

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DISERTAČNÍ PRÁCE

2009

Ing. David Kahoun

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

ANALÝZA BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK
V MEDOVINÁCH METODOU HPLC

Ing. David Kahoun

Disertační práce

2009

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 12. března 2009

.....
Ing. David Kahoun

Poděkování:

Chtěl bych velice poděkovat doc. Ing. Josefu Královskému, CSc. a prof. Ing. Karlu Vytřasovi, DrSc. za možnost realizace disertační práce na toto velmi zajímavé a praktické téma, za cenné odborné rady a celkový přístup v průběhu studia. Dále bych chtěl poděkovat prof. Ing. Michalu Holčápkovi, Ph.D. za podporu a možnost konzultace při publikaci výsledků v mezinárodním odborném časopise, Ing. Tomáši Hájkovi za praktické rady v oblasti HPLC s elektrochemickou detekcí a za mnoho drobné pomoci v případě náhlých problémů a všem ostatním zde nejmenovaným kolegům a kolegyním Univerzity Pardubice, se kterými jsem měl možnost spolupracovat.

Dále bych chtěl poděkovat Ing. Karlu Bojdovi, Ph.D. a jeho firmě Jankar Profi s.r.o. a pardubickému včelaři Evženu Báchorovi za bezplatné dodání vzorků medovin z obchodní sítě České republiky a konzultace z oblasti výroby medovin a včelařství.

Velké děkuji také náleží mým rodičům za veškerou a komplexní podporu v průběhu mého studia, bez které by se realizace této disertační práce pravděpodobně nemohla uskutečnit. Poslední, ale neméně významné „děkuji“ je věnováno mé fantastické přítelkyni Liduše Dohnalové za veškerou podporu a pochopení při měření dat a sepisování publikace i disertační práce.

SOUHRN

Tato disertační práce je zaměřena na analýzu fenolických sloučenin v medovinách, propolisových tinkturách a ovocných šťávách metodou HPLC s elektrochemickou detekcí.

První část této práce se zabývá optimalizací chromatografické separace a detekce standardních fenolických sloučenin. Byla provedena optimalizace pH mobilní fáze, gradientového programu, průtoku mobilní fáze a potenciálu elektrochemických cel pro kvantitativní vyhodnocení. Tyto optimální podmínky byly poté aplikovány na analýzu reálných vzorků medovin a na základě vlivu matrice vzorku byly dále upraveny.

V druhé části byla provedena kvalitativní i kvantitativní analýza obsahu fenolických sloučenin a hydroxymethylfurfuralu ve vzorcích medovin. Aby byla zaručena dostatečná statistická významnost hodnocení, byly provedeny analýzy padesáti vzorků medovin od čtrnácti různých výrobců. Bylo provedeno hodnocení jednotlivých medovin a byl hledán vliv deklarovaného složení na obsah fenolických sloučenin. Za stejných podmínek byly provedeny analýzy dvou druhů ovocných šťáv a propolisu, které byly použity k výrobě medovin.

Závěrečná část práce se zabývá vlivem tepelné expozice a podmínkách skladování na složení medoviny. Vzorky tradiční medoviny byly podrobeny různým režimům tepelné expozice (teplota, doba působení) a skladování (teplota, doba skladování, vliv denního světla). Byl sledován vliv aplikovaných podmínek na obsah fenolických sloučenin, hydroxymethylfurfuralu a hodnotu antioxidační aktivity. Na základě těchto výsledků byl zjištěn významný vliv tepelné expozice i podmínek skladování a byl hledán jednoznačný marker k prokázání nešetrné tepelné expozice nebo skladování medoviny.

Klíčová slova: vysokoúčinná kapalinová chromatografie

CoulArray detektor

HPLC-ECD

fenolické sloučeniny

hydroxymethylfurfural

antioxidační aktivita

medovina

SUMMARY

This thesis is aimed at analysis of phenolic compounds in meads, propolis tinctures and fruit juices using HPLC method with electrochemical detection.

The first part of this work deals with optimization of chromatographic separation and detection of standard phenolic compounds. The optimization of mobile phase pH, gradient programme, flow rate of mobile phase and potential of electrochemical cells used for quantitative analysis were done. These optimal conditions were applied to analyses of real mead samples and subsequently modified on the basis of matrix influence.

In the second part, qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds and hydroxymethylfurfural in mead samples is described. Fifty mead samples from fourteen producers were analysed with the view to ensure sufficient statistical significance of evaluation. Relationship between declared composition of meads and the amount of phenolic compounds was evaluated. Analyses of two types of fruit juices and propolis tinctures, which were used for mead production, were carried out under the same conditions.

The final part of this work deals with influence of heat treatment and storage conditions on mead composition. Samples of traditional mead were kept at various regimes of heat treatment (temperature, operating time) and storage (temperature, storage life, influence of daylight). Influence of applied conditions on phenolic compounds content, hydroxymethylfurfural content and antioxidant activity was evaluated. Significant influence of heat treatment and storage conditions was confirmed on the basis of obtained results and unique marker of inconsiderate heat treatment or storage conditions of mead was found.

Keywords: High Performance Liquid Chromatography

CoulArray Detector

HPLC-ECD

Phenolic Compounds

Hydroxymethylfurfural

Antioxidant Activity

Mead