

# **Stanovení vitamínu B<sub>2</sub> v produktech z pohanky a prosa**

Bc. Hana Turečková

---

Diplomová práce  
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav biochemie a analýzy potravin  
akademický rok: 2009/2010

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Hana TUREČKOVÁ**  
Osobní číslo: **T08823**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Stanovení vitamínu B2 v produktech z pohanky a prosa**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika vitamínu B2 – riboflavinu, jeho zdrojů a vlastností.
2. Popis analytických metod využívaných pro stanovení tohoto vitamínu, se zaměřením především na chromatografickou metodu HPLC.
3. Popis pohanky a prosa – složení, vlastnosti.

### II. Praktická část

1. Optimalizace izolačního a analytického postupu pro stanovení riboflavinu pomocí chromatografické techniky HPLC/UV.
2. Stanovení obsahu vitamínu B2 ve vybraných produktech z pohanky a prosa technikou HPLC s UV detekcí.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] Velišek, J. *Chemie potravin*. 1. vyd. Tábor: Osis, 1999. 304s.

[2] Hlúbik, P., Opltová, L. *Vitaminy*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. 232 s.

[3] Churáček, J. a kol. *Analytická separace látek*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1990. 384 s.

[4] Kubáň, V., Kubáň, P. *Analýza potravin*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2007. 202 s.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce:

**4. ledna 2010**

Termín odevzdání diplomové práce:

**19. května 2010**

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
*ředitel ústavu*

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce je zaměřena na charakteristiku riboflavinu (vitaminu B<sub>2</sub>), jeho zdroje, vlastnosti, ztráty během zpracování potravin, možnosti stanovení riboflavinu (chromatografické metody, především HPLC) a popis pohanky, prosa a jáhel, jejich složení a využití. Praktická část se zabývá stanovením obsahu riboflavinu v pohankových a prosných produktech (např. mouka, vločky, jáhly) technikou HPLC/UV-DAD.

Klíčová slova: pohanka, proso, vitamin B<sub>2</sub>, riboflavin, obsah, HPLC/UV-DAD

## **ABSTRACT**

The thesis is focused on the characterization of riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>), its sources, properties and losses after processing, possibilities of riboflavin determination (chromatographic methods, especially HPLC) and the description of buckwheat and millet, their composition and utilization. The practical part deals with the determination of riboflavin content of buckwheat and millet products (e.g. flour, flakes, millet) by HPLC/UV-DAD.

Keywords: buckwheat, millet, vitamin B<sub>2</sub>, riboflavin, content, HPLC/UV-DAD

Tímto bych chtěla poděkovat Ing. Soni Škrovánkové, Ph.D. za odborné vedení, poskytnutí cenných připomínek a rad, trvalý zájem a podporu při vypracování diplomové práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

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, 12. 5. 2010

.....

Podpis studenta

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové 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 <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou 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 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 práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové 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 12. 5. 2010

.....

---

<sup>1)</sup> 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 nahlázení 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.

<sup>2)</sup> 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).

<sup>3)</sup> 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

<b>ÚVOD</b> .....	<b>11</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>12</b>
<b>1 VITAMINY</b> .....	<b>13</b>
1.1 RIBOFLAVIN .....	15
1.2 VLASTNOSTI RIBOFLAVINU .....	17
1.3 FYZIOLOGIE RIBOFLAVINU .....	18
1.4 DOPORUČENÁ DENNÍ DÁVKA.....	19
1.5 VÝSKYT RIBOFLAVINU V POTRAVINÁCH .....	20
1.6 ZTRÁTY RIBOFLAVINU PŘI ZPRACOVÁNÍ POTRAVIN .....	21
1.7 METODY STANOVENÍ RIBOFLAVINU .....	23
1.7.1 HPLC.....	24
<b>2 KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE</b> .....	<b>27</b>
2.1 VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE .....	28
2.2 APARATURA HPLC .....	29
2.2.1 Čerpadla mobilní fáze .....	29
2.2.2 Zařízení pro gradientovou eluci .....	30
2.2.3 Dávkovací systém .....	30
2.2.4 Kolony .....	31
2.2.5 Detektory .....	31
<b>3 POHANKA</b> .....	<b>34</b>
3.1 BOTANICKÁ CHARAKTERISTIKA .....	34
3.2 NÁROKY NA PROSTŘEDÍ A PĚSTOVÁNÍ POHANKY.....	37
3.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ POHANKY.....	39
3.3.1 Bílkoviny .....	39
3.3.2 Tuky .....	40
3.3.3 Sacharidy .....	41
3.3.4 Minerální látky .....	41
3.3.5 Vitaminy.....	42
3.3.6 Antioxidanty.....	42
3.4 VYUŽITÍ POHANKY .....	43
3.4.1 Pohanka jako potravina .....	43
3.4.2 Pohanka jako krmivo.....	44
3.4.3 Pohanka jako meziplodina .....	44
3.4.4 Pohanka jako medonosná rostlina .....	44
3.5 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY .....	45
<b>4 PROSO</b> .....	<b>46</b>
4.1 BOTANICKÁ CHARAKTERISTIKA .....	46
4.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ.....	48
4.2.1 Bílkoviny .....	48
4.2.2 Tuky .....	49
4.2.3 Sacharidy .....	49
4.2.4 Minerální látky .....	49



4.2.5	Vitaminy.....	50
4.3	NÁROKY NA PROSTŘEDÍ A PĚSTOVÁNÍ PROSA .....	50
4.4	VYUŽITÍ PROSA .....	51
4.4.1	Proso jako potravina.....	51
4.4.2	Proso jako krmivo .....	52
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE .....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....</b>	<b>55</b>
6.1	VZORKY PRODUKTŮ Z POHANKY A PROSA .....	55
6.2	SEZNAM CHEMIKÁLÍ.....	56
6.3	POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	57
<b>7</b>	<b>METODIKA STANOVENÍ RIBOFLAVINU .....</b>	<b>58</b>
7.1	OPTIMALIZACE IZOLACE RIBOFLAVINU Z POHANKOVÝCH PRODUKTŮ .....	58
7.2	OPTIMALIZACE IZOLACE RIBOFLAVINU Z JAHELNÝCH PRODUKTŮ .....	58
7.3	IZOLACE RIBOFLAVINU .....	59
7.4	CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ RIBOFLAVINU .....	59
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>62</b>
8.1	STANOVENÍ RIBOFLAVINU METODOU HPLC/UV.....	62
8.1.1	Kalibrační křivka pro chromatografické stanovení riboflavinu .....	62
8.1.2	Výsledky stanovení obsahu riboflavinu v produktech z pohanky .....	63
8.1.2.1	Stanovení obsahu riboflavinu v pohankové mouce .....	64
8.1.2.2	Stanovení obsahu riboflavinu v celozrnné pohankové mouce.....	64
8.1.2.3	Stanovení obsahu riboflavinu v pohance ve varných sáčcích.....	65
8.1.2.4	Stanovení obsahu riboflavinu v pohance celé.....	66
8.1.2.5	Stanovení obsahu riboflavinu v neloupané pohance.....	67
8.1.2.6	Stanovení obsahu riboflavinu v loupané pohance tmavé.....	67
8.1.2.7	Stanovení obsahu riboflavinu v loupaných pohankových kroupách ...	68
8.1.2.8	Stanovení obsahu riboflavinu v pohance bio lámance.....	69
8.1.2.9	Stanovení obsahu riboflavinu v pohankové krupici .....	70
8.1.2.10	Stanovení obsahu riboflavinu v instantních pohankových vločkách...	70
8.1.2.11	Stanovení obsahu riboflavinu v instantních pohankových vločkách...	71
8.1.2.12	Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových vločkách .....	72
8.1.2.13	Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových krupkách.....	72
8.1.2.14	Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových pukancích .....	73
8.1.2.15	Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových slupkách.....	74
8.1.3	Porovnání obsahu riboflavinu v pohankových produktech.....	74
8.1.4	Výsledky stanovení obsahu riboflavinu v produktech z prosa.....	77
8.1.4.1	Stanovení obsahu riboflavinu v jahelné mouce hrubé .....	78
8.1.4.2	Stanovení obsahu riboflavinu v jáhlech.....	78
8.1.4.3	Stanovení obsahu riboflavinu v jahelných vločkách .....	79
8.1.4.4	Stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku jahelných vloček bio .....	79
8.1.5	Porovnání obsahu riboflavinu v produktech z prosa.....	80
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>83</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>85</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>90</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>91</b>

<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>92</b>
----------------------------	-----------

## ÚVOD

I když vitamíny nejsou řazeny mezi základní živiny jako bílkoviny, tuky a sacharidy, jsou pro lidský organismus nepostradatelné. Některé vitamíny je heterotrofní organismus schopen částečně syntetizovat střevní mikroflórou, jiné (jako například vitamin B<sub>2</sub>) musí přijímat potravou nebo prostřednictvím doplňků stravy.

Riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>) byl izolován ve 30. letech minulého století z vaječného bílku, mléka, syrovátky, kvasnic a jater. V biochemických systémech se vyskytuje buď volný, ale nejčastěji vázaný ve formě koenzymů oxidoredukčních enzymů (FMN a FAD). Tyto enzymy se účastní metabolismu bílkovin, tuků a sacharidů.

Nejlepšími rostlinnými zdroji riboflavinu jsou obilné klíčky, celozrnné cereálie, luštěniny, houby, ale i pohanka. Ze živočišných surovin je nejvíce riboflavinu obsaženo v játrech, ledvinách, mase, vejcích, mléku a mléčných výrobcích. Při běžné kuchyňské úpravě je riboflavin poměrně stálý. Ke ztrátám dochází během ozáření potravin UV zářením a při vystavení dennímu světlu.

Riboflavin lze stanovit různými analytickými i mikrobiologickými metodami, například lumiflavinovou metodou, tenkovrstevnou chromatografií nebo kapilární elektroforézou. Nejčastěji používanou metodou je ale vysokoúčinná kapalinová chromatografie s ultrafialovým detektorem.

Se zájmem o zdravý životní styl se zvýšila i poptávka po skoro zapomenutých plodinách, jako jsou pohanka a proso. Tyto plodiny mají poměrně vysoký obsah vitamínů a minerálních látek a vhodnější nutriční vlastnosti ve srovnání s ostatními obilovinami.

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu riboflavinu v produktech z pohanky a prosa (pohanková mouka, pohanková mouka celozrnná, pohanka ve varných sáčkích, pohanka celá, pohanka loupaná kroupy, pohanka neloupaná, pohanka loupaná tmavá, pohanka lámanka bio, pohanková krupice, pohankové vločky instantní, pohankové vločky, pohankové slupky, pohankové křupky, pohankové pukance, jáhly, jahelná mouka hrubá, jahelné vločky a jahelné vločky bio). Před analýzou byla provedena optimalizace izolačního postupu vitamínu. Následně byl riboflavin stanoven metodou HPLC/UV-DAD.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 VITAMINY

Vitaminy jsou organické esenciální nízkomolekulární sloučeniny syntetizované autotrofními organismy. Heterotrofní organismus je nedokáže z jednoduchých sloučenin syntetizovat a musí je přijímat jako exogenní látky ve formě potravy. Některé vitaminy je heterotrofní organismus schopen syntetizovat střevní mikroflórou (vitamin K a částečně i vitamin B<sub>12</sub>). Z hlediska jejich charakterizace je tedy důležitá jejich exogennost, esenciálnost a katalytický charakter. [1, 2]

Pro organismus jsou vitaminy nepostradatelné, neboť plní několik podstatných funkcí, např. samy nebo ve formě sloučenin katalyzují řadu reakcí látkové výměny, vytvářejí důležité oxidačně-redukční systémy a plní funkci antioxidantů (tlumí tvorbu aktivní formy kyslíku, popřípadě dusíku). Hydrofilní vitaminy se uplatňují jako prekurzory kofaktorů některých důležitých enzymů v metabolismu nukleových kyselin, bílkovin, sacharidů, tuků a dalších sekundárních produktů metabolismu. Nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem. [3, 4]

Organické sloučeniny bez vitaminosního účinku, které se působením ultrafialového záření nebo enzymových systémů v těle živočichů mění na vitaminy, se nazývají provitaminy (např. β-karoten je provitaminem vitaminu A). [5]

Vitaminy jsou chemicky velmi rozmanité látky, citlivé na fyzikálně chemické vlivy. Neměly by být vystavovány vysokým teplotám, slunečnímu záření a vzdušnému kyslíku. Množství vitaminů v potravě je ovlivněno nejen genetickým předpokladem, skladováním a technologickým zpracováním, ale u potravin rostlinného původu i stupněm zralosti, klimatickými podmínkami a hnojením. Proto je možno říct, že obsah vitaminů v surovinách a potravě je ukazatelem kvality a jakosti. [6]

Množství vitaminů v potravinách je velmi nestálé a závisí na druhu vitaminu i potraviny. Pohybuje se v řádech  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  až několik  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Vyskytují se buď jako volné nebo vázané nejčastěji na bílkoviny nebo sacharidy. Mezi stěžejní zdroje vitaminů se řadí běžné složky potravy jako je maso a masné výrobky, mléko a mléčné výrobky, vejce, cereální výrobky, ovoce a zelenina. [6]

Potřeba jednotlivých vitaminů se pro různé organismy liší, neboť všechny organismy nepotřebují všechny vitaminy. Jakmile je určitá látka nepostradatelným biokatalyzátorem, stává se pro tento organismus vitamínem. Potřebné množství vitaminů, k zajištění normálních fyziologických funkcí člověka, je poměrně malé a závislé na mnoha faktorech jako je stáří, pohlaví, zdravotní stav, životní styl, stravovací návyky, pracovní aktivita apod. [2, 6]

Nedostatečný příjem daného vitamínu se nazývá hypovitaminosa. Při dlouhodobém absolutním nedostatku vitamínu dochází k avitaminose, která se projevuje fatálními zdravotními následky. V České republice se avitaminosa prakticky vůbec nevyskytuje, ale hypovitaminosa některých vitaminů je běžná. Avitaminosa vzniká nejen nedostatečným příjmem potravy s nízkým obsahem daného vitamínu, ale i špatnou resorpcí v zažívacím traktu, vlivem některých fyziologických změn v organismu a v některých případech i zvýšenou potřebou vitaminů při zvýšené fyzické nebo psychické zátěži. Dále pak působením antivitaminů, které brání plnému využití vitaminů nebo vitaminy inhibují. Hypervitaminosa je způsobena nadměrným přísunem vitaminů rozpustných v tucích, především vitaminy skupiny A a D. Způsobuje poruchy biochemických procesů a může vést k těžkým onemocněním. [5, 6, 7]

Vitaminy byly objeveny až v 19. století s rozvojem chemie. V době kdy nebyla známa chemická struktura všech vitaminů, se používaly názvy související s nedostatkem příslušného vitamínu např. vitamin proti šerosleposti (vitamin A) nebo antiskorbutický vitamin (vitamin C). Později se označovaly velkými písmeny abecedy podle toho, jak byly postupně objevovány. Při zjištění stejných fyziologických vlastností u více sloučenin, se k písmenům přiřazovaly číselné indexy a následně se používaly triviální názvy. Dnes se používají názvy odvozené od chemického složení vitaminů. [2, 6]

Na základě rozpustnosti se vitaminy dělí na hydrofilní a lipofilní. Na tom, jestli jsou rozpustné ve vodě nebo v tucích závisí, jak jsou vstřebávány z trávicího traktu, transportovány organismem, ukládány v těle a vylučovány. Hydrofilní vitaminy jsou rozpustné ve vodě. Při nadměrném příjmu se jejich případný přebytek může vylučovat močí a tak se mohou jen výjimečně hromadit v těle v toxických koncentracích. Z tohoto důvodu jsou omezené zásoby v organismu, a proto musí být plynule dodávány. Snadno degradují, při vaření se částečně ničí teplem a z větší části jsou vyluhovány do vody. Mezi hydrofilní vitaminy se řadí vitaminy skupiny B, tedy tiamin (vitamin B<sub>1</sub>), riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>), kyselina nikotinová a nikotinamid (vitamin PP, vitamin B<sub>3</sub>), kyselina

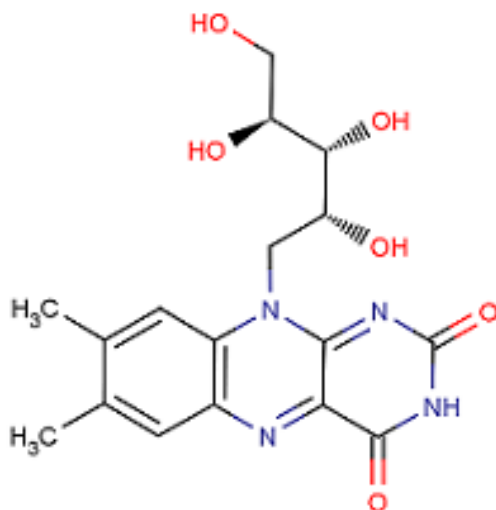
pantotenová (vitamin B<sub>5</sub>), pyridoxin (vitamin B<sub>6</sub>), korinoidy (B<sub>12</sub>), folacin, biotin, vitamin C (kyselina L-askorbová a dehydroaskorbová). [8, 9]

Lipofilní vitaminy jsou rozpustné v tucích, ukládají se v játrech a proto při konzumaci vyšších dávek, může dojít k hypervitaminose. Zásoby v organismu pokryjí denní potřebu i na několik let. Vitaminy rozpustné v tucích jsou poměrně stabilní. Mezi ně se řadí vitamin A (all-trans retinoidy), vitamin D (ergokalciferol a cholekalciferol), vitamin E (tokoferoly a tokotrienoly), vitamin K (fylochinony a farnochinony) a jejich příbuzné sloučeniny, z nichž některé působí jako jejich prekurzory. [6, 9]

## 1.1 Riboflavin

Před více než 110 lety bylo z kravského mléka izolováno jasně žluté barvivo zvané laktochrom, které bylo před druhou světovou válkou rozpoznáno jako vitamin tvořící součást B-komplexu a pojmenováno riboflavin. Riboflavin neboli vitamin B<sub>2</sub>, je hydrofilní a patří do skupiny flavinů. [10]

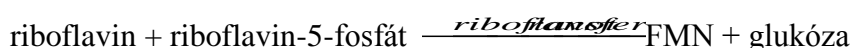
Molekula riboflavinu je tvořena heterocyklickým isoalloxazinovým jádrem připojeným na ribitol (6,7-dimetyl-9-(D-1'-ribityl) izoalloxazin) (Obr. 1). Riboflavin tvoří žluté krystaly odolné vysokým teplotám s bodem tání v rozmezí 275 až 292°C. [2]



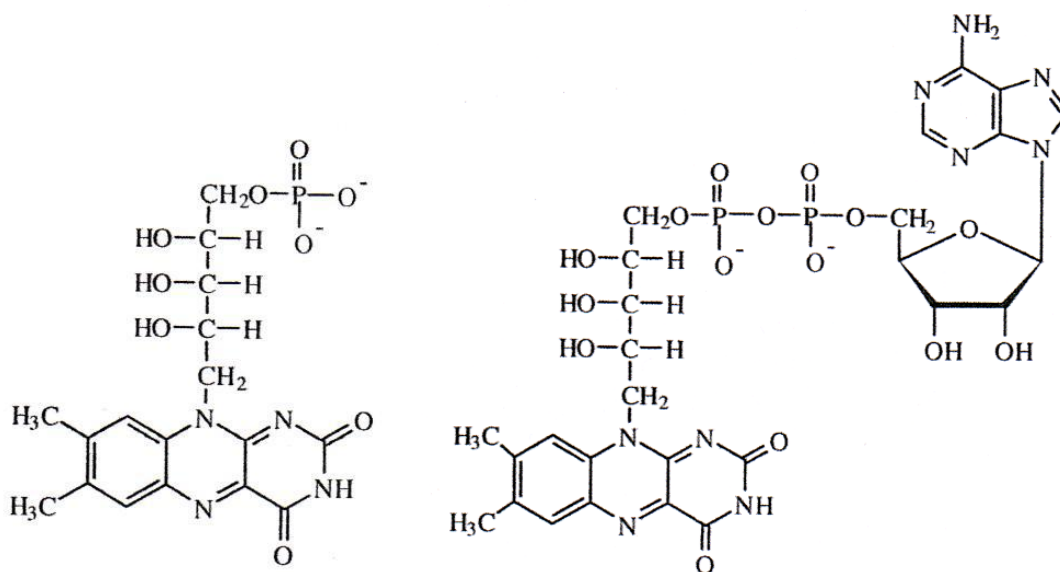
Obr. 1: Struktura molekuly riboflavinu

V biochemických systémech se riboflavin vyskytuje jako volný, ale hlavně ve formě flavinmononukleotidu FMN a flavinadenindinukleotidu FAD (Obr. 2).

Flavinmononukleotid pravým nukleotidem není, je to riboflavin-5-fosfát. FMN a FAD jsou pevně vázány na proteinový apoenzym (Obr. 2) a nedisociují ani při izolaci a purifikaci enzymu. Tyto kovalentně vázané deriváty riboflavinu jsou kofaktory 30 - 40 enzymů, označovaných jako flavinové enzymy, obecněji jako flavoproteiny. Flavínové kofaktory jsou širokospektrální katalyzátory v biologických oxidačně redukčních systémech. Flavinmononukleotid neboli riboflavin-5-fosfát je syntetizován v organismech enzymem riboflavokinázou nebo riboflavotransferázou: [5, 11, 12]



Flavinadeninindinukleotid vzniká z FMN adenylací účinkem *FMN-adenyltransferasy*:



Obr. 2: Molekuly flavinmononukleotidu a flavinadeninindinukleotidu

FAD a FMN jsou rozhodující pro metabolismus sacharidů, lipidů a proteinů. Oba flavínové kofaktory jsou v oxidované formě žluté. Jako vlastní přenašeč vodíkových atomů působí isoalloxazinový kruh, na jehož dva atomy dusíku se připojují dva atomy vodíku za vzniku hydrochinoidní struktury. Tato redukce je spojena s vymizením žlutého zbarvení. Oxidovaná a redukovaná forma se liší jak barvou, tak i absorpčními spektry, čehož se využívá při fotometrickém sledování. [5, 12]



FAD a FMN jsou koenzymy nebo prostetickými skupinami čtených dehydrogenáz a oxidáz. Jsou akceptory vodíkových atomů z redukovaných forem pyridinových koenzymů a vstupují do reakcí, ve kterých je přenášen kyslíkový atom. Působením enzymů je vodík přenášen na prostetickou skupinu. Aby mohl enzym plnit svou katalytickou funkci, musí být flavinový systém znovu oxidován. Tato reakce probíhá na stejné bílkovině, nejčastěji zapojením dalšího enzymového systému. Flavínové enzymy mohou působit jako aerobní dehydrogenázy přímým přenosem vodíku na kyslík za vzniku peroxidu vodíku. [5,15]

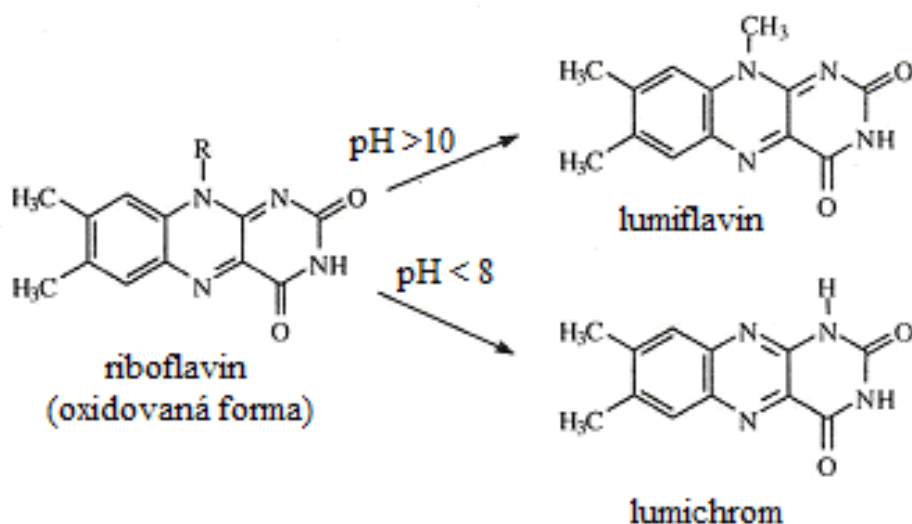
Riboflavin je produkován mnoha mikroorganismy. Průmyslově ho lze vyrábět pomocí kvasinek *Ashbya gossypii* a *Eremothecium ashbyi*, které parazitují na rostlinách. Při aerobních podmínkách a teplotě 26 - 29°C se během 120 hodin vytvoří krystalky riboflavinu. [16]

## 1.2 Vlastnosti riboflavinu

Riboflavin je lehce rozpustný ve vodných roztocích alkalických hydroxidů. Může působit jako akceptor jednoho elektronu za vzniku superoxidového radikálu a jako akceptor dvou elektronů, kdy vzniká peroxid vodíku.[6]

Riboflavin je značně stálý vůči vzdušnému kyslíku a prakticky stálý v kyselém prostředí při vyšších teplotách. Při ozáření viditelným zářením (400 - 750 nm) a zvláště pak ultrafialovým zářením (400 - 100 nm) se riboflavin rychle rozkládá. Působením UV paprsků v neutrálním nebo kyselém pH se riboflavin rozkládá za vzniku lumichromu (6,7-dimetylisaloxazin) nebo v zásaditém prostředí za vzniku bezbarvého lumiflavinu (6,7,9-trimetylisaloxazin) (Obr. 3). Oba flaviny jsou účinnější oxidační činidla než riboflavin. [2, 6, 7]

FMN a riboflavin mají funkci fotosenzibilizátorů, tzn., že předávají absorbovanou světelnou energii vzdušnému kyslíku, ze kterého vzniká singletový kyslík a ten oxiduje další organické sloučeniny. Jednoelektronovou redukcí riboflavinu vznikají dvě formy radikálu riboflavinu, červený anion a modrá neutrální molekula tzv. flavosemichinon. Redukovanou, téměř bezbarvou formou při enzymových oxidoredukčních reakcích je 1,5-dihydroriboflavin, který se spontánně oxiduje vzdušným kyslíkem na riboflavin. Další redukovanou formou je 4a,5-dihydroriboflavin. [6, 15]



Obr. 3: Fotodegradace riboflavinu

### 1.3 Fyziologie riboflavinu

Riboflavin je v těle potřebný k přeměně energie z bílkovin, tuků a sacharidů. Flavinové enzymy jsou akceptory vodíkových atomů z redukovaných pyridinových koenzymů (nikotinamidadenindinukleotid, nikotinamidadenindinukleotidfosfát) a vstupují do reakcí, při kterých je přenášen kyslíkový atom. [5]

Vitamin B<sub>2</sub> pomáhá předejít migrénám, šedému zákalu, revmatické artritidě, akné, zánětům kůže, ale i ekzému. Riboflavin je životně důležitý pro normální reprodukci, růst, regeneraci a vývoj tělesných tkání, včetně kůže, vlasů, nehtů, pojivových tkání, imunitního systému a pro tvorbu červených krvinek. [1]

Riboflavin se účastní procesu vidění, ve kterém převádí krátkovlnné modré paprsky na žlutozelené a tím umožňuje vidění za šera. Dále umožňuje oxidační pochody a metabolismus aminokyselin v oční čočce a rohovce. Velké množství volného riboflavinu se nachází v oční sítnici. [3]

Vitamin B<sub>2</sub> je také součástí enzymu glutathionreduktázy. Glutathionreduktáza je FAD-dependentní enzym, který se účastní redukce glutathionu. Redukce glutathionu hraje důležitou roli při ochraně organismu před reaktivním kyslíkem, např. před peroxidem vodíku. Nedostatek riboflavinu zvyšuje oxidativní stres. Měření aktivity glutathionreduktázy v červených krvinkách se využívá při zjišťování výživové dávky riboflavinu. Redukcí

glutathionu pomocí glutathionperoxidázy a enzymů obsahujících selen dochází k odbourávání peroxidu vodíku na vodu. [3, 6, 13]

Riboflavin se uvolňuje z vazby na bílkoviny v potravě v kyselém prostředí žaludku a je štěpen v proximální části tenkého střeva, kde dochází k regulaci nízké koncentrace riboflavinu pomocí saturačního mechanismu a jeho vyšší koncentrace jsou absorbovány pasivní difúzí. Po fosforylaci vlivem enzymů je riboflavin vázán na bílkovinu a dále transportován do jater, srdce, a ledvin, kde nemůže vytvářet velké zásoby. Z toho důvodu je nutné, aby příjem riboflavinu byl relativně plynulý. Poškozením trávicího traktu vlivem alkoholu, léčiv a při vyšším výskytu mědi, zinku, nebo železa v trávicím traktu dochází ke snížení absorpce riboflavinu. [3, 7]

#### 1.4 Doporučená denní dávka

Výše doporučené denní dávky závisí na obsahu bílkovin a energetické hodnotě potravy, vzhledem k působení riboflavinu v energetickém metabolismu a metabolismu bílkovin. Jeho množství by mělo být v souladu s energetickým výdajem a tělesnou hmotností konzumenta. Doporučená denní dávka pro dospělého obyvatele ČR je v rozmezí 1,1 až 1,3 mg.den<sup>-1</sup>. (Tab. 1.) [3, 9]

Tab. 1: Denní doporučená dávka (DDD) vitamínu B<sub>2</sub> pro děti, ženy a muže [9]

	děti			ženy				muži
věk [roky]	1-3	4-8	9-13	14-18	nad 19	těhotné	kojící	od 14
DDD [mg]	0,5	0,6	0,9	1,0	1,1	1,4	1,6	1,3

Nedostatek samotného riboflavinu se vyskytuje vzácně. Nedostatečná saturace riboflavinu trvající déle než 100 dní vede k hypovitaminóze. Trhliny ústních koutků, malinový jazyk jako určitý druh zánětu jazyka, zánět rohovky, kožní a nervové poruchy mohou být projevem nedostatku riboflavinu, ale mohou být také vyvolány jinými faktory. Často jde o současný nedostatek kyseliny nikotinové, popřípadě dalších vitaminů skupiny B. Hypovitaminosa může být také způsobena stresem organismu, nemocemi štítné žlázy, záněty tenkého střeva, při chronické konzumaci alkoholu a při nedostatečném příjmu tuků. Avitaminosa se v organismu člověka projevuje drobnými trhlinkami v koutcích úst a

charakteristickým prorůstáním drobných cév rohovkou. Nejsou známy žádné nepříznivé účinky způsobené vysokým příjmem riboflavinu. [3, 5, 13]

## 1.5 Výskyt riboflavinu v potravinách

Riboflavin se vyskytuje zejména jako FMN a FAD, méně pak jako volný. Je obsažen jak v rostlinných, tak i v živočišných potravinách. Volný riboflavin se vyskytuje pouze v syrovátce. [6]

Dobrym živočišným zdrojem riboflavinu jsou játra, mléko, mléčné výrobky, ledviny, maso, vejce a některé mořské ryby, ve kterých je riboflavin vázán ve formě FAD a FMN. V mléce je vázán na  $\alpha_s$ - a  $\beta$ -kaseiny, asi 14% je ve formě FAD a 4% ve formě FMN. Ve sladkovodních rybách je obsah riboflavinu nízký. [6]

V ovoci a zelenině je obsah riboflavinu většinou nízký. Bohatým zdrojem riboflavinu jsou obiloviny a luštěniny - pohanka, obilné klíčky, ovesné vločky, čočka, fazole, hrách, ze zeleniny růžičková kapusta a také kvasnice a houby. Riboflavin je v malém množství i v běžném pečivu a cereálních výrobcích, ve vyšším množství se nachází v celozrnných výrobcích. Zde se vitamin vyskytuje především v klíčcích a aleuronové vrstvě. Jeho obsah v mouce tedy závisí na stupni vymletí, při kterém dochází ke snížení přibližně jedné třetiny obsaženého vitaminu. Proto se provádí fortifikace potravin, a to zejména u vymílané pšeničné mouky, snídaňových cereálií, multivitaminových nápojů a dětské výživy. [3, 6]

Odhaduje se, že 40% získaného vitaminu ve stravě české populace zajišťuje především mléko a mléčné výrobky, asi 20% přijímáme z masa a 15% přijímáme z obilovin. Riboflavin je v trávicím traktu snáze absorbován z potravin živočišného původu než ze surovin rostlinného původu. V rostlinné stravě převládají kovalentně vázané formy, které jsou proteázami obtížněji štěpitelné. [5, 6]

Obsah riboflavinu ve vybraných potravinách je uveden v tabulce (Tab. 2).

Tab. 2: Obsah riboflavinu ve vybraných potravinách [6]

Potravina	Obsah riboflavinu [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Potravina	Obsah riboflavinu [mg.kg <sup>-1</sup> ]
Vepřové maso	0,9-3,5	Luštěniny	1,2-2,8
Hovězí maso	0,4-3,5	Zelí	0,5
Kuřecí maso	0,7-2,8	Špenát	0,6-3,4
Vepřová játra	29-44	Rajčata	0,3-0,4
Ryby	1,0-3,3	Mrkev	0,5-2,6
Mléko	0,2-3,0	Brambory	0,3-2,0
Sýry	3,3-5,7	Jablka	0,1
Vejce	2,8-3,5	Citrusové ovoce	0,2-0,4
Pšeničná mouka	0,2-1,2	Banány	0,4-0,6
Chléb	0,6-1,5	Droždí	17-44

## 1.6 Ztráty riboflavinu při zpracování potravin

Ztráty vznikají už od momentu sklizně v důsledku skladování v zemědělských podnicích, u potravinářských výrobců během technologického opracování a následného skladování ve velkoobchodu, v maloobchodu, u spotřebitele a zejména při zpracování při přípravě hotových pokrmů. V těchto případech jsou ztráty riboflavinu v potravine způsobeny nedostatečnou ochranou proti slunečnímu záření. [17, 18]

Riboflavin je značně rezistentní vůči vysokým teplotám, ale snadno je rozkládán působením světla. Největší vliv na riboflavin má světlo s vlnovou délkou v rozmezí 420 až 560 nm. Osvětlení ze zářivek má menší škodlivý dopad než přímé sluneční světlo. A proto by se potraviny s obsahem riboflavinu měly skladovat mimo dosah slunečního záření v neprůhledných nebo barevných obalech. [3, 6]

K prvním ztrátám riboflavinu dochází při předběžné přípravě potravin, kdy jsou potraviny zbavovány nepoživatelných nebo nevhodných částí (např. slupky) a poté omývány. [17]

Běžnou technologickou operací při zpracování zeleniny bývá blanšírování. Blanšírování je krátké povaření nebo spaření plodin v horké vodě, nebo vystavení účinkům kondenzující páry. Kyzlink uvádí, že retence riboflavinu například při blanšírování špenátu parou je 88 – 100 % a při blanšírování ve vodě je retence 64 – 95 %. [3, 19]

U luštěnin je prováděno máčení, které předchází tepelnému opracování. Cílem máčení je dosažení částečné rehydratace, zjemnění chuti a zkrácení doby tepelné úpravy. Při zbytečně dlouhém máčení dochází ke značným ztrátám riboflavinu. Ztráty při máčení čočky do tří hodin jsou minimální (0,6 %), ale po pěti hodinách se ztráty zvyšují na 9,6 %. [18]

Tepelné opracování potravin je jedna z nejefektivnějších metod na ochranu potravin před mikrobiálním a enzymatickým poškozením. Nejčastější metodou je vaření, při kterém přechází riboflavin do výluhu. Ztráty riboflavinu při úpravě potravin závisejí na pH prostředí a přítomnosti světla. Ztráty riboflavinu v bramborách po 30 minutách varu činí 7 %, po 70 minutách už 22,8 %. [18, 19]

Ztráty riboflavinu při tepelné úpravě riboflavinu jsou uvedeny v tabulce (Tab. 3).

Tab. 3: Ztráty riboflavinu při tepelné úpravě masa [18]

Druh masa	Způsob přípravy	Příprava [min]	Ztráty riboflavinu [%]
Hovězí přední	Vaření	60	32
	Vaření v tlakové nádobě	60	17
Hovězí zadní	Dušení v otevřené nádobě	40	12
	Dušení v tlakové nádobě	50	22
Vepřové zadní	Dušení, pečení	20	36
	pečení	30	44

Obsah riboflavinu v obilovinách závisí na stupni vymletí. V tmavých moukách je obsah vyšší. Pečením produktů z obilovin dochází k malým ztrátám (do 10 %). U mouk obohacených riboflavinem jsou ztráty vyšší (až 30 %). Upečením moučného jídla se sníží obsah vitamínu na 90 %. Vařením těstovin dosahují ztráty s ohledem na dobu vaření a druh těstovin 35 – 55 %. [6]

Mražením a uchováváním potravin při mrazírenských teplotách se obsah vitamínu po 15 měsících skladování sníží asi o 15 %. [6]

Sterilací a pasterací mléka a mléčných výrobků, nedochází k významnému snížení riboflavinu (maximálně 5 %). Retence riboflavinu u mléka ohřivaného 10 minut je 100 %.

V mléce ošetřeném ultra vysokou pasterací je retence asi 98 %. Skladování trvanlivého mléka nemá značný vliv na jeho obsah, který se snížil jen o 10 %. Ponecháním mléka na přímém slunci 1 hodinu, dochází k degradaci 20 – 40 % riboflavinu. Během sušení mléka dochází asi ke 2 % ztrátě. [6]

Fermentované mléčné výrobky mají obsah riboflavinu vyšší, neboť je syntetizován bakteriemi mléčného kvašení. [6]

## 1.7 Metody stanovení riboflavinu

Riboflavin je silně fotolabilní vitamin, proto musí analýza probíhat za nepřístupu světla. Riboflavinu je vázán esterovou vazbou na kyselinu fosforečnou ve formě koenzymů (FMN a FAD), které jsou specificky vázány na svůj bílkovinný nosič (apoenzym). Uvolnění riboflavinu z vazby na bílkovinu lze provést kyselou hydrolyzou zředěnými minerálními kyselinami (například kyselina sírová nebo chlorovodíková) nebo enzymatickou hydrolyzou (*takadiastázou*, *claradiastázou*, *papainem* nebo jinými enzymy). Flaviny se izolují z extraktu sorpcí na pevné sorbenty (absorpční hlinky) nebo se extrakt použije přímo. [26]

### Lumiflavinová metoda

Při lumiflavinové metodě se vzorek nejdříve hydrolyzuje buď kyselou hydrolyzou pomocí kyseliny chlorovodíkové nebo enzymaticky pepsinem s následnou extrakcí chloroformem. Ozařováním extraktu UV zářením v alkalickém prostředí je od riboflavinu odštěpen ribozový zbytek a vzniká lumiflavin. Extrakt je měřen fluorimetricky při vlnových délkách primárního záření 435,8 nm a sekundárního záření 525 nm. Obsah riboflavinu ve vzorku je určen z kalibrační křivky. Metoda je vhodná pro běžné stanovení riboflavinu v potravinách. [21]

### Mikrobiologická metoda

K mikrobiologickému stanovení se nejčastěji používají bakterie *Lactobacillus casei*. Během stanovení riboflavinu se sleduje růst testovaného mikroorganismu na základě obsahu přítomného riboflavinu. Přítomnost riboflavinu se projeví změnou obsahu sušiny, která se stanoví vážkově, nebo turbidimetricky měřením zákalu. [2, 30]

### Kapilární elektroforéza

Italští vědci zjišťovali obsah riboflavinu v běžných potravinách rostlinného původu pomocí elektroforézy s fluorescenční detekcí. Po extrakci flavinů byla ke vzorkům přidána směs metanol : metylenchlorid (9 : 10). Vzorky byly okyseleny octanem sodným a odstředovány. Supernatanty byly po filtraci použity k elektroforetické separaci. Vzorky byly nastříknuty k anodickému konci kapiláry. Použité napětí bylo 30 kV. Obsah riboflavinu v pšeničné mouce byl  $26,5 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , v mouce z pšenice tvrdé byl obsah  $50,2 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a v kukuřičné mouce  $35,4 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ . [20]

### Chromatografie na tenké vrstvě

Gliszczynska a kol. stanovovali obsah riboflavinu a jeho derivátů pomocí chromatografie na tenké vrstvě ve vaječném bílku a žloutku, v mléce, jogurtu a keřiru. Separace byla provedena na silikagelové a celulózové desce. Použitá vyvíjecí mobilní fáze: n-butanol : ledová kyselina octová : voda (0,2 : 0,1 : 0,1) v/v. Touto metodou se vědcům podařilo stanovit jednotlivé flavinové deriváty. [29]

#### 1.7.1 HPLC

Brazilští vědci použili metodu HPLC s reverzní fází a fluorescenční detekcí pro stanovení obsahu riboflavinu v přítomnosti tetracyklinů u pěti vzorků odstředěného mléka a u čtyř vzorků plnotučného mléka ošetřeného UHT záhřevem. K uvolnění riboflavinu z vazeb na FMN a FAD byla použita kyselá hydrolyza kyselinou trichloroctovou. Po centrifugaci byl supernatant zfiltrován a nastříknut na kolonu C8 (250 mm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ). Analýza probíhala izokraticky. Použitá mobilní fáze byla složena z octanu sodného, chloridu vápenatého a EDTA : metanol (65:35) v/v. Použitá excitační vlnová délka byla 420 nm a emisní vlnová délka 530 nm. Celková doba analýzy byla 7 minut. Obsah riboflavinu ve vzorcích mléka byl v rozmezí  $1,49 - 1,89 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . [22]

Pro stanovení riboflavinu ve vínu, pivu a ovocných džusech byla použita metoda HPLC s fluorescenční detekcí, která byla vyvinuta pro rutinní stanovení riboflavinu v nápojích. Vzorky nápojů byly po filtraci nastříknuty na kolonu. Jako mobilní fáze byl použit dihydrogenfosforečnan sodný (upravený na pH 3) a acetonitril (80 : 20) v/v s gradientovou elucí. Excitační vlnová délka byla 265 nm a emisní vlnová délka 525 nm. Zjištěná průměrná koncentrace riboflavinu ve vzorcích vína byla  $81,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , ve vzorcích piva  $312,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a v ovocných džusech byla  $41,3 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . [23]



Chen a Wolf stanovovali hydrofilní vitaminy v šesti vzorcích multivitaminových doplňků stravy, pomocí kapalinové chromatografie s DAD detektorem v návaznosti na hmotnostní spektrometr. Vzorky byly rozpuštěny ve fosfátovém pufru a vodě. Při analýze byla použita kolona C18 (250 mm x 2,0 mm, 4  $\mu$ m) a mobilní fáze složená z kyseliny mravenčí ve vodě a kyseliny mravenčí v acetonitrilu (50 : 50) v/v. Eluce probíhala gradientově. Retenční čas riboflavinu byl 16,07 min. Multivitaminové tablety obsahovaly průměrně 2 mg riboflavinu v tabletě. [24]

Tang a kol. využili HPLC s reverzní fází ke stanovení riboflavinu v mase. Vzorky byly nejprve extrahovány kyselinou chlorovodíkovou. Následně bylo upraveno pH na 4,3 - 4,7. Vzorky byly inkubovány s přidavkem enzymů kyselý fosfatázy (37°C 18 hodin). Po enzymatickém štěpení byla přidána kyselina trichloroctová (vysrážení bílkovin a denaturace enzymů). Poté byly vzorky analyzovány pomocí HPLC. Použitá mobilní fáze byla metanol : voda (40 : 60) v/v. Fluorimetrický detektor byl nastaven na 450 nm excitační vlnové délky a 510 nm emisní vlnové délky. Retenční čas riboflavinu byl 5,07 min. Obsah riboflavinu v hovězím mase byl 0,245 mg.100g<sup>-1</sup> a ve vepřovém mase 0,135 mg.100g<sup>-1</sup>. [25]

Metodou HPLC/UV byl stanoven obsah riboflavinu v játrech. Vzorky byly hydrolyzovány kyselinou chlorovodíkovou. Na vysrážení proteinů byla použita kyselina trichloroctová a Carrezova činidla. Na analýzu byla použita mobilní fáze octan sodný : metanol (87 : 13) v/v s gradientovou elucí. Detekce probíhala při vlnové délce 270 nm. Obsah riboflavinu stanovili ve vzorcích jater v pořadí: kuřecí, krůtí, vepřová a hovězí játra. [26]

Španělští vědci představili jednoduchou, rychlou a spolehlivou HPLC metodu s fluorescenční detekcí pro stanovení obsahu riboflavinu v žampionech. Vzorky hub byly homogenizovány s 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou s úpravou pH na 4 – 4,5. Po vysrážení bílkovin kyselinou trichloroctovou byl riboflavin separován na koloně C18 (250 x 4,6 mm; 5  $\mu$ m), mobilní fáze byla metanol : voda (50 : 50) v/v s gradientovou elucí. Excitační vlnová délka byla 422 nm a emisní vlnová délka 515 nm. Bylo zjištěno, že obsah riboflavinu v žampionech je 6,24  $\mu$ g.g<sup>-1</sup>. [27]

Valls a kol. použili ke stanovení riboflavinu v masných výrobcích metodu HPLC s fluorimetrickým detektorem. Masný vzorek byl extrahován 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou s úpravou pH na 4,0 – 4,5, enzymaticky hydrolyzován enzymem *claradiastáza*. Mobilní fáze: heptasulfonová kyselina a acetonitril (75 : 25) v/v

s izokratickou elucí. Excitační vlnová délka 227 nm a emisní 520 nm. Detekční limit byl  $0,015 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ . Rozsah koncentrace riboflavinu v masných produktech byl  $0,154 - 0,160 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ . [28]

Ismail a kol. zjišťovali pomocí HPLC/UV-DAD rozdíl vitaminové skladby u zeleniny pěstované konvenčním a ekologickým způsobem. Vzorky (brokolice, hlávkový salát, laskavec a špenát) byly homogenizovány s kyselinou sírovou, následně enzymaticky hydrolyzovány enzymem *amyláza*. Detekce složek probíhala na koloně C18 (250 x 4,0 mm; 5  $\mu\text{m}$ ) s mobilní fází metanol : voda : ledová kyselina octová (65 : 35 : 0,1). UV detektor byl pro riboflavin nastaven na 270 nm. Studie ukázala, že ne všechna ekologicky pěstovaná zelenina má vyšší obsah vitaminů. Vyšší obsah riboflavinu byl stanoven u konvenčně pěstované zeleniny, než u zeleniny pěstované ekologicky. [31]

## 2 KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE

Chromatografie je separační technika, která se využívá k dělení látek mezi dvěma fázemi, z nichž jedna je mobilní a druhá stacionární. [32]

V kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina. O separaci látek rozhodují nejen interakce se stacionární fází, ale i použitá mobilní fáze. Během separace je vzorek vnášen mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Při průchodu kolonou přejde každá molekula vzorku mnohokrát z proudu mobilní fáze na povrch sorbentu a zpět. Pohybem mobilní fáze je vzorek touto soustavou unášen. Složky vzorku mohou být stacionární fází zachycovány, a proto se při pohybu zdržují. Více se zdrží složky, které jsou stacionární fází poutány silněji. Tím se postupně složky od sebe oddělí. [32, 33]

Pro separaci je možné využít různé mechanismy, například adsorpci, rozdělování na základě různé rozpustnosti, iontovou výměnu, molekulově síťový efekt nebo specifické interakce v afinitní chromatografii. [32]

Protože chromatografie využívá dělení mezi dvěma fázemi, vychází také dělení metod podle tohoto aspektu. Kapalinovou chromatografii lze dělit na chromatografii rozdělovací, gelovou, adsorpční a iontově výměnnou (Tab. 4). [32]

Tab. 4: Přehled chromatografických technik [32]

Mobilní fáze	Stacionární fáze	Chromatografická technika	Používaný zkratka
Kapalina (kapalinová chromatografie)	Kapalina	Kapalinová rozdělovací chromatografie	LLC
		Gelová permeační chromatografie	GPC
	Tuhá látka	Kapalinová adsorpční chromatografie	LSC
		Iontově výměnná chromatografie	IEC

## 2.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Klasická kapalinová chromatografie je používána spíše jen k separaci jednoduchých směsí. Pro separaci komplikovaných směsí látek je tato metoda prakticky nepoužitelná. K těmto účelům slouží vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Touto metodou lze analyzovat ionty, látky polární i nepolární, málo těkavé, tepelně nestabilní i vysokomolekulární. Srovnání použitelnosti různých chromatografických metod je uvedeno v tabulce (Tab. 5). [34]

Tab. 5: Rozsah použitelnosti HPLC ve srovnání s ostatními separačními metodami [34]

Metoda	Rozsah molekulových hmotností analytů $M_r$ [g.mol <sup>-1</sup> ]	Analyzované látky
HPLC	3 - 10 <sup>6</sup>	ionty, látky polární i nepolární, nízkomolekulární i polymery
GC	1 - 400	plyny, látky těkavé a teplotně stabilní, po deprivatizaci i netěkavé, po pyrolýze i makromolekulární
PC a TLC	100 - 2000	ionty, látky polární i nepolární,

Separace závisí na vlastnostech analyzovaných látek a jejich interakcích s mobilními a stacionárními fázemi, na typu a vlastnostech stacionární fáze, na složení mobilní fáze, na geometrických parametrech kolony, dávkovacího zařízení, detektoru a spojovacích cest, na průtoku a na pracovní teplotě. [34]

Metodou HPLC lze provádět separaci a identifikaci látek ze směsí, kontrolu surovin nebo čistoty materiálů, výrobních meziproductů a produktů. Tato metoda je využívána i při kontrolách životního prostředí, při analýze hormonů a léčiv, a ke kontrole složení potravin.[34]

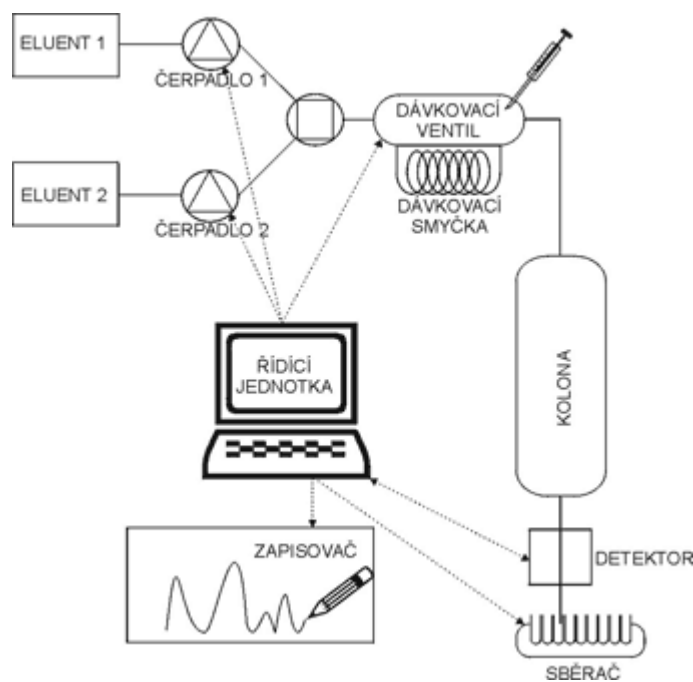
Nejběžnější technika v HPLC je eluční technika. Při ní se na kolonu zavádí vzorek do kontinuálně protékajícího proudu mobilní fáze, přičemž se látky postupně rozdělí. Složky ze vzorku jsou z kolony eluovány v pořadí sorpce na stacionární fázi a jsou mezi sebou odděleny mobilní fází. [33, 35]

Eluční vyvíjení je možno realizovat v několika variantách, které se od sebe liší závislostí tzv. eluční síly mobilní fáze na čase. Pokud složení mobilní fáze zůstává konstantní po

celou dobu analýzy, jedná se o eluci izokratickou. Pokud se složení mobilní fáze mění s časem, tak se jedná o gradientovou eluci. [35, 36]

## 2.2 Aparatura HPLC

Aparatura HPLC je složena z vysokotlakých čerpadel, které zabezpečují transport mobilní fáze kolonou, dávkovače vzorků, chromatografické kolony, kde se složky vzorku separují, detektoru, poskytujícího elektrický signál při průchodu separovaných látek jako odezvu úměrnou změně sledované vlastnosti eluátu, vytékajícího z kolony. Pro záznam a ukládání signálu detektoru je přístroj doplněn o zařízení, které vyhodnocuje výsledný chromatogram (Obr. 4). [37]



Obr. 4: Schéma kapalinového chromatografu

### 2.2.1 Čerpadla mobilní fáze

Mobilní fáze je čerpána do kolony buď pístovými, nebo membránovými čerpadly. Pístová čerpadla jsou konstruována tak, aby objem kapalné fáze v pracovní části vytlačeného válce při maximu výtlaku byl co nejmenší. Aby pístové čerpadlo nezpůsobovalo pulzní rázy, umísťují se čerpadla v sérii za sebou. Membránové čerpadlo má prostor s pístem naplněn hydraulickou pracovní kapalinou. V hlavě čerpadla je umístěna membrána, která

zprostředkovává styk hydraulické kapaliny vytlačované pístem s mobilní fází na druhé straně membrány. [33; 37]

V současnosti jsou používána čerpadla s malým objemem mobilní fáze, ve kterých se mobilní fáze střídavě nasává přes systém zpětných ventilů ze zásobníku do malé pístní komory o objemu 10 - 400  $\mu\text{l}$  a dále ji vytlačuje na chromatografickou komoru. Tento malý vnitřní objem umožňuje rychlou výměnu mobilní fáze. [37]

### 2.2.2 Zařízení pro gradientovou eluci

Gradientová eluce se používá k dělení směsí, jejichž složky se výrazně liší retencí při eluci s konstantním složením mobilní fáze. Její princip spočívá v použití mobilních fází, jejichž složení se mění s časem. Toho se docílí mícháním několika složek v poměru, který se řídí předem zvoleným časovým programem. Hlavní výhodou je kratší doba analýzy a vyšší citlivost detekce pro později eluující látky. [38]

Nejjednodušší zařízení je složeno ze dvou nádob spojených trubičkou malého průměru. Čerpadlo nasaje z první nádoby méně polární eluent a dodává jej do kolony. Polárnější eluent plynule vtéká do první nádoby, kde je promícháváno míchadlem. Moderní gradientová zařízení využívají dvou lineárních elektronicky řízených dávkovačů. Toto zařízení umožňuje směřovat dvě nebo více složek mobilní fáze v různých poměrech, protože je každá složka mobilní fáze dávkována vlastním vysokotlakým čerpadlem. [32, 37]

### 2.2.3 Dávkovací systém

Konstrukce zařízení pro dávkování vzorku na chromatografickou kolonu může významně ovlivnit účinnost separace. Analyzovaný vzorek rozpuštěný ve vhodném rozpouštědle nebo mobilní fázi je dávkován do kolony dávkovacími ventily se smyčkou naplněnou vzorkem, bez přerušování toku mobilní fáze. Injekční zařízení může být ovládáno ručně nebo automaticky. U manuálně ovládaných ventilů se nejprve naplní smyčka vzorkem pomocí injekční stříkačky a následně se dávkuje přepnutím do druhé polohy. Automatický dávkovač je opatřen zásobníky s vialkami, které se před každým nástřikem posunou pod injekční stříkačku dávkovače. Ta vzorek z vialky nasaje do dávkovací smyčky a po přepnutí ventilu se vytlačí vzorek ze smyčky do chromatografické kolony. Dávkovací smyčka má obsah 10 nebo 20  $\mu\text{l}$ . [33, 36, 37, 38]

### 2.2.4 Kolony

Výsledek chromatografické analýzy je určován především kvalitou kolony a její náplně. Na koloně probíhá vlastní separace složek analyzovaného vzorku. Účinnost kolon závisí nejen na kvalitě vybraného sorbentu, ale i na délce kolony, použitém materiálu, vnitřním povrchu atd. Komerční kolony jsou tvořeny rovnou bezešvou trubicí, vyrobenou z nerezové oceli, případně z tvrzeného skla, titanu nebo pevného polymeru opatřené na koncích fritami o velikosti pórů 0,5 - 2  $\mu\text{m}$ . Materiál musí odolávat jak relativně vysokým tlakům (až 60 MPa), tak i chemickému působení mobilních fází a separovaných látek. Velikost kolony je většinou 10, 15 nebo 25 cm a vnitřní průměr je 4,6 - 5 mm. Kolony jsou plněny částicemi o velikosti 5  $\mu\text{m}$ . Pro jednodušší a rychlé separace je možno použít i kratší kolony o délce 3 - 6 cm se stejným vnitřním průměrem. [33, 36, 37, 38]

### 2.2.5 Detektory

Detektory slouží k identifikaci látky vycházející z chromatografické kolony. Využívají se detektory selektivní, které mají signál úměrný pouze koncentraci analyzované látky eluátu (tzn., měří například absorbanci při určité vlnové délce nebo elektrolytický proud při určitém potenciálu) a detektory univerzální, které poskytují signál úměrný určité vlastnosti eluátu jako celku (tj. například index lomu, tepelnou vodivost, relativní permitivitu). Selektivní detekce je většinou citlivější a vhodnější především při analýze složek přítomných v komplikovaných maticích. Dále lze detektory dělit podle časového průběhu odezvy na diferenciální detektory, které dávají odezvu na okamžité množství látky přítomné v cele a integrální detektory, které podávají údaj o celkovém množství látek, které prošly detektorem od začátku analýzy. [33, 34, 35, 37]

Ideální detektor pro kapalinovou chromatografii by měl umožňovat detekci všech typů látek, měl by poskytovat okamžitou a lineární koncentrační odezvu v co nejširším rozmezí koncentrací solutu, měl by mít vysokou citlivost a nízkou úroveň šumu, neměl by být citlivý ke změnám tlaku, průtoku mobilní fáze a teploty, měl by mít minimální příspěvek k rozšiřování elučních zón látek a měl by umožňovat použití gradientové eluce či jiných technik s programovanou změnou pracovních podmínek. [38]

V kapalinové chromatografii jsou převážně využívány detektory optické (fotometrický, fluorimetrický a diferenciální) nebo elektrochemické (voltaický, polarografický a vodivostní). [32]

### **Fotometrické detektory**

Fotometrický detektor je založen na stejném principu jako UV spektrofotometr. Eluát protéká měrnou celou o objemu 5 až 10  $\mu\text{l}$  a optickou délkou 10 mm. Pro preparativní účely jsou využívány cely většího objemu 30 až 500  $\mu\text{l}$ . Přístroje jsou většinou vybaveny deuteriovou výbojkou a mřížkovým monochromátorem a mohou pracovat v rozsahu 220 až 600 nm. [32]

### **Spektrofotometrické detektory**

Spektrofotometrické detektory patří k nejpoužívanějším detektorům v HPLC, protože mohou detekovat velký počet látek a jsou kompatibilní s gradientovou elucí. Pracují v ultrafialové i viditelné oblasti záření a měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony v oblasti vlnových délek od 190 do 800 nm. [33, 34, 37]

Spektrofotometrické detektory lze dělit na jednopaprskové a dvoupaprskové. U jednopaprskových spektrofotometrů vychází UV světlo z vodíkové nebo rtuťové výbojky a prochází nejprve srovnávacím a poté měrným vzorkem. U dvoupaprskových spektrofotometrů prochází UV světlo jednak měrným vzorkem a paralelně uspořádaným srovnávacím vzorkem. Další dělení je možné na základě použitých vlnových délek. Do první skupiny patří detektory, které mají nastavenou buď jednu fixní vlnovou délku (nejčastěji 253,7 nm) nebo mají nastavitelných několik vlnových délek. Do druhé skupiny jsou řazeny detektory, u kterých lze volit mezi několika předem danými vlnovými délkami. Další skupinu tvoří detektory s plynulou změnou vlnové délky. Zvláštní skupinou jsou detektory s diodovým polem (Diode Array Detector, DAD), které se vyznačují rychlým záznamem spektra bez přerušení chromatografické separace na koloně. Tyto detektory pracují s velkým počtem plošných fotodiod, umístěných na destičce o délce asi 1 cm. Detektory s diodovým polem umožňují jednak současnou detekci a integraci při několika vlnových délkách, jednak i současné získávání spekter a chromatogramů. [33, 34, 35, 37, 38]

### **Fluorimetrické detektory**

Fluorimetrický detektor je založen na schopnosti látek absorbovat UV záření z intenzivního zdroje a pak vydávat fluorescenční záření o vyšší vlnové délce, než jaké má záření excitační. Emitované záření dopadá na fotoelektrický násobič a přemění se na elektrický signál. Velikost elektrického signálu je úměrná toku fluorescenčního záření. Tento detektor má detekční limit  $10^{-12} \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$  analytu. [33, 36]



### **Refraktometrické detektory**

Refraktometrický detektor patří mezi univerzální detektory. Měří rozdíly indexu lomu mezi kyvetou s eluátem a kyvetou srovnávací, naplněnou čistou mobilní fází. Pokud eluát obsahuje složku, objeví se výchylka. Nevýhodou refraktometrických detektorů je závislost indexu lomu na teplotě a nemožnost použít gradientovou eluci. Refraktometrické detektory jsou využívány tehdy, když ostatní detektory neposkytují pro analyzované látky odezvu (například při analýze cukrů). Detekční limit je  $10^{-7}$  g v 1 ml vzorku. [33, 34]

### **Elektrochemické detektory**

Detektory elektrochemické patří mezi selektivní detektory. Tyto detektory měří vodivost nebo elektrický proud, vyvolaný při průchodu redukovatelné či oxidovatelné látky měrnou celou s elektrodami, na které je vloženo napětí. Pracovní elektroda může být například z ušlechtilého kovu nebo z různých forem uhlíku pro oxidaci látek nebo rtuťová pro redukci látek. Elektrochemické detektory mohou pracovat buď amperometricky nebo coulometricky. Amperometrický detektor využívá většinou tři elektrody. Měrnou, na které probíhá elektrochemická reakce, srovnávací a pomocnou. Tento detektor zaznamenává elektrický proud odpovídající oxidaci nebo redukci látek v eluentu při vhodném vloženém napětí na elektrodu. V coulometrickém detektoru dochází k úplnému průběhu elektrochemické reakce analyzovaných látek. Coulometrické detektory s elektrodovým polem využívají k měření současně 8, 16 nebo 32 elektrod a umožňují zaznamenávat současnou závislost proudové odezvy na čase i na vloženém potenciálu. [34, 37]

### **Vodivostní detektory**

Vodivostní detektory měří elektrickou vodivost eluátu vytékajícího z kolony v průtokové cele, většinou válcového tvaru, se dvěma vzájemně izolovanými kovovými elektrodami. Pracují s vloženým střídavým napětím, aby se zabránilo polarizaci elektrod. [37]

### **Hmotnostní detektor**

Hmotnostní detektor umožňuje získat informace o molekulových hmotnostech, případně i o struktuře látek separovaných kapalinovou chromatografií. [37]

### 3 POHANKA

Pohanka setá je potencionálně výhodnou surovinou pro zdravé a funkční potraviny. Má vysokou nutriční hodnotu a prokazatelné pozitivní účinky na zdraví lidí. [39]

Pohanka pochází z Číny, kde se pěstuje už přes tři tisíce let. Odtud se zřejmě rozšířila do Bhútánu, Nepálu, severní Indie a severního Pákistánu. Ve středověku se pohanka dostala pohanskými vojsky Osmanské říše přes Rusko do Evropy. To bylo pravděpodobně důvodem vzniku názvu pohanka.[40]

Nejstarší archeologické nálezy pohanky na území České republiky pocházejí z 12. století z Opavy, Pruněřova v severních Čechách, areálu hradu Uherský Brod a Starého Jičína. Pohanka zdomácněla v horských a podhorských oblastech Čech a Moravy. Na Slovensku se pěstování rozšířilo téměř na celé území, ale i zde se postupně přesunulo zejména do horských a podhorských oblastí. První písemný záznam byl objeven v Matthioliho herbáři z roku 1596. Největší rozmach v pěstování pohanky nastal v 16. a 17. století. V 18. století začal zájem o pěstování pohanky klesat. Tento úpadek souvisel se změnou ve složení stravy, kdy si lidé oblíbili bílou mouku a z ní světlé pečivo. Renesance pěstování pohanky a její konzumace nastala v 90. letech v souvislosti s rostoucím zájmem o racionální výživu a ekologické zemědělství. [39, 40]

V současné době je pohanka pěstovaná jako kulturní rostlina, která se dá využít jako potravina, pícnina, nebo medonosná rostlina. Pěstuje se v konvenčním i ekologickém zemědělství. Obrušováním nažek se z ní získávají kroupy a mletím mouky. [41, 42]

#### 3.1 Botanická charakteristika

Pohanka obecná (*Fagopyrum esculentum* Moench) patří do třídy dvouděložných (*Dicotyledoneae*), podtřídy prvoobalných (*Archichlamydae*), řádu rdesnokvětých, čeledi rdesnovitých (*Polygonaceae*), druhu *Fagopyrum* (Obr. 5). Je to jednoletá, teplomilná, dvouděložná a cizosprašná rostlina. [43, 44]



Obr. 5: Pohanka setá (*Fagopyrum esculentum* Moench)

Kořenový systém je tvořen kúlovým, málo rozvětveným systémem, který příliš neprorůstá do země. Množství postranních kořinek závisí na úrodnosti, vlhkosti a provzdušnění půdy. Kořenový systém je schopen z půdy odebírat málo přístupné formy minerálního dusíku, fosforu a draslíku. Vylučuje kyselinu mravenčí, octovou, citrónovou a šťavelovou, pomocí kterých přijímají živiny, především fosfor, z těžko dostupných forem. Na druhou stranu

díky tomu pohanka může přijímat vyšší množství nežádoucích těžkých kovů, zejména kadmia, arzenu a rtuti. [42, 45]

Lodyha je silná, podélně rýhovaná, dutá, přímá a v horní třetině mírně větvená. Dorůstá do výšky přibližně půl až jednoho metru. Je členěna kolénky v závislosti na délce vegetace. [42]

Pohanka má heterofylní listy, to znamená, že mají různou velikost i tvar. Spodní listy jsou dlouze řapíkaté, široce srdčité a vroubkované. Báze řapíku je pokryta blanitou pochvou, která je srostlá s drobnými palisty. Horní listy jsou menší, krátce řapíkaté, téměř přisedlé, šípovité, vejčité kopinaté a dlouze zašpičatělé. Na stonku jsou postaveny střídavě. [40, 42, 45]

Květy jsou uspořádány buď v hroznu, jehož květní stopka, dlouhá 15 – 70 mm, vyrůstá z úžlabí listů, nebo jsou v konečných okolíkovitých latách hroznů obvykle se 4 - 7 větvemi. Jedna rostlina má obvykle 500 až 1500 květů. Pohanka má vysokou potenciální produktivitu květů, ale malou reálnou produktivitu plodů. [40]

Plody tvoří většinou trojboké a čtyřboké nažky s celokrajnými hranami (Obr. 6). Ojedinele se vyskytují i nažky dvouboké a pětiboké. Velikost dosahuje v průměru 4,0 - 7,0 x 3,0 - 4,0 mm podle podmínek pěstování a odrůdy. Barva oplodí bývá tmavě hnědá, šedá až fialově černá. Povrch nažky je tvořen dvěma nesrostlými blánami - oplodím a osemením. Endosperm pohanky má bílou barvu a tvoří 70 % hmotnosti plodu. Nažka se dále skládá z 20 - 25 % pevného plodového obalu, 1,5 - 2 % semenného obalu, 4 - 5 % aleuronové vrstvy a 15 - 20 % embrya. Hmotnost tisíce nažek je v rozmezí 20 - 30 g. [40, 45, 46]

Délka vegetačního období je 60 až 120 dní, v závislosti na klimatických podmínkách. V období, kdy je dostatek vody, nažka nabobtná a za několik dní z ní vyroste rostlina. Optimální teplota pro růst je asi 20°C. Po 18 - 40 dnech začíná rostlina kvést. První nažky dozrávají po 25 – 30 dnech od počátku kvetení. [43]



Obr. 6: Pohankové nažky

Z chorob pohanky se vyskytuje převážně peronospora (*Peronospora fagopyri*), antraknóza pohanky (*Ascochyta fagopyri*), cercosporóza pohanková (*Cercospora fagopyri*) a další. Ze škůdců pohanku napadá háďátko zhoubné (*Tylenchus dipsaci*), třásněnky (*Thysanoptera*) a další. [43]

### 3.2 Nároky na prostředí a pěstování pohanky

#### Teplota

Pohanku lze u nás pěstovat i ve vyšších polohách. Rostlina pohanky je citlivá na nedostatečné množství srážek a na teplotu. Pohanka je považována za teplomilnou rostlinu. Teplota během klíčení pohanky nesmí klesnout pod 7°C. Teplotní optimum vegetující rostliny je okolo 20°C. Teploty kolem 1-2°C negativně ovlivňují její růst, snižují množství biomasy, ovlivňují vývoj generativních částí a produkci nektaru. Pohanka je velmi citlivá na mráz. Pokud klesne teplota po vzejití pod -2°C nebo při kvetení na 1°C, rostliny hynou. Odolnost vůči nízkým teplotám je závislá na odrůdě. [40, 43]

Pohanka je také citlivá na vysoké teploty. Při teplotách nad 30°C a více trvajících 3 - 4 dny a nízké vzdušné vlhkosti v období kvetení a zrání, dochází k zasychání a opadání květů, ke špatnému opálení, k zasychání vyvíjejících se nažek a přerušení jejich tvorby. [40]

### **Světlo**

Světlo je zdrojem energie pro fotosyntézu. Pohanka vyžaduje hodně světla, což je dáno nároky rostliny na velkou kvantitu asimilačních látek pro vytvořené nažky během období od začátku kvetení do zrání. Intenzita osvětlení pro normální růst je 850 - 1000 luxů. Obecně je pohanka považována za krátkodenní rostlinu, to znamená, že poměr světlo/tma je 10/14 hodin. Nedostatek světla se projevuje zmenšením počtu uzlin, větví, květenství, snížením počtu semen a procentem plných nažek. [40]

### **Zavlažování**

Pohanka je náročná na nedostatek vody během celého vegetačního období. Transpirační koeficient je 500 – 700 g na 1 g vytvořené sušiny. Velká spotřeba vody je dána velkým počtem neobrvených průduchů na obou stranách listů, které zvětšují vypařovací plochu, absencí voskové vrstvy na stoncích a většími nároky na teplo, které zvyšuje potřebu vody. [40, 42]

### **Požadavky na půdu**

Pohance nejvíce vyhovují lehké až střední půdy, dále pak hlinitopísčité, písčitohlinité a hlinité půdy. V suchých oblastech jsou vhodnější půdy střední až těžké, které lépe zadržují vodu. Kyselost půdy by se měla pohybovat v rozmezí pH 5,6 až 7,2. Sama pohanka půdu okyseluje. [47]

### **Pěstování pohanky**

Pohanka není náročná na zařazení v osevním postupu. Pro úspěšné pěstování pohanky je výhodnější zařazení pohanky po zlepšujících předplodinách (luskoviny a okopaniny). Předplodiny ovlivňují výnosy. Po luskovinách je výnos pohanky vyšší o 15 – 40 % než po obilninách. Podobné výnosy jsou dosaženy po okopaninách hnojených hnojem, řepě cukrovce, bramborách, po kukuřici pěstované na siláž a po máku. Sama pohanka je dobrou předplodinou pro obilniny. Pohanku je možno pěstovat jako druhou, doplňkovou plodinu v roce, po brzo sklizených předplodinách. Jako meziplodina se pohanka pěstuje společně s ovsem a slouží jako krmivo hospodářských zvířat. [42,43]

Pohanka má výkonný kořenový systém, schopný růstu i v méně vhodných podmínkách. Během vegetace rostlina nevyužívá živiny z půdy rovnoměrně. Nároky na množství přijatého fosforu se zvyšují v období kvetení a tvorby nažek. Na výnos 1 tuny nažek

vyčerpá pohanka 34 kg dusíku, 16 kg oxidu fosforečného a 40 kg oxidu draselného. [42, 47]

Sklizeň je prováděna v době, kdy jsou dvě třetiny nažek zralé. Ukazatelem zralosti je tmavě hnědé zbarvení nažek. [40]

Po sklizni jsou odstraněny hrubé organické nečistoty a následně jsou nažky dosoušeny aktivním vzduchem. [42]

V prvních dnech skladování by se měla pohanka alespoň jedenkrát denně provzdušňovat, aby nedošlo k zapaření a plesnivění. Pohanka je také citlivá na absorpci cizích pachů, proto by se měla skladovat odděleně. [42]

### 3.3 Chemické složení pohanky

Chemické složení jednotlivých druhů pohanky se liší. V tabulce (Tab. 6) je uvedeno složení pohanky obecné.

Tab. 6: Chemické složení pohanky [50]

	Obsah [%]
Bílkoviny	12,3
Tuk	3,8
Sacharidy	73,3
Vláknina	7,0
Minerální látky	2,4

#### 3.3.1 Bílkoviny

Obsah bílkovin v pohance se mění od 7 do 21 %, v závislosti na kultivarech a enviromentálních faktorech během růstu. Nažky obsahují kolem 12 % bílkovin. Vyznačují se vysokým podílem albuminů a globulinů a minimálním podílem prolaminů. Albuminy tvoří 18,15 - 18,80 % sušiny, globuliny činí 44,16 - 44,30 %, prolaminy 0,59 - 0,85 %, gluteliny 22,15 - 22,73 %. Nízký obsah prolaminů umožňuje využití pohanky v bezlepkové dietě, při níž je důležitý nízký obsah frakcí  $\alpha$ -prolaminových bílkovin. [40]

Pohanka má vysoký obsah lyzinu, treoninu a tryptofanu. Limitující aminokyselinou je leucin. Obsah esenciálních aminokyselin je popsán v tabulce (Tab. 7). [48]

Tab. 7: Obsah esenciálních aminokyselin v pohance [40]

Aminokyselina	Obsah [ $\text{g} \cdot 16\text{g}^{-1}$ dusíku]
Valin	4,8
Leucin	8,5
Izoleucin	3,8
Treonin	3,7
Lyzin	8,5
Metionin	1,6
Fenylalanin	5,3
Tryptofan	1,8

### 3.3.2 Tuky

V nažce je obsaženo 1,5 – 3 % tuků, které se nachází především v zárodku (v rozmezí 7 – 14 %) a endospermu (0,4 – 0,9 %). Z celkového množství tuků tvoří asi 39 % kyselina linolová a 37 % kyselina olejová. Zárodek obsahuje většinu nenasycených mastných kyselin, zatímco obalové vrstvy obsahují vysoké množství nasycených mastných kyselin. Polyenové mastné kyseliny plní ochrannou funkci proti kardiovaskulárním nemocím a přispívají ke snížení hladiny cholesterolu v krvi. Zastoupení mastných kyselin v pohance je popsáno v tabulce (Tab. 8). [39, 48]

Tab. 8: Obsah mastných kyselin v pohance [48]

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku : dvojná vazba	Obsah mastné kyseliny [%]
Palmitová	16:0	15,6
Stearová	18:0	2,0
Olejová	18:1	37,0
Linolová	18:2	39,0
Linolenová	13:3	1,0
Arachová	20:0	1,8
Eikosenová	20:1	2,3
Behenová	22:0	1,1



Pohanka obsahuje asi 200 mg fytoosterolů ve 100 g. Fytoosteroly (sitosterol, stigmasterol a kampesterol) jsou chemicky podobné cholesterolu. Stravou je přiváděno asi 150 - 500 mg.den<sup>-1</sup>. Bylo zjištěno, že příjmem mnohem vyššího množství fytoosterolů, než jaký je běžně přiváděn potravou se snižuje absorpce cholesterolu v tenkém střevě, což vede ke snížení jeho hladiny v krevním séru. Rostlinné steroly mají také pozitivní účinek na některá chronická onemocnění. [49]

### 3.3.3 Sacharidy

Hlavním sacharidem pohanky je škrob, který se vyskytuje hlavně ve středu endospermu. Tvoří asi 55 % hmotnosti nažky. Chemické složení škrobu pohanky se liší od složení škrobu obilovin. Obilný škrob obsahuje 15 % amylózy, ale obsah amylózy ve škrobu z pohanky dosahuje 52 %. Tepelně upravená pohanka obsahuje 6 % škrobu odolného vůči působení enzymu amyláza. Tento škrob má podobné účinky jako vláknina – prodlužuje pocit sytosti a je nutričně důležitý pro diabetiky, protože omezuje výkyvy hladiny glukózy v krvi. Nestrávený škrob se dostává do tlustého střeva, kde slouží jako výživa pro mikroorganismy. Podporuje tvorbu máselnanů v tlustém střevě, které podněcují látkovou výměnu střevních buněk a mají vliv na pozvolné odumírání nádorových buněk. Vlastnosti škrobu určují konzistenci a chuť produktů z pohanky. [39, 42, 50, 45]

Semeno pohanky obsahuje i 2 % rozpustných sacharidů, především sacharózu. V malém množství je obsažena i arabinóza, xylóza, glukóza a melibióza. Dále se v zárodku nažky vyskytuje D-chiro-inositol a fagopyritoly, které jsou důležité pro zrání semene. V zárodku a aleuronové vrstvě tvoří fagopyritoly asi 40 % celkových rozpustných sacharidů. Celkový obsah fagopyritolu se pohybuje v rozmezí 269,4 - 464,7 mg.100g<sup>-1</sup>. [39, 40, 42, 45]

Obsah vlákniny v nažkách je 11 % a v kroupách 0,8 %. Pohanka má nižší obsah hrubé vlákniny, ale vyšší podíl rozpustné vlákniny. Pohankové slupky obsahují 80 % z celkové vlákniny, z toho je 60 % kyselá detergentní vláknina, 18 % hemicelulózy a 30 % celulózy. [40]

### 3.3.4 Minerální látky

Průměrný obsah minerálních látek činí 2 – 2,5 %. Pohanka obsahuje více minerálních látek než jiné obiloviny (např. rýže čirok, proso a kukuřice). Ve srovnání s ostatními obilovinami má vysoký obsah hořčíku, zinku, draslíku, fosforu, mědi a manganu. Některé

minerální látky jsou vázány na soli kyseliny fytové, které zamezují jejich vstřebatelnost. Obsah kyseliny fytové v pohance je  $10 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ . [50]

Hořčík, zinek, draslík, fosfor a kobalt jsou uloženy v zárodku a aleuronové vrstvě. Železo, zinek, mangan, měď, molybden, nikl a hliník jsou obsaženy především v obalových vrstvách a osemení. Vápník a bór jsou obsaženy v slupkách. Obsah minerálních látek v pohankových kroupách je popsán v tabulce (Tab. 9). [50]

Tab. 9: Obsah minerálních látek v pohankových kroupách [50]

Prvek	Obsah [ $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ]	Prvek	Obsah [ $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ]
Draslík	565	Měď	0,71
Fosfor	490	Molybden	0,09
Hořčík	267	Kobalt	0,01
Vápník	19,7	Bór	0,67
Železo	3,03	Hliník	0,36
Zinek	2,92	Nikl	0,24
Mangan	1,64	Kadmium	0

### 3.3.5 Vitaminy

V pohankových nažkách je obsaženo  $0,33 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  vitamínu B<sub>1</sub>,  $1,03 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  vitamínu B<sub>2</sub>,  $1,8 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  vitamínu B<sub>3</sub>,  $1,1 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  vitamínu B<sub>5</sub>,  $1,5 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  vitamínu B<sub>6</sub> a  $4,0 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  vitamínu E. Šmajstrla uvádí, že v pohankových loupáných kroupách je obsah vitamínu B<sub>1</sub>  $4,2 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , vitamínu B<sub>2</sub>  $1,1 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , vitamínu B<sub>6</sub>  $0,2 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  a vitamínu E  $4,1 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ . Největší koncentrace tiaminu je v aleuronové vrstvě (80 %), riboflavinu v endospermu a v zóně kolem klíčku a niacinu je nejvíce v obalových vrstvách semen. Ze složek vitamínu E pohanka obsahuje pouze tokoferoly, které jsou obsaženy hlavně v listech a květech. [50, 51, 63]

Biologicky aktivní látkou v pohance je cholin, jehož obsah činí  $44 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ . Cholin napomáhá regeneraci jaterním buňkám po poškození chorobami a alkoholem a dále se účastní odbourávání tuku v játrech. [51]

### 3.3.6 Antioxidanty

Hlavní skupinou antioxidantů v pohance jsou flavonoidy, jejichž představitelem je rutin. Obsah rutinu v pohance (Tab. 10) může kolísat od 20 do  $40 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  sušiny. Největší

množství rutinu je v kvetoucí nati a ve slupkách plodů. Suché počasí a vysoká intenzita UV-B záření podporuje akumulaci rutinu v rostlině. Rutin se vyznačuje významnými účinky na lidský organismus. Snižuje křehkost krevních kapilár, má protizánětlivé, antimutagenní a antikarcinogenní účinky a působí na uvolnění hladkého svalstva. Snižuje krevní tlak, s vápenatými ionty tvoří komplexní soli, které brání srážení krve a zadržují vápník v těle. [52, 53]

Tab. 10: Obsah rutinu v jednotlivých částech pohanky [52]

	Obsah rutinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]
Loupané zrno	8,0
Semeno	23,4
Nat'	420,8

Dalšími významnými antioxidanty v pohance je katechin, 2–epikatechin, myricetin, kvarcetin a kyselina chlorogenová. Nažky obsahují 0,5 – 4,5 % taninů, které mohou ovlivňovat výživovou hodnotu produktů z pohanky. [39, 45]

### 3.4 Využití pohanky

Pohanka se využívá především jako krmivo, dále pro lidskou potřebu, jako meziplodina k obnově půdní úrodnosti a jako medonosná plodina.

#### 3.4.1 Pohanka jako potravina

Pohanka má široké kulinární využití v různých zemích. U nás je z ní vyráběno pečivo, těstoviny a kroupy. V Japonsku se využívá k výrobě nudlí a v horských oblastech jihovýchodní Asie slouží jako základní potravina. Je používána pro výrobu lihových nápojů, piva a v Číně slouží k výrobě octa. [39]

Základním výrobkem při zpracování pohanky mletím jsou celá semena, označovaná jako pohankové krupky celé, případně pohankové krupky lámané - lámanka. Dále se pohanka semílá na pohankovou krupici a mouku. [51]

Kromě nažek je možné využít mladé natě i s listy, pohankové výhonky nebo klíčky, které jsou považovány za zeleninu. Tyto části jsou vhodné k přípravě salátů i teplých pokrmů. Pohankové klíčky obsahují mnohonásobně více lyzinu a rutinu, než samotné nažky. Rutin obsažený v pohance zvyšuje pružnost cév, zabraňuje jejich kornatění a pomáhá snižovat

vysoký krevní tlak. Pohanka je vhodná pro diabetiky, neboť snižuje hladinu glukózy v krvi. Konzumace pohanky chrání před srdečními chorobami, protože snižuje LDL cholesterol a zvyšuje HDL cholesterol. [39, 42, 45, 53]

### 3.4.2 Pohanka jako krmivo

Zrno pohanky je využíváno jako krmivo drůbeže. Pohankový šrot je bohatý na bílkoviny, tuk a minerální látky. Je velmi dobrým krmivem pro skot. Pohankou lze částečně nahradit jiné obilniny v krmivu hospodářských zvířat. [42]

Zkrmování pohankových produktů (zelené krmivo a pohanková sláma) může vyvolat vznik vyrážky na bílé nebo světle zbarvených místech kůže při pobytu na slunci, svrbění i zažívací poruchy. Jedná se o tzv. fagopyrismus, tedy alergickou reakci na fagopyrin. K tomu dochází při zastoupení pohanky více než 30 % v krmné dávce nebo při dlouhodobém zkrmování pohanky. [40, 42]

### 3.4.3 Pohanka jako meziplodina

Po sklizni nažek se rostlina využívá jako zelené hnojivo pro obnovení úrodnosti půdy. Pohanka je zaorána před začátkem tvorby nažek. Po zaorání se části rostlin rychle rozkládají a do půdy jsou uvolňovány dusíkaté a minerální látky, které jsou lehce přístupné následující plodině. Zaorání slámy zvyšuje produkci následné plodiny o 20 %. [40, 45]

Pohanku lze využít i k protierozní ochraně půdy a sít ji na svažitých lokalitách a v místech, kde hrozí vyplavování dusíku. Přes zimu pohanka zmrzne a zbytky rostliny na povrchu půdy omezují erozi. [40]

### 3.4.4 Pohanka jako medonosná rostlina

Hlavním opylovačem pohanky je včela medonosná. Více nektaru je produkováno květy, které jsou nejlépe vyvinuté. Pohanka produkuje nejvíce nektaru v první třetině kvetení při 20 - 24°C a vlhkosti vzduchu 60 – 80 %. [40]

Pohankový med je tmavý, má kořeněnou chuť a typickou pohankovou vůni. Obsahuje až 30 % vody a 58 – 78 % glukózy. Neobsahuje sacharózu. Obsahuje řadu stopových prvků, působí antimikrobiálně a má významnou antioxidační schopnost. [40]

### 3.5 Zdravotní účinky

Pohanková nať se podává pro zvýšení pevnosti a pružnosti cévních stěn. Využívá se při léčbě křečových žil, hemoroidů, bércových vředů a také při poruchách prokrvení končetin. Nažky pohanky se léčebně využívají ke snižování hladiny krevního cholesterolu, potlačují karcinogenezi tlustého střeva a působí proti vysokému krevnímu tlaku. [39, 53]

Pohanka může být označena jako prebiotický produkt. Prebiotikum je nestravitelná složka potravin, která v tlustém střevě slouží jako potrava pro bakterie. Ty z ní získávají energii a jako odpadní produkty vznikají organické kyseliny, které jsou zdrojem energie pro buňky střevní stěny. Extrakt z pohanky se může uplatnit i jako prevence proti rakovině kůže. [39]

## 4 PROSO

Proso a z něj loupáním získané jáhly, slouží pro lidskou výživu. Jáhly mají příznivý poměr živin, který je téměř shodný s doporučeným poměrem bílkovin, tuků a sacharidů. Obsahují vyšší podíl vlákniny, vitaminů a minerálních látek. [54]

Proso je jednou z nejstarších obilnin a kulturních rostlin. Jeho obilky byly nalezeny na různých místech Evropy už v období neolitu. První písemná zmínka pochází z Číny okolo roku 2800 př.n.l. Ve středověku bylo proso základní plodinou v Evropě a především v západní Evropě. Prosný chleba nebyl určen k běžné konzumaci, ale připravoval se pouze k významným událostem (např. svatba). V Českých zemích bylo proso velmi rozšířené, ale s dovozem výnosnějších plodin, bylo jeho pěstování omezeno. Po roce 1989 došlo k obnově v jeho pěstování. [39, 43, 54]

### 4.1 Botanická charakteristika

Proso patří do třídy rostlin jednoděložných (*Monocotyledoneae*), řádu lipnicokvětých (*Poales*), čeledi lipnicovitých – *Poaceae*, rodu *Panicum*. Rod *Panicum* zahrnuje více než 500 druhů. Nejvýznamnější je Proso seté (*Panicum miliaceum* L.) (Obr. 7). Je to jednoletá rostlina. [44, 54]

Kořenový systém je svazčitý a skládá se z jednoho hlavního a několika sekundárních kořínků. Zasahuje do šířky asi 1 m a proniká do hloubky 0,8 – 1 m. To umožňuje rostlinám přijímat vláhu i v lehčích a sušších půdách. [40, 43]

Stéblo nese na svém vrcholku květenství – latu. Stéblo je vzpřímené, v horní části plné, vyplněné dřevem a poměrně slabé. Dolní a střední část stébla a listy jsou ochlupené. Na stéble je 5 - 7 kolének válcovitého tvaru. Z každého kolénka vyrůstá pochva listů, která pak přechází v čepel. Na spodní části každého článku stébla je podélný žlábek přikrytý pochvou listů, ze kterých vyrůstají odnože. Stéblo dorůstá do výšky průměrně 0,8 – 1 m (Obr. 7). [40, 43, 44]



Obr. 7: Proso seté (*Panicum miliaceum*)

Listy jsou poměrně velké, skládají se z pochvy, která objímá stéblo a čepele listu. Délka listu je značně kolísavá od 240 – 520 mm. Šířka listu se pohybuje v rozmezí 15 – 27 mm. Z obou stran je list chlupatý, někdy i vlnitý, protože centrální nerv čepele listu je kratší než okrajový nerv. [40, 44, 54]

Květenství prosa je lata tvořená větvemi z hlavní osy, která může tvořit 10 až 40 větví. Každá větev prvního řádu se dále větví na větvičky 2. a 3. řádu. Větve jsou hladké nebo jen mírně drsné. Klásky jsou umístěny po jednom na koncích větviček. Mají dvě kláskové

plevy. Dolní pleva je široce vejčitá a její rozměry jsou dvakrát menší než celý klásek. Horní pleva kryje klásek, je protáhle zašpičatělá s výrazným nervem. Květní orgány jsou zelené a asimilující. Vlastní generativní orgán má dvě blizny a tři tyčinky. Proso je fakultativně samosprašné a častost opyluje cizím pylem. [40, 54]

Plodem prosa je obilka úplně obalená nepříroslými pluchami. Vnitřní obal tvoří pluška a vnější plucha. Obilka se skládá z oplodí, osemení a endospermu. Oplodí tvoří asi 8,4% celkové hmotnosti obilky. Obsahuje buňky epidermu, epikarpu, endokarpu, několik řídkých vrstev a dále buňky podélné, vrstvu buněk příčných a hadicovitých. Osemení je poměrně tenké, tvořené vrstvou barevných a skelných buněk. Tato oddělovací vrstva od aleuronových buněk je poměrně silná. Vlastní endosperm tvoří 75% hmotnosti obilky a je složen z aleuronové vrstvy. Volně rozmístěné velké buňky endospermu jsou vyplněny škrobovými zrny. Obilka může být kulatá, vejcovitá nebo prodloužená. Délka zrna kolísá od 2,3 do 3,5 mm, šířka od 1,5 do 2,6 mm a tloušťka od 1,2 do 2,1 mm. [40, 44, 54]

Proso je napadáno především snětí prosovou (*Ustilago destruens*), dále je postihováno bakteriální proužkovitostí a spálou. Ze škůdců je proso napadáno zaviječem kukuřičným (*Ostrinia nubilalis*), který vyžírá dřev stébla, drátovci (*Elateridae*), kteří poškozují kořeny mladých rostlin a mšice (*Aphididae*), které způsobují vybělení a sterilitu lat. [42, 54]

## 4.2 Chemické složení

Tabulka (Tab. 11) popisuje nutriční složení pohanky obecné.

Tab. 11: Chemické složení prosa [39]

	Bílkoviny	Sacharidy	Tuk	Vláknina	Popel
Obsah [%]	13,1	69,9	4	9,9	3

### 4.2.1 Bílkoviny

Obsah bílkovin se pohybuje v rozmezí 10 – 14 %. Většina bílkovin je uložena v endospermu a aleuronové vrstvě. Z toho obsah albuminů je 9,0 %, globulinů 10,9 %, prolaminů 31,0 % a glutelinů 8,0 %. [40]

Proso má příznivý obsah esenciálních aminokyselin. Jejich hodnoty jsou uvedeny v tabulce (Tab. 12). [40]



Tab. 12: Obsah esenciálních aminokyselin [6]

Aminokyseliny	Obsah [g.16g <sup>-1</sup> N]
Valin	5,5
Lucin	9,6
Izoleucin	4,1
Treonin	3,9
Metionin	2,5
Lyzin	3,4
Fenylalanin	4,8
Tryptofan	2,0

#### 4.2.2 Tuky

Obsah tuku v prosu se v našich podmínkách se pohybuje kolem 4 %. Nejvíce tuků obsahuje klíček a aleuronová vrstva. Z toho 6,6 % tvoří kyselina palmitová, 0,24 % kyselina palmitoolejová, 1,43 % kyselina stearová, 22,7 % kyselina olejová, 66,7 % kyselina linolová a 1,22 % kyselina linolenová. Kyselina linolová snadno podléhá oxidaci, což má za následek žluknutí. Ještě náchylnější je nenasycená mastná kyselina linoleová, která je v menším množství také obsažena. [39, 55]

#### 4.2.3 Sacharidy

Proso obsahuje 68 - 76 % škrobu a většina se nachází v endospermu. V obilovinách se škrob vyskytuje ve formě škrobových zrn. Skládá se ze dvou frakcí – amylozy (26,3 - 28,4 %) a amylopektinu (72 - 73,7 %). Volné sacharidy se vyskytují v nepatrném množství a to především v klíčku. Proso obsahuje 0,48 - 0,9 % sacharózy a 0,04 - 0,12 % rafinózy. Obsah vlákniny v prosu se pohybuje okolo 10%. [ 40, 56]

#### 4.2.4 Minerální látky

Nejvyšší koncentrace minerálních látek je v obalových vrstvách a nejnižší v endospermu. Proso má vysoký obsah železa 199,8 mg.kg<sup>-1</sup>. Další minerální látky obsažené v prosu jsou popsány v tabulce (Tab. 13). [65]

Tab. 13: Obsah minerálních látek v prosu [65]

Minerální látka	Obsah [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Minerální látka	Obsah [mg.kg <sup>-1</sup> ]
Fosfor	2879	Zinek	65,9
Draslík	2798	Železo	199,8
Hořčík	1488	Mangan	8,1
Vápník	508,6	Měď	3,4
Sodík	60,9	Chrom	7,7

#### 4.2.5 Vitaminy

Vysoký obsah vitaminů je v obalových vrstvách a klíčku, zejména ve štítku a aleuronové vrstvě. Endosperm je na vitaminy poměrně chudý. V moukách zbývá podle stupně vymletí jen asi 10 – 20 % původního obsahu vitaminů B skupiny v zrně. [55, 56]

Proso obsahuje především vitaminy skupiny B, kromě vitamínu B<sub>12</sub>. V obilce je obsaženo 0,6 mg.kg<sup>-1</sup> tiaminu, 0,2 mg.kg<sup>-1</sup> riboflavinu, 1,8 mg.kg<sup>-1</sup> niacinu, 1,1 mg.kg<sup>-1</sup> kyseliny pantotenové. [39]

### 4.3 Nároky na prostředí a pěstování prosa

Proso vyžaduje nejvíce tepla při klíčení a dozrávání. V období vzházení je za teplotní optimum považována teplota 10-12°C, od vzejití po odnožování 18°C, odnožování až metání 20°C, metání až kvetení 23°C a kvetení až zrání 21°C. Nižší teploty ovlivňují aktivitu růstu a schopnost příjmu živin. Mladé rostliny prosa jsou velmi citlivé na teploty pod bodem mrazu -2°C, kdy rostliny odumírají. Při teplotách nižších než 5°C zcela zastavují svůj růst. [40, 43]

Proso je velmi citlivé na intenzitu světla. Snížení intenzity například jen podmračností se může negativně projevit v období kvetení a zrání. [40]

Požadavky na půdu jsou ve vztahu k tepelným a vlhkostním podmínkám. Nejvhodnější jsou půdy středně hlinité, písčitohlinité i písčité. Prosu vyhovují půdy se slabě kyselou reakcí okolo pH 6 - 6,9. [40, 43]

Proso je pěstováno jako hlavní plodina, meziplodina po raných plodinách (například ozimé směsky, rané brambory) nebo jako náhradní plodina po vyzimovaných obilninách. Proso

není náročné na zařazení do osevního postupu, ale půda nesmí být zaplevelená. Nejvhodnějšími předplodinami jsou okopaniny, luskoviny, nezaplevelený jetel nebo vojtěška. [40, 43]

Proso vyžaduje během své vegetace velké množství živin. Během své krátké vegetační doby vytvoří přibližně stejné množství sušiny nadzemní biomasy jako jiné druhy za podstatně delší dobu růstu. Proso odebírá z půdy na 1 tunu produkce zrna až 30 kg dusíku, 15 kg oxidu fosforečného, 25 kg oxidu draselného a 10 kg oxidu vápenatého. [54]

Setí prosa je prováděno podle teploty půdy, která musí dosahovat 8-10°C. To je obvykle od konce dubna. [47]

Termín sklizně nelze přesně určit, protože obilky v latě prosa dozrávají nestejně. Zralost je posuzována v jednotlivých částech laty. [40]

Od sklizeného prosa jsou nejprve odstraněny organické příměsi a poté dochází ke snižování vlhkosti. Dosoušení probíhá přehazováním alespoň jedenkrát denně nebo dosoušením na roštích aktivním provětráváním studeným nebo předehřátým vzduchem. Proso je skladováno v dobře větratelných, čistých skladech, aby nedocházelo k chuťovým změnám ani k přijetí cizích pachů. [47, 54]

## **4.4 Využití prosa**

### **4.4.1 Proso jako potravina**

V dnešní době jsou k dostání 4 potravinářské „bio“ výrobky z prosa (jáhly, prosná mouka, prosné pukance a vločky), ale intenzivně jsou vyvíjeny další (Obr. 8). Na domácím trhu se prodávají především z konvenčně pěstovaného prosa jáhly, prosná mouka, jáhlová instantní kaše a jáhlové vločky. Jáhly jsou využívány k přípravě nákypů, rizota, jahelných těstovin, jako přísada do jiných potravinářských a pekařských výrobků (pečivo a sušenky). V České republice není proso dosud dostatečně doceněno. [57]



*Obr. 8: Zrna prosa setého*

Proso obsahuje vyšší obsah vlákniny, některých vitaminů (hlavně vitaminu A, vitaminu B<sub>1</sub> a vitaminu B<sub>2</sub>) a minerálů (především železa). Využívají se hlavně loupané obilky - jáhly. Jáhly jsou dobře stravitelné, mají příznivý poměr bílkovin, sacharidů a tuků (10-11 : 70-73 : 3,7-4,6), který se blíží doporučenému poměru bílkovin, sacharidů a tuků (11-13 : 57-59 : 30). Proso nevyvolává alergické reakce u lidí s lepkovou intolerancí. [54, 58]

#### **4.4.2 Proso jako krmivo**

Proso je možno také používat ke krmení exotického ptactva. Dodávají se svazky lat prosa, obilky prosa, jáhly a různé krmné směsi s různým podílem prosa podle jednotlivých druhů exotických ptáků. Proso je využíváno i ke krmení drůbeže, prasat a ryb. [54]

## **PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovit obsah riboflavinu v produktech z pohanky a prosa pomocí metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

1. Formou literární rešerše charakterizovat riboflavin, jeho výskyt, fyzikálně – chemické vlastnosti a ztráty během kulinárního a technologického opracování.  
  
Popsat i kapalinovou chromatografii a HPLC, a další možnosti stanovení riboflavinu v potravinách.
2. Optimalizovat izolační postup riboflavinu z vybraných pohankových a prosných produktů (pohanková mouka, pohanková mouka celozrnná, pohanka ve varných sáčcích, pohanka celá, pohanka loupaná kroupy, pohanka neloupaná, pohanka loupaná tmavá, pohanka lámanka bio, pohanková krupice, pohankové vločky instantní, pohankové vločky, pohankové slupky, pohankové křupky, pohankové pukance, jáhly, jahelná mouka hrubá, jahelné vločky a jahelné vločky bio)
3. Chromatografickou metodou HPLC s UV – DAD detektorem stanovit obsah riboflavinu v 15 pohankových vzorcích a 4 prosných výrobcích.

## 6 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

### 6.1 Vzoroky produktů z pohanky a prosa

K analýze bylo použito následujících 15 vzorků pohankových produktů:

- pohanková mouka (Mlýn Šmajstrla, Frenštát pod Radhoštěm, země původu ČR, minimální trvanlivost: 1/2011)
- pohanková mouka celozrnná (Mlýn Šmajstrla, Frenštát pod Radhoštěm, země původu ČR, minimální trvanlivost: 8/2010)
- pohanka ve varných sáčcích (Natural, Jihlava, země původu ČR, minimální trvanlivost: 6/2010)
- pohanka celá (Inter Areal, s. r. o., Humpolec, země původu Ukrajina, minimální trvanlivost 11/2010)
- pohanka neloupaná (PRO-BIO, s.r.o., Staré Město pod Sněžkou, země původu Polsko, minimální trvanlivost: 2/2011)
- pohanka loupaná tmavá (Natura, Hustopeče, země původu EU, minimální trvanlivost: 2/2011)
- pohanka loupaná kroupy (PRO-BIO, s.r.o., Staré Město pod Sněžkou, země původu Čína, minimální trvanlivost: 9/2010)
- pohanka lámanka bio (Moravská ekofarma Juré, Zlín, země původu ČR, minimální trvanlivost: 9/2010)
- pohanková krupice (Mlýn Šmajstrla, Frenštát pod Radhoštěm, země původu ČR, minimální trvanlivost: 2/2011)
- pohankové vločky instantní (Inter Areal s.r.o., Humpolec, země původu Ukrajina, minimální trvanlivost: 7/2010)
- pohankové vločky instantní (Vega Provita s.r.o., Frýdek-Místek, minimální trvanlivost: 12/2010)
- pohankové vločky (PRO-BIO, s.r.o., Staré Město pod Sněžkou, země původu Čína, minimální trvanlivost: 7/2010)

- pohankové křupky (Natural, Jihlava, země původu Slovensko, minimální trvanlivost: 12/2010)
- pohankové slupky (PRO-BIO, s.r.o., Staré Město pod Sněžkou, země původu Polsko, minimální trvanlivost: 10/2010)
- pohankové pukance (PRO-BIO, s.r.o., Staré Město pod Sněžkou, země původu Čína, minimální trvanlivost: 1/2011)

K analýze bylo použito následujících 4 vzorků jahelných produktů:

- jahelná mouka hrubá (Natural, Jihlava, země původu Slovensko, minimální trvanlivost: 9/2010)
- jáhly (PRO-BIO, s.r.o., Staré Město pod Sněžkou, země původu Čína, minimální trvanlivost: 8/2010)
- jáhlové vločky (Inter Areal s.r.o., Humpolec, země původu Ukrajina, minimální trvanlivost: 8/2010)
- vločky jahelné bio (Country-Life s.r.o., Beroun, země původu Rakousko, minimální trvanlivost: 10/2010)

## 6.2 Seznam chemikálií

- redestilovaná voda
- octan sodný trihydrát, Lachema Brno
- kyselina mravenčí 85% p.a., Penta Chrudim
- kyselina trichloroctová, Penta Chrudim
- kyselina chlorovodíková 37% p.a., Petr Lukeš, Uherský Brod
- síran zinečnatý heptahydrát p.a., Lach-Ner s.r.o, Neratovice
- hexakynoželeznan tetradraselný trihydrát p.a., Lach-Ner s.r.o, Neratovice
- propan-2-ol p.a., Petr Lukeš, Uherský Brod
- metanol pro HPLC, Petr Lukeš, Uherský Brod
- standard riboflavinu, Supelco, USA



### 6.3 Pomůcky a přístroje

- analytické váhy, Adam Equipment AFA-210LC
- temperovaná vodní lázeň, Memmert, SRN
- filtrační papíry KA4, Fischer Scientific
- mikrofiltry 0,45  $\mu\text{m}$ , FFNN 1345-100, Supleco, USA
- laboratorní sklo a vybavení
- dávkovací stříkačka, Hamilton, USA

Aparatura HPLC, Hewlett Packard 1100, USA:

- dávkovací analytický smyčkový ventil (dávkovací smyčka o objemu 20  $\mu\text{l}$ ), G1328A
- vakuovaný odplyňovací modul, G1322A
- binární pumpy, G1312A
- termostat kolony, G1316A
- kolona SUPELCOSIL LC-8 (150 mm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ ), Supleco, USA
- detektor UV/VIS DAD, G1315A
- PC s vyhodnocovacím programem ChemStation - Instrument1, Agilent, USA

## 7 METODIKA STANOVENÍ RIBOFLAVINU

Pro optimalizaci izolace riboflavinu z produktů pohanky a prosa byly zjišťovány vhodné navážky vzorku a koncentrace a množství extrakčních činidel.

### 7.1 Optimalizace izolace riboflavinu z pohankových produktů

Nejprve byly voleny navážky 40, 30, 25 a 20 g. Z důvodu bobtnavosti pohankových vzorků (pohanková mouka, pohanková mouka celozrnná, pohanka ve varných sáčcích, pohanka celá, pohanka loupaná kroupy, pohanka neloupaná, pohanka loupaná tmavá, pohanka lámanka bio, pohanková krupice, pohankové vločky instantní, pohankové vločky, pohankové slupky, pohankové křupky, pohankové pukance) při záhřevu a s ohledem k předpokládanému množství vitamínu B<sub>2</sub> v pohankových produktech byla pro stanovení volena navážka 25 g.

Vzorky byly homogenizovány v třecí misce, aby se zajistila stejnorodost.

Pro uvolnění riboflavinu z vazby na FMN a FAD byla prováděna kyselá hydrolyza pomocí 0,1 anebo 0,2 mol.l<sup>-1</sup> kyseliny chlorovodíkové. Jako vhodnější pro izolaci z vazeb na bílkoviny, FMN, FAD byla vybrána 0,1 mol.l<sup>-1</sup> kyselina chlorovodíková v množství 100 ml.

Na vysrážení proteinů (v pohankových vzorcích asi 12 % proteinů) byly použity 3 ml 80% kyseliny trichloroctové. Pro dokonalé odstranění bílkovin ze vzorků byly zvoleny i přídavky činidel Carrez I a Carrez II v množství 10, 20 a 30 ml činidla Carrez I a Carrez II. Jako vhodnější byl vybrán přídavek 30 ml obou čiridel.

Následné odstranění sraženiny bylo provedeno filtrací pomocí vodní vývěvy.

### 7.2 Optimalizace izolace riboflavinu z jahelných produktů

U jahelných produktů byly zkoušeny navážky 25 a 30 g. Konečné navážky byly voleny 25 g.

Stejnorodost produktu byla docílena homogenizací v třecí misce.

Na hydrolyzu FMN a FAD, na které je riboflavin vázán, byla opět zkoušena 0,1 anebo 0,2 mol.l<sup>-1</sup> kyselina chlorovodíková. Použitím kyseliny chlorovodíkové o nižší koncentraci bylo dosaženo lepší hydrolyzy FMN a FAD. Na hydrolyzu bylo použito 100 ml kyseliny chlorovodíkové.

Na vysrážení proteinů (v produktech z prosa asi 10 – 14 %) byly použity 3 ml 80% kyseliny trichloroctové a také přídavek 30 ml činidla Carrez I a 30 ml činidla Carrez II. Přídavek Carrezových činidel byl zkoušen po 10, 20 a 30 ml. Zjistilo se, že nejvhodnější přídavek je 30 ml.

Vzniklá sraženina byla opět odstraněna filtrací pomocí vodní vývěvy.

### 7.3 Izolace riboflavinu

Na analytických vahách bylo s přesností na čtyři desetinná místa naváženo 25 g rozemletého vzorku. Vzorek byl následně rozetřen v třecí misce se 100 ml 0,1 mol.l<sup>-1</sup> kyseliny chlorovodíkové.

Po homogenizaci byl analyzovaný vzorek kvantitativně převeden do 250 ml Erlenmayerovy baňky. Veškeré použité nádoby byly obaleny hliníkovou folií, aby nedošlo k degradaci riboflavinu působením záření. Následně byla baňka se vzorkem vložena do vodní lázně s třepacím zařízením na 95°C po dobu 1 hodiny. V 50. minutě byly ke vzorku přidány 3 ml 80% kyseliny trichloroctové, aby došlo k částečnému vysrážení proteinů.

Po uplynuté době byla baňka se vzorkem vyjmuta z vodní lázně a ochlazena. K vzorku bylo přidáno 30 ml činidla Carrez I a po důkladném promíchání 30 ml činidla Carrez II. Po 5 minutách byl vzorek kvantitativně převeden do 200 ml odměrné baňky, doplněn redestilovanou vodou a zfiltrován pomocí vodní vývěvy.

### 7.4 Chromatografické stanovení riboflavinu

Stanovení riboflavinu v produktech z pohanky a prosa bylo provedeno metodou HPLC/UV na základě informací z literárních zdrojů a experimentálního stanovení. [62]

Z filtrátů připravených postupem uvedeným v kapitole 7.3, byly k analýze použity alikvotní podíly 20 µl. Mobilní fáze byla složena z 0,12 mol.l<sup>-1</sup> octanu sodného (jehož pH bylo upraveno na hodnotu 4,8 přídavkem 85 % kyseliny mravenčí) a metanolu o

počátečním poměru 87 : 13 (v/v). Při analýze byla použita gradientové eluce (Tab. 14). Průtok mobilní fáze byl 0,8 ml.min<sup>-1</sup>.

Tab. 14: Gradient mobilní fáze

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

Separace byla provedena na koloně SUPELCOSIL LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5 µm). Teplota termostatu během měření byla nastavena na 30°C. Na chromatografické stanovení obsahu riboflavinu ve vzorcích byl použit UV-DAD detektor. Detekce byla provedena při vlnové délce 270 nm. Retenční čas riboflavinu byl přibližně 8,9 min. Výsledky byly vyhodnoceny chromatografickým softwarem ChemStation Instrument 1.

Pro celkovou informaci o statistickém souboru se používají číselné charakteristiky. V praxi se nejčastěji používají charakteristiky polohy. Jedná se o určení vhodné střední hodnoty, kolem které se jednotlivé hodnoty pohybují. Nejčastěji používanou střední hodnotou je aritmetický průměr, který je vyjádřen součtem hodnot znaku zjištěných u všech jednotek souboru, dělený počtem všech jednotek souboru. [59, 61]

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

Míra přesnosti je vyjadřována směrodatnou odchylkou. Směrodatná odchylka je kvadratickým průměrem odchylek hodnot znaku od jejich aritmetického průměru a udává, jak se v průměru v daném souboru odchylojí hodnoty od aritmetického průměru. [59]

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

Informace o povaze a základních vlastnostech zkoumaných jevů poskytují kvantily. Kvantily jsou hodnoty kvantitativního statistického znaku, které oddělují určitý podíl počtu jednotek s nejnižšími hodnotami znaku sledovaného statistického souboru. Protože je

směrodatná odchylka závislá na počtu paralelních výsledků, bylo definováno Studentovo rozložení náhodných odchylek pro daný stupeň volnosti. [59]

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{t_{\alpha} * S}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

*Tab. 15: Kvantily Studentova t rozdělení s m stupni volnosti [60]*

m	0,10	0,05	0,025
1	6,314	12,706	25,452
2	2,920	4,303	6,205
3	2,353	3,182	4,177
4	2,132	2,776	3,495
5	2,015	2,571	3,163

## 8 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 8.1 Stanovení riboflavinu metodou HPLC/UV

Riboflavin byl izolován ze vzorků podle postupu uvedeného v kapitole 7.3. Měření obsahu riboflavinu v pohankových a prosných produktech metodou HPLC/UV bylo provedeno podle postupu uvedeného v kapitole 7.4. Každý vzorek byl analyzován pětkrát.

#### 8.1.1 Kalibrační křivka pro chromatografické stanovení riboflavinu

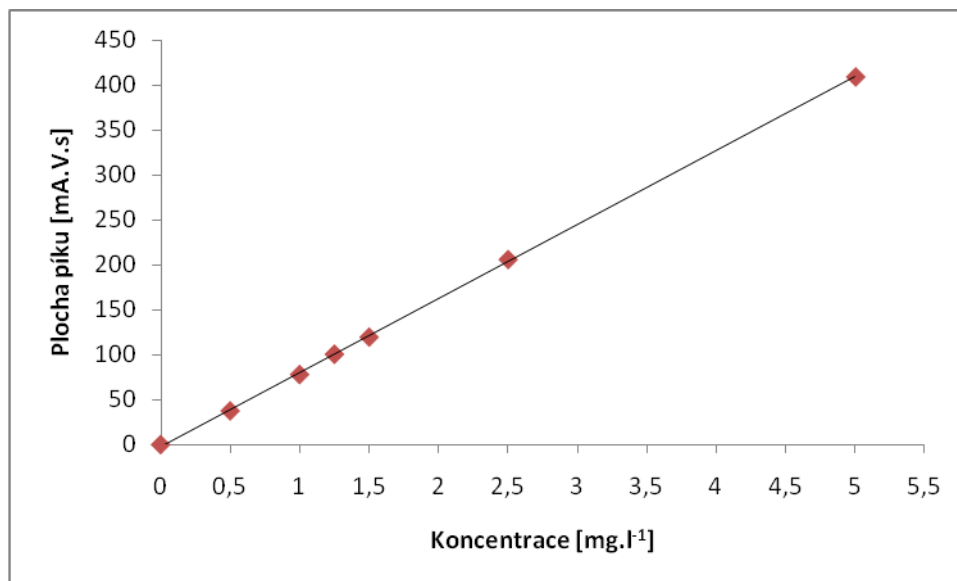
K měření hodnot pro sestavení kalibrační křivky byl použit zásobní roztok připravený ze standardu riboflavinu. Ze zásobního roztoku riboflavinu o koncentraci  $5 \text{ mg.l}^{-1}$  byla ředěním připravena série standardních roztoků o koncentracích 0,5; 1; 1,25; 1,5;  $2 \text{ mg.l}^{-1}$ .

Měření proběhlo stejným postupem jako při stanovení vzorků, uvedeným v kapitole 7.4. Vzorové chromatogramy standardu riboflavinu pro jednotlivé koncentrace jsou uvedeny v příloze (P I - P VI). Každý bod kalibrační křivky byl proměřen pětkrát.

Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost plochy píku (mA.V.s) na koncentraci riboflavinu ( $\text{mg.l}^{-1}$ ). Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce (Tab. 16) a znázorněny v grafu kalibrační přímky (Obr. 9).

Tab. 16: Průměrné hodnoty ploch píků kalibrační křivky

Koncentrace riboflavinu [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	Průměrná plocha píku [mA.V.s]	Směrodatná odchylka
0,5	37,62	0,7
1	78,06	0,91
1,25	100,62	0,85
1,5	119,7	1,24
2,5	206,08	1,18
5	409,36	2,12



Obr. 9: Kalibrační přímka pro stanovení riboflavinu metodou HPLC

Byla sestavena kalibrační přímka a vypočtena rovnice této přímky:

$$y = 82,411x - 2,4123$$

kde  $x$  – obsah riboflavinu [mg.l<sup>-1</sup>]

$y$  – velikost plochy píku na chromatogramu [mA.V.s]

Korelační koeficient pro závislost plochy píku na obsahu riboflavinu:

$$R^2 = 0,9998$$

### 8.1.2 Výsledky stanovení obsahu riboflavinu v produktech z pohanky

Obsah riboflavinu byl stanoven v 15 různých produktech z pohanky. Analyzovány byly následující vzorky: pohanková mouka, pohanková mouka celozrnná, pohanka ve varných sáčcích, pohanka celá, pohanka loupaná kroupy, pohanka neloupaná, pohanka loupaná tmavá, pohanka lámanka bio, pohanková krupice, pohankové vločky instantní, pohankové vločky, pohankové slupky, pohankové křupky a pohankové pukance.

Dosazením naměřené plochy píků vzorků do regresní rovnice kalibrační křivky byl získán obsah riboflavinu v mg.l<sup>-1</sup>. Tato hodnota byla následně přepočtena na mg.100g<sup>-1</sup> vzorku.

Přesnost stanovení je vyjádřena pomocí standardních statistických metod popsaných v kapitole 5. Hodnota Studentova koeficientu  $t$  je při testované hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) a při čtyřech stupních volnosti 2,776.

### 8.1.2.1 Stanovení obsahu riboflavinu v pohankové mouce

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohankové mouky s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 17) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohankové mouky. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P VII).

Tab. 17: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankové mouky

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	110,740
Průměrná koncentrace riboflavinu [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	1,373
Průměrná koncentrace riboflavinu [ $\text{mg.100g}^{-1}$ ]	1,098
Směrodatná odchylka	0,004

Ve vzorku pohankové mouky byl stanoven obsah riboflavinu:

$$1,098 \pm 0,004 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 10,98  $\text{mg.kg}^{-1}$ .

### 8.1.2.2 Stanovení obsahu riboflavinu v celozrnné pohankové mouce

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku celozrnné pohankové mouky s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 18) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku celozrnné pohankové mouky. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P VIII).



Tab. 18: Obsah riboflavinu ve vzorku celozrnné pohankové mouky

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	62,168
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,784
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,627
Směrodatná odchylka	0,005

Při porovnání pohankových mouk byl vyšší obsah riboflavinu naměřen v pohankové mouce (1,098 mg.100g<sup>-1</sup>), v celozrnné pohankové mouce je to 57 % oproti obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v pohankové mouce. Tento rozdíl může být způsoben tím, že vitamin B<sub>2</sub> je uložen především v endospermu a pouze malý podíl se nachází ve slupkách pohanky. Literatura [64] uvádí obsah riboflavinu v pohankové mouce nižší (0,21 mg.100g<sup>-1</sup>). Množství vitamínů v pohance je ovlivňováno genotypem, geogarfickými podmínkami, ale i technologickými úpravami a podmínkami skladování.

### 8.1.2.3 Stanovení obsahu riboflavinu v pohance ve varných sáčcích

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohanky ve varných sáčcích s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 19) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohanky ve varných sáčcích. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P IX).

Ve vzorku pohanky ve varných sáčcích byl stanoven obsah riboflavinu:

$$0,669 \pm 0,004 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 6,69 mg.kg<sup>-1</sup>.

Tab. 19: Obsah riboflavinu ve vzorku pohanky ve varných sáčcích

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	66,470
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,836
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,669
Směrodatná odchylka	0,004

#### 8.1.2.4 Stanovení obsahu riboflavinu v pohance celé

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohanky celé s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 20) je uvedena průměrná plocha píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohanky celé. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P X).

Tab. 20: Obsah riboflavinu ve vzorku pohanky celé

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	19,822
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,270
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,216
Směrodatná odchylka	0,006

Ve vzorku pohankových nažek byl stanoven obsah riboflavinu:

$$0,216 \pm 0,006 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 2,16 mg.kg<sup>-1</sup>.

### 8.1.2.5 Stanovení obsahu riboflavinu v neloupané pohance

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku neloupané pohanky s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 21) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku neloupané pohanky. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XI).

Tab. 21: Obsah riboflavinu ve vzorku neloupané pohanky

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	50,340
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,640
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,512
Směrodatná odchylka	0,006

Obsah riboflavinu ve vzorku neloupané pohanky byl stanoven:

$$0,512 \pm 0,006 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 5,12 mg.kg<sup>-1</sup>.

### 8.1.2.6 Stanovení obsahu riboflavinu v loupané pohance tmavé

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku loupané pohanky tmavé s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 22) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku loupané pohanky tmavé. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XII).

Obsah riboflavinu ve vzorku loupané pohanky tmavé byl stanoven:

$$0,556 \pm 0,003 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 5,56 mg.kg<sup>-1</sup>.

Tab. 22: Obsah riboflavinu ve vzorku loupané pohanky tmavé

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	54,876
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,695
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,556
Směrodatná odchylka	0,003

Srovnáním obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v pohankových nažkách, byl nejvyšší obsah riboflavinu stanoven v pohance ve varných sáčcích (0,669 mg.100g<sup>-1</sup>), v pohance loupané tmavé je to 83 % proti obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v pohance ve varných sáčcích a v pohance neloupané je to 76,5 %. Nejméně riboflavinu bylo stanoven v pohance celé, která má ve srovnání s pohankou ve varných sáčcích obsah riboflavinu pouze 32,3 %. Rozdíl v obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v pohance neloupané a v pohance celé může být způsoben tím, že riboflavin se vyskytuje především v endospermu pohanky a ve slupkách je ho minimální množství.

#### 8.1.2.7 Stanovení obsahu riboflavinu v loupaných pohankových kroupách

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku loupaných pohankových krup s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 23) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku loupaných pohankových krup. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XIII).

Obsah riboflavinu ve vzorku loupaných pohankových krup byl stanoven:

$$1,303 \pm 0,004 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 13,03 mg.kg<sup>-1</sup>.

Literatura [48] uvádí obsah riboflavinu v pohankových loupaných kroupách 1,1 mg.100g<sup>-1</sup>. Vyšší množství riboflavinu v pohance může být způsobeno mnoha faktory, například geografickými podmínkami nebo způsobem skladování.

Tab. 23: Obsah riboflavinu ve vzorku loupaných pohankových krup

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	131,828
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	1,629
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	1,303
Směrodatná odchylka	0,004

#### 8.1.2.8 Stanovení obsahu riboflavinu v pohance bio lámance

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohanky bio lámanky s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 24) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohanky bio lámanky. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XIV).

Tab. 24: Obsah riboflavinu ve vzorku pohanky bio lámanky

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	37,964
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,490
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,392
Směrodatná odchylka	0,003

Obsah riboflavinu ve vzorku pohankové krupice byl stanoven:

$$0,392 \pm 0,003 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 3,92 mg.kg<sup>-1</sup>.

Literatura [64] uvádí obsah riboflavinu v pohankové krupici 0,132 mg.100g<sup>-1</sup>.

### 8.1.2.9 Stanovení obsahu riboflavinu v pohankové krupici

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohankové krupice s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 25) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohankové krupice. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XV).

Tab. 25: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankové krupice

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	15,718
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,220
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,176
Směrodatná odchylka	0,004

Obsah riboflavinu ve vzorku pohankové krupice byl stanoven:

$$0,176 \pm 0,004 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 1,76 mg.kg<sup>-1</sup>.

### 8.1.2.10 Stanovení obsahu riboflavinu v instantních pohankových vločkách

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku instantních pohankových vloček (výrobce Vega Provita s.r.o.) s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 26) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XVI).

Obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček byl stanoven:

$$0,199 \pm 0,003 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 1,99 mg.kg<sup>-1</sup>.

Tab. 26: Obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	18,094
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,249
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,199
Směrodatná odchylka	0,003

#### 8.1.2.11 Stanovení obsahu riboflavinu v instantních pohankových vločkách

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku instantních pohankových vloček (výrobce Inter Areal s.r.o) s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 27) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XVII).

Tab. 27: Obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	30,222
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,396
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,317
Směrodatná odchylka	0,003

Obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček byl stanoven:

$$0,317 \pm 0,003 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 3,17 mg.kg<sup>-1</sup>.

### 8.1.2.12 Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových vločkách

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohankových vloček s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 28) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohankových vloček. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XVIII).

Tab. 28: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových vloček

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	114,896
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	1,423
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	1,138
Směrodatná odchylka	0,004

Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových vloček byl stanoven:

$$1,138 \pm 0,004 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 11,38 mg.kg<sup>-1</sup>.

Při porovnání instantních vloček byl vyšší obsah vitamínu B<sub>2</sub> naměřen v pohankových vločkách (1,138 mg.100g<sup>-1</sup>), v instantních pohankových vločkách výrobce Inter Areal byl obsah riboflavinu proti obsahu v pohankových vločkách 27,9 %. V instantních vločkách značky Vega Provita činil obsah vitamínu B<sub>2</sub> 17,5 % proti obsahu v pohankových vločkách. Rozdíl v obsahu riboflavinu mohl být způsoben ztrátou vitamínů během technologického opracování.

### 8.1.2.13 Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových křupkách

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohankových křupek s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 29) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohankových křupek. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XIX).



Tab. 29: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových křupek

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	11,862
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,173
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,138
Směrodatná odchylka	0,006

Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových křupek byl stanoven:

$$0,138 \pm 0,006 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp 1,38 mg.kg<sup>-1</sup>.

#### 8.1.2.14 Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových pukancích

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohankových pukanců s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 30) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku pohankových pukanců. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XX).

Tab. 30: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových pukanců

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	8,826
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,136
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,109
Směrodatná odchylka	0,006

Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových pukanců byl stanoven:

$$0,109 \pm 0,006 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp.  $1,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ .

Srovnání extrudovaných výrobků bylo zjištěno, že vyšší množství riboflavinu obsahují pohankové křupky ( $0,138 \text{ mg.100g}^{-1}$ ), v pohankových pukancích je to 80 % proti obsahu riboflavinu v pohankových křupkách.

#### **8.1.2.15 Stanovení obsahu riboflavinu v pohankových slupkách**

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku pohankových slupek s přesností na čtyři desetinná místa.

Obsah riboflavinu v pohankových slupkách nebyl touto metodou stanovitelný. Jedním z možných důvodů může být, že množství vitamínu B<sub>2</sub> ve slupkách z pohanky je pod mezí stanovitelnosti riboflavinu touto metodou, případně se nepodařilo dostatečně vyizolovat riboflavin z vazeb na FMN a FAD, případně.

Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XXI).

#### **8.1.3 Porovnání obsahu riboflavinu v pohankových produktech**

Chromatografickou analýzou byl stanoven obsah riboflavinu v 15 vzorcích pohankových produktů. Zjištěná množství riboflavinu ( $\text{mg.100g}^{-1}$ ) byla přepočtena na procentuální pokrytí denní doporučené dávky (DDD) riboflavinu. Denní doporučená dávka riboflavinu je stanovena pro ženy  $1,1 \text{ mg.den}^{-1}$  a muže  $1,3 \text{ mg.den}^{-1}$ . [9]

Výsledky jsou uvedeny v tabulce (Tab. 31), a v grafu (Obr. 10) je zobrazeno sestupné pořadí obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v jednotlivých pohankových produktech.

Nejvyšší obsah riboflavinu ( $1,303 \text{ mg.100g}^{-1} \Rightarrow 118,4 \% \text{ DDD}$  vitamínu B<sub>2</sub> pro ženy a  $100,2 \% \text{ pro muže}$ ) byl stanoven v loupaných pohankových kroupách, v pohankových vločkách ( $1,138 \text{ mg.100g}^{-1} \Rightarrow 103,5 \% \text{ a } 87,6 \% \text{ DDD}$ ) a v pohankové mouce ( $1,098 \text{ mg.100g}^{-1} \Rightarrow 99,8 \% \text{ a } 84,4 \% \text{ DDD}$ ).

Méně vitamínu B<sub>2</sub> obsahuje pohanka ve varných sáčkích ( $0,669 \text{ mg.100g}^{-1} \Rightarrow 60,8 \% \text{ a } 51,4 \% \text{ DDD}$ ), pohanková mouka celozrnná ( $0,627 \text{ mg.100g}^{-1} \Rightarrow 57,0 \% \text{ a } 48,2 \% \text{ DDD}$ ), pohanka loupaná tmavá ( $0,556 \text{ mg.100g}^{-1} \Rightarrow 50,5 \% \text{ a } 42,7 \% \text{ DDD}$ ) a pohanka neloupaná ( $0,512 \text{ mg.100g}^{-1} \Rightarrow 46,5 \% \text{ a } 39,4 \% \text{ DDD}$ ).

Další v pořadí byly pohanka bio lámanka ( $0,392 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \Rightarrow 35,6 \% \text{ a } 30,1 \% \text{ DDD}$ ) a pohankové instantní vločky od výrobce Inter Areal s.r.o. ( $0,317 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \Rightarrow 28,8 \% \text{ a } 24,4 \% \text{ DDD}$ ).

Ke vzorkům s nejnižším obsahem vitamínu B<sub>2</sub> patří pohanka celá, pohankové instantní vločky, pohanková krupice, pohankové křupky a nejméně riboflavinu bylo zjištěno v pohankových pukancích ( $0,109 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \Rightarrow 9,9 \% \text{ a } 8,4 \% \text{ DDD}$ ).

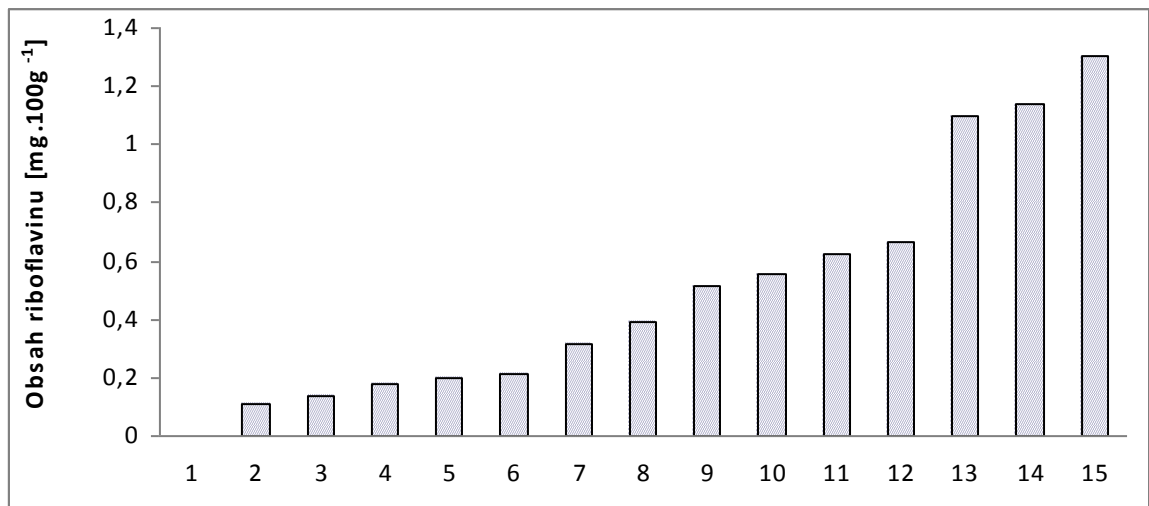
V pohankových slupkách nebyl riboflavin stanoven.

Při porovnání charakterem podobných výrobků byl nejvyšší obsah vitamínu B<sub>2</sub> stanoven v pohankových loupaných kroupách ( $1,303 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). V literatuře [51] se uvádí obsah riboflavinu v pohankových kroupách  $1,1 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ . V pohance ve varných sáčcích je tento obsah 51 % proti obsahu riboflavinu v pohankových kroupách a v pohance loupané tmavé tento obsah činí 42,7 %. Méně vitamínu B<sub>2</sub> obsahuje pohanka neloupaná, jejíž obsah činí 39,3 %, pohanka lámanka bio s obsahem 30,1 % vitamínu B<sub>2</sub> proti obsahu v pohankových kroupách, v pohance celé tento obsah činí 16,7 %, a nejméně obsahu riboflavinu bylo stanoven v pohankové krupici, která obsahuje pouze 13,5 % proti obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v pohankových kroupách. Obsah vitamínů v rostlinných produktech je ovlivňován genotypem, geografickými podmínkami, ve kterých jsou tyto plodiny pěstovány, technologickými úpravami a podmínkami při skladování.

Při porovnání pohankových mouk byl vyšší obsah riboflavinu zjištěn v pohankové mouce ( $1,098 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), v celozrnné pohankové mouce je to 57 % proti obsahu riboflavinu v pohankové mouce. Nižší obsah riboflavinu v celozrnné mouce může být způsoben tím, že vitaminy jsou v pohance uloženy zejména v endospermu, ale v obalových vrstvách je vitamínů minimální množství.

Ze všech druhů pohankových vloček byly lepším zdrojem riboflavinu stanoveny pohankové vločky ( $1,138 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) a až následně dva druhy instantních pohankových vloček, jejichž obsah je při porovnání s pohankovými vločkami 27,9 a 17,5 %. Nízký obsah riboflavinu v instantních pohankových vločkách mohl být způsoben technologickou úpravou a skladováním.

Z extrudovaných výrobků byl vyšší obsah riboflavinu stanoven v pohankových křupkách ( $0,138 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Zatímco obsah riboflavinu v pohankových pukancích byl nejnižší ( $0,109 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) ze všech pohankových produktů.



Obr. 10: Sestupné seřazení podle obsahu riboflavinu v pohankových produktech

1	Loupané pohankové kroupy	9	Pohankové instantní vločky
2	Pohankové vločky	10	Pohanka celá
3	Pohanková mouka	11	Pohankové instantní vločky
4	Pohanka ve varných sáčcích	12	Pohanková krupice
5	Pohanková mouka celozrnná	13	Pohankové křupky
6	Pohanka loupaná tmavá	14	Pohankové pukance
7	Pohanka neloupaná	15	Pohankové slupky
8	Pohanka lámanka bio		

Tab. 31: Obsah riboflavinu v pohankových produktech a pokrytí DDD (100 g produktu)

Produkt	Obsah riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	% DDD pro ženy	% DDD pro muže
Pohanková mouka	1,098 ± 0,004	99,8	84,4
Pohanková mouka celozrnná	0,627 ± 0,005	57,0	48,2
Pohanka ve varných sáčcích	0,669 ± 0,004	60,8	51,4
Pohanka celá	0,216 ± 0,006	19,6	16,6
Pohanka neloupaná	0,512 ± 0,006	46,5	39,4
Pohanka loupaná tmavá	0,556 ± 0,003	50,5	42,7
Pohanka loupaná kroupy	1,303 ± 0,004	118,4	100,2
Pohanka lámanka bio	0,392 ± 0,003	35,6	30,1
Pohanková krupice	0,176 ± 0,004	16,0	13,5
Pohankové instantní vločky (Vega Provita s.r.o.)	0,199 ± 0,003	18,1	15,3
Pohankové instantní vločky (Inter Areal s.r.o)	0,317 ± 0,003	28,8	24,4
Pohankové vločky	1,138 ± 0,004	103,5	87,6
Pohankové křupky	0,138 ± 0,006	12,6	10,6
Pohankové pukance	0,109 ± 0,006	9,9	8,4
Pohankové slupky	0	-	-

#### 8.1.4 Výsledky stanovení obsahu riboflavinu v produktech z prosa

Obsah riboflavinu byl stanoven ve 4 produktech z prosa. Analyzovány byly následující vzorky: jáhly, jahelné vločky, jahelné vločky bio a jahelná mouka hrubá.

Dosazením naměřené plochy píku do regresní rovnice kalibrační křivky byl získán obsah riboflavinu v mg.l<sup>-1</sup>. Tato hodnota byla následně přepočtena na mg.100g<sup>-1</sup> vzorku.

#### 8.1.4.1 Stanovení obsahu riboflavinu v jahelné mouce hrubé

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku hrubé jahelné mouky s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 32) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku hrubé jahelné mouky. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XXII).

Tab. 32: Obsah riboflavinu ve vzorku jahelné hrubé mouky

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	6,340
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,106
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,085
Směrodatná odchylka	0,003

Obsah riboflavinu v jahelné hrubé mouce byl stanoven:

$$0,085 \pm 0,003 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 0,85 mg.kg<sup>-1</sup>

Literatura uvádí obsah riboflavinu v prosné mouce 0,19 mg.100g<sup>-1</sup>. Nižší obsah vitamínu B<sub>2</sub> mohl být způsoben různými faktory, např. nesprávným skladováním produktu.

#### 8.1.4.2 Stanovení obsahu riboflavinu v jáhlech

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku jáhel s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 33) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku jáhel. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XXIII).

Obsah riboflavinu ve vzorku jáhel byl stanoven:

$$0,153 \pm 0,003 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 1,53 mg.kg<sup>-1</sup>

Tab. 33: Obsah riboflavinu ve vzorku jáhel

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	13,342
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,191
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,153
Směrodatná odchylka	0,003

#### 8.1.4.3 Stanovení obsahu riboflavinu v jahelných vločkách

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku jahelných vloček s přesností na čtyři desetinná místa. V tabulce (Tab. 34) jsou uvedeny průměrné plochy píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XXIV).

Tab. 34: Obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	5,264
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,093
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,075
Směrodatná odchylka	0,003

Obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček byl stanoven:

$$0,075 \pm 0,003 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 0,75 mg.kg<sup>-1</sup>

#### 8.1.4.4 Stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku jahelných vloček bio

K analýze bylo naváženo 25 g vzorku jahelných vloček bio s přesností na čtyři desetinná místa. Analýza byla provedena pětkrát. V tabulce (Tab. 35) jsou uvedeny průměrné plochy

píku riboflavinu a průměrný obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček bio. Vzorový chromatogram stanovení obsahu riboflavinu je v příloze (P XXV).

*Tab. 35: Obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček bio*

Průměrná plocha píku [mA.V.s]	8,260
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.l <sup>-1</sup> ]	0,130
Průměrná koncentrace riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	0,104
Směrodatná odchylka	0,002

Obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček byl stanoven:

$$0,104 \pm 0,002 \text{ mg.100g}^{-1}$$

resp. 1,04 mg.kg<sup>-1</sup>

Při porovnání jahelných vloček byl vyšší obsah vitamínu B<sub>2</sub> naměřen v jahelných vločkách bio (0,104 mg.100g<sup>-1</sup>), v pohankových vločkách je to 72,1 % proti obsahu riboflavinu v jahelných vločkách bio.

### 8.1.5 Porovnání obsahu riboflavinu v produktech z prosa

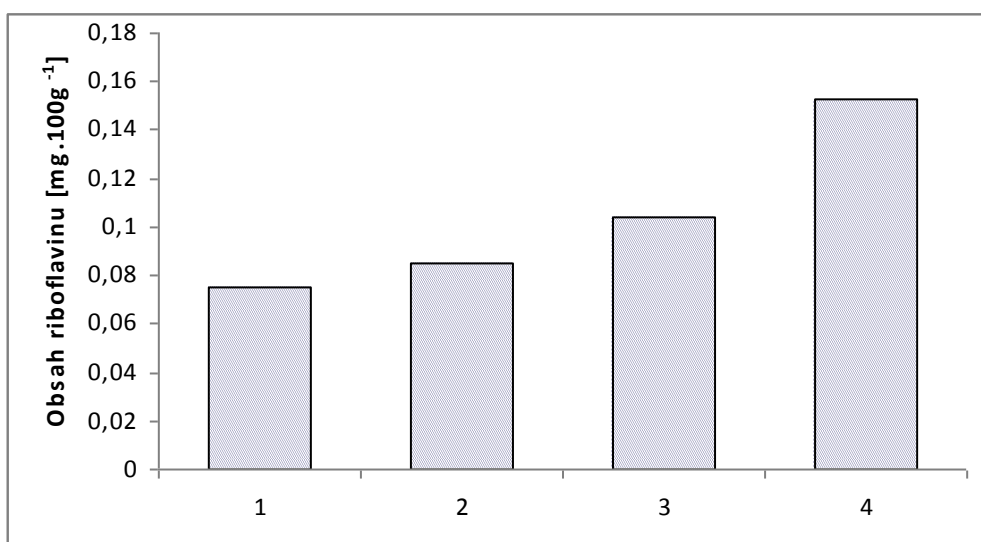
Obsah riboflavinu byl stanoven u 4 vzorků produktů z prosa. Zjištěná množství riboflavinu (mg.100g<sup>-1</sup>) byla přepočtena na procentuální pokrytí denní doporučené dávky (DDD) riboflavinu. Denní doporučená dávka vitamínu B<sub>2</sub> je stanovena pro ženy 1,1 mg.den<sup>-1</sup> a muže 1,3 mg.den<sup>-1</sup>. [9]

Výsledky jsou uvedeny v tabulce (Tab. 36), a v grafu (Obr. 11) je zobrazeno sestupné pořadí obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v jednotlivých pohankových produktech.



Tab. 36: Obsahu riboflavinu v prosných produktech a pokrytí DDD (100 g produktu)

Produkt	Obsah riboflavinu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	% DDD pro ženy	% DDD pro muže
Jahelné vločky	0,075 ± 0,003	6,8	5,7
Jahelná mouka hrubá	0,085 ± 0,003	7,7	6,5
Jáhly	0,153 ± 0,003	13,9	11,8
Jahelné vločky bio	0,104 ± 0,002	9,4	8,0



Obr. 11: Sestupné seřazení obsahu riboflavinu v produktech z prosa

- 1 Jáhly
- 2 Jahelné vločky bio
- 3 Jahelná mouka hrubá
- 4 Jahelné vločky

Nejvyšší obsah riboflavinu (0,153 mg.100g<sup>-1</sup>) byl stanoven v jáhlech. 100 g jáhel pokrývá u žen 13,9 % denní doporučené dávky riboflavinu a u mužů 11,8 %.

Méně riboflavinu ( $0,104 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) obsahují jahelné vločky bio, které u žen splňují 9,4 % riboflavinu na den a u mužů 8,0 %.

O něco nižší obsah riboflavinu ( $0,085 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) byl zjištěn u hrubé jahelné mouky, která kryje 7,7 % denní doporučené dávky riboflavinu u žen a 6,5 % u mužů. V literatuře se uvádí obsah vitamínu B<sub>2</sub>  $0,19 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ . Nižší obsah riboflavinu mohl být způsoben genotypem prosa, technologickým opracováním ale i špatnou ochranou vzorku během analýzy před světelným zářením.

Nejnižší obsah riboflavinu byl zjištěn u jahelných vloček ( $0,075 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), které tvoří 6,8 % denní doporučené dávky riboflavinu u žen a 5,7 % u mužů.

Při porovnání charakterem podobných výrobků - jahelných vloček byl vyšší obsah vitamínu riboflavinu naměřen v jahelných vločkách bio ( $0,104 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), v pohankových vločkách je to 72,1 % proti obsahu riboflavinu v jahelných vločkách bio.

Nízký obsah vitamínů v produktech z prosa může být způsoben například obušováním obalových vrstev při výrobě jáhel a dalších jahelných produktů. Vitamíny jsou v prosu obsaženy především v aleuronové vrstvě, která může být během technologického opracování částečně odstraněna.

## ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu riboflavinu v 15 produktech z pohanky a 4 produktech z prosa pomocí chromatografické techniky HPLC s UV-DAD.

Vitaminy jsou pro organismus nepostradatelné, protože každý z vitaminů má svou specifickou funkci. Vitamin B<sub>2</sub> neboli riboflavin je řazen mezi vitaminy rozpustné ve vodě. Účastní se nejen metabolismu tuků, bílkovin a sacharidů, ale i metabolismu ostatních vitaminů skupiny B. Riboflavin je sice odolný vůči vysokým teplotám, ale je rozkládán světelným zářením.

Obsah riboflavinu byl zjišťován u 15 produktů z pohanky (pohanková mouka, pohanková mouka celozrnná, pohanka ve varných sáčcích, pohanka celá, pohanka loupáná kroupy, pohanka neloupaná, pohanka loupáná tmavá, pohanka lámanka bio, pohanková krupice, pohankové vločky instantní, pohankové vločky, pohankové slupky, pohankové křupky a pohankové pukance) a 4 produktů z prosa (jahelné vločky, jáhly a jahelná mouka hrubá).

Izolace riboflavinu spočívala v rozštěpení esterové vazby riboflavinu na FMN a FAD a následném odstranění bílkovin kyselinou trichloroctovou a Carrezovými činidly.

Pro chromatografické stanovení riboflavinu v produktech z pohanky a prosa byla použita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Separace probíhala na koloně SUPELCOSIL LC8. Jako mobilní fáze byl použit 0,12 mol.l<sup>-1</sup> octan sodný a metanol s gradientovou elucí. Detekce byla provedena pomocí UV-DAD detektoru se zvolenou vlnovou délkou 270 nm.

V produktech z pohanky byl nejvyšší obsah riboflavinu zjištěn v loupáných pohankových krupách, které obsahovaly 1,303 mg vitaminu B<sub>2</sub> ve 100 g výrobku, dále v pohankových vločkách 1,138 mg.100g<sup>-1</sup> a v pohankové mouce s obsahem riboflavinu 1,098 mg.100g<sup>-1</sup>.

Při porovnání charakterem podobných pohankových výrobků – pohankových mouk, byl vyšší obsah vitaminu B<sub>2</sub> stanoven v pohankové mouce 1,098 mg.100g<sup>-1</sup> než v celozrnné pohankové mouce (0,627 mg.100g<sup>-1</sup>).

Srovnáním obsahu riboflavinu v pohankových nážkách, bylo nejvíce riboflavinu zjištěno u pohanky ve varných sáčcích, s obsahem riboflavinu 0,669 mg.100g<sup>-1</sup>. Další v pořadí se snižujícím se obsahem riboflavinu byla loupáná pohanka tmavá 0,556 mg.100g<sup>-1</sup>, pohanka

neloupaná  $0,512 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  a nejméně riboflavinu bylo stanoveno v pohance celé  $0,216 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$

Nejvyšší obsah riboflavinu byl stanoven v pohankových loupaných kroupách  $1,303 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ . Pohanka bio lámanka obsahuje  $0,392 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  vitamínu B<sub>2</sub> a pohanková krupice  $0,176 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ .

U vzorků pohankových vloček měly nejvyšší obsah riboflavinu pohankové vločky  $1,138 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  a nižší obsah riboflavinu byl zjištěn u dvou vzorků instantních pohankových vloček ( $0,312 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ,  $0,194 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ).

U extrudovaných pohankových výrobků bylo více riboflavinu zjištěno v pohankových křupkách  $0,138 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , méně riboflavinu bylo stanoveno v pohankových pukancích  $0,109 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ .

V literatuře je uveden obsah riboflavinu v pohankových produktech nižší. Obsah vitaminů v rostlinných produktech je ovlivňován genotypem, geografickými podmínkami, ve kterých jsou tyto plodiny pěstovány, technologickými úpravami a podmínkami při skladování.

Analýzou jahelných produktů byl nejvyšší obsah riboflavinu zjištěn v jáhlech  $0,153 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , následně pak v jahelných vločkách bio  $0,104 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , jahelné hrubé mouce  $0,085 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  a nejméně riboflavinu bylo stanoveno v jahelných vločkách  $0,075 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ .

Na základě analýzy lze tedy říci, že pohanka je dobrým zdrojem riboflavinu, protože 100 g pohankových krup nebo běžné pohanky pokryje celodenní potřebu riboflavinu. Jáhly se jako dobrý zdroj riboflavinu nepotvrdily, protože vitaminy skupiny B jsou obsaženy především v aleuronové vrstvě a klíčku a při obrušování zrna při výrobě jáhel a dalších produktů zřejmě dochází i k částečnému odstranění této vrstvy.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] HAMPL, F., PALEČEK, J. *Farmakochemie*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002. 413s. ISBN 80-7080-495-5
- [2] DAVÍDEK, J. a kol. *Chemie potravin*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1983. 629s.
- [3] HLÚBIK, P., OPLTOVÁ, L. *Vitaminy*. 1. vyd. Praha: Grada, 2004. 323s. ISBN 80-247-0373-4
- [4] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 1990. 217s. ISBN 80-200-0600-1
- [5] HOZA, I. a kol. *Potravinářská biochemie II*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2006. 104s. ISBN 80-7318-395-1
- [6] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin II*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 304s. ISBN 80-86659-01-1
- [7] KOMPRDA, T. *Základy výživy člověka*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2003. 164s. ISBN 80-7157-655-7
- [8] MURRAY, R., a kol. *Harperova biochemie*. 4. vyd. Praha: H&H, 2002. 872s. ISBN 80-7319-013-3
- [9] BURDYCHOVÁ, R., *Preventivní výživa*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2009. 113s. ISBN 978-80-7375-280-4
- [10] JACOBS, P., WOOD, L. *Vitamin B<sub>2</sub>. Disease a Month*. 2003, roč. 49, č. 11, s. 653-657.
- [11] JANÍČEK, G., HALAČKA, K. *Základy výživy*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1985. 174s.
- [12] ŠÍCHO, V., a kol. *Potravinářská biochemie*. 2. vyd. Praha: SNTL, 1981. 360s.
- [13] Riboflavin. [online]. [2010-1-16]. Dostupný z www: <<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/riboflavin>>
- [14] RACEK, J. *Klinická biochemie*. 1. vyd. Praha: Galén, 1999. 317s. ISBN 80-7262-023-1
- [15] KARLSON, P. *Základy biochemie*. 10. vyd. Praha: Academia, 1981. 504s.
- [16] *Mikrobní technologie*. [online]. [2010-2-9]. Dostupný z www: <<http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/mikroII.pdf>>

- [17] BUŇKA, F. *Ekonomika výživy a výživová politika I.* 1. vyd. Zlín: UTB, 2006. 159s. ISBN 80-7318-429-X
- [18] NOVÁK, V. *Ekonomika výživy II.* Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 1997. 61s.
- [19] KYZLINK, V. *Základy konzervace potravin.* 2. vyd. Praha: SNTL, 1980. 513s.
- [20] CATALDI, T. R. I., a kol. Assessment of riboflavin and flavin content in common food samples by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Food Chemistry.* 2003, roč. 82, č. 2, s. 309-314
- [21] KUBÁŇ, V., KUBÁŇ, P. *Analýza potravin.* 1. vyd. Brno: MZLU, 2007. 203s. ISBN 978-80-7375-036-7
- [22] SILVA, L. S. a kol. Chromatographic determination of riboflavin in the presence of tetracyclines in skimmed and full cream milk using fluorescence detection. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* Brazil. ISBN 0103-5053.
- [23] ANDRÉS-LACUEVA, C. a kol. Determination of riboflavin, flavin mononucleotide and flavin-adeninucleotide 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.
- [24] CHEN, P., Wolf, W. R. LC/UV/MS-MRM for the simultaneous determination of water-soluble vitamins in multi-vitamin dietary supplements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 2007, roč. 387, č. 7.
- [25] TANG, X. a kol. A simplified approach to the determination of thiamin and riboflavin in meats using reverse phase HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2006, roč. 19, č. 8, s. 831-837.
- [26] KRAMÁŘOVÁ, D., ŠKROVÁNKOVÁ, S., HÁBOVÁ, M., HOZA, I. Stanovení vitamínu B<sub>2</sub> v játrech metodou HPLC. In: *Laboralim 2007.* Bratislava: STU, 2007. s. 282-286.
- [27] ESTEVE, M. J., a kol. Simultaneous determination of thiamin and riboflavin in mushrooms by liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2001, č. 1450-1454.
- [28] VALLS, F., a kol. Determination of Total Riboflavin Cooked sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1999. č. 1067-1070.

- [29] GLISZCZYNSKA, A., a kol. Chromatografic determination of riboflavin and its derivatives in food. *Journal of Chromatography A*. 2000, roč. 881, č. 1-2, s. 285-297.
- [30] DAVÍDEK, J., VELÍŠEK, J. *Analýza potravin*. Praha: VŠCHT, 1988. 122 s.
- [31] ISMAIL, A., a kol. Determination of Vitamin C,  $\beta$ -carotene and Riboflavin Contents in Five Green Vegetables Organically and Conventionally Grown. *Mal J Nutr*. 2003
- [32] POPL, M., a kol. *Instrumentální analýza*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1986.
- [33] KLOUDA, P., *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2
- [34] ŠTULÍK, K., a kol. *Analytické Separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004. 264 s. ISBN 80-246-0852-9
- [35] Kolektiv autorů. *Kapalinová chromatografie*. Pardubice: ČVTS, 1979. 272 s.
- [36] CHURÁČEK, J., JANDERA, P. *Úvod do vysokoučinné kapalinové kolonové chromatografie*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1985. 192 s.
- [37] Kolektiv autorů. *Analýza organických látek*. Český Těšín: THETA, 2005. 502 s. ISBN 80-86380-29-7
- [38] CHURÁČEK, J., a kol. *Analytická separace látek*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1990. 384 s.
- [39] PRUGAR, J. a kol. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů, 2008. 327 s. ISBN 978-80-86576-28-2
- [40] MOUDRÝ, J. *Pohanka a proso*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2005. 206 s. ISBN 80-7271-162-8
- [41] JANČA, J., ZENTRICH, J. A. *Herbář léčivých rostlin 4. díl*. 1. vyd. Praha: Eminent, 1996. 287 s. ISBN 80-85876-20-5
- [42] JANOVSÁ, D., a kol. *Metodika pěstování pohanky obecné v ekologickém a konvenčním zemědělství*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2009. 13 s. ISBN 978-80-7427-000-0
- [43] ŠPALDON, E. *Rostlinná výroba*. 1. vyd. Bratislava: Příroda. 1982. 627 s.

- [44] SOBOTKA, M. *Atlas obilnin československých povolených a rayonovaných odrůd*. 1958
- [45] CAMPBELL, C. G. *Buckwheat Fagopyrum Esculentum Moench*. Rome: IPGRI, 1997. 93 s. ISBN 92-9046-345-0
- [46] PAZDERA, J., a kol. *Pěstování rostlin*. 1. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2006. 203 s. ISBN 80-86726-02-9
- [47] PETR, J., HRADECKÁ, D. *Základy pěstování pohanky a prosa*. 1. vyd. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 1997. 32 s. ISBN 80-7105-141-1
- [48] BONAFACCIA, G., a kol. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tatar buckwheat. *Food Chemistry*. 2002.
- [49] OSTRÝ, V., RUPRICH, J. *Fytosteroly v potravinách nového typu*. Brno, 2006. 44 s.
- [50] WIJNGAARD, H. H., ARENDT, E. K. *Buckwheat*. Cereal Chemistry. 2006. Roč. 83, č. 4. 391-401.
- [51] ŠMAJSTRLA, Z. *Pohanka ve mlýně a v kuchyni*. 1. vyd. Rožnov pod Radhoštěm: TNM, 1999. 110 s. ISBN 80-238-5383-X
- [52] LEIFERTOVÁ, I., LISÁ, M. *Pohanka zdravá a léčivá i dnes*. 1. vyd. Praha: Art press servis, 1991. 19 s. ISBN 80-900730-0-X
- [53] TŮMOVÁ, L., a kol. *Pohanka obecná a její terapeutické využití*. Praktické lékařství. 2007.
- [54] JANOVSKÁ, D., a kol. *Metodika pěstování prosa setého v ekologickém a konvenčním zemědělství*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2008. 14 s. ISBN 978-80-87011-99-7
- [55] KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2004. 141 s. ISBN 80-7157-811-6
- [56] PŘÍHODA, J., a kol. *Cereální chemie a technologie*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2004. 202 s. ISBN 80-7080-530-7
- [57] MICHALOVÁ, A. *Proso seté*. [online]. [2010-4-26]. Dostupný z www: <[http://www.agroweb.cz/Proso-sete\\_\\_s44x10536.html](http://www.agroweb.cz/Proso-sete__s44x10536.html)>



- [58] BUŇKA, F., a kol. *Ekonomika výživy a výživová politika I*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2006. 159 s. ISBN 80-7318-429-X
- [59] CYHELSKÝ, L., a kol. *Teorie statistiky*. 2. vyd. Praha: SNTL, 1986. 344 s.
- [60] SOUČEK, E. *Základy statistiky*. Žilina: Poradca podnikateľa, 2006. 206 s. ISBN 80-88931-50-9
- [61] BEDNAŘÍK, F. *Metody statistické analýzy*. 1. vyd. Brno: VUT, 1990. 75 s. ISBN 80214024707
- [62] BUŇKA, F., SEVEROVÁ, M., HRABĚ, M. Vliv sterilace na obsah riboflavinu v tavených sýrech určených do bojových dávek potravin. In: *Sborník VVŠ PV 2/2003*. Vyškov: VVŠ PV, 2003. 121–129
- [63] BELTON, P. S., TAYLOR, J. R. N. *Pseudocereals and Less Common Cereals*. Německo: Springer, 2002. 269 s. ISBN 3-540-42939-5
- [64] LEBIEDZIŃSKA, A., SZEFER, P. Vitamins B in grain and cereal-grain food, soy-products and seeds. *Food Chemistry*. 2006. roč. 95, č. 1, s. 116–122
- [65] RAGAEI, S., a kol. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*. 2006. roč. 98, č. 1, s. 32–38

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

FMN	Flavinmononukleotid
FAD	Flavinadenindinukleotid
EDTA	Etylendiamintetraoctová kyselina
DDD	Denní doporučená dávka
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
UHT	Ultra vysoká pasterace
UV	Ultrafialové záření
HDL	Lipoproteiny s vysokou hustotou
LDL	Lipoproteiny s nízkou hustotou

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. 1: Struktura molekuly riboflavinu .....</i>	15
<i>Obr. 2: Molekuly flavinmononukleotidu a flavinadenindinukleotidu .....</i>	16
<i>Obr. 3: Fotodegradace riboflavinu .....</i>	18
<i>Obr. 4: Schéma kapalinového chromatografu .....</i>	29
<i>Obr. 5: Pohanka setá (Fagopyrum esculentum Moench).....</i>	35
<i>Obr. 6: Pohankové nažky .....</i>	37
<i>Obr. 7: Proso seté (Panicum miliaceum) .....</i>	47
<i>Obr. 8: Zrna prosa setého.....</i>	52
<i>Obr. 9: Kalibrační přímka pro stanovení riboflavinu metodou HPLC .....</i>	63
<i>Obr. 10: Sestupné seřazení podle obsahu riboflavinu v pohankových produktech .....</i>	76
<i>Obr. 11: Sestupné seřazení obsahu riboflavinu v produktech z prosa .....</i>	81

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1: Denní doporučená dávka (DDD) vitamínu B<sub>2</sub> pro děti, ženy a muže</i>	19
<i>Tab. 2: Obsah riboflavinu ve vybraných potravinách</i>	21
<i>Tab. 3: Ztráty riboflavinu při tepelné úpravě masa</i>	22
<i>Tab. 4: Přehled chromatografických technik</i>	27
<i>Tab. 5: Rozsah použitelnosti HPLC ve srovnání s ostatními separačními metodami</i>	28
<i>Tab. 6: Chemické složení pohanky</i>	39
<i>Tab. 7: Obsah esenciálních aminokyselin v pohance</i>	40
<i>Tab. 8: Obsah mastných kyselin v pohance</i>	40
<i>Tab. 9: Obsah minerálních látek v pohankových kroupách</i>	42
<i>Tab. 10: Obsah rutinu v jednotlivých částech pohanky</i>	43
<i>Tab. 11: Chemické složení prosa</i>	48
<i>Tab. 12: Obsah esenciálních aminokyselin</i>	49
<i>Tab. 13: Obsah minerálních látek v prosu</i>	50
<i>Tab. 14: Gradient mobilní fáze</i>	60
<i>Tab. 15: Kvantily Studentova t rozdělení s m stupni volnosti</i>	61
<i>Tab. 16: Průměrné hodnoty ploch píků kalibrační křivky</i>	62
<i>Tab. 17: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankové mouky</i>	64
<i>Tab. 18: Obsah riboflavinu ve vzorku celozrnné pohankové mouky</i>	65
<i>Tab. 19: Obsah riboflavinu ve vzorku pohanky ve varných sáčcích</i>	66
<i>Tab. 20: Obsah riboflavinu ve vzorku pohanky celé</i>	66
<i>Tab. 21: Obsah riboflavinu ve vzorku neloupané pohanky</i>	67
<i>Tab. 22: Obsah riboflavinu ve vzorku loupané pohanky tmavé</i>	68
<i>Tab. 23: Obsah riboflavinu ve vzorku loupaných pohankových krup</i>	69
<i>Tab. 24: Obsah riboflavinu ve vzorku pohanky bio lámanky</i>	69
<i>Tab. 25: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankové krupice</i>	70
<i>Tab. 26: Obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček</i>	71
<i>Tab. 27: Obsah riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček</i>	71
<i>Tab. 28: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových vloček</i>	72
<i>Tab. 29: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových křupek</i>	73
<i>Tab. 30: Obsah riboflavinu ve vzorku pohankových pukanců</i>	73
<i>Tab. 31: Obsah riboflavinu v pohankových produktech a pokrytí DDD (100 g produktu)</i>	77

---

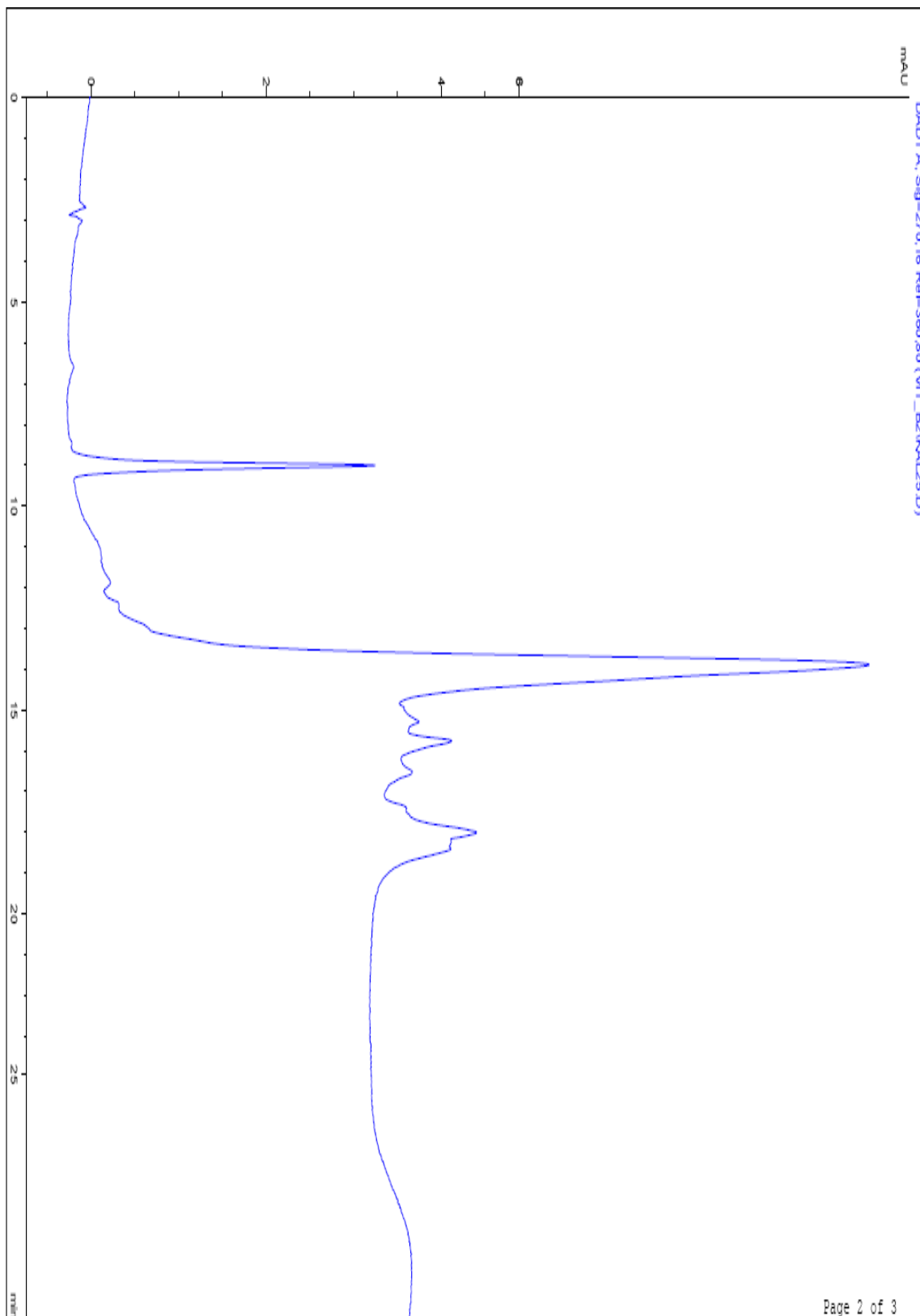
<i>Tab. 32: Obsah riboflavinu ve vzorku jahelné hrubé mouky .....</i>	<i>78</i>
<i>Tab. 33: Obsah riboflavinu ve vzorku jáhel .....</i>	<i>79</i>
<i>Tab. 34: Obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček.....</i>	<i>79</i>
<i>Tab. 35: Obsah riboflavinu ve vzorku jahelných vloček bio.....</i>	<i>80</i>
<i>Tab. 36: Obsahu riboflavinu v prosných produktech a pokrytí DDD (100 g produktu) .....</i>	<i>81</i>

**SEZNAM PŘÍLOH**

- P I Chromatogram standardu riboflavinu o koncentraci 0,5 mg.l<sup>-1</sup>
- P II Chromatogram standardu riboflavinu o koncentraci 1 mg.l<sup>-1</sup>
- P III Chromatogram standardu riboflavinu o koncentraci 1,25 mg.l<sup>-1</sup>
- P IV Chromatogram standardu riboflavinu o koncentraci 1,5 mg.l<sup>-1</sup>
- P V Chromatogram standardu riboflavinu o koncentraci 2,5 mg.l<sup>-1</sup>
- P VI Chromatogram standardu riboflavinu o koncentraci 5 mg.l<sup>-1</sup>
- P VII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohankové mouky
- P VIII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku celozrnné pohankové mouky
- P IX Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohanky ve varných sáčcích
- P X Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohanky celé
- P XI Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku neloupané pohanky
- P XII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku loupané pohanky tmavé
- P XIII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku loupaných pohankových krup
- P XIV Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku ve vzorku pohankové bio lámanky
- P XV Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohankové krupice
- P XVI Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček
- P XVII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku instantních pohankových vloček
- P XVIII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohankových vloček
- P XIX Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohankových křupek

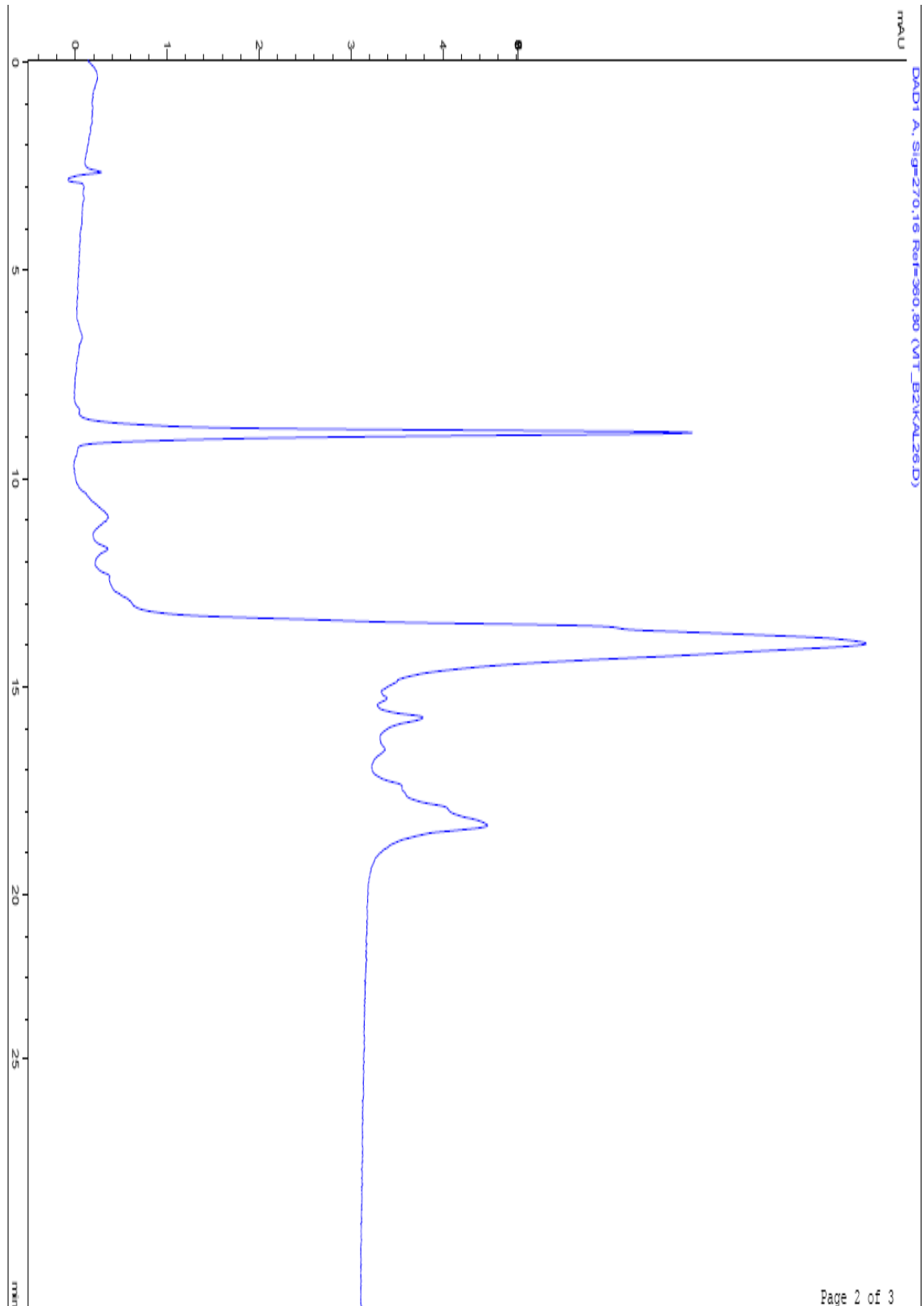
- P XX Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohankových pukanců
- P XXI Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku pohankových slupek
- P XXII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku jahelné mouky hrubé
- P XXIII Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku jáhel
- P XXIV Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku jahelných vloček
- P XXV Chromatogram stanovení obsahu riboflavinu ve vzorku jahelných vloček bio

**PŘÍLOHA P I: CHROMATOGRAM STANDARDU RIBOFLAVINU O  
KONCENTRACI 0,5 mg.l<sup>-1</sup>**

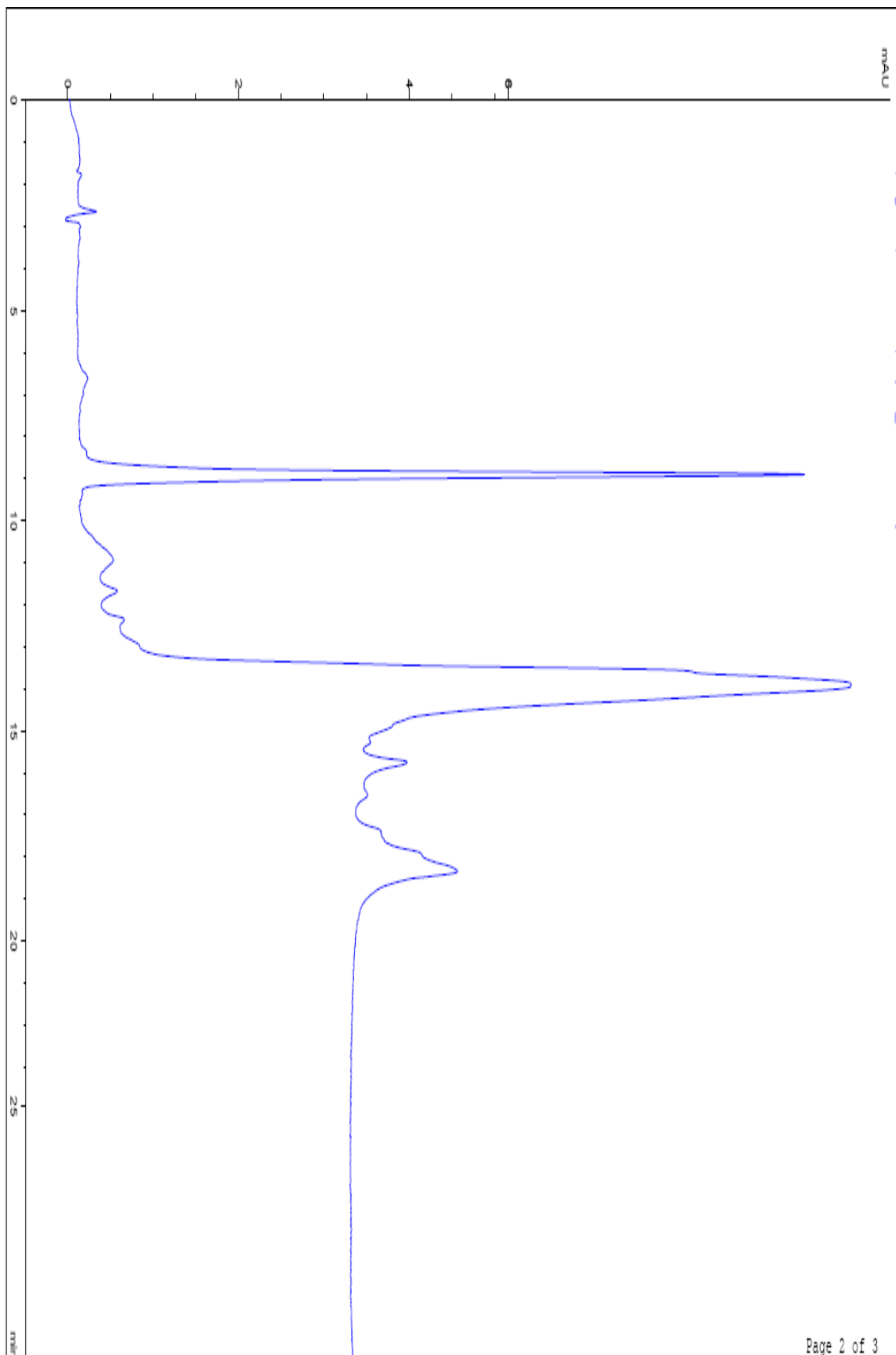




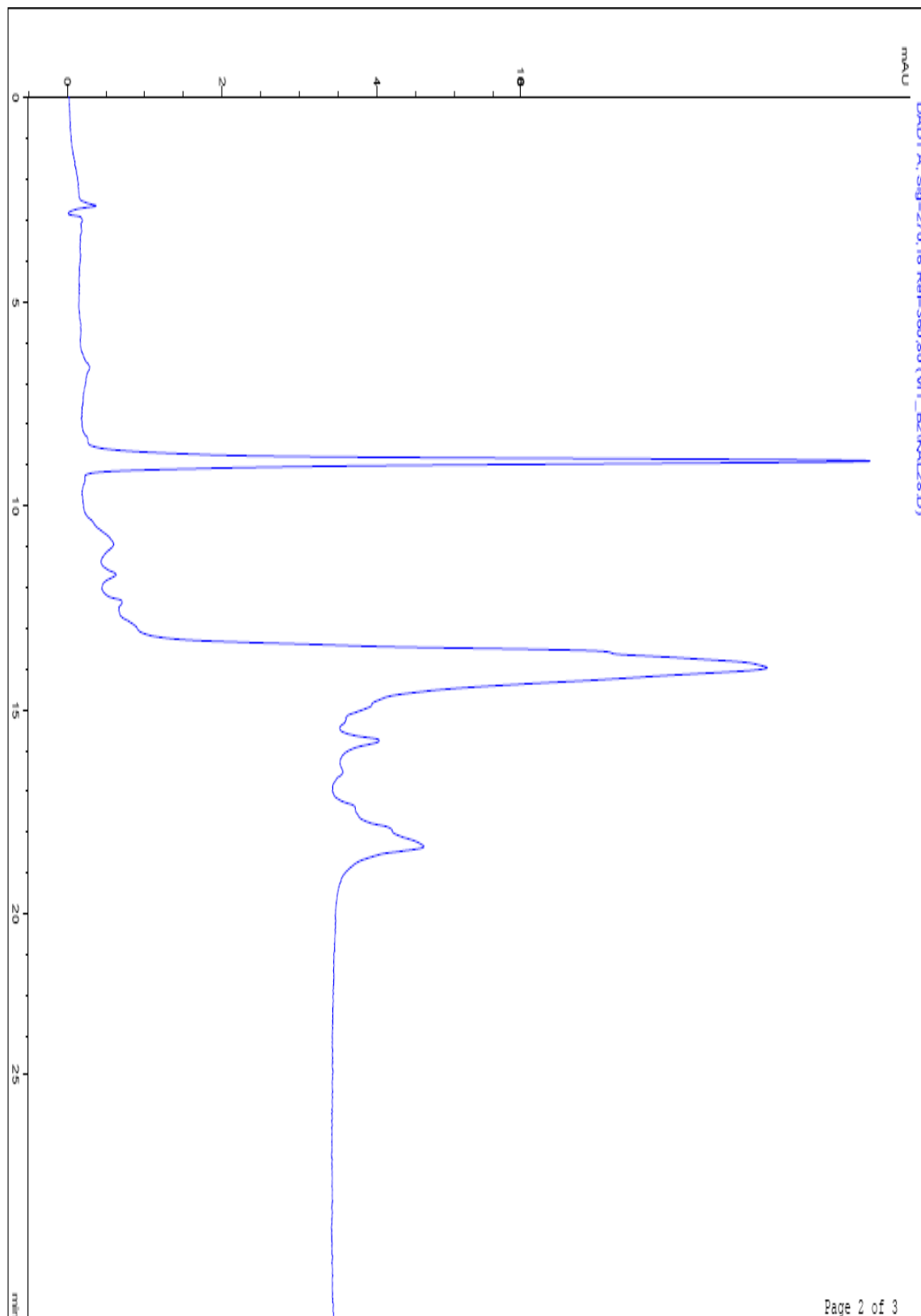
**PŘÍLOHA P II: CHROMATOGRAM STANDARDU RIBOFLAVINU O  
KONCENTRACI 1 mg.l<sup>-1</sup>**



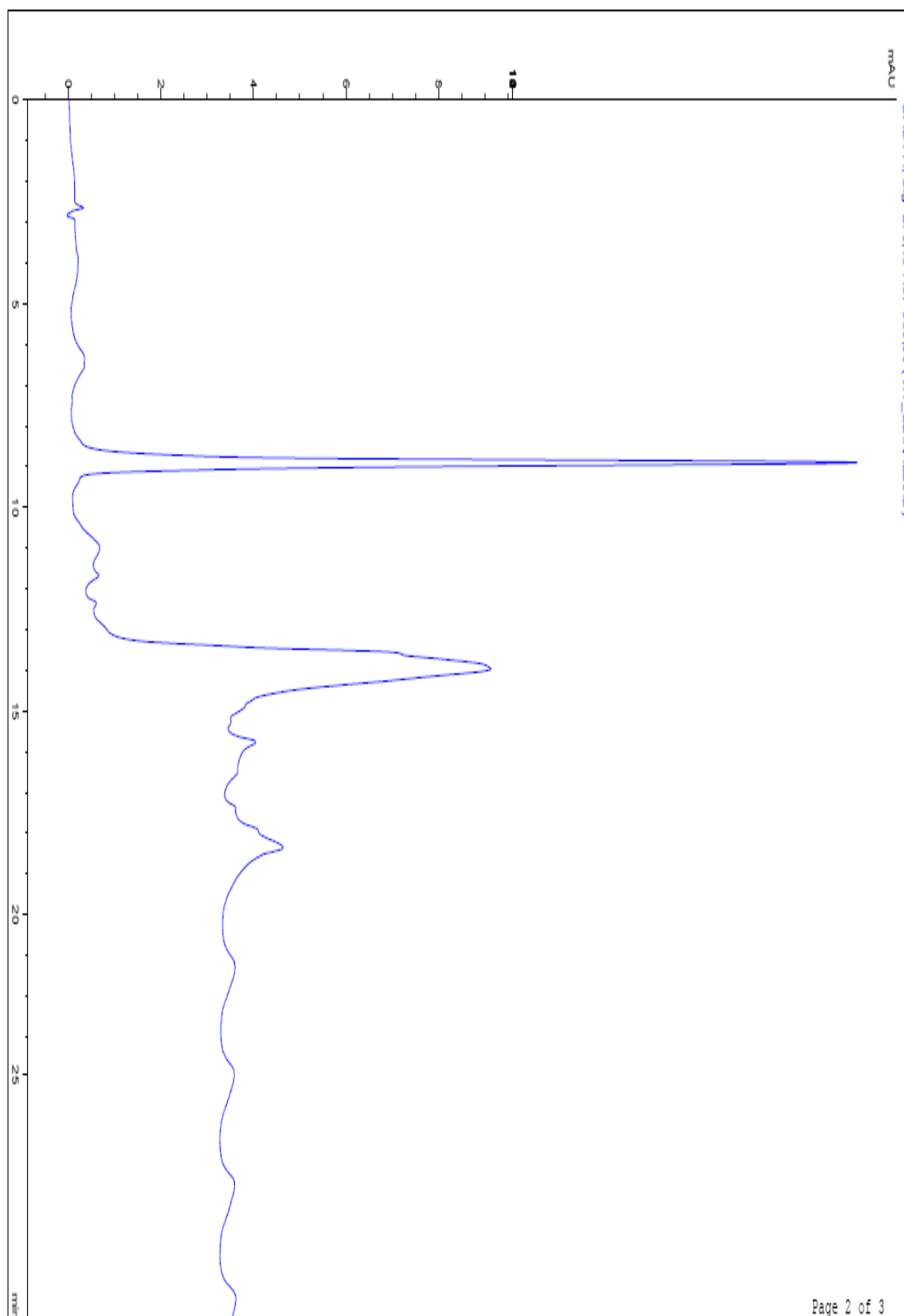
**PŘÍLOHA P III: CHROMATOGRAM STANDARDU RIBOFLAVINU O  
KONCENTRACI 1,25 mg.l<sup>-1</sup>**



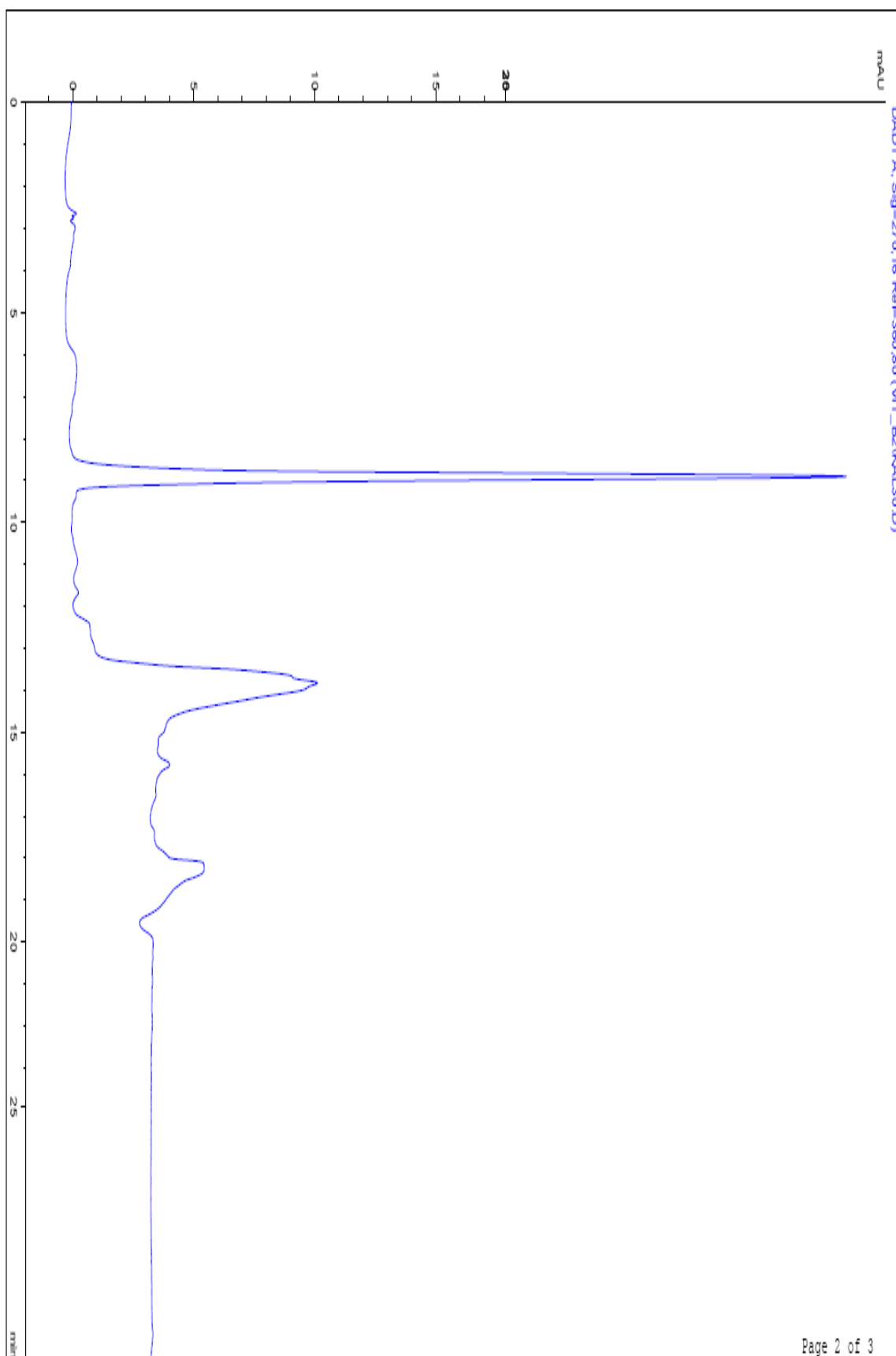
**PŘÍLOHA P IV: CHROMATOGRAM STANDARDU RIBOFLAVINU O  
KONCENTRACI 1,5 mg.l<sup>-1</sup>**



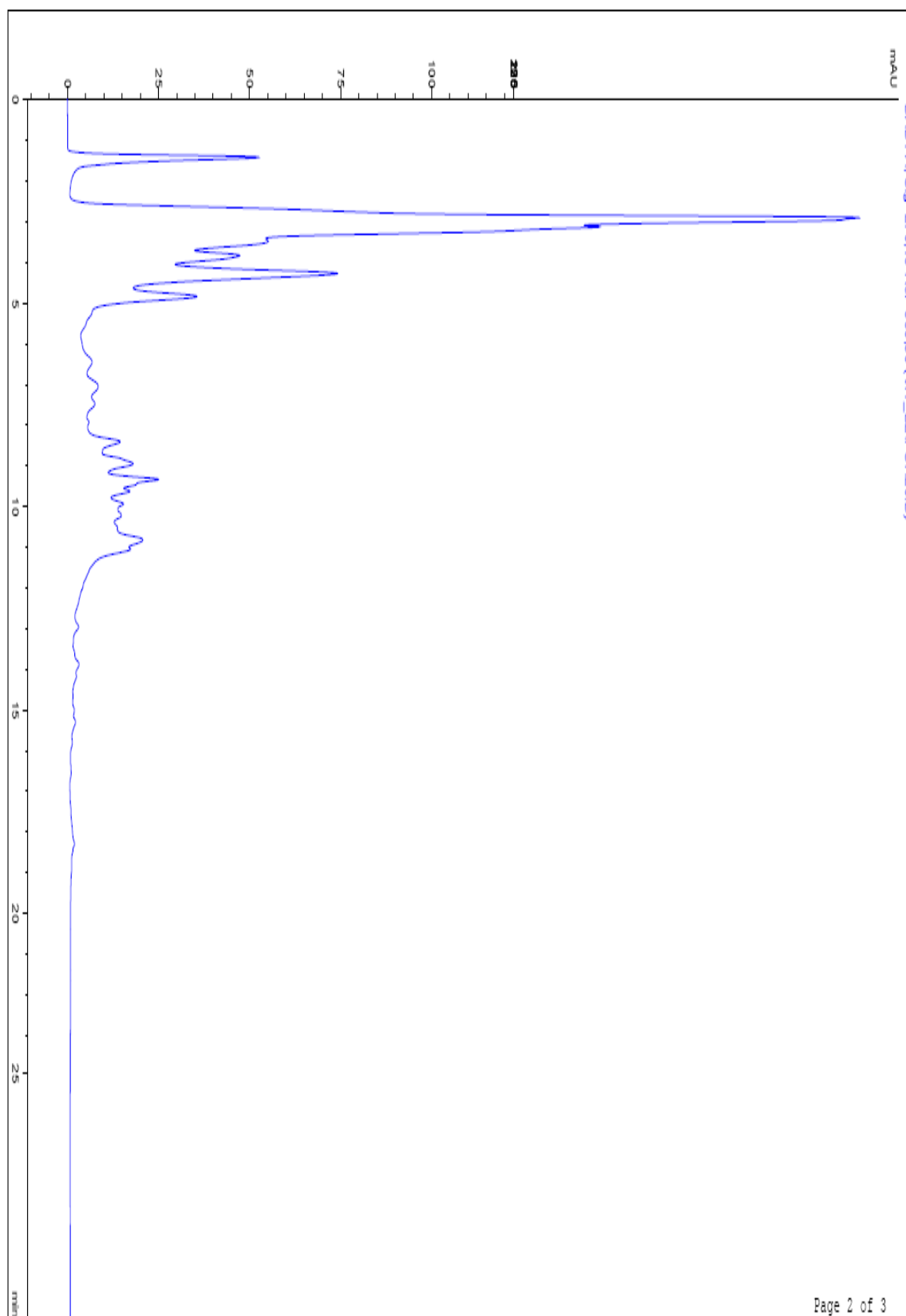
**PŘÍLOHA P V: CHROMATOGRAM STANDARDU RIBOFLAVINU O  
KONCENTRACI 2,5 mg.l<sup>-1</sup>**



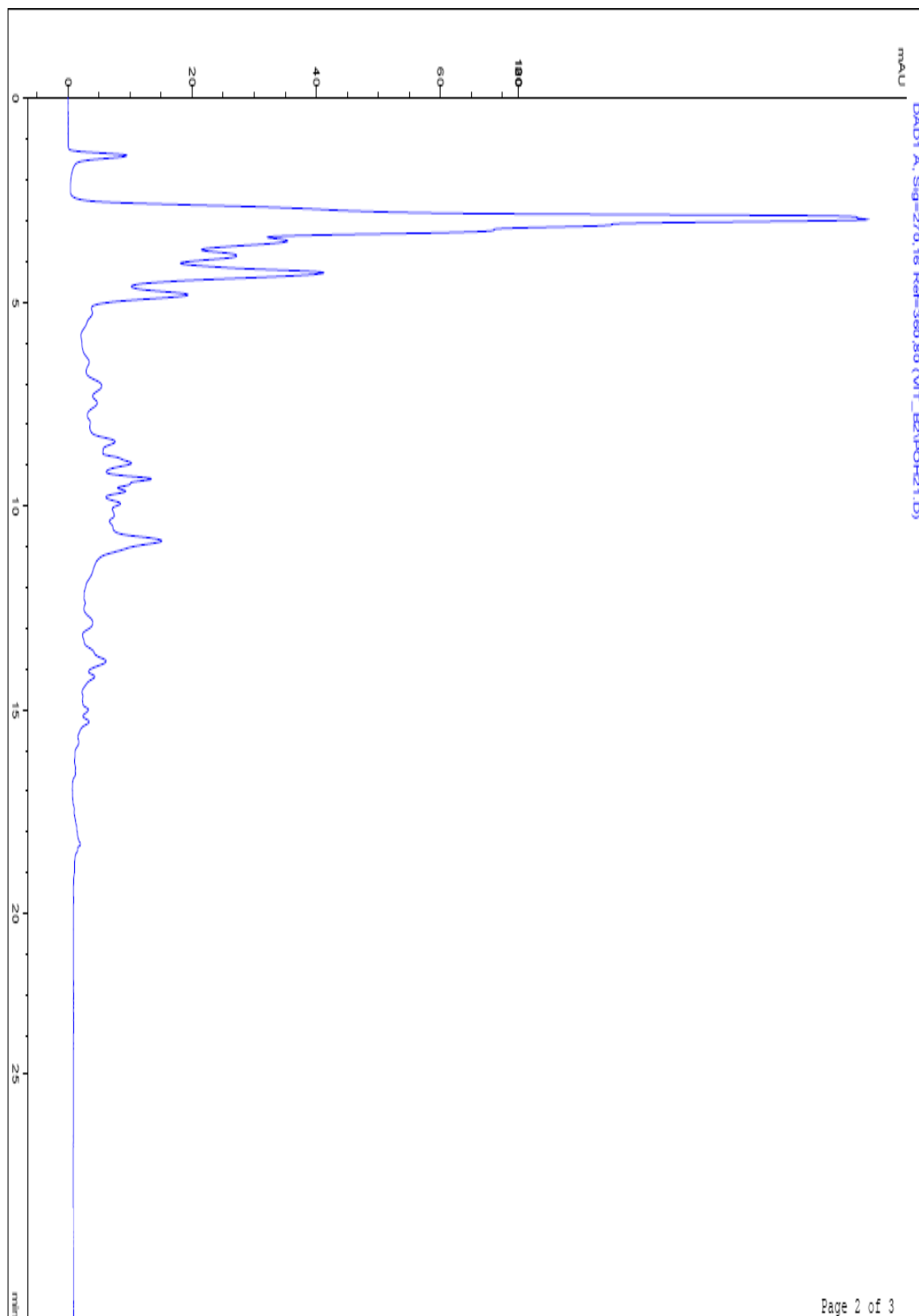
**PŘÍLOHA P VI: CHROMATOGRAM STANDARDU RIBOFLAVINU O  
KONCENTRACI 5 mg.l<sup>-1</sup>**



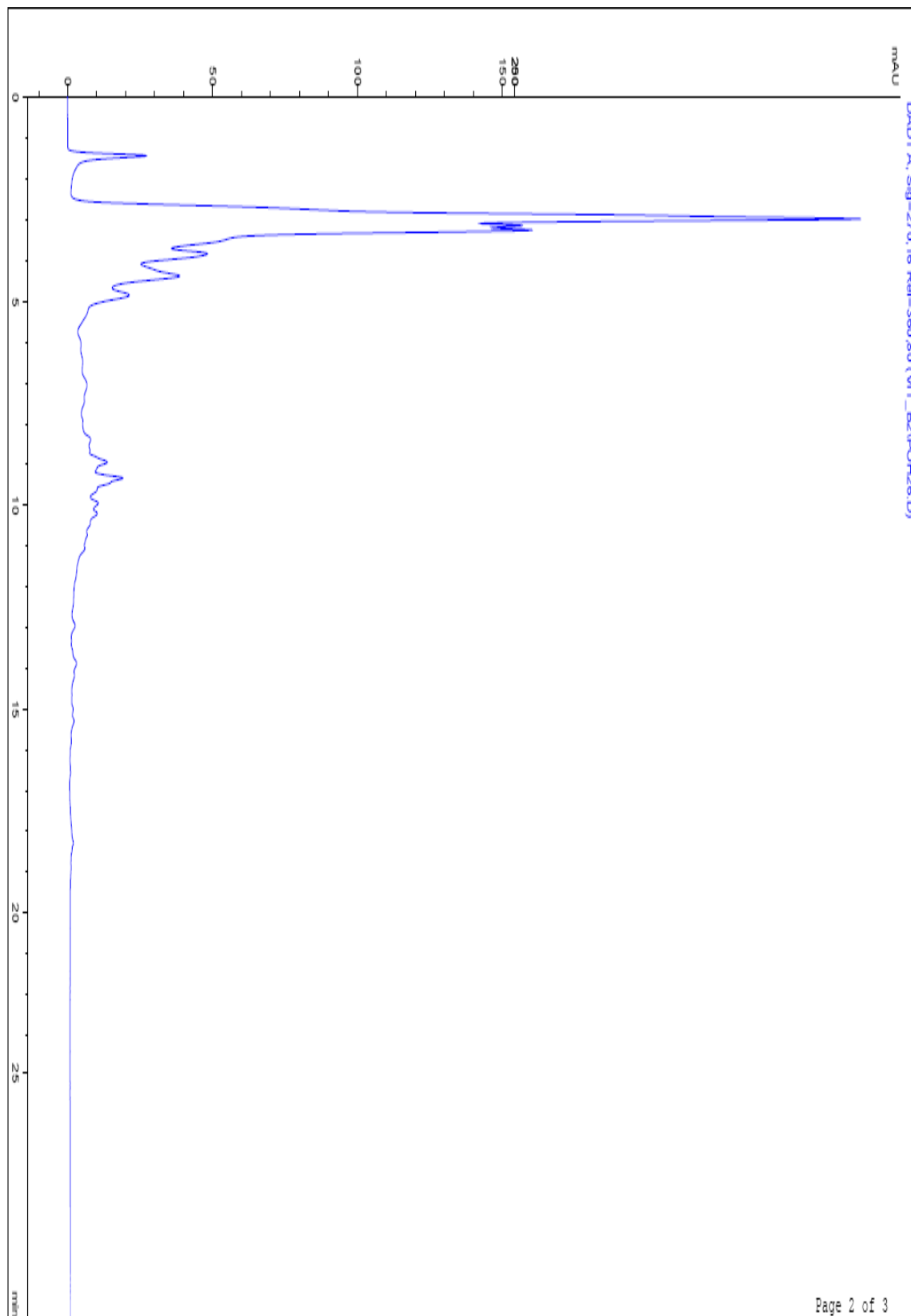
# PŘÍLOHA VII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU VE VZORKU POHANKOVÉ MOUKY



**PŘÍLOHA P VIII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU CELOZRNNÉ POHANKOVÉ MOUKY**

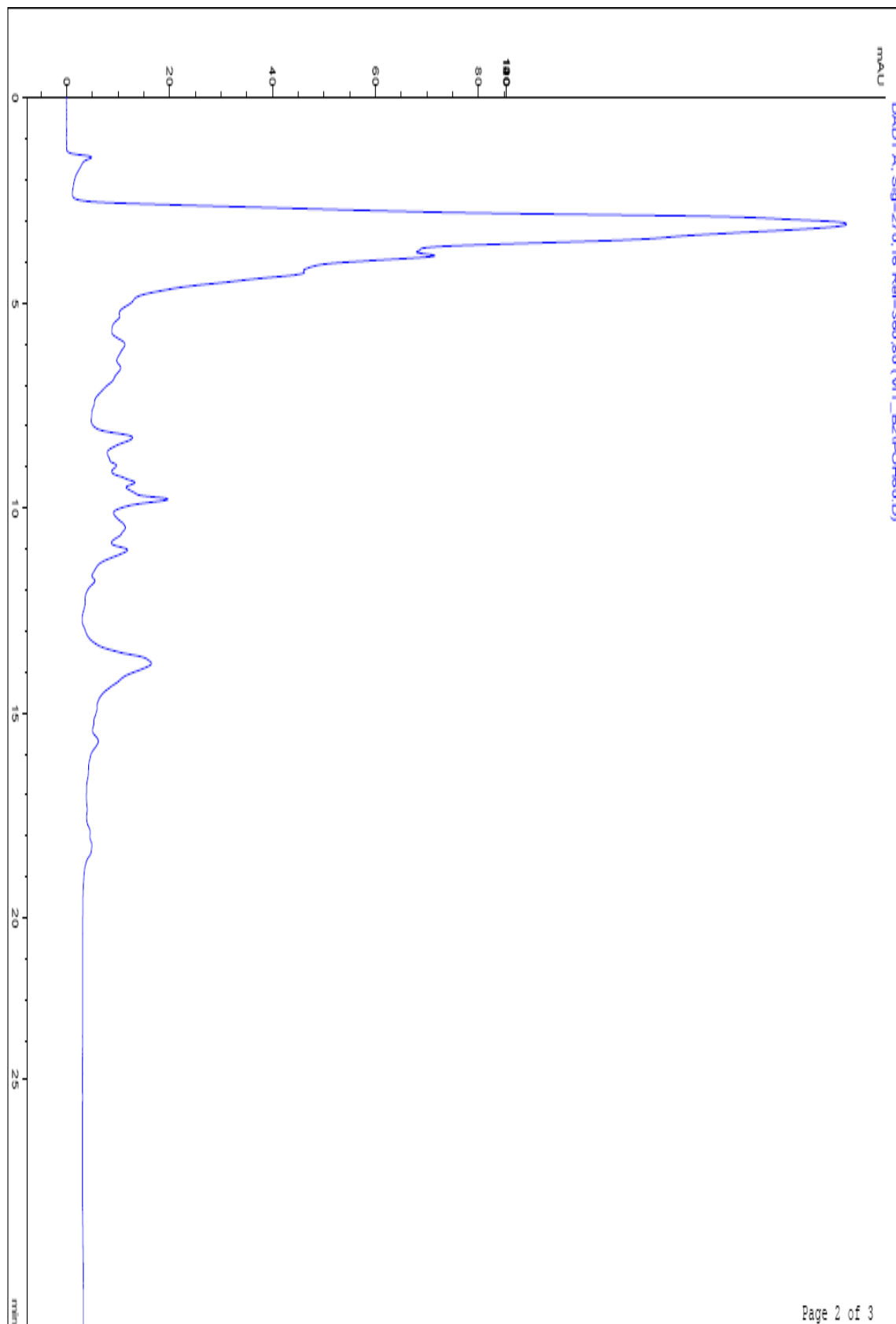


**PŘÍLOHA IX: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU VE VZORKU POHANKY VE VARNÝCH SÁČČÍCH**

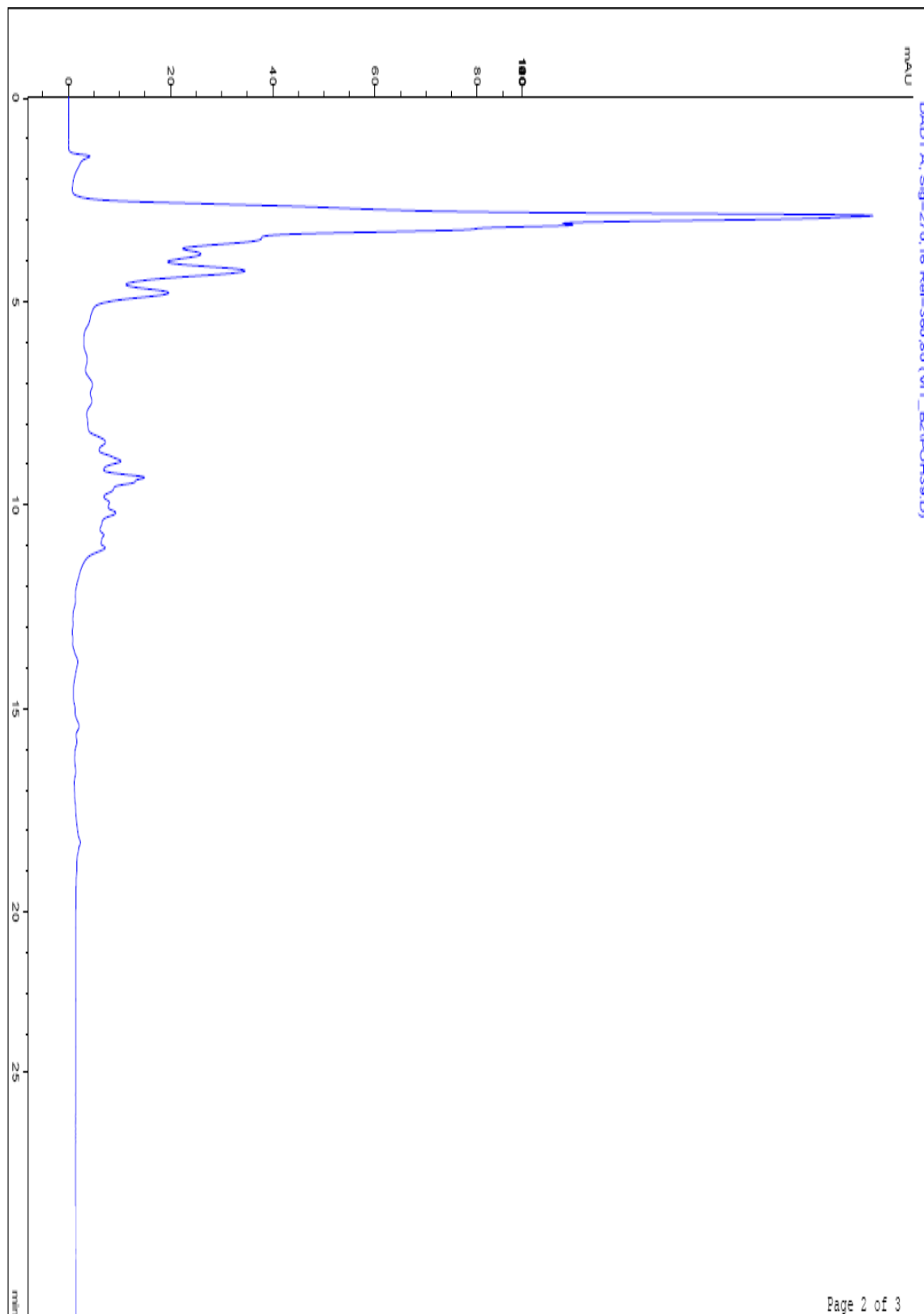




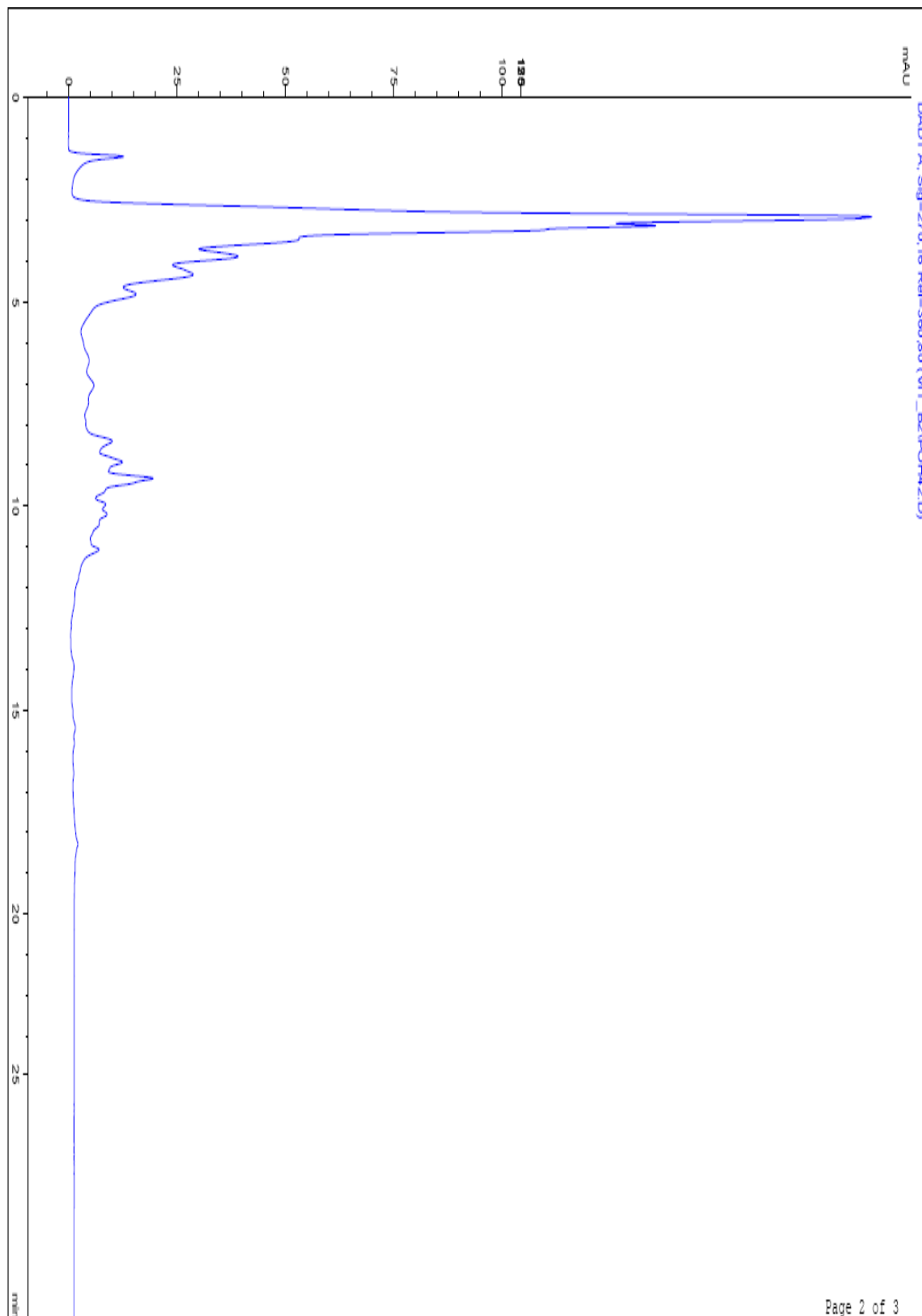
**PŘÍLOHA P X: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU VE  
VZORKU POHANKY CELÉ**



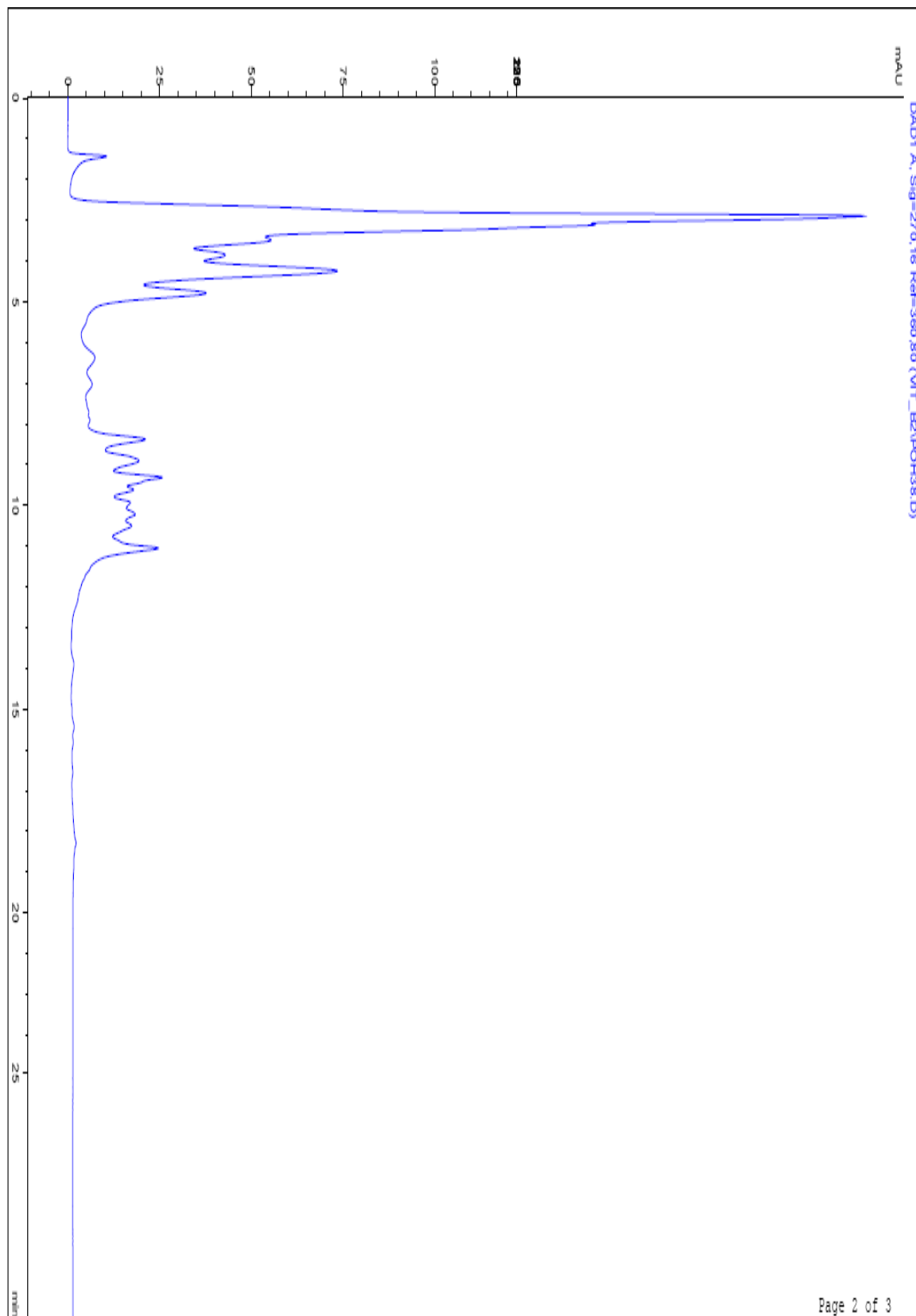
**PŘÍLOHA P XI: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU VE  
VZORKU NELOUPANÉ POHANKY**



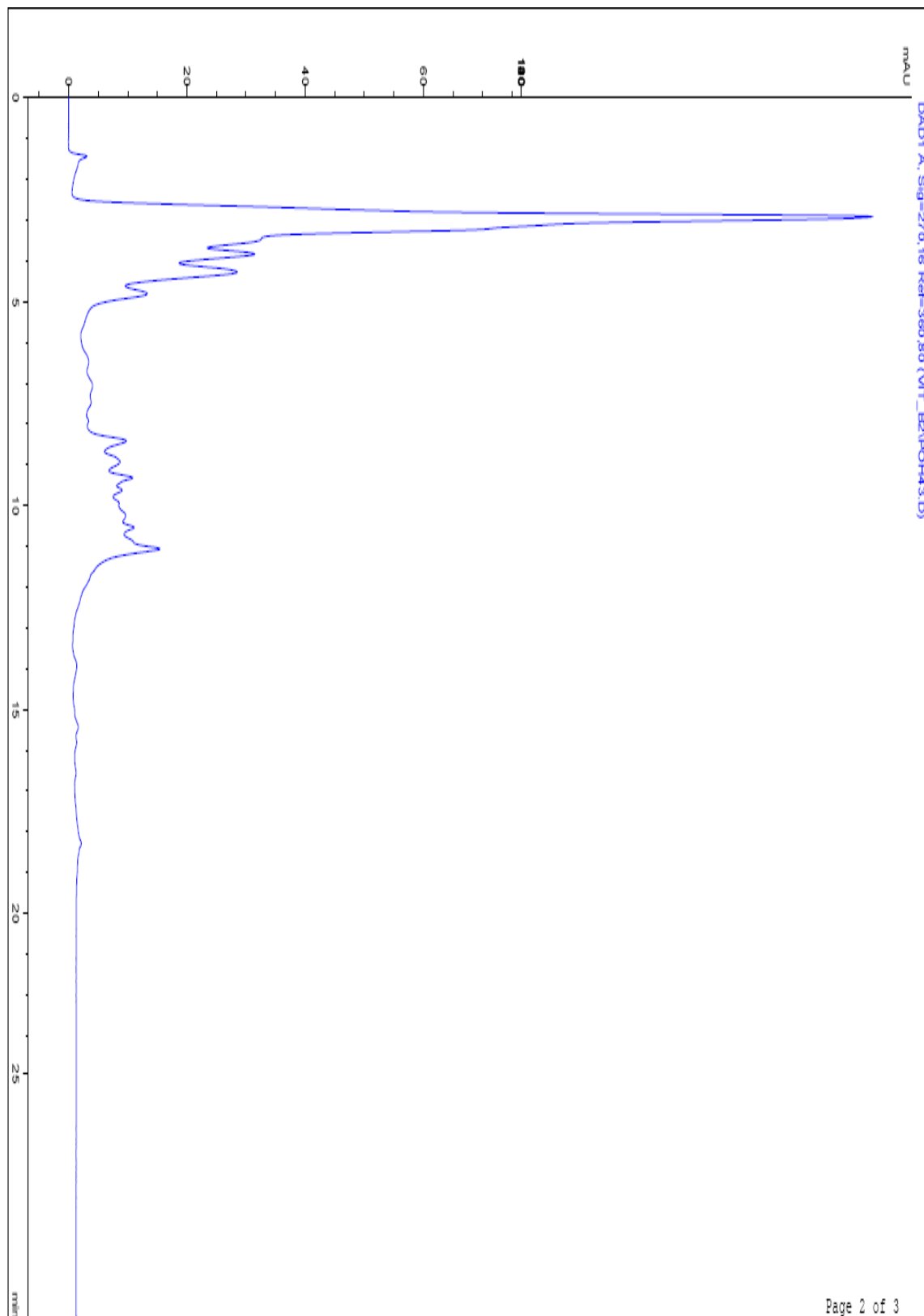
**PŘÍLOHA P VIII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU LOUPANÉ POHANKY TMAVÉ**



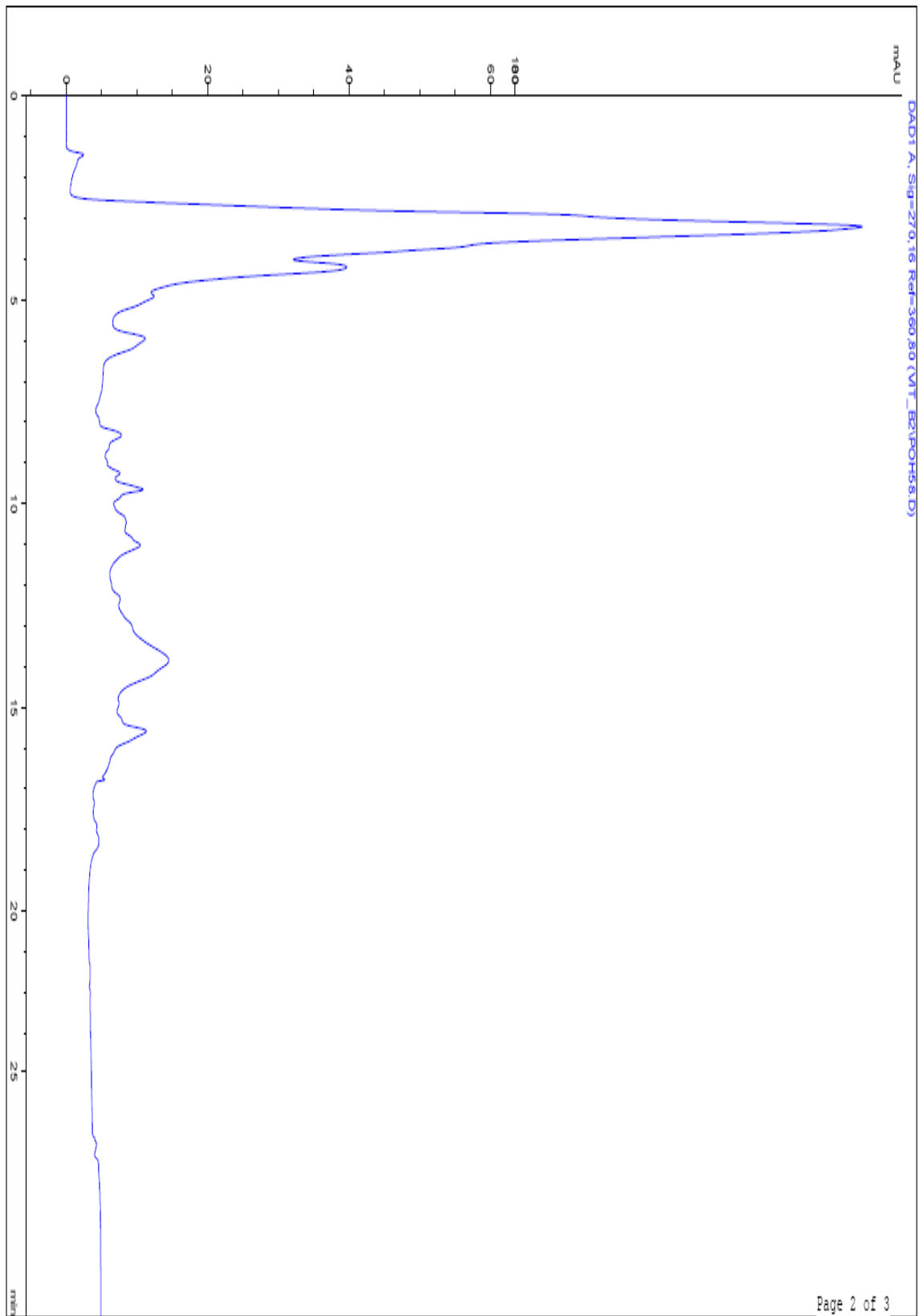
**PŘÍLOHA P IXIII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU LOUPANÝCH POHANKOVÝCH KRUP**



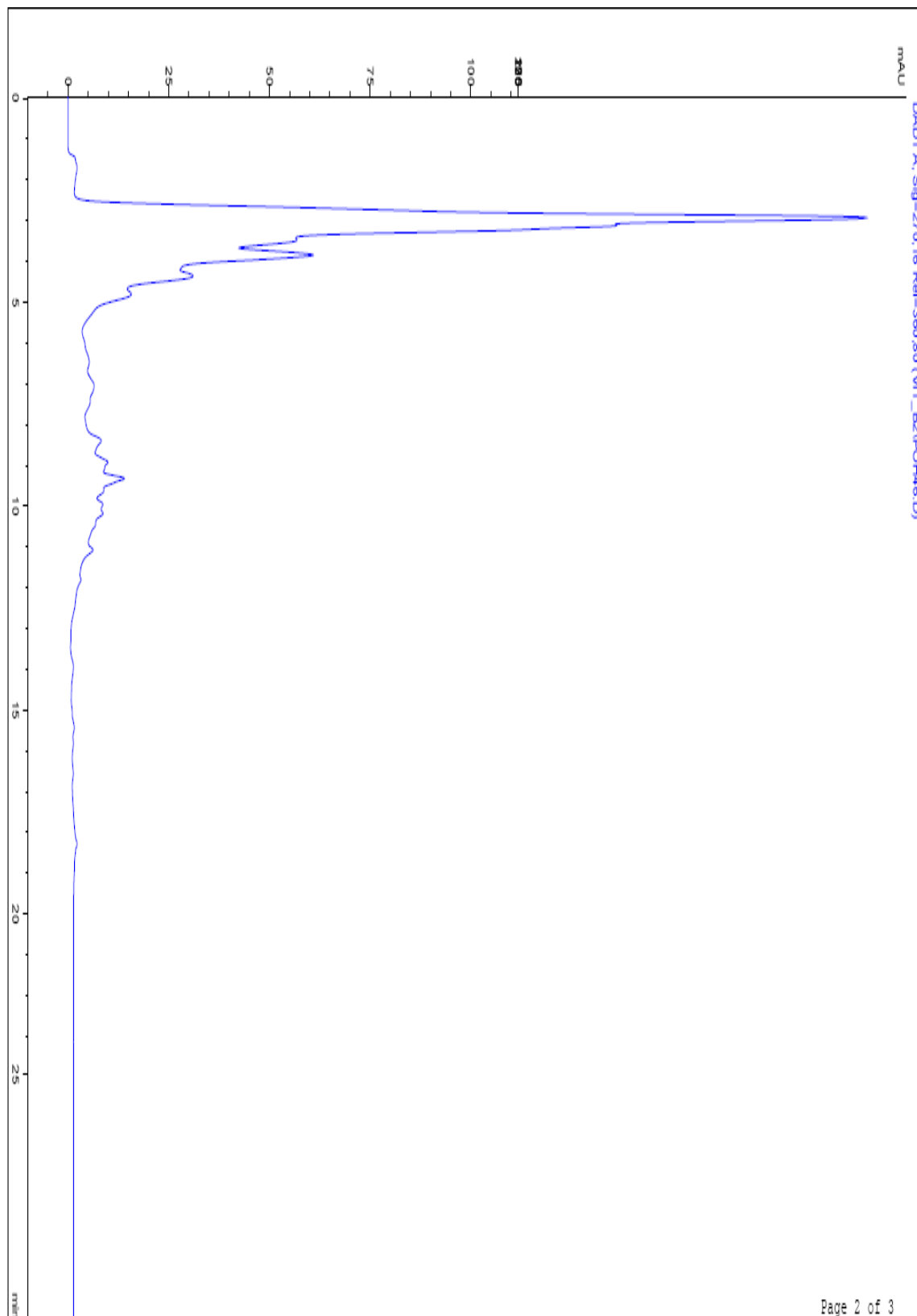
**PŘÍLOHA P XIV: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKUPOHANKOVÉ BIO LÁMANKY**



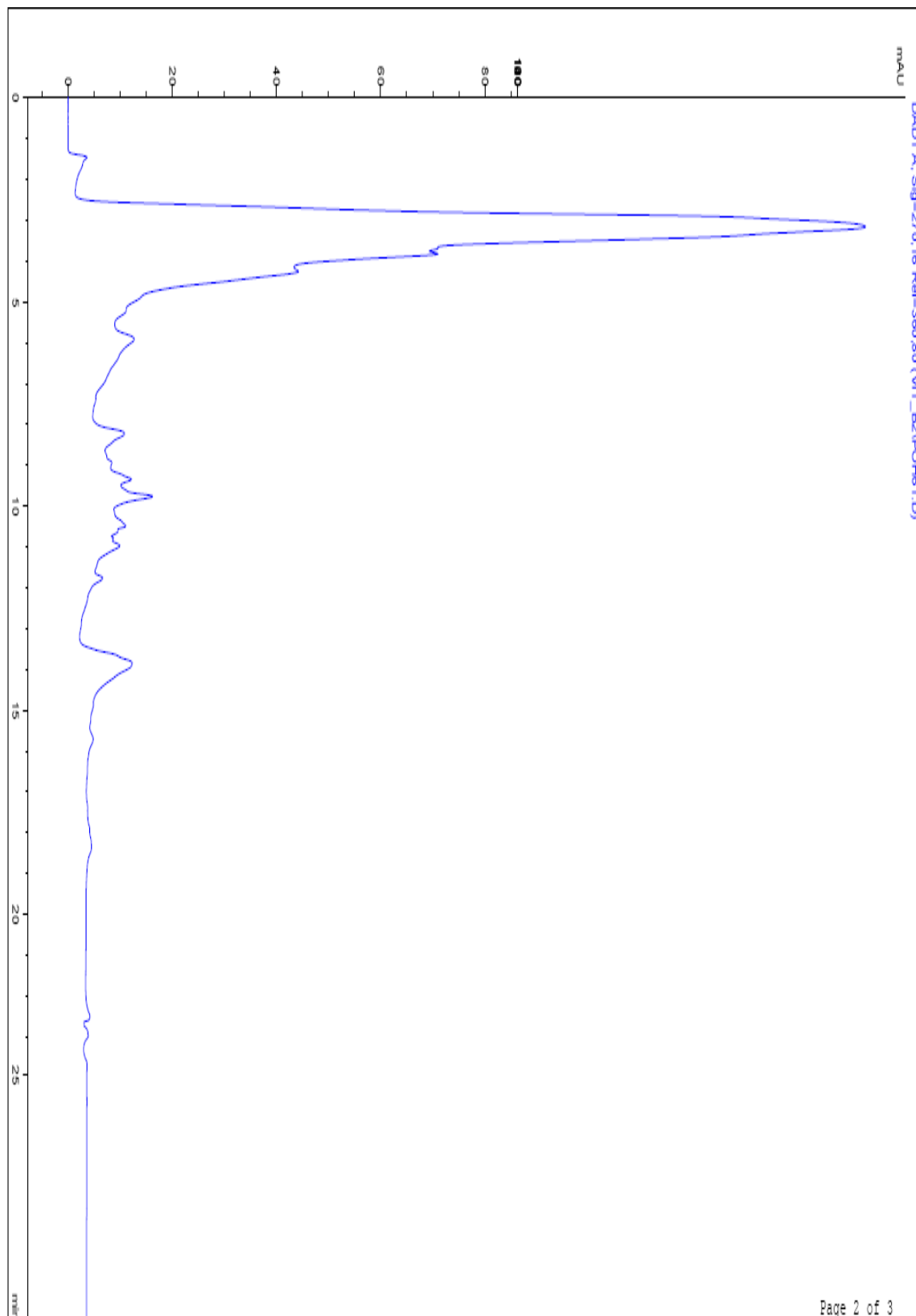
**PŘÍLOHA P XV: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU POHANKOVÉ KRUPICE**



**PŘÍLOHA P XVI: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU INSTANTNÍCH POHANKOVÝCH VLOČEK**

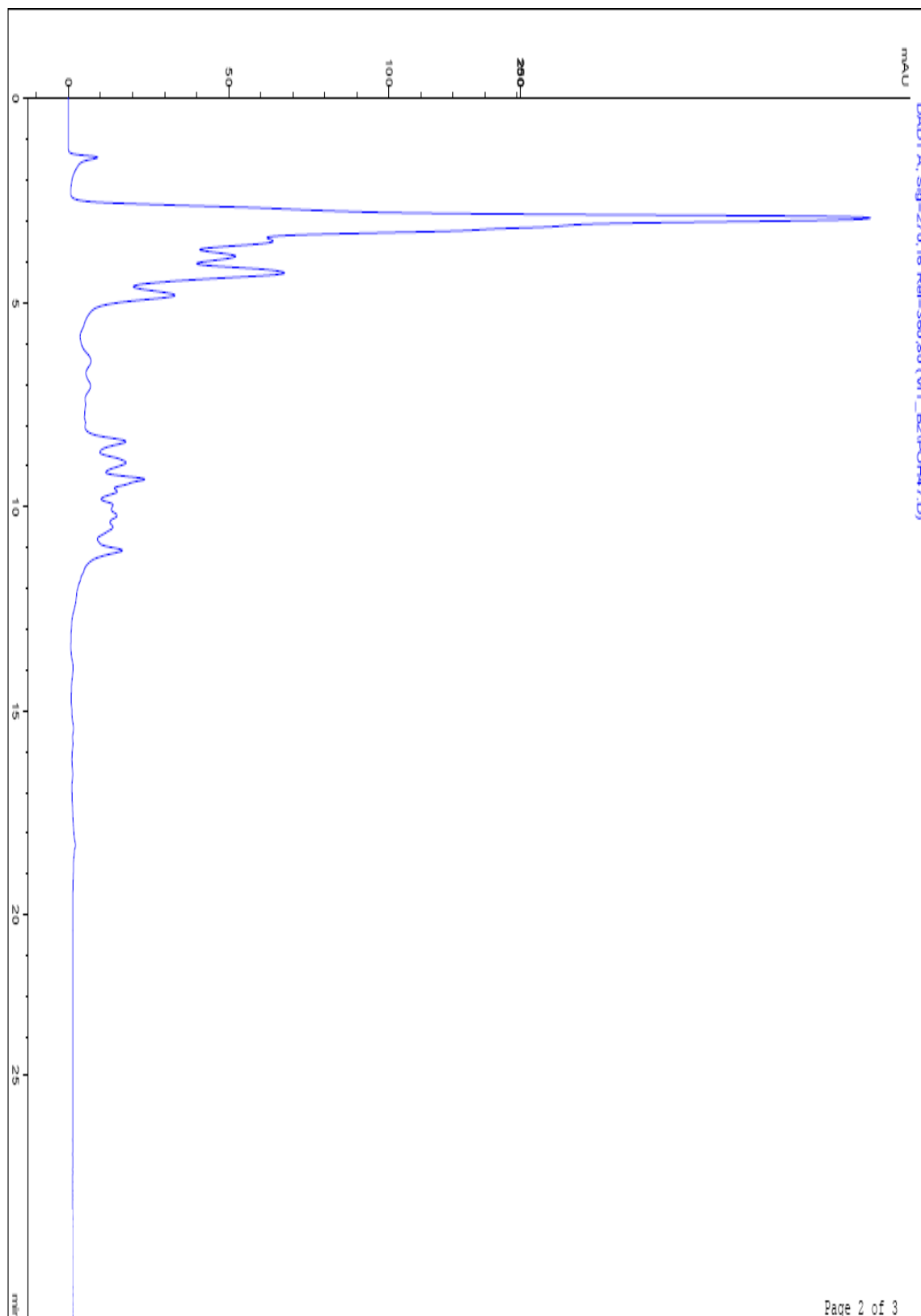


**PŘÍLOHA P XVII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU INSTANTNÍCH POHANKOVÝCH VLOČEK**

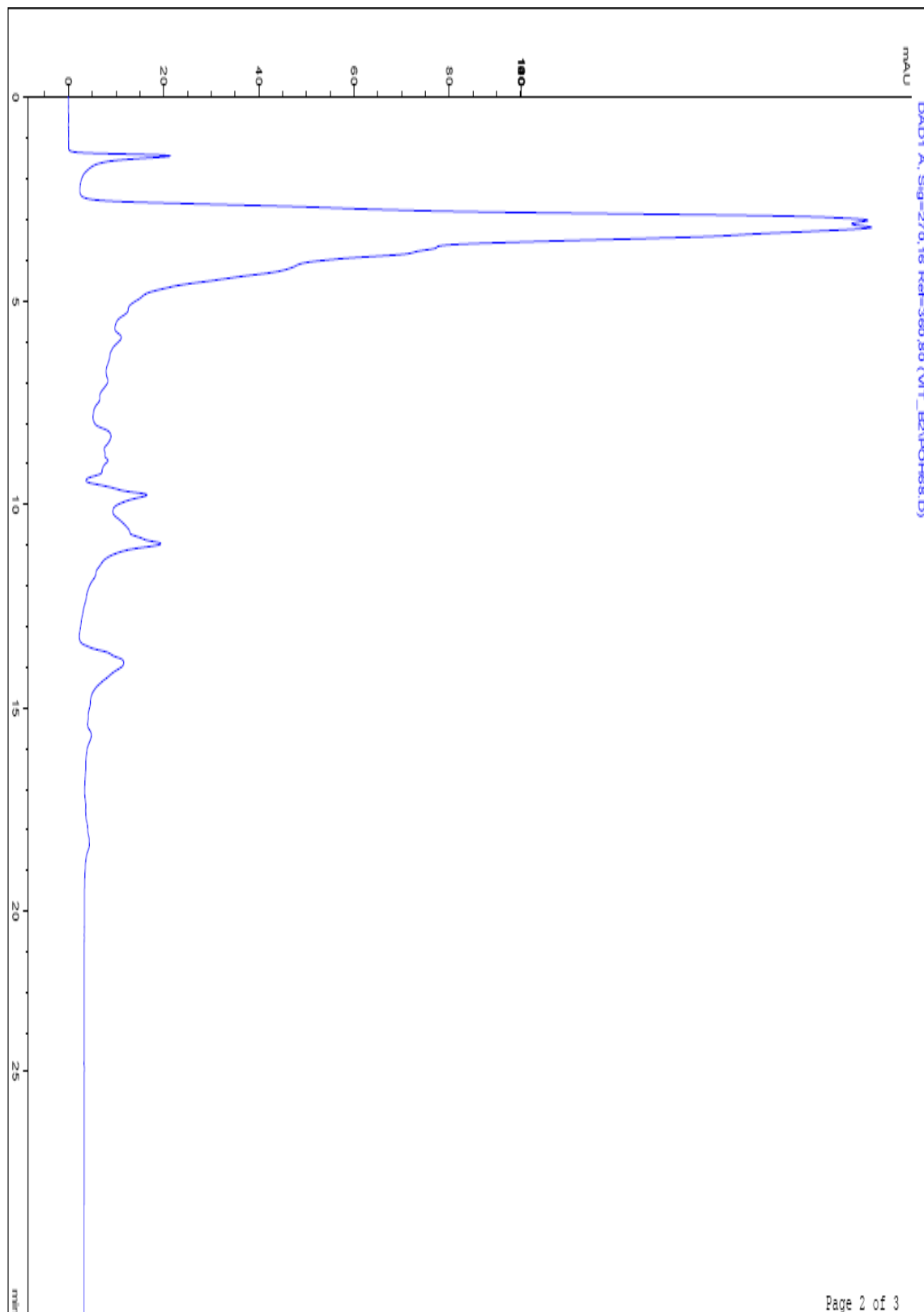




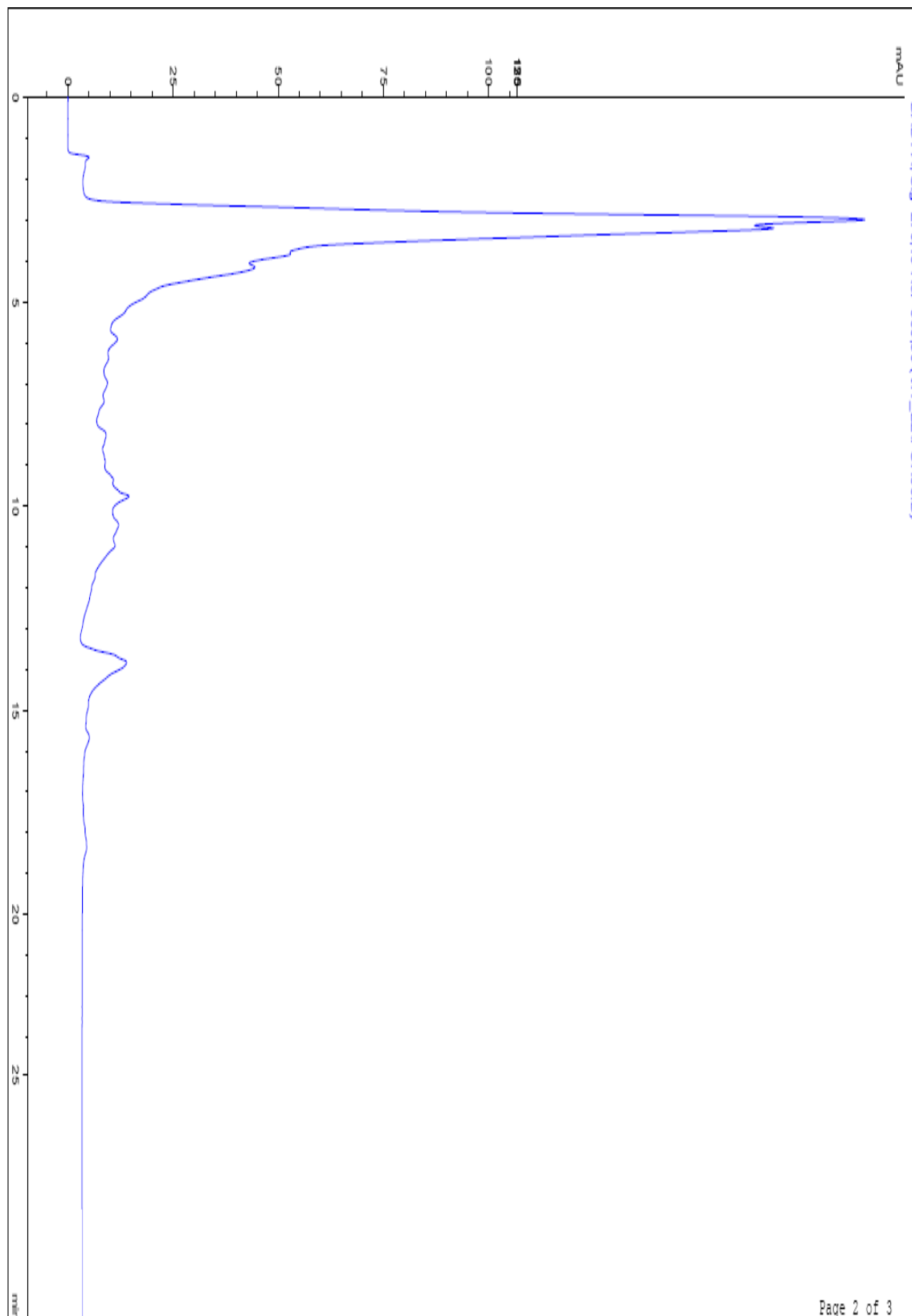
**PŘÍLOHA P XII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU POHANKOVÝCH VLOČEK**



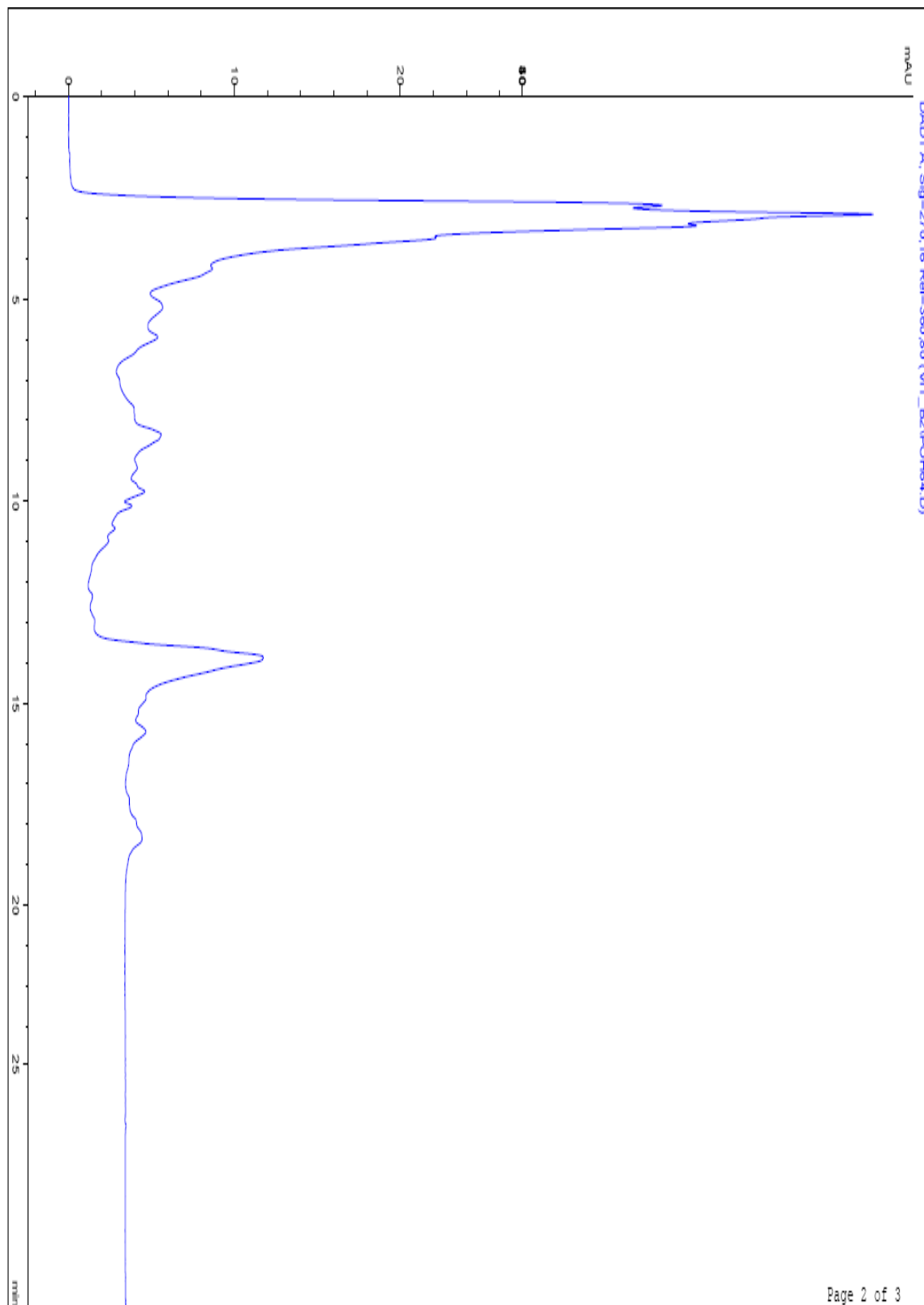
**PŘÍLOHA P XIX: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU POHANKOVÝCH KŘUPEK**



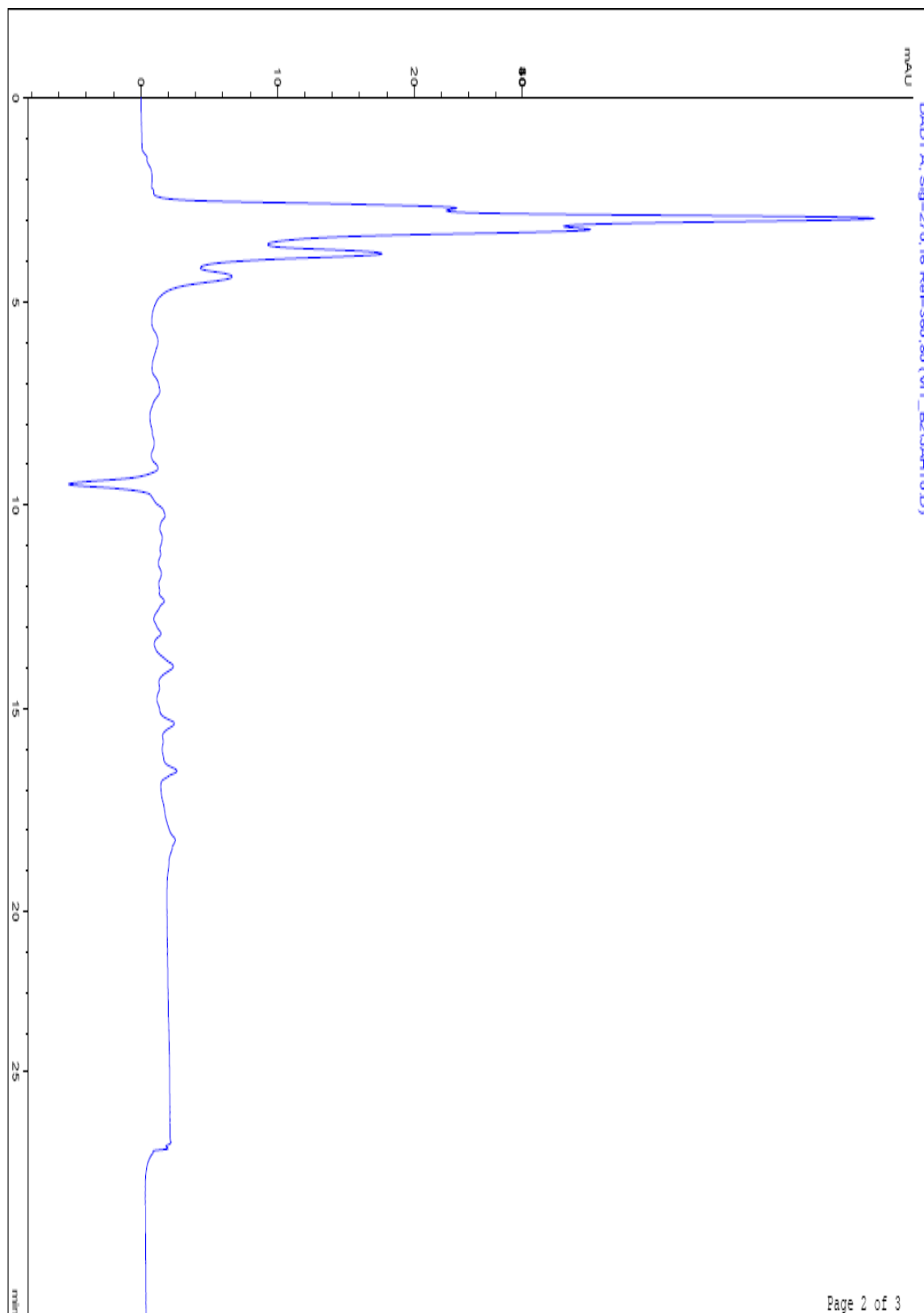
# PŘÍLOHA P XX: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU VE VZORKU POHANKOVÝCH PUKANCŮ



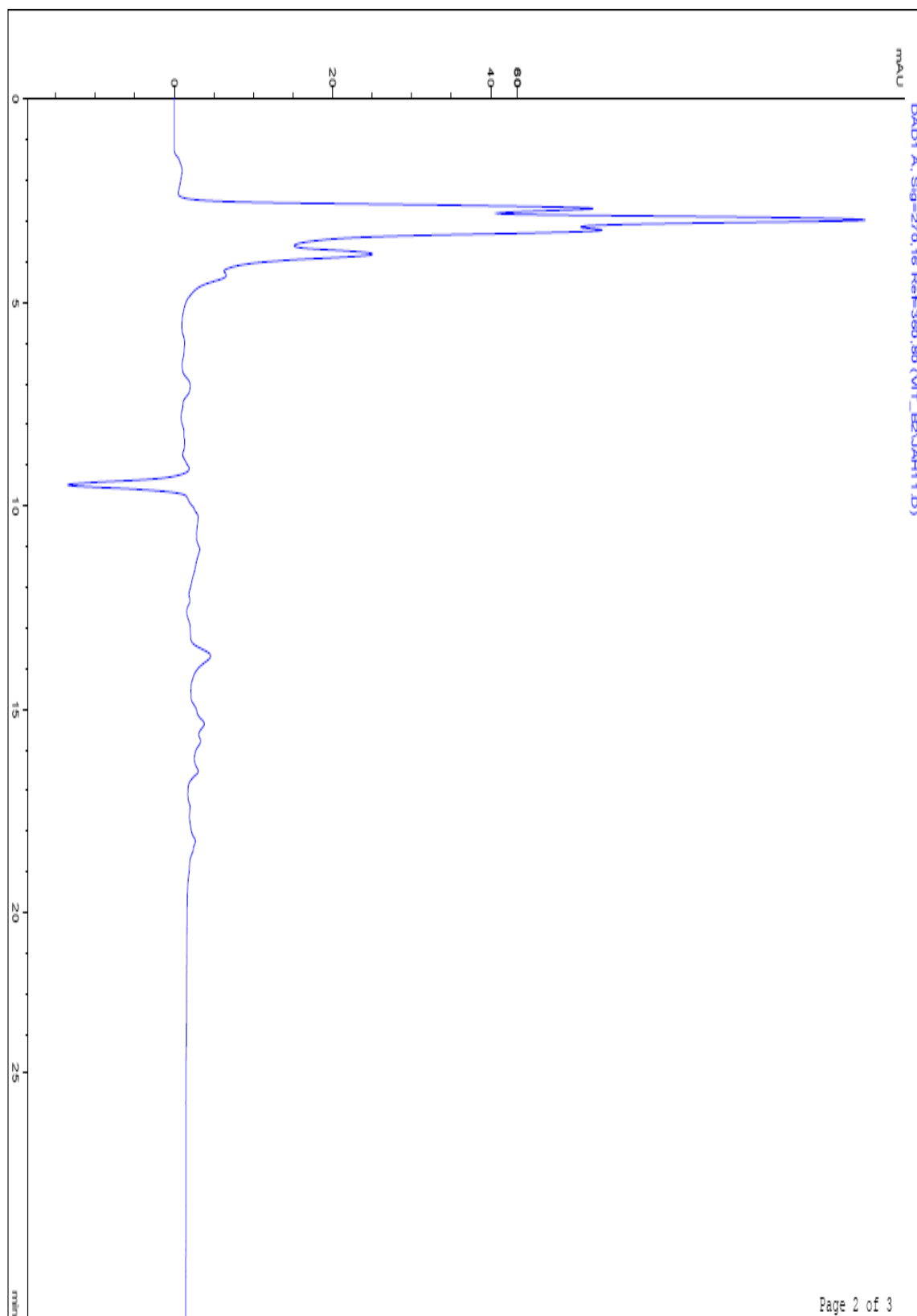
**PŘÍLOHA P XXI: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU POHANKOVÝCH SLUPEK**



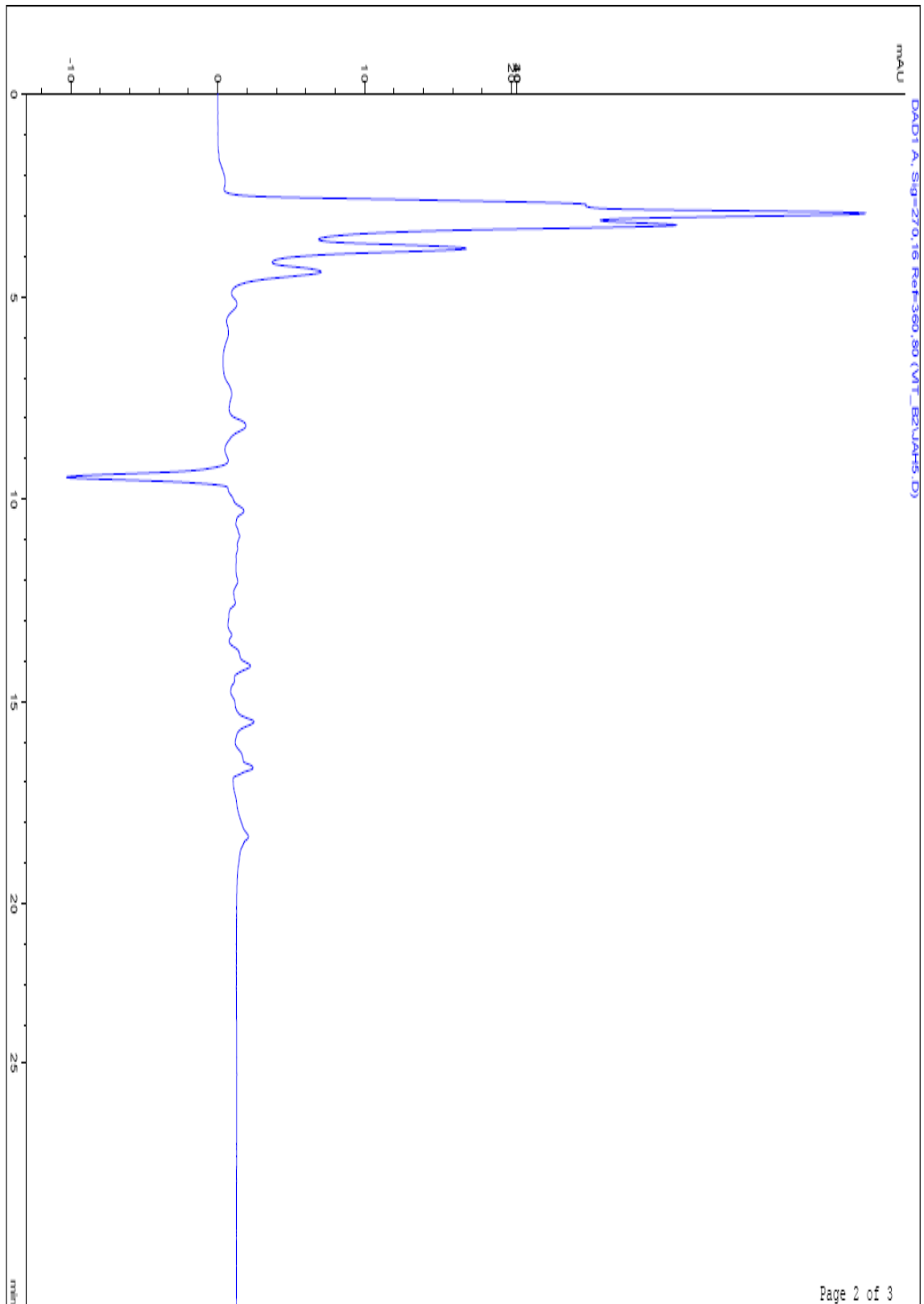
**PŘÍLOHA P XXII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU JAHELNÉ MOUKY HRUBÉ**



**PŘÍLOHA P XXIII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU JÁHEL**



**PŘÍLOHA P XXIV: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU JAHELNÝCH VLOČEK**



**PŘÍLOHA P XXV: CHROMATOGRAM STANOVENÍ OBSAHU RIBOFLAVINU  
VE VZORKU JAHELNÝCH VLOČEK BIO**

