

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Vliv dlouhodobého skladování na obsah vitamínu E v suchých skořápkových plodech

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Kateřina Kratochvílová

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

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv dlouhodobého skladování na obsah vitamínu E v suchých skořápkových plodech" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce paní doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, CSc. za odborné vedení, trpělivost, ochotu, cenné rady a čas věnovaný konzultaci práce. Mé poděkování patří též panu Ing. Marku Popovovi za vstřícnost a pomoc při práci v laboratoři.

Vliv dlouhodobého skladování na obsah vitamínu E v suchých skořápkových plodech

Souhrn

Vitamin E je významný antioxidant chránící buněčné membrány před poškozením volnými radikály a je spojován s mnoha příznivými účinky na lidské zdraví. Významným zdrojem tohoto v tuku rozpustného vitamínu jsou suché skořápkové plody, které jsou v domácnostech často dlouhodobě skladovány, a to může mít vliv na obsah vitamínu E.

Cílem práce bylo sledovat změny různých forem vitamínu E při dlouhodobém skladování vybraných druhů suchých skořápkových plodů skladovaných v odlišných podmínkách.

Pro analýzu byly vybrány mandle, lískové a vlašské ořechy, které patří mezi nejčastěji konzumované druhy suchých skořápkových plodů v ČR. Vyloupané ořechy byly skladovány v lednici, v mrazicím boxu nebo za pokojové teploty, kde byly ořechy skladovány také ve skořápce. V průběhu skladování byl ve vzorcích několikrát měřen obsah jednotlivých tokolů a po 503 dnech (lískové a vlašské ořechy) a 575 dnech (mandle) skladování bylo provedeno statistické vyhodnocení. Jednotlivé formy vitamínu E byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s fluorescenčním detektorem.

Během skladování došlo k degradaci vitamínu E ve skořápkových plodech. Přestože obsahy tokoferolů v průběhu skladování při některých průběžných měřeních vykazovaly vyšší hodnoty než v předchozích měřeních, celkový trend byl klesající.

V mandlích a vlašských ořeších byl pozorován statisticky významný rozdíl mezi obsahem většiny tokolů ve vzorcích skladovaných za různých podmínek, ale v lískových ořeších byl rozdíl na hranici statistické významnosti. Nejméně vhodným způsobem skladování pro stabilitu vitamínu E se zdá být uchovávání loupaných ořechů v pokojové teplotě. Jako nejvhodnější způsob skladování mandlí se pro stabilitu γ -tokoferolu zdá být skladování v lednici a pro stabilitu α -tokoferolu skladování v lednici nebo mrazicím boxu. Pro stabilitu γ -tokoferolu ve vlašských ořeších vyšlo nejlépe skladování v mrazicím boxu nebo ve skořápce za pokojové teploty. Stabilita jednotlivých tokoferolů se v různých druzích skořápkových plodů lišila. Skořápkové plody zůstaly významným zdrojem vitamínu E i po více než ročním skladování.

Klíčová slova: ořechy, tokoferoly, tokotrienoly, skladování, HPLC

Effect of long-term storage on the content of vitamin E in nuts

Summary

Vitamin E is an important antioxidant which protects the cell membranes from free radical damage and is associated with many beneficial effects on human health. An important source of this fat-soluble vitamin are nuts, which are often stored for a long time and it can affect the content of vitamin E.

The aim of this thesis was to determine the changes in different forms of vitamin E content during long-term storage of select kinds of nuts stored under various conditions.

Almonds, hazelnuts and walnuts were selected for the analysis, because they are the most commonly consumed nuts in the Czech Republic. The shelled nuts were stored under different conditions: in the fridge, in the freezer or at ambient temperature, where the nuts were stored also in the shell. The content of the individual forms of vitamin E in samples were repeatedly measured during storage, and the statistical analysis was performed after 503 days (hazelnuts and walnuts) and 575 days (almond) of storage. The individual forms of vitamin E were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with a fluorescence detector.

During storage, degradation of vitamin E had occurred in nuts. Although the tocopherol content showed higher values in some subsequent measurements than in previous measurements during storage, the overall trend was decreasing. There was a statistically significant difference among most of tocopherol values in samples of almonds and walnuts stored under various conditions, but the difference in the hazelnuts was on the border of significance. Overall, the least suitable method of nut storage for maintaining the stability of vitamin E seemed to be in shelled form at ambient temperature. The most suitable storage method of almonds for the stability of γ -tocopherol appeared to be in the fridge and in the fridge or freezer for α -tocopherol stability. The best storage method for stability of γ -tocopherol in walnuts seemed to be in the freezer or in the shell at ambient temperature. The stability of individual tocopherols in different kinds of nuts varied. After more than one year of storage, nuts remain an important source of vitamin E.

Keywords: nuts, tocopherols, tocotrienols, storage, HPLC

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecké hypotézy a cíl práce	9
3	Literární rešerše.....	10
3.1	Suché skořápkové plody	10
3.1.1	Legislativní zařazení	10
3.1.2	Nutriční složení a význam ve výživě člověka	12
3.1.3	Skladování suchých skořápkových plodů.....	17
3.1.4	Charakteristika vybraných druhů suchých skořápkových plodů	25
3.1.4.1	Vlašský ořech.....	25
3.1.4.1.1	Odrůdy a rozšíření	25
3.1.4.1.2	Komerční význam.....	26
3.1.4.1.3	Nutriční složení a zdravotní účinky	26
3.1.4.2	Lískový ořech	28
3.1.4.2.1	Odrůdy a rozšíření	28
3.1.4.2.2	Komerční význam.....	29
3.1.4.2.3	Nutriční složení a zdravotní účinky	29
3.1.4.3	Mandle	31
3.1.4.3.1	Odrůdy a rozšíření	31
3.1.4.3.2	Komerční význam.....	31
3.1.4.3.3	Nutriční složení a zdravotní účinky	32
3.2	Vitamin E.....	33
3.2.1	Chemická struktura	34
3.2.2	Fyzikálně-chemické vlastnosti.....	35
3.2.3	Biosyntéza a transport.....	36
3.2.4	Účinky na lidské zdraví	37
3.2.5	Přírodní zdroje	47
3.2.6	Vliv zpracování na obsah vitamínu E	48
3.2.7	Vitamin E jako antioxidant v tucích	49
3.2.8	Stanovení tokoferolů a tokotrienolů v potravinách.....	49
4	Materiál a metody	52

4.1	Materiál a přístroje.....	52
4.1.1	Vzorky ořechů.....	52
4.1.2	Použité chemikálie.....	52
4.1.3	Použité přístroje a pomůcky	53
4.2	Metodika.....	53
4.2.1	Příprava vzorku k analýze.....	53
4.2.2	Extrakce a přečištění.....	53
4.2.3	Vlastní analýza vitamínu E metodou HPLC.....	54
4.3	Časový průběh analýzy vzorků ořechů.....	54
4.4	Statistické vyhodnocení	55
5	Výsledky.....	56
5.1	Obsah jednotlivých tokoferolů.....	56
5.2	Stabilita vitamínu E v suchých skořápkových plodech	58
5.2.1	Vlašský ořech.....	58
5.2.2	Lískový ořech	61
5.2.3	Mandle	65
6	Diskuze.....	69
7	Závěr	76
8	Seznam literatury.....	77
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	94
10	Přílohy.....	95

1 Úvod

Vitamin E hraje důležitou roli ve výživě člověka. Jedná se o vitamín rozpustný v tucích, který vyniká svými antioxidačními vlastnostmi. Má schopnost chránit buněčné membrány před oxidačním poškozením a je důležitý pro funkce imunitního systému. Je také sledován pro možné protiaterosklerotické, protinádorové a další účinky.

Mezi významné zdroje vitamínu E patří suché skořápkové plody. Na českém trhu jsou to především vlašské ořechy, lískové ořechy a mandle. Ořechy patří mezi výživově velmi hodnotné potraviny, které obsahují zdraví prospěšné nenasycené mastné kyseliny, bílkoviny, vitaminy rozpustné v tucích i ve vodě a také minerální a stopové prvky. Díky tomuto složení jsou suché skořápkové plody spojovány s příznivým účinkem na lidské zdraví.

Suché skořápkové plody jsou k dostání ve skořápce nebo již vyloupané a lidé je mají ve své domácnosti uskladněné často i měsíce. Dlouhodobé skladování suchých skořápkových plodů může mít vliv na pokles jednotlivých forem tokoferolů a tokotrienolů. Stabilitu vitamínu E mohou ovlivnit faktory, jako je teplota, kyslík, vlhkost, světlo nebo pH prostředí. Aby byl úbytek vitamínu v suchých skořápkových plodech co nejmenší, měly by být skladovány za co nejoptimálnějších podmínek. V běžné domácnosti může člověk volit mezi skladováním ořechů v pokojové teplotě, v lednici nebo v mrazáku, a to buď v loupané, nebo neloupané formě. Obecně je známo, že je vhodné ořechy skladovat v suchu, chladnu a temnu. V důsledku nevhodného skladování může dojít také ke žluknutí nebo plesnivění ořechů. Závažným rizikem při rozvoji plísně jsou mykotoxiny, které mohou poškozovat orgány a způsobovat zdravotní obtíže. Z těchto důvodů by se správné skladování suchých skořápkových plodů nemělo podceňovat.

2 Vědecké hypotézy a cíl práce

Vědecké hypotézy:

- Obsahy tokolů během skladování suchých skořápkových plodů klesají.
- Změny v obsahu jednotlivých tokolů v suchých skořápkových plodech závisí na způsobu skladování.
- Různé tokoly vykazují jinou míru stability.

Cíl práce:

Cílem práce je sledování změn různých forem vitamínu E při dlouhodobém skladování vybraných druhů suchých skořápkových plodů skladovaných v odlišných podmínkách.

3 Literární rešerše

3.1 Suché skořápkové plody

3.1.1 Legislativní zařazení

Stanovením požadavků pro suché skořápkové plody se zabývá vyhláška č. 157/2003 Sb., která byla později novelizována vyhláškou č. 291/2010. Skořápkovými plody jsou myšleny plody nebo jejich semena v surovém stavu nebo upražené či solené. Vyhláška se zabývá členěním, označováním a požadavky na jakost suchých skořápkových plodů. Charakteristika a členění skořápkových plodů na skupiny a podskupiny jsou uvedeny v tabulce 1. Smyslové požadavky na jakost jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 1: Charakteristika ořechů a členění

Druh	Skupina	Charakteristika	Podskupina
skořápkové plody	vlašské ořechy	jádra plodů ořešáku vlašského a jeho odrůd	jádra
	lískové ořechy	jádra suchých plodů lísky	jádra
	mandle	jádra suchých plodů mandloně obecné	jádra
	kešu ořechy	semena plodů ledvinovníku západního	jádra
	arašídý nebo burské oříšky	plody odrůd podzemnice olejné	neloupané nepražené neloupané pražené loupané pražené loupané pražené solené
	para ořechy	semena juvie ztepilé	ve skořápce jádra
	kokosové ořechy	plody palmy kokosové	čerstvé ve skořápce kokos strouhaný
	piniové oříšky	semena borovice pinie	jádra

(Vyhláška č. 291/2010 Sb. a příloha č. 9 k vyhlášce č. 157/2003 Sb. novelizované vyhláškou č. 291/2010)

Tabulka 2 Smyslové požadavky na jakost ořechů

Skupina nebo podskupina	Vzhled	Barva	Chuť a vůně
vlašské ořechy	jádro dobře oddělené od skořápky, vyvinuté, zcela vyplňující skořápku	osemení žlutohnědé, jádro na lomu bílé až nažloutlé, pokryté světle hnědou až nahnědlou slupkou	ořechová, příjemně olejnatá, přirozeně natrpklá až mírně nahořklá
lískové ořechy	jádro vyvinuté celistvé, omezeně mechanicky poškozené	světle hnědá až tmavě hnědá, slupka hnědá až nažloutlá, jádro na lomu bílé s nažloutlým odstínem	oříšková, bez cizího pachu a chuti, sladce olejnatá
mandle	jádro špičaté, vejčité	žlutá až světle hnědá, na lomu bílá až krémová	typicky mandlová bez cizího pachu a chuti
kešu ořechy	jádra čistá, suchá, rohlíčkovitého nebo ledvinkovitého tvaru, celistvá	jádro na řezu krémové	jemně aromatická, nasládlá až slabě nahořklá
arašídy nebo burské oříšky	skořápka čistá, suchá, jádro bez osemení, matné až mastné na povrchu	jádro šedohnědé, na lomu bílé až mírně nažloutlé	nasládlá, výrazně tuková, bez hořké chuti
para ořechy	skořápka tvrdá, svraštělá	jádro šedohnědé, na lomu bílé až mírně nažloutlé	nasládlá, výrazně tuková, bez hořké chuti
kokos strouhaný	strouhaný, hrubě nebo jemně mletý	bílá až slabě smetanově nažloutlá	charakteristická pro výrobek, bez cizích pachutí

Tabulka 2 Pokračování

Skupina nebo podskupina	Vzhled	Barva	Chuť a vůně
kokosový	skořápka dřevnatě vláknitá, velmi tvrdá, s	skořápka hnědá	typicky
ořech čerstvý	třemi dobře patrnými „oky“ - klíčními	až tmavě	kokosová, mírně
ve skořápce	póry, ve zralosti se na vnitřní straně pecky tvoří měkké pletivo (endosperm), bez kokosové vody, po sklizení a usušení pletivo tvrdé, tloušťka 1-2 cm	hnědá, pletivo bílé barvy	nasládlá, jemná, bez cizích pachů a příchutí
piniové oříšky	jádra dobře vyvinutá, nepoškozená	jádro bílé až smetanové	typicky nasládlá

(Příloha č. 12 k vyhlášce č. 157/2003 Sb. novelizované vyhláškou č. 291/2010)

3.1.2 Nutriční složení a význam ve výživě člověka

Ořechy jsou považovány za jednu z nejstarších potravin konzumovanou lidmi. Byly a jsou důležité díky svým nutričním vlastnostem. Ořechy byly také v minulosti používány různými civilizacemi jako léčiva pro prevenci nebo léčbu některých chorob. Příkladem je jejich využití jako antithermikum, antialgikum, digestivum, afrodiziakum atd. (Salas-Salvado et al., 2011).

Pravé ořechy (mandle, lískové ořechy, kaštiny, kešu ořechy, para ořechy, makadamové ořechy, vlašské ořechy a pistácie) a jedlá semena (arašídý a baru mandle) jsou dobrým zdrojem tuků a bílkovin. Frakce lipidů jsou složeny především z olejové kyseliny (C18:1) a linolové (C18:2) mastné kyseliny. Významný je nízký poměr n-6 k n-3 mastným kyselinám v makadamových ořeších, vlašských ořeších, kaštanech a baru mandlích (Freitas et Naves, 2010). Tuk tvoří téměř 50 % hmotnosti ořechů a skládá se hlavně z nenasycených mastných kyselin.

Mononenasyčené mastné kyseliny (MUFA), především olejová kyselina, převládají v mandlích, kešu, lískových ořeších, makadamových ořeších, arašidech, pekanových ořeších a pistáciích. Para ořechy a piniové ořechy obsahují podobné proporce mononenasyčených a polynenasycených mastných kyselin (PUFA) a vlašské ořechy jsou bohaté na linolovou

kyselinu i α -linolenovou kyselinu, rostlinnou n-3 mastnou kyselinu (Ros et Mataix, 2006). Ořechy neobsahují cholesterol (Tosic et al., 2015).

Skořápkové plody jsou také dobrým zdrojem rostlinných bílkovin, obsahují malá množství určitých esenciálních aminokyselin (izoleucin, leucin, lysin, methionin, fenylalanin, threonin, tryptofan a valin) (Tosic et al., 2015). Profil aminokyselin splňuje požadavky školních dětí a ořechy také mají více aminokyselin obsahujících síru než luštěniny, jako jsou fazole (Freitas et Naves, 2010). Lysin bývá limitující aminokyselinou (Ruggeri et al., 1998).

Ořechy a jedlá semena jsou také dobrým zdrojem fytoosterolů, zejména β -sitosterolu, minerálních látek, jako je především vápník, železo, zinek, selen a draslík. Dále obsahují tokoferoly, zejména α -tokoferol a nerozpustnou vlákninu (Freitas et Naves, 2010). Ořechy obsahují také řadu vitaminů, jako jsou vitamin E, B1, B2, B3, B6 (Tosic et al., 2015). Nutriční složení mandlí, lískových a vlašských ořechů je uvedeno v tabulce 3.

Konzumace ořechů je spojována s lepším příjmem živin a kvalitní stravou. O'Neil et al. (2010) ve své studii ukázali, že oproti těm, co ořechy nekonzumovali, měli konzumenti ořechů významně vyšší příjem celkového tuku, MUFA, PUFA, vlákniny, vitaminů A, E, K, B6 a C, thiaminu, riboflavinu, kyseliny listové, vápníku, fosforu, hořčíku, železa, zinku a mědi. Kromě toho měli konzumenti nižší příjem sacharidů, alkoholu a sodíku.

Mnoho studií se zabývá vlivem pravidelné konzumace ořechů na snížení rizika kardiovaskulárního onemocnění. Ve tvrzení, že ořechy mají příznivý vliv v prevenci kardiovaskulárního onemocnění, se shoduje mnoho autorů (Bes-Rastrollo et al., 2007; Sabate et Wien, 2010; Alexiadou et Katsilambros, 2011; Ros, 2015; Hshieh et al., 2015). Tyto ochranné účinky jsou nejčastěji připisovány roli ořechů v metabolismu lipidů a lipoproteinů (Casas-Agustench et al., 2010). Pravidelná konzumace ořechů je spojována se snížením rizika kardiovaskulárních onemocnění o 30 % a incidentu mrtvice dokonce téměř o 50 % u strávníků s dietou obohacenou o denní porce ořechů (15 g vlašských ořechů; 7,5 g mandlí a 7,5 g lískových ořechů) (Fraser, 1999; Ros, 2015). Pravidelná konzumace ořechů může hrát roli také ve snižování rizika vzniku ischemické choroby dolních končetin (Heffron et al., 2015).

Sabate et Wien (2010) uvádějí, že příjem ořechů snížil hladinu celkového a LDL cholesterolu a také poměr LDL:HDL u zdravých jedinců nebo pacientů s mírnou hypercholesterolemií. Tento účinek je připisován vysokému poměru nenasycených mastných kyselin k nasyceným a obsahem kardioprotektivních živin, mezi které patří rostlinné

bílkoviny, vláknina, α -tokoferol, listová kyselina, hořčík, měď, fytoosteroly a další fytochemikálie.

Přestože mají ořechy vysoký obsah tuku a jsou energeticky bohaté, častá konzumace ořechů je spojována se snížením rizika zvyšování tělesné hmotnosti. Bes-Rastrollo et al. (2007) ve své studii uvádějí, že účastníci studie, kteří jedli ořechy dvakrát nebo vícekrát týdně, měli výrazně nižší riziko přírůstku hmotnosti než ti, kteří nikdy nebo téměř nikdy ořechy nejedli. Studie byla zaměřena na středomořskou populaci. Novozélandská studie Browna et al. (2015) ukázala, že konzumenti ořechů měli výrazně nižší hmotnost, index tělesné hmotnosti (BMI), obvod pasu a centrální obezitu než účastníci studie, kteří ořechy nekonzumovali. Ve shodě s ostatními studiemi provedenými v USA, Evropě a Íránu byli konzumenti ořechů štíhlejší se sníženou centrální adipózou a měli lepší výsledky celé řady biochemických ukazatelů, které společně mohou snížit riziko vzniku chronického onemocnění.

Konzumace ořechů byla spojena se snížením rizika celkové mortality (Guasch-Ferre et al., 2013; Rohrmann et Faeh, 2013; Gopinath et al., 2015; Hshieh et al., 2015). Guasch-Ferre et al. (2013) ve své studii uvádějí, že ve srovnání s nekonzumenty lidé konzumující více než 3 porce ořechů týdně měli o 39 % nižší riziko úmrtí. Byl také pozorován protektivní účinek proti kardiovaskulární úmrtnosti a úmrtností na rakovinu. Studie byla provedena na středomořské populaci s vysokým kardiovaskulárním rizikem. Podle Gopinatha et al. (2015) je konzumace ořechů nezávisle spojena se sníženým rizikem celkové mortality a úmrtnosti na cévní choroby zejména u žen. K podobnému závěru došli i Mayhew et al. (2016), kteří zjistili, že vyšší spotřeba ořechů je spojena s nižším rizikem mortality z jakékoliv příčiny, kardiovaskulární mortality, úmrtnosti na ischemickou chorobu srdeční a náhlou srdeční smrt.

Existují důkazy, že ořechy a jejich biologicky aktivní komponenty mohou pomoci při řízení diabetu. Unikátní mikro- a makroživinový profil ořechů může pomoci kontrolovat hladinu glukózy v krvi. Ořechy mají nízkou dostupnost sacharidů, příznivý profil mastných kyselin a vysoký obsah rostlinných proteinů, vlákniny a hořčíku. Akutní krmné studie naznačují, že konzumace samotných ořechů má minimální vliv na zvýšení postprandiální hladiny glukózy v krvi. Kromě toho, když jsou ořechy konzumovány s potravinami bohatými na sacharidy, dokáží otupit postprandiální glykemickou reakci karbohydrátového jídla (Kendall et al., 2010). Stále více důkazů naznačuje, že oxidační stres a zánět jsou spojeny s inzulinovou rezistencí. Bioaktivní komponenty ořechů mohou příznivě působit na zánět a snižují riziko vzniku inzulinové rezistence (Casas-Agustench et al., 2010).

Některé studie se zabývají možným protektivním vlivem ořechů v rozvoji rakoviny. Příkladem je výzkum Soriano-Hernandez et al. (2015), kteří zjistili, že vysoká spotřeba arašídů, vlašských ořechů nebo mandlí významně snižuje riziko rakoviny prsu 2 – 3 krát.

Ukhanova et al. (2014) ve své studii uvedli, že konzumace mandlí nebo pistácií se jeví být účinným prostředkem k úpravě složení střevní mikroflóry. Výraznější vliv na složení střevní mikroflóry měl příjem pistácií než mandlí a zahrnoval zvýšení počtu potenciálně prospěšných butyrát produkujících bakterií. Množství bifidobakterií, které jsou považovány za přínosné probiotické bakterie, ovlivněno nebylo.

Ořechy obsahují fytochemikálie, včetně karotenoidů, polyfenolů a tokoferolů, které mohou přispět k zdravotním přínosům spojeným s konzumací ořechů (Bolling et al., 2010). Dostupné důkazy naznačují, že tyto fytochemikálie jsou pro lidi biologicky dostupné. Fytochemikálie jsou spojovány s řadou bioaktivit, včetně antioxidační, protizánětlivé, anti-proliferační, antivirové, chemopreventivní a hypocholesterolemické aktivity potenciálně schopné ovlivnit vznik a průběh několika patogenních procesů (Bolling et al., 2011).

Díky svému jedinečnému složení a příznivým účinkům na zdraví je konzumace ořechů obecně doporučována. Někteří lidé však mohou být po konzumaci ořechů ohroženi na životě, protože ořechy patří mezi časté potravinové alergy. V četnosti výskytu alergie na ořechy se zdají být rozdíly mezi různými zeměmi z důvodu rozdílných stravovacích návyků a kulinárních postupů. V USA a ve Francii jsou jednou z nejčastějších příčin potravinové alergie arašídů, ale v jiných zemích se to zdá být méně časté. Zdá se, že v rozvoji alergie na arašídů hrají roli zejména genetické faktory. Zatímco většina ořechových alergenů jsou semenné zásobní proteiny, ostatní ořechové alergy jsou profiliny a s patogenezi související proteinové homology. Častá je přítomnost specifických IgE protilátek na několik ořechů. Alergické reakce na ořechy se zdají být zvláště závažné, někdy i život ohrožující, a byly dokumentovány fatální reakce po jejich požití. Alergici by se měli striktně vyhýbat potravinám obsahujícím alergen. Jako prevence alergie na arašídů se například doporučuje, aby matky nekonzumovaly arašídů během těhotenství a kojení a vyloučily potraviny, které obsahují arašídů z jídelníčku svého dítěte v prvních 3 letech života (Crespo et al., 2006).

Vliv konzumace ořechů na lidské zdraví je podrobněji probrán u jednotlivých druhů suchých skořápkových plodů (kap. 3.1.4).

Tabulka 3 Nutriční složení mandlí, lískových a vlašských ořechů

Živina	Jednotka	Hodnota na 100 g		
		Vlašské ořechy	Lískové ořechy	Mandle
Voda	g	4,7	5,31	4,41
Energetická hodnota	kcal	654	628	579
Bílkoviny	g	15,23	14,95	21,15
Tuky	g	65,21	60,75	49,93
Sacharidy	g	13,71	16,70	21,55
Vláknina	g	6,7	9,7	12,5
Cukry	g	2,61	4,34	4,35
Minerální látky				
Vápník (Ca)	mg	98	114	269
Železo (Fe)	mg	2,91	4,70	3,71
Hořčík (Mg)	mg	158	163	270
Fosfor (P)	mg	346	290	481
Draslík (K)	mg	441	680	733
Sodík (Na)	mg	2	0	1
Zinek (Zn)	mg	3,9	2,45	3,12
Mangan (Mn)	mg	3,414	6,175	2,179
Vitamíny				
Vitamin C	mg	1,3	6,3	0,0
Thiamin	mg	0,341	0,643	0,205
Riboflavin	mg	0,150	0,113	1,138
Niacin	mg	1,125	1,800	3,618
Vitamin B6	mg	0,537	0,563	0,137
Folát, DFE	μg	98	113	44
Vitamin B12	μg	0,00	0,00	0,00
Vitamin E (α-tokoferol)	mg	0,70	15,3	25,63
Tokoferol, β	mg	0,15	0,33	0,23
Tokoferol, γ	mg	20,83	0,00	0,64
Tokoferol, δ	mg	1,89	0,00	0,07

Tabulka 3 Pokračování

Živina	Jednotka	Hodnota na 100 g		
		Vlašské ořechy	Lískové ořechy	Mandle
Vitamíny				
Vitamin A, RAE	μg	1	1	0
Vitamin A, IU	IU	20	20	2
Vitamin D (D2 + D3)	μg	0,0	0,0	0,0
Vitamin D	IU	0	0	0
Vitamin K (fyllochinon)	μg	2,7	14,2	0,0
Lipidy				
Nenasycené mastné kyseliny	g	6,126	4,464	3,802
Mononenasycené mastné kyseliny	g	8,933	45,652	31,551
Polynenasycené mastné kyseliny	g	47,174	7,920	12,329
Cholesterol	mg	0	0	0

(US Department of Agriculture, National Nutrient Database for Standard Reference, 2016)

3.1.3 Skladování suchých skořápkových plodů

Ořechy jsou poměrně náchylné k plísním, zejména v oblastech s vysokým úhrnem srážek a vlhkosti, proto by měly být sklizeny co nejdříve po dozrání, aby se zabránilo ztrátě kvality a minimalizovaly se problémy s houbovým napadením a zamořením hmyzem. Ořechy bývají setřeseny se stromu na zem pomocí různých druhů třepacích strojů (Macrae et al., 1993a). Po sklizni musí být ořechy co nejdříve oloupané, aby se zabránilo poškození způsobenému červy (Woodroof, 1967a). Nebezpečí spojené s kontaminací mykotoxiny snižují správné předsklizňové postupy, řádné sušení v přiměřeném čase po sklizni a bezpečné skladování při správné teplotě a vlhkosti (Macrae et al., 1993b, Ozilgen et Ozdemir, 2001). V případě ořechů jsou hlavním rizikem aflatoxiny, které jsou produkovány plísní *Aspergillus flavus* (Macrae et al., 1993a).

V oblastech s nízkým výskytem srážek a nízkou relativní vlhkostí mohou být ořechy sušeny přírodním způsobem na slunci. Jinak jsou sušeny ohřátým vzduchem (Ryall et Pentzer, 1974). V případě mandlí jsou využívány dehydrátory s ohřátým vzduchem, aby došlo ke snížení obsahu vlhkosti na 7 % nebo méně. Většina mandlí je komerčně prodávána v rozmezí od 4 % do 5 % vlhkosti. Sušené mandle jsou přepravovány do zpracovatelských závodů, kde jsou uskladněny po dobu několika týdnů až několik měsíců před finálním zpracováním a přípravou pro trh (Macrae et al., 1993a).

Vzhledem k tomu, že ořechy snadno absorbují pachy, neměly by být vystaveny štiplavému pachu cibule, čerstvého ovoce, ryb, sýrů, barev, chemikálií nebo jiných látek. Zachování kvality, bezpečnosti a trvanlivosti ořechů závisí na počátečním obsahu vlhkosti, relativní vlhkosti, teplotě skladování a vyloučení kyslíku a hmyzích škůdců. Blanširování snižuje skladovací stabilitu přibližně o 25 – 50 %. Jakékoliv řezání, krájení a sekání má podobný účinek (Macrae et al., 1993a). Vysoká teplota a vlhkost, stejně jako sluneční světlo, přispívají ke žluknutí jader ořechů. Z toho vyplývá, že nejlepší skladovací podmínky jsou za nízké teploty, nízké vlhkosti a v temnu (Woodroof, 1967b; Macrae et al., 1993b).

Doba skladování

Stejně jako každá potravina i ořechy se s časem mění a mají omezenou trvanlivost. Při dlouhodobém skladování může docházet k oxidaci a ztrátě cenných látek. Díky žluknutí se mění také sensorické atributy a ořechy se mohou stát nevhodnými pro konzumaci. Jak rychle ke změnám dochází, záleží na podmínkách skladování.

Maskan et Karatas (1999), kteří zkoumali skladovací stabilitu pistáciových oříšků, po několika měsících skladování pozorovali odlišnosti ve žluknutí, chuti a barvě ořechů. Během prvních 6 měsíců nebyly pozorovány výrazné změny v peroxidovém čísle, ale po 6 měsících skladování v podmínkách okolního prostředí se peroxidové číslo začalo prudce zvyšovat. Data také ukázala, že linolenová kyselina byla oxidována rychleji než linoleová. Raisi et al. (2015) v souladu s předchozími autory uvádějí, že doba uchovávání ovlivňuje peroxidové číslo a také konjugované trieny v testovaných mandlích. Během doby skladování mandlí pozorovali vzestup peroxidového čísla také Garcia-Pascual et al. (2003). Stejně tak i Ghirardello et al. (2013) se zmiňují o vlivu délky skladování na peroxidové číslo, a to konkrétně u lískových ořechů. Po roce skladování lískových ořechů při pokojové teplotě byla dále naměřena vyšší kyselost, než je přijatelná mez.

S délkou skladování dochází k úbytku některých látek v ořeších. Tsantili et al. (2011) píše o ztrátách fenolů, flavonoidů a celkové antioxidační kapacity v souvislosti s dobou skladování pistácií. Změnami v průběhu skladování v obsahu tokoferolů v arašidech se zabývali Silva et al. (2010). Obsah všech tokoferolů se snížil v průběhu skladování. Naopak ukazatelé lipidové oxidace, jako je peroxidové číslo a intenzita oxidované a lepenkové chuti se během skladování zvýšili. Na druhé straně intenzita pražené chuti pražených arašídů klesá s dobou skladování. Byly také pozorovány dobré korelace mezi obsahem tokoferolů a peroxidovým číslem. Autoři došli k závěru, že obsah tokoferolů by mohl být použit jako indikátor oxidačního stavu v arašídových produktech.

Stabilita vitamínu E v arašidech skladovaných při 21 °C korelovala s oxidací lipidů založené na peroxidovém čísle a obsahu konjugovaných dienu. Tokoferoly se během skladování exponenciálně snižovaly se zvyšováním peroxidové hodnoty. Po 38 týdnech skladování byl celkový úbytek tokoferolů 24 % (arašídů skladované na vzduchu) a 20 % (arašídů skladované ve vakuu) (Chun et al. 2005).

Teplota skladování

Obecně lze říci, že se studie shodují při vyhodnocení optimálních podmínek skladování. Doporučují se nízké chladírenské teploty, a to nejlépe v kombinaci s modifikovanou atmosférou.

Podle San Martina et al. (2001), kteří se zabývali skladováním lískových ořechů, nízké teploty účinně zpomalují lipidovou hydrolyzu.

Účinnost nízké teploty v oddálení zhoršení kvality lískových ořechů potvrzují také Ghirardello et al. (2013). Chlazení bylo účinné pro udržení kvality ořechů až po dobu jednoho roku skladování. Po roce skladování byla kyselost lískových oříšků skladovaných při pokojové teplotě vyšší, než je přijatelná mez, zatímco chladírenské skladování přispělo k udržení nízké úrovně kyselosti a oxidace lipidů s nejlepším účinkem v modifikované atmosféře.

Jak uvádí Tsantili et al. (2011), nízká teplota skladování dokáže zmírnit ztráty fenolů, flavonoidů a celkové antioxidační kapacity u pistácií. Autoři doporučují skladování v atmosféře N₂ při 1°C.

Raisi et al. (2015) srovnávají mandle skladované v pokojové teplotě s mandlemi skladovanými v lednici. S ohledem na peroxidové číslo, nebalená celá jádra ořechů a mleté mandle skladované při pokojové teplotě zůstaly čerstvé po 8 – 9 (celá jádra) a 7 (mleté)

měsících skladování, zatímco tytéž vzorky uchovávané v lednici měly dobu životnosti více než 10 měsíců.

V případě skladování loupaných mandlí po dobu 12 měsíců je nejlepší skladovat je při teplotě 2 °C (Senesi et al., 1996).

Problematikou působení skladovací teploty na senzorické atributy ořechů se zabývali Guine et al. (2015), a to konkrétně u lískových ořechů. Bylo pozorováno, že při skladování ořechů při vysokých teplotách (50 °C) vznikají významné změny v jejich barvě ve srovnání se zdravými původními vzorky. Tvrdost nebyla ovlivněna podmínkami skladování nebo typem obalu, zatímco drobivost byla negativně ovlivněna skladováním při vysoké relativní vlhkosti.

Při skladování ořechů je společně s teplotou skladování významná také vlhkost prostředí, ve kterém jsou ořechy uchovávány. S vyšší vlhkostí a vodní aktivitou v okolním prostředí je trvanlivost ořechů kratší a snižuje se kvalita ořechů (Ryall et Pentzer, 1974; Macrae et al., 1993a).

Nejlepší skladovací podmínky pro vlašské ořechy jsou při 0 – 2 °C a větrání vzduchem o relativní vlhkosti 65 – 75 % (Macrae et al., 1993b). Podobné hodnoty uvádějí také Ryall et Pentzer (1974), kteří tvrdí, že správně vysušené neloupané i loupané vlašské ořechy zůstanou v dobrém stavu po dobu jednoho roku nebo více při 32 °F (0 °C) s relativní vlhkostí vzduchu 60 až 75 %. Skladování při nízkých teplotách je doporučeno pro ořechy ve skořápce a je nezbytné pro ořechy vyloupané. Teploty 50 °F (10 °C) nebo vyšší jsou pro vlašské ořechy ve skořápce vhodné maximálně 6 měsíců.

Nejlepší chuťové a barevné stability je dosaženo při vlhkosti okolo 3,1 % a s antioxidanty při 2,8 – 4,0 % vlhkosti a 40 °F (4,44 °C), kdy mohou být vlašské ořechy skladovány 18 měsíců v rámci přijatelných mezí (Woodroof, 1967b).

Při skladování lískových ořechů se doporučuje 7 – 8% vlhkost pro ořechy ve skořápce a 3,5 – 4,5% vlhkost pro loupané ořechy (Ryall et Pentzer, 1974). Neloupané lískové ořechy zůstanou v dobré kondici po dobu 15 měsíců při teplotě 70 °F (21,11 °C) nebo nižší, pokud je hodnota vlhkosti pod 10 %. Při delším skladování (2 roky) jsou vhodné teploty 32 – 35 °F (0 – 1,67 °C) při 60 – 65% relativní vlhkosti vzduchu (Woodroof, 1967a; Ryall et Pentzer, 1974).

Syrové mandle by měly být skladovány při 0 – 5 °C a 65 – 70 % relativní vlhkosti. Nižší teploty umožňují delší skladovatelnost (až jeden rok). Optimální rozsah vlhkosti nepražených mandlí je 4 – 6 % (Macrae et al., 1993a). Mandle ve skořápce si udrží dobrou

kondici a chuť po dobu 7 – 8 měsíců při pokojové teplotě, pokud jsou skladovány v přiměřeně suchém prostředí a vlhkost v místnosti je nižší než 70 %. Při prodlouženém skladování by neloupané mandle měly být uchovávány při 50 °F (10 °C) nebo nižší teplotě a obvykle zůstávají ve výborném stavu až po dobu 2 let při teplotě 32 °F (0 °C) s asi 75% relativní vlhkostí. Vyloupané mandle jsou náchylnější k úpadku kvality, skladování na vzduchu při 32 °F s 60 – 75% relativní vlhkostí je obvykle dostačující pro 15 až 16 měsíců. Během skladování může dojít ke ztmavnutí jader a ztráty typické chuti mandlí. Takové změny jsou detekovatelné pouze po dlouhodobém skladování (20 – 24 měsíců) při 32 °F, ale již po 11 – 13 měsících při 50 °F. Skladování mandlí při teplotě 80 °F (26,67 °C) způsobuje ztmavnutí a zatuchnutí již po 8 měsících (Ryall et Pentzer, 1974).

Balící atmosféra

Využití modifikované atmosféry je při dlouhodobém skladování ořechů vřele doporučováno. Studie pojednávají o využití CO₂, N₂ nebo také O₃. Jako další užitečné opatření je uváděno a často využíváno vakuuum.

Atmosféra se sníženým obsahem kyslíku (0,5 % nebo nižší) je prospěšná pro udržení kvality aromatu, oddálení žluknutí a proti hmyzu. Vyloučení kyslíku je obvykle dosaženo pomocí vakuového balení nebo nahrazení dusíkem. Životnost syrových mandlí skladovaných v atmosféře s nízkým obsahem kyslíku při 0 °C může být až 2 roky (Macrae et al., 1993a). Podle Ryalla et Pentzera (1974) by si loupané mandle uložené ve vakuu měly zachovat dobrou chuť a barvu 20 – 24 měsíců při 50 °F (10 °C), ale ztrácejí chuť do 16 měsíců při teplotě 70 °F (21,11 °C). Raisi et al. (2015) uvádějí, že pro ochranu mandlí před oxidací je vhodné skladování ve vakuu v lednici při 4 °C. Použití modifikované atmosféry, vakua a CO₂ poskytlo dobu skladovatelnosti minimálně 10 měsíců pro všechny vzorky bez ohledu na skladovací teploty a fyzický tvar ořechů. Garcia-Pascual et al. (2003) studovali vliv skladovacích podmínek na kvalitu mandlí skladovaných několik měsíců. Pro parametry, jako je vlhkost, obsah tuku, peroxidové číslo, obsah α -tokoferolu a hladina aflatoxinů, nebyl shledán signifikantní rozdíl mezi použitím kyslíkové nebo dusíkové atmosféry. Carrasco-Del Amor et al. (2016), kteří studovali fytoprostan (biomarkery oxidačního stresu v rostlinách) v mandlích uvedli, že celkový obsah fytoprostanů byl vyšší v kyslíkové atmosféře než v mandlích skladovaných ve vakuu.

Ghirardello et al. (2013) doporučují použití modifikované atmosféry (1 % kyslíku, 99 % dusíku) pro dlouhodobé skladování lískových ořechů. Nízká teplota a zvýšená dusíková atmosféra zabránily oxidaci lipidů, a tím se dosáhlo nejnižší hodnoty kyselosti a peroxidového čísla. Podle San Martina et al. (2001) koncentrace kyslíku udržovaná pod 10 % inhibuje autooxidaci lískových ořechů. Bylo ale zjištěno, že nízké koncentrace kyslíku neinhibují nárůst čísla kyselosti a potenciální hydrolytickou žluklost.

Atmosféra s N₂ preventivně působí na pokles fenolů, flavonoidů a celkovou antioxidační kapacitu, jak to bylo prokázáno u pistácií (Tsantili et al., 2011). Maskan et Karatas (1999) ukázali vhodnost využití modifikované atmosféry (2 % vzduchu, 98 % CO₂) při skladování pistáciových oříšků. CO₂ zlepšil skladovací stabilitu zejména při nízkých teplotách, a byla pozorována nižší oxidace tuku než při skladování za podmínek okolního prostředí.

Práce Scussela et al. (2011) poskytla informace o používání metod kyslíkové redukční atmosféry při skladování oloupaných para ořechů s cílem posoudit míru degradace aflatoxinů, oxidační stabilitu lipidů a kontrolu plísní. Autoři srovnávali použití ozónu (O₃), oxidu uhličitého (CO₂) a podložky s O₂ absorbéry, a to buď s využitím vakua nebo bez něj. Nejlepší výsledek byl získán s O₃, a to s i bez vakua. Bylo to jediné ošetření ořechů, které bylo schopno degradovat aflatoxiny. Toto ošetření také vedlo k ničení plísní a kvasinek, bylo schopné eliminovat pachutě a udržovat stabilní oxidační proces mastných kyselin, což vede k bezpečnějším, křupavějším a kvalitnějším ořechům. Všechny ostatní postupy pouze stabilizují a/nebo inhibují růst mikroorganismů. Plynný O₃ měl navíc nízké náklady pro aplikaci v balení ořechů a je i šetrný k životnímu prostředí, protože je rychle přeměněn na O₂. Vakuum pomohlo udržet oxidaci lipidů, mikroorganismy a senzorické atributy pod kontrolou.

Vakuové balení také významně snižovalo tokoferolové ztráty během skladování arašídů. Oxidace lipidů byla díky vakuu významně zpomalena (Chun et al., 2005).

Důležitá je nejen atmosféra, ale také materiál nádoby, ve které jsou ořechy uchovávány. Data Ribeiry et al. (1993) ukazují, že para ořechy uložené v plechovkách je možné skladovat mnohem déle a mají lepší kvalitu než ty skladované ve vaničkách (polypropylen s PVC filmem) bez ohledu na to, jakému ošetření byly vystaveny. Po dvou měsících skladování byly ořechy ve vaničce zoxidovány. Po čtyřech měsících byl na povrchu těchto ořechů pozorován houbový růst a byly nevhodné pro lidskou spotřebu. Jako nejlepší způsob skladování byly vyhodnoceny plechovky s absorbéry kyslíku. Přítomnost absorbérů

kyslíku v plechovkách brání oxidačnímu poškození a udržuje peroxidové číslo nižší než v atmosféře.

Guine et al. (2015) testovali skladování lískových ořechů ve dvou typech plastových obalů – nízkohustotním polyetylenem a lineárním nízkohustotním polyetylenem. Ze získaných výsledků bylo vyhodnoceno, že pro dobré uchování lískových ořechů je vhodné zvolit balení s nízkohustotním polyethylenem.

Pražení

Ořechy bývají někdy skladovány v pražené formě, časté je to například u arašídů, ale i dalších ořechů.

Pražení urychluje pokles kvality a pražené ořechy by měly být zabaleny k vyloučení kyslíku. Pražené mandle v balení v bezkyslíkaté atmosféře mají životnost 1 – 2 roky při teplotě místnosti (Macrae et al., 1993a).

Vaidya et Eun (2013) zkoumali účinek pražení na oxidační stabilitu a stabilitu tokoferolů v oleji z vlašských ořechů, který byl skladován ve tmě při 60 °C po dobu 12 dní. Celkový obsah tokoferolů v praženém ořechovém oleji byl nižší ve srovnání s nepraženým olejem. Na druhou stranu míra degradace tokoferolů během skladování byla nižší v oleji z pražených ořechů. Jako nejstabilnější byl vyhodnocen δ -tokoferol a nejméně stabilní byl α -tokoferol. Oxidační stabilita byla vyhodnocena pomocí naměřeného peroxidového čísla a obsahu konjugované kyseliny dienové. Studie ukázala, že pražení jader vlašských ořechů snižuje míru oxidace oleje a může být považováno za vhodnou metodu pro prodloužení oxidační stability oleje během skladování ve tmě.

Pražení významně snižovalo oxidační stabilitu a retenci vitamínu E v arašidech (Chun et al., 2005). Na citlivost α -tokoferolu k degradaci při tepelném procesu poukazuje také Silva et al. (2010). Ve své studii srovnávali pražené a nepražené arašídové jádro, které skladovali při 40 °C. Obsah α -tokoferolu byl vyšší v přírodních arašidech v porovnání s praženými, obsah ostatních tokoferolů se ale významně nelišil mezi přírodními a praženými arašídovými jádry.

Garcia-Pascual et al. (2003) se zabývali vlivem skladovacích podmínek na kvalitu loupáných a pražených mandlí, které skladovali po dobu několika měsíců. Vyšší hodnoty peroxidového čísla vykazovaly pražené mandle oproti nepraženým. Toto navýšení negativně ovlivňuje celkovou organoleptickou kvalitu.

Studie Carrasco-Del Amory et al. (2016) poukazuje na vliv různých podmínek na generaci fytoprostanů v mandlích. Smažení a pražení vedlo k silnému snížení původní koncentrace většiny fytoprostanů a podporovalo syntézu specifických fytoprostanů, které nebyly zjištěny v syrových jádrech, a tudíž by mohly být biomarkery stupně oxidační degradace mandlí.

Vliv pražení a pasterizace na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu slupek kalifornských mandlí studovali Bolling et al. (2010). Data byla získána za pomoci kapalinové chromatografie s hmotnostním detektorem, byl stanoven obsah celkových polyfenolů (CP) a antioxidační aktivita (AOA) metodou FRAP. CP a AOA mandlových slupek se pražením snížily přibližně o 30 %, ale obsah fenolických kyselin (FP) zůstal nezměněn. Pasterizace významně neovlivnila CP, AOA, nebo flavonoidy a fenolické kyseliny mandlových slupek.

Na ořechy má kromě pražení vliv také výrazně šetrnější zpracování, kterým je sušení. Jak ovlivňuje sušení pistácií celkový obsah polyfenolů, celkový obsah flavonoidů (TF) a celkovou antioxidační kapacitu (TAC) zjišťovali Tsantili et al. (2011). Sušení, i když za relativně mírných podmínek (45° C po dobu 34 h, do 5 % vlhkosti), mělo za následek ztráty CP, TF a TAC, je to však nevyhnutelný předpoklad pro dlouhodobé skladování ořechů vysoké kvality.

Další faktory

Bylo potvrzeno, že skořápka chrání lískové oříšky před oxidačním poškozením (San Martin et al., 2001). Podle Ryalla et Pentzera (1974) zkracuje louskání ořechů dobu jejich trvanlivosti až o polovinu. Skořápka však zabírá místo a pro spotřebitele jsou atraktivnější již vyloupané ořechy. Ořechy se někdy skladují krájené nebo mleté, musí se pak ale počítat s kratší dobou trvanlivosti. Jak uvádějí ve své studii Raisi et al. (2015), míra oxidace, zápachu a nepříjemné chuti byly vyšší u mletých mandlí než u celých jader. Pro delší dobu skladování je doporučeno uložení celých jader mandlí spíše než mletých mandlí.

Jedna z možností jak zabránit oxidaci mandlových produktů je přidavek jedlých povlaků, jako je karboxymethylcelulóza, a přírodních antioxidantů, které mohou významně přispět k prodloužení trvanlivosti (Larrauri et al., 2016). Přirozené i umělé antioxidanty mohou přispět ke dvoj- až trojnásobnému zlepšení trvanlivosti mandlí (Macrae et al., 1993a).

Antioxidanty se zdají být dobrým pomocníkem také pro udržení kvality vlašských ořechů při skladování. Naopak použití γ -záření jako prevence výskytu plísní se neosvědčilo, protože významně ovlivňuje chuť a vůni ořechů (Ryall et Pentzer, 1974).

Ideální balení vylučuje vlhkost a kyslík. Doba použitelnosti v některých baleních může být zlepšena přidáním absorbérů kyslíku a/nebo vlhkosti (Macrae et al., 1993a).

Nejen vnější podmínky, ale také zvolený kultivar může ovlivnit stabilitu ořechů a obsah různých látek v ořeších. Podle Tsantiliho et al. (2011) může mít kultivar vliv na celkový obsah polyfenolů, flavonoidů a celkovou antioxidační kapacitu pistáciových ořechů. Silva et al. (2005) se zabývali vlivem kultivaru a klimatických podmínek na nutriční složení a kvalitu lískových ořechů. Klimatické podmínky mohou vyvolat významné snížení aminokyselin, pokud je rostlina vystavena stresu. Kultivar může indukovat významné rozdíly obsahu proteinu, tuku, škrobu a neutrální detergentní vlákniny. Hmotnost ořechu (jádro a skořápka) a produkce jsou významně ovlivňovány oběma parametry.

3.1.4 Charakteristika vybraných druhů suchých skořápkových plodů

3.1.4.1 Vlašský ořech

3.1.4.1.1 Odrůdy a rozšíření

Vlašské ořechy jsou běžné v listnatých lesích převážně v oblastech mírného pásu, ale také v subtropických regionech převážně ve východní části Severní Ameriky, Střední Americe, západní Jižní Americe a východní Asii. Vlašské ořechy patří do rodu *Juglans* – ořešák, který sestává asi z 15 druhů. Nejvýznamnějším druhem je ořešák královský (*Juglans regia* L.), čeleď ořešákovité (*Juglandaceae*). Byl pravděpodobně přesunut migrací obyvatelstva ze starověké Persie do Řecka a později distribuován po celé Římské říši. Časní kolonisté z Velké Británie přinesli semena do Severní Ameriky a osadníci nazývali výsledné stromy ‘Anglické vlašské ořechy’, aby se odlišily od domácích amerických černých vlašských ořechů. Anglické ořechy se pěstují komerčně v USA, Francii, Itálii, na Balkáně, Polsku, Německu, Česku, Slovensku, Bulharsku, Turecku, Chile, severní Indii, Číně a Austrálii. Mezi další odrůdy patří ořešák černý (*Juglans nigra* L.) nebo ořešák popelavý (*Juglans cinerea* L.), oba původem ze Severní Ameriky, a mnoho dalších (Macrae et al., 1993b).

3.1.4.1.2 Komerční význam

Vlašské ořechy všech druhů jsou jedlé a již mladé zelené plody jsou konzumovány naložené v octě. Zralé ořechy mohou být konzumovány v syrovém stavu nebo solené a jsou vynikající jako dezert ve zmrzlině, bonbónech a také v pečivu a cukrovinkách. Olej z vlašských ořechů je výborným salátovým olejem. Vlašské ořechy jsou také používány mimo potravinářský průmysl (příprava mýdla, sušící oleje v barvách atd.) nebo se používají v odtučněné formě jako krmivo pro zvířata (Macrae et al., 1993b).

Různé části ořešáku, jako je kůra, listy, skořápky, plody a jádra, byly použity v lidové medicíně po celém světě. Z nejedlých částí plodu se může také připravit aktivní uhlí farmaceutické čistoty. Dřevo vlašských ořechů má vynikající vlastnosti pro použití na nábytek, v lodním budování a na pažby (Macrae et al., 1993b). Listy a slupky se také využívají v kosmetice (Avanzato, 2010).

3.1.4.1.3 Nutriční složení a zdravotní účinky

Vlašské ořechy jsou bohaté na tuky, obsahují velké množství nenasycených mastných kyselin, jako jsou kyselina α -linolenová a linolová, dále také tokoferoly a fytoosteroly. Vlašské ořechy obsahují více než pětikrát větší množství nenasycených mastných kyselin než nasycených. Hlavním tokoferolovým homolegem je γ -tokoferol následovaný δ a α -tokoferolem. Ve srovnání s ostatními ořechy obsahují vlašské ořechy vysoké množství fenolů a vykazují antioxidační aktivitu (Alasalvar et Shahidi, 2009). Obsah jednotlivých živin obsažených ve vlašských ořeších uvádí tabulka 3 (str. 16).

Výhody plynoucí ze snížení nasycených tuků v potravě ve prospěch nenasycených jsou spojeny se snížením rizikových faktorů ischemické choroby srdeční a případně i diabetu typu 2, ovlivněním účinku inzulínu (Tapsell, 2010). Spojitost mezi častým příjmem vlašských ořechů a nižším rizikem diabetu 2. typu u žen vidí také Pan et al. (2013).

Kromě již zmiňovaných polynenasycených mastných kyselin, které jsou spojovány s kardioprotektivním účinkem, obsahují vlašské ořechy celou řadu dalších bioaktivních látek jako je vitamin E, vláknina, fytochemikálie nebo polyfenoly, které zesilují účinek snižování hladiny cholesterolu a nezávisle na sobě mají vliv na rizikové faktory pro různá chronická onemocnění (Torabian et al., 2010).

Bylo prokázáno, že vlašské ořechy dokáží podstatně ovlivnit dietní profil tuku. Výzkum Tapsella (2010) ukázal, že denní zahrnutí 30 g vlašských ořechů do diety s nízkým

obsahem tuku (30 % energie z tuků) příznivě ovlivnilo hladinu cholesterolu u lidí s diabetem 2. typu. Morgan et al. (2002) tvrdí, že vlašské ořechy, když jsou součástí diety s nízkým obsahem tuku a cholesterolu, mají příznivý vliv na sérové kardiovaskulární rizikové faktory. Ve své studii, kde jedincům podávali 64 g vlašských ořechů na den, zaznamenali významné snížení triacylglycerolů a pokles celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a mírný nárůst HDL cholesterolu. Nebyly pozorovány žádné účinky na homocystein nebo koagulační faktory. To je ve shodě s výzkumem Torabiana et al. (2010), kteří uvádějí, že zahrnutí vlašských ořechů (12 % z celkového energetického příjmu tj. 28 – 64 g/den) do obvyklé stravy příznivě změnilo profil plazmatických lipidů. Účinky snižující hladinu lipidů byly více patrné u jedinců s vyššími výchozími hodnotami lipidů, právě tito lidé mají vyšší potřebu snížit celkový cholesterol a LDL cholesterol v plazmě. Také Lavedrine et al. (1999) zmiňují, že konzumace vlašských ořechů a oleje z vlašských ořechů zvyšuje sérové hladiny HDL cholesterolu a apo A1, které představují ochranný faktor proti kardiovaskulárnímu riziku. Výsledky Dina et al. (2011) však naznačují, že potenciálně prospěšné účinky vlašských ořechů na srdce nemusí být patrné při nižších úrovních spotřeby. Studie ukazuje, že denní příjem 15 g ořechů nemá vliv na lipidový profil, tuhost tepen nebo aktivaci krevních destiček u člověka.

Dále bylo prokázáno, že konzumace vlašských ořechů zvyšuje antioxidační kapacitu krve, a tím se může předejít dalším onemocněním (Tapsell, 2010). Spotřeba vlašských ořechů a také mandlí zvyšuje koncentraci polyfenolů v plazmě, zvyšuje celkové antioxidační schopnosti a snižuje peroxidaci lipidů v plazmě (Torabian et al., 2009). Ve srovnání s kontrolním pokrmem s vysokým obsahem rafinovaného tuku může pokrm z vlašských ořechů modulovat některé oxidativní účinky postprandiální lipémie. Obsah některých bioaktivních látek např. γ -tokoferolu a některých katechinů se po jídle zvyšuje. Tyto látky mohou ovlivnit markry oxidace a antioxidační status (Haddad et al., 2014).

Vysoká spotřeba vlašských ořechů se jeví jako protektivní faktor proti rozvoji rakoviny prsu (Soriano-Hernandez et al., 2015). Výsledky Lee et al. (2016) zase naznačují, že fenolový extrakt vlašských ořechů může potlačit rakovinu tlustého střeva regulováním vlastností rakovinových kmenových buněk tlustého střeva. Jahanbani et al. (2016) našli přímou souvislost mezi antioxidační a protinádorovou aktivitou peptidových frakcí vlašských ořechů, které tak mohou mít potenciální terapeutický prospěch.

Prospěšnost denního příjmu vlašských ořechů také dokazují výsledky Araba et Anga (2015), kteří našli významnou pozitivní asociaci mezi spotřebou vlašských ořechů a kognitivní funkcí testované US populace. Haider et al. (2011) studovali účinky vlašských ořechů na schopnost učení a paměť samců kryš. Předložené výsledky ukazují, že dlouhodobý příjem vlašských ořechů, které jsou bohatým zdrojem esenciální aminokyseliny tryptofanu, může být velmi prospěšný pro zlepšení paměťové funkce, schopnosti učení a snížení příjmu potravy. Došlo ke zvýšení mozkové 5-HT funkce, která se může podílet na zlepšení paměti a snížení chuti k jídlu. Vlašské ořechy se proto zdají být vhodným doplňkem při učení, deficitu paměti nebo při léčbě obezity a nadváhy.

Ořechové polyfenoly a tokoferoly mohou snížit oxidační stres a zánět. Polynenasycené mastné kyseliny pomáhají udržovat neuronální membránovou integritu a zmírňují agregaci proteinu podílejícího se na Alzheimerově chorobě. Tyto důkazy naznačují, že integrace vlašských ořechů do zdravé výživy může být účinným prostředkem pro zpomalení procesů stárnutí mozku a snížení rizika chronických neurodegenerativních onemocnění (Poulose et al., 2014).

3.1.4.2 Lískový ořech

3.1.4.2.1 Odrůdy a rozšíření

Líska obecná (*Corylus avellana* L.) patří do čeledi břízovité (*Betulaceae*). Je evropského původu a společně s *C. maxima* je považována za velice významný druh pro komerční průmysl lískových ořechů. Vyskytuje se v jižní Evropě (Turecko, Itálie, Španělsko atd.), západní Asii a severní Africe. S některými druhy lískových ořechů, jako je například *C. americana*, se můžeme setkat také v Severní Americe (Ryall et Pentzer, 1974). Největším producentem lískových ořechů je Turecko (Alasalvar et Shahidi, 2009).

3.1.4.2.2 Komerční význam

Lískové ořechy jsou konzumovány na celém světě v mléčných, pekařských, cukrářských a čokoládových výrobcích. Kromě potravinářského průmyslu jsou lískové ořechy využívány v kosmetických a farmaceutických výrobcích (Delgado et al., 2010). Také vedlejší produkty zpracování lískových ořechů se dají využít, příkladem je použití kompostovaných slupek lískových oříšků jako rostlinného růstového média (Ozenc, 2005).

Lískové ořechy se konzumují čerstvé, sušené, restované, blanširované a používají se jako ingredience do mnoha produktů. Kromě již zmíněné čokolády, dalších cukrovinek a pečiva se jedí také ve směsi se sušeným ovocem a významné je jejich použití pro výrobu zmrzliny. Blanširování se používá k odstranění tmavé slupky ořechů (Woodroof, 1967a).

3.1.4.2.3 Nutriční složení a zdravotní účinky

Lískové ořechy mají vysoký obsah tuku a díky tomu jsou výborným zdrojem energie. Jsou bohaté na mononenasyčené mastné kyseliny (olejová kyselina), tokoly (α - tokoferol), fytosteroly (β -sitosterol), polyfenoly a skvalen. Díky tomu jsou lískové ořechy spojovány s redukováním rizika kardiovaskulárního onemocnění, ischemické choroby srdeční a mají pozitivní efekt na aterosklerózu. Nejvíce zastoupenou minerální látkou je draslík následovaný fosforem, vápníkem a hořčíkem. Vysoký příjem těchto minerálů v kombinaci s nízkým příjmem sodíku je spojován s prevencí proti demineralizaci kostí, hypertenzi, insulinové rezistenci a kardiovaskulárním rizikem. Jsou také výborným zdrojem mědi, manganu a selenu. Selen hraje významnou antioxidační roli a chrání buněčné membrány. Lískové ořechy obsahují vysoké hodnoty vitamínu E. V neposlední řadě jsou výborným zdrojem biotinu, folátu, dále tiaminu, pyridoxinu a kyseliny pantotenové. Nejhojněji zastoupenou aminokyselinou v lískových oříšcích je glutamová kyselina, následně arginin a asparagová kyselina (Alasalvar et Shahidi, 2009). Ve srovnání s ostatními ořechy jsou lískové ořechy výborným zdrojem proantokyanidinů a dobrým zdrojem celkových fenolů, celkové antioxidační kapacity a flavonoidů. Vysokou antioxidační aktivitu má zejména slupka ořechů, která by mohla sloužit jako průmyslový zdroj antioxidantů (Alasalvar et Shahidi, 2009). Detailní nutriční složení lískových ořechů je uvedeno v tabulce 3 (str. 16).

Obohacení diety o lískové oříšky je spojeno se snížením LDL a celkového cholesterolu, zatímco HDL cholesterol, triglyceridy a BMI zůstávají beze změny. Tyto údaje

ukazují potenciálně příznivý vliv na prevenci kardiovaskulárních onemocnění (CVD) (Perna et al., 2016). Podobné závěry mají Mercanligil et al. (2007), kteří uvádějí, že strava zahrnující lískové ořechy (40 g/den) příznivě změnila hladinu cholesterolu a lipoproteinový profil i přes zvýšení obsahu tuků v potravě. Tato strava bohatá na mononenasycené mastné kyseliny měla díky příznivým účinkům na riziko ischemické choroby srdeční lepší výsledky než kontrolní dieta s nízkým obsahem tuku.

Potenciál lískových ořechů pro snížení rizika CVD potvrzují Tey et al. (2011). Autoři porovnávali vliv lískových oříšků (30 g/den), které se lišily v míře mechanického zpracování, na krevní lipidy a α -tokoferol mírně hypercholesterolemických jedinců. Výsledky ukázaly stejné zlepšení plazmových lipoproteinů a koncentrace α -tokoferolu bez ohledu na konzumovanou formu lískových ořechů.

Zařazení lískových ořechů (30 g nebo 60 g/den) do obvyklé stravy ale významně neovlivnilo biomarkery zánětu, endoteliální funkce ani profily lipidů testovaných jedinců s normálním cholesterolem, s nadváhou a s obezitou (Tey et al., 2013).

Strava obohacená o lískové ořechy (18 – 20 % z celkového denního příjmu energie) může mít antiaterogenní účinek díky tomu, že kromě účinků snižujících hladinu lipidů a lipoproteinů dochází ke zlepšení endoteliální funkce, zabránění oxidace LDL a snížení zánětlivých markerů. Tyto příznivé účinky byly reverzibilní po 4 týdnech stravy bez lískových oříšků. Z tohoto důvodu mohou být lískové oříšky začleněny do denní stravy beze změny celkového příjmu kalorií pro trvalý zdravotní přínos (Orem et al., 2013).

Caimari et al. (2015) se zabývali účinky extraktu z povrchové slupky lískových oříšků. Extrakt má účinky snižující lipidy v krvi, snižuje cirkulující hladinu celkového a LDL cholesterolu, triglyceridů a neesterifikovaných volných mastných kyselin testovaných křečků krmených dietou s vysokým obsahem tuků. Tyto účinky by mohly být přičítány vysokému obsahu vlákniny, přítomnosti polyfenolů a fytosterolů. Vyšší vylučování žlučových kyselin nalezených ve stolici křečků naznačuje, že tento mechanismus je alespoň částečně zapojený do účinků snižujících cholesterol. Konzumace extraktu také snižuje poměr fekální lithocholové kyseliny k deoxycholové kyselině, rizikového faktoru pro rakovinu tlustého střeva. Tato zjištění naznačují, že extrakt by mohl přispět ke snížení rizika vzniku kardiovaskulárních chorob a ke zlepšení metabolismu tlustého střeva.

3.1.4.3 Mandle

3.1.4.3.1 Odrůdy a rozšíření

Mandle jsou plodem mandloně obecné (*Prunus dulcis* Miller (D. A. Webb) syn. *Amygdalus communis*) patřící do čeledi růžovité (*Rosaceae*) a jsou příbuzné s peckovým ovocem, jako jsou broskve, švestky a třešně (Shahidi et al., 2009). Vznikly přímo z divokých druhů, které rostly na nižších svazích hor ve střední Asii. Bylo popsáno asi 30 příbuzných mandlových druhů vyskytujících se ve stepích, horách a pouštích centrální a jihozápadní Asie a jižní Evropy. Zeměpisný rozsah kultivovaných mandlí odpovídá třem skupinám kulturní evoluce: asijské (jihozápadní a střední Asie), středomořské (země, které hraničí se Středozemním mořem) a kalifornské (centrální Kalifornie, část Austrálie, centrální Chile a oblasti jižní Afriky). Plody mandloně jsou známé jako peckovice, které se skládají ze tří základních částí: exokarpu (kůže), mezokarpu (masitá část) a endokarpu (skořápka). Jádrem mandle je jedlé semeno (Macrae et al., 1993a).

Kromě běžných sladkých mandlí existují také mandle s hořkým jádrem, které se mohou použít při výrobě aromatických extraktů a kyanovodíku. Nositelem hořké chuti je kyanogenní glykosid amygdalin. Hořké mandle se vyskytují převážně ve středomořských zemích (Woodroof, 1967a).

3.1.4.3.2 Komerční význam

Mandle se konzumují samotné jako lehké občerstvení (celá jádra, púlené, nasekané) nebo jsou přidávány do cukrovinek, zdravých potravin, pečiva, cereálií, zmrzliny, suchých směsí, ozdob pro potravinářské předkrmy atd. Často se přidávají do čokolád. Mandle zlepšují chuť a přijatelnost cukrovinek snížením sladkosti hotového produktu, přidáním křupavosti a zvýšením nutriční hodnoty. Příkladem mandlového produktu může být mandlové máslo, které je vyrobeno mletím suchých pražených mandlí s jinými složkami, jako je sůl, cukr a stabilizátor. Jemně mleté výrobky, jako jsou mandlové pasty a mandlové máslo, mají dlouhou životnost (> 1 rok). Mezi oblíbené mandlové produkty patří mandlové těsto a marcipán, které se již dlouho používají v cukrovinkách a pekárenských produktech, a to zejména v Evropě. Mandlové těsto patří mezi nejstarší cukrovinky a je vyrobeno broušením blanširovaných mandlí s cukrem (Macrae et al., 1993a). Kromě mandlového másla se také vyrábí mandlový olej. Loupaná jádra se usuší, nahrubo namelou a za studena lisují (Woodroof, 1967a).

Vedlejší části mandlí, jako jsou skořápky a slupky, byly používány jako krmivo pro hospodářská zvířata a také jako palivo. V posledních desetiletích byly v mandlovém extraktu, slupkách a skořápce identifikovány různé fenolové sloučeniny a je diskutováno využití těchto vedlejších produktů například jako antioxidantů (Esfahlan et al., 2010).

Mandle bývají často praženy k dosažení výraznější chuti a křupavé textury. Mohou být pražené horkým vzduchem nebo v horkém oleji. Mandle pražené v oleji mohou převzít některé z chutí pražícího oleje. Na sucho pražené mandle mají obvykle tvrdší texturu a mírně nižší vlhkost (pod 2 %) a jsou trvanlivější než mandle pražené na oleji. Kvalita a stabilita na oleji pražených mandlí závisí na druhu a kvalitě oleje (Macrae et al., 1993a).

Pro některé produkty jsou preferovány mandle bez tmavé povrchové slupky, kdy je vhodné využít blanšírování. Blanšírování je proces krátkého namáčení mandlí v horké vodě, následně je z jader odstraněna slupka za použití válečků. Takto ošetřené mandle mají mírnější chuť a jemnější strukturu než běžné mandle (Macrae et al., 1993a).

3.1.4.3.3 Nutriční složení a zdravotní účinky

Mandle jsou bohatým zdrojem MUFA a obsahují široké spektrum vitamínů a minerálních látek. Z vitamínů stojí za zmínku riboflavin, niacin, folát a α -tokoferol, z minerálních látek vápník a draslík. Mandle jsou také dobrým zdrojem proteinů, které jsou bohaté na arginin a jsou dobře stravitelné. Jsou významným zdrojem antioxidantů a obsahují mnoho fytochemikálií. Mezi hlavní antioxidačně aktivní látky patří fenolová kyselina a flavonoidy, dále také tokoferoly a terpenoidy (Alasalvar et Shahidi, 2009). Detailní živinové složení mandlí je uvedeno v tabulce 3 (str. 16).

Nutriční složení mandlí může být ovlivněno odrůdou, rokem sklizně nebo regionem pěstování. Studie Yada et al. (2013) zabývající se mandlemi pěstovanými v Kalifornii ukázala, že sklizňový rok měl vysoce významný vliv na obsah celkových lipidů, MUFA a vlákniny. Oblast pěstování měla významný vliv na obsah popela a všech testovaných minerálů.

Mandle mají vysoký obsah tuku s vysokým podílem olejové kyseliny, stejně jako mnoho dalších benefitů, pro prevenci onemocnění (Larrauri et al., 2016). Jsou spojeny s mnoha příznivými zdravotními účinky, jako je cholesterol snižující efekt, antikancerogenní aktivita, prevence kardiovaskulárních onemocnění a dalších chronických chorob (Alasalvar et Shahidi, 2009).

Výsledky studie Nishiho et al. (2014) ukazují, že konzumace mandlí příznivě ovlivňuje profil mastných kyselin v séru zvýšením proporce olejové kyseliny a celkových MUFA a snížením nasycených mastných kyselin. Tyto změny v profilu mastných kyselin korelují se zlepšením metabolismu lipoproteinů a se snížením rizika ischemické choroby srdeční.

Mandle blahodárně ovlivňují riziko chronického degenerativního onemocnění, přispívají ke snížení cholesterolu, a to zejména v populacích s metabolickým syndromem a diabetem mellitus 2. typu. (Kamil et Chen, 2012).

Jamshed et al. (2016) prokázali, že spotřeba 10 g mandlí denně snižuje hodnotu močové kyseliny v séru pacientů s ischemickou chorobou srdeční. Prevence hyperurikémie může chránit před poškozením ledvin a cév.

Konzumace mandlí a slupek mandlí může také vést ke zlepšení složení střevní mikroflóry a upravení střevní bakteriální aktivity. Pozorované prebiotické účinky po požití mandlových slupek a mandlí mohou být spojeny s hojností vlákniny a polyfenolů (Liu et al. 2014; Ukhanova et al., 2014).

Jak uvádějí Sfahlan et al. (2009), fenolový extrakt ze slupek a skořápek mandlí má antioxidační účinky užitečné při prevenci nebo zpomalení postupu různých chorob souvisejících s oxidačním stresem.

Soriano-Hernandez et al. (2015) našli souvislost mezi konzumací mandlí a dalších ořechů a vznikem rakoviny prsu.

3.2 Vitamin E

Vitaminy jsou organické sloučeniny, které jsou ve velmi malých množstvích nezbytné pro normální fungování lidského těla. Mají různorodé chemické a fyziologické funkce a bývají široce distribuovány v přirozených zdrojích potravy. Jsou rozděleny do dvou skupin podle jejich rozpustnosti. Mezi vitaminy rozpustné v tucích patří vitamin A, D, E a K. Ve vodě rozpustný je vitamin C a skupina vitamínu B (thiamin (B1), riboflavin (B2), niacin, vitamin B6, kyselina pantotenová, kyselina listová a vitamin B12). Tato jednoduchá klasifikace do určité míry odráží biologickou dostupnost vitaminů, protože rozpustnost ovlivňuje jejich způsob střevní absorpce a jejich přijímání tkáněmi. Vitamery jsou strukturně příbuzné

sloučeniny, které obvykle vykazují podobnou biologickou aktivitu jako vitaminy, ale kvůli jemným rozdílům v jejich chemické struktuře vykazují různé stupně účinnosti (Ball, 2006). První zmínka o vitamínu E je z roku 1922, kdy vědci Evans a Bishop objevili “substanci X“ přítomnou v rostlinném oleji, jež byla zásadní pro zachování fertility krys. Později byla zařazena mezi vitaminy a označena písmenem E.

3.2.1 Chemická struktura

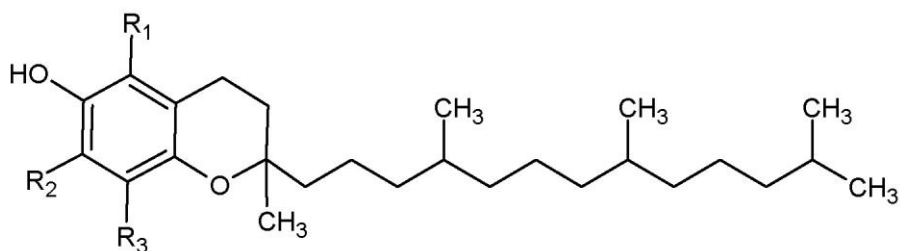
Vitamin E se vyskytuje v osmi přírodních formách jako tokoferoly (α , β , γ , δ) a tokotrienoly (α , β , γ , δ), z nichž všechny disponují silnými antioxidačními vlastnostmi (Thomas, 2006). Biologická dostupnost a bioekvivalence různých forem vitamínu E se liší. Například, i když je ve stravě množství γ -tokoferolu vyšší než α -tokoferolu, koncentrace γ -tokoferolu v plazmě je jen na úrovni asi 10 % α -tokoferolu, který je nejvíce zastoupenou formou v plazmě (Brigelius-Flohe et al., 2002).

Tokoferoly jsou charakterizovány strukturou 6-chromanolového kruhu, na kterém je připojen nasycený 16-uhlíkatý isoprenoidní postranní řetězec v poloze C-2. Specifické tokoferoly a tokotrienoly se liší počtem a polohou methylových skupin na kruhu. Tokotrienoly se liší od odpovídajících tokoferolů v tom, že mají nenasycený postranní řetězec (Bramley et al., 2000; Eitenmiller et Lee. 2004). Chemické vzorce tokoferolů a tokotrienolů jsou vyobrazeny na obrázcích 1 a 2 (str. 35).

Tokoferoly izolované z přírodních zdrojů, mají na všech třech asymetrických centrech R-konfiguraci a jsou více biologicky aktivní než jejich syntetické protějšky, které jsou směsí všech osmi možných stereoizomerů a jsou označeny prefixem all-rac. (Bramley et al., 2000; Eitenmiller et Lee. 2004).

Fenolová hydroxylová skupina je rozhodující pro antioxidační aktivitu vitamínu E, jako dárce vodíku z této skupiny stabilizuje volné radikály. Přítomnost alespoň jedné methylové skupiny na aromatickém kruhu je také kritická. α -tokoferol se třemi methylovými skupinami je nejvíce biologicky aktivní ze všech tokoferolů, následuje β -tokoferol, γ -tokoferol a δ -tokoferol (Bramley et al., 2000). β -tokoferol má 40 % aktivity α -tokotrienol má přibližně 30 % aktivity α -tokoferolu. γ -tokoferol má kolem 10 % aktivity α -formy a ostatní formy mají 5 % nebo nižší aktivitu (Ottaway, 1993).

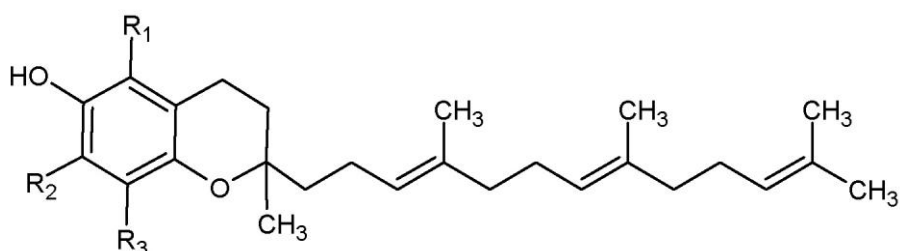
Obrázek 1 Chemická struktura tokoferolů



α -tokoferol $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 β -tokoferol $R_1 = R_3 = \text{CH}_3; R_2 = \text{H}$

γ -tokoferol $R_1 = \text{H}; R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 δ -tokoferol $R_1 = R_2 = \text{H}; R_3 = \text{CH}_3$

Obrázek 2 Chemická struktura tokotrienolů



α -tokoferol $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 β -tokoferol $R_1 = R_3 = \text{CH}_3; R_2 = \text{H}$

γ -tokoferol $R_1 = \text{H}; R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 δ -tokoferol $R_1 = R_2 = \text{H}; R_3 = \text{CH}_3$

3.2.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti

V čistém stavu jsou tokoferoly a tokotrienoly bledě žluté, téměř bez zápachu, čiré viskózní oleje, které tmavnou při vystavení vzduchu, α -tokoferyl acetát má podobný vzhled (Ball, 2006). Tokoferoly a tokotrienoly jsou nerozpustné ve vodě, ale snadno rozpustné v rostlinných olejích, etanolu a organických rozpouštědlech (včetně acetonu, chloroformu a etheru) (Ottaway, 1993; Ball, 2006). Acetáty vitamínu E jsou hůře rozpustné v etanolu než neesterifikované vitamery (Ball, 2006).

Tokotrienoly jsou z důvodu jejich nenasycených postranních řetězců více náchylné k destrukci než tokoferoly. Vitamery vydrží ohřev v kyselém nebo alkalickém roztoku za předpokladu, že kyslík a UV záření jsou vyloučeny. Protože α -tokoferyl acetát postrádá reaktivní hydroxylovou skupinu, vzduch a světlo na něj nemají prakticky žádný ničivý účinek (Ball, 2006). dl- α -tokoferol je za nepřítomnosti kyslíku odolný teplotám do 200 °C a změnám pH (Ottaway, 1993).

3.2.3 Biosyntéza a transport

Tokoferoly a tokotrienoly jsou syntetizovány vyššími rostlinami a sinicemi z prekurzorů dvěma cestami: isoprenoidními dráhami a procesem, ve kterém dochází k formaci homogentisové kyseliny. α -tokoferol je hlavní forma vitamínu E v listech vyšších rostlin, kde se nachází hlavně v chloroplastech. γ -tokoferol převládá v některých rostlinných olejích. Celkovou tvorbu α a γ -tokoferolů je možné rozdělit do čtyř fází, zahrnujících minimálně šest enzymatických reakcí. Dochází k formování kyseliny homogentisové, k přidání hydrofobního zbytku ke generování 2-methyl-6-fytylplastochinolu a nakonec k methyloaci a kruhové cyklizaci pro generování tokoferolů (Bramley et al., 2000).

Ačkoliv rostliny produkují osm různých forem vitamínu E, lidé si přednostně uchovávají α -tokoferol. α -tokoferol v porovnání s jinými formami vitamínu E je přednostně začleněn do plazmy a koncentrace α -tokoferolu v plazmě do značné míry určuje transport α -tokoferolu do různých tkání. K udržení normální koncentrace α -tokoferolu v plazmě je nutný α -tokoferol přenášející protein (α -TTP) (Traber, 2007). Díky jaternímu α -TTP dochází k selektivní retenci α -tokoferolu, zatímco ostatní formy vitamínu E jsou selektivně rozkládány a vylučovány. Jaterní α -TTP usnadňuje selektivní začlenění α -tokoferolu do oběhu lipoproteinů, které distribuují vitamin do nejjaterní tkáně. α -TTP je proto považován za hlavní regulátor stavu vitamínu E v lidském organismu (Traber et Manor, 2012).

Vzhledem ke své hydrofobní povaze je transport a příjem vitamínu E úzce spojen s metabolismem lipoproteinů. Přenos vitamínu E z plazmy do buněk může nastat prostřednictvím několika mechanismů, jako je příjem pomocí lipidových transportních proteinů a lipáz, receptorem zprostředkované lipoproteinové endocytózy a selektivním lipidovým vychytáváním (Ebadi et Sharma, 2007). Hlavní přenašeče α -tokoferolu v krvi jsou lipoproteiny. Buňky importují α -tokoferol přes receptory lipoproteinů o nízké hustotě, které jsou přítomny na buněčné membráně a za účasti lipoproteinových lipáz. Lipoproteinové lipázy se vyskytují buď částečně připojené k buněčné membráně, nebo v rozpustné formě v séru. Pouze enzym připojený na membránu se může podílet na transportu α -tokoferolu do buňky (Antosiewicz et al., 2007).

3.2.4 Účinky na lidské zdraví

Podle přílohy č. 5 k vyhlášce č. 225/2008 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin, je doporučená denní dávka vitamínu E 12 mg. V příloze č. 2 této vyhlášky jsou uvedeny formy vitamínu E, které lze použít pro výrobu doplňků stravy, viz tabulka 5.

Tabulka 5 Formy vitamínu E, které lze použít pro výrobu doplňků stravy.

vitamin	forma
Vitamin E	D- α -tokoferol
	DL- α -tokoferol
	D- α -tokoferyl-acetát
	DL- α -tokoferyl-acetát
	D- α -tokoferyl-sukcinát

(Příloha č. 2 k vyhlášce č. 225/2008 Sb.)

Nedostatek vitamínu E je vzácný a vyskytuje se v důsledku genetických abnormalit α -tokoferol přenášejícího proteinu (α -TTP) a syntézy lipoproteinů (Traber et Manor, 2012). Sekundárně může také docházet k tukové malabsorpci zahrnující cystickou fibrózu, chronickou jaterní cholestázu, abetalipoproteinémii a syndrom krátkého střeva (Thomas, 2006). Různé symptomy, jako je hemolytická anémie, edém, kolika a neprospívání, byly hlášeny u předčasně narozených dětí (Ball, 2006). Prospěch vitamínu E pro jedince, kteří nemají jeho deficit, je sporný (Traber et Manor, 2012).

Nedostatek vitamínu E u zvířat má za následek celou řadu patologických stavů, které ovlivňují svalový, kardiovaskulární, reprodukční a centrální nervový systém, stejně jako játra, ledviny a červené krvinky. Rozmanitost těchto poruch lze připsat sekundárním dopadům rozšířeným poškozením membrán svalových a nervových buněk způsobeným peroxidací lipidů (Ball, 2006).

Vitamin E má široké rozpětí účinků na lidské zdraví. Funguje jako biologický antioxidant, chrání životně důležité fosfolipidy v buněčných a sub-buněčných membránách před peroxidační degenerací (Ball, 2006). Má schopnosti reagovat a zneškodnit volné radikály v buněčných membránách a jiných lipidových prostředích, tím chrání polynenasycené mastné kyseliny před oxidačním poškozením. Vitamin E také ovlivňuje buněčnou odpověď na

oxidační stres tím, že moduluje signální transdukční dráhy (Bramley et al., 2000). Možné role vitamínu E jako preventivního faktoru pro kardiovaskulární onemocnění, rakovinu, Alzheimerovu chorobu a jiné chorobné stavy, které zahrnují oxidační stres, jsou pod intenzivním zkoumáním (Ball, 2006).

Antioxidační vlastnosti

Termínem antioxidant se běžně označuje schopnost chemické látky minimalizovat poškození, spojené s expozicí reaktivní fyzikální nebo chemické entity, jako je radiace, volné radikály, reaktivní elektrofilny nebo jiné reaktivní molekuly. Antioxidanty zasahují do potenciálně škodlivé sekvence, aby změnilly reaktivní formy na méně toxické, aby chránily klíčové biologické molekuly, jako je například DNA, a produkovaly různé reakční produkty, které jsou pro buňky méně škodlivé. Pro molekulu považovanou za antioxidant je zřejmé, že meziproducty i vytvořené producty musí být podstatně méně reaktivní a že antioxidant sám nesmí reagovat poškozujícím způsobem uvnitř buňky (Tanaka et Cooney, 2007). Vitamin E chrání lidské buňky a tukové tkáně před volnými radikály a reaktivními formami kyslíku, které poškozují buněčné membrány a DNA a způsobují pokles imunitní odpovědi během stárnutí (Ebadi et Sharma, 2007).

Na zvířecích modelech a několika předběžných klinických zkouškách bylo prokázáno, že preparát tokoferolů obsahující γ , δ a α -tokoferol (5: 2: 1) má lepší antioxidační a protizánětlivé účinky než samotný α -tokoferol. Bylo také zjištěno, že tento preparát nemá nepříznivé účinky (Saldeen et Saldeen, 2005).

Ateroskleróza a kardiovaskulární systém

Ateroskleróza je chronické onemocnění cévní stěny, kde interakce mezi četnými prooxidačními a zánětlivými mediátory ovlivňuje její rozvoj, evoluci a progresi (Cyrus et Praticò, 2007). Tokoferoly mají významný vliv na zeslabení kritických kroků v tvorbě aterosklerózy. Strukturální a funkční poškození arteriální stěny způsobené oxidovanými LDL částicemi je stěžejní pro patogenezi aterosklerózy. Oxidované LDL částice jsou vychytávány pomocí monocytů, makrofágů a endotelových buněk. Oxidovaný LDL je vysoce toxický pro cévní stěny a může narušit funkci endotelu. Lipidy-naložené makrofágy (pěnové buňky) se hromadí v endotelu, což vede k tvorbě mastných nánosů. Doplňky vitamínu E s obsahem α , β , δ -tokoferolu mohou poskytnout lepší ochranu proti onemocnění koronárních tepen než samotný α -tokoferol. Následný vývoj léze je podpořen proliferací buněk hladkého svalstva, jakož i další akumulací oxidovaných LDL částic v makrofázích a buněk hladkého svalstva.

Akutní události jsou uspišeny prasknutím plaku, agregací krevních destiček a následnou tvorbou trombu na místě prasknutí (Sarkar et al., 2007). Pomocí modulace signálních kaskád a genové exprese dokáže vitamin E inhibovat proliferaci vaskulárních buněk hladkého svalstva, které jsou klíčové při patogenezi aterosklerózy. Exprese řady genů, která je narušena během aterosklerózy, může být normalizována vitaminem E. Zejména nadměrná exprese vychytávacích receptorů podílejících se na tvorbě pěnových buněk může být normalizována pomocí vitamínu E (Zingg et Azzi, 2007).

Vitamin E má schopnost inhibovat expresi genu vaskulárního endoteliálního růstového faktoru, a tím omezit vaskulární angiogenezi. Vaskulární endoteliální růstový faktor je hlavním regulátorem vývojové i patologické angiogeneze, souvisejících s aterosklerózou a zhoubnými nádory (Vona-Davis et McFadden, 2007).

Studie dále ukazují, že vitamín E také dokáže snížit krevní tlak. Jedinci s hypertenzí jsou více náchylní k mrtvici, srdečnímu onemocnění a selhání ledvin. Vitamin E má potenciál řídit hypertenzi prostřednictvím antioxidační aktivity a zlepšením metabolismu glukózy (Vasdev et al., 2007).

I když se zdá, že má vitamin E příznivý vliv na stavy relativního nedostatku nebo zvýšeného oxidačního stresu, další výhody pro kardiovaskulární onemocnění nebyly dostatečně prokázány (Cyrus et Praticò, 2007). Existují důkazy, že vitamin E nemá výrazný vliv na snižování kardiovaskulární mortality alespoň u pacientů s prokázanou ischemickou chorobou srdeční nebo těch s vysokým rizikem. Studie ukazující ochranný účinek vitamínu E byly mezi populacemi s nižším rizikem. Vitamin E může být vhodný v oblasti primární prevence, pokud je užíván v průběhu delší doby. Prospěch z doplnění vitamínu E mohou mít například pacienti s dialýzou (Fairfield et Fletcher, 2002).

Oxidační stres, buněčná signalizace a genová regulace

Oxidační stres je definován jako buněčný stav, kdy oxidační síla reaktivních forem kyslíku přesahuje antioxidační potenciál a způsobuje poškození buněk. V takových podmínkách jsou poškozeny esenciální sloučeniny buněk jako lipidy, proteiny, DNA a antioxidanty s nízkou molekulovou hmotností. Na druhé straně vyvolávají stresové podmínky v buňkách několik adaptivních odezev, které jim umožní přežít. Pravděpodobně nejdůležitější odezvou je zvýšení biosyntézy stresových proteinů. Mezi nimi jsou antioxidační enzymy, jako je superoxiddismutáza, kataláza a glutathion peroxidáza, glutathion

S-transferáza a také protein feritin, který je zodpovědný za zabavení intracelulárního železa a chrání ho před redoxní reakcí, i další proteiny (Antosiewicz et al., 2007).

Byl zkoumán účinek oxidačního stresu na kumulaci α -tokoferolu v krysích tkáních. Zdá se, že tento účinek je tkáňově specifický, závisí na způsobu, jakým je oxidační stres vyvolán a důležitou roli hraje také doba expozice oxidačním stresem. Akumulace α -tokoferolu se zdá být adaptivní reakce na stres z několika důvodů. Akumulace α -tokoferolu v důsledku oxidativního stresu (zejména pokud dojde k dalšímu zvýšení vitaminovou suplementací) chrání tkáň před oxidačním poškozením a prodlužuje životnost živočicha. To znamená, že některé tkáně reagují na oxidační stres zvýšením jejich schopnosti získat α -tokoferol. Dalším důvodem je fakt, že pokud je akumulace α -tokoferolu inhibována, dojde ke zvýšenému poškození tkáně. Akumulace α -tokoferolu by měla chránit před cytotoxickými látkami, ale v případě nádorových buněk to může vést k vyšší odolnosti proti protinádorové terapii, která je často spojena s oxidačním poškozením (Antosiewicz et al., 2007).

Jsou také zkoumány aspekty buněčné signalizace a genové regulace molekul odvozených od vitaminu E. Molekulární účinky sloučenin příbuzných s vitaminem E se zdají být důležité pro řízení základních buněčných funkcí, jako je proliferace, diferenciace a apoptóza, a pro celkové metabolické regulace. Hlavními signálními transdukčními dráhami modulovanými vitaminem E jsou proteinkináza C společně s fosfatidylinosol 3-kinázou/proteinkinázou B. S vitaminem E příbuzné sloučeniny mohou také regulovat transkripční faktory, jako je například nukleární faktor- κ B (NF- κ B) (Galli et al., 2007). NF- κ B je eukaryotický transkripční faktor, který může být aktivován oxidačním stresem (Glauert, 2007). Mnoho genů, jejichž transkripce je řízena NF- κ B, se úzce podílí na patologii sepse, viru HIV, neurodegenerativních poruchách, rakovině a mnoha dalších nemocích. Geny kontrolované NF- κ B obvykle způsobují a/nebo ruší zánětlivé odezvy, čímž se zhoršuje výsledek konkrétního patologického stavu (Neuzil et al., 2007).

Existuje komplexní biochemický vzájemný vztah mezi vitaminem E a stopovým prvkem selenem (Ball, 2006). α -tokoferol dokáže regulovat klíčové buněčné události, jako jsou mechanismy, které nesouvisí s jeho antioxidantní funkcí. Tyto neantioxidantní funkce jsou spojeny s inhibicí proteinu kinázy C, a tím chrání před proliferací buněk hladkého svalstva. Esenciální stopový prvek selen tvoří další linii obrany. Zdá se, že selen moduluje buněčné aktivity pravděpodobně působením na proteiny, které jsou důležité pro přenos signálu. Může také regulovat funkci některých proteinů díky začlenění ve formě kovalentně vázaného

selenocysteinu. Mezi těmito selenoproteiny mají významnou antioxidační roli glutathion peroxidázy. Glutathion peroxidázy mohou působit synergicky s α -tokoferolem v prevenci peroxidace lipidů. Selen a α -tokoferol také modulují expresi několika genů, spojených s několika buněčnými funkcemi, jako je vázání oxidovaného LDL, detoxikace xenobiotik a apoptóza (Cesar, 2007).

Diabetes mellitus

Diabetes mellitus je skupina metabolických onemocnění charakterizovaných hyperglykemií (Granado-Lorencio et Olmedilla-Alonso, 2007). Metabolismus glukózy je narušen v důsledku absolutního nebo relativního nedostatku inzulínu (Baydas, 2007b). V případě diabetu typu 1 dochází k autoimunitní destrukci inzulín produkujících beta-buněk pankreatu a člověk je závislý na exogenním inzulínu (Granado-Lorencio et Olmedilla-Alonso, 2007).

Zdá se, že vitamin E má příznivý vliv na oddálení nebo snížení stupně poranění beta-buněk u pacientů s diabetem 1. typu (Gondolesi, 2007). Bylo také navrženo, že vysoká úroveň vitaminu E je spojena s nižším výskytem diabetu 2. typu. Diabetický stav způsobuje zvýšenou produkci volných radikálů, snížení antioxidační obrany a hromadění oxidačně poškozených makromolekul. U diabetiků dochází ke zvýšení oxidačního stresu spojeného s obezitou, zejména v důsledku uvolnění kyslíkových radikálů, odpojením mitochondriální respirace, aktivací leukocytů a autooxidací katecholaminů. Výsledkem je, že oxidační aktivace serinových kináz zasahuje do signalizační dráhy inzulínu a způsobuje inzulínovou rezistenci. Následné zvýšení sekrece inzulínu vede k dalšímu zvýšení oxidačního stresu a v konečném důsledku k poškození buněk sekretujících insulin a výskytu diabetu 2. typu. Vitamin E může modulovat tuto kaskádu událostí díky jeho antioxidační kapacitě a tím, že brání aktivaci proteinkinázy C (Manuel-y-Keenoy, 2007).

Suplementace antioxidanty, jako je vitamin E, může přispět ke snížení diabetické komplikace vyskytující se v mozku. Diabetici vykazují vysoký oxidační stres v důsledku přetrvávající a chronické hyperglykemie, tím je vyčerpávána aktivita antioxidačního obranného systému, a to podporuje tvorbu volných radikálů. Mozek je více citlivý na peroxidaci, protože je bohatý na polynenasycené mastné kyseliny, jeho antioxidační stav je nižší než v jiných tkáních a je to jeden z nejvíce metabolicky aktivních orgánů v těle (Baydas, 2007b).

Neurodegenerativní onemocnění

Stárnutí je hlavním faktorem neurodegenerativních onemocnění, včetně Alzheimerovy choroby (ACH), Parkinsonovy choroby (PCH) a amyotrofické laterální sklerózy. Oxidační stres může hrát důležitou roli v patogenezi těchto onemocnění (Fukui et Urano, 2007). Volné radikály mohou poškodit některé mozkové buňky, což vede ke vzniku neurodegenerativních onemocnění (Ebadi et Sharma, 2007).

Dietní suplementace vitamínu E může být účinná v boji proti neurodegenerativním onemocněním. Vitamin E může poskytnout ochranu neuronů inhibicí reaktivních kyslíkových druhů a propagací antioxidačního obranného systému neuronů a také gliových buněk. Vitamin E je první linií obrany proti peroxidaci nenasycených mastných kyselin přítomných v buněčných a subbuněčných membránových fosfolipidech (Baydas, 2007b).

Vitamin E a Koenzym Q10, které jsou lokalizovány ve vnitřní mitochondriální membráně, jsou nepostradatelní členové antioxidačního systému těla, které chrání mozek od škodlivého útoku volných radikálů a reaktivních forem kyslíku zapojených do neurodegenerace. Obě látky poskytují dopaminergní neuroprotektci Parkinsonovy choroby. Během autooxidace mitochondrií působí vitamin E jako přímý vychytávač volných radikálů, zatímco ubiquinol, redukovaná forma koenzymu Q10, regeneruje vitamin E. Koenzym Q10 jako esenciální kofaktor elektronového dopravního řetězce je důležitým v tuku rozpustným antioxidantem v mitochondriích a lipidových membránách. Z tohoto důvodu by mohlo být orální podání koenzymu Q10 a vitamínu E přínosné pro pacienty s mitochondriální poruchou, jako je PCH. Nejlepšího účinku se dosáhne, když je přítomno všech osm přírodních forem vitamínu E (Ebadi et Sharma, 2007).

Bylo navrženo, že oxidační stres a deficity v nikotinových acetylcholinových receptorech hrají důležitou roli v patogenezi ACH, nejčastějším neurodegenerativním onemocněním. Mechanismus, kterým vitamin E může chránit tyto receptory, zahrnuje ochranu proti neurotoxické β -amyloidních peptidů, zachycení volných radikálů, inhibici peroxidace lipidů a/nebo ochranu receptorových proteinů před útokem β -amyloidních peptidů nebo jiných neurotoxických faktorů (Guan, 2007).

Reprodukční systém, plod a kojenci

Vitamin E hraje rozhodující roli jak přímo, tak nepřímo na řízení mužské plodnosti. Brzy po tom, co byl vitamin E identifikován jako antisterilní faktor, byla pozorována i jeho základní úloha v reprodukci, zejména v údržbě testikulárních zárodečných buněk. Vitamin E

dokáže ovlivnit funkce několika klíčových komponentů, které se účastní reprodukčního procesu, včetně hypotalamo-hypofyzární-testikulární osy, varlat a spermií (Azhar, 2007).

Nedostatek vitamínu E často mívají předčasně narozené děti a jsou více náchylné k toxicitě kyslíku a vysoce citlivé na některé významné klinické problémy. Suplementace vitamínem E může snížit vysokou tvorbu volných kyslíkových radikálů, snížit výskyt různých novorozeneckých onemocnění u předčasně narozených dětí. Nicméně stále existují velké spory o tom, zda suplementace vitamínem E je vhodná či nikoli vzhledem ke skutečnosti, že vysoké dávky vitamínu E mohou u novorozenců zvýšit výskyt sepse a nekrotizující enterokolitidy. Proto je potřeba dalších studií pro zhodnocení možného přínosu a rizika dlouhodobého doplňování vysokých dávek vitamínu E (Ochoa et Ramirez-Tortosa, 2007).

Také u rizikového těhotenství je hladina vitamínu E nižší než u normálního těhotenství v odpovídajícím gestačním stádiu. Suplementace vitamínem E může snížit riziko komplikací matky a plodu (Baydas, 2007a).

Plicní systém

α -tokoferol se zdá být potenciálně důležitým regulátorem funkce plic a homeostázy a pozitivně reguluje protizánětlivé a antifibrogenní cesty v reakci na poškození, které vede k rozvoji plicní fibrózy (Card et Massey, 2007). Pacienti s cystickou fibrózou jsou náchylní k oxidačnímu stresu, protože nemoc je kombinací infekce, která zvyšuje produkci volných radikálů se syndromem malabsorpce, který redukuje antioxidační ochranu. Suplementace vitamínem E je užitečná pro zmírnění oxidačního stresu, kontrolu zánětu a zachování a obnovení stavu esenciálních mastných kyselin u cystické fibrózy (Wood et al., 2007). Bylo také zjištěno, že lipozomální α -tokoferol normalizoval fosfolipidové složení plic a významně inhiboval peroxidaci lipidů a indukci apoptózy, což omezuje poškození plic pod těžkou hypoxií. Došlo k normalizaci dýchání a zlepšení v kyslíkové difúzi biologickými membránami, zvýšení spotřeby kyslíku a snížení závažnosti laktátové acidózy. Všechny tyto pozitivní změny ve výsledku vedly k významnému snížení úmrtnosti zvířat s extrémně těžkou hypoxií (Minko, 2007).

Antikarcinogenní účinky

Existuje mnoho studií zabývajících se účinkem vitamínu E na snížení rizika různých typů rakovin. Je evidentní, že existují rozdíly v chemopreventivní potenci jednotlivých isoform vitamínu E vztahující se ke struktuře, kinetice, metabolismu a distribuci. Zdá se, že γ -tokoferol má větší chemopreventivní účinky než α -tokoferol (Krishnan et al., 2007).

Prozánětlivé eikosanoidy syntetizované reakcemi katalyzovanými cyklooxygenázou a lipoxygenázou hrají důležitou roli v regulaci zánětlivé reakce a podpoře vývoje rakoviny. Ve srovnání s α -tokoferolem má γ -tokoferol a jiné formy vitamínu E silnější protizánětlivou aktivitu díky inhibici cyklooxygenázou-2-zprostředkovaných reakcí. Oproti α -tokoferolu γ -tokoferol nebo jeho kombinace s δ -tokoferolem indukují buněčnou smrt v buňkách karcinomu prostaty přerušením syntézy sfingolipidů, ale nemají žádný vliv na zdravé buňky. γ -tokoferol je také lepší v zachycování reaktivních forem dusíku ve srovnání s α -tokoferolem (Jiang, 2007).

Bylo prokázáno, že vitamin E snižuje riziko jícnového spinocelulárního karcinomu, ale ne jícnového adenokarcinomu. Účinek vitamínu E na jícnový spinocelulární karcinom se zdá být silnější u mladších než u starších jedinců. Ukazuje se, že je nedostatek spojení mezi vitamínem E a rakovinou žaludku. Ačkoli některé studie prokázaly inverzní vztah mezi příjmem nebo výchozími hladinami vitamínu E s rakovinou tlustého střeva, jiným se nepodařilo potvrdit tyto asociace. Proto je vztah mezi vitamínem E a rakovinou tlustého střeva nejistý (Kamangar, 2007).

Kůže

Kůže je vystavena oxidativnímu stresu vyvolanému ultrafialovým zářením, chemikáliemi a plyny z životního prostředí. Oxidační stres přímo poškozuje epidermální keratinocyty, které pak mění charakter. Předpokládá se, že α -tokoferol funguje jako posilovač antioxidačního obranného systému kůže díky tomu, že zlepšuje syntézu redukovaného glutathionu v keratinocytech (Masaki et Sakurai, 2007). Existuje značné množství důkazů podporujících používání α -tokoferolu pro fotoprotekci, bulózní epidermolýzu a syndrom žlutých nehtů (White et Higgins, 2007). Samotný α -tokoferol ale není určujícím faktorem pro individuální fotosenzitivitu lidí. Selektivní ochranu pokožky proti UV záření může přinášet kombinace antioxidantů a extraktů (v prostředcích ke slunění a orálních aplikacích), která je užitečným nástrojem pro prevenci chronického poškození kůže (Greul, 2007).

Játra

Chronické poškození jater, zejména pokud je vyvolané etanolem, souvisí s nerovnováhou mezi prooxidačními a antioxidačními vlivy. Jestliže poškození již začalo, je obecně progresivní, a mělo by proto být zastaveno nebo sníženo. Vitamin E by mohl modulovat různé metabolické kroky zahrnuté v progresi onemocnění jater, zejména fibrózu, a to ne pouze tehdy, když je alkohol jediný faktor, ale i v jiných podmínkách, kdy je alkohol kofaktorem poškození jater (Loguercio et Federico, 2007). Studie na zvířatech prokázaly, že vitamin E má vliv na oxidační stres, což vede ke snížení zánětlivé kaskády, a tím k potlačení procesu fibrogenese. Metabolické cesty lidí a zvířat nejsou vždy podobné a v lidském organismu tento účinek není vždy zřejmý, i když byla nalezena tendence vitaminu E být ochranným faktorem v progresi cirhózy (Koek et al., 2007).

Ostatní onemocnění

Dietní příjem vitaminu E, doplňující příjem vitaminu E a vysoká hladina tokoferolů v séru mohou být významně spojeny se snížením rizika s věkem souvisejícího šedého zákalu (Zhang et al., 2015).

Can et al. (2002) zkoumali účinek vitaminu E na vaskulární endoteliální dysfunkce spojené se zvýšenou hladinou homocysteinu v séru krys s artritidou. Studie ukazuje, že vitamin E zlepšuje nejen klinické aspekty artritidy, ale také vede k normalizaci zvýšené hladiny homocysteinu v séru a snižuje na endotelu závislé uvolňující reakce.

Je známá potenciální příznivá role vitaminu E ve zmírňování oxidačního stresu při fyzické námaze a v rychlém zotavení z únavy po cvičení. Suplementace vitaminem E s vitaminem C pro podporu regenerace je vhodný přístup ke snížení jak únavy po cvičení, tak i svalové bolestivosti a poškození (Devi, 2007). K závěru, že příjem těchto vitaminů pomůže zabránit či omezit námahové svalové poškození, však není dostatek důkazů (Dawson et Goodman, 2007).

Účinky vitaminu E byly také sledovány v tělech kuřáků, kteří mají zhoršený antioxidační status, profily lipidů a endoteliální funkce kvůli zvýšenému oxidačnímu stresu ve srovnání s nekuřáky. Suplementace tokoferolů zlepšuje antioxidační status a endoteliální funkce, zvyšuje oxidační odolnost a dále snižuje oxidační poškození v tělech kuřáků.

Tokoferolový antioxidační koktejl podává zřetelnější důkazy o antioxidační obranné schopnosti proti oxidačnímu poškození než suplementace jediného tokoferolu (Chao, 2007).

Cigaretovým kouřem vyvolané oxidační poškození proteinů, lipidů a DNA je dnes přesvědčivě propojeno s několika degenerativními onemocněními kuřáků. Vitamin C vypadá slibně v prevenci tohoto oxidačního poškození vyvolaného cigaretovým kouřem. I když vitamin E nedokáže účinně zabránit oxidaci proteinů vyvolané cigaretovým kouřem, zdá se být účinný v prevenci peroxidace lipidů způsobené cigaretovým kouřem. Je také probírán jeho podíl jako silného antioxidantu proti cigaretovým kouřem indukovanému oxidačnímu poškození DNA. Zdá se, že adekvátní příjem kombinace vitamínu C a vitamínu E může významně pomoci kuřákům, aby se vyhnuli degenerativním onemocněním způsobeným kouřením (Panda et Chatterjee, 2007).

Vitamin E má schopnost chránit membrány před škodlivými účinky mykotoxinů. Mykotoxiny iniciují a produkují volné radikály, které vedou k peroxidaci lipidů. Mnoho volných radikálů je vychytáváno intracelulárními enzymy, jako jsou superoxiddismutáza, kataláza a glutathion peroxidáza. V případě velmi vysokého množství toxinu si ale intracelulární lapače nestačí poradit s vysokým množstvím vytvořených volných radikálů. Z tohoto důvodu hrají exogenní antioxidanty klíčovou roli při vychytávání volných radikálů (Jaradat, 2007).

Přestože je většina studií zaměřena na účinek tokoferolů, je zkoumán také vliv tokotrienolů na zdraví člověka. Mezi blahodárné zdravotní účinky tokotrienolů například patří jejich antikarcinogenní účinky, vlastnosti snižující LDL cholesterol, antiangiogenní potenciál a schopnost snižovat monocytární-endoteliální buněčné adheze. Tokotrienoly vykazují silnější antioxidační vlastnosti než tokoferoly. Velká suplementace α -tokoferolem může způsobit snížení dalších forem vitamínu E (Yamashita, 2007).

3.2.5 Přírodní zdroje

Důležité zdroje vitamínu E v lidské dietě jsou rostlinné oleje a dále také obilná zrna. Jeden z nejbohatších přírodních zdrojů vitamínu E je olej z pšeničných klíčků, který má nejvyšší obsah α -tokoferolu ($0,85 - 1,25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) (Combs, 1992; Ottaway, 1993). Ořechy a semínka představují jeden z nejvíce koncentrovaných zdrojů vitamínu E po rostlinných olejích. Z běžně konzumovaných ořechů mají nejvyšší obsah α -tokoferolu mandle (Eitenmiller et Lee, 2004). Kokosové ořechy, kokosové máslo a palmojádrový olej obsahují nízké množství vitamínu E (Eitenmiller et Lee, 2004). Chudším zdrojem vitamínu E je také lněný olej (Ottaway, 1993). Zelenina a ovoce obecně obsahují málo vitamínu E. Aktivita vitamínu E hrachu a fazolí je nízká vzhledem k převaze β -tokoferolu (Bramley et al., 2000). Vitamin E je obsažen i v mase, a to především v tučných částech (Institute of Medicine (US), 2000).

Tokotrienoly se obvykle v potravinách vyskytují v malém množství nebo vůbec. Jsou obsaženy v některých ořeších, jako jsou pistácie, makadamové a kešu ořechy (Eitenmiller et Lee, 2004). Znatelné množství tokotrienolů má z celosvětově nejvíce konzumovaných olejů pouze palmový olej (Eitenmiller et Lee., 2004). Zdrojem tokotrienolů jsou dále pšeničné klíčky, rýžové otruby nebo ječné otruby (Yamashita, 2007). Některé obilniny, zejména oves, žito a ječmen, jsou dobrým zdrojem tokotrienolů (Bramley et al., 2000). Mezi další rostlinné zdroje vitamínu E patří palmové listy, salát, vojtěška a kaučukové mléko (Quek et al., 2007).

Některé potraviny jsou bohaté na γ -tokoferol, zatímco jiné jsou bohaté na α -tokoferol. Dietní návyky Japonců a Američanů zahrnují příjem většího množství γ -tokoferolu než α -tokoferolu, ale Evropané konzumují o něco více α -tokoferolu než γ -tokoferolu. α -tokoferol je primární forma vitamínu E v lidském a zvířecím organismu (Yamashita, 2007). Jak již bylo dříve uvedeno α -tokoferol má nejvyšší biologickou aktivitu. V potravinách živočišného původu tvoří téměř celou aktivitu vitamínu E. V rostlinných semínkových olejích se objevují ostatní isomery ve stejném množství (Machlin, 1991). Některé rostlinné oleje, jako je olivový, světlicový a slunečnicový olej, jsou bohaté na α -tokoferol, ale další oleje jako, sezamový, sójový, kukuřičný a řepkový, jsou bohaté na γ -tokoferol (Yamashita, 2007). V sójovém oleji představuje α -tokoferol pouze 8 – 10 % z celkových tokoferolů, ale i tak reprezentuje hlavní podíl biologické aktivity (Machlin, 1991). Obsah tokoferolů v kukuřičném a sójovém oleji tvoří ze 77 % a 70 % γ -tokoferol, ze 2 % a 23 % δ -tokoferol a ze 14 % a 7 % α -tokoferol, v daném pořadí (Saldeen et Saldeen, 2005).

Některé potraviny, jako například mléčné produkty mohou vykazovat sezónní odlišnosti v obsahu vitamínu E díky různému dietnímu příjmu vitamínu E zvířetem. Obsah vitamínu E je vyšší s příjmem čerstvé píče (Combs, 1992).

Obsah vitamínu E v rostlinách se liší v závislosti na růstových podmínkách, jako jsou intenzita slunečního světla a stav půdy (Ottaway, 1993). Záleží také na kultivaru, zralosti, růstu, sklizni a tržních podmínkách. Vitamin E je více koncentrovaný v listech než v kořenech a stonkách. Hladina vitamínu E je větší ve tmavě zelených listech ve srovnání se světle zelenými. Jeho hodnoty jsou vyšší v dospělých listech než v malých nezralých listech (Eitenmiller et Lee, 2004).

3.2.6 Vliv zpracování na obsah vitamínu E

Proces zpracování potravin a krmiv může redukovat obsah vitamínu E, nepříznivá je zejména peroxidace lipidů. Ošetření, které může vést k destrukci vitamínu E, je sušení v přítomnosti slunečního světla a vzduchu, přidavek organických kyselin, mletí a rafinace, ozáření a konzervování (Combs, 1992). Také během skladování a vaření potravin často dochází k významným ztrátám. Například při dvoutýdenním skladování bramborových chipsů při pokojové teplotě dochází ke 48% ztrátám tokoferolu. Během skladování rostlinných olejů jsou ztráty tokoferolu většinou minimální, ale během vaření mohou být značné (Machlin, 1991). Prudké smažení může způsobit přibližně 10% ztráty vitamínu E, skladování smažených potravin i při nízkých teplotách (-12 °C) může vyústit ve významné ztráty (Ottaway, 1993).

Rafinované a zpracované potraviny jsou obvykle vystaveny světlu, teplu nebo kovovým iontům, které mohou způsobit strukturální degradaci jejich lipidické složky spuštěním procesu oxidace lipidů. Rychlost oxidace lipidů v potravinách závisí na koncentraci a druhu polynenasycených mastných kyselin, množství a účinnosti antioxidantů v potravinách a podmínkách zahřívání, zpracování a skladování, kterým jsou vystaveny, nebo také zlepšením obalové techniky a materiálů. Hydrolytické reakce mohou být minimalizovány skladováním v chladném a tmavém prostředí nebo opatrným zpracováním, ale autooxidaci za těchto podmínek není zabráněno (Bramley et al., 2000).

3.2.7 Vitamin E jako antioxidant v tucích

α -tokoferol (neesterifikovaný) se často používá jako antioxidant ke stabilizaci živočišných tuků, které mají mnohem nižší obsah vitamínu E než rostlinné oleje. V nepřítomnosti antioxidantů podléhají nenasycené tuky autooxidaci za vzniku hydroperoxidů. Ty se rozkládají za vzniku různých těkavých látek, jako jsou aldehydy a ketony, které produkují nepříjemný zápach a žluklou chuť (Ball, 2006).

Jedlé oleje a tuky jsou velmi náchylné k poškození. Žluknutí je obecně používaný termín popisující nepříjemnou chuť a zápach, které jsou důsledkem degradace tuků. Tuk se mohou zkazit hydrolyzou, což má za následek formaci volných mastných kyselin, polymerizací vzniklou kvůli vystavení tuků vysokým teplotám a autooxidací, při které jsou oxidovány hlavně nenasycené mastné kyseliny v přítomnosti kyslíku. Autooxidaci lze zpomalit několika způsoby. Snižováním spotřeby energie (světlo, teplo) na minimum neboli uchováváním tuků na chladném a temném místě. Dále zamezením kontaktu se stopami těžkých kovů. Pomůže také vyloučení kyslíku, kterého lze dosáhnout za pomoci látek vychytávajících kyslík, například kyselinou askorbovou. Přínosné je i odstranění volných radikálů před tím, než mohou reagovat. Vychytávače radikálů, kterými jsou například tokoferoly, mohou inaktivovat radikály, a tím přerušit řetězovou reakci. Je nezbytné, aby antioxidanty a synergenty byly do olejů a tuků přidány co nejdříve, ideálně ještě před tvorbou peroxidu (Ottaway, 1993).

3.2.8 Stanovení tokoferolů a tokotrienolů v potravinách

Vitamin E byl v potravinách tradičně stanovován kolorimetricky po reakci s chloridem železitým. Vzorke se zmýdelňovaly, aby byly odbourány lipidy. Tato metoda je však náchylná k mnoha vlivům a je náročná na práci. Poměrně úspěšně byla dále používána plynová chromatografie, ale nevýhodou této metody je opět zdlouhavá příprava vzorku a byl problém se separací β a γ -tokoferolů. Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC) nyní nabízí poměrně rychlé a spolehlivé prostředky pro separaci a stanovení tokoferolů a tokotrienolů v potravinách. Většinou se používá normální fáze HPLC s fluorescenčním detektorem (Ottaway, 1993).

Vysoce účinná kapalinová chromatografie separuje látky na základě jejich rozdělení mezi mobilní (kapalina) fázi a stacionární (pevná látka kolony) fázi. Vzorek se rozpustí a je nesen přes kolony rozpouštědly (mobilní fázi), jako je methanol, voda nebo acetonitril. HPLC

na normální fázi používá polární stacionární fázi (například kolony na bázi oxidu křemičitého) a méně polární rozpouštědla (mobilní fázi). Hydrofobní organické sloučeniny eluují rychleji než hydrofilní látky. HPLC na reverzní fázi používá nepolární stacionární fázi (obvykle oxid křemičitý), na které jsou připojeny hydrofobní alkylové řetězce. Hydrofilní sloučeniny se vymývají rychleji než hydrofobní sloučeniny. K separaci vitamínu E je možné použít izokratickou nebo gradientovou eluci. Izokratická eluce se provádí za použití konstantního složení mobilní fáze. Může to být jediné rozpouštědlo nebo směs rozpouštědel. U gradientové eluce dochází během vymývání ke změně složení mobilní fáze. Typicky je nejprve vstříkována slabší mobilní fáze a postupně se síla mobilní fáze zvyšuje tím, že se zvýší množství organického rozpouštědla ve směsi (Burri, 2007).

Normální fáze HPLC je schopna separovat isokraticky všech osm neesterifikovaných tokoferolů a tokotrienolů, které se vyskytují v přírodě, a může být využita při stanovení distribuce E vitamérů v tucích, olejích a potravinách. E vitamery jsou od sebe odděleny adsorpční chromatografií v závislosti na počtu methylových skupin na jejich chromanových kruzích. Se zvýšením počtu methylových skupin je molekula více hydrofobní, a proto vykazuje menší retenci. Různě umístěné methylové skupiny dodávají různé sterické účinky fenolickým skupinám, ovlivňují interakce se silanolovými skupinami siliky. Kromě toho dvojně vazby v postranním řetězci tokotrienolů činí tyto molekuly polárnější než odpovídající tokoferoly. Eluční sekvence s použitím chromatografie na normální fázi je α -tokoferol (T), α -tokotrienol (T3), β -T, γ -T, β -T3, γ -T3, δ -T, δ -T3 (Ball, 2006).

Byly použity postupy reverzní fáze, ale je problém s oddělením β a γ -tokoferolů (Ottaway, 1993).

Detektor je zvolen tak, aby vydával odpověď, když jsou eluovány sledované molekuly vzorku. Jeho signály jsou transformovány do píků, které jsou znázorněny na chromatogramu. Mezi detektory, které se používají k detekci vitamínu E, patří fluorescenční, ultrafialové a elektrochemické detektory. Ultrafialové (UV) detektory měří schopnost vzorku absorbovat světlo při specifické vlnové délce. UV detektor má citlivost asi $10^{-11} - 10^{-12} \text{ g.l}^{-1}$. Fluorescenční detektor měří schopnost sloučenin vzorku absorbovat a potom znovu vyzařovat světlo při daných vlnových délkách. Fluorescenční detektory mají citlivost kolem $10^{-12} - 10^{-14} \text{ g.l}^{-1}$. Elektrochemické detektory měří sloučeniny, které získají nebo ztratí elektrony, když procházejí mezi elektrodami (rozdíl v elektrickém potenciálu). Elektrochemické detektory mají citlivost $10^{-14} - 10^{-16} \text{ g.l}^{-1}$ (Burri, 2007).

Při UV detekci je nevýhodou nedostatek citlivosti a přesnosti a špatné výsledky získané v jednotných studiích. Více žádoucí se proto ukázala fluorescenční detekce (Ottaway, 1993).

Komplexní potravinové matrice vyžadují důkladnější počáteční extrakci před oddělením celkových lipidů do hexanu. Fluorescenční detekce je obvykle vyžadována, pokud je analyzována celková lipidová frakce, protože absorbanční detekce odhaluje píky lipidového původu, které interferují s píky E vitamérů. V případě, že je vzorek zmýdelněn, detekce absorbance může být využita vzhledem k tomu, že hexanové extrakty nezmýdelnitelné látky jsou obvykle bez rušivého lipidům podobného materiálu. Pro analýzu zmýdelněných vitamínem E doplněných potravin poskytuje fluorescenční detekce mnohem vyšší citlivost, protože uvolněný α -tokoferol fluoreskuje silněji než α -tokoferyl acetát (Ball, 2006).

Pokud je třeba znát biologickou aktivitu vitamínu E, je důležité individuálně kvantifikovat jednotlivé formy, protože mají různou biologickou aktivitu (Ottaway, 1993).

Analýza vitamínu E byla provedena také pomocí kapilární elektrochromatografie, která kombinuje nejlepší vlastnosti HPLC a kapilární elektroforézy, jako je vysoká selektivita a vysoká účinnost. Na rozdíl od HPLC, kde je za účelem doručit mobilní fázi a analyty k detektoru aplikován tlakem poháněný parabolický průtok, v kapilární elektrochromatografii je řídicí silou elektroosmotický tok, vyznačující se plochým profilem, který významně přispívá k vysoké účinnosti. Tato metoda by mohla být dobrou alternativou k HPLC díky lepší účinnosti a nižší ceně. Kromě toho by do budoucna mohla být vhodnou metodou také nano-kapalinová chromatografie (Fanali, 2007).

Vitamin E je citlivý na teplo, světlo a kyslík, proto je vhodné minimalizovat nebo regulovat tyto faktory při analýze (Burri, 2007).

4 Materiál a metody

4.1 Materiál a přístroje

4.1.1 Vzoroký ořechů

Ke sledování změn v obsahu tokolů během skladování suchých skořápkových plodů byly zvoleny vlašské ořechy, lískové ořechy a mandle. Tyto druhy byly vybrány proto, že patří mezi nejběžnější ořechy, které jsou v Česku k dispozici. Všechny ořechy byly koupeny ve skořápce. Mandle původem z USA byly pořízeny v hypermarketu Globus Čakovice. Původní vlašské a lískové ořechy byly koupeny na farmářském trhu v Praze na Kubánském náměstí, ořechy byly české z oblasti Podřipska. Byly skladovány v plastových uzavíratelných sáčcích. Tyto vlašské a lískové ořechy byly z analýzy později vyřazeny, protože se v nich v průběhu experimentu vyskytla plíseň. Nové ořechy byly koupeny v zahradnictví SAFRO Praha Stodůlky. Lískové ořechy byly původem z Francie a vlašské ořechy z ČR. Skladovány byly v papírových sáčcích. Mandle napadeny plísní nebyly, proto se pokračovalo v jejich analýze po dobu celého experimentu, byly ale přendány z původních plastových sáčků do papírových.

Ořechy byly skladovány za různých podmínek. Každý druh ořechů byl rozdělen do čtyř skupin. Část ořechů byla skladována v mrazicím boxu (M) (-20 °C), část v lednici (L) (4 – 6 °C) a část za pokojové teploty, a to buď v loupané (PL), nebo neloupané (PN) formě. Ořechy, které byly skladovány v lednici a mrazicím boxu, byly zbaveny skořápky. Skupina loupaných i neloupaných ořechů uchovávaných v pokojové teplotě byla skladována v temnu ve skříni.

4.1.2 Použité chemikálie

Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a.

- standard DL- α -tokoferol, 98,2 % (GC, CALBIOCHEM, Kanada)
- standard tokoferol-set (CALBIOCHEM, Kanada)
- propan-2-ol (99,98 %, Lachner, ČR)
- methanol pro HPLC (Lachner, ČR)
- deionizovaná voda (odpor = 18,2 MQ)

4.1.3 Použité přístroje a pomůcky

Přístroje:

- kapalinový chromatograf Ultimate 3000 RS (Dionex, USA) s fluorescenčním detektorem
- ultrazvuková lázeň (Notus – Powersonic, Slovensko)
- laboratorní odstředivka 58IOR (Eppendorf, Německo)
- kávomlýnek SMK 150 B (Gorenje, Slovinsko)
- analytické váhy (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- mrazicí box (Liebherr Med iline, Německo)
- lednice (Candy, Itálie)

Pomůcky:

- běžné laboratorní sklo a pomůcky
- zkumavka PP typ Falcon (50 ml)
- HPLC krimpovací vialka (2 ml)
- injekční stříkačka HSW (objem 3 ml)
- nylonový membránový filtr ϕ 13 mm, 0,22 μ m (Chromservis, ČR)
- automatická pipeta Socorex Acura 835

4.2 Metodika

4.2.1 Příprava vzorku k analýze

Ve stejný den byly odebrány vzorky ze všech skupin ořechů skladovaných za různých podmínek. Skupina ořechů, která byla skladována ve skořápce, byla nejprve vylouskána. Ořechy (3-5 kusů) byly důkladně rozmixovány v elektrickém kávomlýnku až do homogenní práškové konzistence.

4.2.2 Extrakce a přečištění

Do PP zkumavek s uzávěrem bylo naváženo 0,3 g jednotlivých vzorků ořechů a následoval přídavek 10 ml propan-2-olu. Zkumavky byly jemně protřepány a umístěny na 10 minut do ultrazvukové lázně. Dále byly vzorky přeneseny do centrifugy nastavené na

5 minut, 20 °C a 8000 otáček, za účelem odstředění pevných částic. Supernatant byl následně přelit do nových zkumavek tak, aby usazenina zůstala v původních zkumavkách, a do původních zkumavek s rostlinným materiálem bylo opět napipetováno 10 ml propan-2-olu a zkumavky byly opakovaně umístěny do ultrazvukové lázně a následně odstředěny. Zkumavky byly doplněny propan-2-olem na konečný objem 50 ml. Po dokončení extrakce byly vzorky umístěny na dvě hodiny do mrazicího boxu k oddělení tukové složky. Dále byly zkumavky opět odstředěny v cetrifuze (5 minut, 8000 otáček, -9 °C). Výsledný supernatant byl filtrován přes membránový filtr do vialek z tmavého skla, které chrání vzorek před světlem. Každý vzorek byl analyzován ve dvou opakováních.

4.2.3 Vlastní analýza vitamínu E metodou HPLC

Vzorky připravené ve vialkách z tmavého skla byly umístěny do kapalinového chromatografu Ultimate 3000 RS (Dionex, USA) s fluorescenčním detektorem (excitační vlnová délka $\lambda = 292$ nm, emisní vlnová délka $\lambda = 330$ nm). Pro separaci jednotlivých složek byla použita kolona Develosil 5u RPAQUEOUS (250 x 4,5 mm), (Phenomenex, USA). Mobilní fáze byla tvořena směsí voda:metanol v poměru 3:97, (v/v). Průtok mobilní fáze byl nastaven na rychlost 1 ml.min⁻¹. Nástřikový objem byl 10 μ l. Stanovení probíhalo po dobu 30 minut za teploty kolony 30 °C.

4.3 Časový průběh analýzy vzorků ořechů

Vstupní analýza byla provedena 24.11.2014. Ve vzorcích lískových a vlašských ořechů se v průběhu skladování objevila plíseň, a byly proto vyřazeny z dalšího měření a nahrazeny novými lískovými a vlašskými ořechy. Vstupní měření nových ořechů bylo provedeno 4.2.2015. Ořechy byly dále pravidelně analyzovány přibližně po dvou měsících, pouze závěrečné měření bylo uskutečněno po 5 měsících, viz tabulka 5.

Tabulka 5 Časové rozložení analýzy vitamínu E

Datum měření	Mandle	Vlašské a lískové ořechy
24.11.2014	Vstupní analýza	-
4.2.2015	72. den	Vstupní analýza
14.4.2015	141. den	69. den
15.6.2015	203. den	131. den
11.8.2015	261. den	189. den
13.10.2015	324. den	252. den
11.1.2016	414. den	342. den
20.6.2016	575. den	503. den

4.4 Statistické vyhodnocení

Experimentálně získaná data byla zpracována v programu Statistica 12.0 (StatSoft). Bylo provedeno statistické vyhodnocení rozdílu obsahu jednotlivých forem tokoferolů v závislosti na způsobu skladování mandlí, vlašských ořechů a lískových ořechů a také vyhodnocení změn obsahu tokolů ve skořápkových plodech během skladování. Statistická významnost byla testována metodou jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Pro porovnání jednotlivých způsobů skladování byl použit Scheffeho test. Pro každou formu tokolů a celkový obsah vitamínu E byl dále vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka. Grafy byly vytvořeny v programu Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft, USA).

5 Výsledky

5.1 Obsah jednotlivých tokoferolů

α -tokoferol

α -tokoferol byl naměřen ve všech vzorcích ořechů z první série. Vlašské ořechy měly nejnižší obsah α -tokoferolu ve srovnání s ostatními druhy a ve vlašských ořeších koupených ve druhé sérii v zahradnictví SAFRO byl obsah α -tokoferolu pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Mandle a lískové ořechy obsahovaly významné množství α -tokoferolu. Mandle obsahovaly o něco vyšší množství α -tokoferolu než lískové ořechy. Poměrné zastoupení jednotlivých forem tokoferolů ve vybraných druzích suchých skořápkových plodů (výchozí analýza 24.11.2014) znázorňuje graf 1. Hodnoty naměřených tokoferolů jsou uvedeny v tabulce 6.

β -tokoferol

Obsah β -tokoferolu byl ve všech druzích ořechů velmi nízký v porovnání s ostatními tokoferoly. β -tokoferol byl stanoven pouze v lískových ořeších. Obsahy β -tokoferolu v mandlích a ve vlašských ořeších byly vždy pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), viz tabulka 6.

γ -tokoferol

γ -tokoferol byl stanoven ve všech třech druzích suchých skořápkových plodů. Významné množství obsahovaly vlašské ořechy. Vlašské ořechy z druhé série vzorků (zahradnictví SAFRO) měly více než 10x vyšší obsah γ -tokoferolu oproti ostatním druhům ořechů a obsah γ -tokoferolu ve vlašských ořeších z první série (farmářský trh) byly dokonce až 20x vyšší než v mandlích a lískových ořeších, viz tabulka 6 a graf 1. V mandlích a lískových ořeších byl obsah γ -tokoferolu podobný.

δ -tokoferol

Nejvyšší množství δ -tokoferolu bylo naměřeno ve vlašských ořeších. V mandlích byl obsah δ -tokoferolu velmi nízký a v lískových ořeších byl pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), viz tabulka 6 a graf 1. Obsah δ -tokoferolu ve vlašských ořeších z druhé série vzorků byl přibližně o 40 % nižší než ve vlašských ořeších z první série.

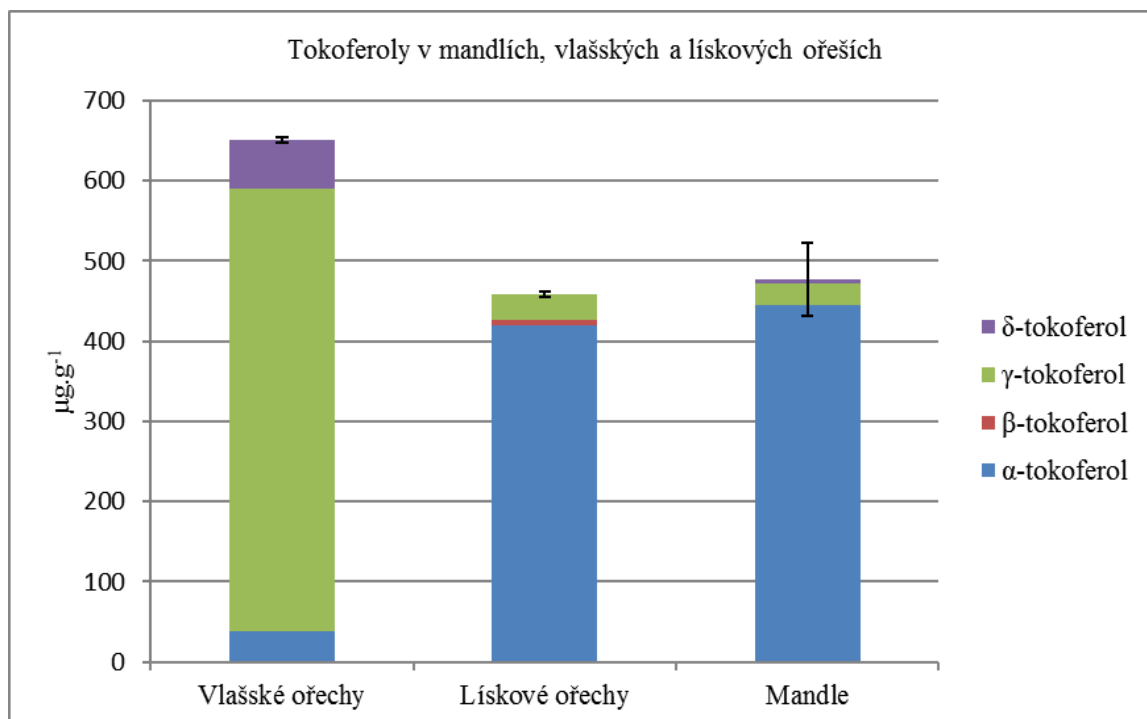
Tokotrienoly

Ani v jednom z analyzovaných druhů suchých skořápkových plodů nebyl zjištěn žádný z tokotrienolů. Všechny obsahy tokotrienolů byly pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Tabulka 6 Obsahy jednotlivých forem tokoferolů ve vybraných suchých skořápkových plodech na počátku sledování

Druh ořechů	α -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	β -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	γ -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	δ -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Vitamin E [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]
Výchozí analýza 24.11.2014					
Vlašské ořechy	37,98 \pm 4,93	$<3,333$	551,4 \pm 1,89	61,77 \pm 0,13	651,1 \pm 3,17
Lískové ořechy	419,8 \pm 3,00	7,223 \pm 0,07	31,74 \pm 0,79	$<3,333$	458,8 \pm 3,72
Mandle	445,0 \pm 46,3	$<3,333$	26,74 \pm 0,02	5,572 \pm 0,37	477,3 \pm 45,9
Výchozí analýza 4.2.2015					
Vlašské ořechy	$<3,333$	$<3,333$	359,2 \pm 1,09	36,59 \pm 0,01	395,8 \pm 1,08
Lískové ořechy	361,0 \pm 7,22	5,939 \pm 0,22	17,39 \pm 0,89	$<3,333$	384,3 \pm 6,55

Graf 1 Zastoupení jednotlivých tokoferolů ve vybraných druzích skořápkových plodů



5.2 Stabilita vitamínu E v suchých skořápkových plodech

Stabilita vitamínu E byla sledována ve vlašských a lískových ořeších ze zahradnictví SAFRO, protože původní vzorky z farmářského trhu byly napadeny plísní, a proto musely být nahrazeny novými vzorky. To se netýká mandlí, u kterých se plíseň nevyskytla, a proto byly ponechány pro další měření.

5.2.1 Vlašský ořech

Opakovaná vstupní analýza ze dne 4.2.2015 potvrdila, že vlašské ořechy mají vysoký obsah γ -tokoferolu. Množství δ -tokoferolu bylo také významné. Naopak α -tokoferol a β -tokoferol byly pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), viz tabulka 6.

Po 503denním skladování vlašských ořechů došlo ve všech vzorcích skladovaných za různých podmínek ke statisticky významnému poklesu γ -tokoferolu (graf 2 a tabulka 7). Naopak pokles obsahu δ -tokoferolu nebyl statisticky významný (graf 3 a tabulka 8). Tabulka 9 uvádí, o kolik procent jsou hodnoty tokoferolů v závěrečné analýze vlašských ořechů (503. den) nižší oproti vstupním hodnotám. γ -tokoferol poklesl o 22,95 % (PN), 38,74 % (PL), 29,46 % (L) a o 22,07 % (M). δ -tokoferol po 503 dnech skladování vlašských ořechů poklesl o 10,11 % (PN), 21,60 % (PL), 16,72 % (L) a o 6,73 % (M).

Jak ukázalo statistické vyhodnocení porovnávající konečné hodnoty γ -tokoferolu ve vlašských ořeších skladovaných za různých podmínek, rozdíl v množství γ -tokoferolu v různě skladovaných vzorcích byl statisticky významný. Následný Scheffeho test prokázal statisticky významný rozdíl mezi všemi vzorky skladovanými za různých podmínek s výjimkou vzorků skladovaných v mrazicím boxu a těmi skladovanými ve skořápce. Největší degradace γ -tokoferolu byla zjištěna ve vzorcích loupaných vlašských ořechů skladovaných v pokojové teplotě. Nejvyšší obsah γ -tokoferolu vykazovaly vzorky skladované v mrazicím boxu nebo ve skořápce, viz graf 2 a tabulka 7.

Rozdíly v obsahu δ -tokoferolu v různě skladovaných vlašských ořeších nebyly statisticky významné.

Tabulka 7 Obsah γ -tokoferolu ve vlašských ořeších v průběhu skladování

VLAŠSKÝ OŘECH – γ -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]				
Dny	PN	PL	L	M
0	359,2±1,09	359,2±1,09	359,2±1,09	359,2±1,09
69	278,3±10,0	303,0±10,8	296,0±4,75	309,0±1,32
131	206,5±2,81	238,9±1,32	220,4±4,40	212,1±0,91
189	225,1±10,1	190,6±0,51	212,6±7,50	226,0±3,88
252	235,8±3,93	220,3±0,44	260,2±3,05	237,6±5,25
342	260,7±5,89	242,7±10,1	263,4±0,08	273,0±7,58
503	276,8±1,58	220,1±3,22	253,4±2,02	279,9±0,37

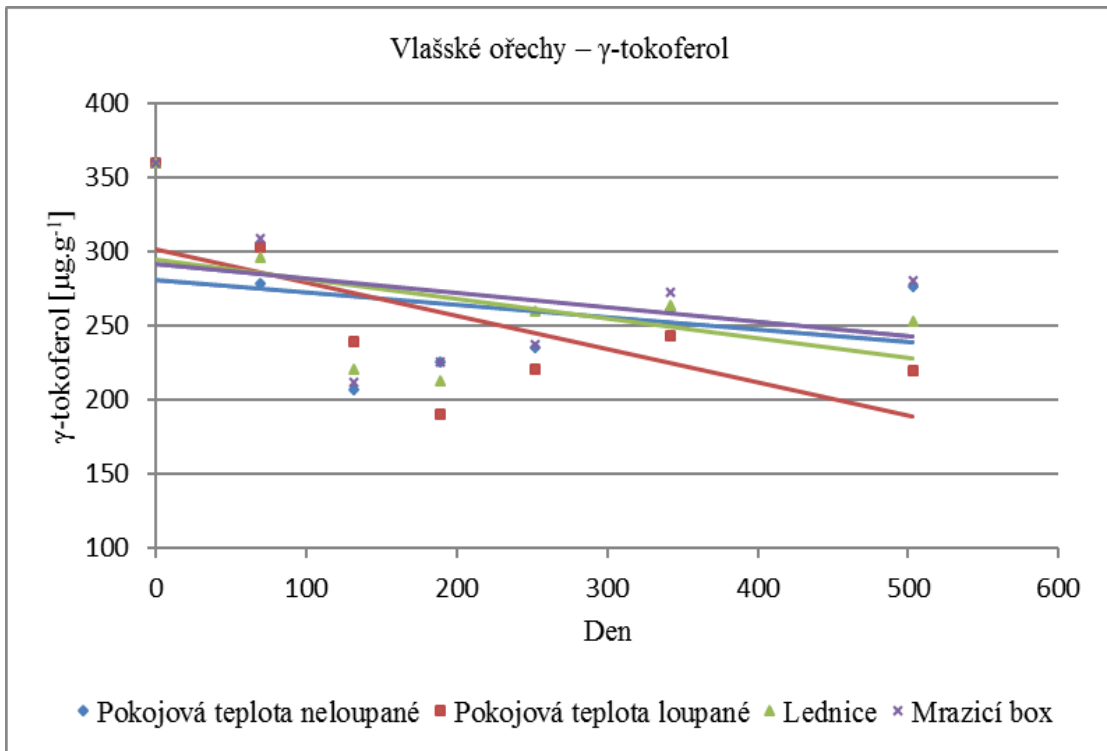
PN = pokojová teplota neloupané, PL = pokojová teplota loupané, L = lednice, M = mrazák

Tabulka 8 Obsah δ -tokoferolu ve vlašských ořeších v průběhu skladování

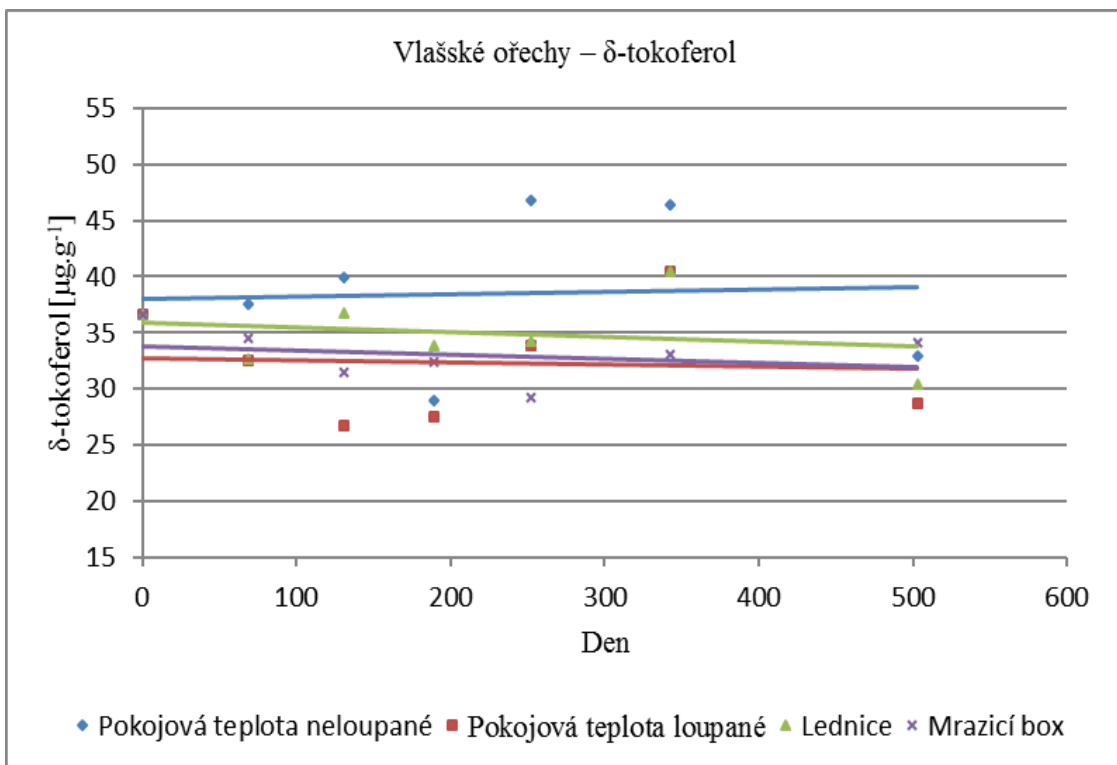
VLAŠSKÝ OŘECH – δ -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]				
Dny	PN	PL	L	M
0	36,59±0,01	36,59±0,01	36,59±0,01	36,59±0,01
69	37,50±5,49	32,49±0,87	32,70±0,45	34,50±1,79
131	39,91±0,74	26,67±0,67	36,82±1,54	31,45±0,44
189	28,95±0,37	27,59±1,18	33,81±2,73	32,36±0,42
252	46,85±1,03	33,83±0,20	34,19±1,33	29,19±2,47
342	46,40±1,65	40,47±4,46	40,48±4,65	33,01±3,61
503	32,89±2,28	28,68±3,65	30,47±2,31	34,12±1,50

PN = pokojová teplota neloupané, PL = pokojová teplota loupané, L = lednice, M = mrazák

Graf 2 Obsah γ -tokoferolu ve vlašských ořeších skladovaných za různých podmínek v závislosti na době skladování



Graf 3 Obsah δ -tokoferolu ve vlašských ořeších skladovaných za různých podmínek v závislosti na době skladování



Tabulka 9 Procentuální pokles tokoferolů po 503 dnech skladování vlašských ořechů

VLAŠSKÉ OŘECHY – pokles tokoferolů [%]			
Způsob skladování	γ -tokoferol	δ -tokoferol	Vitamin E*
Pokožová teplota neloupané	22,95	10,11	21,76
Pokožová teplota loupané	38,74	21,60	37,15
Lednice	29,46	16,72	28,28
Mrazicí box	22,07	6,73	20,66

* Vypočteno ze součtu všech naměřených tokolových forem.

5.2.2 Lískový ořech

V lískových ořeších na rozdíl od vlašských ořechů výrazně převládá α -tokoferol. V menší míře je zastoupen γ -tokoferol a ve velmi malém množství β -tokoferol. δ -tokoferol byl pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), viz tabulka 6.

Během skladování lískových ořechů došlo ke statisticky významnému poklesu α -tokoferolu a γ -tokoferolu, ale β -tokoferol byl skladováním ovlivněn minimálně, viz tabulka 10-12 a graf 4-6. Procentuální pokles tokoferolů po 503 dnech skladování lískových ořechů je uveden v tabulce 13. α -tokoferol poklesl o 26,30 % (PN), 24,76 % (PL), 13,82 % (L) a o 16,32 % (M). γ -tokoferol poklesl o 32,84 % (PN), 56,85 % (PL), 30,34 % (L) a o 33,76 % (M).

Grafy 4 a 6 ukazují, že nejvyšší obsah α -tokoferolu a γ -tokoferolu měly na konci experimentu vzorky lískových ořechů skladované v lednici. Nicméně rozdíly v obsahu α -tokoferolu a γ -tokoferolu v lískových ořeších skladovaných za různých podmínek byly podle analýzy rozptylu porovnávací výchozí a závěrečné hodnoty tokoferolů na hranici statistické významnosti. Scheffeho test neprokázal statisticky významné rozdíly v obsahu tokoferolů mezi jednotlivými vzorky skladovanými za různých podmínek. Hodnoty β -tokoferolu jsou v lískových ořeších velmi nízké a odlišnosti mezi různě skladovanými vzorky nejsou statisticky významné.

Tabulka 10 Obsah α -tokoferolu v lískových ořeších v průběhu skladování

LÍSKOVÝ OŘECH – α-tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]				
Dny	PN	PL	L	M
0	361,0 \pm 7,22	361,0 \pm 7,22	361,0 \pm 7,22	361,1 \pm 7,22
69	243,2 \pm 0,07	230,0 \pm 6,69	267,4 \pm 2,58	311,8 \pm 8,60
131	293,2 \pm 9,30	268,5 \pm 11,7	283,8 \pm 0,16	263,1 \pm 2,40
189	204,8 \pm 4,49	217,5 \pm 10,0	251,1 \pm 1,41	253,2 \pm 3,15
252	306,6 \pm 23,0	304,4 \pm 8,43	299,1 \pm 8,97	354,4 \pm 11,7
342	106,5 \pm 0,54	126,3 \pm 3,36	159,9 \pm 7,20	146,5 \pm 5,48
503	266,0 \pm 0,48	271,6 \pm 6,99	311,1 \pm 12,3	302,1 \pm 19,7

PN = pokojová teplota neloupané, PL = pokojová teplota loupané, L = lednice, M = mrazák

Tabulka 11 Obsah β -tokoferolu v lískových ořeších v průběhu skladování

LÍSKOVÝ OŘECH – β-tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]				
Dny	PN	PL	L	M
0	5,939 \pm 0,22	5,939 \pm 0,22	5,939 \pm 0,22	5,939 \pm 0,22
69	4,369 \pm 0,56	4,697 \pm 0,03	<3,333	3,938 \pm 5,57
131	5,700 \pm 0,78	7,328 \pm 0,45	7,683 \pm 1,04	5,447 \pm 0,82
189	7,175 \pm 0,81	5,855 \pm 0,13	8,790 \pm 2,40	<3,333
252	<3,333	<3,333	<3,333	<3,333
342	<3,333	<3,333	<3,333	<3,333
503	4,718 \pm 0,38	6,468 \pm 2,24	8,054 \pm 0,28	6,445 \pm 1,41

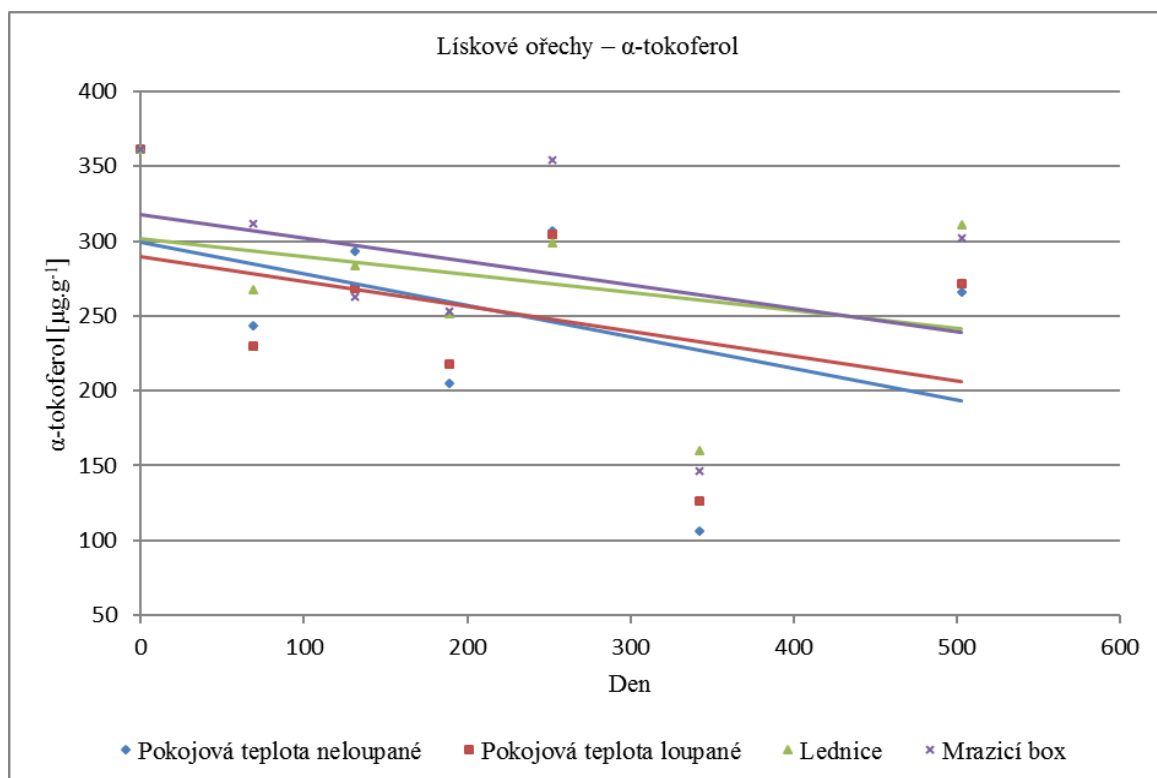
PN = pokojová teplota neloupané, PL = pokojová teplota loupané, L = lednice, M = mrazák

Tabulka 12 Obsah γ -tokoferolu v lískových ořeších v průběhu skladování.

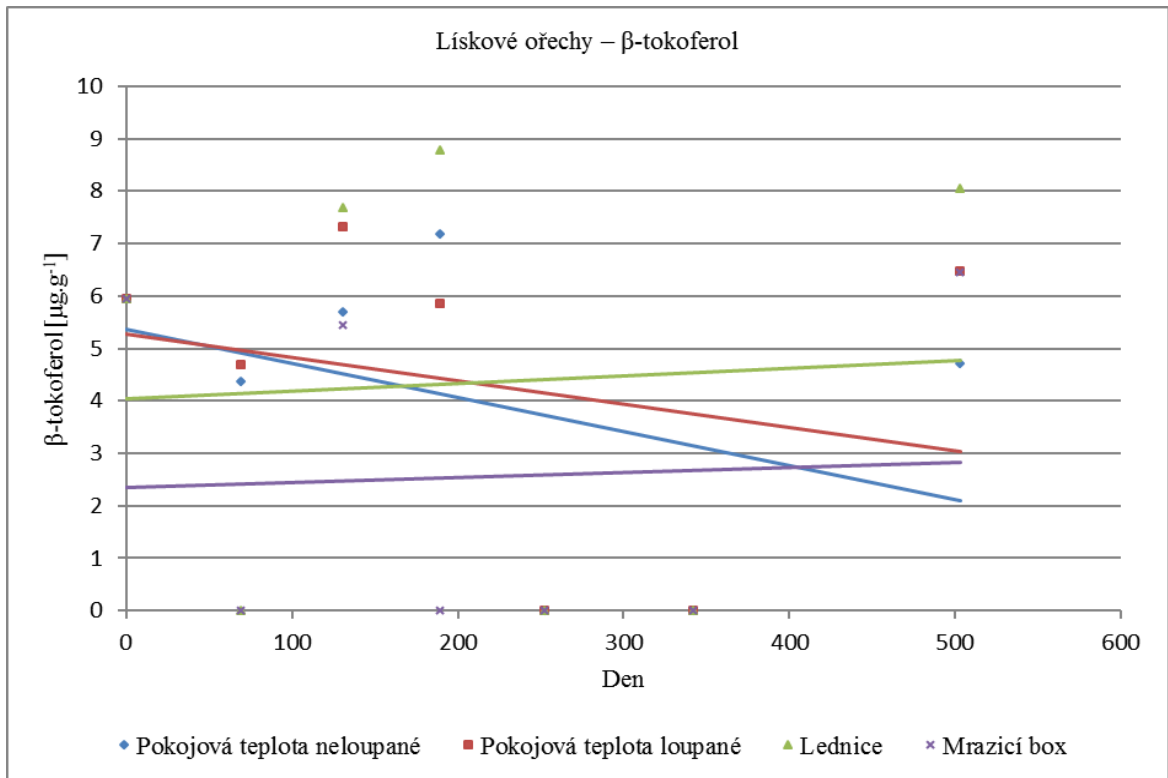
LÍSKOVÝ OŘECH – γ -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]				
Dny	PN	PL	L	M
0	17,39±0,89	17,39±0,89	17,39±0,89	17,39±0,89
69	12,87±0,01	7,536±2,17	8,043±0,24	12,29±0,58
131	9,860±0,98	8,722±0,29	11,53±1,01	10,02±0,89
189	9,793±0,03	11,72±0,19	8,927±3,90	11,32±0,48
252	8,725±1,03	12,01±0,29	13,41±3,61	21,93±1,77
342	<3,333	<3,333	<3,333	<3,333
503	11,68±0,56	7,504±0,03	12,12±1,21	11,52±1,84

PN = pokojová teplota neloupané, PL = pokojová teplota loupané, L = lednice, M = mrazák

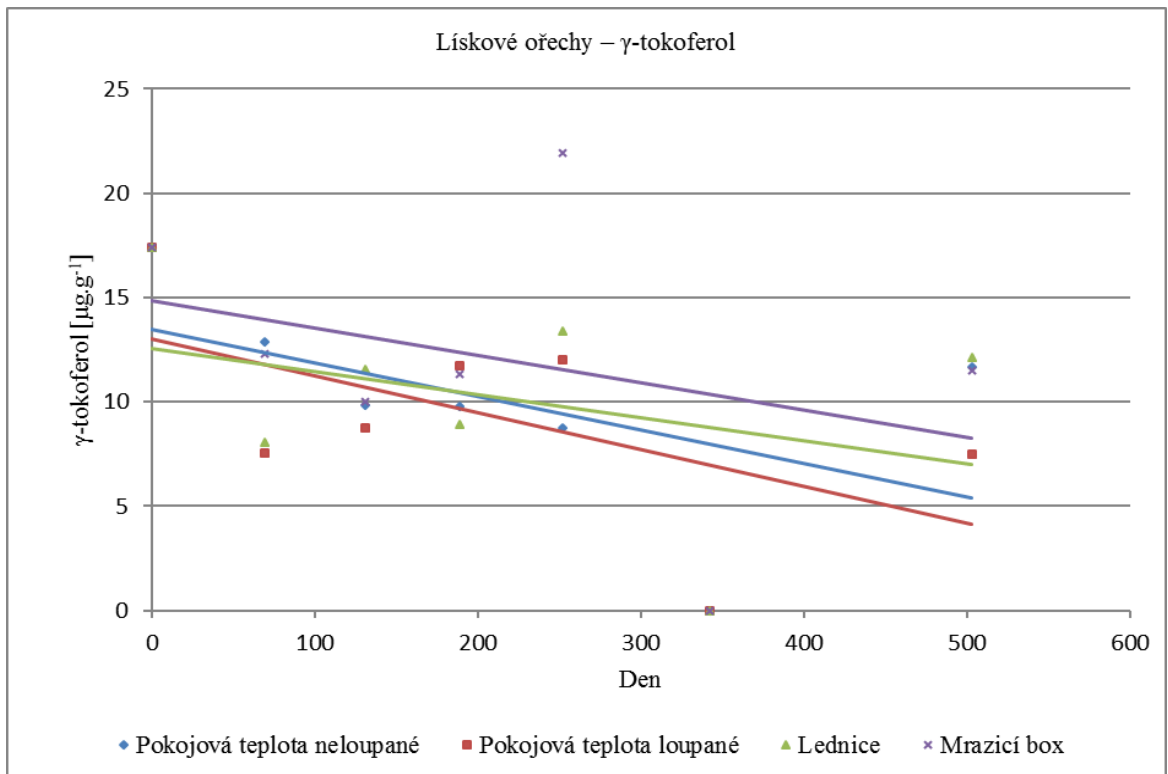
Graf 4 Obsah α -tokoferolu v lískových ořeších skladovaných za různých podmínek v závislosti na době skladování



Graf 5 Obsah β -tokoferolu v lískových ořeších skladovaných za různých podmínek v závislosti na době skladování



Graf 6 Obsah γ -tokoferolu v lískových ořeších skladovaných za různých podmínek v závislosti na době skladování



Tabulka 13 Procentuální pokles tokoferolů po 503 dnech skladování lískových ořechů

LÍSKOVÉ OŘECHY – pokles tokoferolů [%]			
Způsob skladování	α -tokoferol	γ -tokoferol	Vitamin E*
Pokožová teplota neloupané	26,30	32,84	26,51
Pokožová teplota loupané	24,76	56,85	25,69
Lednice	13,82	30,34	13,80
Mrazicí box	16,32	33,76	16,72

* Vypočteno ze součtu všech naměřených tokolových forem.

5.2.3 Mandle

Mandle jsou ve svém tokoferolovém složení podobné lískovým ořechům. α -tokoferol tvoří převážnou většinu ze všech tokoferolových forem, v menším množství je v mandlích obsažen γ -tokoferol a v nepatrném množství také δ -tokoferol. β -tokoferol byl pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), viz graf 1 a tabulka 6.

Po 575 dnech skladování mandlí došlo ke statisticky významnému poklesu α -tokoferolu. Byla zaznamenána také degradace γ -tokoferolu. Pokles γ -tokoferolu nebyl statisticky významný pouze ve vzorcích mandlí skladovaných v lednici. Hodnota δ -tokoferolu byla od druhého měření (72. den skladování) pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). α -tokoferol klesl v průběhu 575denního skladování mandlí o 51,14 % (PN), 54,42 % (PL), 39,92 % (L) a o 39,75 % (M). Pokles γ -tokoferolu byl 44,50 % (PN), 72,56 % (PL), 6,77 % (L) a 62,21 % (M), viz tabulka 16. Pokles δ -tokoferolu byl 100% (72. den byl již pod mezí detekce).

Bylo zjištěno, že různé podmínky skladování mají na základě analýzy rozptylu statisticky významný vliv na množství α -tokoferolu a γ -tokoferolu v mandlích. Scheffeho test ukázal, že rozdíly v obsahu α -tokoferolu nebyly významné jen mezi vzorky skladovanými v loupané formě a neloupané formě za pokojové teploty a zároveň mezi vzorky skladovanými v lednici a v mrazicím boxu. Rozdíly v obsahu γ -tokoferolu nebyly významné ve vzorcích skladovaných v mrazicím boxu a při pokojové teplotě ve skořápce a zároveň mezi vzorky v mrazicím boxu a v pokojové teplotě v loupané formě. Závěrečná analýza (575. den) mandlí ukázala, že jako nejvhodnější způsob skladování pro stabilitu α -tokoferolu se jeví skladování v chladnu v lednici nebo mrazáku. Nejnižší obsah α -tokoferolu byl naměřen ve vzorcích loupaných ořechů skladovaných v pokojové teplotě, viz tabulka 14 a graf 7. Nejvyšší obsah

γ -tokoferolu vykazovaly vzorky mandlí skladované v lednici, jako nejméně vhodný způsob skladování pro stabilitu γ -tokoferolu se zdá být skladování loupaných ořechů v pokojové teplotě, viz tabulka 15 a graf 8.

Tabulka 14 Obsah α -tokoferolu v mandlích v průběhu skladování.

MANDLE – α -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]				
Dny	PN	PL	L	M
0	445,0 \pm 46,3	445,0 \pm 46,3	445,0 \pm 46,3	445,0 \pm 46,3
72	190,6 \pm 2,96	215,2 \pm 8,18	220,8 \pm 6,40	283,1 \pm 0,48
141	196,7 \pm 4,21	234,8 \pm 2,87	214,1 \pm 5,38	275,3 \pm 5,40
203	159,0 \pm 1,66	165,0 \pm 0,35	176,5 \pm 1,38	243,6 \pm 4,56
261	137,3 \pm 0,64	168,1 \pm 6,37	178,6 \pm 0,06	188,1 \pm 3,53
324	228,8 \pm 9,04	194,9 \pm 8,11	281,3 \pm 2,22	184,0 \pm 5,98
414	147,2 \pm 107	121,1 \pm 6,11	112,0 \pm 16,0	121,8 \pm 4,17
575	217,4 \pm 1,54	202,8 \pm 0,43	267,3 \pm 7,31	268,1 \pm 4,88

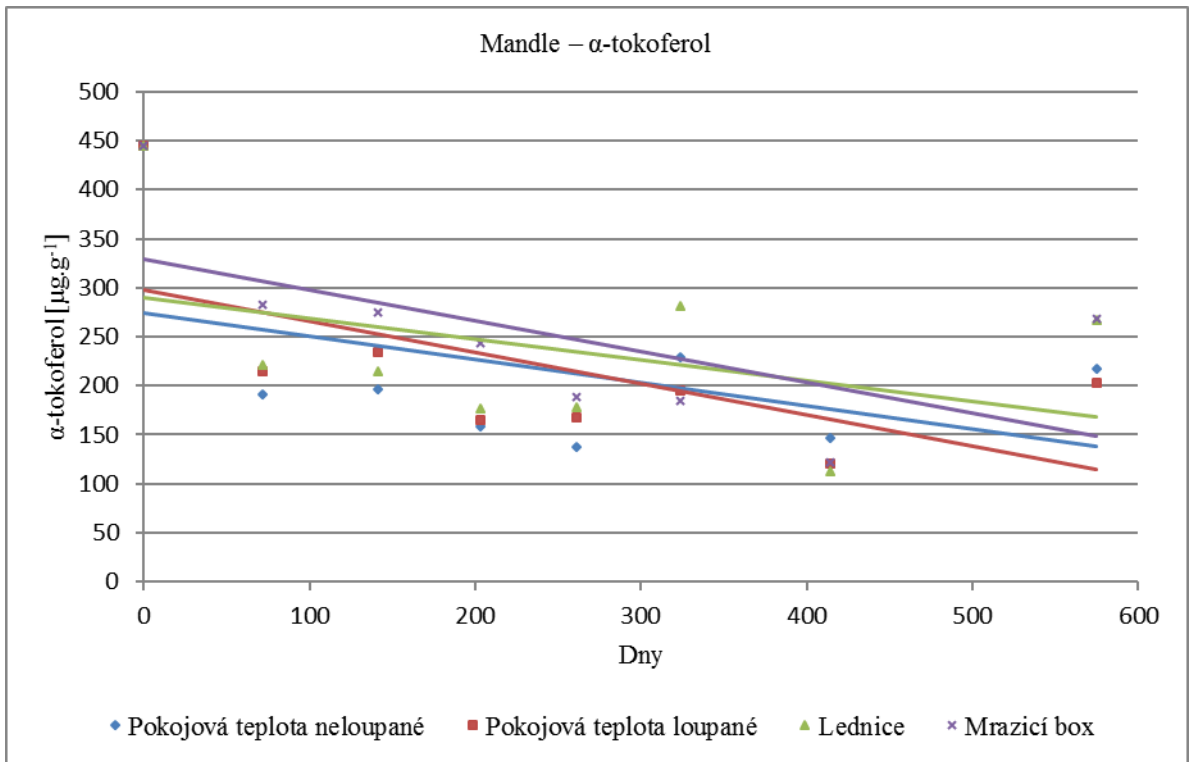
PN = pokojová teplota neloupané, PL = pokojová teplota loupané, L = lednice, M = mrazák

Tabulka 15 Obsah γ -tokoferolu v mandlích v průběhu skladování.

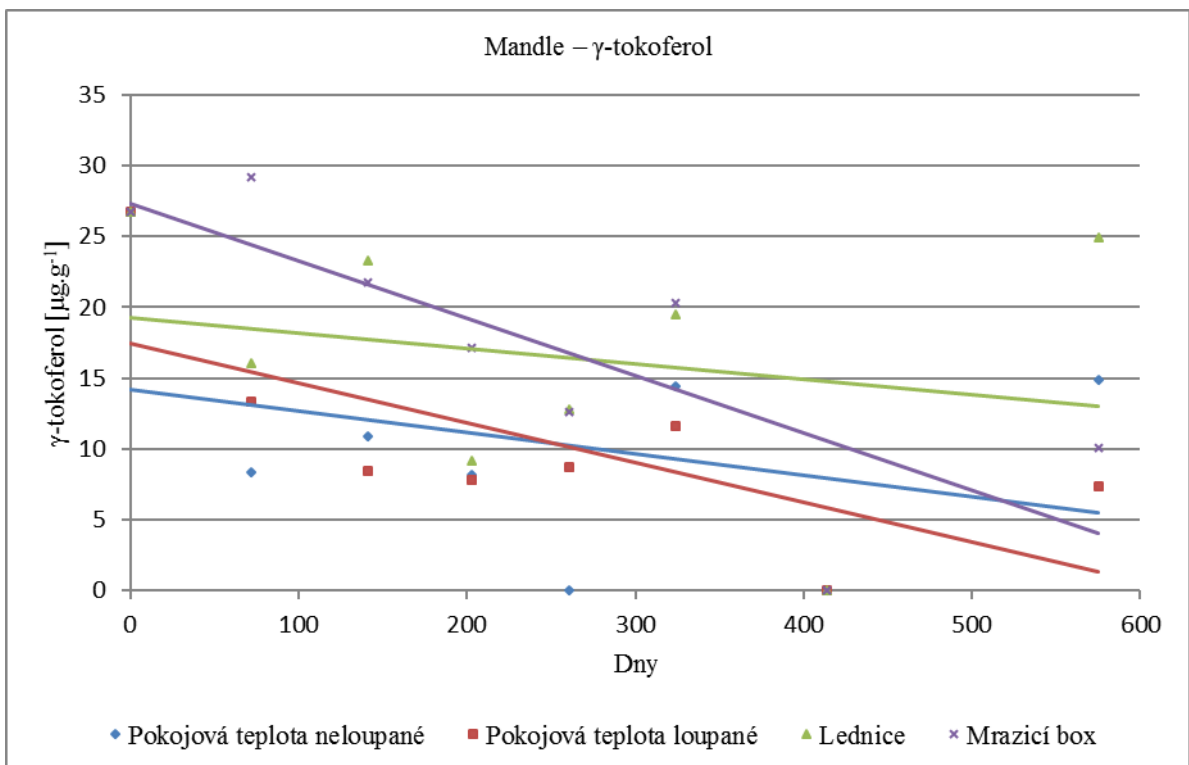
MANDLE – γ -tokoferol [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]				
Dny	PN	PL	L	M
0	26,74 \pm 0,02	26,74 \pm 0,02	26,74 \pm 0,02	26,74 \pm 0,02
72	8,375 \pm 0,74	13,31 \pm 0,20	16,03 \pm 0,12	29,20 \pm 0,51
141	10,86 \pm 0,96	8,449 \pm 0,74	23,28 \pm 1,47	21,78 \pm 0,54
203	8,119 \pm 0,42	7,761 \pm 1,12	9,128 \pm 1,42	17,09 \pm 0,43
261	<3,333	8,689 \pm 0,66	12,80 \pm 0,43	12,59 \pm 0,79
324	14,39 \pm 2,65	11,58 \pm 0,52	19,49 \pm 0,72	20,30 \pm 0,22
414	<3,333	<3,333	<3,333	<3,333
575	14,84 \pm 1,35	7,337 \pm 0,48	24,93 \pm 1,55	10,10 \pm 1,43

PN = pokojová teplota neloupané, PL = pokojová teplota loupané, L = lednice, M = mrazák

Graf 7 Obsah α -tokoferolu v mandlích skladovaných za různých podmínek v závislosti na době skladování



Graf 8 Obsah γ -tokoferolu v mandlích skladovaných za různých podmínek v závislosti na době skladování



Tabulka 16 Procentuální pokles tokoferolů po 575 dnech skladování mandlí

MANDLE – pokles tokoferolů [%]			
Způsob skladování	α -tokoferol	γ -tokoferol	Vitamin E*
Pokožová teplota neloupané	51,14	44,50	51,66
Pokožová teplota loupané	54,42	72,56	56,26
Lednice	39,92	6,77	39,17
Mrazicí box	39,75	62,21	42,10

* Vypočteno ze součtu všech naměřených tokolových forem.

Celkový pokles vitamínu E v mandlích byl 51,66 % (PN), 56,26 % (PL), 39,17 % (L) a 42,10 % (M). Ve vlašských ořeších poklesl vitamin E o 21,76 % (PN), 37,15 % (PL), 28,28 % (L) a 20,66 % (M) a v lískových ořeších došlo k úbytku o 26,51 % (PN), 25,69 % (PL), 13,80 % (L) a 16,72 % (M). Tokoferoly v mandlích vykazovaly nejvyšší míru degradace ve srovnání s lískovými a vlašskými ořechy, viz tabulka 9, 13, 16.

6 Diskuze

Správné skladování skořápkových plodů je velmi důležité. Během dlouhodobého skladování může dojít k nutričním ztrátám a ke zhoršení kvality, a to hlavně v důsledku oxidace tuků a rozvojem rancidity. Mnohem závažnějším problémem je však výskyt plísní, které mohou produkovat nebezpečné mykotoxiny. Plísňové napadení se objevilo i v některých vzorcích lískových a vlašských ořechů v této studii. Při vstupní analýze se zdály být všechny vzorky ořechů bez přítomnosti plísně, avšak plíseň byla zaznamenána při dalším měření po dvouměsíčním skladování. Ořechy byly uchovávány v uzavíratelných plastových sáčkách, které se pro skladování ořechů neosvědčily. Sáčky jsou neprodyšné a může se v nich držet vlhkost. Nově pořízené vzorky ořechů byly proto uchovávány v papírových sáčkách. Vzhledem k tomu, že ve vzorcích mandlí k plísňovému napadení nedošlo, nelze jednoznačně tvrdit, že k růstu plísní došlo jen v důsledku skladování v uzavíratelných plastových sáčkách. Na rozdíl od mandlí zakoupených v supermarketu, které byly původem z USA, byly vlašské a lískové ořechy pořízeny na farmářském trhu a byly české. Je pravděpodobné, že ořechy z farmářského trhu byly produkty ekologického zemědělství, které se vyhýbá chemickým postřikům, a ořechy tak mohou být méně odolné proti plísním. Není také známo, jak bylo s ořechy zacházeno po sklizni. Je třeba, aby ořechy byly uchovávány v suchém prostředí, a předcházelo se tak rozvoji plísní a produkci mykotoxinů. Příslušné maximální limity mykotoxinů v suchých skořápkových plodech jsou uvedeny v NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. V případě suchých skořápkových plodů je sledována přítomnost aflatoxinů. Skořápkové plody, jež mají být před použitím k lidské spotřebě či jako potravinová složka tříděny nebo jinak fyzikálně ošetřeny, mají maximální limit pro aflatoxin B1 5,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a pro sumu aflatoxinů B1, B2, G1 a G2 je stanoven limit 10,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Skořápkové plody a zpracované výrobky z nich určené k přímé lidské spotřebě nebo pro použití jako potravinová složka mají maximální limit pro aflatoxin B1 2,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a pro sumu aflatoxinů B1, B2, G1 a G2 4,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Toto nařízení doporučuje třídění nebo jiné metody fyzikálního ošetření, které umožňují snížit obsah aflatoxinu v zásilkách v případě skořápkových plodů.

Jimenez et al. (1991) zkoumali výskyt plísní a mykotoxinů v ořeších (mandle, arašídy, lískové ořechy, pistácie) a slunečnicových semínkách ve Španělsku. Převládající plísně přítomné ve vzorcích byly *Penicillium spp.*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. Glaukos* a *Rhizopus spp.* Výsledky ukázaly, že izoláty různých druhů byly schopny vyprodukovat

aflatoxiny B1, B2, G1 a G2, sterigmatocystin, ochratoxin A, patulin, citrinin, penicilovou kyselinu, zearalenon a griseofulvin.

Jubeen et al. (2012) se zabývali plísňovým napadením a výskytem mykotoxinů ve vlašských ořeších, mandlích, pistáciích a arašídech náhodně vybraných z maloobchodu. Vlhkost ořechů byla zvýšena na $10 \pm 3 \%$ a $16 \pm 3 \%$ pro usnadnění růstu plísní. Po 12týdenním skladování bylo zjištěno, že všechny vzorky skořápkových plodů byly kontaminovány *A. flavus*, *A. parasiticus* a některé rodem *Penicillium*. Houbové napadení se během skladování výrazně zvýšilo a bylo výraznější při vysokých úrovních vlhkosti. Hladina aflatoxinu B1 byla také významně ovlivněna dobou skladování.

Stabilita vitamínu E byla sledována po dobu 503 (vlašské a lískové ořechy) a 575 (mandle) dní. Lidé skladují ořechy ve svých domácnostech často několik měsíců a někdy i celý rok do další sklizně ořechů. Zvolená délka skladování se proto zdá více než dostačující, protože delší skladování ořechů není pravděpodobné. Ořechy byly sledovány od února 2015 a to z důvodu již zmíněného plísňového napadení původních vzorků, které musely být nahrazeny novými ořechy.

Ve vlašských ořeších (zahradnictví SAFRO) byl stanoven pouze γ a δ -tokoferol a ve vlašských ořeších z farmářského trhu na Kubánském náměstí byl stanoven také α -tokoferol. V lískových ořeších (zahradnictví SAFRO i farmářský trh) byl naměřen α , β a γ -tokoferol. V mandlích byl detekován α , γ a δ -tokoferol. Ostatní formy tokoferolů a tokotrienolů byly pod mezí detekce (tabulka 6). α -tokoferol ve vlašských ořeších ze zahradnictví SAFRO nebyl detekován pravděpodobně kvůli tomu, že analýza byla provedena o 10 týdnů později než analýza ořechů z farmářského trhu a mohlo již dojít k degradaci tohoto vitamínu.

Tato diplomová práce navazuje na diplomovou práci Kudelové (2015), která hodnotila vliv skladování na obsah a složení vitamínu E ve vlašských a lískových ořeších z domácí produkce během 124 dní. V odrůdách vlašských ořechů byl nalezen α , γ a δ -tokoferol a také γ -tokotrienol, ostatní formy vitamínu E byly pod mezí detekce. V odrůdě lískových ořechů byl rovněž zjištěn obsah α , γ a δ -tokoferolu a také α -tokotrienolu, ostatní formy vitamínu E byly pod mezí detekce. Vzorky skořápkových plodů analyzovaných v této diplomové práci měly nižší obsah jednotlivých forem tokolů pravděpodobně kvůli tomu, že jejich vstupní analýza byla provedena o několik měsíců později po sklizni ořechů, než tomu bylo v práci Kudelové, a mohlo již dojít k degradaci tokolů. Vstupní analýza ořechů v práci Kudelové byla provedena v říjnu (2014), zatímco v této studii byla vstupní analýza provedena až v únoru

(2015). V lednu (2015) tj. 4 měsíce po sklizni ořechů α -tokoferol a γ -tokotrienol ve vlašských ořeších ani δ -tokoferol a α -tokotrienol v lískových ořeších v práci Kudelové rovněž naměřeny nebyly. Je také možné, že ořechy z domácí produkce přirozeně obsahují vyšší množství tokolů než ty komerčně prodávané. Navíc mohly hrát roli též o vliv lokality a ročníku pěstování. V této diplomové práci byl použit stejný postup stanovení vitamínu E jako v diplomové práci Kudelové (2015).

Byl nalezen statisticky významný vztah mezi délkou skladování všech tří druhů skořápkových plodů a množstvím tokoferolů. Přestože obsahy tokoferolů v průběhu skladování při některých průběžných měřeních vykazovaly vyšší hodnoty než v předchozích měřeních, celkový trend byl klesající, a to je ve shodě s jinými studiemi. Fluktuace může být vysvětlena nedostatečně reprezentativními vzorky.

Pokles tokoferolů v průběhu skladování ořechů zaznamenali Silva et al. (2010) při skladování pražených arašídů (40 °C, 84 dní). Také tokoferoly v syrových arašíděch se postupně snižovaly během skladování. Po 38 týdnech skladování byl celkový úbytek tokoferolů 24 % (arašídů skladované na vzduchu) a 20 % (arašídů skladované ve vakuu) (Chun et al. 2005).

Garcia-Pascual et al. (2003) sledovali pokles α -tokoferolu ve čtyřech odrůdách mandlí skladovaných po dobu několika měsíců. α -tokoferol v průběhu experimentu klesal ve všech odrůdách mandlí, které byly loupané, a také těch, které byly pražené. Výjimkou byly neloupané mandle skladované při pokojové teplotě po dobu 9 měsíců, u nichž změny v α -tokoferolovém obsahu nebyly pozorovány. Spekuluje se, že příčinou by mohla být atmosféra uvnitř skořápky, efektivní bariéry proti světlu nebo výměna plynů.

Byla také pozorována vysoká negativní korelace mezi celkovým obsahem tokoferolů a dobou skladování olejů z pražených a nepražených vlašských ořechů uchovávaných ve tmě při 60 °C po dobu 12 dní. Celkový obsah tokoferolů poklesl v oleji z nepražených vlašských ořechů z 314,88 na 234,58 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a v oleji z pražených vlašských ořechů byl pokles celkového obsahu tokoferolů z 277,77 na 238,63 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Vaidya et Eun, 2013).

Hodnoty tokoferolů měřené v daných časových úsecích nebyly vždy lineárně klesající, jak se očekávalo. Při práci s biogenním materiálem jako jsou suché skořápkové plody, může k menším odchylkám v měření docházet. I v jiných studiích bylo zaznamenáno v průběhu měření několik hodnot, které byly o něco vyšší než v předchozích měřeních (Chun et al., 2005; Garcia-Pascual et al., 2003). Výraznější kolísání v množství tokoferolů během skladování je patrné i ve studii Miquel et al. (2004), která se zabývá stabilitou tokoferolů v mléčné kojenecké výživě, která byla skladována 17 měsíců.

Podobný jev také sledovali Bolling et al. (2010) ve své studii zabývající se vlivem skladování na obsah polyfenolů a antioxidační kapacity slupek kalifornských mandlí. V rozporu s jejich hypotézou, že skladování by mělo snížit obsah flavonoidů a fenolických kyselin (FP) ve slupce mandlí (skladovaných 15 měsíců při 4 °C a 23 °C) se hodnoty FP, celkových fenolů (CP) a redukční antioxidační síly (FRAP) zvýšily. Tato data ukazují, že změny v obsahu FP slupky mandlí při dlouhodobém skladování odráží dynamický proces a mohou mít řadu příčin. Autoři se domnívají, že skladování by mohlo vyvolat fyzickou transformaci, která následně zvyšuje extrahovatelnost FP. Skladování by mohlo mít vliv na fyzickou strukturu celulózy nebo ligninu slupky a dělat FP přístupnější pro extrakci. Podobně degradace proanthokyanidinů nebo kovalentně vázaných FP může zvýšit obsah rozpustných fenolů v mandlových slupkách. Alternativně syntéza polyfenolů může v mandlích pokračovat i po sklizni, jak už bylo prokázáno v několika jiných potravinách (arašidy, vřeska podzemní, chřest). Otázkou je, zda by k podobnému jevu mohlo dojít i v případě tokolů. Mohlo by se také uvažovat o možnosti, že zvyšující se množství polyfenolických antioxidantů by mohlo snížit pokles obsahu vitamínu E. Vitamin E působí také jako antioxidant a polyfenoly by teoreticky mohly jeho funkci nahradit.

Další možné vysvětlení je takové, že vzorky nebyly dostatečně reprezentativní. Při analýze byly použity většinou 3 ořechy, které byly rozmixovány a homogenizovány v kávomlýnku. Vhodnější by bylo připravit vzorek z více ořechů, zhomogenizovat je a odebrat pouze alikvotní část k analýze. Každý ořech může být jiné kvality a u zakoupených ořechů není jisté, zda všechny ořechy pocházely z jednoho stromu, ze stejné oblasti nebo jestli byly sklizeny ve stejné době, proto se obsah tokoferolů v jednotlivých ořeších může lišit. Obsah vitamínu E v rostlinách se liší v závislosti na růstových podmínkách, jako jsou intenzita slunečního světla a stav půdy (Ottaway, 1993). Záleží také na kultivaru, zralosti, růstu, sklizni a tržních podmínkách (Eitenmiller et Lee, 2004). To ukazuje také výzkum Spiky et al. (2015), kteří zkoumali obsah tokoferolů v olivovém oleji. Jejich studie prokázala, že na obsah tokoferolů má významný vliv odrůda, index zralosti a také oblast pěstování, která je odrazem mikroklimatu (Spika et al., 2015).

Většina studií zaznamenala pokles tokolů během skladování potravin. Existují ale i studie, ve kterých k poklesu nedošlo. Například po 12 měsíčním skladování mléčné kojenecké výživy při teplotě 20, 30 a 37 °C nebyly sledovány změny v obsahu vitamínu E (Albala-Hurtado et al. 2000).

Jednotlivé formy tokoferolů se liší ve svých vlastnostech a mají různou stabilitu. V souladu s níže uvedenými studiemi byl ve vzorcích vlašských ořechů nejstabilnějším isomerem δ -tokoferol, který po 503 dnech skladování ořechů poklesl o 10,11 % (PN), 21,60 % (PL), 16,72 % (L) a o 6,73 % (M). α -tokoferol, který je uváděn jako nejméně stabilní, byl pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) již při výchozí analýze. γ -tokoferol, který je majoritním tokoferolem ve vlašských ořeších, poklesl o 22,95 % (PN), 38,74 % (PL), 29,46 % (L) a o 22,07 % (M).

Jinak tomu ale bylo v případě lískových ořechů, ve kterých byl po 503 dnech skladování pokles α -tokoferolu nižší než pokles γ -tokoferolu. Obsah α -tokoferolu se snížil o 26,30 % (PN), 24,76 % (PL), 13,82 % (L) a o 16,32 % (M). γ -tokoferol poklesl o 32,84 % (PN), 56,85 % (PL), 30,34 % (L) a o 33,76 % (M). Obsah β -tokoferolu byl velmi nízký a jeho hodnoty byly na začátku i konci měření obdobné. δ -tokoferol v lískových ořeších byl od prvního měření pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Ve vzorcích mandlí lze obtížně hodnotit, která forma tokoferolu je stabilnější, protože v každé skupině vzorků skladované v různých podmínkách tomu bylo jinak. Vysoké bylo i průměrné rozmezí poklesu γ -tokoferolu (6,77 – 72,56 %). Je patrné, že po 575denním skladování mandlí došlo ke značnému poklesu α -tokoferolu (51,14 % PN, 54,42 % PL, 39,92 % L a 39,75 % M) i γ -tokoferolu (44,50 % PN, 72,56 % PL, 6,77 % L a 62,21 % M). Výjimkou je vzorek mandlí skladovaný v lednici, ve kterém byl naměřen jen malý úbytek γ -tokoferolu, k tomu mohla přispět již výše zmíněná skutečnost, že vzorky pravděpodobně nebyly dostatečně reprezentativní. Pokles δ -tokoferolu byl 100 % (72. den byl již pod mezí detekce). β -tokoferol v mandlích byl při výchozí analýze pod mezí detekce ($<3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Nelze obecně říci, která tokoferolová forma je nejvíce a která nejméně stabilní, protože v každém druhu skořápkových plodů tomu bylo jinak. Odlišná citlivost různých forem vitamínu E k podmínkám skladování různých skořápkových plodů je pravděpodobně dána rozdílnou maticí ořechů (Kudelová, 2015).

Při porovnání poklesu jednotlivých forem tokoferolů a celkového vitamínu E ve vybraných druzích skořápkových plodů se zdá, že nejmenší stabilitu vykazovaly tokoferoly v mandlích. Mandle byly sice skladovány o 72 dní déle než lískové a vlašské ořechy, ale i v případě hodnocení výsledků z předposlední analýzy (414 den) by mandle stále vykazovaly nejvyšší pokles vitamínu E.

Vaidya et Eun (2013) vyhodnotili δ -tokoferol jako nejstabilnější a α -tokoferol jako nejméně stabilní tokoferolovou formu ve vlašských ořeších. Autoři zkoumali účinek pražení

na oxidační stabilitu a stabilitu tokoferolů v oleji z vlašských ořechů, který skladovali ve tmě při 60 °C po dobu 12 dní.

Kudelová (2015) došla ke stejnému závěru jako předchozí autoři. Ve vlašských ořeších došlo k největší degradaci α -tokoferolu (pokles o 100 %) a k nejmenší degradaci δ -tokoferolu (loupané ořechy o 28,6 %, neloupané ořechy o 44,8 %). Pokles γ -tokoferolu ve vlašských ořeších loupaných byl v průměru 32,3 %, v neloupaných vzorcích v průměru 64,3 %. V lískových ořeších tomu ale bylo jinak. Podle Kudelové (2015) byl nejméně stabilní tokoferolovou formou v lískových ořeších δ -tokoferol (pokles o 100 %). Také došlo k významné degradaci α -tokoferolu (loupané ořechy o 70,8 %, neloupané ořechy o 65,6 %). Nejmenší pokles vykazoval γ -tokoferol (64,3 % loupané ořechy, 45,1 % neloupané ořechy). Tyto výsledky jsou v rozporu s naměřenými hodnotami této práce, ve které byl v lískových ořeších naměřen menší pokles α -tokoferolu než γ -tokoferolu. Příčina zůstává nejasná, ale na stabilitu a obsah tokoferolů by mohla mít vliv řada faktorů, jako je odrůda ořechů nebo podmínky a délka skladování. Kudelová skladovala ořechy 124 dní, zatímco v této práci byly lískové ořechy skladovány 503 dní.

Vzorky všech ořechů byly rozděleny do čtyř skupin a skladovány za různých podmínek. Vylouskané ořechy byly skladovány v mrazicím boxu (-20 °C), v lednici (4 – 6 °C) nebo za pokojové teploty, kde byly skladovány také ořechy ve skořápce.

Pro skladování ořechů se doporučují nízké chladírenské teploty, a to bylo potvrzeno i v této práci. Většina vzorků ořechů skladovaných v chladu (lednice, mrazicí box) měla na konci experimentu o něco vyšší obsah tokoferolů a naopak ořechy skladované v pokojové teplotě vykazovaly obvykle nejnižší hodnoty tokoferolů. Závěrečná analýza (575. den) α -tokoferolu v mandlích ukázala, že jako nejvhodnější způsob pro skladování mandlí se jeví skladování v chladnu v lednici nebo mrazáku (obě skupiny měly na konci analýzy obdobné hodnoty). Nejnižší hodnoty obsahu tokoferolů byly naměřeny v loupaných vzorcích skladovaných v pokojové teplotě a jen o něco vyšší hodnoty vykazovaly mandle neloupané (rozdíl nebyl statisticky významný). Nejvyšší hodnoty γ -tokoferolu byly stanoveny ve vzorcích mandlí skladovaných v lednici, nejnižší obsah γ -tokoferolu byl ve vzorcích loupaných mandlí skladovaných v pokojové teplotě. Rozdíly v obsahu tokoferolů ve vzorcích lískových ořechů skladovaných za různých podmínek nejsou statisticky významné. Pro stabilitu γ -tokoferolu ve vlašských ořeších se zdá být nejvhodnější skladování v mrazicím boxu nebo ve skořápce (rozdíl nebyl statisticky významný). Nejméně vhodným způsobem se zdá být obdobně jako v případě mandlí skladování loupaných vlašských ořechů při pokojové teplotě.

V práci Kudelové (2015) došlo k nižší degradaci vitamínu E ve vzorcích vlašských ořechů, které byly vyloupané a skladovány v chladu, zatímco v lískových ořechích byla naopak vyhodnocena menší degradace vitamínu E v nevylopaných vzorcích skladovaných za pokojové teploty. Autorka to vysvětluje tím, že lískové ořechy byly uskladněny v lednici v blízkosti světla, které se zapíná při otevření lednice, a to může způsobit degradaci vitamínu E. Dalším důvodem lepší stability vitamínu E v neloupaných vzorcích by pravděpodobně mohla být vysoká odolnost skořápky poskytující ořechům ochranu před oxidačním poškozením.

Podle San Martina et al. (2001), kteří se zabývali skladováním lískových ořechů, nízké teploty účinně zpomalují lipidovou hydrolyzu. Účinnost nízké teploty v oddálení ztráty kvality lískových ořechů potvrzují také Ghirardello et al. (2013). Chlazení bylo účinné pro udržení kvality ořechů (udržení nízké úrovně kyselosti a oxidace lipidů) až po dobu jednoho roku skladování. Tsantili et al. (2011) uvádí, že nízká teplota skladování dokáže zmírnit ztráty fenolů, flavonoidů a celkové antioxidační kapacity v pistáciích. Autoři doporučují skladování v atmosféře N₂ při 1 °C. Raisi et al. (2015) srovnávali mandle skladované v pokojové teplotě s mandlemi skladovanými v lednici. S ohledem na peroxidové číslo, nebalená celá jádra ořechů skladovaná při pokojové teplotě zůstala čerstvá po 8 – 9 (celá jádra) měsících skladování, zatímco odpovídající vzorky uchovávané v lednici měly dobu životnosti více než 10 měsíců. V případě skladování loupaných mandlí po dobu 12 měsíců je nejlepší skladovat je při teplotě 2 °C (Senesi et al., 1996). Bylo pozorováno, že při skladování lískových ořechů při vysokých teplotách (50 °C) vznikají významné změny v jejich barvě ve srovnání se zdravými původními vzorky (Guine et al., 2015). Je také doporučováno skladovat ořechy ve skořápce, lépe než loupané nebo dokonce mleté. Bylo potvrzeno, že skořápka chrání lískové oříšky před oxidačním poškozením (San Martin et al., 2001).

Skutečnost, že nižší teplota je vhodná pro celkovou kvalitu ořechů, nemusí vždy znamenat, že budou v ořechích skladovaných v různých teplotních podmínkách významné rozdíly v obsahu tokoferolů. Skladovací teplota, ani balící atmosféra nezpůsobily významné změny v obsahu α -tokoferolu ve sledovaných odrůdách mandlí skladovaných několik měsíců (Garcia-Pascual et al., 2003). Podobné výsledky byly zjištěny i v této práci pro tokoly v lískových ořechích. Rozdíly v obsahu δ -tokoferolu v různě skladovaných vlašských ořechích také nebyly statisticky významné.

7 Závěr

Výsledky HPLC analýzy ukázaly, že vybrané suché skořápkové plody se liší v obsahu jednotlivých tokolů. V mandlích a lískových ořeších byl v nejvyšší míře zastoupen α -tokoferol, ve vlašských ořeších zase výrazně převládal γ -tokoferol. Tokotrienoly byly ve všech vybraných druzích suchých skořápkových plodů pod mezí detekce ($< 3,333 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Během skladování došlo k degradaci vitamínu E ve skořápkových plodech. Přestože obsahy tokoferolů v průběhu skladování při některých průběžných měřeních vykazovaly vyšší hodnoty než v předchozích měřeních, celkový trend byl klesající. Tato fluktuace může být vysvětlena nedostatečně reprezentativními vzorky. Celkový pokles vitamínu E v mandlích byl po 575 dnech skladování 51,66 % (neloupané); 56,26 % (pokojová teplota); 39,17 % (lednice); 42,10 % (mrazicí box). Ve vlašských ořeších poklesl vitamin E po 503 dnech skladování o 21,76 % (neloupané); 37,15 % (pokojová teplota); 28,28 % (lednice); 20,66 % (mrazicí box) a v lískových ořeších došlo k úbytku o 26,51 % (neloupané); 25,69 % (pokojová teplota); 13,80 % (lednice); 16,72 % (mrazicí box). Pokles δ -tokoferolu ve vlašských ořeších a pokles β -tokoferolu v lískových ořeších nebyly statisticky významné.

V mandlích a vlašských ořeších byl pozorován statisticky významný rozdíl v obsahu většiny tokolů mezi vzorky skladovanými za různých podmínek, ale v lískových ořeších byl rozdíl na hranici statistické významnosti. Nejméně vhodným způsobem skladování pro stabilitu vitamínu E se zdá být uchovávání loupaných ořechů v pokojové teplotě. Jako nejvhodnější způsob skladování mandlí se pro stabilitu γ -tokoferolu zdá být skladování v lednici a pro stabilitu α -tokoferolu skladování v lednici nebo v mrazicím boxu. Pro stabilitu γ -tokoferolu ve vlašských ořeších vyšlo nejlépe skladování v mrazicím boxu nebo ve skořápce za pokojové teploty.

Nelze obecně říci, která tokoferolová forma je nejvíce a která nejméně stabilní, protože u každého druhu skořápkových plodů tomu bylo jinak.

Závěrem lze říci, že při dlouhodobém skladování suchých skořápkových plodů dochází k poklesu vitamínu E, ale i po více než ročním skladování lze ořechy považovat za významný zdroj vitamínu E ve výživě člověka. Problémem při skladování skořápkových plodů však může být napadení a následné šíření plísní, které mohou produkovat zdraví škodlivé mykotoxiny. Z tohoto důvodu je vhodné ořechy během skladování kontrolovat.

8 Seznam literatury

Alasalvar, C., Shahidi, F. 2009. Tree nuts : composition, phytochemicals, and health effects. CRC Press Taylor & Francis. Boca Raton. 326 s. ISBN 978-0-8493-3735-2.

Albala-Hurtado, S., Veciana-Nogues, M. T., Riera-Valls, E., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M. C. 2000. Stability of vitamins during the storage of liquid infant milks. *Journal of Dairy Research*. 67 (2). 225-231.

Alexiadou, K., Katsilambros, N. 2011. Nuts: Anti-atherogenic food?. *European Journal of Internal Medicine*. 22 (2). 141-146.

Antosiewicz, J., Olek, R. A., Ziolkowski, W. 2007. Tissue distribution of alpha-tocopherol in oxidative stress in rats. In: Preedy. V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 317-326. ISBN 978-1-84593-075-2.

Arab, L., Ang. A. 2015. A cross sectional study of the association between walnut consumption and cognitive function among adult us populations represented in NHANES. *Journal of Nutrition Health & Aging*. 19 (3). 284-290.

Avanzato, D. 2010. Traditional and Modern Uses of Walnut. *Vi International Walnut Symposium*. 861. 89-96.

Azhar, S. 2007. Alpha-tocopherol and male fertility. In: Preedy. V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 497-508. ISBN 978-1-84593-075-2.

Ball, G. F. M. 2006. *Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability*. CRC Press Taylor & Francis. Boca Raton. p. 785. ISBN 1-57444-804-8.

Baydas, G. 2007a. Alpha-tocopherol in infants and relationship with the mother. In: Preedy. V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 524-529. ISBN 978-1-84593-075-2.

- Baydas, G. 2007b. Effects of vitamin E on the brain in diabetes. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 487-493. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Bes-Rastrollo, M., Sabate, J., Gomez-Gracia, E., Alonso, A., Martinez, J. A., Martinez-Gonzalez, M. A. 2007. Nut consumption and weight gain in a Mediterranean cohort: The SUN study. *Obesity*. 15 (1). 107-116.
- Bolling, B. W., Blumberg, J. B., Chen, C. Y. O. 2010. The influence of roasting, pasteurisation, and storage on the polyphenol content and antioxidant capacity of California almond skins. *Food Chemistry*. 123 (4). 1040-1047.
- Bolling, B. W., Chen, C. Y. O., McKay, D. L., Blumberg, J. B. 2011. Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutrition Research Reviews*. 24 (2). 244-275.
- Bramley, P. M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F. J., Manios, Y., Roxborough, H. E., Schuch, W., Sheehy, P. J. A., Wagner, K. H. 2000. Vitamin E. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (7). 913-938.
- Brigelius-Flohe, R., Kelly, F. J., Salonen, J. T., Neuzil, J., Zingg, J. M., Azzi, A. 2002. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *American Journal of Clinical Nutrition*. 76 (4). 703-716.
- Brown, R. C., Tey, S. L., Gray, A. R., Chisholm, A., Smith, C., Fleming, E., Parnell, W. 2015. Association of Nut Consumption with Cardiometabolic Risk Factors in the 2008/2009 New Zealand Adult Nutrition Survey. *Nutrients*. 7 (9). 7523-7542.
- Burri, B. J. 2007. Analysis of vitamin E by HPLC. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 172-182. ISBN 978-1-84593-075-2.

- Caimari, A., Puiggros, F., Suarez, M., Crescenti, A., Laos, S., Ruiz, J. A., Alonso, V., Moragas, J., del Bas, J. M., Arola, L. 2015. The intake of a hazelnut skin extract improves the plasma lipid profile and reduces the lithocholic/deoxycholic bile acid faecal ratio, a risk factor for colon cancer, in hamsters fed a high-fat diet. *Food Chemistry*. 167. 138-144.
- Can, C., Cinar, M. G., Kosay, S., Evinc, A. 2002. Vascular endothelial dysfunction associated with elevated serum homocysteine levels in rat adjuvant arthritis: effect of vitamin E administration. *Life Sciences*. 71 (4). 401-410.
- Card, J. W., Massey, T. E. 2007. Protective effects of alpha-tocopherol in pulmonary fibrosis. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 700-707. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Carrasco-Del Amor, A. M., Aguayo, E., Collado-Gonzalez, J., Guy, A., Galano, J. M., Durand, T., Gil-Izquierdo, A. 2016. Impact of packaging atmosphere, storage and processing conditions on the generation of phytoprostanes as quality processing compounds in almond kernels. *Food Chemistry*. 211. 869-875.
- Casas-Agustench, P., Bullo, M., Salas-Salvado, J. 2010. Nuts, inflammation and insulin resistance. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 19 (1). 124-130.
- Cesar, M. de C. 2007. The relationship between alpha-tocopherol and selenium in the diet. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 263-272. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Combs, G. F. 1992. *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. Academic Press. San Diego. 1. edit., p. 528. ISBN: 0-12-183490-5.
- Crespo, J. F., James, J. M., Fernandez-Rodriguez, C., Rodriguez, J. 2006. Food allergy: nuts and tree nuts. *British Journal of Nutrition*. 96 (1). S95-S102.
- Cyrus, T., Praticò, D. 2007. Vitamin E and atherosclerosis. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 645-654. ISBN 978-1-84593-075-2.

Česko. Vyhláška č. 225/2008 Sb. ze dne 17. června 2008, kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin. In: Sbírka zákonů České republiky. 2008, částka 71. S. 3230-3244. Dostupné také z < <http://www.mvcr.cz/soubor/sb071-08-pdf.aspx>>.

Česko. Vyhláška č. 291/2010 Sb. ze dne 14. října 2010, kterou se mění vyhláška č. 157/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování, ve znění vyhlášky č. 650/2004 Sb. In: Sbírka zákonů České republiky. 2010, částka 109. S. 4186-4194. Dostupné také z < http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/chronologicky-prehled/Legislativa-MZe_puvodni-zneni_vyhlaska-2010-291-novela-157-2003.html >.

Česko. Vyhláška č. č. 157/2003 Sb. ze dne 12. května 2003, kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování. In: Sbírka zákonů České republiky. 2003, částka 59. S. 3327-3358. Dostupné také z < http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/chronologicky-prehled/Legislativa-MZe_puvodni-zneni_vyhlaska-2003-157-potravinarska-vyroba.html >.

Dawson, B., Goodman, C. 2007. Muscle damage after running and effects of a vitamin E and C cocktail. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 572-579. ISBN 978-1-84593-075-2.

Delgado, T., Malheiro, R., Pereira, J. A., Ramalhosa, E. 2010. Hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels as a source of antioxidants and their potential in relation to other nuts. *Industrial Crops and Products* 32 (3). 621-626.

Devi, S. A. 2007. The effect of vitamin E on post-exercise fatigue. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 555-561. ISBN 978-1-84593-075-2.

Din, J. N., Aftab, S. M., Jubb, A. W., Carnegie, F. H., Lyall, K., Sarma, J., Newby, D. E., Flapan, A. D. 2011. Effect of moderate walnut consumption on lipid profile, arterial stiffness and platelet activation in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*. 65 (2). 234-239.

Ebadi, M., Sharma, S. 2007. Vitamin E and Coenzyme Q10 in Parkinson's disease. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 461-471. ISBN 978-1-84593-075-2.

Eitenmiller, R., Lee, J. 2004. Vitamin E. New York. Marcel Dekker. 530 s. ISBN 0-8247-0688-9.

Esfahlan, A. J., Jamei, R., Esfahlan, R. J. 2010. The importance of almond (*Prunus amygdalus* L.) and its by-products. Food Chemistry. 120 (2). 349-360.

Evans, H. M., Bishop, K.S. 1992. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. Science. 56 (1458). 650-651.

Fairfield, K. M., Fletcher, R. H. 2002. Vitamins for chronic disease prevention in adults - Scientific review. Jama-Journal of the American Medical Association. 287 (23). 3116-3126.

Fanali, S. 2007. Capillary Electrochromatographic Analysis of Tocopherols. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 183-189. ISBN 978-1-84593-075-2.

Fraser, G. E. 1999. Nut consumption, lipids, and risk of a coronary event. Clinical Cardiology 22 (7). 11-15.

Freitas, J. B., Naves, M. M. V. 2010. Chemical composition of nuts and edible seeds and their relation to nutrition and health. Revista De Nutricao-Brazilian Journal of Nutrition. 23 (2). 269-279.

Fukui, K., Urano, S. 2007. Neuronal damage, cognitive impairment and alpha-tocopherol. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 454-460. ISBN 978-1-84593-075-2.

Galli, F., Aisa, M. C., Anneti, C., Floridi, A. 2007. Vitamin E and cell signalling. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 365-380. ISBN 978-1-84593-075-2.

- Garcia-Pascual, P., Mateos, M., Carbonell, V., Salazar, D. M. 2003. Influence of storage conditions on the quality of shelled and roasted almonds. *Biosystems Engineering*. 84 (2). 201-209.
- Ghirardello, D., Contessa, C., Valentini, N., Zeppa, G., Rolle, L., Gerbi, V., Botta, R. 2013. Effect of storage conditions on chemical and physical characteristics of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 81. 37-43.
- Glauert, H. P. 2007. Modification of the activation of NF-kB by vitamin E. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 353-364. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Gondolesi, G. E. 2007. Ischaemia-reperfusion injury and tocopherols. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 429-444. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Gopinath, B., Flood, V. M., Burlutksy, G., Mitchell, P. 2015. Consumption of nuts and risk of total and cause-specific mortality over 15 years. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 25 (12). 1125-1131.
- Granado-Lorenzo, F., Olmedilla-Alonso, B. 2007. Serum alpha-tocopherol and insulin therapy in diabetes: relationship to retinol. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 399-408. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Greul, A.-K. 2007. The skin and vitamin E cocktails. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 739-748. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Guan, Z.-Z. 2007. Protective effects of alpha-tocopherol on nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 472-479. ISBN 978-1-84593-075-2.

- Guasch-Ferre, M., Bullo, M., Martinez-Gonzalez, M. A., Ros, E., Corella, D., Estruch, R., Fito, M., Aros, F., Warnberg, J., Fiol, M., Lapetra, J., Vinyoles, E., Lamuela-Raventos, R. M., Serra-Majem, L., Pinto, X., Ruiz-Gutierrez, V., Basora, J., Salas-Salvado, J., Grp, P. S. 2013. Frequency of nut consumption and mortality risk in the PREDIMED nutrition intervention trial. *Bmc Medicine*. 11. 1-11.
- Guine, R. P. F., Almeida, C. F. F., Correia, P. M. R. 2015. Influence of packaging and storage on some properties of hazelnuts. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 9 (1). 11-19.
- Haddad, E. H., Gaban-Chong, N., Oda, K., Sabate, J. 2014. Effect of a walnut meal on postprandial oxidative stress and antioxidants in healthy individuals. *Nutrition Journal*. 13. 1-9.
- Haider, S., Batool, Z., Tabassum, S., Perveen, T., Saleem, S., Naqvi, F., Javed, H., Haleem, D. J. 2011. Effects of Walnuts (*Juglans regia*) on Learning and Memory Functions. *Plant Foods for Human Nutrition*. 66 (4). 335-340.
- Heffron, S. P., Rockman, C. B., Gianos, E., Guo, Y., Berger, J. S. 2015. Greater frequency of nut consumption is associated with lower prevalence of peripheral arterial disease. *Preventive Medicine*. 72. 15-18.
- Hshieh, T. T., Petrone, A. B., Gaziano, J. M., Djousse, L. 2015. Nut consumption and risk of mortality in the Physicians' Health Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 101 (2). 407-412.
- Chao, J. C.-J. 2007. Hyperlipidaemia and the use of tocopherol in antioxidant cocktail in smokers. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 307-314. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Chun, J., Lee, J., Eitenmiller, R. R. 2005. Vitamin E and oxidative stability during storage of raw and dry roasted peanuts packaged under air and vacuum. *Journal of Food Science*. 70 (4). C292-C297.

Institute of Medicine (US). 2000. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. National academy press. Washington. p. 506. ISBN: 0-309-06935-1.

Jahanbani, R., Ghaffari, S. M., Salami, M., Vahdati, K., Sepehri, H., Sarvestani, N. N., Sheibani, N., Moosavi-Movahedi, A. A. 2016. Antioxidant and Anticancer Activities of Walnut (*Juglans regia* L.) Protein Hydrolysates Using Different Proteases. *Plant Foods for Human Nutrition*. 71 (4). 402-409.

Jamshed, H., Gilani, A. U. H., Sultan, F. A. T., Amin, F., Arslan, J., Ghani, S., Masroor, M. 2016. Almond supplementation reduces serum uric acid in coronary artery disease patients: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*. 15. 1-5.

Jaradat, Z. W. 2007. Mycotoxins and protection with vitamin E. In: Preedy. V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 846-854. ISBN 978-1-84593-075-2.

Jiang, Q. 2007. Natural forms of vitamin E as anti-inflammatory and anticancer agents: their effect on cyclooxygenase and other membrane-associated enzymes. In: Preedy. V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 807-818. ISBN 978-1-84593-075-2.

Jimenez, M., Mateo, R., Querol, A., Huerta, T., Hernandez, E. 1991. Mycotoxins and mycotoxigenic molds in nuts and sunflower seeds for human consumption. *Mycopathologia*. 115 (2). 121-127.

Jubeen, F., Bhatti, I. A., Maqbool, U., Mehboob, S. 2012. Fungal Incidence, Aflatoxin B-1, Tocopherols and Fatty Acids Dynamics in Ground and Tree Nuts during Storage at Two Moisture Levels. *International Journal of Agriculture and Biology*. 14 (4). 521-527.

Kamangar, F. 2007. Gastrointestinal cancers and vitamin E. In: Preedy. V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 922-930. ISBN 978-1-84593-075-2.

Kamil, A., Chen, C. Y. O. 2012. Health Benefits of Almonds beyond Cholesterol Reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60 (27). 6694-6702.

Kendall, C. W. C., Esfahani, A., Truan, J., Srichaikul, K., Jenkins, D. J. A. 2010. Health benefits of nuts in prevention and management of diabetes. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 19 (1). 110-116.

Koek, G. H., Bast, A., Driessen, A. 2007. Liver cirrhosis and vitamin E status. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 773-781. ISBN 978-1-84593-075-2.

Krishnan, K., Campbell, S., Stone, W. L. 2007. Overview of tocopherols in cancer chemoprevention. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 865-875. ISBN 978-1-84593-075-2.

Kudelová, V. 2015. Stanovení vitamínu E v suchých skořápkových plodech. Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 89 s.

Larrauri, M., Demaria, M. G., Ryan, L. C., Asensio, C. M., Grosso, N. R., Nepote, V. 2016. Chemical and Sensory Quality Preservation in Coated Almonds with the Addition of Antioxidants. *Journal of Food Science*. 81 (1). S208-S215.

Lavedrine, F., Zmirou, D., Ravel, A., Balducci, F., Alary, J. 1999. Blood cholesterol and walnut consumption: A cross-sectional survey in France. *Preventive Medicine*. 28 (4). 333-339.

Lee, J., Kim, Y. S., Heo, S. C., Lee, K. L., Choi, S. W., Kim, Y. 2016. Walnut Phenolic Extract and Its Bioactive Compounds Suppress Colon Cancer Cell Growth by Regulating Colon Cancer Stemness. *Nutrients*. 8 (7). 1-14.

Liu, Z. B., Lin, X. C., Huang, G. W., Zhang, W., Rao, P. F., Ni, L. 2014. Prebiotic effects of almonds and almond skins on intestinal microbiota in healthy adult humans. *Anaerobe*. 26. 1-6.

- Loguercio, C., Federico, A. 2007. Alcoholic liver disease, oxidative stress and the role of tocopherol. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 765-772. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Macrae, R., Robinson, R. K., Sadler, M. J. 1993a. Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition. 1st ed. Academic Press. London. Volume 1. p. 5365. ISBN 0-12-226850-4.
- Macrae, R., Robinson, R. K., Sadler, M. J. 1993b. Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition. 1st ed. Academic Press. London. Volume 7. p. 5365. ISBN 0-12-226850-4.
- Machlin, L. J. 1991. Handbook of Vitamins. New York. Marcel Dekker. 2nd edit. p. 595. ISBN 0-8247-8351-4.
- Manuel-y-Keenoy, B. 2007. Vitamin E supplementation in diabetes mellitus. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 381-398. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Masaki, H., Sakurai, H. 2007. Relationship between alpha-tocopherol and glutathione in keratinocytes. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 749-761. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Maskan, M., Karatas, S. 1999. Storage stability of whole-split pistachio nuts (*Pistachia vera* L.) at various conditions. Food Chemistry. 66 (2). 227-233.
- Mayhew, A. J., de Souza, R. J., Meyre, D., Anand, S. S., Mente, A. 2016. A systematic review and meta-analysis of nut consumption and incident risk of CVD and all-cause mortality. British Journal of Nutrition. 115 (2). 212-225.
- Mercanligil, S. M., Arslan, P., Alasalvar, C., Okut, E., Akgul, E., Pinar, A., Geyik, P. O., Tokgozoglu, L., Shahidi, F. 2007. Effects of hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adult men. European Journal of Clinical Nutrition. 61 (2). 212-220.

Minko, T. 2007. Hypoxia-induced lung damage and alpha-tocopherol. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 719-729. ISBN 978-1-84593-075-2.

Miquel, E., Alegria, A., Barbera, R., Farre, R., Clemente, G. 2004. Stability of tocopherols in adapted milk-based infant formulas during storage. *International Dairy Journal*. 14 (11). 1003-1011.

Morgan, J. M., Horton, K., Reese, D., Carey, C., Walker, K., Capuzzi, D. M. 2002. Effects of walnut consumption as part of a low-fat, low-cholesterol diet on serum cardiovascular risk factors. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 72 (5). 341-347.

Nariadení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. In: Úřední věstník Evropské unie. 2006. L 364. s. 5-24. Dostupné také z < http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2006.364.01.0005.01.CES >.

Neuzil, J., Witting, P. K., Kontush, A., Headrick, J. 2007. Role of vitamin E and vitamin C in nuclear factor- κ B-dependent nitric oxide signalling. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 339-352. ISBN 978-1-84593-075-2.

Nishi, S., Kendall, C. W. C., Gascoyne, A. M., Bazinet, R. P., Bashyam, B., Lapsley, K. G., Augustin, L. S. A., Sievenpiper, J. L., Jenkins, D. J. A. 2014. Effect of almond consumption on the serum fatty acid profile: a dose-response study. *British Journal of Nutrition*. 112 (7). 1137-1146.

Ochoa, J. J., Ramirez-Tortosa, M. C. 2007. Alpha-tocopherol and antioxidant status in premature infants. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 515-523. ISBN 978-1-84593-075-2.

- O'Neil, C. E., Keast, D. R., Fulgoni, V. L. and Nick, T. A. 2010. Tree nut consumption improves nutrient intake and diet quality in US adults: an analysis of National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 19 (1). 142-150.
- Orem, A., Yucesan, F. B., Orem, C., Akcan, B., Kural, B. V., Alasalvar, C., Shahidi, F. 2013. Hazelnut-enriched diet improves cardiovascular risk biomarkers beyond a lipid-lowering effect in hypercholesterolemic subjects. *Journal of Clinical Lipidology*. 7 (2). 123-131.
- Ottaway, P. B. 1993. *The Technology of Vitamins in Food*. London. Blackie Academic & Professional. 1st edit. p. 270. ISBN 0-7514-0092-0.
- Ozenc, D. B. 2005. Usage of hazelnut husk compost as a growing medium. *Proceedings of the VIth International Congress on Hazelnut*. (686). 309-317.
- Ozilgen, M., Ozdemir, M. 2001. A review on grain and nut deterioration and design of the dryers for safe storage with special reference to Turkish hazelnuts. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 41 (2). 95-132.
- Pan, A., Sun, Q., Manson, J. E., Willett, W. C., Hu, F. B. 2013. Walnut Consumption Is Associated with Lower Risk of Type 2 Diabetes in Women. *Journal of Nutrition*. 143 (4). 512-518.
- Panda, K., Chatterjee, I. B. 2007. Failure of alpha-tocopherol to prevent cigarette smoke-induced protein oxidation: comparison with other antioxidant vitamins. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 690-699. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Perna, S., Giacosa, A., Bonitta, G., Bologna, C., Isu, A., Guido, D. and Rondanelli, M. 2016. Effects of Hazelnut Consumption on Blood Lipids and Body Weight: A Systematic Review and Bayesian Meta-Analysis. *Nutrients*. 8 (12). 1-17.
- Poulose, S. M., Miller, M. G., Shukitt-Hale, B. 2014. Role of Walnuts in Maintaining Brain Health with Age. *Journal of Nutrition*. 144 (4). 561S-566S.

Quek, S-Y., Chu, B-S., Baharin, B. S. 2007. Commercial extraction of Vitamin E from Food Sources In: Preedy. V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 140-152. ISBN 978-1-84593-075-2.

Raisi, M., Ghorbani, M., Mahoonak, A. S., Kashaninejad, M., Hosseini, H. 2015. Effect of storage atmosphere and temperature on the oxidative stability of almond kernels during long term storage. *Journal of Stored Products Research*. 62. 16-21.

Ribeiro, M. A. A., Regitanodacce, M. A. B., Lima, U. A., Nogueira, M. C. S. 1993. Storage of canned shelled brazil nuts (*Bertholletia-excelsa*) - effects on the quality. *Acta Alimentaria*. 22 (4). 295-303.

Rohrmann, S., Faeh, D. 2013. Should we go nuts about nuts?. *Bmc Medicine* 11. 1-3.

Ros, E. 2015. Nuts and CVD. *British Journal of Nutrition*. 113. S111-S120.

Ros, E., Mataix, J. 2006. Fatty acid composition of nuts - implications for cardiovascular health. *British Journal of Nutrition*. 96 (1). S29-S35.

Ruggeri, S., Cappelloni, M., Gambelli, L., Carnovale, E. 1998. Chemical composition and nutritive value of nuts grown in Italy. *Italian Journal of Food Science*. 10 (3). 243-252.

Ryall, A. L., Pentzer, W. T. 1974. Handling, transportation, and storage of fruits and vegetables. The AVI Publishing Company. Westport. Volume 2. p. 545. ISBN-0-87055-165-5.

Sabate, J., Wien, M. 2010. Nuts, blood lipids and cardiovascular disease. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 19 (1). 131-136.

Salas-Salvado, J., Casas-Agustench, P., Salas-Huetos, A. 2011. Cultural and historical aspects of Mediterranean nuts with emphasis on their attributed healthy and nutritional properties. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 21. S1-S6.

Saldeen, K., Saldeen, T. 2005. Importance of tocopherols beyond alpha-tocopherol: evidence from animal and human studies. *Nutrition Research*. 25 (10). 877-889.

San Martin, M. B., Fernandez-Garcia, T., Romero, A., Lopez, A. 2001. Effect of modified atmosphere storage on hazelnut quality. *Journal of Food Processing and Preservation*. 25 (5). 309-321.

Sarkar, K., Parthasarthy, S., Saldeen, T. G. P., Mehta, J. L. 2007. Efficacy of tocopherol mixtures compared with alpha-tocopherol in cardioprotection. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 299-306. ISBN 978-1-84593-075-2.

Scussel, V. M., Giordano, B. N., Simao, V., Manfio, D., Galvao, S., Rodrigues, M. N. F. 2011. Effect of Oxygen-Reducing Atmospheres on the Safety of Packaged Shelled Brazil Nuts during Storage. *International Journal of Analytical Chemistry*. 1-9.

Senesi, E., Rizzolo, A., Colombo, C., Testoni, A. 1996. Influence of pre-processing: Storage conditions on peeled almond quality. *Italian Journal of Food Science*. 8 (2). 115-125.

Sfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R., Jamei, R. 2009. Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*. 115 (2). 529-533.

Silva, A. P., Santos, F., Rosa, E., Santos, A., Goncalves, B. 2005. Effect of cultivar and year on the quality of hazelnut fruits (*Corylus avellana* L.). *Proceedings of the VIth International Congress on Hazelnut*. (686). 469-475.

Silva, M. P., Martinez, M. J., Casini, C., Grosso, N. R. 2010. Tocopherol content, peroxide value and sensory attributes in roasted peanuts during storage. *International Journal of Food Science and Technology*. 45 (7). 1499-1504.

Soriano-Hernandez, A. D., Madrigal-Perez, D. G., Galvan-Salazar, H. R., Arreola-Cruz, A., Briseno-Gomez, L., Guzman-Esquivel, J., Dobrovinskaya, O., Lara-Esqueda, A., Rodriguez-Sanchez, I. P., Baltazar-Rodriguez, L. M., Espinoza-Gomez, F., Martinez-Fierro, M. L., de-

- Leon-Zaragoza, L., Olmedo-Buenrostro, B. A., Delgado-Enciso, I. 2015. The Protective Effect of Peanut, Walnut, and Almond Consumption on the Development of Breast Cancer. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 80 (2). 89-92.
- Spika, M. J., Kraljic, K., Koprivnjak, O., Skevin, D., Zanetic, M., Katalinic, M. 2015. Effect of Agronomical Factors and Storage Conditions on the Tocopherol Content of Oblica and Leccino Virgin Olive Oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 92 (9). 1293-1301.
- Tanaka, Y., Cooney, R. V. 2007. Chemical and biological properties of tocopherols and their relation to cancer incidence and progression. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 876-885. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Tapsell, L. C. 2010. Health Benefits of Walnut Consumption. *Vi International Walnut Symposium*. 861. 409-416.
- Tey, S. L., Brown, R. C., Chisholm, A. W., Delahunty, C. M., Gray, A. R., Williams, S. M. 2011. Effects of different forms of hazelnuts on blood lipids and alpha-tocopherol concentrations in mildly hypercholesterolemic individuals. *European Journal of Clinical Nutrition*. 65 (1). 117-124.
- Tey, S. L., Gray, A. R., Chisholm, A. W., Delahunty, C. M., Brown, R. C. 2013. The Dose of Hazelnuts Influences Acceptance and Diet Quality but Not Inflammatory Markers and Body Composition in Overweight and Obese Individuals. *Journal of Nutrition*. 143 (8). 1254-1262.
- Thomas, D. R. 2006. Vitamins in aging, health, and longevity. *Clinical Interventions in Aging*. 1 (1). 81-91.
- Torabian, S., Haddad, E., Cordero-MacIntyre, Z., Tanzman, J., Fernandez, M. L., Sabate, J. 2010. Long-term walnut supplementation without dietary advice induces favorable serum lipid changes in free-living individuals. *European Journal of Clinical Nutrition*. 64 (3). 274-279.

- Torabian, S., Haddad, E., Rajaram, S., Banta, J., Sabate, J. 2009. Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 22 (1). 64-71.
- Tosic, S. B., Mitic, S. S., Velimirovic, D. S., Stojanovic, G. S., Pavlovic, A. N., Pecev-Marinkovic, E. T. 2015. Elemental composition of edible nuts: fast optimization and validation procedure of an ICP-OES method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95 (11). 2271-2278.
- Traber, M. G. 2007. Vitamin E bioavailability. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 221-230. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Traber, M. G., Manor, D. 2012. Vitamin E. *Advances in Nutrition*. 3 (3). 330-331.
- Tsantili, E., Konstantinidis, K., Christopoulos, M. V., Roussos, P. A. 2011. Total phenolics and flavonoids and total antioxidant capacity in pistachio (*Pistachia vera* L.) nuts in relation to cultivars and storage conditions. *Scientia Horticulturae*. 129 (4). 694-701.
- Ukhanova, M., Wang, X. Y., Baer, D. J., Novotny, J. A., Fredborg, M., Mai, V. 2014. Effects of almond and pistachio consumption on gut microbiota composition in a randomised cross-over human feeding study. *British Journal of Nutrition*. 111 (12). 2146-2152.
- United States Department of Agriculture (USDA). USDA Food Composition Databases: USDA National Nutrient Database for Standard Reference [online]. September 2015. [cit. 2016-12-11]. Dostupné z <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>>.
- Vaidya, B., Eun, J. B. 2013. Effect of roasting on oxidative and tocopherol stability of walnut oil during storage in the dark. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 115 (3). 348-355.
- Vasdev, S., Singal, P., Gill, V. 2007. Vitamin E and blood pressure. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. *The encyclopedia of vitamin E*. CAB International. Wallingford. p. 655-665. ISBN 978-1-84593-075-2.

- Vona-Davis, L. C., McFadden, D. W. 2007. Alpha-tocopherol and vascular endothelial growth factor. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 583-591. ISBN 978-1-84593-075-2.
- White, J. M. L., Higgins, E. M. 2007. Overview of alpha-tocopherol and the skin. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 731-738. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Wood, L. G., Gibson, P. G., Garg, M. L. 2007. Alpha-tocopherol and cystic fibrosis. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 708-718. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Woodroof, J. G. 1967a. Tree Nuts: Production, Processing, Products. The AVI Publishing Company. Westport. Volume 1. p. 356.
- Woodroof, J. G. 1967b. Tree Nuts: Production, Processing, Products. The AVI Publishing Company. Westport. Volume 2. p. 373.
- Yada, S., Huang, G. W., Lapsley, K. 2013. Natural variability in the nutrient composition of California-grown almonds. *Journal of Food Composition and Analysis*. 30 (2). 80-85.
- Yamashita, K. 2007. The relationship between tocotrienols and tocopherols in the diet. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 252-262. ISBN 978-1-84593-075-2.
- Zhang, Y. F., Jiang, W. J., Xie, Z. T., Wu, W. L., Zhang, D. F. 2015. Vitamin E and risk of age-related cataract: a meta-analysis. *Public Health Nutrition*. 18 (15). 2804-2814.
- Zingg, J-M., Azzi, A. 2007. A Smooth muscle cells and alpha-tocopherol. In: Preedy, V. R., Watson, R. R. The encyclopedia of vitamin E. CAB International. Wallingford. p. 624-644. ISBN 978-1-84593-075-2.

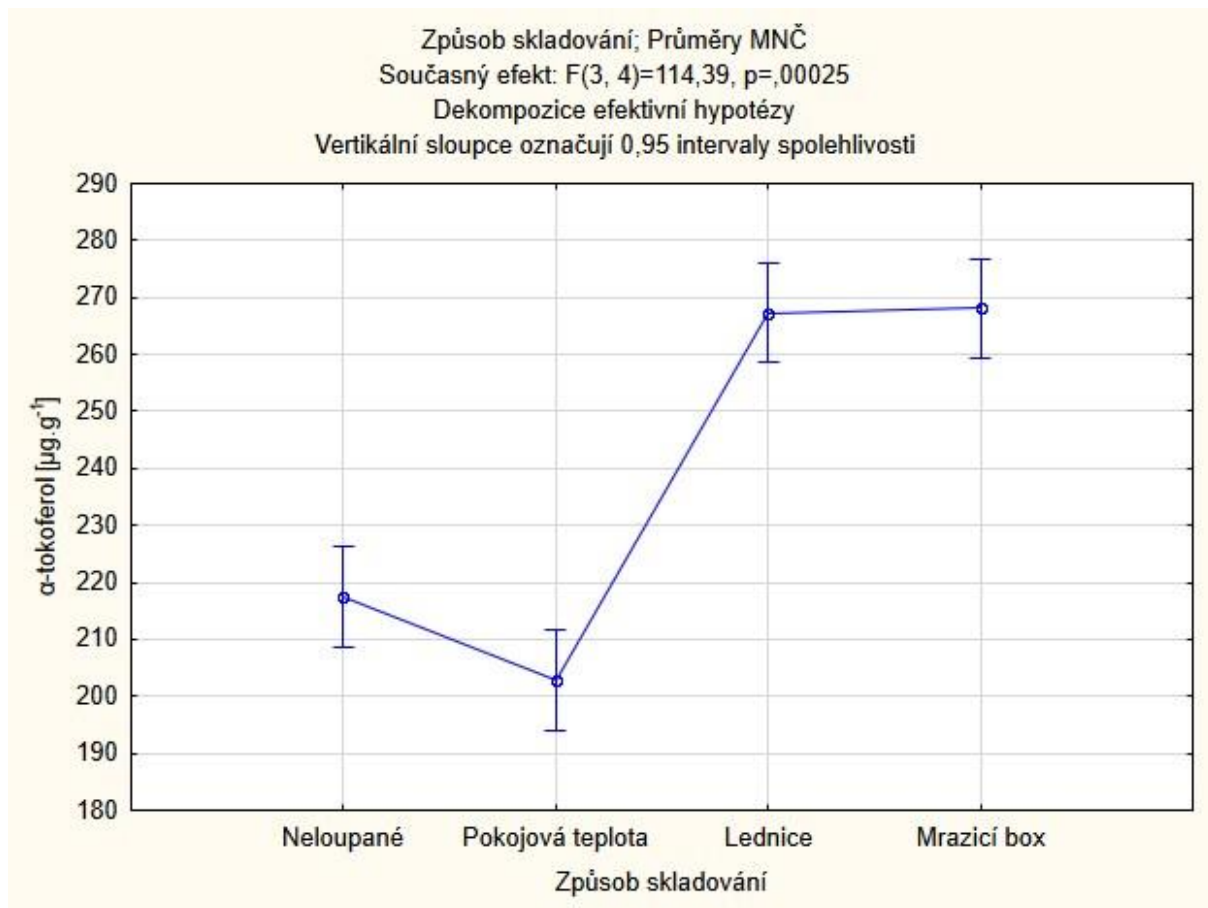
9 Seznam použitých zkratek a symbolů

ACH	Alzheimerova choroba
AOA	antioxidační aktivita
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index)
CP	celkové fenoly
CVD	kardiovaskulární onemocnění (cardiovascular disease)
FP	fenolické kyseliny
FRAP	síla redukující železité ionty (ferric reducing antioxidant power)
HPLC	vysoce účinná kapalinová chromatografie (high-performance liquid chromatography)
L	vzorky skladované v lednici
M	vzorky skladované v mrazáku
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny (monounsaturated fatty acid)
NF- κ B	nukleární faktor- κ B
PCH	Parkinsonova choroba
PL	loupané vzorky skladované za pokojové teploty
PN	neloupané vzorky skladované za pokojové teploty
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acid)
T	tokoferol
T3	tokotrienol
TAC	celková antioxidační kapacita (Total Antioxidant Capacity)
TF	celkové flavonoidy (total flavonoids)
UV	ultrafialové záření (ultraviolet)
α -TTP	α -tokoferol přenášející protein (α -tocopherol transfer protein)

10 Přílohy

Příloha 1 Příklady statistického vyhodnocení

Graf 1 Vliv způsobu skladování mandlí na obsah α -tokoferolu (575. den) – ANOVA



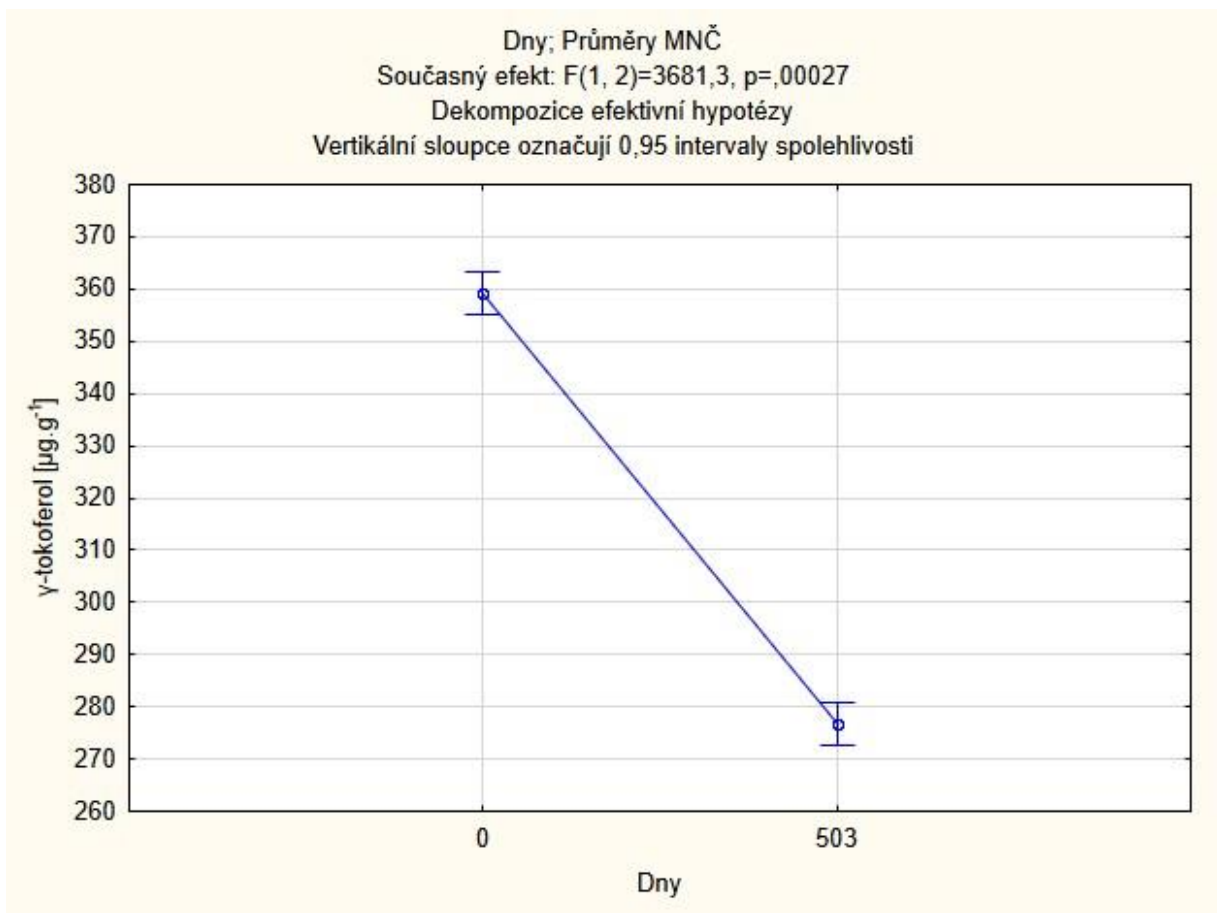
Neloupané = pokojová teplota neloupané, Pokojová teplota = pokojová teplota loupané

Tabulka 1 Statistické vyhodnocení α -tokoferolu v mandlích (575. den) se zaměřením na porovnání jednotlivých způsobů skladování – Scheffeho test

Scheffeho test; proměnná α -tokoferol (mandle)					
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy					
Chyba: meziskup. PČ = 19,959, sv = 4,0000					
Č. buňky	Způsob skladování	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Neloupané		0,125932	0,001788	0,001687
2	Pokojová teplota	0,125932		0,000660	0,000630
3	Lednice	0,001788	0,000660		0,998496
4	Mrazicí box	0,001687	0,000630	0,998496	

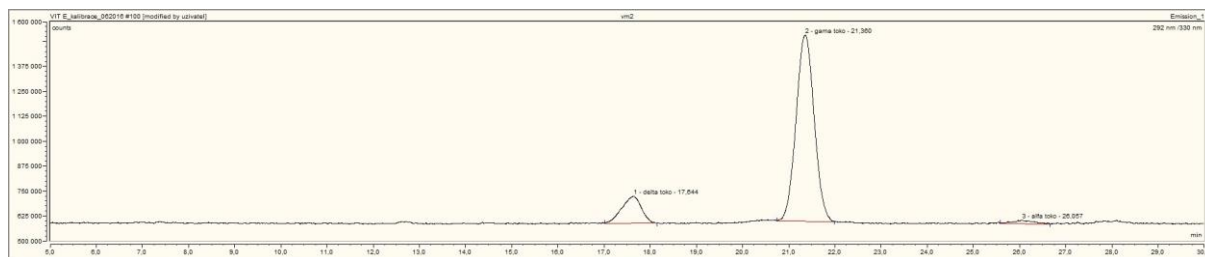
Neloupané = pokojová teplota neloupané, Pokojová teplota = pokojová teplota loupané

Graf 2 Změna obsahu γ -tokoferolu v neloupaných vlašských ořeších skladovaných za pokojové teploty po 503 dnech skladování – ANOVA

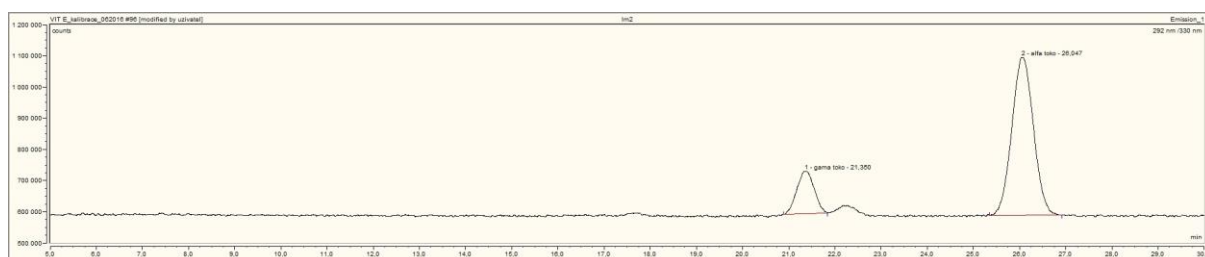


Příloha 2 Příklady chromatogramů

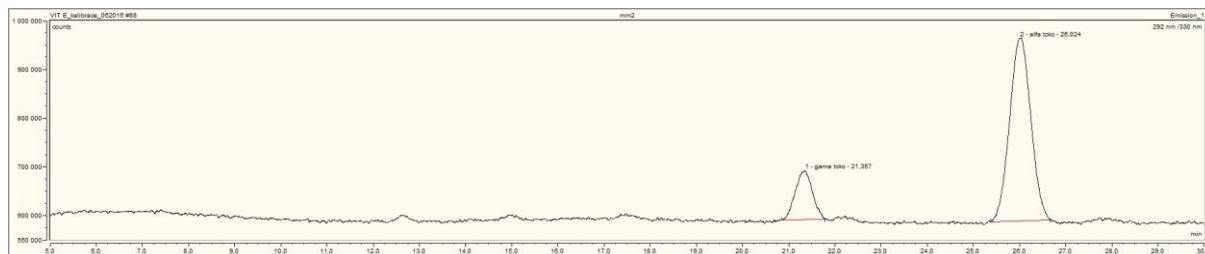
Obrázek 1 Zobrazení jednotlivých tokolů ve vzorku vlašských ořechů



Obrázek 2 Zobrazení jednotlivých tokolů ve vzorku lískových ořechů



Obrázek 3 Zobrazení jednotlivých tokolů ve vzorku mandlí



Seznam příloh

Příloha 1 Příklady statistického vyhodnocení

Příloha 2 Příklady chromatogramů