

Hodnocení obsahu vitamínu B₂ v celozrnných výrobcích metodou HPLC/UV

Bc. Kateřina Václavíková

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. Kateřina VÁCLAVÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T10759**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Hodnocení obsahu vitamínu B2 v celozrnných výrobcích metodou HPLC/UV**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Popis riboflavinu - vitamínu B2, jeho vlastností, zdrojů, účinků.
2. Analytické - instrumentální metody vhodné pro stanovení riboflavinu se zaměřením na chromatografickou metodu HPLC s různou detekcí.
3. Složení a vlastnosti cereálních produktů, především celozrnných výrobků.

II. Praktická část

1. Výběr vhodné izolační techniky a postupu stanovení pro vitamin B2 pomocí chromatografické techniky HPLC s UV detekcí.
2. Stanovení obsahu riboflavinu ve vybraných cereálních celozrnných výrobcích metodou HPLC/UV.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] Velíšek, J., Hajšlová, J. *Chemie potravin II.* 3. vyd. Tábor: Osis, 2009. 644s.
- [2] Hlúbik, P., Opltová, L. *Vitaminy.* 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. 232 s.
- [3] Klouda, P. *Moderní analytické metody.* 2. vyd. Harok v Šenově: P. Klouda, 2003, 132 s.
- [4] Jakobsen, J.: Optimisation of the determination of thiamin, 2-(1-hydroxyethyl)thiamin, and riboflavin in food samples by use of HPLC. *Food Chemistry.* 2008, 106, 3, 1209–1217.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**
Ústav biochemie a analýzy potravin

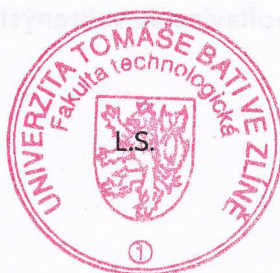
Datum zadání diplomové práce: **25. února 2011**

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

Teoretická část diplomové práce popisuje vitamin B₂, jeho vlastnosti, zdroje - podrobněji celozrnné produkty a změny riboflavinu během zpracování potravin. Dále jsou popsány chromatografické metody, především HPLC, která se nejčastěji využívá pro stanovení vitamínu B₂. Experimentální část diplomové práce se zabývá chromatografickým stanovením obsahu vitamínu B₂ v 28 celozrnných produktech (celozrnné mouky, chleba a pečivo, sušenky, snídaňové produkty, těstoviny) metodou HPLC s UV detekcí.

Klíčová slova: vitamin B₂, riboflavin, celozrnné výrobky, HPLC/UV

ABSTRACT

The theoretical part of the thesis describes vitamin B₂, his properties, resources - whole grain products in detail and changes of riboflavin during food processing. The chromatographic methods, especially HPLC, frequently used for determination of vitamin B₂ are described. The experimental part of the thesis deals with the chromatographic determination of vitamin B₂ in 28 whole grain products (whole grain flour, breads and pastries, biscuits, breakfast cereals and pasta) by HPLC with UV detection.

Keywords: vitamin B₂, riboflavin, whole grain products, HPLC/UV

Chtěla bych poděkovat Ing.Soni Škrovánkové, Ph.D. za odbornou pomoc, trpělivost, ochotu a neustálý zájem během vypracování diplomové práce.

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

Ve Zlíně 11.5.2011

.....
Podpis studenta

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 11.5.2011

.....

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 vzdělávacímu 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). Odpírá-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 přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 VITAMINY	13
1.1 VITAMIN B ₂	15
1.1.1 Reakce vitamínu B ₂	16
1.1.2 Denní potřeba vitamínu B ₂	17
1.1.3 Výskyt vitamínu B ₂	19
1.1.3.1 Potraviny živočišného původu	20
1.1.3.2 Potraviny rostlinného původu	20
1.1.3.3 Ostatní zdroje	20
1.1.4 Změny vitamínu B ₂ během zpracování potravin.....	20
1.1.4.1 Změny vitamínu B ₂ v cereáliích a celozrnných výrobcích.....	22
1.1.5 Stanovení riboflavinu	22
1.1.5.1 Lumiflavinová (fluorimetrická) metoda stanovení vitamínu B ₂	23
1.1.5.2 Mikrobiologická metoda stanovení vitamínu B ₂	23
1.1.5.3 Stanovení vitamínu B ₂ pomocí kapilární elektroforézy.....	23
1.1.5.4 Stanovení vitamínu B ₂ pomocí tenkovrstevné chromatografie	23
1.1.5.5 Chromatografické stanovení vitamínu B ₂ pomocí HPLC	24
2 CHROMATOGRAFIE	27
2.1 KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE.....	28
2.1.1 Klasická kapalinová chromatografie	28
2.1.2 Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	29
2.1.2.1 Složení HPLC	30
3 CEREÁLIE	35
3.1 CELOZRNNÉ PRODUKTY	40
3.2 CELOZRNNÁ MOUKA.....	40
3.3 VLIV CELOZRNNÝCH PRODUKTŮ NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA.....	41
II PRAKTICKÁ ČÁST	44
4 MATERIÁL A PŘÍSTROJE	45
4.1 VZORKY CELOZRNNÝCH PRODUKTŮ	45
4.2 SEZNAM CHEMIKÁLÍ	47
4.3 SEZNAM PŘÍSTROJŮ	47
5 METODIKA STANOVENÍ VITAMINU B₂	49
5.1 IZOLACE VITAMINU B ₂ ZE VZORKŮ CELOZRNNÝCH VÝROBKŮ.....	49
5.1.1 Postup izolace vitamínu B ₂ ze vzorků celozrnných mouk	49
5.1.2 Postup izolace vitamínu B ₂ ze vzorků celozrnných lupínků, celozrnných chlebičků a celozrnných sušenek	50
5.1.3 Postup izolace vitamínu B ₂ ze vzorků celozrnného pečiva, celozrnného chleba	50
5.1.4 Postup izolace vitamínu B ₂ ze vzorků celozrnných těstovin.....	50

5.1.5	Postup izolace vitamínu B ₂ ze vzorků výluhu celozrnných těstovin.....	51
5.2	CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ VITAMINU B ₂	51
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	53
6.1	KALIBRAČNÍ KŘIVKA PRO STANOVENÍ VITAMINU B ₂ METODOU HPLC/UV	53
6.2	STANOVENÍ OBSAHU VITAMINU B ₂ V CELOZRNNÝCH PRODUKTECH.....	56
6.2.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorcích celozrnných mouk	57
6.2.1.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnné mouky žitné.....	57
6.2.1.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnné mouky pšeničné.....	57
6.2.1.3	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnné mouky špaldové hladké	58
6.2.1.4	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnné mouky špaldové hrubé.....	58
6.2.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorcích celozrnných chlebů.....	59
6.2.2.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnného toastového chleba.....	59
6.2.2.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnného chleba.....	59
6.2.3	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorcích celozrnného pečiva	60
6.2.3.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Kaufland).....	60
6.2.3.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Boner)	61
6.2.3.3	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Billa)	61
6.2.3.4	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Svoboda-Březík).....	61
6.2.3.5	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku grahamové bulky se sýrem	62
6.2.3.6	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku grahamové vecky.....	62
6.2.4	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorcích celozrnných těstovin a výluzích z těstovin.....	63
6.2.4.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku pšeničných celozrnných vlasových nudlí	63
6.2.4.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku výluhu z pšeničných celozrnných vlasových nudlí.....	64
6.2.4.3	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku grahamových těstovin.....	64
6.2.4.4	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku výluhu z grahamových těstovin.....	64
6.2.4.5	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku špaldových celozrnných dlouhých nudlí	65
6.2.5	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorcích celozrnných sušenek	65
6.2.5.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Grahamky.....	65
6.2.5.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Zázvorky.....	66
6.2.5.3	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Melasky.....	66
6.2.5.4	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Špaldové.....	67

6.2.6	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorcích celozrnných lupínků	67
6.2.6.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku Dobré vláknině.....	67
6.2.6.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku Miss Fit	68
6.2.6.3	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku Cini Minis	68
6.2.6.4	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku Fitness	69
6.2.6.5	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnných ovesných polštářků.....	69
6.2.7	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorcích celozrnných chlebiček	70
6.2.7.1	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku špaldového křehkého chlebičku.....	70
6.2.7.2	Stanovení obsahu vitamínu B ₂ ve vzorku celozrnného křupavého chlebičku.....	71
6.3	POROVNÁNÍ OBSAHU VITAMINU B ₂ V CELOZRNNÝCH PRODUKTECH	71
6.3.1	Zhodnocení a doporučení celozrnných produktů pro pokrytí DDD vitamínu B ₂	74
ZÁVĚR		76
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		78
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		84
SEZNAM OBRÁZKŮ		85
SEZNAM TABULEK.....		86
SEZNAM PŘÍLOH.....		87

ÚVOD

Vitamíny jsou pro metabolismus člověka esenciální. Jejich nedostatek ve stravě způsobuje onemocnění, která jsou charakteristická pro jednotlivý vitamin.

Vitamin B₂ – riboflavin funguje jako kofaktor různých enzymů v metabolismu nukleových kyselin, bílkovin, sacharidů, tuků a dalších látek. Účastní se procesu vidění tak, že má schopnost převádět krátkovlnné modré paprsky na žlutozelené a tím umožňuje vidění za šera, umožňuje oxidační pochody a metabolismus aminokyselin v rohovce a oční čočce. Účastní se také metabolismu pyridoxinu, kyseliny listové a niacinu, produkce hormonů v nadledvinkách a tvorby krevních elementů a zárodečných buněk.

Vitamin B₂ je ve vodě rozpustný, termostabilní, k jeho inaktivaci dochází působením světla a alkalickým prostředím.

Nedostatek vitamínu B₂ se projevuje prasklinami ústních koutků, záněty jazyka, poškozením sliznice hrtanu a jícnu, záněty kůže, nadměrným vylučováním kožního mazu, lámavostí nehtů, nadměrným rohovatěním kůže a záněty očních víček.

Ke zdrojům vitamínu B₂ patří: vepřová játra, vejce, maso, sýry, ryby a mléko. Z rostlinných produktů mají nejvyšší obsah vitamínu B₂ obiloviny a výrobky z nich. Celozrnné produkty tedy patří mezi významné zdroje vitamínu B₂. Vyšším obsahem vitamínu B₂ se vyznačují i luštěniny a brambory.

Ke stanovení vitamínu B₂ se využívají různé metody: mikrobiologická, kapilární elektroforéza, tenkovrstevná chromatografie, lumiflavinová. Stanovení riboflavinu se ale nejčastěji provádí chromatografickou metodou – HPLC, která je nejvíce používanou a rozšířenou analytickou metodou. Slouží k separaci a analýze chemických směsí.

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu vitamínu B₂ v celozrnných produktech (celozrnné mouky, pečivo, snídaně, těstoviny, chlebičky a sušenky). K izolaci vitamínu B₂ bylo využito optimalizovaného izolačního postupu. Izolovaný vitamin B₂ byl stanoven pomocí HPLC/UV.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VITAMINY

Vitaminy jsou definovanou skupinou nízkomolekulárních organických látek, které jsou přítomny v malém množství v přirozených potravinách. Jsou esenciální pro metabolismus a jejich nedostatek ve stravě způsobuje onemocnění, která jsou charakteristická pro každý vitamin [1].

Vitaminy jsou syntetizované autotrofními organismy. Heterotrofní organismy jako člověk vitaminy syntetizují jen v omezené míře. Získávají je jako exogenní látky především z potravy a některé heterogenní organismy získávají vitaminy z potravy prostřednictvím střevní mikroflóry. Některé látky které samy nevykazují fyziologické účinky mohou být využity jako prekurzory vitaminů, tzv. provitaminy. Organismus je schopen z těchto látek syntetizovat vitaminy [2].

Vitaminy jsou pro organismus nepostradatelným biokatalyzátorem, jejich nejdůležitější funkcí je tedy součást katalyzátorů biochemických reakcí a proto bývají také označovány jako exogenní esenciální biokatalyzátory. Další funkcí některých vitaminů je antioxidační působení, tedy tlumení tvorby aktivních forem kyslíku, případně dusíku [2, 3].

Vitaminy jsou v určitém minimálním množství nezbytné pro látkovou přeměnu a regulaci metabolismu člověka. Vitaminy nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem [2].

Množství vitaminů, které je potřebné k zajištění normálních fyziologických funkcí člověka je závislé na řadě faktorů jako je stáří, pohlaví, zdravotní stav, životní styl, stravovací zvyklosti, pracovní aktivita apod. [2].

V potravinách se vitaminy vyskytují v proměnném množství, od $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ po stovky až tisíce $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Obsah vitaminů v surovinách i v potravinách z nich vyrobených je z hlediska technologického nejen indikátorem kvality a šetrnosti operací použitých při výrobě, ale také podmínek skladování surovin i hotových výrobků. Vitaminy se vyskytují volně vázané zejména na bílkoviny nebo sacharidy [2, 3].

Potřeba jednotlivých vitaminů může být ovlivněna přítomností některých složek potravin, které neumožňují plné využití vitaminů nebo vitaminy inhibují. Mezi tyto látky patří antivitaminy, které jsou také označovány jako antagonisty vitaminů. Antivitaminy eliminují urči-

tým způsobem biologické účinky vitaminů, což může vést k projevům nedostatku (deficiencie) [2].

Je-li některý vitamin dodáván v nedostatečném množství dochází k hypovitaminose nebo až k avitaminose, což je přechodný úplný nedostatek vitaminu projevující se poruchou některých biochemických procesů. Avitaminosa nevzniká pouze jako následek nedostatečného obsahu příslušného vitaminu v potravě, ale mohou se na ní podílet i jiné faktory, např. špatná resorpce vitaminů v zažívacím traktu, vliv některých fyziologických změn v organismu, přítomnost antivitaminů a v některých případech i zvýšená potřeba vitaminů při zvýšené fyzické nebo psychické zátěži. Nedostatek vitaminu (deficiencie) byl dříve jednou z hlavních příčin mnoha chorob a onemocnění [2, 3].

Opakem nedostatku vitaminu je nadměrný příjem vitaminu nazývaný jako hypervitaminosa, která se projevuje poruchami biochemických procesů a může vést k těžkým onemocněním [2].

Vitaminy se třídí na základě společných fyzikálních vlastností, mezi které patří rozpustnost ve vodě a v tucích. Podle těchto kritérií se dělí na dvě velké skupiny.

- Vitaminy rozpustné ve vodě (hydrofilní vitaminy). Zahrnují 9 vitaminů.

- Vitaminy rozpustné v tucích (lipofilní vitaminy). Zahrnují 4 vitaminy [2, 3].

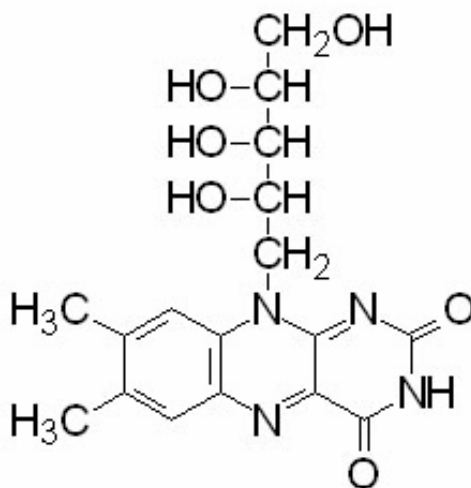
Hydrofilní vitaminy zahrnují vitamin C a vitaminy skupiny B, označované také jako vitaminy B-komplexu. Mezi vitaminy skupiny B patří – thiamin, riboflavin, niacin, pyridoxin, kyselina pantotenová, biotin, folacin a korinoidy [2].

Funkce vitaminů rozpustných ve vodě spočívá v katalytickém účinku, uplatňují se jako kofaktory různých enzymů v metabolismu nukleových kyselin, bílkovin, sacharidů, tuků a dalších látek. Tyto vitaminy nejsou v organismu zpravidla skladovány nebo jsou skladovány jen omezeně. Jejich přebytek je vyloučen močí. U vitaminů rozpustných ve vodě dochází v průběhu technologického a kulinárního zpracování k největším ztrátám výluhem [2].

Vitaminy rozpustné v tucích zahrnují vitamin A, D, E a K. Jsou skladovány v játrech. U vitaminů rozpustných v tucích dochází k největším ztrátám oxidací [2].

1.1 Vitamin B₂

Vitamin B₂ (riboflavin), dříve označovaný také jako laktoflavin, ovoflavin, uroflavin a vitamin G, je oxidovanou formou vitamínu nazývanou flavochinon. Základem vitamínu B₂ je isoalloxazinové jádro, na které je v poloze N-10 vázán ribitol, alditol odvozený od D-ribosy. Chemicky je vitamin B₂ 6,7-dimetyl-9-(D-1'-ribityl)isoalloxazin [2, 3].



Obr. 1. Riboflavin (oxidovaná forma)

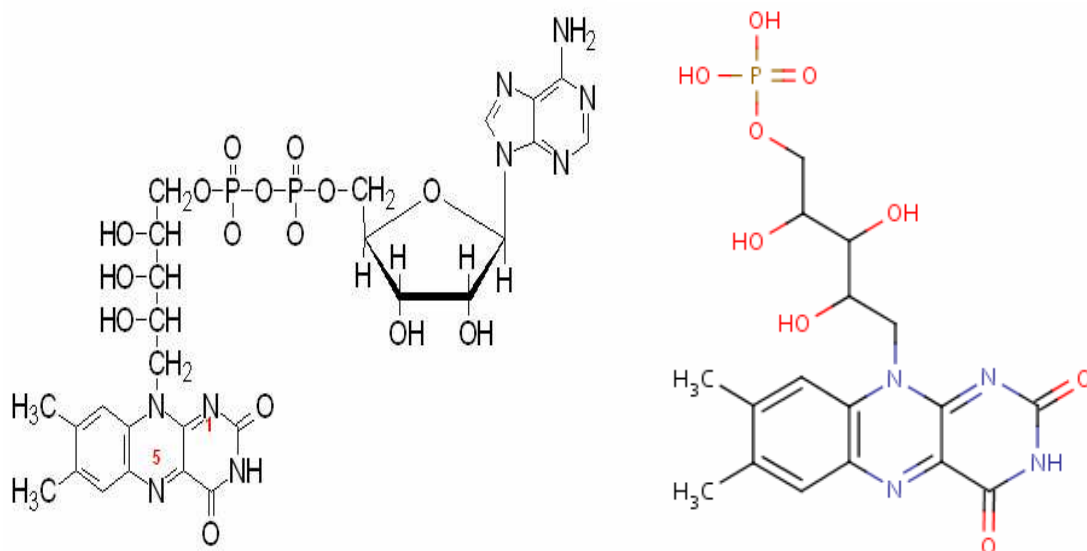
Vitamin B₂ se převážně vyskytuje ve formě riboflavin-5'-fosfátu (flavinmononukleotidu, FMN), flavinadenindinukleotidu (FAD) a kovalentně vázaného riboflavínu. Jako volná látka se vitamin B₂ (riboflavin) vyskytuje v menší míře než ve formě vázané. FMN a FAD jsou kofaktory enzymů nazývaných jako flavoproteiny. Tyto enzymy hrají důležitou roli v přenosu atomů vodíku v oxidativních procesech uvnitř buňky, při kterých vzniká energie (respirační řetězec). Takovou reakcí je například konverze pyridoxinu na jeho funkční formu a konverze tryptofanu na niacin [2, 3, 4].

Vitamin B₂ je schopen vytvářet koenzymy, které hrají důležitou roli v metabolismu bílkovin, tuků, sacharidů [3].

Vitamin B₂ se účastní procesu vidění tak, že má schopnost převádět krátkovlnné modré paprsky na žlutozelené a tím umožňuje vidění za šera, umožňuje oxidační pochody a metabolismus aminokyselin v rohovce a oční čočce. Koncentrace vitamínu B₂ v oku je vysoká, ve volné formě je obsažen ve velkém množství v sítnici [3].

Vitamin B₂ se účastní metabolismu pyridoxinu, kyseliny listové a niacinu, dále se účastní produkce hormonů v nadledvinkách a tvorby krevních elementů a zárodečných buněk [3].

Glutathionreduktáza obsahuje jako účinnou skupinu FAD. Hraje hlavní roli v antioxidačním systému při obnově redukované formy glutathionu (GSH) z oxidované formy glutathionu (GSSH). Glutathionreduktáza působí v kombinaci s glutathionperoxidasou při odbourávání peroxidu vodíku na vodu [5, 6].



Obr. 2. FAD a FMN

Vitamin B₂ se vstřebává v horní části tenkého střeva pomocí Na⁺ - závislého aktivního transportu. Absorpce nízkých koncentrací vitamínu B₂ je regulována pomocí saturačního mechanismu, vyšší koncentrace jsou absorbovány pomocí pasivní difúze. Po procesu fosforylace vlivem korových enzymů je vitamin B₂ dále transportován ve vazbě na bílkoviny především do jater, srdce a ledvin, kde nemůže vytvářet významné zásoby. Ke snížení absorpce vitamínu B₂ dochází při poškození trávicího traktu, působením alkoholu, léčiv, při vyšším výskytu chelátů mědi, zinku a železa v trávicím traktu [3, 5].

1.1.1 Reakce vitamínu B₂

Vitamin B₂ je žlutozelená krystalická látka, rozpustná ve vodě. Vodné roztoky mají schopnost fluorescence. Vitamin B₂ je termostabilní, k jeho inaktivaci dochází působením světla a alkalickým prostředím [4, 7].

FMN a FAD jsou velmi náchylné k chemické nebo enzymatické hydrolyze. FAD je v kyselém prostředí hydrolyzováno na FMN. Fosfátová skupina FMN je v kyselém prostředí přemístěna z polohy C-5' do polohy C-4', C-3' a C-2', hydrolyzou fosfátů vzniká vitamin B₂ [2].

Katalytická aktivita flavinů je dána kombinací benzenového, pyrimidinového a pyrazinového kruhu v isoalloxazinovém jádru [8].

Vitamin B₂ může být snadno esterifikován v poloze ribitolu. Mnoho esterů mastných kyselin vznikajících esterifikací zahrnují riboflavin-5'-butyrát a riboflavin-5'-palmitát [8].

Vitamin B₂ je v nepřítomnosti světla velmi stabilní, v neutrálních a slabě kyselých roztocích je prakticky stálý. V alkalickém prostředí vzniká jako produkt degradace vitamínu B₂ 1-(3-karboxy-6,7-dimethyl-2-oxo-1(2*H*)-chinoxaliny)-1-deoxy-D-ribitol. V neutrálním a alkalickém prostředí za přístupu světla jsou všechny flaviny nestálé, zejména volný vitamin B₂ a FMN. Tyto sloučeniny působí jako fotosenzibilizátory typu I a II, absorbovanou světelnou energii předávají vzdušnému kyslíku, ze kterého vzniká singletový kyslík a ten oxiduje další organické sloučeniny, současně dochází k fotolytickému štěpení flavinů [2].

Hlavním produktem fotodegradace vitamínu B₂ po štěpení ribitolu v kyselém a neutrálním prostředí je lumichrom, v neutrálním a alkalickém prostředí vzniká lumiflavin. Oba flaviny vznikající fotodegradací vitamínu B₂ jsou účinnější oxidační činidla než samotný vitamin B₂. Reakcí těchto flavinů s kyslíkem vzniká singletový kyslík, reaktivní radikály a peroxid vodíku. Reakcí peroxidu vodíku s železnatými ionty vzniká hydroxylový radikál, který je velmi účinným oxidačním činidlem [2].

Vitamin B₂ často působí jako fotosenzibilizátor u mléka při působení slunečního záření v nevhodných obalech. Singletový kyslík a produkty degradace vitamínu B₂, zejména lumiflavin, způsobují rozsáhlou destrukci vitamínu C a oxidaci dalších významných látek jako je retinol a retinoidy, esenciální mastné kyseliny a esenciální aminokyseliny. Z methanthiolu vznikají rozkladem těkavé sирné sloučeniny jako např. methional, které způsobují nepříjemné aroma nazývané jako sluneční přípach [2].

1.1.2 Denní potřeba vitamínu B₂

Člověk nedokáže vitamin B₂ syntetizovat, proto jej musí přijímat z potravy. V malém množství je vitamin B₂ syntetizován bakteriemi, které kolonizují tlusté střevo člověka [9].

Výše doporučeného denního příjmu vitamínu B₂ je vzhledem k jeho působení v energetickém metabolismu a metabolismu bílkovin závislá na obsahu bílkovin a energetické hodnotě potravy. Doporučený denní příjem by měl být v souladu s energetickým výdejem a tělesnou hmotností konzumenta [3].

Denní potřeba vitamin B₂ se udává v rozmezí hodnot 0,4 mg – 1,7 mg. Potřeba 0,4 mg vitaminu B₂ na den platí pro kojence. Nejvyšší hodnota 1,7 mg na den je udávána pro adolescenty a dospělé muže. U žen je potřeba riboflavinu na den oproti dospělým mužům a adolescentům nižší, jde o rozmezí hodnot 1,2 – 1,3 mg. Pro kojící ženy platí denní potřeba v rozmezí hodnot 1,6 – 1,8 mg i vyšší. Pokud je nedostatečný příjem vitaminu B₂ (méně než 0,5 mg.den⁻¹) delší než 100 dní dochází ke vzniku hypovitaminosy [2, 3].

Téměř 40 % vitaminu B₂ získaného potravou zajišťuje mléko a mléčné výrobky, asi 20 % maso a masné výrobky, 15 % cereálie, necelých 10 % vejce a zelenina [2].

Vitamin B₂ obsažený v potravinách živočišného původu, je oproti vitaminu B₂ v potravinách rostlinného původu, jednodušeji absorbován v trávicím traktu. Je to dáno vyšším obsahem kovalentních vazeb, v potravinách rostlinného původu, které jsou obtížněji štěpeny proteasami [2].

Zvýšený denní příjem je doporučován při infekčních onemocněních, po chirurgických intervencích, u pacientů s polytraumaty, při chronickém abúzu alkoholu, zvýšené aktivitě štítné žlázy a při konzumaci stravy s vysokým obsahem tuků [3].

K nedostatku vitaminu B₂ dochází zejména v rozvojových zemích, v rozvinutých zemích se nedostatek vitaminu B₂ vyskytuje u starých lidí. Vitamin B₂ je u lidí hodnocen pomocí EGRAC, což je koeficient aktivity glutathionreduktázy. Jedná se o poměr glutathionreduktázy s doplněním a bez doplnění kofaktoru FAD. Glutathionreduktáza ztrácí FAD v rané fázi nedostatku vitaminu B₂. Koeficient EGRAC slouží jako užitečná metoda ke stanovení nedostatku vitaminu B₂ [10].

Nedostatek vitaminu B₂ může být v podmínkách ČR vyvolán: celkovou malnutricí (podvýživa v podmínkách ČR způsobena nevhodným složením stravy), alkoholismem, orálním příjmem antikoncepce, dlouhodobým působením stresu, nemoci štítné žlázy (hyperfunkce), diabetes mellitus, záněty tenkého střeva a u dětí hyperbilirubinemií [3, 5].

Na molekulární úrovni negativně ovlivňuje nedostatek vitaminu B₂ metabolismus železa, což má za následek poškození tvorby erytrocytů. V důsledku nedostatku vitaminu B₂, jakožto součásti enzymu glutathionreduktázy, dochází ke zvýšení peroxidace lipidů a ke zvýšení přítomnosti volných radikálů. Onemocnění vznikající nedostatečným příjmem vitaminu B₂ se nazývá ariboflavinosa. Toto onemocnění je poměrně vzácné. Nedostatek vitaminu B₂ se projevuje prasklinami ústních koutků, záněty jazyka, poškozením sliznice hrtanu a jícnu,

záněty kůže, nadměrným vylučováním kožního mazu, lámavostí nehtů, nadměrným rohovatěním kůže a záněty očních víček [2, 5].

1.1.3 Výskyt vitamínu B₂

Volný vitamin B₂ se nachází pouze v sítnici oka, syrovátce a moči. Nejčastěji se vitamin B₂ vyskytuje vázaný jako FMN a FAD [2, 3].

Vitamin B₂ je obsažen v řadě potravin, ve kterých se však jeho obsah velmi liší. Bohatými zdroji jsou – játra, ledviny, mléko, sýry, jogurty a kvasnice. Dobrymi zdroji jsou: mandle, sójová mouka, surové houby, snídaňové cereálie, obohacená mouka [2].

Obsah vitamínu B₂ ve vybraných potravinách je uveden v tabulce 1 [2].

Tab. 1. Obsah vitamínu B₂ v potravinách [2]

Vitamin B ₂			
Potravina	Obsah v mg.kg ⁻¹	Potravina	Obsah v mg.kg ⁻¹
Maso vepřové	0,9 – 3,5	Rajčata	0,3 – 0,4
Maso hovězí	0,4 – 3,5	Mrkev	0,5 – 2,6
Maso kuřecí	0,7 – 2,8	Brambory	0,3 – 2,0
Vepřové játra	29 – 44	Jablka	0,1
Ryby	1,0 – 3,3	Citrusové plody	0,2 – 0,4
Mléko	0,2 – 3,0	Banány	0,4 – 0,6
Sýry	3,3 – 5,7	Ořechy	0,2 – 1,3
Vejce	2,8 – 3,5	Droždí	17 – 44
Pšeničná mouka	0,2 – 1,2	Zelí	0,5
Chléb	0,6 – 1,5	Špenát	0,6 – 3,4
Luštěniny	1,2 – 2,8		

1.1.3.1 Potraviny živočišného původu

Z živočišných produktů mají nejvyšší obsah vitamínu B₂ vepřová játra. Vyšší obsah vitamínu B₂ mají také vejce, maso, sýry, ryby a mléko, ledviny. Mléko a mléčné výrobky dodávají zhruba polovinu vitamínu B₂ ve stravě obyvatel ČR [1, 2].

V mléce a ve vejcích převládá přibližně 82 % volné formy vitamínu B₂. V mléce je vitamín B₂ z části vázán na α_s -kasein a β -kasein, přibližně 14 % tvoří forma FAD a 4 % forma FMN [2].

1.1.3.2 Potraviny rostlinného původu

Z rostlinných produktů má nejvyšší obsah vitamínu B₂ pšeničná mouka. Dále se vyšším obsahem vitamínu B₂ vyznačují luštěniny, brambory a chléb [2].

V potravinách rostlinného původu se vitamín B₂ vyskytuje ve třech formách: volný a vázaný v FMN a FAD. Ve vyšších rostlinách a mikroorganismech se kromě těchto forem vyskytuje také velký počet derivátů vitamínu B₂ (např. esterů a glykosidů). Tyto deriváty vykazují biologickou aktivitu obdobnou vitamínu B₂. Příkladem těchto derivátů může být ester s malonovou kyselinou (5'-malonyl-riboflavin), který byl nalezen v ovsu [2].

Vitamín B₂ se přidává do potravin za účelem fortifikace. Příkladem mohou být pšeničná mouka a cereální snídaně [2].

1.1.3.3 Ostatní zdroje

Z ostatních zdrojů je nejvýznamnějším droždí, které má po vepřových játrech druhý nejvyšší obsah vitamínu B₂ [2].

1.1.4 Změny vitamínu B₂ během zpracování potravin

Významné ztráty vitamínu B₂ mohou vznikat při manipulacích a nešetrném zacházení, např. při sklizni, skladování a dopravě – především působením teploty a délky skladování, i nedostatečnou ochranou proti slunečnímu záření. Ztráty vitamínu B₂ v případě kulinárních úprav jako vaření jsou způsobeny vyluhováním [12].

Vitamín B₂ patří mezi nejstabilnější vitamíny, avšak k jeho degradaci dochází velmi snadno působením UV a slunečního záření. Proto by se potraviny, obsahující větší množství

tohoto vitamínu, neměly vystavovat slunečnímu záření. Potraviny by měly být skladovány ve vhodných obalech, které jsou neprůhledné [1, 2].

Průměrné ztráty vitamínu B₂ způsobené úpravou potravin činí přibližně 20 % [5].

Ztráty vitamínu B₂ nejsou při vaření a pečení masa příliš významné, zpravidla nepřesahují 10 % a jsou způsobeny především výluhem. Také během zmrazování a chladírenského skladování masa jsou ztráty nízké. K malým ztrátám vitamínu B₂ v mase dochází i při použití mikrovlnného ohřevu [1,2].

Studie provedena slovenskými vědci [13] uvádí, že během vaření vepřového masa při 93 °C po dobu 72 – 80 minut dochází k 13 % ztrátě vitamínu B₂. U masa hovězího dochází při 96 – 99 °C po dobu 150 minut k 18 % ztrátám.

Mléko a mléčné výrobky jsou důležitým zdrojem vitamínu B₂ ve stravě. Vitamin B₂ jako silný fotosenzibilizátor je schopen absorbovat viditelné a ultrafialové záření a převádět tuto energii na reaktivní formy kyslíku jako superoxid a singletový kyslík. Radikály a reaktivní formy kyslíku urychlují oxidaci složek mléka a mléčných výrobků, jako jsou bílkoviny, tuky, sacharidy a vitaminy včetně vitamínu B₂. Tyto procesy vedou k poškození živin a snížení jejich obsahu. Kromě toho vznikají také barvené změny a nepříjemná chuť mléka [14].

Snížení koncentrace vitamínu B₂ v mléce závisí na rozsahu vlnové délky, intenzitě zdroje záření, délce expozice, teplotě produktu a prostupnosti světla obalovým materiálem [15].

Během tepelné úpravy mléka, jako je pasterace a sterilace, je vitamin B₂ velmi stálý. Ztráty nedosahují ani 5 %. Ztráty během skladování trvanlivého mléka jsou asi 10 % [2].

K největším ztrátám vitamínu B₂ v mléce dochází přímým ozářením slunečním světlem. Při skladování na slunci dochází k degradaci asi 20 – 40 % vitamínu B₂ za 1 hodinu. Největší ztráty vznikají při balení mléka do plastových lahví a skleněných nádob [1, 2].

Proces vypařování a kondenzace má nízký efekt na obsah vitamínu B₂ v mléce [1].

Fermentované mléčné výrobky obsahují ve většině případů vyšší koncentrace vitamínu B₂ než původní mléko z důvodu syntézy vitamínu B₂ použitými mikroorganismy [2].

U konzervovaného ovoce a zeleniny jsou ztráty vitamínu B₂ závislé na druhu použitých surovin, pohybují se v rozmezí 25 – 70 %. Tyto ztráty jsou způsobeny výluhem [2].

Při vaření se vyluhováním sníží obsah vitamínu B₂ v zelenině o 30 – 40 % [2].

1.1.4.1 Změny vitamínu B₂ v cereáliích a celozrnných výrobcích

Cereálie obsahují značné množství vitamínu B₂, jehož obsah v mouce závisí na stupni vymílání. V celozrnných moukách je obsah vitamínu B₂ vyšší než v moukách běžných vymílaných. Mletí pšenice způsobuje významné ztráty vitamínu B₂, který je nejvíce zastoupen v klíčku a obalových vrstvách, tyto částice jsou během mletí odstraňovány. Během mletí rýže je ztracena zhruba polovina vitamínu B₂ [1, 2].

Během pečení jsou ztráty vitamínu B₂ do 10 %. Vyšší ztráty byly zaznamenány u mouk, které byly obohaceny vitamínem B₂ [1].

U vařených těstovin se ztráty vitamínu B₂ v závislosti na druhu použitých těstovin pohybují v rozmezí 35 – 55 %. Tyto ztráty jsou způsobeny výluhem [2].

Slovenská studie [13] uvádí ztráty 18,3 % vitamínu B₂ u makarónů vařených při 90 °C po dobu 10 minut, zvýšením doby působení na 20 minut se ztráty vitamínu B₂ zvýšily o více než polovinu na 53,3 %.

Francouzští vědci [16] zjistili, že při výrobě celozrnných a běžných bílých chlebů nedochází ke snižování obsahu vitamínu B₂. Je to dáno nejen dobrou stabilitou vitamínu B₂ během zpracování, ale také zvýšením obsahu vitamínu B₂ kvasinkami a to zejména při dlouhé fermentaci. U běžné bílé mouky byl zjištěn obsah vitamínu B₂ 0,49 µg.g⁻¹, u celozrnné mouky 0,80 µg.g⁻¹. Během pečení chleba došlo ke zvýšení obsahu vitamínu B₂ v běžném bílém chlebu na hodnotu 1,10 µg.g⁻¹, u celozrnného chleba na hodnotu 1,56 µg.g⁻¹.

1.1.5 Stanovení riboflavinu

Riboflavin se přirozeně vyskytuje v biologických tkáních vázaný na bílkoviny ve formě FMN a FAD, volný vitamín B₂ se nachází hlavně k kravskému mléce. Pro stanovení se nejčastěji používá lumiflavinová (fluorimetrická) metoda, mikrobiologická metoda, kapilární elektroforéza, tenkovrstevná chromatografie a kapalinová chromatografie [17, 18].

Vitamín B₂ je silně fotolabilní, proto je během jeho stanovení nutné pracovat za nepřístupu světla [17].

1.1.5.1 Lumiflavinová (fluorimetrická) metoda stanovení vitamínu B₂

Lumiflavinovou metodou je vitamin B₂ ze vzorku uvolněn kyselou hydrolyzou pomocí H₂SO₄ a enzymatickou hydrolyzou pomocí takadiastasy. Po extrakci chloroformem je vitamin B₂ převeden UV zářením v alkalickém prostředí na lumiflavin. Vzniklý lumiflavin je měřen flurometricky při vlnových délkách 435,8/525 nm. Obsah vitamínu B₂ ve vzorku je určen z kalibrační křivky [17, 19].

1.1.5.2 Mikrobiologická metoda stanovení vitamínu B₂

Pro mikrobiologické stanovení vitamínu B₂ jsou často používány mikroorganismy *Lactobacillus casei* a *Leuconostoc mesenteroides*, který je citlivější než *L.casei*. Mikroorganismy jsou schopny růstu pouze tehdy, je-li vitamin B₂ přítomen v médiu. Alikvotní podíl extraktu vzorku obsahující vitamin B₂ je přidán k živné půdě. Po naočkování testovaného mikroorganismu dochází k růstu (násobení počtu) tohoto mikroorganismu v závislosti na množství vitamínu B₂. Nárůst mikroorganismu je měřen pomocí vytvořeného zákalu fotometricky [8, 18].

1.1.5.3 Stanovení vitamínu B₂ pomocí kapilární elektroforézy

Čínští vědci [20] provedli stanovení koncentrace vitamínu B₂ pomocí kapilární elektroforézy ve 12 vzorcích piva. Zvolené optimální podmínky separace vitamínu B₂ byly použití tetraboritanu sodného a fosforečnanu sodného pro úpravu pH vzorku piva. Detekce byla provedena pomocí světloemitující LED diody indukční fluorescenční detekce. Koncentrace vitamínu B₂ ve 12 vzorcích obchodních druhů piva byla v rozmezí 0,130 – 0,280 mg.ml⁻¹. Tato metoda je citlivá, přesná, rychlá, jednoduchá a reprodukovatelná.

1.1.5.4 Stanovení vitamínu B₂ pomocí tenkovrstevné chromatografie

Tenkovrstevná chromatografie byla využita ke stanovení flavinových derivátů v pekařských kvasnicích. Stanovení bylo provedeno na silikagelové a celulóze destičce. Vyvíjecí mobilní fáze se skládala z butanol: ledová kyselina octová:voda (2:1:1). Ve vzorku kvasnic byla zjištěna přítomnost FMN (71,5%), FAD (25,8%), malé množství volného vitamínu B₂ (1,7%) a stopové množství 10-formylmethylflavinu (<0,05%) [21].

1.1.5.5 Chromatografické stanovení vitamínu B₂ pomocí HPLC

HPLC byla úspěšně použita ke stanovení vitamínu B₂ v různých potravinách a biologických matricích. Metoda je selektivní a citlivá, překonává některé problémy, které souvisí s chemickými metodami [22].

Chromatografická metoda pro stanovení vitamínu B₂ ve vejcích, plnotučném mléce, odstředěném mléce, sušeném mléce, jogurtu, tvarohu a sýru typu čedar využívá okyselení, odstředění a stanovení tohoto vitamínu v supernatantu metodou HPLC/UV. Mobilní fáze je složena z vody:methanolu:kyseliny octové (68:32:0.1 v/v). Tato metoda je jednoduchá, rychlá, citlivá a specifická pro vitamin B₂ [23].

Maďarská studie [24] uvádí obsah vitamínu B₂ ve vepřovém mase a vepřových játrech. Zvolený postup izolace vitamínu B₂ ve vybraných vzorcích zahrnoval následující kroky: hydrolyza pomocí HCl, zahřátí vzorku a následné uvolnění vitamínu B₂ enzymem takadiastasou a clara-díastasou. Pro stanovení vitamínu B₂ byla použita metoda HPLC s UV detekcí o vlnové délce 254 nm. Použitá mobilní fáze se skládala z fosfátového pufru: acetonitrilu (84:16). Zjištěný obsah vitamínu B₂ metodou HPLC/UV byl ve vepřové kotletě 0,086 mg.100 g⁻¹, játrech 2,347 mg.100 g⁻¹, vepřové kýtě 0,099 mg.100 g⁻¹ a vepřových žebrech 0,068 mg.100 g⁻¹.

Matrici a kol. [25] hodnotili jakost bílého vína, kdy pomocí HPLC s fluorescenční detekcí byl zjišťován obsah vitamínu B₂. K analýze bylo použito 85 vzorku obchodních druhů bílých vín ze tří zemí (Itálie, Španělsko a Slovinsko), u kterých byl zjištěn průměrný obsah vitamínu B₂ 0,04191 mg.l⁻¹. Mobilní fáze se skládala z Na₂HPO₄:acetonitril s gradientovou elucí. Detekce vitamínu B₂ byla provedena při excitační vlnové délce 265 nm a emisní vlnové délce 525 nm.

Francouzští vědci [26] provedli studii zabývající se koncentrací a změnami vitamínu B₂ během výroby chleba z pšeničné mouky. Pro izolaci vitamínu B₂ ze vzorku byla použita enzymatická hydrolyza pomocí směsi enzymů: kyselá fosfatázy, papainu, α-amalýzy. Ke stanovení byla použita metoda HPLC s mobilní fází octan sodný:metanol (30:70). K detekci vitamínu B₂ byl použit fluorescenční detektor s nastavenými vlnovými délkami 422/522 nm. Zjištěné množství vitamínu B₂ ve vzorku bílé pšeničné mouky činilo 0,49 μg.g⁻¹, ve vzorku celozrnné mouky 0,80 μg.g⁻¹, v bílém chlebu 1,10 μg.g⁻¹ a v celozrnném chlebu 1,40 μg.g⁻¹.

Studie polských vědců [21] uvádí testování přítomnosti flavinových derivátů v droždí metodou HPLC s fluorescenční detekcí. Při izolaci flavinových derivátů byla využita extrakce pomocí metanol-dichlormetan (9:10), z důvodu zamezení hydrolyzy FMN a FAD působením kyselin a zásad. Přídavkem hydrogenuhličitanu amonného bylo upraveno pH roztoku vzorku. Mobilní fáze se skládala z metanol: hydrogenuhličitan amonný s gradientovou elucí. Detekce vitamínu B₂ byla při excitační vlnové délce 450 nm a emisní vlnové délce 530 nm. Analýza provedena u sedmi vzorků s nejméně čtyřmi opakováními udává celkový obsah flavinů v čerstvém droždí 17,9 µg.g⁻¹. FAD tvoří 71,5 % (12,8 µg.g⁻¹) z celkové obsahu flavinů v čerstvém droždí, 5'-FMN činí 25,7 % (4,6 µg.g⁻¹), 1,7% (0,3 µg.g⁻¹) zaujímá volný vitamin B₂ a nejmenší obsah 0,8 % (0,15 µg.g⁻¹) vykazuje 4',5'-FMN.

Studie [27] provedena italskými a španělskými vědci uvádí metodu HPLC/UV jako optimální pro stanovení vitamínu B₂, FMN a FAD ve víně, pivu a džusu. Vzorky jsou upraveny pouze filtrací přes mikrofiltry. K analýze je použit alikvotní podíl vzorku 20 µl. Zvolena mobilní fáze se skládala z Na₂HPO₄ : acetonitril s gradientovou elucí. Detekce vitamínu B₂ proběhla při excitační vlnové délce 265 nm a emisní vlnové délce 525 nm. Zjištěný obsah FAD ve vzorcích piva se pohyboval v rozmezí 19,3 – 65,2 µg.l⁻¹, FMN 8,1 µg.l⁻¹ a obsah vitamínu B₂ 169,0 – 507,9 µg.l⁻¹. V ovocných džusech činil obsah FAD 100,8 – 171,8 µg.l⁻¹, FMN 17,3 – 54,4 µg.l⁻¹ a vitamin B₂ 21,7 – 68,3 µg.l⁻¹. Ve vzorcích vína nebyly FAD a FMN detekovány. Zjištěn byl pouze obsah vitamínu B₂ 89,9 – 114,9 µg.l⁻¹.

Španělští vědci [28] zjišťovali změny koncentrace vitamínu B₂ během skladování v chladu ve vzorcích mléka a výrobcích nahrazující mléko. K extrakci vitamínu B₂ ze vzorku byl přidán octan olovnatý s následným okyselením ledovou kyselinou octovou. Odstředěný roztok vzorku byl použit k analýze metodou HPLC/UV. Zvolená mobilní fáze byla složena z kyseliny octové ve vodě:metanol (70:30). Detekce byla provedena při vlnové délce 270 nm. V kravském mléce byla zjištěna koncentrace vitamínu B₂ u pěti vzorků v rozmezí hodnot 1,19 – 1,31 µg. ml⁻¹. Ve dvou vzorcích mléčných výrobků byla naměřena koncentrace vitamínu B₂ 1,33 – 1,44 µg. ml⁻¹. Během skladování mléka po dobu pěti dnů v chladu došlo k nízkým změnám obsahu vitamínu B₂ a to z hodnoty 1,19 µg. ml⁻¹ na hodnotu 0,95 µg. ml⁻¹. Také u výrobků nahrazující mléko se obsah vitamínu B₂ změnil poměrně málo 1,33 – 1,11 µg. ml⁻¹.

Jakobsen [29] optimalizoval stanovení vitamínu B₂ v 16 vzorcích potravin pomocí směsi enzymů (α -amylázy, proteinázy a fosfatázy) používaných k uvolnění vitamínu B₂ z potravinářské matrice. Stanovení bylo provedeno za použití HPLC s fluorescenční detekcí při vlnových délkách 468/520 nm. Pro porovnání účinku směsi enzymů byl použit enzym takadiastasa, kdy byly připraveny dvě řady vzorků – 1. řada obsahující směs enzymů, 2. řada s enzymem takadiastasou. Pro extrakci vitamínu B₂, za použití směsi enzymů, byl vzorek upraven přidávkem HCl s následným upravením pH octanem sodným. Pro enzymatickou úpravu byla přidána směs enzymů s přidávkem glutathionu. Ze vzorku obsahující enzym takadiastasu byl vitamín B₂ extrahován za použití HCl a úpravou pH octanem sodným. Po přidávku takadiastasy byl vzorek inkubován 18 hod. při 45°C. Stanovené podmínky HPLC byly stejné u obou vzorků. Mobilní fáze se skládala z metanol:puf. Zjištěné hodnoty obsahu vitamínu B₂ v některých potravinách při použití směsi enzymů a enzymu takadiastasy uvádí tabulka 2. Z tabulky je patrné, že hodnoty obsahu vitamínu B₂ při použití takadiastasy a směsi enzymů jsou téměř shodné. Metody izolace pomocí směsi enzymů a takadiastasy jsou srovnatelné. Použití směsi enzymů zkracuje 18 hodinovou inkubaci na 1 hodinu při použití ultrazvukové lázně.

Tab. 2. Obsah vitamínu B₂ v některých potravinách [29]

Potravina	Takadiastasa	Směs enzymů
	Obsah vitamínu B ₂ [mg.100 g ⁻¹]	Obsah vitamínu B ₂ [mg.100 g ⁻¹]
Kojenecká výživa	0,74	0,69
Játrová paštika	1,14	1,08
Brokolice-lyofilizovaná	1,54	1,51
Sušené mléko	1,30	1,30
Sušené kvasnice	4,12	4,76
Vepřové maso	0,20	0,18

2 CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je separační metoda, při které dochází k oddělování – separaci složky obsažené ve vzorku. Jedná se o metodu kvalitativní a kvantitativní analýzy vzorku [30, 31].

Vzorek je vnášen mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze: [30].

1. stacionární fáze – nepohyblivá
2. mobilní fáze – pohyblivá

Vzorek je umístěn na začátek stacionární fáze. Pohybem mobilní fáze přes fázi stacionární je vzorek touto soustavou unášen. Složky vzorku mohou být stacionární fázi zachycovány, a proto se pohybují pomaleji. Složky, které jsou stacionární fázi poutány silněji se zdržují více. Tím se složky od sebe postupně separují a na konec stacionární fáze se dostávají složky, které jsou zadržovány méně [30, 31].

Chromatografické metody se dělí podle několika hledisek [30]:

- kapalinová chromatografie, kde mobilní fázi je kapalina
- plynová chromatografie, kde mobilní fázi je plyn
- kolonová chromatografie, kde stacionární fáze je uložena v koloně
- plošné techniky: 1. papírová chromatografie
2. tenkovrstvá chromatografie

Při separaci se uplatňuje několik fyzikálně – chemických dějů současně, podle převládajícího děje se chromatografie dělí na [30]:

- rozdělovací chromatografie, kde o separaci rozhoduje odlišná rozpustnost složek vzorku ve stacionární fázi (kapalina) a mobilní fáze (kapalina a plyn)
- adsorpční chromatografie, kde o separaci rozhoduje různá schopnost složek poutat se (adsorbovat) na povrch stacionární fáze (tuhá látka)
- iontově – výměnná chromatografie, kde o separaci rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze (iontoměnič) a ionty vzorku

- gelová chromatografie, kde se složky separují podle velikosti na pórovité stacionární fázi (gelu), menší molekuly vzorku se v pórech zdržují déle (molekulově síťový efekt)
- afinitní chromatografie, kde je stacionární fáze schopna vázat ze vzorku právě určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah (afinitu).

2.1 Kapalinová chromatografie

Separace složek vzorku v kapalinové chromatografii záleží nejen na základě jejich interakce se stacionární fází, ale také na použité mobilní fázi. Mobilní fází v kapalinové chromatografii je kapalina. Během separace se vzorek – analyt rozděluje mezi mobilní a stacionární fázi. V závislosti na afinitě vzorku – analytu, k jedné nebo druhé fázi, stráví analyt v mobilní nebo stacionární fázi určitý čas. Během separace jsou využity různé mechanismy jako: adsorpce, rozdělování na základě různé rozpustnosti, iontová výměna, molekulově síťový efekt nebo specifické interakce v afinitní chromatografii [30].

Kapalinová chromatografie se podle uspořádání stacionární fáze dělí na: kolonovou a tenkovrstevnou papírovou kapalinovou chromatografii. Kapalinová chromatografie se využívá také pro separaci tepelně nestálých a netěkavých sloučenin [30].

2.1.1 Klasická kapalinová chromatografie

V klasické kapalinové chromatografii je naplněna skleněná trubice délky cca 0,5 m a průměru cca 2 cm. Skleněná trubice je zakončena fritou, kohoutem a zrnitým sorbentem s velkým průměrem částic (např. Al_2O_3). Na horní vrstvu náplně, ve skleněné trubici, je nadávkováno malé množství vzorku s následným přídatkem mobilní fáze – kapalina. Na mobilní fázi působí gravitační síla, pomocí které mobilní fáze postupuje kolonou. Složky vzorku jsou od sebe separovány a v různých časech opouštějí spodní část kolony [30].

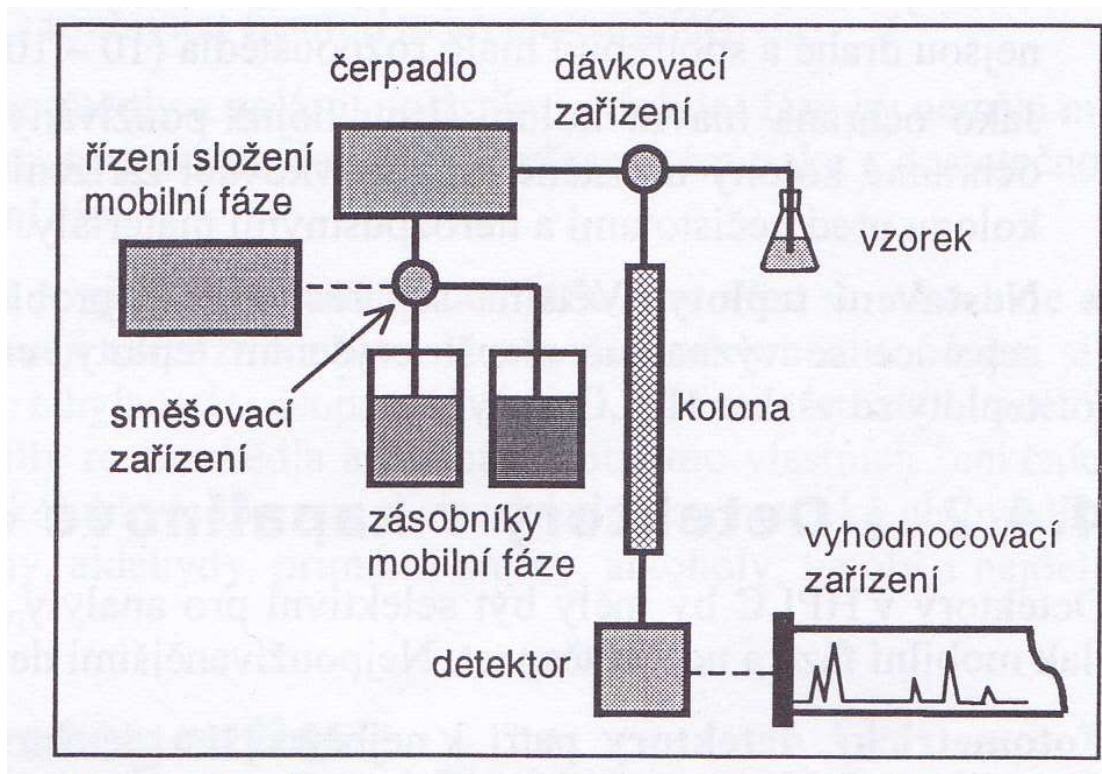
Klasická kapalinová chromatografie nemá potřebnou účinnost, proto byla zavedena vysoce účinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography – HPLC) [30].

2.1.2 Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC)

HPLC se vytvořila v počátcích 70. let. Vysokých účinností HPLC je dosahováno použitím stacionárních fází, které obsahují malé částice pravidelného tvaru a jednotné velikosti. Tyto částice homogenně vyplňují kolonu HPLC, tím se dosahuje účinnosti řádově desítek tisíc pater na metr délky kolony. Průtok mobilní fáze je zajištěn vysokým tlakem (jednotky až desítky MPa), proto je také HPLC někdy nazývána jako vysokotlaká kapalinová chromatografie (High – Pressure Liquid Chromatography). K analýze jsou dávkovány malé množství vzorku (μl). K detekci je nutné použít citlivé detektory, které umožňují kontinuální monitorování látek na výstupu z kolony. Signál vycházející z detektoru je zpracován počítačem. Z uvedených kroků je patrné, že HPLC vyžaduje náročnou instrumentaci [32].

HPLC je nejvíce používanou a rozšířenou analytickou metodou. Slouží k separaci a analýze chemických směsí. V porovnání s dalšími separačními metodami je HPLC významná díky vlastnostem, mezi které patří: [22, 30, 32, 33]

- téměř univerzální použitelnost, lze analyzovat ionty, látky polární i nepolární, tepelně nestabilní i vysokomolekulární (některé vzorky jsou vyloučeny z použití HPLC, lze analyzovat až 80 % veškerých známých látek)
- mimořádná přesnost analýzy ($\pm 0,5 \%$)
- dostupnost široké škály zařízení, kolon a jiných materiálů umožňující použití HPLC pro téměř každou analýzu
- mnoho laboratoří, které se zabývají analýzou chemických směsí jsou vybaveny HPLC, které je používáno jako první technika pro analýzu a separaci
- separace směsí probíhá pomocí HPLC v krátkém čase
- pracuje za vysokého tlaku
- využívá malých zrníček sorbentu, které kladou prostupující kapalině značný odpor
- možnost ovlivnit separaci složením mobilní fáze.



Obr. 3. Schéma HPLC [30]

2.1.2.1 Složení HPLC

HPLC se skládá z částí, které zajišťují transport mobilní fáze, separaci látek a jejich detekci. Schéma HPLC je uvedeno na obrázku 3 [30, 34].

Ze zásobníku mobilní fáze je přiváděna mobilní fáze k odplynění, které se provádí pomocí podtlaku, ultrazvuku, probublávání heliem, popř. kombinací těchto postupů. Odplynění je důležité proto, aby se v detektoru v důsledku velkého tlakového spádu v systému nevytvořily bubliny. Odplyněná mobilní fáze jde přes filtr do čerpadla, poté do dávkovacího zařízení. Dávkované vzorky jdou do kolony, oddělené složky vzorku jsou zachyceny v detektoru, jejichž signál zapsán ve vyhodnocovacím zařízení [32].

Separace závisí na vlastnostech analyzovaných látek, jejich interakci s mobilní a stacionární fází, na typu a vlastnostech stacionární fáze, na složení mobilní fáze, na geometrických parametrech kolony, dávkovacího zařízení detektoru a spojovacích cest, na průtoku a pracovní teplotě [32].

Zásobníky mobilní fáze

Při izokratické eluci je vedena mobilní fáze z jednoho zásobníku, při eluci gradientové je mobilní fáze čerpána ze dvou i více zásobníků. Zásobníky mobilní fáze jsou skleněné nebo nerezové nádoby [34].

Mobilní fáze v HPLC není inertní a významně se podílí na separačním procesu. Možnosti změny mobilní fáze jsou prakticky neomezené. Složení mobilní fáze je ovlivňováno změnami složení rozpouštědla, pH, iontové síly, iontově párovými činidly atd. Vlastnosti mobilní fáze jsou důležité jak pro separaci tak i pro detekci. Mobilní fáze by měla dávat v detektoru minimální signál, a tím umožňovat co nejcitlivější detekci eluátů. Viskozita, stlačitelnost, toxicita a hrana absorpce UV by měly být co nejnižší [32].

Mobilní fáze je charakterizována polaritou a selektivitou. Polarita je schopnost rozpouštědla podílet se na polárních interakcích. Selektivita je charakterizována jako relativní retenční doby dvou sousedních látek [32].

Čerpadlo

Čerpadlo zajišťuje průtok mobilní fáze v rozmezí μl po desítky mililitrů za minutu s méně než 1 % kolísáním průtoku při tlaku až 35 MPa. Průtok mobilní fáze nesmí být závislý na protitlaku, i tehdy, pokud dochází ke změně složení mobilní fáze z důvodu gradientové eluce [22, 30].

Vysokotlaká čerpadla se dělí do dvou hlavních skupin, které jsou rozlišeny podle konstantního tlaku nebo konstantního objemového průtoku. Tyto čerpadla pracují tak, že ze zásobníku je vytlačují pístem nebo membránou mobilní fázi. Z toho plyne, že se čerpadla dělí na pístová a membránová. Hlavní rozdíl mezi těmito čerpadly je, že čerpadla pracující s konstantním tlakem používají tlaku plynu přiváděného z tlakové nádoby přes redukční ventil. Druhým typ čerpadla využívá k pohybu pístu či membrány mechanického pohonu, tím se dosahuje konstantního tlaku objemového průtoku čerpané kapaliny [34].

Z praktického hlediska se čerpadla dále dělí na pulsní a bezpulsní. Pulsní čerpadla mají objem pracovní komory malý a k dosažení průtoků je zapotřebí mnohonásobné opakování stlačení a vypuzení mobilní fáze z pracovní komory čerpadla. Bezpulsní čerpadla pracují s větším objemem pracovní komory, což umožňuje provést řadu analýz bez opětovného naplnění čerpadla. Bezpulsní čerpadla oproti čerpadlům pulsním zajišťují hladší průtok mobilní fáze [34].

Čerpadla musí být vyrobena z materiálu, který neovlivňuje složení mobilní fáze [30].

Směšovací zařízení

Naprogramované směšovací zařízení s využitím zásobníků různých kapalin připravuje směs mobilní fáze stálého složení (izokratická eluce) nebo řídí změny složení mobilní fáze (gradientová eluce) v průběhu separace. Gradientová eluce je využívána častěji oproti eluci izokratické. Gradientová eluce se využívá k dělení směsi, jejichž komponenty jsou charakterizovány velkým rozsahem retenčních konstant. Při izokratické eluci lze eluovat všechny složky vzorku v přijatelném čase, ale málo zadržované látky se vzájemně buď neoddelí nebo se oddělí špatně. Při použití mobilní fáze která zajišťuje dobré rozdělení málo zadržovaných látek, jsou naopak silně zadržované látky eluovány velmi pozdě ve formě širokých elučních vln (píků) a za určitých podmínek může být jejich koncentrace v eluátu snížena tak, že je nelze detekovat. Z tohoto důvodu se využívá gradientová eluce, která zvyšuje eluční sílu mobilní fáze s časem, čímž dochází k zúžení chromatografických píků, zvýšení citlivosti detekce a k podstatnému zkrácení doby analýzy ve srovnání s izokratickou elucí [30, 34, 35].

Nejčastěji používaným směšovacím zařízením je vysokotlaké směšovací zařízení, které spočívá v tom, že mobilní fáze umístěné v zásobnících jsou čerpány dvěma vysokotlakými čerpadly do směšovací komůrky malého vnitřního objemu, odkud jsou vedeny v jednom proudu do kolony. Průtoky obou čerpadel řízeny pomocí programovací jednotky nastavené podle zvoleného programu [34].

Dávkovací zařízení

Vzorek je dávkován do kolony pomocí: injekční stříkačky, dávkovacího kohoutu nebo dávkovací smyčky. V současné době je k dávkování vzorku využíván dávkovací ventil se smyčkou. Dávkovací smyčka má objem 10 – 20 μl . Nejčastěji se používají šesticestné ventily s vyměnitelnou smyčkou, která se plní injekční stříkačkou [30, 32, 34].

Kolony

V HPLC jsou používány pouze náplňové kolony. Pro většinu analýz jsou kolony vyrobeny z nerezové oceli. Charakteristický je válcový tvar, který je naplněn malými částicemi. Částice uvnitř kolony (stacionární fáze) tvoří ve většině případů porézní oxid křemičitý. Vnitřní část každé částice je pokryta stacionární fází. Mobilní fáze obklopuje každou částici při jejím průtoku kolonou. Molekuly vzorku mohou vstoupit póry do částic stacionární

fáze procesem difúze. Vzorek umístěný v koloně je unášen proudící mobilní fází v postupných fázích, v různých časech opouští kolonu a poskytuje odezvu detektoru [30, 33].

Rozhodující vliv při separaci má velikost a uspořádání částic stacionární fáze. Čím je velikost částic menší tím je separace účinnější. Běžně se používají částice velikosti 5 – 10 μm , v současnosti jsou dostupné komerční náplně s velikostí částí 2 μm a menšími. Separace je účinnější je-li tvar částic pravidelný (kulový), částice mají jednotnou velikost a kolona je částicemi homogenně naplněna [32].

Vnitřní průměr kolony může být 4,6 nebo 5 mm. Běžný průtok eluentu je v rozmezí 1 až 2 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. K ochraně kolon se využívají předkolony umístěné mezi čerpadlem a dávkovacím zařízením nebo ochranné kolony umístěné mezi dávkovacím zařízením a analytickou kolonou [30].

Detektory

Detektory slouží k identifikaci látek vycházejících z chromatografické kolony. Detektor sleduje pomocí snímače některou z vlastností eluátu. Signál vycházející z detektoru je po zesílení v zesilovači přiváděn do vyhodnocovacího zařízení, které poskytuje záznam intenzity daného signálu v závislosti na čase. Detektory používané v HPLC by měly být selektivní pro analyty a málo citlivé na mobilní fázi [30, 34].

Mezi nejpoužívanější detektory patří:

Fotometrický detektor – patří k nejpoužívanějším detektorům v HPLC. Jsou poměrně jednoduché, provozně spolehlivé, lze jimi detekovat velký počet látek a jsou kompatibilní s gradientovou elucí. Fotometrický detektor je založen na měření absorbance eluátu vycházejícího z kolony. Citlivost detektoru ovlivňuje absorpční dráha průtočné kyvety, kterou prochází paprsek. Nejjednodušší detektory měří při jedné vlnové délce v ultrafialové oblasti, detektory složitější jsou schopny pomocí diodového pole změřit absorpční spektrum v určené oblasti vlnových délek a uložit ho do paměti. Detekční limit je $10^{-10} \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Citlivost detektoru je pro různé látky jiná a při zvolené vlnové délce závisí na velikosti molárního absorpčního koeficientu [30, 32].

Refraktometrický detektor – patří mezi univerzální detektory. Refraktometrický detektor slouží k měření rozdílů mezi indexem lomu eluátu a čisté mobilní fáze. Jestliže eluát obsahuje složku vytvoří se výchylka. Detektor je tím citlivější, čím je větší rozdíl mezi indexem

lomu eluátu a indexem lomu mobilní fáze. Z toho vyplývá, že refraktometrický detektor nelze použít při gradientové eluci. Refraktometrický detektor není příliš citlivý, ale jeho výhodou je univerzálnost. Během používání toho detektoru je důležité zajistit konstantní teplotu. Z tohoto důvodu jsou měřicí cely refraktometru umístěny do masivního kovového bloku s velkou tepelnou kapacitou a jsou opatřeny dokonalým termostatem. Mezi refraktometrický detektor patří: Fresnelův typ refraktometru a Výchylkový refraktometr [30, 32, 34].

Fluorescenční detektor – je selektivní pro látky, které mají přirozenou fluorescenci nebo je lze na fluoreskující deriváty převést. Je velmi citlivý, zhruba o tři řády citlivější než UV spektrofotometrický detektor. Fluorescenční detektor je založený na principu fluorescence, což je schopnost látek absorbovat ultrafialové záření s následným vysláním záření o vyšší vlnové délce, která se měří fotonásobičem kolmo na směr vstupujícího záření. Detekční limit fluorescenčního detektoru je 10^{-12} g.ml⁻¹. Tento detektor je možné použít v kombinaci s fotometrickým detektorem [30, 32].

Elektrochemický detektor – patří mezi selektivní detektory. Je založen buď na měření vodivosti (pro látky iontové) nebo elektrického proudu odpovídajícího oxidaci či redukci analytů. Je také velmi citlivý, zejména v oxidačním modu. Využívá se při analýze aromatických aminů a fenolů v enviromentálních a biologických vzorcích [32].

Hmotnostní spektrometr – výhodou tohoto detektoru je, že v mnoha případech poskytuje absolutní identifikaci analytu. Umožňuje nejen informace o struktuře molekuly analytu na základě analýzy, ale stanovuje také molekulovou hmotnost analytu [36].

3 CEREÁLIE

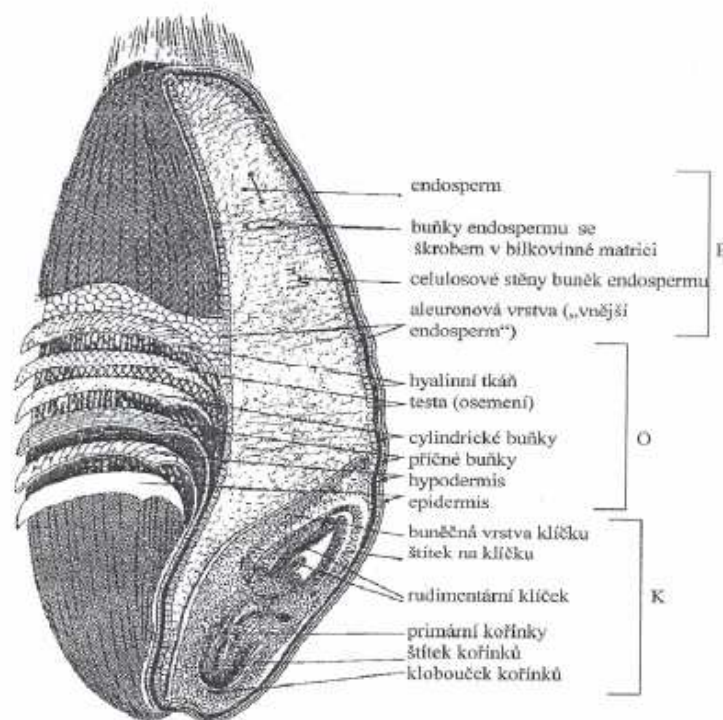
Cereálie (obiloviny) jsou strategicky a historicky nejvýznamnější plodinou. Prvním pokrmem z obilovin byl rozmělněný šrot, polévka, kaše a později i kynutý chléb. Archeologické výzkumy dokládají, že již v dobách neolitu, kdy člověk poznal jejich nenahraditelnost, je začal pěstovat. Další zmínky o pěstování obilovin (cereálií) pocházejí z období vlády faraónů v Egyptě, ze staré Babylónie a staré Číny. Do Evropy se hlavní obiloviny (pšenice, žito, ječmen) dostaly z oblasti jihovýchodní Asie a Středomoří. Žito a oves byly původně plevely a až později z nich byly vypěstovány kulturní a užitkové rostliny. V současnosti se obiloviny pěstují po celém světě, pokud jsou k tomu příznivé podmínky [37, 38].

Obiloviny patří botanicky mezi trávy – *Gramineae*. Většina známých obilovin patří do čeledi lipnicovité – *Poaceae*. Společný botanický původ obilovin z čeledi lipnicovité předurčuje jejich vzájemnou podobnost jak v tvorbě a struktuře zrna, tak i v jeho chemickém složení, jako např. v uspořádání obalových a podobalových vrstev zrna, nebo v zastoupení jednotlivých aminokyselin v obilné bílkovině nebo mastných kyselin v tukových složkách. Vlivem různých klimatických podmínek a během staletí pěstování a šlechtění se, ale současně vytvořily odlišnosti mezi jednotlivými botanickými rody a druhy obilovin i mezi jednotlivými odrůdami téhož druhu [37, 39].

Z celkové produkce obilovin připadá 29 % na pšenici, 27 % na rýži, 25 % na kukuřici, 10 % na ječmen, 2 % na oves, žito a ostatní obiloviny. Největší podíl pro lidské využití náleží rýži (asi 80 %), která je základní potravinou pro více než polovinu světové populace, dále následuje pšenice (66 %) a žito (33 %) [38].

V ČR jsou obiloviny nejdůležitější zemědělskou plodinou. Využívají se jako základní surovina pro řadu potravinářských výrob, pro krmivářský průmysl i průmyslovou výrobu. Jako potravinu pokrývají obiloviny v ČR v průměru 35 % energetické hodnoty, zajišťují 30 % konzumovaných bílkovin, 56 % sacharidů a 10 % tuků [37, 38].

Obiloviny ovlivňují výživovou bilanci světové populace ve všech světadílech. Podle údajů FAO dodávají obiloviny populaci téměř 1/2 energetické hodnoty ve stravě a 1/2 konzumovaných bílkovin. Z obilovin se pro lidskou výživu využívá zrno, jehož struktura je uvedena na obrázku 4 [37].



Obr. 4. Struktura obilného zrna [41]

Obilné zrna se skládá z:

- klíčku, který tvoří nejmenší část zrna (3%). Je zárodkem nové rostliny a nositelem genetických informací. Obsahuje tuk, jednoduché cukry, bílkoviny, enzymy a vitaminy (vit. E a skupiny B). Významný je štítek, který obsahuje až 33 % bílkovin.
- endospermu, který je vnitřní částí tvořící největší podíl zrna (82-86%). Z celého zrna je technologicky nejvýznamnější částí. Je tvořen velkými hranolovitými buňkami. Obsahuje hlavně škrob a také bílkoviny, které jsou významné pro pekárenskou technologii. Endosperm obsahuje zásobní látky (škrob, bílkoviny) pro klíčící rostlinu.
- obalových vrstev, které se skládají z oplodí a osemení a tvoří 8 – 12,5 % hmotnosti zrna. Nejvrchnější vrstvy (oplodí) pokožky chrání zrna před mechanickým poškozením, krátkodobými účinky vody a škodlivých látek. Jsou tvořeny nerozpustnými a obtížně bobtnajícími látkami jako je např. celuloza. Osemení tvoří další podpovrchovou vrstvu, která nese v buňkách barviva a určuje tak vnější barvený vzhled zrna.

- aleuronové vrstvy, nacházející se na rozhraní mezi obalovými vrstvami a endospermem, která je měkčí jednoduchá vrstva velkých buněk. Buňky aleuronové vrstvy mají vysoký obsah bílkovin (až 30 %) [37, 38, 39].

Chemické složení obilného zrna kolísá podle oblastí, provenience, odrůdy, hnojení, agrotechniky, doby setí klimatických podmínek a celé řady činitelů [37].

Chemické složení anatomických částí zrna uvádí tabulka 3.

Tab. 3. Chemické složení anatomických částí zrna v % sušiny [37]

Složka	Popel	Bílkoviny	Tuky	Celková vláknina	Pentosany	Škrob
Oploďí a osemení	3,4	6,9	0,8	50,9	46,6	-
Aleuronová vrstva	10,9	31,7	9,1	11,9	28,3	-
Klíček	5,8	34,0	27,6	2,4	-	-
Endosperm	0,6	12,6	1,6	0,6	3,3	80,4

Sacharidy se nachází v obilném zrna ve formě jednoduchých cukrů, ale i vysokomolekulárních sacharidů. Volné monosacharidy se nachází ve zralých obilných zrnech v nepatrném množství. Do mouky se jich dostává 1 – 3 % na mouku. Jedná se o pentosy a hexosy. Pentosy (arabiosa, xylosa) se nacházejí v obalových vrstvách a buněčných stěnách endospermu. Z hexos jsou přítomny glukosa a fruktosa [37, 38, 39].

Mezi oligosacharidy, vyskytují v nízkých koncentracích, patří sacharosa (0,6 % v klíčku), maltosa (0,2 – 2 % v zrně) a rafinosa (nacházející se v klíčku) [37].

Polysacharidy jsou s bílkoviny z technologického hlediska nejvýznamnější skupinou. Z polysacharidů je nejdůležitější složkou škrob, na jehož stavu a aktivitě amyláz závisí jakost chleba a pečiva, zejména konzistence střídy a barva kůrky. Jeho obsah činí přibližně 60 – 75 % sušiny obilky. V mouce, která je tvořena převážně endospermem, je obsah škrobu vyšší přibližně 75 – 80 % sušiny [37, 38, 39].

Mezi další polysacharidy nacházející se v obalových vrstvách a buněčných stěnách patří hemicelulózy a celulóza [37].

Neškrobové polysacharidy jsou označovány jako pentosany, které se dále dělí na rozpustné a nerozpustné. Tyto látky jsou extrémně hydrofilní a vážou velké množství vody v těstě. Tato voda se v peci uvolní, zůstává ve střídě a je použita pro mazovatění škrobu a bobtnání nerozpustných pentosanů pro vyváření gelovité struktury střídy chleba [37, 38].

Bílkoviny jsou obsaženy ve zralém zrně v rozmezí 9 – 16 %. Většina bílkovin se nachází v endospermu a aleuronové vrstvě. Základní stavební složkou jsou aminokyseliny. Dominantní aminokyselinou v obilovinách je kyselina glutamová, která je přítomna ve formě svého aminu – glutaminu. Druhou nejvíce zastoupenou aminokyselinou je prolin, který díky svému strukturnímu uspořádání dává předpoklady k vytvoření pružné prostorové bílkovinné struktury pšeničného těsta. Nejméně jsou zastoupeny aminokyseliny lysin, treonin a tryptofan [37, 38, 39].

Bílkoviny se dělí podle jejich funkčních vlastností na protoplasmatické a zásobní [37].

Protoplasmatické bílkoviny nacházející se hlavně v klíčku a aleuronové vrstvě jsou tvořeny albuminy a globuliny [37].

Zásobní bílkoviny určují technologickou, nutriční, krmnou a biologickou hodnotu zrna. Mezi tyto bílkoviny, které tvoří podstatnou část zrna, patří frakce prolaminová (gliadin v pšenici, hordein v ječmeni, avenin v ovsu a zein v kukuřici) a frakce glutelinová [37, 39].

Největší význam mají bílkoviny pšenice, které se liší od ostatních rostlinných bílkovin svou schopností tvorby lepku, pružného gelu. Lepek tvoří bílkoviny nerozpustné ve vodě, gliadin a glutenin. Gliadin je nositelem tažnosti a glutenin pružnosti a bobtnavosti lepku. Při hnětení pšeničné mouky s vodou dochází ke vzniku lepku, který vytváří vlastní kostru těsta. Konzistence lepku je dána trojrozměrnou sítí peptidových řetězců, různým způsobem zřasených a propojených navzájem různými můstky a vazbami, kde určitý význam má i vrstvička lipidů [37, 38, 39].

Lipidy jsou zastoupeny v malém množství (1,5 – 2,5 %). Nejvíce tuků se nachází v klíčku a aleuronové vrstvě. Podíl lipidů obsažených v klíčku je přibližně 64 %. Z mastných kyselin obsažených v lipidech převládá kyselina linolová (50 – 59%). Kyselina linolová snadno podléhá oxidaci, což má za následek žluknutí mouky při delším skladování [37, 38, 39].

Z dalších lipidů jsou zastoupeny fosfolipidy (15-26%) a lipofilní barviva, mezi které patří karotenoidy, žlutá a oranžová barviva [37].

Minerální látky se nachází v obilném zrně v rozmezí 1,5 – 2,5 %. Největší množství minerálních látek se nachází v obalových vrstvách a klíčku a jsou tvořeny zejména oxidem fosforečným, nejhojnějšími kovy jsou hořčík, vápník a železo. Obsah minerálních látek v mouce vzrůstá se stupněm vymletí a je základem pro klasifikaci mouk [37, 40].

Vitaminy se vyskytují zejména v klíčku a obalových vrstvách. Oproti tomu endosperm je na vitaminy chudý. Obiloviny jsou zdrojem zejména vitamínu skupiny B. Thiamin a riboflavin se vyskytují zejména v obalových vrstvách většiny obilovin a v klíčcích. Niacin je ve vyšším množství přítomen v zrně pšenice a ječmene. Kyselina pantotenová je obsažena v okrajových částech zrna. Rozložení vitamínu skupiny B v jednotlivých částech zrna uvádí tabulka 4 [37, 38, 39].

Tab. 4. Rozložení vitaminů skupiny B v pšeničném zrně v % celkového obsahu [40]

Část zrna	Thiamin	Riboflavin	Niacin	Kyselina pantotenová
Obalové vrstvy	1	5	4	6
Aleuronová vrstva	31	37	84	39
Klíček	2	12	1	3,5
Štítek	62,5	14	1	4
Endosperm	3	32	11,5	41

Z lipofilních vitaminů se vyskytuje v klíčku ve vysokých koncentracích vitamin E ($158,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), který se používá pro výrobu vitaminových preparátů ve farmaceutickém průmyslu [39, 40].

3.1 Celozrnné produkty

Univerzální pojem celozrnný doposud nebyl přijat. Definice formulovaná podle American Association of Cereal Chemists považuje za celozrnný takový produkt, který by měl obsahovat intaktní, drcenou nebo vločkovanou obilku. Základem obilky by měl být škrobový endosperm, klíčky a otruby v relativním množství jako v původní obilce. Tento pojem je však pro spotřebitele špatně srozumitelný. Odpovědné instituce zpracovávají a předkládají veřejnosti k posouzení návrhy na aktualizaci současné podoby definice pojmu celozrnný [42].

Několik epidemiologických studií definovalo celozrnné výrobky jako výrobky, které obsahují $\geq 25\%$ celozrnného obsahu nebo otrub. Food and Drug Administration (FDA) v USA požaduje, aby celozrnné potraviny obsahovaly $> 51\%$ celozrnného obsahu nebo otrub za účelem získat zdraví prospěšné účinky těchto potravin [43].

Celozrnné produkty jsou významným zdrojem vitamínů, minerálních látek, vlákniny, sacharidů, fytoestrogenů, antioxidantů a dalších důležitých látek. Mezi celozrnné produkty, které jsou běžně konzumované patří celozrnný chléb, celozrnné pečivo, celozrnné snídaně a těstoviny. Příjem celozrnných produktů je spojen s nižším rizikem diabetu II. typu a ischemickou chorobou srdeční. [43, 44, 45].

Procesem mletí nebo rafinace jsou odděleny vnější vrstvy a klíček od škrobového endospermu což vede u běžné bílé mouky ke ztrátě výživných látek a vlákniny. Z tohoto důvodu jsou běžné produkty obilovin a pseudocereálií oproti celozrnným produktům výživově horším zdrojem, protože obsahují menší množství vlákniny, vitamínů, minerálních látek, fenolů, fytoestrogenů a nenasycených mastných kyselin [43].

3.2 Celozrnná mouka

Celozrnná mouka je základní surovinou pro výrobu celozrnných produktů. Celozrnné mouky se vyrábějí mletím celých zrn obilí, včetně obalů. Strukturu obilného zrna uvádí obrázek 4 [37, 41].

Zpracování obilných výrobků záleží na stupni vymletí. Běžné bílé mouky jsou méně vymleté, stupeň vymletí je 75 % a méně. Pokud je stupeň vymletí vyšší než 80 % bude mouka obsahovat otruby. Při stupni vymletí 100 % je získána mouka celozrnná. Čím vyšší je stupeň vymletí, tím větší je podíl obalových částic, které se do mouky dostanou. Zachování

obalových vrstev a klíčku při mletí celozrnných mouk se získá mouka bohatá na bílkoviny, tuky, vitaminy skupiny B a minerální látky. Koncentrace jednotlivých látek v moukách podle stupně vymílání uvádí Tab. 5. Stupeň vymílání nemá zásadní vliv na obsah bílkovin. Oproti tomu u vitamínu skupiny B má stupeň vymílání zásadní vliv na obsah těchto vitamínů ve výsledné mouce. Vyšší stupeň vymílání má za následek vyšší obsah vitamínu skupiny B a také minerálních látek v mouce [37, 41, 46, 47].

Celozrnná mouka má zdravotní přínos při snižování rizika chronických onemocnění [48].

Tab. 5. Chemické složení pšeničné mouky v závislosti na stupni vymílání [46]

Složka	Stupeň vymílání mouky [%]						
	100	95	91	87	80	75	66
Sacharidy [%]	69,9	73,2	75,3	77,2	80,8	82,9	84,0
Bílkoviny [%]	14,2	13,9	13,8	13,8	13,4	13,5	12,7
Tuky [%]	2,7	2,4	2,3	2,0	1,6	1,4	1,1
Vláknina [%]	12,1	9,4	7,9	5,5	3,0	2,8	2,8
Energie [kJ.g ⁻¹]	18,5	18,5	18,5	18,5	18,5	18,4	18,3
Thiamin [μg.g ⁻¹]	5,8	5,4	-	4,8	3,4	2,2	1,4
Riboflavin [μg.g ⁻¹]	0,95	0,79	-	0,69	0,46	0,39	0,37
Niacin [μg.g ⁻¹]	25,2	19,3	-	10,1	5,9	5,2	3,4
Pyridoxin [μg.g ⁻¹]	7,5	6,6	-	3,4	1,7	1,4	1,3
Biotin [μg.g ⁻¹]	116	108	-	106	76	46	25
Kys. listová [μg.g ⁻¹]	0,57	0,53	-	0,45	0,11	0,11	0,06

3.3 Vliv celozrnných produktů na zdraví člověka

Celozrnné pečivo v porovnání s běžným bílým pečivem nemá pouze nízký obsah energie, ale dvojnásobný až trojnásobný obsah vlákniny. Celozrnné pečivo obsahuje vlákninu v množství 8,5 g.100 g⁻¹. V porovnání s celozrnným pečivem obsahuje běžné bílé pečivo

pouze 3 g vlákniny na 100 g. Vlákna má příznivý vliv na motilitu střev, obezitu, navození mikrobiální rovnováhy, snížení cholesterolu v krvi, regulaci zažívání a urychlení průchodu trávené potravin střevem [37, 43, 49, 50].

Epidemiologické studie [49] uvádí, že pravidelná konzumace celozrnného pečiva má příznivý vliv na nižší výskyt chronických onemocnění jako jsou: kardiovaskulární onemocnění, diabetes II. typu a rakovina.

Prospektivní studie [48] v USA a Norsku potvrdily, že riziko ischemické srdeční choroby a diabetu je sníženo o 30 – 40 % u mužů a žen, kteří obvykle konzumují konzumují celozrnné produkty.

Albertsem a kol. provedli studii [51] u 1 429 osob, které měly jeden nebo více adenomů tlustého střeva, který byl odstraněn tři měsíce před zařazením do studie. Pacienti byli rozděleni do dvou skupin, kdy první skupina dostávala vlákninu v dávce 13,5 mg denně a druhá skupina dostávala 2 g vlákniny denně. Cílem studie bylo zjistit přítomnost či nepřítomnost nových adenomů pomocí kolonoskopie., která byla provedena 34 měsíců po podávání vlákniny. V první skupině byl zjištěn jeden adenom v 47 % případech a v druhé skupině v 51,2 % případech. Z výsledků studie tedy vyplývá, že přídavek vlákniny nemá ochranný účinek na opakování adenomů tlustého střeva.

Rozsáhlá studie [52] provedena americkými vědci u 34 000 žen ve věku 55 – 69 let, uvádí, že ženy, které snědly denně jednu porci celozrnných produktů, byly méně ohroženy úmrtím na srdeční choroby než ženy, které celozrnné výrobky nekonzumovaly vůbec.

Intervenční studie [45] uvádí příznivý vliv celozrnných pšeničných produktů na celkový cholesterol a LDL. Hlavním zjištěním této studie bylo, že příjem celozrnných pšeničných produktů v porovnání s příjmem běžných pšeničných produktů je schopen snížit hladinu cholesterolu v plazmě. Po třítydenní studii bylo zjištěno, že při příjmu celozrnných pšeničných produktů došlo ke snížení koncentrace LDL v rozmezí 4,3 – 5 %. Příjem celozrnných pšeničných produktů neměl vliv na hladinu HDL a triglyceridů.

Celozrnné pečivo patří mezi potraviny se středním glykemickým indexem, jeho hodnota se pohybuje pod 70. Potraviny se středním glykemickým indexem jsou pomaleji tráveny a vstřebávány. Postupně uvolňují cukr do krve. Hodnota glykemického indexu běžného bílého pečiva je vyšší než 70, tudíž běžné bílé pečivo patří mezi potraviny s vysokým glykemickým indexem [53].

Jenkins a kol. [54] zjistili, že příjem celozrnného chleba v porovnání s běžným bílým chlebem zpomaluje trávení a absorpci sacharidů a tím snižuje hladinu glukosy v krvi po jídle, protože je pomaleji tráven než běžný bílý chleba.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

4.1 Vzorky celozrnných produktů

Tab. 6. Vzorky celozrnných mouk

	Výrobce	Doba spotřeby
Celozrnná mouka žitná	Natural, Jihlava	1/2011
Celozrnná mouka špaldová hladká	Natural, Jihlava	12/2010
Celozrnná mouka špaldová hrubá	Natural, Jihlava	2/2011
Celozrnná mouka pšeničná	Natural, Jihlava	12/2010

Tab. 7. Vzorky celozrnného chleba a pečiva

	Výrobce	Doba spotřeby
Chléb celozrnný	Vita Star, SRN	9/2010
Chléb toastový celozrnný	Pekařství Svoboda – Březík, Zlín	9/2010
Grahamový rohlík	Pekařství Boner, Zlín	9/2010
Grahamový rohlík	Billa, Zlín	9/2010
Grahamový rohlík	Kaufland, Zlín	9/2010
Grahamový rohlík	Pekařství Svoboda – Březík, Zlín	9/2010
Grahamová veka	Pekařství Svoboda – Březík, Zlín	9/2010
Grahamová bulka se sýrem	Pekařství Svoboda – Březík, Zlín	9/2010

Tab. 8. Vzorok celozrnných těstovin

	Výrobce	Doba spotřeby
Pšeničné celozrnné vlasové nudle	PRO – BIO, Staré Město	3/2011
Grahamové těstoviny	MPC Cesii, Spišská Nová Ves, SR	1/2011
Špaldové celozrnné dlouhé nudle	PRO – BIO, Staré Město	12/2011

Tab. 9. Vzorok celozrnných sušenek, lupínků a chlebíčků

	Výrobce	Doba spotřeby
Celozrnné sušenky Špaldové	Natural, Jihlava	3/2011
Celozrnné sušenky Grahamky	Natural, Jihlava	3/2011
Celozrnné sušenky Zázvorky	Natural, Jihlava	5/2011
Bio celozrnné sušenky Melasky	Bio Nebio, Březová	6/2011
Dobrá vláknina	Bona Vita, Strančice	8/2011
Miss Fit lupínky	Emco, Praha	5/2011
Ovesné polštářky	Emco, Praha	6/2011
Cini Minis	Nestlé, Praha	6/2011
Fitness lupínky	Nestlé, Praha	7/2011
Špaldový křehký chlebíček	PRO – BIO, Staré Město pod Sněž- níkem	6/2011
Celozrnný křupavý chlebíček	Burger, Burg, Německo	8/2011

4.2 Seznam chemikálií

Tab. 10. Seznam použitých chemikálií

Použitá chemikálie	Výrobce
Octan sodný trihydrát	Lachema, Brno
Kyselina mravenčí 85 % p.a.	Penta, Chrudim
Kyselina chlorovodíková 37 % p.a.	Petr Lukeš, Uherský Brod
Kyselina trichloroctová	Penta, Chrudim
Standard riboflavinu	Supleco – Harrison, USA
Síran zinečnatý heptahydrát p.a.	Lach – Ner s.r.o., Neratovice
Hexakynoželeznatan tetradraselný trihydrát p.a.	Lach – Ner s.r.o., Neratovice
Metanol pro HPLC	Petr Lukeš, Uherský Brod
Redestilovaná voda	

4.3 Seznam přístrojů

Tab. 11. Seznam použitých pomůcek a přístrojů

Pomůcky/přístroj	Výrobce
Laboratorní sklo	
Temperovaná vodní lázeň	Memmert, SRN
Analytické váhy	Adam Equipment, UK, AFA – 210 LC
Filtrační papíry KA4	Fischer Scientific, USA
Mikrofiltry 0,45 μm	Supleco, USA
Dávkovací stříkačka	Hamilton, USA

Tab. 12. Přístrojové vybavení HPLC

Části přístroje HPLC – UV (Hewlett Packard HP 1100, USA)
Dávkovací analytický smyčkový ventil – dávkovací smyčka o objemu 20 μ l (G1328A)
Vakuový odplyňovací modul (G1322A)
Binární pumpy (G1312A)
Termostat kolony (G1316A)
Kolona SUPELCOSIL LC-8 (150 mm x 4,6 mm, 5 μ m), Supleco, USA
Detektor UV/VIS DAD (G1315A)
PC s vyhodnocovacím programem ChemStation – Instrument, Agilent, USA

5 METODIKA STANOVENÍ VITAMINU B₂

Postup stanovení vitamínu B₂ metodou HPLC/UV byl proveden na základě informací z literárních zdrojů [12] a experimentálního stanovení.

Metodika stanovení vitamínu B₂ již byla optimalizovaná. Jako nejvhodnější podmínky pro izolaci vitamínu B₂ byly vybrány:

- navážka 20 g - 40 g vzorku celozrnných výrobků
- kyselá hydrolyza pomocí 30 ml - 100 ml 0,2 mol.l⁻¹ kyseliny chlorovodíkové
- vysrážení proteinů pomocí 1 - 3 ml 80 % kyseliny trichloroctové
- odstranění proteinů pomocí čiridel Carrez I a Carrez II v množství 10 ml - 30 ml.

5.1 Izolace vitamínu B₂ ze vzorků celozrnných výrobků

5.1.1 Postup izolace vitamínu B₂ ze vzorků celozrnných mouk

Bylo naváženo 40 g vzorku celozrnných mouk s přesností na čtyři desetinná místa. Navážený vzorek byl rozetřen v třecí misce za postupného přidavku 100 ml 0,2 mol.l⁻¹ kyseliny chlorovodíkové. Homogenizovaný vzorek byl následně kvantitativně převeden do 250 ml Erlenmayerovy baňky, která byla umístěna do vodní lázně s třepacím zařízením. Teplota vodní lázně byla nastavena na 100 °C, doba záhřevu vzorku byla 60 minut. K částečnému vysrážení proteinů byly v 50. minutě záhřevu přidány 3 ml 80 % kyseliny trichloroctové. Po 60 minutách byla baňka vyjmuta z horké vodní lázně a ochlazená. Pro odstranění proteinů bylo k analyzovanému vzorku postupně přidáno 30 ml čiridel Carrez I a 30 ml Carrez II. Po důkladném promíchání a působení činidel po dobu 5 minut byl vzorek kvantitativně převeden do 200 ml odměrné baňky, která byla doplněna po rysku redestilovanou vodou. Analyzovaný vzorek byl následně zfiltrován pomocí vodní vývěvy. Všechny použité nádoby, ve kterých byl analyzovaný vzorek uložen, byly obaleny hliníkovou folií z důvodu zabránění degradace vitamínu B₂ působením světla.

5.1.2 Postup izolace vitamínu B₂ ze vzorků celozrnných lupínků, celozrnných chlebičků a celozrnných sušenek

Bylo naváženo 20 g vzorku celozrnných lupínků, chlebičků a sušenek s přesností na čtyři desetinná místa. Navážený vzorek byl rozetřen v třecí misce. Během roztírání vzorku bylo postupně přidáno 80 ml 0,2 mol.l⁻¹ kyseliny chlorovodíkové. Homogenizovaný vzorek byl následně kvantitativně převeden do 250 ml Erlenmayerovy baňky. Baňka se vzorkem byla umístěna do vodní lázně (s třepačkou), která byla nastavena na teplotu 100 °C po dobu 60 minut kdy byl vzorek zahříván. V 50. minutě záhřevu byly přidány 3 ml 80 % kyseliny trichloroctové k zajištění částečného vysrážení bílkovin. Po uplynutí doby záhřevu (60 min.) byla baňka vyjmuta z horké vodní lázně a ochlazená. Po ochlazení bylo k analyzovanému vzorku postupně přidáno 20 ml činidla Carrez I a 20 ml Carrez II za účelem odstranění proteinů. Následující postup byl stejný jako v případě vzorků celozrnných mouk.

5.1.3 Postup izolace vitamínu B₂ ze vzorků celozrnného pečiva, celozrnného chleba

K izolaci vitamínu B₂ ze vzorků celozrnného pečiva a chleba bylo naváženo 30 g těchto celozrnných produktů s přesností na čtyři desetinná místa. K naváženému vzorku, který byl rozetřen v třecí misce, bylo postupně přidáno 100 ml 0,2 mol.l⁻¹ kyseliny chlorovodíkové. Erlenmayerova baňka o obsahu 250 ml, do které byl kvantitativně převeden homogenizovaný vzorek, byla umístěna do vodní lázně (s třepacím zařízením) vytemperované na 100 °C. Teplota vodní lázně byla po dobu záhřevu vzorku (60 min.) stejná. K částečnému vysrážení proteinů byly použity 3 ml 80 % kyseliny trichloroctové, které byly přidány v 50. minutě záhřevu. Po dosažení doby záhřevu (60 min.) byla baňka vyjmuta z horké vodní lázně a ochlazená. Pro odstranění proteinů bylo k analyzovanému vzorku postupně přidáno 25 ml činidla Carrez I a 25 ml činidla Carrez II. Následující postup byl stejný jako v případě vzorků celozrnných mouk.

5.1.4 Postup izolace vitamínu B₂ ze vzorků celozrnných těstovin

Bylo naváženo 30 g vzorku celozrnných těstovin s přesností na čtyři desetinná místa. Navážený vzorek byl 10 minut vařen v 300 ml redestilované vody podle návodu k přípravě. Vzorek uvařených těstovin, které byly vychlazené, byl rozetřen v třecí misce za postupného

přídavku 100 ml $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny chlorovodíkové. Následující postup byl stejný jako v případě vzorků celozrnného pečiva a celozrnného chleba.

5.1.5 Postup izolace vitamínu B₂ ze vzorků výluhu celozrnných těstovin

Ze získaného vodného výluhu z celozrnných těstovin bylo odměřeno 100 ml, které byly převedeny do 250 ml Erlenmayerovy baňky. Ke 100 ml výluhu bylo přidáno 30 ml $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny chlorovodíkové. Erlenmayerova baňka se vzorkem byla umístěna do vodní lázně s třepacím zařízením. Teplota vodní lázně byla nastavena na 100 °C, doba záhřevu vzorku byla 30 minut. K částečnému vysrážení proteinů byl ve 20. minutě záhřevu přidán 1 ml 80 % kyseliny trichloroctové. Po 30 minut byla baňka vyjmuta z horké vodní lázně a ochlazena. Pro odstranění proteinů bylo k analyzovanému vzorku postupně přidáno 10 ml činidla Carrez I a 10 ml Carrez II. Následující postup byl stejný jako v případě vzorků celozrnných mouk.

5.2 Chromatografické stanovení vitamínu B₂

K chromatografickému stanovení vitamínu B₂ byly použity roztoky analyzovaných vzorků celozrnných produktů, které byly získány postupy uvedenými v kapitole 5.1. Roztoky analyzovaných vzorků byly, před nástřikem do kapalinového chromatografu, zfiltrány přes mikrofiltry určené pro chromatografické stanovení.

K chromatografickému stanovení vitamínu B₂ bylo použito 20 μl roztoku analyzovaného zfiltrovaného vzorku celozrnného produktu, který byl nastříknut do dávkovacího smyčkového ventilu HPLC/UV.

K unášení složek vzorku stacionární fází byla použita mobilní fáze složená ze dvou složek:

1. octan sodný $0,12 \text{ mol.l}^{-1}$ – po úpravě pH na hodnotu $\text{pH} = 4,8$ za přídavku 85 % kyseliny mravenčí
2. metanol

Při chromatografickém stanovení vitamínu B₂ byla použita gradientová eluce, při které docházelo ke změně složení mobilní fáze s časem pro zvýšení eluční síly této fáze. Složení mobilní fáze uvádí tabulka 13.

Tab. 13. Složení mobilní fáze v závislosti na čase

Čas [min]	Poměr octan sodný : metanol [%]
0	87 : 13
3	87 : 13
15	0 : 100
30	0 : 100

Pro chromatografické stanovení byl nastaven průtok mobilní fáze - $0,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

K oddělování složek vzorku byla použita kolona SUPELCOSIL LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5 μm). Teplota termostatu byla nastavena na hodnotu 30 °C.

K detekci vitamínu B₂ byl použit detektor UV – DAD. Jako nejvhodnější vlnová délka pro detekci byla určena hodnota 270 nm.

Retenční čas vitamínu B₂ byl v rozmezí 8,76 min – 8,83 min.

Výsledky chromatografického stanovení vitamínu B₂ (integrace ploch píků) byly zpracovány pomocí chromatografického softwaru ChemStation Instrument 1.

Pro stanovení vitamínu B₂ v 28 celozrnných produktech bylo provedeno měření každého vzorku pětkrát. Pro sestavení kalibrační křivky byly jednotlivé koncentrace standardních roztoků vitamínu B₂ opět proměřeny pětkrát.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Izolace vitamínu B₂ ze vzorků celozrnných produktů byla provedena pomocí izolačních postupů uvedených v kapitole 5.1.

K chromatografickému stanovení vitamínu B₂ byl použit kapalinový chromatograf HPLC/UV, postup měření je uveden v kapitole 5.2.

Identifikace vitamínu B₂ byla provedena na základě retenčních časů tohoto vitamínu, které se pohybovaly v rozmezí 8,76 min – 8,83 min, a také na základě porovnání získaných hodnot retenčních časů po přidavku standardu vitamínu B₂ ke vzorkům.

6.1 Kalibrační křivka pro stanovení vitamínu B₂ metodou HPLC/UV

K měření kalibrační křivky byl připraven zásobní roztok vitamínu B₂ o koncentraci 5 mg.l⁻¹. Další standardní roztoky vitamínu B₂ o zvolených koncentracích 0,25; 0,5; 1; 1,25; 1,5 a 2 mg.l⁻¹ byly připraveny ředěním zásobního roztoku (5 mg.l⁻¹).

Chromatografické proměření obsahu vitamínu B₂ připravených standardních roztoků bylo provedeno stejným způsobem jako u vzorků celozrnných produktů uvedeným v kapitole 5.2. Proměření jednotlivých koncentrací standardních roztoků bylo provedeno pětkrát.

V příloze PI je uveden vzorový chromatogram standardu vitamínu B₂ o koncentraci 1 mg.l⁻¹.

K sestrojení kalibrační křivky bylo použito 7 koncentrací vitamínu B₂ (mg.l⁻¹) a jejich odpovídající plochy píků (mA.V.s) Tab.14.

Graf kalibrační křivky je uveden na obrázku 5.

Ze získaných hodnot ploch píků vitamínu B₂ byla sestrojena kalibrační přímka, ze které byla vypočítána rovnice lineární regrese a hodnota spolehlivosti R².

Rovnice lineární regrese:

$$y = 78,742 \cdot x + 0,5352$$

y – velikost plochy píku vitamínu B₂ [mA.V.s]

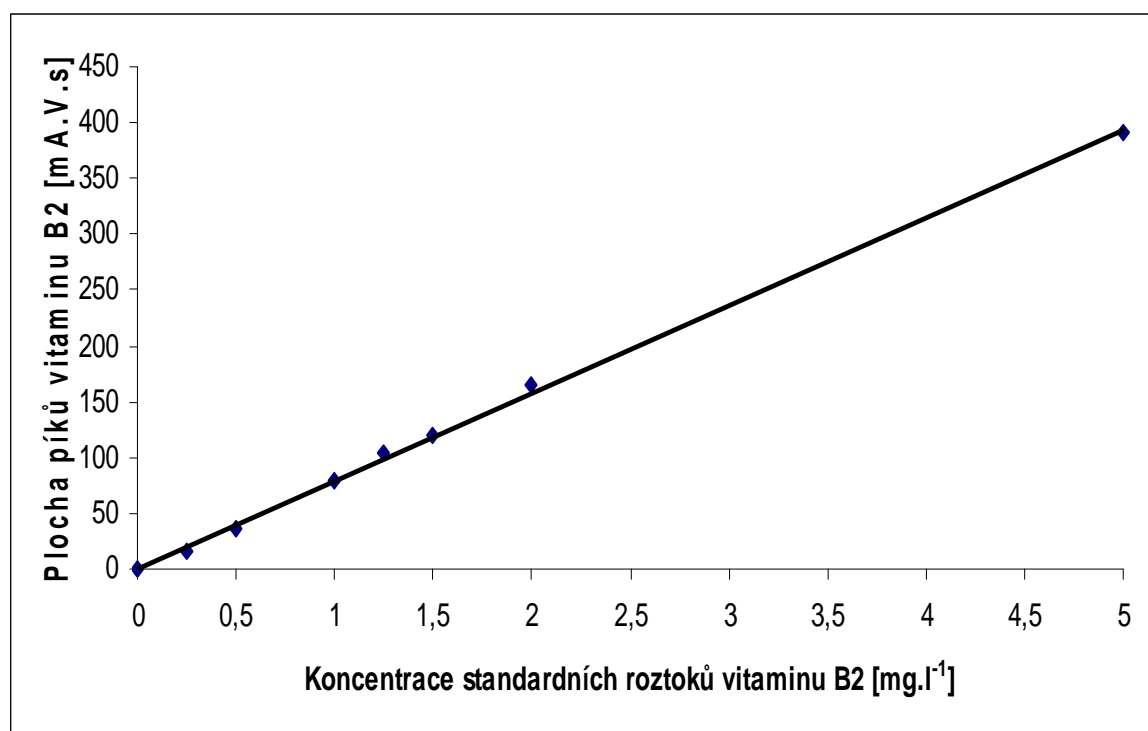
x – obsah vitamínu B₂ [mg.l⁻¹]

Hodnota spolehlivosti pro závislost plochy píku na obsahu vitamínu B₂:

$$R^2 = 0,9989$$

Tab. 14. Průměrné hodnoty ploch píků standardních roztoků vitamínu B₂

Koncentrace vitamínu B ₂ [mg.l ⁻¹]	Průměrná plocha píku vitamínu B ₂ [mA.V.s]	s
0,25	27,681	0,11
0,5	36,462	0,05
1	79,197	0,07
1,25	104,551	0,18
1,5	119,918	0,44
2	164,134	0,41
5	390,652	0,09



Obr. 5. Kalibrační přímka pro stanovení vitamínu B₂ metodou HPLC/UV

Do rovnice lineární regrese byly dosazeny hodnoty naměřených ploch píků vitamínu B₂, získaných chromatografickým stanovením vitamínu B₂ v celozrnných produktech. Vypočítána hodnota obsahu vitamínu B₂ je uvedena v mg.l⁻¹. Tato hodnota byla posléze přepočtena na hodnotu obsahu vitamínu B₂ v mg.100 g⁻¹ vzorku.

Pro vyjádření naměřených výsledků a získání průměrné hodnoty plochy píku vitamínu B₂ byl použit aritmetický průměr, který je definován jako součet hodnot kvantitativního znaku dělený rozsahem souboru [55].

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (1)$$

Pro vyjádření odchylek jednotlivých hodnot od aritmetického průměru byla použita směrodatná odchylka, která určuje rozptyl výsledků vzhledem k hodnotě průměru [55].

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} \quad (2)$$

Na základě směrodatné odchylky je možné spočítat chybu měření vymežující kolem aritmetického průměru interval spolehlivosti. Skutečná střední hodnota měřené veličiny leží s pravděpodobností $P = 1 - \alpha$, kde [56]:

$$\bar{x} \pm \frac{t_{\alpha} \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

V našem případě byla hodnota koeficientu Studentova rozdělení $t_{\alpha} = 2,132$, zvolena hladina významnosti $\alpha = 0,05$, počet stupňů volnosti $\nu = 4$, počet měření $n = 5$ a pravděpodobnost $P = 95 \%$.

Tab. 15. Kvantily studentova rozdělení $t_p(v)$ [57]

ν	p		
	0,90	0,95	0,975
1	3,078	6,314	12,706
2	1,886	2,920	4,303
3	1,638	2,353	3,182
4	1,533	2,132	2,776
5	1,476	2,015	2,571

6.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ v celozrnných produktech

K chromatografickému stanovení vitamínu B₂ bylo použito 26 celozrnných produktů:

- celozrnné mouky - 4 druhy (žitná, pšeničná, špaldová hladká, špaldová hrubá)
- celozrnné pečivo - 6 druhů (grahamový rohlík od 4 různých výrobců, grahamová bulka se sýrem, grahamová vecka)
- celozrnný chleba - 2 druhy (celozrnný chleba, toastový celozrnný chleba)
- celozrnné těstoviny - 3 druhy (grahamové těstoviny, špaldové celozrnné dlouhé nudle, pšeničné celozrnné vlasové nudle)
- celozrnné lupínky - 5 druhů (Fitness, Miss Fit lupínky, Cini Minis, Ovesné polštářky, Dobrá vláknina)
- celozrnné chlebíčky - 2 druhy (špaldový křehký chlebíček, celozrnný křupavý chlebíček)
- celozrnné sušenky - 4 druhy (celozrnné sušenky Špaldové, Grahamky, Zázvorky, Melasky).

6.2.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnných mouk

6.2.1.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky žitné

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky žitné bylo naváženo 40 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 35,186 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,440 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,220 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,002

Obsah vitamínu B₂: 0,220 ± 0,002 mg.100 g⁻¹

USDA National Nutrient Database [58] uvádí obsah vitamínu B₂ v zrně žita 0,251 mg.100 g⁻¹. Obsah vitamínu B₂ bývá, podle USDA National Nutrient Database [58], v běžné bílé žitné mouce v rozmezí 0,090 – 0,114 mg.100 g⁻¹. Naše zjištěné množství vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky žitné je téměř dvojnásobné (0,220 mg. 100 g⁻¹) než v běžné bílé mouce žitné. Vitamin B₂ se v zrně žita nachází především v obalových vrstvách a klíčku [37]. Odstraněním obalových vrstev a klíčku před mletím dochází ke snížení obsahu vitamínu B₂. Oproti tomu u celozrnné mouky žitné, kde k odstranění obalových vrstev a klíčku nedochází, je obsah vitamínu B₂ podstatně vyšší.

6.2.1.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky pšeničné

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky pšeničné, bylo naváženo 40 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa. Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné pšeničné mouky je uveden v příloze V.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 40,624 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,510 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,255 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,005

Obsah vitamínu B₂: 0,255 ± 0,004 mg.100 g⁻¹

Obsah vitamínu B₂ v běžné bílé pšeničné mouce bývá v literatuře [2] uváděn v rozmezí hodnot 0,020 – 0,120 mg.100 g⁻¹. Obsah vitamínu B₂ ve vzorku námi vybrané celozrnné pšeničné mouky (0,255 mg.100 g⁻¹) je zhruba dvakrát vyšší než obsah uváděný v běžné bílé mouce pšeničné.

Obsah vitamínu B₂ v celozrnné mouce záleží na stupni mletí. Běžné bílé mouky jsou získávány při stupni vymletí méně než 75 %. Pokud bude stupeň vymletí vyšší než 85 % bude mouka obsahovat částice otrub. Při stupni vymletí 100 % je získávána mouka celozrnná [46].

Obsah vitamínu B₂ v pšeničné mouce, která má stupeň vymletí 100%, činí 0,095 mg.100 g⁻¹. V porovnání s běžnou bílou moukou, která má stupeň vymletí 75 % je obsah vitamínu B₂ nižší (0,039 mg.100 g⁻¹) [46].

6.2.1.3 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky špaldové hladké

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky špaldové hladké, bylo naváženo 40 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 28,930 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímký: 0,361 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,180 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,003

Obsah vitamínu B₂: 0,180 ± 0,002 mg.100 g⁻¹

Náš zjištěný obsah vitamínu B₂ v hladké špaldové celozrnné mouce činil 0,180 mg.100 g⁻¹. Obsah vitamínu B₂ v hladké špaldové celozrnné mouce bývá nižší než v mouce hrubé špaldové celozrnné, z důvodu opakovaného mletí a mechanického narušení částic mouky [37].

6.2.1.4 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky špaldové hrubé

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné mouky špaldové hrubé, bylo naváženo 40 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 30,640 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímký: 0,382 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,191 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,003

Obsah vitamínu B₂: 0,191 ± 0,002 mg.100 g⁻¹

Zjištěný obsah vitamínu B₂ ve vybraném vzorku hrubé špaldové celozrnné mouky činil 0,191 mg.100 g⁻¹. V porovnání s hladkou špaldovou celozrnnou moukou bývá obsah vitamínu B₂ v hrubé špaldové celozrnné mouce nepatrně vyšší. Obsah vitamínu B₂ u hrubé mouky je vyšší z důvodu nižšího vymílání [37].

6.2.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnných chlebů

6.2.2.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného toastového chleba

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného toastového chleba, bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 36,882 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,461 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,307 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,002

Obsah vitamínu B₂: 0,307 ± 0,001 mg.100 g⁻¹

Obsah vitamínu B₂ v celozrnném chlebu bývá v porovnání s běžným bílým chlebem vyšší, je to dáno použitou moukou, kdy pro výrobu celozrnného chleba je používána celozrnná mouka (např. v námi stanovené celozrnné pšeničné mouce obsah vitamínu B₂ činil 0,255 mg.100 g⁻¹) a pro výrobu běžného bílého chleba je používána mouka běžná bílá (např. mouka pšeničná obsahuje podle literatury [1] 0,020 – 0,120 mg.100 g⁻¹ vitamínu B₂). U chlebů (celozrnný, běžný bílý) zhruba 30 % vitamínu B₂ vzniká činností kvasinek v těstě při výrobě chleba [46].

6.2.2.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného chleba

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného chleba, bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa. Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného chleba je uveden v příloze P III.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 35,500 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,440 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,437 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,008

Obsah vitamínu B₂: 0,437 ± 0,007 mg.100 g⁻¹

Nahrazením běžného bílého chleba chlebem celozrnným se zvýší příjem vitamínu B₂ [59].

Studie provedena francouzskými vědci [59] uvádí, že obsah vitamínu B₂ v celozrnném chlebu je vyšší než v chlebu běžném bílém. Studie byla provedena u 49 odrůd pšenice, ze kterých bylo vybráno 9 odrůd pšenice s nízkou, střední a vysokou koncentrací vitamínu B₂. Mouky připraveny z těchto odrůd byly použity na výrobu chleba s následným porovnáním obsahu vitamínu B₂ v běžném bílém a celozrnném chlebu.

Zjištěné hodnoty obsahu vitamínu B₂, v našich vzorcích celozrnného chleba, byly v rozmezí 0,307 – 0,437 mg.100 g⁻¹. Literatura [2] uvádí obsah vitamínu B₂ běžném bílém chlebu v rozmezí hodnot 0,060 – 0,150 mg.100 g⁻¹.

6.2.3 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnného pečiva

6.2.3.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Kaufland)

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂, ve vzorku grahamového rohlíku (Kaufland), bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 12,437 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,151 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,101 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,003

Obsah vitamínu B₂: 0,101 ± 0,002 mg.100 g⁻¹

Grahamová mouka narozdíl od běžné bílé mouky obsahuje otruby. Tím, je zvýšen obsah vitamínu B₂ v grahamovém rohlíku, protože vitamin B₂ se vyskytuje ve větší míře v klíčku a obalových vrstvách.

6.2.3.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Boner)

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Boner), bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 12,461 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,152 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,101 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,002

Obsah vitamínu B₂: 0,101 ± 0,001 mg.100 g⁻¹

Grahamový rohlík Boner, Kaufland a grahamová bulka se sýrem měly stejný obsah vitamínu B₂. V porovnání s obsahem vitamínu B₂ v běžném bílém rohlíku, je tento obsah vyšší 0,094 mg.100 g⁻¹. Rozdíl obsahu vitamínu B₂ však není příliš vysoký [60].

6.2.3.3 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Billa)

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Billa), bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 12,863 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,157 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,104 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,006

Obsah vitamínu B₂: 0,104 ± 0,005 mg.100 g⁻¹

Obsah vitamínu B₂ v grahamovém rohlíku Billa je téměř stejný jako u ostatních druhů grahamového pečiva. Rozdíl koncentrace vitamínu B₂ v jednotlivých vzorcích grahamového pečiva je nepatrný.

6.2.3.4 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Svoboda-Březík)

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamového rohlíku (Svoboda - Březík), bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 11,529 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,139 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,093 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,005

Obsah vitamínu B₂: 0,099 ± 0,004 mg.100 g⁻¹

Obsah vitamínu B₂ v grahamovém rohlíku Svoboda-Březík byl pouze nepatrně vyšší než v rohlíku vyrobeném z mouky běžné bílé (0,094 mg.100 g⁻¹) [60].

6.2.3.5 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamové bulky se sýrem

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamové bulky se sýrem, bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 12,528 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,152 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,101 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,004

Obsah vitamínu B₂: 0,101 ± 0,003 mg.100 g⁻¹

V porovnání s našimi vybranými celozrnnými chleby (0,307 – 0,437 mg.100 g⁻¹) je zjištěný obsah vitamínu B₂ v grahamové bulce se sýrem podstatně nižší. Obsah vitamínu B₂ v grahamové bulce se sýrem (0,101 mg.100 g⁻¹) je spíše shodný s obsahem vitamínu B₂ v chlebu vyrobeném z běžné bílé mouky (0,060 – 0,150 mg.100 g⁻¹) jak je uváděno v literatuře [2].

6.2.3.6 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamové vecky

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamové vecky, bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 13,172 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,161 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,107 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,006

Obsah vitamínu B₂: $0,107 \pm 0,005 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

Celozrnné pečivo vyrobené z celozrnné mouky je zdrojem vitamínu B₂. Mletím celých zrn, které nejsou zbaveny obalových vrstev je získána celozrnná mouka bohatá na vitamin B₂. Běžné bílé mouky, které mají obalové vrstvy před mletím odstraněny obsahují nižší množství vitamínu B₂ [49].

Obsah vitamínu B₂ v našich vzorcích celozrnného pečiva byl téměř stejný, pohyboval se v rozmezí hodnot 0,099 - 0,107 mg.100 g⁻¹. Porovnáním obsahu vitamínu B₂ v tukovém rohlíku, uvedeném v diplomové práci [60], bývá obsah vitamínu B₂ v tukovém rohlíku nižší 0,094 mg.100 g⁻¹. Rozdíl obsahu vitamínu B₂ v porovnání s našimi získanými hodnotami a hodnotou tukového rohlíku je poměrně nízký.

6.2.4 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnných těstovin a výluzích z těstovin

6.2.4.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku pšeničných celozrnných vlasových nudlí

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku pšeničných celozrnných vlasových nudlí, bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa, který byl před stanovením uvařen. Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku pšeničných celozrnných vlasových nudlí je uveden v příloze IV.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 21,906 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,271 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ v uvařeném výrobku: 0,181 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,003

Obsah vitamínu B₂: $0,181 \pm 0,002 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

Studie provedena italskými vědci [61] uvádí obsah vitamínu B₂ v polévkových italských těstovinách (nudlích, suchý vzorek) vyrobených z pšenice tvrdé v množství 0,020 mg.100 g⁻¹. Vitamin B₂ byl stanoven pomocí hmotnostní spektrometrie (LC-MS/MS).

V porovnání s naší zjištěnou hodnotou vitamínu B₂ v polévkových těstovinách (nudlích) vyrobených z celozrnné pšeničné mouky je obsah tohoto vitamínu v našem výrobku podstatně vyšší.

6.2.4.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku výluhu z pšeničných celozrnných vlasových nudlí

Chromatografické stanovení obsahu vitamínu B₂ bylo provedeno ve 100 ml výluhu z pšeničných celozrnných vlasových nudlí.

Obsah vitamínu B₂ ve výluhu z pšeničných těstovin byl pod detekčním limitem stanovení a nebyl určen.

6.2.4.3 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamových těstovin

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku grahamových těstovin (špagety), bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa, který byl před stanovením uvařen.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 22,404 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,278 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ v uvařeném výrobku: 0,185 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,002

Obsah vitamínu B₂: 0,185 ± 0,001 mg.100 g⁻¹

Špagety, vyrobeny z běžné bílé mouky, obsahují podle USDA National Nutrient Database [58] 0,060 mg.100 g⁻¹ vitamínu B₂. Vzorek našich grahamových těstovin (špagety), které jsou vyrobeny z grahamové mouky pšenice tvrdé, obsahují trojnásobné množství (0,185 mg.100 g⁻¹) vitamínu B₂.

6.2.4.4 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku výluhu z grahamových těstovin

Chromatografické stanovení obsahu vitamínu B₂ bylo provedeno ve 100 ml výluhu z grahamových těstovin.

Obsah vitamínu B₂ ve výluhu z grahamových těstovin byl pod detekčním limitem stanovení a nebyl určen.

6.2.4.5 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku špaldových celozrnných dlouhých nudlí

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku špaldových celozrnných dlouhých nudlí, bylo naváženo 30 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa, který byl před stanovením uvařen.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 20,350 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,251 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ v uvařeném výrobku: 0,167 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,003

Obsah vitamínu B₂: 0,167 ± 0,002 mg.100 g⁻¹

Podle studie provedené italskými vědci [61] bývá obsah vitamínu B₂ v dlouhých těstovinách (suchý vzorek) stejný jako v případě polévkových těstovin (nudlí) 0,020 mg.100 g⁻¹. V našem případě celozrnné dlouhé nudle obsahují vyšší množství vitamínu B₂ v porovnání s dlouhými těstovinami uváděnými ve studii.

Ke ztrátám vitamínu B₂ v těstovinách dochází během jejich tepelné úpravy. Studie zabývajícími se ztrátami vitamínů v potravinách uvádí, že ke ztrátám vitamínu B₂ v makarónech dochází působením vyšší teploty za určitý čas. Tepelná úprava makarónů při 90 °C za dobu 10 minut má za následek 18,3 % ztráty vitamínu B₂. Prodloužením doby vaření na 20 minut při teplotě 90 °C dochází k 53,3 % ztrátám. S největší pravděpodobností dochází k největším ztrátám vitamínu B₂ do výluhu [13].

6.2.5 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnných sušenek

6.2.5.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Grahamky

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Grahamky, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 40,378 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,506 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,505 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,006

Obsah vitamínu B₂: $0,505 \pm 0,005 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

Vybraný vzorek grahamových sušenek vyrobený z pšeničné celozrnné mouky obsahuje oproti sušenkám (sušenky méně sladkých $0,100 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) vyrobeným z běžné bílé mouky značně vyšší obsah vitamínu B₂ ($0,505 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

6.2.5.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Zázvorky

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Zázvorky, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 39,706 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: $0,498 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: $0,496 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

Směrodatná odchylka: 0,004

Obsah vitamínu B₂: $0,496 \pm 0,003 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

Zjištěné množství vitamínu B₂ v celozrnných sušenkách Zázvorky činí nejmenší hodnotu. V porovnání s ostatními zjištěnými hodnotami vitamínu B₂ v celozrnných sušenkách je však tento rozdíl minimální.

6.2.5.3 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Melasky

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Melasky, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 41,774 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: $0,524 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: $0,522 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

Směrodatná odchylka: 0,006

Obsah vitamínu B₂: $0,522 \pm 0,005 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$

Obsah vitamínu B₂ ve vybraném vzorku celozrnných sušenek Melasky činí vyšší hodnotu oproti ostatním analyzovaným vzorkům. Vyšší množství vitamínu B₂ může být vysvětleno použitou celozrnnou moukou, která byla získána v BIO kvalitě.

6.2.5.4 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Špaldové

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných sušenek - Špaldové, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 41,698 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímký: 0,523 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,520 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,004

Obsah vitamínu B₂: 0,520 ± 0,003 mg.100 g⁻¹

Zjištěný obsah vitamínu B₂ v celozrnných sušenkách Špaldové činí 0,520 mg.100 g⁻¹. Literatura uvádí [62] obsah vitamínu B₂ v sušenkách méně sladkých 0,100 mg.100 g⁻¹, v sušenkách čokoládových hodnotu vitamínu B₂ 0,030 mg.100 g⁻¹. K výrobě sušenek bývá nejčastěji používána běžná bílá pšeničná mouka, která obsahuje podle literatury [2] 0,020 – 0,120 mg.100 g⁻¹ vitamínu B₂.

U celozrnné mouky pšeničné je obsah vitamínu B₂ téměř dvojnásobný. Sušenky vyrobeny z celozrnné mouky mají i proto vyšší obsah vitamínu B₂.

Cereální sušenky Bebe s Dobré ráno oříškové s medem, které jsou obohaceny vitamínem B₂ a jsou vyrobeny z mouky celozrnné a také z běžné bílé pšeničné mouky, obsahují 0,980 mg.100 g⁻¹ [63].

Celozrnné sušenky se pečou při 240 – 280 °C [12]. Během pečení nedochází k velkým ztrátám vitamínu B₂ [13].

6.2.6 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnných lupínků

6.2.6.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Dobré vláknině

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Dobré vlákniny, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 86,356 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 1,089 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 1,089 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,004

Obsah vitamínu B₂: 1,089 ± 0,003 mg.100 g⁻¹

Zjištěný obsah vitamínu B₂ v celozrnném snídaňovém produktu Dobrá vláknina činí 1,089 mg.100 g⁻¹. Zjištěný obsah vitamínu B₂ je nepatrně vyšší než uvádí výrobce 0,9 mg.100 g⁻¹.

6.2.6.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Miss Fit

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Miss Fit, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 60,734 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,764 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,762 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,007

Obsah vitamínu B₂: 0,762 ± 0,003 mg.100 g⁻¹

Obsah vitamínu B₂ ve vybraném vzorku Miss Fit činí 0,762 mg.100 g⁻¹. Výrobce neuvádí deklarované množství vitamínu B₂. Snídaňové lupínky Miss Fit, které se stejně jako Cini Minis, vyrábí ze směsi celozrnné pšeničné mouky a rýžové mouky, nejsou v porovnání se Cini Minis obohaceny vitamínem B₂. Cini Minis, které jsou obohaceny vitamínem B₂ obsahují dvojnásobné množství vitamínu B₂ (1,468 mg.100 g⁻¹) oproti lupínkám Miss Fit (0,762 mg.100 g⁻¹).

6.2.6.3 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Cini Minis

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Cini Minis, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 116,308 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 1,470 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 1,468 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,006

Obsah vitamínu B₂: 1,468 ± 0,005 mg.100 g⁻¹

Vybrané snídaňové lupínky Cini Minis obsahují podle našeho zjištění 1,468 mg.100 g⁻¹ vitamínu B₂. Udávané deklarované množství vitamínu B₂ výrobcem je 1,4 mg.100 g⁻¹.

6.2.6.4 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Fitness

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Fitness, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa. Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Fitness je uveden v příloze P II.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 115,434 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 1,459 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 1,458 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,004

Obsah vitamínu B₂: 1,458 ± 0,003 mg.100 g⁻¹

Zjištěné množství vitamínu B₂ v lupínkách Fitness činí 1,458 mg.100 g⁻¹. Zjištěné množství vitamínu B₂ je shodné s množstvím vitamínu B₂ uváděného výrobcem (1,4 mg.100 g⁻¹).

6.2.6.5 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných ovesných polštářků

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnných ovesných polštářků, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 55,632 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,700 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,699 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,004

Obsah vitamínu B₂: 0,699 ± 0,006 mg.100 g⁻¹

Obsah vitamínu B₂ v celozrnných ovesných polštářcích činí 0,699 mg.100 g⁻¹. Výrobce neuvádí deklarované množství vitamínu B₂ v tomto výrobku. Nižší obsah vitamínu B₂ oproti ostatním celozrnným snídaňovým produktům může být dán celozrnnou ovesnou moukou, která se používá pro výrobu. Ostatní snídaňové produkty jsou vyrobeny z celozrnné mouky pšeničné a dalších surovin. USDA National Nutrient Database [58] udává obsah vitamínu B₂ v ovsu 0,139 mg.100 g⁻¹.

Nutriční hodnota snídaňových celozrnných produktů závisí na zpracování surovin, ze kterých se snídaňové cereálie vyrábí. Při výrobě snídaňových celozrnných produktů dochází ke ztrátě vitamínu B₂ extruzí. Tyto ztráty vitamínu B₂ bývají v porovnání s thiaminem, u kterého dochází až k 50 % ztrátám, malé [64].

6.2.7 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnných chlebíčků

6.2.7.1 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku špaldového křehkého chlebíčku

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku špaldového křehkého chlebíčku, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 21,424 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,265 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,264 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,005

Obsah vitamínu B₂: 0,264 ± 0,004 mg.100 g⁻¹

Špaldový křehký chlebíček vyrobený ze směsi celozrnné mouky pšeničné a celozrnné mouky špaldové obsahuje podle našeho stanovení vyšší obsah vitamínu B₂ (0,264 mg.100 g⁻¹) než mouky, z kterých je vyroben vzhledem k tomu, že dochází k zvýšení vitamínu B₂ činnosti kvasinek v těstě, které se při jejich výrobě používají. Při pečení dochází k minimálním ztrátám [17, 46].

6.2.7.2 Stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného křupavého chlebičku

K chromatografickému stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného křupavého chlebičku, bylo naváženo 20 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa.

Průměrná plocha píku vitamínu B₂: 40,736 mA.V.s

Průměrný obsah vitamínu B₂ z kalibrační přímky: 0,510 mg.l⁻¹

Průměrný obsah vitamínu B₂ ve výrobku: 0,510 mg.100 g⁻¹

Směrodatná odchylka: 0,007

Obsah vitamínu B₂: 0,510 ± 0,006 mg.100 g⁻¹

Celozrnný křupavý chlebiček obsahující celozrnnou žitnou mouku a mléko se vyrábí studeným způsobem, při kterém dochází k odležení těsta při 0 °C. Při výrobě nejsou používány kvasinky, nedochází k nárůstům objemu těsta a zvětšení obsahu vitamínu B₂ v těstě činností kvasinek. Při pečení jsou ztráty vitamínu B₂ minimální [65].

6.3 Porovnání obsahu vitamínu B₂ v celozrnných produktech

Obsah vitamínu B₂ byl chromatograficky stanoven ve 26 vzorcích celozrnných produktů a ve 2 vzorcích výluhů z celozrnných těstovin. Pořadí celozrnných produktů podle zjištěného obsahu vitamínu B₂ je uvedeno na obrázku 6.

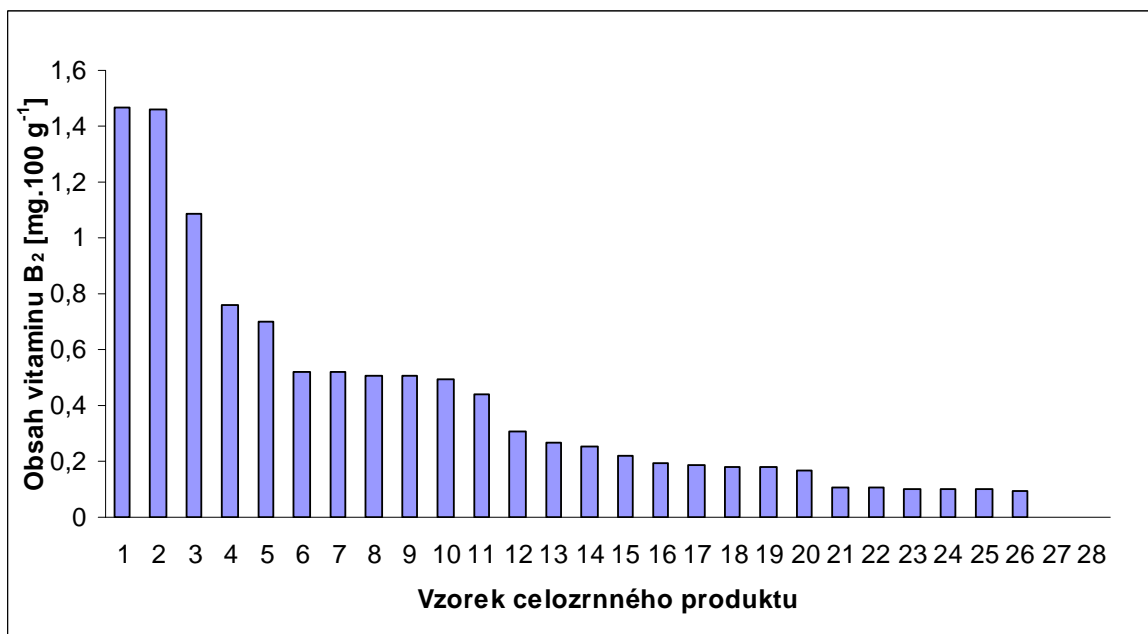
Nejvyšší obsah vitamínu B₂ byl stanoven ve vzorku lupínků Cini Minis (1,468 mg.100 g⁻¹), Fitness (1,458 mg.100 g⁻¹) a Dobrá vláknina (1,089 mg.100 g⁻¹).

Mezi celozrnné produkty s vyšším obsahem vitamínu B₂ patří lupínky Miss Fit (0,762 mg.100 g⁻¹), Ovesné polštářky (0,699 mg.100 g⁻¹), celozrnný křupavý chlebiček (0,510 mg.100 g⁻¹), celozrnný chleba (0,437 mg.100 g⁻¹), celozrnné sušenky: Melasky, Špaldové, Grahamky a Zázvorky (0,522 – 0,496 mg.100 g⁻¹).

Nižší obsah vitamínu B₂ byl stanoven u celozrnných produktů mezi které patří: toastový celozrnný chleba (0,307 mg.100 g⁻¹), špaldový křehký chlebiček (0,264 mg.100 g⁻¹), celozrnné mouk- pšeničná, žitná, špaldová hrubá, špaldová hladká (0,255 – 0,180 mg.100 g⁻¹) a celozrnné těstoviny – grahamové, pšeničné vlasové nudle a špaldové dlouhé nudle (0,185 – 0,167 mg.100 g⁻¹).

Mezi celozrnné produkty s nejnižším obsahem vitamínu B₂ patří celozrnné pečivo grahamové: vecka, rohlík – Billa, rohlík – Boner, rohlík – Kaufland, bulka se sýrem a rohlík Svoboda – Březík (0,107 – 0,093 mg.100 g⁻¹).

Ve vzorcích výluhů celozrnných těstovin nebyl vitamin B₂ detekován.



Obr. 6. Sestupné pořadí jednotlivých celozrnných produktů podle obsahu vitamínu B₂

1 – Cini Minis, 2 – Fitness, 3 – Dobrá vláknina, 4 – Miss Fit lupínky, 5 – Ovesné polštářky, 6 – Celozrnné sušenky Melasky, 7 – Celozrnné sušenky Špaldové, 8 – Celozrnný křupavý chlebiček, 9 – Celozrnné sušenky Grahamky, 10 – Celozrnné sušenky Zázvorky, 11 – Celozrnný chleba, 12 – Toastový celozrnný chleba, 13 – Špaldový křehký chlebiček, 14 – Celozrnný mouka pšeničná, 15 – Celozrnná mouka žitná, 16 – Celozrnná mouka špaldová hrubá, 17 – Grahamové těstoviny, 18 – Pšeničné celozrnné vlasové nudle, 19 – Celozrnná mouka špaldová hladká, 20 – Špaldové celozrnné dlouhé nudle, 21 – Grahamová vecka, 22 – Grahamový rohlík Billa, 23 – Grahamový rohlík Boner, 24 – Grahamový rohlík Kaufland, 25 – Grahamová bulka se sýrem, 26 – Grahamový rohlík Svoboda – Březík, 27 – Výluh z grahamových těstovin, 28 – Výluh z pšeničných celozrnných vlasových nudlí.

Získané hodnoty vitamínu B₂ v mg.100 g⁻¹ byly přepočteny na procenta doporučené denní dávky (DDD) vitamínu B₂ při konzumaci 100 g výrobku denně. Doporučená denní dávka vitamínu B₂ se udává v rozmezí hodnot 0,4 mg – 1,7 mg. Hodnota 0,4 mg na den platí pro kojence. Nejvyšší hodnota 1,7 mg na den je udávána pro adolescenty a dospělé muže. U žen je doporučená denní dávka v rozmezí hodnot 1,2 – 1,3 mg. Pro porovnání byla u žen zvolena DDD 1,3 mg, u mužů 1,7 mg [2].

Přepočtené hodnoty pokrytí doporučené denní dávky jsou uvedeny v tabulce 16.

Tab. 16. Obsah vitamínu B₂ v celozrnných produktech a pokrytí DDD (100 g výrobku)

Celozrnný výrobek	Obsah vitamínu B ₂ [mg.100 g ⁻¹]	% DDD [100 g] pro ženy	% DDD [100 g] pro muže
Dobrá vláknina	1,089 ± 0,003	83,8	64,1
Miss Fit lupínky	0,762 ± 0,003	53,8	44,8
Ovesné polštářky	0,699 ± 0,006	58,6	41,1
Ciniminis	1,468 ± 0,005	112,9	86,4
Fitness lupínky	1,458 ± 0,003	112,2	85,8
Špaldový křehký chlebiček	0,264 ± 0,004	20,3	15,5
Celozrnný křupavý chlebiček	0,510 ± 0,006	39,2	30,0
Celozrnné sušenky Špaldové	0,520 ± 0,003	40,0	30,6
Celozrnné sušenky Grahamky	0,505 ± 0,005	38,9	29,7
Celozrnné sušenky Zázvorky	0,496 ± 0,003	38,2	29,2
Bio celozrnné sušenky Melasky	0,522 ± 0,005	40,2	30,7
Celozrnná mouka žitná	0,220 ± 0,001	16,9	12,9
Celozrnná mouka špaldová hladká	0,180 ± 0,002	13,9	10,6
Celozrnná mouka špaldová hrubá	0,191 ± 0,002	14,7	11,2
Celozrnná mouka pšeničná	0,255 ± 0,004	19,6	15,0
Pšeničné celozrnné vlasové nudle	0,181 ± 0,002	13,9	10,7
Grahamové těstoviny	0,185 ± 0,001	14,2	10,9
Špaldové celozrnné dlouhé nudle	0,167 ± 0,002	12,9	9,8
Grahamový rohlík - Boner	0,101 ± 0,001	7,8	5,9
Grahamový rohlík - Billa	0,104 ± 0,005	8,0	6,1

Grahamový rohlík - Kaufland	0,101 ± 0,002	7,8	5,9
Grahamový rohlík – Svoboda Březík	0,093 ± 0,004	7,2	5,5
Chléb toastový celozrnný	0,307 ± 0,001	23,6	18,1
Chléb celozrnný	0,437 ± 0,007	33,6	25,7
Grahamová veka	0,107 ± 0,005	8,2	6,3
Grahamová bulka se sýrem	0,101 ± 0,003	7,8	5,9

6.3.1 Zhodnocení a doporučení celozrnných produktů pro pokrytí DDD vitamínu B₂

Výborným zdrojem vitamínu B₂ jsou celozrnné snídaňové produkty Fitness a Cini Minis, Dobrá vláknina, které jsou obohaceny vitamínem B₂. Lupínky Cini Minis pokrývají 112,9 % DDD vitamínu B₂ pro ženy a 86,4 % DDD vitamínu B₂ pro muže, Fitness (DDD 112,2% ženy; 85,8% muži), Dobrá vláknina (DDD 83,8% ženy; 64,1% muži).

Mezi celozrnné produkty, které jsou také dobrým zdrojem vitamínu B₂ patří: Ovesné polštářky (DDD 58,6% ženy; 41,1% muži), Miss Fit lupínky (DDD 53,8% ženy; 44,8% muži), bio celozrnné sušenky Melasky, celozrnné sušenky Špaldové, celozrnný křupavý chlebiček, celozrnné sušenky Grahamky a celozrnné sušenky Zázvorky (DDD 40,2 – 38,2% ženy; 30,7 – 29,2% muži), chléb celozrnný, chléb toastový celozrnný a špaldový křehký chlebiček (DDD 33,6 – 20,3% ženy; 25,7 – 15,5% muži), celozrnná mouka pšeničná a celozrnná mouka žitná (DDD 19,6 – 16,9% ženy; 12,9 – 15,0% muži).

Mezi celozrnné produkty, které pokrývají nižší procento DDD, patří: celozrnná mouka špaldová hrubá (DDD 14,7% ženy; 11,2% muži), grahamové těstoviny (DDD 14,2% ženy; 10,9% muži), celozrnná mouka špaldová hladká (DDD 13,9% ženy; 10,6% muži), pšeničné celozrnné vlasové nudle (DDD 13,9% ženy; 10,7% muži), špaldové celozrnné široké dlouhé nudle (DDD 12,9% ženy; 9,8% muži), grahamová veka, grahamový rohlík – Billa, grahamový rohlík – Boner, grahamový rohlík – Kaufland, grahamová bulka se sýrem a grahamový rohlík Svoboda – Březík (DDD 8,2 – 7,2% ženy; 6,3 – 5,5% muži).

Vzhledem k tomu, že se vitamin B₂ nachází nejen v celozrnných produktech, ale i v dalších potravinách jako jsou mléčné výrobky, maso, zelenina, obiloviny, je jeho nedostatek v závislosti na množství zkonsumovaného produktu v západních zemích neobvyklý [66].

Cereálie, celozrnné produkty dodávají zhruba 15 % vitamínu B₂, zhruba 40 % vitamínu B₂ je přijato z mléčných produktů a mléka, 20 % vitamínu B₂ je přijato z masa a masných výrobků a 10 % z vajec a zeleniny. Uvedené hodnoty platí pro ČR [2].

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu vitamínu B₂ v celozrnných produktech chromatografickou metodou HPLC s UV detekcí.

Pro stanovení obsahu vitamínu B₂ bylo použito 26 celozrnných produktů: celozrnné mouky – 4 druhy, celozrnné pečivo – 6 druhů, celozrnný chleba – 2 druhy, celozrnné těstoviny – 3 druhy, celozrnné snídaňové lupínky – 5 druhů, celozrnné chlebičky – 2 druhy a celozrnné sušenky – 4 druhy.

Byl využit již optimalizovaný postup izolace vitamínu B₂, který spočíval v rozrušení esterové vazby riboflavinu na FMN a FAD pomocí HCl s následným uvolněním a odstraněním bílkovin kyselinou trichloroctovou a čiřidly Carezz I a Carezz II.

Vyizolovaný vitamin B₂ byl stanoven pomocí chromatografické techniky HPLC/UV, kdy pro separaci byla použita kolona SUPELCOSIL LC8, mobilní fáze se skládala z: 0,12 mol.l⁻¹ octanu sodného a metanolu. Byla použita gradientová eluce. Signál vycházející z kolony byl zachycen pomocí UV – DAD detektoru s nastavenou vlnovou délkou 270 nm.

V celozrnných produktech byl zjištěn nejvyšší obsah vitamínu B₂ ve vzorcích celozrnných snídaňových produktů: Cini Minis (1,468 mg.100 g⁻¹), Fitness (1,458 mg.100 g⁻¹), Dobrá vláknina (1,089 mg.100 g⁻¹), Miss Fit (0,762 mg.100 g⁻¹) a Ovesné polštářky (0,699 mg.100 g⁻¹). Výrobky Cini Minis, Fitness a Dobrá vláknina byly obohaceny vitaminem B₂.

Ve vzorcích celozrnných mouk byl obsah vitamínu B₂ nejvyšší ve vzorku celozrnné mouky pšeničné (0,255 mg.100 g⁻¹), dále celozrnné mouky žitné (0,220 mg.100 g⁻¹), celozrnné mouky špaldové hrubé (0,191 mg.100g⁻¹) a hladké (0,180 mg.100 g⁻¹).

Ve vzorcích celozrnných chlebů byl obsah vitamínu B₂ nejvyšší ve vzorku celozrnného chleba od výrobce Vita Star (0,437 mg.100 g⁻¹) a toastového celozrnného chleba (0,307 mg.100 g⁻¹). Obsah vitamínu B₂ v celozrnné pečivu činil rozmezí hodnot (0,107 – 0,093 mg.100 g⁻¹) v pořadí: grahamová veka, grahamový rohlík z Billy, Boneru a Kauflandu, grahamová bulka se sýrem a grahamový rohlík Svoboda-Březík.

Ze vzorků celozrnných chlebiček byl stanoven vyšší obsah riboflavinu ve vzorku celozrnného křupavého chlebičku (0,510 mg.100 g⁻¹), nižší obsah v špaldovém křehkém chlebičku (0,264 mg.100 g⁻¹).

Vyšší obsah vitamínu B₂ v celozrnných sušenkách byl naměřen ve vzorku sušenek Melasky (0,522mg.100g⁻¹) a v sušenkách Špaldové, Grahamky a Zázvorky (0,520-0,496mg.100 g⁻¹).

Z celozrnných těstovin byl vyšší obsah vitamínu B₂ naměřen ve vzorku grahamových těstovin (0,185 mg.100 g⁻¹), v pšeničných celozrnných vlasových nudlích a špaldových celozrnných dlouhých nudlích (0,181 – 0,167 mg.100 g⁻¹). Ve vzorcích výluhů celozrnných těstovin nebyl vitamin B₂ detekován.

Pro pokrytí doporučené denní dávky vitamínu B₂ v závislosti od denně zkonsumovaného množství těchto výrobků patří mezi nejlepší celozrnné produkty snídaňové cereálie (Cini Minis, Fitness, Dobrá vláknina, Ovesné polštářky a Miss Fit lupínky). Další vhodné celozrnné produkty, které jsou dobrým zdrojem vitamínu B₂ patří celozrnné sušenky, celozrnný chléb, chlebičky a také celozrnné mouky. V menší míře mohou pokrývat DDD grahamové těstoviny a grahamové pečivo.

Porovnáním s literaturou bylo zjištěno, že celozrnné produkty obsahují vyšší množství vitamínu B₂ oproti produktům, jako jsou: běžné bílé mouky a produkty z těchto mouk vyrobeny.

Konzumace celozrnných produktů přispívá k ochraně organismu proti kardiovaskulárním nemocněním a některým typům rakoviny. Tyto produkty mají nízký glykemický index a jsou vhodné pro diabetiky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MACDOWELL, L. R. *Vitamins in animal and human nutrition*. 2. vyd. Ames: Iowa state university press, 2000. 793 s. ISBN 0-8138-2630-6.
- [2] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin II*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 304 s. ISBN 80-86659-01-1.
- [3] HLÚBIK, P., OPLTOVÁ, L. *Vitaminy*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. 232 s. ISBN 80-247-0373
- [4] ZADÁK, Z. *Výživa v intenzivní péči*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2008. 552 s. ISBN 978- 80-247-2844-5.
- [5] KOMPRDA, T. *Základy výživy člověka*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita, 2003. 164s. ISBN 80-7157-655-7.
- [6] MCSWEENEY, P. L. H., FOX, P. F. *Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*. 3. vyd. New York: Springer Science + Business Media, 2009. 778 s. ISBN 978-0-387-84864-8.
- [7] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2007. 104 s. ISBN 80-7318-395-1.
- [8] FRIEDRICH, W. *Vitamins*. 1. vyd. Berlin: de Gruyter, 1988. 1063 s. ISBN 3-11-010244-7.
- [9] FORAKER, A.B., KHANTWAL, CH.M., SWAAN, P.W. Current perspectives on the cellular uptake and trafficking of riboflavin. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003, roč. 55, č. 11, s. 1467-1483.
- [10] LEBLANC, J.G., RUTTEN, G., BRUINENBERG, P., SESMA, F., GIORI, G.S., SMID, E.J. A novel dairy product fermented with *Propionibacterium freudenreichii* improves the riboflavin status of deficient rats. *Nutrition*. 2006, roč. 22, č. 6, s. 645-651.
- [11] TONZIL, R.A. *The encyclopedia of nutrition and good health*. 2. vyd. New York: Facts on File Library of Health and Libiny, 2003. 726 s. ISBN 0-8160-4966-1.
- [12] KRAMÁŘOVÁ, D., ŠKROVÁNKOVÁ, S., HÁBOVÁ, M., HOZA, I. Stanovení vitamínu B₂ v jácích metodou HPLC. In: *Laboralim*, 2007. Bratislava: STU, 2007. s. 282-286. ISBN 978 -80-227-2628-3.

- [13] LEŠKOVÁ, E., KUBÍKOVÁ, J., KOVÁČIKOVÁ, E., KOŠICKÁ, M., PORUBSKÁ, J., HOLČÍKOVÁ, K. Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006, roč. 19, č. 4, s. 252-276.
- [14] TRANG, V.T., KUROGI, Y., KATSUNO, S., SHIMAMURA, T., UKEDA, H. Protective effect of aminoreductone on photo-degradation of riboflavin. *International Dairy Journal*. 2008, roč. 18, č. 4, s. 344-348.
- [15] MATHLOUTHI, M. *Food Packaging and Preservation*. Maryland: Aspen Publisher, Inc., 1994. 292 s. ISBN 0-8342-1349-4.
- [16] BATIFOULIER, F., VERNY, M.A., CHANLIAUD, E., RÉMÉSY, C., DEMIGNÉ, C. Effect of different breadmaking methods on thiamine, riboflavin and pyridoxine contents of wheat bread. *Journal of Cereal Science*. 2005, roč. 42, č. 1, s. 101-108.
- [17] KUBÁŇ, V., KUBÁŇ, P. *Analýza potravin*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita, 2007. 203s. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [18] BALL, G.F.M. *Bioavailability and analysis of vitamins in foods*. 1. vyd. London: Chapman & Hall, 1998. 569 s. ISBN 0-412-78090-9.
- [19] HÁLKOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M., RIEGLOVÁ, J. *Analýzy potravin*. 1. vyd. Újezd u Brna: RNDr. Ivan Straka, 2000. s. 102. ISBN 80-902775-3-5.
- [20] DÍAZ, A.N., PANIAGUA, A.G., SÁNCHEZ, F.G. Thin-layer chromatography and fibre-optic fluorimetric quantitation of thiamine, riboflavin and niacin. *Journal of Chromatography A*. 1993, roč. 655, č. 1, s. 39-43.
- [21] GLISZCZYŃSKA, A., KOZIOŁOWA, A. Chromatographic determination of flavin derivatives in baker's yeast. *Journal of Chromatography A*. 1998, roč. 822, č. 1, s. 59-66.
- [22] MEYER, VERONIKA. R. *Practical high-performance liquid chromatography*. 5. vyd. West Sussex: John Wiley and Sons, Ltd., 2010. 426 s. ISBN 978-0-470-68217-3.
- [23] ASHOOR, S.H., SEPERICH, G.J., MONTE, W.C., WELTY, J. HPLC Determination of Riboflavin in Eggs and Dairy Products. *Journal of Food Science*. 1983, roč. 48, č. 1, s. 92-94.

- [24] BARNA, E., DWORSCHÁK, E. Determination of thiamine (vitamin B₁) and riboflavin (vitamin B₂) in meat and liver by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1994, roč. 668, č. 2, s. 359-363.
- [25] MONETTI, A., VRHOVŠEK, U., TONON, D., ANDRÉS-LACUEVA, C. High-performance liquid chromatographic determination of the riboflavin concentration in white wines for predicting their resistance to light. *Journal of Chromatography A*. 2000, roč. 888, č. 1-2, s. 121-127.
- [26] BATIFOULIER, F., VERNY, M.-A., CHANLIAUD, E., RÉMÉSY, C., DEMIGNÉ, C. Effect of different breadmaking methods on thiamine, riboflavin and pyridoxine contents of wheat bread. *Journal of Cereal Science*. 2005, roč. 42, č. 1, s. 101-108.
- [27] ANDRÉS-LACUEVA, C., MATTIVI, F., TONON, D. Determination of riboflavin, flavin mononucleotide and flavin-adenine dinucleotide in wine and other beverages by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*. 1998, roč. 823, č. 1-2, s. 355-363.
- [28] MUÑOZ, A., ORTIZ, R., MURCIA, M.A. Determination by HPLC of changes in riboflavin levels in milk and nondairy imitation milk during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 1994, roč. 49, č. 2, s. 203-206.
- [29] JAKOBSEN, J. Optimisation of the determination of thiamin, 2-(1-hydroxyethyl) thiamin, and riboflavin in food samples by use of HPLC. *Food Chemistry*. 2008, roč. 106, č. 3, s. 1209-1217.
- [30] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Harok v Šenově: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [31] JANČÁŘOVA, I., JANČÁŘ, L. *Analytická chemie*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita, 2003. 195 s. ISBN 80-7157-647-6.
- [32] ŠTULÍK, K. A KOL. *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2005. 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [33] SNYDER, L.R., KIRKLAND, J.J., DOLAN, J.W. *Introduction to modern liquid chromatography*. 3. vyd. West Sussex: John Wiley and Sons, Ltd., 2010. 912 s. ISBN 978-0-470-16754-0.

- [34] CHURÁČEK, J., JANDERA, P. *Separace látek – Kapalinová vysokoúčinná kolonová chromatografie*. 2.vyd. Praha: SNTL, 1986. 140 s. ISBN 450-33685.
- [35] JANDERA, P., CHURÁČEK, J. *Kapalinová chromatografie s programovatelným složením mobilní fáze*. 1. vyd. Praha: Academia, 1984. 149 s. ISBN 21-128-83.
- [36] ANDREY, R.E. *Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction*. 1. vyd. West Sussex: John Wiley and Sons, Ltd., 2003. s. 276. ISBN 0-471-49801-7.
- [37] KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita, 2008. 141 s. ISBN 978-80-7157-811-6.
- [38] PELIKÁN, M. *Zpracování obilovin a olejnin*. 2. vyd. Brno: MZLU, 2001. s. 152. ISBN 80-7157-525-9.
- [39] PŘÍHODA J., SKŘIVAN P., HRUŠKOVÁ M. *Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2004. s. 203. ISBN 80-7080-530-7.
- [40] HAMPL, J. *Cereální chemie a technologie*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1970. s. 400. ISBN 04-806-70.
- [41] MORÁVKOVÁ, E. , POSPÍCHALOVÁ, M., ŠULOVÁ, R. Příprava pšeničné mouky pro Rapid Mix Test. *Bulletin Národní referenční laboratoře*. 2007, roč. 11, č. 3. s. 29-48.
- [42] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. 1. vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2007. 55 s. ISBN 978-80-7271-184-0.
- [43] DUCHOŇOVÁ, L., ŠTURDÍK, E. Cereals as basis of preventing nutrition against obesity. *Potravinářstvo*. 2010. roč. 4, č. 4. s. 6-15.
- [44] ROSELL, C., M., SANTOS, E., SANZ PENELLA, J., M., HAROS, M. Wholemeal wheat bread: A comparison of different breadmaking processes and fungal phytase addition. *Journal of Cereal Science*. 2009, roč. 50, č. 2, s. 272-277.
- [45] GIACCO, R., CLEMENTE, G., CIPRIANO, D., LUONGO, D., VISCOVO, D., PATTI, L., DI MARINO, L., GIACCO, A., NAVIGLIO, D., BIANCHI, M.A., CIATI, R., BRIGHENTI, F., RIVELLESE, A.A., RICCARDI G. Effects of the regular consumption of

wholemeal wheat foods on cardiovascular risk factors in healthy people. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2010, roč. 20, č. 3, s. 186-194.

[46] DEWETTINCK, K., VAN BOCKSTAELE, F., KÜHNE, B., VAN DE WALLE, D., COURTENS, T.M., GELLYNCK, X. Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *Journal of Cereal Science*. 2008, roč. 48, č. 2, s. 243 – 257.

[47] KADLEC, P. A KOL. *Technologie potravin I*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2007. 300 s. ISBN 80-7080-509-9.

[48] SLAVIN, J. *Whole Grain and Human Health*. Nutrition Research Reviews. 2004, roč. 17, s. 99–110. ISBN 951-38-5719-0.

[49] Proč jíst celozrnné pečivo? [online]. [cit. 2011-01-27]. Dostupný z WWW:

<<http://www.penam.cz/cs/zijte-zdrave/zdrava-vlaknina/proc-jist-celozrnnne-pecivo>>.

[50] KUNOVÁ, V. *Zdravá výživa a hubnutí v otázkách a odpovědích*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2005. s. 128. ISBN 80-247-1050-1.

[51] ALBERTS D.S, MARTÍNEZ M.E, ROE D.J, GUILLÉN-RODRÍGUEZ J.M, MARSHALL J.R, VAN LEEUWEN J.B, REID M.E, RITENBAUGH C, VARGAS P.A, BHATTACHARYYA A.B, EARNEST D.L, SAMPLINER R.E. Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. *The New England Journal of Medicine*. 2000, roč. 342, č. 16, s. 1056-1062.

[52] Význam celozrnných výrobků. [online]. [cit. 2011-03-26]. Dostupný z WWW:

<<http://www.eufic.org/article/cs/artid/celozrnnych-vyrobku>>.

[53] The Official Website of the Glycemic Index and GI Database [online]. [cit. 2011-02-11]. Dostupný z WWW:

<<http://www.glycemicindex.com/>>.

[54] D.J. JENKINS, D.J., WESSON, V., WOLEVER, T.M., JENKINS, A.L., KALMUSKY, J., GUIDICI, S., CSIMA, A., JOSSE, R.G., WONG, G.S. Wholemeal versus wholegrain breads: proportion of whole or cracked grain and the glycaemic response. *The Journal of Nutrition*. 2007, roč. 137, č. 6, s. 1401-1407.

[55] MINAŘÍK, B. *Statistika I, Popisná statistika I. část.* 2. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2006. 98 s. ISBN 80-7157-928-9.

[56] Zhodnocení přesnosti měření. [online]. [cit. 2011-04-29]. Dostupný z WWW:

<tf.czu.cz/~sedlacek/Pro%20studenty/zhodnoceni.doc>.

[57] STÁVKOVÁ, J., DUFER, J. *Biometrika*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2003. s. 194. ISBN 80-7157-486-4.

[58] USDA National Nutrient Database for Standard Reference. [online]. [cit. 2011-03-17]. Dostupný z WWW: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>>.

[59] BATIFOULIER, F., VERNY, M.-A., CHANLIAUD, E., RÉMÉSY, C., DEMIGNÉ, C. Variability of B vitamin concentrations in wheat grain, milling fractions and bread products. *European Journal of Agronomy*. 2006, roč. 25, č. 2, s. 163-169.

[60] Sikorová, P. *Diplomová práce*. UTB, 2008, s. 123.

[61] LEPORATI, A., CATELLANI, D., SUMAN, M., ANDREOLI, R., MANINI, P., NIESSEN, W., M.A. Application of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method to the analysis of water-soluble vitamins in Italian pasta. *Analytica Chimica Acta*. 2005, roč. 531, č. 1, s. 87-95.

[62] Vitamin B₂ Food Charts. [online]. [cit. 2011-02-26]. Dostupný z WWW:

<<http://healthyeatingclub.com/info/books-phds/books/foodfacts/html/data/data4b.html>>.

[63] Katalog výrobků Opavia. [online]. [cit. 2011-03-02]. Dostupný z WWW:

<<http://www.opavia-lu.com/cz/vyrobky/>>.

[64] KENT, N.L., AVERS, A.D. *Technology of cereals: an introduction for students of food science and agriculture*. 4.vyd. Oxford: Elsevier Science Ltd., 1994. 334 s. ISBN 0 08 040833 8.

[65] Knäckebrot. [online]. [cit. 2011-03-10]. Dostupný z WWW:

<<http://www.baeko-magazin.de/magazin/warenkunde/show/61/>>.

[66] LUKASKI, H., C. Vitamin and Mineral Status: Effects on Physical Performance. *Nutrition*. 2004, roč. 20, č. 7-8, s. 632-644.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

DDD Doporučená denní dávka

FMN Flavinmononukleotid

FAD Flavinadenindinukleotid

HDL High density lipoproteid (Lipoproteiny o vysoké hustotě)

HPLC High – Pressure Liquid Chromatography

(Vysoce účinná kapalinová chromatografie)

LDL Low density lipoproteid (Lipoproteiny o nízké hustotě)

UV Ultrafialové záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Riboflavin (oxidovaná forma).....</i>	<i>15</i>
<i>Obr. 2. FAD a FMN.....</i>	<i>16</i>
<i>Obr. 3. Schéma HPLC.....</i>	<i>30</i>
<i>Obr. 4. Struktura obilného zrna.....</i>	<i>36</i>
<i>Obr. 5. Kalibrační přímka pro stanovení vitamínu B₂ metodou HPLC/UV.....</i>	<i>54</i>
<i>Obr. 6. Sestupné pořadí jednotlivých celozrnných produktů podle obsahu vitamínu B₂.....</i>	<i>72</i>

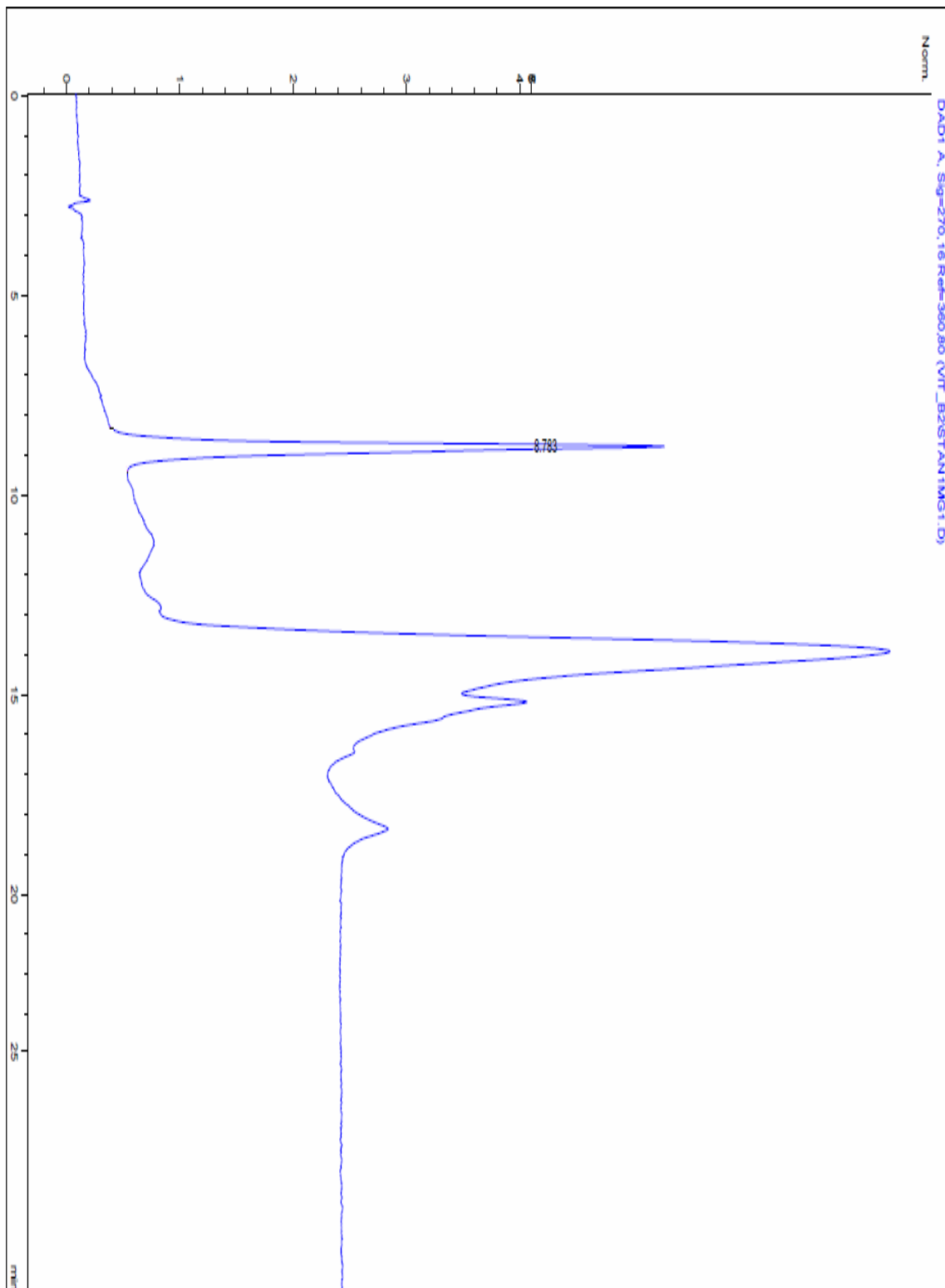
SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Obsah vitamínu B₂ v potravinách.....</i>	<i>19</i>
<i>Tab. 2. Obsah vitamínu B₂ v některých potravinách.....</i>	<i>26</i>
<i>Tab. 3. Chemické složení anatomických částí zrna v % sušiny.....</i>	<i>37</i>
<i>Tab. 4. Rozložení vitamínů skupiny B v pšeničném zrně v % celkového obsahu.....</i>	<i>39</i>
<i>Tab. 5. Chemické složení pšeničné mouky v závislosti na stupni vymletí.....</i>	<i>41</i>
<i>Tab. 6. Vzorky celozrnných mouk.....</i>	<i>45</i>
<i>Tab. 7. Vzorky celozrnného chleba a pečiva.....</i>	<i>45</i>
<i>Tab. 8. Vzorky celozrnných těstovin.....</i>	<i>46</i>
<i>Tab. 9. Vzorky celozrnných sušenek, lupínků a chlebičků.....</i>	<i>46</i>
<i>Tab. 10. Seznam použitých chemikálií.....</i>	<i>47</i>
<i>Tab. 11. Seznam použitých pomůcek a přístrojů.....</i>	<i>47</i>
<i>Tab. 12. Přístrojové vybavení HPLC.....</i>	<i>48</i>
<i>Tab. 13. Složení mobilní fáze v závislosti na čase.....</i>	<i>52</i>
<i>Tab. 14. Průměrné hodnoty ploch pík standardních roztoků vitamínu B₂.....</i>	<i>54</i>
<i>Tab. 15. Kvantily studentova rozdělení t_p(v).....</i>	<i>56</i>
<i>Tab. 16. Obsah vitamínu B₂ v celozrnných produktech a pokrytí DDD (100 g výrobku)....</i>	<i>73</i>

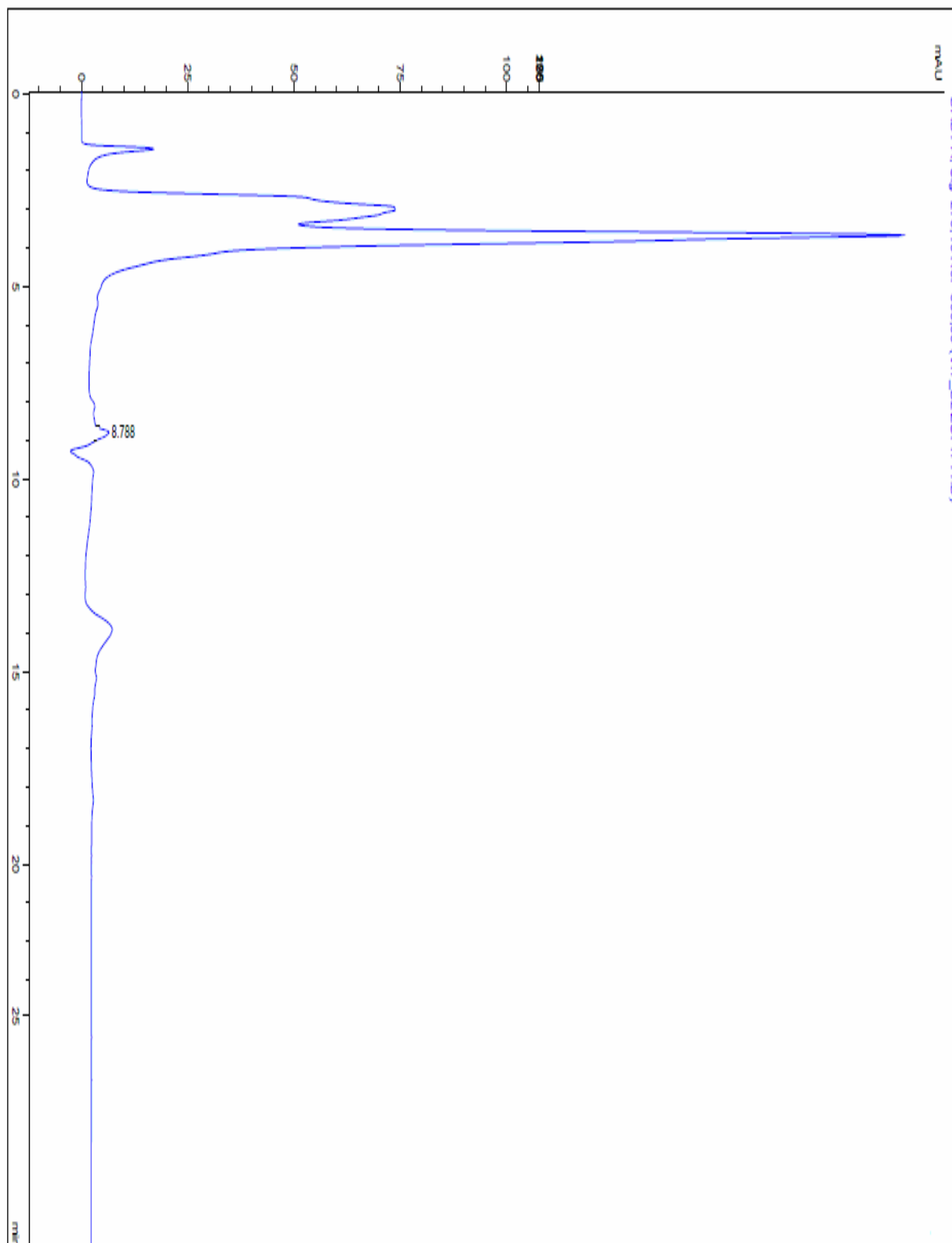
SEZNAM PŘÍLOH

- PI Chromatogram standardu vitamínu B₂ o koncentraci 1 mg.l⁻¹
- PII Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Fitness
- PIII Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnného chleba
- PIV Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku pšeničných
celozrnných vlasových nudlí
- PV Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné pšeničné
mouky

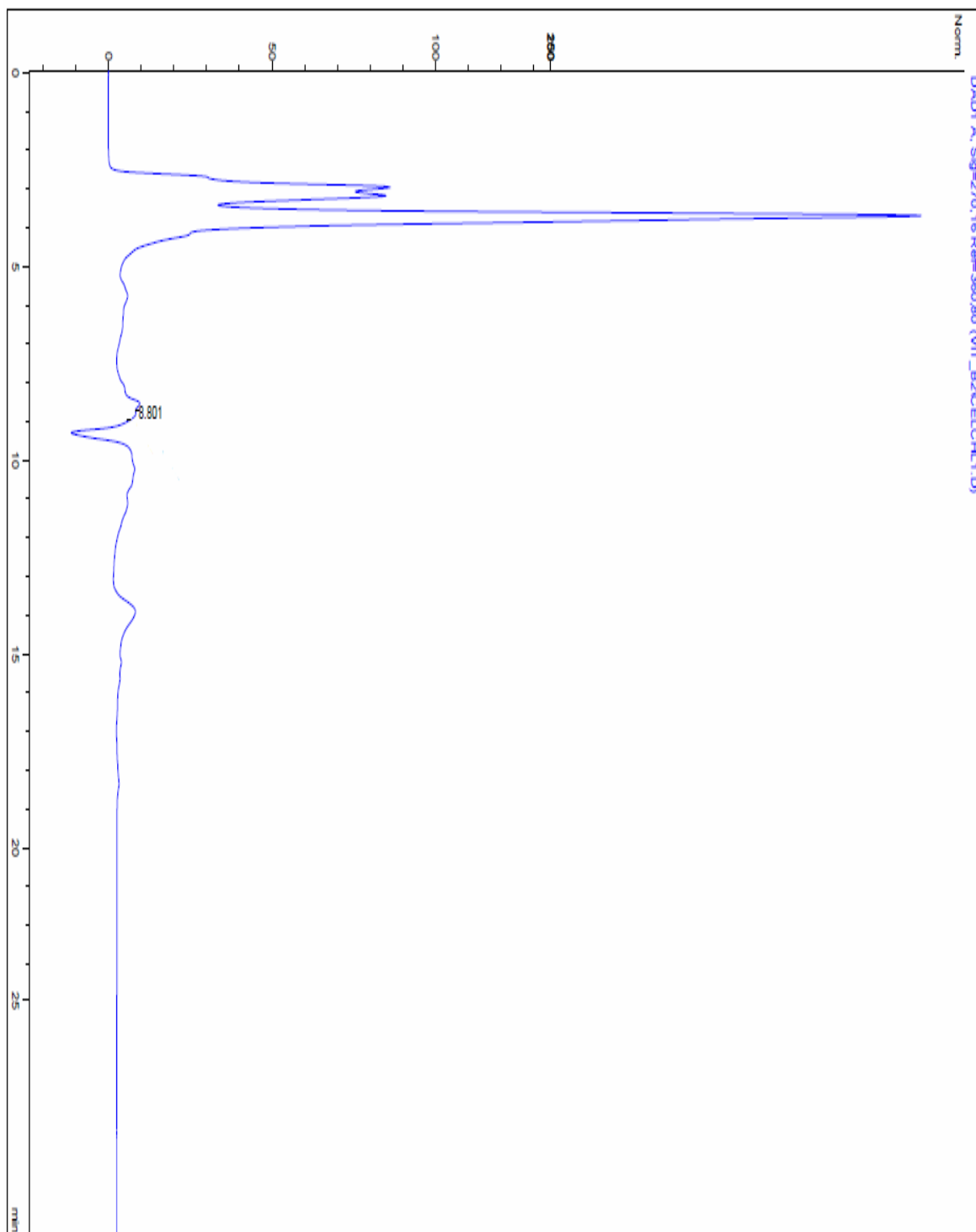
PŘÍLOHA P I: Chromatogram standardu vitamínu B₂ o koncentraci 1 mg.l⁻¹



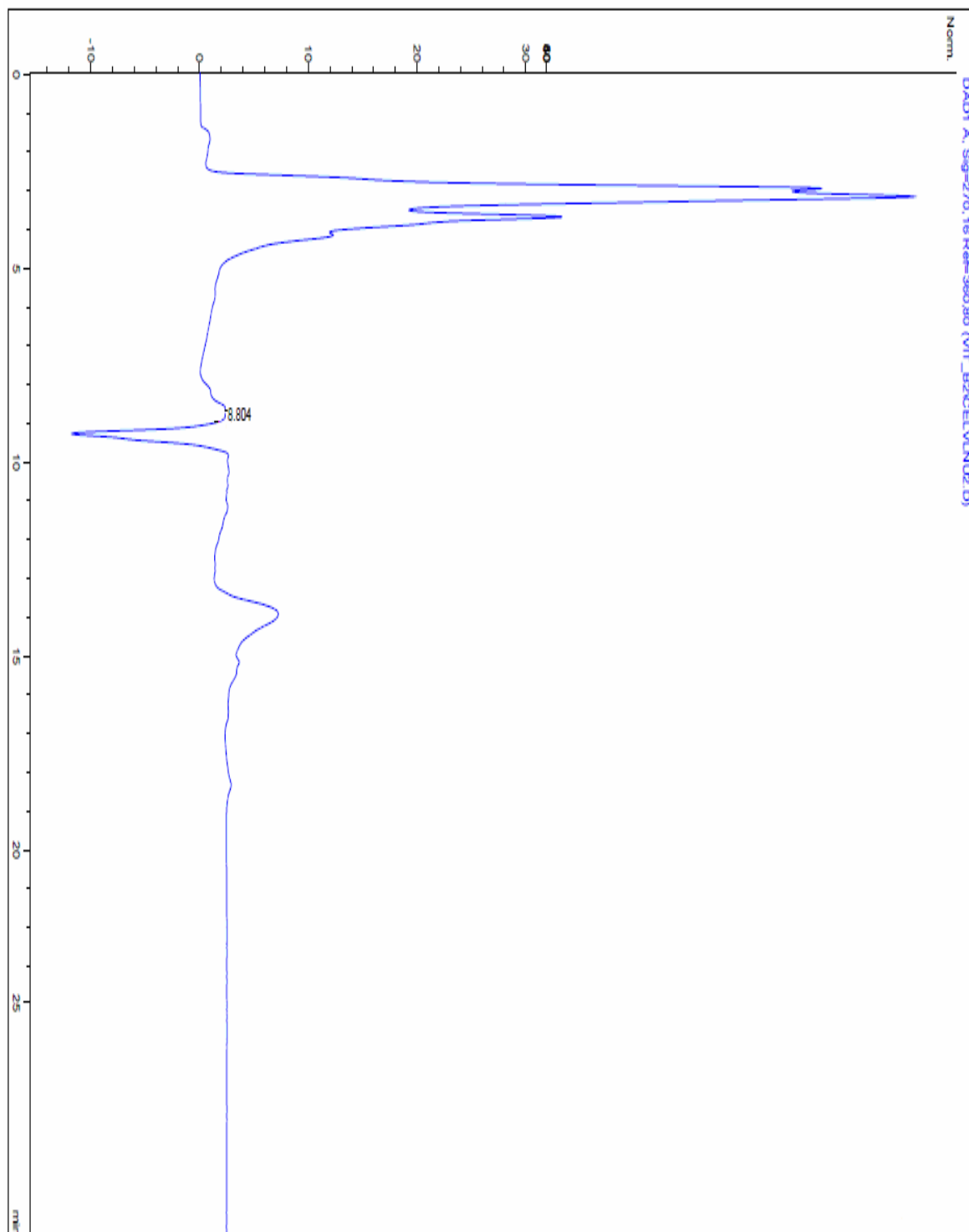
PŘÍLOHA P II: Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku Fitness



PŘÍLOHA P III: Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzor- ku celozrnného chleba



PŘÍLOHA P IV: Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku pšeničných celozrnných vlasových nudlí



PŘÍLOHA P V: Chromatogram stanovení obsahu vitamínu B₂ ve vzorku celozrnné pšeničné mouky

