

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav: Technologie potravin



**Agronomická
fakulta**

**Mendelova
univerzita
v Brně**



**Charakteristika a metody stanovení vitaminů
v maso-zeleninových přesnídávkách určených
pro dětskou výživu**

Bakalářská práce

Vedoucí práce:
Ing. Hana Šulcerová, Ph.D.

Autor práce:
Markéta Piechowiczová

Brno 2016



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Markéta Piechowiczová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Obor: Technologie potravin
Název tématu: **Charakteristika a metody stanovení vitaminů v masozeleninových přesnídávkách určených pro dětskou výživu**
Rozsah práce: 30 – 40 stran

Zásady pro vypracování:

1. Prostudovat odbornou literaturu zaměřenou na dětskou výživu, s ohledem na dostatečný příjem vitaminů ve stravě.
2. Charakterizovat vitaminy a kompletovat metodiky jejich stanovení.
3. Vyvodit doporučení pro výrobce i pro spotřebitele.
4. Zpracovat literární rešerži na dané a odevzdat v uvedeném termínu.

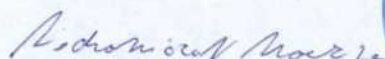


Seznam odborné literatury:

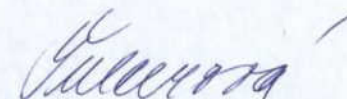
1. VRANOVÁ, V. – REJŠEK, K. – FORMÁNEK, P. Aliphatic, cyclic and aromatic organic acids, vitamins and carbohydrates in soil: a review. *The Scientific World Journal*. 2013. sv. 2013, č. Article Number: 524239, s. 1–15. ISSN 1537-744X. URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/524239>
2. JANČA, J. *Co nám chybí – Kovy, jiné proky a vitamíny v lidském těle*. Praha: EMINENT, 1992. 124 s. ISBN 80-900176-2-2.
3. ADAM, V. – STEJSKAL, K. – NÁKIELNÁ, J. – HANUŠTIAK, P. – DIOPAN, V. – HORNA, A. – BEKLOVÁ, M. – KÍZEK, R. Kapalinová chromatografie spojená s dvanáctikanálovým elektrochemickým detektorem CoulArray jako nástroj pro detekci vitamínů. In *Vitamins 2007 – Nutrition and Diagnostics*. University of Pardubice: 2007, s. 237–238. ISBN 978-80-7194-937-4.
4. BASU, T K. – DICKERSON, J W. *Vitamins in Human Health and Disease*. Oxford: CAB International, 1996. 18 s. ISBN 0-85198-986-1.
5. BLATTNÁ, J. – HORNA, A. – MACKA, M. – ZIMA, T. *Vitamins 2007- Nutrition and Diagnostics*. Univerzita Pardubice: 2007. 272 s. ISBN 978-80-7194-937-4.
6. KOMPRDA, T. *Základy výživy člověka*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. 162 s. ISBN 978-80-7157-655-6/20072012.
7. GREGORA, M. *Výživa malých dětí : výchova ke správné výživě, skladba dětské výživy, obezita v dětském věku a jak jí předcházet, alergie a funkční potraviny*. 1. vyd. Praha: Grada, 2004. 95 s. Pro rodiče. ISBN 80-247-9022-X.
8. ŠPALEK, J. – CWIKOVÁ, O. Srovnání metod extrakce pro stanovení vybraných vitamínů skupiny B u fermentovaných rostlinných potravin asijského původu. In JÚZL, M. – NEDOMOVÁ, Š. *Sborník souhrnů sdělení XXXIV. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin*. 1. vyd. MZLU v Brně: Ediční středisko, 2008, s. 35. ISBN 978-80-7375-157-9.
9. PETRLOVÁ, J. – MIKELOVÁ, R. – ZEHNÁLEK, J. – KÍZEK, R. – VACEK, J. – KLEJDUS, B. – KUBÁŇ, V. Stanovení vitamínu C pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí. In TRNKOVÁ, L. – JANDERKA, P. – KÍZEK, R. *IV. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2004, s. 34. ISBN 80-210-3319-3.
10. VAŇKOVÁ, B. *Stanovení vitamínu C u současného sortimentu pěstovaných odrůd jablek*. Diplomová práce. MZLU v Brně, 2002.
11. ŠOTNEROVÁ, P. *Stanovení vitamínů ve vybraných potravinách technikou HPLC*. Diplomová práce. Brno: MZLU v Brně, 2006.

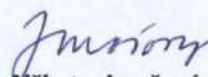
Datum zadání bakalářské práce: listopad 2015

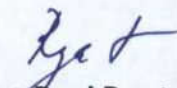
Termín odevzdání bakalářské práce: duben 2016


Markéta Piechowiczová
Autorka práce




Ing. Hana Šulcerová, Ph.D.
Vedoucí práce


prof. Ing. Alžběta Jarošová, Ph.D.
Vedoucí ústavu


doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Děkan AF MENDELU

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci „Charakteristika a metody stanovení vitaminů v maso-zeleninových přesnídávkách určených pro dětskou výživu“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat své vedoucí bakalářské práce Ing. Haně Šulcerové, Ph.D. za odborné vedení práce, trpělivost a ochotu. Zvláště bych chtěla poděkovat Ing. Michalu Mihokovi PhD. za přátelské jednání a předání svých pracovních zkušeností. Dále děkuji své rodině a partnerovi, kteří mi v tomto období pomáhali.

ABSTRAKT

Bakalářská práce na téma „Charakteristika a metody stanovení vitaminů v maso-zeleninových přesnídávkách určených pro dětskou výživu“ byla zaměřena na získání souhrnných poznatků o výživě dětí, s ohledem na dostatečný příjem vitaminů ve stravě, které jsou následně charakterizovány společně s metodami jejich stanovení. Bakalářská práce je rozdělena na tři části. V první části jsou popsána jednotlivá období výživy dětí do 12. měsíce života. Jsou zde shrnuta výživová doporučení, přesněji potřeba živin v tomto věku, ale také problematika alergií, alternativní výživy a některých onemocnění, která mohou vést k hypovitaminózám. Druhá část práce je věnována charakteristice vitaminů, kde jsou zahrnuty chemické vlastnosti, vliv na organismus, výskyt v potravinách a doporučený denní příjem. Kapitola o výskytu v potravinách je vždy doplněna doporučením surovin s vysokým obsahem daného vitaminu, které je vhodné zařadit do příkrmů. V poslední části práce jsou zkompletovány metodiky stanovení vitaminů s ohledem na nejnovější trendy. Mezi tyto metody patří metoda chromatografická, spektrofotometrická, fluorimetrická, polarografická, mikrobiologická a kapilární elektroforéza.

Klíčová slova: výživa kojenců, maso-zeleninové příkrmy, hydrofobní vitaminy, hydrofilní vitaminy, stanovení vitaminů, analytické metody.

ABSTRACT

Bachelor thesis “Characteristics and methods for determination of vitamins in meat-vegetables purées intended for baby food” was focused on acquiring general knowledge about child nutrition, with regard to adequate intake of vitamins in the diet, which are then characterized, together with methods of their determination. In the first part there are described particular periods of nourishment until 12th month of life. Nourishment recommendations are summarized here, more specifically required nutrients in this age, but also issues concerning allergies, alternative nourishment and some diseases, which can lead to hypovitaminosis. The second part is devoted to the characteristics of vitamins. Chemical properties, effect on the body, occurrence in foods and the recommended daily intake are included. The chapter about occurrence in food is always accompanied by the recommendation of ingredients with a high content of vitamins, which are appropriate to add to complementary food. In the last part of thesis the methodology for determination of vitamins are summarized in the light of the newest trends. These methods include chromatographic methods, spectrophotometric, fluorimetric, polarographic, microbiological and capillary electrophoresis.

Keywords: Infant nutrition, meat and vegetable baby foods, hydrophobic vitamins, hydrophilic vitamins, methodology for determination of vitamins, analytical methods.

OBSAH

1	ÚVOD	1
2	CÍL PRÁCE	2
3	TEORETICKÁ ČÁST	3
3.1	Výživa v kojeneckém období.....	3
3.1.1	Období mléčné výživy	4
3.1.1.1	Výlučné kojení	4
3.1.1.2	Umělá výživa	5
3.1.1.3	Jiné druhy mléka	5
3.1.2	Období nemléčné výživy	5
3.1.2.1	Zavádění komplementární výživy	6
3.1.2.2	Doporučení.....	6
3.1.3	Alergie u dětí	7
3.1.4	Alternativní výživa	7
3.2	Živiny v kojeneckém období.....	9
3.2.1	Energie.....	10
3.2.2	Sacharidy	11
3.2.2.1	Vláknina	11
3.2.3	Bílkoviny	11
3.2.4	Tuky.....	12
3.2.5	Voda.....	12
3.2.6	Minerály.....	12
3.2.7	Vitaminy	13
3.2.7.1	Celiakální sprue.....	14
3.2.7.2	Laktózová intolerance	15
3.3	Charakteristika vybraných vitaminů	16
3.3.1	Vitamin A (retinol)	16
3.3.1.1	Obecná charakteristika	16
3.3.1.2	Fyziologie a výživa	17
3.3.1.3	Obsah v potravinách.....	18
3.3.2	Vitamin D (kalciferol)	19
3.3.2.1	Obecná charakteristika	19
3.3.2.2	Fyziologie a výživa	20
3.3.2.3	Obsah v potravinách.....	21
3.3.3	Vitamin E (tokoferol)	22
3.3.3.1	Obecná charakteristika	22
3.3.3.2	Fyziologie a výživa	23
3.3.3.3	Obsah v potravinách.....	24

3.3.4	Vitamin K (fyllochinon, menachinon).....	25
3.3.4.1	Obecná charakteristika	25
3.3.4.2	Fyziologie a výživa	26
3.3.4.3	Obsah v potravinách.....	27
3.3.5	Vitamin C (kyselina askorbová)	28
3.3.5.1	Obecná charakteristika	28
3.3.5.2	Fyziologie a výživa	29
3.3.5.3	Obsah v potravinách.....	30
3.3.6	Vitaminy skupiny B	31
3.3.6.1	Thiamin	31
3.3.6.2	Riboflavin.....	32
3.3.6.3	Niacin	33
3.3.6.4	Pantothénová kyselina.....	34
3.3.6.5	Pyridoxin.....	35
3.3.6.6	Biotin.....	36
3.3.6.7	Folacin.....	37
3.3.6.8	Kobalamin	38
3.3.6.9	Obsah v potravinách.....	39
3.4	Stanovení vitaminů.....	41
3.4.1	Odběr a příprava vzorků	41
3.4.2	Izolace a extrakce	41
3.4.3	Metody stanovení.....	42
3.4.3.1	Chromatografické metody.....	43
3.4.3.2	Spektrofotometrie a fluorimetrie	52
3.4.3.3	Kapilární elektroforéza.....	56
3.4.3.4	Polarografická metoda	58
3.4.3.5	Mikrobiologické metody	59
4	ZÁVĚR	61
5	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	63
6	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	68
7	SEZNAM OBRÁZKŮ	70
8	SEZNAM TABULEK.....	71

1 ÚVOD

Téma této bakalářské práce je v současné době velmi aktuální. Generace, jež byla odchována na domácí stravě, bez ohledu na případné alergie nebo obsah škodlivých látek v surovinách, dnes věnuje vyšší pozornost kvalitě jídla, které svým potomkům podává. Výživa dítěte v tomto raném věku je jedním z hlavních faktorů ovlivňujících fyzický a psychický vývoj jedince. Problém dnešní doby spočívá především v navyšování počtu alergiků, proto je nezbytné co možná nejdříve období kojení a zavádění příkrmů mezi 4. a 6. měsícem. Dalším problémem je obsah škodlivých látek v surovinách. Právě z toho důvodu by měli rodiče aspoň při zavádění příkrmů zvolit hotové maso-zeleninové příkrmy, v nichž se přísně kontrolují obsahy těchto látek a často jsou k dostání v BIO kvalitě.

V maso-zeleninových příkrmech se nesledují pouze hodnoty látek škodlivých, ale mohou se sledovat také látky prospěšné, kterými jsou právě vitaminy. Vitaminy jsou skupinou chemicky velmi rozdílných látek, které jsou nezbytné pro normální funkci organismu, proto bychom měli dbát na jejich dostatečný přísun potravou. Na paměti musíme mít také to, že se obsah vitaminů v potravinách může měnit v závislosti na způsobu skladování a účincích tepla. Var značně znehodnocuje např. vitamin C. Také v tomto směru jsou hotové příkrmy lepší variantou pro výživu kojenců, jelikož se dbá na množství vitaminů v nich obsažených a mohou se fortifikovat např. přidáním jablečné nebo citronové šťávy v případě vitaminu C.

V současné době nejvyžívanější metodou pro stanovení těchto vitaminů je bezpochyby metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie, avšak stále dochází ke zkoumání dalších metod, které by byly účinnější. Při vývoji účinnějších metod je brán také ohled na životní prostředí, příkladem je tzv. zelená chromatografie.

2 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo zpracování literární rešerše na téma „Charakteristika a metody stanovení vitaminů v maso-zeleninových přesnídávkách určených pro dětskou výživu“. V úvodní části práce bylo mým cílem prostudovat literaturu zaměřenou na dětskou výživu a shrnout doporučení pro výživu dětí do jednoho roku, která se týkají denní dávky vitaminů, vhodných potravin, ale také alternativní výživě a alergií. V druhé části této práce byly charakterizovány jednotlivé vitaminy. Zaměřila jsem se na chemickou strukturu, na jejich fyziologické účinky na organismus a na obsah v potravinách. V závěrečné části práce byly charakterizovány metody stanovení vitaminů s ohledem na nové trendy, přičemž jednotlivým kapitolám byl věnován takový rozsah, jaký mají při stanovení vitaminů význam.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Výživa v kojeneckém období

Výživa a správné stravovací návyky jsou již od prvního dne narození jedním z hlavních faktorů ovlivňujících tělesný, ale také psychický vývoj každého jedince. Kojenecké období, jemuž je tato práce věnována, začíná ve 29. dni po narození a trvá do 1. roku dítěte. Tato fáze postnatálního vývoje člověka se vyznačuje nejintenzivnějším vývinem jedince, který lze jen těžko srovnávat s následujícími fázemi ontogeneze. V žádném jiném věkovém období lidského života se výživa nemění tak významně jako během prvního roku. V kojeneckém období stoupá např. potřeba energie více než dvakrát, zatímco v dalších letech se zvyšuje jen asi o 10 % za rok (Nevoral a kol., 2003).

Největší vliv na výživu dítěte tvoří rodinné zázemí, zde hrají velkou roli faktory socioekonomické a demografické, ale také vzdělání rodičů. Průzkumy dokázaly, že děti vysokoškolsky vzdělaných rodičů mají menší hodnotu BMI v porovnání s dětmi rodičů s nižším vzděláním (Pařízková a Lisá, 2007). Důležitou roli tedy hraje informovanost rodičů o potřebách dítěte, kde patří respektování věkových a vývojových zákonitostí, základní znalost složení potravin a zdrojů živin. Velké procento rodičů se totiž stále opírá o názory a zvyklosti, podle nichž byli sami vychováni, ale měli by jít s dobou a snažit se o racionální stravování celé rodiny (Gregora, 2004). V současné době existuje velké množství lehce dostupných materiálů, které jsou určeny pro vzdělávání rodičů, ale také pediatriů a zdravotních sester. Právě pediatrii by měli zvýšit povědomí rodičů o roli výživy ve vývoji jejich dítěte a zastoupit tak další faktor ovlivňující správný a zdravý růst jedince.

Výživa dětí do tří let se rozděluje na tři období: **období výhradně mléčné**, které trvá od narození do konce 6. měsíce, **období přechodné** od 6. měsíce do 12. měsíce a třetí období od jednoho roku do tří let, které nazýváme **období smíšené stravy** (Vincentová, 2006). V této práci se budeme zabývat pouze první a druhou fází, jelikož třetí fáze není součástí kojeneckého období.

3.1.1 Období mléčné výživy

Mateřské mléko je téměř nenahraditelnou výživou pro novorozence a kojence. V posledních letech se naše znalosti o nutričních, imunologických a dalších příznivých vlastnostech mateřského mléka prohlubují a je prokázáno, že mateřské mléko je nejvhodnější výživou, která plně zajišťuje potřebnou dávku živin i vody a odpovídá fyziologickým potřebám dítěte v novorozeneckém, ale také kojeneckém období. Mateřské mléko chrání obsahem obranných látek dítě před většinou infekcí, snižuje výskyt alergií a svým stále se měnícím složením se přizpůsobuje potřebám rostoucího dítěte. Mateřské mléko je zároveň potravou i lékem (Nevoral a Paulová, 2007).

3.1.1.1 Výlučné kojení

Při výlučném kojení dítě přijímá pouze mateřské mléko, dítě v této době nepřijímá žádné jiné potraviny nebo tekutiny s výjimkou lékařsky identifikovaných případů. Od roku 2002 WHO doporučuje výlučné kojení po dobu 6. měsíců a poté v kojení pokračovat s postupně zaváděným příkrmem až do 2. roku dítěte. Ovšem z výsledků multicentrické observační studie „Nutriční návyky a stav výživy dětí časného věku“ z let 2013/2014 můžeme vyčíst, že v době šetření bylo kojeno v souladu s doporučením pouze 2,8 % dětí a v období 6 – 11 měsíců byla kojena jen polovina vybraných dětí. Touto hodnotou se přibližujeme k celosvětovému měřítku, kdy více než jedno dítě ze dvou není výhradně kojeno do 6. měsíce věku, přes oficiální doporučení WHO.

Výlučné kojení přináší mnoho výhod, které jsou popsány v dokumentech WHO a dalších organizací. V této práci jsem se rozhodla uvést doporučení pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy ČPS. Tato pracovní skupina uvádí výhody výlučného kojení po dobu alespoň 4 měsíců ve srovnání s náhradní kojeneckou mléčnou výživou. Mezi hlavní výhody pro dítě patří: nižší výskyt infekcí, alergií, syndromu náhlého úmrtí kojenců a v pozdějším věku i obezity, diabetu, vyššího krevního tlaku a cholesterolu. U matek je pravděpodobné snížení rizika diabetu 2. typu, nádorů prsu a vaječníků (Bělohávková a kol., 2014).

3.1.1.2 Umělá výživa

Počáteční mléčná formule je určena pro matky, které nejsou schopny své dítě kojit např. v důsledku závažného onemocnění, užívání některých léků nebo kvůli nedostatku mateřského mléka. Existují také případy, kdy matka své dítě kojit nechce (striktní veganka). Dále se počáteční formule využívá tehdy, pokud dítě neprospívá. V tomto případě je dítěti podávána společně s mateřským mlékem. Pro nekojené děti s nízkou porodní hmotností jsou určeny speciální počáteční formule, které obsahují vyšší množství energie a bílkovin pro podporu váhových přírůstků.

Jako zdroj bílkoviny pro počáteční mléka je nejčastěji používána bílkovina kravského mléka, ale ve speciálních indikacích je možné použít např. bílkovinu sójovou nebo hydrolyzovanou z kravského mléka. Počáteční mléka dále obsahují laktózu, tuky pokrývající asi polovinu kalorické potřeby a přesně stanovené množství minerálů, stopových prvků a vitaminů (Nevoral a kol., 2003).

Pokračovací mléka jsou doplňkem při zavedení nemléčných příkrmů při nedostatku mateřského mléka. Podávají se dětem od ukončení 4. měsíce až do 3 let. Obsah bílkovin u pokračovacího mléka je nižší, právě z důvodu konzumace nemléčných příkrmů obsahujících velké množství bílkovin. Pokračovací mléka jsou obohacována množstvím minerálů a vitaminů.

3.1.1.3 Jiné druhy mléka

Ve všech publikacích a doporučeních se dočteme o nevhodnosti neupraveného kravského mléka pro dětskou výživu během prvního roku života. Tato doporučení vyplývají z vysokého množství bílkovin a minerálních látek, které neupravené kravské mléko obsahuje a tím představuje zátěž pro ledviny. Dále nejsou vhodná pasterizovaná mléka s nižším obsahem tuku, mléko kozí, ovčí ani kobyli. Ve všech případech právě pro vysoký obsah bílkovin a minerálů, nebo nízký obsah tuku.

3.1.2 Období nemléčné výživy

Nemléčná výživa kojence je definována jako potraviny nebo tekutiny podané k mateřskému mléku nebo formulím a používá se pro ni výraz komplementární výživa. Komplementární výživa se rozděluje na **výživu přechodnou**, která je určena speciálně pro kojence a odpovídá fyziologickým a nutričním potřebám, a na **rodinnou stravu** určenou pro nejstarší kojence a batolata (Frühaufer, 2006).

3.1.2.1 Zavádění komplementární výživy

Komplementární výživu začínáme zavádět v době, kdy samotné mateřské mléko popř. počáteční mléčná formule nepokrývá výživové nároky dítěte. Pokud je dítě kojeno, mělo by se v kojení pokračovat až do druhého roku i déle. Příkrm by neměl být zaváděn před 4. měsícem a měl by být zaveden nejpozději v 6. měsíci (WHO, 2013). Při zavádění příkrmů musí dítě splňovat základní vývojová kritéria, kontroluje pohyby hlavy, dokáže sedět s oporou a je schopno polykat kašovitou potravu.

Prvním příkrmem bývá zeleninové pyré z jednoho druhu zeleniny. Začínáme s rozmělněnou, v nesolené vodě vařenou sladší zeleninou, jako je mrkev, brambor, brokolice, květák. Další druhy zeleniny zavádíme vždy po 3 – 4 dnech, abychom rozpoznali případnou nesnášenlivost na novou potravinu. Dítě krmíme ve vzpřímené poloze a používáme plastovou lžičku určenou pro kojence. V prvním dni podáváme pouze 1 – 2 lžičky a dokrmíme dítě mateřským nebo kojeneckým mlékem. V následujících dnech zvyšujeme množství podaných lžiček. Během 2 – 3 týdnů od zahájení příkrmování zcela nahradíme polední mléčnou dávku (Gregora, 2004). Maso-zeleninový příkrm začínáme podávat dva týdny poté, co dítě sní celý zeleninový příkrm. Od 7. měsíce doplníme stravu ovocným nebo ovocno-mléčným příkrmem, který v žádném případě nedoslazujeme. Vhodná jsou jablka, hrušky, banány, meruňky, jahody. Od 8. měsíce můžeme jídelníček obohatit jogurtem. Konzistence stravy je postupně zvyšována. Začínáme od jemné kaše, přes rozmačkanou stravu až po jídlo obsahující větší kousky. Mezi 10. – 12. měsícem začíná přechod na rodinnou stravu.

3.1.2.2 Doporučení

V dnešní době se na trhu setkáváme s velkým množstvím výživy, která je určena pro kojence, záleží jen na rodičích, jestli se rozhodnou pro domácí nebo kupovaný příkrm. Domácí strava však nemusí být pro kojence tou nejlepší cestou. Kupovaná zelenina totiž velmi často obsahuje vysoké hodnoty dusičnanů pocházejících z hnojiv. Tyto dusičnany mohou být velkou zátěží pro dětský organismus. Kupované dětské příkrmy musí splňovat přísné limity a hygienické normy, které se týkají také dusičnanů, pesticidů a používání chemických přísad. Díky kupovaným dětským příkrmům máme také jistotu, jaký příkrm je vhodný vzhledem k věku našeho dítěte a máme přehled o nutričních hodnotách stravy.

Další doporučení se týká pestrosti stravy, kterou bychom měli dítěti poskytnout. Nedávné studie prokázaly, že preference potravy začíná již v děloze a mění se postupně s věkem. Zavedení široké škály potravin v kojeneckém věku nám může zaručit, že se dítě v pozdějším věku nebude těmto potravinám vyhýbat. Velký pozor si musíme dát na sladké ovocné příkrmy, na které si dítě velmi rychle zvykne a odmítá zeleninovou stravu. Nizozemská firma „Beech – Nut“ se právě z tohoto důvodu rozhodla zaměřit také na kyselé a hořké druhy potravin, které kombinují se sladkými či neutrálními druhy a vytváří tak širokou škálu chutí. Pozoruhodná je například kombinace zelených fazolí s jablky, špenátovo-jablečné příkrmy, hruškovo-okurkové příkrmy a další. Tato firma přidává do příkrmů také skořici, římský kmín, chia semínka, aronii, amarant nebo quinou (Ayoob, 2015).

3.1.3 Alergie u dětí

Alergeny se nedoporučuje zavádět před 4. měsícem věku kojence. Obecně však platí, že lépe je alergenů zavádět ještě v době, kdy je dítě alespoň částečně kojeno a doporučuje se dávky postupně zvyšovat. Pokud začínáme dítěti podávat příkrmy, není důvod odkládat potraviny, u nichž se předpokládá, že vyvolají alergie. Při zavádění nových potravin do jídelníčku dítěte se doporučuje 3 – 4 denní pauza mezi jednotlivými potravinami, abychom zaregistrovali případnou nesnášenlivost na danou potravinu (Bělohávková, 2014). Mezi nejčastější symptomy patří otoky rtů a sliznice dutiny ústní, rýma, slzení očí, vyrážka, průjemy, nadýmání, zvracení, kašel a další.

Pro kojence s vyšším rizikem rozvoje alergie, kdy je alespoň jeden rodič nebo sourozenec alergik, je nevhodné podávat ořechy a ryby do tří let, vejce do dvou let a uzeniny, sóju, mléko, chřest, celer, kapustu, žampiony, cibuli, hrášek, papriku, ředkvičku a křen do jednoho roku dítěte.

3.1.4 Alternativní výživa

V posledních letech se v rámci alternativní výživy rozšiřuje zejména vegetariánství, semivegetariánství nebo veganství. Zvyšuje se také preference organické/BIO stravy bez herbicidů, pesticidů, umělých stabilizátorů a GMO produktů.

Mezi důvody, pro které člověk dodržuje alternativní výživu, patří: ekonomické zázemí, negativní vliv omnivorní stravy na zdraví člověka, morální zábrany, ekologický

dopad výroby masa na životní prostředí, náboženství, filozofie nebo sociální vlivy (Anton-Paduradu a kol., 2014).

Vegetariánská, hlavně pak veganská strava, může mít vážné dopady na růst dětí. V prvních 6. měsících života dítě většinou prospívá díky mateřskému mléku, které dítěti poskytuje plnohodnotnou výživu. Striktní veganky většinou své děti nekojí, proto se využívají sójové náhražky. Růst dětí krmených sójovou náhražkou pro kojence je srovnatelný s růstem kojenců krmených mateřským mlékem, nebo klasickou mléčnou formulí z kravského mléka (USDA – Food and Nutrition Service, 2009). Ve starším kojeneckém období se musíme vyvarovat nadměrnému příjmu vlákniny. Je nutné dbát hlavně na dodržení denního příjmu proteinů, železa, zinku, vápníku a vitaminů D, B₆ a B₁₂. V pozdějším věku může alternativní výživa přinést zdravotní benefity: redukce příjmu tuků a cholesterolu, vyšší příjem ovoce, příznivý vliv na krevní tlak, obezitu, výskyt diabetu. Podobného efektu lze však dosáhnout i smíšenou stravou (Bělohávková a kol., 2014).

3.2 Živiny v kojeneckém období

Jak již bylo řečeno dříve, kojenecké období se vyznačuje nejintenzivnějším vývojem. S tím samozřejmě souvisí příjem živin, který se během jednoho roku mění v závislosti na stravě, kterou dítě přijímá (Tab. č. 1 – 4).

Tabulka č. 1: Doporučené denní dávky energie.

JEDNOTKY	KOJENCI 0 – 4 M chlapci/dívky	KOJENCI 4 -12 M chlapci/dívky
MJ	2,0/1,9	3,0/2,9
kcal	500/450	700/700
kcal · kg ⁻¹	94/91	90/91

(Nevoral a kol., 2003)

Tabulka č. 2: Doporučené denní dávky živin.

	JEDNOTKY	KOJENCI 0 – 4 M chlapci/dívky	KOJENCI 4 -12 M chlapci/dívky
BÍLKOVINY	g · kg ⁻¹	2,7 – 1,5	1,3 – 1,1
TUK	% energie	45 – 50	35 – 45
SACHARIDY	% energie	45	45
VLÁKNINA	g · 1000 kcal ⁻¹		4 - 10

(Nevoral a kol., 2003)

Tabulka č. 3: Doporučené denní dávky vody.

TEKUTINY	ml	620	400
PEVNÁ STRAVA	ml	0	500
OXIDAČNÍ VODA	ml	60	100
CELKOVÝ PŘÍJEM	ml	680	1000

(Nevoral a kol., 2003)

Tabulka č. 4: Makronutrienty v mateřském mléce.

ŽIVINA	Energie, kcal	Bílkovina, g	Tuk, g	Sacharidy, g
MNOŽSTVÍ (na litr mléka)	680	10	39	72

(Nevoral a kol., 2003)

3.2.1 Energie

Energie je získávána ze základních živin neboli makronutrientů, mezi které patří bílkoviny, sacharidy a tuky. Energie se nejčastěji vyjadřuje v jednotkách tepla, kaloriích. Jedna kalorie je definována jako množství tepla potřebné k ohřátí 1 g vody o 1 °C. Energetická potřeba je dána v jednotkách kcal·kg⁻¹ (Burdychová, 2009).

Děti potřebují energii z potravy pro svou činnost, růst a normální vývoj. Dávka potřebné energie pro kojence závisí na mnoha faktorech, včetně velikosti těla, metabolismu, fyzické aktivitě, věku, pohlaví, genetických faktorech a další (USDA – Food and Nutrition Service, 2009). Tabulka č. 5 uvádí, jaký příjem energie kojeneček přijme pomocí KV, tabulka č. 6 doporučenou denní dávku přijaté energie.

Tabulka č. 5: Příjem energie z KV.

VĚK měsíce	ENERGIE kcal·den ⁻¹
6 – 8	130
9 – 11	310
12 – 23	580

(Frühauf, 2006)

Tabulka č. 6: DDD energie.

VĚK měsíce	ENERGIE kcal·den ⁻¹ chlapci/dívky
1	472/438
2	567/500
4	548/508
6	645/593
8	710/643
10	793/717
12	844/768

(USDA, 2009)

3.2.2 Sacharidy

Sacharidy, laicky „cukry“, jsou z chemického hlediska polyhydroxyaldehydy resp. polyhydroxyketony. Rozdělují se na monosacharidy (glukóza, galaktóza, fruktóza), disacharidy (sacharóza, maltóza, laktóza), oligosacharidy a polysacharidy (stravitelný škrob a nestravitelný pektin, lignin, celulóza).

Hlavním sacharidem, který kojencům poskytuje potřebnou energii, je laktóza. Obsah laktózy v mateřském mléce se pohybuje okolo $72 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Zdrojem laktózy jsou také mléčné formule vyrobené z kravského mléka. Pro kojence, kteří nemohou metabolizovat laktózu nebo galaktózu, jsou určeny speciální formule obsahující jiné formy sacharidů. V pozdějším věku, kdy jsou zaváděny ovocné příkrmy, dítě přijímá větší množství sacharidů. Ovocné šťávy zavádíme až po 6 měsíci, jelikož obsahují velké množství fruktózy. Některé druhy obsahují také cukerný alkohol sorbitol, který může při vyšších dávkách nadýmat nebo vyvolat průjem a bolesti břicha (USDA – Food and Nutrition Service, 2009). DDD sacharidů pokrývá 45 % energie, což představuje u kojenců do 6 měsíců $65 \text{ g} \cdot \text{den}^{-1}$, u kojenců nad 6 měsíců to je $90 \text{ g} \cdot \text{den}^{-1}$.

3.2.2.1 Vlákna

Do pojmu vlákna potravy se zahrnují všechny nestravitelné sacharidy (neškrobové polysacharidy a oligosacharidy, dextriny, polysacharidy používané jako potravinářská aditiva), ale také polyfenol lignin (Burdychová, 2009).

Mateřské mléko neobsahuje žádnou vlákninu, proto kojenci v prvních 6 měsících života vlákninu nekonzumují. Příjem vlákniny začíná až při zavedení prvních zeleninových příkrmů. DDD vlákniny se pohybuje okolo $5 \text{ g} \cdot \text{den}^{-1}$.

3.2.3 Bílkoviny

Bílkoviny patří mezi biopolymery, jejichž základní složkou jsou aminokyseliny. Bílkoviny vznikají proteosyntézou a mají mnoho nezastupitelných funkcí (strukturní, katalytická, transportní, pohybová, zásobní, regulační, nutriční). Proteiny slouží také jako potenciaální zdroj energie, pokud strava neposkytuje dostatečné množství sacharidů a tuků.

Nutriční hodnota se odvíjí od celkového příjmu, aminokyselinového složení a dostupnosti peptidických vazeb pro trávicí enzymy. Potřeba bílkovin postupně

s věkem klesá (v prvních měsících $2,7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, po roce už jen $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). Mateřské mléko obsahuje 10 g bílkovin na litr a pokrývá potřebu dítěte. Problém nastává tehdy, pokud podáváme dítěti takovou umělou mléčnou výživu, která obsahuje více bílkovin než mateřské mléko. Pokud přidáme k této výživě také maso-zeleninové příkrmy, tak se příjem bílkovin markantně zvýší. V případě, že dítě přijímá velké množství bílkovin, může dojít k narušení harmonického vývoje, stejně tak jako při jejich nedostatku.

3.2.4 Tuky

Tuky obsažené v potravě jsou nazývány triacylglyceroly a jsou tvořeny mastnými kyselinami navázanými na glycerol (Burdychová, 2009). Lipidy jsou jedním z hlavních zdrojů energie, slouží jako izolace před teplem, chrání orgány a umožňují absorpci vitaminů rozpustných v tucích. Esenciální mastné kyseliny (kys. linolová a kys. α -linolenová) jsou nezbytné pro normální vývoj mozku dítěte. Mateřské mléko je ideálním zdrojem lipidů. Ve starším kojeneckém období dítě přijímá lipidy také z masa, vaječného žloutku, nebo jogurtu.

3.2.5 Voda

Voda se spolu s bílkovinami, lipidy, sacharidy, vitaminy a minerálními látkami řadí mezi látky nezbytné pro normální funkci živých organismů. Uplatňuje se jako transportní médium živin, produktů metabolismu a respiračních plynů, dále jako reaktant, rozpouštědlo nebo disperzní prostředí (Velíšek a Hajšlová, 2009).

V prvních měsících života dítěte je potřeba tekutin zcela kryta mateřským nebo kojeneckým mlékem. Pro přípravu kojenecké stravy a nápojů používáme kojeneckou vodu, na jejíž kvalitu jsou kladeny přísné požadavky. Přídavek tekutin se doporučuje od 10. měsíce a to ve formě kojenecké vody, neslazených čajů nebo šťáv.

3.2.6 Minerály

Minerály jsou anorganické látky potřebné pro správnou funkci organismu. Nemají žádnou energetickou hodnotu, ale podílí se na stavbě biologických struktur, udržují osmotický tlak a jsou součástí hormonů a enzymů, čímž se uplatňují v základních biochemických procesech. Minerální látky si naše tělo nedokáže vytvořit,

proto je musíme přijímat v potravě, vodě nebo prostřednictvím suplementů. Doporučené denní dávky minerálů jsou uvedeny v tabulce č. 7.

Komprda (2003) rozděluje minerální látky podle hledisek kvalitativních a kvantitativních. Podle obsahu minerálů v těle člověka se minerální látky dělí na majoritní (Na, K, Cl, Mg, P, S, Ca), minoritní (Fe, Zn) a stopové (I, F, Se, Cu, Mn, Mo, Co, Ni). Z hlediska kvalitativního lze daný prvek, který má vztah k výživě člověka, charakterizovat jako esenciální (zajišťuje některou z biologických funkcí, je přítomen ve všech zdravých tkáních, jeho vyloučení má za následek fyziologické abnormality, dlouhodobá eliminace vede k smrti), neesenciální (fyziologicky indiferentní, netoxické) a toxické (Pb, Cd, Hg, As).

Tabulka č. 7: DDD majoritních minerálů.

	JEDNOTKY	KOJENCI 0 – 4 M	KOJENCI 4 – 12 M
MINERÁLY			
Vápník	mg	220	400
Fosfor	mg	120	300
Hořčík	mg	24	60
Sodík	mg	100	180
Draslík	mg	400	650
Chlorid	mg	200	270

(Nevoral a kol., 2003)

3.2.7 Vitaminy

Vitaminy jsou nepostradatelné nízkomolekulární sloučeniny zajišťující životně důležité funkce. Člověk není schopen jejich syntézy, proto je nucen vitaminy přijímat exogenně. Jako nepostradatelné součásti katalyzátorů biochemických reakcí je možno vitaminy nazvat jako esenciální exogenní biokatalyzátory (Komprda, 2003). Nejběžnější hledisko třídění vitaminů, jak uvádí Velíšek a Hajšlová (2009) je třídění podle společných fyzikálních vlastností, rozpustnosti ve vodě (hydrofilní vitaminy skupiny B a vitamin C) a v tucích (lipofilní vitaminy A, D, E, a K).

Vitaminy rozpustné v tucích, na rozdíl od vitaminů rozpustných ve vodě, se při vyšším příjmu ukládají do zásoby v tukových tkáních a játrech. Úplný nedostatek vitaminů vede k avitaminóze, mírnější formy nedostatku vitaminů nazýváme hypovitaminózy a nadměrný příjem vitaminů vede k hypervitaminózám (Burdychová, 2009). Doporučené denní dávky vitaminů jsou uvedeny v tabulce č. 8.

Tabulka č. 8: DDD vitaminů.

	JEDNOTKY	KOJENCI 0 – 6 M	KOJENCI 7 – 12 M
VITAMINY ROZPUSTNÉ V TUCÍCH			
A	µg RE	375	400
E	mg alfa TE	2,7	2,7
D	µg	5	5
K	µg	5	10
VITAMINY ROZPUSTNÉ VE VODĚ			
B ₁	mg	0,2	0,3
B ₂	mg	0,3	0,4
B ₆	mg	0,1	0,3
B ₁₂	µg	0,4	0,7
C	mg	25	30
Biotin	µg	5	6
Niacin	mg NE	2	4
Kyselina listová	µg DFE	80	80
Kyselina pantotenová	mg	1,7	1,8

(Nevoral a kol. 2003)

Nedostatek některých vitaminů může být důsledkem vážnějších onemocnění. Z tohoto hlediska je nejvíce diskutován vitamin D, jehož deficiencie byla zaznamenána u pacientů s celiakií, laktózovou intolerancí, diabetes, ale také při selhání ledvin a zánětech štítné žlázy.

3.2.7.1 Celiakální sprue

Celiakie je autoimunitní onemocnění, které postihuje sliznici tenkého střeva. Při konzumaci lepku (protein pšenice, ječmene a žita) je sliznice tenkého střeva rozrušována, čímž dochází k poruše vstřebávání živin, vitaminů a minerálů.

Klasické příznaky dětské celiakie jsou bolesti břicha, průjem nebo zácpa, zvracení, nadýmání, ztráta hmotnosti, nechutenství, podrážděnost, anémie, chronická únava a další. Diagnostika tohoto onemocnění zahrnuje sérologické testy na endomysální protilátky, histologii tenkého střeva nebo genetické testování (Samasca a kol., 2011). Jediným lékem je dodržování přísné bezlepkové diety.

Nejnovější výzkumy (Topal a kol., 2015) hodnotily množství vitaminů a minerálů u 52 dětí s tímto onemocněním. Nedostatek vitaminu D byl identifikován u více než poloviny pacientů. S nedostatkem vitaminu D souvisí také vstřebávání

vápníku, ten se kvůli deficitu vitamínu D nedostává do krve, čímž ho organismus odbourává z kostí a vzniká metabolická osteopatie. Deficience vitamínu A a E byla zjištěna u 7,7 % a 13,5 % pacientů. U 18 % pacientů studie zaznamenala nedostatek železa. Významný počet pacientů (35 %) mělo nízkou hladinu zinku, s níž jsou spojovány dermatologické příznaky tohoto onemocnění.

3.2.7.2 Laktózová intolerance

Laktózová intolerance je onemocnění, při kterém organismus neprodukuje laktázu, enzym štěpící laktózu na galaktózu a glukózu. Nehydrolyzovaná laktóza není tenkým střevem resorbována, stává se osmoticky aktivní a strhává s sebou vodu. V tlustém střevě je laktóza hydrolyzovaná na monosacharidy, které se díky bakteriálním enzymům štěpí na organické kyseliny, kysličník uhličitý, vodík a další. Kyseliny potom indukují významnou sekreci vody do lumen střeva svou osmotickou aktivitou i přímým iritačním účinkem (Nevoral a kol., 2003).

Mezi příznaky patří nadýmání, průjem, bolesti břicha a plynatost. Diagnostika tohoto onemocnění je jednoduchá s velkým počtem možností. Při expozičním testu sledujeme příznaky po vypití 1 litru mléka, pokud se do 4 hodin po požití příznaky objeví, jedná se o vysokou pravděpodobnost intolerance. Laktózový toleranční test hodnotí hladinu glukózy po požití 50 g laktózy. Dechový vodíkový test měří množství vodíku v dechu po vypití testovacího roztoku. Další diagnostika je možná pomocí endoskopického vyšetření nebo genetických testů.

Léčba tohoto onemocnění spočívá ve snížení příjmu laktózy, přičemž musí být zachován dostatečný přísun vápníku a vitamínu D. V kůži se vytváří až 90 % celkové potřeby vitamínu D. V případě nedostatku slunečního svitu (v našich zeměpisných šířkách od října do května) a zároveň malý příjem vitamínu D z mléka, může u pacientů dojít k deficienci vitamínu D. Vysokým rizikem deficitu vápníku a vitamínu D jsou postiženi hlavně pacienti se sekundárním laktózovým deficitem, tedy pacienti s celiakií, Crohnovou chorobou a ulcerózní kolitidou. Hladinu vitamínu D je vhodné zkontrolovat a dle potřeby substituovat (Fojtík a kol., 2013).

U kojenců, jejichž výživa je na mléce plně závislá, podáváme dietetika se sníženým obsahem laktózy, jestliže nadále vyvolávají klinické příznaky, je možné volit zcela bezlaktózové mléko sójové nebo dietetikum, kde je laktóza plně nahrazena maltodextriny (Nevoral a kol., 2003).

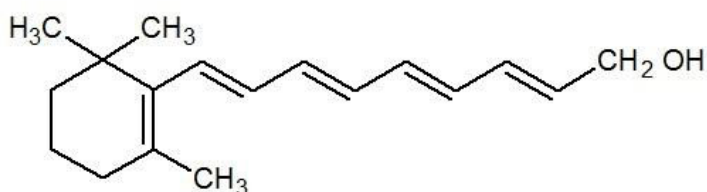
3.3 Charakteristika vybraných vitaminů

3.3.1 Vitamin A (retinol)

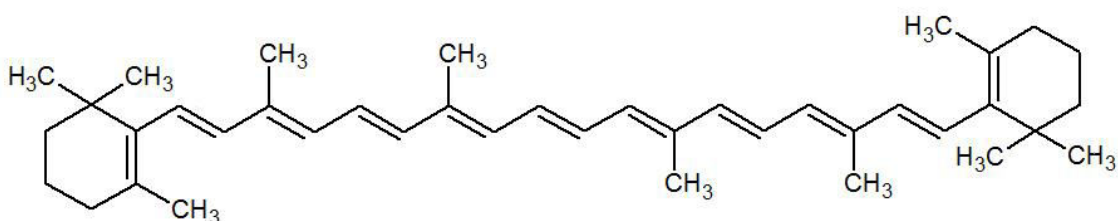
3.3.1.1 Obecná charakteristika

Do této skupiny vitaminů řadíme látky, které vykazují fyziologickou aktivitu vitaminu A, nazýváme je souhrnně retinoidy. Nejvýznamnější aktivní látkou této skupiny je vitamin A₁ retinol. Aktivitu tohoto vitaminu vykazují také karotenoidy tzv. provitaminy A. Tyto prekurzory se v našem těle enzymaticky transformují na aktivní formu retinolu. Nejvýznamnějším zástupcem této skupiny je beta-karoten, který je doprovázen alfa-karotenem, gama-karotenem a dalšími látkami s nižší účinností (Uherová, 2002).

Po chemické stránce se vitamin A i jeho provitaminy řadí mezi terpenoidy nazývané také isoprenoidy. Provitaminy jsou tetraterpeny nebo tetraterpenoidy. Vitamin A₁ je isoprenoid, resp. alicyklický diterpenový alkohol s β -jononovým cyklem a s postranním řetězcem, nazýváme jej all-trans-retinol (Obr. č. 1). Analogy a metabolity vitaminu A₁ se liší strukturou jononového cyklu nebo postranním řetězcem (Velíšek, 2009). Beta-karoten (Obr. č. 2) je tvořen dvěma molekulami retinolu spojenými na aldehydových koncích svých uhlíkových řetězců.



Obrázek č. 1: Retinol.



Obrázek č. 2: Beta-karoten.

3.3.1.2 Fyziologie a výživa

Fyziologická aktivita vitamínu A a jeho provitaminů zajišťuje normální funkci imunitního a reprodukčního systému, dále ovlivňuje funkci zrakového vjemu, tvorbu zdravé tkáně a vlasů a je základním faktorem pro správný růst a vývoj. Provitaminy likvidují volné radikály v organismu a přispívají tak k obraně proti rakovinotvorným látkám, kde můžeme zařadit také ochranu před účinkem slunečního záření. Retinoidy prokázaly dobré výsledky i při prevenci nebo u opakovaného výskytu některých druhů rakoviny. All-trans-retinová kyselina je důležitým lékem při léčbě akutní leukémie. Dále se retinoidy široce používají při léčbě kožních onemocnění (Zempleni a kol., 2014).

Avitaminóza retinoidů se projevuje šeroslepostí, suchou a drsnou pokožkou nebo sliznicí, nechutenstvím a sníženou odolností vůči infekcím, u dětí pak navíc představuje zastavení růstu a deformaci kostí (Uherová, 2002).

Hypervitaminóza vzniká v důsledku vysokého příjmu potravin s vysokým obsahem vitamínu A nebo potravinových doplňků. Toxicitu vitamínu A rozdělujeme na akutní, chronickou a teratogenní. Akutní toxicita vzniká při jednorázovém velkém příjmu vitamínu A (200 mg retinolu u dospělých, u dětí poloviční dávka). Mezi příznaky patří nevolnost, zvracení, bolest hlavy, závrať, rozmazané vidění, poruchy koordinace. Chronická forma vzniká při požití větších dávek v průběhu delšího období a vyznačuje se ataxií, jaterními abnormalitami, kožními změnami (Eitenmiller a kol., 2008). Teratogenní účinky spočívají v přebytku vitamínu A v průběhu těhotenství, vedou k úmrtí plodu nebo vrozeným vadám (Zempleni a kol., 2014). Nadměrný příjem provitaminů A se může projevit přechodným žlutým zbarvením kůže.

Dle Nevorala a kol. (2003) je doporučená denní dávka pro kojence do 6. měsíce 375 µg RE a ve věku od 7 – 12 měsíce 400 µg RE. Klinický nedostatek vitamínu A je rozšířený hlavně u dětí v rozvojových zemích, v našich podmínkách se hypovitaminózy objevují pouze ojediněle. WHO (2013) doporučuje jednorázové podání 30 mg RE vitamínu A dětem ve věku 6 – 59 měsíců v prostředí, kde VAD (vitamin A deficiency) postihuje 20 % dětí a víc.

3.3.1.3 Obsah v potravinách

Vitamin A se nachází výlučně v živočišných produktech, zejména v játrech jatečných zvířat, rybím oleji, mase, mateřském mléce a vaječném žloutku. Oproti vitaminu A jsou karotenoidy v potravinách živočišného původu obsaženy ve stopovém množství, významnějším zdrojem jsou potraviny rostlinného původu, jako je mrkev, listová zelenina, žluté a oranžové necitrusové ovoce. Některé potraviny s nízkým obsahem vitaminu A se často fortifikují např. mléko, máslo, mouka, stolní oleje, sýry, margaríny.

Pro každý z vitaminů byla vytvořena tabulka, ve které jsou zaznamenány hodnoty vitaminů v surovinách tradičně se vyskytujících v příkrmech, dále v surovinách, které jsou pro kojence vhodné, ale v příkrmech se objevují zřídka nebo vůbec, i když mají vysokou hladinu daného vitaminu, a v poslední části tabulky jsou uvedeny potraviny s vysokým obsahem vitaminu, které nejsou vhodné pro výživu dětí v tomto věku, viz tab. č. 9. Veškeré hodnoty platí pro suroviny v surovém stavu.

Tabulka č. 9: Obsah vitaminu A v potravinách.

Běžné suroviny	vitamin A (mg · 100 g ⁻¹)	provitamin A (mg · 100 g ⁻¹)
mrkev		2,0 – 9,6
špenát		5,0 – 30,0
máslová dýně ⁽¹⁾		4,6
maso	0,008	0,003
ryby	0,05	0,07
Doporučené		
sladké brambory ⁽¹⁾		9,4 – 11,5
petržel kadeřavá		3,2 – 26,0
mango		2,0
Nevhodné		
játra	4,5	30,0
Mateřské mléko	0,033 ⁽²⁾	0,06 ⁽³⁾
Mléčná formule	0,063 – 0,082 ⁽³⁾	

(Uherová, 2002), ¹ (Minister of Health Canada, 2008),

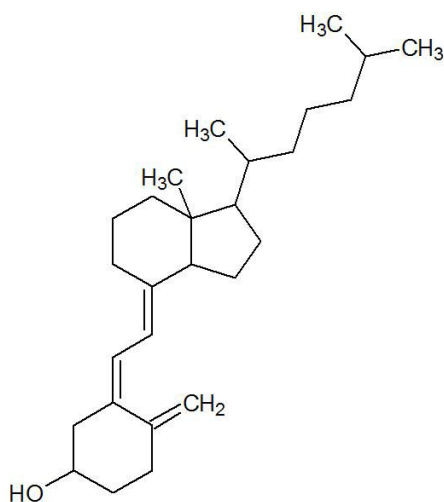
² (Živković a kol., 2015), ³ (Leaf, 2007)

3.3.2 Vitamin D (kalciferol)

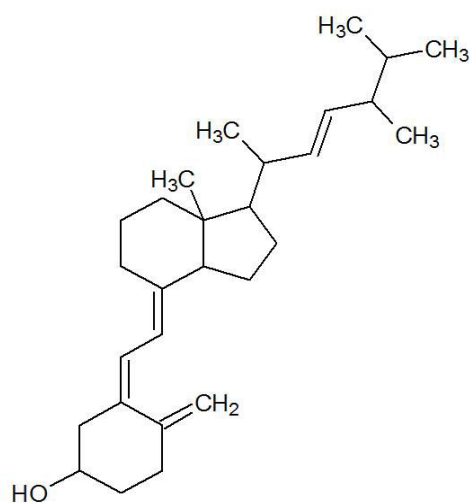
3.3.2.1 Obecná charakteristika

Souhrnné označení „kalciferol“ popř. „vitamin D“ nesou lipofilní fyziologicky účinné steroidní látky, mezi které patří zejména vitamin D₃ – cholekalciferol (Obr. č. 3) a vitamin D₂ – ergokalciferol (Obr. č. 4). Biologicky aktivní forma těchto vitaminů vzniká z jejich prekurzorů tzv. provitaminů, které se řadí mezi terpenoidy či steroidy. Provitaminem D₃ je 7-dehydrocholesterol a provitaminem D₂ je ergosterol.

Metabolismus vitaminu D představuje složitý systém na sebe navazujících reakcí, přičemž záleží na způsobu jeho příjmu (stravou nebo působením UV záření o vlnové délce 280 – 320 nm). Vitamin D₃, D₂ a jejich příslušné metabolity přijímané stravou se vstřebávají do krve z tenkého střeva. Vázané na specifický globulin krevní plazmy tzv. D-binding protein, jsou transportovány lymfatickým cévním systémem do jater, kde jsou skladovány nebo metabolizovány. Při působení UV záření na pokožku vzniká v buňkách pokožky meziprodukt, previtamin D₃, z fotochemické reakce provitaminu D₃. Previtamin D₃ neboli precholekalciferol izomeruje na cholekalciferol, který je vázán na DBP a je transportován opět do jater, kde je skladován popř. oxidován na metabolity s vyšší účinností. Jedním z důležitých metabolitů vznikajících v játrech je 1-alfa,25-dihydroxykalciferol (kalcidiol). V ledvinách probíhá metabolismus kalcidiolu a vzniká tak další důležitý metabolit kalcitriol, který se uplatňuje s kalcitoninem a parathormonem v metabolismu vápníku a fosforu.



Obrázek č. 3: Cholekalciferol.



Obrázek č. 4: Ergokalciferol.

3.3.2.2 Fyziologie a výživa

Kalcitriol, aktivní forma vitamínu D, reguluje homeostázi vápníku a fosforu, která je potřebná pro normální mineralizaci kostní tkáně. K udržení homeostáze dochází prostřednictvím kalciofosfátového metabolismu, který probíhá v rámci ledvin, kostí, střev a příštítných tělísek. Metabolismu se účastní kalcitriol společně s parathormonem a kalcitoninem, kdy kalcitriol stimuluje vstřebávání vápníku a fosfátu přes lumen střeva, čímž se zvyšuje ukládání vápníku a fosforu do kostí. Na druhé straně může kalcitriol společně s parathormonem působit na kostní tkáň tak, že se aktivují osteoklasty a dochází k uvolnění vápníku a fosfátu z kostí.

Vitamin D vyniká i dalšími účinky, příznivě ovlivňuje imunitu dítěte, chrání organismus před některými nemocemi (diabetes mellitus I. typu, lupus, roztroušená skleróza), zlepšuje tělesnou výkonnost, pozitivně působí na onemocnění lupénkou, slouží jako prevence některých kardiovaskulárních a nádorových onemocnění a další.

Avitaminóza u dětí vede ke snížení obsahu vápníku a fosforu v kostní tkáni a dochází k deformaci kostí tzv. křivici. U dospělých se avitaminóza projevuje jako osteomalacie. Při tomto onemocnění se kostní tkáň stává měkkou a náchylnou ke zlomeninám. Projevuje se svalovou ochablostí a bolestí kostí a zad. Za dostačující hodnotu pro prevenci nemocí z nedostatku vitamínu D se považují hodnoty 25-hydroxyvitamínu D nad $75 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$. Výrazný nedostatek vitamínu D se zvýšeným výskytem křivice dětského věku vzniká při hladinách nižších než $10 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ (Tláskal, 2013).

Při hypervitaminóze dochází ke kostní demineralizaci, která způsobuje zvýšení vápníku v krevním séru a jeho následné ukládání do různých orgánů nebo cév. Může dojít k selhání srdce nebo ledvin.

Denní doporučený příjem vitamínu D pro kojence je $10 \mu\text{g}$, což odpovídá 400 IU (Tláskal, 2013). Mateřské mléko společně s příkrmy neposkytují kojenci dostatečný příjem vitamínu D, proto se Vitamin D podává preventivně jak dětem kojeným, tak kojencům živeným kojeneckou formulí od druhého týdne života v dávce 400 – 500 IU (1 kapka) denně v průběhu celého prvního roku, následně během zimních měsíců v druhém roce života (Bělohlávková a kol., 2014).

3.3.2.3 Obsah v potravinách

Zdrojem vitamínu D₃ jsou především potraviny živočišného původu, které vedle samotného cholekalciferolu obsahují také příslušný provitamin a biologicky aktivní metabolity. Jednoznačně nejvyšší množství vitamínu D₃ se nachází v rybích olejích získaných z jater. O něco chudší, ale cenný zdroj vitamínu D₃ představuje také maso tučných ryb, které je vzhledem k nízkému obsahu cholekalciferolu v maso ostatních živočišných druhů důležitou součástí maso-zeleninových příkrmů (Tab. č. 10). Některé druhy ryb (žralok, makrela královská, mečoun) obsahují vysoké množství rtuti, proto jsou pro kojence nevhodné. V maso-zeleninových příkrmech se setkáme nejčastěji s lososem a tuňákem, ale vhodný je také pstruh, sled' nebo makrela.

Ergokalciferol a ergosterol se nachází v malém množství v mrkvi, špenátu a zelí. Významnějším zdrojem jsou vyšší houby popř. kvasinky.

Tabulka č. 10: Obsah vitamínu D v potravinách.

Běžné suroviny	vitamin D ($\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$)
mrkev ⁽¹⁾	0,07
špenát ⁽¹⁾	0,01
maso ⁽²⁾	0,1 – 0,8
losos	4,2 – 34,5
tuňák	1,7 – 18,7
Doporučené	
sled'	2,2 – 38,0
pstruh	3,8 – 19,0
makrela	0,5 – 15,5
Nevhodné	
žampiony, hřib jedlý, lišky ⁽¹⁾	0,2; 3,0; 13,0
játra ⁽²⁾	1,4 – 2,9
sýry ⁽¹⁾	0,8
Mateřské mléko ⁽³⁾	0,01
Mléčná formule ⁽³⁾	1,0 – 1,4

(Bendik a kol., 2014), ¹ (Velíšek a Hajšlová, 2009),

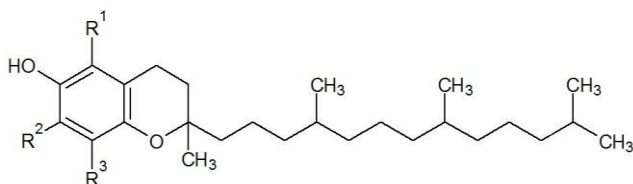
² (Uherová, 2002), ³ (Leaf, 2007)

3.3.3 Vitamin E (tokoferol)

3.3.3.1 Obecná charakteristika

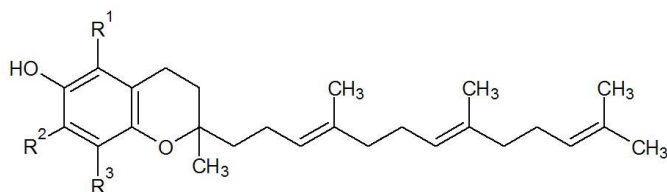
Vitamin E je souhrnné označení pro osm základních strukturně příbuzných derivátů chroman-6-olu., kdy základem čtyř derivátů je tokol a dalších čtyř tokotrienol. Tokoferoly (Obr. č. 5), odvozené od tokolu, se skládají z chromanového cyklu s hydrofobním nasyceným postranním řetězcem, přičemž u tokotrienolů (Obr. č. 6), odvozených od tokotrienolu, je postranní isoprenoidní řetězec nenasycený. Tyto nenasycené vazby se mohou vyskytovat v osmi různých *cis* nebo *trans* izomerech a jejich kombinacích. U tokoferolů stereoizomery vznikají díky třem chirálním centřům, čímž může vzniknout až 8 forem u každého z nich. Jednotlivé tokoferoly a tokotrienoly se dále liší množstvím a polohou methylových skupin v chromanovém cyklu a biologickou aktivitou.

Dle hodnot, které uvádí Eitenmiller a Lee (2004), je zřejmé, že výrazně vyšší biologickou aktivitu vykazují látky odvozené od tokolu. Nejvýznamnější je α -tokoferol se 100% účinností, dále pak β -tokoferol, který vykazuje 50 % biologické aktivity α -tokoferolu, γ -tokoferol představuje 10 % a δ -tokoferol pouze 3 % biologické aktivity α -tokoferolu. Z tokotrienolů je významný α -tokotrienol, který vykazuje 30 % a β -tokotrienol pouze 5 % aktivity α -tokoferolu.



$R^1 = R^2 = R^3 = H$	Tocol		
$R^1 = R^2 = R^3 = CH_3$	α -Tocopherol	$R^1 = H; R^2 = R^3 = CH_3$	γ -Tocopherol
$R^1 = R^3 = CH_3; R^2 = H$	β -Tocopherol	$R^1 = R^2 = H; R^3 = CH_3$	δ -Tocopherol

Obrázek č. 5: Tokoferoly.



$R^1 = R^2 = R^3 = H$	Tocotrienol		
$R^1 = R^2 = R^3 = CH_3$	α -Tocotrienol	$R^1 = H; R^2 = R^3 = CH_3$	γ -Tocotrienol
$R^1 = R^3 = CH_3; R^2 = H$	β -Tocotrienol	$R^1 = R^2 = H; R^3 = CH_3$	δ -Tocotrienol

Obrázek č. 6: Tokotrienoly.

3.3.3.2 Fyziologie a výživa

Vitamin E je nejvýznamnějším lipofilním antioxidantem, který ochraňuje biomembrány a membrány vnitrobuněčných organel tím, že zabráňuje poškození nenasycených lipidů volnými radikály. Díky vitaminu E jsou chráněny také plazmatické lipoproteiny, především velmi náchylné LDL lipoproteiny, jejichž oxidace zahajuje proces degenerativních změn cévní stěny tzv. aterogenezi. Tato ochrana je umožněna transportem vitaminu E v asociaci s lipidovou fází částic LDL krevní plazmou, kdy každá částice LDL lipoproteinů obsahuje 6 molekul vitaminu E. Tyto ochranné funkce vitaminu E vedou ke zpomalení procesu stárnutí a snižují riziko vzniku některých onemocnění, např. kardiovaskulární onemocnění, ateroskleróza, rakovina, oční zákal a další.

Deficience vitaminu E je poměrně vzácná, téměř vždy ji zapříčiňují jiné faktory než nedostatečný příjem potravou. Nejčastějším faktorem jsou onemocnění, při nichž dochází k poruchám vstřebávání tuků neboli k malabsorpci tuků. Mezi tato onemocnění řadíme celiakii, cystickou fibrózu a onemocnění pankreatu. Dále může dojít ke genetické abnormalitě v metabolismu lipoproteinů, kdy se produkuje malé množství tzv. chylomiker, díky kterým je vitamin E transportován do lymfy a následně do krve. Projevem deficience jsou degenerativní neuromuskulární změny, jako myopatie (nezánětlivé svalové onemocnění) a neuropatie (nezánětlivé onemocnění nervu).

Množství vitaminu E je důležité hlavně v těhotenství a při kojení, jelikož může ovlivnit také vývoj dítěte. Antioxidační stres působící v průběhu těhotenství významně ovlivňuje porodní hmotnost novorozence. V případě vysoké hladiny vitaminu E v séru byla pozorována pozitivní korelace s porodní hmotností novorozenců. Co se týká kojení, tak obsah vitaminu E v mateřském mléce je závislý na množství PUFA ve stravě matky (Hlúbík a Fajtrová, 2005). U těhotných žen se doporučuje denní příjem vyšší o 2 mg a u kojících žen o 5 mg (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Vitamin E je jedním z nejméně toxických vitaminů, neexistuje žádný důkaz o vedlejších účinku konzumace vitaminu E, který se přirozeně vyskytuje v potravinách. Svalová slabost, únava, dvojitě vidění, nevolnost, průjem a nadýmání byly u dospělého jedince nahlášeny až při příjmu $1600 - 3000 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ (Eitenmiller a Lee, 2004).

Doporučená denní dávka pro novorozence a kojence do 6. měsíce představuje 4 mg α -tokoferolu, pro kojence od 7. – 12. měsíce 5 mg α -tokoferolu (USDA – Food and Nutrition Service, 2009).

3.3.3.3 Obsah v potravinách

Vitamin E se nachází převážně v rostlinách (Tab. č. 11), které jej syntetizují z kyseliny homogénistové. U živočišných produktů je obsah vitamínu E závislý na složení krmiva. Jak u živočišných, tak u rostlinných produktů se jedná hlavně o α -tokoferol (potraviny živočišného původu až 90 %). Nejvyšší množství tohoto vitamínu nalezneme bezpochyby v rostlinných olejích, nejvíce pak v oleji z pšeničných klíčků, který by mohl představovat zajímavou alternativu při výrobě dětských příkrmů v BIO kvalitě (vzhledem k vyšší ceně oleje). Problém ovšem nastává při rafinaci, kdy dochází ke snížení obsahu vitamínu na 10 – 50 % původního obsahu, proto je vhodnější olej panenský. Dalším zdrojem vitamínu E jsou obiloviny (klíček a otruby), listová zelenina, ovoce, živočišné tuky a další. Jiří Janča (2002) uvádí významné hodnoty vitamínu E např. v kopřivách 39,3 MJ, máté 13,5 MJ, smetánce lékařské 6,8 nebo v chřestu 6,8, který je vhodný pro zpestření maso-zeleninových příkrmů.

Tabulka č. 11: Obsah vitamínu E v potravinách.

Běžné suroviny	vitamin E (mg · 100 g ⁻¹)
řepkový olej	82
špenát ⁽¹⁾	1,22
brokolice ⁽¹⁾	0,68
mrkev	0,25 – 0,45
maso	0,25 – 0,77
rýže klasická ⁽²⁾	1,11
Doporučené	
olej z pšeničných klíčků	218
rýže hnědá ⁽²⁾	5,43
Nevhodné	
arašídý ⁽¹⁾	19,72
lískové ořechy ⁽²⁾	15,95
Mateřské mléko ⁽³⁾	0,35
Mléčná formule ⁽³⁾	0,48 – 1,4

(Velíšek a Hajšlová, 2009), ¹ (Ball, 2006),

² (Hosmanová a Douša, 2007), ³ (Leaf, 2007)

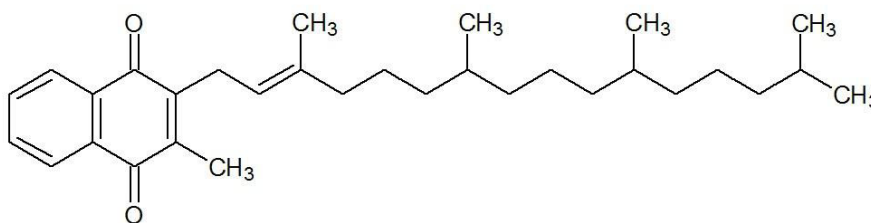
3.3.4 Vitamin K (fyllochinon, menachinon)

3.3.4.1 Obecná charakteristika

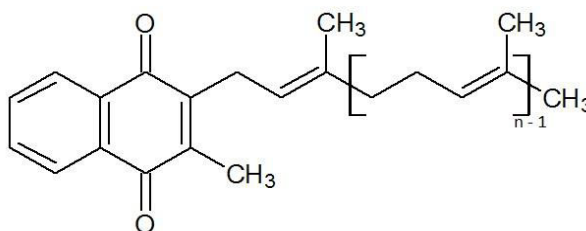
Do této skupiny řadíme všechny přirozeně se vyskytující látky vykazující aktivitu koagulačního vitaminu K, které mají společné 2-methyl-1,4-naftochinonové jádro, jsou tedy deriváty menadionu, ale liší se strukturou postranního řetězce v poloze C-3 aromatického jádra. V současné době se v zásadě rozlišují dva druhy látek, které jsou syntetizovány rostlinami nebo bakteriemi, a to vitamin K₁ a K₂. Avšak existují také syntetické sloučeniny, rovněž deriváty menadionu, které vykazují aktivitu vitaminu K.

Látku, která se vyskytuje v rostlinách, nazýváme vitamin K₁ neboli fyllochinon (Obr. č. 7). Pro vitamin K₁ je charakteristický fytylový postranní řetězec s jednou dvojnou vazbou, který je složen ze čtyř isoprenových jednotek, z nichž tři jsou redukovány. Vzhledem k přítomnosti dvojné vazby v postranním řetězci je zřejmé, že existují isomery s *cis* a *trans* konfigurací, ale biologickou aktivitu vykazuje pouze přírodní fyllochinon s *trans* konfigurací.

Dalším zástupcem této skupiny vitaminů je vitamin K₂ (Obr. č. 8), označován jako menachinon popř. MK-n. Toto označení vyjadřuje počet isoprenových jednotek, ze kterých je složen nenasycený postranní řetězec. Obvyklý počet isoprenových jednotek se pohybuje v rozmezí od 4 do 13. Menachinon není produkován rostlinami, ale bakteriemi a aktinomycetami.



Obrázek č. 7: Fyllochinon.



Obrázek č. 8: Menachinon.

3.3.4.2 Fyziologie a výživa

Hlavní biochemickou funkcí vitamínu K je jeho působení jako kofaktor při posttranslační modifikaci proteinů vázících vápník, kdy dochází ke karboxylaci zbytku glutamové kyseliny. Touto reakcí vzniká γ -karboxyglutamová kyselina se dvěma karboxyly v koncové části molekuly, což vytváří tzv. klecovou strukturu pro vazbu Ca^{2+} iontů. Karboxyglutamové zbytky propůjčují příslušným proteinům důležité vlastnosti, jako je schopnost vázat vápenné ionty a fosfolipidy nezbytné pro jejich aktivaci a funkci při srážení krve, přičemž nejznámější reakcí je přeměna neaktivního protrombinu na aktivní proteolytický enzym trombin (Velíšek a Hajšlová, 2009). Další důležitou funkcí je metabolismus kostí, kterého se účastní GLA-protein osteokalcin, jenž je syntetizován v kostních buňkách, osteoblastech.

Avitaminóza se u dospělých jedinců vyskytuje pouze zřídka, vzhledem k tomu, že je vitamin K dostatečně zastoupený v živočišných i rostlinných produktech a navíc je syntetizován střevní mikroflórou. Problém nastává tehdy, pokud je střevní mikroflóra nějakým způsobem narušena (podávání antibiotik), ale také při malabsorpci tuku a další. Častější jsou případy nedostatku vitamínu K u novorozenců, jelikož nemají dostatečně vyvinutou střevní mikroflóru a jsou odkázáni na příjem vitamínu K z potravy, která v tomto období představuje pouze mateřské mléko, v němž je koncentrace tohoto vitamínu nízká. Další příčinou je nedostatečný transplacentární transport. Projevem nedostatku vitamínu K u novorozenců je tzv. krvácivá nemoc novorozenců. Podle Hanzla (2011) rozlišujeme **časnou formu**, která se projevuje během prvního dne života, **klasickou formu**, projevující se ve 2. dni až ve 2 týdnech věku, a **pozdní formu**, která se manifestuje v období 2 až 12 týdnů věku.

Nadměrné užívání vitamínu K není přímo toxické, ovšem při užívání syntetických přípravků může dojít k praskání červených krvinek a anémii.

Vitamin K se podává donošeným i nedonošeným novorozencům jako prevence krvácení z nedostatku vitamínu K v novorozeneckém věku. Pokud je podán v porodnici vitamin K orálně, musí být u výlučně kojených dětí podáván po porodu v dávce 1 mg týdně do 12 týdnů věku. Kojenecké formule jsou fortifikovány vitaminem K a zajišťují dostatečný preventivní účinek (Bělohávková a kol, 2014). Doporučená denní dávka o hodnotě 1 mg zůstává stejná až do třech let dítěte.

3.3.4.3 Obsah v potravinách

Nejvyšší množství fylochinonu, jenž je běžnou složkou chloroplastů, je obsaženo v zelené listové zelenině, nejvíce pak v zelí, růžičkové kapustě a špenátu (Tab. č. 12). Dalším zdrojem fylochinonu jsou rostlinné oleje, zejména sójový, řepkový a olivový. Nízký obsah je v ostatních druzích zeleniny (kořenové, cibule, hlízy), ovoci a obilí. Menachinon nalezneme v potravinách živočišného původu, zejména pak v játrech dobytka, ve kterých byly identifikovány i další biologicky aktivní deriváty. Určitá forma menachinonu se může vyskytovat také v tkáních zvířat, která jsou krmena fortifikovaným krmivem.

Tabulka č. 12: Obsah vitamínu K v potravinách.

Běžné suroviny	vitamin K ($\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$)
špenát	400
brokolice	205
hrášek	36
mrkev	5
řepkový olej	141
maso ⁽²⁾	3
Doporučené	
růžičková kapusta	177
avokádo	40
Nevhodné	
vepřová a hovězí játra ⁽²⁾	110 – 400
sušená sója/fazole	47/19
Mateřské mléko ⁽³⁾	0,21
Mléčná formule ⁽³⁾	2,7 – 6,7

(Zempleni a kol., 2014),

² (Velíšek a Hajšlová, 2009),

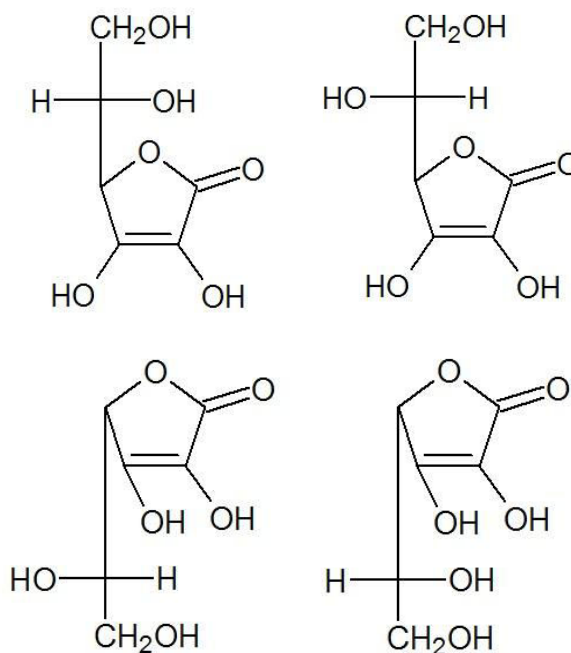
³ (Leaf, 2007)

3.3.5 Vitamin C (kyselina askorbová)

3.3.5.1 Obecná charakteristika

Pod pojmem vitamin C si můžeme představit biologicky aktivní kyselinu askorbovou, chemicky se jedná o derivát sacharidů, přesněji o lakton 2-oxo-L-gulonové kyseliny. Díky dvěma chirálním centřům, které má kyselina askorbová k dispozici, vznikají čtyři možné stereoisomery viz obrázek č. 9. Z těchto čtyř izomerů vykazuje biologickou aktivitu vitaminu C pouze přírodní sloučenina kyselina L-askorbová. Kyselina D-askorbová společně s druhým párem enantiomerů (L- a D-isoaskorbová kys.) biologickou aktivitu vitaminu C nevykazují. Kyselina L-askorbová, díky svým silným redukčním vlastnostem, je snadno a reverzibilně oxidována na L-dehydroaskorbovou kyselinu, což vytváří důležitý vratný oxidoredukční systém v přírodě.

Syntéza kyseliny askorbové probíhá ve všech zelených fotoautotrofních rostlinách z D-mannosy, u živočichů dochází k syntéze vitaminu C z D-glukosy, a to v játrech některých savců a v ledvinách ptáků a plazů. Na druhé straně hmyz, bezobratlí, ryby, primáti a morčata, podobně jako člověk, nejsou schopni syntézy kyseliny askorbové, jelikož postrádají enzym L-gulonolakton oxidázu.



Obrázek č. 9: L-askorbová kys., D-isoaskorbová kys., L-isoaskorbová kys., D-askorbová kys.

3.3.5.2 Fyziologie a výživa

Veškeré biochemické funkce vitamínu C lze pravděpodobně přičíst jeho silným redukčním vlastnostem. Vitamin C je kofaktorem jedenácti známých enzymů, přičemž osm z nich je součástí lidského organismu. Katalyticky se uplatňuje při syntéze kolagenu, kde se podílí na hydroxylaci prolinu a lyzinu. Dále se uplatňuje v metabolismu tyrozinu, který je také hydroxylován pro tvorbu hormonu adrenalin a při biosyntéze aminokyseliny karnitin. Kyselina askorbová má i další významné funkce, a to redukci Fe^{3+} na vstřebatelný Fe^{2+} , je donorem elektronů při včleňování železa do feritinu, regeneruje redukovanou formu α -tokoferolu, ale hlavně je velmi účinným antioxidantem, to znamená, že je schopná vázat kyslík, resp. odevzdávat vodík za vzniku dehydroaskorbové kyseliny. Díky těmto antioxidačním vlastnostem, ve spolupráci s α -tokoferolem a β -karotenem, hraje důležitou roli při ochraně organismu před poškozením volnými radikály. Navíc vitamin C podporuje celkovou obranyschopnost organismu stimulací imunitního systému.

Avitaminóza, skorbut neboli kurděje, je v dnešní době vzácná. Může se vyskytnout u jedinců, kteří nepřijímají ani minimální dávku vitamínu C, která činí $8\text{--}10 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ (Fajfrová a Pavlík, 2013). Kurděje se projevují krvácením dásní, pozdějším uvolněním zubů, poruchou tvorby kostí, poruchou růstu a špatným hojením ran. V dnešní době je běžnější a poměrně častá hypovitaminóza, která se klinicky projevuje únavou, náchylností k infekčním onemocněním, svalovou únavou a tvorbou modřin bez úrazu.

Horní hranice příjmu potravou je stanovena na 1 g vitamínu C. I když se přebytečný vitamin C vylučuje močí, tak tato velká dávka může vyvolat intenzivnější produkci kyseliny šťavelové, což vede ke zvýšenému riziku tvorby ledvinových kamenů.

Pro těhotné ženy je doporučeno denní množství vitamínu C 110 mg, zvláště v posledním trimestru je tato dávka významná pro splnění potřeb rostoucího plodu a hladina vitamínu C v séru těhotné ženy pozitivně koreluje s porodní hmotností dítěte. Navíc je vyšší koncentrace vitamínu C v mateřském mléce spojena se snižováním rizika atopie u kojenců (Hlúbík a Fajfrová, 2005). Pro kojící ženy je dávka stanovena až na 150 mg vzhledem k jeho vylučování do mateřského mléka (Fajfrová a Pavlík, 2013). Doporučená denní dávka pro kojence do 12. měsíců je 25 mg (Leaf, 2007).

3.3.5.3 Obsah v potravinách

Nejlepším zdrojem vitamínu C je hlavně čerstvé ovoce a zelenina (Tab. č. 13), ale je dokázáno, že mezi jednotlivými druhy existují značné rozdíly, které jsou závislé na vegetačních podmínkách, stupni zralosti, na odrůdě, způsobu posklizňového zpracování a dalších faktorech. Nejvyšší množství najdeme např. v šípčích, černém rybízu, petrželové nati, citrusových plodech a další, ale tyto potraviny jsou konzumovány pouze v malém množství, proto nepředstavují tak významný zdroj, jako třeba brambory, které mají sice průměrný obsah vitamínu C, ale jsou konzumovány pravidelně ve velkých dávkách. Někteří z výrobců přidávají do příkrmů např. jablečnou šťávu nebo citronový koncentrát. V živočišných produktech najdeme nejvíce vitamín C ve vnitřnostech, jako jsou ledviny, srdce a játra, dále v některých uzenářských výrobcích, které se fortifikují pro stabilizaci barvy a inhibici tvorby nitrosaminů.

Tabulka č. 13: Obsah vitamínu C v potravinách.

Běžné suroviny	vitamin C (mg · 100 g ⁻¹)
brokolice	97 – 163
špenát	25 – 70
brambory	11 – 13
mrkev ⁽²⁾	5 – 10
maso ⁽³⁾	1 – 2
Doporučené	
kadeřavá petržel	200 – 300
růžičková kapusta ⁽²⁾	100 – 120
kedluben ⁽³⁾	28 – 70
Nevhodné	
křen ⁽³⁾	45 – 120
gřep/pomeranč ⁽¹⁾ /citron ⁽²⁾	21 – 31/53 – 63/40 – 50
kuřecí játra/srdce/ledviny ⁽²⁾	15 – 20/5/6 – 8
Mateřské mléko ⁽⁴⁾	3,8
Mléčná formule ⁽⁴⁾	6,9 – 9,0

¹ (Ball, 2006), ² (Zempleni a kol., 2014),

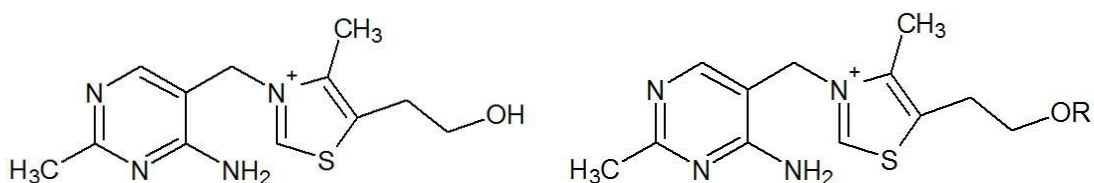
³ (Velíšek a Hajšlová, 2009), ⁴ (Leaf, 2007)

3.3.6 Vitaminy skupiny B

Do této skupiny tzv. B komplexu řadíme thiamin, riboflavin, niacin, kyselinu pantothenovou, pyridoxin, biotin, kyselinu listovou a kobalaminy. Všechny tyto látky jsou ve vodě rozpustné, proto je společně s vitaminem C řadíme do vitaminů rozpustných ve vodě. Vitaminy skupiny B pracují v těle společně, stejně tak se vyskytují i v potravinách, z toho vyplývá, že hypovitaminóza nastává většinou u celého komplexu, nikoliv u jednotlivých vitaminů. I když má každý z těchto vitaminů specifickou funkci, v jednom se neodlišují, jsou totiž významnými koenzymy, díky čemuž zasahují téměř do všech částí lidského těla od nervové soustavy, trávicího traktu, až po růst a vývoj plodu a další. Hypovitaminóza vzniká při nedostatku těchto vitaminů v potravě, ale také při malabsorpci nebo při zvýšených potřebách tzn. při sportu, růstu, infekčním onemocnění, léčbě antibiotiky atd. Toxický účinek těchto vitaminů není v praxi známý. V následujících kapitolách budou jednotlivé vitaminy charakterizovány.

3.3.6.1 Thiamin

Thiamin neboli vitamin B₁ (Obr. č. 10) se skládá z pyrimidinového cyklu, který je spojen methylenovým můstkem na C-5 s dusíkem thiazolového cyklu. Na thiazolový cyklus je navázána hydroxyethyllová skupina, která může být esterifikována, čímž vzniká thiamin mono-, di- nebo trifosfát, který se v potravinách nachází ve volné formě nebo vázaný na bílkovinu. V potravinářství nebo farmaceutickém průmyslu se často k fortifikaci potravin používá thiamin hydrochlorid a thiamin mononitrát.



Obrázek č. 10: Thiamin, fosfáty thiaminu.

Thiamin, který živočichové přijímají potravou, je esterifikován na thiamin difosfát v různých orgánech, přičemž rozsah absorpce je ovlivněn zdravotním stavem, formou a množstvím doprovodných látek v potravě a stupněm saturace organismu tímto vitaminem. Thiamin je kofaktorem významných enzymů transketolas, dekarboxylas

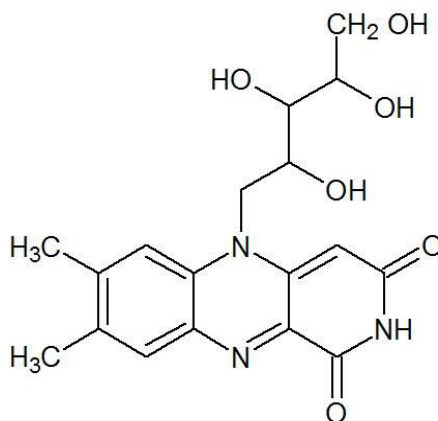
a dehydrogenas, dále hraje důležitou roli v metabolismu sacharidů, nukleových kyselin a aminokyselin a je nezbytný pro normální funkci nervového systému.

Avitaminóza vitamínu B₁, vznikající hlavně při nevyvážené výživě (výlučná konzumace loupané rýže), redukční dietě, při terapii antibiotiky, v těhotenství nebo při alkoholismu, může vyústit ve tři různé syndromy: **suchá forma beri-beri** vede k mravenčení v dolních končetinách, postižení nervových center, slabosti svalstva; **srdeční forma beri-beri** se projevuje otoky dolních končetin, ale také na trupu a v obličeji, dále postihuje srdce, čímž je postižený trvale ohrožen náhlým oběhovým selháním; **syndrom Wernicke-Korsakov** se vyskytuje pouze při alkoholismu a projevuje se zmateností, dezorientací a ztrátami paměti (Fajfrová a Pavlík, 2013). Hypovitaminóza je ve vyspělých státech častější a projevuje se bolestmi hlavy, únavou, nespavostí, nechutenstvím a celkovou slabostí.

Doporučená denní dávka je dána množstvím přijímaných sacharidů. U kojenců je tato dávka dle Leafa (2007) 0,2 mg do 6. měsíce a 0,2 – 0,3 mg do 12. měsíce věku dítěte.

3.3.6.2 Riboflavin

Hlavním biologicky aktivním vitamínem B₂ je riboflavin (Obr. č. 11), fluorescenční sloučenina, která je složena z isoalloxazinového jádra, na kterém je v poloze N-10 vázán ribitol a navíc je jádro v polohách C-7 a C-8 methylováno. Pokud je ribitol fosforylován na koncovém uhlíku C-5, vzniká FMN neboli flavinmononukleotid, avšak pokud je na tento uhlík navázán adenosin-5'-monofosfát, jedná se o FAD neboli flavinadeninnukleotid. Tyto dvě sloučeniny jsou kofaktory flavoproteinů a podílejí se na široké škále oxidačně-redukčních reakcí v metabolismu.



Obrázek č. 11: Riboflavin.

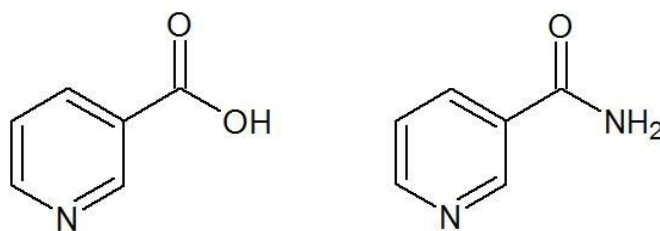
Člověk získává riboflavin štěpením flavoproteinů přijatých z potravy. Riboflavin je ze zažívacího traktu pomocí bílkovin transportován do jater, kde dochází k přeměně na koenzymy FAD a FMN, jejichž hlavní funkcí je působení v dýchacím systému při přenosu kyslíku a účast v oxidoredukčních reakcích, které probíhají v lidském těle. Dostatek riboflavinu ovlivňuje správný metabolismus cukrů, bílkovin a tuků a zajišťuje normální funkci epitelové tkáně a periferního nervového systému.

Úplná deficience, ariboflavinosa, tohoto vitamínu vede k zánětlivým onemocněním epitelové tkáně. Dále dochází k negativnímu ovlivnění metabolismu železa, což vede k poškození tvorby erytrocytů. Navíc může dojít k tzn. vaskularizaci, kdy drobné cévy prorůstají do rohovky a zhoršují tak její světelnou propustnost. Při hypovitaminóze, která vzniká, stejně jako avitaminóza, nedostatečným přísunem riboflavinu (celková podvýživa) nebo špatnou resorpcí (alkoholismus, lékové interakce, zažívací a absorpční poruchy), jsou časté záněty kůže a jazyka, praskliny ústních koutků, nadměrné rohovatění kůže a vylučování kožního mazu atd.

Potřeba riboflavinu je dána spotřebou energie, přičemž u dětí do 12. měsíce je DDD stanovena na 0,4 mg (Leaf, 2007). Pro průměrného dospělého člověka se udává hodnota 1,2 mg·den⁻¹, ovšem v těhotenství se tato potřeba zvyšuje o 0,3 mg·den⁻¹, v období kojení potom o 0,3 – 0,5 mg·den⁻¹ (Komprda, 2003).

3.3.6.3 Niacin

Pod označením niacin se skrývají dvě sloučeniny (Obr. č. 12) se stejnou biologickou účinností, a to nikotinová kyselina (pyridin-3-karboxylová kyselina) a její derivát nikotinamid (pyridin-3-karboxamid), který je součástí NAD (nikotinamidadenindinukleotid) a NADP (nikotinamidadenindinukleotid-fosfát). Označení B₃ není pro tento vitamin časté, běžnější je označení vitamin PP, které v překladu znamená „preventivní faktor pelagry“.



Obrázek č. 12: Nikotinová kyselina, nikotinamid.

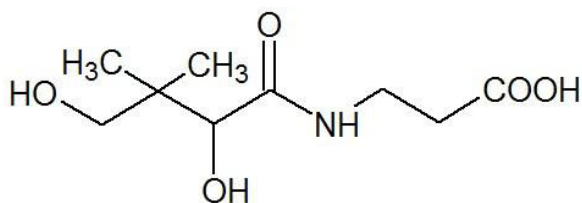
Jako součást NAD a NADP se nikotinamid podílí na přenosu protonů a elektronů v respiračních systémech (citrátový cyklus), kde působí jako kofaktor příslušných enzymů - oxidoreduktáz. Díky tomu jsou klíčovými složkami při metabolismu sacharidů, lipidů a bílkovin, resp. aminokyselin. Absorpce probíhá v tenkém střevě, kdy jsou nukleotidy přijaté ze stravy hydrolyzovány na nikotinamid, který je následně deaminován za vzniku nikotinové kyseliny. Nikotinová kyselina je transportována do jater a je opět zabudována na nukleotidy. Na rozdíl od ostatních vitaminů, může niacin omezeně vznikat v lidském těle z esenciální aminokyseliny tryptofanu za pomoci enzymů a dalších vitaminů (riboflavin a B₆), proto je při avitaminóze vhodná konzumace mléka a vajec, které jsou velkým zdrojem tryptofanu.

Avitaminóza se projevuje jako pelagra, onemocnění třech D, mezi jejíž příznaky patří dermatitida, diaree a demence. Toto onemocnění je typické hlavně pro rozvojové oblasti, ve kterých lidé nepřijímají dostatečné množství bílkovin, popř. konzumují jednostrannou stravu z kukuřice, v níž je niacin vázán na nevstřebatelný komplex, který je pro lidský organismus nevyužitelný, navíc kukuřice neobsahuje esenciální tryptofan. Menší deficit se může projevit podrážděností, zpomalenými reakcemi, depresemi a další.

Pro zabezpečení dětského organismu před vznikem zdravotních potíží z nedostatku niacinu se doporučuje dávka 6 mg pro děti do 6. měsíce a 8 mg pro děti do jednoho roku života. Pro těhotné a kojící ženy se doporučuje zvýšit 15 – 20mg denní dávku o 20 mg (Uherová, 2004).

3.3.6.4 Pantothenová kyselina

Kyselina pantothenová (Obr. č. 13), dříve nazývána vitamin B₅, je složena z kyseliny pantoové (derivát kyseliny máselné) a β-alaninu, tyto dvě části jsou propojené amidovou vazbou. Přírodní biologicky aktivní formou je pouze (R)-enantiomer pantothenové kyseliny a speciální formy této kyseliny - koenzym A a protein ACP.



Obrázek č. 13: Pantothenová kyselina.

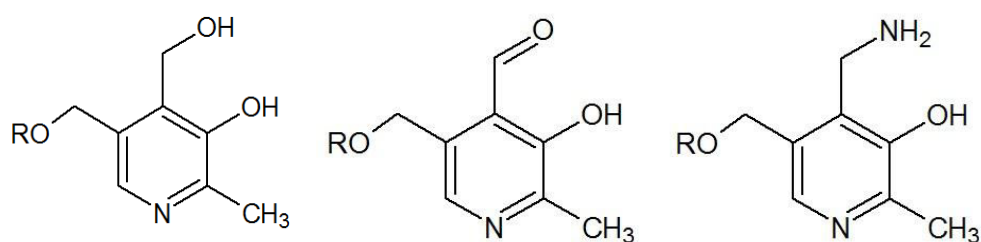
Biochemická funkce kyseliny pantothenové plyne z jejího zapojení do struktury koenzymu A (CoA), který je účinnou složkou enzymů přenášejících zbytky karboxylových kyselin. Koenzym A umožňující přenos acetylu nazýváme acetyl-CoA a je jedním z nejběžnějších CoA. Uplatňuje se při metabolismu lipidů, sacharidů a aminokyselin, ale také při jejich odbourávání za vzniku energie. Dále se uplatňuje při syntéze sekundárních metabolitů, jako jsou steroidy, acetylované sloučeniny a prostaglandiny. Kromě toho, fosfopantethein je začleněn do proteinu ACP, jenž je základním kofaktorem při syntéze mastných kyselin, polyketidů, lyzinu v kvasinkách a bakteriích a při syntéze neribozomálních peptidů (Zempleni, 2014).

Vzhledem k tomu, že je pantothenová kyselina v podstatě všudypřítomná, dochází k projevům deficience pouze výjimečně, i přesto jsou projevy nedostatečného příjmu v publikacích popsány. Fajfrová a Pavlík (2013) uvádí tyto příznaky: dermatitidy, depigmentace, vypadávání vlasů, slabost, anémie a únava. Na druhé straně Uherová (2002) mezi příznaky řadí bolesti hlavy, nespavost, deprese, zapomnětlivost, únavu a také dermatitidy.

Pro děti do 12. měsíce života je DDD 1,7 mg pantothenové kyseliny (Leaf, 2007). Uherová (2002) pro těhotné a kojící ženy doporučuje zvýšenou denní dávku 12 – 15 mg oproti klasické dávce pro dospělé muže a ženy, která činí 6 – 10 mg.

3.3.6.5 Pyridoxin

Souhrnný název pyridoxin nebo vitamin B₆ nesou tři biologicky aktivní deriváty (Obr. č. 14) pyridinu (3-hydroxy-5-hydroxymethyl-2-methylpyridin) a jejich příslušné 5'-fosfáty (vitamery), které vznikají fosforylací enzymem pyridoxal kinázou. Jednotlivé deriváty se liší typem substituentu v poloze C-4, kdy hydroxyderivátem pyridinu je pyridoxol, formylderivátem je pyridoxal a aminomethylderivát je označován jako pyridoxamin. V potravinářství se pro obohacování potravin používá pyridoxin ve formě hydrochloridů, které neovlivňují sensoriku fortifikovaných výrobků.



Obrázek č. 14: Pyridoxol, pyridoxal, pyridoxamin.

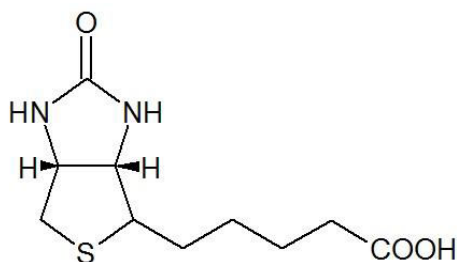
Vitamin B₆ se v potravinách nachází hlavně ve formě příslušných fosfátů, v živočišných tkáních je to především fosfát pyridoxalu a pyridoxaminu, kdežto v rostlinných pletivech najdeme hlavně fosfát pyridoxolu. V těle člověka mohou tyto jednotlivé formy přecházet jedna v druhou, např. oxidací pyridoxal-5'-fosfátu vzniká pyridoxol-5'-fosfát a transaminací téhož fosfátu vzniká pyridoxamin-5'-fosfát. Vitamin B₆, přesněji jeho fosfátová forma pyridoxal-5'-fosfát, hraje důležitou roli při metabolismu aminokyselin, kde působí jako kofaktor enzymů katalyzujících dekarboxylaci, transaminaci, deaminaci a další. Dále se pyridoxin uplatňuje při transformaci tryptofanu na niacin, ale také v metabolismu lipidů, nukleových kyselin (neurotransmitterů) a cukrů. Všeobecně řečeno pyridoxin ovlivňuje nervový a imunitní systém, růst, vývoj a homeostázu organismu.

Úplná deficience je velmi vzácná, a pokud se s ní setkáme, je velmi pravděpodobné, že bude doprovázena deficiencí riboflavinu. Hypovitaminóza se u dospělých jedinců projevuje nervovými poruchami a depresemi, to je dáno vlivem pyridoxinu na metabolismus neurotransmitterů. Mezi další příznaky patří dermatitidy, stomatitidy, anémie a u žen premenstruační syndrom. U dětí se hypovitaminóza projevuje epileptiformní křečí, snížením tělesné hmotnosti, nervozitou a poruchami trávení.

Doporučená denní dávka je u kojenců do 6. měsíce stanovena na 0,3 mg, u kojenců do 12. měsíce na 0,6 mg (Uherová, 2002). Pro těhotné a kojící ženy je DDD stanovena na 1,9 mg (Fajfrová a Pavlík, 2013).

3.3.6.6 Biotin

Struktura biotinu (Obr. č. 15) se skládá z ureidového cyklu, který je propojen s tetrahydro-thiofenovým cyklem substituovaným valerovou kyselinou. Díky třem asymetrickým atomům uhlíku, které tato struktura poskytuje, existuje osm stereoizomerů, z nichž pouze jeden vykazuje biologickou aktivitu a nachází se v přírodě, jedná se o *d*-biotin neboli (+)-biotin.



Obrázek č. 15: Biotin.

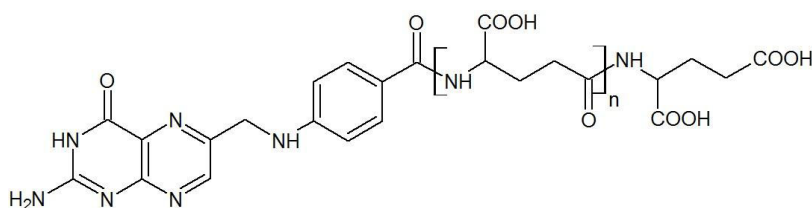
Biochemická funkce biotinu spočívá v jeho uplatnění v karboxylačních reakcích, probíhajících v lidském organismu, a to jako součást mnoha enzymů, které katalyzují přenos oxidu uhličitého a jeho zabudování do některých organických kyselin. Mezi tyto enzymy řadíme karboxylázy, dekarboxylázy a transkarboxylázy. Biotin je v enzymech vázán amidovou vazbou, která je vytvořená mezi karboxylovou skupinou valerové kyseliny a ϵ -aminoskupinou lysinu. Takto navázaný biotin se uplatňuje při syntéze mastných kyselin, katabolismu aminokyselin s rozvětveným postranním řetězcem a v jiných, životně důležitých metabolických dějích.

Avitaminóza tohoto vitamínu, vzhledem k biosyntéze biotinu symbiotickými střevními mikroorganismy v našem těle, není příliš běžná. K deficienci dochází u jedinců, kteří trpí nedostatkem biotinidasy, enzymu jenž uvolňuje biotin vázaný na bílkoviny, čímž umožňuje jeho resorpci. Dalším důvodem může být příjem antibiotik, která ničí střevní mikroflóru, ale také malabsorpce nebo vysoký příjem syrových vajec obsahujících avidin. Ten tvoří s biotinem velmi pevný komplex, ve kterém je biotin nevyužitelný. Mezi příznaky deficience patří záněty pokožky, nechutenství, deprese, vypadávání vlasů, nespavost a další.

Doporučené denní množství pro kojence do 6. měsíce je dle WHO (2004) stanovena na 0,1 mg a pro kojence do 12. měsíce na 0,3 mg. U těhotných žen je množství biotinu na den stanoveno na 1,9 mg a u kojících na 2,0 mg.

3.3.6.7 Folacin

Folacin je společný název pro všechny deriváty kyseliny listové, kterou označujeme také jako folová nebo pteroylglutamová kyselina (Obr. č. 16). Tato kyselina je složena ze třech odlišných kyselin: pteroové, jež je spojena methylenovým můstkem s kyselinou 4-aminobenzoovou, která je spojena peptidovou vazbou s kyselinou L-glutamovou. Kyselina listová většinou obsahuje více molekul kyseliny L-glutamové, běžně $n = 3 - 8$. V přírodě se vyskytuje pouze forma s redukováným pteridinovým cyklem: 7,8-dihydrofolát nebo 5,6,7,8-tetrahydrofolát.



Obrázek č. 16: Folová kyselina.

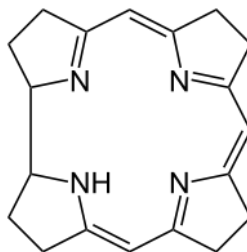
Tetrahydrofolová kyselina je přenašečem jednouhlíkových funkčních skupin (methyl, methylen, formyl a další), a to např. v biochemických reakcích, které vedou k syntéze purinů (adenin a guanin) a jednoho z pyrimidinů (thymin), které jsou základními složkami DNA (Zempleni, 2014). Z toho vyplývá důležitá úloha kyseliny listové při růstu, reprodukci buněk a krvetvorbě. V další důležité reakci poskytuje 5-methyl-tetrahydrofolová kyselina methylovou skupinu homocysteinu, jenž je jedním z rizikových faktorů aterosklerózy, za tvorby methioninu, čímž chrání organismus před srdečními a mozgovými chorobami. Folacin se v potravinách vykytuje převážně jako pteroyl(hexa – okta)glutamát, vstřebává se však pouze pteroylmonoglutamát, po hydrolyze vyšších derivátů působením glutamylkarboxypeptidázy (Komprda, 2003).

Nejhorší forma deficiencie nastává v období těhotenství, kdy je zapotřebí vyšší příjem kyseliny listové, protože dochází ke zvýšené replikaci a k většímu růstu buněk. Hypovitaminóza v tomto období postihuje nejen zdraví matky, ale také zdraví dítěte, kdy může dojít k rozštěpu páteře, potratům, nízké porodní hmotnosti a mentální retardaci. V dospělosti se hypovitaminóza projevuje poruchou zažívacího traktu, záněty v dutině ústní, zvyšováním hladiny homocysteinu, anémií a celkovou slabostí a únavou.

Vzhledem k vážným symptomům deficiencie v těhotenství se DDD pro těhotné, ale také kojící ženy, zvyšuje až na 600 µg z původních 400 µg (Fajfrová a Pavlík, 2013). Kojencům do 12. měsíce je dávka stanovena na 50 µg (Leaf, 2007).

3.3.6.8 Kobalamin

Řadíme zde látky, které vykazují biologickou aktivitu kobalaminu (Obr. č. 17). Dalším souhrnným označením je vitamin B₁₂ nebo korrinoidy. Chemická struktura těchto látek je velmi složitá a je podobná struktuře hemových a chlorofylových barviv. Základem je korrinový cyklus (od toho odvozený název korrinoidy) s tetrapyrrolovou strukturou. Uvnitř molekuly kobalaminu se nachází centrální atom kobaltu, ten je vázán pomocí kovalentní vazby a třech koordinačních vazeb s dusíky pyrrolových kruhů. U většiny korrinoidů vzniká také pátá vazba, která váže zbytek dimethylbenzimidazolu v takzvané α-poloze. Dále může vzniknout šestá koordinační vazba v β-poloze, kde mohou být navázány různé skupiny nebo sloučeniny. U syntetického vitaminu B₁₂ neboli kyanokobalaminu je to kyanidový anion, u přirozených korrinoidů to může být např. C-5' adenosin (adenosylkobalamin), methylová skupiny (methylkobalamin), voda (akvakobalamin) nebo nitroskupina (nitritokobalamin).



Obrázek č. 17: Korrinový cyklus.

Existují dva koenzymy B₁₂ se známou metabolickou aktivitou u člověka, jedná se o methylkobalamin a adenosylkobalamin. Methylkobalamin je koenzymem methionin syntetázy, která katalyzuje metylaci homocysteinu za vzniku methioninu (Ball, 2006), dále se tento koenzym uplatňuje při biosyntéze porfyrinů. Adenosylkobalamin je kofaktorem enzymů, které katalyzují řadu isomerací, jedná se například o přesmyk, kdy vzniká sukcinyl-CoA z methylmalonyl-CoA. Kobalaminy jsou kofaktory i dalších enzymů, čímž ovlivňují velkou část našeho organismu od růstu a vývoje organismu, přes tvorbu červených krvinek, až po imunitní a nervový systém.

Jelikož tento vitamin nalezneme pouze v živočišných tkáních, je deficeience typická pro vegetariány a další osoby dodržující speciální formy stravování. Dále se s nedostatkem setkáme u osob, jejichž sliznice žaludku neprodukuje dostatečné množství gastrického faktoru, glykoproteinu, na nějž se váže kobalamin, a jedině takto je vstřebáván střešní stěnou. Mezi první příznaky patří nekoordinované pohyby, zmatenost, deprese a náladovost, vážnější formy deficeience přecházejí v anémii, kdy se snižuje syntéza hemu. Pro zabezpečení organismu před různými formami chudokrevnosti je důležitá vyváženost mezi vitaminem B₁₂ a kyselinou listovou.

Doporučený příjem vitaminu B₁₂ je pro děti do 6. měsíce stanoven na 0,4 µg, u starších dětí do jednoho roku se tato dávka zvyšuje na 0,7 µg. Těhotné ženy by měly přijímat 2,6 µg vitaminu B₁₂ denně a kojící 2,8 µg denně (WHO, 2004).

3.3.6.9 Obsah v potravinách

Vitaminy skupiny B jsou zastoupeny jak v živočišných, tak v rostlinných produktech, nejvíce v mléčných výrobcích, mase, vajíčkách, ale také v obilovinách, luštěninách a v některých druzích zeleniny (Tab. č. 14). Dále se vitaminy B komplexu fortifikují potraviny, které jsou určeny pro kojeneckou a dětskou výživu.

Tabulka č. 14: Průměrný obsah jednotlivých vitaminů B komplexu v potravinách v mg · 100 g⁻¹.

Běžné suroviny	B₁	B₂	Niacin	B₆	Panto. kys.	Biotin	Folacin	B₁₂
maso kuřecí	0,125	0,175	10,75	0,26	0,745	0,011	0,011	0,0005
maso hovězí	0,07	0,195	7	0,29	1,15	0,0025	0,01	0,002
maso králičí ⁽¹⁾ (NDB 17177)	0,1	0,15	7,27	0,5	0,8	no date	0,008	0,0072
ryby	0,115	0,215	5,3	0,73	1,31	0,014	0,012	0,0027
losos ⁽¹⁾ (NDB 15076)	0,226	0,38	7,86	0,818	1,664	no date	0,025	0,003
tuňák ⁽¹⁾ (NDB 15127)	0,118	0,115	18,475	0,933	0,28	no date	0,002	0,002
rýže loupaná ⁽¹⁾ (NDB 20450)	0,07	0,048	1,6	0,145	1,342	no date	0,009	-
špenát	0,775	0,2	0,6	0,22	1,44	0,005	0,121	-
mrkev	0,085	0,155	1	0,4	0,3	0,0035	0,04	-
brambory	0,115	0,115	1,5	0,185	0,3	0,0015	0,014	-
Doporučené								
rýže natural ⁽¹⁾ (NDB 20040)	0,413	0,043	4,308	0,509	1,493	no date	0,02	-
kuskus ⁽¹⁾ (NDB 20028)	0,163	0,078	3,49	0,11	1,243	no date	0,015	-
quinoa ⁽¹⁾ (NDB 20035)	0,36	0,318	1,52	0,477	0,772	no date	0,023	-
červená čočka ⁽¹⁾ (NDB 16144)	0,51	0,106	1,495	0,408	0,348	no date	0,204	-
Nevhodné								
vepřová játra	0,515	3,65	19,35	0,38	10,2	0,095	0,179	0,111
droždí	0,71	3,05	15,6	3,3	15	0,08	1,5	-
luštěniny	0,52	0,2	2,25	0,63	1,17	0,0365	0,107	-
ořechy	0,055	0,075	0,7	0,3	0,1	0,046	0,07	-
Mateřské mléko ⁽²⁾	0,016	0,031	0,23	0,006	0,26	0,76 µg	5,2 µg	0,01 µg
Mléčná formule ⁽²⁾	0,07	0,105	0,8	0,045	0,25	1,5 µg	9,7 µg	0,22 µg

(Velišek a Hajšlová, 2009), ⁽¹⁾ (USDA, 2015), ⁽²⁾ (Leaf, 2007)

3.4 Stanovení vitaminů

3.4.1 Odběr a příprava vzorků

Odběr vzorku a jeho následná úprava je jedním z nejdůležitějších kroků v analytickém procesu stanovení vitaminů. Je to dáno hlavně náchylností vitaminů na oxidaci a v některých případech také na světelné záření. Právě kvůli tomu musíme při odběru vzorku a jeho následné manipulaci dávat velký pozor na to, aby nedošlo ke změnám v jeho složení. Při odběru vzorku je nutné, aby byl vzorek průměrný neboli reprezentativní, to znamená, že musí obsahovat všechny složky analyzovaného materiálu ve stejném hmotnostním nebo objemovém poměru jako má daný materiál. U nehomogenních tuhých a kapalných materiálů se odebírají tzv. dílčí vzorky, které se odebírají z různých míst materiálu. Tyto dílčí vzorky se dále mísí a zmenšují na velikost potřebnou pro příslušný počet rozborů, takto upravený vzorek nazýváme laboratorní. Odejmутím části laboratorního vzorku získáme vzorek analytický, který je určený k vlastní analýze. U kapalných vzorků, jež je možno důkladně homogenizovat, se vzorkovacími pipetami odebírá průměrný vzorek.

Odebraný vzorek se dále drtí a homogenizuje v třecích miskách nebo v hmoždířích popř. se mixuje nebo mele. U vitaminů se snažíme zabránit vystavení vzorku vyšším teplotám, proto musí být vzorek před samotnou homogenizací a drcením předchlazen. U vitaminu C přidáváme při homogenizaci navíc extrakční činidlo - kyselinu metafosforečnou, ve které je vitamin C velmi stálý. Vzorky by měly být analyzovány bez prodlevy a je nutno je chránit před světlem.

3.4.2 Izolace a extrakce

Dalšími kroky před samotnou identifikací vitaminů je extrakce, odpařování, ředění a popř. také předčištění vzorku, přičemž se jednotlivé kroky mohou lišit podle druhu stanovovaného vitaminu a metody stanovení. Pro izolaci vitaminů se využívají metody: **zmýdelnění** neboli alkalická hydrolýza, **enzymatická hydrolýza** především u vitaminu K a vitaminů skupiny B, **kyselá hydrolýza** také u vitaminů skupiny B, **přímá extrakce rozpouštědlem**, která je vhodná hlavně pro extrakci vitaminu A, E a karotenoidů (Nollet, 2004) a **nadkritická fluidní extrakce** využívající k extrakci nadkritickou tekutinu, běžně je to oxid uhličitý, jehož použití má velké výhody: jeho kritický bod je snadno dosažitelný, je netoxický, bezpečný, levný a je ideálním rozpouštědlem

pro analyty dále analyzované instrumentálními metodami (Klouda, 2003). Další výhodou je minimální spotřeba organických rozpouštědel, vyloučení kyslíku a snížení tepla (Ötles, 2012).

Při stanovení vitaminů rozpustných v tucích je vzorek nejdříve zmýdelněn za použití methanolického nebo ethanolického roztoku hydroxidu draselného a antioxidantů (kyselina askorbová, askorbát sodný, sulfid sodný, hydrochinon, pyrogallol). Hydrolýza probíhá pod zpětným chladičem pod mírným proudem dusíku, čas a teplota zmýdelnění se u jednotlivých vitaminů liší. U vitaminu K se místo zmýdelnění využívá enzymové hydrolýzy lipázami. Enzymová hydrolýza se používá také u vitaminů skupiny B, ale předchází jí kyselá hydrolýza.

K přímé extrakci vitaminů rozpustných v tucích používáme organická rozpouštědla např. diethylether, n-hexan, butanol, petrolether a další. Aby se netvořila emulze, přidáváme k hydrolyzátu vodu do poměru k alkoholu 1:1. K extrakci vitaminů rozpustných ve vodě z potravin se nejčastěji využívá voda, zředěné roztoky minerálních kyselin a pufrů (Hálková a kol., 2000). Extrakce se několikrát opakuje v závislosti na stanovovaném vitaminu.

V některých případech, především u vitaminů rozpustných ve vodě, se provádí předčištění extraktu pomocí chromatografie na vhodných adsorpčních materiálech např. na silikagelu nebo celulóze. U vitaminů rozpustných v tucích se provádí filtrace přes vrstvu bezvodného síranu sodného, čímž dochází k vysušení extraktu. Dále je extrakt odpařován na rotační vakuové odparce za sníženého tlaku. Zbylý objem je při stanovování chromatografickou metodou rozpuštěn v rozpouštědle, které je kompatibilní s mobilní fází.

Jak již bylo řečeno, tento postup je pouze orientační, skupina vitaminů je chemicky velmi různorodá, proto je u každého vitaminu postup rozdílný.

3.4.3 Metody stanovení

Vzhledem k heterogenní chemické stavbě jednotlivých vitaminů neexistuje žádná univerzální metoda pro stanovení celé skupiny vitaminů. Příkladem jsou např. mikrobiologické metody, které jsou vhodné pouze pro stanovení vitaminů ze skupiny B. Mikrobiologické metody detekují i malé množství vitaminů ve vzorcích potravin, jsou dostatečně specifické, nevyžadují velké předčištění vzorků, ale jsou časově náročné a s omezenou přesností (Ötles, 2012). Mezi další metody stanovení

vitaminů ze skupiny B patří fluorimetrie a spektrofotometrie, které vynikají svou citlivostí, rychlostí a specifičností. Společně s chromatografickými metodami patří tyto metody mezi nejběžněji používané. U vitaminu C se využívá kromě chromatografie a spektrofotometrie také titrační nebo polarografická metoda. Při stanovování vitaminů rozpustných v tucích se musíme vypořádat s dalšími průvodními látkami, jako jsou steroly, triglyceridy a fosfolipidy, právě z toho důvodu je nejvhodnější metodou pro jejich stanovení chromatografie. Nejběžnější chromatografickou metodou při stanovování všech zmíněných vitaminů je HPLC metoda, ale využívá se také kombinovaná metoda HPLC-MS, GC-MS, klasická metoda GC a moderní separační technika UPLC. Pro stanovení se dále může využívat kapilární elektroforézy, hmotnostní spektrometrie a další. V následujících kapitolách budou vybrané metody popsány. Rozsah, který jednotlivým metodám věnuji, odpovídá jejich aktuálnosti a zastoupení při stanovení vitaminů.

3.4.3.1 Chromatografické metody

Chromatografii řadíme k separačním metodám. Jak již z názvu vyplývá, tyto metody slouží k oddělení neboli k separaci složek obsažených ve vzorku. Při chromatografii se jednotlivé složky vzorku separují tak, že je vzorek umístěn na začátek stacionární fáze a prochází jí mobilní, vzorek je touto mobilní soustavou unášen separačním prostorem. Při průchodu vzorku tímto separačním prostorem dochází k jeho opakované interakci se stacionární fází a komponenty vzorku jsou touto interakcí selektivně brzděny ve svém pohybu (Opekar, 2002). Míra brzdění jednotlivých složek vzorku stacionární fází je dána tím, jak silně jsou komponenty vzorku poutány, neboli jak silná je mezi nimi a stacionární fází interakce. Díky tomu se na konec stacionární fáze dostávají rychleji složky méně zadržované.

3.4.3.1.1 Rozdělení chromatografických metod

Při této separaci se uplatňuje několik fyzikálně-chemických dějů, díky kterým dochází k interakcím mezi stacionární fází a komponenty vzorku. Podle převahy těchto dějů členíme chromatografii na **rozdělovací**: o separaci rozhoduje odlišná rozpustnost složek ve stacionární (kapalina) a mobilní fázi (kapalina nebo plyn), **adsorpční**: o separaci rozhoduje různá schopnost složek poutat se na povrch stacionární fáze (tuhá látka), **iontově-výměnnou**: o separaci rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé

síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze (iontoměnič) a ionty vzorku, **gelovou**: složky se separují podle velikosti na pórovité stacionární fázi (gel), kdy se menší molekuly vzorku v pórech gelu zdržují déle, **afinitní**: stacionární fáze je schopna vázat právě určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah (Klouda, 2003).

Podle skupenství již zmiňované mobilní fáze rozdělujeme chromatografii na **kapalinovou** (Liquid Chromatography - LC), **plynovou** (Gas Chromatography - GC) a **superkritickou fluidní** (Supercritical Fluid Chromatography – SFC), jež je zvláštním případem, kdy využíváme jako mobilní fázi páru, a to při nadkritické teplotě a tlaku.

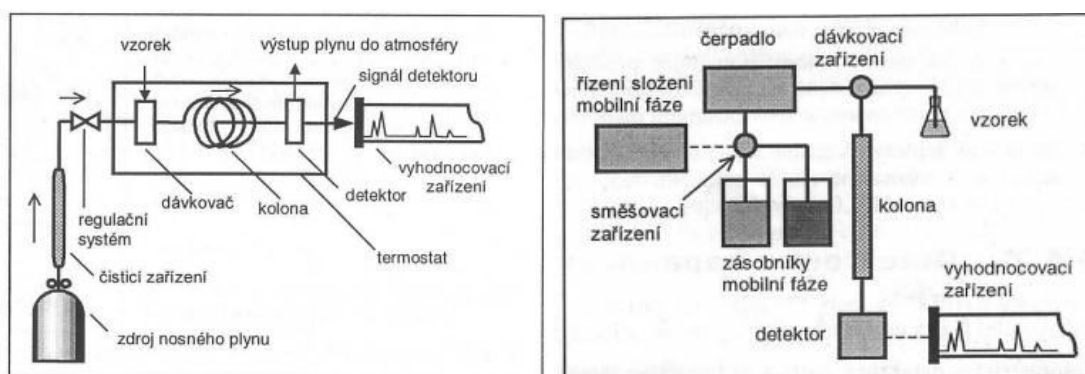
Stacionární fáze má také několik podob, přesněji ji rozdělujeme podle jejího uspořádání na **kolonovou**, kdy je stacionární fáze umístěna v koloně, **papírovou** (Paper chromatography - PC), ve které je stacionární fáze součástí chromatografického papíru, a **tenkovrstvou** (Thin Layer Chromatography - TLC), v níž je stacionární fáze součástí pevného a plochého podkladu (sklo, hliníková folie, polyester).

Stacionární fáze, stejně jako fáze mobilní, se může lišit také svým skupenstvím. Využívají se tuhé látky, kapaliny, hydrofilní nebo hydrofobní gely u gelové permeační chromatografie a měniče iontů (makromolekulární matice: polystyren, dextran, celulóza), které se využívají u iontově výměnné chromatografie.

3.4.3.1.2 Instrumentace

Jednotlivé části chromatografu se liší podle zvolené metody. V rámci této kapitoly je popsána kolonová chromatografie, která se v současné době pro stanovení vitaminů nejběžněji využívá. Na obrázku č. 18 jsou znázorněna schémata plynového a kapalinového chromatografu.

Obrázek č. 18: Schéma plynového a kapalinového chromatografu.



(Klouda, 2003)

Základem chromatografu je zásobník mobilní fáze: tlaková láhev v případě plynu, kterým je nejčastěji vodík, dusík, helium nebo argon, skleněné nádoby v případě kapalin. U plynové chromatografie se nosný plyn před vstupem do kolony zbavuje nečistot, vlhkosti a stop jiných plynů, následuje regulační systém, jenž se nachází před dávkovačem vzorku a zajišťuje stálý nebo programově se měnící průtok plynu. Součástí kapalinového chromatografu může být směšovací zařízení, které mění složení mobilní fáze během separace, v tomto případě se jedná o gradientovou eluci, pokud se složení nemění, jedná se o izokratickou eluci. U starších metod kapalinové chromatografie se pro průchod kapaliny kolonou využívala gravitační síla, tuto metodu v současnosti vystřídala výkonnější čerpadla. Další částí obou chromatografů je dávkovací zařízení, používají se dávkovací kohouty nebo injekční zařízení, které je ovládáno ručně nebo automaticky. Při vstřiku vzorku do plynového chromatografu musí být vzorek v co nejkratším čase přeměněn na plyn a musí být v plynném stavu také udržován, což zajišťuje termostat.

Za dávkovacím zařízením se nachází kolony, které rozdělujeme na náplňové a kapilární. Náplňové kolony jsou plněny sorbentem nebo nosičem s kapalnou fází, jejich délka se pohybuje mezi 10 – 25 cm u kapalinového chromatografu a 1 – 3 m u plynového chromatografu, vnitřní průměr je 4,6 – 5 mm a 2 – 3 mm ve stejném pořadí, materiálem pro výrobu je nerezová ocel nebo sklo. Kapilární kolony se využívají především u plynové chromatografie, přičemž jejich vnitřní stěny slouží jako nosič. Délka této kolony je značně vyšší než u kolony náplňové, jedná se totiž až o 60 m dlouhou kolonu s průměrem 0,1 – 0,6 mm. Materiálem pro výrobu této kolony je tavený křemen. Kolona je následně obalena polyimidovou vrstvou, která zajišťuje její pružnost a odolnost. V kapalinové chromatografii mohou být součástí chromatografu tzv. předkolony nebo ochranné kolony, které chrání hlavní kolonu před nečistotami a nerozpustnými materiály.

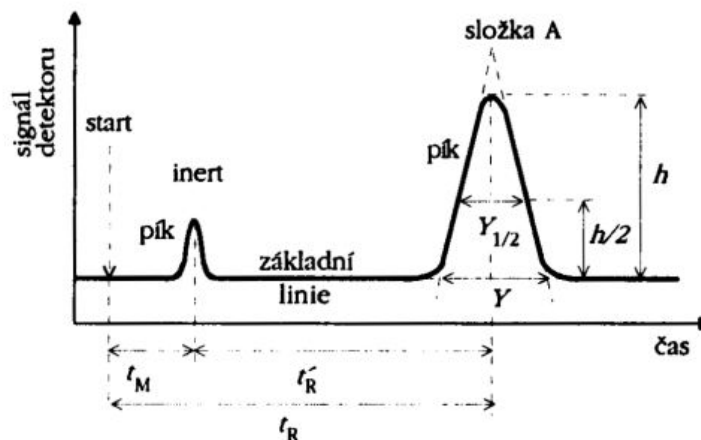
Poslední částí je detektor, jenž vysílá signál do vyhodnocovacího zařízení. Existuje velké množství detektorů od tepelně vodivostních, ionizačních, přes detektory elektronového záchytu, až po významné fotometrické a fluorescenční detektory, avšak může se využít také např. hmotnostní spektrometr, který je použitelný v plynové i kapalinové chromatografii. V metodách stanovení vitaminů, které uvádí ČSN, se nejčastěji využívá detektor fluorescenční a fotometrický. Princip fluorescenčního neboli fluorimetrického detektoru je založen na schopnosti látek absorbovat UV záření

a následně vyslat záření, jež má vyšší vlnovou délku. Toto záření se poté měří fotonásobičem. Fotometrický detektor měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony.

3.4.3.1.3 Vyhodnocení chromatogramu

V poslední fázi stanovení je vyhodnocován chromatogram (Obr. č. 19). Přesněji je zde popsán chromatogram, jenž vznikl použitím nejběžnější pracovní techniky, tedy **eluční metodou**, která spočívá v jednorázovém nástřiku vzorku do mobilní fáze, kdy jako první z kolony vychází složka, která se na stacionární fázi zachycuje nejméně. Další pracovní technikou je **metoda frontální**, při které je vzorek přiváděn do kolony kontinuálně, kdy dochází k tomu, že z chromatografu nejprve vychází nejméně sorbovaná složka, a následně se k ní přidávají další složky, až po nejvíce sorbovanou složku, a tak na konci měření z kolony vychází směs o původním složení s mobilní fází. Poslední metodou je **metoda vytěšňovací**, při které se mobilní fáze nejprve nasytí vytěšňovacím činidlem, které se sorbuje silněji než složky vzorku. Činidlo tlačí složky vzorku a jako první kolonu opouští složka s nejmenší interakcí se stacionární fází.

Obrázek č. 19: Chromatogram při eluční metodě.



(Klouda, 2003)

Vodorovná osa na chromatogramu znázorňuje čas, přičemž doba, za kterou složka vzorku projde kolonou – **retenční čas t_R** , je pro danou složku charakteristická a je nám tímto umožněno vzorek kvalitativně zhodnotit. Retenční čas je možné rozdělit na **t_M – mrtvý retenční čas**, kdy složka zůstává v mobilní fázi a **t'_R – redukovaný retenční čas**, kdy je složka sorbována stacionární fází. Detektor dále zaznamenává píky neboli eluční křivky, signál detektoru je na chromatogramu znázorněn na svislé ose. Při kvantitativním stanovení vyhodnocujeme plochu popř. výšku zaznamenaného píku,

jež rostou společně s množstvím stanovované složky. Symbol h na obrázku č. 19 znázorňuje výšku píku a symbol Y jeho šířku.

Zastaralé kvantitativní vyhodnocování bez pomoci moderních přístrojů, jako triangulace, kvadratura, planimetrování či dokonce vážení vystřiženého píku, byly nahrazeny moderními metodami, kdy je plocha píku měřena digitálními integátory. Pro vyhodnocení používáme metody vnitřní normalizace, absolutní kalibrace, vnitřní standardizace nebo metodu vnitřního přídatku.

U metody vnitřní normalizace stačí pouze jeden nástřik do chromatografu bez znalosti objemu. Při vyhodnocení sečteme plochy všech píků a určíme podíl plochy píku stanovované látky k vypočítané celkové ploše. Výsledek se vyjadřuje v procentech.

Nejpoužívanější metodou kvantitativní analýzy je bezpochyby metoda vnitřní standardizace, která se používá také při stanovování vitaminů dle ČSN. V případě této metody se ke známému objemu vzorku, přidá známý objem standardní látky o definované molární koncentraci. Přidávaný standard nesmí být přítomen v původním vzorku, nesmí reagovat s žádnou složkou vzorku, musí eluovat v blízkosti píku stanovované složky a být dobře oddělen od všech složek vzorku (Opekar, 2002). V případě této metody můžeme využít přímé srovnání ploch vzniklých píků, nebo můžeme sestavit kalibrační křivku pomocí série roztoků s různým poměrem hmotnosti látek, přičemž tyto roztoky chromatografujeme za stejných podmínek.

Další možností je metoda absolutní kalibrace, kdy srovnáváme plochy píků u analyzovaného vzorku a použitého standardu. Vzorek i standard se dávkuje za stejných podmínek a ve známém množství. V případě této metody můžeme pro stanovení využít také kalibrační křivku, kdy provedeme několik nástřiků standardů o různém obsahu látky, kterou stanovujeme, a následně sestavíme křivku závislosti plochy píku na koncentraci látky a graf vyhodnotíme.

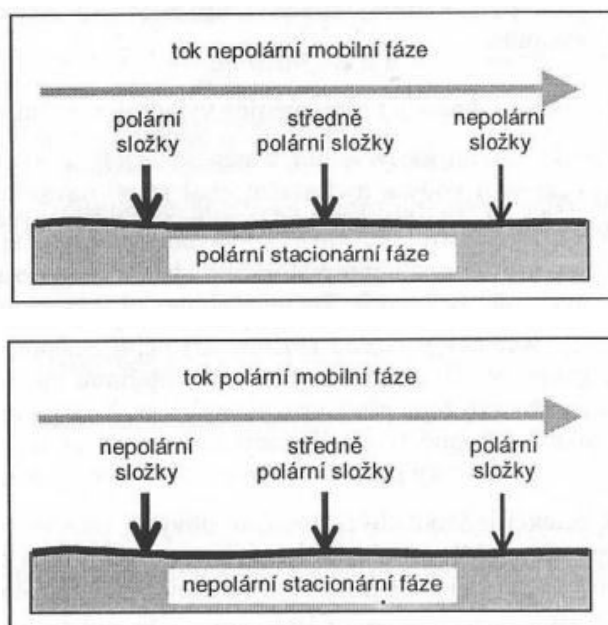
Poslední možností je metoda standardního přídatku. Při této metodě musíme znát veškeré objemy nástřiků a provádíme dvě analýzy, nejdříve analyzujeme samotný vzorek, poté analyzujeme vzorek, do kterého bylo přidáno známé množství standardu, který je stejný jako stanovovaná látka. Princip vyhodnocení spočívá ve zvětšení plochy píku, které je přímo úměrné přidanému množství standardu.

3.4.3.1.4 Moderní metody stanovení vitaminů

V současné době je nejvíce používanou metodou pro stanovení vitaminů metoda HPLC neboli vysokoúčinná kapalinová chromatografie (ang. high-performance liquid chromatography), která je popisována také v ČSN. Tato metoda se od klasické kapalinové chromatografie liší tím, že se používá pístové nebo membránové čerpadlo, které zajišťuje konstantní průtok mobilní fáze od $0,1$ až $10 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ při tlaku až 35 MPa . Při konstrukci kolon se většinou dává přednost rovným trubicím, jejichž délka se pohybuje mezi 10 až 50 cm . Nejčastěji používané průměry jsou 2 až 6 mm . Materiálem kolony je nerezová ocel a tvrzené sklo (Kříženecká a Synek, 2014).

V rámci HPLC metody rozeznáváme dva systémy mobilní a stacionární fáze – normální fázi a reverzní fázi. Chromatografie na normálních fázích, zkráceně NPC (Normal-Phase Chromatography), využívá polární stacionární fázi (silikagel, oxid hlinitý), kdežto mobilní fáze je nepolární (hexan, cyklohexan, pentan, dichlormethan, benzen). Na druhé straně, chromatografie na reverzní fázi RPC (Reversed-Phase Chromatography), užívá nepolární stacionární fázi (uhlovodíky nebo alkyly vázané na silikagel) a polární mobilní fázi (voda, acetonitril, methanol). Na obrázku č. 20. můžeme vidět rozdíl mezi těmito metodami. U NPC metody je nepolární, přesněji nejméně polární složka, eluována jako první, jelikož se nejméně mísí s polární stacionární fází a naopak.

Obrázek č. 20: Schéma interakcí v NPC a RPC.



(Klouta, 2003)

V posledních letech, kdy se zvyšuje potřeba minimalizace zátěže životního prostředí ve všech oblastech průmyslu, se rozšiřuje také tzv. zelená chromatografie. U standardních kapalinových chromatografů je z pohledu zelené analytické chemie nejzávažnější vysoká spotřeba rozpouštědel. K výraznému snížení spotřeby mobilní fáze dochází, je-li použita separační kolona s menším vnitřním průměrem, vyšší účinností a kratší délkou (Šesták a Kahle, 2015). Vanessa Kienen a kol. v roce 2008 využili tuto zelenou chromatografii při stanovení vitaminů rozpustných v tucích pomocí micelární kapalinové chromatografie, kde se místo klasických rozpouštědel, které znečišťují prostředí, používají tenzidy. Výsledkem práce bylo zjištění, že je možné provést chromatografické stanovení vitamínu A, E, D₃ a K₁ při použití modifikované kolony C18 jako stacionární fáze a vodný SDS (dodecylsírán sodný) a butylalkohol, jako mobilní fázi. Tento postup byl jednoduchý, přesný a srovnatelný s konvenční metodou (Kienen a kol., 2008).

V průběhu desetiletí došlo k vývoji chromatografické metody, která je rychlejší než HPLC, jedná se o Ultra účinnou kapalinovou chromatografii (UHPLC). Pro tuto analytickou metodu je zapotřebí speciální instrumentace operující při maximálních tlacích až 100 MPa. Kolony mají vysokou mechanickou, ale také chemickou odolnost. Délka těchto kolon je 2 – 15 cm, nejčastěji se používají kolony o délce 5 cm. Průměr kolony pro spojení s UV detektorem je nejčastěji 2,1 mm, pro spojení s MS detektorem 1 mm. Dalším rozdílem je velikost částic, od 70. let, kdy se v náplňových kolonách používaly částice o průměru 10 μm, došlo k ohromnému pokroku při vývoji technologií pro přípravu stále menších částic, a tudíž ke zlepšování parametrů separace. Přitom lze při použití takto malých částic účinnosti dosáhnout při mnohem vyšších průtokových rychlostech, což má za následek rychlejší separaci. Této skutečnosti bylo využito při vývoji zcela nových částic, které jsou menší než 2 μm. Díky této technologii lze zkrátit analýzy až devětkrát, citlivost zlepšit třikrát a dvakrát lze zlepšit rozlišení. Takové zrychlení se projeví nejen v úspoře energie, ale také v téměř desetinásobné úspoře organických rozpouštědel, a tedy i v nákladech na jejich bezpečnou likvidaci (Olšovská a Jurková, 2012).

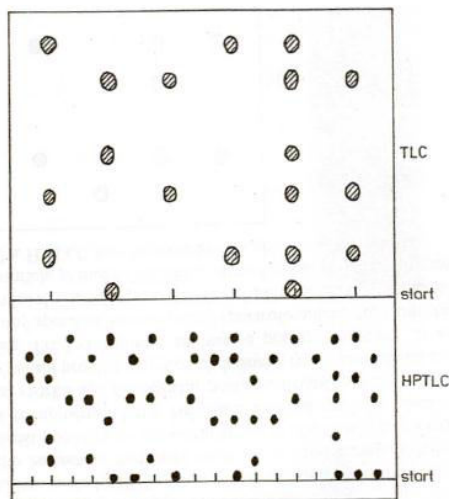
V současné době je také aktuální spojení dvou analytických metod pro zajištění větší účinnosti při identifikaci složek. V prvním kroku se směs látek rozdělí separační technikou vhodnou pro danou směs a ve druhém kroku po rozdělení látek se vhodnou spektrální metodou získají strukturální informace o jednotlivých

sloučeninách (Holčapek a Jandera, 1998). Běžně se využívá např. spojení kapalinové popř. plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Výhoda použití hmotnostní spektrometrie spočívá v její citlivosti, univerzálnosti a vysoké specifitě pro organické sloučeniny. Hlavní problém při spojení LC systému s MS spočívá v tom, že MS pracuje za vysokého vakua, a navíc před vstupem analytu do MS musí být odstraněna mobilní fáze (Nollet a Toldra, 2012). Právě z toho důvodu se při této metodě využívají kolony o malém průměru (mikrokolony, kapilární kolony) a byla vyvinuta různá technická řešení spojení těchto dvou metod. Přesněji se u LC jedná např. o elektrosprejovou ionizaci, termosprejovou ionizaci, spojení Particle beam, spojení s nekonečným pásem nebo spojení s přímým vstupem eluátu. Vzhledem k rozsahu této problematiky a rozsahu mé práce zde uvádím pouze příklady spojení, pokud by čtenář jevil zájem o bližší specifikaci techniky spojení, doporučuji k nastudování práci od Holčapka a Jandery z roku 1998.

V závěru bych se chtěla věnovat planární technice HPTLC neboli vysoce účinné tenkovrstvé chromatografii. Tato metoda analýzy vychází z chromatografie na tenké vrstvě - TLC (angl. Thin Layer Chromatography), kdy je stacionární fáze tvořena vrstvou sorbentu na vhodné podložce. V případě HPTLC se jako stacionární fáze používají desky o rozměru 10 x 10 cm s vrstvou mikropórovitého sorbentu (silikagelu). Díky tomu HPTLC dovoluje zpracovávat i 20 vzorků na jedné desce současně (Klouďa, 2003). Spodní okraj této tenké vrstvy je smáčen mobilní fází, k jejímu průtoku tenkou vrstvou dochází vzlínáním. Pro zabránění vysychání je tenká vrstva umístěna v uzavřené nádobce nasycené parami mobilní fáze (Opekar a kol., 2002). Při stanovení se nejprve na tenkou vrstvu nanese rozpuštěný vzorek pomocí mikrostříkačky nebo mikropipety, a to na linii startu tak, aby tato linie nebyla ponořena v mobilní fázi, Při HPTLC se nanáší menší průměr skvrn než u klasické TLC metody, viz obr. č. 21. Mobilní fáze se pohybuje přes start a unáší s sebou složky vzorku tím rychleji, čím méně se poutají na stacionární fázi a čím jsou lépe rozpustné v mobilní fázi (Klouďa, 2003). U HPLC metody se jako mobilní fáze často používají směšená organická rozpouštědla nebo organická rozpouštědla s vodou. Pokud nejsou složky tvořeny barevnými látkami, tak dále pokračujeme detekcí, tedy zviditelněním nebarevných skvrn a následným subjektivním nebo objektivním vyhodnocením.

Mezi výhody HPTLC patří jednoduchost, nízký objem mobilní fáze, rychlost separace, potřeba malého množství vzorku, přesnost, spolehlivost, a to všechno s nízkými náklady (Panahi a kol., 2011).

Obrázek č. 21: Srovnání TLC a HPTLC.



(Kříženecká, 2007)

3.4.3.1.5 Příklady stanovení vybraných vitaminů

Stanovení vitamínu A dle ČSN EN 12823-1 popisuje metodu vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Podstatou je zmydelnění retinolu methanolickým nebo ethnaolickým roztokem hydroxidu draselného s přidavkem antioxidantu, a to pod zpětným chladičem a pod dusíkem. Čas zmydelnění je od 15 do 45 minut při 80 – 100 °C. Dále je retinol extrahován vhodným rozpouštědlem (n-hexan, butanol), což se opakuje třikrát až čtyřikrát po objemu 50 – 150 ml, spojené extrakty se promývají vodou do neutrálního pH. Dále se vzorek odpařuje na vakuové rotační odparce za sníženého tlaku. Zbytek po odpaření se rozpustí v mobilní fázi, aby bylo dosaženo koncentrace vhodné pro nástřik do kolony HPLC. Proveďte se stanovení metodou vnějšího standardu a používá se detektor s fluorimetrickou nebo UV detekcí. Následně je vyhodnocen chromatogram.

Stanovení vitamínu C dle ČSN EN 14130, jejíž platnost byla ukončena 1. 3. 2016, popisuje opět metodu HPLC. Při tomto stanovení se vzorek homogenizuje s kyselinou metafosforečnou, poté se kvantitativně převede do odměrné baňky a filtruje se. Dále se ke vzorku přidává redukční roztok, díky kterému dochází ke konverzi kyseliny

dehydroaskorbové na kyselinu askorbovou. Stanovení se provádí metodou absolutní kalibrace a je použita UV detekce při 256 nm.

Vitamin B₂ je extrahován z potravin po kyselé hydrolýze, následuje enzymatické ošetření v podobě enzymatické defosforylace. Mobilní fází je methanol ve vodě nebo fosfátové popř. acetátové pufrů. Pro stanovení je použita metoda vnějšího standardu s fluorimetrickou detekcí (ČSN EN 14152).

3.4.3.2 Spektrofotometrie a fluorimetrie

Obě dvě tyto metody spadají pod spektroskopické optické metody, jejichž společným znakem je jejich mechanismus, založený na interakci hmoty a elektromagnetického záření. Při této interakci se excitují nebo deaktivují atomy, molekuly, ionty či radikály, popř. jejich soubory, a hmota se zářením si vyměňují energii. Proto jsou spektroskopické metody spojeny s absorpcí nebo emisí elektromagnetického záření (Křiženecká, 2007), viz níže.

Nepopíratelnou výhodou těchto metod je snadnost, rychlost a citlivost měření. Při použití vhodného standardu a zachování všech pravidel bývá tato metoda i relativně přesná. K nevýhodám patří vysoká investiční nákladnost, zejména pak u metody fluorimetrické. Hlavní předností fluorimetrie je okolnost, že pro každou látku jsou charakteristické dvě vlnové délky, excitační a emisní. Proto je, zejména ve srovnání s absorpční spektrofotometrií, mnohem selektivnější (Káš a kol., 2005).

3.4.3.2.1 Rozdělení metod

Spektrometrické metody můžeme rozdělit podle míry intenzity záření vysílaného nebo prošlého vzorkem. Z tohoto hlediska dělíme spektrometrické metody na rentgenové, ultrafialové, viditelné, infračervené a speciální nukleární magnetickou rezonanci. Dále rozlišujeme dvě spektrometrické metody podle reakce elektronů na interakci atomů nebo molekul s elektromagnetickým zářením, a to na spektrometrii emisní a absorpční. V následujících odstavcích bude rozdíl mezi těmito dvěma metodami popsán.

Metody emisní jsou založeny na měření elektromagnetického záření vysílaného vzorkem, toto záření je emitováno poté, co se molekuly nebo atomy vrací do základního stavu, a to ze stavu, kdy byly excitovány na vyšší energetickou hladinu. Vysílané elektromagnetické záření je formou přebytečné energie, které se atomy nebo molekuly

zbavují. Pro upřesnění, základním stavem atomu či molekuly se rozumí stav, kdy elektrony zaujímají nejnižší energetické stavy, excitovaný stav nastává v případě, kdy molekula či atom absorbuje světelné záření (forma energie) a elektrony zaujmou vyšší energetické hladiny.

Avšak u některých látek je zapotřebí složitějšího mechanismu pro přechod elektronů do nejnižšího energetického stavu. U těchto látek dochází nejdříve k uvolnění tepla bez emise záření. K uvolnění fotonu dochází až po časovém intervalu $< 10^{-5}$ s. Vlnová délka tohoto záření je zpravidla vyšší než vlnová délka absorbovaného záření. Tento děj nazýváme fluorescence a využíváme ho právě při fluorimetrické metodě.

Při metodě absorpční měříme absorbanci monochromatického elektromagnetického záření (záření o jedné vlnové délce) volnými atomy. Absorbované vlnové délky jsou pro určitou látku charakteristické a látku lze podle nich identifikovat, případně usuzovat na její strukturu, jsou tedy ukazatelem kvalitativním (Opekar a kol. 2002). Při kvantitativním měření vyhodnocujeme míru absorbance. Záření vychází ze zdroje a prochází absorpčním prostředím. Záření neabsorbované vzorkem dopadá na detektor, který přeměňuje zářivou energii na elektrický proud, který je zesílen a měřen na odečítacím přístroji. Samozřejmě závisí na počtu volných atomů, které interagují se svazkem paprsků, ale také na tloušťce absorbujiícího prostředí, kterým prochází monochromatické elektromagnetické záření. Tuto závislost můžeme vyjádřit následujícím vzorcem.

$$\Phi = \Phi_0 e^{-ab} \qquad \tau = \frac{\Phi}{\Phi_0} = e^{-ab} = 10^{-\alpha b}$$

τ - transmitace

Φ - záření soustavou propuštěné

Φ_0 - záření vstupující

a - dekadický absorpční koeficient

b - tloušťka prostředí

α - konstanta úměrnosti

Míru absorpce záření určité vlnové délky vyjadřujeme v jednotkách absorbance A a je vyjádřena následujícím vzorcem. Hodnota molárního absorpčního koeficientu je závislá na vlnové délce absorbovaného záření.

$$A = -\log \tau = \epsilon b c$$

ϵ - molární absorpční koeficient

b - tloušťka vrstvy

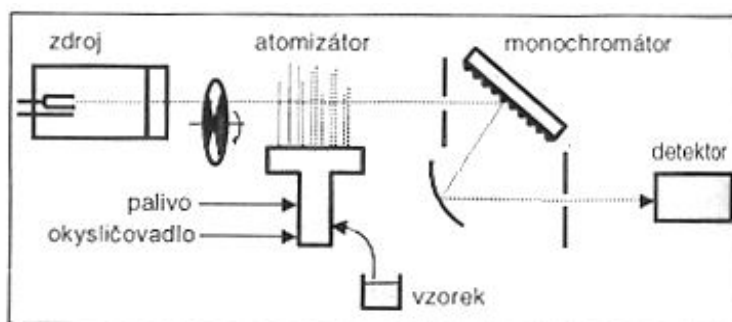
c - látková koncentrace

3.4.3.2 Instrumentace

Optické přístroje, kterými měříme emisní nebo absorpční spektra látek, nazýváme spektrometry. Podle způsobu měření dělíme spektrometry na jednopaprskové a dvoupraprskové. Jednopaprskové mají jedinou optickou dráhu, takže se do přístroje nejprve vkládá referenční vzorek, a teprve poté je do optické dráhy umístěn měřený vzorek. U obou vzorků je měřeno množství světla, jež jimi prošlo, a z obou údajů je vypočtena absorbance. Dvoupraprskové přístroje mají odděleny dráhy pro referenční paprsek a pro vzorek (Káš a kol., 2005), proto se porovnávání děje průběžně.

Přístroj pro atomovou absorpční spektrometrii (Obr. č. 22) se skládá ze zdroje záření, kterým je nejčastěji výbojka s dutou katodou. Katodou je dutý váleček ze stejného kovu, který se stanovuje, anodou je wolframový nebo molybdenový drát, lampa obsahuje neon nebo argon. Při vloženém napětí 400 V vznikají ionizované atomy vzácného plynu, které bombardují kov, Uvolněné atomy kovu se srážkami excitují a při deexcitaci vysílají potřebné záření (Klouda, 2003). Další částí je atomizátor, který převádí analyzovaný vzorek na volné atomy. Součástí atomizátoru je zmlžovač, ve kterém se vzorek přeměňuje na aerosol, v této formě je vzorek společně s topným plynem a oxidovadlem přiveden nad hořák, kdy se plamenem látka převede z aerosolu na atomový plyn. Po atomizátoru následuje monochromátor, který izoluje záření o zvolené vlnové délce. Jako detektor slouží fotonásobič, který proud fotonů přeměňuje na proud elektronů, čímž vzniká elektrický proud. Za detektorem následuje zesilovač signálu, odečítací přístroj (voltmetr nebo ampérmetr) a vyhodnocovací zařízení.

Obrázek č. 22: Schéma absorpčního spektrometru



(Klouda, 2003)

Emisní spektrometr je složen z budícího zdroje, optického spektrometru a výpočetního systému. Budící zdroj slouží jako zdroj energie pro vyvolání emise záření atomy vzorku. Stejně jako u absorpční spektrometrie je vzorek převeden na plynnou fázi, dále dojde k atomizaci a k excitaci elektronů. Při excitaci dojde k uvolnění fotonů, toto záření je optickým spektrometrem rozloženo na jednotlivé spektrální čáry. Záření jednotlivých vlnových délek dopadá na výstupní štěrbinu a jeho intenzita je měřena fotonásobičem, který je napojen na vyhodnocovací zařízení.

3.4.3.2.3 Příklady stanovení

Hálková a kol. (2002) popisují v knize „Analýza potravin“ ve zkratce stanovení některých vitaminů, a to zejména vitaminy ze skupiny B. Fluorimetricky se stanovuje např. thiamin, který se po extrakci chromatograficky čistí na ionexech, v eluátu se thiamin zoxiduje hexakynoželezitanem draselným na thiochrom, který se stanoví fluorimetricky. Dalším vitaminem je riboflavin, jenž se uvolní kyselou a enzymovou hydrolyzou, po zalkalizování se převede ozářením na lumiflavin a po extrakci se stanoví. Poslední je pyridoxin, ten se také podrobí kyselé hydrolyze, ale navíc také chromatografii na měničích iontů a převede se na lakton kyseliny 4-pyridoxinové.

Absorpční spektrometrií se stanovuje např. niacin, který se kyselou hydrolyzou uvolní ze vzorku, potom reaguje s bromkyanem a aromatickými aminy za vzniku barevných produktů. Při stanovení vitaminu C se měří vzniklý barevný produkt, který poskytuje kyselina dehydroaskorbová vzniklá oxidací bromem z kyseliny askorbové s činidlem s 2,4-dinitrofenylhydrazinem.

Z vitaminů rozpustných v tucích je popisován vitamin A a E. Vitamin A izolovaný z nezmýdelnitelného podílu se extrahuje petroletherem a po chromatografickém čištění na sloupci se stanoví na spektrofotometru po reakci s chloridem antimonitým vzniklé modré zbarvení. U vitaminu E spektrofotometrie představuje nepřímou metodu stanovení, kdy se tokoferoly oxidují na chinony železitými ionty a odpovídající množství vzniklých železnatých iontů se stanoví po reakci s bipyridylem (Hálková a kol., 2002).

3.4.3.3 Kapilární elektroforéza

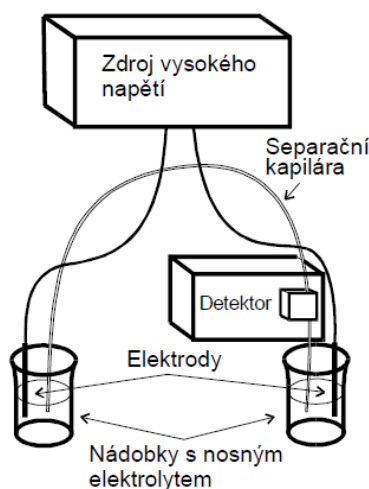
Kapilární elektroforézu, zkráceně CE, zařazujeme mezi elektromigrační separační metody. Separace je u těchto metod umožněna tím, že se částice s odlišným rozměrem a velikostí náboje v stejnosměrném elektrickém poli pohybují rozdílnou rychlostí, liší se tedy svou elektroforetickou pohyblivostí.

Při samotném stanovení je malý objem vzorku (10 – 100 nl) dávkován do separačního prostředí kapiláry, ve které se nachází tzv. nosný elektrolyt, jenž zabezpečuje elektrickou vodivost v celém systému a je jím zpravidla pufr. Dávkování vzorku můžeme provést třemi způsoby: dávkování zvýšeným tlakem, dávkování na principu spojitých nádob a elektrokinetické dávkování, kdy je konec kapiláry ponořen do nádobky s roztokem vzorku, kde je přivedeno napětí.

Konce kapiláry jsou společně s platinovými elektrodami, které jsou zdrojem napětí (až do 30 kV), ponořeny do zásobníků elektrolytů. Kapiláry z taveného křemene jsou chráněny polyamidovým povlakem, jejich délka se běžně pohybuje od 24 cm do 100 cm, vnitřní průměr 50 μ m je v současné době nejčastěji využíván, ale technika postupuje k menším a menším průměrům. Zvětšením délky kapiláry se zvýší rozlišení separace, dojde tedy k jejímu zlepšení, ale zvyšuje se také čas analýzy, proto jsou preferovány kratší kapiláry. Zvětšení vnitřního průměru kapiláry zlepšuje detekci složek, avšak má špatný vliv na jejich separaci (Nollet, 2004). Vnitřní povrch kapiláry může být chemicky modifikován kovalentním navázáním různých látek. Úprava povrchu je využívána pro různé účely, např. ke snížení adsorpce vzorku nebo ke změně iontového náboje na kapilární stěně (Klouda, 2003). Teplota kolem kapiláry musí být regulována pro zajištění stálých podmínek při separaci, a to vzduchem nebo kapalnou chladicí směsí.

Na konci separačního prostoru kapilára prochází detektorem, který registruje pohyb složek. Vzhledem k malému vnitřnímu průměru kapilár musí být detektor velmi citlivý. Využívají se UV detektory, fluorescenční detektory, detektory s laserem indukovanou fluorescencí, popř. lze využít hmotnostní spektrometrie jako u HPLC metody. Výsledek je zaznamenán ve formě časového průběhu odezvy detektoru a vzniká elektroferogram, jehož vzhled i vyhodnocení je stejné jako u chromatogramu. Schéma zařízení pro kapilární elektroforézu je znázorněno na obrázku č. 22.

Obrázek č. 23: Schéma zařízení pro kapilární elektroforézu.



(Opekar, 2002)

Je vypracována celá řada separačních technik, které doplňují prostou kapilární elektroforézu o další možnosti: micelární elektrokinetická kapilární chromatografie, kapilární gelová elektroforéza, kapilární isoelektrická fokusace, kapilární elektroforéza ve volném roztoku a kapilární elektrochromatografie (Klouda, 2003).

Výhodou CE metody jsou nízké náklady, malá spotřeba vzorku a činidel, snadnost automatizace, vysoké rozlišení a malá časová náročnost (Hashemi a Erin, 2016). Unikátní selektivita CE umožňuje analyzovat komplexní vzorky se sníženou potřebou předběžné úpravy vzorku, což vede ke snížení časové náročnosti a nákladů analýzy. Například, ve vodě rozpustné vitaminy, jako je vitamin C, mohou být přímo analyzovány bez předběžné úpravy (Altria, 2013).

3.4.3.3.1 Stanovení vitaminů rozpustných ve vodě

Pro kvantitativní stanovení vitamínu C v citrusové šťávě je možné využít právě separační metodu CE. Ředění a filtrace vzorku jsou jediným požadavkem na přípravu. Separace probíhá na kapiláře bez úpravy vnitřního povrchu za teploty 23 °C. Elektrolytem v tomto stanovení je 35mM boritan sodný a 5% acetonitril. Mezi elektrody je aplikováno vysoké napětí o 21 kV. Využívá se metody vnitřní standardizace a detektoru s UV detekcí při 270 nm. Pro celkové množství vitamínu C byla kyselina dehydroaskorbová převedena na kyselinu askorbovou. Výsledky jsou srovnatelné s kapalinovou chromatografií, navíc je tato metoda rychlejší a jednodušší (Altria, 2013).

CE metoda je vhodná také pro stanovení vitaminů B komplexu. Hashemi a Erin v roce 2016 měřili množství vitaminu B₂ v šafránu. Vzorky byly extrahovány vroucí vodou a přímo injektovány do separačního pufru, kterým byl 20 mM borát. Teplota byla stanovena na 25 °C. Napětí mezi elektrodami bylo 25 kV. Stanovení riboflavinu bylo provedeno metodou standardního přídatku za použití laserem indukované fluorescence. Tato metoda poskytla chybějící informace o nutriční hodnotě tohoto koření.

3.4.3.4 Polarografická metoda

Polarografii, společně s voltametrií, řadíme mezi elektrochemické metody. Při těchto metodách prochází elektrický proud elektrochemickým článkem., a navíc se elektrolýzou prakticky nemění koncentrace látek. Většina polarografických nebo voltametrických metod využívá elektrodových dějů, při kterých jsou elektrony vyměňovány mezi dvěma fázemi (Günzler a Williams, 2001), přesněji se jedná o oxidačně-redukční reakce.

Elektrochemický článek je tvořen dvěma elektrodami, které jsou ponořeny do elektrolytu se vzorkem, přičemž jedna elektroda slouží jako pracovní a je polarizovatelná a druhá je srovnávací nepolarizovatelná. Polarizovatelné elektrody jsou takové, kdy je napětí na ně vložené silně ovlivňováno procházejícím proudem, nepolarizovatelné elektrody právě naopak. V polarografii se využívá jako polarizovatelná elektroda rtuťová kapička, která pomalu klesá z tenké kapiláry do zkušební roztoku. Její výhodou je její velmi malý povrch, díky kterému stačí nepatrný proud k polarizaci elektrody. Na druhé straně - srovnávací elektroda, v tomto případě rtuťové dno s platinovým drátkem napojeným na polarograf, má velký povrch, na kterém se účinky proudu projevují jen nepatrně. Na tyto elektrody se vkládá měnicí se napětí a měří se závislost proudu tekoucího polarizovatelnou elektrodou na napětí na ni vloženém. Z této závislosti usuzujeme na druh a obsah analytu.

Citlivější metodou, než klasická polarografie, je diferenční pulzní polarografie. Použitím kapkové elektrody s mechanickým odtrháváním kapek se výrazně snižuje spotřeba rtuti. Výsledná závislost má při této polarografii tvar píku, jehož výška odpovídá obsahu depolarizátoru ve vzorku, kdy depolarizátor představuje stanovovanou složku a je to látka, která se při určitém potenciálu může oxidovat či redukovat, čímž depolarizují elektrodu, kterou může téci proud.

Obecně lze říci, že jsou tyto metody jednoduché, spolehlivé a levné. Díky jednoduché přípravě vzorků, která vyžaduje méně kroků, mohou být vzorky rychle porovnány a je zabráněno jejich oxidaci. Kromě toho, k analýze je potřeba jen několik ml vzorku (Sirianghawut, 2014).

3.4.3.4.1 Stanovení vitamínu C

Polarografická metoda využívá ke stanovení kyseliny askorbové její oxidace na rtuťové kapkové elektrodě a redukce chinoxalinového derivátu, který vzniká kondenzací kyseliny hydroaskorbové s o-fenylendiaminem. Tato metoda je velmi specifická a lze ji použít k stanovení vitamínu C ve všech potravinářských materiálech (Hálková a kol., 2000).

Stanovení diferenční pulzní polarografií je popsáno v práci popisující elektrochemické metody pro stanovení vitamínu C v ovocných šťávách a nápojích (Sirianghawut, 2014). Žádný ze vzorků nebyl před samotným stanovením upravován, kromě filtrace přes bavlnu nebo filtrační papír. Homogenizovaný vzorek (200 – 400 μ l) byl převeden do polarografické nádobky, která obsahovala citrátový pufr. Roztok se po dobu 10 minut odvzdušňoval dusíkem. Poté probíhalo samotné stanovení. Množství kyseliny askorbové bylo vyhodnoceno metodou standartního přídávku. Tato metoda se pro detekci a kvantifikaci ukázala jako uspokojivá.

3.4.3.5 Mikrobiologické metody

Mikrobiologickými metodami lze detekovat všechny vitamíny ze skupiny B. Oficiální mikrobiologické metody, s výjimkou vitamínu B₆, využívají pro stanovení vitamínů ze skupiny B v potravinách bakterie mléčného kvašení, a to podle Asociace analytických společností AOAC, vědecké společnosti zaměřené na tvorbu programů pro validaci. Při stanovení je měřeno množství kyseliny mléčné, vyrobené po 72h inkubační době (titrační metoda), nebo se měří růst organismu (turbidimetrická metoda), což je umožněno díky závislosti mikroorganismu na daném vitamínu, bez kterého by se nemohl rozmnožovat (Ball, 2006). Samotná turbidimetrie je optická metoda založená na měření absorpce záření nehomogenním prostředím, tj. koloidním roztokem nebo roztokem zakaleným jemnou sraženinou, a měří se absorpčními fotometry a spektrofotometry (Štern, 2006). Navíc je tato metoda výhodnější,

protože je jednodušší a vyžaduje kratší dobu inkubace. Byly vyvinuty také metody založené na měření oxidu uhličitého, který vzniká jako produkt metabolismu.

Při samotném stanovení při turbidimetrické metodě mohou být použity zkumavky, ale také 48- nebo 96- jamkové mikrotitrační destičky s automatickou čtečkou. Použití těchto destiček umožňuje automatickou detekci a počítačovou analýzu dat. Zvláště pak 96- jamkové destičky představují značnou úsporu času. Prvním krokem při stanovení je příprava očkovací kultury, dále příprava živné půdy, extrakce vitamínu ze zkoušeného materiálu, filtrace extraktu, příprava testu – extrakt s vodou a živnou půdou se naočkuje kulturou, přičemž volíme několik koncentrací, aby mohla být sestrojena kalibrační křivka. Dalším krokem je inkubace po dobu 22 – 24 hodin při konstantní teplotě v blízkosti optima MO, po ukončení inkubace se provede turbidimetrické stanovení a vyhodnotí se kalibrační křivka (Ball, 2006).

Tabulka č. 15: MO pro stanovení vitaminů B komplexu.

Vitamin	Mikroorganismus
Thiamin ⁽¹⁾	<i>Lactobacillus viridescens</i>
Riboflavin	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Niacin	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Pyridoxin	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Kyselina pantothenová	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Folacin volná forma (vitaminové přípravky)	<i>Enterococcus hirae</i>
Folacin (mléčná formule, přírodní produkty ⁽¹⁾)	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Kobalamin	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>

(Ball, 2006), ¹ (Eitenmiller a kol., 2008)

4 ZÁVĚR

Úvodní část práce slouží jako stručný přehled o vhodném stravování dětí do jednoho roku života. Byly zde shrnuty základní pojmy z oblasti výživy. Mým cílem bylo vyhodnotit doporučení pro spotřebitele, a to za pomoci informací a zkušeností, kterých jsem při psaní této práce nabyla.

Prvním bodem, který by rodiče měli dodržovat, je přechod na komplementární výživu v období mezi 4. a 6. měsícem. Přechod by měl být postupný, takže nejdříve volíme jednodruhové příkrmy, poté množství přidané zeleniny a masa navyšujeme. Tyto dvě zásady souvisí, mimo jiné, také s alergiemi. Stejně tak jako kojení, které by mělo trvat co možná nejdéle, právě proto, že snižuje riziko alergií a dalších onemocnění u dětí. Výhody kojení jsou také popsány v první části práce. Co se týká rozdílu mezi hotovými kupovanými příkrmy a domácí stravou, tak při přechodu doporučuji zvolit kupované příkrmy, které jsou přísně kontrolovány na obsah škodlivých látek a jsou dostatečným zdrojem vitaminů. Pokud se i tak rozhodneme pro přípravu příkrmů doma, tak volíme zeleninu v BIO kvalitě, kterou následně upravujeme v páře nebo ji vkládáme přímo do vroucí vody. V případě ryb se snažíme vyvarovat druhům, které mohou obsahovat vysoký obsah rtuti a těžkých kovů. Do této kategorie patří žralok, štika, candát, královská makrela, bolen nebo mečoun. Samozřejmě je také zapotřebí zohlednit seznam potravin, kterým by se dítě mělo do jednoho roku života vyhýbat.

V současné době je na našem trhu několik výrobců, jako Hamé, Hipp, Hami, Alnatura nebo Babylove. V posledních letech se výrobci snaží rozšiřovat svůj sortiment o zajímavé suroviny, o kterých jsme si v našem kojeneckém věku mohli nechat jenom zdát. Mezi hlavní suroviny patřily a patří bezpochyby: kuřecí maso, hovězí maso, mrkev a brambory. Avšak v současné době jsou tyto suroviny rozšířeny např. o dýně, cuketu, fenykl, sladké brambory, červenou řepu, ryby a obiloviny.

V dalších částech práce byly shrnuty poznatky o chemické struktuře vitaminů a jejich fyziologickém účinku na organismus. Byly zde popsány také účinky na organismus kojence a u každého vitamínu byla zaznamenána doporučená denní dávka, kterou bychom měli svým dětem díky stravě poskytnout.

Závěr práce je věnován metodice stanovení vitaminů. Jednotlivé metody jsou popsány dle jejich podílu na stanovení vitaminů. Nejběžněji se využívá metoda HPLC a spektrometrické metody, ale do popředí se dostává také metoda UPLC, kapilární elektroforéza a další. Aktuálně se vědci zabývají vylepšováním těchto metod. Je možné, že se jednou dočkáme takového přístroje, který bude schopen stanovit kvantitu veškerých vitaminů najednou, ale prozatím je to pouze velkým snem. Vitaminy jsou totiž chemicky velmi rozdílné látky, kdy každá z nich vyžaduje jinou metodiku.

5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALTRIA, K. D. Vitamin Analysis by Capillary Electrophoresis. *LC-GC Europe*. 2013, roč. 26, č. 7, s. 400 – 403. ISSN: 1471-6577.

ANTON-PADURADU, Dana Teodora a kol. Vegetarian diet in children. *Romanian Journal of Pediatrics*. 2014, č. 4, s. 357 – 361. ISSN 14540398.

AYOOB, Keith-Thomas. What the feed baby? *Prepared foods*. 2015, č. 184, s. 46 – 58. ISSN 07472536.

BALL, G. F. M. Vitamins in Foods: Analysis, Bioavailability and Stability. Boca Raton, FL: Taylor & Francis, 2006, 770 s. ISBN: 1-57444-804-8.

BENDIK, Igor a kol. Vitamin D: a critical essential micronutrient for human health. *Frontiers in Physiology*. 2014, č. 5, článek 248. doi:10.3389/fphys.2014.00248.

BĚLOHLÁVKOVÁ, Simona a kol. Doporučení pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy ČPS pro výživu kojenců a batolat. *Česko-Slovenská pediatrie*. Praha : Státní zdravotnické nakladatelství společnosti J. E. Purkyně, 2014, roč. 69. ISSN 1805-4501.

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

ČSN EN 12823-1. Potraviny - Stanovení vitamínu A metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie - Část 1: Stanovení all-E-retinolu a 13-Z-retinolu. Praha: Český normalizační institut, 2014.

ČSN EN 14130. Potraviny - Stanovení vitamínu C metodou HPLC. Praha: Český normalizační institut, 2004.

ČSN EN 14125. Potraviny - Stanovení vitamínu B2 metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Praha: Český normalizační institut, 2014.

EITENMILLER, Roland a kol. *Vitamin analysis for health and food sciences*. Vyd. 2. Boca Raton : CRC/Taylor & Francis, 2008, 627 s. ISBN 978-1-4200-0975-0.

EITENMILLER, Ronald a LEE, Junsoo. *Vitamin E: food chemistry, composition, and analysis*. New York: Marcel Dekker, 2004, 505 s. ISBN 978-0-203-97014-0.

FAJFROVÁ, Jana a PAVLÍK, Vladimír. Vitaminy, jejich funkce a využití. *Medicina pro praxi*. 2013, roč. 10, č. 2, s. 81 – 84. ISSN: 1803-5310.

Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2013/02/09.pdf>

FOJTÍK, Petr a kol. Laktózová intolerance. *Practicus - Odborný časopis Společnosti všeobecného lékařství ČLS JEP*. 2013, roč. 12, č. 5, s. 7 – 12. ISSN 1213-8711.

Dostupné z <http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2013-05/7-Laktozova-intolerance.pdf>

FRÜHAUF, Pavel. Nemléčná výživa kojenců a batolat (příkrmy). *Pediatric pro praxi*. 2006, č. 5, s. 271 – 274. ISSN 1803-5264.

Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2006/05/06.pdf>

GREGORA, Martin. *Výživa malých dětí: výchova ke správné výživě, skladba dětské výživy, obezita v dětském věku a jak jí předcházet, alergie a funkční potraviny*. Vyd. 1. Praha : Grada, 2004, 95 s. ISBN 80-247-9022-X.

GÜNZLER, Helmut a WILLIAMS, Alex. *Handbook of Analytical Techniques*. Vyd. 2. Německo: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001, s. 1182. ISBN 3-527-30165-8.

HASHEMI, Parya a ERIM, F. Bedia. Analysis of Vitamin B₂ in Saffron Stigmas (*Crocus sativus* L) by Capillary Electrophoresis Coupled with Laser-Induced Fluorescence Detector. *Food Analytical Methods*. 2016, roč. 9, s. 1 – 5. ISSN: 1936-976X .

Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007/s12161-016-0430-9/fulltext.html>

HÁLKOVÁ, Jana a kol. *Analýza potravin*. Vyd. 1. Újezd u Brna: RNDr. Ivan Straka, 2000, 102 s. ISBN 80-902775-3-5.

HANZL, Milan. Prevence krvácení novorozenců a malých kojenců způsobené nedostatkem vitamínu K. *Pediatric pro praxi*. 2011, roč. 12, č. 1, s. 60 – 61. ISSN 1803-5264. Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2011/01/17.pdf>

HLÚBIK, Pavel a FAJTROVÁ, Jana. Vitaminy v dětském období. *Pediatric pro praxi*. 2005, č. 2, s. 66 – 68. ISSN 1803-5264.

Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2005/02/03.pdf>

HOLČAPEK, Michal a JANDERA, Pavel. Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS). *Chemické listy*. 1998, č. 92, s. 278 – 286. ISSN 0009-2770.

Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1998_04_278-286.pdf

HOSMANOVÁ, Romana a DOUŠA, Michal. HPLC stanovení obsahu vitamínu E v krmných surovinách, krmivech a potravinách. *Chemické listy*. 2007, č. 101, s. 578 – 583. ISSN 0009-2770.

Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007_07_578-583.pdf

JANČA, Jiří. *Co nám chybí: Kovy, jiné prvky a vitamíny v lidském těle*. Vyd. 2. Eminent, 2002, 124 s. ISBN 80-900176-2-2.

KÁŠ, Jan a kol. *Laboratorní techniky biochemie*. 1. Vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technická v Praze, 2005. s. 258. ISBN 80-7080-586-2.

KIENEN, Vanessa a kol. Development of a green chromatographic method for determination of fat-soluble vitamins in food and pharmaceutical supplement. *Talanta*. 2008, roč. 75, č. 1, s. 141 – 146. ISSN 0039-9140.

KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Vyd. 2. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

KOMPRDA, Tomáš. *Základy výživy člověka*. Vyd. 1. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, 162 s. ISBN 80-7157-655-7.

KŘÍŽENECKÁ, Sylvie a SYNEK, Václav. *Základy analytické chemie*. Vyd. 1. Ústí nad Labem: Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, 2014, 143. s. ISBN: 9788074148040.

LEAF, A A. Vitamins for babies and young children. *Arch Dis Child*. 2007, č. 92, s. 160 – 164. doi: 10.1136/adc.2006.109066.

MINISTER OF HEALTH CANADA. *Nutrient Value of Some Common Foods*. Ontario: Health Canada, 2008, 62 s. ISBN 978-0-662-48082-2

NEVORAL, Jiří a kol. *Výživa v dětském věku*. Vyd.1. Jinočany : H&H, 2003, 434 s. ISBN 80-86022-93-5.

NEVORAL, Jiří a PAULOVÁ, Magdaléna. *Výživa kojenců*. Vyd. 2. Praha : Státní zdravotní ústav, 2007, 28 s. ISBN 978-80-7071-286-3.

NOLLET, Leo M. L. *Handbook of food analysis*. Vyd. 2. USA: CRC Press, 2004, 2296 s. ISBN 0-8247-5036-5

NOLLET, Leo M. L. a TOLDRA, Fidel. *Food Analysis by HPLC*. Vyd. 3. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2013, 1062 s. ISBN 9781439830857.

OLŠOVSKÁ, Jana a JURKOVÁ, Marie. Nové trendy v kapalinové chromatografii a jejich využití v analýze piva a pivovarských surovin. Část 1. Teoretický úvod. *Kvasný průmysl*. 2012, roč. 58, č. 2, s. 30 – 35. ISSN 0023-5830.

OPEKAR, František a kol. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2002, 201 s. ISBN 80-246-0553-8.

ÖTLES, Semih. *Methods of Analysis of Food Components and Additives*. Vyd.2. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis, 2012, 534 s. ISBN 978-1-4398-1553-3.

PANAHI, H. A. a kol. Isolation and quantitative analysis of B₁, B₂, B₆ and B₁₂ vitamins using HPTLC. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2011, roč. 45, č. 2, s. 125 – 129. ISSN: 0091-150X.

PAŘÍZKOVÁ, Jana a LISÁ, Lidka. *Obezita v dětství a dospívání: terapie a prevence*. Vyd. 1. Praha : Galén, 2007, 239 s. ISBN 978-80-7262-466-9.

SAMASCA, Gabriel a kol. Difficulties in celiac disease diagnosis in children. *Maedica - Journal of Clinical Medicine*. 2011, roč. 6, č. 1, s. 32-35. ISSN 18419038.

ŠESTÁK, Josef a KAHLE, Vladislav. Zelená kapalinová chromatografie pro jednoduché aplikace. *Chemické listy*. 2015, č. 109, str. 470 – 474. ISSN 0009-2770.

Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2015_06_470-474.pdf

ŠTERN, Petr. Současné možnosti turbidimetrie a nefelometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2006, č. 3, s. 146 – 151. ISSN 1210-7921.

TLÁSKAL, Petr. Význam vitamínu D v pediatrické praxi. *Pediatric pro praxi*. 2013, roč. 14, č. 2, str. 94 – 98. ISSN 1803-5264.

Dostupné z: www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2013/02/06.pdf

TOPAL, Erdem a kol. Vitamin and mineral deficiency in children newly diagnosed with celiac disease. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2015, č. 4, s. 833 – 836. ISSN 13000144.

UHEROVÁ, Ružena. *Čo vieme o vitamínoch dnes*. Vyd. 1. Bratislava : Malé centrum, 2002, 143 s. ISBN 80-968737-0-9.

US DEPARTMENT OF AGRICULTURE, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28*. 2015. Dostupné z: <http://www.ars.usda.gov/nea/bhnrc/ndl>

USA DEPT. OF AGRICULTURE, FOOD AND NUTRITION SERVICE. *Infant nutrition and feeding: A Guid for Use in the WIC and CSF Programs*. Vyd. 2. 2009, 221 s. FNS-288.

VELÍŠEK, Jan a HAJŠLOVÁ, Hana. *Chemie potravín 1: (Investice do rozvoje vzdelávání, reg.č.:CZ1.07/2.2.00/15.0084)*. Vyd. 3. Tábor : OSSIS, 2009, 580 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

VINCENTOVÁ, Dana. Výživa novorozence, kojence a batolete. *Pediatric pro praxi*. 2006, č. 4, s. 224 – 226. ISSN 1803-5264.

Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2006/04/12.pdf>

WHO. *Essential nutrition actions: improving maternal, newborn, infant and young child health and nutrition*. Geneva : WHO Document Production Services, 2013, 362 s. ISBN 978-92-4-150555-0.

WHO. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. Vyd. 2.. Geneva : WHO Document Production Services, 2004, 341 s. ISBN: 92-4-154612 3.

ZEMPLENI, Janos a kol. *Handbook of Vitamins*. Vyd. 5. Boca Raton : FL: CRC Press/Taylor & Francis, 2014, 593 s. ISBN 978-1-4665-1557-4.

ŽIVKOVIĆ, Jelena a kol. Antioxidants and antioxidant capacity of human milk. *Scientific Journal of the Faculty of Medicine in Niš*. 2015, roč. 32, č. 2, s. 115 – 125. ISSN 03516083.

SIRIANGHAWUT, Watsaka. Electrochemical Analysis of Ascorbic Acid in Commercial Fruit Juices and Drinks. *Asian Journal of Chemistry*. 2014, roč. 26, č. 19, s. 6487-6491. ISSN 0975-427X.

6 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ACP	Protein přenášející acyl, angl. Acyl carrier protein
AOAC	Asociace analytických společenství, angl. Association of Analytical Communities
BIO	Certifikované označení produktů ekologického zemědělství
BMI	Index tělesné hmotnosti, angl. Body mass index, indikující podváhu, normální tělesnou hmotnost, nadváhu nebo obezitu
CoA	Koenzym A
CE	Kapilární elektroforéza, angl. Capillary Electrophoresis
ČPS	Česká pediatrická společnost
ČSN	Česká technická norma
DDD	Doporučená denní dávka
DFE	Dietní folátový ekvivalent, 1 DFE = 1 µg folátu v potravinách = 0,6 µg kyseliny listové (z obohacených potravin nebo jako suplement) konzumovaný s jídlem = 0,5 µg syntetické (suplementární) kyseliny listové požití nalačno
DNA	Deoxyribonukleová kyselina, angl. Deoxyribonucleic acid
FAD	Flavinadeninnukleotid
FMN	Flavinmononukleotid
GC	Plynová chromatografie, angl. Gas Chromatography
GC-MS	Plynová chromatografie/hmotnostní spektrometrie, angl. Gas Chromatography/Mass Spectrometry
GMO	Geneticky modifikovaný organismus
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie, angl. High-Performance Liquid Chromatography
HPLC-MS	Vysokoučinná kapalinová chromatografie/hmotnostní spektrometrie, angl. High-Performance Liquid Chromatography/Mass spectrometry
HPTLC	Vysoce účinná tenkovrstvá chromatografie, angl. High Performance Thin Layer Chromatography
IU	Biologický ekvivalent, 1 IU = 0,3 µg retinolu nebo 0,6 µg β -karotenu
KV	Komplementární výživa
LC	Kapalinová chromatografie, angl. Liquid Chromatography

LDL	Nízkodenzitní lipoprotein, angl. Low density lipoprotein
MJ	Vitamín A: 1 MJ má stejný účinek jako 0,3 µg retinolu nebo 0,6 µg beta-karotenu. Vitamín C: 1 MJ má stejný účinek jako 50 µg kyseliny L-askorbové. Vitamín D: 1 MJ má stejný účinek jako 0,025 µg cholekalciferol/ergokalciferolu. Vitamín E: 1 MJ má stejný účinek jako 2/3 mg (0,667) d-alfa-tokoferolu nebo 0,45 mg dl-alfa-tokoferolu.
MO	Mikroorganismy
NAD	Nikotinamidadeninukleotid
NADP	Nikotinamidadeninukleotidfosfát
NE	Ekvivalent niacinu, 60 mg tryptofanu = 1 mg NE
NPC	Chromatografie na normálních fázích, angl. Normal-Phase Chromatography
PC	Papírová chromatografie, angl. Paper Chromatography
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny, angl. Polyunsaturated fatty
RE	Trans retinol ekvivalent, 1 µg retinolu = 1 RE, 1 µg β-karotenu = 0,167 µg RE, 1 µg jiného provitaminu = 0,084 µg RE
RPC	Chromatografie na reverzní fázi, angl. Reversed-Phase Chromatography
SDS	Dodecylsírán sodný
SFC	Superkritická fluidní chromatografie, angl. Supercritical Fluid Chromatography
TE	d-alfa-tokoferolový ekvivalent, 1 mg d-alfa-tokoferolu = 1 mg TE = 1,1 mg d-alfa-tokoferylacétátu = 2 mg d-beta-tokoferolu = 4 mg d-gama-tokoferolu = 100 mg d-delta tokoferolu = 3,3 mg d-alfa-tokotrienolu = 1,49 mg d, l-alfa tokoferylacétátu
TLC	Tenkovrstvá chromatografie, angl. Thin Layer Chromatography
UPLC	Ultra účinná kapalinová chromatografie, angl. Ultra Performance Liquid Chromatography
UV	Ultrafialové záření, angl. Ultraviolet
WHO	Světová zdravotnická organizace, angl. World Health Organization

7 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Retinol.

Obrázek č. 2: Beta-karoten.

Obrázek č. 3: Cholekalciferol.

Obrázek č. 4: Ergokalciferol.

Obrázek č. 5: Tokoferoly.

Obrázek č. 6: Tokotrienoly.

Obrázek č. 7: Fyllochinon

Obrázek č. 8: Menachinon

Obrázek č. 9: L-askorbová, D-isoaskorbová kys., L-isoaskorbová kys., D-askorbová kys.

Obrázek č. 10: Thiamin, fosfáty thiaminu.

Obrázek č. 11: Riboflavin.

Obrázek č. 12: Nikotinová kyselina, nikotinamid.

Obrázek č. 13: Pantothenová kyselina.

Obrázek č. 14: Pyridoxol, pyridoxal, pyridoxamin.

Obrázek č. 15: Biotin.

Obrázek č. 16: Folová kyselina.

Obrázek č. 17: Korrinový cyklus.

Obrázek č. 18: Schéma plynového a kapalinového chromatografu.

Obrázek č. 19: Chromatogram při eluční metodě.

Obrázek č. 20: Schéma interakcí v NPC a RPC.

Obrázek č. 21: Srovnání TLC a HPTLC.

Obrázek č. 22: Schéma absorpčního spektrometru.

Obrázek č. 23: Schéma zařízení pro kapilární elektroforézu.

8 SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Doporučené denní dávky energie.

Tabulka č. 2: Doporučené denní dávky živin.

Tabulka č. 3: Doporučené denní dávky vody.

Tabulka č. 4: Makronutrienty v mateřském mléce.

Tabulka č. 5: Příjem energie z KV.

Tabulka č. 6: DDD energie.

Tabulka č. 7: DDD majoritních minerálů.

Tabulka č. 8: DDD vitaminů.

Tabulka č. 9: Obsah vitamínu A v potravinách.

Tabulka č. 10: Obsah vitamínu D v potravinách.

Tabulka č. 11: Obsah vitamínu E v potravinách.

Tabulka č. 12: Obsah vitamínu K v potravinách.

Tabulka č. 13: Obsah vitamínu C v potravinách.

Tabulka č. 14: Průměrný obsah jednotlivých vitaminů B komplexu v potravinách v $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Tabulka č. 15: MO pro stanovení vitaminů B komplexu.