

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Stanovení dusíku ve vybraných odrůdách pšenice ozimé metodou fotonové aktivační analýzy

Diplomová práce

Autor diplomové práce: Marcela Mádlíková

Vedoucí diplomové práce: Ing. Jan Tábořský, Ph.D.

Odborný konzultant: RNDr. Ivana Krausová

© 2015 ČZU v Praze

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Stanovení dusíku ve vybraných odrůdách pšenice ozimé metodou fotonové aktivační analýzy“ vypracovala samostatně a použila jen prameny, které uvádím a cituji.

V Praze dne:

podpis autora práce

Poděkování

Děkuji mému vedoucímu diplomové práce Ing. Janu Tábořskému, Ph.D. za vedení v průběhu mého studia a RNDr. Ivaně Krausové z ÚJF AV ČR v.v.i. v Řeži za odborný dohled, cenné rady a poskytnutí studijních materiálů, které mi pomáhaly při zpracování této diplomové práce. Děkuji také Ing. Davidu Chvátilovi, Ing. Pavlu Kristovi, Ph.D. a Ing. Václavu Olšanskému za spolupráci v mikrotronové laboratoři. Dále děkuji mému zaměstnavateli ÚJF AV ČR v.v.i. v Řeži za poskytnutí experimentálního zařízení a času na vypracování diplomové práce. V neposlední řadě děkuji rodičům a nejlepším přátelům za podporu během celého studia.

SOUHRN

Obsah a kvalita bílkovin v zrně pšenice ozimé je významným ukazatelem při hodnocení kvality pěstovaných plodin. Pro stanovení dusíkatých látek v obilovinách se běžně používají destruktivní metody (Kjeldahlova a Dumasova), které přinášejí rizika ztrát. Fotonová aktivační analýza (PAA) patří mezi nedestruktivní jaderné analytické metody. Je založena na jaderných reakcích prvků přítomných ve vzorku, které jsou aktivovány při ozařování vysokoenergetickými fotony a následné identifikaci a kvantifikaci vzniklých radionuklidů. Stanovení dusíku metodou IPAA je založeno na měření nespecifického anihilačního záření 511 keV, které může být emitováno i dalšími radionuklidy, jejichž příspěvek je možné odečíst. Analyzované vzorky pšenice ozimé (ročník 2013, 2014) pěstované ekologicky a konvenčně, byly ozařovány na mikrotronu ÚJF AV ČR v.v.i. a výsledky IPAA porovnány s výsledky stanovenými Kjeldahlovou metodou poskytnuté pekařskou laboratoří ČZU. Bylo prokázáno, že IPAA poskytuje srovnatelné výsledky jako Kjeldahlova metoda. Zároveň tato práce zhodnotila rozdíly mezi ekologickým a konvenčním zemědělstvím, byl zjištěn pozitivní vliv konvenčního zemědělství na vyšší obsah dusíkatých látek v zrně pšenice ozimé. Stanovení N v celých obilkách metodou IPAA prokázalo shodu s výsledky stanovení ze šrotovaného materiálu. Tímto se otevírají nové možnosti využití nedestruktivní IPAA ve šlechtitelství.

KLÍČOVÁ SLOVA

pšenice ozimá, dusík, fotonová aktivační analýza, mikrotron

SUMMARY

The content and quality of protein in the grain of winter wheat is an important indicator in assessing the quality of crops. The content of nitrogen compounds in cereals can be estimated either by destructive or non-destructive methods. Commonly used destructive methods (Kjeldahl and Dumas) bring the risk of losses. Alternatively, a non-destructive nuclear analytical method, the photon activation analysis (PAA) can be utilized. It is based on nuclear reactions of elements present in the sample that are activated upon irradiation with high-energy photons and subsequent identification and quantification of resulting radionuclides. Determination of nitrogen by the IPAA is based on the measurement of nonspecific annihilation radiation with energy of 511 keV. The background radiation emitted by other radionuclides can be subtracted. The analyzed samples of winter wheat (crop 2013 and 2014) grown both organically and conventionally were irradiated at mikrotron facility NPI ASCR. The IPAA results were compared to those obtained recently in the Laboratory of cereals quality testing CULS using the Kjeldahl method. It was shown that both methods provide comparable results. Moreover this work evaluated the differences between organic and conventional agriculture, a positive impact of conventional agriculture on higher crude protein content in winter wheat grain has been found. Additionally, we show that nitrogen content determined by IPAA provides identical results when using whole caryopses or ground material. This opens up new possibilities for the use of non-destructive IPAA in plant breeding.

KEY WORDS

winter wheat, nitrogen, photon activation analysis, microtron

Obsah

1	ÚVOD.....	1
2	CÍL PRÁCE.....	2
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	3
3.1	Obsahové látky v pšenici ozimé.....	3
3.1.1	Voda.....	3
3.1.2	Sacharidy	4
3.1.2.1	Neškrobové polysacharidy	4
3.1.3	Lipidy.....	5
3.1.4	Komplex dusíkatých látek	5
3.1.5	Minerální látky a vitamíny.....	7
3.2	Odrůdová variabilita.....	7
3.3	Hodnocení kvality - potravinářská jakost	8
3.4	Úloha dusíku u pšenice ozimé ve vztahu ke zpracování.....	11
3.5	Úloha dusíku u pšenice ozimé ve vztahu k pěstování.....	11
3.6	Vliv počasí na obsah N v zrně	12
3.7	Vliv způsobu pěstování na obsah N	12
3.8	Charakteristika vybraných odrůd pšenice ozimé	14
3.9	Certifikované metody stanovení NL	16
3.9.1	Kjeldalova metoda	17
3.9.2	Dumasova metoda.....	18
3.10	Fotonová aktivační analýza (PAA)	19
3.10.1	Instrumentální fotonová aktivační analýza (IPAA)	19
3.10.1.1	Základní vztahy v PAA	20
3.10.1.2	Vztah mezi obsahem prvku a aktivitou produktu fotoaktivace	21
3.10.1.3	Standardizace v IPAA	21

3.10.1.4	Nejistota měření.....	22
3.10.1.5	Mez detekce	23
3.10.2	Výhody a nevýhody IPAA.....	24
3.10.3	Mikrotron MT-25 (Mikrotronová laboratoř ÚJF AV ČR v.v.i., Karlín)	25
3.11	Stanovení dusíku krátkodobou IPAA.....	27
4	MATERIÁL	29
4.1	Vzorky.....	29
4.2	Charakteristika lokalit	30
4.2.1	Konvenční způsob pěstování - Lípa.....	30
4.2.2	Ekologický způsob pěstování - Oro Eko Uhřetěves	31
5	METODIKA.....	33
5.1	Tabletování.....	33
5.2	Pracovní postup v mikrotronové laboratoři.....	34
5.3	Přístroje	35
5.4	Statistické vyhodnocení výsledků	37
6	VÝSLEDKY.....	38
6.1	Sklizeň 2013.....	41
6.2	Sklizeň 2014.....	42
6.3	Obilky.....	45
7	DISKUZE	47
8	ZÁVĚR.....	51
9	LITERATURA	52
10	PŘÍLOHY	59

1 ÚVOD

Pšenice je z celosvětového pohledu nejvýznamnější plodinou a také nejvýznamnější potravinou. V současné době patří podle statistik k obilovinám s největším objemem produkce na světě. Pšenice je nenahraditelnou surovinou na výrobu kynutých pečárenských výrobků. Používá se také na výrobu různých druhů pečivářských výrobků, snídaňových cereálií, těstovin a mnoha dalších výrobků. Roste rovněž nepotravinářské využití pšenice. Pšeničné zrno se stává nedílnou součástí krmných směsí, je surovinou pro výrobu škrobu a ethanolu (Kulp a Ponte, 2000).

Dusíkaté látky (NL) určují technologickou, nutriční, krmnou a biologickou hodnotu zrna. Obsah a kvalita bílkovin (NL) v zrnu pšenice ozimé je významným ukazatelem při hodnocení kvality pěstovaných plodin (Hřivna, 2012). Obsah NL v zrnu kolísá v závislosti na způsobu pěstování (konvenční/ekologické), počasí a odrůdě a pro zkoumání těchto vlivů je nezbytné využít metody, které umožňují jejich přesné stanovení.

Široký výběr metod pro stanovení dusíku vede k jejich vzájemné konkurenci, ne všechny metody však lze použít jako referenční. Tuto pozici má prozatím z chemických metod Kjeldahlova a Dumasova metoda. Použití chemických metod představuje riziko ztrát a kontaminace, protože vyžadují rozklad, rozpouštění a chemické převedení N do jeho aniontové formy. Použití korozivních nebo toxických chemikálií s následnou produkcí odpadů zvyšuje náklady spojené s ochranou zdraví a životního prostředí. Zdlouhavé vícestupňové analýzy zvyšují pravděpodobnost výskytu chyb. Zde se uplatní výhody nedestruktivních, instrumentálních metod, k nimž patří i jaderné radioanalytické metody včetně metod aktivačních (Krausová, 2015).

Použití fotonové aktivační analýzy je netradiční způsob stanovení obsahu dusíku v pšenici ozimé, kterým se dá předejít destrukci zrna. Tím se otevírají možnosti pro rychlé rutinní stanovení obsahu N v obilkách, které mohou být dále využity například ve šlechtitelství.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce je stanovit obsah dusíku v zrně vybraných odrůd (popř. genotypů) pšenice ozimé metodou fotonové aktivační analýzy (PAA). Výsledky stanovené PAA porovnat s výsledky stanovení dusíku podle Kjeldahla. Fotonová aktivační analýza (PAA) je nedestruktivní analytická metoda oproti klasickým chemickým metodám, které jsou destruktivní. Jedná se o citlivější metodu pro stanovení dusíku v pšenici než certifikovaná metoda Kjeldahlova.

V rámci řešení byly dále určeny tyto cíle:

- Vypracování literární rešerše na téma úlohy dusíku v pšenici ozimé z různých aspektů, metody stanovení dusíku a charakteristika fotonové aktivační analýzy
- Zpracování odebraných vzorků
- Provedení fotonové aktivační analýzy (PAA) na detašovaném pracovišti mikrotronové laboratoře ÚJF AV ČR v.v.i., Karlín
- Vyhodnocení naměřených dat a porovnání výsledků s výsledky stanovení dusíku Kjeldahlovou metodou

Hypotéza:

Fotonová aktivační analýza a Kjeldahlova metoda poskytují srovnatelné výsledky.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Obsahové látky v pšenici ozimé

Chemické složení zrna pšenice je podmíněno nejen geneticky, ale také ekologickými faktory jako je klima, půda, orba, fyzikálními a chemickými vlivy během skladování a zpracování. Základním a dominantní komponentou zrna je škrob, který představuje 60-70% hmotnosti zrna (Gajdošová a Šturdík, 2004).

Potravinářská hodnota pšenice je podmíněna technologickými vlastnostmi zrna ve spojení s kvalitními senzorickými vlastnostmi. Nutriční komponenty zrna poskytují energii, stavební materiál a mají regulační úlohu. Prvotní komponenty poskytující energii jsou sacharidy a tuky, v menší míře i proteiny. Složky poskytující stavební materiál jsou hlavně proteiny a minerální látky (Gajdošová a Šturdík, 2004).

Nutriční hodnota je také určena obsahem esenciálních aminokyselin (lysin, methionin, tryptofan), jejichž zastoupení v pšenici je poměrně nízké. V pšeničném zrně je relativně malý obsah vitamínů. Pouze vitaminy skupiny B jsou zastoupeny ve významných množstvích (Gajdošová a Šturdík, 2004).

3.1.1 Voda

Voda je důležitou složkou obilného zrna, neboť za její účasti se uskutečňují všechny biochemické a fyziologické procesy. Voda patří mezi nejproměnlivější složky obilky. Na počátku vývoje je její obsah nejvyšší a později, s pokračujícím zráním, ubývá. Z technologického hlediska rozlišujeme zrna mokrá (nad 17 %), vlhká (nad 15,5 %), středně suchá (nad 14 %) a suchá (do 14 %); (Kučerová, 2004).

Voda přítomná v zrně se nachází ve formě vody volné a vázané na hydrofilní koloidy. Volná voda slouží jako rozpouštědlo, zajišťuje dopravu asimilátů a podílí se na tvorbě organických sloučenin. Mrzne při 0° C a snadno se vypařuje. Vázanou vodu tvoří voda hydratační a sorpční, která nemá migrační schopnost a nemrzne ani při nižších teplotách. Bez volné vody je zrna v klidu, aktivuje se teprve za její přítomnosti (Pelikán, 2001).

3.1.2 Sacharidy

Největší podíl obilného zrna tvoří sacharidy, z nichž hlavní část představuje škrob. Sacharidy jsou nejdůležitější skupinu zásobních látek. Mono- a oligosacharidy se v zrně vyskytují pouze v nepatrném množství (1–3 %). Z disacharidů se vyskytuje v obilce sacharóza, která se nachází v klíčku a v malém množství maltóza. Polysacharidy obilných zrn se dělí zpravidla na škrob a na skupinu neškrobových polysacharidů. Škrob je nejdůležitější složka obilného zrna a je obsažen v endospermu. Obsah tvoří přibližně 50 - 70 % v sušině obilky (Prugar a kol., 2008). Společně s lepkem určuje koloidně chemickou strukturu těsta. V semeni se vyskytuje ve formě škrobových zrn. V pšeničném zrně se vyskytují dva typy škrobových zrn: velká čočkovitá (25 – 40 μm) a malá sférická (5 – 10 μm); (Příloha - obr. 3). Čočkovitá se vytváří během prvních 15 dní po opylení a malá sférická, která představují 88 % všech škrobových zrn, se objevují 10 – 30 dní po opylení (Belderok et al., 2000).

U pšeničného škrobu můžeme chemicky rozlišit minimálně dva typy polymerů: amyλόzu a amylopektin. Pšeničný škrob běžně obsahuje 20 – 30 % amyλόzy a 70 – 80 % amylopektinu. Obě frakce se liší fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Amyλόza je rozpustná ve vodě, kdežto amylopektin pouze bobtná a není schopen tvorby roztoku (Kopáčová, 2007). Jejich chemické složení a struktura má vliv na využitelnost, stravitelnost a tedy i energetickou hodnotu sacharidů. Diference v geneticky determinovaných rozdílech, jako např. obsah volných sacharidů, poměr amyλόzy vůči amylopektinu, obsah a poměr škrobových granulí a jiných ročníkově slabě proměnlivých znacích a parametrech, je odrůdovou charakteristikou a významně ovlivňuje jak chemické, fyzikální a technologické vlastnosti, tak i možnosti dalšího využití zrna (Belderok et al., 2000; Swanston et al., 1995).

3.1.2.1 Neškrobové polysacharidy

Součástí sacharidového komplexu zrna obilnin je kromě škrobu a volných cukrů také tzn. nevyužitelné polysacharidy (celulóza, hemcelulóza, lignin), které jsou uloženy převážně v podobalových vrstvách a neškrobové polysacharidy (především beta-glukany a pentozany). Obsah těchto látek v zrně kolísá v závislosti na odrůdě a pěstebních podmínkách (Perez-Vendrell et al., 1996; Ehrenbergerová et al., 2003). Z hlediska chemického složení jsou neškrobové polysacharidy řazeny k potravinářské vláknině spolu s dalšími rostlinnými složkami, jako je celulóza, lignin, vosky, chitiny, pektiny, inulin a různé oligosacharidy (Vaculová a Horáčeková, 2007).

Neškrobové polysacharidy jsou v zrně pšenice zastoupeny především pentozy a β -(1,3)(1,4)-D glukany. Tyto patří k látkám se stavební funkcí a jsou hlavní součástí buněčných stěn zrna. Jejich základní jednotkou jsou pentózy xylóza a arabinóza (Kopáčová, 2007). Pentozy, které jsou dominantní formou neškrobových polysacharidů v pšeničném zrně, tvoří v buněčných stěnách endospermu zhruba 70 – 75 % z jejich celkového obsahu a zbývající podíl připadá na β - glukany. Obsah neškrobových polysacharidů a zejména pentozanů je často uváděn v souvislosti s modifikačním vlivem na tvrdost zrna. Tvrdost zrna pšenice je považována za jeden z perspektivních ukazatelů nejen v případě klasifikace odrůd pšenice pro potravinářské účely, ale i při hodnocení krmné kvality zrna, protože souvisí se strukturou endospermu, velikostí a uložením škrobových zrn v bílkovinné matici a tedy i možnostmi dalšího zpracování zrna (Vaculová a Horácková, 2007).

3.1.3 Lipidy

Davis et al. (1980) ve své studii uvádějí, že ačkoli je lipidová složka pšenice poměrně méně podstatná, tokoferoly (vitamín E) a polynenasycené mastné kyseliny (zvláště linolenová a linolová), jsou důležité jak z funkčního a výživového hlediska, tak pro jejich vliv na stabilitu při skladování. Obsah tuku v pšeničném zrně se pohybuje mezi 1,5 a 2,5 %. Hmotnostní podíl klíčku představuje přibližně 2,54 % z celého zrna, a podíl lipidů v něm obsažených je přibližně 64 %. Naproti tomu v endospermu, který tvoří více než 80 % zrna jsou obsažena asi 3,3 % lipidů. Z výživového hlediska je tuk z obilných klíčků velmi cenný. Podstatný podíl tuků tvoří nenasycené mastné kyseliny, především kyselina linolová, palmitová a olejová. Část lipidů se váže na molekuly škrobu, bílkovin a kovových iontů a uplatňují se v biochemických procesech v průběhu kynutí a pečení (Prugar a kol., 2008).

3.1.4 Komplex dusíkatých látek

Do energetické hodnoty zrna po sacharidech nejvíce zasahují bílkoviny – značně heterogenní komplex dusíkatých živin pšeničného zrna. Jeho obsah bývá ze všech živin nejvíce rozkolísaný, což je výsledkem genetických, agrotechnických a environmentálních vlivů. Největší podíl technologicky významných bílkovin se nachází v endospermu uvnitř pšeničného zrna. Množství bílkovin v sušině zrna kolísá ve velmi širokém rozpětí od 8 do 20 % (Foltýn, 1970), ale v normálním meteorologickém roce se pohybuje okolo 12-13 %

(Kopáčová, 2007). Z aminokyselinového spektra se sleduje zejména lyzin, který je limitující aminokyselinou a na dalších místech je to treonin, methionin a izoleucin. V obsahu lyzinu jsou mezi odrůdami malé rozdíly, ale existuje průkazná genetická variabilita. Kyselina glutamová (převážně ve formě glutaminu) představuje více než 1/3 bílkoviny pšeničného zrna a vysoký podíl je i prolinu a leucinu (Hanišová a kol., 1994). Dusíkaté látky se v zrně pšenice dělí na dusíkaté látky nebílkovinné povahy (nitráty, aminocukry, amidy, amidické soli, aminy, volné aminokyseliny apod.) a bílkoviny, které se dále člení do několika skupin. Současná diferenciací bílkovin, která vychází z kombinace rozpustnosti, aminokyselinového složení a molekulární hmotnosti v podstatě rozlišuje základní – protoplazmatické (albuminy 7-10 % a globuliny 4 - 6 %) a zásobní bílkoviny, které se dále mohou dělit na monomerní (prolaminy 40 - 45 %) a polymerní (gluteliny 34 - 45 %) (Velíšek, 1999).

Protoplazmatické bílkoviny se nachází hlavně v klíčku a aleuronové vrstvě. Patří sem albuminy a globuliny a jsou tvořeny katalytickými, stavebními a enzymaticky aktivními bílkovinami. Obsah u pšenice činí asi 15 – 20 %, Mezi albuminy a globuliny patří všechny obilné enzymy a řada dalších bílkovin (Sluková, 2003). V obilce mají především metabolické a strukturální funkce. Jsou součástí enzymů, enzymových inhibitorů, buněčných stěn, membrán a ribosomálního aparátu. Jejich obsah je silně podmíněn geneticky a je tedy druhovou a odrůdovou vlastností. Pěstitelskými podmínkami jsou málo ovlivnitelné.

Zásobní bílkoviny tvoří podstatnou část obilného zrna. Určují technologickou, nutriční, krmnou a biologickou hodnotu zrna. Do této skupiny patří prolaminy a gluteliny. Pro pšeničné prolaminy a gluteliny jsou používány názvy gliadiny a gluteniny. Jsou považovány za klíčovou komponentu v chemickém složení pšeničného zrna a jsou zastoupeny přibližně v poměru 2:3. Pšeničné gliadiny a gluteniny ve vodě bobtnají pouze omezeně a za současného vložení mechanické energie na hnětení. Za přítomnosti vzdušného kyslíku tvoří pružný a tažný gel – lepek. Lepek je příčinou jedinečných vlastností pšeničného těsta, jeho tažnosti a pružnosti, které předurčují do značné míry vlastnosti těsta. Pšeničné prolaminy (gliadiny) mají ve srovnání s gluteliny nižší molekulovou hmotnost a poskytují lepku tažnost. Pšeničné gluteniny mají naopak vyšší molekulovou hmotnost a poskytují lepku pružnost. Ve struktuře lepku vytvářejí gluteliny nadmolekulární vláknité struktury (Sluková, 2003). O kvalitě lepku a tím i mouky rozhoduje poměr těchto složek. Dalším důležitým faktorem je fyzikálně chemický charakter stavby makromolekul bílkovin lepku, jejich struktura, zejména způsob vazby mezi nimi, prostorové uspořádání bílkovinných řetězců a jejich

propojení různými příčnými můstky. Značný význam mají sulfhydrolové (-SH) a disulfidové (-S-S), přičemž vzniklé můstky lepek zpevňují (Foltýn, 1970).

3.1.5 Minerální látky a vitamíny

Obsah minerálních látek se v celých zrnech pohybuje v rozmezí 1,4 – 3%, v závislosti na odrůdě a na podmínkách během vegetace (nejčastěji v rozmezí 1,7 – 2,0 %). Množství minerálních látek v mouce je proto ukazatelem stupně vymletí mouky a stupně oddělení obalových vrstev a klíčku od endospermu. (Kopáčková, 2007). Z celkového množství biogenních prvků převažuje vápník, železo a fosfor. Souhrnně se tyto látky označují jako popel, což znamená anorganický zbytek po spálení organického materiálu. Z vitamínů mají význam hlavně vitaminy skupiny B (B1 – thiamin, B2 – riboflavin a kyselina nikotinová). V poměrně značném množství obsahují obilky vitamin E, hlavně v klíčku (Prugar a kol., 2008). Největší koncentrace vitamínů je v klíčku a obalových vrstvách. Protože tyto části přecházejí při mlýnském zpracování většinou do otrub a tmavých krmných mouk, jsou světlé mouky určené pro výživu o vitamínový podíl ochuzené (Kopáčková, 2007).

3.2 Odrůdová variabilita

Ozimá pšenice je komoditou, která vytváří největší podíl v potravinářském řetězci a je prakticky jedno, jestli je použita přímo pro výrobu potravin nebo pro výrobu krmných směsí pro hospodářská zvířata. Kromě rozdílných požadavků na základní kvalitu, má důležitý společný požadavek, a tím je dobrý zdravotní stav bez chorob, škůdců a jejich metabolitů (Beran, 2013).

Na začátku výroby této komodity je vždy použita odrůda. Po vyšlechtění odrůdy, což je dlouhodobý a velmi nákladný proces, je odrůda přihlášena do registračního řízení. Jakmile projde odrůda registračním řízením, dostane zemědělec základní informace o jejím použití a základních vlastnostech. To znamená, že je zařazena do třídy kvality (E až C), jsou dány informace o výnosovém potenciálu v jednotlivých oblastech a zjištěna odolnost odrůdy proti jednotlivým chorobám nebo skupinám chorob (Beran, 2013).

Registrace odrůdy je první informací pro zemědělce o vhodnosti odrůdy do podmínek naší republiky. Registrací odrůdy ale její kontrola nekončí. Každá registrovaná odrůda prochází

každoročně kontrolou ověřování (tzv. ORO – Ověřování Registrovaných Odrůd). ORO provádí od roku 1994 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ). Odrůda je pro šlechtitele, množitele, pěstitele i zpracovatele zdrojem ekonomického zisku a ÚKZÚZ je správním úřadem, který na základě legislativy svými rozhodnutími zajišťuje práva těchto subjektů a umožňuje komerční využívání odrůd. V zahraničí (Francie, Německo) tyto informace zahrnují nejen popis významných vlastností, ale i konkrétní doporučení o vhodnosti odrůdy pro určité podmínky (rajonizace) včetně agrotechniky (Pařízek a Rurečka, 2001). Při ověřování je kontrolováno zachování parametrů vlastností, jaké měla odrůda při registraci. Ve své podstatě je to kontrola kvality udržovacího šlechtění (Beran, 2013).

Odrůda ovlivňuje zejména kvalitu lepku (60-70 %) a v menší míře jeho kvantitu (22-28 %). Silně je ovlivněn sedimentační test, číslo poklesu a objemová hmotnost a další pekařsko-technologické vlastnosti (Pelikán a Rozsypal, 1993). Výchozími kritérii pro doporučení odrůd jsou u pšenice ozimé – výnos zrna, kvalita zrna (zařazení do jakostní skupiny), zimovzdornost, odolnost proti napadení padlím travním na listu, padlím travním v klasu, komplexem listových skvrnitostí, braničnatkou plevovou v klasu, rzí pšeničnou, chorobami pat stébel, běloklasostí, fuzariózami klasů, odolnost proti poléhání, odolnost proti porůstání (Horáková a kol., 2009).

3.3 Hodnocení kvality - potravinářská jakost

Z hlediska možnosti využití lze pšenici rozdělit do následujících skupin:

- pečivářské využití: výroba sušenek a keksů
- pekářské využití: výroba kynutých těst
- produkce škrobu
- produkce ethanolu
- krmné účely

(Palík a kol. 2009)

Cílem je zařadit každou odrůdu do přesně definované jakostní kategorie a tím umožnit spotřebiteli zvolit optimální odrůdu pro daný užitkový směr. Pšenice vhodné pro pekařské zpracování (převážně pro výrobu kynutých těst) jsou členěny dle jakosti na skupiny:

- **E** (elitní pšenice) – nejlepší, ve všech znacích vynikající, obecně by měly sloužit k vylepšování jakosti suroviny.
- **A** (kvalitní pšenice) – ve všech parametrech vyhovují, dosahují velmi dobré kvality a jsou samostatně zpracovatelné na mouky.
- **B** (chlebová pšenice) – některý z parametrů může být na hranici, v méně příznivých ročnících se očekává, že nesplní požadavky pro pekárenskou pšenici; zpracovatelné ve směsi, vytváří skupinu doplňkových odrůd pro zpracování mouky pro pekařské využití.
- **C** (odrůdy nevhodné pro pekárenské využití) - odrůdy nevhodné pro výrobu kynutých těst, tyto odrůdy jsou však použitelné ve směsi se zlepšujícími odrůdami, ale využitelné i k ostatním způsobům, např. pečivářskému, ke zpracování na škrob, etanol, ke krmným účelům.
- **CK** – pro výrobu keksů, sušenek.

Při hodnocení odrůd pšenice a jejich zařazování do skupin a tříd za použití převodu absolutních hodnot do devítibodové stupnice je třeba brát v úvahu minimální požadavky pro jednotlivé skupiny (E = elitní pšenice, A = kvalitní pšenice, B = chlebová pšenice). Absolutní hodnoty byly stanoveny na základě reálných čísel, dosažených odrůdami v tříletém zkušebním cyklu. V roce 2006 byly minimální požadavky na zařazení do skupin aktualizovány s ohledem na požadavky zpracovatelského průmyslu a víceleté zkušenosti s uvedeným systémem zařazování odrůd do jakostních kategorií. Minimální požadavky na zařazení odrůd do skupin jakosti uvádí tabulka 1.

Z výsledků Bicanové a kol. (2007) je patrné, že zařazování odrůd do jakostních skupin má své opodstatnění a pro podmínky ekologického zemědělství je vhodné využívat pšenice z jakostní skupiny E pro dosažení požadované pekařské kvality.

Tab. 1. Minimální požadavky na zařazení odrůd do skupin jakosti (Seznam doporučených odrůd 2013)

Jakostní skupina	E - elitní		A - kvalitní		B - chlebová	
Vyjádření hodnoty	absolutně	Bod (9 - 1)	absolutně	Bod (9 - 1)	absolutně	Bod (9 - 1)
Objemová výtěžnost (ml)	530	8	500	6	470	4
Obsah hrubých bílkovin (%)	12,6	6	11,8	4	11	2
Zelenyho test (ml)	49	7	35	5	21	3
Číslo poklesu (s)	286	6	226	4	196	3
Objemová hmotnost (g.l ⁻¹)	790	7	780	6	760	4
Vaznost mouky (%)	55,4	7	53,2	5	52,1	4

Systém pro hodnocení pekařské kvality zahrnuje přímá i nepřímá hodnocení, která jsou dle významu rozdělena na hlavní (mající vliv na zařazení odrůdy do jakostní kategorie) a doplňková (sloužící k další specifikaci jakosti odrůdy):

Hlavní kritéria:

1. Rapid Mix Test (objemová výtěžnost)
2. Obsah hrubých bílkovin (N x 5,7)
3. Sedimentační test (Zelenyho test)
4. Číslo poklesu
5. Objemová hmotnost
6. Vaznost mouky

Doplňková kritéria:

1. Tvrdost zrna – PSI (Particle Size Index)
2. Alveografické hodnocení

3.4 Úloha dusíku u pšenice ozimé ve vztahu ke zpracování

Obsah a kvalita bílkovin (dusíkatých látek) v zrně pšenice ozimé je významným ukazatelem při hodnocení kvality pěstovaných plodin (Hřivna, 2012). K zjištění obsahu bílkovin slouží přepočítávací faktor pro potravinářskou pšenici, který má hodnotu 5,7 a pro krmnou pšenici 6,25. Obsah hrubých bílkovin v zrně se uvádí v procentech. (Ondřejčák a Muchová, 2005).

Obsah dusíkatých látek v sušině významně ovlivňuje zpracovatelské vlastnosti zrna. Pro pekárství je rozhodující, že obsah dusíkatých látek v zrně kladně koreluje s obsahem lepkových bílkovin, ovlivňuje fyzikální a chemické vlastnosti těsta a objem pečiva. V zrně se dusíkaté látky vyskytují v různých frakcích a jejich biologická hodnota je rozdílná. V endospermu jsou zastoupeny především prolaminy a gluteliny, které představují až 75 % celkového obsahu bílkovin zrna a zodpovídají za dobré rheologické vlastnosti těsta a schopnost mouky vázat vodu. V aleuronové vrstvě, resp. klíční rostlině, jsou zastoupeny albuminy a globuliny, které činí 22 % celkových bílkovin. K tomu je třeba připočíst ještě 6 až 8 % bílkovin na obaly obilky. Palík a kol. 2009 ve své studii zkoumali a vyhodnocovali vzorky od pěstitelů z celé ČR z let 2001 až 2009 a uvedli, že průměrný obsah dusíkatých látek v sušině se u sledovaných odrůd pohyboval od 11,8 % do 12,7 %. Nejvyšší obsah dusíkatých látek byl zjištěn u odrůd kvality E (12,7 %). Sušina odrůd kvalitních a chlebových obsahovala v průměru 12,1–12,5 %. Naopak nejnižší obsah dusíkatých látek v sušině byl zaznamenán u zrna odrůd kvality C (11,8 %) (Palík a kol., 2009; Marschner, 1995).

3.5 Úloha dusíku u pšenice ozimé ve vztahu k pěstování

Při pěstování pšenice je vždy předmětem velké diskuze hnojení dusíkem. Aby došlo k jeho efektivnímu využití, je důležitý i význam fosforu, draslíku, síry, vápníku a hořčíku. Absence těchto pěti prvků, které významně zasahují do metabolických procesů spojených s fotosyntézou a transportem vytvořených asimilátů, by mohla zapříčinit, že i optimální dávka dusíku v hnojení neovlivní výnos ani kvalitu potravinářské pšenice (Hřivna, 2012).

Při nedostatku N se rostliny slabě vyvíjí, porosty jsou na pohled nevyrovnané, v době odnožování se snižuje počet odnoží, vegetační vrchol je krátký, redukuje se počet stébel, klas je krátký s malým počtem zrn v klase, na porostech můžeme pozorovat chlorózy způsobené deficitem dusíku (Příloha - obr. 2). Zrno má nízkou hmotnost a výrazně zhoršené

technologické parametry. Deficit dusíku je patrný i na kvalitě hotového výrobku (Příloha - obr. 1). Příjem ostatních živin lze do určité míry podpořit stupňovitými dávkami N-hnojiv. Obsah bílkovin a tím i technologická jakost zrna se při stupňování dávek dusíku rovnoměrně zvyšuje. Pšenice ozimá přijímá dusík od počátku růstu až do jeho ukončení, tedy prakticky do sklizně. Z toho důvodu je nutné neprovádět aplikaci dusíku naráz, ale podle fáze vývoje, ve které se obilnina právě nachází (Hřivna, 2012). Naopak při nadbytku dusíku jsou porosty obilnin husté, sytě zelené s bohatým olistěním. Stébla jsou však málo pevná, náchylná k poléhání a chorobám, zvláště houbovým (Richter a Kubát, 2003).

Hodnocení obsahu dusíku ve sklizených produktech je však také důležité pro posouzení toku dusíku v agroekosystémech. Obsah dusíku je ovlivněn nejen hnojením, ale významný vliv zde mají i podmínky v průběhu roku. Průběh obsahu dusíku v jednotlivých letech je ale v úzké korelaci mezi různě hnojenými variantami na určitých stanovištích. Obsah dusíku ovlivňuje tedy nejen hnojení, ročník, ale také jednotlivá stanoviště a plodiny, případně odrůdy. Z výsledků Balíka a kol. (2012) tedy vyplývá, že hnojení dusíkatými minerálními hnojivy výrazně zvyšuje výnos, zvláště na méně úrodných stanovištích. Hnojení dusíkem pozitivně ovlivňuje obsah bílkovin, ale i obsah mokrého lepku v sušině zrna. Bobtnavost a tažnost lepku však vyšší úroveň hnojení dusíkem ovlivňuje negativně.

3.6 Vliv počasí na obsah N v zru

Průběh počasí během vegetace ovlivňuje prakticky všechny parametry nutriční a technologické kvality pšeničného zrna. Ideální průběh počasí, který má pozitivní vliv na výnos a pekárenskou kvalitu zrna, je charakterizován dostatečnými srážkami do fáze kvetení s následnou vyšší teplotou vzduchu bez výrazných výkyvů a s přiměřenou, ale ne příliš vysokou vlhkostí půdy. K dobré kvalitě přispívá teplé a suché počasí ke konci období tvorby zrna, ne ale s extrémně vysokými teplotami (Muchová, 2001; Palík a kol. 2009).

3.7 Vliv způsobu pěstování na obsah N

Ekologické zemědělství představuje vhodnou alternativu k zemědělství konvenčnímu, využívajícímu tradičních technických a technologických postupů. Je charakteristické hospodařením s pozitivním dopadem ke všem složkám životního prostředí, to znamená k půdě, vodě, ovzduší, ekosystémům, a tím také zvířatům a rostlinám. Ekologické zemědělství produkuje vysoce hodnotné kvalitní potraviny, neboť výrazně omezuje využití

látek syntetického původu, především hnojiv, chemických ochranných prostředků, veterinárních léčiv a podobně (Moudrý, 2001).

Největším problémem u potravinářské pšenice v systému ekologického zemědělství není její pěstování, nýbrž dosažení požadované pekařské kvality. Mnoho autorů udává negativní vliv ekologického způsobu hospodaření na technologickou jakost, zejména tam, kde je rozhodující obsah bílkovin (Bicanová a kol., 2007). Obsah N-látek v sušině zrna ekologicky vypěstované pšenice je nižší než u pšenice konvenční (Capouchová a kol., 2013). Capouchová (2004) ve své studii uvádí, že u ekologicky vypěstované pšenice je třeba počítat s dvou až tří procentním deficitem obsahu N-látek oproti pšenici pěstované konvenčním způsobem. To zhoršuje možnosti potravinářského, zvláště pekářského zpracování. Tento deficit je způsoben zvýšenou potřebou dusíku zejména v pozdních vegetačních fázích, kdy se vytváří a zraje zrno. Pro toto kritické období se v konvenčním zemědělství aplikuje tzv. kvalitativní přihnojování dusíkem pro zlepšení technologické hodnoty. Absence průmyslových, rychle působících hnojiv v ekologickém systému je tedy častou příčinou deficitu dusíku, který se v zrně projeví sníženou akumulací zásobních bílkovin (Prugar, 1999). Ekologický systém pěstování neovlivňuje pouze obsah N-látek, ale i další ukazatele technologické jakosti zrna pšenice. Jak uvádí Branlard et al. (1991) obsah bílkovin významně koreluje zejména s obsahem mokrého lepku, hodnotami zjišťovanými v rámci reologických měření a zpravidla i se sedimentačním testem. Jistou možností zlepšení kvality zrna ozimé pšenice v ekologickém způsobu pěstování je odlišná organizace a struktura porostu (širší řádky, rozdílné výsevky) oproti klasickému způsobu zakládání porostu pšenice v úzkých řádcích. Förster et al. (2004) prokázal, že při rozšíření řádků se zvyšuje nejen obsah proteinu, ale i hodnoty sedimentace. Výsledky pokusů celkově ukázaly, že pomocí této metody pěstování lze dosahovat vysoké pekařské kvality. Požadavek na obsah N-látek pšenice potravinářské – pekářské (min. 11,5 %) splňují v ekologickém systému jen elitní odrůdy (Capouchová, 2013). To potvrzuje i Petr (1998), který uvádí, že předpokladem úspěchu pěstování pšenice v ekologickém zemědělství je využívání odrůd z jakostní skupiny „E“- elitní a „A“- kvalitní, neboť u nich lze zachovat geneticky založenou dobrou mlynářskou a pekařskou jakost při různých způsobech pěstování, tedy i při nižších vstupech (Bicanová a kol., 2007).

3.8 Charakteristika vybraných odrůd pšenice ozimé

Evina

Polopozdní až pozdní odrůda elitní (E) jakosti. Rostliny má středně vysoké, středně odnožující, zrno středně velké. Předností je vysoký obsah dusíkatých látek, menší náchylnost k napadení fuzariózami klasů. Rizikem je menší odolnost proti vymrzání (ÚKZUZ, 2014).

Fabius (SZD B-13606)

Fabius je pekařská polopozdní až pozdní odrůda. Pekařskou jakost má elitní (kategorie E). Objem pečiva má vysoký, obsah dusíkatých látek středně vysoký až vysoký, hodnotu Zelenyho testu vysokou, vaznost mouky vysokou, hodnotu čísla poklesu vysokou, objemovou hmotnost vysokou (Horáková, V., 2013). (ÚKZUZ, 2013). Rizikem je menší odolnost proti vymrzání (ÚKZUZ, 2014).

Sultan

Polopozdní odrůda kvalitní (A) jakosti. Rostliny má středně vysoké až vysoké, středně odnožující, zrno středně velké. Předností je vysoký obsah dusíkatých látek. Rizikem je nízký výnos (ÚKZUZ, 2014).

Bohemia

Poloraná odrůda kvalitní (A) jakosti. Rostliny má vysoké až velmi vysoké, méně odnožující, zrno velké. Předností je odolnost proti vymrzání a vysoký obsah dusíkatých látek. Rizikem je náchylnost k napadení plísní sněžnou (ÚKZUZ, 2014).

Fakir (Hadm 04969-06)

Fakir je pekařská polopozdní odrůda s pekařskou jakostí kategorie A. Objem pečiva má vysoký, obsah dusíkatých látek vysoký, hodnotu Zelenyho testu vysokou až velmi vysokou, vaznost mouky vysokou až velmi vysokou, hodnotu čísla poklesu středně vysokou, objemovou hmotnost vysokou (Horáková, 2013), (ÚKZUZ, 2013). Rizikem je malá stabilita čísla poklesu (ÚKZUZ, 2014).

Patras (LEU 80214)

Patras je pekařská polopozdní odrůda. Pekařskou jakost má kvalitní (kategorie A). Objem pečiva má velmi vysoký, obsah dusíkatých látek středně vysoký až vysoký, hodnotu Zelenyho testu středně vysokou, vaznost mouky středně vysokou, hodnotu čísla poklesu vysokou, objemovou hmotnost středně vysokou (Horáková, 2013). (ÚKZUZ, 2013). Předností je střední odolnost proti vymrzání. Rizikem je nízká objemová hmotnost (ÚKZUZ, 2014).

Etana (LEU 90209)

Etana je pekařská polopozdní odrůda. Pekařskou jakost má kvalitní (kategorie A). Objem pečiva má vysoký, obsah dusíkatých látek středně vysoký, hodnotu Zelenyho testu středně vysokou, vaznost mouky vysokou, hodnotu čísla poklesu vysokou, objemovou hmotnost vysokou (Horáková, 2013; ÚKZUZ, 2013). Předností je střední odolnost proti vymrzání, stabilní číslo poklesu a objemová hmotnost (ÚKZUZ, 2014).

Zeppelin (Hadm 04972-06)

Zeppelin je pekařská polopozdní odrůda. Pekařskou jakost má kvalitní (kategorie A). Objem pečiva má vysoký, obsah dusíkatých látek vysoký, hodnotu Zelenyho testu velmi vysokou, vaznost mouky velmi vysokou, hodnotu čísla poklesu středně vysokou, objemovou hmotnost vysokou (Horáková, 2013). (ÚKZUZ, 2013). Předností je odolnost proti vymrzání, vysoký obsah dusíkatých látek, vysoká objemová hmotnost. Rizikem je malá stabilita čísla poklesu (ÚKZUZ, 2014).

Tobak (BB 160906W)

Tobak je pekařská polopozdní až pozdní odrůda. Pekařskou jakost má chlebovou (kategorie B). Objem pečiva má vysoký, obsah dusíkatých látek nízký, hodnotu Zelenyho testu středně vysokou, vaznost mouky vysokou, hodnotu čísla poklesu vysokou, objemovou hmotnost středně vysokou až nízkou (Horáková, 2013). (ÚKZUZ, 2013). Předností je vysoký výnos, odolnost proti napadení rzí pšeničnou a padlím travním na listu, vysoká stabilita čísla poklesu. Rizikem je vysoká náchylnost k napadení fuzariózami klasů, nízká objemová hmotnost (ÚKZUZ, 2014).

Baletka

Poloraná odrůda chlebové (B) jakosti. Rostliny má středně vysoké až nízké, velmi dobře odnožující, zrna středně velké až malé. Předností je menší náchylnost k napadení fuzariózami klasů, odolnost proti vymrzání, vysoká objemová hmotnost, stabilní číslo poklesu. Rizikem je menší odolnost až náchylnost k napadení plísní sněžnou (ÚKZUZ, 2014).

Seladon

Středně raná odrůda chlebové (B) jakosti. Rostliny má středně vysoké, středně odnožující, zrna velké. Předností je střední odolnost proti vymrzání. Rizikem je náchylnost k napadení plísní sněžnou a fuzariózami klasů, nízká stabilita čísla poklesu (ÚKZUZ, 2014).

Vanessa (SG-S4969-07)

Vanessa je středně raná odrůda nevhodná pro pekařské využití (kategorie C). Odrůda není vhodná pro pekařské využití (kategorie C). Obsah dusíkatých látek má nízký, hodnotu Zelenyho testu nízkou, hodnotu čísla poklesu středně vysokou, objemovou hmotnost nízkou (Horáková, 2013; ÚKZUZ, 2013). Rizikem je vysoká náchylnost k napadení fuzariózami klasů (ÚKZUZ, 2014).

KWS Ozon

Polopozdní až pozdní odrůda nevhodná pro pekařské využití (C). Rostliny má nízké, velmi dobře odnožující, zrna velké. Předností je střední odolnost proti vymrzání (ÚKZUZ, 2014).

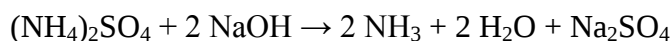
3.9 Certifikované metody stanovení NL

Stanovení dusíku v obilovinách se až do 60. let minulého století provádělo výhradně chemickými metodami, zejména pomocí klasické Kjeldahlovy metody, která byla zavedena v roce 1883, a starší Dumasovy metody zavedené v r. 1831 (Buckee, 1994). Pro stanovení obsahu hrubých bílkovin v zrně je možné použít i nechemické NIR (reflektance v blízké oblasti infračerveného spektra) a NIT (transmitance v blízké oblasti infračerveného spektra) metody, popřípadě spalovací metody podle Dumase v instrumentální modifikaci. Ke stanovení amonného a nitrátového dusíku se využívá rovněž destilace, amonné soli se stanovují titračně dle Hanuše, Winklerovou metodou, spektrofotometricky metodami

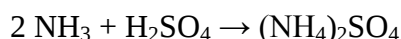
Nesslerovou a Berthelotovou, nebo elektrochemicky s využitím iontově selektivní elektrody (ISE) (Jung et al. 2003).

3.9.1 Kjeldalova metoda

Dusík organických látek obiloviny je převeden pomocí kyseliny sírové na síran amonný a zároveň při této mineralizaci (kjeldahlizaci) vzniká z vodíku a uhlíku voda a oxid uhličitý a kyselina sírová se redukuje na oxid siřičitý. Mineralizace se urychluje přidavkem síranu draselného (zvýší se teplota varu reakční směsi) a některých katalyzátorů (CuSO_4 , HgO , Se , SeO_2). Dusík ve vzniklém síranu amonném se stanovuje destilační metodou. Přídavkem nadbytku NaOH se uvolní amoniak podle reakce:



Uvolněný amoniak se predestiluje vodní parou do předlohy se známým nadbytečným množstvím standardního roztoku kyseliny sírové, se kterou reaguje podle rovnice:



Nespotřebované množství kyseliny v předloze se zjistí zpětnou titrací standardním roztokem NaOH .

Přístroj vypočítá (dle vztahu (1)) dané navážky vzorku a spotřeby kyseliny sírové přesné procento dusíkatých látek - manuální výpočet:

$$x = \frac{V_1 \times t}{m} \quad (1)$$

X - obsah dusíku x (%),

V_1 - spotřeba odměrného roztoku kyseliny sírové (0,25 M) při titraci (ml),

m - navážka vzorku (g),

t - titrace dusíku x 100 (pro přesný 0,25 M roztok = 0,35)

obsah dusíkatých látek (%) y se přepočte podle vztahu (2)) (Štercová a kol., 2012):

$$y = x \times 6,25 \quad (2)$$

Certifikovaná metoda ČSN ISO 1871 (560020) je českou verzí mezinárodní normy ISO 1871:1975. Uvádí obecné pokyny pro přístroje a postupy užívané ke stanovení dusíku v zemědělských a potravinářských výrobcích metodou podle Kjeldahla. Pro získání ekvivalentních výsledků mají být všechny varianty postupu v souladu s těmito pokyny. Poměrně stručná norma nepopisuje nijak podrobně vlastní analytickou metodu, tj rozklad organických látek kyselinou sírovou za přítomnosti katalyzátorů, zalkalizování reakčního produktu, destilace a titrace uvolněného amoniaku, ale stanovuje dosti podrobné podmínky pro způsoby jejího provádění tak, aby výsledky byly porovnatelné, jak je ostatně uvedeno v úvodu. Norma se vztahuje k problematice zjišťování (ověřování) kvalitativních znaků (jakosti) významných pro hygienu výživy (ČSN ISO 1871, 2010).

3.9.2 Dumasova metoda

Tato metoda, stejně jako Kjeldahlova metoda, nerozlišuje mezi bílkovinným a nebílkovinným dusíkem. Pro výpočet obsahu proteinu, se použijí různé přepočtové koeficienty. Hodnota těchto koeficientů se liší podle relativního množství různých proteinů a jejich aminokyselinového složení v daném produktu. Metoda dle Dumase má mnoho výhod, přičemž ta nejdůležitější je, že je snadno použitelná a plně automatizovaná. Je také výrazně rychlejší než metoda dle Kjeldahla (celý proces trvá několik minut ve srovnání s hodinou nebo i více s metodou dle Kjeldahla). Také není potřeba používání koncentrovaných kyselin a toxických katalyzátorů a tudíž má příznivý dopad na bezpečnost práce v laboratoři. Jediným nedostatkem Dumasovy metody pak zůstává vysoká pořizovací cena instrumentace. Tato metoda není použitelná pro mléko a mléčné produkty, pro které je specifikována metoda v ISO 14891 (ČSN ISO 16634-1, 2014; Saint-Denis et Goupy, 2004).

Princip metody popsal Jean-Baptiste Dumas před více než 150 lety. Vzorek se za použití této metody spaluje za přítomnosti kyslíku v komoře při vysoké teplotě (cca 900 ° C, katalyzátor CuO). To vede k uvolnění oxidu uhličitého, vody a oxidů dusíku. Plyny jsou hnány přes speciální sorpční kolony, které pohlcují oxid uhličitý a vodu. Plynné oxidy dusíku jsou katalyticky redukovány na dusík, který je poté detekován tepelně-vodivostním detektorem.

Certifikovaná metoda ČSN EN ISO 16634-1 (461086) specifikuje spalovací Dumasovu metodu pro kvantitativní stanovení celkového obsahu dusíku a výpočet obsahu hrubého proteinu v obilovinách, olejninách a krmivech (ČSN ISO 16634-1, 2014).

3.10 Fotonová aktivační analýza (PAA)

Fotonová aktivační analýza (PAA) patří mezi jaderné analytické metody. Je založena na jaderných reakcích prvků přítomných ve vzorku, které jsou aktivovány při ozařování vysokoenergetickými fotony (brzdné záření - *bremssstrahlung*) a následné identifikaci a kvantifikaci vzniklých radionuklidů. Většina radionuklidů vzniklých aktivací fotony emituje záření γ , které má čárový charakter energetického spektra a hodí se tedy pro spektrometrické účely. Dříve se k detekci záření γ používaly scintilační detektory z krystalů jodidu sodného aktivovaného thaliem NaI(Tl). Dnes se používají převážně polovodičové detektory vyráběné z monokrystalů superčistého germania (HPGe); (Řanda a kol., 1981).

Brzdné záření vzniká konverzí svazku urychlených elektronů po jejich dopadu na terč z vhodného těžkého a tepelně odolného kovu o vysokém Z , např. wolframu (Řanda et al., 2007a; Majer et al., 1985) a je produkováno urychlovači elektronů (Handbook, 2000). Mezi tzv. cyklické urychlovače patří mikrotron, který poskytuje až 10^{13} fotonů $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1} \mu\text{A}^{-1}$ (Thiep et al., 2005). První experimenty s fotojadernými reakcemi uskutečnili už v roce 1934 (Chadwick and Goldhaber, 1935) ale jejich větší praktické využití v PAA bylo až o dvacet let později (Lutz, 1969, 1971; Segebade et al. 1977). V ČR byl průkopníkem metody PAA Řanda et al. (1981). Jako metoda prvkové (multielementní) analýzy má PAA využití především při geochemické analýze hornin a minerálů, ale i při analýze jiných materiálů, jako biologických a environmentálních vzorků (Krausová, 2015).

Dle průběhu analýzy (zpracování vzorku) lze PAA rozdělit na instrumentální PAA (IPAA) a s využitím radiochemické separace prvku nebo skupin prvků a radiochemickou PAA.

3.10.1 Instrumentální fotonová aktivační analýza (IPAA)

Nedestruktivní IPAA je pracovně nejjednodušší variantou PAA na rozdíl od její radiochemické varianty. Je zvláště atraktivní, protože při ní odpadají veškeré chemické operace i stanovení jejich výtěžku. Uplatní se při analýze takových vzorků, u kterých můžeme případné interference ostatních prvků ve spektrech korigovat nebo eliminovat. Umožňuje stanovit téměř 40 prvků (viz. obr. 1).

PAA je možné použít pro stanovení radionuklidů s kratším poločasem přeměny tzv. krátkodobou PAA, tak i radionuklidy s dlouhými poločasy přeměny, tzv. dlouhodobou

PAA, některé prvky lze stanovit oběma variantami. Jejich přehled v Periodické tabulce je uveden na obrázku 1.

Obr. 1. Přehled prvků stanovitelných krátkodobou (ST) a dlouhodobou (LT) IPAA na mikrotronu MT-25 (převzato z dizertační práce I. Krasouvé, 2015)

H																	He						
Li	Be	ST										ST+LT		LT		B	C	N	O	F	Ne		
Na	Mg																	Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr						
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe						
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bu	Po	At	Ra						
Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt															
		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu								
		Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr								

3.10.1.1 Základní vztahy v PAA

Aktivitu vznikající při ozařování fotony lze vyjádřit základní rovnicí (3) jaderné aktivace za předpokladu, že vzniklý radionuklid je detegován spektrometrickým měřením záření γ . Rovnice (1) udává aktivitu studovaného radionuklidu A na konci ozařování, vymírání a měření (Segebade et al., 1988; Segebade et Berger, 2008).

$$A = \frac{mSDC}{M} N_A \theta \int_{E_{th}}^{E_{max}} \Phi(E) \cdot \sigma(E) dE \quad (3)$$

kde m je hmotnost vzorku, M je molární hmotnost, N_A je Avogadrova konstanta, θ je relativní izotopové zastoupení aktivovaného izotopu v přirozené směsi, E_{th} je prahová energie dané reakce, E_{max} – maximální energie brzdného záření, $\Phi(E)$ – energeticky závislá hustota toku fotonů, $\sigma(E)$ je energeticky závislý účinný průřez dané fotoreakce, $S = 1 - \exp(-\lambda t_1)$ je saturační faktor, kde λ je přeměnová konstanta, která je vázána s poločasem přeměny $T_{1/2}$ vztahem

$\lambda = \ln 2 / T_{1/2}$, t_i je doba ozařování, $D = \exp(-\lambda t_d)$ je rozpadový faktor, kde t_d je doba vymírání, tj. doba od skončení ozařování do začátku měření, $C = (1 - \exp(-\lambda t_c)) / (\lambda t_c)$ je faktor, jímž se koriguje rozpad nuklidu během doby měření t_c .

3.10.1.2 Vztah mezi obsahem prvku a aktivitou produktu fotoaktivace

Vztah mezi obsahem stanovovaného prvku ve vzorku a aktivitou (plochou fotopíku) produktu jeho aktivace (analytického radionuklidu) fotonovým zářením naměřenou spektrometrickým měřením záření γ vyjadřuje rovnice 4 (převzato z práce Segebade et Berger (2008) a upraveno Krausová 2015):

$$P(t_i, t_d, t_c) = \frac{mSDCt_c}{M} N_A \theta \eta h \int_{E_{th}}^{E_{max}} \phi(E) \sigma(E) dE \quad (4)$$

kde $P(t_i, t_d, t_c)$ je čistá naměřená plocha fotopíku (píku úplného pohlcení), ostatní symboly vyjádřeny výše ve vztahu (3).

Z výše uvedených rovnic je zřejmé, že citlivost stanovení prvků metodou IPAA závisí na mnoha parametrech, jako je ozařování (doba ozařování a energie ozařování vzorku), podmínkách měření (např. doba vymírání a měření vzorku, geometrie měření, účinnosti detektoru), na jaderných parametrech studovaných prvků (relativní izotopové zastoupení v terči, účinný průřez reakce, přeměnová konstanta, energie analytických linek). Vliv má i řada dalších faktorů, které uvedené vztahy nezohledňují, jako složení matrice, velikosti vzorku, aj. Zde se velmi uplatňuje zkušenost experimentátora, který vhodnou kombinací těchto parametrů volí optimální podmínky pro stanovení daného prvku (skupiny prvků).

3.10.1.3 Standardizace v IPAA

Výpočet obsahu analytu ve vzorku c_{vz} , je dán vztahem (5) za předpokladu, že vzniklý radionuklid je detegován spektrometrickým měřením záření γ a že současně se vzorky jsou ozařovány standardy se známým obsahem stanovovaných prvků (Krausová, 2015).

$$c_{vz} = c_{st} \frac{P_{vz} (wSDCQt_c)_{st}}{P_{st} (wSDCQt_c)_{vz}} \quad (5)$$

Symbole vyskytující se již v rovnici (3 a 4) mají stejný význam i v rovnici (5). Indexy vz a st identifikují vzorek a kalibrační standard, w je hmotnost (navážka, *weight*) analyzovaného podílu (aliquoty) vzorku nebo standardu. Veličina označená symbolem Q je mírou dávky fotonového záření, kterou vzorek či standard při aktivaci obdržel, a lze ji vhodným způsobem monitorovat.

Rovnice (5) platí, pokud gradient toku fotonů mezi pozicí vzorku a standardu je zanedbatelný nebo korigovaný použitím vhodného monitoru toku fotonů při ozařování, případně integrátorem proudu. Tímto postupem je možné stanovit prvky (popř. určit mez stanovitelnosti), pro které byly připravené standardy.

Kontrola kvality stanovení je tedy zabezpečena díky různým postupům, jako je

- souběžná analýza studovaného materiálu a certifikovaného referenčního materiálu
- použitím vnitřních standardů
- monitorováním toku fotonů aktivačními monitory
- jinými sofistikovanými postupy

Uvedené postupy mohou snížit případný vliv eventuálních zdrojů chyb a případné nehomogenity fotonového svazku (Segebade et Berger, 2008).

3.10.1.4 Nejistota měření

Každá metoda měření je zatížena chybami různých řádů. Důležité je tyto chyby charakterizovat, kvantifikovat a snažit se minimalizovat jejich vliv. Nejistota je „parametr výsledku přidružený k měření, který charakterizuje rozptyl hodnot, které by mohly být důvodně prisuzovány k měřené veličině“. Nejistota vymezuje hranice, v nichž je výsledek považován za správný, tj. přesný a pravdivý. Nejistotu je možné uvádět v různých formách. Standardní nejistota $u(x_i)$ je nejistota výsledku měření, která se vyjadřuje ve formě **směrodatné odchylky** σ . Nejistota (výsledku) měření se obvykle udává jako: **kombinovaná standardní nejistota** u_c , která se získá sloučením standardní nejistoty z jednotlivých zdrojů u_i (směrodatné odchylky) v průběhu celého analytického postupu. Kombinovaná standardní

nejistota u_c (koncentrace analytu ve vzorku) dle vztahu (6) vytváří interval, který pokrývá skutečnou hodnotu měřené veličiny s poměrně malou pravděpodobností (okolo 68 %), kde jsou jednotlivé složky nejistoty vyjádřené jako relativní standardní odchylka daná (ISO, 1993; EURACHEM, 2000).

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2} \quad (6)$$

Pro analytické účely se proto obvykle vyjadřuje celková nejistota jako **rozšířená kombinovaná nejistota** U , která se určí vynásobením hodnoty kombinované standardní nejistoty u_c faktorem pokrytí (rozšíření) k , dle rovnice 7.

$$U = k \cdot u_c \quad (7)$$

V případě normálního rozdělení pro úroveň spolehlivosti přibližně 95 % je $k = 2$. Pro výpočet nejistoty měření je nutné identifikovat a kvantifikovat všechny zdroje nejistot. Zdroje standardní nejistoty u_i v aktivační analýze je možné rozdělit podle jednotlivých kroků analýzy do 4 kategorií (IAEA, 2004):

- 1) přípravu vzorku a komparátoru (standardu, monitoru fotonového toku) zahrnuje nejistota u_1 ,
- 2) ozařování zahrnuje nejistota u_2 ,
- 3) spektrometrické měření gama záření zahrnuje nejistota u_3 ,
- 4) radiochemické separace (pokud je prováděna) zahrnuje nejistota u_4 , která v této studii nebyla zahrnuta.

3.10.1.5 Mez detekce

Ve spektrometrii záření gama, a tedy i v PAA, se mez (stanovitelnosti) detekce L_D - nejmenší množství analytu/signálu ve vzorku, které je ještě detekovatelné, stanovuje použitím Currieho metody (Currie, 1968), kde B je suma pulzů pozadí (vypočtená koncentrace pozadí z plochy píku).

$$L_D = 2,706 + 4,653\sqrt{B} \quad (8)$$

Optimalizací průběhu analýzy lze do jisté míry zvýšit detekční limit (Currie, 1968; Genie,

2000).

Jednou z důležitých veličin ve stopové analýze, zejména v detekčním limitu je blank. V IPAA není nutné v drtivé většině případů blank uvažovat, protože standardy, interferenční prvky i vzorky jsou ozařovány ve velmi čistých PE diskových pouzdrech, nebo PE nádobkách za stejných podmínek (IAEA 2004).

3.10.2 Výhody a nevýhody IPAA

IPAA má i přes některé nevýhody řadu následujících výhod:

- stanovení prvků, problematicky stanovitelných ostatními analytickými metodami, a to zejména lehkých prvků jako C, N, O a F ve stopových (t.j. $< 100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) až ultrastopových koncentracích (t.j. $< 1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) s dostatečně nízkou nejistotou,
- nízká aktivace matrice,
- snadná ověřitelnost správnosti výsledků,
- nízké detekční limity,
- expresní charakter u krátkodobé varianty,
- dobře známé teoretické základy, které umožňují relativně jednoduché vyhodnocení zdrojů nejistot,
- eliminace nežádoucích interferencí volbou vhodné energie urychlených elektronů, doby ozařování, vymírání a měření,
- vysoká pronikavost tvrdého záření, nebo brzdného záření (vysoká radiační prostupnost vysokoenergetických fotonů – až 30 cm) a tedy možnost ozáření malých vzorků (miligramy) ale i větších objemů vzorků (desítky až stovky gramů) homogenním ozářením, vhodným i u vzorků s nehomogenní distribucí studovaného prvku (např. Au),
- praktická nepřítomnost slepého pokusu (blanku),
- snadné zpracování vzorků, nenáročné na použití chemikálií,
- snížení nebezpečí kontaminace z použitých chemikálií a zařízení,
- nedestruktivní způsob ve variantě instrumentální analýzy,
- u řady prvků stanovení několika jadernými reakcemi, tzv. „self-verification princip“,
- menší radiační zatížení pro personál.

Naopak mezi nevýhody PAA patří:

- některé fotojaderné produkty jsou čisté pozitronické zářiče (jiný způsob identifikace),
- určení poločasu přeměny z rozpadové křivky,
- menší hodnoty účinných průřezů, tedy nižší citlivost,
- prahový charakter reakcí (tato zdánlivá nevýhoda se využívá pro výběr vhodného prahu reakce, pod níž reakce neprobíhá - neaktivují se tak prvky, které nejsou předmětem studia),
- použití radiochemické separace,
- sofistikovaný měřicí postup,
- pracnost a časová náročnost přípravy standardů, ozařování a měření standardů,
- nevhodnost pro malé vzorky (< 1 mg).

(Majer et al., 1985; Řanda et al., 1981; Řanda, 1982, 1989; Řanda et al., 2007; Tsypenyuk 2007; Chvátil et al., 2008; Segebade et Berger, 2008).

3.10.3 Mikrotron MT-25 (Mikrotronová laboratoř ÚJF AV ČR v.v.i., Karlín)

První československý mikrotron MT-22, zkonstruovaný na FJFI ČVUT v Praze koncem 70. let ve spolupráci s Laboratoří jaderných reakcí (dnes FLNR) SÚJV a instalovaný dosud v Žižkovském tunelu pro pěší v Praze (pod vrchem Vítkov) zahájil provoz v roce 1981. Pro rutinní PAA byla k dispozici maximální energie svazku 22 MeV. Pro analýzu vzorků zlatonosných rud ve spolupráci s Ústavem nerostných surovin v Kutné Hoře (ÚNS) byl z urychlovací komory vyveden 10 MeV kanál a instalován automatizovaný transportní a detekční systém na bázi 4 scintilačních detektorů. Během osmi let provozu tohoto systému bylo analyzováno několik tisíc vzorků potenciálních zlatonosných rud z celého bývalého Československa (Řanda et al. 2007). Druhý mikrotron stejného typu byl instalován v Ústavu nerostných surovin (ÚNS) v Kutné Hoře a uveden do provozu v roce 1989. V současné době již není v provozu.

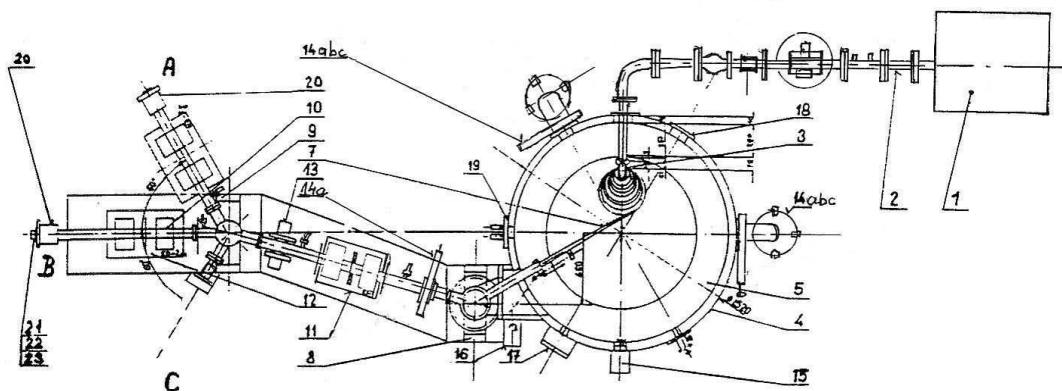
Po deseti letech úspěšného provozu byl mikrotron MT-22 na ČVUT nahrazen novým, tzv. bezkomorovým typem MT-25. Jeho výhodou je nahrazení složité vakuové urychlovací

komory vakuovým železným jhem hlavního elektromagnetu. MT-25 poskytuje vysoce monoenergetické elektrony s energií měnitelnou s krokem 0,5 MeV či 1 MeV v rozsahu 6 až 25 MeV při dlouhodobém maximálním proudu svazku až 20 μA . Elektronový svazek je transportován ke třem pracovním stanicím. Monitorování svazku umožňují indukčních snímače, detekující současně střední proud elektronů a pozici svazku. Schéma mikrotronu MT-25 je uvedeno na obrázku 2.

Značná část aplikací mikrotronu MT-25 byla dosud orientována na radiační dozimetrii, zvláště s použitím standardních vysoce energetických elektronových a fotonových polí pro kalibraci dozimetrů z onkologických pracovišť. Další aplikace instalovaných experimentálních zařízení zahrnovaly studium radiačně indukovaných změn v různých materiálech a experimentální výrobu radionuklidů pro značení farmaceutických přípravků, zvláště s ^{123}I . Pracoviště mikrotronu MT-25 (příloha - obr. 4) má důležitou roli i v pedagogickém procesu, zvláště při vzdělávání a praktické odborné přípravě domácích i zahraničních studentů v oborech experimentální jaderné fyziky, neutronové fyziky, fyziky pevných látek, neutronografie, radiačně indukovaných změn vlastností materiálů, aktivační analýzy, dozimetrie, jaderné chemie a principech urychlovačové techniky (Vognar et al., 2003).

V roce 2003 byl MT-25 převeden do vlastnictví a užívání ÚJF AVČR. V témže roce začala jeho modernizace zaměřená na zlepšení některých parametrů, především zvýšení středního proudu urychlených elektronů, zlepšení kvality svazku a ozařovacích polí a zvýšení spolehlivosti a stability při dlouhodobém provozu. Stabilní provoz mikrotronu při proudu elektronů 20 μA byl zahájen v roce 2006. Instalací nového systému kontroly a řízení provozu mikrotronu počítačem s využitím programovatelného automatu TECO byla nedávno umožněna automatizace provozu. Nové fyzikální parametry modernizovaného mikrotronu MT-25 jsou shrnuty v Tab. 4 v kapitole 5.3 (mikrotronová laboratoř ÚJF AV ČR v.v.i., Karlín); (Chvátil et al., 2008, Krist et al., 2014).

Obr. 2. Schéma mikrotronu MT-25 (Chvátil et al. 2008)



1- vysokofrekvenční zdroj, 2 – vlnovodná trasa, 3 – dutinový rezonátor, 4 – elektromagnet s vakuově těsným jhem, 5 – cívky vinutí elektromagnetu, 6 – napájecí zdroj elektromagnetu, 7 – vývod svazku urychlených elektronů, 8 – deflekční magnet D1, 9 - deflekční magnet D2, 10 – elektronovod, 11 – první kvadrupólový dublet, 12 – kvadrupólový dublet dané trasy elektronovodu, 13 – deflekční magnet D3, 14_{a,b,c} – vakuový ventil, turbomolekulární a rotační vývěva, 15 – pohon pro úhlový pohyb vývodního kanálu pro výběr dráhy (krokový motor, absolutní digitální počítadlo otáček), 16 – pohon pro nastavení délky vývodního kanálu (krokový motor, absolutní digitální počítadlo otáček), 17 – vakuová průchodka elektromagnetu, 18 – vakuová průchodka kabeláže, 19 – vakuové měrky, 20 – indukční snímač středního proudu a polohy svazku, 21 – vakuové výstupní okénko (Al folie 0,1 mm), 22 – clona pro elektronový svazek nebo 23 – záslepka z Al, tl. 30 mm. (Převzato ze studie Chvátil et al., 2008).

3.11 Stanovení dusíku krátkodobou IPAA

Stanovení dusíku představuje při klasických chemických metodách, které jsou destruktivní, riziko ztrát. IPAA je nezávislá na struktuře a formě analytu a tudíž výsledná koncentrace dusíku je tzv. celkovým dusíkem. Velká pronikavost vysokoenergetických fotonů a nízké indukované aktivity umožňují analýzu větších a reprezentativnějších vzorků (Řanda a kol., 1981; Segebade et al., 1988). Zdrojem vysokoenergetického fotonového záření z cyklického urychlovače elektronů - mikrotronu - je sekundární brzdné záření (*bremsstrahlung*); (Řanda a kol., 2007), které vzniká dopadem primárního svazku urychlených elektronů na konvertor z těžkého, tepelně odolného kovu (obvykle W).

Stanovení dusíku metodou IPAA je založeno na jaderné reakci $^{14}\text{N}(\gamma, n)^{13}\text{N}$. Analyticky využitelný produkt této fotojaderné reakce je pozitronický zářič emitující pouze nespecifické anihilační záření 511 keV, které může být emitováno i dalšími radionuklidy, které jsou

uvedeny v tabulce 2. Některé z nich kromě nespecifické linky 511 keV emitují i specifické linky, takže lze jejich příspěvek k analytickému radionuklidu ^{13}N odečíst.

Tab. 2. Radionuklidy a fotojaderné reakce vedoucí k jejich vzniku, které byly uvažovány při stanovení dusíku metodou IPAA (Krausová a kol., 2012).

Radionuklid	Poločas přeměny	Jaderná reakce	Prahová E_γ (MeV)	Hlavní E_γ (keV)
^{11}C	20,4 m	$^{12}\text{C} (\gamma, n) ^{11}\text{C}$	18,72	511
^{13}N	9,97 m	$^{14}\text{N} (\gamma, n) ^{13}\text{N}$	10,55	511
^{15}O	2,04 m	$^{16}\text{O} (\gamma, n) ^{15}\text{O}$	15,67	511
^{18}F	1,83 h	$^{19}\text{F} (\gamma, n) ^{18}\text{F}$	10,43	511
$^{34\text{m}}\text{Cl}$	32,2 m	$^{35}\text{Cl} (\gamma, n) ^{34\text{m}}\text{Cl}$	12,78	511; 146,4
^{38}K	7,64 m	$^{39}\text{K} (\gamma, n) ^{38}\text{K}$	13,07	511; 2167,7

4 MATERIÁL

4.1 Vzorky

Pro analýzu bylo vybráno 2 x 12 odrůd pšenice ozimé (ošetřené x neošetřené pole). Jedná se o tyto odrůdy v jakostních třídách E - C:

E - Evina, Fabius (SZD B 13606)

A - Sultan, Bohemia, Fakir (Hadm 04969-06), Patras (LEU 80214), Etana (Leu 90209), Zeppelin (Hadm 04972-06)

B - Tobak (BB 160906W), Baletka (sklizeň 2014 - Seladon místo Baletky)

C - Vanessa (SG-S 469 07), KWS Ozon

Tab. 3. Seznam vzorků pšenice ozimé, sklizeň 2013, 2014 (stanice Lípa, Uhřetěves)

Číslo vzorku	Kód	Odrůda
1	5077080	Sultan
2	5079900	Evina
3	5079952	KWS Ozon
4	5079961	Vanessa (SG-S469-07)
5	5081848	Fakir (Hadm 04969-06)
6	5081851	Fabius (SZD B-13606)
7	5081857	Patras (LEU 80214)
8	5088161	Tobak (BB 160906W)
9	5081876	Zeppelin (Hadm 04972-06)
10	5081877	Etana (LEU 90209)
11	5076589	Bohemia
12	5077049	Baletka/Seladon

Vzorky vybraných odrůd poskytla pekařská laboratoř FAPPZ ČZU v Praze. Od každé odrůdy bylo naváženo 10 g namletého vzorku (šrotovník Retsch Twister), další příprava vzorků pokračovala v laboratořích ÚJF AV ČR v.v.i. v Řeži. Vzorky z Uhřetěvsi byly označeny UH 1 - 12, vzorky z Lípy L 1 - 12.

Po převezení vzorků do ÚJF byly vzorky uskladěné v laboratoři a před každým ozařováním se připravilo potřebné množství vzorků společně se standardy a referenčními materiály.

- **Obilky**

Pro stanovení obsahu N v celých obilkách byly vybrány odrůdy Evina a Fabius z ekologického způsobu pěstování (Uhřetěves).

4.2 Charakteristika lokalit

Vybrané odrůdy pšenice ozimé byly pěstovány odlišným způsobem (konvenční X ekologické) v průběhu let 2012 – 2014 na dvou odlišných lokalitách.

4.2.1 Konvenční způsob pěstování - Lípa

Zkušební stanice Lípa se nachází na Vysočině nedaleko Havlíčkova Brodu a spadá pod Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ). Jedná se o bramborářskou výrobní oblast na území s vyšší nadmořskou výškou (505 m.n.m.), s dlouhodobým 30-ti letým průměrem teploty 7,5 °C a úhrnem srážek 594 mm. Vyskytují se zde střední a lehčí půdy, z hlediska typologie jde převážně o kambizemě (hnědé půdy) a okrajově o **oglejené** půdy (periodicky provlhčené půdy).

V této lokalitě byly vzorky pěstovány konvenčním způsobem s použitím hnojiv (tab. 4).

V bramborářské výrobní oblasti se hnojení dusíkem neprovádí, dávka regeneračního hnojení je stanovena na základě zjištění obsahu minerálního N v půdě těsně před hnojením a také v závislosti na stavu a hustotě porostu, tj. 30 – 60 kg N. ha⁻¹. Na základě vyhodnocení stavu porostu je také aplikována dávka produkčního hnojení 30 – 50 N. ha⁻¹ a na počátku metání je pšenice dohnojena ještě 40 N. ha⁻¹ jako kvalitativní přihnojení.

Tab. 4. Lípa 2012/13, 2013/14

Agrotechnika	2012/2013	2013/2014
Orba	31.8.2012	2.9.2013
Smýkování	3.9.2012	3.9.2013
Kompaktor	1.10.2012	25.9.2013
Setí	2.10.2012	26.9.2013
Hnojení	5.3.2013 40 kg/ha LAV	27.2.2014 40 kg/ha LAV
	15.3.2013 40 kg/ha LAV	7.3.2014 40 kg/ha LAV
	29.4.2013 50 kg/ha LAV	18.4.2014 50 kg/ha LAV
	10.5.2013 40 kg/ha LAV	5.5.2014 40 kg/ha LAV
Chemické ošetření	25.10.2012 1,0 l/ha Perfekthion	15.10.2013 0,6 l/ha Nurelle D
	22.4.2013 0,2 l/ha Huricane	28.3.2014 200 g/ha Husar
	9.5.2013 1 l/ha Amistar Xtra	2.5.2014 1 l/ha Delaro
	6.6.2013 0,75 l/ha Prosaro 250 EC	6.6.2014 0,75 l/ha Prosaro 250 EC
Regulátory růstu	24.4.2013 1,5 l/ha Retacel Extra R 68	15.4.2014 1,5 l/ha Cycocel 750 SL
Sklizeň	3.8.2013	8.8.2014
Sklizňová plocha	10 m ²	10 m ²
předplodina	vojtěška	vojtěška

4.2.2 Ekologický způsob pěstování - Oro Eko Uhříněves

Výzkumná stanice Praha – Uhříněves se nachází v úrodné řepařské oblasti středních Čech v nadmořské výšce 295 m.n.m. Byla postavena v roce 1922, jako součást selekční stanice při školním zemědělském ústavu v Uhříněvsi. Při vzniku samostatné Vysoké školy zemědělské (VŠZ) v Praze v roce 1952 se stanice stala pracovištěm katedry rostlinné výroby AF (dnešní FAPPZ). Současná výměra orné půdy je 15,7 ha a to na dvou lokalitách (Uhříněves 12,5 ha, Hájek 2,3 ha). Pokusná stanice slouží pro výzkumné i pedagogické účely. Výzkumná činnost je zaměřena na tři tématické okruhy - odrůdové předzkoušky, technologické pokusy a ekologické zemědělství. V této lokalitě byly naše vzorky pěstovány ekologickým způsobem bez použití hnojiv (tab. 5).

Tab. 5. Uhřetěves 2012/13, 2013/14

Agrotechnika:	2012/2013	2013/2014
Předplodina	Pelůška jarní	Hrách setý
Orba	22.9.2012	8.10.2013
Příprava	24.9.; 4.10.; 11.10.2012	9.10.; 24.10. - 26.10.2013
Setí	12.10.2012	26.10.2013
Výsevek	Pšenice ozimá 4,2 MKS/Ha	Pšenice ozimá 4,5 MKS/Ha
Válení po zasetí	12.10.2012	27.10.2012
Válení na jaře	11.4.2013	7.3.2013
Vláčení (plecí brány)	18.4.2013 - 1x	10.4.2014 - 2x
	15.5.2013 - 2x	17.4.2014 - 2x
	-	30.4.2014 - 2x
	-	23.5.2014 - 2x
Sklizeň	9.8.2013	25.7.2014
Počet dnů vegetace	Od zasetí - 301 dní	Od zasetí - 272 dní
	Od počátku roku 2013 - 221 dní	Od počátku roku 2014 - 206 dní

5 METODIKA

5.1 Tabletování

Potřeby: Polyetylenové folie prané v HNO_3 (průměr 35 mm), váhy METTLER AT261, METTLER MT5, kahan, lisovačka, tabletovačka, motorizovaný laboratorní lis MP250M.

Pro každou tabletu bylo naváženo cca 1400 mg vzorku pšenice. Při přípravě standardu N z NH_4SCN byla navážka cca 800 mg, u standardních referenčních materiálů (SRM) Corn Bran cca 700 mg a Peach Leaves cca 500 mg. Pro dosažení shodné geometrie vzorků, standardu a referenčních materiálů jak při ozařování, tak při měření, k nim byl přimícháván homogenně v potřebném množství definovaný škrob (pro Corn Bran cca 700 mg, pro Peach Leaves cca 900 mg), který při tabletování plnil též funkci pojidla. Tablety byly zabaleny zatavením do diskových pouzder z velmi čisté polyethylenové (PE) fólie čištěné navíc v HNO_3 (p. a., 1:5). V případě tabletování vzorků, standardu a referenčních materiálů byl používán motorizovaný laboratorní lis (Maasen GmbH, Německo); (příloha - obr. 5). Jím byly lisovány definované tablety o průměru 27 mm a tloušťce 2 - 4 mm (při typické hmotnosti vzorku cca 1 500 g) (obr. 3), při tlaku $600 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ pro biologické materiály. Při přípravě stanovení N v celých zrnech bylo naváženo cca 1500 mg celých obilek, které byly následně zataveny do diskových pouzder (obr. 4).

Obr. 3. Lisované tablety vzorků a měděné monitory



Obr. 4. Celé obilky pšenice ozimé zatavené do diskových pouzder



5.2 Pracovní postup v mikrotronové laboratoři

Pro monitorování fotonové dávky každého vzorku byly připraveny disky z definované měděné fólie. Kvůli vyloučení vlivu vzdušného dusíku byla před ozářením PE pouzdra na okraji mimo tabletu propíchnuta jehlou. Vzorky (2-3 ks), SRM, standard N i monitory byly uzavřeny do válcového polystyrénového pouzdra s vyvrtanými otvory pro vyloučení možné aktivace vzdušného dusíku (příloha - obr. 6) a uzavřeny do ozařovací cely a pod vakuem 10 minut ozařovány v ose svazku. Jejich experimentální uspořádání je znázorněno na obrázku 5. Zdrojem vysokoenergetických fotonů pro IPAA bylo brzdné záření produkované mikrotronem MT 25. Střední proud elektronového svazku se pohyboval okolo 10-15 μA . Jako optimální maximální energie svazku s nejvyšším výtěžkem analytického radionuklidu byla použita energie 17 MeV. Optimalizace vycházela ze studie pro stanovení fluoru, kde analytický radionuklid ^{18}F má podobnou hodnotu energetického prahu (Tab. 1) a ze studie provedené pro stanovení dusíku v biologických a jiných materiálech (Krausová a kol., 2012; Krausová a kol., 2010).

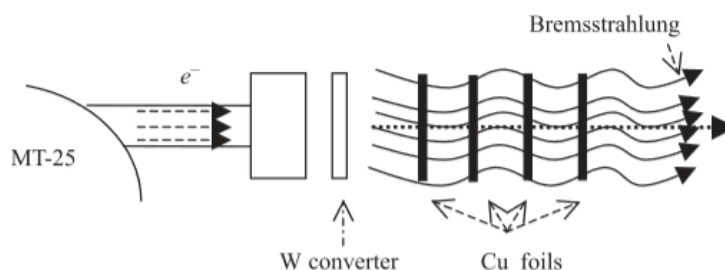
Měření aktivity produktů fotojaderných reakcí bylo prováděno na High Purity Ge (HPGe) detektoru (viz. Kap. 5.3) relativním způsobem, bez absolutní kalibrace detektoru, takže měrou aktivity byl počet impulzů v příslušném píku záření γ , ve vzdálenosti 1 cm od čela detektoru. Energie a plochy píků ve spektrech záření γ byly vyhodnocovány komerčním programem firmy Canberra (USA).

Při analýze vzorků pšenice ozimé největší problém představovala interference radionuklidů ^{11}C a ^{15}O emitujících rovněž pouze nespecifické anihilační záření jako ^{13}N . Oba radionuklidy vznikají reakcemi s výrazně vyšší prahovou energií než reakce vedoucí ke vzniku ^{13}N . Jejich

tvorbu lze tedy eliminovat vhodnou volbou energie svazku (^{11}C zcela, ^{15}O částečně, u něj lze však využít velmi krátkého poločasu přeměny a měřit aktivitu ^{13}N až po vymření radionuklidu ^{15}O). Další pozitronický zářič ^{18}F má sice prahovou energii velmi podobnou jako ^{13}N , má však podstatně delší poločas přeměny, a proto se při vhodně krátké době ozařování aktivuje podstatně méně. Navíc jsou obsahy fluoru v biologických materiálech obvykle mnohem nižší než obsahy dusíku. Vzhledem k relativně vysokým obsahům draslíku a chlóru v biologických vzorcích a k jaderným parametrům jejich vznikajících radionuklidů (viz. Tab. 1), je však nutno uvažovat korekci na jejich příspěvek do linky 511.0 keV. Korekci lze provést snadno, protože oba radionuklidy $^{34\text{m}}\text{Cl}$ a ^{38}K emitují kromě anihilačního záření i specifické analytické linky záření gama. Korekční faktory těchto interferencí jsou dány poměrem ploch píků linek 511,0 keV/specifická linka a byly již dříve experimentálně zjištěny (Krausová, 2015).

Studované vzorky byly poprvé měřeny až po 20 minutách od konce ozařování (pro dostatečné vymření interferujícího ^{15}O , $\sim 10 T_{1/2}$), celkem třikrát po dobu 5-10 minut. Vzorky korekčních standardů byly měřeny během prvních 20 minut po skončení ozařování po dobu 5 minut. Standard dusíku byl měřen po první sérii vzorků po dobu 10 minut.

Obr. 5. Umístění vzorků v „sendviči“ do osy svazku (Thiep et al., 2005).



5.3 Přístroje

Pekařská laboratoř, FAPPZ ČZU:

- Šrotovník Retsch Twister

Laboratoř, ÚJF AV ČR v.v.i, Řež:

- Lisovačka Hamilton company, inc. Whittier, California

- Tabletovačka (průměr vzniklé tablety 27 mm, tloušťka 2 - 3 mm)
- laboratorní váhy Mettler AT261 DeltaRange (rozsah 1: 0-62 g, odečitatelnost 0,000001 g, rozsah 2: 0-205g, odečitatelnost 0,0001g)
- laboratorní váhy METTLER MT5 (rozsah 0-5,1g, odečitatelnost 0,000001 g)
- motorizovaný laboratorní lis MP250M (příloha – obr. 5), (tlak 600 kg·cm⁻² pro biologické materiály a tlak 1000 kg·cm⁻² pro anorganické (geologické) materiály; výrobce Maasen GmbH, Německo)

Mikrotronová laboratoř ÚJF AV ČR v.v.i., Karlín:

- Mikrotron MT-25

Tab. 6. Fyzikální parametry mikrotronu MT-25 (Chvátil et al. 2008).

Energetický rozsah:	6 - 25 MeV		
Proud urychl. el.	20 μA		
<u>Vysokofrekvenční zdroj</u>		<u>Elektronové pole</u>	
Laditelný magnetron:	2796±5 MHz	Rozměr v 1m od výstupního okénka:	min.20x20 cm ²
Špičkový příkon:	5 MW	Homogenita:	± 5 %
Délka pulsu:	3,5 μs	Dávkový příkon v 1m od výstupního okénka:	25 Gy.min ⁻¹ . μA ⁻¹
Vlnová délka:	10 cm	<u>Fotonové pole</u>	
Opakovací frekvence:	423 Hz	Rozměr v 1m od výstupního okénka:	min.20x20 cm ²
Frekvence rezonátoru:	2798 MHz	Homogenita:	± 5 %
Frekvence napájecího zdroje:	50 Hz	Dávkový příkon v 1m od výstupního okénka:	0,2 Gy.min ⁻¹ . μA ⁻¹

- HPGe detektor

Aktivita radionuklidů byla stanovena spektrometrickým měřením záření γ , koaxiálním detektorem z vysoce čistého germania (High Purity Ge – HPGe), jehož parametry jsou uvedeny v tabulce 7. Detektor byl spojen řetězcem lineární elektroniky s počítačem řízeným γ -spektrometrickým systémem Canberra Genie 2000 (USA), který slouží zároveň i k zápisu a analýze spekter.

Tab. 7. Fyzikální parametry HPGe detektoru

Výrobce	Intertechnique
Typ	N
Relativní účinnost	21%
Rozlišení FWHM	1,85 keV pro fotony
⁶⁰ Co o energii	1332,5 keV

Detektor je připojen ke spektrometru Lynx™ od firmy Canberra. K ovládání spektrometrického systému se používá software Canberra Genie 2000, který slouží zároveň i k zápisu a analýze spekter.

K výpočtům koncentrace prvků dle vztahu (9) v analyzovaném vzorku z čisté plochy analytického píku vycházejícího ze vztahu (5) v kapitole 3.10.1.3. byl využit datový soubor (Nuclear Data) a spolupracující se zápisem spektra ve formátu *.dat. Pro výpočty na základě plochy anihilačního píku 511 keV vyžadující interferenční korekce byly použity výpočetní nástroje programu Microsoft Excel.

$$P(511 \text{ keV}^{13}\text{N}) = P(511 \text{ keV})_{\text{tot}} - \sum [CF_i \cdot P(\text{specific})_i] \quad (9)$$

5.4 Statistické vyhodnocení výsledků

Statistické vyhodnocení naměřených údajů bylo vyhodnoceno pomocí statistického softwarového programu STATISTICA CZ 2012 verze trial. Pro porovnání hodnot obsahu dusíku mezi jednotlivými metodami a mezi sklizněmi byl použit t - test pro nezávislé vzorky. Pro statistické analýzy, byla hladina významnosti stanovena na $p \leq 0,05$.

6 VÝSLEDKY

Referenční materiál Corn Bran byl vypočítán ze tří aktivací, Peach Leaves z šesti aktivací. U obou referenčních materiálů jsme se pohybovali v certifikovaném rozmezí, což zaručuje správnost metody a naměřených výsledků (tab. 8).

Tab. 8. Referenční materiály použité v IPAA

Referenční materiál	N stanovený IPAA (hm.% $\pm$ U)	Certif. hodnota (hm.% $\pm$ 2 σ)
NIST RM 8433 Corn Bran	0,865 $\pm$ 0,062 (3)	0,882 $\pm$ 0,027
NIST SRM 1547 Peach Leaves	2,867 $\pm$ 0,21 (6)	2,94 $\pm$ 0,12

Fotonová aktivační analýza poskytuje jako výsledek obsah prvku N v %. Běžné metody pro stanovení dusíku v obilí však používají veličiny N-látky (%) či N-látky v sušině (%). Pro přepočet na obsah prvku N (%) slouží koeficient 5,7 a známá vlhkost zrna. Tabulky 9 a 10 uvádí všechny uvedené veličiny.

Tab. 9. ORO – EKO Uhlíněves pšenice, sklizeň 2013, 2014

Třída	odrůda	2013						2014									
		vlhkost (%)	Kjeld - N (%)	N látky (%)	N látky v sušině (%)	IPAA - N (%)	IPAA - U	N látky % podle IPAA	N látky v suš. % podle IPAA	vlhkost (%)	Kjeld - N (%)	N látky (%)	N látky v sušině (%)	IPAA - N (%)	IPAA - U	N látky % podle IPAA	N látky v suš. % podle IPAA
E	Evina	13,0	1,59	9,05	10,40	1,746	±0,078	9,98	11,47	13,0	1,53	8,73	10,03	1,467	±0,066	8,38	9,63
	Fabius	12,9	1,48	8,45	9,70	1,509	±0,067	8,61	9,88	13,2	1,43	8,16	9,40	1,473	±0,062	8,38	9,65
	Sultan	12,7	1,62	9,25	10,60	1,764	±0,081	10,03	11,49	13,1	1,61	9,16	10,54	1,494	±0,067	8,49	9,77
	Bohemia	12,8	1,67	9,51	10,91	1,853	±0,080	10,55	12,09	13,5	1,55	8,84	10,22	1,583	±0,067	9,01	10,41
A	Fakír	12,9	1,65	9,41	10,80	1,644	±0,077	9,35	10,73	13,2	1,52	8,69	10,01	1,697	±0,073	9,69	11,16
	Patras	12,9	1,53	8,71	10,00	1,541	±0,066	8,78	10,08	13,4	1,68	9,58	11,06	1,681	±0,072	9,58	11,06
	Etana	12,7	1,46	8,29	9,50	1,614	±0,068	9,18	10,51	13,2	1,45	8,26	9,52	1,414	±0,061	8,04	9,26
	Zeppelin	12,7	1,59	9,08	10,40	1,531	±0,065	8,72	9,99	12,9	1,56	8,89	10,21	1,553	±0,066	8,84	10,14
B	Tobak	13,1	1,40	8,00	9,21	1,477	±0,062	8,44	9,71	13,0	1,48	8,44	9,70	1,593	±0,067	9,06	10,42
	Baletka	12,7	1,56	8,90	10,19	1,556	±0,071	8,89	10,19	13,0	1,39	7,94	9,13	1,311	±0,058	7,47	8,58
C	Vanessa	12,3	1,49	8,51	9,70	1,482	±0,067	8,44	9,62	12,4	1,44	8,23	9,39	1,411	±0,062	8,04	9,17
	Kws Ozon	12,9	1,51	8,62	9,90	1,505	±0,066	8,61	9,88	12,7	1,52	8,68	9,94	1,456	±0,065	8,32	9,53

U je rozšířená (k=2) kombinovaná nejistota daná statistikou měření aktivity a nejistotou z dalších zdrojů (vážení, fluktuace ozařovací a měřicí geometrie, aj.) odhadnutou úhrnem na 2%, b opakované analýzy ječmenů metodou IPAA - uvedená hodnota je průměr ze 2 stanovení.

Tab. 9. ORO – Lípa (konvenční oblast), pšenice, sklizeň 2013, 2014

Třída	odrůda	2013							2014								
		vlhkost (%)	Kjeld - N (%)	N látky (%)	N látky v sušině (%)	IPAA - N (%)	IPAA - U	N látky % podle IPAA	N látky v suš. % podle IPAA	vlhkost (%)	Kjeld - N (%)	N látky (%)	N látky v sušině (%)	IPAA - N (%)	IPAA - U	N látky % podle IPAA	N látky v suš. % podle IPAA
E	Evina	12,1	2,18	12,41	14,12	1,918	±0,091	10,94	12,45	11,7	1,73	9,85	11,15	1,827	±0,076	10,43	11,81
	Fabius	12,1	1,99	11,36	12,92	1,991	±0,086	11,34	12,9	11,6	1,65	9,42	10,66	1,745	±0,073	9,98	11,28
	Sultan	12,4	2,08	11,86	13,54	2,069	±0,090	11,80	13,47	11,5	1,72	9,82	11,10	1,770	±0,075	10,09	11,40
A	Bohemia	11,9	2,04	11,65	13,22	2,173	±0,097	12,37	14,04	11,2	1,68	9,57	10,78	1,924	±0,081	10,94	12,32
	Fakir	12,7	2,03	11,56	13,24	1,980	±0,084	11,29	12,93	11,5	1,68	9,58	10,83	1,720	±0,074	9,80	11,08
	Patras	12,2	2,05	11,67	13,29	2,039	±0,090	11,63	13,24	11,3	1,67	9,53	10,74	1,746	±0,075	9,98	11,25
	Etana	12,5	1,96	11,18	12,78	2,014	±0,085	11,46	13,09	11,3	1,64	9,32	10,51	1,787	±0,075	10,20	11,50
B	Zeppelin	12,0	2,00	11,41	12,97	2,078	±0,086	11,86	13,47	11,3	1,65	9,38	10,58	1,855	±0,079	10,60	11,95
	Tobak	12,3	2,00	11,38	12,97	1,959	±0,091	11,17	12,74	11,3	1,55	8,83	9,95	1,687	±0,072	9,63	10,86
	Baletka/seladon (2014)	11,9	1,97	11,23	12,75	1,921	±0,083	10,94	12,42	11,2	1,73	9,85	11,09	1,753	±0,074	9,98	11,23
C	Vanessa	14,1	1,92	10,96	12,76	2,003	±0,086	11,40	13,27	11,0	1,59	9,05	10,17	1,548	±0,066	8,84	9,93
	Kws Ozon	12,5	1,87	10,67	12,19	1,960	±0,082	11,17	12,77	11,0	1,66	9,45	10,62	1,914	±0,082	10,89	12,23

U je rozšířená (k=2) kombinovaná nejistota daná statistikou měření aktivity a nejistotou z dalších zdrojů (vážení, fluktuace ozařovací a měřicí geometrie, aj.) odhadnutou úhmem na 2%; b opakované analýzy ječmenů metodou IPAA - uvedená hodnota je průměr ze 2 stanovení.

6.1 Sklizeň 2013

Obsahy dusíku pšenice ozimé z ekologického způsobu pěstování (Uhřetěves) stanovené fotonovou aktivační analýzou (IPAA) vycházely v průměru o 3,5 % vyšší než výsledky podle Kjeldahla, ale tento rozdíl nebyl statisticky významný (tab. 11).

Srovnání IPAA a Kjeldahlovy metody u konvenčního způsobu pěstování (Lípa) také nebylo statisticky významné a výsledky IPAA vycházely v průměru pouze o 0,1% vyšší než výsledky podle Kjeldahla (tab. 12).

Porovnání obsahů dusíku ošetřeného (Lípa) a neošetřeného (Uhřetěves) pole stanovené IPAA ukázalo statisticky významný rozdíl (tab. 13). Tento rozdíl je dobře patrný z grafu 1, kde je znázorněn celkový grafický průběh výsledků obsahu N podle IPAA a podle Kjeldahla. Obsah N pšenice ozimé z Lípy byl v průměru o 20,3 % vyšší než u vzorků z Uhřetěvsi.

Celkový grafický průběh výsledků obsahu dusíku z roku 2013 metodou IPAA a porovnání mezi ošetřenou a neošetřenou variantou pěstování jsou uvedeny v grafu 2, kde je dobře patrný rozdíl mezi konvenčním a ekologickým způsobem pěstování. Trendová křivka výsledků z ekologického pěstování klesá v závislosti na seřazení odrůd od elitní třídy po třídu C.

Tab. 11. Srovnání Kjeldahlovy metody a IPAA (sklizeň 2013. Uhřetěves)

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
Kjeldahl (UH 2013) vs. IPAA (UH 2013)	1,545833	1,601833	0,206520	0,081738	0,124627	2,324749	0,177486

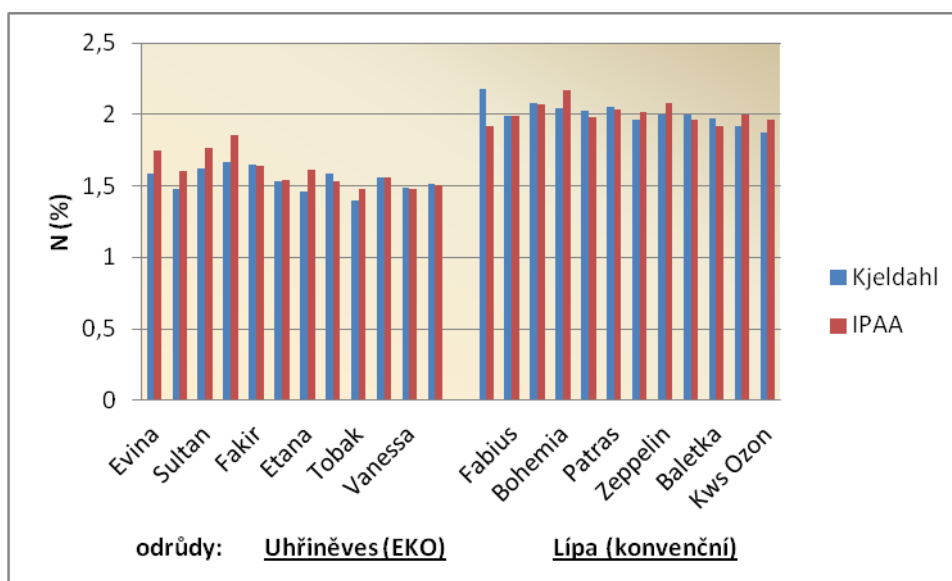
Tab. 12. Srovnání Kjeldahlovy metody a IPAA (sklizeň 2013 – Lípa)

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
Kjeldahl (L 2013) vs. IPAA (L 2013)	2,007500	2,008750	0,968260	0,079215	0,072806	1,183795	0,784575

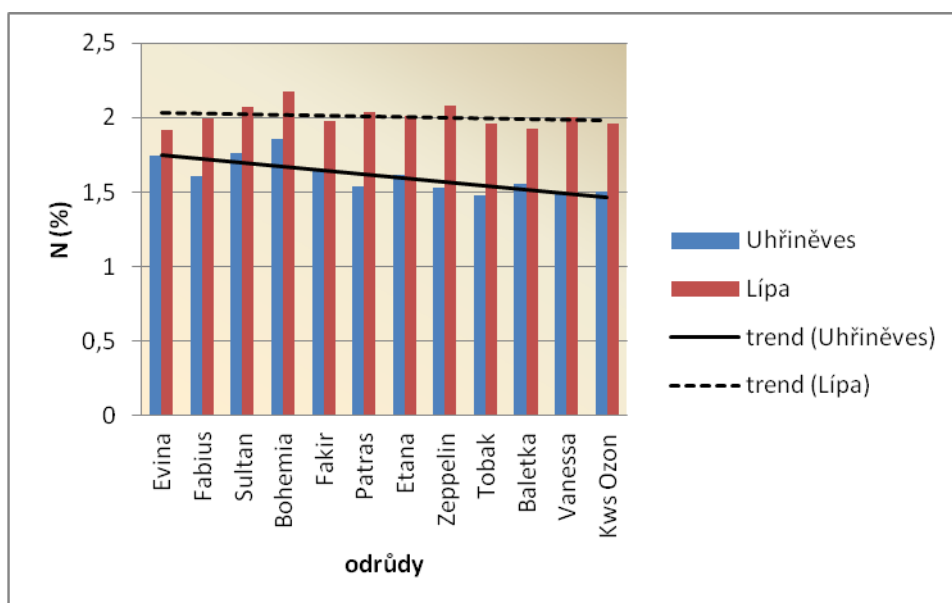
Tab. 13. Srovnání obsahů dusíku podle IPAA z Uhřetěvsi a Lípy (sklizeň 2013)

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky (Tabulka1) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
IPAA (UH 2013) vs. IPAA (L 2013)	1,601833	2,008750	0,000000	0,124627	0,072806	2,930111	0,088336

Graf 1. Obsah N v pšenici 2013



Graf 2. Obsah N v pšenici metodou IPAA (2013)



6.2 Sklizeň 2014

Obsahy dusíku pšenice ozimé z ekologického způsobu pěstování (Uhřetěves) stanovené IPAA vycházely prakticky stejně jako výsledky podle Kjeldahla. Výsledky podle Kjeldahla byly o 0,2 % vyšší a tento rozdíl nebyl statisticky významný (tab. 14).

Srovnání IPAA a Kjeldahlovy metody u konvenčního způsobu pěstování (Lípa) ukázalo statisticky významný rozdíl. Obsahy dusíku podle IPAA byly v průměru o 6,3 % vyšší než u výsledků podle Kjeldahla (tab. 15).

Statisticky významný rozdíl ukázalo i porovnání obsahů dusíku v pšenici z ošetřeného (Lípa) a neošetřeného (Uhřetěves) pole stanovené IPAA. Obsah dusíku pšenice ozimé z konvenčního způsobu pěstování byl v průměru o 14,8 % vyšší než u vzorků z ekologického zemědělství (Tab. 16). Grafické porovnání výsledků IPAA konvenčního a ekologického způsobu pěstování z roku 2014 je znázorněno v grafu 4. Grafický rozdíl mezi ekologickým a konvenčním způsobem pěstování z pohledu Kjeldahlovy metody a IPAA není tak výrazný jako u předchozího roku (graf 3) a trendové křivky obou způsobů pěstování jsou téměř rovnoběžné.

Tab. 14. Srovnání Kjeldahlovy metody a IPAA (sklizeň 2014 – Uhřetěves)

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky (Tabulka1) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
Kjeldahl (UH 2014) vs. IPAA (UH 2014)	1,514519	1,511083	0,932941	0,080827	0,114125	1,993654	0,267880

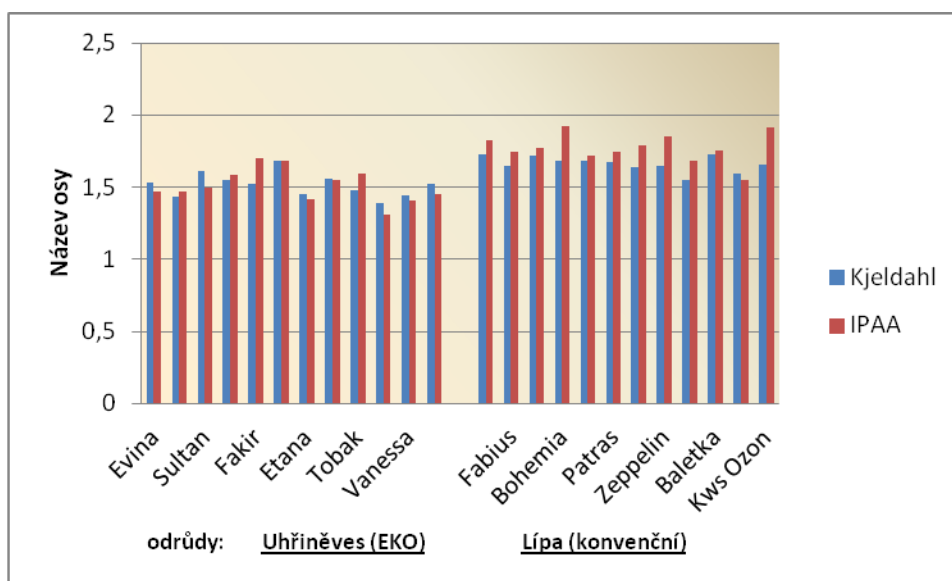
Tab. 15. Srovnání Kjeldahlovy metody a IPAA (sklizeň 2014 – Lípa)

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky (Tabulka1) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
Kjeldahl (L 2014) vs. IPAA (L 2014)	1,661688	1,773000	0,003065	0,054400	0,102367	3,540952	0,046763

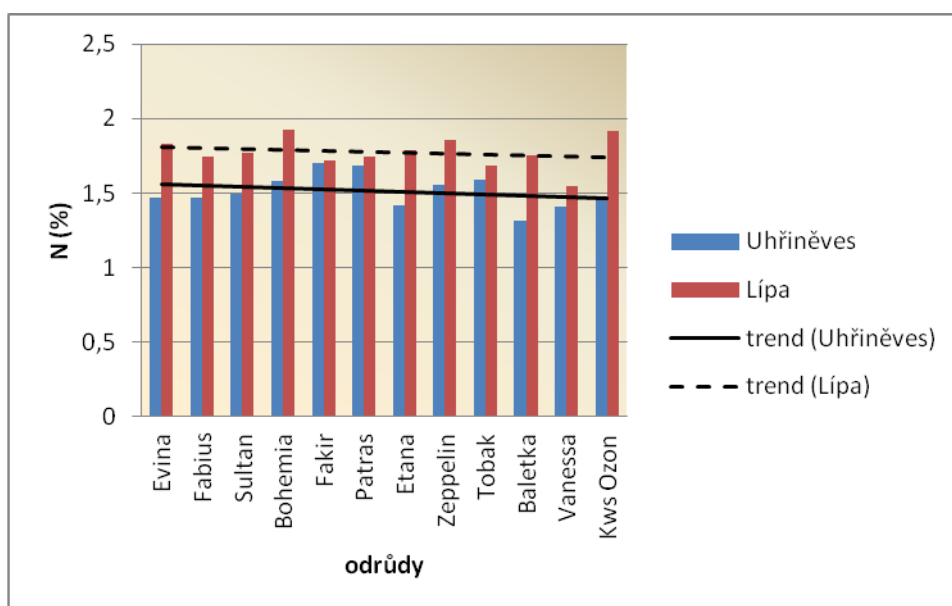
Tab. 16. Srovnání obsahů dusíku podle IPAA z Uhřetěvsi a Lípy (sklizeň 2014)

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky (Tabulka1) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
IPAA (L 2014) vs. IPAA (UH 2014)	1,773000	1,511083	0,000006	0,102367	0,114125	1,242916	0,724699

Graf 3. Obsah N v pšenici 2014



Graf 4. Obsah N v pšenici metodou IPAA (2014)



V porovnání výsledků IPAA z konvenčního způsobu pěstování mezi roky 2013 a 2014 došlo ke statisticky významnému rozdílu. V roce 2013 vycházely výsledky obsahu dusíku v průměru o 11,7 % vyšší (Tab. 17).

Při porovnání výsledků IPAA z ekologického zemědělství mezi jednotlivými ročníky (2013, 2014) však nedošlo ke statisticky významnému rozdílu (tab. 18). Výsledky z roku 2013 byly v průměru o 5,7 % vyšší.

Tab. 17. Srovnání obsahu dusíku podle IPAA z Lípy z let 2013 a 2014

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky (Tabulka1) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
IPAA (L 2013) vs. IPAA (L 2014)	2,008750	1,773000	0,000002	0,072806	0,102367	1,976907	0,273666

Tab. 18. Srovnání obsahu dusíku v pšenici ozimé podle IPAA z Uhřetěvesi z let 2013 a 2014

Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky (Tabulka1) Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky						
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	p	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
IPAA (UH 2013) vs. IPAA (UH 2014)	1,601833	1,511083	0,076263	0,124627	0,114125	1,192494	0,775484

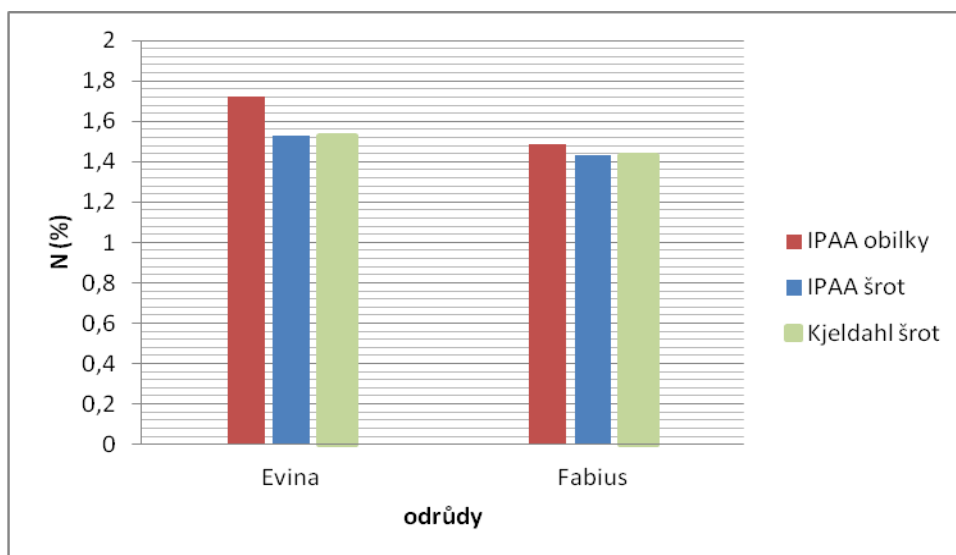
6.3 Obilky

Stanovení obsahu N v celých obilkách metodou IPAA poskytlo výsledky srovnatelné s výsledky IPAA a Kjeldahlovy metody ze šrotu. Obsah N v obilkách odrůdy Evina byl o 14,7 % vyšší než výsledek IPAA stanovený ze šrotu a Fabius o 1,1 % vyšší (tab. 19, graf 5).

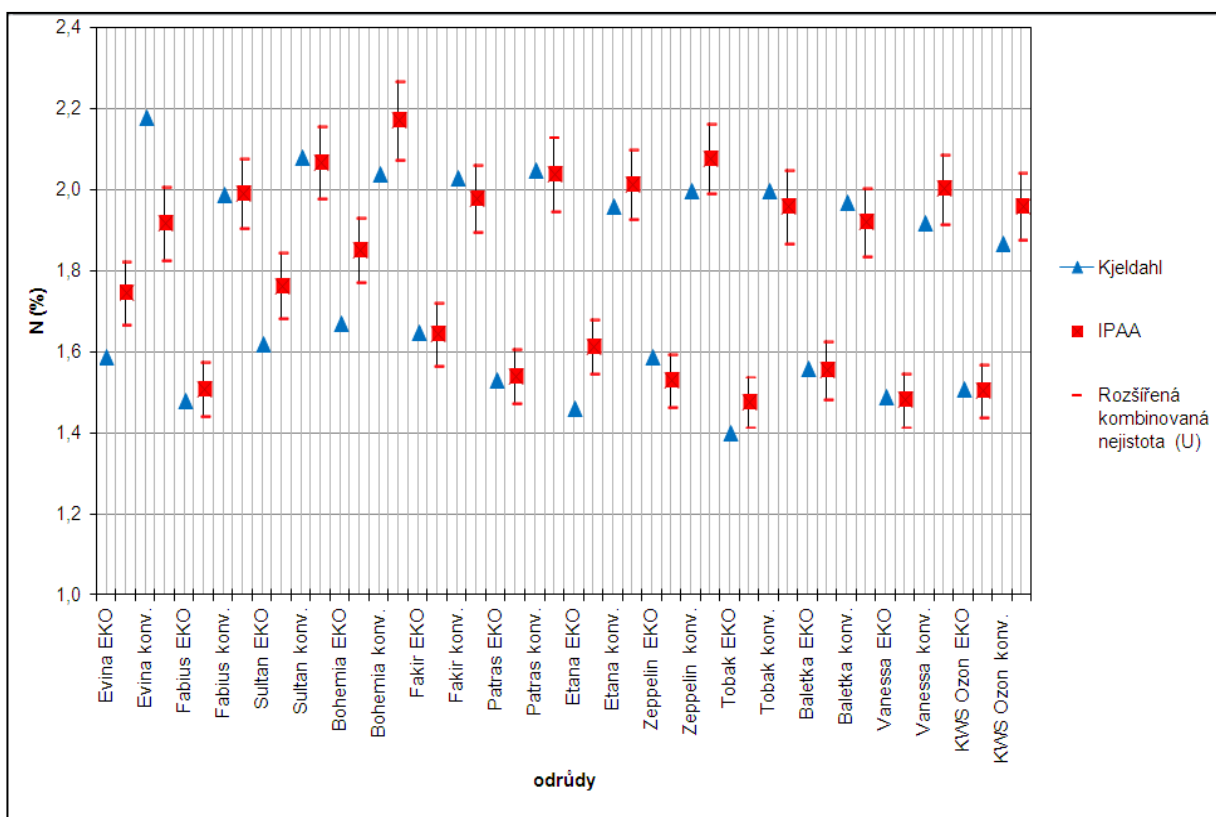
Tab. 19. Stanovení obsahu N v celých obilkách metodou IPAA (Uhřetěves 2014)

odrůda	IPAA - N (%) obilky	IPAA - N (%) šrot	Kjeld - N (%) šrot
Evina	1.724±0.074	1,467±0,066	1,53
Fabius	1.487±0.064	1,473±0,062	1,43

Graf 5. Obsah N v obilkách pšenice ozimé z konvenčního pěstování stanovený metodou IPAA



Graf 6. Srovnání výsledků obsahu N stanovených Kjeldahlovou metodou a metodou IPAA v odrůdách pšenice ozimé pěstované ekologicky (EKO) a konvenčně (konv.) - sklizeň 2013



7 DISKUZE

Sklizeň 2013

Na obsah dusíku v zrně pšenice ozimé má vliv genetika, tj. vlastnosti dané odrůdy a prostředí. To zahrnuje zejména počasí, agrotechniku, výskyt chorob a další faktory. Podle studie Jirsa a kol. (2014) byly ve vegetační sezóně 2013 příznivé podmínky pro vývoj porostů ozimých obilnin a v období sklizně panovalo suché a teplé počasí. Výsledná kvalita byla tedy velmi dobrá.

Pšenice z ekologického systému zemědělství je rozdílná v řadě jakostních ukazatelů ve srovnání s konvenčně pěstovanou pšenicí. Nejvýznamnějším rozdílem je nižší obsah NL díky absenci dusíkatých hnojiv ve způsobu pěstování (Krejčířová, 2006). Z našich výsledků stanovených metodou IPAA pro rok 2013 je tento rozdíl patrný. Absence dusíkatých hnojiv v ekologickém způsobu pěstování se projevila nižšími hodnotami obsahu N oproti odrůdám pěstovaným konvenčním způsobem. Tento trend potvrzují i výsledky Kjeldahlovou metodou, poskytnuté laboratoří ČZU.

Požadavek na obsah N-látek pšenice potravinářské – pekárenské (min. 11,5 %) splňují v ekologickém systému jen elitní odrůdy (Capouchová, 2013). To potvrzuje i Petr (1998), který uvádí, že předpokladem úspěchu pěstování pšenice v ekologickém zemědělství je využívání odrůd z jakostní skupiny „E“- elitní a „A“- kvalitní, neboť u nich lze zachovat geneticky založenou dobrou mlynářskou a pekařskou jakost při různých způsobech pěstování, tedy i při nižších vstupech (Bicanová a kol., 2007). Z našich výsledků vyplývá, že v ročníku 2013 z ekologického pěstování splňuje limit pro jakostní třídu A pouze odrůda Bohemia. Výsledky ostatních odrůd se nachází pod limitem minimálního obsahu NL daných tříd jakosti. V tabulkách výsledků jsou odrůdy seřazeny sestupně podle jakostních tříd (od E po C). Očekávali jsme, že směrem od elitní třídy po třídu C budou koncentrace N v odrůdách klesat. Ve výsledkové řadě ekologického zemědělství je tento pokles patrný. V konvenčním způsobu pěstování se tento trend příliš neprojevil. Příčinou může být vliv dusíkatých hnojiv, který ovlivňuje obsah N v zrně a stírá rozdíly mezi jednotlivými jakostními kategoriemi v přirozeném obsahu N v zrně (Hřivna, 2012). Krejčířová a kol. (2007) svými výsledky dokládá, že pšenice vypěstovaná ekologickým způsobem, bez použití rychle působících průmyslových dusíkatých hnojiv lze jen velmi obtížně dosáhnout limitů minimálního obsahu NL u jednotlivých jakostních kategorií. Zároveň ale z jejich výsledků vyplývá, že takto vypěstovaná pšenice má vyšší zastoupení albuminů a globulinů a je tedy z pohledu výživové

hodnoty kvalitnější. Ekologicky vypěstované odrůdy, které nedosáhly minimálního liminu obsahu NL tedy mohou být využitelné např. k pečivářskému zpracování. Doporučením pro zvýšení obsahu NL u ekologického pěstování je podle Bicanové a kol (2007) provedení větší meziřádkové vzdálenosti, které má významný vliv na zvýšení obsahu NL v zrně.

Z konvenčního zemědělství (Lípa) dosáhly minimálního limitu obsahu NL v sušině pro jednotlivé jakostní třídy všechny odrůdy kromě Eviny. Ve stanovení podle Kjeldahla však tato odrůda limit splňuje. Na vině může být nedostatečná homogenita materiálu, díky které mohl být v konkrétní navázce šrotu nižší obsah NL.

Sklizeň 2014

Vegetační sezóna 2014 byla průměrná a pro vývoj ozimých pšenic příznivá. Sklizeň však postihly dlouhotrvající deště, které měly za následek velmi rozdílnou jakost bílkovinného komplexu a obsah NL je oproti loňskému ročníku významně nižší (Filip a Skřivan, 2014). Tento fakt se projevil i v našich výsledcích (IPAA), které jsou ve srovnání s rokem 2013 nižší (o 5,7 % u ekologického zemědělství, o 11,7 % u konvenčního zemědělství). Srovnatelných výsledků dosáhly i Bicanová a kol. (2007), kde též uvádí vliv deštivého počasí jako důsledek nízkých obsahů NL.

Z roku 2014 v ekologickém zemědělství nesplňuje limit minimálního obsahu NL (%) pro dané kategorie žádná z odrůd. Podobných výsledků dosáhl i Stehno (2015), který však stanovoval obsah N metodou podle Kjeldahla. U výsledků konvenčního způsobu pěstování dosáhly minimálního limitu NL odrůdy Zeppelin, Seladon, KWS Ozone.

U výsledků konvenčního způsobu pěstování došlo mezi roky 2013 a 2014 k výraznému rozdílu. Jednou z příčin nižšího obsahu NL ve sklizni 2014 je nepřízeň počasí (viz výše). Další z možných důvodů mohla být rozdílná skladba hnojiv oproti roku 2013. Tuto domněnku potvrzují studie Amon-Armah et al. (2015), Hlisenkovsky a kol. (2015), Guo et al. (2014), které popisují míru ovlivnění obsahu NL v zrně aplikací různých hnojiv.

Z uvedených výsledků vyplývá, že obsah N (NL) v ošetřených rostlinách je v průměru vyšší o 18 %, což je z pohledu pěstitelů výhodnější, protože vyšší obsah NL má pozitivní vliv na klíčivost. Přestože u ekologického způsobu pěstování jsou výsledky nižší, má vypěstovaná pšenice vyšší zastoupení albuminů a globulinů a je tedy z pohledu výživové hodnoty kvalitnější.

Obilky

V závěru práce byly ozařovány celé obilky. Byly vybrány 2 odrůdy z elitní třídy jakosti (Evina, Fabius) z ekologické varianty ošetření ze sklizně 2014. Obilky, stejně jako tablety, byly zataveny do polyethylenového pouzdra. Kvůli ne zcela identické geometrii vzorku celých zrn ve srovnání s tableťovanými vzorky jsme předpokládali významnější rozdíly ve výsledcích. Dle stanovených koncentrací N však vychází jejich výsledky srovnatelně se šrotovanými variantami. Pouze u Eviny byla zjištěna nižší koncentrace N (o 14,7 %), což může být způsobeno nehomogenitou vzorku. Pro posouzení klíčivosti zrna a životaschopnosti rostliny a tím prokázání nedestruktivního charakteru IPAA byly obilky těchto dvou odrůd zasazeny a výsledek bude prezentován při obhajobě práce.

Srovnání IPAA a Kjeldahlovy metody

Výsledky IPAA ukazují, že obsahy dusíku v ošetřených odrůdách jsou systematicky mírně vyšší, v průměru o 2 % než výsledky podle Kjeldahla. Pro rok 2013 byl průměrný rozdíl ve stanovených koncentracích 3,5 % a v roce 2014 dokonce jen 0,2 %. Což je velmi dobrý výsledek s ohledem na fakt, že byly porovnávány dvě naprosto rozdílné metody stanovení a Kjeldahlova metoda je destruktivní a tudíž přináší rizika ztrát. Pro IPAA je výhodou uvedení rozšířené kombinované nejistoty (citlivější metoda) a opakování některých analýz se stejným výsledkem. Srovnávací studií je analýza sladovnických ječmenů Krausové (2015), ve které byl stanoven obsah N metodou IPAA a výsledky byly porovnány s Dumasovou metodou. Koncentrace stanoveného N metodou IPAA v ječmeni byly nižší o 5 - 10 %. Jak naznačují studie některých autorů, je stanovení podle Kjeldahla obvykle systematicky nižší než podle Dumase, protože určité formy organicky vázaného dusíku není schopna zahrnout.

Bylo prokázáno, že IPAA je vhodnou analytickou metodou pro stanovení dusíku stejně jako klasické chemické metody. Společně s každou sérií vzorků byl stanovován vhodný SRM. Výsledky těchto stanovení byly v dobré shodě s certifikovanými hodnotami v rámci jejich nejistot. Nejistoty u výsledků stanovených Kjeldahlovou metodou nebyly k dispozici. Koncentrace N stanovené touto metodou se ale v 75 % případů nacházely v rámci nejistot stanovených IPAA. Detekční limit pro stanovení N v pšenici ozimé podle Currie byl stanoven v rozmezí 0,01 - 0,02 hm. %. Tento parametr pro Kjeldahlovu metodu rovněž nebyl dostupný.

Proces IPAA není co do počtu jednotlivých kroků tak složitý jako Kjeldahlova metoda. Hlavní předností IPAA je její nedestruktivní charakter, absence používaných chemikálií a nezávislost na matrici vzorku a formě analytu. Analýza metodou IPAA nemění strukturu původního vzorku. Tento může být opakovaně použit pro další stanovení, což u destruktivních metod jako je Kjeldahlova metoda, není možné. IPAA je časově méně náročná. Zavedení pro rutinní analýzu je v současné době možné díky nově zkonstruované potrubní poště, která umožňuje zkrátit čas ozařování a měření.

8 ZÁVĚR

Při stanovení dusíku ve vybraných odrůdách pšenice ozimé metodou fotonové aktivační analýzy byla potvrzena nulová hypotéza, tj. že IPAA poskytuje srovnatelné výsledky jako Kjeldahlova metoda.

- IPAA poskytuje o cca 2 % vyšší výsledky v průměru z obou let než Kjeldahlova metoda, ale tento rozdíl není na základě statisticky vyhodnocených dat významný.
- Stanovení N v celých obilkách metodou IPAA prokázalo shodu s výsledky stanovení ze šrotovaného materiálu.
- Studie prokázala pozitivní vliv konvenčního zemědělství na vyšší obsah dusíkatých látek v zrně pšenice ozimé.
- Výsledky stanovení dusíku IPAA v referenčních materiálech jsou v dobré shodě s certifikovanými metodami v rámci jejich nejistot a zaručují tím správnost metody a získaných výsledků.
- IPAA je přímá metoda vhodná pro rutinní analýzu.

Hlavní výhodou IPAA je její nedestruktivní charakter a nezávislost na formě analytu na rozdíl od Kjeldahlovy metody. IPAA je vhodnou metodou pro analýzu biologických a geochemických materiálů a z toho vyplývá její široká použitelnost pro další případné studie. Například při potřebě prvkového stanovení u některých vzácných semen, jejichž destrukce by byla nežádoucí. Pokud se prokáže, že aktivace nemá negativní vliv na vlastnosti obilky zejména na klíčivost, mohla by být semena použita jako sadbový materiál, což otevírá další možnosti testování v jiných studiích a využití ve šlechtitelství.

9 LITERATURA

- Amon-Armah, F., Yiridoe, E. K., Jamieson, J. 2015. Comparison of crop yield and pollution production response to nitrogen fertilization models, accounting for crop rotation effect. *Agroecology and sustainable food systems*. 39 (3). 245 - 275.
- Arendt, E. K., Zannini, E. 2013. *Cereals grains for the food and beverage industries*. Woodhead publishing. Cambridge. UK. p. 417. ISBN: 978-0-85709-892-4.
- Balík, J., Černý, J., Kulhánek, M. 2012. *Bilance dusíku v zemědělství*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Powerprint Praha. 40 s. ISBN: 978-80-213-2329-2.
- Belderok, B., Mesdag, H., Donner, D. A. 2000. *Bread-Making Quality of Wheat*. Springer. New York. 359 p. ISBN: 978-94-017-0950-7.
- Beran, J. 2013. *Ozimá pšenice od A do Z*. Bayer CropsScience. [online]. OSEVA PRO s.r.o. Praha. [cit. 2015-02-25]. Dostupné z: <www.bayercropscience.cz/download.aspx?dontparse=true&FileID=24>.
- Bicanová, E., Erhartová, E., Dvořák, P., Capouchová, E. 2007. Možnosti zlepšení pekařské kvality ozimé pšenice v ekologickém zemědělství. *Sborník z konference "ekologické zemědělství 2007"*. Praha. 70 - 72.
- Branlard, G., Rousset, M., Loisel, W., Autran, J. C. 1991. Comparison of 46 technological parameters used in breeding for bread beat quality evaluation. *British journal of general practise*. 45. 263 - 280.
- Buckee, G. K. 1994. Determination of total nitrogen in barley, malt and beer by Kjeldahl procedures and the Dumas combustion method. Collaborative trial. *Journal of the Institute of Brewing*. 100 (2). 57 - 64.
- Capouchová, I. 2004. Rozdíly v kvalitě ozimé pšenice. *Zemědělský týdeník*. 7 (12). 10 - 11.
- Capouchová, I., Škeříková, A., Mičák, L. 2013. Produkční a kvalitativní parametry ozimé pšenice v ekologickém zemědělství. *Sborník ze semináře „Výzkum a zkušenosti s pěstováním rostlin v ekologickém zemědělství“*. 25. 6. 2013. Praha Uhřetěves. 11 - 16.

Currie, L. A. 1968. Limits for qualitative detection and quantitative determination. Application to radiochemistry, analytical chemistry. 40. 586 - 593.

ČSN ISO 16634-1 (461086) Potraviny - Stanovení obsahu celkového dusíku spalováním podle Dumasovy metody a výpočet obsahu hrubého proteinu. 2014. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha.

ČSN ISO 1871 (560020) Potraviny a krmiva – Obecné pokyny pro stanovení dusíku ISO 1871 metodou podle Kjeldahla Druhé vydání. 2010. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha.

Davis, K. R., Litteneker, N., Le Tourneau, D., Cain, R. F., Peters, L. J., McGinnis, J. 1980. Evaluation of the Nutrient Composition of Wheat. I. Lipid Constituents. Cereal Chemistry. 57 (3). 178 - 184.

Ehrenbergerová, J., Vaculová, K., Psota, V., Havlová, P., Šerhantová, V. 2003. Effects of cropping system and genotype on variability in important phytonutrients content of the barley grain for direct food use. Plant, Soil and Environment. 49 (10). 443 - 450.

EURACHEM. Quantifying uncertainty in analytical measurement. [online]. EURACHEM/CITAC Guide, 2nd ed. 2000. [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <www: <<http://www.eurachem.org/guides/QUAM2000-1.pdf>>.

Foltýn, J. 1970. Pšenice. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 441 s.

Förster, CH., Wilmersdorf, G., Lutz, C., Müller, E. 2004. Praxiseinführung des Anbaukonzeptes Weite Reihe für eine umweltgerechte Getreideproduktion unter besonderer Berücksichtigung des Qualitätsaspektes bei Backweizen. Final report of research project of Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung and Justus-Liebig-Universität Giessen.

Gajdošová, A., Šturdík, E. 2004. Biologické, chemické a nutričně-zdravotní charakteristiky pekárenských cereálií. Nová biotechnologica. Trnava. 133 – 154.

Genie. 2000. Customization Tools Manual. MDA Calculations. p. 369.

Guo, Z. J., Zhang, Y. L., Zhao, J. Y., Shi, Y., Yu, Z. W. 2014. Nitrogen use by winter wheat and changes in soil nitrate nitrogen levels with supplemental irrigation based on measurement of moisture content in various soil layers. Field crops research. 164. 117 - 125.

Handbook 2000. Handbook on photonuclear data for applications, Cross section and spectra. IAEA-TECDOC 1178. [online]. International Atomic Energy Agency (IAEA). Vienna. 2000. [cit. 2015-05-03]. Dostupné z <http://www.pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1178_prn.pdf>.

Hanišová, A., Hoříčka, P., Němec, Z. 1994. Zájem o pšenice se zlepšenou krmnou jakostí. Zemědělský týdeník. 1. 4 - 5.

Hlisenikovsky, L., Kunzova, E., Hejzman, M., Dvoracek, V. 2015. Effect of fertilizer application, soil type, and year on yield and technological parameters of winter wheat (*Triticum aestivum*) in the Czech Republic. Archives of agronomy and soil science. 61 (1). 33 - 53.

Horáková, V. 2013. Novinky v odrůdové skladbě pšenice ozimé. Agrotip. BASF The chemical company. 9. 14 - 20.

Horáková, V., Dvořáková, O., Mezlík, T. 2009. Seznam doporučených odrůd. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno. s. 214.

Hřivna, L. 2012. Výživa a hnojení porostů pšenice ozimé a kvalita produkce. Družstvo vlastníků odrůd. Šlechtitelské listy. 11. 1 - 5.

Chadwick, J., Goldhaber, M. 1935. The nuclear photoelectric effect. Proceeding of the royal society of London. 151. 479 - 493.

Chvátil, D., Vognar, M., Krist, P. 2008. Mikrotron MT-25 – zdroj tvrdého záření gama. IAA 07 - sborník přednášek semináře Radioanalytické metody. Spektroskopická společnost J. M. Marci. Praha. 26.

IAEA. Quantifying uncertainty in nuclear analytical measurements, IAEA-TECDOC-1401. International Atomic Energy Agency (IAEA). [online]. Vienna. 2004 [cit. 2015-01-25]. Dostupné z: <http://www.pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1401_web.pdf>.

Jung, S., Rickert, D.A., Deak, N.A., Aldin, E.D., Recknor, J. Johnson, L.A., Murphy, P.A. 2003. Comparison of Kjeldahl and Dumas methods for determining protein content of soybean products. Journal of the American Oil Chemists' Society. 80. 1169 - 1173.

Kopáčová, O. 2007. Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům. ÚZPI. Praha. 56 s. ISBN: 978-80-7271-184-0.

Krausová I. 2015. Krátkodobé produkty fotojaderných reakcí na mikrotronu a jejich využití ve fotonové aktivační analýze. Dizertační práce. ČVUT v Praze. 106 s.

Krausová, I. 2015. Krátkodobé produkty fotojaderných reakcí na mikrotronu a jejich využití ve fotonové aktivační analýze. Dizertační práce. ČVUT v Praze. 106 s.

Krausová, I. Mizera, J., Řanda, Z. Horák, Z., Chvátil, D.; Krist, P. 2013b. Možnosti instrumentální fotonové aktivační analýzy s použitím mikrotronu MT-25. 65. Zjazd chemikov. Chem-Zi. 9 (1). 9 - 13. 9. 2013 Tatry. 148.

Krausová, I., Mizera, J., Chvátil, D., Krist, P., Řanda, Z., Kučera, J., Štursa, J. 2013a. Nedestruktivní stanovení dusíku v biologických a jiných materiálech fotonovou aktivační analýzou. Sborník semináře Radioanalytické metody IAA 12, Spektroskopická společnost J. M. Marci. 27. 6. 2012. Praha. 30 - 33.

Krausová, I., Mizera, J., Řanda, Z., Dostálek, P., Táborský, J. Mádlíková, M., Faměra, O., Chvátil, D., Krist, P. 2014. Nitrogen assay by instrumental photon activation analysis with the MT-25 Microtron. 4th International Nuclear Chemistry Congress. 4th INCC 2014. Book of Abstract. 14-19. 9. 2014. Maresias, São Paulo, Brazil. 273.

Krausová, I., Mizera, J., Řanda, Z., Chvátil, D., Sýkorová, I. 2010. Determination of fluorine in geochemical reference materials and coal by instrumental photon activation analysis. Book of Abstract of 10th International multidisciplinary scientific geoconferences SGEM 2010. Bulgaria. p. 229. ISBN: 978-954-91818-1-4.

Kučerová, J. 2004. Technologie cereálií. MZLU. Brno. 141 s.

Lutz, G. J. 1969. Calculation of sensitivities in photon activation analysis. Analytical chemistry. 41. 424 - 427.

Lutz, G. J. 1971. Photon activation analysis – A review. Analytical chemistry. 43. 93 - 103.

Majer, V., Beneš, P., Gosman, A., Kratzer, K., Zeman, A. 1985. Základy užití jaderné chemie. SNTL Praha. 184 - 185.

- Matz, S. A. 1991. Chemistry and technology of cereals as food and feed. Joint distributor. USA. ISBN: 0-442-30830-2. p. 459.
- Moudrý, J. 2001. Zásady pěstování jednotlivých druhů obilnin. In: Neuerburg, W., Padel, S. 2001. Ekologické zemědělství v praxi. MZe ČR. Agrospoj Praha. 239-240.
- Němcová, I., Engst P., Jelínek, I., Sejbal, J., Rychlovský, P. 1998. Spektrometrické metody II. Karolinum. Praha. 61 - 63.
- Ondřejčák, F., Muchová, D. 2005. Podmienky pre dosahovanie kvality potravinárskej pšenice v zemiakarskej oblasti. Naše pole. 9 (12). 49 - 57.
- Palík, S., Burešová, I. Edler, S., Sedláčková, I., Tichý, F., Váňová, M. 2009. Metodika pěstování pekárenské ozimé pšenice. Agrotest fyto. MZ. Kroměříž. 68 s. ISBN: 978-80-86888-07-1.
- Pařízek, P., Jurečka, D. 2001. Odrůdové zkušebnictví ÚKZÚZ – Trvalý zdroj informací. [online]. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno. [cit. 2015-02-09]. Dostupné z: <<http://uroda.cz/odrudove-zkusebnictvi-ukzuz-trvaly-zdroj-informaci/>>.
- Pelikán, M. 2001. Zpracování obilovin a olejnin. 1. vyd. MZLU v Brně. ISBN: 80-7157-525-9. 148 s.
- Pelikán, M., Rozsypal, R. 1993. Termín setí ve vztahu k jakosti a výnosu zrna ozimé pšenice. Rostlinná výroba. 39. 233 - 234.
- Perez-Vendrell, A. M., Brufau, J., Molina-Cano, J. L., Francesch, M., Guasch, J. 1996. Effects of cultivar and environment on beta-(1,3)-(1,4)-D-glucan content and acid extract viscosity of Spanish barleys. Journal of Cereal Science. 23 (3). 285 - 292.
- Petr, J. 1987. Počasí a výnosy. SZN Praha. s. 368.
- Prugar, J. 1999. Kvalita rostlinných produktů ekologického zemědělství. Rostlinná výroba. 5. 30 – 33.
- Prugar, J., Baranyk, P., Bárta, J., Bjelková, M., Bradlová, J. 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s. Praha. ISBN: 978-80-86576-28-2. 327 s.

Richter, R., Kubát, J. 2003. Organická hnojiva, jejich výroba a použití. 2. vyd. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. ISBN: 807-105-1179. 56 s.

Řanda, Z. 1982. Radioanalytické metody v geologii III. Nedestruktivní gama aktivační analýza. ÚNS. Kutná Hora. ISBN: 978-80-904539-0-6.

Řanda, Z., Kučera, J., Mizera, J., Frána, J. 2007. Comparison of the role of photon and neutron activation analysis for elemental characterization of geological, biological and environmental materials. Journal of radioanalytical and nuclear chemistry. 271. 589 - 596.

Řanda, Z., Špaček, B., Kuncíř, J., Benada, J. 1981. Nondestruktive gama activation analysis of mineral materials. Nuclear Information Centre. Prague. 1 - 5.

Saint-Denis, T., Goupy, J. 2004. Optimization of nitrogen analyser based on the Dumas method. Analytica Chimica Acta. 515. 191 - 198.

Segebade C., Berger A. Photon activation analysis. Encyclopedia of analytical chemistry. [online]. 2008. John Wiley & Sons, Ltd. [cit. 2014-05-11]. Dostupné z: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470027318.a6211.pub2/pdf>>.

Segebade, C., Lutz, G. J., Weise, H. P. 1977. Quantitative evaluation of interference reactions in photon activation analysis. Journal of radioanalytical and nuclear chemistry. 39. 179 - 184.

Segebade, C., Weise, H. P., Lutz, G. J. 1988. Photon activation analysis. Walter de Gruyter. Berlin. New York. ISBN: 978-0899253053. p. 450.

Šluková, M. Kvalitativní ukazatele pšenice a pšeničných mouk. Cereální chemie a technologie. [online]. 2003. Praha. [cit. 2014-06-09]. Dostupné z <[www.http://www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpbt/grant_TRP/dokumenty/06.pdf](http://www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpbt/grant_TRP/dokumenty/06.pdf)>

Swanston, J. S., Ellis, R. P., Stark, J. R. 1995. Effect on grain and malting of genes altering barley starch composition. Journal of cereal science. 22 (3). 265 - 273.

Štercová, E., Straková, E., Rusníková, L., Hudečková, P. 2012. Chemická analýza krmiv. Fond rozvoje vysokých škol (projekt č. 1288/2012). VFU Brno. 87 s.

Thiep, T. D., An, T. T., Phu, T. D., Cuong, P. V., Vinh, N. T., Nam, N. T. P., My, T.T.T., Belov, A. G., Maslov, O. D., Thang, H. H. 2005. Activation method for measurement of bremsstrahlung photon flux produced by electron accelerator. Pisma v ECAJA. 127. 53 - 59.

Tsypenyuk, Y. M. 2007. Photoactivation analysis of ores using short-lived radionuclides. Journal of radioanalytical and nuclear chemistry. 271. 107 - 114.

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský a Komise pro Seznam doporučených odrůd pšenice. 2014. Seznam doporučených odrůd 2014 - pšenice ozimá. 4 s.

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Národní odrůdový úřad. Nově registrované odrůdy - pšenice ozimá. 2013. 2 s.

Vaculová, K., Horáčková, S. 2007. Neškrobové polysacharidy v zrně pšenice ozimé. Obilnářské listy. 15 (2). 25 - 31.

Velíšek, J. 1999. Chemie potravin. 3. díly. OSSIS. Tábor. s. 352. ISBN: 80-92391-2-9.

Vognar, M., Šimáně, Č., Chvátil, D. 2003. Twenty years of microtron laboratory activities at CTU in Prague. Acta Polytechnica. 43. 50-58.

10 PŘÍLOHY

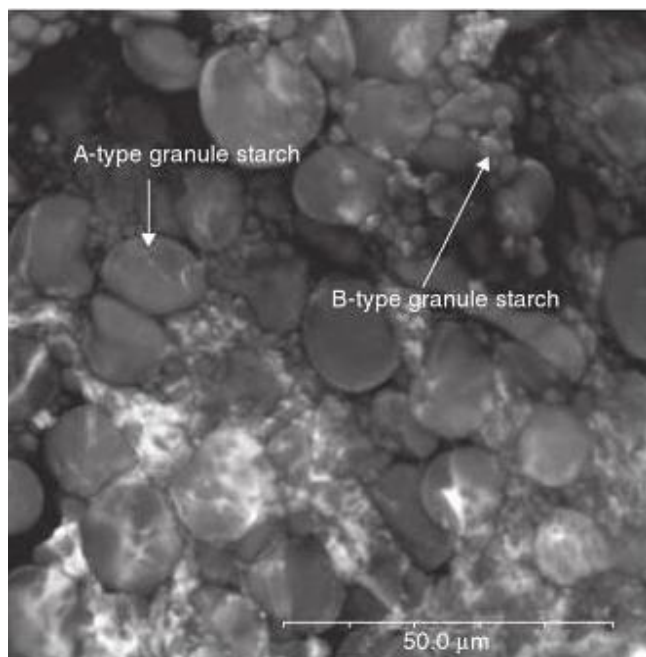
Obrázek 1. Vliv dávky N ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) na vzhled výrobku (Hřivna, 2012).



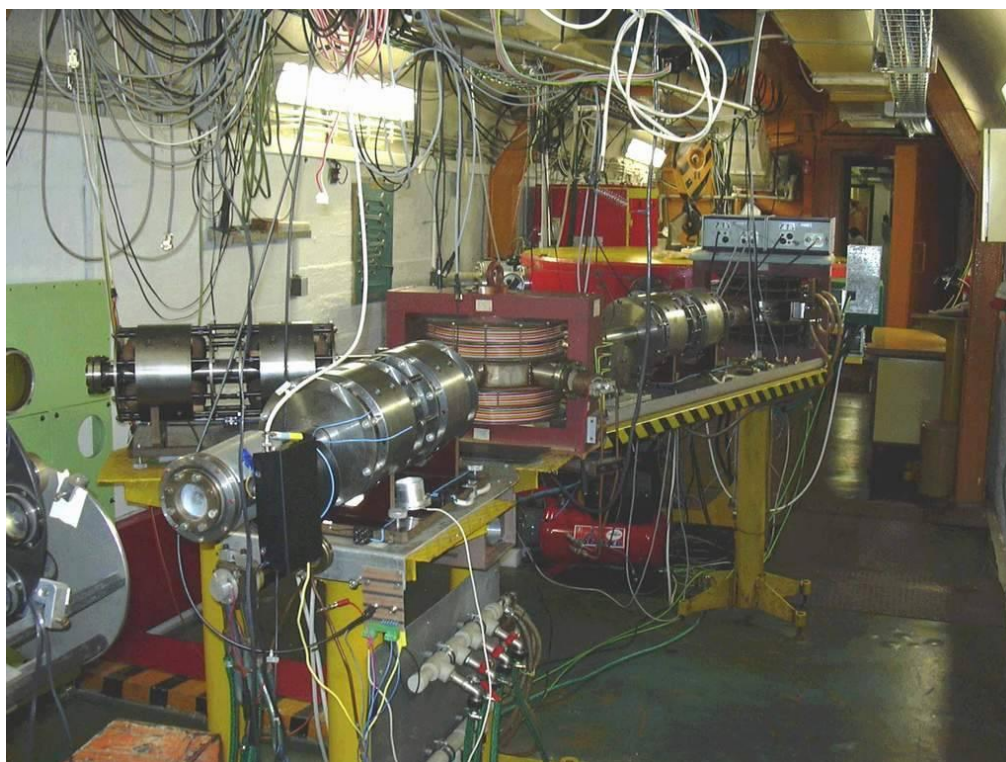
Obrázek 2. Deficit dusíku v porostu pšenice (Hřivna, 2012).



Obrázek 3. Škrobové granule v zrně pšenice. Konfokální laserový mikroskop zvětšení 40x (Arendt et Zannini, 2013)



Obrázek 4. Mikrotronová laboratoř v Žižkovském tunelu pro pěší (Krausová, 2015).



Obrázek 5. Pneumatický lis na lisování tablet.



Obrázek 6. Polystyrénové pouzdro se vzorky, standardy a monitory.



Obrázek 7. Ukázka spektra vzorku pšenice ozimé s píkem 511 keV z anihilace pozitronického záření emitovaného ^{13}N .

