

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Stanovení vitamínu E v odrůdách pšenice s odlišným zabarvením zrna

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Markéta Veverková

Vedoucí práce: doc. Ing. Alena Hejtmánková, CSc.

2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Stanovení vitamínu E v odrůdách pšenice s netradičním zbarvením zrna“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, CSc. za odborné vedení a věcné připomínky k diplomové práci a Ing. Marku Popovovi za pomoc a cenné rady při laboratorním měření.

Práce byla vypracována v rámci řešení grantového projektu NAZV QJ 1510206 Výzkum odlišných typů zbarvení zrna pšenice způsobených látkami s antioxidačním účinkem, jejich využití pro tvorbu odrůd s příznivým zdravotním benefitem pro výživu člověka a zvířat.

SOUHRN

Diplomová práce se zabývá stanovením množství vitamínu E v zrnech pšenice s netradičním zbarvením obilky. V teoretické části je zmíněna botanická charakterizace pšenice, ječmene a tritordea, vitamín E a jeho chemické a biologické aspekty a základy chromatografie se zaměřením na vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC).

V experimentální části byla provedena analýza za účelem kvantifikace vitamínu E. Analýza byla provedena u vzorků ozimé a jarní pšenice, jarního ječmene a jarního tritordea ze sklizní z let 2014 a 2015. Jednalo se o odrůdy s netradičním zbarvením zrna. Hodnocení probíhalo podle odrůdy (ozimá pšenice x jarní pšenice x jarní ječmen x jarní tritordeum) a podle zbarvení obilky (modrý aleuron x purpurový perikarp x žlutý perikarp). Dílčí částí byla kvantifikace vitamínu E během dlouhodobého skladování.

Na základě stanovení celkového obsahu vitamínu E bylo zjištěno, že ve všech analyzovaných odrůdách obilovin s různou barvou zrna neexistuje statisticky významný rozdíl v hodnotách celkového množství vitamínu E. Rozdíly mezi obsahem vitamínu E ve vzorcích stejných odrůd různých obilovin ze sklizně z roku 2014 a ze sklizně z roku 2015 byly statisticky nevýznamné. Ve všech odrůdách pšenice byly kvantifikovány čtyři vitamery, a to α -tokoferol, β -tokoferol, α -tokotrienol a β -tokotrienol. Množství ostatních vitamerů bylo pod mezí detekce. Celkový obsah vitamínu E i obsahy jednotlivých vitamerů se shodovaly s údaji uvedenými v odborné literatuře pro odrůdy pšenice s klasickým zbarvením zrna. Jarní ječmen obsahoval mírně vyšší průměrné množství celkového vitamínu E v porovnání s odrůdami jarní a ozimé pšenice. Celkové průměrné množství vitamínu E v odrůdách jarního tritordea bylo rovněž mírně vyšší než v odrůdách ozimé a jarní pšenice. Z hlediska dlouhodobého skladování je zřejmé, že celkové množství vitamínu E v obou sledovaných odrůdách je poměrně stálé a nevykazuje žádný zřetelný trend v závislosti na době skladování.

Klíčová slova: pšenice s netradičním zbarvením zrna, tokoferoly, tokotrienoly, HPLC

SUMMARY

The diploma thesis deals with the determination of vitamin E in grains of wheat kernels with unusual coloring. In the theoretical part is mentioned botanical characterization of wheat, barley and tritordeum, vitamin E and its chemical and biological aspects and basics of chromatography with a focus on the high performance liquid chromatography (HPLC).

The analysis to quantify vitamin E was performed in the experimental part of the thesis. The analysis was conducted with samples of winter and spring wheat, spring barley and spring tritordeum from harvests of 2014 and 2015. These were varieties with unusual coloring of the grain. The evaluation was conducted by variety (winter wheat, spring wheat, spring barley, spring tritordeum) and by the color of the kernels (blue aleuron, purple pericarp, yellow pericarp). Subsection part of the thesis is dedicated to a quantification of vitamin E during long-term storage.

Based on the determination of total vitamin E amount in all analyzed varieties of cereal grains with a different color is not statistically significant difference in the values of the total amount of vitamin E. The difference between the content of vitamin E in the samples of the same varieties of different cereals harvest from a year 2014 and a year 2015 were not statistically significant. All varieties of wheat were quantified four vitamins: α -tocopherol, β -tocopherol, α -tocotrienol and β -tocotrienol. The amount of other vitamins was below the limit of detection. The total content of vitamin E and contents of individual vitamins coincide with the data given in the literature for wheat varieties with standard color of grain. Spring barley contained a slightly higher average levels of total vitamin E amount in comparison with varieties of spring and winter wheat. The total average amount of vitamin E in varieties of spring tritordeum was also slightly higher than in varieties of winter and spring wheat. From the long term storage point of view, it is clear that the total amount of vitamin E in both varieties is relatively stable and shows no clear trend in function of storage time.

Key words: wheat grains with an unusual coloring, tocopherols, tocotrienols, HPLC

OBSAH

1. ÚVOD	9
2. HYPOTÉZA A CÍL PRÁCE	10
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	11
3.1. Pšenice obecná (<i>Triticum aestivum</i>)	11
3.1.1. Popis.....	11
3.1.2. Morfologické složení zrna	12
3.1.3. Chemické složení zrna	13
3.1.3.1. Bílkoviny	13
3.1.3.2. Lipidy	13
3.1.3.3. Vitaminy a minerální látky	13
3.1.3.4. Sacharidy	14
3.1.4. Pěstování pšenice	14
3.1.5. Nutriční a zdravotní aspekty pšenice	14
3.1.5.1. Celiakie.....	15
3.2. Ječmen (<i>Hordeum</i>)	15
3.2.1. Popis.....	15
3.2.2. Morfologické a chemické vlastnosti ječmene.....	16
3.2.3. Pěstování ječmene.....	16
3.2.4. Nutriční a zdravotní aspekty ječmene.....	16
3.3. Tritordeum.....	17
3.3.1. Popis.....	17
3.3.2. Chemické složení	17
3.4. Netradiční barevné odrůdy obilovin.....	17
3.4.1. Červené zbarvení zrna	17
3.4.2. Purpurové zbarvení zrna	18
3.4.3. Modré zbarvení zrna	18
3.4.4. Žluté zbarvení zrna	18

3.4.5.	Bílé zbarvení zrna	18
3.5.	Uplatnění obilovin s netradičním zbarvením zrna v potravinářství	19
3.6.	Skladování obilovin	20
3.6.1.	Principy dlouhodobého skladování.....	20
3.6.2.	Procesy probíhající v samotném zrně.....	21
3.6.2.1.	Dýchání.....	21
3.6.2.2.	Klíčení a porůstání.....	21
3.6.3.	Procesy probíhající vlivem okolí	21
3.6.3.1.	Fermentace	21
3.6.3.2.	Intoxikace	21
3.6.3.3.	Samozáhřev	22
3.6.4.	Fyzikální vlastnosti ovlivňující skladování	22
3.7.	Vitaminy.....	22
3.7.1.	Úvod.....	22
3.7.2.	Rozdělení vitaminů	22
3.7.3.	Doporučené množství a využití	23
3.8.	Vitamin E	23
3.8.1.	Úvod.....	23
3.8.2.	Chemická struktura vitaminu E	24
3.8.2.1.	Chemická struktura tokoferolů	25
3.8.2.2.	Chemická struktura tokotrienolů	26
3.8.3.	Produkty rozkladu, metabolity a podoby α -tokoferolu.....	26
3.8.4.	Biologická aktivita vitaminu E	26
3.8.5.	Fyziologické aspekty vitaminu E.....	27
3.8.6.	Výskyt.....	28
3.8.7.	Deficit a nadbytek vitaminu E	29
3.9.	Chromatografie	30
3.9.1.	Princip chromatografie	30

3.9.2.	Rozdělení chromatografických metod	30
3.10.	Kapalinová chromatografie (<i>Liquid chromatography</i> , LC)	31
3.10.1.	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (<i>High Performance Liquid Chromatography</i> , HPLC)	32
3.10.1.1.	Popis	32
3.10.1.2.	Chromatografická data a pojmy	34
3.10.1.3.	Kolony v HPLC	35
3.10.1.4.	Instrumentace v HPLC	36
3.10.1.5.	Detektory pro HPLC	36
3.10.1.6.	Vyhodnocení výsledků v HPLC	38
3.10.1.7.	Teorie chromatického procesu	38
3.10.1.8.	Využití HPLC v praxi	38
3.10.1.9.	Analytické aspekty a testování vitamínu E	39
4.	MATERIÁL A METODY	40
4.1.	Vzorky	40
4.2.	Standardy, chemikálie a příprava roztoků	43
4.2.1.	Chemikálie	43
4.2.2.	Pomůcky	43
4.2.3.	Přístroje	43
4.2.4.	Stanovení vit E metodou HPLC, podmínky stanovení	44
4.3.	Příprava vzorků	44
4.4.	Statistická analýza	45
5.	VÝSLEDKY	46
5.1.	Meze detekce	46
5.2.	Hodnocení tokolů podle druhu obilniny	46
5.2.1.	Ozimá pšenice	46
5.2.2.	Jarní pšenice	50
5.2.3.	Jarní ječmen	55

5.2.4.	Jarní tritordeum.....	58
5.3.	Hodnocení tokolů podle zbarvení zrna	61
5.3.1.	Zrna s modrým aleuronem.....	61
5.3.2.	Zrna s purpurovým perikarpem	63
5.3.3.	Zrna se žlutým perikarpem	65
5.4.	Vliv doby skladování na množství vitamínu E v zrně	67
5.4.1.	Ozimá pšenice Skorpion	67
5.4.2.	Jarní pšenice ANK 28-B	69
5.5.	Vliv počasí	70
6.	DISKUZE	72
7.	ZÁVĚR	78
8.	ZDROJE	79
9.	SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY	I
9.1.	Ukázkové příklady chromatogramů	I

1. ÚVOD

Pšenice setá patří mezi nejvíce využívané obilniny na světě. Je důležitá nejen pro výživu lidí a výživu hospodářských zvířat. Své uplatnění nachází i ve zpracovatelském průmyslu, jako surovina pro výrobu škrobu a lihu. Hlavním produktem je zrno, které je zásobárnou nutričně důležitých látek, jako jsou bílkoviny, škrob, minerální látky a vitaminy. Pšenice s netradičním zbarvením zrna navíc obsahuje látky s významnou antioxidační aktivitou, jako jsou antokyany a karotenoidy.

Vitamin E se nachází v pšenici ve významném množství. Největší množství se nachází v oleji z pšeničných klíčků. Vitamin E se skládá z izomerů tokoferolů a tokotrienolů, které se vyskytují v α -, β -, γ - a δ - formách. Vitamin E je esenciální, lidský organismus si jej sám nevytvoří, a proto je důležité jej přijímat potravou. Jeho vliv na zdraví je nepopíratelný. Jako antioxidant vychytává volné radikály a působí tak v prevenci rakoviny, snižuje hladinu LDL cholesterolu a zvyšuje HDL cholesterol, čím posiluje kardiovaskulární systém. V současnosti probíhá výzkum, který pravděpodobně dokazuje, že vitamin E dokáže zpomalovat projevy Alzheimerovy choroby.

2. HYPOTÉZA A CÍL PRÁCE

Hypotézy diplomové práce:

Obsahy majoritních tokolů v odrůdách pšenice s odlišným typem zbarvení zrna jsou nad mezí detekce.

Obsahy jednotlivých tokolů v pšenicích s odlišným typem zbarvení zrna jsou závislé na odrůdě.

Zastoupení jednotlivých tokolů v pšenicích s odlišným typem zbarvení zrna jsou závislá na barvě zrna.

Cíle diplomové práce:

Stanovit metodou HPLC obsah majoritních tokolů v daných odrůdách obilnin s odlišným zbarvením zrna a dokázat, že jsou nad mezí detekce.

Určit, zda jsou obsahy jednotlivých tokolů v obilnině s různým zbarvením zrna závislé na odrůdě a na barvě zrna.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1. Pšenice obecná (*Triticum aestivum*)

3.1.1. Popis

Pšenice je rod patřící do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Jedná se o jednoděložnou rostlinu, jednu z nejstarších a nejvýznamnějších kulturních plodin původem z Blízkého východu, nyní pěstovanou celosvětově. Ve své produkci zaujímá třetí příčku po kukuřici a rýži. Pro mírný pás je ale dominantní plodinou. Používá se pro výrobu potravin a krmiv pro hospodářská zvířata (Shewry, 2009).

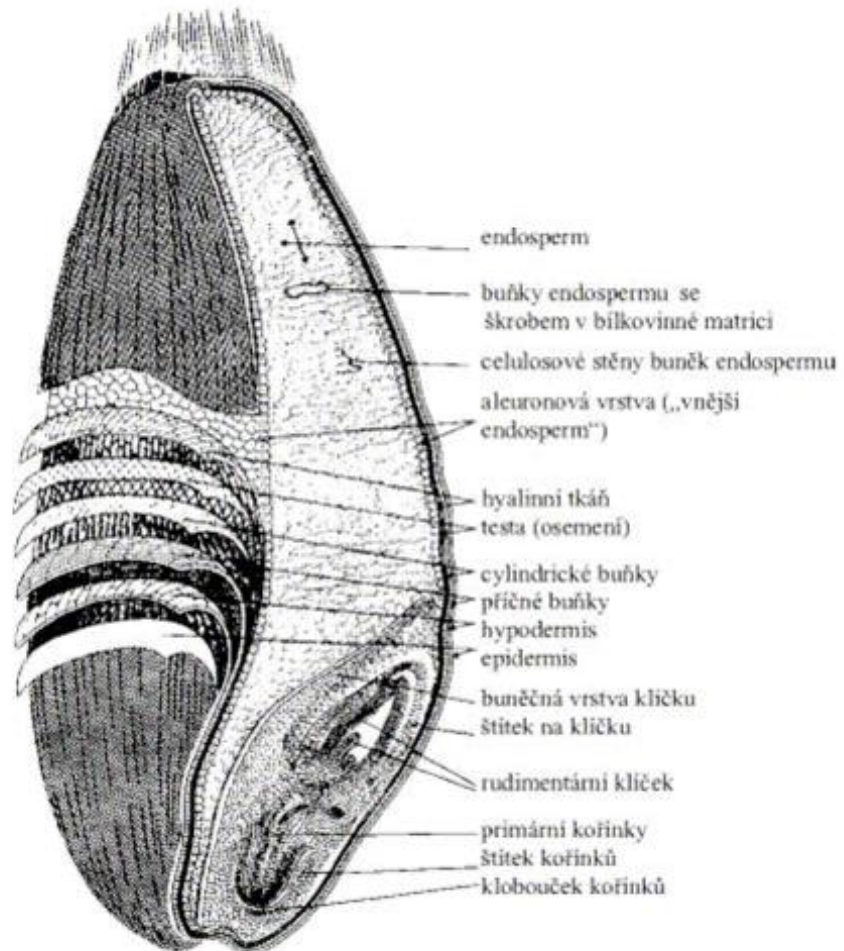
Tab. 1: Světoví producenti pšenice (Příhoda, 2006)

Stát	Produkce (mil. tun)	Stát	Produkce (mil. tun)
Čína	93,5	Německo	22,9
Indie	68,5	Kanada	21,3
USA	53,3	Pákistán	18,9
Rusko	46,9	Argentina	17,7
Francie	31,7	Turecko	16,0
Austrálie	23,8	Kazachstán	12,9

Dle tabulky je zřejmé, že se státy Evropské Unie staly významnými producenty pšenice a jsou schopny konkurovat světově významným exportérům, jako jsou USA a Kanada.

3.1.2. Morfologické složení zrna

Obr. 1: Podélný řez pšeničným zrnem se znázorněním jeho morfologických vrstev (Příhoda, 2006)



Květenstvím je bezosinný nebo osinatý klas, zrno je nahé, vejčitého tvaru, s rýhou uprostřed. Nejvrchnější vrstvy zrna, tzv. oplodí chrání před mechanickým poškozením a účinky vody nebo škodlivých látek. Proto je tato vrstva tvořena celulózou, která je obtížně bobtnající. Další podpovrchové vrstvy obsahují v buňkách barviva, které určují barevný vzhled zrna. V dalších vrstvách jsou obsaženy polysacharidové látky, které díky schopnostem vázat vodu a bobtnat udržují rovnováhu vlhkosti zrna. Na oplodí a endospermu se nachází aleuronová vrstva. Tyto buňky mají vysoký podíl bílkovin (zhruba 30%) a vysoký obsah minerálních látek ze všech buněk zrna. Avšak tato vrstva je během úpravy na mouku snadno vymleta. Klíček zrna je při mlýnském zpracování vždy odstraněn, protože velmi rychle podléhá oxidačním

a enzymovým změnám, které mají negativní vliv na senzorickou kvalitu produktu (Příhoda, 2006).

3.1.3. Chemické složení zrna

Zastoupení hlavních chemických komponent je v jednotlivých částech zrna různé.

- a) Bílkoviny jsou hojně zastoupeny v aleuronové vrstvě, vnějším endospermu a v klíčku.
- b) Lipidy jsou převážně v klíčku.
- c) Minerální látky se nacházejí ve významném množství v aleuronové vrstvě.
- d) Ze sacharidů se v obilném zrně nachází škrob, který je přítomen ve vnitřním a vnějším endospermu, pentosany v oplodí, celulóza v perikarpu a redukující cukry v klíčku.

3.1.3.1. Bílkoviny

Bílkoviny jsou biopolymery, jejichž molekuly dosahují větších rozměrů. Tyto molekuly jsou tvořeny různě dlouhými řetězci aminokyselin, spojenými tzv. peptidovou vazbou. V řetězcích mohou být místo aminokyselin zapojeny jejich aminy. Ty mají místo $-\text{COOH}$ skupiny skupinu $-\text{CONH}_2$ a jsou odvozeny od dikarboxylových aminokyselin glutaminu a asparginu. Nejvíce se vyskytují aminokyseliny kyselina glutamová, prolin nebo leucin. Průměrný obsah bílkovin v pšenici je 12%.

3.1.3.2. Lipidy

Nejrozšířenějšími lipidy obilovin jsou triacylglyceroly. Tyto nenasycené mastné kyseliny snadno podléhají oxidačnímu žluknutí. Zástupci těchto kyselin jsou k. olejová nebo k. palmitová. Průměrný obsah lipidů v zrně je 2%.

3.1.3.3. Vitaminy a minerální látky

Vitaminy se vyskytují v obalových vrstvách a klíčku. Nachází se zde vitaminy skupiny B, thiamin (B1), riboflavin (B2) a kyselina nikotinová (B3), jejich průměrné obsahy v zrně jsou 4 mg.kg^{-1} , 1 mg.kg^{-1} a $<1 \text{ mg.kg}^{-1}$, resp. V pšeničných klíčcích je ve vysoké koncentraci obsažen vitamin E. Z minerálních látek, analyzovaných

z anorganického popela, je zastoupen hořčík, vápník a železo. Ale mohou se zde nacházet i kontaminanty ve formě těžkých kovů.

3.1.3.4. Sacharidy

Ze skupiny sacharidů se v zrně nachází škrob, celulóza, pentosany a redukující cukry. Z monosacharidů jsou nejpočetněji zastoupeny glukóza, fruktóza, maltóza, sacharóza nebo rafinóza. Polysacharidy zastupují celulóza, hemicelulózy a lignin, látky nerozpustné ve vodě ani v kyselinách, jejich obsah činí 10 %. Více je zastoupen škrob, který je v zrně obsažen v endospermu a tvoří 60-70 % jeho sušiny a poměr amylosa: amylopektin je 25:75 % (Kučerová, 2004; Příhoda, 2006).

3.1.4. Pěstování pšenice

V našich zeměpisných podmínkách se pěstují zejména 2 formy pšenice, a to pšenice ozimá a pšenice jarní.

Pšenice ozimá je velmi náročná na zásobu živin v půdě. Jako předplodiny se používají jeteloviny, luskoviny, okopaniny a olejniny. Pšenice se seje do konce měsíce října při dostatku vláhy a za teplot kolem 15°C. Vyžaduje dobře živěnou hlinitou nebo jílovitohlinitou půdu. Plody se tvoří po přezimování na jaře a v létě dalšího roku. Pšenice jarní je doplňkovou formou k pšenici ozimé. Požadavky na půdu jsou obdobné, ale snese i plevelovitou zeminu. Pšenice jarní se seje obvykle v březnu a snáší dobře i teploty pod 0°C (Selgen, 2016).

3.1.5. Nutriční a zdravotní aspekty pšenice

Její výhodou je, že má velký potenciál výtěžku a také obsah bílkoviny lepku, který má viskoelastické vlastnosti, které umožňují těstu být zpracováváno na chléb, těstoviny, nudle a jiné pekařské výrobky. Pšenice obsahuje esenciální aminokyseliny, minerální látky, nejvíce fosfor, draslík a selen, vitaminy skupiny B, především vitamin B₃ niacin a E a také v menším množství β-karoten a vlákninu (1,6 - 2,0 %), potřebnou pro stravu lidí. Také je velkým zdrojem energie díky vysokému obsahu škrobu (50 – 70 %), který je snadno stravitelný. Obsah tuku v zrnech pšenice je nízký, nachází se v něm především velké množství nenasycených kyselin olejové a linolové. Nejvíce těchto látek

obsahují celozrnné výrobky. V kulinářsky upravené formě se ale nutriční hodnota těchto látek mění v závislosti na způsobu úpravy (Bjorck, 2006; Příhoda, 2006).

Nicméně, pšeničné výrobky jsou také zodpovědné za nežádoucí účinky u lidí. Jedná se především o alergie (respirační i gastrointestinální) a intolerance (celiakie). Lepek se při trávení mění na mazlavou hmotu, která může zhoršit funkci peristaltiky střev, a tím i snížení využití živin (Biesiekierski, 2015; Lundin, 2015).

3.1.5.1. Celiakie

Celiakie se vyskytuje u 1-2 % populace, ale ve většině případů je nediodagnostikována, a tím pádem i neléčena. Celiakie je způsobena sice způsobena reakcí na pšeničnou bílkovinu, ale není to totéž co alergie. Podstatou tohoto onemocnění je geneticky podmíněná porucha slizniční imunity spočívající v abnormální reakci některých jedinců na lepek a jiné prolaminy, které obsahují vysoké množství prolinu a glutaminu. Prolaminy z pšenice se nazývají gliadiny, prolaminy z ječmene hordeiny. Při průniku těchto peptidů střevní sliznicí dochází k jejich deaminaci a následně dochází k poškození sliznice a její atrofizace. Projevy mohou být gastrointestinálního (chronický průjem, bolesti břicha, nauzea, zvracení, meteorismus, úbytek tělesné váhy) i extraintestinálního (celková únava, porucha vývoje chrupu, osteoporóza, anémie) charakteru (Kohout, 2008).

Další nemoci vyvolané konzumací lepku jsou non-celiakální citlivost na lepek, lepková ataxie (tj. porucha koordinace pohybu) nebo Duhringova kožní choroba dermatitis herpetiformis (Molina-Infante, 2015).

3.2. Ječmen (*Hordeum*)

3.2.1. Popis

Ječmen patří spolu s pšenicí k nejstarším obilninám, pocházející z Egypta a Babylonie. Patří do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) a zahrnuje především planě rostoucí plodiny. Jedinou a nejvýznamnější kulturní odrůdou je ječmen setý (*Hordeum vulgare*). Podle osevní plochy je ječmen čtvrtou celosvětově nejpěstovanější plodinou. V současnosti se největší podíl ječmene používá pro krmení hospodářských zvířat, potravinářské využití představuje zhruba 25 % z celkové produkce.

Tab. 2: Světoví producenti ječmene (Příhoda, 2006)

Stát	Produkce (mil. tun)	Stát	Produkce (mil. tun)
Rusko	19,5	Kanada	11,4
Německo	13,6	Ukrajina	10,6

3.2.2. Morfologické a chemické vlastnosti ječmene

Zrno ječmene má větší oplodí, tudíž má vyšší obsah vlákniny (4 %), tuku (2 %) a minerálních látek (2 %) než pšenice. Zásobní bílkovinou je hordein (prolamin) a limitující aminokyselinou je lysin. Zrno ječmene také obsahuje antinutriční látku beta glukán, polysacharid, díky jehož účinkům dochází ke zvýšení viskozity obsahu střev (Příhoda, 2006).

3.2.3. Pěstování ječmene

Jako kulturní plodina se pěstují dvě formy ječmene, ječmen jarní a ječmen ozimý.

Jarní ječmen je náročný na půdní požadavky, nejvhodnější jsou hnědozemě a černozemě, naopak nevhodné jsou kyselé půdy a ornice nebo místa s častým výskytem mlhy a vlhka. Nejvhodnější předplodinou je cukrovka nebo pšenice.

Ozimý ječmen není příliš náročný na půdní a klimatické podmínky, avšak je často napadán houbovými chorobami. Nejvhodnější předplodinou jsou obiloviny (Selgen, 2016).

3.2.4. Nutriční a zdravotní aspekty ječmene

Ječmen obsahuje esenciální nutrienty, jako jsou bílkoviny, vláknina, vitaminy skupiny B: niacin (B₃), jehož průměrné množství je 70 mg.kg⁻¹ a pyridoxin (B₆) a z minerálních látek ve významném množství mangan a fosfor. Produkty z ječmene přijímané ve stravě mají díky rozpustné vláknině pozitivní účinky při snižování hladiny cholesterolu v krvi, a tím vedou k prevenci kardiovaskulárních chorob. Také konzumace celozrnných produktů ječmene má dobrý vliv na regulaci glukózy v krvi (Příhoda, 2006; Svačina, 2008).

Stejně jako pšenice obsahuje ječmen lepek. Zdravotní komplikace jsou shodné s komplikacemi lepku v pšenici. Někteří jedinci s alergií na pšeničný lepek však mohou snášet lepek z ječmene nebo žita (Bjorck, 2006).

3.3. Tritordeum

3.3.1. Popis

Obilovina vzniklá křížením divokého ječmene rostoucího v Latinské Americe a pšenice. V současnosti se tritordeum pěstuje i v Jižní Evropě. Výnosy této plodiny jsou podobné těm z pšenice tvrdé. Je podstatně udržitelnější, protože potřebuje méně vody, fungicidů i hnojiva. Původ tritordea je velmi dobře dohledatelný, protože pochází pouze od vybraných zemědělců držících licenci. Výrobní náklady jsou nízké, protože se jedná o robustní plodinu s odolností vůči patogenům a nepřízní počasí. Produkty z tritordea mají nasládlou chuť, přirozené aroma a zlatavou barvu (Alvarez, 1998; Tritordeum, 2015).

3.3.2. Chemické složení

Tritordeum je charakteristické vysokým obsahem bílkovin (20 %) a vysokým obsahem lepku (40 %). Žlutou barvu zrna tritordeu dodává karotenoid lutein, který má významnou antioxidační aktivitu (Beránková, 2008).

3.4. Netradiční barevné odrůdy obilovin

Zrna obilnin mohou mít různá zbarvení, které jsou způsobeny pigmenty.

3.4.1. Červené zbarvení zrna

Nejčastější barvou je červená. Pigment je tvořen deriváty katechinu a katechantaninu, které vznikají biosyntézou flavonoidů. Červené zbarvení je způsobeno proanthokyanidiny. Geneticky je červená barva podmíněna dominantními alelami lokusu R, které jsou transkripční maticí pro flavonoidy. Díky obsahu fenolických látek mají antioxidační aktivitu. V Evropě jsou obilniny s červeným zrnem nejrozšířenější (Trojan, 2014).

3.4.2. Purpurové zbarvení zrna

Purpurové obilky obsahují antokyany ve svém perikarpu. V něm je nejvíce zastoupen kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid a kyanidinsukcinylglukosid. Tyto látky jsou nejvíce uloženy v perikarpu. Purpurové zbarvení je dáno geny *Purple pericarp1* (*Pp1*) na chromozomu 3 a *Purple pericarp3* (*Pp3*) na chromozomu 7. Geny pro purpurový perikarp byly přeneseny z purpurových tetraploidních a hexaploidních pšenic, původem z Etiopie. Mezi významné odrůdy patří Purple Feed, který pochází z Austrálie nebo kanadská odrůda Purple (Trojan, 2014).

3.4.3. Modré zbarvení zrna

Dalším zbarvením obilky je modrá. Nejvíce jsou zastoupeny pigmenty delfinidin-3-glukosid a delfinidin-3-rutinosid. Tyto pigmenty se nejvíce ukládají v aleuronové vrstvě. Za modré zbarvení obilek odpovídají geny *Blue aleurone1* (*Ba1*) a *Blue aleurone2* (*Ba2*) na chromozomech 4. Nejvýznamnější odrůdou s modrým aleuronem je Tschermark (Trojan, 2014).

3.4.4. Žluté zbarvení zrna

Zbarvení žlutých zrn je způsobeno karotenoidy, a to luteinem a zeaxantinem. Tyto karotenoidy jsou uloženy ve škrobnatém zrně. Geneticky je žlutá barva zrna podmíněna lokusy *Psy1* a *Psy2*, které se nachází na 5. a 7. chromozomu. Ale genetika tohoto zbarvení zatím není moc popsána. Nejběžnějšími zástupci pšenice se žlutým zbarvením zrna jsou Bona Dea nebo Citrus. Avšak nejvíce karotenoidů se nachází v tritordeu, což je hybrid divokého ječmene a pšenice, pocházející z Latinské Ameriky (Atienza et al., 2007; Trojan, 2014).

3.4.5. Bílé zbarvení zrna

Obilniny s bílým zrnem mají nižší obsah fenolických látek, které jsou hořké. Mouky z bílých zrn mají vyšší výmelnost a mohou obsahovat více vlákniny, minerálů a bílkovin. Nižší obsah hořkých látek dává mouce sladkost. Geneticky je bílá barva dána recesivními alelami *r-A1*, *r-B1* a *r-D1*. Nejběžnější odrůdou je Heroldo (Trojan, 2014).

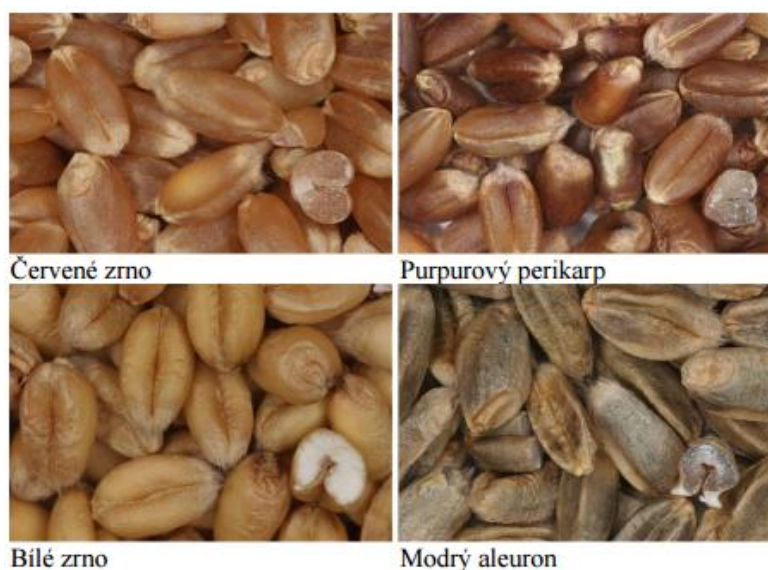
3.5. Uplatnění obilovin s netradičním zbarvením zrna v potravinářství

Jelikož barva zrna není známkou technické jakosti, mělo by být využito pšenice s netradiční barvou zrna stejné, jako využití pšenice s klasickou barvou zrna. Proto mají tyto barevné pšenice stejné pekárenské vlastnosti jako pšenice setá, ale obsahují navíc látky prospěšné, například s antioxidační aktivitou. Problémem je, že barevné pšenice nemají takový výnos jako má pšenice setá. Výnos pšenice s netradičním zbarvením je rovněž nižší než pšenice s červeným zrnem. Například v roce 2013 bylo zjištěno, že výnos barevných pšenice byl 10,6 t/ha, kdežto výnos pšenice červených byl 13,1 t/ha (Martinek a kol., 2014; Vaculová a kol., 2010).

Tab. 3: Zbarvení obilky a skupiny pigmentů (Trojan, 2014)

Zbarvení obilky	Skupina pigmentů	Lokalizace
Červená	Deriváty katechinu	Perikarp, testa
Purpurová	Antokyaniny (kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid a kyanidinsukcinylglukosid)	Perikarp
Modrá	Antokyaniny (delfinidin-3-glukosid a delfinidin-3-rutinosid)	Aleuronová vrstva
Žlutá	Karotenoidy (lutein a zeaxantin)	Perikarp
Bílá	Bez pigmentu	

Obr. 2: Pšenice s různým zbarvením obilek (ZVÚ Kroměříž, s.r.o.)



Obr. 3: Srovnání pšenice s červeným a bílým zrnem (ZVÚ Kroměříž, s.r.o.)



3.6. Skladování obilovin

Skladovatelností se rozumí doba, po kterou může být obilí bezpečně skladováno. Úkolem skladování je udržet zrnó v takovém stavu, aby se nezměnily jeho mlýnské, pekárenské či těstárenské vlastnosti. Tuto dobu ovlivňuje řada biochemických i mechanických procesů (Příhoda, 2006).

3.6.1. Principy dlouhodobého skladování

Zrnó má přirozenou tendenci stát se zárodkem nové rostliny. Právě tomu se snaží technika dlouhodobého skladování zabránit. Důležité je, aby se zrnó nacházelo po dobu uskladnění v tzv. anabióze, to znamená ve stavu, kdy zrnó žije, ale jeho životní schopnosti jsou utlumeny na minimum. Jediný biologický proces, který přetrvává,

je dýchání, které je ale velmi pomalé. V prvních týdnech skladování dochází k posklizňovému dozrávání, kdy dochází k dobudování terciálních a kvarterních struktur biopolymerů endospermu. Tato doba trvá přibližně tři až šest týdnů. Základním principem skladování je tedy udržet technologický potenciál zrna.

3.6.2. Procesy probíhající v samotném zrně

3.6.2.1. Dýchání

Dýchání je proces, kdy probíhá oxidace biopolymerů za současného uvolnění energie z molekulárních struktur a za vzniku oxidu uhličitého a vody. Intenzivní dýchání má negativa, a to úbytek hmotnosti zrna způsobený právě oxidací zásobních látek až o 0,2 % za den a uvolnění energie ve formě tepla. Důsledkem je zahřívání skladovaného obilí a zrychlení jeho biologických procesů.

3.6.2.2. Klíčení a porůstání

Při zvýšení vlhkosti a teploty nastává proces klíčení. Zrno se tedy stává zárodkem pro budoucí rostlinu. Dochází ke zvýšení enzymové aktivity. Zrno, které během skladování naklíčilo, je pro mlýnské a pekárenské využití nepřijatelné (Dvořák, 2002; Příhoda, 2006).

3.6.3. Procesy probíhající vlivem okolí

3.6.3.1. Fermentace

Jedná se o etanolové nebo mléčné kvašení. Glukóza, která vznikla enzymovou hydrolýzou škrobu, je ideálním substrátem pro tato kvašení. V průběhu kvašení se rovněž uvolňuje energie formou tepla, ale množství je nižší než při dýchání.

3.6.3.2. Intoxikace

Během skladování se může v důsledku mechanického poškození zrna nebo zvýšené aktivity mikroflóry objevit výskyt toxinů. Nejčastější jsou plísně rodů *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* a *Rhizopus*. Nejběžnější je plíseň *Aspergillus Flavus*, jejíž produkty jsou karcinogenní aflatoxiny.

3.6.3.3. Samozáhřev

Jedná se o proces, na kterém se podílí všechny živé složky skladovaného obilí. Proces zahrnuje všechny dílčí procesy popsané výše. Nejdříve dochází ke zvýšení intenzity dýchání zrna, které má za následek pomalé zvyšování teploty i vlhkosti zrna. Při dosažení teploty 20 °C se začínají aktivovat mikroorganismy, jako jsou plísně a kvasinky. Bakterie se do procesu zapojují při 30 °C a jsou zcela dominantní. Při této teplotě zrno silně vlhne a získává specifický pach. Po dosažení teploty 50 °C se proces samozáhřevu zpomaluje. Zrno je poškozeno a je nevhodné pro mlýnské a pekárenské zpracování (Dvořák, 2002; Příhoda, 2006).

3.6.4. Fyzikální vlastnosti ovlivňující skladování

- Tepelné vlastnosti obilí
- Hygroskopicitata obilí
- Rovnovážná vlhkost
- Vzájemné působení vlhkosti a teploty

3.7. Vitaminy

3.7.1. Úvod

Název „vitamin“ pochází z latinského „vital a amine“, v překladu „životně důležité aminy“, přestože je dnes známo, že se nejedná pouze o aminy. Vitaminy jsou esenciální organické látky, které si tělo neumí vytvořit samo, a proto musí být dodávány stravou v daných dávkách. Jsou biokatalyzátory v řadě metabolických reakcí nebo fungují jako koenzymy. Rovněž můžou tvořit oxidačně redukční systémy, které mají ochrannou funkci (Pánek, 2002).

3.7.2. Rozdělení vitaminů

Vitaminy se dělí na rozpustné ve vodě a na rozpustné v tucích.

- Vitaminy rozpustné ve vodě neboli hydrofilní vitaminy jsou v organismu snadno absorbovány a nadbytek je vylučován močí z těla ven. Tyto látky tudíž nejsou tělu toxické. Jedná se o vitaminy skupiny B a vitamin C.

- Vitaminy rozpustné v tucích neboli lipofilní vitaminy nejsou snadno absorbovány a ukládají se do tukových buněk. Jejich nadbytek může být pro organismus toxický. Mezi lipofilní vitaminy patří vitaminy A, D, E a K (Pánek, 2002).

3.7.3. Doporučené množství a využití

Denní potřeba daného vitamínu závisí na věku, pohlaví a fyziologickém stavu člověka. Pro ČR vyplývá ze zákona č. 139/2014 Sb. (přepis 110/1997 Sb.).

Lehčí formy nedostatku vitamínu v lidském organismu se nazývají hypovitaminózy a mají nespecifické příznaky. Těžší formy jsou avitaminózy, které mohou mít fatální následky. U lipofilních vitamínů může docházet k hypervitaminóze, což je jejich nadbytek a může vyvolávat poruchy biochemických procesů. Antivitaminy jsou látky, které snižují nebo inhibují využití vitamínů v organismu. Řadí se mezi ně např. aspirin, diuretika, laxativní prostředky, antihistamin nebo avidin (Svačina, 2008).

Vitaminy se používají jako aditivní látky pro restituci nebo fortifikaci potravin. Např. pod zkratkou E300 se nachází kyselina askorbová neboli vitamin C. Riboflavin, vitamin B2, se používá pod zkratkou E101 jako barvivo. Vitaminy E, C a beta-karoten jsou významnými antioxidanty. (Food Info, 2014) Nejnověji se používá synteticky vyrobený racemát tokoferol-alfa-acetát, který se využívá ve farmakologii (Sklenář, 2011).

3.8. Vitamin E

3.8.1. Úvod

V roce 1922 objevili vědci Evans a Bishop nový výživový faktor, který nazvali „Faktor X“, později znám jako vitamin E a tokoferol. Byl nalezen jako esenciální prvek během běžného vývoje plodu u těhotných krys. Také objevili olej z pšeničných klíčků, který byl velmi bohatý na tento lipofilní vitamin. Chemická struktura α -tokoferolu byla objasněna v roce 1937 a další rok proběhla jeho první syntéza. Různé znaky nedostatku vitamínu E byly nejdříve pozorovány u ptáků a malých savců, ale zřídka kdy u lidí (De Leenheer, 2000).

Název sloučeniny tokoferol je odvozen z řeckého „tókos phérien“, což v překladu znamená „být těhotný“, protože byl poprvé identifikován u fertilních potkanů. Koncovka –ol znamená, že se jedná o chemický alkohol (De Leenheer, 2000).

3.8.2. Chemická struktura vitamínu E

Skupinu vitamínu E tvoří látky nazývané tokoferoly a tokotrienoly. Jedná se o deriváty 6-hydroxychromanu neboli tokolu. Vyskytuje se ve čtyřech tokoferolových (α -, β -, γ -, δ -) a ve čtyřech tokotrienolových (α -, β -, γ -, δ -) formách. Formy jsou tvořeny chromanovým kruhem a vedlejším hydrofobním fytylovým řetězcem, který způsobuje dobrou rozpustnost v tucích a nerozpustnost ve vodě. Z tohoto důvodu tokoferoly pronikají do různých membrán a setrvávají zde jako jejich součásti. Na chromanový kruh je připojena hydroxylová skupina –OH, která funguje jako dárce vodíkových atomů, a tím podmiňuje antioxidační účinek vitamínu. Dále jsou na chromanový kruh navázány methylové skupiny, které určují jednotlivé tokoferoly. Vitamin E je stabilní při teplotách od 150°C do 170°C, při teplotách pod 0°C ztrácí svou aktivitu, je méně stabilní v kyselém a alkalickém prostředí (Douša, 2004).

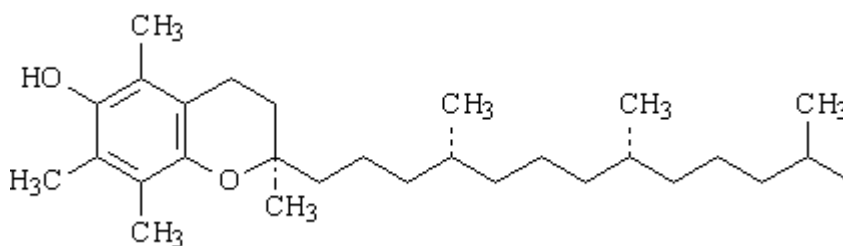
Nejčastějším tokoferolem je α -tokoferol. Jedná se o formu vitamínu E, která je u lidí přednostně absorbována a kumulována.

3.8.2.1. Chemická struktura tokoferolů

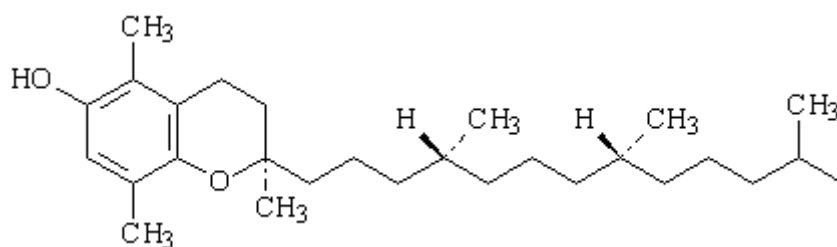
Tab. 4: Struktura tokoferolů

Složka	R ₁	R ₂	R ₃
α-tokoferol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β-tokoferol	CH ₃	H	CH ₃
γ-tokoferol	H	CH ₃	CH ₃
δ-tokoferol	H	H	CH ₃
5,7-dimetyltokoferol	CH ₃	CH ₃	H
Tokol	H	H	H

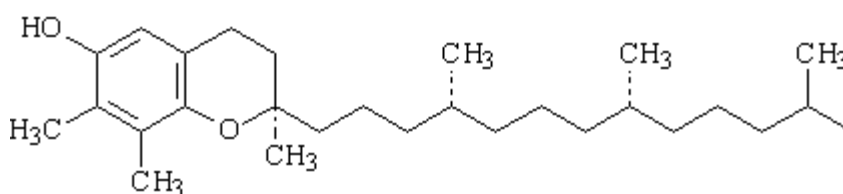
Obr. 4: α-tokoferol



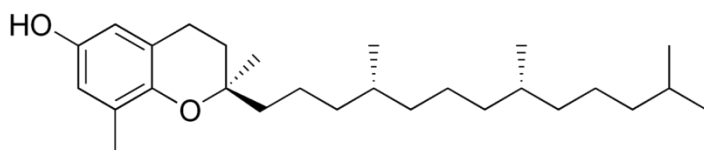
Obr. 5: β-tokoferol



Obr. 6: γ-tokoferol



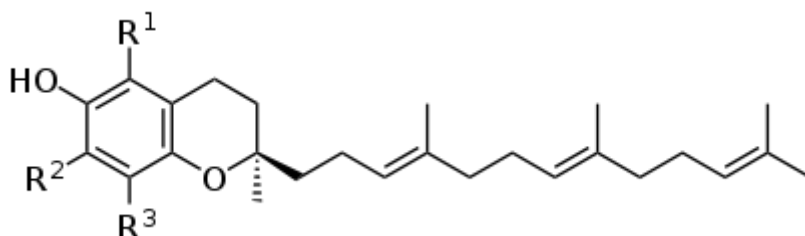
Obr. 7: δ -tokoferol



3.8.2.2. Chemická struktura tokotrienolů

Tokotrienoly jsou sloučeniny příbuzné tokoferolům a společně se označují jako vitamin E. Nejvýznamnějším z této skupiny je δ -tokotrienol, který je silným antioxidantem (Velíšek, 2002).

Obr. 8: Obecný vzorec tokotrienolů



3.8.3. Produkty rozkladu, metabolity a podoby α -tokoferolu

Reakce α -tokoferolu in vivo s peroxylovými radikály vede k počtu oxidativních rozkladných produktů, ze kterých je nejznámější α -tokoferolchinon (α -TQ). Ten může být rozložen na α -tokoferolhydrochinon, který je z těla vylučován žlučí a stolicí. Méně než 1 % absorbovaného vitamínu je vyloučeno močí. α -tokoferolchinon může být zpětně in vitro oxidován na α -tokoferol (De Leenheer, 2000).

3.8.4. Biologická aktivita vitamínu E

Navzdory spekulacím, že zatím nebyly objasněny buněčné funkce vitamínu E, většina dostupných důkazů naznačuje, že jeho biologické účinky vyplývají převážně nebo výhradně z jeho antioxidační schopnosti. Jako lapač peroxylových radikálů, chrání vitamin E polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) proti peroxidaci, čímž napomáhá k udržování integrity buněčných membrán. Peroxidace lipidů pokračuje řetězovou

reakcí útoků volných radikálů na nenasycené mastné kyseliny (PUFA) a je šířena reakcí nově vzniklých uhlíků s alkylovými zbytky a kyslíkem. Výsledné peroxylové radikály dále oddělují atomy vodíku od polynenasycených mastných kyselin (PUFA), a tím vznikají finální hydroperoxydy. Polapením peroxylových radikálů přerušuje vitamin E tento proces, a tím je označován za antioxidant, protože ruší tento řetězec. V tomto procesu je sám α -tokoferol převeden na α -tokoferolový radikál, který dále reaguje s dalším peroxylovým radikálem a vytváří tokoferony a nakonec α -tokoferolchinon. Antioxidační působení vitaminu E je nedílnou součástí celkového buněčného obranného systému, který zahrnuje i prvky jako superoxidativní dismutáza, kataláza, glutathionperoxidáza a selen. Mimo svou ochrannou funkci na membránách lipidů, má vitamin E taky důležitou roli v boji proti biologickým účinkům volných kyslíkových radikálů. Má pozitivní vliv naproti stárnutí, na rakovině, Parkinsonově chorobě, šedému zákalu, ateroskleróze a kardiovaskulárním onemocněním. Závěrem se vitamin E zdá být nezbytný pro udržení běžné neurologické struktury a její funkce (De Leenheer, 2000; Silbernagl, 2004).

3.8.5. Fyziologické aspekty vitaminu E

Protože je vitamin E biosyntetizován pouze rostlinami, člověk jej přijímá jen potravou. Vstřebávání probíhá v tenkém střevě, kde se dostatečně vstřebává jen část vitaminu E a zbytek je vyloučen z těla ven. Jeho příjem je vázán na fungující vstřebávání tuků. Krví je pak vit. E přenášen v lipoproteinech a je vychytáván v játrech pro apolipoprotein E. Dále je navázán na α -tokoferol transportní protein (α -TTP) a je přenesen do cílových orgánů. Přebytek je uložen v adipocytech tukové tkáně, v játrech a ve svalovině. β -, γ - a δ - tokoferoly jsou přenášeny do žluče a degradovány (De Leenheer, 2000; Silbernagl, 2004).

Vitamin E je velmi citlivý na oxidaci, a tak je radikály napadán předčasně. Tím chrání ostatní membránové tuky. Důležitá je i jeho součinnost s vitaminem C. Poškozená molekula je potom pomocí tohoto vitaminu regenerována.

Tokoferol také zvyšuje podíl HDL cholesterolu (High Density Lipoprotein) a snižuje podíl LDL cholesterolu (Low Density Lipoprotein), tím působí preventivně proti kardiovaskulárním onemocněním. Dále působí antikoagulačně, obnovuje permeabilitu kapilár, zlepšuje využití kyslíku, působí v prevenci nádorů, především u karcinomu prsu, vaječnicků a tlustého střeva. Také slouží jako prevence předčasných porodů

a snižuje riziko potratů (Mülerová, 2003). Rovněž se zkoumá, zda-li vitamin E nezpomaluje progresi u Alzheimerovy choroby (Isaac, 1996).

3.8.6. Výskyt

Tokoferoly a tokotrienoly jsou syntetizovány pouze rostlinami. Například v listech se α -tokoferoly nachází především v chloroplastech, zatímco γ - a δ - formy tohoto vitamínu nalezneme mimo buněčné organely. Semena a zrna rovněž obsahují α -tokoferoly, ale v hojnějším množství γ -tokoferoly. Vitamin E je tedy nejvíce obsažen v pšeničných klíčcích, v rostlinných olejích, v másle, mléce, v ořechách a semenech, v sóji, v hlávkovém salátu, v celeru a v masě savců. Tokotrienoly se nenacházejí především v zelené rostlinné tkáni, ale nalezneme je i v otrubách a klíčcích rostlin (De Leenheer, 2000).

Protože jsou lidé i zvířata neschopni syntetizovat vitamin E, musí spoléhat na dostatečný příjem tohoto vitamínu ze stravy. Tudiž je živočišná tkáň, s výjimkou tukové a jaterní, chudá na tokoferoly. Tokotrienoly nejsou vstřebávány ve významném rozsahu. Doporučená denní dávka je přibližně 10 mg, ale je spojena s příjmem polynenasycených mastných kyselin (PUFA). Obsah α -tokoferolů v těle převládá v krevní plazmě (88 %), zatímco β - a γ - formy zaujímají pouze 2 %, resp. 10 % část z množství vitamínu E. δ -tokoferol je v těle detekován např. při požití velkého množství sójového tuku. Tokoferoly jsou nespecificky transportovány plazmou pomocí β -lipoproteinů a uskladněny v buněčných membránách a tukových tkáních (Biesiekierski, 2015; De Leenheer, 2000).

Při kulinářské přípravě se tokoferol nerozkládá teplem. V přítomnosti kyslíku dochází k pozvolné oxidaci a tmavnutí. Škodlivé je rovněž dlouhé nebo opětovné vaření a mražení.

Jako potravinářská aditiva jsou tokoferoly známy pod těmito čísly: E306 (přirozený tokoferol), E307 (syntetický α -tokoferol), E308 (syntetický β -tokoferol) a E309 (syntetický γ -tokoferol). Tyto přídatné látky můžeme najít v živočišných a rostlinných olejích a tucích, sýrech, instantních jídlech apod (Info Food, 2014).

Tab. 5: Vitamin E ve 100g zdroje (USDA Agricultural Research Service, 2009)

Zdroj	Množství (mg)	Zdroj	Množství (mg)
Olej z pšeničných klíčků	215,4	Otruby	2,4
Slunečnicový olej	55,8	Kukuřice	2
Mandlový olej	39,2	Maková semena	1,8
Slunečnicová semínka	35,2	Chřest	1,5
Mandle	26,2	Oves	1,5
Lískové ořechy	26	Kaštan	1,2
Olej z vlašských ořechů	20	Kokos	1
Olej z burských ořechů	17,2	Rajčata	0,9
Olivový olej	12	Vlašské ořechy	0,7
Olej z makových semen	11,4	Mrkev	0,6
Burské ořechy	9	Kozí mléko	0,1

3.8.7. Deficit a nadbytek vitamínu E

Nedostatek vitamínu E může vzniknout z nedostatečné stravy, špatné absorpce nebo při nadměrnému vystavování se oxidačnímu stresu. Deficit se projevuje neurologickými problémy v důsledku špatného vedení nervových vzruchů. Ty se mohou projevovat jako neuromuskulární nebo myopatie. Nedostatek může také způsobit anémii, z důvodu oxidačního porušení červených krvinek. Riziko předávkování je minimální, ale může se vyskytnout u nedonošených dětí, kdy dochází k poruchám imunitního systému (Svačina, 2008).

Tab. 6: Doporučená denní dávka vitamínu E dle věkových skupin a pohlaví (Müllerová, 2003)

	α-tokoferol (mg)
kojenci	3-4
děti	6-7
muži	10
ženy	8
těhotné ženy	10
kojící ženy	12

3.9. Chromatografie

3.9.1. Princip chromatografie

Chromatografie je separační technika, která využívá dělení složek mezi dvěma fázemi, z nichž je jedna mobilní a jedna stacionární. Stacionární fáze je nepohyblivá, mobilní fáze je pohyblivá. Při dělení složek dochází k opakovanému transportu molekul do stacionární fáze a zpět do mobilní. Složky vzorku mohou být stacionární fází zachycovány, a proto se při pohybu zdržují. Více se zdrží složky, které jsou stacionární fází poutány silněji. Tím se postupně složky od sebe separují a na konec stacionární fáze se dostávají dříve složky méně zadržované (Klouda, 2003, Churáček, 1986).

3.9.2. Rozdělení chromatografických metod

- a) Podle skupenství mobilní fáze
 - a. Kapalinová chromatografie (LC), kde je mobilní fází kapalina.
 - b. Plynová chromatografie (GC), kde je mobilní fází plyn.
- b) Podle uspořádání stacionární fáze
 - a. Kolonová chromatografie, kde je stacionární fáze umístěna v trubici, tzv. koloně.

- b. Plošná chromatografie, kde je stacionární fáze buď součástí chromatografického papíru (tzv. papírová, PC) nebo je fáze umístěna na pevném plochém podkladu (tzv. tenkovrstvá, TLC).
- c) Podle povahy děje, který převládá při separaci
 - a. Rozdělovací chromatografie, kde o separaci rozhoduje odlišná rozpustnost složek vzorku ve stacionární a mobilní fázi.
 - b. Absorpční chromatografie, kde o separaci rozhoduje různá schopnost složek poutat se na povrch stacionární fáze.
 - c. Ionově-výměnná chromatografie, kde o separaci rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze a ionty vzorku.
 - d. Gelová chromatografie, kde se složky separují podle velikostí na pórovité stacionární fázi (tzv. gelu).
 - e. Afinitní chromatografie, kde je stacionární fáze schopna vázat ze vzorku právě ty určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah (tzv. afinitu) (Klouda, 2003).

3.10. Kapalinová chromatografie (*Liquid chromatography, LC*)

Chromatografická kapalinová metoda byla objevena M. S. Cvetem v roce 1903 v uspořádání kapalina-adsorbent, který rozdělil na sloupci sorbentu listová barviva. Počátkem 40. let se kolonová kapalinová chromatografie začala rozvíjet ve své klasické podobě. V roce 1952 byla za práci v oboru udělena Nobelova cena chemikům Martinovi a Syngeovi.

Chromatografická separace probíhá v chromatografickém loži (kolona, papír, tenká vrstva), což je systém dvou fází, z nichž jedna je v klidu (fáze stacionární) a jedna se pohybuje (fáze mobilní), spolu se složkami vzorku. Ideální chromatografický proces lze charakterizovat rovnovážným rozdělením složek vzorku mezi stacionární a mobilní fází v jakémkoliv čase a na jakémkoliv místě v chromatografickém loži. Tato rovnováha se neustále porušuje a následně obnovuje, proto dochází při dělení k opakovanému vytváření rovnovážných stavů separovaných látek mezi mobilní a stacionární fází. Na rozdíl od plynové chromatografie umožňuje kapalinová pestřejší volbu separačních systémů s různými kombinacemi stacionárních a mobilních fází. Může se tedy využít

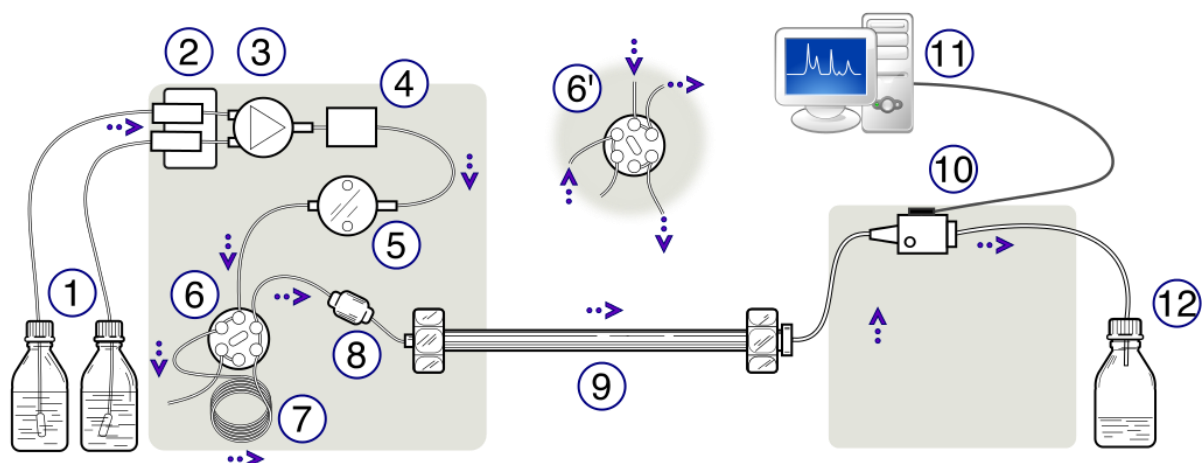
pro separace nejrůznějších látek, jako jsou silně polární, iontové a vysokomolekulární přírodní i syntetické polymery, má rovněž využití při klinických a biochemických analýzách, analýzách léčiv a metabolitů a v mnoha dalších odvětvích (Churáček, 1986; Karlíček, 2001).

3.10.1. Vysokoučinná kapalinová chromatografie (*High Performance Liquid Chromatography, HPLC*)

3.10.1.1. Popis

Tato moderní analytická metoda pracuje v kontinuálním uspořádání, téměř výhradně eluční technikou, kde čerpadlo dávkuje mobilní fázi při stálém průtoku kolonou, 2-30 cm dlouhou, s vnitřním průměrem 0,1-6 mm, plněnou sorbentem s jemnými částicemi a úzkou distribucí velikostí, na nichž se dosahuje vysoké účinnosti. Aby bylo možné dosáhnout dostatečně rychlého průtoku mobilní fáze, musí mít tlak hodnotu okolo 40MPa (400 bar). Vzorek se dávkuje přímo do protékající mobilní fáze na vstupu kolony. Eluát z kolony vstupuje do detektoru, jehož odezvu zpracovává počítač. Výsledkem je chromatogram, který představuje časový záznam signálu detektoru se vzájemně oddělenými elučními vlnami (tzv. píky) jednotlivých látek. Při malém zatížení kolony vzorkem při lineární chromatografii mají píky téměř symetrický profil Gaussovy křivky (Opekar, 2002; Klouda, 2003).

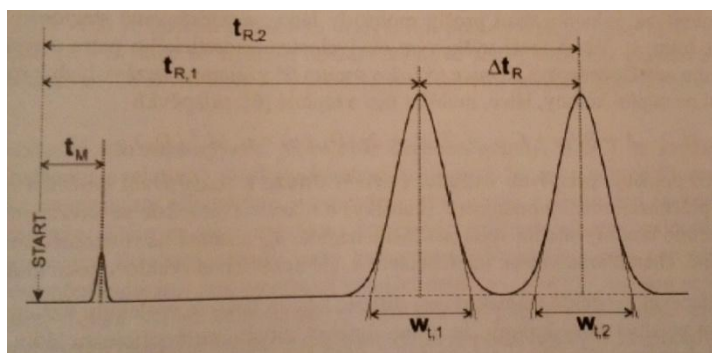
Obr. 9: Schéma HPLC (itsos-mariecurie.it, 2009)



- (1) Zásobníky mobilní fáze
- (2) Vysokotlakové čerpadlo
- (3) Ventil
- (4) Směsná nádoba pro dodání mobilní fáze
- (5) Vysokotlaková pumpa
- (6) Spínací ventil pro vstřikovací fázi (6') Spínací ventil pro náložní fáze
- (7) Nástřík vzorku
- (8) Předkolona
- (9) Analytická kolona
- (10) Detektor
- (11) Sběrna dat
- (12) Odpad nebo sběrač frakcí

3.10.1.2. Chromatografická data a pojmy

Obr. 10: Ideální chromatogram dvousložkové směsi (Helán a kol., 2003)



t_R – retenční časy látek 1 a 2, t_M – mrtvý čas kolony, Δt_R – rozdíl retenčních časů, w_t – šířky píků 1 a 2 v základně.

Chromatografický systém se může natolik blížit rovnováze, že distribuci složky A popisuje *distribuční konstanta* K_D , což je poměr rovnovážných koncentrací této složky $[A]$ ve dvou koexistujících fázích, přičemž podle konvence se koncentrace složky ve fázi stacionární $[A]_S$ uvádí v čitateli

$$K_D = \frac{[A]_S}{[A]_m} = \frac{(n_A)_S}{(n_A)_m} \times \frac{V_m}{V_S}$$

Kde $(n_A)_S$ a $(n_A)_m$ jsou látková množství složky A ve stacionárním i mobilním stavu. V_S a V_m jsou objemy stacionární a mobilní fáze. Protože pohyb mobilní fáze je trvalý, zabrání tak dosažení skutečné termodynamické rovnováhy a posune molekuly složek k další části stacionární fáze, kde se znovu vytvoří přibližně rovnovážný stav. Interakce složky a chromatických fází jsou určujícím faktorem pro rychlost migrace složek v chromatickém systému.

Po ukončení separace se vyhodnotí buď vzájemná poloha zón vzorku v chromatografickém loži, dosažená v předem určeném čase nebo se měří čas, kdy jednotlivé zóny dosáhnou konce chromatografického lože.

Retenční (eluční) čas t_R je úměrný velikosti retence látky v chromatografickém systému a vedle doby, kterou látka stráví v stacionární fázi, tzv. čistého retenčního času t_R' , zahrnuje i dobu, kterou látka stráví ve fázi mobilní, při migraci kolonou, tzv. mrtvý eluční čas kolony t_0

$$t_R = t_0 + t_R'$$

Složky vzorku lze identifikovat na základě shody jejich retenčních časů s retenčními časy standardů. Z výšek nebo plochy piků je možno stanovit obsah složek ve vzorku.

Poměr látkového množství separované látky ve stacionární fázi k jejímu látkovému množství ve fázi mobilní udává kapacitní faktor k (resp. Kapacitní poměr)

$$k = \frac{(n_A)_S}{(n_A)_m} = K_D \times \frac{V_S}{V_m} = K_D \beta$$

Kde poměr V_S/V_m udává tzv. fázový poměr β . Objemové veličiny můžeme vztáhnout pouze patriční chromatografii (kapalina-kapalina)

Charakteristickou veličinou pro každou separovanou látku v daném systému je eluční čas t_R nebo eluční objem V_R . Eluční čas je doba, která uplyne od nástřiku vzorku do dosažení maxima eluční křivky a eluční objem je proteklý objem za tuto dobu. Mezi retenčním časem a objemem existuje vztah

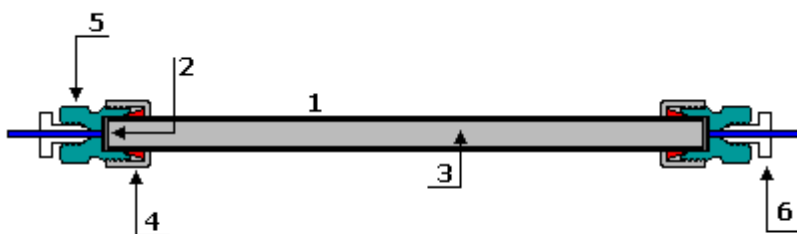
$$V_R = F_m \times t_R$$

Kde F_m je objemová rychlost [$\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$] (Douša, 2002).

3.10.1.3. Kolony v HPLC

Dobrá chromatografická kolona musí být chemicky odolná vůči mobilní fázi a pracovnímu tlaku. Kolony pro HPLC obsahují chromatografické lože ve formě částic sorbentu nebo nosiče se stacionární fází v rovných bezešvých trubicích s leštěným vnitřním povrchem, z nerezové oceli, titanu, případně z pevného plastu (Douša, 2002).

Obr. 11: Chromatografická kolona



- (1) kovový plášť, (2) kovová frit, (3) uvolňování stacionární fáze, (4) ochranný kroužek (5) koncová hlavice, (6) vstup pro kapiláru

3.10.1.4. Instrumentace v HPLC

- Zásobníky, úprava a čerpání mobilní fáze

Zásobníky mobilní fáze jsou zpravidla skleněné lahve o kapacitě 1-2,5 litrů, opatřené trubicemi pro přívod helia, na konci s fritou, která slouží k rovnoměrnému rozptýlení plynu v objemu zásobníku

- Systémy pro tvorbu gradientu mobilní fáze

Cílem gradientové eluce je urychlení separace a zvětšení počtu separovaných látek v průběhu jedné separace. Podle daného programu se směšují dvě nebo více složek mobilní fáze tak, aby s časem rostla koncentrace složky mobilní fáze s větší eluční silou a urychlila se eluce silněji zadržovaných látek.

V nízkotlakém systému se složky mobilní fáze mísí v malé směšovací komůrce před vstupem do vysokotlakého čerpadla. Ve vysokotlakém systému dávkuje každou složku mobilní fáze vlastní vysokotlaké čerpadlo do směšovací komůrky před kolonou.

- Dávkování vzorků

Vzorky se zavádějí na kolonu kapalinového chromatografu dávkovacími ventily se smyčkou předem naplněnou vzorkem, bez porušení toku fáze. Dávkování se provádí ručním přepnutím nebo automaticky (Helán a kol., 2003).

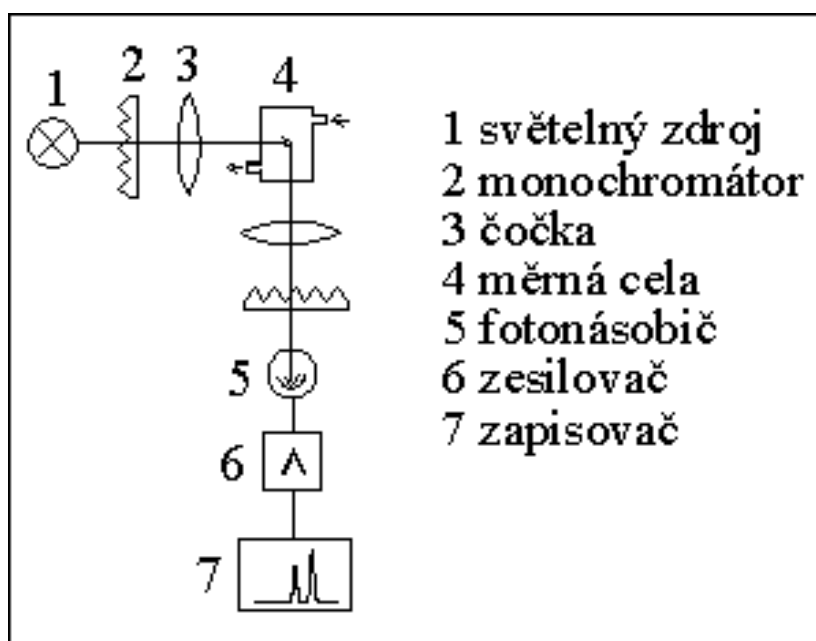
3.10.1.5. Detektory pro HPLC

Do detektorů se zavádí eluát z chromatografické kolony. Detektory mohou být selektivní nebo univerzální. Selektivní detektory poskytují signál úměrný pouze koncentraci analyzované látky v eluátu. Oproti tomu univerzální detektory poskytují signál úměrný určité vlastnosti eluátu jako celku. Na detektory HPLC jsou kladeny vysoké požadavky, jako je citlivost, linearita a reprodukovatelnost odezvy, nezávislost odezvy na změně složení mobilní fáze při gradientové eluci a univerzálnost.

- a. Spektrofotometrické detektory (UV/VIS) fungují v ultrafialové i ve viditelné oblasti elektromagnetického spektra (od 190 do 800 nm). Přítomnost látky absorbují při dané vlnové délce detekce. Detektory jsou vybavené deuteriovou výbojkou jako zdrojem spojitého záření a monochromátorem, umožňujícího zvolit vlnovou délku detekce.

- b. Detektory s fotodiodovým polem (DAD, Diode Array Detector) jsou nejdokonalejšími detektory. Jsou schopny proměřit absorpční spektrum prvku v určité oblasti vlnových délek a uložit ho do paměti.
- c. Fluorimetrické detektory (FLD) jsou založeny na principu fluorescence, tedy na schopnosti látek absorbovat ultrafialové záření a pak vysílat záření o vyšší vlnové délce, které se měří fotonásobičem kolmo na směr vystupujícího záření. Detektor je vysoce selektivní a kombinuje se vhodně s fotometrickým detektorem.
- d. Elektrochemické detektory (ECD) jsou vodivostní nebo voltametrické. Používají se tam, kde jsou v roztocích obsaženy ionty, tedy složky oxidovatelné nebo redukovatelné na polarizované elektrodě.
- e. Refraktometrické detektory (RI) při průchodu látky poskytují odzvu úměrnou rozdílu indexu lomu mezi měrnou kyvetou a kyvetou srovnávací, která je naplněná čistou mobilní fází. Tento detektor je nejméně senzitivní a jeho odezva závisí na teplotě, průtoku a na složení mobilní fáze. V současnosti je nejméně používaný.
- f. Hmotnostní detektory (MS) umožňují přímou identifikaci jednotlivých separovaných látek vycházejících z kolony na základě hmotnostních spekter (Helán a kol., 2005).

Obr. 12: Fluorimetrický detektor



3.10.1.6. Vyhodnocení výsledků v HPLC

Při vyhodnocení je důležitá poloha píku, tzn. hodnota retenčního času t_R nebo retenčního objemu V_R a velikost píku, tedy jeho výšku nebo jeho šířku. Poloha píku je kvalitativní údaj, zatímco velikost píku je kvantitativní údaj.

U kvalitativního stanovení se k identifikaci látek v HPLC používá retenčních časů nebo retenčních objemů.

U kvantitativního stanovení se hledá vztah mezi plochou nebo výškou píku a množstvím eluované látky. Plochy píků lze nejpřesněji vyhodnotit pomocí digitálních integrátorů nebo datastanic (Klouda, 2003).

3.10.1.7. Teorie chromatického procesu

Princip chromatické separace, který je popsán na základě fázových rovnováh popisuje dobře retenční chování látek, ale nepostihuje celý chromatografický systém, který je svou podstatou dynamický. V zóně složky postupující chromatografickým ložem existují koncentrační gradienty jako základní podmínka nerovnováhy systému (vznik souvisí s neustále se pohybující mobilní fází, která unáší molekuly složky). Koncentrační gradienty způsobují, že v systému dochází ke kinetickým procesům a výsledek kinetického procesu je rozšiřování zóny složky během jejího postupu chromatografickým ložem (Helán a kol., 2005).

3.10.1.8. Využití HPLC v praxi

Využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie se uplatňuje v mnoha oborech. V klinické chemii, toxikologii a medicíně nahrazuje plynovou chromatografii při stanovení bází, nukleotidů, nukleosidů, aminokyselin, peptidů nebo proteinů. HPLC se rovněž uplatňuje při analýze koncentrace různých složek v životním prostředí, jako jsou pesticidy, herbicidy nebo insekticidy. V potravinářském průmyslu se využívá pro analýzu složení potravin, jejich kontaminaci nebo určení stáří. V klinické praxi zase slouží k identifikaci tkání a tělních tekutin, např. hormonů, steroidů nebo léčiv. Metodou HPLC lze přímo analyzovat jednoduché cukry, přírodní fenolické látky, mastné kyseliny, fosfolipidy, vitaminy nebo alkaloidy (Klouda, 2003).

3.10.1.9. Analytické aspekty a testování vitamínu E

Stanovení tokoferolů a tokotrienolů v potravinách i krmivech slouží primárně ke dvěma účelům, a to k nutričnímu posouzení a kontrole kvality. Aby se stanovila nutriční hodnota vitamínu E v potravinách, jako jsou obiloviny, oleje, margaríny, zelenina nebo kojenecká výživa, musí být kvantifikovány jak přirozeně se nacházející tokoferoly, tak jejich estery používané k fortifikaci (De Leenheer, 2000).

V minulosti se toto provádělo hydrolýzou a stanovením celkového tokoferolu. Ale pro určení a charakterizaci různých rostlinných olejů je důležitá znalost relativního množství různých tokoferolů. Toto je důležité i pro účel zjištění čistoty olejů nebo jeho falšování. Obsah různých druhů vitamínu E odráží i jeho vlastní antioxidační aktivitu v potravinách, a tím i jejich životnost. Navíc také poskytuje informace o možných škodlivých účincích (např. oxidace) během zpracování či skladování potravin (De Leenheer, 2000; Benešová a kol., 2011).

Tab. 7: Obsah tokoferolů a tokotrienolů v mg.kg⁻¹ v pšenici a v ječmeni (Velíšek, 2002)

Vitamin	Pšenice	Ječmen
α -tokoferol	9,7 – 14,0	3,7 – 11,6
β -tokoferol	3,9 – 7,0	0,2 – 0,7
γ -tokoferol	pod mezí detekce	0,2 – 12,9
δ -tokoferol	pod mezí detekce	0,1 – 0,9
α -tokotrienol	2,4 – 5,0	13,0 -36,0
β -tokotrienol	19,0 – 33,0	2,7 – 14,3
γ -tokotrienol	pod mezí detekce	3,6 – 8,4
δ .tokotrienol	pod mezí detekce	0,7 – 3,9
celkem	35 - 59	31 - 80

4. MATERIÁL A METODY

4.1. Vzorky

K analýze byly použity vybrané vzorky zrna odrůd jarní a ozimé pšenice, jarního ječmene a jarního tritordea. Vzorky byly vybrány ze sklizní v roce 2014 a 2015. Všechny vzorky pocházejí z Agrotest Fyto, s.r.o., Kroměříž, která je dceřinou společností Zemědělského výzkumného ústavu v Kroměříži. Za účelem studia vlivu doby skladování na obsah vitamínu E byly dále analyzované vzorky ozimé pšenice Skorpion a jarní pšenice ANK 28-BE, které byly vypěstovány v letech 2010-2014, resp. 2011-2014 a skladovány za běžných podmínek v Agrotestu Fyto, s.r.o. Charakteristika analyzovaných vzorků je uvedena v tabulce 8 a 9.

Tab. 8: Vzorky pro stanovení vitamínu E, sklizeň 2014

plodina	název/původ	barva zrna
jarní ječmen	AF Cesar (kontrola)	standardní
jarní ječmen	Nudimelanocrithon 2014	černé zrna
jarní ječmen	AF Lucius	standardní
jarní pšenice	Novosibirskaya 67 (kontrola)	bílá
jarní pšenice	Purple Feed	Pp - purpurový perikarp
jarní pšenice	UC 66049	Ba - modrý aleuron
jarní pšenice	Tschermark	Ba - modrý aleuron
jarní pšenice	H 90-15-2	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	EF02-54/9	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	Xiao Yian	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	Abissinskaja arrasatja	Pp – purpurový perikarp
jarní pšenice	Konini	Pp – purpurový perikarp
jarní pšenice	Purple	Pp – purpurový perikarp
jarní pšenice	ANK – 28A	Pp – purpurový perikarp

jarní pšenice	ANK – 28B	Pp – purpurový perikarp
jarní pšenice	TA 4024	žlutý endosperm
ozimá pšenice	Bohemia (kontrola)	červená – standardní
ozimá pšenice	RU – 440/V1-702	Ba – modrý aleuron
ozimá pšenice	PS Karkulka	Pp – purpurový perikarp
ozimá pšenice	Rosso	Pp – purpurový perikarp
jarní tritordeum	HT 439	žlutý endosperm
jarní tritordeum	JB 1	žlutý endosperm
jarní tritordeum	JB 3	žlutý endosperm

Tab. 9: Vzorky pro stanovení vitamínu E, sklizeň 2015

plodina	název/původ	barva zrna
jarní ječmen	AF Cesar (kontrola)	standardní
jarní ječmen	Nudimlanocrithon	černé zrno
jarní ječmen	AF Lucius	standardní
jarní pšenice	Novosibirskaya 67	bílá
jarní pšenice	Purple Feed	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	UC 66049	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	Tschermark	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	H 90-15-2	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	EF02-54/9	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	Xiao Yian	Ba – modrý aleuron
jarní pšenice	Abissinskaya arrasatja	Pp – purpurový perikarp
jarní pšenice	Konini	Pp – purpurový perikarp
jarní pšenice	Purple	Pp – purpurový perikarp

jarní pšenice	ANK 28B	Pp – purpurový perikarp
jarní pšenice	TA 4024	žlutý endosperm
ozimá pšenice	BAUB 2786.2/RU 440-6	Ba – modrý aleuron
ozimá pšenice	RU 440-6/Ludwig	Ba – modrý aleuron
ozimá pšenice	RU 440-6/Magister	Ba – modrý aleuron
ozimá pšenice	Citronová/Bona Dea	žlutý endosperm
ozimá pšenice	Bona Vita	žlutý endosperm
ozimá pšenice	Citrus	žlutý endosperm
ozimá pšenice	Akteur	Pp – purpurový perikarp
ozimá pšenice	Meritto/Ank 28A	Pp – purpurový perikarp
ozimá pšenice	PS Karkulka	Pp – purpurový perikarp
ozimá pšenice	Indigo/Akteur/RU 440/Bohemia	Pp – purpurový perikarp
ozimá pšenice	Blaucorn/Zappa	Pp – purpurový perikarp
ozimá pšenice	Akteur	Pp – purpurový perikarp
ozimá pšenice	Bohemia	červená – standardní
ozimá pšenice	RU 440/V1- 702/Citronová/Bona Dea	Ba – modrý aleuron
ozimá pšenice	RU 440-6/UC 66049	Ba – modrý aleuron
ozimá pšenice	Indigo/Mironovskaya 808	Pp – purpurový perikarp
jarní tritordeum	HT 439	žlutý endosperm
jarní tritordeum	JB 1	žlutý endosperm
jarní tritordeum	JB 3	žlutý endosperm

4.2. Standardy, chemikálie a příprava roztoků

4.2.1. Chemikálie

Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a. (Pure Analysis)

- Metanol, min. 99,9 % (Lach-ner, ČR)
- Metanol pro HPLC
- Deionizovaná voda
- Pyrokatechol, > 99,5 % (Sigma – Aldrich, Německo)
- Hexan, min. 95 % (Penta, ČR)
- Hydroxid draselný, min. 85 % (Lachema, ČR)
- DL- α -tokoferol, 98,2 % (GC, CALBIOCHEM, Kanada) – standard
- Tokoferol- set (CALBIOCHEM, Kanada) – standard

4.2.2. Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Injekční stříkačka HSW (objem 3 ml)
- Membránový filtr \varnothing 13 mm, 0,22 μ m (Chromservis, ČR)
- Vialka pro HPLC s insertem, čirá, 0,25 ml
- Automatická pipeta Socorex Acura 835

4.2.3. Přístroje

- Kávomlýnek SMK 150 B (Gorenje, Slovinsko)
- Analytické váhy (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- Ultrazvuková lázeň (Notus – Powersonic, Slovensko)
- Laboratorní odstředivka 2810R (Eppendorf, Německo)
- Rotační vakuová odparka
- Vortex IKA MS 3 Basic (ILABO, ČR)
- Kapalinový chromatograf Ultimate 3000 RS (Dionex, USA) s flourescenčním detektorem

4.2.4. Stanovení vit E metodou HPLC, podmínky stanovení

- analytická kolona: Develosil 5u RPAQUEOUS (250 x 4,5 mm), (Phenomenex, USA)
- složení mobilní fáze: H₂O: metanol (3:97), (v/v)
- průtok: 1 ml/min
- teplota kolony: 30 °C
- objem nástřiku 10 µl
- doba analýzy: 30 minut
- podmínky detekce: fluorescenční detektor - excitační vlnová délka $\lambda = 292$ nm, emisní vlnová délka $\lambda = 330$ nm

4.3. Příprava vzorků

Vzorek zrna obilniny byl nejdříve zhomogenizován na mlýnku. Poté bylo odváženo 0,4 mg vzorku a uloženo do dlouhé skleněné zkumavky s plastovým víkem. Ihned se přidalo 200 µl metanolickeho roztoku pyrokatecholu (2 mg/ml), který se připravoval vždy čerstvý. Poté se přidalo 5 ml 0,5M metanolickeho roztoku KOH. Obsah zkumavky se zamíchal na vortexu tak, aby směs byla dokonale homogenizována a na dně se nevyskytovala žádná usazenina. Dále se zkumavka umístila na 15 minut do vodní lázně, jejíž teplota byla přesně 80 °C (kontrola teploty teploměrem). Každých 5 minut bylo potřeba zkumavku vortexovat (tzn. v čase 5, 10 a 15 minut). Následně se zkumavka se vzorkem zchladila v kádince s vodou a ledem (kádinka s ledem byla předem připravená, protože zchlazení musí probíhat rychle). Po zchlazení se přidal 1 ml deionizované vody a přesně 5 ml hexanu. Směs se 1 minutu míchala na vortexu a poté se pipetou odeberaly 3 ml hexanové vrstvy do malé srdcovky a směs se odpařila na vakuové rotační odparce při teplotě 30 °C do sucha. Odparek se poté rozpustil v 0,5 ml methanolu a přes nylonový mikrofiltr (0,22 µm) se převedl do tmavé vialky s insertem. Následně byl vzorek podroben HPLC analýze. Celou práci bylo nutno provádět při co nejmenší světelné intenzitě. Každé stanovení bylo provedeno ve 3 opakováních.

4.4. Statistická analýza

Soubory dat získané z měření HPLC byly zpracovány v programu Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, USA) a STATISTICA 12 (StatSoft, USA). Byl vypočítán aritmetický průměr každé formy tokolu, jeho směrodatná odchylka a procento směrodatné odchylky. Rovněž byl v každém vzorku vypočítán celkový obsah vitamínu E, směrodatná odchylka a procento směrodatné odchylky. Byl vypočítán Studentův T-test na hladině významnosti $p(\alpha) = 0,05$.

5. VÝSLEDKY

5.1. Meze detekce

Mez detekce odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál statisticky významně odlišný od šumu. Jedná se o koncentraci, kdy látka vyvolá odezvu měřicího přístroje větší než je trojnásobek úrovně šumu pozadí.

Tab. 10: Meze detekce jednotlivých tokolů

	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T
mez detekce	0,056 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0,111 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0,111 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0,167 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0,056 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0,111 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0,111 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0,167 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

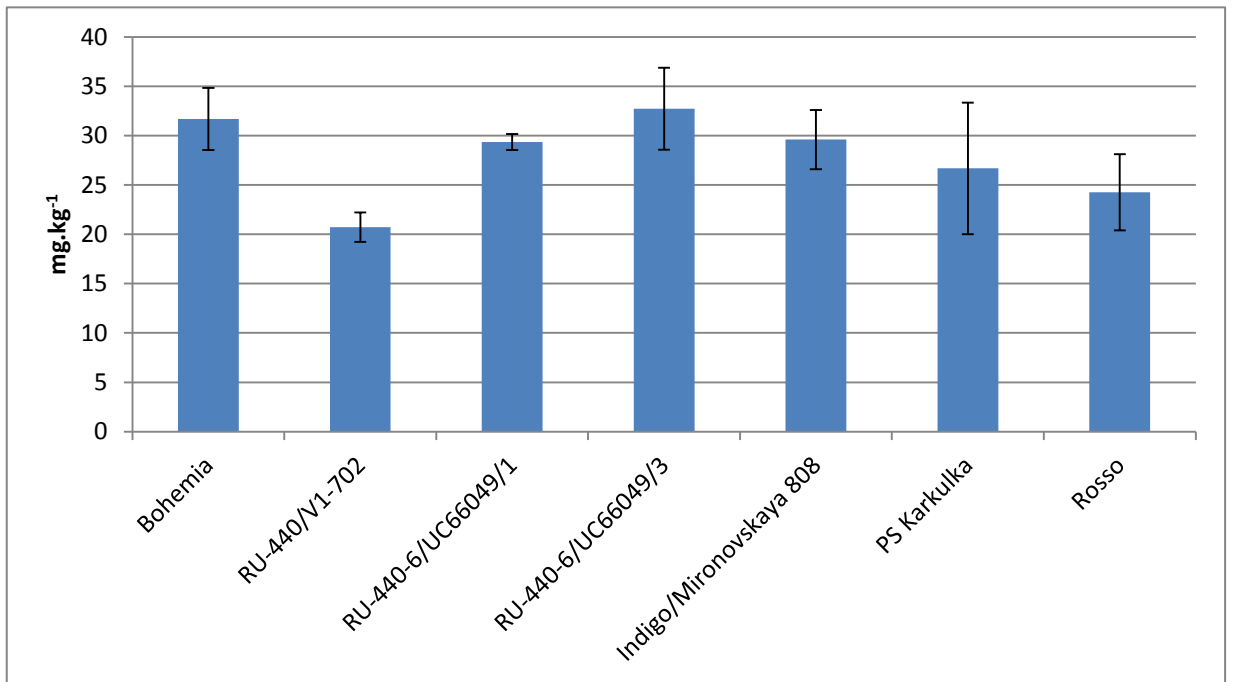
5.2. Hodnocení tokolů podle druhu obilniny

Tokoly (celkový obsah všech forem vitamínu E) byly vyhodnoceny jako součet obsahů jednotlivých stanovených forem ve všech vzorcích vybraných odrůd ozimé pšenice, jarní pšenice, jarního ječmene a jarního tritordea. V obrázcích č. 13 – 24 jsou vyneseny průměrné hodnoty a chybové úsečky vypočtené ze 3 paralelních opakování. Zastoupení jednotlivých tokolů je uvedeno v tabulkách č. 11 – 18.

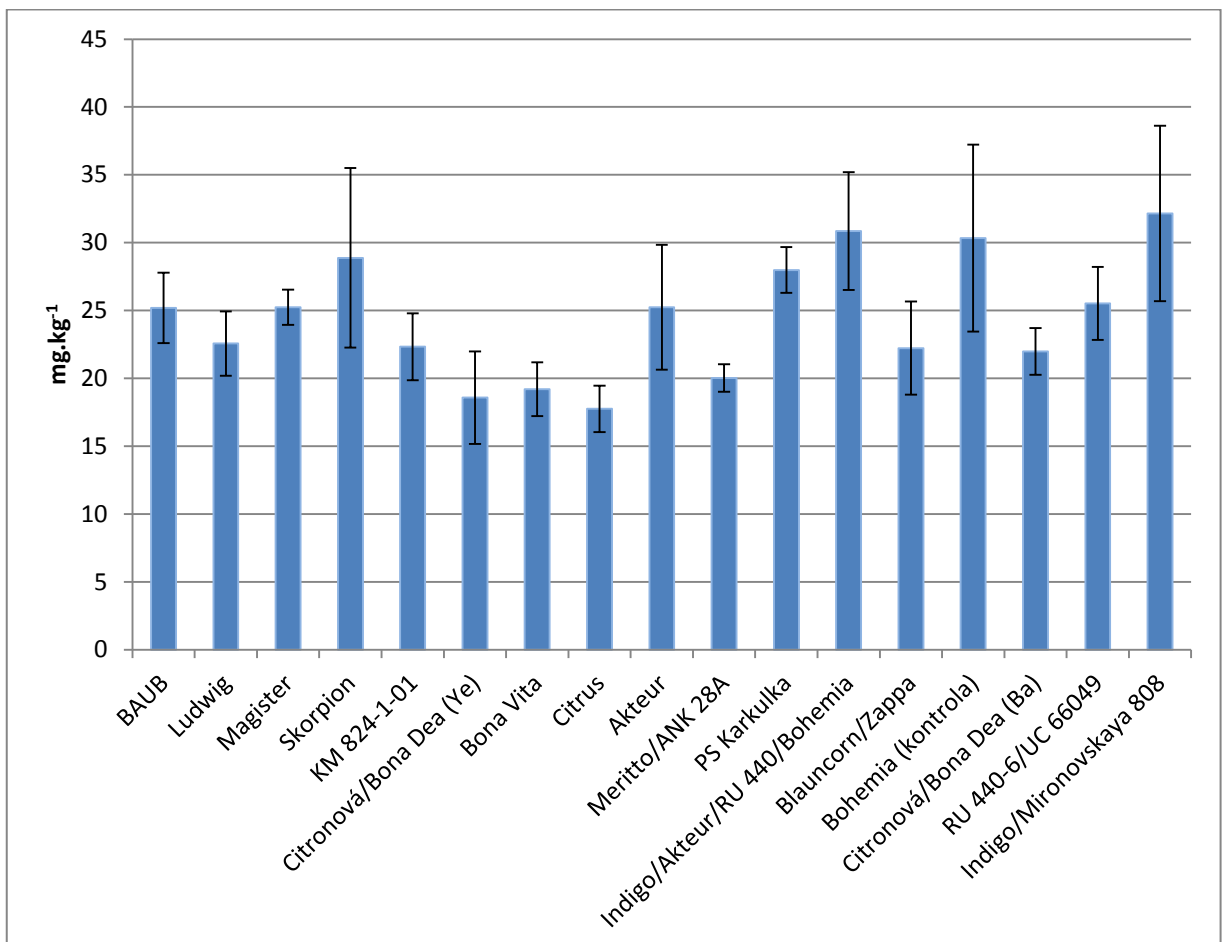
5.2.1. Ozimá pšenice

Bylo analyzováno 7 vzorků odrůd ozimé pšenice ze sklizně 2014 a 17 vzorků ze sklizně 2015.

Obr. 13: Celkový obsah tokolů v ozimé pšenice, sklizeň 2014



Obr. 14: Celkový obsah tokolů v ozimé pšenice, sklizeň 2015



Tab. 11: Obsah jednotlivých tokolů v ozimé pšenici, rok sklizně 2014 (MD viz Tab. 10)

Odrůda	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
[mg.kg ⁻¹]									
ozimá pšenice									
Bohemia	<MD	<MD	12,431	2,312	<MD	<MD	4,243	12,691	31,677±3,09
ozimá pšenice									
RU-440/V1-702	<MD	<MD	7,504	0,942	<MD	<MD	3,051	9,216	20,714±1,47
ozimá pšenice RU-440/UC66049/1	<MD	<MD	13,198	1,721	<MD	<MD	3,172	11,256	29,347±0,71
ozimá pšenice RU-440/UC66049/3	<MD	<MD	12,653	2,334	<MD	<MD	3,638	14,091	32,715±4,15
ozimá pšenice									
Indigo/Mironovskaya 808	<MD	<MD	10,655	2,523	<MD	<MD	3,967	12,447	29,592±2,31
ozimá pšenice									
PS Karkulka	<MD	<MD	11,730	1,714	<MD	<MD	3,840	9,392	26,676±6,52
ozimá pšenice									
Rosso	<MD	<MD	7,996	1,940	<MD	<MD	4,055	10,277	24,268±3,66

Tab. 12: Obsah jednotlivých tokolů v ozimé pšenici, rok sklizně 2015 (MD viz Tab. 10)

Odrůda	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
[mg.kg ⁻¹]									
ozimá pšenice									
BAUB	<MD	<MD	9,980	1,891	<MD	<MD	2,174	11,147	25,193±2,59
ozimá pšenice									
Ludwig	<MD	<MD	8,056	1,823	<MD	<MD	3,201	9,483	22,563±2,36
ozimá pšenice									
Magister	<MD	<MD	8,699	2,589	<MD	<MD	2,673	11,279	25,240±1,30
ozimá pšenice									
Skorpion	<MD	<MD	10,095	2,236	<MD	<MD	3,630	12,922	28,883±6,62
ozimá pšenice									
KM 824-1-01	<MD	<MD	7,329	1,657	<MD	<MD	2,682	10,667	22,335±2,47
ozimá pšenice									
Citronová/Bona Dea (Ye)	<MD	<MD	5,000	1,546	<MD	<MD	3,794	8,240	18,580±3,41

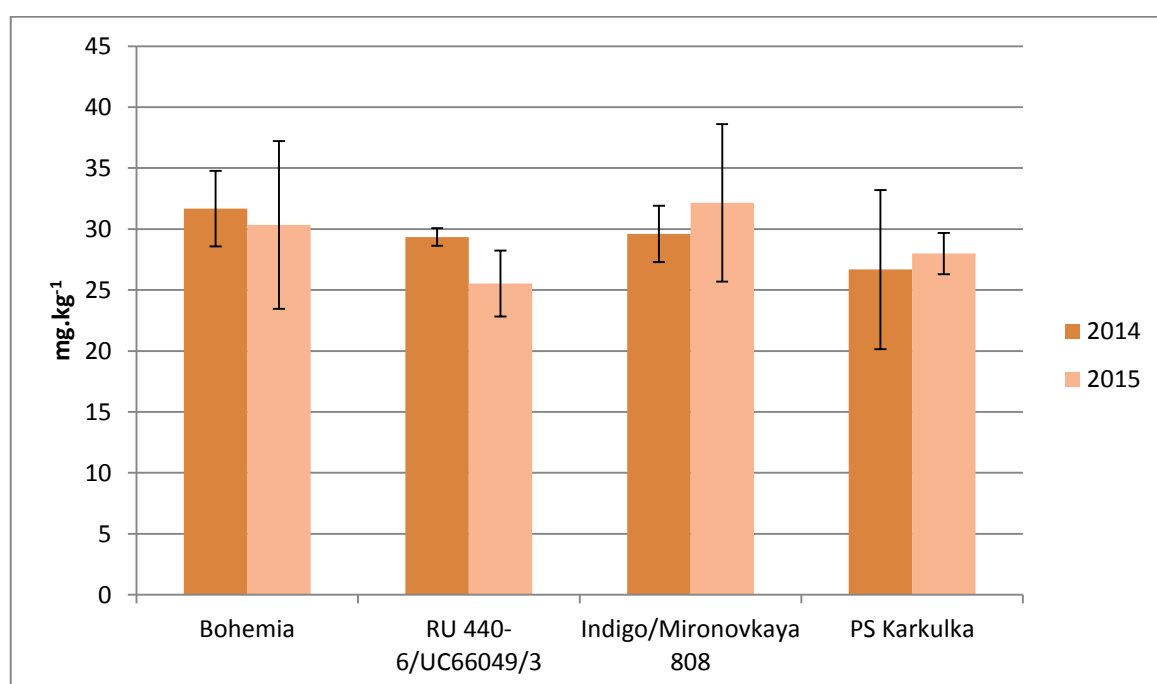
ozimá pšenice									
Bona Vita	<MD	<MD	2,112	1,175	<MD	<MD	4,139	11,773	19,199±1,98
ozimá pšenice									
Citrus	<MD	<MD	5,542	1,414	<MD	<MD	2,801	7,995	17,753±1,70
ozimá pšenice									
Akteur	<MD	<MD	13,459	1,905	<MD	<MD	2,524	7,359	25,248±4,60
ozimá pšenice									
Meritto/ANK 28-A	<MD	<MD	8,772	1,945	<MD	<MD	2,129	7,181	20,027±1,02
ozimá pšenice									
PS Karkulka	<MD	<MD	12,314	1,811	<MD	<MD	3,788	10,075	27,987±1,70
ozimá pšenice									
Indigo/Akteur/RU 440/Bohemia	<MD	<MD	10,928	1,971	<MD	<MD	4,273	13,681	30,854±4,33
ozimá pšenice									
Blaucorn/Zappa	<MD	<MD	11,149	1,888	<MD	<MD	2,260	6,934	22,231±3,42
ozimá pšenice									
Bohemia (kontrola)	<MD	<MD	11,888	2,067	<MD	<MD	4,538	11,842	30,336±6,88
ozimá pšenice									
Citronová/Bona Dea (Ba)	<MD	<MD	6,724	1,446	<MD	<MD	3,670	10,150	21,990±1,72
ozimá pšenice RU 440-6/UC 66049									
	<MD	<MD	10,177	1,454	<MD	<MD	2,712	11,187	25,529±2,69
ozimá pšenice									
Indigo/Mironovskaya 808	<MD	<MD	11,779	2,856	<MD	<MD	4,568	12,947	32,150±6,46

Rozmezí naměřených hodnot se u sklizně 2014 pohybovalo od 20,714 mg.kg⁻¹ (RU 440/V1-702) do 32,715 mg.kg⁻¹ (RU 440/UC66049/3). Průměrná hodnota celkového obsahu vitamínu E ze všech analyzovaných odrůd byla 28,856±3,30 mg.kg⁻¹. Z osmi možných forem tokolů byly kvantifikovány čtyři (β-T3, α-T3, β-T, α-T), zbylé byly pod mezí detekce. Nejvíce byl zastoupen β-T3 a α-T. Obsahy β-T3 se pohybovaly v rozmezí 7,5 – 13,2 mg.kg⁻¹, obsahy α-T se pohybovaly v rozmezí 9,2 – 14,1 mg.kg⁻¹. Méně byly zastoupeny α-T3 a β-T, a to v rozmezí 0,9 – 2,3 mg.kg⁻¹ resp. 3,2 – 4,2 mg.kg⁻¹.

Celkové obsahy vitamínu E se ve vzrocích ze sklizně 2015 se pohybovaly v rozmezí od 17,753 mg.kg⁻¹ (Citrus) do 32,150 mg.kg⁻¹ (Indigo/Mironovskaya).

Průměrná hodnota celkového obsahu vitamínu E ze všech analyzovaných odrůd byla $24,476 \pm 3,25 \text{ mg.kg}^{-1}$. Z osmi možných forem tokolů byly kvantifikovány čtyři (β -T3, α -T3, β -T, α -T), zbylé byly pod mezí detekce. Nejvíce byl zastoupen β -T3 a α -T. Obsahy β -T3 se pohybovaly v rozmezí 5,0 – 13,5 mg.kg^{-1} , obsahy α -T se pohybovaly v rozmezí 6,9 – 12,9 mg.kg^{-1} . Méně byly zastoupeny α -T3 a β -T, a to v rozmezí 1,2 – 2,8 mg.kg^{-1} resp. 2,1 – 4,6 mg.kg^{-1}

Obr. 15: Porovnání obsahu celkových tokolů ve shodných odrůdách ozimých pšeníc ze sklizně 2014 a 2015

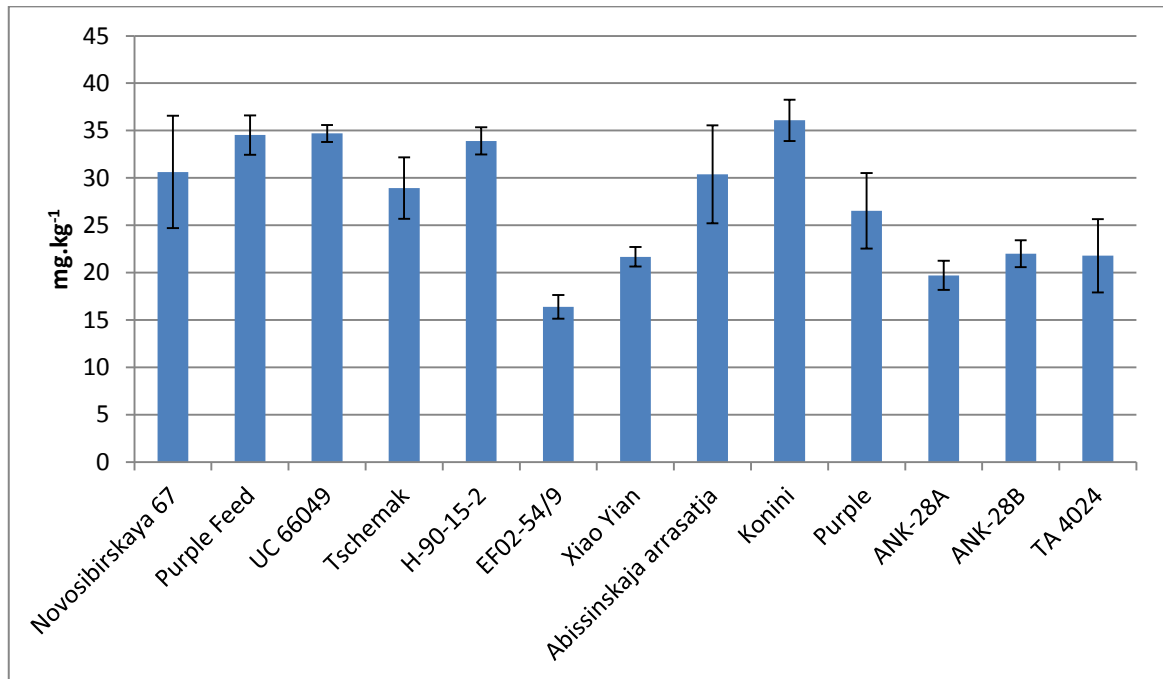


Ve vzorcích stejných odrůd ozimých pšeníc, které byly pěstovány v obou letech, nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v celkovém obsahu vitamínu E. Největší rozdíl v celkovém obsahu vitamínu E vykazovala odrůda RU 440-6, a to 13,0 %. Nejmenší rozdíl byl zjištěn v odrůdě Bohemia, a to 4,4 %.

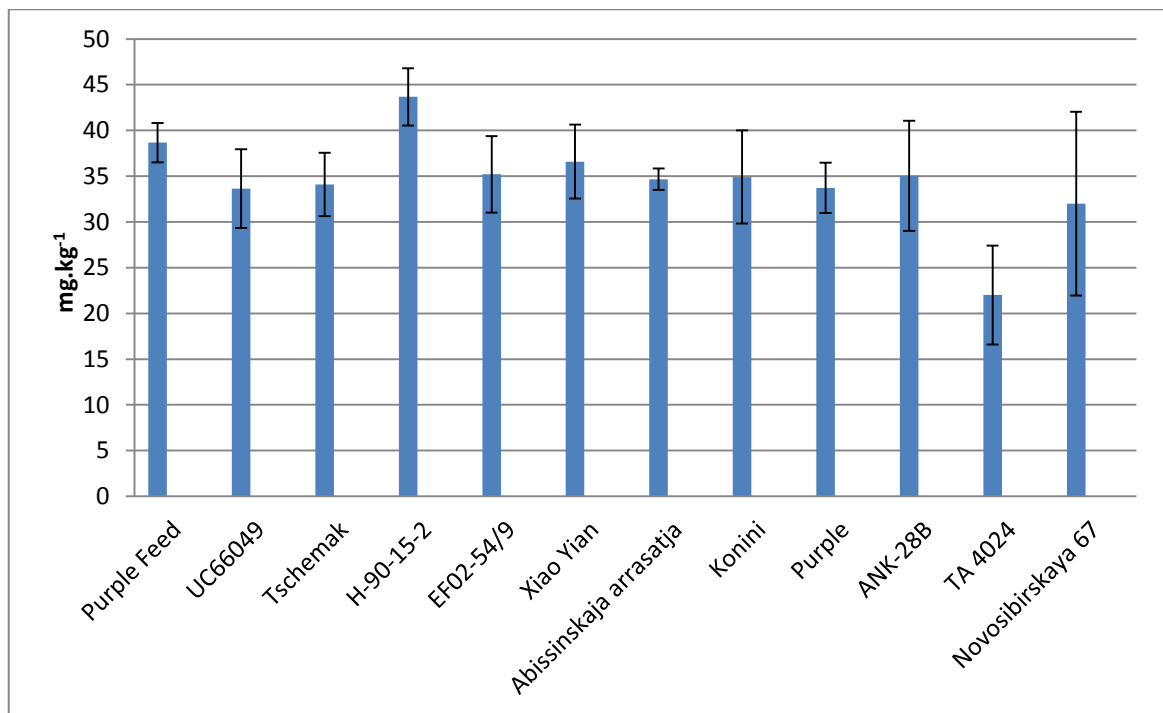
5.2.2. Jarní pšenice

Bylo analyzováno 13 vzorků odrůd jarní pšenice ze sklizně 2014 a 12 vzorků ze sklizně 2015

Obr. 16: Celkový obsah tokolů v jarní pšenice, sklizeň 2014



Obr. 17: Celkový obsah tokolů v jarní pšenice, sklizeň 2015



Tab. 13: Obsah jednotlivých tokolů v jarní pšenici, rok sklizně 2014 (MD viz Tab. 10)

Odrůda	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
[mg.kg ⁻¹]									
jarní pšenice (kont.)									
Novosibirskaya 67	<MD	<MD	15,617	3,583	<MD	<MD	3,146	8,290	30,636±5,92
jarní pšenice									
Purple Feed	<MD	<MD	13,392	2,001	<MD	<MD	5,767	13,364	34,524±2,01
jarní pšenice									
UC 66049	<MD	<MD	15,579	2,822	<MD	<MD	4,157	12,147	34,706±0,66
jarní pšenice									
Tschmak	<MD	<MD	10,005	2,461	<MD	<MD	5,007	11,456	28,929±1,10
jarní pšenice									
H-90-15-2	<MD	<MD	10,876	2,531	<MD	<MD	5,141	15,359	33,907±3,23
jarní pšenice									
EF02-54/9	<MD	<MD	8,237	1,712	<MD	<MD	2,433	4,019	16,401±1,23
jarní pšenice									
Xiao Yian	<MD	<MD	8,338	1,363	<MD	<MD	4,012	7,960	21,673±1,03
jarní pšenice									
Abissinskaja arrasatja	<MD	<MD	11,438	2,733	<MD	<MD	4,853	11,356	30,380±5,16
jarní pšenice									
Konini	<MD	<MD	13,978	2,752	<MD	<MD	5,055	14,295	36,079±2,07
jarní pšenice									
Purple	<MD	<MD	12,096	2,434	<MD	<MD	3,064	8,934	26,527±3,96
jarní pšenice									
ANK-28A	<MD	<MD	11,191	1,934	<MD	<MD	2,123	4,470	19,717±1,53
jarní pšenice									
ANK 28-B	<MD	<MD	12,663	2,062	<MD	<MD	2,262	5,000	21,988±1,29
jarní pšenice									
TA 4024	<MD	<MD	6,133	1,174	<MD	<MD	4,358	10,119	21,784±3,85

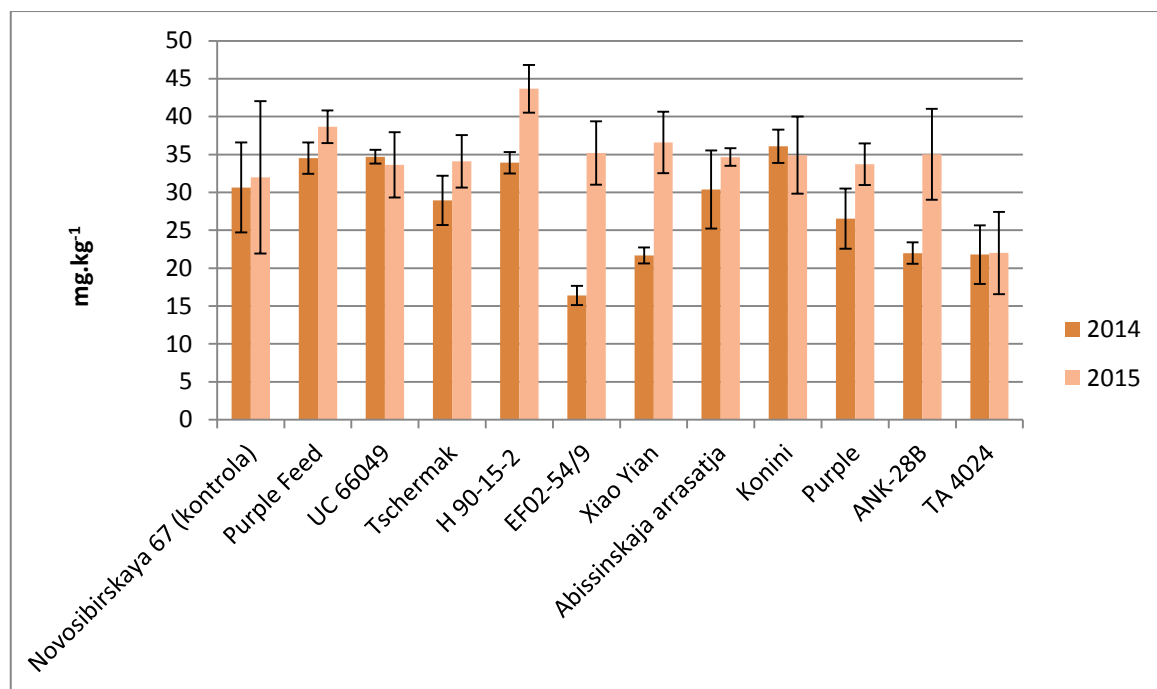
Tab. 14: Obsah jednotlivých tokolů v jarní pšenici, rok sklizně 2015 (MD viz Tab. 10)

Odrůda	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
[mg.kg ⁻¹]									
jarní pšenice									
Purple Feed	<MD	<MD	15,459	2,431	<MD	<MD	5,735	15,041	38,666±2,15
jarní pšenice									
Novosibirskaya									
67	<MD	<MD	10,459	2,380	<MD	<MD	5,256	13,900	31,995±10,05
jarní pšenice									
UC 66049	<MD	<MD	12,633	2,743	<MD	<MD	4,355	13,906	33,637±4,30
jarní pšenice									
Tschemak	<MD	<MD	12,001	3,046	<MD	<MD	5,531	13,523	34,101±3,42
jarní pšenice									
H-90-15-2	<MD	<MD	14,441	3,365	<MD	<MD	6,164	19,701	43,671±3,14
jarní pšenice									
EF02-54/9	<MD	<MD	13,017	2,187	<MD	<MD	5,121	14,883	35,207±4,18
jarní pšenice									
Xiao Yian	<MD	<MD	13,039	2,333	<MD	<MD	6,046	15,170	36,589±4,04
jarní pšenice									
Abissinskaja									
arrastja	<MD	<MD	13,703	3,386	<MD	<MD	4,582	12,992	34,664±1,17
jarní pšenice									
Konini	<MD	<MD	13,200	2,741	<MD	<MD	4,891	14,080	34,912±5,09
jarní pšenice									
Purple	<MD	<MD	16,159	2,676	<MD	<MD	4,061	10,816	33,711±2,75
jarní pšenice									
ANK-28B	<MD	<MD	14,010	2,504	<MD	<MD	5,037	13,479	35,029±6,01
jarní pšenice									
TA 4024	<MD	<MD	4,721	1,234	<MD	<MD	4,175	11,871	22,001±5,42

Celkové hodnoty vitamínu E se ve vzorcích ze sklizně 2014 pohybovaly v rozmezí od 16,401 mg.kg⁻¹ (EF02-54/9) do 36,079 mg.kg⁻¹ (Konini). Průměrná hodnota všech odrůd byla 27,481±2,62 mg.kg⁻¹. Z osmi možných forem vitamínu byly kvantifikovány čtyři, a to β-T3, α-T3, β-T, α-T. Nejvíce byly zastoupeny β-T3, jehož hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 6,1 do 15,6 mg.kg⁻¹ a α-T, jehož hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 4,5 do 15,4 mg.kg⁻¹. Méně byly zastoupeny α-T3 (1,2 – 2,8 mg.kg⁻¹) a β-T (2,1 – 5,8 mg.kg⁻¹).

U vzorků odrůd jarní pšenice ze sklizně 2015 byly naměřeny vyšší hodnoty. Celkový obsah vitamínu E se pohyboval v rozmezí od 22,001 mg.kg⁻¹ (TA 4024) do 43,671 mg.kg⁻¹ (H 90-15-2). Průměrná hodnota všech odrůd byla 34,515±4,31 mg.kg⁻¹. Z osmi forem vitamínu E byly kvantifikovány čtyři, a to β-T3, α-T3, β-T, α-T. Nejvíce byly zastoupeny β-T3, jehož hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 4,7 do 16,2 mg.kg⁻¹ a α-T, jehož hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 10,8 do 19,7 mg.kg⁻¹. Méně byly zastoupeny α-T3 (1,2 – 3,4 mg.kg⁻¹) a β-T (4,2 – 6,2 mg.kg⁻¹).

Obr. 18: Porovnání obsahu celkových tokolů ve shodných odrůdách jarních pšenic ze sklizně 2014 a 2015

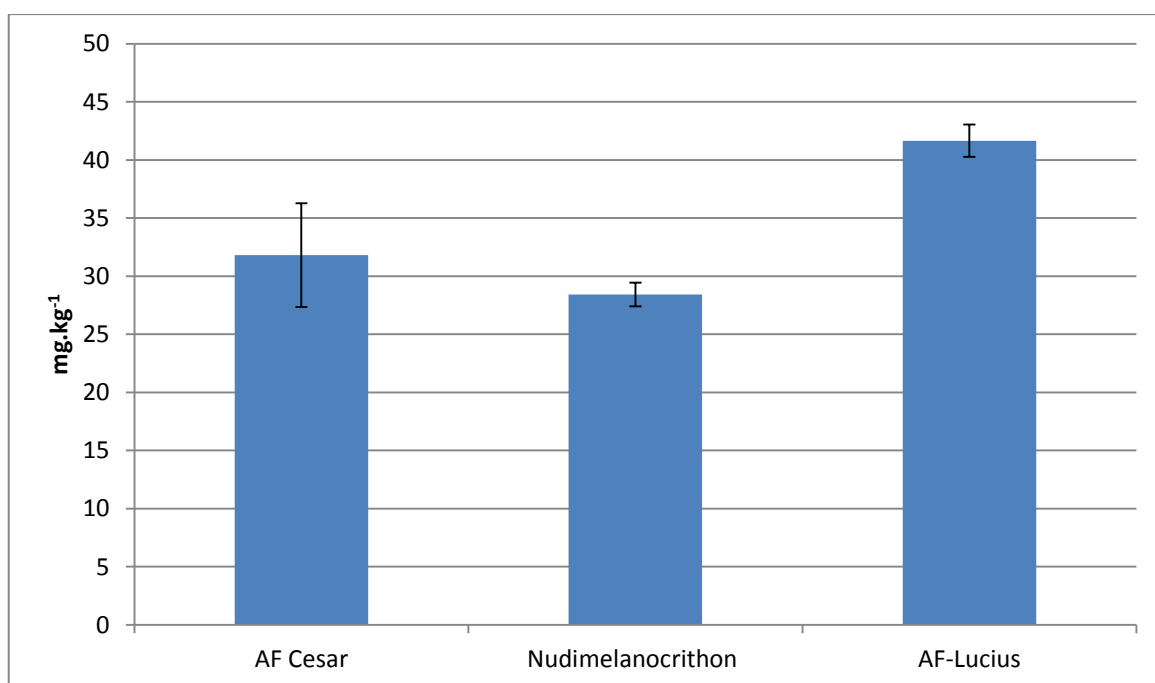


Při porovnání shodných vzorků ze sklizně 2014 a 2015 je zřejmé, že odrůdy sklizené v roce 2015 mají větší množství vitamínu E. Největší rozdíl je u odrůdy EF02-54/9, a to 53,1 %. Nejmenší rozdíl je u odrůdy TA 4024, a to 0,9 %. Bylo vypočítáno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi vzorky z roku 2014 a 2015.

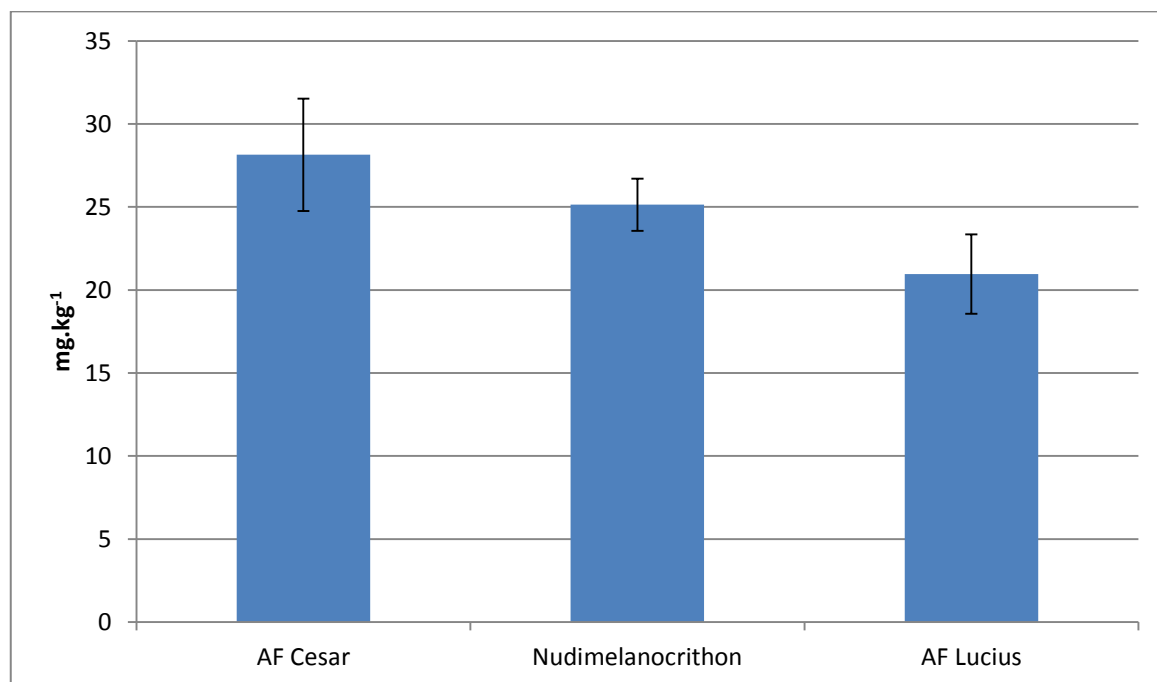
5.2.3. Jarní ječmen

Byly analyzovány vzorky tří shodných odrůd jarního ječmene ze sklizně 2014 a 2015.

Obr. 19: Celkový obsah tokolů v jarním ječmeni, sklizeň 2014



Obr. 20: Celkový obsah tokolů v jarním ječmeni, sklizeň 2015



Tab. 15: Obsah jednotlivých tokolů v jarním ječmeni, rok sklizně 2014 (MD viz Tab. 10)

Odrůda	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
	[mg.kg ⁻¹]								
jarní ječmen									
AF Cesar	0,623	3,043	<MD	17,764	0,292	0,564	<MD	9,516	31,802±4,45
jarní ječmen									
Nudimelanocrithon	<MD	0,744	1,096	13,086	<MD	2,484	0,468	10,546	28,425±0,96
jarní ječmen									
AF Lucius	0,429	5,527	5,196	17,149	<MD	2,969	0,379	9,785	41,434±1,12

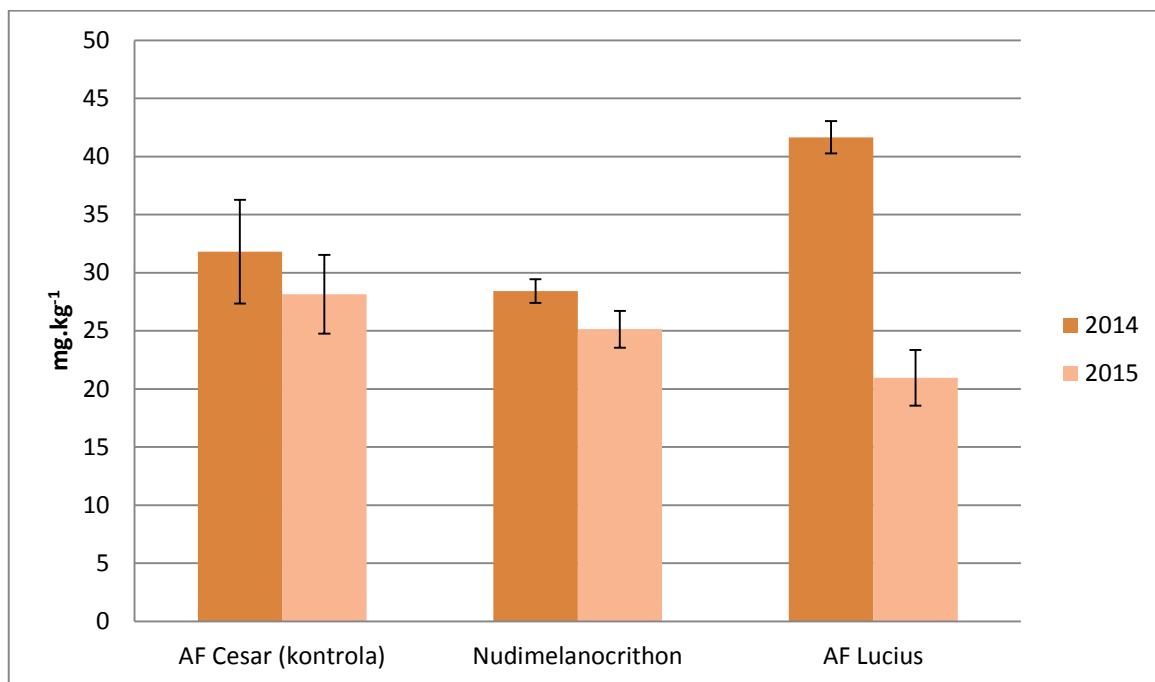
Tab. 16: Obsah jednotlivých tokolů v jarním ječmeni, rok sklizně 2015 (MD viz Tab. 10)

Odrůda	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
[mg.kg ⁻¹]									
jarní ječmen									
AF Cesar	<MD	3,360	2,193	13,831	<MD	1,926	0,597	11,519	28,140±3,39
jarní ječmen									
Nudimelanocrithon	<MD	0,526	1,126	11,051	<MD	2,742	0,565	12,388	25,131±1,58
jarní ječmen									
AF Lucius	<MD	2,658	1,901	10,644	<MD	1,810	0,284	8,121	20,951±2,39

U vzorků odrůd ze sklizně 2014 bylo zjištěno více forem vitamínu E nad mezí detekce. Hodnoty celkového množství vitamínu E se pohybovaly v rozmezí od 28,425 mg.kg⁻¹ (Nudimelanocrithon) do 41,434 mg.kg⁻¹ (AF Lucius). Průměrná hodnota byla 33,960 mg.kg⁻¹. U odrůdy AF Cesar nebyly detekovány β -T3 a β -T, u odrůdy Nudumelanocrithon nebyl detekován γ -T3 a γ -T a u odrůdy AF Lucius nebyl detekován pouze γ -T. Majoritními tokoly byly α -T3 a α -T. Naměřené hodnoty u α -T3 se pohybovaly v rozmezí 17,6 – 13,1 mg.kg⁻¹ a u α -T v rozmezí 9,5 – 10,5 mg.kg⁻¹. U vzorků jarního ječmene bylo zjištěno více forem vitamínu E nad mezí detekce. U odrůdy AF Cesar byl pod mezí detekce pouze β -T3, u odrůdy Nudimelanocrithon byl pod mezí detekce δ -T a δ -T3 a u odrůdy AF Lucius byl pod mezí detekce δ -T.

U vzorků odrůd ze sklizně 2015 bylo zjištěno šest forem vitamínu E. Nebyly detekovány pouze δ -T3 a δ -T formy. Celkové množství tokolů se pohybovalo v rozmezí od 20,951 mg.kg⁻¹ (AF Lucius) do 28,140 mg.kg⁻¹ (AF Cesar). Průměrná hodnota byla 24,741 mg.kg⁻¹. Majoritními tokoly byly α -T3 a α -T. Naměřené hodnoty u α -T3 se pohybovaly v rozmezí 10,6 – 13,8 mg.kg⁻¹ a u α -T v rozmezí 8,1 – 12,4 mg.kg⁻¹. U odrůd jarního ječmene byly změřeny nad mezí detekce kromě α - a β - forem i γ - formy vitamínu E.

Obr. 21: Porovnání obsahu celkových tokolů ve shodných odrůdách jarního ječmene ze sklizně 2014 a 2015

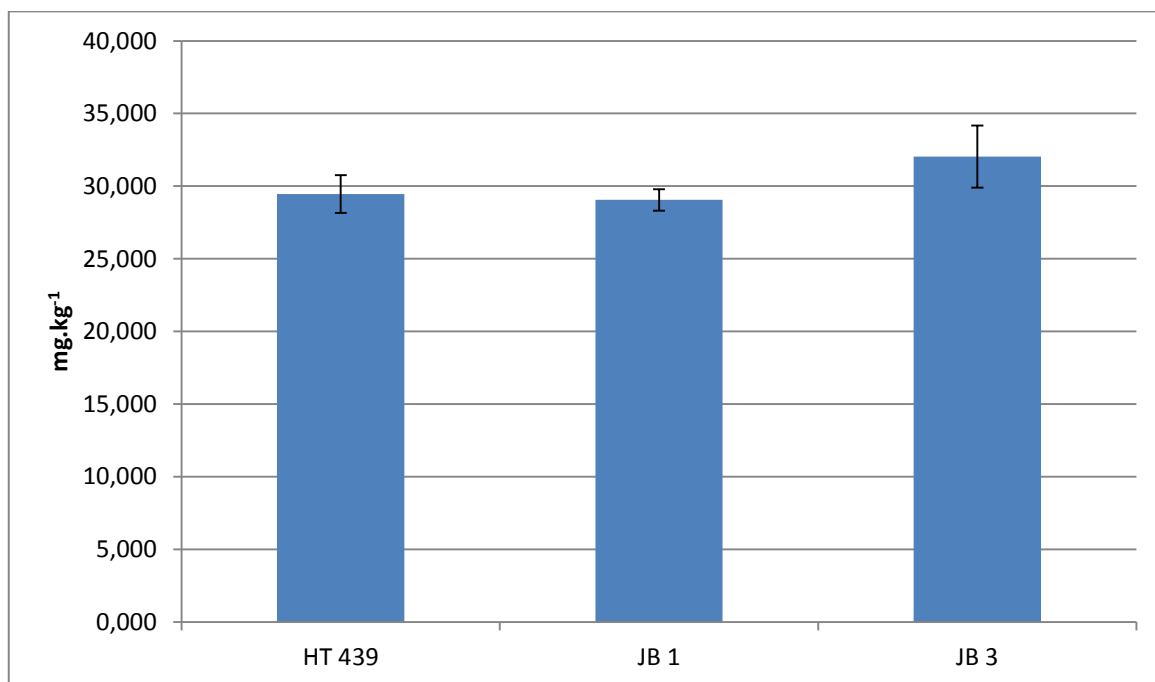


Při porovnání shodných vzorků ze sklizně 2014 a 2015 je jasné, že u odrůd z roku 2014 bylo zjištěno větší množství vitamínu E. Největší rozdíl byl zjištěn u odrůdy AF Lucius, a to 48,8 %. Nejmenší rozdíl byl u vzorku odrůdy Nudimelanocrithon, a to 11,6 %. Bylo vypočítáno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi vzorky z roku 2014 a 2015.

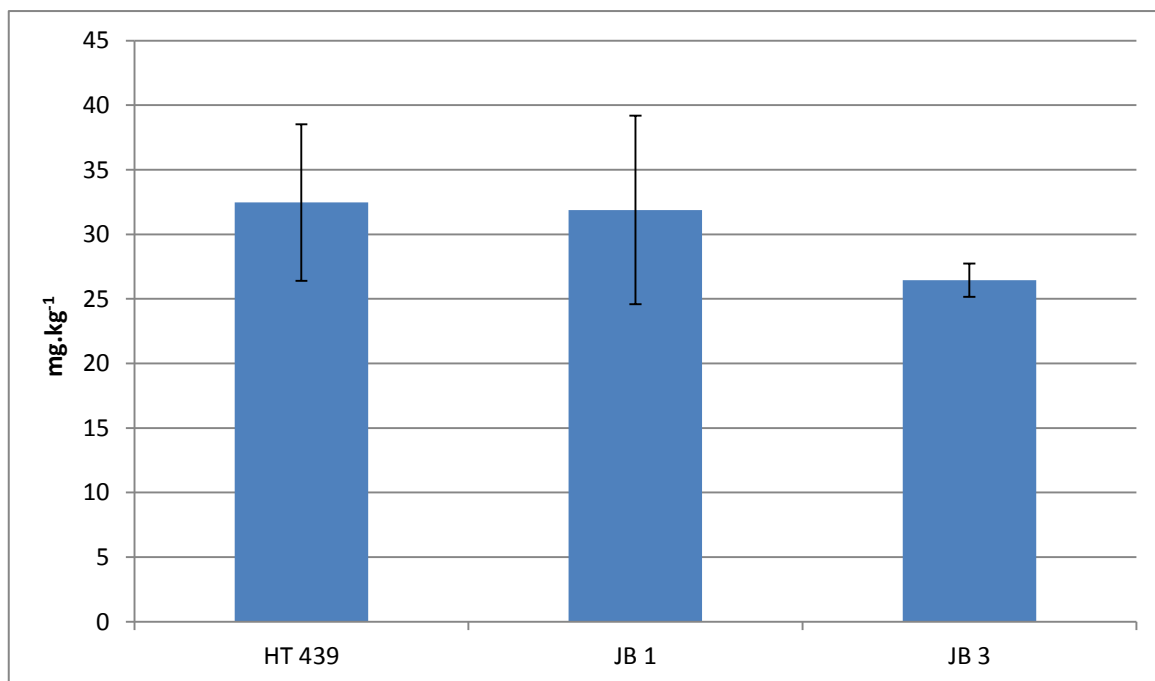
5.2.4. Jarní tritordeum

Byly analyzovány vzorky tří shodných odrůd jarního ječmene ze sklizně 2014 a 2015.

Obr. 22: Celkový obsah tokolů u jarního tritordea, sklizeň 2014



Obr. 23: Celkový obsah tokolů u jarního tritordea, sklizeň 2015



Tab. 17: Obsah jednotlivých tokolů u jarního tritordea, rok sklizně 2014 (MD viz Tab. 10)

Odrůda [mg.kg ⁻¹]	δ-T3	γ-T3	β-T3	α-T3	δ-T	γ-T	β-T	α-T	Σ
jarní tritordeum									
HT 439	<MD	<MD	12,029	7,344	<MD	<MD	2,557	7,529	29,460±1,30
jarní tritordeum									
JB 1	<MD	<MD	10,770	5,040	<MD	<MD	2,787	10,461	29,059±0,74
jarní tritordeum									
JB 3	<MD	<MD	14,947	5,565	<MD	<MD	2,373	9,152	32,037±2,13

Tab. 18: Obsah jednotlivých tokolů u jarního tritordea, rok sklizně 2015 (MD viz Tab. 10)

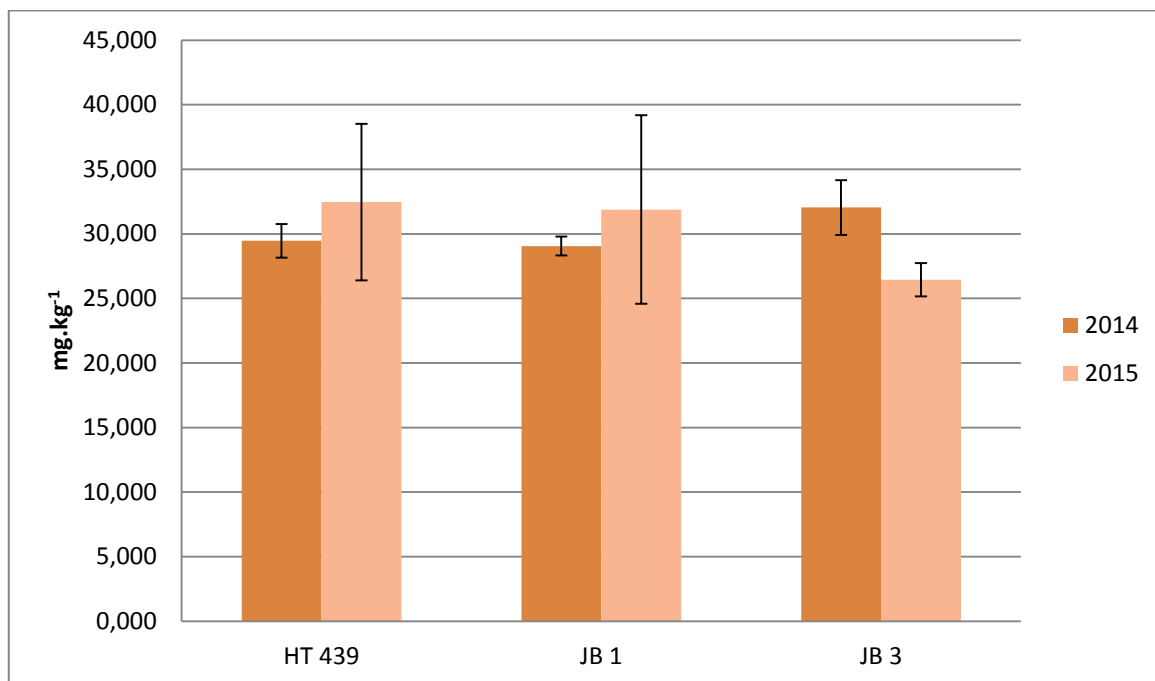
Odrůda [mg.kg ⁻¹]	δ-T3	γ-T3	β-T3	α-T3	δ-T	γ-T	β-T	α-T	Σ
jarní tritordeum									
HT 439	<MD	<MD	13,300	7,636	<MD	<MD	2,403	9,119	32,458±6,06
jarní tritordeum									
JB 1	<MD	<MD	12,324	5,641	<MD	<MD	2,845	11,072	31,882±7,30
jarní tritordeum									
JB 3	<MD	<MD	11,673	5,438	<MD	<MD	1,812	7,528	26,450±1,19

Rozmezí naměřených hodnot u vzorků odrůd tritordea ze sklizně 2014 se pohybovalo v rozmezí od 29,059 mg.kg⁻¹ (HT 439) do 32,037 mg.kg⁻¹ (JB 3). Průměrné množství vitamínu E bylo 30,185 mg.kg⁻¹. Z osmi forem tokolů byly zanalyzovány čtyři (β-T3, α-T3, β-T, α-T), zbylé byly pod mezí detekce. Majoritními tokoly byly β-T3 a α-T. Hodnoty β-T3 se pohybovaly v rozmezí 10,8 – 15,0 mg.kg⁻¹, Hodnoty α-T se pohybovaly v rozmezí 7,5 – 10,5 mg.kg⁻¹. Hodnoty minoritních α-T3 a β-T se pohybovaly v rozmezí 5,0 – 7,3 mg.kg⁻¹ a 2,4 – 2,8 mg.kg⁻¹ resp.

U vzorků odrůd ze sklizně 2015 se množství vitamínu E pohybovalo v rozmezí od 26,450 mg.kg⁻¹ (JB 3) do 32,458 mg.kg⁻¹ (HT 439). Průměrný obsah tokolů byl 30,263 mg.kg⁻¹. Z osmi forem tokolů byly zanalyzovány čtyři (β-T3, α-T3, β-T, α-T), zbylé byly pod mezí detekce. Majoritními tokoly byly β-T3 a α-T. Hodnoty β-T3

se pohybovaly v rozmezí 11,7 – 13,3 mg.kg⁻¹, Hodnoty α -T se pohybovaly v rozmezí 7,5 – 11,1 mg.kg⁻¹. Hodnoty minoritních α -T3 a β -T se pohybovaly v rozmezí 5,4 – 7,6 mg.kg⁻¹ a 1,8 – 2,8 mg.kg⁻¹ resp.

Obr. 24: Porovnání obsahu celkových tokolů ve shodných odrůdách jarního tritordea ze sklizně 2014 a 2015



Největší rozdíl byl zjištěn u odrůdy JB 3, a to 17,2 %. Nejmenší rozdíl byl u vzorku odrůdy JB 1, a to 9,1 %. Na základě statistického vyhodnocení bylo dokázáno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi vzorky z roku 2014 a 2015.

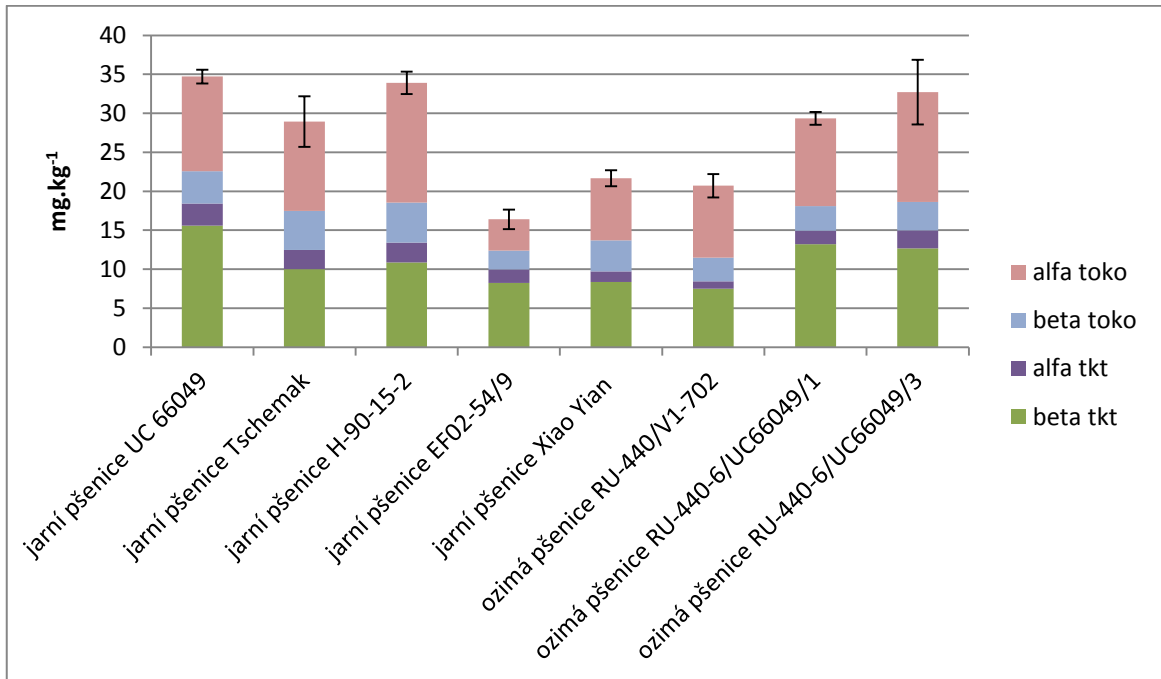
5.3. Hodnocení tokolů podle zbarvení zrna

Tokoly byly analyzovány v zrnech s netradičním modrým, purpurovým a žlutým zbarvením. Porovnání jednotlivých forem tokolů v různých obilovinách se stejnou barvou zrna (nebo jeho části) je uvedeno v obrázcích č. 25 – 30.

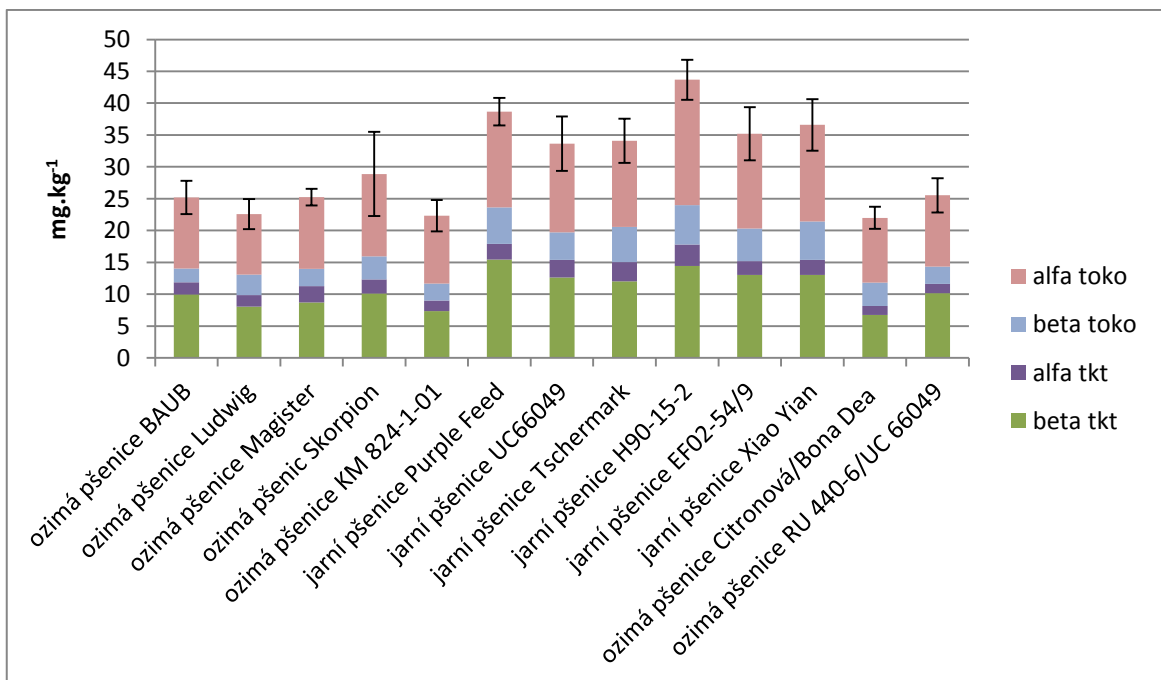
5.3.1. Zrna s modrým aleuronem

Bylo zanalyzováno 8 vzorků s modrým aleuronem ze sklizně 2014 a 13 vzorků ze sklizně 2015. Jednalo se o odrůdy ozimé a jarní pšenice.

Obr. 25: Zastoupení jednotlivých forem tokolů v zrnech s modrým aleuronem, sklizeň 2014



Obr. 26: Zastoupení jednotlivých forem tokolů v zrnech s modrým aleuronem, sklizeň 2015



Rozmezí celkového množství vitamínu E ve vzorcích s modrým aleuronem ze sklizně 2014 se pohybovalo od 16,401 mg.kg⁻¹ (jarní pšenice EF02-54/9) do 34,706 mg.kg⁻¹ (jarní pšenice UC 66049). V zrně s modrým aleuronem byly kvantifikovány pouze čtyři formy tokolů, a to β-T3, α-T3, β-T a α-T. Majoritními formami byly β-T3 a α-T s obsahy v rozmezí 7,5 – 15,6 mg.kg⁻¹ resp. 4,0 – 15,4 mg.kg⁻¹. Obsahy minoritních složek α-T3 a β-T se pohybovaly v rozmezí 0,9 – 2,8 mg.kg⁻¹ a 2,4 – 5,0 mg.kg⁻¹. V zrnech s modrým aleuronem ze sklizně 2014 nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl.

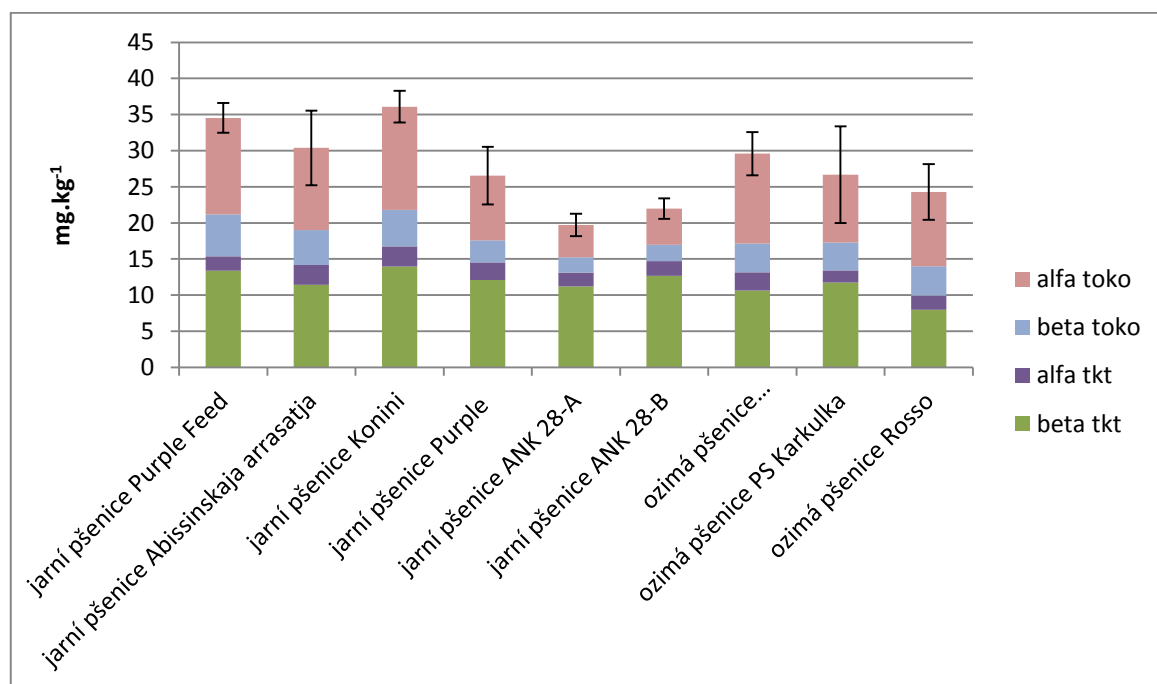
Rozmezí celkového množství vitamínu E u vzorků s modrým aleuronem ze sklizně 2015 se pohybovalo od 22,335 mg.kg⁻¹ (ozimá pšenice KM 824-1-01) do 43,671 mg.kg⁻¹ (jarní pšenice H 90-15-2). Opět byly kvantifikovány pouze čtyři formy tokolu, a to β-T3, α-T3, β-T a α-T. Majoritními formami byly β-T3 a α-T s obsahy v rozmezí 6,7 – 15,5 mg.kg⁻¹ a 9,5 – 19,7 mg.kg⁻¹ resp. Obsahy minoritních složek α-T3 a β-T se pohybovaly v rozmezí 1,4 – 3,4 mg.kg⁻¹ a 2,1 – 6,1 mg.kg⁻¹. V zrnech s modrým aleuronem ze sklizně 2015 rovněž nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl.

Zrna jarní pšenice s modrým aleuronem obsahovala v souhrnu průměrně více vitamínu E než zrna pšenice ozimé. V roce 2014 byl průměrný obsah vitamínu E u zrn jarní pšenice 26,996 mg.kg⁻¹, u ozimé pšenice byl průměr 27,592 mg.kg⁻¹. V roce 2015 byl průměrný obsah vitamínu E u zrn jarní pšenice 31,295 mg.kg⁻¹, u ozimé pšenice byl průměr 24,533 mg.kg⁻¹.

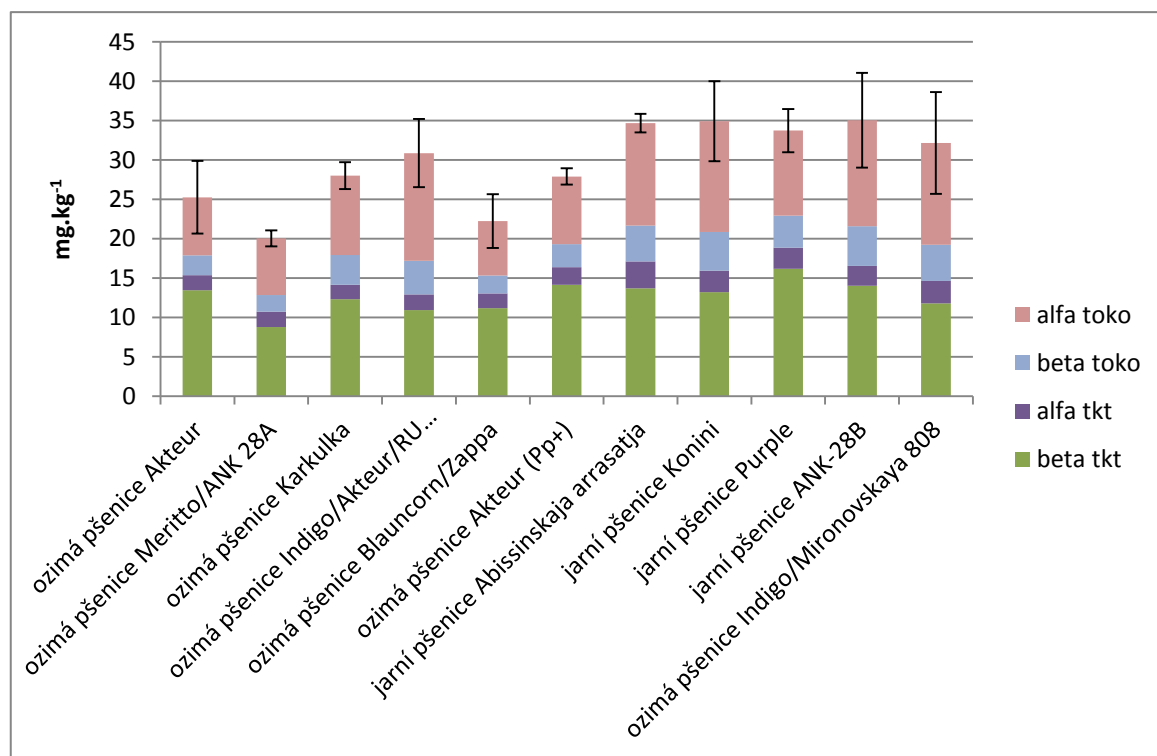
5.3.2. Zrna s purpurovým perikarpem

Bylo zanalyzováno 9 vzorků s purpurovým perikarpem ze sklizně 2014 a 11 vzorků ze sklizně 2015. Jednalo se o odrůdy ozimé a jarní pšenice.

Obr. 27: Zastoupení jednotlivých forem tokolů v zrnech s purpurovým perikarpem, sklizeň 2014



Obr. 28: Zastoupení jednotlivých forem tokolů v zrnech s purpurovým perikarpem, sklizeň 2015



Rozmezí celkového množství vitamínu E u vzorků s purpurovým perikarpem ze sklizně 2014 se pohybovalo od 19,717 mg.kg⁻¹ (jarní pšenice ANK 28-A) do 36,079 mg.kg⁻¹ (jarní pšenice Konini). Opět byly kvantifikovány pouze čtyři formy tokolu, a to β-T3, α-T3, β-T a α-T. Majoritními formami byly β-T3 a α-T s obsahy v rozmezí 7,0 – 14,0 mg.kg⁻¹ resp. 4,5 – 14,3 mg.kg⁻¹. Minoritní α-T3 a β-T měly naměřené hodnoty v rozmezí 1,7 – 2,8 mg.kg⁻¹ a 2,3 – 5,8 mg.kg⁻¹. U zrn s purpurovým perikarpem ze sklizně 2014 nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl.

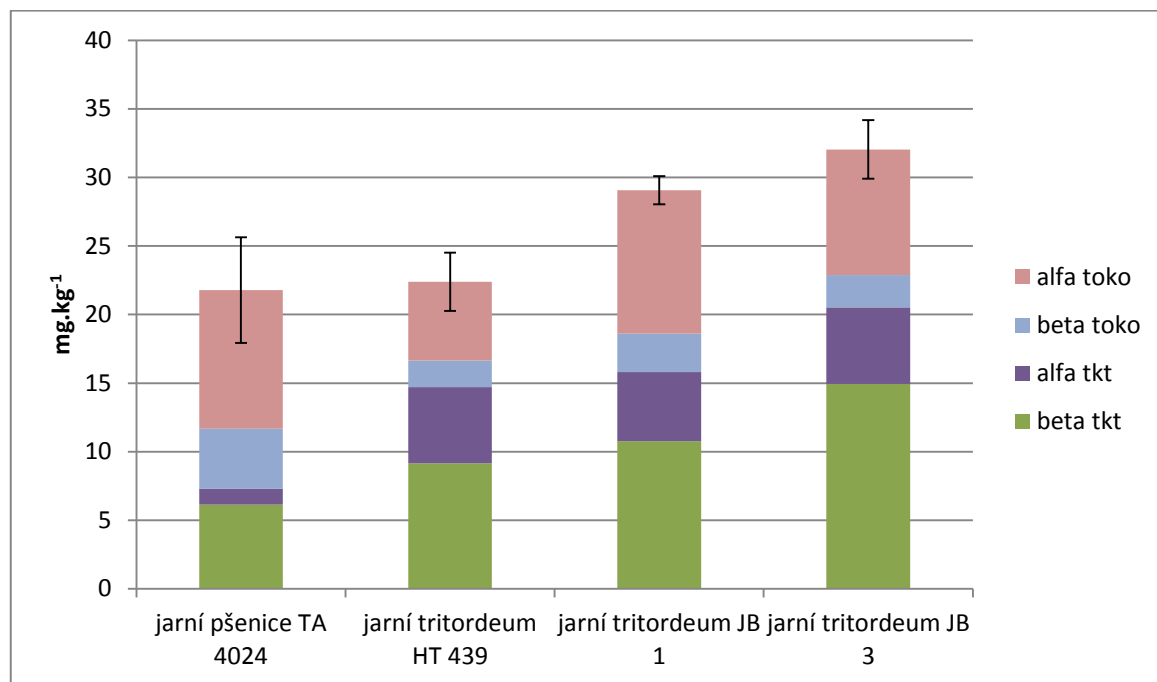
Rozmezí celkového množství vitamínu E u vzorků s purpurovým perikarpem ze sklizně 2015 se pohybovalo od 20,027 mg.kg⁻¹ (ozimá pšenice Meritto/ANK 28-A) do 35,029 mg.kg⁻¹ (jarní pšenice ANK 28-B). Opět byly zanalyzovány pouze čtyři formy tokolu, a to β-T3, α-T3, β-T a α-T. Majoritními formami byly β-T3 a α-T s obsahy v rozmezí 8,8 – 16,2 mg.kg⁻¹ a 6,9 – 14,1 mg.kg⁻¹ resp. Minoritní α-T3 a β-T měly naměřené hodnoty v rozmezí 1,8 – 3,4 mg.kg⁻¹ a 2,1 – 5,0 mg.kg⁻¹. U zrn s purpurovým perikarpem ze sklizně 2015 nebyl rovněž zjištěn statisticky významný rozdíl.

Zrna jarní pšenice s purpurovým perikarpem obsahovala v souhrnu průměrně více vitamínu E než zrna pšenice ozimé. V roce 2014 byl průměrný obsah vitamínu E u zrn jarní pšenice 28,203 mg.kg⁻¹, u ozimé pšenice byl průměr 26,845 mg.kg⁻¹. V roce 2015 byl průměrný obsah vitamínu E u zrn jarní pšenice 34,579 mg.kg⁻¹, u ozimé pšenice byl průměr 26,653 mg.kg⁻¹.

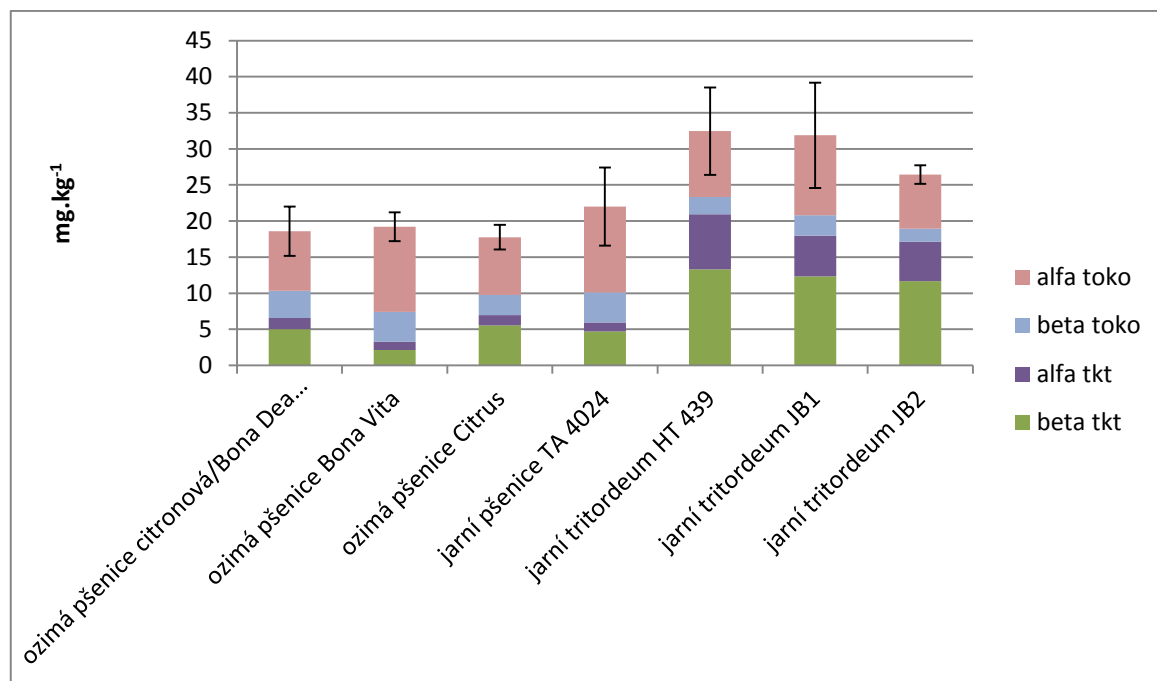
5.3.3. Zrna se žlutým perikarpem

Byly zanalyzovány 4 vzorky se žlutým perikarpem ze sklizně 2014 a 7 vzorků ze sklizně 2015. Jednalo se o odrůdy ozimé a jarní pšenice a jarního tritordea.

Obr. 29: Zastoupení jednotlivých forem tokolů v zrnech se žlutým perikarpem, sklizeň 2014



Obr. 30: Zastoupení jednotlivých forem tokolů v zrnech se žlutým perikarpem, sklizeň 2015



Rozmezí celkového množství vitamínu E u vzorků se žlutým perikarpem ze sklizně 2014 se pohybovalo od 21,784 mg.kg⁻¹ (jarní pšenice TA 4024) do 32,027

mg.kg⁻¹ (jarní tritordeum JB 3). Opět byly kvantifikovány pouze čtyři formy tokolu, a to β-T3, α-T3, β-T a α-T. Majoritními formami byly β-T3 a α-T s obsahy v rozmezí 6,1 – 15,0 mg.kg⁻¹ resp. 7,5 – 10,5 mg.kg⁻¹. Minoritní α-T3 a β-T měly naměřené hodnoty v rozmezí 1,2 – 7,3 mg.kg⁻¹ a 1,9 – 4,4 mg.kg⁻¹.

Rozmezí celkového množství vitamínu E u vzorků se žlutým perikarpem ze sklizně 2015 se pohybovalo od 17,753 mg.kg⁻¹ (ozimá pšenice Citrus) do 32,458 mg.kg⁻¹ (jarní tritordeum HT 439). Opět byly kvantifikovány pouze čtyři formy tokolu, a to β-T3, α-T3, β-T a α-T. Majoritními formami byly β-T3 a α-T s obsahy v rozmezí 2,1 – 13,3 mg.kg⁻¹ resp. 7,5 – 11,9 mg.kg⁻¹. Minoritní α-T3 a β-T měly naměřené hodnoty v rozmezí 1,2 – 7,6 mg.kg⁻¹ a 1,8 – 4,2 mg.kg⁻¹.

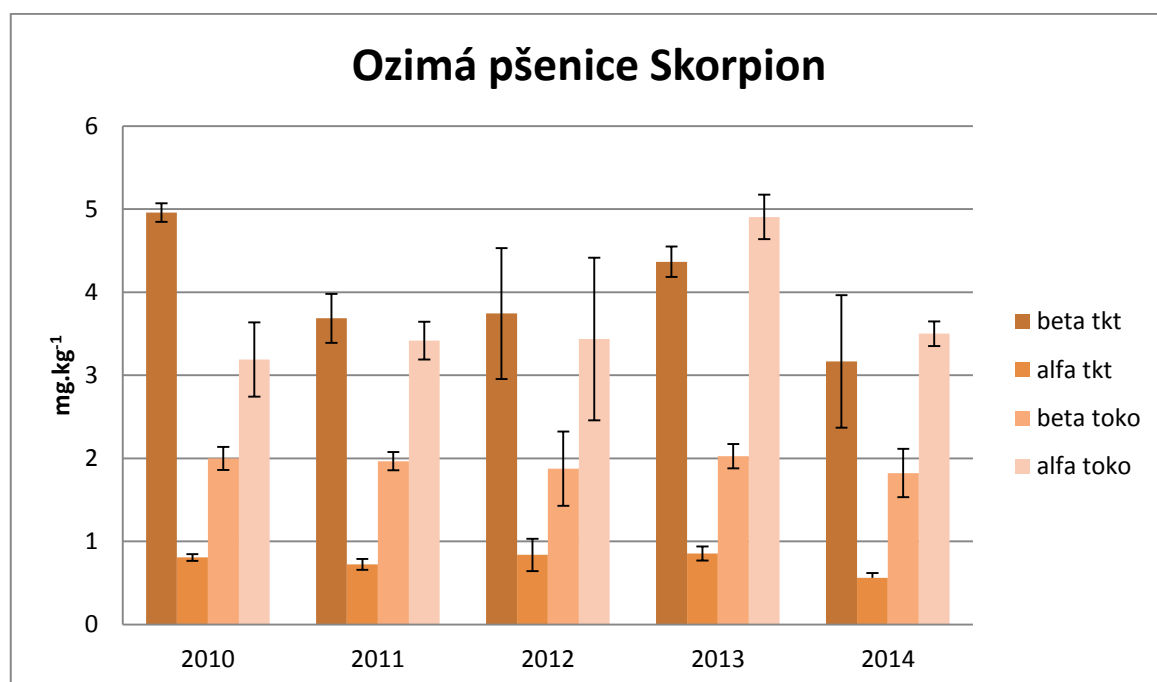
Z analýzy je zřejmé, že procentuální složení forem vitamínu E je u odrůd jarního tritordea odlišné, než u odrůd jarní a ozimé pšenice. Rozdíly se týkají množství α-T3 a β-T3, které má tritordeum až trojnásobně vyšší.

5.4. Vliv doby skladování na množství vitamínu E v zrně

Vliv doby skladování byl testován na vzorcích ozimé pšenice Skorpion (2010-2014) a na vzorcích jarní pšenice ANK 28-B (2011-2014).

5.4.1. Ozimá pšenice Skorpion

Obr. 31: Množství jednotlivých tokolů u ozimé pšenice Skorpion z let 2010 - 2014



Tab. 19: Hodnoty jednotlivých forem vitamínu E u vzorků ozimé pšenice Skorpion 2010-2014 (MD viz Tab. 10)

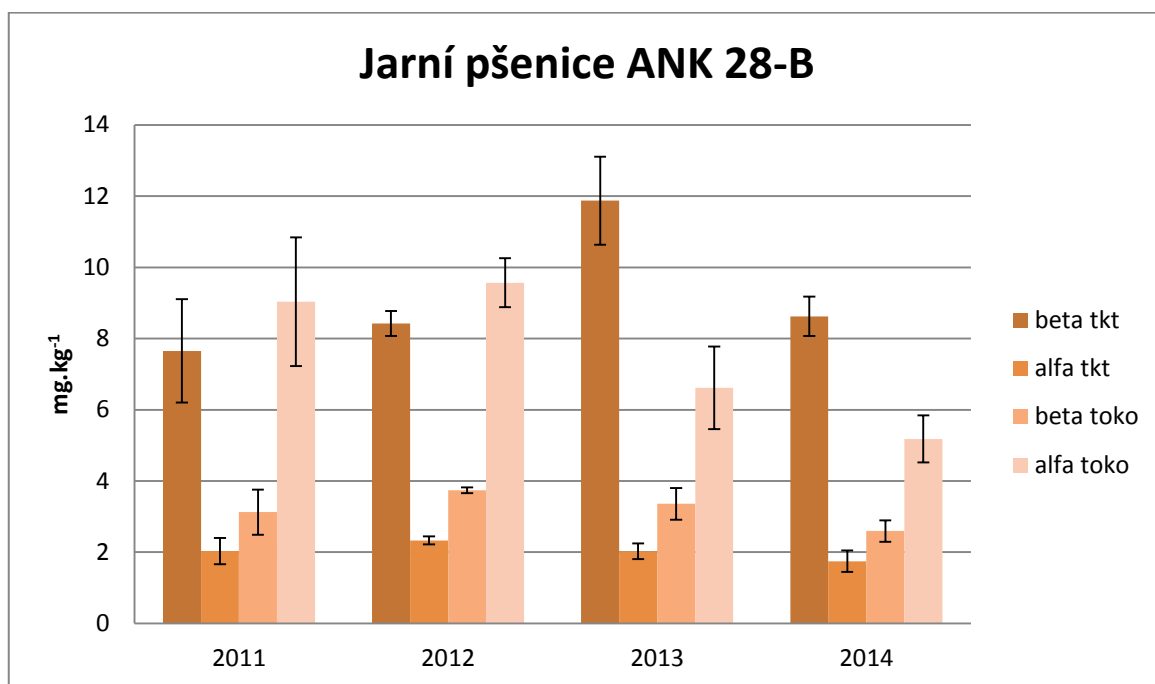
Rok	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
	[mg.kg ⁻¹]								
2010	<MD	<MD	4,958	0,807	<MD	<MD	2,000	3,189	10,954±0,71
2011	<MD	<MD	3,686	0,724	<MD	<MD	1,966	3,416	9,791±0,66
2012	<MD	<MD	3,743	0,838	<MD	<MD	1,876	3,436	9,893±2,40
2013	<MD	<MD	4,366	0,854	<MD	<MD	2,027	4,906	12,154±0,57
2014	<MD	<MD	3,167	0,563	<MD	<MD	1,824	3,500	9,054±1,21

Vzorky analyzované ozimé pšenice Skorpion pocházely z let 2010 až 2014. Celkový obsah vitamínu E se pohyboval v rozmezí od 9,054 mg.kg⁻¹ (2014) do 12,154 mg.kg⁻¹ (2013). Majoritními tokoly byly β -T3 a α -T. Jejich hodnota se nacházela v rozmezí od 3,2 mg.kg⁻¹ do 5,0 mg.kg⁻¹ resp. od 3,2 mg.kg⁻¹ do 4,9 mg.kg⁻¹. Minoritními formami byly α -T3 a β -T, jejichž hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 0,6 mg.kg⁻¹ do 0,9 mg.kg⁻¹ resp. od 1,8 mg.kg⁻¹ do 2,0 mg.kg⁻¹. Z grafu je patrné, že množství β -T3 bylo u starších vzorků (2010 – 2012) vyšší než u vzorků mladších. Naopak u mladších vzorků (2013 – 2014) převyšovalo množství α -T nad β -T3.

U ozimé pšenice Skorpion nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi obsahy jednotlivých tokolů ani v celkovém obsahu vitamínu E během skladování.

5.4.2. Jarní pšenice ANK 28-B

Obr. 32: Množství jednotlivých tokolů u jarní pšenice ANK 28-B z let 2011 - 2014



Tab. 20: Hodnoty jednotlivých forem vitamínu E u vzorků jarní pšenice ANK 28-B 2011-2014 (MD viz Tab. 10)

Rok	δ -T3	γ -T3	β -T3	α -T3	δ -T	γ -T	β -T	α -T	Σ
	[mg.kg ⁻¹]								
2011	<MD	<MD	7,651	2,032	<MD	<MD	3,126	9,035	21,845±4,18
2012	<MD	<MD	8,422	2,329	<MD	<MD	3,738	9,565	24,054±0,94
2013	<MD	<MD	11,873	2,025	<MD	<MD	3,359	6,615	23,871±2,00
2014	<MD	<MD	8,625	1,747	<MD	<MD	2,594	5,181	18,146±1,72

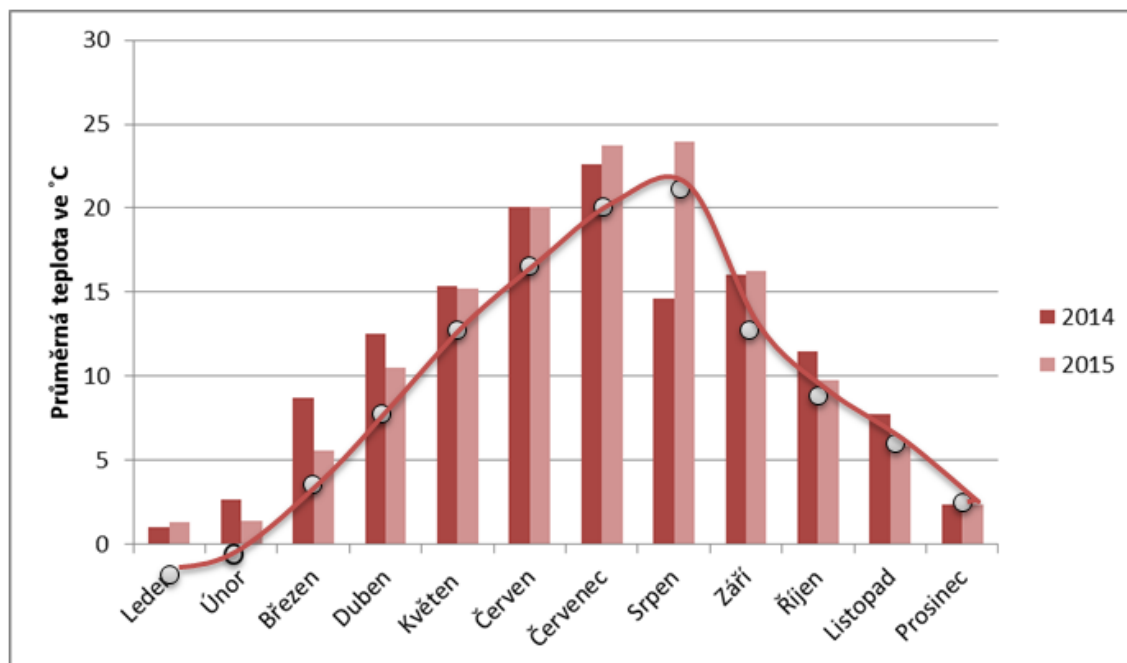
Vzorky analyzované jarní pšenice ANK 28-B pocházely z let 2011 až 2014. Celkový obsah vitamínu E se pohyboval v rozmezí od 18,146 mg.kg⁻¹ (2014) do 24,054 mg.kg⁻¹ (2012). Majoritními tokoly byly β -T3 a α -T. Jejich hodnota se nacházela v rozmezí od 7,7 mg.kg⁻¹ do 11,9 mg.kg⁻¹ resp. od 5,2 mg.kg⁻¹

do $9,6 \text{ mg.kg}^{-1}$. Minoritními formami byly α -T3 a β -T, jejichž hodnoty se pohybovaly v rozmezí od $1,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ do $2,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ a od $2,6 \text{ mg.kg}^{-1}$ do $3,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ resp. Z grafu je zřejmé, že hodnoty α -T převyšovaly u starších vzorků (2011 – 2012) a hodnoty β -T3 převyšovaly u mladších vzorků (2013 – 2014).

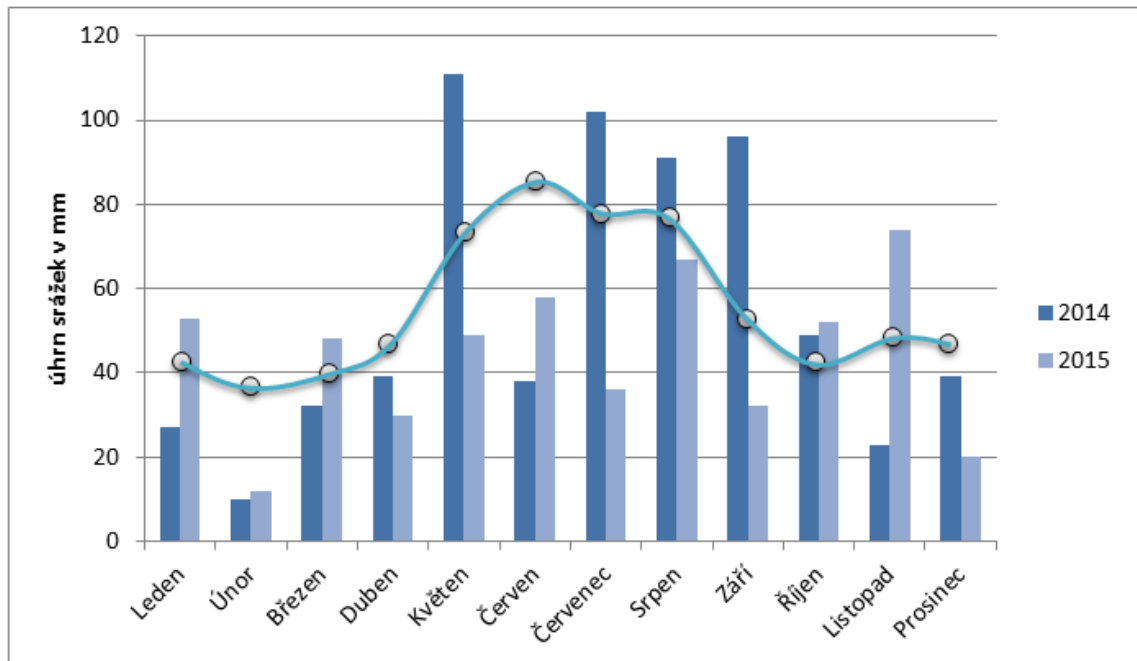
Rovněž u jarní pšenice ANK 28-B nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi obsahy jednotlivých tokolů ani v celkovém obsahu vitamínu E během skladování.

5.5. Vliv počasí

Obr. 33: Průměrná teplota v letech 2014 a 2015 (Český hydrometeorologický ústav, 2016)



Obr. 34: Průměrné množství srážek v letech 2014 a 2015 (Český hydrometeorologický ústav, 2016)



Z grafů je zřejmé, že oba sledované roky 2014 i 2015 byly teplotně nadprůměrné. Srážky kolísaly nad i pod průměrným úhrnem, přesto byl rok 2014 deštivější.

6. DISKUZE

Bylo analyzováno 24 vzorků ozimé a jarní pšenice, jarního ječmene a jarního tritordea ze sklizně v roce 2014 a u 34 vzorků ze sklizně v roce 2015. Jednalo se o odrůdy s netradičním zbarvením zrna. Vlastní analýza proběhla na přístroji HPLC, pomocí kterého byla zjišťována přítomnost osmi forem vitamínu E – α -tokotrienol (α -T3), β -tokotrienol (β -T3), γ -tokotrienol (γ -T3), δ -tokotrienol (δ -T3), α -tokoferol (α -T), β -tokoferol (β -T), γ -tokoferol (γ -T) a δ -tokoferol (δ -T), tzv. vitamerů. Vitamery s obsahem nad mezí detekce byly kvantifikovány s využitím metody vnější kalibrace. Z hlediska zastoupení a obsahu jednotlivých vitamerů byly vzorky mezi sebou porovnány podle odrůdy, podle barvy zrna, a pokud se jednalo o vzorky téže odrůdy, tak i podle roku sklizně.

Celkové obsahy vitamínu E se v ozimé pšenice pohybovaly v rozmezí od 20,1 mg.kg⁻¹ do 32,7 mg.kg⁻¹ v roce 2014 a v rozmezí od 17,8 mg.kg⁻¹ do 32,2 mg.kg⁻¹ v roce 2015. V jarní pšenici byly naměřeny celkové obsahy vitamínu v rozmezí od 16,4 mg.kg⁻¹ do 36,1 mg.kg⁻¹ v roce 2014 a v rozmezí od 22,0 mg.kg⁻¹ do 43,7 mg.kg⁻¹ v roce 2015. Z výzkumu Hejtmánkové a kol. (2010) vyplývá, že celkový obsah vitamínu E v pšenici (jarní, jednozrnce a dvouzrnce) se pohybuje v rozmezí od 19,6 mg.kg⁻¹ do 31,4 mg.kg⁻¹. Dle Tiwaliho et al. (2009) je celkový obsah vitamínu E v pšenici tvrdé téměř 2x vyšší než uvádí Hejtmánková a kol. (2010) a pohybuje v rozmezí od 30 mg.kg⁻¹ do 60 mg.kg⁻¹. Obdobné obsahy jako Tiwali et al. (2009) udává Cavallero (2004). Tento autor ve svém výzkumu uvádí, že hodnoty celkového vitamínu E v pšenici obecně dosahují hodnot od 53 mg.kg⁻¹ do 61 mg.kg⁻¹. Nejvyšší obsahy uvádí Hildago (2006), podle tohoto autora se množství vitamínu E se v pšenici pohybuje od 39,8 mg.kg⁻¹ do 67,9 mg.kg⁻¹ (pšenice tvrdá) a od 53,2 mg.kg⁻¹ do 74,7 mg.kg⁻¹ (pšenice setá). Z provedených analýz vzorků pšenice vyplývá, že celkový obsah vitamínu E v odrůdách pšenice s barevným zrnem je řádově stejný jako ve vzorcích klasické pšenice, ale pohybuje se na dolní hornici zjištěných hodnot celkového vitamínu E v pšenici. Celkový obsah vitamínu E je však velmi podobný výsledkům Hejtmánkové a kol. (2010), tedy obsahům celkového vitamínu E v pšenicích, které byla pěstovány rovněž na území ČR a tedy v podobných klimatických podmínkách. Bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl v celkovém obsahu vitamínu E ($P_{(\alpha)} > 0,05$) mezi vzorky pšenice ozimé a jarní a rovněž neexistuje statisticky významný rozdíl mezi vzorky totožných odrůd ze sklizně 2014 a 2015.

Odrůdy pšenice ozimé a jarní nevykazují mezi sebou statisticky významné rozdíly ($P_{(\alpha)} > 0,05$).

Ve všech odrůdách ozimé a jarní pšenice byly stanoveny čtyři hlavní formy vitamínu E, a to α -tokotrienol (α -T3), β -tokotrienol (β -T3), α -tokoferol (α -T) a β -tokoferol (β -T). Dominantními formami byly β -T3 a α -T. Jejich celkový obsah činil 76 – 79 % z celkového obsahu vitamínu E. V ozimé pšenice se hodnoty obsahů β -T3 a α -T pohybovaly v rozmezí 7,5 – 13,2 mg.kg⁻¹ resp. 9,2 – 14,1 mg.kg⁻¹ u sklizně 2014 a v rozmezí 5,0 – 13,5 mg.kg⁻¹ resp. 6,9 – 12,9 mg.kg⁻¹ u sklizně 2015. Ve vzorcích jarní pšenice se hodnoty β -T3 a α -T pohybovaly v rozmezí 6,1 - 15,6 mg.kg⁻¹ ze sklizně v roce 2014 a v rozmezí 4,5 - 15,4 mg.kg⁻¹ ze sklizně v roce 2015. Dle Velíška (2002) by se mělo množství β -T3 pohybovat v rozsahu 19,0 – 33,0 mg.kg⁻¹ a množství α -T v rozsahu 9,7 – 14,0 mg.kg⁻¹, hodnotám stanoveným ve vzorcích pšenice s barevným zrnem odpovídá pouze obsah α -T. Velmi podobné hodnoty obsahů majoritních forem vitamínů v pšenici uvádí i Hosmanová (2007), a to obsah β -T3 - 27,6 mg.kg⁻¹ a obsah α -T - 10,0 mg.kg⁻¹. Vyšší hodnoty obsahu β -T3 v pšenici uvádí ve své práci také Cuvelier (2003). Podle tohoto autora je obsah β -T3 v pšenici dokonce 41,9 mg.kg⁻¹ a obsah α -T je 9,0 mg.kg⁻¹. Tiwari (2009) v rozporu s předchozími autory i výsledky této studie tvrdí, že α - a β - formy jsou majoritními a obsah tokotrienolů převyšuje obsah tokoferolů, to znamená, že α -T není podle Tiwariho (2009) na rozdíl od (α -T3) majoritní forma jednotlivých vitamínů. Minoritními formami tokolů byly v této studii zjištěny α -T3 a β -T. V ozimé pšenice se hodnoty α -T3 a β -T pohybovaly v rozmezí 0,9 – 2,3 mg.kg⁻¹, resp. 3,2 – 4,2 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2014 a v rozmezí 1,2 – 2,8 mg.kg⁻¹, resp. 2,1 – 4,6 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2015. V jarní pšenice se hodnoty obsahů α -T3 a β -T pohybovaly v rozmezí 1,2 – 2,8 mg.kg⁻¹, resp. 2,1 – 5,8 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2014 a v rozmezí 1,2 – 3,4 mg.kg⁻¹, resp. 4,2 – 6,2 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2015. Velmi podobné obsahy těchto minoritních tokolů udává rovněž Velíšek (2002), a to obsah α -T3 v rozsahu 2,4 – 5,0 mg.kg⁻¹ a obsah β -T 3,9 – 7,0 mg.kg⁻¹ a Hosmanová (2007), která uvádí hodnoty 6,0 mg.kg⁻¹ pro α -T3 a 4,4 pro β -T i zahraniční studie Hildaga (2006). Tento autor uvádí hodnoty 3,1 – 5,9 mg.kg⁻¹ pro α -T3 a 3,7 – 6,3 mg.kg⁻¹ pro β -T.

Stanovené hodnoty obsahů α -T3 a β -T ve vzorcích pšenic s netradičním zbarvením zrna byly tedy v rozmezí, která jsou uváděna v literatuře, avšak celkové množství tokolů nalezených v analyzovaných pšenicích s barevným zrnem je nižší než jejich množství

uváděné v odborné literatuře a člancích. Ve shodě s tvrzením Tiwaliho (2009) ve všech vzorcích byly jako majoritní vyhodnoceny α a β (β -T3 a α -T) formy vitamínu E, avšak tvrzení tohoto autora o dominanci tokotrienolů nad tokoferoly se nepotvrdilo. Převážná většina odrůd pšenice ozimé i jarní obsahuje větší množství tokoferolů než tokotrienolů. Hejtmánková a kol. (2010) uvádí, že v pšenici γ - a δ - formy vitamínu E zůstávají pod mezí detekce. Toto tvrzení je ve shodě s výsledky této studie, neboť v žádné z odrůd pšenice s barevným zrnem nebylo zjištěno množství těchto forem nad mezí detekce.

V jarním ječmeni se celkový obsah vitamínu E pohyboval v rozmezí od 28,4 mg.kg⁻¹ do 41,4 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2014 a v rozmezí od 21,0 mg.kg⁻¹ do 28,1 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2015. Benešová a kol. (2012) uvádí, že obsah vitamínu E se v jarním ječmeni nachází v rozmezí od 17,0 – 40,4 mg.kg⁻¹. Nielson (2008) uvádí vyšší celkový obsah vitamínu E, a to v rozsahu 40,0 – 50,8 mg.kg⁻¹. Dominantními formami v jarním ječmeni byly na rozdíl od jarní pšenice obě α formy, tedy α -T3 a α -T, jejich celkový obsah činil 88 – 90 % z celkového obsahu vitamínu E. V jarním ječmeni se hodnoty α -T3 a α -T pohybovaly v rozmezí 17,6 – 13,1 mg.kg⁻¹, resp. 9,5 – 10,5 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2014 a v rozmezí 10,6 – 13,8 mg.kg⁻¹, resp. 8,1 – 12,4 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2015. Hosmanová (2007) uvádí hodnoty obsahů α -T3 a α -T v jarním ječmeni 42,1 mg.kg⁻¹ a 8,2 mg.kg⁻¹. Zatímco obsah α -T3 udávaný Hosmanovou (2007) je ve srovnání s touto studií vyšší α -T je srovnatelný. Dle Benešové a kol. (2012) byly naopak stanoveny s touto studií srovnatelné hodnoty obsahů α -T3 i α -T v jarním ječmeni, a to v rozmezí 8,7 – 20,5 mg.kg⁻¹ a 2,9 – 7,2 mg.kg⁻¹ resp. Rovněž Cuvelier (2003) uvádí velmi podobné hodnoty obsahů, 19,5 mg.kg⁻¹ pro α -T3 a 9,0 mg.kg⁻¹ pro α -T. V jarním ječmeni bylo zjištěno více forem jednotlivých tokoferolů nad mezí detekce než v jarní pšenici. Dle Hosmanové (2007) se v ječmeni nachází všechny formy vitamínu E, kromě δ - formy, která je pod mezí detekce. V této studii však byly v některých vzorcích jarního ječmene ze sklizně v roce 2014 zjištěny obsahy δ - formy vitamínu E nad mezí detekce, a to v odrůdách AF Cesar a AF Lucius ze sklizně v roce 2014. Bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl ($P > 0,05$) mezi celkovými obsahy vitamínu E ve shodných odrůdách ze sklizní v letech 2014 a 2015. Rovněž bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl ($P > 0,05$) mezi odrůdami jarního ječmene ze sklizní v letech 2014 a 2015.

Ve vzorcích jarního tritordea ze sklizně v letech 2014 a 2015 bylo stanoveno celkové množství vitamínu E v rozmezí od 26,450 mg.kg⁻¹ do 32,458 mg.kg⁻¹. Dominantními formami byly β -T3 a α -T, jejich celkový obsah činil až 80 % z celkového obsahu vitamínu E. Jejich hodnoty obsahů byly v rozmezí od 10,8 mg.kg⁻¹ do 14,9 mg.kg⁻¹ v případě β -T3 a v rozmezí od 7,5 mg.kg⁻¹ do 11,1 mg.kg⁻¹ v případě α -T. Množství α -T3 dosahovalo hodnot v rozmezí od 5,0 mg.kg⁻¹ do 7,6 mg.kg⁻¹ a množství β -T dosahovalo hodnot v rozmezí od 1,8 mg.kg⁻¹ do 2,8 mg.kg⁻¹. Lze říci, že se jarní tritordeum svým složením podobá pšenici. Jen má na rozdíl od pšenice vysoké podíly hodnot α -T3. Po statistické analýze ($P > 0,05$) bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl v obsahu vitamínu E mezi odrůdami jarního tritordea u sklizní z let 2014 a 2015.

Obiloviny s netradičním zbarvením zrna zahrnovaly obilky s modrým, purpurovým a žlutým zbarvením. Modré a purpurové zbarvení měly odrůdy ozimé a jarní pšenice, žluté zbarvení odrůdy tritordea i ozimé a jarní pšenice.

Zrna s modrým aleuronem obsahovaly pouze odrůdy ozimé a jarní pšenice. Rozmezí celkového množství vitamínu E se pohybovalo od 16,4 mg.kg⁻¹ do 34,7 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2014 a od 22,3 mg.kg⁻¹ do 43,7 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2015. Byly zjištěny velké rozdíly v hodnotách obsahu majoritních tokolů β -T3 a α -T, které se lišily až o 74 % (α -T 2014). Dále bylo zjištěno, že odrůdy jarních pšeníc s modrým aleuronem obsahují větší množství vitamínu E než odrůdy pšeníc ozimých, a to o až o 33 %. Zastoupení jednotlivých forem tokolů nebylo závislé na tom, zda se jedná o ozimou nebo jarní pšenici. Ve většině odrůd byl nejvíce zastoupeným vitamérem α -T, přesto bylo v několika odrůdách stanoveno vyšší množství vitaméru β -T3 než vitaméru α -T. Jednalo se například o jarní pšenici UC66049, jarní pšenici H 90-15-2 a ozimou pšenici RU 440 ze sklizně z roku 2014 a o jarní pšenici Purple Feed ze sklizně z roku 2015. Bylo prokázáno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi složením zrn pšenice ozimé a jarní s modrou barvou aleuronu.

Zrna s purpurovým perikarpem obsahovaly opět pouze odrůdy ozimé a jarní pšenice. Celkové množství vitamínu E se pohybovalo v rozmezí od 19,7 mg.kg⁻¹ do 36,1 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2014 a v rozmezí od 20,0 mg.kg⁻¹ do 35,0 mg.kg⁻¹ ve vzorcích ze sklizně v roce 2015. Obdobně jako v pšenici s modrou barvou aleuronu byly zjištěny velké rozdíly v obsazích majoritních tokolů β -T3 a α -T, které se lišily až o 69 % (α -T, 2014). Opětovně bylo rovněž zjištěno, že odrůdy jarní

pšenice obsahují vyšší množství celkového vitamínu E než odrůdy ozimé pšenice. A to až o 43 %. Zastoupení jednotlivých forem tokolů, stejně jako v zrnech s modrým aleuronem, nebylo závislé na tom, zda se jedná o ozimou nebo jarní pšenici. Ve většině odrůd byl nejvíce zastoupeným vitamérem opět α -T, opět však přesto zde bylo v několika odrůdách stanoveno vyšší množství vitaméru β -T3 ve srovnání s vitamérem α -T. Bylo prokázáno, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi složením zrn pšenice ozimé a jarní s purpurovou barvou aleuronu. Rovněž bylo prokázáno, že existuje statisticky významný rozdíl ve složení zrn jarního ječmene a ostatních obilovin bez ohledu na barvu zrna.

Zrna se žlutou barvou perikarpu se vyskytovaly v odrůdách jarního tritordea, jarní i ozimé pšenice. Odrůdy jarního tritordea vykazovaly mírně vyšší obsahy celkového vitamínu E ($26,5 - 32,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) oproti odrůdám pšenice ($17,8 - 22,0 \text{ mg.kg}^{-1}$). Zároveň i zastoupení jednotlivých forem vitamínu E bylo odlišné, odrůdy tritordea obsahovaly větší množství β -T3, kdežto odrůdy pšenice až na výjimky obsahovaly větší množství α -T. Bylo prokázáno, že existuje statisticky významný rozdíl ($P_{(\alpha)} > 0,05$) mezi složením zrn jarního tritordea a ozimé a jarní pšenice se žlutou barvou perikarpu. Rovněž bylo prokázáno, že existuje statisticky významný rozdíl ve složení zrn jarního ječmene a ostatních obilovin bez ohledu na barvu zrna.

Prozatím nebyly publikovány jiné vědecké studie za účelem analýzy vitamínu E a jeho dílčích složek v zrnech s netradičním zbarvením.

Za účelem sledování vlivu dlouhodobého skladování byly vybrány 2 odrůdy: ozimá pšenice Skorpion ze sklizní v letech 2010 – 2014 a jarní pšenice ANK 28-B ze sklizní v letech 2011 – 2014. V ozimé pšenice Skorpion bylo, v 5 vzorcích lišících se dobou skladování vždy o jeden rok, stanoveno celkové množství vitamínu E v rozmezí od $9,1$ do $12,2 \text{ mg.kg}^{-1}$. Při analýze dílčích forem vitamínu E bylo zjištěno, že množství β -T3 je ve starších vzorcích (sklizeň v letech 2010 – 2012) vyšší než ve vzorcích skladovaných kratší dobu. Naopak ve vzorcích sklizených později, a to v letech 2013 – 2014 převyšuje množství vitaméru α -T nad vitamérem β -T3. V jarní pšenici ANK 28-B bylo ve 4 vzorcích lišících se dobou skladování vždy o jeden rok stanoveno celkové množství vitamínu E v rozmezí od $18,1$ do $24,1 \text{ mg.kg}^{-1}$. Při analýze dílčích forem vitamínu E bylo naopak zjištěno, že hodnoty obsahů vitaméru α -T v déle skladovaných vzorcích (sklizeň v letech 2011 – 2012) jsou vyšší než obsahy vitaméru β -T3 a hodnoty obsahu β -T3 převyšují obsah vitaméru α -T ve vzorcích skladovaných

kratší dobu (sklizeň v letech 2013 – 2014). Lze říci, že dlouhodobé skladování nemá vliv na celkové množství vitamínu E v zrně, ale má vliv na jeho dílčí složení.

Celkové množství vitamínu E v obou sledovaných odrůdách je poměrně stálé a nevykazuje žádný zřetelný trend v závislosti na době skladování (obr. 31 a 32). Mírné kolísání celkového obsahu vitamínu E ve vzorcích z různých sklizní je pravděpodobně odrazem odlišných podmínek, za jakých byly obiloviny v jednotlivých letech pěstovány. Zdá se však, že během skladování dochází k vzájemné přeměně jednotlivých majoritních vitamínů.

Vzhledem k malým rozdílům v celkovém obsahu vitamínu E ve vzorcích sklizených v různých letech i malým rozdílům v rámci jednoho druhu obilovin pěstovaných na jedné lokalitě v ČR lze považovat celkový obsah vitamínu E za charakteristický pro daný druh obilovin. Rovněž celkový obsah vitamínu E v obilovinách pěstovaných v různých evropských nebo světových lokalitách se mění pouze v rámci jednoho řádu.

Zastoupení jednotlivých vitamínů se odrůdově liší a pravděpodobně se mění i v závislosti na době skladování nebo může být též odrazem změn v pořadí množství jednotlivých vitamínů, ke kterým v některých odrůdách dochází, pravděpodobně v důsledku rozdílných podmínek pěstování v jednotlivých letech. U všech odrůd jarní a ozimé pšenice a jarního tritordea byly obsahy dílčích tokolů v posloupnosti α -T > β -T3 > β -T > α -T3 nebo v posloupnosti β -T3 > α -T > β -T > α -T3. První zmíněná posloupnost byla nejčastější, avšak objevilo se několik vzorků, kde převažovalo množství obsahu β -T3 nad α -T. Jednalo se například o všechny odrůdy jarního tritordea, jarní pšenici Purple Feed a jarní pšenici Purple ze sklizní z let 2014 i 2015 nebo o odrůdy ozimé pšenice RU-440 a PS Karkulka ze sklizně z roku 2015 a o ozimou pšenici Blaukorn/Zappa ze sklizně z roku 2015.

Odlišné složení v rámci analyzovaných odrůd má jarní ječmen. Kromě vitamínů zastoupených i v dalších analyzovaných druzích obilovin, byly v množstvích nad mezí detekce stanoveny rovněž γ -T a γ -T3, a to u odrůd Nudimelanocrithon a AF Lucius ze sklizně z roku 2014 a u odrůd AF Cesar, Nudimelanocrithon a AF Lucius ze sklizně z roku 2015, dále byly stanoveny δ -T a δ -T3, a to pouze u odrůdy AF Cesar ze sklizně z roku 2014. Také celkový obsah vitamínu E byl v odrůdách jarního ječmene ve srovnání s ostatními analyzovanými obilninami vždy mírně vyšší.

7. ZÁVĚR

Obiloviny s netradičním zbarvením zrna zahrnovaly obilky s modrým, purpurovým a žlutým zbarvením. Zrna s modrým aleuronem a purpurovým perikarpem obsahovaly pouze odrůdy ozimé a jarní pšenice. Zrna se žlutou barvou perikarpu se vyskytovaly v odrůdách jarního tritordea, jarní i ozimé pšenice. Bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významný rozdíl v obsahu vitamínu E mezi odrůdami s barevnou obilkou v závislosti na barvě zrna.

Na základě stanovení celkového obsahu vitamínu E bylo zjištěno, že ve všech analyzovaných odrůdách obilovin s různou barvou zrna neexistuje statisticky významný rozdíl v hodnotách celkového množství vitamínu E.

Rozdíly mezi obsahem vitamínu E ve vzorcích stejných odrůd různých obilovin ze sklizně z roku 2014 a ze sklizně z roku 2015 byly statisticky nevýznamné.

Ve všech odrůdách pšenice byly kvantifikovány čtyři vitamery, a to α -tokoferol, β -tokoferol, α -tokotrienol a β -tokotrienol. Množství ostatních vitamerů bylo pod mezí detekce. Celkový obsah vitamínu E i obsahy jednotlivých vitamerů se shodovaly s údaji uvedenými v odborné literatuře pro odrůdy pšenice s klasickým zbarvením zrna.

Jarní ječmen obsahoval mírně vyšší průměrné množství celkového vitamínu E v porovnání s odrůdami jarní a ozimé pšenice. Jarní ječmen se rovněž od pšenice liší ve složení jednotlivých vitamerů, nad mezí detekce byly přítomny také γ - a δ - formy. Celkový obsah vitamínu E i obsahy jednotlivých vitamerů se shodovaly s údaji uvedenými v odborné literatuře pro odrůdy ječmene s klasickým zbarvením zrna.

Celkové průměrné množství vitamínu E v odrůdách jarního tritordea bylo rovněž mírně vyšší než v odrůdách ozimé a jarní pšenice. Průměrné množství vitamínu E v jarním ječmeni je mírně vyšší v porovnání s odrůdami jarní a ozimé pšenice. Při porovnání dílčích forem vitamerů vykazovalo jarní tritordeum vyšší obsahy α -T3 než vzorky odrůd pšenice.

Z hlediska dlouhodobého skladování je zřejmé, že celkové množství vitamínu E v obou sledovaných odrůdách je poměrně stálé a nevykazuje žádný zřetelný trend v závislosti na době skladování. Mírné kolísání celkového obsahu vitamínu E ve vzorcích z různých sklizní je pravděpodobně odrazem odlišných podmínek, za jakých byly obiloviny v jednotlivých letech pěstovány.

8. ZDROJE

Alvarez, J.B., Martin, L.M., Martin, A. 1998. Chromosomal localization of genes for carotenoid pigments using addition lines of chilense in wheat. *Plant Breeding*. 117. 287-289.

Atienza, S. G., Ballesteros, J., Martín A., Hornero-Méndez, D. 2007. Genetic variability of carotenoid concentration and degree of esterification among tritordeum durum wheat accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (10). 4244-4251.

Benešová, K., Pluháčková, H., Běláková, S., Vaculová, K., Mikulíková, R., Ehrenbergová, J., Březinová, N. 2011. Využití moderní separační techniky UPLC ke stanovení vitamínu E v zrně ječmene. *Chemické listy* 106, 672-676.

Beránková, J. 2008. Vliv přísady tritordea na kvalitu těstovin. *Obilnářské listy*. 16 (4), 109-114.

Bezpečnost potravin [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2016 [cit. 2016-03-05]. <Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76563.aspx>>.

Biesiekierski, J. R. a J. Iven. 2015. Non-coeliac gluten sensitivity: piecing the puzzle together. *United European Gastroenterology Journal* [online]. 3(2), 160-165 [cit. 2016-03-18]. Dostupné z: <<http://ueg.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/2050640615578388>>.

Bjorck, I. 2006. Effects of GI and content of indigestible carbohydrates of cereal-based evening meals on glucose tolerance at a subsequent standardised breakfast. *European Journal of Clinical Nutrition* [online]. 1092–1099 [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: <<http://www.nature.com/ejcn/journal/v60/n9/full/1602423a.html>>.

Cavallero, A. 2004. Tocols in hull-less and hull barely genotypes grown in contrasting environments. *Journal of Cereal Science*. 48. 243-257.

De Leenheer, André P. 2000. Modern Chromatographic Analysis of Vitamins. Third Edition. New York: Marcel Dekker Inc. 616 p. ISBN 0-8247-0316-2.

Douša, M. Vitamin E [online]. 2004 [cit. 2016-03-03]. Dostupný z WWW: <http://hplc1.sweb.cz/Vitamin/ch_vitaminE.htm>.

Douša, M. 2002 Základy separačních metod se zaměřením na HPLC. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. 129 s. ISBN 80-86548-09-0.

Dvořák, Josef. 2002. Skladování a ošetřování zrnin. Praha: Výzkumný ústav zemědělské techniky. 43 s. ISBN 80-238-9953-8.

E307 Alpha-tocopherol. Food Info [online]. Wageningen University, 2014 [cit. 2016-03-06]. <Dostupné z: <http://www.food-info.net/uk/e/e307.htm>>.

Hejtmánková, K., Lachman, J., Hejtmánková, A., Pivec, V., Janovská, D. 2010. Tocols of selected spring wheat (*Triticum aestivum* L.), einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.), and wild emmer (*Triticum dicoccum* Schuebl [Schrank]) varieties. Food Chemistry. 123. 1267-1274.

Hildago, A. 2006. Carotenoids and tocopherols of Einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *Monococcum* L.). Journal of Cereal Science. 44. 182-194.

Hosmanová, R., Douša, M. 2007. HPLC stanovení obsahu vitamínu E v krmných surovinách a potravinách. Chemické listy. 101. 578-583.

Helán, V. a kol. 2005. Analýza organických látek. Český Těšín: 2 THETA. 348 s. ISBN 80-90902432-9-0

Churáček, J. 1986. Analytická separace látek. Praha: SNTL. 384 s. ISBN 80-03-00569-8

Isaac, M., Quinn, R., Tabet N. 1996. Vitamin E for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. The Cochrane Database of Systematic Reviews [online]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 1996 [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: <<http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD002854>>.

Karlíček, R. a kol. 2001. Analytická chemie pro farmaceuty. Praha: Karolinum. 242 s. ISBN 978-80-246-1453-3

Klouda, P. 2003. Moderní analytické metody. Ostrava. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

Kohout, P. 2008. Novinky v bezlepkové dietě. Interní medicína [online]. vol. 3, s. 113-116, [cit. 2016-03-05]. dostupné také z <<http://www.solen.cz/pdfs/int/2008/03/03.pdf>>.

Kučerová, J. 2004. Technologie cereálií. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 141 s. ISBN 80-715-7811-8.

Ludvigsson, J. F., D. A. Leffler, J. C. Bai, et al. 2012. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* [online]. **62**(1), 43-52 [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: <<http://gut.bmj.com/cgi/doi/10.1136/gutjnl-2011-301346>>.

Lundin, Knut E. A. et Cisca Wijmenga. 2015. Coeliac disease and autoimmune disease—genetic overlap and screening. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **12**(2015), 507–515.

Martinek, P., Vyhnátek T., 2014. Barevné zrno pšenice jako zdroj antioxidantů. *Úroda*, č. 7, s. 68-70.

Molina-Infante, J., Santolaria, S., Sanders, D. S., Fernández-Bañares, F. 2015. Systematic review: noncoeliac gluten sensitivity. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* [online]. **41**(9), 807-820 [cit. 2016-03-06]. Dostupné z: <<http://doi.wiley.com/10.1111/apt.13155>>.

Müllerová, D. 2003. Zdravá výživa a prevence civilizačních nemocí ve schématech: z pohledu jednotlivce i populačních skupin. Praha: Triton. 100 s. ISBN 80-725-4421-7.

Nielson, M. 2008. Rapid HPLC determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *Cereal Chemistry*. 85. 248-251.

Opekar, F. a kol. 2002. Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem. Praha: Karolinum. 201 s. ISBN 9788024617756

Pánek, J. 2002. Základy výživy. Praha: Svoboda Servis. 208 s. ISBN 80-86320-23-5.

Potravinářství [online]. *Zákony pro lidi*. 2016. [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: <<http://www.zakonyprolidi.cz/obor/1321033>>.

Příhoda, J. 2006. Cereální chemie a technologie I. Praha: VŠCHT Praha. 200 s. ISBN 80-7080-530-7.

Pšenice ozimá. [online]. SELGEN, a.s. 2016. [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: <<http://selgen.cz/agrotechnicka-doporuceni-2/psenice-ozima/>>.

Shewry, P. 2009. Wheat. In: *Journal of Experimental Botany* [online]. Hertfordshire, 2009 [cit. 2016-03-05]. Dostupné z: <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/60/6/1537>>.

Silbernagl, S. a A. Despopulos. 2004. Atlas fyziologie člověka. 6. vyd. Praha: Grada, 448 s. ISBN 80-247-0630-X.

Sklenář, Z. a K. Horáčková. 2011. Nové léčivé látky v magistraliter receptuře VII – tokoferol-alfa-acetát. *Praktické lékařství*. 2011, 7(1), 30-33.

Svačina, Š. a kol. 2008. Klinická dietologie. Praha: Grada Publishing, 384 s. ISBN 978-80-247-2256-6.

Tiwali et al. 2009. Nutritional importance and effects of processing on tocopherols in cereals. Food Science and Technology. 20. 511-520.

Tritordeum: The new natural cereal [online]. Barcelona, 2015 [cit. 2016-03-05]. <Dostupné z: <http://tritordeum.com/web/>>.

Trojan, V. 2014. Vyhledávání a charakteristika genů zodpovědných za purpurové zbarvení obilky pšenice seté (*Triticum aestivum* L.). Disertační práce. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta. Brno. 100 s.

Vaculová K., Jirsa O., Martinek P., Balounová M., 2010. Hodnocení kvality zrna vybraných vzorků netradiční pšenice a bezpluchého ječmene. Obilnářské listy, 18. ročník, č. 3, s. 71-77.

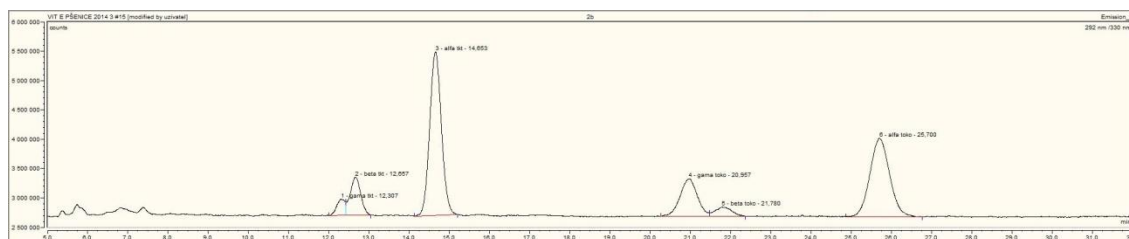
Velíšek, J. 2002. Chemie potravin 2. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 331 s. ISBN 80-866-5900-3.

Vitamin E: Physical and Chemical Properties. Mineravita [online]. Field Life, 2015 [cit. 2016-03-19]. Dostupné z: <http://www.mineravita.com/en/vitamin_e_tocopherol_properties.html>.

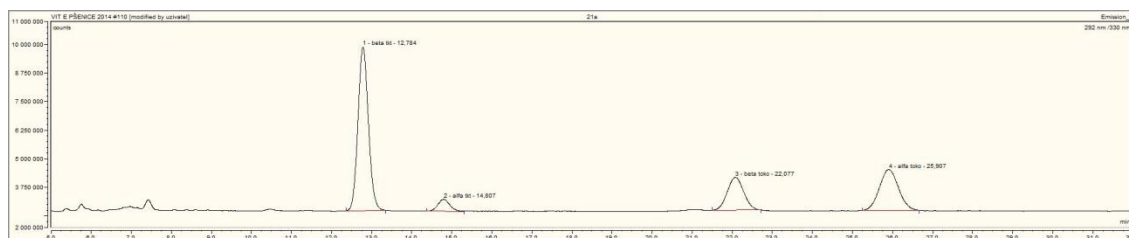
Český hydrometeorologický ústav [online]. Praha, 2016 [cit. 2016-03-09]. Dostupné z: <<http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/zakladni-informace>>.

9. SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY

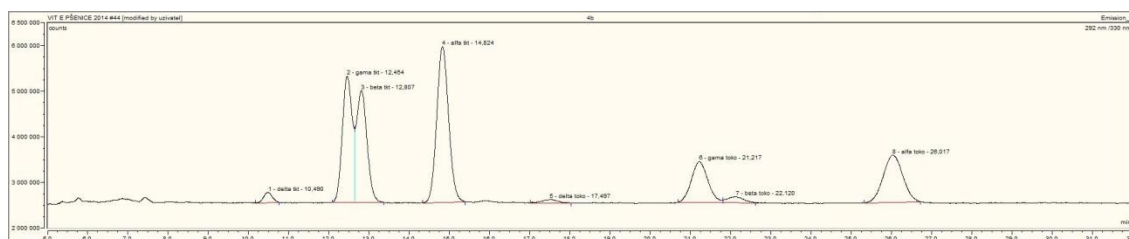
9.1. Ukázkové příklady chromatogramů



Vzorek 1: Jarní ječmen Nudimelanocrithon ze sklizně z roku 2014



Vzorek 2: Ozimá pšenice RU-440-6/UC66049/3 ze sklizně z roku 2014



Vzorek 3: Jarní ječmen AF Lucius ze sklizně z roku 2014