

**Laboratorní analýza potravin rostlinného původu — inovace distanční výuky**

**Zadání:**

***Extrakce tuku metodou dle SOXHLETA***

1. Vysvětlete paní Duškové, na jakém principu funguje extrakce dle Soxhleta? K čemu zde dochází?
2. Paní Jirotková by ráda stanovila obsah tuku metodou dle Soxhleta. Pro jaké suroviny je tato metoda nejvhodnější?
3. Paní Šťastná pracuje v chemické laboratoři a chce stanovit obsah tuku a zároveň použít minimální množství rozpouštědla. Jakou extrakci byste jí doporučili? Která rozpouštědla bývají nejvhodnější pro extrakci tuku?
4. Pokud extrahujeme tuk určený pro stanovení mastných kyselin, co bychom měli zohlednit?

***Spektrofotometrické stanovení kyseliny askorbové***

1. Jakou laboratorní technikou může paní Malá stanovit kyselinu askorbovou ve šťávě z arónie?
2. Paní Malá chce stanovit kyselinu askorbovou pomocí spektrofotometrie. Jaké jsou její výhody a nevýhody?
3. Při spektrofotometrickém stanovení kyseliny askorbové ve vzorcích džusu byly získány chybné hodnoty absorbance, jakou citlivější metodu by paní Malá mohla použít, pokud si je jistá přítomností analytu ve vzorku?
4. Paní Malá si není jistá manipulací a skladováním vzorků, u kterých chce analyzovat kyselinu askorbovou. Jaké vlivy mohou vést ke snížení obsahu vit. C?

***Stanovení polyfenolů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie***

1. Paní Oliverová chce stanovit obsah polyfenolů ve víně/kávě/čaji pomocí HPLC. Paní Oliverová má možnost využít detektory RID, FLD, MS a DAD detektor. Které detektory byste jí doporučili?
2. Paní Šťastná stanovuje obsah polyfenolů pomocí HPLC. Ve výsledném chromatogramu nejsou patrné píky, vysvětlete důvod.
3. Píky generované v HPLC chromatogramu jsou moc blízko u sebe a jsou spojeny, co může být důvodem takového výstupu? Co ovlivňuje rezoluci (rozlišení píků) chromatogramu?

### ***Analýzy oxidačních a hydrolytických změn v rostlinném tuku – peroxidové číslo, číslo kyselosti***

1. Do laboratoře pana Petrželky dorazil tuk, který měl nepříjemný zápach. Jak může pan Petrželka stanovit stupeň žluknutí tuku (oleje)?
2. Paní Hladká má stanovit peroxidové číslo u vzorku tuku. Jak byste jí tento pojem vysvětlili a pro jaké vzorky je tato metoda vhodná?
3. Paní Veselá pracuje v laboratoři a analyzuje oleje, které jsou podle jejích informací žluklé, ale hodnota peroxidového čísla je velmi nízká. Co může být důvodem velmi nízkého peroxidového čísla u žluklého oleje?
4. Pan Dlouhý provozuje restauraci a zajímalo by ho, jestli vedle oxidačních změn dochází i k jiným změnám v oleji v průběhu fritování. Jakou metodou může tyto změny prokázat?

### ***Polarimetrické stanovení škrobu dle Ewerse***

1. Pan Jedlička pracuje v bramborárně Třebeň. Vytvoří novou recepturu bramborových škrobů a potřebuje zjistit množství škrobu v bramborách od nového dodavatele. Jaká metoda je pro toto stanovení vhodná a jaký je její princip?
2. Pan Jedlička chce stanovit obsah škrobu v bramborové třence, jeho vzorek však není čirý. Jakým způsobem může vzorek při polarimetrickém stanovení vyčeřit?
3. Paní Škrobová je laborantka a má poprvé použít polarimetr. Jak by mělo vypadat kruhové pole v okuláru polarimetru, aby bylo možné správně odečíst otáčivost?
4. Paní Světlá při polarimetrickém měření bramborového škrobu odečetla otáčivost a chce vypočítat obsah škrobu. Jaké další údaje k výpočtu obsahu škrobu potřebuje?

### ***Stanovení antioxidační kapacity***

1. Paní Švestková si koupila pomerančový a jablečný džus a chtěla by zjistit, v kterém je více antioxidantů. Jakou metodu by mohla použít?
2. Paní Švestková naměřila chybné hodnoty absorbance u metod FRAP a DPPH, kterou další metodu by mohla použít?
3. Pan Zelinka chce stanovit antioxidační kapacitu vzorku zeleného čaje. V metodice je uvedeno, že by se vzorek měl připravovat do tmavých lahvíček a následně uchovávat ve tmě. Jaké to má opodstatnění?
4. Pan Rákosník potřebuje poradit, jaké údaje jsou nutné k výpočtu antioxidační kapacity metodou FRAP? Dále by ho zajímalo, co určuje přesnost kalibrační křivky?

5. Jak by měla paní Týnová postupovat, jestliže stanovuje antioxidační kapacitu pomocí metody FRAP ve vzorku zeleného čaje a absorbance přesahuje hodnotu 1,0?

#### ***Stanovení obsahu soli dle Mohra***

1. Pan Vošmera potřebuje v laboratoři zaučit nového laboranta a potřebuje mu vysvětlit princip stanovení soli dle Mohra. Jak by měl tuto metodu popsat?
2. Pan Vošmera chce stanovit obsah sodíku ve vzorku bujónu a v laboratoři má k dispozici pouze titrační aparaturu pro stanovení soli dle Mohra. Jaké jsou nevýhody stanovení soli dle Mohra? Je možné touto metodou stanovit přímý obsah sodíku?
3. Produkt obsahuje KCl, je zde možné stanovit obsah draslíku metodou dle Mohra?
4. Jakou jinou metodu by ještě pan Vošmera mohl na stanovení soli ve své laboratoři používat?

#### ***Stanovení diastatické mohutnosti***

1. Pan Večerka chce stanovit schopnost amylolytických enzymů u experimentálně zpracované mouky. Jakou metodu by měl použít?
2. Paní Konvičková se poprvé setkala s výrazem diastatická mohutnost a není jí jasné, proč se stanovuje. Můžete jí poradit, jaký důvod má toto stanovení a v jakých jednotkách se uvádí výsledky?
3. Jakým odměrným roztokem by měla paní Malá titrovat vzorek při stanovení diastatické mohutnosti mouky?

#### ***Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda***

1. Paní Jirotková začíná pracovat v chemické laboratoři, která se zaměřuje na stanovení sacharidů. Potřebuje poradit, jaké metody se používají na stanovení redukujících cukrů?
2. Vysvětlíte paní Jirotkové, co jsou to redukující cukry? A jaké známe zástupce?
3. Která činidla se používají ve stanovení redukujících cukrů dle Bertranda?
4. Pan Koláček by chtěl stanovit redukující cukry v lineckém pečivu a chtěl by použít metodu stanovení dle Bertranda. Popište mu stručný princip této metody.

#### ***Spektrofotometrické stanovení flavonoidů***

1. Paní Zelená čte informace na obalu zeleného čaje a všimla si slova flavonoidy. Co to znamená?
2. Jaké látky může paní laborantka Modová použít jako standard při tvorbě kalibrační křivky pro stanovení obsahu flavonoidů?

3. Pan Ondra se chystá stanovovat flavonoidy v bezové šťávě pomocí spektrofotometrie. Při jaké vlnové délce bude stanovení probíhat a co to znamená slepý vzorek?
4. Jakými dalšími metodami by pan Ondra mohl stanovit flavonoidy ve vzorcích?

### ***Stanovení kyselosti***

1. Paní Šmerdové vadí, když je hořčice příliš kyselá a zajímalo by ji, zda ohledně kyselosti hořčice existuje nějaká legislativa, případně jaké jsou limity?
2. Poradte paní Šmerdové, jaký je princip stanovení kyselosti hořčice? A jak se následně výsledek interpretuje.

### ***NIR spektrometrie***

1. Paní Moučková se dozvěděla o možnosti využití NIR analýzy. Kde a jak by tuto metodu v potravinářství mohla uplatnit?
2. Paní Moučková by chtěla znát, v jakém rozmezí vlnových délek probíhá měření v NIR oblasti.
3. Paní Babinská pracuje v chemické laboratoři a obdržela vzorek sóji na stanovení tuku. Jakou metodu byste jí doporučili?

### ***Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie***

1. Paní Mušková by chtěla stanovit v oleji profil mastných kyselin. Pomocí jaké metody je může stanovit?
2. Pan Večerka si na obalu svého oblíbeného sýra přečetl výživové údaje a není si jistý, co znamená obsah mastných kyselin. Poradte mu, co jsou to mastné kyseliny a jak se liší?
3. Pana Večerka dále zajímá, jestli obsah mastných kyselin musí být uveden na spotřebitelských obalech v rámci výživových údajů?
4. Paní Bilová chce stanovit obsah mastných kyselin v olivovém oleji a v sushi pokrmech. Jak má postupovat? Jak se kvantifikují jednotlivé mastné kyseliny v analyzovaných vzorcích?

### ***Stanovení cukrů pomocí vysokoučinné kapalinové chromatografie***

1. Paní Veselá chce stanovit obsah glukózy pomocí HPLC. K dispozici má detektory: RID, FLD, MS, DAD a ELSD. Jaké detektory byste paní Veselé doporučili?
2. Vysvětlíte paní Veselé základní princip HPLC.

## Řešení:

### **Extrakce tuku metodou dle SOXHLETA**

#### **Videonávod:**

- Extrakce tuku dle Soxhleta (<https://web.microsoftstream.com/video/045d0961-5ff1-40b4-9fdf-3d64628b9331>)

1. Vysvětlíte paní Duškové, na jakém principu funguje extrakce dle Soxhleta? K čemu zde dochází?

*Jde o extrakci pevných látek pomocí rozpouštědel. Jedná se o referenční metodu pro stanovení tuku. Vzorek v extrakční patroně je promýván rozpouštědlem, které je zahříváno na topné plotýnce ve varné kádince. Jeho páry stoupají do chladiče, kde kondenzují a následně promývají extrakční patronu. Po dosažení hladiny přepadu rozpouštědlo odtéká opět do varné kádinky a celý proces se několikrát opakuje. Na závěr se ve varné kádince koncentruje extrahovaný tuk a rozpouštědlo zůstává ve střední části extraktoru (1; 2).*

2. Paní Jirotková by ráda stanovila obsah tuku metodou dle Soxhleta. Pro jaké suroviny je tato metoda nejvhodnější?

*Jde o referenční metodu ČSN EN ISO 659 pro stanovení tuku v olejnatých semenech, používaných pro průmyslové zpracování. Dále lze takto stanovit tuk v potravinách bohatých na tuk, s nízkým obsahem vody a sacharidů (olejninu), například ČSN 56 0116-6 – Metody zkoušení pekařských výrobků: Stanovení obsahu tuku (3; 4).*

3. Paní Šťastná pracuje v chemické laboratoři a chce stanovit obsah tuku a zároveň použít minimální množství rozpouštědla. Jakou extrakci byste jí doporučili? Která rozpouštědla bývají nejvhodnější pro extrakci tuku?

*Pro takové stanovení bychom doporučili extrakční systém Soxtec. Jedná se o automatickou extrakční metodu, kde je extrakční čas zkrácen z 6 – 48 hodin na 2 – 3 hodiny. Potřebný objem rozpouštědla se pohybuje mezi 40 – 50 ml z obvyklých 250 – 500 ml. Dále by byla vhodná extrakce na pevné fázi (SPE), kde je opět nižší spotřeba rozpouštědla. U této metody je také zkrácená doba přípravy vzorku a vyšší výtěžnost. Pro extrakci tuku se obvykle používají nepochlárni rozpouštědla (n-pentan, petrolether, diethylether, n-hexan, rektifikovaný benzín, chloroform aj.). Nepochlárni rozpouštědla se mohou kombinovat i s pochlárni rozpouštědly (ethanol, aceton aj.) (2; 5).*

4. Pokud extrahujeme tuk určený pro stanovení mastných kyselin, co bychom měli zohlednit?

*Extrakční metoda je volena podle typu vzorku a skupenství vzorku. Jednotlivé vzorky vyžadují různé způsoby extrakce. Obecně je zapotřebí zohlednit teplotu. Příliš vysoká teplota by mohla způsobit degradaci mastných kyselin. Extrahovaný tuk bychom měli skladovat také v temnu, aby nedocházelo k poškození vazeb vlivem světla (1).*

### **Spektrofotometrické stanovení kyseliny askorbové**

#### **Videonávod:**

- *Spektrofotometrické stanovení kyseliny askorbové*  
(<https://web.microsoftstream.com/video/8f0322b9-9b6a-4514-a876-0549ea4f5c56?list=studio>)

1. Jakou laboratorní technikou může paní Malá stanovit kyselinu askorbovou ve šťávě z arónie?

*Kyselinu askorbovou lze stanovit pomocí kapalinové chromatografie (HPLC). Lze také využít coulometrické stanovení, potenciometrickou titraci, spektrofotometrické stanovení aj. (6).*

2. Paní Malá chce stanovit kyselinu askorbovou pomocí spektrofotometrie. Jaké jsou její výhody a nevýhody?

*Nevýhodou může přítomnost interferujících látek, které mohou zkreslovat výsledky měření. Výhodou je jednoduchost a rychlost stanovení. Při použití kyseliny metafosforečné jako extrakčního činidla lze dosáhnout dostatečné extrakce kyseliny askorbové a její stabilizace (7).*

3. Při spektrofotometrickém stanovení kyseliny askorbové ve vzorcích džusu byly získány chybné hodnoty absorbance, jakou citlivější metodu by paní Malá mohla použít, pokud si je jistá přítomností analytu ve vzorku?

*Kvalitativní i kvantitativní informaci lze získat za použití HPLC (8).*

4. Paní Malá si není jistá manipulací a skladováním vzorků, u kterých chce analyzovat kyselinu askorbovou. Jaké vlivy mohou vést ke snížení obsahu vit. C?

Ke snížení obsahu vitamínu C může vést nevhodná teplota skladování, sluneční záření, vystavení vzorku vzdušnému kyslíku, nebo například přítomnost kovů (především ionty  $Fe^{3+}$  a  $Cu^{2+}$ ) (9).

### **Stanovení polyfenolů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie**

#### **Videonávod:**

- Stanovení polyfenolů v čaji pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (<https://web.microsoftstream.com/video/b47496c4-4ea3-46b1-89be-6e0c28379b72>)
- Stanovení polyfenolů ve víně pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (<https://web.microsoftstream.com/video/076ae54a-b5e5-4c60-b008-1fe8a8b6dc23>);
- Stanovení polyfenolů v kávě pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (<https://web.microsoftstream.com/video/efa6b423-2232-4675-9f17-3ed403ebfd00>),
- HPLC instrumentace (<https://web.microsoftstream.com/video/d7007eaf-d865-48f4-b8bc-429d8296483f>)

1. Paní Oliverová chce stanovit obsah polyfenolů ve víně/kávě/čaji pomocí HPLC. Paní Oliverová má možnost využít detektory RID, FLD, MS a DAD. Které detektory byste ji doporučili?

*Refraktrometrický detektor (RID) se používá především na stanovení cukrů. Fluorescenční detektor (FLD) lze využít na stanovení aminokyselin, biogenních aminů, toxinů a některých vitamínů. Vhodné je použití hmotnostního detektoru (MS), který je považován za univerzální detektor. Výhodou je vysoká citlivost a potřeba malého množství vzorku, nevýhodou je vysoká pořizovací cena. Pro tyto účely lze použít taktéž detektor diodového pole (DAD), kde výhodou je přijatelná cena a možnost stanovení analytů v reálném čase za snímání celého UV-VIS spektra, nevýhodou je potřeba relativně velkého množství vzorku. Tento detektor vykazuje nižší citlivost ve srovnání s MS detektorem (10; 11).*

2. Paní Šťastná stanovuje obsah polyfenolů pomocí HPLC. Ve výsledném chromatogramu nejsou patrné píky, vysvětlete důvod.

*Důvodem může být absence polyfenolů ve vzorku, nebo nevhodné (velmi vysoké) ředění vzorku. Dalším důvodem může být závada v chromatografickém systému, špatně zvolena mobilní fáze, stacionární fáze v koloně aj. Problémy způsobuje taktéž špatná optimalizace analýzy.*

3. Píky generované v HPLC chromatogramu jsou moc blízko u sebe a jsou spojeny, co může být důvodem takového výstupu? Co ovlivňuje rezoluci (rozlišení píků) chromatogramu?

*Příčinou takového výsledku může být nesprávně zvolený objem mobilní fáze, špatně nastavená teplota termostatu, či příliš krátká doba analýzy. Nesprávná separace může být zapříčiněna také opotřebením kolony. Rezoluci chromatogramu ovlivňuje příprava vzorků, kolona, mobilní fáze, teplota, tlak aj. (12).*

### **Analýzy oxidačních a hydrolytických změn v rostlinném tuku – peroxidové číslo, číslo kyselosti**

#### **Videonávod:**

- Stanovení peroxidového čísla (<https://web.microsoftstream.com/video/008e7c7e-32a6-4a6e-9285-cb5e94675124>),
- Stanovení čísla kyselosti (<https://web.microsoftstream.com/video/5e707aef-a930-4714-95a3-7e56d249ccb2>)
- Příprava byrety pro titraci (<https://web.microsoftstream.com/video/1209375b-e18d-4e51-bffc-1e0c0aaa2be6>)

1. Do laboratoře pana Petrželky dorazil tuk, který měl nepříjemný zápach. Jak může pan Petrželka stanovit stupeň žluknutí tuku (oleje)?

*Lze provést stanovení primárních (např. peroxidy) a sekundárních (např. malondialdehyd) produktů oxidace a dále lze stanovit stupeň hydrolyzy tuku. Primární produkty lze stanovit pomocí peroxidového čísla, které udává množství peroxidů v tuku, které oxidují jodid na jód. Vyloučený jód se stanoví titračně pomocí odměrného roztoku thiosíranu sodného. Malondialdehyd (MDA) se stanovuje po reakci vzorku s kyselinou thiobarbiturovou za vzniku barevného komplexu ((MDA(TBA))<sup>2</sup>), který lze detekovat pomocí spektrofotometru při vlnové délce 532 nm. Hydrolyzu při stárnutí tuku lze určit pomocí čísla kyselosti, které je vyjádřeno hmotností KOH (mg), který je potřebný k neutralizaci volných mastných kyselin v 1 g tuku (13; 14; 15).*

2. Paní Hladká má stanovit peroxidové číslo u vzorku tuku. Jak byste jí tento pojem vysvětlili a pro jaké vzorky je tato metoda vhodná?

*Peroxidové číslo udává množství chemicky vázaného kyslíku v tucích nebo olejích ve formě hydroxyperoxidů. Metoda je vhodná jak pro rostlinné, tak živočišné tuky a lze s ní stanovit také peroxidové číslo v margarínech a tukových pomazánkách obsahujících vodu, není však*



*vhodná pro mléčné tuky. Metoda je použitelná pro tuky do 30 meq aktivního kyslíku/kg vzorku (13).*

3. Paní Veselá pracuje v laboratoři a analyzuje oleje, které jsou podle jejích informací žluklé, ale hodnota peroxidového čísla je velmi nízká. Co může být důvodem velmi nízkého peroxidového čísla u žluklého oleje?

*Oleje jsou skladovány příliš dlouho a dochází zde ke změně primárních produktů oxidace (peroxydy) na sekundární produkty (např. MDA). Peroxidové číslo jakožto ukazatel primárních produktů oxidace je tudíž nižší, než by se předpokládalo (9).*

4. Pan Dlouhý provozuje restauraci a zajímalo by ho, jestli vedle oxidačních změn dochází i k jiným změnám v oleji v průběhu fritování. Jakou metodou může tyto změny prokázat?

*Při stárnutí tuku a jeho zahřívání může docházet také k hydrolytickému štěpení tuků. Míru hydrolytické štěpení stanovíme jako číslo kyselosti, kdy toto číslo udává množství KOH v mg použitého při titraci vzorku tuku, který neutralizuje volné mastné kyseliny v 1 g tuku. V oleji, který byl opakovaně používán a zahříván, bude číslo kyselosti vyšší než v oleji pocházejícím z tržní sítě (16).*

### **Polarimetrické stanovení škrobu dle Ewerse**

#### **Videonávod:**

- *Polarimetrické stanovení škrobu dle Ewerse*  
(<https://web.microsoftstream.com/video/4100c85e-5d05-4e87-bebb-9b01bede1501>)

1. Pan Jedlička pracuje v bramborárně Třebeň. Vyvíjí novou recepturu bramborových škrobů a potřebuje zjistit množství škrobu v bramborách od nového dodavatele. Jaká metoda je pro toto stanovení vhodná a jaký je její princip?

*Obsah škrobu ve vzorku lze stanovit polarimetricky metodou dle Ewerse. Vzorek se hydrolyzuje za tepla roztokem kyseliny chlorovodíkové. Vzniklá směs se vyčeří a obsah škrobu v roztoku se stanoví polarimetricky. Působením kyseliny chlorovodíkové se škrob převádí na rozpustnou formu, která je opticky aktivní (17).*

2. Pan Jedlička chce stanovit obsah škrobu v bramborové třence, jeho vzorek však není čirý. Jakým způsobem může vzorek při polarimetrickém stanovení vyčeřit?

*Aby bylo možné stanovit opticky aktivní látky, musí být vzorek čirý (zbavený nečistot). Použitím Carrezových činidel I a II dochází k vyčerení vzorku za vzniku objemných hexakvanoželeznatých sraženin, které se odstraní filtrací (18).*

3. Paní Škrobová je laborantka a má poprvé použít polarimetr. Jak by mělo vypadat kruhové pole v okuláru polarimetru, aby bylo možné správně odečíst otáčivost?

*Je zapotřebí nastavit takovou polohu, kdy jsou všechny tři části kruhového pole v okuláru stejně prosvícené. Poté lze odečíst otáčivost (18).*

4. Paní Světlá při polarimetrickém měření bramborového škrobu odečetla otáčivost a chce vypočítat obsah škrobu. Jaké další údaje k výpočtu obsahu škrobu potřebuje?

*Vyjma otáčivosti potřebuje dále znát délku polarizační trubice a přepočítávací faktor podle druhu škrobu.*

### **Stanovení antioxidační kapacity**

#### **Videonávod:**

- Stanovení antioxidační kapacity metodou FRAP (<https://web.microsoftstream.com/video/329f627e-e444-43bf-9053-d936f367c92c> )
- Stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH (<https://web.microsoftstream.com/video/ea78b562-691f-48ad-86e0-88ad854bfa72> )
- Příprava extraktů (<https://web.microsoftstream.com/video/cdfb9ff2-fdb1-41ef-931f-a2aeacce24b1>)

1. Paní Švestková si koupila pomerančový a jablečný džus a chtěla by zjistit, v kterém je více antioxidantů. Jakou metodu by mohla použít?

*Existuje několik metod pro stanovení antioxidační kapacity. Například lze použít metody FRAP a DPPH. Metoda FRAP funguje na principu redoxní reakce. Využívá schopnosti antioxidantů redukovat železité komplexy. Sleduje se redukce bezbarvého železitého komplexu TPTZ na modře zbarvenou železnatou formu, která se detekuje spektrofotometricky při vlnové délce 593 nm. Principem metody DPPH je reakce antioxidantů s antiradikálovou aktivitou se stabilním radikálem DPPH $\cdot$ , kdy dochází k redukci barevného stabilního radikálu DPPH $\cdot$  na bezbarvou neutrální molekulu. Rychlost a míra odbarvení jsou úměrné antioxidační účinnosti stanovovaného vzorku. Antioxidační kapacita se stanoví spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm (19).*

2. Paní Švestková naměřila chybné hodnoty absorbance u metod FRAP a DPPH, kterou další metodu by mohla použít?

*Dále lze použít metody ABTS a CUPRAC. Principem metody ABTS je sledování schopnosti vzorku zhaset radikál ABTS<sup>+</sup>. Výsledná antiradikálová aktivita stanovovaného vzorku je srovnávána s antiradikálovou aktivitou standardu Troloxu. Zhášení radikálu ABTS antioxidanty přítomnými ve vzorku se sleduje spektrofotometricky při vlnové délce 735 nm. Metoda CUPRAC je využitelná pro měření celkové antioxidační kapacity. Hlavní činidlo, neocuproin obsahující měď, může oxidovat antioxidanty za vzniku barevného komplexu, který je měřitelný spektrofotometricky. Analýza probíhá při vlnové délce 450 nm (19).*

3. Pan Zelinka chce stanovit antioxidační kapacitu vzorku zeleného čaje. V metodice je uvedeno, že by se vzorek měl připravovat do tmavých lahvíček a následně uchovávat ve tmě. Jaké to má opodstatnění?

*Antioxidanty jsou citlivé na světlo a jejich antioxidační kapacita by se mohla působením světla snížit (9).*

4. Pan Rákosník potřebuje poradit, jaké údaje jsou nutné k výpočtu antioxidační kapacity metodou FRAP? Dále by ho zajímalo, co určuje přesnost kalibrační křivky?

*Pro výpočet antioxidační kapacity vzorku je nutné vytvoření kalibrační řady standardu (Trolox) a následné grafické sestavení lineární kalibrační závislosti. Kvalitu kalibrační křivky určuje koeficient spolehlivosti  $R^2$ . Přesnost kalibrační křivky závisí na precizní laboratorní práci a na správnosti přístrojů (20).*

5. Jak by měla paní Týnová postupovat, jestliže stanovuje antioxidační kapacitu pomocí metody FRAP ve vzorku zeleného čaje a absorbance přesahuje hodnotu 1,0?

*Vzorek je potřeba několikanásobně naředit tak, aby absorbance vzorku byla pod 1,0. Toto ředění je nutné zohlednit při výpočtu.*

## Stanovení obsahu soli dle Mohra

### Videonávod:

- Stanovení obsahu soli dle Mohra (<https://web.microsoftstream.com/video/1ee5fad6-93e0-4e6c-907e-b7ab0b0c55b1>)
- Příprava byrety pro titraci (<https://web.microsoftstream.com/video/1209375b-e18d-4e51-bffc-1e0c0aaa2be6>)

1. Pan Vošmera potřebuje v laboratoři zaučit nového laboranta a potřebuje mu vysvětlit princip stanovení soli dle Mohra. Jak by měl tuto metodu popsat?

*Jde o argentometrickou titraci, kdy po zreagování všech chloridů ve vzorku s první nadbytečnou kapkou dusičnanu stříbrného začne docházet ke srážení stříbrných kationtů s anionty indikátoru za vzniku hnědočervené sraženiny, která je indikátorem bodu ekvivalence (konec titrace) (21).*

2. Pan Vošmera chce stanovit obsah sodíku ve vzorku bujónu a v laboratoři má k dispozici pouze titrační aparaturu pro stanovení soli dle Mohra. Jaké jsou nevýhody stanovení soli dle Mohra? Je možné touto metodou stanovit přímý obsah sodíku?

*Nevýhodou je určení bodu ekvivalence, které může být subjektivní. Dále nelze rozeznat, zda se při stanovení jedná o chloridy, bromidy či jodidy (pouze na začátku, sraženina u každého se bude mírně barevně lišit). Přímý obsah sodíku lze stanovit přepočtem přes obsah chloridů.*

3. Produkt obsahuje KCl, je zde možné stanovit obsah draslíku metodou dle Mohra?

*Touto metodou obsah draslíku stanovit nelze, ale jelikož se jedná o sloučeninu obsahující chlorid, metodou dle Mohra (argentometrická titrace, volumetrie) je možno stanovit obsah chloridů a následně vyhodnotit přepočtem množství draslíku.*

4. Jakou jinou metodu by ještě pan Vošmera mohl na stanovení soli ve své laboratoři používat?

*Na stanovení soli lze použít metodu dle Volharda. Jedná se o referenční metodu pro stanovení chloridů dle normy ČSN ISO 1841-1. Principem metody je stanovení přebytku přídavku dusičnanu stříbrného titračně thiokyanatanem draselným po předchozí extrakci horkou vodou, vysrážení bílkovin a okyselení. Výsledek se vyjádří jako obsah chloridu sodného. Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je vhodná pro kvantitativní analýzu především kovů, kdy je nutné před vlastním stanovením vzorek převést na atomy v plynné*

fázi pomocí atomizace vysokou teplotou. Touto metodou lze stanovit ze vzorku sodík. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem (ICP-MS) je ultrastopová analýza, díky níž lze stanovit prvky s citlivostí od jednotek ppt až po stovky ppm. Vzorek se stanovuje po předchozím zmlžení, zanikají vazby v molekulách a jednotlivé atomy jsou unášeny do komory, kde za změny tlaku dochází k transportu vzorku na detektor, dopadem vzorku dochází k vývoji elektrického proudu, jehož intenzita je změřena a následně proudů převedena na koncentraci (22; 23).

### **Stanovení diastatické mohutnosti**

#### **Videonávod:**

- Stanovení diastatické mohutnosti (<https://web.microsoftstream.com/video/afc579e0-3435-4dad-a252-b21978014664> )
- Příprava byrety pro titraci (<https://web.microsoftstream.com/video/1209375b-e18d-4e51-bffc-1e0c0aaa2be6>)

1. Pan Večerka chce stanovit schopnost amylolytických enzymů u experimentálně zpracované mouky. Jakou metodu by měl použít?

*Pro určení schopnosti amylolytických enzymů lze použít metodu na stanovení diastatické mohutnosti. V rámci stanovení diastatické mohutnosti dochází k extrakci amyláz a zcukřování škrobového roztoku. Maltóza, která vzniká ve vodné suspenzi působením amyláz na škrob a maltóza obsažená ve vzorku redukuje v alkalickém prostředí jód na jodid. Nespotřebovaný jód se stanoví titračně 0,1M odměrným roztokem thiosíranu sodného. Výsledek uvádíme v g maltosy na 100 g vzorku (jednotky WK)(24).*

2. Paní Konvičková se poprvé setkala s výrazem diastatická mohutnost a není jí jasné, proč se stanovuje. Můžete jí poradit, jaký důvod má toto stanovení a v jakých jednotkách se uvádí výsledky?

*Jinými slovy se jedná o aktivitu amylolytických enzymů ( $\beta$ -amyláza) a je důležitá pro zjištění jakosti jak mouky, tak např. sladu při výrobě mladiny ve fázi rmutování. Uvádí se jako hmotnost maltózy v g, která vznikne ze škrobu působením amylázy ze 100 g vzorku (jednotky WK) (25).*

3. Jakým odměrným roztokem by měla paní Malá titrovat vzorek při stanovení diastatické mohutnosti mouky?

*K titraci se použije 0,1M odměrný roztok thiosíranu sodného. Barva při této titraci přechází z namodralé na smetanově žlutou a tento odstín musí zůstat stálý alespoň 1 minutu (24).*

### **Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda**

#### **Videonávod:**

- Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda  
(<https://web.microsoftstream.com/video/b6ac1296-814c-4d22-b075-a5b66d41ed52> )

1. Paní Jirotková začíná pracovat v chemické laboratoři, která se zaměřuje na stanovení sacharidů. Potřebuje poradit, jaké metody se používají na stanovení redukujících cukrů?

*Pro stanovení redukujících cukrů lze použít například metodu dle Bertranda, dle Luffa-Schoorla, dle Ofnera, gravimetrickou metodu aj.*

2. Vysvětlíte paní Jirotkové, co jsou to redukující cukry? A jaké známe zástupce?

*Jsou to sacharidy, které se chovají jako redukční činidla díky volné aldehydové, nebo ketonové skupině. Zachovávají si schopnost oxidovat se na příslušnou kyselinu a redukovat mírná oxidační činidla. Jsou to všechny monosacharidy, některé disacharidy, oligosacharidy a polysacharidy s volným poloacetalovým hydroxylem-galaktóza, př. fruktóza, glukóza, galaktóza atd (26).*

3. Která činidla se používají ve stanovení redukujících cukrů dle Bertranda?

*Fehlingův roztok I; Fehlingův roztok II; 0,02M roztok manganistanu draselného; 4M roztok kyseliny sírové, roztok síranu železitého (18).*

4. Pan Koláček by chtěl stanovit redukující cukry v lineckém pečivu a chtěl by použít metodu stanovení dle Bertranda. Popište mu stručný princip této metody.

*Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda je manganometrická metoda, kde redukující cukry vyredukovávají oxid měďný z Fehlingova roztoku. Vyredukováný oxid měďný reaguje v kyselém prostředí s roztokem síranu železitého za vzniku ekvivalentního množství síranu železnatého, který se stanoví titrací odměrným roztokem manganistanu draselného do stálého slabě růžového zbarvení (18).*

## **Spektrofotometrické stanovení flavonoidů**

### **Videonávod:**

- *Spektrofotometrické stanovení flavonoidů*  
(<https://web.microsoftstream.com/video/f5441c27-f29d-41df-b26a-2c038cd75e13>)

1. Paní Zelená čte informace na obalu zeleného čaje a všimla si slova flavonoidy. Co to znamená?

*Jsou to rostlinné fenoly vyznačující se antioxidační aktivitou. Flavonoidy jsou odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny flavanu. V zeleném čaji se nachází velké množství flavonoidů, zejména katechinů. Fermentací se obsah flavonoidů degraduje téměř na polovinu (27).*

2. Jaké látky může paní laborantka Modová použít jako standard při tvorbě kalibrační křivky pro stanovení obsahu flavonoidů v zeleném čaji?

*Roztok katechinu, epikatechinu, nebo roztok hlavního flavonoidu v reálném vzorku (27).*

3. Pan Ondra se chystá stanovovat flavonoidy v bezové šťávě pomocí spektrofotometrie. Při jaké vlnové délce bude stanovení probíhat a co to znamená slepý vzorek?

*Stanovení bude probíhat při vlnové délce odpovídající absorpčnímu maximu sledovaného flavonoidu. Slepý vzorek, neboli blank, je vzorek, jehož příprava je obdobná jako u reálných vzorků, nicméně je v něm stanovovaná látka (extrakt) nahrazena pouhým rozpouštědlem (28).*

4. Jakými dalšími metodami by pan Ondra mohl stanovit flavonoidy ve vzorcích?

*Pro stanovení flavonoidů lze použít vysokoúčinná kapalinovou chromatografii (RP-HPLC), plynovou chromatografii, tenkovrstvou chromatografii (TLC), kapilární elektroforézu (CE), UV-VIS spektroskopii aj. (29).*

## **Stanovení kyselosti**

### **Videonávod:**

- Stanovení kyselosti (<https://web.microsoftstream.com/video/06170fda-3dc0-433e-94e0-43b7b4feca67>)

1. Paní Šmerdové vadí, když je hořčice příliš kyselá a zajímalo by ji, zda ohledně kyselosti hořčice existuje nějaká legislativa, případně jaké jsou limity?

*Kyselost hořčice se zabývá Vyhláška č. 398/2016 Sb. o požadavcích na koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky, ochucovadla, studené omáčky, dresinky a hořčici. Limit je stanoven jako kyselina octová v % nejvýše, kdy u plnotučné a speciální hořčice je horní limit 2,5 % a u kremžské 1,9 % (30).*

2. Poradte paní Šmerdové, jaký je princip stanovení kyselosti hořčice? A jak se následně výsledek interpretuje.

*Kyselost hořčice se stanoví potenciometrickou titrací. Vzorek neutralizován 0,1M odměrným roztokem NaOH do dosažení hodnoty pH 8,1 s následnou potenciometrickou indikací. Výsledek se interpretuje jako procentuální zastoupení kyseliny octové (31).*

## **NIR spektrometrie**

### **Videonávod:**

- Analýza pomocí NIR spektrometrie (<https://web.microsoftstream.com/video/aa4b227e-d60c-4862-9883-675d8d984d70>)

1. Paní Moučková se dozvěděla o možnosti využití NIR analýzy. Kde a jak by tuto metodu v potravinářství mohla uplatnit?

*Metodu NIR spektroskopie lze aplikovat k hodnocení hlavních složek potravin, vedlejších složek potravin, stanovení vlhkosti, sledování falšování potravin a mikrobiologických a senzorických procesů (32).*

2. Paní Moučková by chtěla znát, v jakém rozmezí vlnových délek probíhá měření v NIR oblasti.

*Vlnová délka se v tomto případě pohybuje v rozmezí 0,78-2,5  $\mu\text{m}$  (33).*



3. Paní Babinská pracuje v chemické laboratoři a obdržela vzorek sóji na stanovení tuku. Jakou metodu byste jí doporučili?

*Pro tento vzorek by bylo vhodné použít NIR spektroskopii. NIR spektroskopie je rychlá a nedestructivní metoda na stanovení obsahu tuku a proteinů ve smíšených, homogenizovaných a lyofilizovaných produktech. V potravinářství se využívá ke kvalitativnímu (obsah vody, bílkovin, sacharidů, tuku, minoritních látek) i kvantitativnímu hodnocení (33).*

### **Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie**

#### **Videonávod:**

- Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie (<https://web.microsoftstream.com/video/0f69b484-2e74-4cc4-8bf6-68bb5191d6cf> )
- Instrumentace GC (<https://web.microsoftstream.com/video/5b300507-64fd-4d9d-a952-9c8b62fde0f0> )

1. Paní Mušková by chtěla stanovit v oleji profil mastných kyselin. Pomocí jaké metody je může stanovit?

*Nejčastěji používanou metodou je plynová chromatografie (GC), která umožňuje kvalitativní i kvantitativní stanovení mastných kyselin.*

2. Pan Večerka si na obalu svého oblíbeného sýra přečetl výživové údaje a není si jistý, co znamená obsah mastných kyselin. Poradte mu, co jsou to mastné kyseliny a jak se liší?

*Jsou to základní složky tuků, přičemž tuk se skládá z esterů mastných kyselin a glycerolu. Mastné kyseliny rozlišujeme na nasycené a nenasycené, nasycené neobsahují žádnou dvojnou vazbu, nenasycené obsahují jednu a více dvojných vazeb. Vlastnosti tuku pak ovlivňuje především počet a umístění dvojných vazeb (9).*

3. Pana Večerka dále zajímá, jestli obsah mastných kyselin musí být uveden na spotřebitelských obalech v rámci výživových údajů?

*Až na výjimky ano, tuto problematiku upravuje Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům. Povinné je uvádět obsah nasycených mastných kyselin, zpravidla se jejich obsah uvádí po obsahu tuku v produktu (34).*

4. Paní Bilová chce stanovit obsah mastných kyselin v olivovém oleji a v sushi pokrmech. Jak má postupovat? Jak se kvantifikují a kvalifikují jednotlivé mastné kyseliny v analyzovaných vzorcích?

*Nejdříve je nutná extrakce tuku z pevné matrice. U olejů není extrakce tuku potřeba. U vzorku sushi je nutná studená extrakce za použití nepolárních rozpouštědel. Následně získaný tuk, resp. mastné kyseliny se převádí na těkavější methylestery, které stanovujeme pomocí plynové chromatografie s využitím plamenově-ionizačního detektoru. Jednotlivé mastné kyseliny se kvantifikují z chromatogramu srovnáním plochy píku methylesteru mastné kyseliny s plochou píku standardu. Kvalitativní informace je získána srovnáním retenčního času píku methylesteru mastné kyseliny s retenčním časem píku standardu (35).*

### **Stanovení cukrů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie**

#### **Videonávod:**

- Stanovení cukrů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (<https://web.microsoftstream.com/video/2386e2c6-91ec-4965-8275-2eb6b35a2634> )
- Instrumentace HPLC (<https://web.microsoftstream.com/video/d7007eaf-d865-48f4-b8bc-429d8296483f>)

1. Paní Veselá chce stanovit obsah glukózy pomocí HPLC. K dispozici má detektory: RID, FLD, MS, DAD a ELSD. Jaké detektory byste paní Veselé doporučili?

*Nejvyužívanějším detektorem pro stanovení sacharidů je refraktometrický detektor (RID). Jedná se o detektor, který měří změny indexu lomu eluátu. Dále je možno použít odpařovací detektor rozptylu světla (ELSD), který slouží především k detekci látek neobsahující žádný chromofor nebo fluorofor (36; 37).*

2. Vysvětlíte paní Veselé základní princip HPLC.

*Jedná se o vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii, při které dochází k separaci analytů a k jejich následné detekci. Mobilní fáze unáší analyty kolonou se stacionární fází a na základě afinity analytů ke stacionární, či mobilní fázi dochází k jejich separaci dle fyzikálně-chemických vlastností vzorku (38).*

### Seznam použité literatury:

1. RAJESH, Yennam, Nabeel M. KHAN, Abdul RAZIQ SHAIKH, Venkat S. MANE, Gaurav DAWARE a Ganesh DABHADE. Investigation of geranium oil extraction performance by using soxhlet extraction. *Materials Today: Proceedings*. 2022.
2. DE CASTRO, MD Luque; PRIEGO-CAPOTE, Feliciano. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of chromatography A*. 2010, **1217**(16): 2383-2389.
3. ČSN EN ISO 659. *Olejnátá semena - Stanovení obsahu oleje (Referenční metoda)*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2011.
4. ČSN 56 0116-6. *Metody zkoušení pekařských výrobků. Část 6: Stanovení obsahu tuku*. Praha: Český normalizační institut, 1995.
5. RAMLUKAN, Krishan, Kandasamy G. MOODLEY a Faizal BUX. An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the soxhlet extraction method. *Fuel*. 2014, **116**: 103-108.
6. PISOSCHI, Aurelia Magdalena, Aneta POP, Andreea Iren SERBAN a Cornelia FAFANEATA. Electrochemical methods for ascorbic acid determination. *Electrochimica Acta*. 2014, **121**: 443-460.
7. ZAPOROZHETS, Olga a E. A. KRUSHINSKAYA. Determination of Ascorbic Acid by Molecular Spectroscopic Techniques. *Journal of Analytical Chemistry*. 2002, **57**(4), 286-297.
8. RIZZOLO, Anna, Ada BRAMBILLA, Sabrina VALSECCHI a Paola ECCHER-ZERBINI. Evaluation of sampling and extraction procedures for the analysis of ascorbic acid from pear fruit tissue. *Food Chemistry* [online]. 2002, **77**(2): 257-262.
9. VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
10. ZHANG, Kelly, Kenji L. KURITA, Cadapakam VENKATRAMANI a David RUSSELL. Seeking universal detectors for analytical characterizations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2019, **162**: 192-204.
11. ROBINSON, Simon. HPLC-Fluorescence Detection. *Lab Manager* [online]. 2012 [cit. 2022-11-10]. Dostupné z: <https://www.labmanager.com/laboratory-technology/hplc-fluorescence-detection-17356>
12. SCHUSTER, A. Stephanie, William L. JOHNSON, Joseph J. DeSTEFANO a Joseph J. KIRKLAND. Methods for Changing Peak Resolution in HPLC: Advantages and Limitations. *LCGC Supplements*. 2013, **31**(4): 10-18.
13. ČSN EN ISO 3960. *Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení peroxidového čísla - Jodometrické (vizuální) stanovení koncového bodu*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.

14. ČSN EN ISO 660. *Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení čísla kyselosti a kyselosti*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2021.
15. DURÁN MERÁS, Isabel, Cesar PERIAÑEZ LLORENTE, Jesús PILO RAMAJO, Elisabet MARTÍN TORNERO a Anunciación ESPINOSA-MANSILLA. Optimization of the thiobarbituric acid-malonaldehyde reaction in non-aqueous medium. Direct analysis of malonaldehyde in oil samples by HPLC with fluorimetric detection. *Microchemical Journal* [online]. 2020, **159**.
16. VASKOVA, Hana a Martina BUCKOVA. Thermal degradation of vegetable oils: spectroscopic measurement and analysis. *Procedia Engineering*. 2015, **100**: 630-635.
17. ČSN EN ISO 10520. *Přírodní škrob - Stanovení obsahu škrobu - Ewersova polarimetrická metoda*. Praha: Český normalizační institut, 1999.
18. HRSTKA, Miroslav a Lenka SOMROVÁ. *PRAKTIKUM Z ANALYTICKÉ CHEMIE POTRAVIN*. Brno: VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA CHEMICKÁ, 2013.
19. PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek In Vitro. *Chemické listy* [online]. 2004, **98**, 174-179.
20. SETHI, Shruti, Alka JOSHI, Bindvi ARORA, Arpan BHOWMIK, R. R. SHARMA a Pushpendra KUMAR. Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts. *European Food Research and Technology* [online]. 2020, **246**(3): 591-598.
21. ČSN ISO 9297. *Jakost vod. Stanovení chloridů. Argentometrické stanovení s chromanovým indikátorem (metoda podle Mohra)*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
22. ČSN ISO 1841-1. *Maso a masné výrobky - Stanovení obsahu chloridu - Část 1: Volhardova metoda*. Praha: Český normalizační institut, 1999.
23. PEREZ-PALACIOS, Trinidad, Alejandro SALAS, Adela MUÑOZ, Eder-Renato OCAÑA a Teresa ANTEQUERA. Sodium chloride determination in meat products: Comparison of the official titration-based method with atomic absorption spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2022, **108**: 104425.
24. ČSN 56 0512-14. *Metody zkoušení mlýnských výrobků. Část 14: Stanovení diastatické mohutnosti*. Praha: Český normalizační institut, 1995.
25. FARZANEH, Vahid, Alireza GHODSVALI, Hamid BAKHSHABADI, Zahra ZARE a Isabel S. CARVALHO. The impact of germination time on the some selected parameters through malting process. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017, **94**: 663-668.

26. HE, Hong-Ju, Yangyang WANG, Mian ZHANG, Yuling WANG, Xingqi OU a Jingli GUO. Rapid determination of reducing sugar content in sweet potatoes using NIR spectra. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2022, **111**: 104641.
27. MAITI, Smarajit, Aarifa NAZMEEN, Nandita MEDDA, Ritesh PATRA a Tamal Kanti GHOSH. Flavonoids green tea against oxidant stress and inflammation with related human diseases. *Clinical Nutrition Experimental*. 2019, **24**: 1-14.
28. SHRAIM, Amjad M., Talaat A. AHMED, Md Mizanur RAHMAN a Yousef M. HIJJI. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*. 2021, **150**: 111932.
29. SAMMANI, Mohamad Subhi, Sabrina CLAVIJO a Víctor CERDÀ. Recent, advanced sample pretreatments and analytical methods for flavonoids determination in different samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2021, **138**: 116220.
30. Vyhláška č. 398/2016 Sb. ze dne 2. prosince 2016 o požadavcích na koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky, ochucovadla, studené omáčky, dresinky a hořčici, 2016. Sbírka zákonů České republiky, částka 162/2016, s. 13.
31. ČSN 58 1361. *Metody zkoušení hořčice*. Praha: Český normalizační institut, 1964.
32. FOLLI, Gabriely S., Layla P. SANTOS, Francine D. SANTOS, et al. Food analysis by portable NIR spectrometer. *Food Chemistry Advances*. 2022, **1**: 100074.
33. FERREIRA, D.S., O.F. GALÃO, J.A.L. PALLONE a R.J. POPPI. Comparison and application of near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy for determination of quality parameters in soybean samples. *Food Control*. 2014, **35**(1): 227-232.
34. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnic Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004 Text s významem pro EHP, Úřední věstník Evropské unie, 2011, L 304, s. 18-63.
35. HEWAVITHARANA, Geeth G., Dilini N. PERERA, S.B. NAVARATNE a I. WICKRAMASINGHE. Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review. *Arabian Journal of Chemistry*. 2020, **13**(8): 6865-6875.
36. MA, Chunmei, Zhen SUN, Changbao CHEN, Lili ZHANG a Shuhua ZHU. Simultaneous separation and determination of fructose, sorbitol, glucose and sucrose in fruits by HPLC–ELSD. *Food Chemistry*. 2014, **145**: 784-788.

37. YEGANEH-ZARE, Samal, Khalil FARHADI a Saber AMIRI. Rapid detection of apple juice concentrate adulteration with date concentrate, fructose and glucose syrup using HPLC-RID incorporated with chemometric tools. *Food Chemistry*. 2022, **370**: 131015.
38. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 3. upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.