

# Chromatografické stanovenie B-komplexu

Bc. Zuzana Kožáková

---

Diplomová práce  
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2008/2009

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Zuzana KOŽÁKOVÁ**

Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Chromatografické stanovenie B-komplexu**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

- Teoreticky spracovať kapitolu týkajúcu sa vitamínov skupiny B a zamerať sa na ich využitie ako doplnkov stravy.
- Spracovať princípy HPLC.

### II. Praktická část

- Otestovať možnosti stanovenia štandardov vitamínov skupiny B pomocou HPLC – UV/VIS.
- V prípade úspešného stanovenia navrhnúť metodiku a aplikáciu na vybrané doplnky stravy.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*, OSSIS, Tábor 1999.

[2] Kardoš, E., Berek, D. *Základy kvapalinové chromatografie*, Alfa, Bratislava 1979.

[3] Braithwaite, A., Smith, F.J. *Chromatographic methods*, Kluwer Academic Publisher, The Netherlands 1999.

[4] Weston, A., Brown, P.R. *HPLC and CE. Principles and practice*, Academic Press, California 1997.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Daniela Kramářová, Ph.D.**

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

**20. února 2009**

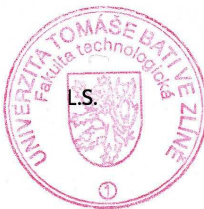
Termín odevzdání diplomové práce:

**31. května 2009**

Ve Zlíně dne 31. května 2009



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



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
*vedoucí katedry*

## **ABSTRAKT**

Cieľom tejto práce bolo otestovať možnosti stanovenia B-komplexu pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie a v prípade úspešného stanovenia navrhnúť metodiku na vybrané doplnky stravy. Vitamíny skupiny B boli stanovené metódou HPLC s UV detekciou pri 204 a 220 nm. Separácia prebehla na kolóne SUPELCOSIL LC 8 (15 cm x 4,6 mm; 5 µm). Mobilná fáza bola zložená z metanolu a KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7) v pomere 10:90. Elúcia prebehla izokraticky, zvolený prietok bol 0,8 ml.min<sup>-1</sup>. Uvedená metodika bola aplikovaná na šesť vybraných doplnkov stravy.

**Kľúčové slová:** B-komplex, doplnky stravy, chromatografia, HPLC

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to test possibilities of determination of B-complex using High Performance Liquid Chromatography and in the case of successful determination to suggest methods and chromatographic conditions, its application on selected dietary supplements. B group vitamins were determined by HPLC method with UV detection at 204 and 220 nm. Separation was performed on column SUPELCOSIL LC 8 (15 cm x 4,6 mm; 5 µm). Mobile phase was compound of methanol and KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7) in the rate of 10:90. Elution passed in isocratic mode, selected flow rate was 0,8 ml.min<sup>-1</sup>. Introduced method was applied on six selected dietary supplements.

**Keywords:** B-complex, dietary supplements, chromatography, HPLC

Ďakujem vedúcej mojej diplomovej práci Ing. Daniele Kramářovej, Ph.D. za odborné vedenie, rady a všetky zodpovedané otázky týkajúce sa danej problematiky.

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

Ve Zlíně

.....

Podpis diplomanta

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>I TEORETICKÁ ČASŤ</b> .....	<b>9</b>
<b>1 DOPLNKY STRAVY</b> .....	<b>10</b>
<b>2 B-KOMPLEX</b> .....	<b>12</b>
2.1 TIAMÍN (VITAMÍN B <sub>1</sub> ) .....	13
2.2 RIBOFLAVÍN (VITAMÍN B <sub>2</sub> ).....	14
2.3 NIACÍN (VITAMÍN B <sub>3</sub> ) .....	16
2.4 KYSELINA PANTOTÉNOVÁ (VITAMÍN B <sub>5</sub> ).....	17
2.5 PYRIDOXÍN (VITAMÍN B <sub>6</sub> ) .....	18
<b>3 VYSOKOÚČINNÁ KVAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIA (HPLC)</b> .....	<b>21</b>
3.1 HISTÓRIA HPLC.....	21
3.2 TEÓRIA HPLC .....	21
3.2.1 Mechanizmus kvapalinovej chromatografie .....	21
3.2.2 Základné termíny.....	23
3.2.3 Základné chromatografické charakteristiky .....	24
3.3 KLASIFIKÁCIA METÓD KVAPALINOVEJ CHROMATOGRAFIE.....	26
3.3.1 Klasifikácia na základe mechanizmu retencie.....	26
3.3.2 Klasifikácia podľa pracovnej techniky.....	28
3.4 PREDNOSTI A NEVÝHODY HPLC .....	29
3.5 INŠTRUMENTÁCIA.....	29
3.6 HPLC V ANALÝZE B-KOMPLEXU.....	31
<b>II PRAKTICKÁ ČASŤ</b> .....	<b>33</b>
<b>4 CIEĽ PRÁCE</b> .....	<b>34</b>
<b>5 METODIKA PRÁCE</b> .....	<b>35</b>
5.1 MATERIÁL .....	35
5.2 POUŽITÉ POMÔCKY A PRÍSTROJE.....	37
5.3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE .....	37
5.4 PRACOVNÝ POSTUP .....	38
5.4.1 Príprava vzoriek .....	38
5.4.2 Stanovenie B-komplexu v doplnkoch stravy metódou HPLC .....	39
5.4.3 Meranie kalibračných kriviek.....	39
<b>6 VÝSLEDKY A DISKUSIA</b> .....	<b>40</b>

6.1	TESTOVANIE METODIKY STANOVENIA B-KOMPLEXU .....	40
6.2	KALIBRAČNÉ KRIVKY .....	41
6.3	STANOVENIE OBSAHU VITAMÍNOV B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> A B <sub>6</sub> V TABLETÁCH B-KOMPLEX.....	47
6.4	STANOVENIE OBSAHU VITAMÍNOV B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> A B <sub>6</sub> V TABLETÁCH B-KOMPLEX + VITAMÍN C .....	59
6.5	STANOVENIE OBSAHU VITAMÍNOV B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> A B <sub>6</sub> V TABLETÁCH ENERGIT MULTI .....	69
6.6	STANOVENIE OBSAHU VITAMÍNOV B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> A B <sub>6</sub> V TABLETÁCH ŠUMIVÉHO MULTIVITAMÍNU S MINERÁLMI.....	81
6.7	STANOVENIE OBSAHU VITAMÍNOV B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> A B <sub>6</sub> V TABLETÁCH ŠUMIVÉHO MULTIVITAMÍNU .....	88
6.8	STANOVENIE OBSAHU VITAMÍNOV B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> A B <sub>6</sub> V TABLETÁCH PANGAMIN – PIVOVARSKÉ KVASNICE .....	95
	<b>ZÁVER .....</b>	<b>100</b>
	<b>ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....</b>	<b>103</b>
	<b>ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK.....</b>	<b>106</b>
	<b>ZOZNAM OBRÁZKOV .....</b>	<b>107</b>
	<b>ZOZNAM TABULIEK .....</b>	<b>108</b>
	<b>ZOZNAM PRÍLOH.....</b>	<b>114</b>

## ÚVOD

Ľudský organizmus musí získavať energiu a látky nevyhnutné na jeho výstavbu a správne fungovanie prostredníctvom potravy. Takými to esenciálnymi látkami sú i vitamíny, ktoré si náš organizmus nie je schopný syntetizovať, prípadne iba v obmedzenej miere. Vitamíny skupiny B sú nevyhnutné predovšetkým ako kofaktory enzýmov katalyzujúcich množstvo biochemických reakcií a ich dostatočný príjem je predpokladom pre zachovanie zdravia.

Vyvážený jedálniček by mal obsahovať všetky nutrienty v množstve nevyhnutnom pre naše zdravie. Strava mnohých ľudí je však často jednotvárna, s nedostatočným príjmom niektorých potravín, predovšetkým ovocia a zeleniny a len málo sa blíži ideálnej. Taktiež jedinci podstupujúci rôzne diéty alebo trpiaci určitými ochoreniami môžu mať problém s dostatočným príjmom niektorých nutričov. Tieto nedostatky vo výžive môžu byť odstránené rozumnou suplementáciou.

Doplňok stravy je potravina, ktorej účelom je dopĺňať bežnú stravu a je koncentrovaným zdrojom vitamínov, minerálov alebo ďalších látok s nutričným alebo fyziologickým účinkom. Na trhu sa vyskytuje množstvo výrobkov a zákazníkovi sú k dispozícii v rôznych formách, napríklad ako pastilky, tablety, kvapky a pod. Na výber sú doplnky obsahujúce len jediný vitamín alebo multivitaminové preparáty obsahujúce viacero vitamínov, prípadne ďalších látok.

Tak, ako u každej potravy, je nevyhnutná kontrola kvality a nezávadnosti produktu. Jednou z najrozšírenejších metód na kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu je vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC, High Performance Liquid Chromatography). Je to moderná chromatografická metóda vyznačujúca sa presnosťou, rýchlosťou a malou spotrebou vzorky. Cieľom tejto práce bolo nájsť vhodnú metodiku na simultánne stanovenie vitamínov B-komplexu metódou HPLC s UV detekciou a aplikovať ju na vybrané doplnky stravy.



## **I. TEORETICKÁ ČASŤ**

## 1 DOPLNKY STRAVY

Dnešní vzdělání spotřebitele hrají aktivní úlohu v starostlivosti o svoje zdraví. Venují sa rôznym športom, nakupujú a pripravujú si zdravé pokrmy a podstupujú rôzne špeciálne diéty. Mnoho z nich prijíma jeden či viac doplnkov stravy. Rozhodnutie užívať ich môže byť založené na odporúčaní lekára, dietológa, priateľa, televízie, tlače, či propagačných materiálov v lekárňach a supermarketoch. Tradične boli používané doplnky stravy, ako olej z treškej pečene, tablety železa či multivitamínové preparáty v snahe o zaistenie adekvátneho príjmu esenciálnych nutričov a ako prevencia avitaminózy. V dnešnej dobe je trh s doplnkami stravy obrovský. Ponúka produkty zahrňujúce esenciálne nutričov, ako sú vitamíny či minerálne látky, látky považované za esenciálne, no ich esenciálnosť dokázaná nebola (napríklad chróm a vanád), až po neesenciálne látky s pozitívnym vplyvom na organizmus, napríklad flavonoidy [1,2].

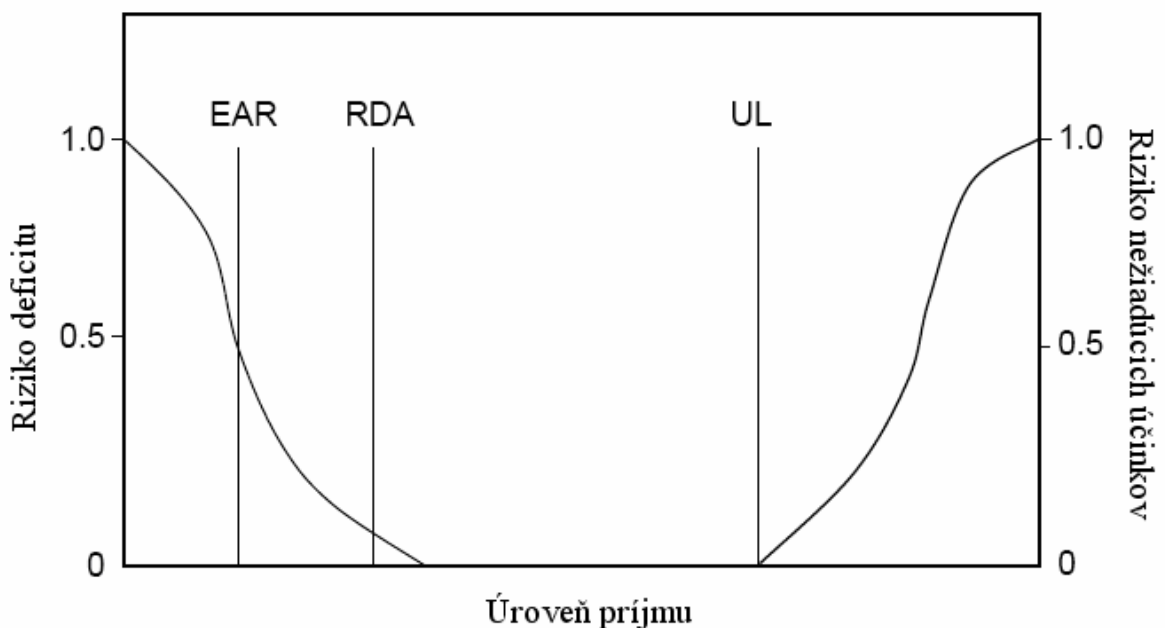
Podľa legislatívy ČR sú doplnky stravy v zákone o potravinách a tabakových výrobkoch 224/2008 definované ako potravinu, ktorej účelom je dopĺňať bežnú stravu a ktorá je koncentrovaným zdrojom vitamínov a minerálnych látok alebo ďalších látok s nutričným alebo fyziologickým účinkom, obsiahnutých v potravinu samostatne alebo v kombinácii, určená k priamej spotrebe v malých odmerateľných množstvách. Doplnky stravy sa používajú upravené do formy kapsúl, toboliek, pastiliek, tabliet, dražé, vreciek s práškom, ampuliek s tekutinou, kvapiek, či iných jednoduchých foriem tekutín a prášku určených pre príjem v malých odmeraných množstvách [3,4].

Doplnky stravy môžu byť rozdelené na základe ich chemických alebo biologických charakteristík. Z chemického hľadiska môže byť doplnok stravy definovaná látka prírodného pôvodu či pripravená synteticky alebo zmes látok, obvykle prírodného pôvodu. Zmes môže mať taktiež definované zloženie alebo je zmesou komplexnou, ktorej zloženie nie je presne známe. V tomto prípade musí spĺňať limity pre obsah škodlivých kontaminantov.

Biologicky môžeme doplnky stravy rozdeliť na esenciálne, ktorých príjem je pre zdravie nevyhnutný alebo neesenciálne. Esenciálne nutričov sú tie látky (prvky alebo zlúčeniny), ktoré nie je ľudský organizmus schopný syntetizovať v dostatočnom množstve a nemôžu byť v tele nahradené inou látkou. Neesenciálne nutričov taktiež plnia rôzne biochemické funkcie, no môžu byť nahradené inou látkou podobných vlastností [5].

Nedostatok, no i nadbytok týchto nutrientov môže predstavovať zdravotné riziko. Neexistuje však dávka, ktorá by bola adekvátne pre každého jedinca. Preto vznikli referenčné hodnoty príjmu (DRI, Dietary Reference Intake), slúžiace na hodnotenie adekvátnosti príjmu jednotlivých nutrientov. Pojem DRI vznikol na základe celosvetovej revízie doporučených dávok jednotlivých vitamínov a minerálov a zahrňuje niekoľko veličín.

- **Priemerná spotreba (EAR, Estimated Average Requirement)** je hodnota denného príjmu nutrientu, ktorá pri súčasnej úrovni znalostí kryje potrebu polovice zdravých osôb v rôznych skupinách obyvateľstva.
- **Výživová doporučená dávka (RDA, Recommended Dietary Allowance)** je hodnota denného príjmu nutrientu, ktorá pri súčasnej úrovni znalostí kryje potrebu väčšiny zdravých osôb v presne definovanej skupine obyvateľstva.
- **Adekvátny príjem (AI, Adequate Intake)** je používaný u tých nutrientov, u ktorých doposiaľ neexistuje dostatočné množstvo dát na stanovenie RDA alebo EAR.
- **Hladina najvyššieho prijateľného príjmu (UL, Upper Tolerable Intake Level)** je hodnota najvyššieho denného príjmu nutrientu, pri ktorom neboli pri dlhodobom užívaní pozorované škodlivé vplyvy na zdravie [5,6].



Obr. 1. Referenčné hodnoty príjmu

## 2 B-KOMPLEX

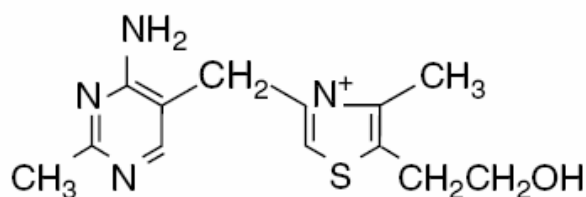
Vitamíny sú skupinou organických zlúčenín v malých dávkach nevyhnutných pre ľudský organizmus. Autotrofné organizmy obsahujú enzýmy nevyhnutné pre ich syntézu, no heterotrofný organizmus ich syntetizuje len v obmedzenej miere a musí ich teda získavať prostredníctvom stravy. Vitamíny nie sú zdrojom energie ani stavebnými látkami, v organizme však plnia niekoľko dôležitých funkcií, predovšetkým ako zložky katalyzátorov biochemických reakcií alebo súčasť oxidoredukčných systémov [6,7,8].

Neadekvátna strava či ochorenia organizmu môžu viesť k nedostatku vitamínov, ktorý sa v ľahšej forme označuje ako hypovitaminóza a v ťažšej ako avitaminóza. Bežný je kombinovaný deficit viacerých vitamínov, ktorého prevenciou je predovšetkým pestrá strava. Naopak, nadbytok niektorých vitamínov, ktoré môžu byť skladované organizmom, môže viesť ku hypervitaminóze. Tá sa môže prejaviť toxickým účinkom na organizmus. Preto vznikli výživové odporúčenia s cieľom určiť adekvátny príjem vitamínov pre rôzne skupiny populácie [6,9].

Vitamíny sú definované ako organické látky, ktoré sú nevyhnutnou súčasťou potravy v malých dávkach, pre zabezpečenie normálnej integrity metabolizmu. Po chemickej stránke medzi nimi neexistujú žiadne štruktúrne vzťahy, na základe ktorých by mohli byť klasifikované. Bežné je však delenie na dve skupiny na základe ich rozpustnosti. Vitamíny rozpustné v tukoch (lipofilné) sú reprezentované vitamínmi A (retinol), D (kalciferoly), E (tokoferoly), K (fylochinóny a farnochinóny) a taktiež asi päťdesiatimi karotenoidmi, ktoré do rôznej miery plnia funkciu vitamínu A. Vitamíny rozpustné vo vode (hydrofilné) zahrňujú vitamín C a vitamíny skupiny B, menovite vitamíny B<sub>1</sub> (tiamín), B<sub>2</sub> (riboflavín), B<sub>3</sub> (niacín), B<sub>5</sub> (kyselina pantoténová), B<sub>6</sub> (pyridoxín), B<sub>12</sub> (korinoidy), kyselina listová a biotín. Práve vitamíny skupiny B sú známe ako B-komplex [10,11].

## 2.1 Tiamín (vitamín B<sub>1</sub>)

Tiamín je po chemickej stránke 2,5-dimetyl-6-aminopyrimidín viazaný metylénovým mostíkom na 4-metyl-5-hydroxyetyltiazol. Je to bezfarebná, kryštalická, hygroskopická látka dobre rozpustná vo vode. Patrí k najmenej stálym vitamínom. Relatívne stabilný je v kyslom prostredí (pH < 5), v neutrálnom a alkalickom prostredí, kde existuje ako voľná báza, je značne nestabilný. Vyskytuje sa ako voľná látka a vo forme fosforečných esterov (monofosfát, difosfát, trifosfát) [6,8,12].



*tiamín (voľná báza)*

Tiamín má významnú úlohu v energetickom metabolizme, predovšetkým v metabolizme sacharidov. V tkanivách cicavcov je tiamíndifosfát (TDP) koenzýmom mitochondriálnych multienzymových komplexov: *pyruvátdehydrogenázy* a *α-ketoglutarátdehydrogenázy*. TDP je taktiež koenzýmom *transketolázy* v pentózovom cykle pri aeróbnom odbúravaní cukrov. Druhou aktívnou formou je tiamíntrifosfát (TTP) pôsobiaci v nervových bunkách pri transporte chloridov [9,10,11,12].

Tiamín sa vyskytuje vo všetkých tkanivách a teda i vo všetkých čerstvých nespracovaných potravinách. Vo väčšine živočíšnych produktov sa vyskytuje vo fosforylovannej forme, prevažne ako difosfát, v rastlinných produktoch naopak vo forme voľnej. Vhodnými zdrojmi tiamínu sú celozrnné výrobky, vnútornosti ako pečeň, obličky či srdce, chudé bravčové mäso, vajíčka a kvasnice [11,12,13].

Z dôvodu značnej nestability tiamínu, sa pri spracovaní potravín môže jeho obsah významne znížiť. Deštrukciu vitamínu spôsobuje teplo, kyslík, vylúhovanie, neutrálne alebo alkalické prostredie a taktiež oxid siričitý používaný na konzerváciu. Priemerné straty pri varení a dusení mäsa sú 50 – 70 %, vysmážaní 10 – 50 %, k pomalému úbytku dochádza i pri mraziarenskom skladovaní. Pri varení zeleniny sú v závislosti od druhu zeleniny straty 25 – 40 %. Pasterizácia či sterilizácia mlieka znižuje obsah tiamínu o 10 – 20 %.

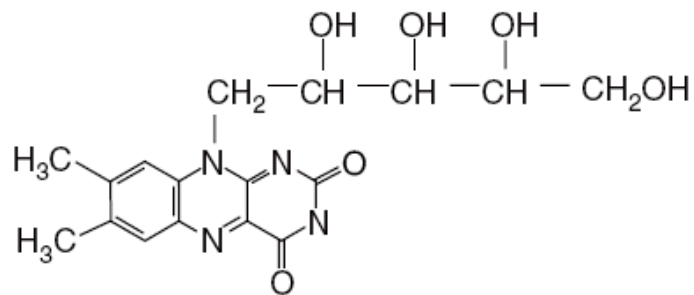
V obilninách sa tiamín vyskytuje v obalových vrstvách. Jeho straty sú teda závislé na stupni vymletia múky a pohybujú sa od 15 do 85 % [8,13].

Deficit tiamínu sa vyskytuje pri jednostrannej diéte a chronickom alkoholizme a vedie k stratám chuti, nevoľnosti, zápche, nutkaniu na zvracanie, v pokročilej forme môže spôsobiť podráždenosť, depresie a krátkodobé straty pamäti. Klasickým ochorením z avitaminózy je beri-beri, ktoré sa dodnes vyskytuje v krajinách, ktorých strava je založená prevažne na ryži. Prejavuje sa nervovými príznakmi, atrofiou svalov a poruchami srdcovej činnosti. Pri nedostatku tiamínu je zhoršená premena pyruvátu na acetyl CoA. V prípade vysokosacharidovej diéty dochádza k zvýšeniu plazmatickej koncentrácie laktátu a pyruvátu, čo môže spôsobiť život ohrozujúcu mliečnu acidózu. Tiamín nie je toxický, pretože jeho nadbytok sa vylučuje močom, hypervitaminóza sa teda prakticky nevyskytuje. V multivitaminových doplnkoch stravy sa obvykle vyskytuje v množstvách 1 - 5 mg, ako jednodruhový doplnok v množstvách až 30 mg. Podľa FSA (Food Standard Agency, 2003) je pri dostupných informáciach príjem vo výške 100 mg.deň<sup>-1</sup> bezpečný, nevylučuje sa však možnosť individuálnych idiosynkratických reakcií [2,6,10,11,14].

Potreba tiamínu závisí na energetickom príjme jedinca, predovšetkým na príjme sacharidov. Pri diéte s vysokým obsahom sacharidov musí byť príjem tiamínu úmerne zvýšený. Suplementácia sa odporúča i u alkoholikov na zníženie rizika vzniku avitaminózy. Doporučená výživová dávka tiamínu v ČR je podľa vyhlášky 225/2008 Sb. 1,4 mg.deň<sup>-1</sup> [2,4].

## 2.2 Riboflavín (vitamín B<sub>2</sub>)

Riboflavín je po chemickej stránke 7,8-dimetyl-10-(-1-D-ribityl)izoalloxazín a patrí do skupiny látok nazývaných flavíny. Je to žltozelená kryštalická látka, ktorej vodné roztoky majú schopnosť fluorescencie. Riboflavín je pomerne stály voči teplu, hlavne v kyslom prostredí, no je veľmi fotolabilný. Vplyvom UV lúčov sa rozkladá v kyslom a neutrálnom prostredí na lumichróm a zásaditom na lumiflavín. Vyskytuje sa ako voľná látka alebo viazaný vo forme flavínových kofaktorov [6,8].



riboflavín

Riboflavín plní v organizme funkciu ako kofaktor flavínových enzýmov v dýchacom reťazci, flavínmononukleotid (FMN) a flavínadenínindinukleotid (FAD). Flavínové enzýmy (alebo flavoproteíny) sú súčasťou intermediárneho metabolizmu a katalyzujú množstvo jedno alebo dvojelektrónových oxidoredukčných reakcií. Riboflavín sa účastní metabolizmu lipidov, sacharidov, aminokyselín, ale i liečiv, steroidov a homocysteínu. Vo forme FMN a FAD pôsobí pri regenerácii oxidovanej formy glutationu na redukovanú formu. Ten, ako súčasť *glutathionperoxidázy*, ničí reaktívne peroxidy lipidov spôsobujúce oxidačné poškodenie buniek. Riboflavín sa taktiež účastní procesu videnia tým, že premieňa krátkovlnné modré lúče na žltozelené, čím umožňuje videnie za šera [6,10,11,12].

Riboflavín sa nachádza vo všetkých potravinách, prevažne viazaný vo forme FAD a FMN, menej voľný. Hlavným zdrojom je predovšetkým mlieko a mliečne výrobky, ale i vajcia, vnútornosti, kvasnice a hovädzie mäso. V obilninách je menej rozšírený než tiamín. Nachádza sa i v niektorých druhoch zeleniny, no adsorbovaný je lepšie zo živočíšnych produktov [6,13].

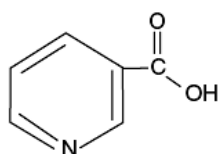
Riboflavín je veľmi stály pri tepelnom ohreve, degraduje však pri ožiarení UV lúčmi. Je preto nutné zabrániť ožiareniu potravín s vyšším obsahom riboflavínu a chrániť ich vhodnými nepriehľadnými alebo farebnými obalmi. K stratám pri úprave potravín môže dôjsť prevažne vylúhovaním [8].

S deficitom riboflavínu nie sú spojené závažné ochorenia, prejavuje sa zápalovými zmenami kože, slizníc a popraskanými kútikmi úst. Vzhľadom k nízkej rozpustnosti riboflavínu vo vode a limitovanej absorpcii sa nevyskytuje toxicita pri nadmernom príjme. Podľa FSA je príjem riboflavínu prostredníctvom suplementov bezpečný i pri 40 mg.deň<sup>-1</sup> [2,11].

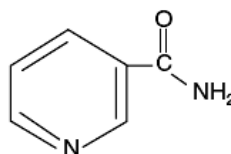
Potreba riboflavínu závisí na energetickom príjme jedinca a v ČR je podľa vyhlášky 225/2008 Sb. stanovená na 1,6 mg.deň<sup>-1</sup> [4].

### 2.3 Niacín (vitamín B<sub>3</sub>)

Niacín je spoločné označenie pre kyselinu nikotínovú (kyselinu 3-pyridínkarboxylovú) a jej amid (nikotínamid). Obe zlúčeniny majú rovnakú biologickú účinnosť. Kyselina nikotínová je biela kryštalická látka, mierne rozpustná vo vode a alkohole, nerozpustná v éteri. Nikotínamid je taktiež biela kryštalická látka, ale na rozdiel od kyseliny nikotínovej je dobre rozpustný vo vode a taktiež éteri, čo umožňuje ich rozlíšenie [6,8,12].



*kyselina nikotínová*



*nikotínamid*

Z niacínu vznikajú dva koenzýmy, nikotínamidadenín-dinukleotid (NAD, NADH) a nikotínamidadenín-dinukleotidfosfát (NADP, NADPH) majúce význam v reakciách oxidatívnej fosforylácie a biosyntetických reakciách. Nikotínamidové nukleotidy slúžia ako koenzýmy stoviek *dehydrogenáz* katalyzujúcich množstvo oxidoredukčných reakcií, pri ktorých sú substrátu odnímané dva elektróny. Pyridínové jadro oxidovanej formy koenzýmu akceptuje vodíkový anión za vzniku redukovanej formy. Hoci NAD a NADP podliehajú podobnej reverzibilnej redukcii, ich metabolické funkcie sú značne rozdielne. NADH produkovaný počas citrátového cyklu je reoxidovaný prenosom elektrónov na dýchací reťazec a energia získaná týmto prenosom je využitá na tvorbu ATP. Naopak, NADP sa účastní pentózoového cyklu, ktorý nie je primárnym zdrojom energie a vzniknutý NADPH je používaný ako redukčný agent pre syntézu mastných kyselín, glutamátu, cholesterolu (prekurzorov steroidných hormónov) a deoxyribonukleotidov (prekurzorov DNA). Okrem redoxných reakcií sa NAD účastní i procesov pri replikácii a opravách DNA [11,12].

Niacín je v malom množstve prítomný vo všetkých potravinách, spravidla vo viazanej forme. V živočíšnych produktoch sa vyskytuje prevažne nikotínamid, často vo forme NAD a NADP. Najbohatšími zdrojmi sú vnútornosti, mäso, mäsové výrobky a vaječný žĺtok. V rastlinných produktoch sa vyskytuje hlavne kyselina nikotínová. Najlepšimi zdrojmi sú obilniny, strukoviny a pražená káva. Ľudský organizmus je schopný v obmedzenej miere syntetizovať niacín z aminokyseliny tryptofanu pomocou enzýmov obsahujúcich ako ko-faktor vitamín B<sub>6</sub>. Na syntézu 1 mg niacínu je treba asi 60 mg tryptofanu [6,8].



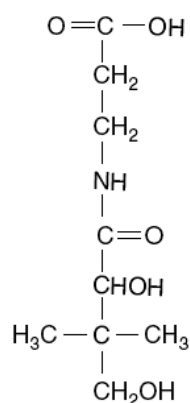
Pri väčšine kulinárskych úprav potravín je niacín stály, najväčšie straty sú spôsobené vyluhom a mletím múky [8].

Nedostatok niacínu spôsobuje pelagru, ochorenie rozšírené v chudobných komunitách, ktoré sa živia prevažne kukuricou. Klasickými prejavmi sú ekzémy, zápaly slizníc, poruchy tráviaceho traktu a psychické poruchy. Príjem kyseliny nikotínovej v nadmerných množstvách môže byť toxický a prejavuje sa pálením a začervenaním pokožky tváre a rúk, nevoľnosťou, zvracaním a hnačkami. Pri dávkach nad 1,8 mg na 1 kg telesnej hmotnosti vyvoláva hemoragie v obličkách. Nikotínamid je tolerovaný lepšie, čo je dôvodom jeho prednostného používania v doplnkoch stravy. Denný príjem nikotínamidu v množstvách 500 mg.deň<sup>-1</sup> nemá škodlivé účinky na organizmus [2,6,11,12].

Doporučený príjem niacínu v ČR je podľa vyhlášky 225/2008 Sb. 18 mg.deň<sup>-1</sup> [4].

## 2.4 Kyselina pantoténová (vitamín B<sub>5</sub>)

Kyselina pantoténová je názov pre  $\alpha,\gamma$ -dihydroxy- $\beta$ -dimetylbutyryl- $\beta'$ -alanín. Biologickú aktivitu vitamínu vykazuje len D-forma kyseliny pantoténovej. Čistá kyselina pantoténová je žltý viskózný olej rozpustný vo vode. Je stabilná v neutrálnom pH, no ničí sa v kyslom a alkalickom pH a zahrievaním. Na výrobu doplnkov stravy sa využíva vo forme pantoténátu vápenatého, ktorý je stabilnejší. V prírode sa kyselina pantoténová vyskytuje najčastejšie ako súčasť koenzýmu A [6,12].



*kyselina pantoténová*

Koenzým A (CoA, CoA-SH) má za hlavnú funkciu prenos acylových skupín, s ktorými vytvára energeticky bohaté tioestery. Takto aktivované formy metabolitov sa potom môžu účastniť početných biochemických reakcií. Niektoré z nich sú spriahnuté s uvoľňovaním

energie zo sacharidov, lipidov a aminokyselín alebo naopak s biosyntézou cholesterolu, steroidných hormónov, porfínu a hemoglobínu. Koenzým A je tiež súčasťou proteínového nosiča, označovaného ACP-SH (ACP, Acyl Carrier Protein), ktorý je súčasťou *syntetázy* mastných kyselín, katalyzujúcej biosyntézu mastných kyselín. Ďalšiu rolu hrá koenzým A pri modifikácii proteínov – acetylácii, acylácii a izoprenylácii, kde slúži ako donor lipidov. Tieto zmeny proteínov sú významné pri asociácii proteínov s plazmatickou membránou alebo inými bunkovými membránami [6,11].

Kyselina pantoténová sa vo forme koenzýmu A vyskytuje vo všetkých živých bunkách, je ju teda možné nájsť takmer vo všetkých potravinách. Dobrými zdrojmi sú kuracie a hovädzie mäso, vnútornosti, vaječné žĺtky, kvasnice, rajčiaky, brokolica, celozrnné výrobky a orechy [12,13].

Kyselina pantoténová je pomerne labilná a straty pri skladovaní a termických zákrokoch môžu byť značné. Významné sú i straty spôsobené vylúhovaním. Pri tepelnej úprave mäsa sú straty vitamínu 12 – 50 % v závislosti od spôsobu spracovania, množstva použitej vody a ďalších faktorov. Straty pri konzervácii mäsa sú 20 – 35 %. Pri pasterizácii mlieka nedochádza k významnému zníženiu obsahu vitamínu, UHT zázehv spôsobuje straty asi 5 %. Straty vitamínu pri varení cestovín sú asi 25 – 45 %, pri varení strukovín 25 – 56 %. Konzervácia ovocných štiav spôsobuje asi 50 %, zeleniny 25 – 56 % straty [8].

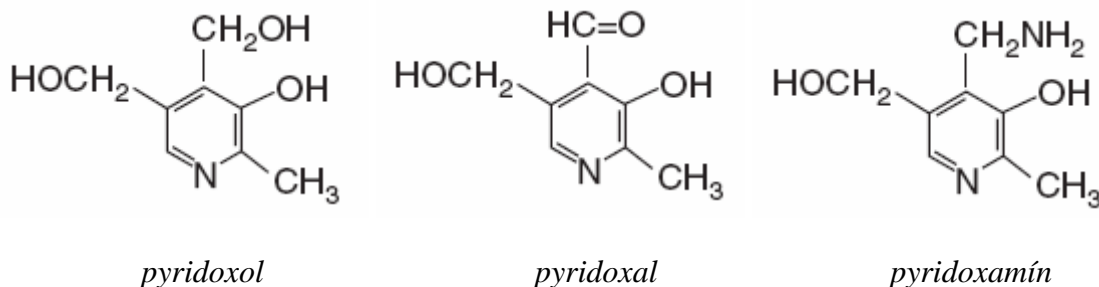
Prípady deficitu kyseliny pantoténovej sú ojedinelé a prejavujú sa predovšetkým dermatitídami. Pri vysokých príjmoch vitamínu nebola zistená toxicita, veľmi vysoké dávky ( $> 1\text{g.deň}^{-1}$ ) môžu spôsobiť nevoľnosť a poruchy gastrointestinálneho traktu. Pantotenát vápenatý sa používa na liečbu reumatickej artritídy a pri dávkach 2 - 10  $\text{mg.deň}^{-1}$  nie sú správy o toxickom efekte. Podľa FSA (2003) nemá príjem 200  $\text{mg.deň}^{-1}$  prostredníctvom suplementov žiadne toxické účinky [2,8,12].

Doporučený príjem kyseliny pantoténovej v ČR je podľa vyhlášky 225/2008 Sb. 6  $\text{mg.deň}^{-1}$  [4].

## 2.5 Pyridoxín (vitamín B<sub>6</sub>)

Názvom pyridoxín sa označujú tri štruktúrne príbuzné látky s biologickou aktivitou vitamínu B<sub>6</sub>, a to pyridoxol (2-metyl-3-hydroxy-4,5-bishydroxymetylpyridín), pyridoxal (2-metyl-3-hydroxy-4-formyl-5-hydroxymetylpyridín) a pyridoxamín (2-metyl-3-hydroxy-4-

aminoetyl-5-hydroxymetylpyridín). V biochemických procesoch sa pyridoxín vyskytuje vo forme fosfátov, pyridoxalfosfátu a pyridoxamínfosfátu [6].



Pyridoxín, vo forme pyridoxalfosfátu, funguje ako koenzým viac než stovky enzýmov, zapojených do metabolizmu aminokyselín. Reakcie katalyzované pyridoxalfosfátom zahŕňujú deamináciu, transamináciu, dekarboxyláciu, transsulfuráciu a desulfuráciu. V určitých *aminotransferázach* je koenzýmom pyridoxamínfosfát. Pyridoxalfosfát hrá úlohu i v metabolizme sacharidov pri štiepení glykogénu. Je súčasťou *glykogénfosforylázy*, ktorá štiepi glykogén na glukóza-1-fosfát. Ten môže po premene na glukóza-6-fosfát vstupovať do glykolýzy alebo pentózamonofosfátovej dráhy. Pyridoxín má význam i pri syntéze serotonínu, noradrenalínu a sfingozínu a ovplyvňuje regulačné funkcie steroidných hormónov [10,11,14].

Pyridoxín sa vyskytuje v potravinách živočíšneho pôvodu prevažne vo forme fosforečných esterov, naopak v rastlinných produktoch ho môžeme nájsť vo forme pyridoxolu a pyridoxalu. Významnými zdrojmi sú mäso, pečeň, zelenina, celozrnné výrobky, strukoviny a vaječné žĺtky [8,13].

Straty vitamínu počas skladovania a spracovania sa líšia v závislosti od druhu potravy. V rastlinných produktoch sa vyskytuje stabilnejší pyridoxol, straty sú teda relatívne nízke a spôsobené prevažne vylúhovaním. V živočíšnych produktoch sa vyskytuje hlavne reaktívnejší pyridoxal, úbytok vitamínu je teda vyšší. Spôsobený je taktiež prevažne vylúhovaním, ale aj reakciami pyridoxalu s bielkovinami [13].

Pyridoxín je široko rozšírený v potravinách a jeho deficit teda nie je veľmi bežný. Prejavuje sa nervovými príznakmi, nervozitou, podráždenosťou, depresiami. Pri vysokých príjmoch pyridoxínu (niekoľko gramov za deň) počas dlhej doby (až niekoľko rokov) bola zaznamenaná senzorická neuropatia, ktorá je však reverzibilná a nespôsobuje permanentné

poškodenie nervového systému. Podľa FSA (2003) nemá príjem vitamínu v množstve 10 mg.deň<sup>-1</sup> žiadne škodlivé účinky [2,6,12,14].

Doporučený príjem v ČR je podľa vyhlášky 225/2008 Sb. 2 mg.deň<sup>-1</sup>. Potreba vitamínu rastie so zvýšeným príjmom proteínov a odporúča sa pri užívaní orálnej hormonálnej antikoncepcie a niektorých liekov [2,4].

## 3 VYSOKOÚČINNÁ KVAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIA (HPLC)

### 3.1 História HPLC

V prírode sa látky vyskytujú väčšinou vo forme zmesí. Izolácia chemických indivíduí zo zmesí látok rôzneho pôvodu vždy bola a je jednou zo základných úloh chémie. Pojem chromatografia či chromatogram sú známe od doby, keď ruský botanik a chemik M. S. Cvet pri svojom výskume pigmentov chloroplastov prefiltraval ich petroléterový roztok úzkou sklenenou kolónkou naplnenou uhličitanom vápenatým a zistil, že pôvodná zmes sa začína deliť na farebné pružky podľa miery adsorpcie zložiek na adsorbent [15,16,17].

Metódu vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie vyvinul Prof. C. Horwath z Yalskej univerzity. Pracoval na vývine poréznych vrstiev pre trubicové kolóny určené pre plynovú chromatografiu. Rozhodol sa využiť malé sklenené guľôčky s poréznu vrstvou na povrchu pre kvapalinovú chromatografiu, pre uľahčenie transportu hmoty medzi kvapalinou a povrchom. Zistil však, že kolóna naplnená týmito guľôčkami je značne odolná voči toku kvapaliny a bol nútený vyvinúť prístroj umožňujúci vytvárať kontinuálny tok kvapaliny naprieč kolónou. Toto bol pôvod metódy vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) [17].

### 3.2 Teória HPLC

Kvapalinová chromatografia je fyzikálna separačná metóda prebiehajúca v kvapalnej fáze. Vzorka je separovaná na jej základné zložky rozdelením medzi mobilnú (prúdiaca kvapalina) a stacionárnu fázu (kolóna naplnená sorbentom). K separácii zložiek zmesi dochádza na základe rôznych vlastností, ako je ich polarita, náboj či veľkosť. HPLC je moderná forma kvapalinovej chromatografie, používajúca kolóny naplnené drobnými časticami, cez ktoré je mobilná fáza pumpovaná pod vysokým tlakom [18].

#### 3.2.1 Mechanizmus kvapalinovej chromatografie

Chromatografiu je možné definovať ako migračný proces, v ktorom sú molekuly zložiek vzorky selektívne spomaľované stacionárnou fázou. Jednotlivé zložky zmesi sú transportované mobilnou fázou cez fázou stacionárnu, kde sa rozdeľujú medzi tieto dve navzájom nemišateľné fázy. Afinita molekuly voči stacionárnej fáze spôsobuje spomalenie jej pohybu

chromatografickým systémem. Rôzne molekuly vzorky sa pohybujú rôzne rýchlo na základe rôznej afinity voči stacionárnej a mobilnej fáze. Každá zložka zmesi ( $A$ ,  $B$ ,  $C$ ) je distribuovaná medzi dve fázy s ustanovením rovnováhy, ktorá je definovaná distribučným pomerom. Pre zložku  $A$  platí:

$$[A_S] \leftrightarrow [A_M],$$

kde  $[A_S]$  je koncentrácia zložky  $A$  v objemovej jednotke stacionárnej fázy a  $[A_M]$  je koncentrácia zložky  $A$  v objemovej jednotke mobilnej fázy. Distribučný pomer,  $K_A$ , pre zložku  $A$  je potom:

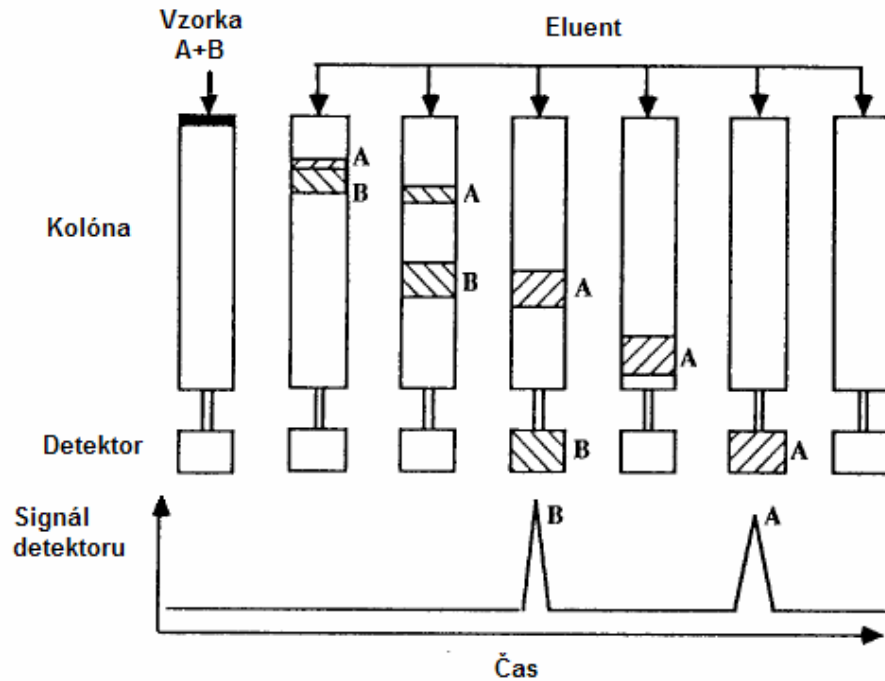
$$K_A = \frac{[A_S]}{[A_M]}$$

Každá separovaná zložka má rôznu hodnotu  $K_A$  odrážajúcu jej relatívnu afinitu voči stacionárnej fáze. Zovšeobecnená forma distribučnej rovnováhy pre každú zložku je

$$K = \frac{C_S}{C_M},$$

kde  $C_S$  je koncentrácia zložky v stacionárnej fáze a  $C_M$  je koncentrácia zložky v mobilnej fáze.

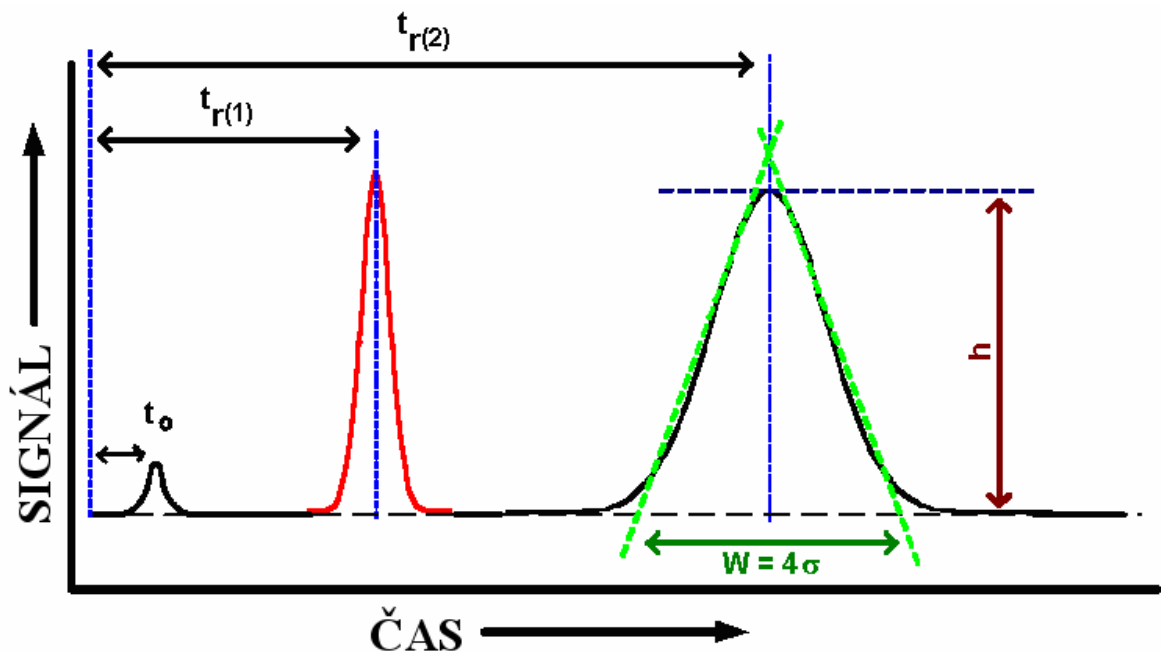
Pohybom mobilnej fázy je porušovaná statická rovnováha a maximum koncentrácie zložky sa pohybuje v smere pohybu mobilnej fázy. Rýchlosť pohybu závisí na vlastnostiach vzorky, mobilnej a stacionárnej fázy. Rôzne zložky opúšťajú kolónu chromatografického systému v rôznom čase, čím dôjde k ich rozdeleniu a umožneniu ich detekcie [19,20].



Obr. 2. Mechanismus kvapalinovej chromatografie

### 3.2.2 Základné termíny

Výsledkom chromatografickej analýzy je chromatogram, kde je každý analyt reprezentovaný píkcom. Za ideálnych podmienok je pík symetrický a tvarom sa blíži Gaussovej krivke normálneho rozdelenia (Obr. 3.).



Obr. 3. Chromatogram: retenčný čas ( $t_R$ ), mŕtvy čas ( $t_0$ ), výška píku ( $h$ ), šírka píku ( $w$ )

- **Retenčný čas ( $t_R$ ), mŕtvy čas ( $t_0$ )**

Retenčný čas je čas medzi nastreknutím vzorky a maximom píku na chromatograme. Pri daných podmienkach je pre analyt charakteristický a slúži na jeho identifikáciu (kvalitatívna analýza). Retenčný čas nezadržiavaného komponentu, alebo prvý šum na základnej línii sa nazýva mŕtvy čas a je to celkový čas, ktorý strávi ktorákoľvek zložka v mobilnej fáze. Upravený retenčný čas  $t_R'$  je rovný  $t_R - t_M$  a je to celkový čas strávený v stacionárnej fáze. Retenčný čas  $t_R = t_R' + t_M$  je potom celkový čas, ktorý strávi analyt v mobilnej a stacionárnej fáze [18].

- **Retenčný objem ( $V_R$ ), mŕtvy objem ( $V_0$ )**

Retenčný čas je závislý na toku mobilnej fázy. Čím je tok rýchlejší, tým kratší bude retenčný čas analytu. Výsledkom retenčného času analytu a toku mobilnej fázy je retenčný objem. Predstavuje objem látky, ktorá je pumpovaná cez detektor pred tým, než je eluovaný príslušný pík. Aj keď analyt zadržovaný v kolóne nie je, nedosiahne detektor hneď po vstreknutí vzorky. HPLC kolóna je naplnená časticami porézneho materiálu stacionárnej fázy, medzi ktorými je objem, ktorým musí mobilná fáza pretiecť, než dosiahne detektor. Objem mobilnej fázy v kolóne sa nazýva mŕtvy objem [17].

- **Výška ( $h$ ) a šírka ( $w$ ) píku**

Eluovaný pík má svoju výšku a šírku. Šírka píku sa obvykle meria na základnej línii alebo sa berie hodnota  $w/2$ . Tieto hodnoty sa používajú pre výpočet účinnosti kolóny. Výška alebo plocha píku je úmerná obsahu analytu a je preto obvykle použitá pre jeho kvantitatívne stanovenie [18].

### 3.2.3 Základné chromatografické charakteristiky

Chromatografia je charakterizovaná štyrmi základnými pojmami: kapacita, účinnosť, selektivita a rozlíšenie. Kapacita a selektivita sú variabilné v závislosti na type stacionárnej fázy a výrobcovi, zatiaľ čo účinnosť a rozlíšenie môžu byť do určitej miery ovplyvnené pri analýze [21].



- **Retenčný (kapacitný) faktor**

Pre efektívnu chromatografickú separáciu musí mať kolóna dostatočnú kapacitu na retenciu jednotlivých zložiek vzorky, a tým schopnosť ju efektívne separovať. Mieru zadržania vzorky v kolóne vyjadruje retenčný faktor  $k_R$ , ktorý je priamo úmerný sile interakcií vzorky s náplňou kolóny a je definovaný výrazom:

$$k_R = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{V_R - V_0}{V_0},$$

kde  $t_R$  je čas, za ktorý dosiahne daná zložka vzorky detektor (retenčný čas),  $t_0$  je čas, za ktorý dosiahne detektor nezadržovaná zložka.  $V_R$  je objem látky, ktorá je pumpovaná cez detektor pred tým, než je eluovaný príslušný pík (retenčný objem),  $V_0$  je objem roztoku, ktorý prejde cez detektor medzi časom injekcie vzorky a elúciou nezadržaných zložiek vzorky (mŕtvy objem). Kapacita kolóny je závislá predovšetkým na použitom materiáli náplne. Čím je vyššia kapacita kolóny, tým je vyššia schopnosť kolóny zachytiť zložky roztoku. Hodnota  $k_R$  medzi 2 a 5 reprezentuje dobrú vyváženosť medzi časom analýzy a rozlíšením. Bežne je akceptovateľná hodnota 1 až 10 [17,18,21].

- **Selektivita chromatografického systému**

Selektivita chromatografického systému je daná rozdielom retenčných časov (objemov) medzi dvomi danými píkmami a vyjadruje, ako je chromatografický systém schopný efektívne rozdeliť dve zložky. Selektivita  $\alpha$  je definovaná výrazom

$$\alpha = \frac{t_2 - t_1}{t_1 - t_0} = \frac{V_2 - V_1}{V_1 - V_0} = \frac{k_2}{k_1}$$

Selektivita kolóny je primárne funkciou materiálu náplne kolóny, je ju však možné ovplyvňovať zložením mobilnej fázy či teplotou kolóny. Hodnoty  $\alpha$  sa pohybujú od 1, kedy je retenčný čas (objem) dvoch zložiek rovnaký, a separácia teda prebiehať nemôže, až po nekonečno, kedy je jedna zo zložiek eluovaná v mŕtvom objeme [18,21].

- **Rozlíšenie**

Rozlíšenie je schopnosť kolóny rozdeliť dva analyty do dvoch oddelených píkov. Je ovplyvnená selektivitou  $\alpha$ , účinnosťou  $N$  a kapacitou kolóny  $k_R$ . Vzťah uvedených parametrov popisuje nasledujúci vzťah pre rozlíšenie:

$$R = \frac{1\alpha - 1}{4\alpha} \cdot (N^{\frac{1}{2}}) \cdot \frac{k_R}{1 + k_R}$$

Bežná požadovaná hodnota  $R$  je vyššia než 0,8 pre správne odčítanie pík. Rozlíšenie je možné meniť zmenou selektivity či kapacity kolóny [17,21].

- **Účinnosť**

Elučný pík chromatogramu sa v ideálnych podmienkach tvarom blíži Gaussovej distribučnej krivke. Účinnosť kolóny je číslo popisujúce rozširovanie tohto píku ako funkciu retencie a obvykle býva vyjadrená počtom teoretických priehradiek kolóny. Počet priehradiek je pojem prevzatý z destilácie a vyjadruje predstavu, že kolóna je rozdelená na množstvo vrstiev, a že na každej vrstve je úplná rovnováha rozpustenej látky medzi mobilnou a stacionárnou fázou. So zvyšujúcim sa počtom priehradiek rastie účinnosť kolóny. Pri danej dĺžke kolóny je počet priehradiek tým vyšší, čím je teoretická priehradka nižšia. Výšku teoretickej priehradky udáva vzťah:

$$H = \frac{L}{N},$$

kde  $L$  je dĺžka kolóny a  $N$  je počet priehradiek.

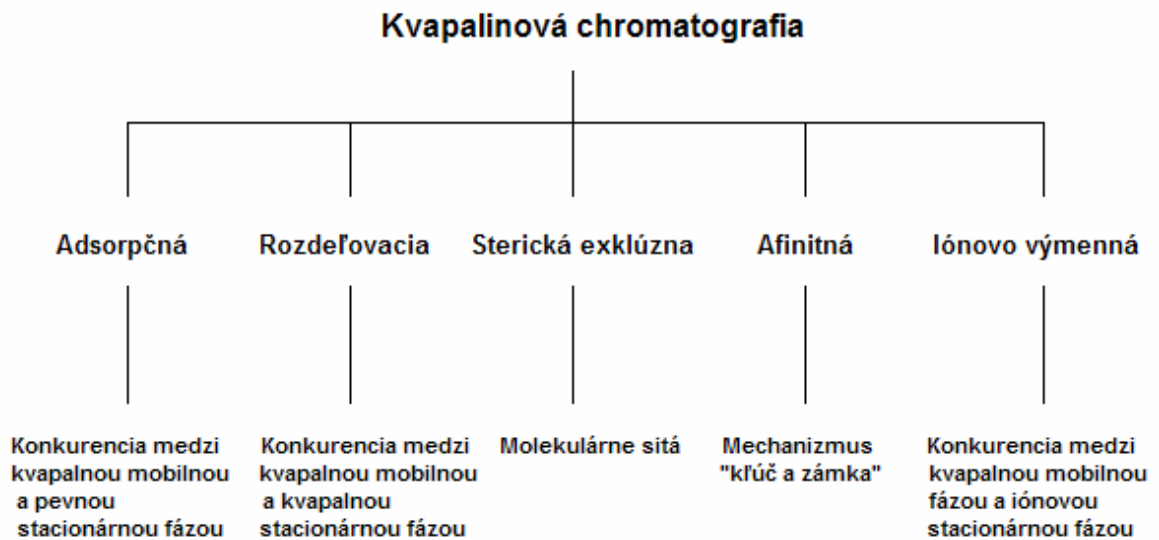
Účinnosť kolóny je možné ovplyvniť dĺžkou a veľkosťou častíc stacionárnej fázy, prietokovou rýchlosťou a viskozitou mobilnej fázy a separačnou teplotou [21,22].

### **3.3 Klasifikácia metód kvapalinovej chromatografie**

Existujú dve základné možnosti klasifikácie metód kvapalinovej chromatografie. Prvá, viac bežná, je klasifikácia založená na mechanizme retencie. Druhou možnosťou je klasifikácia na základe pracovnej techniky [21].

#### **3.3.1 Klasifikácia na základe mechanizmu retencie**

Táto klasifikačná schéma vychádza zo spôsobu, akým analyt interaguje so stacionárnou fázou. S týmto prístupom môžeme chromatografiu rozdeliť na päť separačných mechanizmov: adsorpcia, rozdeľovanie, sterická exklúzia, afinita a iónová výmena, ako je možné vidieť na Obr. 4.



Obr. 4. Klasifikácia kvapalinovej chromatografie na základe mechanizmu retencie

Pri adsorpčnej chromatografii sa separácia uskutočňuje interakciami nenabitých častíc analytu s povrchom pevného adsorbenta. Polárne molekuly vzorky sú dlhšie zdržiavané polárnou stacionárnou fázou, nepolárne naopak nepolárnou stacionárnou fázou.

Pri rozdeľovacej chromatografii sa zmes zložiek analytu delí medzi dve navzájom nemiešateľné kvapalné fázy – mobilnú fázou a kvapalinu kotvenú na povrchu nosiča. Delenie prebieha na základe rozdielnej rozpustnosti, alebo lepšie afinity, jednotlivých zložiek analytu voči kvapalným fázam.

Iónovo výmenná chromatografia je založená na príťažlivosti opačne nabitých častíc. Je určená na separáciu nabitých analytov. Ich rozdelenie je výsledkom interakcií medzi nabitým roztokom a opačne nabitou stacionárnou fázou.

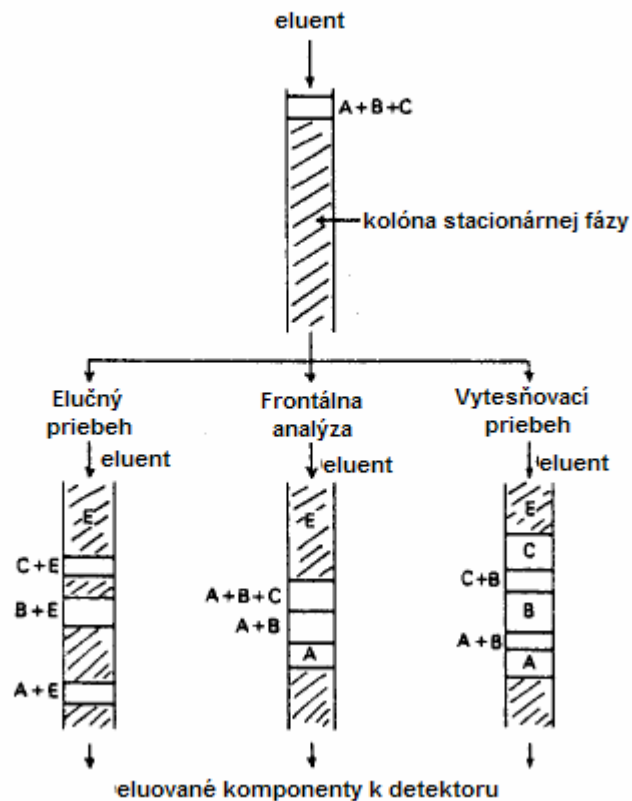
Pri sterickéj exklúznej chromatografii prebieha delenie látok v póroch gélu podľa rozmerov častíc.

Afinitná chromatografia pracuje na základe mechanizmu „kľúč a zámok“. Metóda je založená na špecifických interakciách charakteristických pre niektoré biologické a biochemické procesy. Interakcie prebiehajú medzi dvojicami látok s vysokou selektivitou [15,21,23].

### 3.3.2 Klasifikácia podľa pracovnej techniky

Táto metóda je založená na použitej pracovnej technike, alebo akým spôsobom je vzorka vynášaná z kolóny, a teda závisí na povahe mobilnej fázy. Klasifikácia zahŕňa elučný a vytesňovací priebeh a frontálnu analýzu. V praxi je bežne používaná len elučná a v menšej miere vytesňovacia chromatografia [21].

E = eluent  
A, B, C = zložky zmesi,



Obr. 5. Klasifikácia kvapalinovej chromatografie podľa pracovnej techniky

Pri elučnej chromatografii sú malé objemy vzorky privedené na začiatok kolóny a zložky vzorky sú na stacionárnu fázu adsorbované v rôznej miere v závislosti na ich afinitě. Roztok je z kolóny eluovaný mobilnou fázou, ktorá má vyššiu afinitu voči zložkám zmesi než voči stacionárnej fáze. Jednotlivé zložky vzorky opúšťajú kolónu v rôznom čase radené podľa ich afínit oddelené zónou čistej mobilnej fázy. Keďže zložky môžu byť kompletne separované, je táto metóda bežne používaná pre kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu zmesí [15,21].

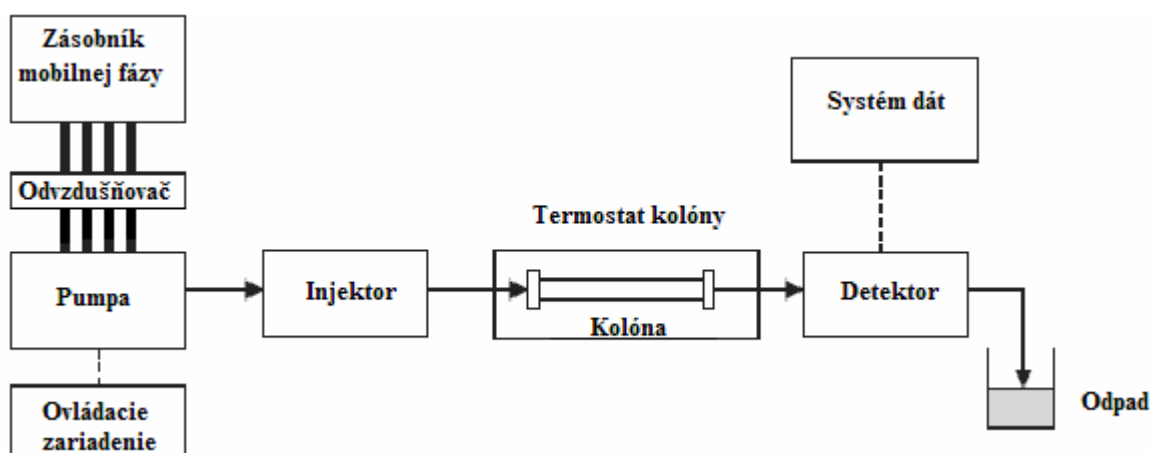
### 3.4 Prednosti a nevýhody HPLC

Výhodou HPLC metódy je schopnosť rozdeliť a kvantitatívne stanoviť desiatky až stovky zložiek vzorky, citlivosť metódy, rýchlosť a reprodukovateľnosť rozdelenia, malá spotreba vzorky a možnosť automatizácie. Umožňuje separovať aj termolabilné kvapalné a tuhé látky a jej výhodou je presnosť pri kvantitatívnej analýze [20].

Hlavnou nevýhodou HPLC je predovšetkým vysoká obstarávacía cena zariadenia v porovnaní s niektorými inými analytickými zariadeniami. Kolóny pre HPLC sú taktiež veľmi nákladné, s relatívne nízkou životnosťou, vysoká je i cena roztokov používaných ako mobilná fáza pre HPLC analýzy [24].

### 3.5 Inštrumentácia

HPLC analýzy sa vykonávajú na prístroji nazývanom kvapalinový chromatograf. Pozostáva z častí, ktoré zabezpečujú transport kvapaliny, separáciu zložiek zmesi a ich detekciu (Obr.6.).



Obr. 6. Schéma kvapalinového chromatografu

V HPLC systéme preteká eluent (mobilná fáza) zo zásobníku cez odvzdušňovač a kolónu až k detektoru pomocou vysokotlakovej pumpy. Analyt je vnesený na začiatok kolóny pomocou injektora a jeho zložky sú unášané eluentom naprieč kolónou rýchlosťou úmernou ich afinite voči náplni kolóny (stacionárnej fáze) [19].

- **Zariadenie na transport eluentu**

Pozostáva zo zásobníkov eluentov, odvzdušňovacieho systému a jednej či viacerých púmp. Jeho úlohou je dopraviť eluent cez chromatografický systém presne a reprodukovateľne. Pumpa musí mať konštantný bezpulzný tok a schopnosť vytvoriť tlak vyšší než 50 MPa [21,25,26].

- **Injekčné zariadenie**

Analyt je do chromatografického systému zavedený pomocou injektora. V dnešnej dobe sa používajú automatické injektory umožňujúce vstreknúť presný objem [18].

- **Kolóna**

Kolóna je miestom chromatografu, kde prebieha vlastná separácia. Obvykle ju tvorí oceľová, prípadne sklenená či teflónová trubica dĺžky 30 – 300 mm plnená stacionárnou fázou. Vlastná stacionárna fáza väčšinou pozostáva z mikročastíc silikagelu alebo polymérneho adsorbentu rôznej veľkosti, tvaru a pórovitosti, ktorých povrch môže byť modifikovaný ďalšími chemickými či fyzikálnymi prostriedkami. Pri voľbe kolóny je predmetom záujmu jej selektivita, kapacita a účinnosť. S rastúcou dĺžkou kolóny rastie doba analýzy, ale tak tiež účinnosť kolóny. Väčší vnútorný priemer znižuje rýchlosť prietoku, spôsobuje rozširovanie píku chromatogramu a tým zníženie citlivosti kolóny [21].

- **Detektory**

Úlohou detektoru je konvertovať zmeny v zložení eluentu opúšťajúceho kolónu na elektrický signál, ktorý je potom zaznamenaný. Detektory môžeme klasifikovať na univerzálne a špecifické a na základe meranej vlastnosti analytu [21].

Najčastejšie používaným detektorom pri HPLC analýze je UV/VIS detektor, ktorý využíva schopnosť látok absorbovať žiarenie o vlnovej dĺžke zdroja svetla. Meria v rozpätí vlnových dĺžok 190 - 700 nm. U aromatických látok alebo látok obsahujúcich početné konjugované dvojité väzby je možné využiť fluorescenčný detektor. Tieto zlúčeniny absorbujú žiarenie určitej vlnovej dĺžky a emitujú žiarenie o dlhšej vlnovej dĺžke, ktoré je merané detektorom. Často používanými sú i elektrochemické detektory. Merajú prúd medzi elektródami v prietokovej kvete, kam je privádzaný eluent z kolóny. Použitie nachádza u látok, ktoré sú oxidovateľné alebo redukovateľné, napríklad alkoholy, karboxylové kyseliny, karbonylové zlúčeniny či sacharidy. Možné je i použitie refraktometrického detektora,

ktorý meria zmenu indexu lomu v dvoch kyvetách, z ktorých jedna je referenčná, naplnená čistým eluentom a do druhej priteká eluent so zložkami analytu z kolóny [18,21].

Požadovaný separačný výsledok môže byť dosiahnutý použitím konštantného zloženia mobilnej fázy (izokratická elúcia) alebo technikou gradientovej elúcie, ktorá umožňuje zmenu zloženia mobilnej fázy počas analýzy [19].

Chromatografická separácia môže prebiehať na normálnej fáze, čo predstavuje elučný proces v ktorom je stacionárna fáza viac polárna než mobilná fáza. Najrozšírenejšími náplňami kolóny sú materiály na báze kremičitanov. Pri chromatografii na reverznej fáze je, naopak, mobilná fáza viac polárna než stacionárna. Stacionárnu fázu tvorí obvykle silikátový nosič s nepolárnymi funkčnými skupinami ukotvenými na jeho povrchu a ako mobilná fáza sa najčastejšie používajú pufry [16].

### 3.6 HPLC v analýze B-komplexu

Vysokoučinná kvapalinová chromatografia sa v potravinárskom priemysle využíva predovšetkým na určenie kvalitatívneho i kvantitatívneho zloženia, a tým i kvality surovín a hotových výrobkov. Uplatňuje sa pri testovaní stability finálneho produktu – sledujú sa zmeny kvality výrobku v čase pôsobením rôznych prirodzených faktorov, ako je teplota, vlhkosť a svetlo, čím napomáha určeníu doporučených podmienok skladovania a použitia [27,28].

Vitamíny skupiny B predstavujú rozmanitú skupinu látok a biologicky aktívnych foriem s rôznymi fyzikálne-chemickými vlastnosťami. Spolu s relatívne vysokým detekčným limitom a nízkou koncentráciou v prírodných materiáloch sťažujú ich stanovenie [27,29].

Každý vitamín je možné extrahovať a separovať rôznymi metódami jednotlivo, možná je však i simultánna detekcia. Pre simultánnu analýzu B-vitamínov bolo vyskúšaných mnoho metód, ktoré sa však často krát ukázali ako príliš zdĺhavé a nepresné. Išlo prevažne o spektrofotometrické, fluorometrické, enzymatické či mikrobiálne techniky. V poslednej dobe sa najobľúbenejšou technikou na analýzu B-komplexu stala vysokoučinná kvapalinová chromatografia, ktorá sa ukázala ako rýchla, presná a dostatočne citlivá metóda. Neprchavá hydrofilná povaha B-vitamínov ich robí vhodnými kandidátmi pre HPLC analýzy na reverznej fáze [27,30].

Vitamíny sú obvykle stanovované vo voľnej forme, na ktorú je ich nutné previesť extrakciou pred vlastnou separáciou. Hydrolyza fosforylovaných foriem vitamínov a väzieb na proteiny sa prevádza zahrevom na 100 °C, enzymaticky alebo pomocou minerálnych kyselín [29].

Pri voľbe HPLC metódy sú základnými kritériami výber vhodnej kolóny a detekcie. Vzhľadom k rozpustnosti B-vitamínov vo vode je najpoužívanejšou metódou chromatografia na reverznej fáze. Ako vhodné eluenty sa potom javia predovšetkým fosforečné a octanové pufry. Keďže prítomnosť vitamínov v prírodnom materiáli je v stopových množstvách, je nutný výber dostatočne citlivej detekcie. Bežne používaným detektorom je UV/VIS, v niektorých prípadoch i fluorescenčný alebo elektrochemický detektor [27,30].



## **II. PRAKTICKÁ ČASŤ**

## 4 CIEĽ PRÁCE

Cieľom tejto práce bolo otestovať možnosti stanovenia štandardov vitamínov skupiny B pomocou vysokoučinnnej kvapalinovej chromatografie. V prípade úspešného stanovenia taktiež navrhnuť metodiku a aplikáciu na vybrané doplnky stravy.

## 5 METODIKA PRÁCE

### 5.1 Materiál

Tab. 1. Analyzovaný materiál

Doplnok stravy	Forma užitia, množstvo	Aktívne látky
B-komplex	30 dražé	Vitamín B <sub>1</sub> 2,000 mg Viatmín B <sub>2</sub> 2,000 mg Viatmín B <sub>3</sub> 20,000 mg Viatmín B <sub>5</sub> 3,000 mg Viatmín B <sub>6</sub> 1,000 mg
B-komplex + vitamín C	30 tablet	Vitamín B <sub>1</sub> ,800 mg Viatmín B <sub>2</sub> 2,000 mg Viatmín B <sub>3</sub> 7,000 mg Viatmín B <sub>5</sub> 4,600 mg Viatmín B <sub>6</sub> 2,200 mg Vitamín C 30,000 mg
Energit multi	50 tablet	Vitamín B <sub>1</sub> 0,462 mg Viatmín B <sub>2</sub> 0,528 mg Viatmín B <sub>3</sub> 5,940 mg Viatmín B <sub>5</sub> 1,980 mg Viatmín B <sub>6</sub> 0,660 mg Viatmín B <sub>12</sub> 0,330 µg Vitamín C 19,800 mg Biotín 0,050 mg Vitamín E 3,300 mg K. listová 66,000 µg

Doplnok stravy	Forma užitia, množstvo	Aktívne látky
Multivitamín + minerály	20 šumivých tablet	Vitamín B <sub>1</sub> 1,400 mg Viatmín B <sub>2</sub> 1,600 mg Viatmín B <sub>3</sub> 18,000 mg Viatmín B <sub>5</sub> 6,000 mg Viatmín B <sub>6</sub> 2,000 mg Viatmín B <sub>12</sub> 1,000 µg Vitamín C 60,000 mg Biotín 0,150 mg Vitamín E 10,000 mg K. listová 200,000 µg Vápnik 200,000 mg Horčík 50,000 mg Fosfor 120,000 mg
Multivitamín	20 šumivých tablet	Vitamín B <sub>1</sub> 1,400 mg Viatmín B <sub>2</sub> 1,600 mg Viatmín B <sub>3</sub> 18,000 mg Viatmín B <sub>5</sub> 6,000 mg Viatmín B <sub>6</sub> 2,000 mg Viatmín B <sub>12</sub> 1,000 µg Vitamín C 60,000 mg Biotín 0,150 mg Vitamín E 10,000mg K. listová 200,000µg
Pangamin - pivovarské kvasnice	200 tablet	Vitamíny: B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> , biotín, cholín, kyselina listová, kyselina pangamová Minerály: Ca,Mg,P,K Stopové prvky: Fe,Cu, Zn,Mn,Cr Esenciálne aminokyseliny

## 5.2 Použité pomôcky a prístroje

- predvážky (Kern, SRN)
- analytické váhy (Adam)
- magnetické miešadlo (Heidolph instruments)
- pH-meter (Hanna instruments)
- termostat (Laboratorní přístroje Praha)
- ultrazvuková vaňa (Notus-Powersonic s.r.o., Vráble)
- laboratórne sklo a pomôcky
- dávkovacia striekačka (Hamilton, USA)
- filtračný papier s veľkosťou pórov 0,2  $\mu\text{m}$  (Supleco)
- mikrofiltre Nylon 0,45  $\mu\text{m}$  (Labicom s.r.o., Olomouc)
- aparátúra pre HPLC (Hewlett Packard 1100)
  - vakuovaný odplyňovací modul G1322A
  - binárna pumpa G1312A
  - termostat kolón G1316A
  - detektor UV/VIS DAD G1315A
  - dávkovací ventil analytický slučkovací (dávkovacia slučka o objeme 20  $\mu\text{l}$ )
  - kolóna SUPELCOSIL - LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ , Supelco, USA)
  - PC s vyhodnocovacím programom ChemStation – Instrument1 (Agilent, USA)

## 5.3 Použité chemikálie

- metanol pre HPLC (Lach-ner s.r.o.)
- dihydrogenfosforečnan draselný (Ing. Petr Švec, Penta)
- hydroxid draselný (Ing. Petr Švec, Penta)
- izopropanol (Ing. Petr Švec, Penta)

- *clara*-diastáza z *Aspergillus oryzae* (zmes enzýmov *amyláza*, *lipáza*, *proteáza*), 47 U.mg<sup>-1</sup> (Fluka analytical)
- štandardy vitamínov: tiamínhydrochlorid, riboflavín, nikotínamid, kyselina pantoténová, pyridoxín (výrobca Supelco, USA)
- redestilovaná voda
- síran zinočnatý (dodávateľ - ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- hexakvanoželeznatan draselný (dodávateľ - ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)

## 5.4 Pracovný postup

### 5.4.1 Príprava vzoriek

#### ▪ Príprava vzoriek B-komplex, B-komplex + vitamín C a Energit multi

Tableta bola v trecej miske zhomogenizovaná s mobilnou fázou pozostávajúcou z metanolu a KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> bolo upravené na 7 za pomoci KOH) v pomere 10:90. Obsah misky bol kvantitatívne prevedený do 25 ml odmernej banky a doplnený mobilnou fázou po rysku. Zmes bola riadne pretrepaná a pre lepšie rozpustenie tablety umiestnená na 5 minút do ultrazvukovej vane. Zmes bola následne prefiltrovaná cez filtračný papier a získaný roztok bol pred dávkovaním do chromatografu ešte prefiltrovaný cez filter pre HPLC o veľkosti pórov 45 μm. Celá príprava bola prevedená s čo najmenším vystavením svetlu z dôvodu fotosenzibility niektorých vitamínov.

#### ▪ Príprava vzoriek šumivých multivitamínov

Tableta bola rozpustená v mobilnej fáze pozostávajúcou z metanolu a KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> bolo upravené na 7 za pomoci KOH) v pomere 10:90. Obsah bol kvantitatívne prevedený do 50 ml odmernej banky a doplnený mobilnou fázou po rysku. Zmes bola následne prefiltrovaná cez filtračný papier a získaný roztok bol pred dávkovaním do chromatografu ešte prefiltrovaný cez filter pre HPLC o veľkosti pórov 45 μm. Celá príprava bola prevedená s čo najmenším vystavením svetlu z dôvodu fotosenzibility niektorých vitamínov.

#### ▪ Příprava vzoriek Pangamin – pivovarské kvasnice

Tableta bola vložená do 50 ml odmernej banky spolu s 30 ml mobilnej fázy so zložením metanol a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  v pomere 10:90. Celkové pH mobilnej fázy bolo upravené na 7,7. Do banky boli pridané 2 ml 1% zmesi enzýmov *clara-diaféza*. Banka bola umiestnená do termostatu a kvasnice boli podrobené enzymatickej hydrolyze pri 25 °C po dobu 18 hodín. Po uplynutí doby bol pridaný azid sodný na umrtvenie všetkých živých buniek. Nasledovalo čírenie podľa Carreza, boli použité 3 ml Carrez I a 3 ml Carrez II. Odmerná banka bola doplnená po rysku a jej obsah bol dvakrát prefiltrovaný, cez bežný filtračný papier a filtračný papier s veľkosťou pórov 2  $\mu\text{m}$ . Pred dávkovaním do chromatografu bol získaný roztok ešte prefiltrovaný cez filter pre HPLC o veľkosti pórov 45  $\mu\text{m}$ . Celá príprava bola prevedená s čo najmenším vystavením svetlu z dôvodu fotosenzibility niektorých vitamínov.

#### 5.4.2 Stanovenie B-komplexu v doplnkoch stravy metódou HPLC

Z filtrátu pripraveného postupom uvedeným v kapitole 5.4.1 bol na stanovenie použitý alikvotný podiel 20  $\mu\text{l}$ . Elúcia prebehla izokraticky a prietok mobilnej fázy bol 0,8  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Zložkami mobilnej fázy sú metanol a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 7 upravené pomocou KOH) v pomere 10:90. Separácia bola prevedená v kolóne SUPELCOSIL LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ ), teplota termostatu kolóny pri meraní bola 30° C. Zvolená bola doba analýzy 20 minút. Detekcia vitamínov prebehla pomocou UV/VIS detektora pri vlnových dĺžkach 204 nm (vitamíny B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>) a 220 nm (vitamín B<sub>1</sub>). Meranie bolo vyhodnotené pomocou chromatografického systému ChemStation – Instrument 1 (Agilent Technologies, USA). Metodika bola overená metódou štandardného prídavku.

#### 5.4.3 Meranie kalibračných kriviek

Na meranie kalibračných kriviek boli použité štandardy vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> (Supelco, USA). Prvým krokom bola príprava zásobného roztoku štandardov vitamínov o koncentrácii 20  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Zo zásobného roztoku boli pripravené roztoky štandardov vitamínov B<sub>3</sub> a B<sub>6</sub> o koncentráciách 2, 4, 6, 8 a 10  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  a roztoky štandardov vitamínov B<sub>1</sub> a B<sub>5</sub> o koncentráciách 4, 6, 8, 10 a 12  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Analýza bola prevedená postupom uvedeným v kapitole 5.4.2. Zvolená bola doba analýzy 10 minút (vitamíny B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>) a 15 minút (vitamín B<sub>1</sub>).

## 6 VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 6.1 Testovanie metodiky stanovenia B-komplexu

Cieľom tejto diplomovej práce bolo nájsť vhodnú metódu na stanovenie B-komplexu v doplnkoch stravy. Vzhľadom k rozpustnosti B-vitamínov vo vode bola zvolená metóda chromatografie na reverznej fáze. Ako vhodné eluenty sa potom javia predovšetkým fosforečné a octanové pufrý. Z toho dôvodu bola zvolená mobilná fáza pozostávajúca z metanolu a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , ktorého pH bolo upravené na 7 pomocou KOH a bola použitá izokratická elúcia. Po vyskúšaní rôznych pomerov zložiek mobilnej fázy sa ako najvhodnejší javí pomer metanolu ku  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  10:90. Bola použitá UV detekcia a zvolené vlnové dĺžky 204, 220, 234, 250 a 270 nm. Najlepšia odozva bola zistená pri 204 nm a 220 nm. Separácia bola prevedená na kolóne SUPELCOSIL LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ ). Keďže sa pri daných podmienkach nepodarilo stanoviť vitamín  $\text{B}_2$ , bola vyskúšaná i kolóna SUPELCOSIL LC18 a použitá rovnaká mobilná fáza, no výsledok bol opäť negatívny. Priaznivejšie výsledky neprinesla ani zmena mobilnej fázy na zloženie metanol ku  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  20:90 s celkovým pH mobilnej fázy 6. Bolo však zistené, že taktiež použitie kolóny SUPELCOSIL LC18, s obidvomi typmi mobilnej fázy, je vhodné na stanovenie vitamínov  $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_3$ ,  $\text{B}_5$  a  $\text{B}_6$ . U doplnkov stravy s obsahom vitamínu C je taktiež možné simultánne stanoviť i vitamín C, čo bolo kvalitatívne dokázané nástrekom štandardu vitamínu C. Retenčné časy vitamínov, zistené pri zvolenej metóde, sú uvedené v nasledujúcej tabuľke (Tab. 2.). V tabletkách doplnkov stravy sa retenčný čas vitamínu  $\text{B}_1$  líšil (12,4 – 14,3 min.), pravdepodobne v závislosti na zložení výrobku.

Tab. 2. Retenčné časy vitamínov

	$\text{B}_1$	$\text{B}_3$	$\text{B}_5$	$\text{B}_6$
Retenčný čas [min]	14,2	4,6	3,0	3,7



## 6.2 Kalibračné krivky

Kalibračné krivky boli vytvorené ako závislosť plochy píku ( $\text{mA.V.s}^{-1}$ ), zmeranej podľa postupu uvedeného v kapitole 5.4.3, na koncentrácii vitamínu ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ). Výsledky meraní sú uvedené v nasledujúcich tabuľkách a grafoch.

Tab. 3. Kalibrácia vitamínu  $B_1$

Koncentrácia vitamínu $B_1$ [ $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ]	Plocha píku [ $\text{mA.V.s}^{-1}$ ]	Priemerná plocha píku [ $\text{mA.V.s}^{-1}$ ]
4	101,237	100,714
	101,289	
	99,921	
	100,407	
6	151,950	151,175
	148,761	
	153,177	
	150,810	
8	202,739	203,463
	204,486	
	203,729	
	202,896	
10	251,928	251,693
	250,515	
	254,402	
	249,927	
12	303,657	303,805
	307,568	
	300,329	
	303,667	

Tab. 4. Kalibrácia vitamínu B<sub>3</sub>

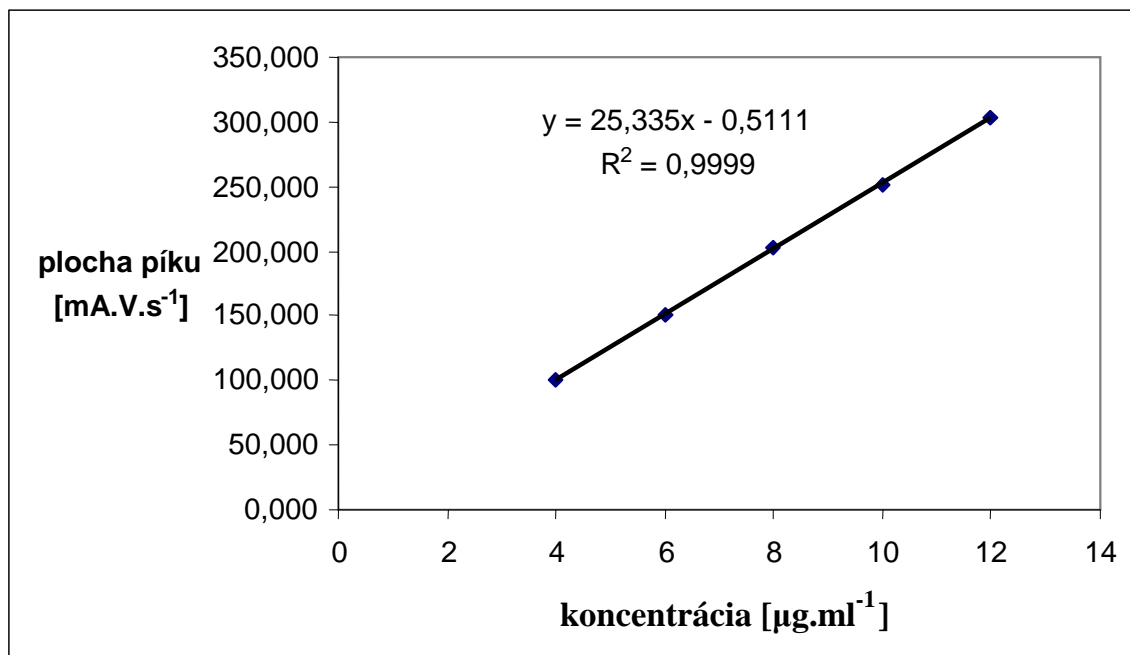
Koncentrácia vitamínu B <sub>3</sub> [μg.ml <sup>-1</sup> ]	Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Priemerná plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]
2	152,191	152,834
	153,393	
	152,008	
	153,743	
4	255,817	254,534
	253,992	
	252,777	
	255,549	
6	355,511	356,318
	357,723	
	359,140	
	352,896	
8	509,767	508,702
	506,150	
	509,693	
	509,197	
10	652,155	653,802
	656,617	
	650,614	
	655,821	

Tab. 5. Kalibrácia vitamínu B<sub>5</sub>

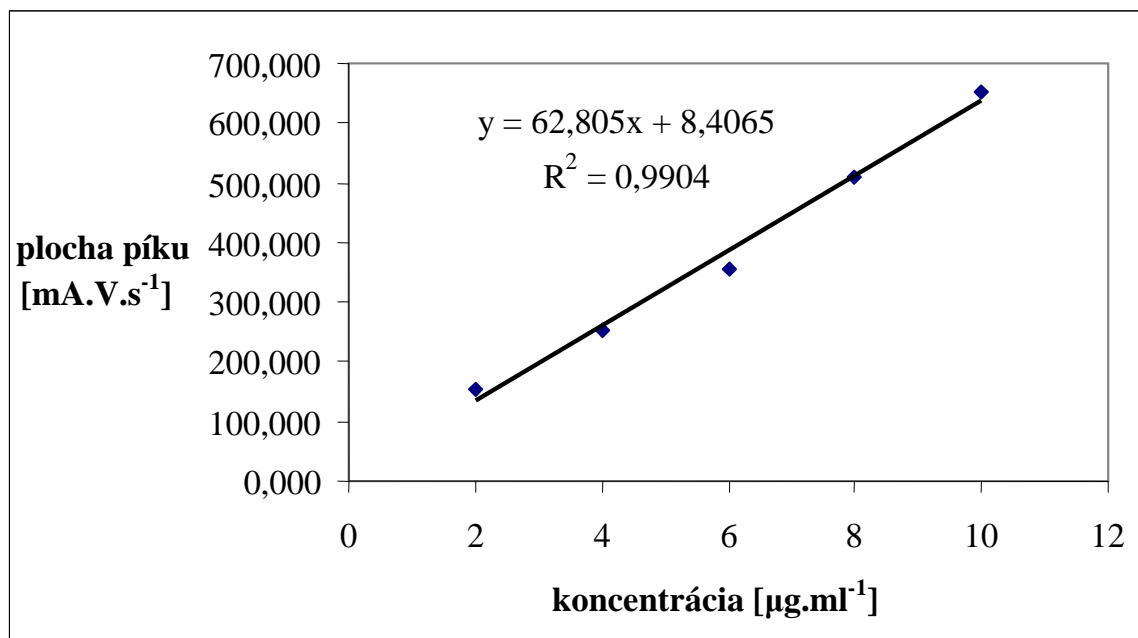
Koncentrácia vitamínu B <sub>5</sub> [μg.ml <sup>-1</sup> ]	Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Priemerná plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]
4	68,830	69,496
	70,657	
	69,567	
	68,932	
6	97,657	96,689
	96,015	
	94,407	
	98,676	
8	135,351	133,231
	136,599	
	131,134	
	129,839	
10	149,091	149,236
	143,979	
	150,206	
	153,666	
12	192,153	192,573
	192,124	
	193,028	
	192,987	

Tab. 6. Kalibrácia vitamínu B<sub>6</sub>

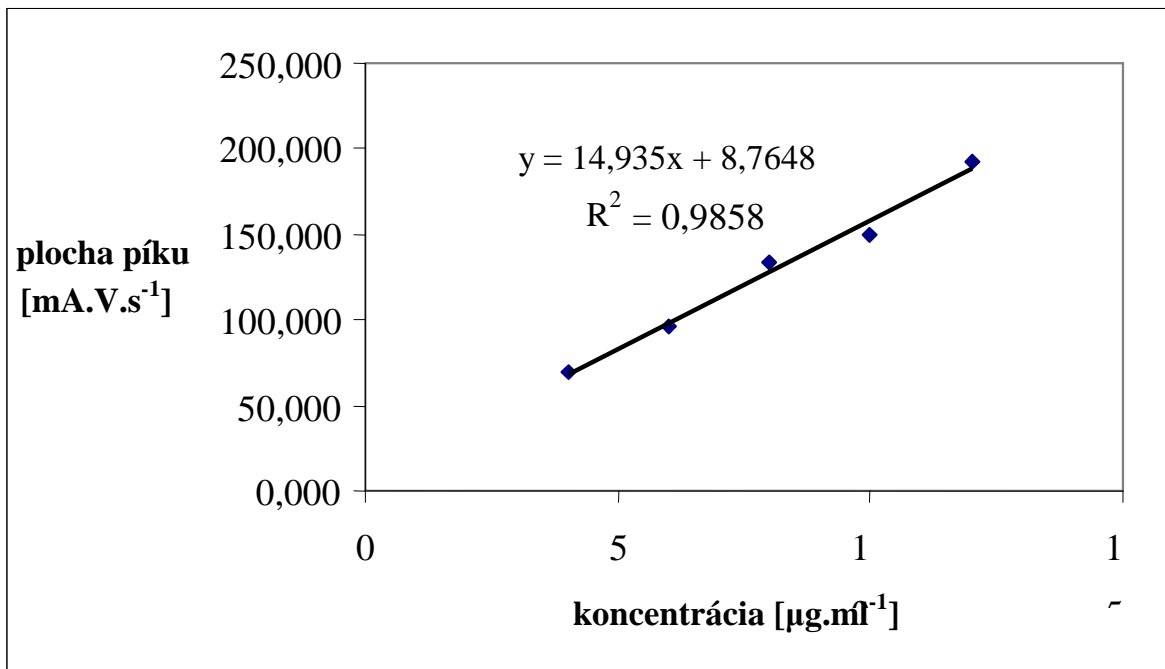
Koncentrácia vitamínu B <sub>6</sub> [μg.ml <sup>-1</sup> ]	Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Priemerná plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]
2	112,054	111,987
	112,410	
	111,752	
	111,733	
4	231,312	230,159
	228,318	
	232,250	
	228,755	
6	338,860	336,672
	337,362	
	333,051	
	337,416	
8	430,884	429,714
	432,478	
	425,026	
	430,469	
10	533,360	534,083
	529,845	
	537,941	
	535,186	



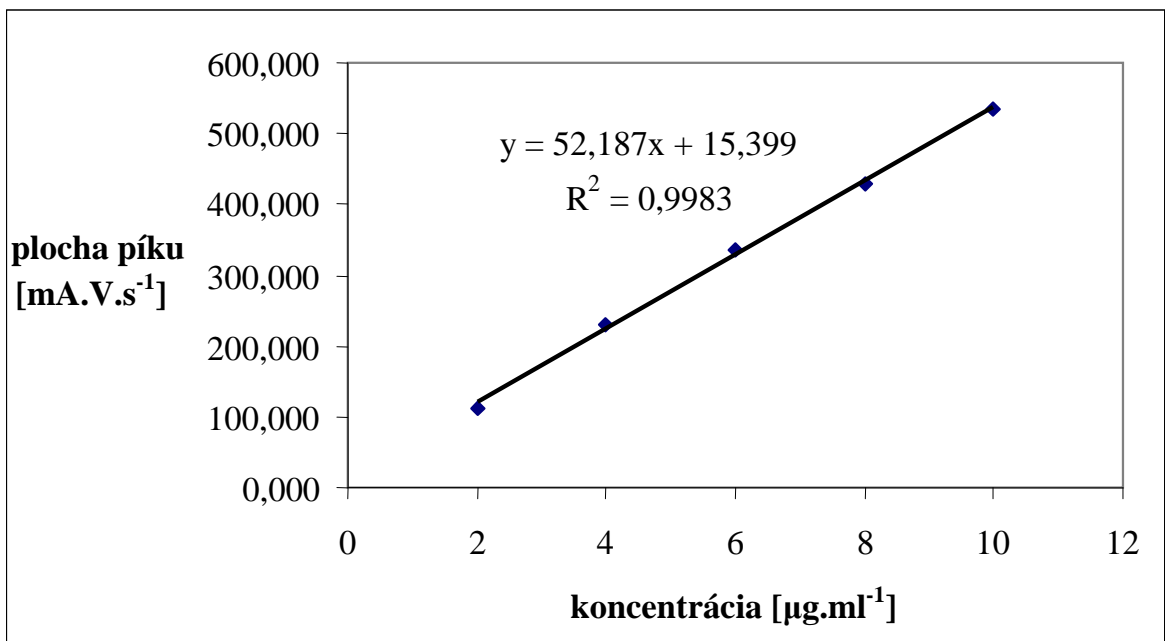
Obr. 7. Kalibrační krivka na stanovenie vitamínu B1 metódou HPLC



Obr. 8. Kalibrační krivka na stanovenie vitamínu B3 metódou HPLC



Obr. 9. Kalibrační krivka na stanovenie vitamínu B<sub>5</sub> metódou HPLC



Obr. 10. Kalibrační krivka na stanovenie vitamínu B<sub>6</sub> metódou HPLC

### 6.3 Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> v tabletách B-komplex

Na základe pätnástich meraní bola stanovená priemerná hmotnosť tabliet B-komplex. Vzorky boli pripravené podľa postupu v kapitole 5.4.1. Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> bolo prevedené podľa postupu uvedenom v kapitole 5.4.2 v piatich rôznych tabletách a každá tableta bola trikrát premeraná. Na základe získaných plôch píkov boli pomocou rovníc kalibračných kriviek zistené koncentrácie ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) uvedených vitamínov v tabletách B-komplex.

Tab. 7. Hmotnosť tabliet B-komplex

Tableta	Hmotnosť [g]	Tableta	Hmotnosť [g]
1	0,1071	9	0,1087
2	0,1037	10	0,1053
3	0,1052	11	0,1039
4	0,0955	12	0,1007
5	0,1011	13	0,1001
6	0,1050	14	0,1049
7	0,0978	15	0,1122
8	0,1088		

Tab. 8. Priemerná hmotnosť tablety B-komplex

Priemerná hmotnosť tablety [g]	Smerodajná odchýlka [g]
0,1040	0,0043

**Priemerná hmotnosť tablety B-komplex:  $0,1040 \pm 0,0301$  g ( $\alpha = 0,05$ )**

Tab. 9. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2552,20	100,758	2,519
2550,71	100,699	2,517
2530,95	99,920	2,498

Tab. 10. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,511	0,010

**Obsah B<sub>1</sub>: 2,511 ± 0,007 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 11. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
44711,90	711,782	17,795
44752,80	712,434	17,811
44864,10	714,206	17,855

Tab. 12. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
17,820	0,026

**Obsah B<sub>3</sub>: 17,820 ± 0,018 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**



Tab. 13. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1697,35	113,062	2,827
1677,52	111,735	2,793
1683,08	112,107	2,803

Tab. 14. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,808	0,014

**Obsah B<sub>5</sub>: 2,808 ± 0,010 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 15. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1259,09	23,831	0,596
1246,20	23,584	0,590
1224,95	23,177	0,579

Tab. 16. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,588	0,007

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,588 ± 0,005 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 17. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2595,07	102,450	2,561
2627,76	103,741	2,594
2616,38	103,292	2,582

Tab. 18. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,579	0,013

Obsah B<sub>1</sub>: 2,579 ± 0,009 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 19. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
45444,70	723,450	18,086
45381,50	722,444	18,061
45848,00	729,872	18,247

Tab. 20. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
18,131	0,082

Obsah B<sub>3</sub>: 18,131 ± 0,057 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 21. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1845,72	122,997	3,075
1833,59	122,184	3,055
1858,50	123,852	3,096

Tab. 22. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,075	0,017

**Obsah B<sub>5</sub>: 3,075 ± 0,012 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 23. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1441,63	27,329	0,683
1404,26	26,613	0,665
1384,35	26,232	0,656

Tab. 24. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,668	0,011

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,668 ± 0,008 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 25 . Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2655,51	104,836	2,621
2693,33	106,329	2,658
2627,78	103,742	2,594

Tab. 26. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,624	0,027

**Obsah B<sub>1</sub>: 2,624 ± 0,019 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 27. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
45887,80	730,505	18,263
45694,70	727,431	18,186
45618,50	726,218	18,155

Tab. 28. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
18,201	0,045

**Obsah B<sub>3</sub>: 18,201 ± 0,031 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 29. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1916,11	127,710	3,193
1968,55	131,221	3,281
1938,23	129,191	3,230

Tab. 30. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,234	0,036

**Obsah B<sub>5</sub>: 3,234 ± 0,025 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 31. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1431,87	27,142	0,679
1413,26	26,786	0,670
1397,42	26,482	0,662

Tab. 32. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,670	0,007

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,670 ± 0,005 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 33. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2621,15	103,480	2,587
2604,60	102,827	2,571
2611,20	103,087	2,577

Tab. 34. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,578	0,007

Obsah B<sub>1</sub>: 2,578 ± 0,005 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 35. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
44975,00	715,972	17,899
44771,00	712,723	17,818
44781,90	712,897	17,822

Tab. 36. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
17,847	0,037

Obsah B<sub>3</sub>: 17,847 ± 0,026 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 37. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1716,22	114,326	2,858
1741,44	116,014	2,900
1793,27	119,485	2,987

Tab. 38. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,915	0,054

**Obsah B<sub>5</sub>: 2,915 ± 0,038 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 39. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 4. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1232,64	23,325	0,583
1295,47	24,529	0,613
1272,50	24,088	0,602

Tab. 40. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 4. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,600	0,012

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,600 ± 0,008 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 41. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2674,49	105,585	2,640
2673,19	105,534	2,638
2640,27	104,235	2,606

Tab. 42. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,628	0,016

**Obsah B<sub>1</sub>: 2,628 ± 0,011 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 43. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
45375,30	722,345	18,059
45170,70	719,088	17,977
45524,10	724,714	18,118

Tab. 44. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
18,051	0,058

**Obsah B<sub>3</sub>: 18,051 ± 0,040 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**



Tab. 45. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1858,72	123,867	3,097
1818,61	121,181	3,030
1855,28	123,637	3,091

Tab. 46. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,072	0,030

**Obsah B<sub>5</sub>: 3,072 ± 0,021 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 47. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 5. tablete B-komplex

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1371,80	25,991	0,650
1402,99	26,589	0,665
1396,63	26,467	0,662

Tab. 48. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 5. tablete B-komplex

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,659	0,006

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,659 ± 0,004 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 49. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete B-komplex získané z analýzy 5 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom

Vitamín	Priemerný obsah vitamínu [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Obsah vitamínu uvedený výrobcom [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
B <sub>1</sub>	2,584	0,042	2,000
B <sub>3</sub>	18,010	0,152	20,000
B <sub>5</sub>	3,021	0,147	3,000
B <sub>6</sub>	0,637	0,036	1,000

Priemerná hmotnosť tablety B-komplex je  $0,1040 \pm 0,0301$  g ( $\alpha = 0,05$ ). Nameraná hodnota obsahu tiamínu v 1 tablete B-komplex  $2,584 \pm 0,076$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ) je o 29,2 % vyššia v porovnaní s hodnotou uvedenou výrobcom. Mierne vyššia hodnota než udaná výrobcom (o 0,7 %) bola nameraná i u kyseliny pantoténovej, a to  $3,021 \pm 0,264$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ). Dôvodom je pravdepodobne vyšší obsah vitamínov pridaný výrobcom z dôvodu zabezpečenia uvedených hodnôt obsahu vitamínov až do dátumu expirácie. Nameraný obsah niacínu v tablete B-komplex je  $18,010 \pm 0,274$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ) a pyridoxínu  $0,637 \pm 0,065$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ). Tieto hodnoty sú nižšie než uvádza výrobca - u niacínu o 10 %, u pyridoxínu až o 36,3 %, čo je pravdepodobne dôsledkom deštrukcie vitamínov pri skladovaní alebo manipulácii s tabletami pri analýze, prípadným nedokonalým rozpustením tablety pri analýze a zachytením vitamínov na nerozpustených časticiach tablety.

#### 6.4 Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> v tabletách B-komplex + vitamín C

Na základe dvadsiatich meraní bola stanovená priemerná hmotnosť tabliet B-komplex s vitamínom C. Vzorky boli pripravené podľa postupu v kapitole 5.4.1. Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> bolo prevedené podľa postupu uvedenom v kapitole 5.4.2 v piatich rôznych tabletách a každá tableta bola trikrát premeraná. Na základe získaných plôch píkov boli pomocou rovníc kalibračných kriviek zistené koncentrácie ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) uvedených vitamínov v tabletách B-komplex s vitamínom C.

Tab. 50. Hmotnosť tabliet B-komplex + vitamín C

Tableta	Hmotnosť [g]	Tableta	Hmotnosť [g]
1	0,3282	11	0,3320
2	0,3318	12	0,3330
3	0,3313	13	0,3340
4	0,3333	14	0,3326
5	0,3325	15	0,3321
6	0,3320	16	0,3339
7	0,3329	17	0,3356
8	0,3319	18	0,3305
9	0,3330	19	0,3350
10	0,3330	20	0,3348

Tab. 51. Priemerná hmotnosť tablety B-komplex + vitamín C

Priemerná hmotnosť tablety [g]	Smerodajná odchýlka [g]
0,3327	0,0016

**Priemerná hmotnosť tablety B-komplex + vitamín C:  $0,3327 \pm 0,0153$  g ( $\alpha = 0,05$ )**

Tab. 52. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1524,54	60,195	1,505
1553,32	61,331	1,533
1537,85	60,721	1,518

Tab. 53. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,519	0,012

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,519 ± 0,008 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 54. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
21965,80	349,612	8,740
22094,00	351,653	8,791
22090,00	351,590	8,790

Tab. 55. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8,774	0,024

**Obsah B<sub>3</sub>: 8,774 ± 0,017 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 56. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [μg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2914,39	194,551	4,864
2892,43	193,081	4,827
2871,38	191,672	4,792

Tab. 57. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
4,828	0,029

**Obsah B<sub>5</sub>: 4,828 ± 0,020 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 58. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [μg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1103,81	43,589	1,090
1108,93	43,791	1,095
1131,78	44,693	1,117

Tab. 59. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,101	0,012

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,101 ± 0,008 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 60. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
20177,30	321,135	8,028
20417,50	324,960	8,124
20400,60	324,691	8,117

Tab. 61. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8,090	0,044

**Obsah B<sub>3</sub>: 8,090 ± 0,031 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 62. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2440,70	162,835	4,071
2408,53	160,681	4,017
2613,32	174,393	4,360

Tab. 63. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
4,149	0,151

**Obsah B<sub>5</sub>: 4,149 ± 0,105 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 64. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1194,55	47,170	1,179
1174,75	46,389	1,160
1174,94	46,396	1,160

Tab. 65. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,166	0,009

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,166 ± 0,006 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 66. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
21652,80	344,629	8,616
21478,30	341,850	8,546
21684,70	345,136	8,628

Tab. 67. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8,597	0,036

**Obsah B<sub>3</sub>: 8,597 ± 0,025 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 68. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2684,50	179,159	4,479
2847,50	190,073	4,752
2894,33	193,208	4,830

Tab. 69. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
4,687	0,151

**Obsah B<sub>5</sub>: 4,687 ± 0,105 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 70. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1173,45	46,338	1,158
1099,35	43,413	1,085
1163,59	45,948	1,149

Tab. 71. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,131	0,032

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,131 ± 0,022 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**



Tab. 72. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [μg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
20596,20	327,805	8,195
20677,80	329,104	8,228
20700,80	329,470	8,237

Tab. 73. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8,220	0,018

**Obsah B<sub>3</sub>: 8,220 ± 0,013 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 74. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [μg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2690,90	179,587	4,490
2687,16	179,337	4,483
2662,19	177,665	4,442

Tab. 75. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
4,472	0,021

**Obsah B<sub>5</sub>: 4,472 ± 0,015 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 76. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1301,20	51,380	1,284
1348,23	53,236	1,331
1375,80	54,324	1,358

Tab. 77. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,325	0,030

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,325 ± 0,021 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 78. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
21572,50	343,350	8,584
22699,70	361,298	9,032
21850,00	347,768	8,694

Tab. 79. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8,770	0,191

**Obsah B<sub>3</sub>: 8,770 ± 0,133 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 80. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2672,30	178,342	4,459
2970,34	198,298	4,957
3034,72	202,608	5,065

Tab. 810. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
4,827	0,264

**Obsah B<sub>5</sub>: 4,827 ± 0,184 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 82. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete B-komplex + vitamín C získané z analýzy 5 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom

Vitamín	Priemerný obsah vitamínu [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Obsah vitamínu uvedený výrobcom [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
B <sub>1</sub>	1,248	0,156	1,800
B <sub>3</sub>	8,490	0,284	7,000
B <sub>5</sub>	4,592	0,090	4,600

Priemerná hmotnosť tablety B-komplex + vitamín C je 0,3327 ± 0,0153 g (α = 0,05). Nameraná hodnota obsahu tiamínu v 1 tablete B-komplex + vitamín C 1,248 ± 0,281 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05) je o 30,7 % nižšia v porovnaní s hodnotou uvedenou výrobcom, čo je pravdepodobne výsledkom značnej nestability tohto vitamínu. Hodnota vyššia než udaná výrobcom (o 21,3 %) bola nameraná u niacínu, a to 8,490 ± 0,512 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05). Dôvodom je pravdepodobne vyšší obsah vitamínu pridaný výrobcom z dôvodu zabezpečenia uvedenej hodnoty obsahu vitamínu až do dátumu expirácie, kombinovaný so značnou

stabilitou tohto vitamínu.. Nameraný obsah kyseliny pantoténovej v 1 tablete B-komplex + vitamín C  $4,592 \pm 0,162 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ) približne hodnote uvedenej výrobcom. Vitamín B<sub>6</sub> nie je možné pri daných podmienkach v tablete stanoviť. Dôvodom je nedostatočné oddelenie píku pyridoxínu s retenčným časom 3,7 min. od píku neznámej látky s retenčným časom 3,4 min. Prítomnosť vitamínu C bola kvalitatívne dokázaná nastreknutím jeho štandardu.

## 6.5 Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> v tabletách Energit multi

Na základe dvadsiatich meraní bola stanovená priemerná hmotnosť tabliet Energit multi. Vzorky boli pripravené podľa postupu v kapitole 5.4.1. Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> bolo prevedené podľa postupu uvedenom v kapitole 5.4.2 v piatich rôznych tabletách a každá tableta bola trikrát premeraná. Na základe získaných plôch píkov boli pomocou rovníc kalibračných kriviek zistené koncentrácie ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) uvedených vitamínov v tabletách Energit multi.

Tab. 83. Hmotnosť tabliet Energit multi

Tableta	Hmotnosť [g]	Tableta	Hmotnosť [g]
1	0,9972	11	1,0164
2	0,9879	12	0,9913
3	0,9938	13	0,9897
4	0,9936	14	1,0092
5	1,0030	15	0,9988
6	0,9942	16	0,9982
7	0,9990	17	1,0108
8	1,0114	18	1,0010
9	1,0049	19	0,9916
10	1,0004	20	1,0080

Tab. 84. Priemerná hmotnosť tablety Energit multi

Priemerná hmotnosť tablety [g]	Smerodajná odchýlka [g]
1,0000	0,0078

**Priemerná hmotnosť tablety Energit multi:  $1,0000 \pm 0,0745$  g ( $\alpha = 0,05$ )**

Tab. 85. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
454,13	17,945	0,449
455,95	18,017	0,450
392,41	15,509	0,388

Tab. 86. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,429	0,029

**Obsah B<sub>1</sub>: 0,429 ± 0,020 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 87. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 1. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8973,93	142,752	3,569
8983,83	142,909	3,573
8408,08	133,742	3,344

Tab. 88. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 1. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,495	0,107

**Obsah B<sub>3</sub>: 3,495 ± 0,075 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 89. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1096,77	72,849	1,821
1092,16	72,541	1,814
1055,43	70,081	1,752

Tab. 90. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,796	0,031

**Obsah B<sub>5</sub>: 1,796 ± 0,022 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 91. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1261,71	23,882	0,597
1254,78	23,749	0,594
1271,44	24,068	0,602

Tab. 92. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,597	0,003

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,597 ± 0,002 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 93. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
461,90	18,252	0,456
458,37	18,113	0,453
421,15	16,644	0,416

Tab. 94. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,442	0,018

**Obsah B<sub>1</sub>: 0,442 ± 0,013 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 95. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 2. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8953,63	142,429	3,561
8915,92	141,828	3,546
8961,04	142,547	3,564

Tab. 96. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 2. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,557	0,008

**Obsah B<sub>3</sub>: 3,557 ± 0,006 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**



Tab. 97. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1047,34	69,540	1,738
1086,30	72,148	1,804
1080,34	71,749	1,794

Tab. 98. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,779	0,029

**Obsah B<sub>5</sub>: 1,779 ± 0,020 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 99. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1268,94	24,020	0,601
1391,25	26,364	0,659
1291,31	24,449	0,611

Tab. 100. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,624	0,025

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,624 ± 0,017 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 101. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
449,76	17,773	0,444
447,19	17,671	0,442
478,76	18,917	0,473

Tab. 102. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,453	0,014

Obsah B<sub>1</sub>: 0,453 ± 0,010 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 103. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 3. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
10079,50	160,355	4,009
10072,40	160,242	4,006
9004,63	143,241	3,581

Tab. 104. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 3. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,865	0,201

Obsah B<sub>3</sub>: 3,865 ± 0,140 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 105. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1203,88	80,021	2,001
1166,83	77,540	1,939
1140,62	75,785	1,895

Tab. 106. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,945	0,043

**Obsah B<sub>5</sub>: 1,945 ± 0,030 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 107. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1489,37	28,244	0,706
1358,41	25,735	0,643
1242,24	23,509	0,588

Tab. 108. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,646	0,048

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,646 ± 0,033 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 109. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 4. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
436,19	17,237	0,431
391,02	15,454	0,386
425,92	16,832	0,421

Tab. 110. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 4. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,413	0,019

**Obsah B<sub>1</sub>: 0,413 ± 0,013 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 111. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 4. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8527,64	135,646	3,391
8555,31	136,086	3,402
8875,16	141,179	3,529

Tab. 112. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 4. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,441	0,063

**Obsah B<sub>3</sub>: 3,441 ± 0,043 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 113. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 4. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1004,72	66,686	1,667
1011,18	67,119	1,678
1017,73	67,557	1,689

Tab. 114. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 4. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,678	0,009

Obsah B<sub>5</sub>: 1,678 ± 0,006 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 115. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 4. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1250,73	23,671	0,592
1177,98	22,277	0,557
1270,69	24,054	0,601

Tab. 116. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 4. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,583	0,019

Obsah B<sub>6</sub>: 0,583 ± 0,013 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 117. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 5. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
381,14	15,064	0,377
471,47	18,629	0,466
435,14	17,196	0,430

Tab. 118. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 5. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,424	0,037

Obsah B<sub>1</sub>: 0,424 ± 0,026 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 119. Obsah vitamínu B<sub>3</sub> v 5. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>3</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
8559,01	136,145	3,404
8648,35	137,568	3,439
8753,37	139,240	3,481

Tab. 120. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>3</sub> v 5. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>3</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
3,441	0,032

Obsah B<sub>3</sub>: 3,441 ± 0,022 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 121. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 5. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1030,12	68,387	1,710
1102,00	73,200	1,830
1102,09	73,206	1,830

Tab. 122. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 5. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,790	0,057

**Obsah B<sub>5</sub>: 1,790 ± 0,040 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 123. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 5. tablete Energít multi

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1205,34	22,801	0,570
1286,51	24,357	0,609
1207,98	22,852	0,571

Tab. 124. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 5. tablete Energít multi

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,583	0,018

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,583 ± 0,013 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 125. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete Energit multi získané z analýzy 5 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom

Vitamín	Priemerný obsah vitamínu [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Obsah vitamínu uvedený výrobcom [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
B <sub>1</sub>	0,432	0,014	0,462
B <sub>3</sub>	3,560	0,159	5,940
B <sub>5</sub>	1,797	0,085	1,980
B <sub>6</sub>	0,607	0,024	0,660

Priemerná hmotnosť tabliet Energit multi je  $1,0000 \pm 0,0745$  g ( $\alpha = 0,05$ ). V 1 tablete Energit multi bol zistené nasledujúce hodnoty obsahu jednotlivých vitamínov: tiamín  $0,432 \pm 0,025$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ), niacín  $3,560 \pm 0,286$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ), kyselina pantoténová  $1,797 \pm 0,153$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ) a pyridoxín  $0,607 \pm 0,043$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ). Zistené hodnoty sa pohybujú nad 90 % obsahu udaného výrobcom, výnimkou je niacín, u ktorého zistená hodnota predstavuje len 59,9 % obsahu uvedeného výrobcom. Vzhľadom k jeho stabilite je pravdepodobné nedokonalé rozpustenie tablety a zachytenie časti niacínu na nerozpustených časticiach tablety. Prítomnosť vitamínu C bola dokázaná kvalitatívne nastreknutím jeho štandardu.



## 6.6 Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> v tabletách šumivého multivitamínu s minerálmi

Na základe pätnástich meraní bola stanovená priemerná hmotnosť tabliet. Vzorky boli pripravené podľa postupu v kapitole 5.4.1. Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> bolo prevedené podľa postupu uvedenom v kapitole 5.4.2 v troch rôznych tabletách a každá tableta bola trikrát premeraná. Na základe získaných plôch píkov boli pomocou rovníc kalibračných kriviek zistené koncentrácie ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) uvedených vitamínov v tabletách.

Tab. 126. Hmotnosť tabliet multivitamínu

Tableta	Hmotnosť [g]	Tableta	Hmotnosť [g]
1	2,6749	9	2,6692
2	2,6600	10	2,6782
3	2,6862	11	2,6710
4	2,6637	12	2,6323
5	2,6517	13	2,6707
6	2,6694	14	2,6639
7	2,6798	15	2,6564
8	2,6516		

Tab. 127. Priemerná hmotnosť tablety multivitamínu

Priemerná hmotnosť tablety [g]	Smerodajná odchýlka [g]
2,6653	0,0131

**Priemerná hmotnosť tablety multivitamínu:  $2,6653 \pm 0,0916$  g ( $\alpha = 0,05$ )**

Tab. 128. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete multivitamínu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
859,04	33,927	1,696
840,43	33,193	1,660
828,68	32,729	1,636

Tab. 129. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete multivitamínu

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,664	0,025

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,664 ± 0,017 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 130. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete multivitamínu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1809,97	120,603	6,030
1820,23	121,290	6,064
1811,76	120,723	6,036

Tab. 131. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete multivitamínu

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
6,044	0,015

**Obsah B<sub>5</sub>: 6,044 ± 0,010 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 132. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete multivitamínu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2478,52	47,198	2,360
2502,18	47,651	2,383
2487,61	47,372	2,369

Tab. 133. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete multivitamínu

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,370	0,009

**Obsah B<sub>6</sub>: 2,370 ± 0,006 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 134. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete multivitamínu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
862,10	34,048	1,702
858,68	33,913	1,696
865,02	34,164	1,708

Tab. 135. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete multivitamínu

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,702	0,005

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,702 ± 0,003 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 136. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1754,79	116,908	5,845
1810,41	120,632	6,032
1888,33	125,850	6,292

Tab. 137. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
6,057	0,183

**Obsah B<sub>5</sub>: 6,057 ± 0,128 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 138. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2422,54	46,125	2,306
2578,75	49,119	2,456
2548,84	48,545	2,427

Tab. 139. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,396	0,065

**Obsah B<sub>6</sub>: 2,396 ± 0,045 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 140. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
871,45	34,417	1,721
869,23	34,330	1,716
868,24	34,291	1,715

Tab. 141. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,717	0,003

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,717 ± 0,002 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 142. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1883,57	125,531	6,277
1938,97	129,240	6,462
1878,94	125,221	6,261

Tab. 143. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
6,333	0,091

**Obsah B<sub>5</sub>: 6,333 ± 0,063 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 144. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2544,3	48,458	2,423
2553,08	48,627	2,431
2495,88	47,531	2,377

Tab. 145. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,410	0,024

**Obsah B<sub>6</sub>: 2,410 ± 0,016 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 146. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 šumivej tablete multivitamínu získané z analýzy 3 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom

Vitamín	Priemerný obsah vitamínu [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Obsah vitamínu uvedený výrobcom [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
B <sub>1</sub>	1,695	0,022	1,400
B <sub>5</sub>	6,144	0,134	6,000
B <sub>6</sub>	2,392	0,017	2,000

Priemerná hmotnosť šumivej tablety multivitamínu je 2,6653 ± 0,0916 g (α = 0,05). Bol nameraný obsah tiamínu 1,695 ± 0,015 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05), kyseliny pantoténovej 6,144 ± 0,093 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05) a obsah pyridoxínu 2,392 ± 0,012 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05). Získané hodnoty predstavujú 100 – 120 % hodnoty uvedenej výrobcom. Vitamín B<sub>3</sub> nie je možné pri daných podmienkach v tablete stanoviť. Dôvodom je nedostatočné oddelenie píku niacínu s retenčným časom 4,5 min. od píku neznámej látky s retenčným časom 4,8 min. Zo zloženia vitamínu bolo možné usudzovať, že látkou s retenčným časom

4,8 by mohol byť  $\beta$ -karotén alebo kyselina citrónová, no nástrekom ich štandardov za daných podmienok tento predpoklad nebol dokázaný. Prítomnosť vitamínu C bola kvalitatívne dokázaná nástreknutím jeho štandardu.

## 6.7 Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> v tabletách šumivého multivitamínu

Na základe pätnástich meraní bola stanovená priemerná hmotnosť tabliet multivitamínu. Vzorky boli pripravené podľa postupu v kapitole 5.4.1. Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> bolo prevedené podľa postupu uvedenom v kapitole 5.4.2 v troch rôznych tabletách a každá tableta bola trikrát premeraná. Na základe získaných plôch píkov boli pomocou rovníc kalibračných kriviek zistené koncentrácie ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) uvedených vitamínov v tabletách šumivého multivitamínu.

Tab. 147. Hmotnosť tabliet multivitamínu

Tableta	Hmotnosť [g]	Tableta	Hmotnosť [g]
1	4,4901	9	4,4963
2	4,4975	10	4,5228
3	4,5384	11	4,4982
4	4,5114	12	4,5052
5	4,4807	13	4,5212
6	4,5450	14	4,4991
7	4,5338	15	4,5212
8	4,5472		

Tab. 148. Priemerná hmotnosť tablety multivitamínu

Priemerná hmotnosť tablety [g]	Smerodajná odchýlka [g]
4,5139	0,0201

**Priemerná hmotnosť tablety multivitamínu:  $4,5139 \pm 0,1405$  g ( $\alpha = 0,05$ )**



Tab. 149. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
846,70	33,440	1,672
844,21	33,342	1,667
840,49	33,195	1,660

Tab. 150. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 1. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,666	0,005

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,666 ± 0,003 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 151. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
715,64	47,330	2,367
700,69	46,329	2,316
699,92	46,277	2,314

Tab. 152. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,332	0,024

**Obsah B<sub>5</sub>: 2,332 ± 0,016 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 153. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2140,05	40,712	2,036
2172,68	41,338	2,067
2159,25	41,080	2,054

Tab. 154. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,052	0,013

**Obsah B<sub>6</sub>: 2,052 ± 0,009 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 155. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
868,76	34,311	1,716
819,98	32,386	1,619
859,56	33,948	1,697

Tab. 156. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 2. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,677	0,042

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,677 ± 0,029 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 157. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
715,93	47,349	2,367
683,91	45,206	2,260
721,37	47,714	2,386

Tab. 158. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,338	0,055

Obsah B<sub>5</sub>: 2,338 ± 0,038 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 159. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2228,91	42,415	2,121
2178,00	41,439	2,072
2134,73	40,610	2,031

Tab. 160. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,074	0,037

Obsah B<sub>6</sub>: 2,074 ± 0,026 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 161. Obsah vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>1</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
879,28	34,726	1,736
886,52	35,012	1,751
859,67	33,952	1,698

Tab. 162. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>1</sub> v 3. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>1</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,728	0,022

**Obsah B<sub>1</sub>: 1,728 ± 0,015 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 163. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete multivitaminu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
716,91	47,415	2,371
731,95	48,422	2,421
733,43	48,521	2,426

Tab. 164. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete multivitaminu

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,406	0,025

**Obsah B<sub>5</sub>: 2,406 ± 0,017 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 165. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2198,52	41,833	2,092
2168,26	41,253	2,063
2193,55	41,737	2,087

Tab. 166. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
2,080	0,013

**Obsah B<sub>6</sub>: 2,080 ± 0,009 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 167. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 šumivej tablete multivitamínu získané z analýzy 3 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom

Vitamín	Priemerný obsah vitamínu [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Obsah vitamínu uvedený výrobcom [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
B <sub>1</sub>	1,691	0,027	1,400
B <sub>5</sub>	2,359	0,034	6,000
B <sub>6</sub>	2,069	0,012	2,000

Priemerná hmotnosť šumivej tablety multivitamínu je  $4,5139 \pm 0,1405$  g ( $\alpha = 0,05$ ). Bol nameraný obsah tiamínu  $1,691 \pm 0,019$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ), kyseliny pantoténovej  $2,359 \pm 0,024$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ) a obsah pyridoxínu  $2,069 \pm 0,008$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ). Zistený obsah tiamínu a pyridoxínu je vyšší než je deklarované výrobcom. Naopak, obsah kyseliny pantoténovej predstavuje len 39 % hodnoty uvedenej výrobcom. Zistený nízky obsah ja pravdepodobne následkom predovšetkým nedokonalým rozpúšťaním tabliet a zachytávaním ich molekúl na stenách nádob pravdepodobne i s časťou vitamínov,

prípadne i nešetrnosťou skladovania či manipulácie s výrobkom. Vitamín B<sub>3</sub> nie je možné pri daných podmienkach v tablete stanoviť. Dôvodom je nedostatočné oddelenie píku niacínu s retenčným časom 4,5 min. od píku neznámej látky s retenčným časom 4,8 min. Zo zloženia vitamínu bolo možné usudzovať, že látkou s retenčným časom 4,8 by mohol byť  $\beta$ -karotén alebo kyselina citrónová, no nástrekom ich štandardov za daných podmienok tento predpoklad nebol dokázaný. Prítomnosť vitamínu C bola dokázaná nástreknutím jeho štandardu.

## 6.8 Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> v tabletách Pangamin – pivovarské kvasnice

Na základe dvadsiatich meraní bola stanovená priemerná hmotnosť tabliet Pangamin. Vzorky boli pripravené podľa postupu v kapitole 5.4.1. Stanovenie obsahu vitamínov B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> a B<sub>6</sub> bolo prevedené podľa postupu uvedenom v kapitole 5.4.2 v troch rôznych tabletách a každá tableta bola trikrát premeraná. Na základe získaných plôch píkov boli pomocou rovníc kalibračných kriviek zistené koncentrácie ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) uvedených vitamínov v tabletách Pangamin.

Tab. 168. Hmotnosť tabliet Pangamin

Tableta	Hmotnosť [g]	Tableta	Hmotnosť [g]
1	0,4546	11	0,4621
2	0,4446	12	0,4528
3	0,4459	13	0,4469
4	0,4537	14	0,4534
5	0,4549	15	0,4481
6	0,4555	16	0,4503
7	0,4540	17	0,4508
8	0,4571	18	0,4515
9	0,4516	19	0,4590
10	0,4581	20	0,4473

Tab. 169. Priemerná hmotnosť tablety Pangamin

Priemerná hmotnosť tablety [g]	Smerodajná odchýlka [g]
0,4526	0,0045

**Priemerná hmotnosť tablety Pangamin:  $0,5426 \pm 0,0043$  g ( $\alpha = 0,05$ )**

Tab. 170. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete Pangamin

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
478,70	31,465	1,573
485,58	31,926	1,596
479,07	31,490	1,575

Tab. 171. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 1. tablete Pangamin

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,581	0,011

Obsah B<sub>5</sub>: 1,581 ± 0,008 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)

Tab. 172. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete Pangamin

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
404,28	7,452	0,373
427,04	7,888	0,394
416,27	7,681	0,384

Tab. 173. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 1. tablete Pangamin

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,384	0,006

Obsah B<sub>6</sub>: 0,384 ± 0,004 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)



Tab. 174. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete Pangamin

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
384,63	25,167	1,258
389,64	25,502	1,275
381,96	24,988	1,249

Tab. 175. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 2. tablete Pangamin

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,261	0,011

**Obsah B<sub>5</sub>: 1,261 ± 0,008 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 176. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete Pangamin

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
411,81	7,596	0,380
403,77	7,442	0,372
415,97	7,676	0,384

Tab. 177. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 2. tablete Pangamin

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,379	0,005

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,379 ± 0,003 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 178. Obsah vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete Pangamin

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>5</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
381,99	24,990	1,250
376,21	24,603	1,230
367,40	24,013	1,201

Tab. 179. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>5</sub> v 3. tablete Pangamin

Priemerná koncentrácia B <sub>5</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
1,227	0,020

**Obsah B<sub>5</sub>: 1,227 ± 0,014 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 180. Obsah vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete Pangamin

Plocha píku [mA.V.s <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [µg.ml <sup>-1</sup> ]	Koncentrácia B <sub>6</sub> [ mg.tableta <sup>-1</sup> ]
341,49	6,248	0,312
347,47	6,363	0,318
335,50	6,134	0,307

Tab. 181. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B<sub>6</sub> v 3. tablete Pangamin

Priemerná koncentrácia B <sub>6</sub> [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
0,312	0,005

**Obsah B<sub>6</sub>: 0,312 ± 0,003 mg.tableta<sup>-1</sup> (α = 0,05)**

Tab. 182. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete  
Pangamin získané z analýzy 3 tabliet

Vitamín	Priemerný obsah vitamínu [mg.tableta <sup>-1</sup> ]	Smerodajná odchýlka [mg.tableta <sup>-1</sup> ]
B <sub>5</sub>	1,356	0,160
B <sub>6</sub>	0,358	0,032

V tablete Pangamin bol zistený obsah kyseliny pantoténovej  $1,356 \pm 0,112$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ) a obsah pyridoxínu  $0,358 \pm 0,022$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ). Vitamín B<sub>1</sub> a B<sub>3</sub> nie je možné pri daných podmienkach v tablete stanoviť, pravdepodobne z dôvodu príliš veľkej zložitosti vzorky.

## ZÁVER

Cieľom tejto diplomovej práce bolo otestovať možnosti stanovenia vitamínov skupiny B pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie a v prípade úspešného stanovenia následne aplikovať na vybrané doplnky stravy.

Na stanovenie B-komplexu bola použitá metóda HPLC, analýza bola prevedená na aparátúre Hewlett Packard 1100. Separácia bola prevedená na kolóne SUPELCO SIL LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5  $\mu$ m), teplota termostatu kolóny pri meraní bola 30°C. Elúcia prebehla izokraticky, zvolený prietok mobilnej fázy bol 0,8 ml.min<sup>-1</sup>. Zložkami mobilnej fázy bol metanol a KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7 upravené pomocou KOH) v pomere 10:90. Na detekciu vitamínov bol použitý UV detektor, zvolené vlnové dĺžky boli 204 nm (vitamíny B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>) a 220 nm (vitamín B<sub>1</sub>). Meranie bolo vyhodnotené pomocou chromatografického systému ChemStation – Instrument 1 (Agilent Technologies, USA). Na meranie kalibračných krieviek boli použité štandardy vitamínov: tiamínhydrochlorid, riboflavín, nikotínamid, kyselina pantoténová a pyridoxín (výrobca Supelco, USA). Metodika bola overená i metódou štandardného prídavku.

Výsledky jednotlivých analýz boli spracované pomocou štandardných štatistických parametrov s využitím študentovho rozdelenia náhodných odchýlok pre daný stupeň voľnosti. Výsledky analýzy boli testované na hladine presnosti  $\alpha = 0,05$  (95 %). Uvedená metodika bola aplikovaná na šesť vybraných doplnkov stravy: B-komplex, B-komplex s vitamínom C, Energit multi, 2 typy šumivých multivitamínov a Pangamin – pivovarské kvasnice.

V tabletkách B-komplex boli zistené nasledujúce hodnoty obsahu vitamínov: tiamín  $2,584 \pm 0,076$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ), niacín  $18,010 \pm 0,274$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ), kyselina pantoténová  $3,021 \pm 0,264$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ) a pyridoxín  $0,637 \pm 0,065$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ). V porovnaní s hodnotami uvedenými výrobcom bol zistený vyšší obsah tiamínu (až o 29,2 %) a kyseliny pantoténovej (o 0,7 %), naopak nižšie hodnoty boli zistené u niacínu (o 10 %) a pyridoxínu (o 36,3 %).

V tabletkách B-komplex s vitamínom C boli zistené nasledujúce hodnoty obsahu vitamínov: tiamín  $1,248 \pm 0,281$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ), niacín  $8,490 \pm 0,512$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ) a kyselina pantoténová  $4,592 \pm 0,162$  mg.tableta<sup>-1</sup> ( $\alpha = 0,05$ ). Zistený obsah tiamínu je o 30,7 % nižší a obsah niacínu o 21,3 % vyšší než udáva výrobca. Obsah kyseliny pantoténo-

vej je približne rovnaký s hodnotou uvedenou výrobcom. Pyridoxín nie je možné pri daných podmienkach v tablete B-komplex s vitamínom C stanoviť. Prítomnosť vitamínu C bola kvalitatívne dokázaná nástrekom štandardu vitamínu.

V tabletách šumivého multivitamínu s minerálmi boli zistené hodnoty vitamínov: tiamín  $1,695 \pm 0,015 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ), kyselina pantoténová  $6,144 \pm 0,093 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ) a pyridoxín  $2,392 \pm 0,012 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ). Získané hodnoty obsahu vitamínov predstavujú 100 - 120 % obsahu udaného výrobcom. Niacín nie je možné pri daných podmienkach v tablete stanoviť. Dôvodom je nedostatočné oddelenie píku niacínu s retenčným časom 4,5 min. od píku neznámej látky s retenčným časom 4,8 min. Na základe zloženia tablety bolo možné usudzovať, že neznámou látkou s retenčným časom 4,8 min. by mohol byť  $\beta$ -karotén alebo kyselina citrónová, no nástrek ich štandardov predpoklad nedokázal. Prítomnosť vitamínu C bola kvalitatívne dokázaná nástrekom štandardu vitamínu.

V tabletách druhého šumivého multivitamínu boli zistené hodnoty vitamínov: tiamín  $1,691 \pm 0,019 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ), kyselina pantoténová  $2,395 \pm 0,024 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ) a pyridoxín  $2,069 \pm 0,008 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ). Zistený obsah tiamínu je o 20 % vyšší než deklarovaný výrobcom, obsah pyridoxínu je približne na rovnakej úrovni, no obsah kyseliny pantoténovej je až o 39 % nižší. Niacín nie je možné pri daných podmienkach v tablete stanoviť. Dôvodom je nedostatočné oddelenie píku niacínu s retenčným časom 4,5 min. od píku neznámej látky s retenčným časom 4,8 min. Na základe zloženia tablety bolo možné usudzovať, že neznámou látkou s retenčným časom 4,8 min. by mohol byť  $\beta$ -karotén alebo kyselina citrónová, no nástrek ich štandardov predpoklad nedokázal. Prítomnosť vitamínu C bola kvalitatívne dokázaná nástrekom štandardu vitamínu.

Analýzou tabliet Pangamin – pivovarské kvasnice boli zistené hodnoty obsahu vitamínov: kyselina pantoténová  $1,356 \pm 0,112 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ) a pyridoxín  $0,358 \pm 0,022 \text{ mg.tableta}^{-1}$  ( $\alpha = 0,05$ ). Tiamín a niacín nie je možné pri daných podmienkach v tablete stanoviť, pravdepodobne z príliš veľkej zložitosti vzorky.

Výsledky analýzy ukazujú, že nie vždy je zloženie doplnkov stravy identické s informáciou výrobcu. Prekvapivé je vyššie množstvo niektorých vitamínov, než je deklarované výrobcom. Dôvodom je pravdepodobne vyšší prídavok vitamínov za účelom zabezpečenia uvedeného obsahu až do dátumu expirácie. Zistené vyššie hodnoty však nie sú veľmi výz-

namné a nepredstavujú žiadne riziko pre spotrebiteľa. Očakávaným výsledkom boli nižšie obsahy vitamínov než udáva výrobca, čo sa potvrdilo vo viacerých prípadoch. Vitamíny sú látky veľmi labilné, podliehajúce deštrukcii vplyvom kyslíka, UV žiarenia, zvýšenej teploty či nepriaznivého pH. Namerané nižšie hodnoty môžu poukazovať na nevhodné skladovanie výrobkov, no k deštrukcii mohlo dôjsť i pri manipulácii s nimi pri vlastnej analýze. Dôvodom nižších nameraných hodnôt mohlo byť i nedokonalé rozpúšťanie tabliet pri analýze a zachytávaním ich molekúl na stenách nádoby spolu s vitamínmi.

**ZOZNAM POUŽITEJ LITERATURY**

- [1] HOLLENSTEIN, J. *Understanding Dietary Supplements*. 1st edition. USA: University Press of Mississippi, 2007. 126 s. ISBN 1-57806-980-7.
- [2] WEBB, G.P. *Dietary Supplements and Functional Foods*. Oxford: Blackwell Publishing, 2006. 242 s. ISBN 1-4051-1909-8.
- [3] Zákon 224/2008 o potravinách a tabákových výrobcích. In *Sbírka zákonů Česká Republika*. Praha: Tiskárna Ministerstva vnitra, 2008. s. 3203-3228. ISSN 1211-1244.
- [4] Vyhláška 225/2008 Sb. kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin. In *Sbírka zákonů Česká Republika*. Praha: Tiskárna Ministerstva vnitra, 2008. s. 3230-3244. ISSN 1211-1244.
- [5] BOOBIS, A.R. Risk Assessment of Dietary Supplements. In *Dietary Supplements and Health*. Chichester: Wiley, 2007. s. 3-25.
- [6] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie II*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2006. 102 s. ISBN 80-7318-395
- [7] VANDER, A.J. *Human Physiology: The Mechanism of Body Function*. 5th edition. New York: McGraw-Hill, 1990. 724 s. ISBN 0-07-066969-4.
- [8] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 328 s. ISBN 80-902391-4-5.
- [9] SANDERS, T., EMERY, P. *Molecular Basis of Human Nutrition*. London: Taylor & Francis, 2003. 161 s. ISBN 0-415-29917-9.
- [10] MURRAY, R.K. et al. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26th edition. New York: McGraw-Hill, 2003. 693 s. ISBN 0-07-138901-6.
- [11] BALLS, G.F.M. *Vitamins: Their Role in the Human Body*. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. 432 s. ISBN 0-632-06478-1.
- [12] *Handbook of Vitamins*. Edited by J. Zempleni, R.B. Rucker, D.B. McCormick, J.W. Suttie. 4th edition. Boca Raton: Taylor & Francis, 2007. 592 s. ISBN 0-8493-4022-5.

- [13] DEMAN, J.M. *Principles of Food Chemistry*. 3rd edition. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999. 595 s. ISBN 0-8342-1234-X.
- [14] BAYNES, J.W., DOMINICZAK, M.H. *Medical Biochemistry*. 2nd edition. UK: Elsevier Health Sciences, 2004. 712 s. ISBN 9780723433415.
- [15] MIKEŠ, O. et al. *Laboratorní chromatografické metody*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1980. 676 s. ISBN 04-614-80.
- [16] WELLINGS, D.A. *A Practical Handbook of Preparative HPLC*. Oxford: Elsevier, 2006. 180 s. ISBN 1-8-56-17466-2.
- [17] *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. Edited by Y. Kazakevich and R. LoBrutto. New Jersey: Wiley, 2007. 1108 s. ISBN 0-471-68162-8.
- [18] DONG, M.W. *Modern HPLC for Practicing Scientists*. New Jersey: Wiley, 2006. 286 s. ISBN 0-471-72789-X.
- [19] BRAITHWAITE, A., SMITH, F.J. *Chromatographic Methods*. 5th edition. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. 559 s. ISBN 0-7514-0158-7.
- [20] KARDOŠ, E., BEREK, D. *Základy kvapalinové chromatografie*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1979. 296 s. ISBN 302-05-113.
- [21] WESTON, A., BROWN, P.R. *HPLC and CE: Principles and Practice*. San Diego: Academic Press, 1997. 280 s. ISBN 0-12-136640-5.
- [22] DEAN, J.A. *Chemické dělicí metody*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1974. 404 s. ISBN 04-620-74.
- [23] BARTUŠEK, M., PAZOUREK, J. *Základy metod analytické chemie* [online]. [2002] [cit. 2007-03-03]. Dostupný z WWW: <<http://www.chemi.muni.cz/pazourek/student/sepmetody.html>>.
- [24] MCMASTER, M.C. *HPLC: A Practical User's Guide*. 2nd edition. New Jersey: Wiley, 2007. 238 s. ISBN 0-471-75401-3.
- [25] HANAI, T. *HPLC: A Practical Guide*. Cambridge (UK): The Royal Society of Chemistry, 1999. 134 s. ISBN 0-85404-515-5.
- [26] KISELEV, A.V., JAŠIN, J.I. *Adsorpční plynová a kapalinová chromatografie*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1988. 400 s. ISBN 04-617-88.



- [27] *Food Analysis by HPLC*. Edited by L.M.L. Nollet. 2nd revised and expanded edition. New York: Marcel Dekker, Inc., 2000. 1049 s. ISBN 0-8247-8460-X.
- [28] VIDOVIĆ, S. et al. Simultaneous determination of some water-soluble vitamins and preservatives in multivitamin syrup by validated stability-indicating high-performance liquid chromatography method. *Journal of Chromatography A* [online]. 2008, vol. 1202, is. 2 [cit. 2008-10-20], s. 155-162.
- [29] LEBIEDZIŃSKA, A. et al. Reversed-phase high-performance liquid chromatography method with coulometric electrochemical and ultraviolet detection for the quantification of vitamins B1 (thiamine), B6 (pyridoxamine, pyridoxal and pyridoxine) and B12 in animal and plant foods. *Journal of Chromatography A* [online]. 2007, vol. 1173, is. 1-2 [cit. 2008-10-20], s. 71-80.
- [30] MARSZAŁ, M.L. et al. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and cyanocobalamin in pharmaceutical formulations using coulometric electrochemical and ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A* [online]. 2005, vol. 1094, is. 1-2 [cit. 2008-10-20], s. 91-98.

**ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK**

ACP	Acyl Carrier Protein
AI	Adequate Intake, adekvátny príjem
ATP	adenozíntrifosfát
CoA	koenzým A
DRI	Dietary Reference Intake, referenčné hodnoty príjmu
EAR	Estimated Average Requirement, priemerná spotreba
FAD	flavínadenínukleotid
FMN	flavínmononukleotid
FSA	Food Standard Agency
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, vysokoúčinná kvapalinová chromatografia
NAD, NADH	nikotínamidadenínukleotid
NADP, NADPH	nikotínamidadenínukleotidfosfát
RDA	Recommended Dietary Allowance, výživová doporučená dávka
TDP	tiamínifosfát
TTP	tiamíntrifosfát
UL	Upper Tolerable Intake Level, hladina najvyššieho príjmu

**ZOZNAM OBRÁZKOV**

Obr. 1. Referenčné hodnoty príjmu .....	11
Obr. 2. Mechanizmus kvapalinovej chromatografie.....	23
Obr. 3. Chromatogram: retenčný čas ( $t_R$ ), mŕtvy čas ( $t_0$ ), výška píku (h), šírka píku (w) .....	23
Obr. 4. Klasifikácia kvapalinovej chromatografie na základe mechanizmu retencie .....	27
Obr. 5. Klasifikácia kvapalinovej chromatografie podľa pracovnej techniky .....	28
Obr. 6. Schéma kvapalinového chromatografu.....	29
Obr. 7. Kalibračná krivka na stanovenie vitamínu B1 metódou HPLC.....	45
Obr. 8. Kalibračná krivka na stanovenie vitamínu B3 metódou HPLC.....	45
Obr. 9. Kalibračná krivka na stanovenie vitamínu B5 metódou HPLC .....	46
Obr. 10. Kalibračná krivka na stanovenie vitamínu B6 metódou HPLC .....	46

**ZOZNAM TABULIEK**

Tab. 1. Analyzovaný materiál .....	35
Tab. 2. Retenčné časy vitamínov .....	40
Tab. 3. Kalibrácia vitamínu B <sub>1</sub> .....	41
Tab. 4. Kalibrácia vitamínu B <sub>3</sub> .....	42
Tab. 5. Kalibrácia vitamínu B <sub>5</sub> .....	43
Tab. 6. Kalibrácia vitamínu B <sub>6</sub> .....	44
Tab. 7. Hmotnosť tabliet B-komplex .....	47
Tab. 8. Priemerná hmotnosť tablety B-komplex .....	47
Tab. 9. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex .....	48
Tab. 10. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex .....	48
Tab. 11. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex .....	48
Tab. 12. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex .....	48
Tab. 13. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex .....	49
Tab. 14. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex .....	49
Tab. 15. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete B-komplex .....	49
Tab. 16. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete B-komplex .....	49
Tab. 17. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex .....	50
Tab. 18. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex .....	50
Tab. 19. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex .....	50
Tab. 20. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex .....	50
Tab. 21. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex .....	51
Tab. 22. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex .....	51
Tab. 23. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete B-komplex .....	51
Tab. 24. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete B-komplex .....	51
Tab. 25. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex .....	52
Tab. 26. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex .....	52
Tab. 27. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex .....	52
Tab. 28. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex .....	52
Tab. 29. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex .....	53
Tab. 30. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex .....	53
Tab. 31. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete B-komplex .....	53

Tab. 32. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete B-komplex.....	53
Tab. 33. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex .....	54
Tab. 34. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex.....	54
Tab. 35. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex .....	54
Tab. 36. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex.....	54
Tab. 37. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex .....	55
Tab. 38. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex.....	55
Tab. 39. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 4. tablete B-komplex .....	55
Tab. 40. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 4. tablete B-komplex.....	55
Tab. 41. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex .....	56
Tab. 42. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex.....	56
Tab. 43. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex .....	56
Tab. 44. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex.....	56
Tab. 45. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex .....	57
Tab. 46. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex.....	57
Tab. 47. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 5. tablete B-komplex .....	57
Tab. 48. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 5. tablete B-komplex.....	57
Tab. 49. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete B-komplex získané z analýzy 5 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom .....	58
Tab. 50. Hmotnosť tabliet B-komplex + vitamín C.....	59
Tab. 51. Priemerná hmotnosť tablety B-komplex + vitamín C .....	59
Tab. 52. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C.....	60
Tab. 53. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C.....	60
Tab. 54. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C.....	60
Tab. 55. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C.....	60
Tab. 56. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C.....	61
Tab. 57. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete B-komplex + vitamín C.....	61
Tab. 58. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C .....	61
Tab. 59. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C.....	61
Tab. 60. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C .....	62
Tab. 61. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C.....	62
Tab. 62. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C .....	62
Tab. 63. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete B-komplex + vitamín C.....	62

Tab. 64. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C .....	63
Tab. 65. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C.....	63
Tab. 66. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C .....	63
Tab. 67. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C.....	63
Tab. 68. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C .....	64
Tab. 69. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete B-komplex + vitamín C.....	64
Tab. 70. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C .....	64
Tab. 71. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C.....	64
Tab. 72. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C .....	65
Tab. 73. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C.....	65
Tab. 74. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C .....	65
Tab. 75. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 4. tablete B-komplex + vitamín C.....	65
Tab. 76. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C .....	66
Tab. 77. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C.....	66
Tab. 78. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C .....	66
Tab. 79. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C.....	66
Tab. 80. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C .....	67
Tab. 810. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 5. tablete B-komplex + vitamín C.....	67
Tab. 82. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete B-komplex + vitamín C získané z analýzy 5 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom .....	67
Tab. 83. Hmotnosť tabliet Energit multi.....	69
Tab. 84. Priemerná hmotnosť tablety Energit multi .....	69
Tab. 85. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete Energit multi.....	70
Tab. 86. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete Energit multi.....	70
Tab. 87. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 1. tablete Energit multi.....	70
Tab. 88. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 1. tablete Energit multi.....	70
Tab. 89. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete Energit multi.....	71
Tab. 90. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete Energit multi.....	71
Tab. 91. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete Energit multi.....	71
Tab. 92. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete Energit multi.....	71
Tab. 93. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete Energit multi.....	72
Tab. 94. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete Energit multi.....	72
Tab. 95. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 2. tablete Energit multi.....	72

Tab. 96. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 2. tablete Energit multi.....	72
Tab. 97. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete Energit multi.....	73
Tab. 98. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete Energit multi.....	73
Tab. 99. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete Energit multi.....	73
Tab. 100. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete Energit multi.....	73
Tab. 101. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete Energit multi.....	74
Tab. 102. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete Energit multi.....	74
Tab. 103. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 3. tablete Energit multi.....	74
Tab. 104. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 3. tablete Energit multi.....	74
Tab. 105. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete Energit multi.....	75
Tab. 106. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete Energit multi.....	75
Tab. 107. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete Energit multi.....	75
Tab. 108. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete Energit multi.....	75
Tab. 109. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 4. tablete Energit multi.....	76
Tab. 110. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 4. tablete Energit multi.....	76
Tab. 111. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 4. tablete Energit multi.....	76
Tab. 112. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 4. tablete Energit multi.....	76
Tab. 113. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 4. tablete Energit multi.....	77
Tab. 114. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 4. tablete Energit multi.....	77
Tab. 115. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 4. tablete Energit multi.....	77
Tab. 116. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 4. tablete Energit multi.....	77
Tab. 117. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 5. tablete Energit multi.....	78
Tab. 118. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 5. tablete Energit multi.....	78
Tab. 119. Obsah vitamínu B <sub>3</sub> v 5. tablete Energit multi.....	78
Tab. 120. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>3</sub> v 5. tablete Energit multi.....	78
Tab. 121. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 5. tablete Energit multi.....	79
Tab. 122. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 5. tablete Energit multi.....	79
Tab. 123. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 5. tablete Energit multi.....	79
Tab. 124. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 5. tablete Energit multi.....	79
Tab. 125. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete Energit multi získané z analýzy 5 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcem .....	80
Tab. 126. Hmotnosť tabliet multivitamínu .....	81
Tab. 127. Priemerná hmotnosť tablety multivitamínu .....	81

Tab. 128. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	82
Tab. 129. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	82
Tab. 130. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	82
Tab. 131. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	82
Tab. 132. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	83
Tab. 133. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	83
Tab. 134. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	83
Tab. 135. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	83
Tab. 136. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	84
Tab. 137. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	84
Tab. 138. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	84
Tab. 139. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	84
Tab. 140. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	85
Tab. 141. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	85
Tab. 142. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	85
Tab. 143. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	85
Tab. 144. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	86
Tab. 145. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	86
Tab. 146. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 šumivej tablete multivitamínu získané z analýzy 3 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom .....	86
Tab. 147. Hmotnosť tabliet multivitamínu .....	88
Tab. 148. Priemerná hmotnosť tablety multivitamínu .....	88
Tab. 149. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	89
Tab. 150. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	89
Tab. 151. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	89
Tab. 152. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	89
Tab. 153. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	90
Tab. 154. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete multivitamínu .....	90
Tab. 155. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	90
Tab. 156. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	90
Tab. 157. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	91
Tab. 158. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	91
Tab. 159. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	91



Tab. 160. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete multivitamínu .....	91
Tab. 161. Obsah vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	92
Tab. 162. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>1</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	92
Tab. 163. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	92
Tab. 164. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	92
Tab. 165. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	93
Tab. 166. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete multivitamínu .....	93
Tab. 167. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 šumivej tablete multivitamínu získané z analýzy 3 tabliet v porovnaní s údajmi uvedenými výrobcom .....	93
Tab. 168. Hmotnosť tabliet Pangamin .....	95
Tab. 169. Priemerná hmotnosť tablety Pangamin .....	95
Tab. 170. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete Pangamin .....	96
Tab. 171. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 1. tablete Pangamin .....	96
Tab. 172. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete Pangamin .....	96
Tab. 173. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 1. tablete Pangamin .....	96
Tab. 174. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete Pangamin .....	97
Tab. 175. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 2. tablete Pangamin .....	97
Tab. 176. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete Pangamin .....	97
Tab. 177. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 2. tablete Pangamin .....	97
Tab. 178. Obsah vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete Pangamin .....	98
Tab. 179. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>5</sub> v 3. tablete Pangamin .....	98
Tab. 180. Obsah vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete Pangamin .....	98
Tab. 181. Priemerná hodnota obsahu vitamínu B <sub>6</sub> v 3. tablete Pangamin .....	98
Tab. 182. Priemerné hodnoty obsahu vitamínov v 1 tablete Pangamin získané z analýzy 3 tabliet .....	99

**ZOZNAM PRÍLOH**

PRÍLOHA P I: KALIBRÁCIA TIAMÍNU

PRÍLOHA P II: KALIBRÁCIA NIACÍNU

PRÍLOHA P III: KALIBRÁCIA KYSELINY PANTOTÉNOVEJ

PRÍLOHA P IV: KALIBRÁCIA PYRIDOXÍNU

PRÍLOHA P V: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE B-KOMPLEX

PRÍLOHA P VI: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE B-KOMPLEX  
S VITAMÍNOM C

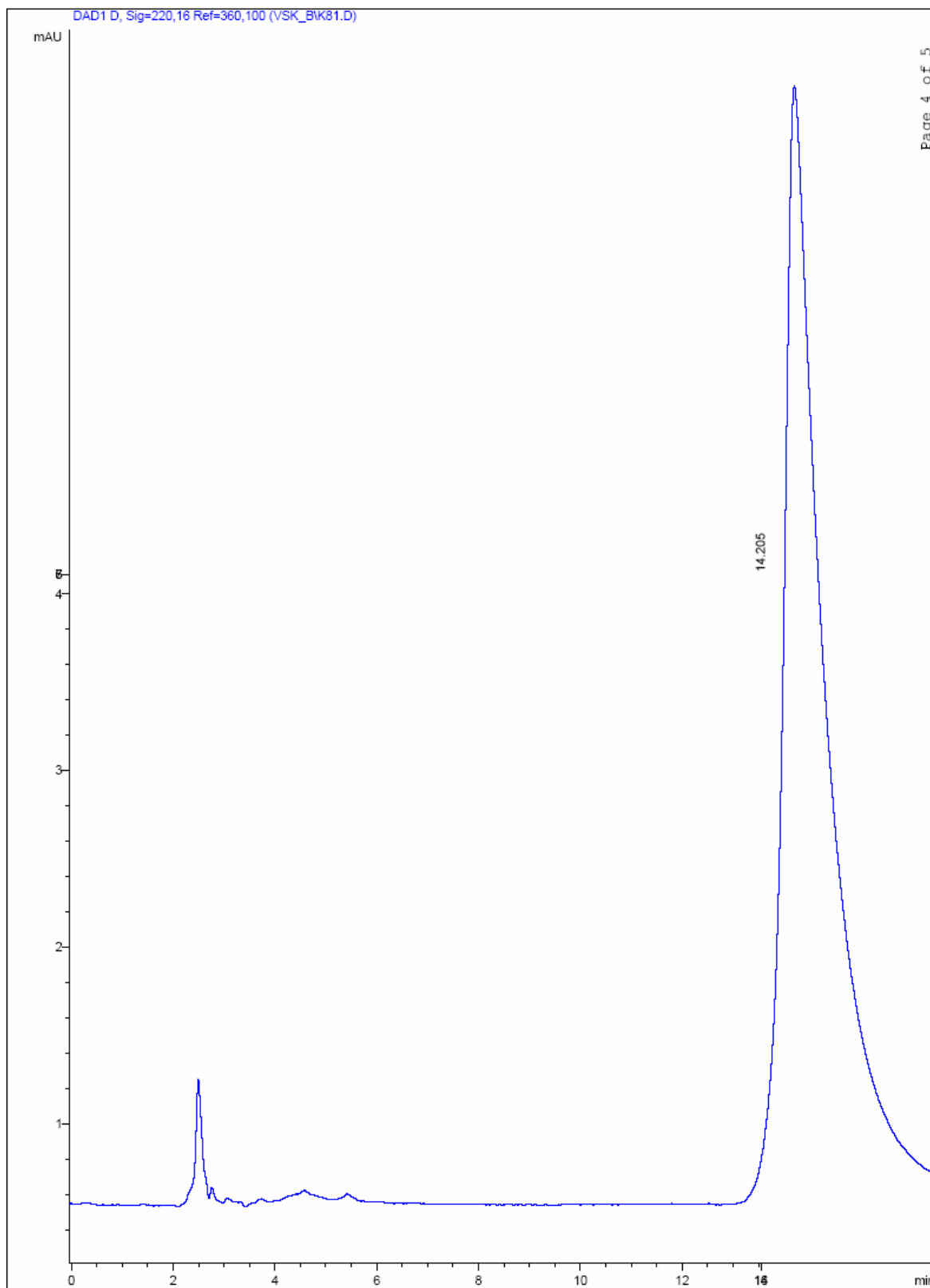
PRÍLOHA P VII: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE ENERGIT  
MULTI

PRÍLOHA P VIII: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE ŠUMIVÉHO  
MULTIVITAMÍNU S MINERÁLMI

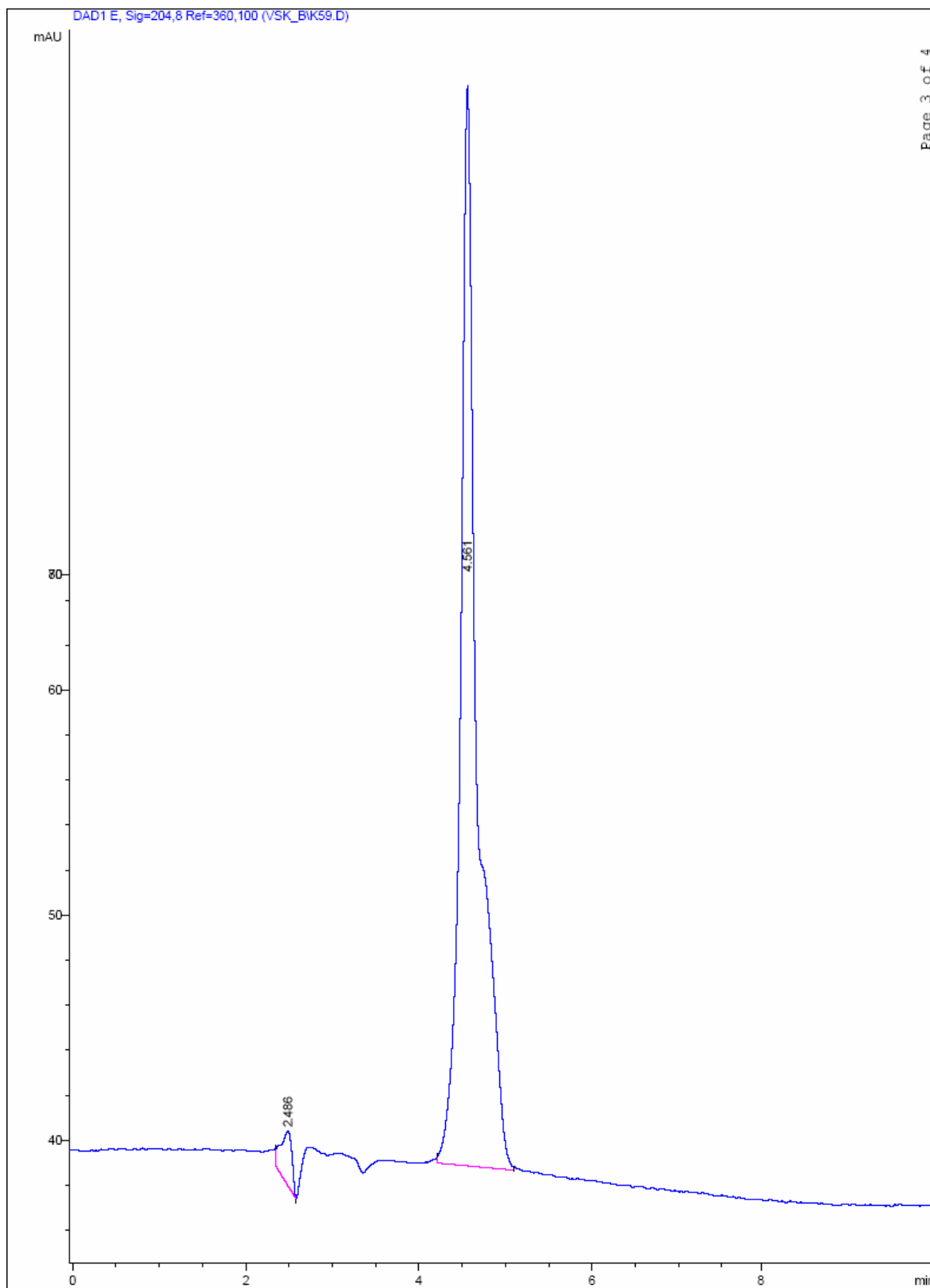
PRÍLOHA P IX: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE ŠUMIVÉHO  
MULTIVITAMÍNU

PRÍLOHA P X: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE PANGAMIN –  
PIVOVARSKÉ KVASNICE

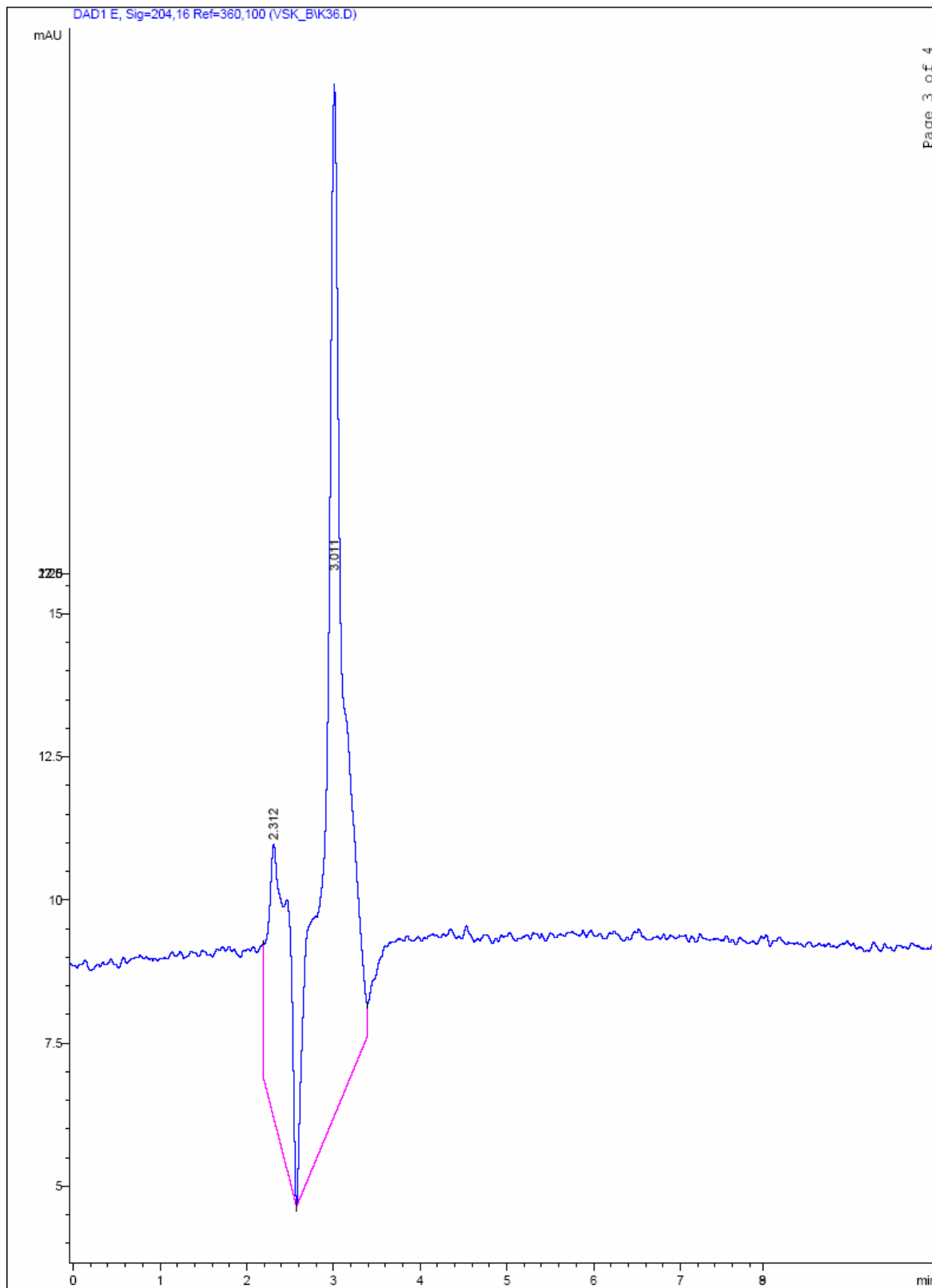
# PRÍLOHA P I: KALIBRÁCIA TIAMÍNU



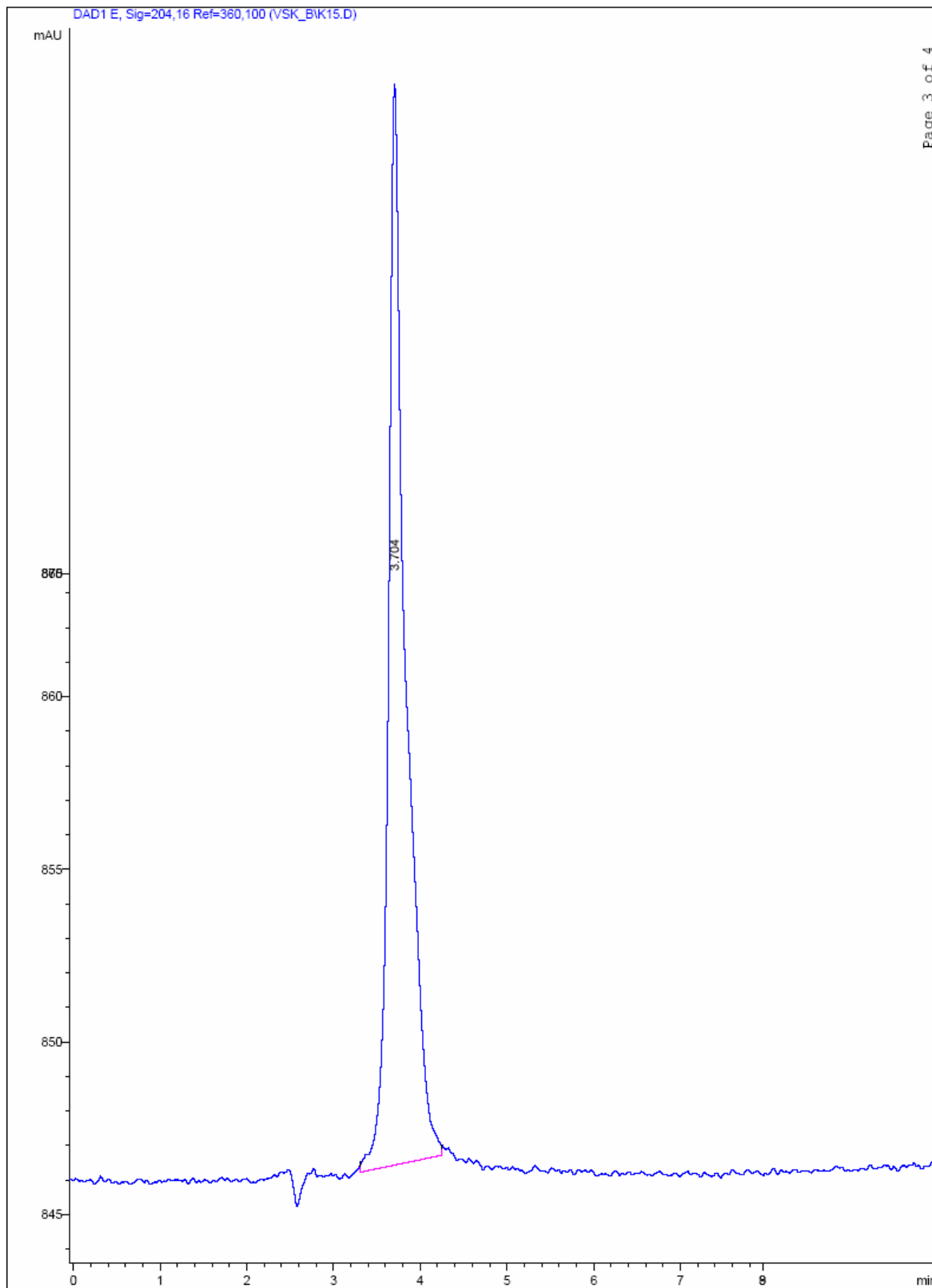
# PRÍLOHA P II: KALIBRÁCIA NIACÍNU



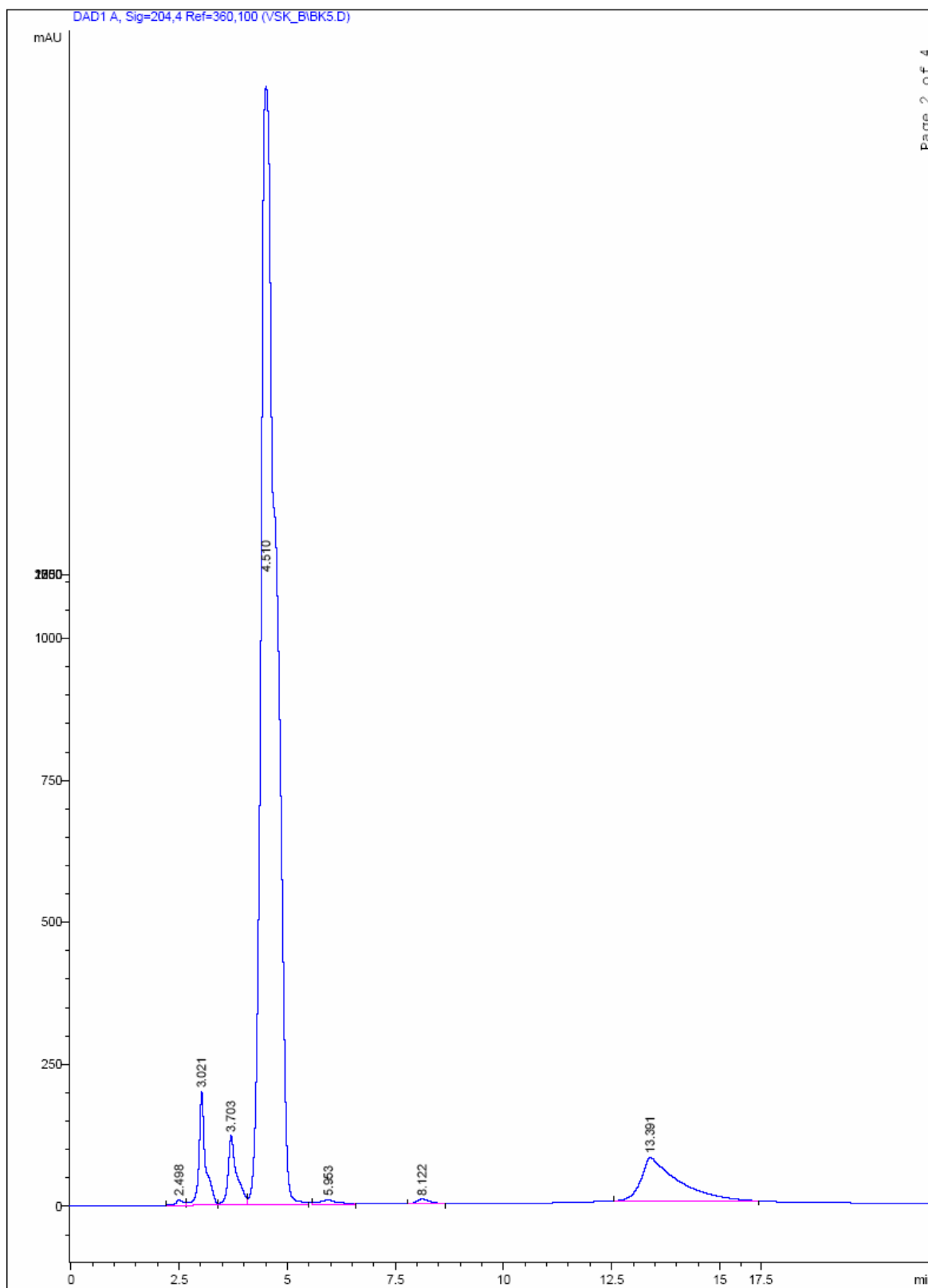
# PRÍLOHA P III: KALIBRÁCIA KYSELINY PANTOTÉNOVEJ



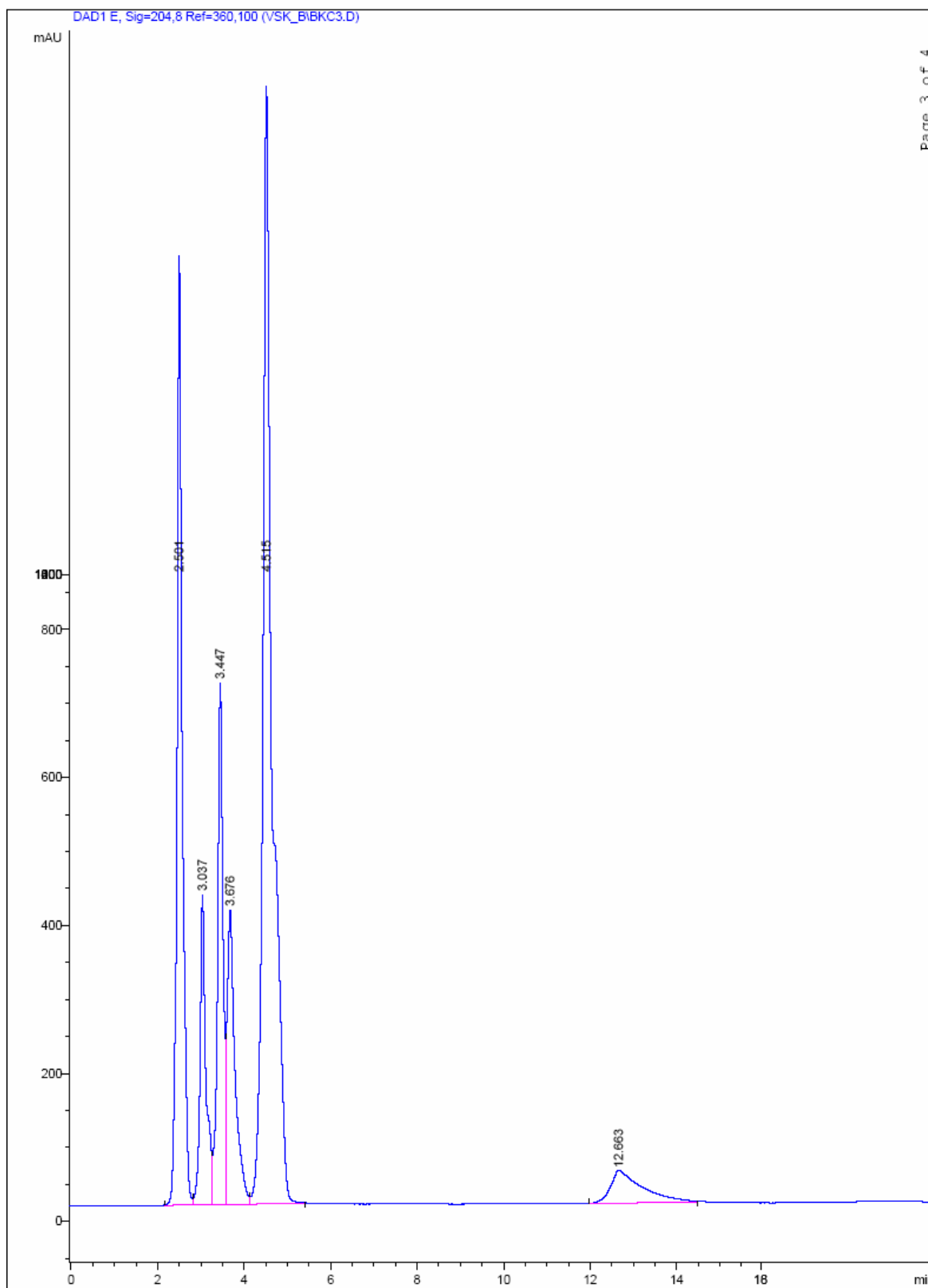
# PRÍLOHA P IV: KALIBRÁCIA PYRIDOXÍNU



# PRÍLOHA P V: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE B-KOMPLEX

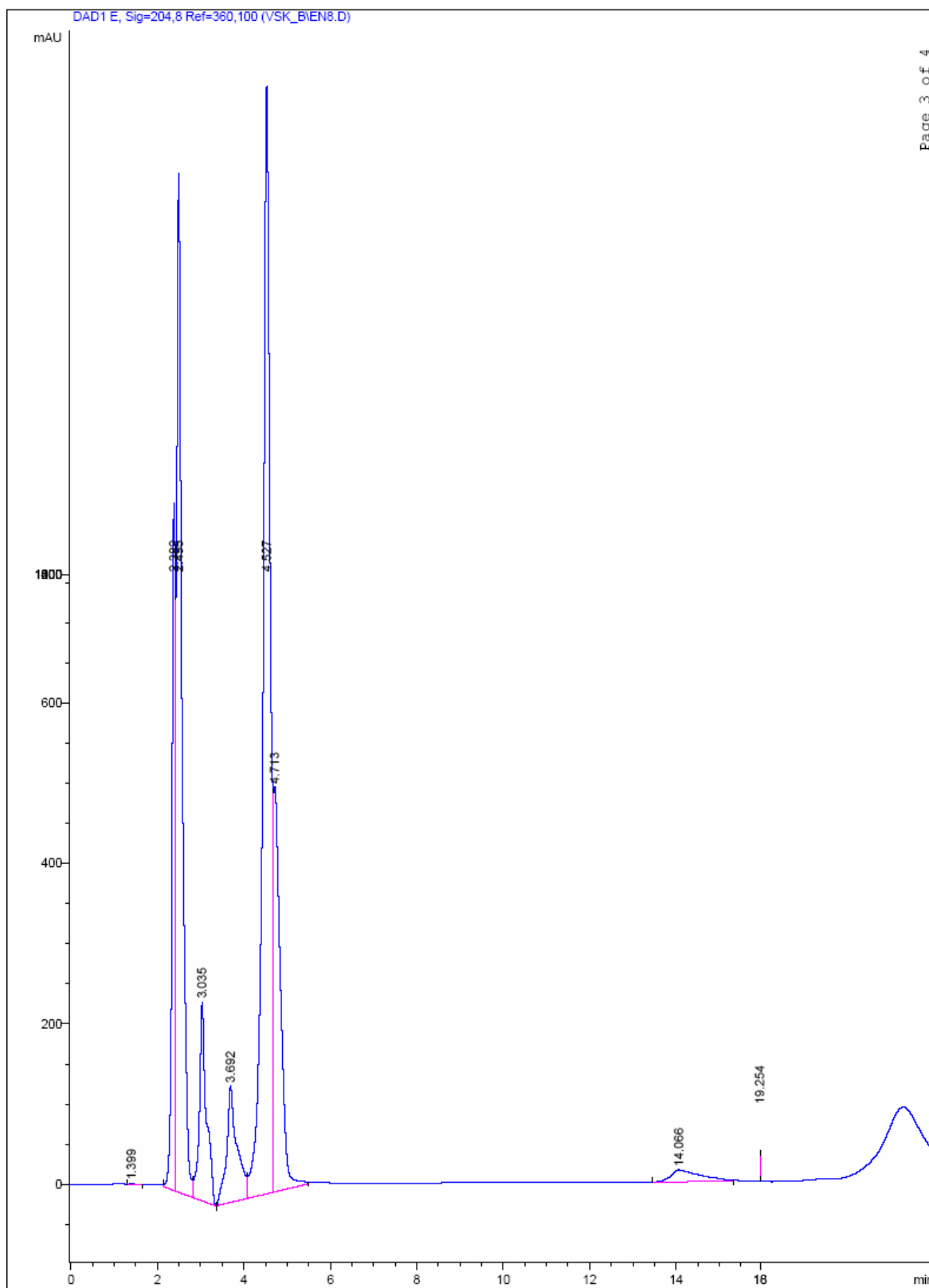


# PRÍLOHA P VI: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE B-KOMPLEX S VITAMÍNOM C

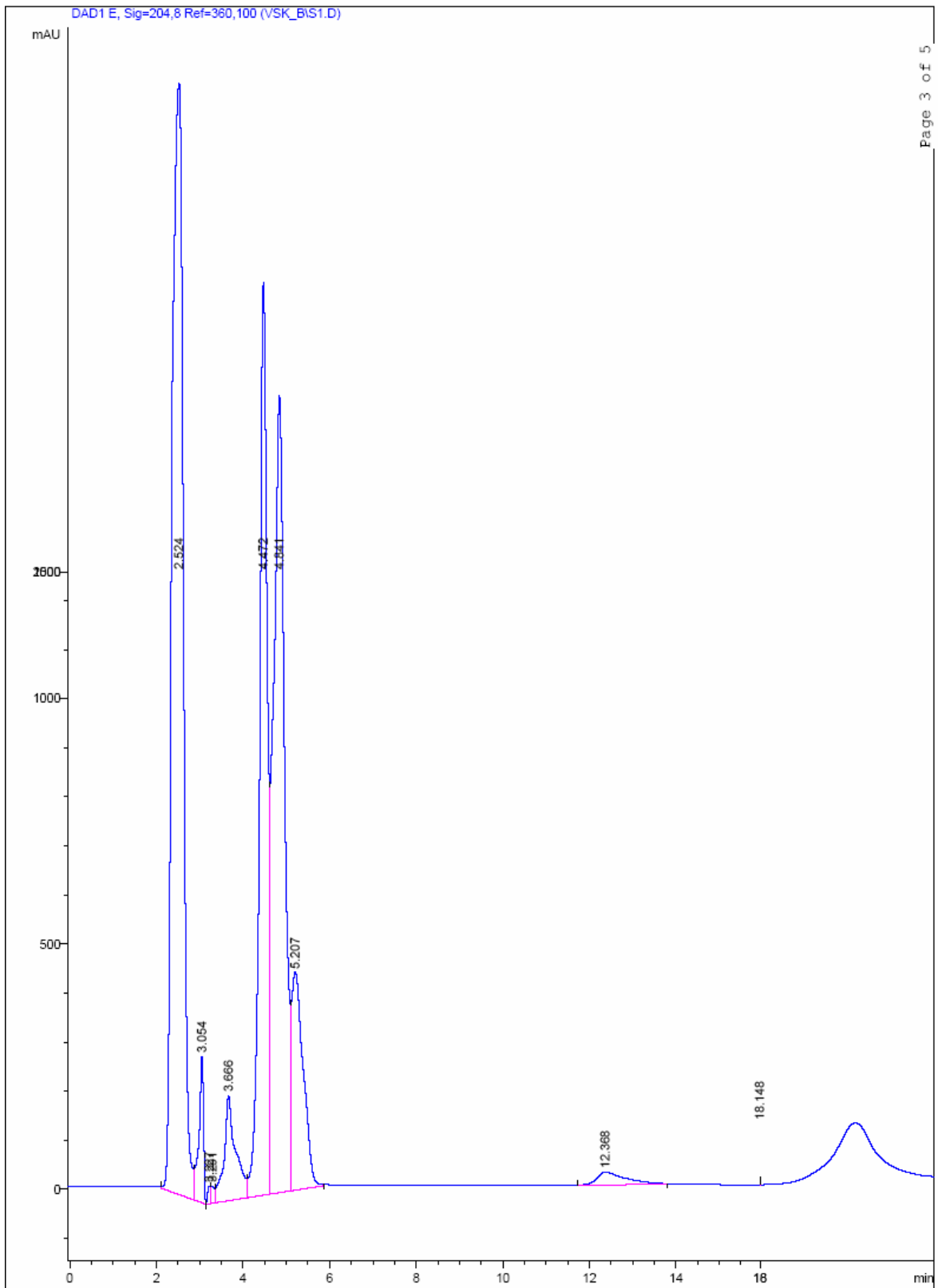




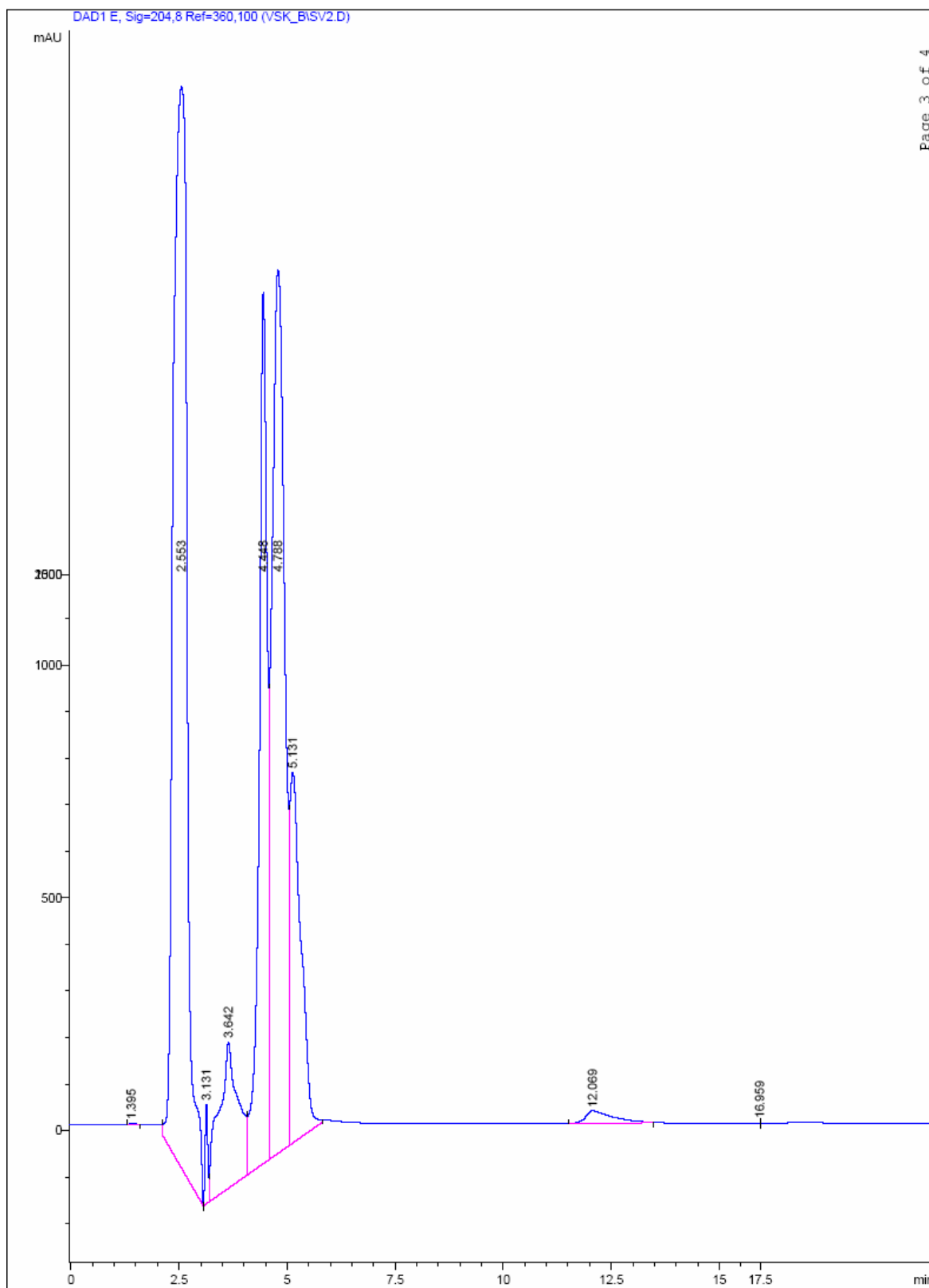
# PRÍLOHA P VII: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE ENERGIT MULTI



# PRÍLOHA P VIII: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE ŠUMIVÉHO MULTIVITAMÍNU S MINERÁLMI



# PRÍLOHA P IX: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE ŠUMIVÉHO MULTIVITAMÍNU



# PRÍLOHA P X: STANOVENIE VITAMÍNOV SKUPINY B V TABLETE PANGAMIN – PIVOVARSKÉ KVASNICE

