálií a rýže značky Lagris, ovšem u směsi mouk pšenice-žita a rýže značky ARO nebyl tento vitamin detekován. Riboflavin je velmi citlivý na podmínky při zpracování, zejména světla a tepla. Ukázalo se, že vitaminové ztráty závisí na podmínkách, za kterých probíhá technologický proces. Vitaminové ztráty mohou dosáhnout 51 až 61 % u tiaminu, 66 % u riboflavinu a 61 až 78 % u niacinu [32].

Nejlépe byl detekován vitamin B₃, a to ve všech vzorcích kromě rýže basmati a sushi (vzorek č. 7 a č. 8), značky Lagris. Tento vitamin byl analyzován i ve vzorcích, kde není uvedeno deklarované množství na obalu. U vzorku č. 1 – kamutu bylo naměřeno 21,28 mg na 1 kg, viz tabulka tohoto vitamínu. Rozdíl mezi množstvími, které bylo zjištěno od množství, které uvádí výrobce na obalu ve 100 g výrobku činí 3,41 mg ve 100 g. U vzorku č. 2 – špaldy loupané bylo zjištěné množství 18,72 mg na 1 kg vzorku, ovšem na obalu výrobce uvádí jen základní živiny (sacharidy, tuky, bílkoviny), proto se nedá toto objevené množství porovnat. U vzorku č. 3 – špaldového kernotta bylo naměřeno 17,24 mg/1 kg vitamínu B₃ a rozdíl mezi naměřenou hodnotou a hodnotou uvedenou na obale byl 2,58 mg ve 100 g analyzovaného výrobku. Jedním z jejich rysů je náchylnost k tepelnému a technologickému zpracování, a to je také možná příčina jejich ztrát. U vzorku č. 4 – grünkernu byla naměřená hodnota obsahu vitamínu B₃ vyšší než množství zmiňované na obalu. Zde

s největší pravděpodobností došlo k interferenci další složky grünkernu s retenčním časem samotného vitamínu. Grünkern je speciálně upravován uzením v párách z bukového dřeva a jejich polutantů mohly pravděpodobně tento výsledek negativně ovlivnit. U vzorku č. 5 – pšenice ozimé bylo nalezeno 14,33 mg vitamínu B₃ v 1 kg vzorku, avšak ani u tohoto vzorku nebylo deklarované množství uvedeno, a to i u vzorku č. 6 – rýže parboiled s indiánskou, kdy množství tohoto vitamínu bylo 19,59 mg ve 1 kg. Vzorek č. 9 – rýže natural, výrobce Lagris uvádí na obalu celkové množství vitamínu B na 100 g, ovšem zjištěné množství pouze vitamínu B₃ bylo vyšší, a to 15,73 mg na 1 kg výrobku. U vzorku č. 10 bylo nalezené množství 23,70 mg na 1 kg analyzovaného rýže parboiled, značky ARO. U vzorku č. 11 bylo 23,54 mg na 1 kg analyzované rýže dlouhozrné, ARO. Vzorek č. 12 obsahoval 12,85 mg na 1 kg kulatozrné rýže, ARO. U vzorku č. 13 bylo 6,88 mg vitamínu B₃ zkoumané směsi mouk pšenice a žita 90:10. U vzorku č. 14 bylo 7,56 mg na 1 kg stejné směsi mouk, ale o poměru 50:50 a poslední vzorek č. 15 bylo zjištěno 3,51 mg na 1 kg této směsi mouk pšenice a žita 10:90. Výsledky šetření ukázaly, že existují velké rozdíly vitamínů ve složení odrůd obilných výrobků. Produkty ze zrn, které kromě vyššího obsahu vitamínu B mají také nízký glykemický index a jsou nejvíce ziskové. Bylo zjištěno, že přírodní produkty jsou nesrovnatelně lepším produktem než ty technologicky zpracované. Zjištěné obsahy vitamínu B₃ v porovnání s deklarovaným množstvím na obsahu se rovnaly téměř polovině a to i přesto, že tyto analyzované vzorky byly po záruční době.

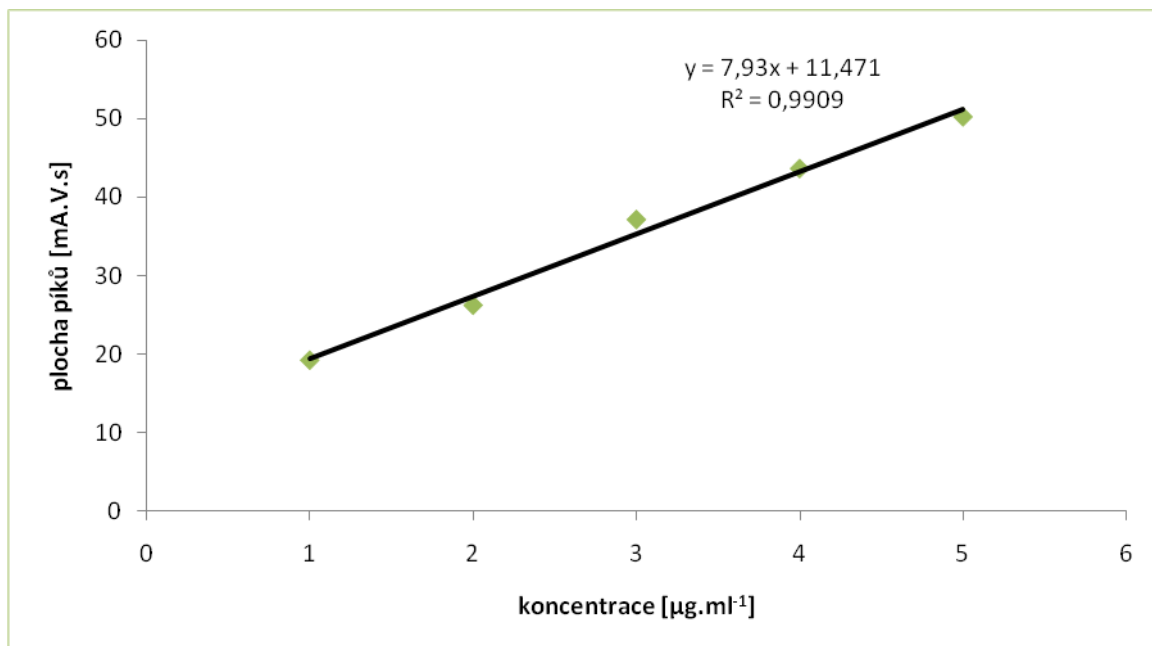
9.4 Výsledky měření kalibračních křivek pro stanovení vit. B₁, B₂ a B₃ metodou HPLC

Byly naměřeny velikosti plochy píků podle postupu v kapitole 8.4, a to v daných koncentracích příslušné kalibrační řady. Jednotlivé kalibrační křivky pro vitamíny B₂ a B₃ byly sestaveny jako závislost ploch píků (mA.V.s) na jejich koncentraci (μg.ml⁻¹). Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce - Tab. 22. a grafech kalibrační křivky – Graf 1 a 2. Tyto kalibrační křivky byly měřeny při různých vlnových délkách, při 204, 220, 234, 254 a 270 nm. Nejvhodněji se jevíly vlnové délky 254 a 270 nm. U vitamínu B₂ i B₃ byla volena vlnová délka 270 nm. U vitamínu B₂ byla použita koncentrace 0,10; 0,25; 0,50; 1,0; 2,0 μg.ml⁻¹ a u B₃ koncentrace 1; 2; 3; 4 a 8 μg.ml⁻¹ při vlnové délce 270 nm. Vzorky byly připraveny podle postupu 8.4 v kapitole a každý byl 5x přeměřen. Získaná plocha píků byla dosazena do rovnice regresní přímky kalibrační křivky, čímž bylo zjištěno množství těchto vitamínů v analyzovaných vzorcích.

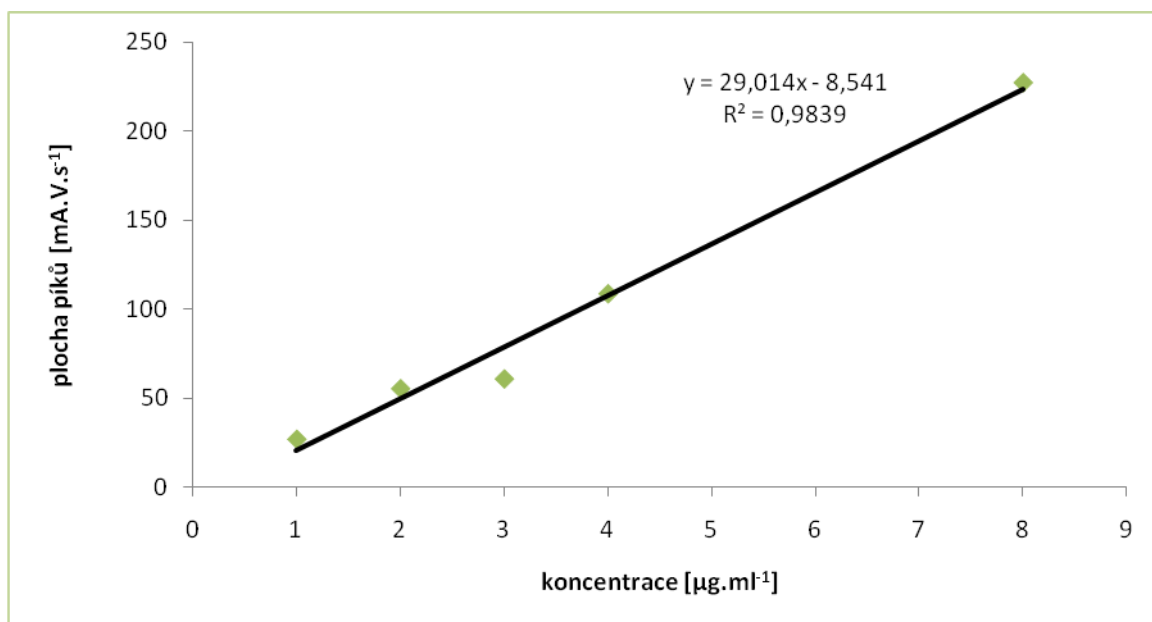
U vitamínu B₁ vzhledem k tomu, že nebylo možno jeho množství detekovat, nebyla kalibrační křivka sestrojena.

Tab. 23. Kalibrace vitamínu B₃ metodou HPLC

Koncentrace B ₃ ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	254 nm	270 nm	Průměrná plocha píků (mA.V.s)	Rovnice kalibrační křivky
1	25,37 25,09	19,22 19,21	25,23/19,22	7,93 x + 11,471
2	35,38 35,18	27,06 25,36	35,28/26,21	7,93 x + 11,471
3	43,96 44,15	37,11 38,23	44,06/37,67	7,93 x + 11,471
4	60,34 62,27	44,27 42,93	61,30/43,60	7,93 x + 11,471
5	65,64 65,14	50,48 49,86	65,39/50,17	7,93 x + 11,471



Graf 1. Kalibrační křivka pro vitamin B₃ při vlnové délce 270 nm pomocí HPLC



Graf 2. Kalibrační křivka vitaminu B₂ při vlnové délce 270 nm metodou HPLC

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo zjistit vhodnou metodiku pro izolaci vitaminů skupiny B v netradičních cereáliích a následně stanovit jejich obsah. K analýze byla využita metoda HPLC – Vysokoučinná kapalinová chromatografie s UV – detekcí.

Separace byla uskutečněna na koloně Supelcosil LC 8 (150 x 4,6 mm; 5 μ m). Jako mobilní fáze A byl použit octan sodný, který byl upraven na pH 4,8 pomocí 85 % kyseliny mravenčí a jako mobilní fáze B metanol. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,8 ml.min⁻¹ a teplota termostatu kolony byla 25 °C. Signál byl snímán UV detektorem, měření probíhalo při vlnových délkách 204, 220, 230, 254 a 270 nm, ovšem nejlépe se projevíly vlnové délky při 254 a 270 nm pro vitamin B₂ i B₃. Vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí chromatografického softwaru ChemStation-Instrument 1. Na měření kalibračních křivek byly použity standardy B₁ – tiaminchlorid, B₂ - riboflavin a B₃ - nikotinamid. Jednotlivé plochy píků byly zaznamenány, dosazeny do rovnic kalibračních křivek a výsledek byl vyjádřen jako mg vitaminu v 1 kg vzorku.

Bylo testováno 15 vzorků od různých firem. Prvních 6 analyzovaných vzorků byly biovýrobky - kamut, grünkern, špalda loupaná, špaldové kernotto a pšenice ozimá z firmy PRO-BIO s.r.o., dalších 6 vzorků byly od výrobce Podravka -LAGRIS a.s. a ARO, jednalo se o různé druhy rýže a poslední 3 vzorky byly směsi mouk pšenice a žita o různých poměrech (90:10, 50:50, 10:90) od výrobce Penam a.s.

Touto metodou se podařilo vyizolovat vitamin B₂ a B₃. Nejlépe detekovatelný byl vitamin B₃, kromě rýže basmati a sushi byl objeven ve všech vzorcích, poté vitamin B₂ a vitamin B₁, kde byl zjištěný pouze retenční čas. Ne na všech obalech udává výrobce množství vitaminů skupiny B v analyzovaných vzorcích, ale i přesto bylo toto množství stanoveno. U vitaminu B₂ bylo zjištěné množství v rozmezí 0,78 – 6,02 mg na 1 kg vzorku, a to u všech cereálií a rýže značky Lagris, u rýže značky ARO a u směsi mouk pšenice-žita nebyl tento vitamin nalezen. Vitaminu B₃ se v analyzovaných vzorcích pohyboval od 3,51 do 23,70 mg na 1 kg vzorku. I když tyto cereálie byly po záruční lhůtě, byla dokázána téměř polovina množství, které bylo deklarované výrobcem na obalu. Analyzovaná obilí a semena se ukázala být významným zdrojem různých živin, včetně vitaminů skupiny B. Status ve zdravé populaci je obecně uspokojivý, ale příjem u těžce rizikové populace se snížil nebo se zvětšily jeho potřeby, můžou být i nízké. U některých starších obyvatel byly zjištěny tyto příjmy za nedostatečné.

Stabilita vitaminů skupiny B je ovlivnitelná mnoha faktory, ale důvodem jejich klesání bylo pravděpodobné působení světla a teploty skladování, na nichž jsou tyto vitaminy velice citlivé.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SCHREIBER, V. *Vitaminy kdy - jak - proč - kolik*
1.vyd, Jinočany: H&H, 1993, ISBN 80-85787-17-2
- [2] KLAUS, O., LENTOVÁ CH. *Ovoce a zelenina jako lék*
2.vyd, Praha: Fortuna Print, 2003, ISBN 80-7321-067-3
- [3] PANEK, J., POKORNÝ, J., DOSTÁLOVÁ, J., KOHOUT, P. *Základy výživy*.
1.vyd. Praha: Svoboda servis, 2002. 207 s. ISBN 978-80-86320-23-6
- [4] HLÚBIK, P., OPLTOVÁ, L. *Vitamíny*. 1.vyd. Praha: Jinočany: H&H, 2004. 232 s.
ISBN 80-247- 0373-4
- [5] MINDELL, E. *Vitamínová bible*. České vyd. Budapešť: 1994.
- [6] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II*.
1.vyd. Zlín: UTB, 2006. 102 s. ISBN 80-7318-395-1
- [7] BLATNÁ, J. Vitaminizace potravin, *Výživa a potraviny*, **21**, 2004, 2, s. 104.
- [8] DAVÍDEK, J., HAJŠLOVÁ J., POKORNÝ, J., VELÍŠEK J. *Chemie potravin*
1.vyd, Praha: SNTL, 1991, 142 s., ISBN 80-7080-097-6
- [9] HRUBÝ, S. Ztráty vitamínů a minerálních látek při kuchyňské úpravě,
Výživa potravin, **125**, 2007, 5, s. 140
- [10] NOVÁK, V., BUŇKA, F. *Základy ekonomiky výživy*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2005.
ISBN 80-7318-262-9
- [11] BLATNÁ, J. Jak je to s vitaminy v zimě? *Výživa a potraviny*, **37**, 2010, 2, s. 56.
- [12] BENEŠOVÁ, L. a kol. *Potravinářství IV*.
1.vyd, Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1997, 156 s.,
ISBN 80-85120-56-9
- [13] NDAW, S., BERGAENTZLE, M., AOUDE-WERNER, D., HASSELMANN, C.
Extraction procedures for the liquid chromatographic determination of thiamin,
riboflavin and vitamin B₆ in foodstuffs. *Food Chemistry*, 71, 2000, s.129 – 138.
- [14] HPLC [online, 20.04.2011]. Dostupný z www:
<<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf60229a029?prevSearch=chromatography%2Bcereal%2Bfor%2Bvitamin%2BB&searchHistoryKey=>>.

- [15] INFORM. CENTRUM BEZPEČNOSTI POTRAVIN [online, 20.04.2011].
Dostupný z www: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/>>.
- [16] BOKATALYZÁTORY [online, 22.04.2011]. Dostupný z www:
<http://eso.vscht.cz/cache_data/1207/www.vscht.cz/tmt/studium/chemie_mleka/P407_scr.pdf>.
- [17] ODSTRČIL, J., ODSTRČILOVÁ, M. *Chemie potravin*
1.vyd, Brno, 2006, 164 s., ISBN 80-7013-435-6
- [18] HPLC [online, 20.04.2011]. Dostupný z www:
<http://hplc1.sweb.cz/Vitamin/methods_water.htm#_Biotin>.
- [19] PERLÍN, C. a kol. *Potravinové tabulky*
Praha: Společnost pro výživu, 1992, ISBN 80-85-120-42-9
- [20] ROP, O., VALÁŠEK, P. *Základní potravinářské suroviny pro konzervaci*.
Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007. ISBN 978-80-7318-590-9
- [21] KNOBLOCH, E. *Fyzikálně chemické metody stanovení vitaminů*, Praha, 1956.
- [22] SIKOROVÁ, P. *Stanovení riboflavinu v cereálních produktech*
Diplomová práce, UTB ve Zlíně, FT: 2008
- [23] ZITTLAU, J. *Vhodná strava = klíč ke zdraví aneb jak se léčit bez lékaře*.
1.vyd. Brno: 2009, ISBN 978-80-251-1839-9
- [24] DAVÍDEK, J.; JANÍČEK, G.; POKORNÝ, J.; *Chemie potravin*, SNTL, Praha, 1983.
- [25] ŠÍCHO, V., VODRÁŽKA, Z., KRÁLOVÁ B. *Potravinářská biochemie*. 1.vyd.
Praha: STNL, 1981. 360s.
- [26] BLATTNÁ, J., TLÁSKAL, P. Vitamíny X, *Moje zdraví*, **82**, 2008, s. 116.
- [27] KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií*
1.vyd, Brno, 2004, 141 s., ISBN 978-80-7157-811-6
- [28] HRABĚ, J., ROP,O., HOZA, I. *Technologie výroby potravin rostlinného původu*
1.vyd, Zlín UTB, 2006, 177 s. ISBN 80-7318-372-2
- [29] GRETCHEN, M.HILL. *The impact of breakfast especially ready-to-eat cereals on nutrient intake and health of children*. vol. 15, 1995, s. 595 – 613.

- [30] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. *Cereální chemie a technologie I*. 1. vyd. Praha, 2003, s. 202. ISBN 80-7080-530-7.
- [31] OBILKA [online, 16.04.2011]. Dostupný z www: <<http://www.google.cz/imgres?imgurl=http://www.ifood.tv/files/images/editor/images/whole-grain.jpg&imgrefurl=http://nutshellnutrition.wordpress.com/2011/03/28/fantasic-fiber-eat-more-whole-grais>>
- [32] LEBIEDZINSKA, A., SZEFER, P. *Vitamins B in grain and cereal-grain food, soy-products and seeds*. vol. 95, 2006, s. 116 – 122.
- [33] KUNOVÁ, V. Není všechno zlaté, co je cereální. *Výživa a potraviny*, **77**, 2009, 5, s. 80.
- [34] KOPÁČOVÁ, O. Celozrnné potraviny. *Výživa a potraviny*, **81**, 2008, 3, s. 84.
- [35] KAMUT [online, 13.03.2011]. Dostupný z www: <http://eshop.apoteka.cz/product_info.php?products_id=2133>.
- [36] KAMUT [online, 13.03.2011]. Dostupný z www: <<http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=92219>>.
- [37] BIO KAMUT [online, 13.03.2011]. Dostupný z www: <<http://www.bio-life.cz/clanky/bio/bio-kamut.html>>.
- [38] QUINN R. *Kamut : Ancient Grain, New Cereal* [online]. 1999. Dostupný z www: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1999/v4-182.html>>.
- [39] PUUMALAINEN, T., NYKOPP, H., TUORILA, H. Old Product in a New Context: *Importance of the Type of Dish for the Acceptance of Grünkern, a Spelt – Based Traditional Cereal*. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* vol. 35, 2002, s. 549 – 553.
- [40] KOMPRDA, T. *Srovnání jakosti a zdravotní nezávadnosti biopotravín a konvenčních potravin*, *Chemické listy*, roč. 103, č. 9, 2009, s. 729 – 732.
- [41] PRUGAR, J., a kol. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*, Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s., 2008, ISBN 978-80-86576-28-2
- [42] TICHÁ, M., VYZÍNOVÁ, P. *Polní plodiny*, Brno: VFU, 2006. 12 s.
- [43] PŠENICE ŠPALDA [online, 13.03.2011]. Dostupný z www: <<http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=92237>>.
- [44] KOHAJDOVA, Z., KAOVICOVA, J. *Nutritional Value and Bakikg Applications of*

- Spelt Wheat*. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment, roč. 7, č. 3, 2008, s. 5 – 14.
- [45] REDLOVA, M., SCHERER, R., LACKO-BARTOSOVA, M. *Quality Parameters of Several Varieties of Triticum spelta L. from Ecological Farming w.r.t. Their Baking Performance*. Getreidetechnologie, roč. 61, č. 6, 2007, s. 347 – 353.
- [46] PRO-BIO: Špalda [online]. Dostupné z www:
<<http://www.probio.cz/vyrobky/obilniny/spalda>>.
- [47] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům* Praha, 2006, s. 36.
- [48] KŘEN, J. *Aktuální otázky pěstování ozimé pšenice v České republice*. Sb. referátů z konference “Zamyšlení nad rostlinnou výrobou”. Praha, 1997, s. 39 - 46
- [49] PETR, J., MIČÁK, J., ŠKERŤÍK, J. *Stability of Yield Potential of Winter Wheat in Ecological Agriculture*. roč. 40, č. 2, 2009, s. 53 – 57.
- [50] LUKEŠOVÁ, J. *Obiloviny* [online, 13.03.2011]. 2002. Dostupný z www:
<http://www.hka.cz/_zivot/bazalka/obili.html>.
- [51] POLACHOVÁ, K. *Význam rýže jako potraviny*. Bakalářská práce. Zlín: UTB, 2007
- [52] ABC PŘÍRODY, *Svět v otázkách a odpovědích*, vydal Reader's Digest Výběr, 2 vyd. s. 328. Praha 1997. ISBN: 80-902069-4-8
- [53] KOLOVECKÁ, M. Druhy rýže a její jakost, *Výživa a potraviny*, **63**, 2008, 3, s. 76-79.
- [54] Rýže [online, 13.03.2011]. Dostupný z www:
<<http://www.dietologie.cz/vyziva/potraviny-wiki/obiloviny-obilniny/ryze/ryze-dusena-natural-neloupana-dlouhozrnnna-instantni-ryze.html>>.
- [55] Vyhláška č. 333/1997 Sb. [online, 10.01.2011]. Dostupný z www:
<<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1007478&docType=ART&nid=11307>>.
- [56] SHEN, Y., JIN, L., XIAO, P., LU, Y., BAO, J. *Total Phenolics, Flavonoids, Antioxidant Capacity in Rice Grain and Their Relations to Grain Color, Size and Weight*. 2009, 49, s. 106 - 111.
- [57] HOLZBECHER, J., CHURÁČEK, J. a kol. *Analytická chemie*. Praha: SNTL, 1987.
- [58] CHURÁČEK, J., JANDERA, P. *Úvod do vysokoúčinné kapalinové kolonové chromatografie*. Praha: SNTL, 1984.
- [59] CHURÁČEK, J., JANDERA, P., FRANC, J. *Kapalinová chromatografie*. Pardubice, 1979, 242.

- [60] CHURÁČEK, J. a kolektiv. *Analytická separace látek*. Praha: SNTL, 1990.
- [61] Chromatografie [online, 20.04.2011]. Dostupný z www:
<<http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/hplc.html>>.
- [62] KOŽÁKOVÁ, Z. *Stanovenie riboflavínu v kvasniciach metódou HPLC*
Bakalářská práce, UTB ve Zlíně, FT: 2007.
- [63] PRYDE, A., GILBERT, M. T. *Applications of high performance liquid chromatography*, 1. vyd., USA, 1979, ISBN 0-412-12220-1

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AACC	American Association for Cereal Chemists
ACP-SH	Acyl Carrier Protein - speciální protein
BRI	Biomedical Research Institute
CC	Column Chromatography - kolonová chromatografie
CoA neboli CoA-SH	Koenzym A
DDD	Doporučené denní dávky
FAD	Flavinadenindinukleotid
FDA	Food and Drug Administration
FMN	Flavinmononukleotid
FSANZ	Food Standards Australia New Zealands
GC	Gas Chromatography - plynová chromatografie
GLC	Gas-Liquid Chromatography - chromatografie v systému plyn – kapalina
GPC	Gelová permeační chromatografie
GSC	Gas-Solid Chromatography - chromatografie v systému plyn – tuhá látka
HPLC	High Performance Liquid Chromatography - Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IEC	Ion-Exchange Chromatography - ionexová chromatografie
IFAA	International Food Allergy Association
LC	Liquid Chromatography - kapalinová chromatografie
LLC	Liquid-Liquid Chromatography - chromatografie v systému kapalina – kapalina
LSC	Liquid-Solid Chromatography - chromatografie v systému kapalina – tuhá látka
NAD ⁺	Nikotinamidadenindinukleotid
NADH	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
PC	Paper Chromatography - papírová chromatografie

RDA	Recommended Dietary Allowance
TDP	Tiamindifosfát
TTP	Tiamintrifosfát
TLC	Thin Layer Chromatography – tenkovrstvá chromatografie
WGC	Whole Grains Council

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Obiloviny</i>	30
<i>Obr. 2. Složení obilky</i>	32
<i>Obr. 3. Nezralý kamut</i>	37
<i>Obr. 4. Kamut</i>	37
<i>Obr. 5. HPLC HP 1100</i>	42
<i>Obr. 6. Obecné schéma HPLC</i>	43
<i>Obr. 7. Dávkovací kohouty s dávkovací smyčkou</i>	43
<i>Obr. 8. Injekční stříkačka Hamilton</i>	44
<i>Obr. 9. Kolona HPLC</i>	44
<i>Obr. 10. UV/VIS DAD detektor</i>	45
<i>Obr. 11. Analyzované cereálie</i>	59
<i>Obr. 12. Kamut</i>	50
<i>Obr. 13. Špalda</i>	51
<i>Obr. 14. Špalda</i>	52
<i>Obr. 15. Grünkern</i>	53
<i>Obr. 16. Pšenice ozimá</i>	53
<i>Obr. 17. Rýže parboiled s indiánskou</i>	55
<i>Obr. 18. Rýže basmati</i>	55
<i>Obr. 19. Rýže sushi</i>	56

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Úbytek vitaminů při záhřevu mléka</i>	<i>16</i>
<i>Tab. 2. Citlivost nechráněných vitaminů vůči vnějším faktorům</i>	<i>17</i>
<i>Tab. 3. Možnosti HPLC stanovení pro vit.B₃</i>	<i>19</i>
<i>Tab. 4. Zdroje tiaminu</i>	<i>21</i>
<i>Tab. 5. Zdroje riboflavinu</i>	<i>23</i>
<i>Tab. 6. Zdroje vitaminu B₃</i>	<i>24</i>
<i>Tab. 7. Zdroje kyseliny pantotenové</i>	<i>26</i>
<i>Tab. 8. Zdroje pyridoxinu</i>	<i>27</i>
<i>Tab. 9. Přehled běžných obilovin běžně pěstovaných a využívaných pro potravinářské účely</i>	<i>29</i>
<i>Tab. 10. Chemické složení obilovin v %</i>	<i>32</i>
<i>Tab. 11. Průměrné nutriční hodnoty kamutu</i>	<i>50</i>
<i>Tab. 12. Průměrné nutriční hodnoty špaldy loupaná</i>	<i>51</i>
<i>Tab. 13. Průměrné nutriční hodnoty špaldového kernotta</i>	<i>52</i>
<i>Tab. 14. Průměrné nutriční hodnoty grünkernu</i>	<i>53</i>
<i>Tab. 15. Průměrné nutriční hodnoty pšenice ozimé</i>	<i>54</i>
<i>Tab. 16. Průměrné nutriční hodnoty rýže parboiled s indiánskou</i>	<i>55</i>
<i>Tab. 17. Průměrné nutriční hodnoty rýže basmati</i>	<i>55</i>
<i>Tab. 18. Průměrné nutriční hodnoty rýže sushi</i>	<i>56</i>
<i>Tab. 19. Průměrné nutriční hodnoty rýže natural</i>	<i>57</i>
<i>Tab. 20. Průměrné nutriční hodnoty rýže parboiled</i>	<i>57</i>
<i>Tab. 21. Retenční časy vitaminů B ve vzorcích</i>	<i>61</i>
<i>Tab. 22. Výsledky stanovení vitaminů B ve vzorcích metodou HPLC</i>	<i>62</i>
<i>Tab. 23. Kalibrace vitaminu B₃ metodou HPLC</i>	<i>65</i>

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1. Kalibrační křivka pro vitamin B₃ při vlnové délce 270 nm pomocí HPLC66

Graf 2. Kalibrační křivka pro vitamin B₂ při vlnové délce 270 nm pomocí HPLC66

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: DOPORUČENÉ DENNÍ DÁVKY VITAMÍNŮ A
MINERÁLNÍCH LÁTEK

PŘÍLOHA P II: STRUČNÝ PŘEHLED ZDROJŮ VITAMÍNŮ

PŘÍLOHA P III: STRUČNÝ PŘEHLED FUNKCÍ VITAMÍNŮ

PŘÍLOHA P IV: MOŽNOSTI CHROMATOGRAFICKÉHO STANOVENÍ

PŘÍLOHA P V: CHROMATOGRAMY STANOVENÍ OBSAHU VITAMÍNŮ

SKUPINY B V NETRADIČNÍCH CEREÁLIÍCH

**PŘÍLOHA P I: DOPORUČENÉ DENNÍ DÁVKY VITAMINŮ A
MINERÁLNÍCH LÁTEK**

<i>Minerální látky</i>	<i>Jednotky</i>	<i>Doporučená denní dávka</i>
Vitamin A	μg	800
Vitamin D	μg	5
Vitamin E	mg	10
Vitamin C	mg	60
Vitamin B₁	mg	1,4
Vitamin B₂	mg	1,6
Vitamin B₃	mg	18
Vitamin B₆	mg	2
Vitamin B₉	μg	200
Vitamin B₁₂	μg	1
Biotin	mg	0,15
Vitamin B₅	mg	6
Vápník	mg	800
Hořčík	mg	300
Železo	mg	14
Jód	μg	150
Zinek	mg	15
Fosfor	mg	800

PŘÍLOHA P II: PŘEHLED ZDROJŮ VITAMINŮ

<i>Vitamin</i>	<i>Zdroje</i>
A	máslo, tučné výrobky, mléčné výrobky, vejce, játra, rybí tuk
Karoteny	mrkev, rajčata, zelená listová zelenina, vejce, mléko, játra
D	rybí tuk, játra, mořské ryby, malá množství ve vejci, zelenina
E	rostlinné oleje, ořechy, ryby, vejce, zelenina
K	zelená listová zelenina, sója, játra, zelený čaj
C	citrusové ovoce, paprika, černý rybíz, šípky, játra, ledviny
B₁	játra, maso, kvasnice, obiloviny, ořechy
B₂	játra, vaječný bílek, mléčné výrobky, maso, obiloviny, kvasnice
B₃	kvasnice, játra, maso, mléčné výrobky, zelenina, ořechy
B₅	prakticky ve všech potravinách
B₆	játra, maso, ryby, zelenina, obilovina, kvasnice
B₉	játra, zelená listová zelenina, fazole, kvasnice, žloutek, celozrnný chléb
B₁₂	játra, ryby, vejce, mléčné výrobky, fermentované potraviny, kvasnice
Biotin	játra, sója, ořechy, obiloviny, kvasnice

PŘÍLOHA P III: PŘEHLED FUNKCÍ VITAMINŮ

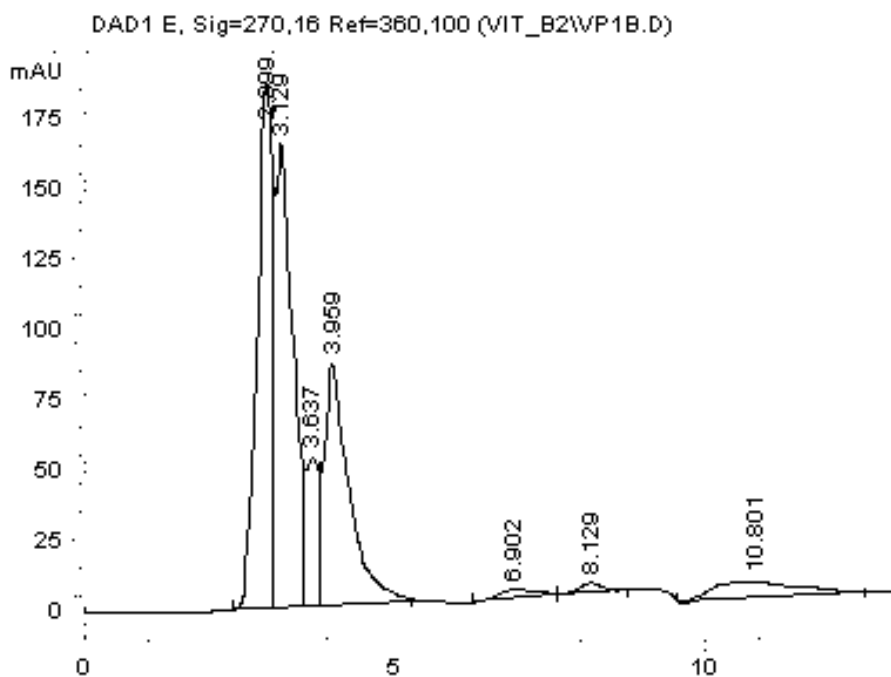
<i>Vitamin</i>	<i>Funkce</i>
A	pro dobré vidění, pro podporu imunitního systému, udržuje kůži a sliznice v dobrém stavu
Karoteny	provitamin A, antioxidant
D	pro rovnováhu minerálních látek – především vápníku a fosforu, jejich resorpci v organizmu, pro dobré kosti
E	antioxidant, chrání organizmus před nežádoucími vlivy při léčení nádorového onemocnění, působí na optimální využití vitamínu A
K	má zásadní význam pro dobrou srážlivost krve a pro kostní metabolismus
C	zvyšuje resorpci železa, je nezbytný pro tvorbu kolagenu, antioxidant, napomáhá k odolnosti proti infekcím
B₁	pro metabolismus sacharidů, pro normální vývoj a funkci mozku, nervů a srdce
B₂	pro energetický metabolismus, dobré vidění a zdravou pokožku
B₃	pro energetický metabolismus
B₅	pro energetický metabolismus
B₆	pro energetický metabolismus, pro krvetvorbu, účinný v imunitním systému, pro štěpení homocysteinu
B₉	pro krvetvorbu, pro optimální funkci nervového systému a kostní dřeně, pro štěpení homocysteinu
B₁₂	pro krvetvorbu, pro metabolismus sacharidů, tuků a bílkovin, pro štěpení homocysteinu, pro funkci nervové soustavy
Biotin	pro růst a funkci organizmu, pro imunitní systém

Příloha P IV: MOŽNOSTI CHROMATOGRAFICKÉHO STANOVENÍ

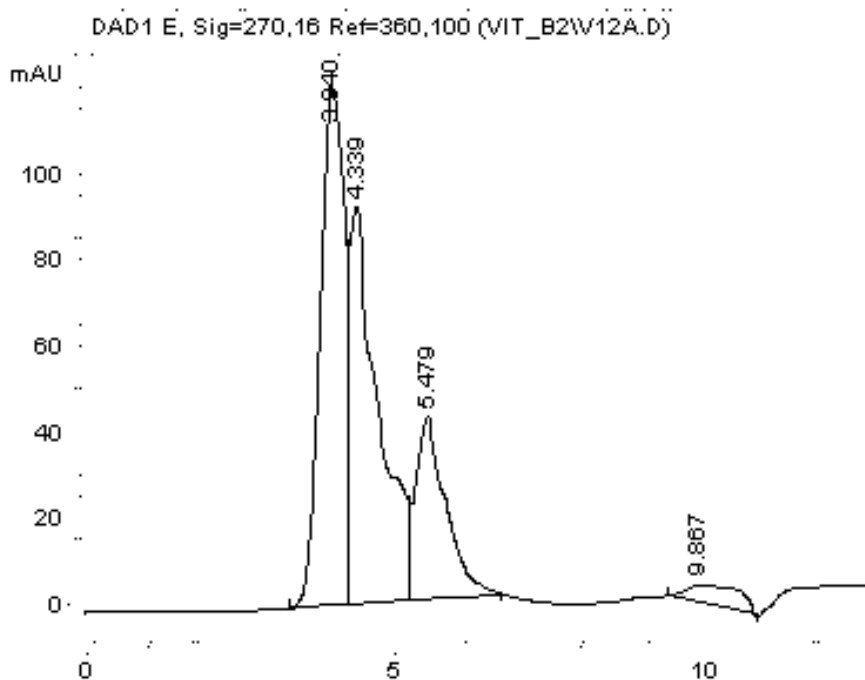
<i>Mobilní fáze</i>	<i>Stacionární fáze</i>	<i>Separační mechanismus a funkce</i>	<i>Chromatografická technika</i>
Plyn	Kapalina	Rozdělování, rozdělovací rovnováha	Plynová rozdělovací chromatografie (GLC)
	Tuhá látka	Adsorpce, adsorpční izoterma Síťový efekt	Plynová adsorpční chromatografie (GSC) Plynová chromatografie na molekulových sítích
Kapalina	Kapalina	Rozdělování, rozdělovací rovnováha	Kapalinová rozdělovací chromatografie (LLC) Papírová a tenkovrstvá chromatografie (PC, TLC)
		Síťový efekt	Gelová permeační chromatografie (GPC)
	Tuhá látka	Adsorpce, adsorpční izoterma Iontová výměna, výměnná rovnováha Biospecifická chemická reakce	Kapalinová chromatografie adsorpční (LSC) Tenkovrstvá chromatografie (TLC) Iontově výměnná chromatografie (IEC) Afinitní (bioafinitní) chromatografie

Příloha P V: CHROMATOGRAMY STANOVENÍ OBSAHU VITAMINŮ SKUPINY B V NETRADIČNÍCH CEREÁLIÍCH

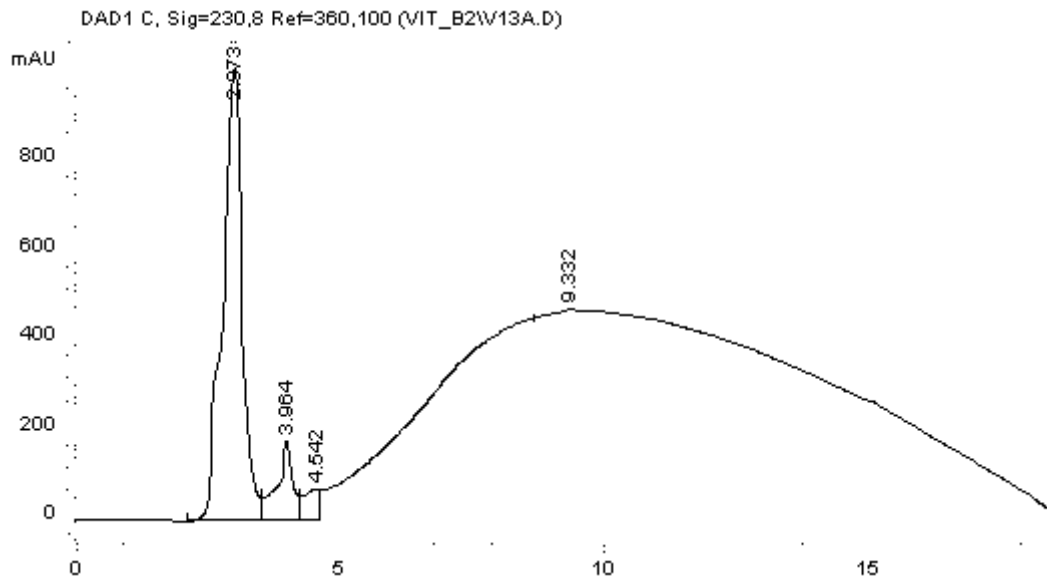
Stanovení rýže-parboiled metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



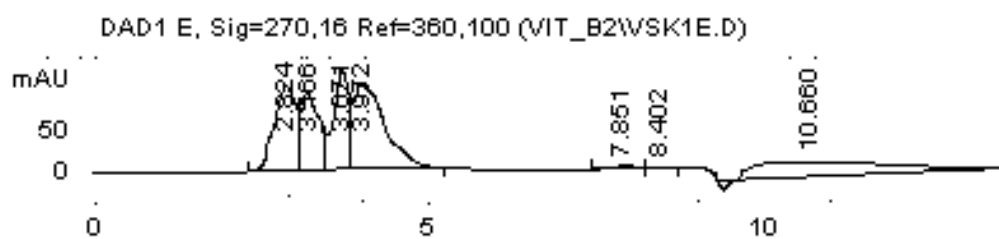
Stanovení rýže-dlouhozrné metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



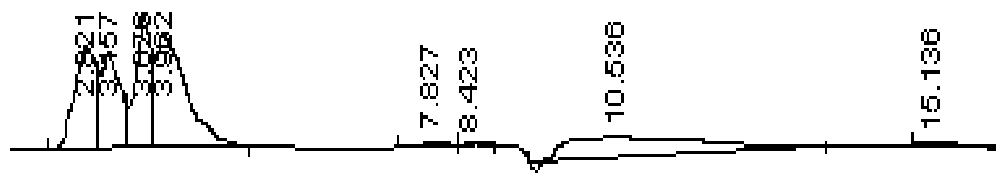
Stanovení rýže-kulatozrné metodou HPLC při vlnové délce 230 nm



Stanovení špaldového kernotta metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



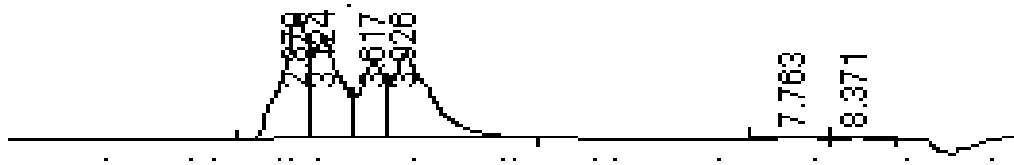
Stanovení špaldy loupané metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



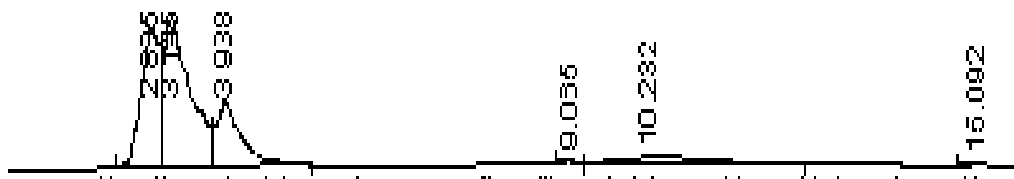
Stanovení kamutu metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



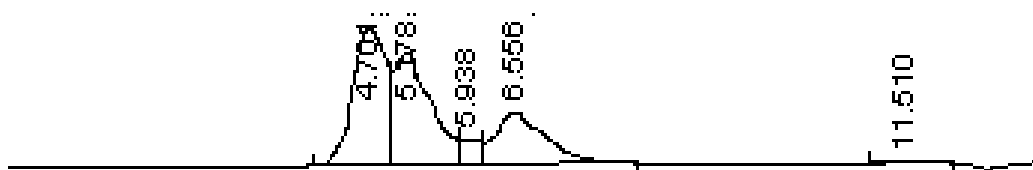
Stanovení grunkernu metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



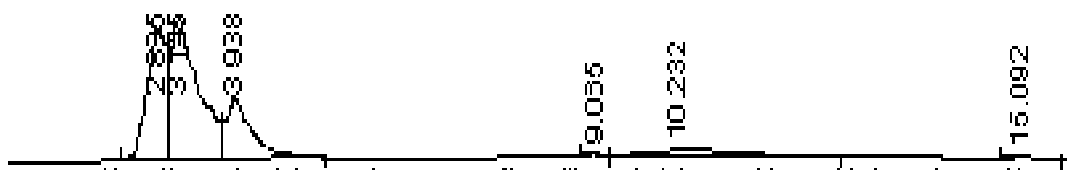
Stanovení rýže sushi metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



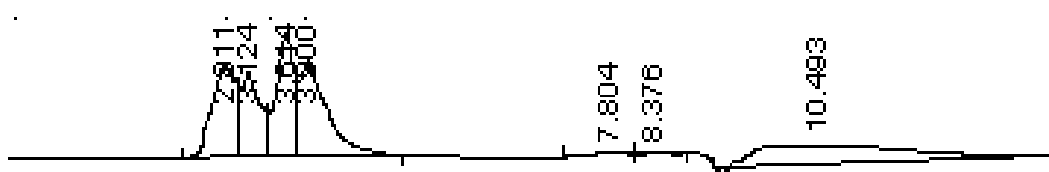
Stanovení rýže basmati metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



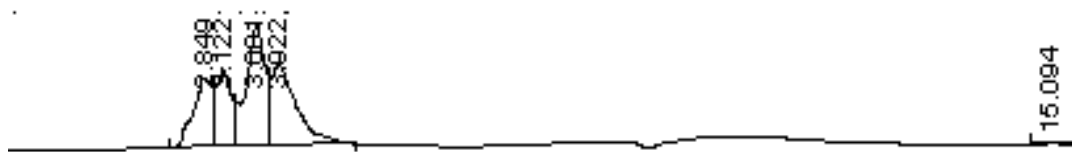
Stanovení rýže natural, LAGRIS metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



Stanovení pšenice ozimé metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



Stanovení směsi mouk pšenice a žita 90:10 metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



Stanovení směsi mouk pšenice a žita 50:50 metodou HPLC při vlnové délce 270 nm



Stanovení směsi mouk pšenice a žita 10:90 metodou HPLC při vlnové délce 270 nm

