

Stanovení vitamínu E v netradičních cereáliích a jejich klíčcích

Bc. Helena Hamacková, DiS.

Diplomová práce
2014

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Helena Hamacková, DiS.**
Osobní číslo: **T11102**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení vitamínu E v netradičních cereáliích a jejich klíčcích**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Vitamín E a jeho fyziologický význam.
2. Charakteristika obilovin a jejich chemické a morfologické složení.
3. Popis metody HPLC.

II. Praktická část

1. Charakteristika vzorků, použitých chemikálií, zařízení a pracovní postup.
2. Stanovení vitamínu E v obilovinách.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] MINDELL, Earl a Hester MUNDIS. Nová vitaminová bible: vitamíny, minerální látky, antioxidanty, léčivé rostliny, doplňky stravy, léčebné účinky potravin i léky používané v homeopatii. 3. vydání. Praha: Ikar, 2010, 572 s. ISBN 978-80-249-1419-0.

[2] HLÚBIK, Pavol a Libuše OPLTOVÁ. Vitamíny. 1. vydání. Praha: Grada, 2004, 232 s. ISBN 80-247-0373-4.

[3] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. Chemie potravin. 3. rozšířené a přepracované vydání. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.

[4] PŘÍHODA, Josef, Marie HRUŠKOVÁ a Pavel SKŘIVAN. Cereální chemie a technologie. 1. vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003, 202 s. ISBN 8070805307.

[5] HELÁN, Václav. Analýza organických látek. 2. upravené a doplněné vydání. Český Těšín: 2 Theta, 2005, 502 s. ISBN 80-86380-29-7.

[6] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. Moderní HPLC separace v teorii a praxi. 1. vyd. Praha, 2013, 2 sv. (299 s.). ISBN 978-80-260-4243-31.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

10. ledna 2014

Termín odevzdání diplomové práce:

25. dubna 2014

Ve Zlíně dne 3. února 2014


doc. Ing. Román Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 24.4.2014

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k vyšší výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce byla zaměřena na stanovení vitamínu E u vybraných vzorků cereálií a jejich klíčků pomocí vysokoučinné kapalinové chromatografie (HPLC). V této práci je obsažena charakteristika vitamínu E, jeho fyziologický význam. Dále byly charakterizovány obiloviny, jejich morfologické a chemické složení. Je zde také popsána metoda HPLC. V experimentální části je uvedena charakteristika analyzovaných obilovin a obsah vitamínu E v těchto obilovinách a jejich klíčcích.

Klíčová slova: vitamin E, cereálie, pšenice, rýže, HPLC

ABSTRACT

The diploma thesis was focused on the determination of vitamin E in selected samples of cereals and germs using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). This work contains characteristics of vitamin E and its physiological significance. Furthermore, cereals and their morphological and chemical compositions are characterized. There is also the HPLC method described. In the experimental part characteristics of grains and the vitamin E content and vitamin E content in these germs are shown.

Keywords: vitamin E, cereals, wheat, rice, HPLC

Poděkování

Za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a podnětné připomínky k mé diplomové práci bych chtěla poděkovat své vedoucí Ing. Bc. Daniele Sumczynski, Ph.D., paní laborantce Ing. Lence Fojtíkové za pomoc a ochotu při práci v laboratoři.

Také děkuji svým rodičům a manželovi za trpělivost a podporu při studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 VITAMINY	12
2 VITAMIN E	13
2.1 STRUKTURA VITAMINU E A JEHO BIOLOGICKÁ AKTIVITA	13
2.2 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI VITAMINU E	14
2.3 FYZIOLOGIE VITAMINU E	15
2.4 ZDROJE VITAMINU E.....	18
2.5 PROJEVY NEDOSTATKU A NADBYTKU VITAMINU E	19
2.6 DOPORUČENÝ PŘÍJEM VITAMINU E	20
2.7 ZTRÁTY VITAMINU E	20
2.8 VITAMINOVÉ PŘÍPRAVKY.....	20
3 OBILOVINY	22
3.1 CHARAKTERISTIKA OBILOVIN	22
3.2 MORFOLOGICKÉ SLOŽENÍ OBILKY	22
3.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ OBILNÉHO ZRNA.....	24
3.3.1 Sacharidy	24
3.3.2 Dusíkaté látky.....	25
3.3.3 Lipidy	26
3.3.4 Vitaminy a minerální látky.....	26
3.4 SKLIZEŇ OBILOVIN V ČR V ROCE 2013	27
3.5 TAXONOMIE PŠENICE A RÝŽE.....	28
3.6 OBILNÉ KLÍČKY	31
3.6.1 Naklíčené semeno, výhonek, osení	31
3.6.2 Klíčení zrn	31
4 KAPALINOVÁ CHROMATOGRFIE	33
4.1 ZÁKLADNÍ ROZDĚLENÍ TECHNIK KAPALINOVÉ CHROMATOGRFIE	33
4.2 HPLC.....	34
4.2.1 Instrumentace pro HPLC.....	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	38
5 CÍL PRÁCE	39
6 METODIKA	40

6.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	40
6.2	POUŽITÉ POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	40
6.3	ANALYZOVANÉ VZORKY OBILOVIN	41
6.3.1	Vzorky pšenice	41
6.3.2	Vzorky rýží.....	47
6.3.3	Analyzované pšeničné klíčky	52
6.4	OPTIMALIZACE EXTRAKCE VITAMINU E.....	52
6.5	KONEČNÁ EXTRAKCE VZORKŮ V ULTRAZVUKOVÉ LÁZNI	53
6.5.1	Extrakce obilných zrn.....	53
6.5.2	Extrakce obilných klíčků.....	53
6.6	OPTIMALIZACE CHROMATOGRAFICKÝCH PODMÍNEK PRO STANOVENÍ VITAMINU E METODOU HPLC	53
6.7	CHROMATOGRAFICKÁ ANALÝZA VZORKŮ	54
6.8	KALIBRAČNÍ KŘIVKA PRO CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ VITAMINU E.....	54
6.9	STATISTICKÁ ANALÝZA	54
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	56
7.1	VÝSLEDKY MĚŘENÍ KALIBRAČNÍ KŘIVKY PRO STANOVENÍ VITAMINU E METODOU HPLC	56
7.2	STANOVENÍ VITAMINU E VE VZORCÍCH OBILOVIN METODOU HPLC	57
7.2.1	Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích pšenice s bílou obalovou vrstvou	57
7.2.2	Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorku grünkernu	59
7.2.3	Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích pšenice s červenou obalovou vrstvou	59
7.2.4	Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích rýže s bílou obalovou vrstvou	60
7.2.5	Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích rýže s barevnou obalovou vrstvou	61
7.2.6	Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích pšeničných klíčků	62
	ZÁVĚR	64
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	66
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	79
	SEZNAM OBRÁZKŮ	81
	SEZNAM TABULEK.....	83

ÚVOD

Vitamin E je v tuku rozpustný vitamin, který v těle působí jako antioxidant. Antioxidanty chrání buněčné membrány před volnými radikály a působí již při nízkých koncentracích. Vitamin E tedy pomáhá chránit lidské tělo před vznikem aterosklerózy, pomáhá při hojení ran, snižuje krevní tlak, zpomaluje proces stárnutí a působí jako prevence proti rakovině. Základní potřeba vitaminu E může být pokryta při každodenní konzumaci pestré stravy. Hlavními zdroji jsou obilné klíčky, obiloviny, rostlinné oleje, ořechy, kukuřice, hrášek a listová zelenina. Ze živočišných zdrojů to jsou vejce, mléko, vnitřnosti, vepřové a králičí maso. Při nedostatku vitaminu E může docházet ke změnám reprodukčního systému, nervových a cévních soustav. Zároveň se zvyšuje riziko kardiovaskulárních chorob a Alzheimerovy choroby [1,2,3].

Obiloviny jsou jednou z nejdůležitějších potravin v lidské výživě, pro kterou se využívají výhradně zrna. Svým nutričním složením jsou nezbytně důležité pro lidský organizmus. Jsou hojným zdrojem vitaminů, zejména vitaminu E, minerálních a dalších významných látek. Udává se, že množství vitaminu E v pšeničné mouce je přibližně $15 - 50 \text{ mg.kg}^{-1}$ a v pšeničných klíčcích dokonce kolem 250 mg.kg^{-1} [4,5]. Proto konzumace obilovin a jejich klíčků příznivě ovlivňuje zdraví člověka.

Teoretická část je zaměřena především na vitamin E, charakteristiku obilovin a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii. Vitamin E je popsán z hlediska struktury a fyzikálně-chemických vlastností. Zmíněna je i jeho biologická aktivita, projevy nedostatku nebo nadbytku, jeho funkce, doporučený příjem a také zdroje tohoto vitaminu. V další části teoretické práce jsou popsány obiloviny z hlediska chemického a morfologického složení a je zde také popsána metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie. V experimentální části je popsána extrakce vitaminu E a jeho následné chromatografické stanovení metodou HPLC (High Performance Liquid Chromatography, Vysokoúčinné kapalinové chromatografie).

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VITAMINY

Vitaminy jsou exogenní esenciální nízkomolekulární látky, které heterotrofní organizmus nezbytně potřebuje a neumí si je většinou sám vytvořit (kromě vitaminu D a částečně niacinu). Musí je proto přijímat potravou [6,7,8,9]. Lidský organizmus nemusí vždy přijímat vitamin, ale někdy stačí, přijme-li látku chemicky příbuznou. Z ní si pak vitamin dokáže vytvořit. Takové látky se nazývají provitaminy [8]. Nedostatečný příjem vitaminů v potravě se projevuje různými poruchami. Lehčí formy se nazývají hypovitaminózy, těžší avitaminózy. Nadbytek vitaminů se označuje jako hypervitaminóza, která se objevuje většinou s nadměrným přísunem doplňků stravy [6].

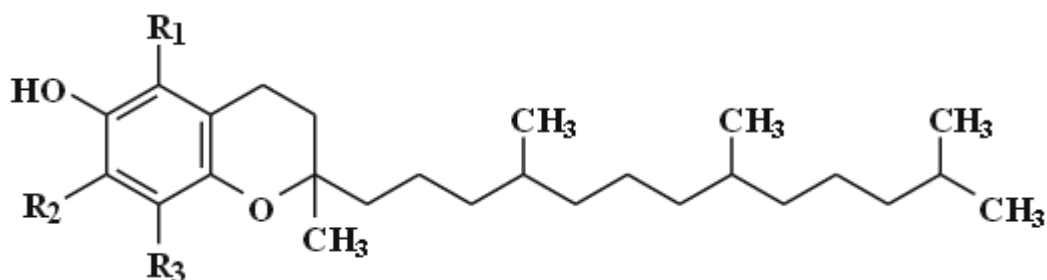
Většina vitaminů je velmi citlivá na různé fyzikálně-chemické vlivy [8]. Dělí se podle rozpustnosti na vitaminy rozpustné ve vodě (hydrofilní) a vitaminy rozpustné v tucích (lipofilní). Hydrofilní vitaminy nejsou organizmem ukládány do zásoby. Jejich nadbytek je vylučován močí. Lipofilní vitaminy si tělo ukládá do zásoby především v játrech a tukové tkáni [9,10]. Mezi vitaminy rozpustné ve vodě se řadí: vitamin C (kyselina L-askorbová a L-dehydroaskorbová), vitaminy skupiny B – B₁ (tiamin), B₂ (riboflavin), B₃ (niacin), B₅ (kyselina pantotenová), B₆ (pyridoxin), B₉ (kyselina listová), B₁₂ (kyanokobalamin) a biotin. Vitaminy rozpustné v tucích zahrnují: vitamin A (retinoly) a jeho provitaminy (karotenoidy), vitamin D (kalciferoly a cholekalciferoly), vitamin E (tokoferoly a tokotrienoly) a vitamin K (fylochinony, farnochinony) [6,7].

2 VITAMIN E

Poprvé byl vitamin E zmíněn americkými lékaři Evansem a Bishopem v roce 1922. V té době ještě jako bezejmenná látka byla nejprve popsána jako součást oleje z pšeničných klíčků. Brzy na to byla charakterizována. V roce 1939 na prvním mezinárodním vědeckém kongresu v Londýně byla pojmenována po vitamínech A, B, C a D následovně E [11].

2.1 Struktura vitaminu E a jeho biologická aktivita

Do skupiny patří látky odvozené od tokolu a tokotrienolu. Jednotlivé tokoferoly a tokotrienoly se liší počtem a polohou metylových skupin na chromanovém jádře, tokotrienoly obsahují v postranním řetězci tři dvojné vazby [6,12]. Jejich strukturu lze vidět na obrázku 1 a 2.

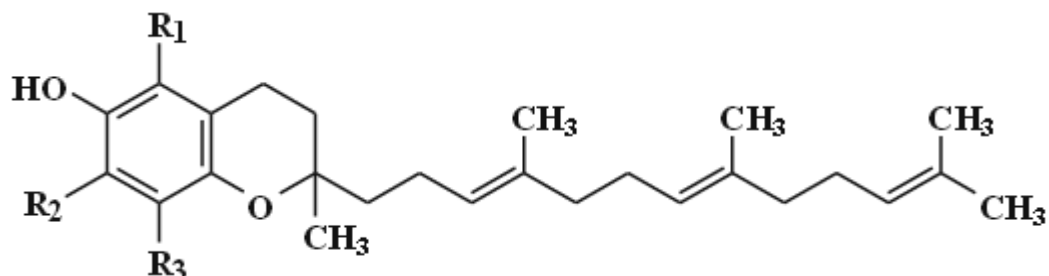


$R_1 = H$	$R_2 = H$	$R_3 = H$	tokol		
$R_1 = CH_3$	$R_2 = CH_3$	$R_3 = CH_3$	α -tokoferol	5,7,8-trimetyltokol	$C_{29}H_{50}O_2$
$R_1 = CH_3$	$R_2 = H$	$R_3 = CH_3$	β -tokoferol	5,8-dimetyltokol	$C_{28}H_{48}O_2$
$R_1 = H$	$R_2 = CH_3$	$R_3 = CH_3$	γ -tokoferol	7,8-dimetyltokol	$C_{28}H_{48}O_2$
$R_1 = H$	$R_2 = H$	$R_3 = CH_3$	δ -tokoferol	8-metyltokol	$C_{27}H_{46}O_2$

Obrázek 1 Tokoferoly [7,12,13]

Z přírodních látek bylo izolováno osm izomerů tokoferolu a tokotrienolu, z nichž nejvýznamnější je α -tokoferol [9,14,15,13,16,17]. Dalšími deriváty jsou β -tokoferol, γ -tokoferol, δ -tokoferol a jim příbuzné α -, β -, γ -, δ -tokotrienoly. Jednotlivé deriváty tokoferolů mají rozdílnou biologickou aktivitu. Nejvyšší biologickou účinnost má α -tokoferol. Účinnost klesá se snižujícím se počtem metylových skupin (β -tokoferol: 40 – 50 %, γ -tokoferol: 4 – 5 %, δ -tokoferol: 1%) [6,7,18]. Tokoferoly z přírodních zdrojů vykazují vyšší biologickou aktivitu než tokoferoly syntetické

[4,6,11,12]. Pro dosažení stejného účinku musí být dávkování syntetického vitamínu E vyšší nejméně o 36 % [11]. Tokotrienoly obsahují v molekule dvojné vazby, které mají za následek pokles biologické aktivity asi o třetinu ve srovnání s tokoferoly [12].



$R_1 = H$	$R_2 = H$	$R_3 = H$	tokotrienol		
$R_1 = CH_3$	$R_2 = CH_3$	$R_3 = CH_3$	α -tokotrienol	5,7,8-trimetyltrienol	$C_{29}H_{44}O_2$
$R_1 = CH_3$	$R_2 = H$	$R_3 = CH_3$	β -tokotrienol	5,8-dimetyltrienol	$C_{28}H_{42}O_2$
$R_1 = H$	$R_2 = CH_3$	$R_3 = CH_3$	γ -tokotrienol	7,8-dimetyltrienol	$C_{28}H_{42}O_2$
$R_1 = H$	$R_2 = H$	$R_3 = CH_3$	δ -tokotrienol	8-metyltrienol	$C_{27}H_{43}O_2$

Obrázek 2 Tokotrienoly [7,12,13]

2.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti vitamínu E

Tokoferoly jsou za normální teploty bezbarvé nebo slabě nažloutlé viskózní oleje, které jsou velmi dobře rozpustné v tucích a lipofilních rozpouštědlech, éteru, chloroformu, hexanu, metanolu a jsou nerozpustné ve vodě [12]. Vitamin E patří mezi nejvýznamnější antioxidanty [4,14,17,19,20,21,22,23,24].

Vitamin E velmi snadno podléhá oxidaci, kterou urychluje přítomnost různých kovů např. železa a mědi, přítomnost volných radikálů, zvýšená teplota, světlo a alkalické prostředí [12]. Teplota tání vitamínu E se pohybuje mezi 2 – 4 °C, teplota varu je 200 – 220 °C a doporučená teplota skladování čistého tokoferolu je 2 – 8 °C. Index lomu n_D^{20} je 1,506, hustota při 20 °C je 0,950 g.ml⁻¹. Vitamin E je na světle nestálý [25]. Molekulová hmotnost D,L- α -tokoferolu je 430,7 g.mol⁻¹, molekulová hmotnost D,L- α -tokoferolacetátu pak 472,8 g.mol⁻¹ [26].

2.3 Fyziologie vitamínu E

V potravě se vitamin E vyskytuje v rozpuštěných tucích, ze kterých se postupně uvolňuje a následně resorbuje během vlastního štěpení v tenkém střevě (dvanáctníku a lačnicku) [9,11,27]. Odtud je vstřebán a jeho účinnost vstřebávání závisí na samotné povaze tuku. Nasycené mastné kyseliny absorpci podporují, zatímco nenasycené ji mohou i inhibovat [7,9,11]. Vitamin E bývá při přenosu z gastrointestinálního traktu transportován tukovými částicemi – chylomikrony. Chylomikrony vznikají ve střevní stěně a pomocí lymfatické cesty jsou dopravovány do krevního oběhu. Při zachycení vitamínu E spolu s chylomikrony v játrech, je zabudován do lipoproteinů o velmi nízké hustotě (VLDL – Very Low Density Lipoprotein), nízké hustotě (LDL – Low Density Lipoprotein) a vysoké hustotě (HDL – High Density Lipoprotein). Následně přechází z lipoproteinů do buněčných membrán, kde plní svoji roli [6,16,17,28]. Absorpce vitamínu E do lidského těla může probíhat i přes kůži a sliznici [29]. Obsah vitamínu E v některých orgánech či tekutinách lidského těla je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1 Koncentrace vitamínu E v některých orgánech, tkáních či tekutinách lidského těla [11]

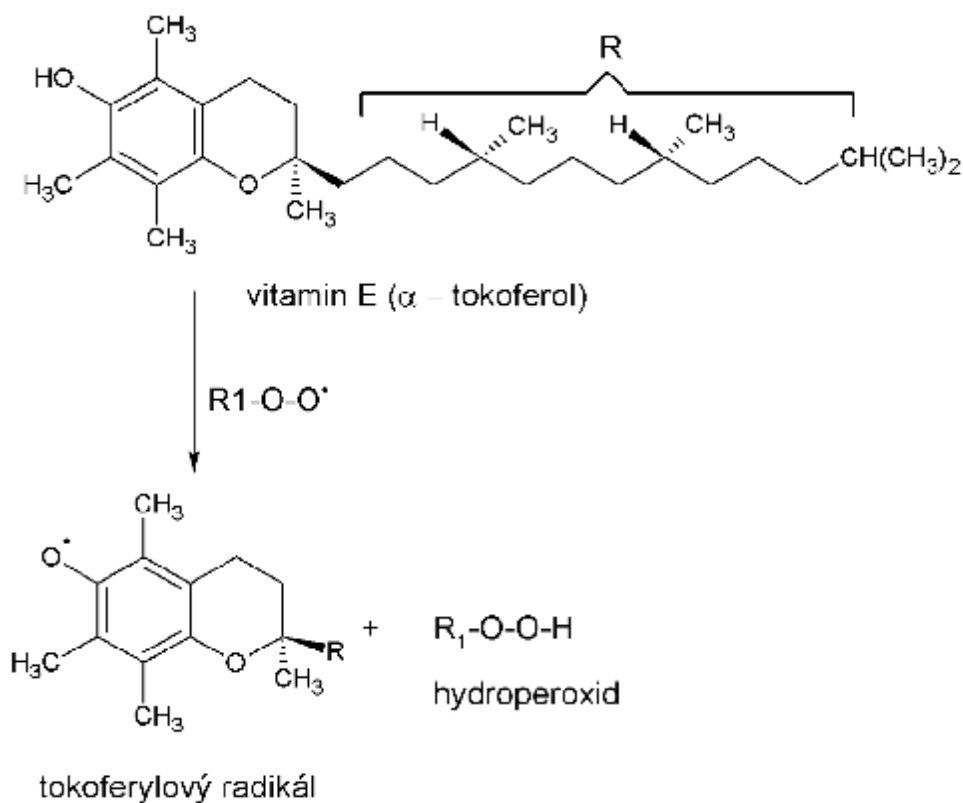
Tkáně	mg.g ⁻¹ čerstvé váhy
Tukové tkáně	150,0
Játra	13,0
Nadledvinky	132,0
Hypofýza	40,0
Plazma	9,5
Trombocyty	30,0
Ledviny	7,0
Srdce	20,0
Erytrocyty	2,3
Svalová tkáň	19,0

Vitamin E chrání organismus proti poškození nenasycených mastných kyselin vázaných v biologických membránách agresivními kyslíkovými radikály. Je velmi pravděpodobné, že se přímo podílí na jejich membránové struktuře. Největší zastoupení v lidském organismu má α -tokoferol, který je zároveň nejsilnějším antioxidantem ze všech skupin

tokoferolů. Ochrana lipidů probíhá tak, že α -tokorefol minimalizuje formování sekundárních radikálů vychytáváním peroxylových radikálů (obrázek 3) a ty se už dále nemohou účastnit řetězových reakcí [6,16,17].

Nejvyšší množství vitamínu E se nachází v membránách buněk, které jsou vystavené působení kyslíku, dále v membránách červených krvinek, v dýchacím systému a plazmě [14,17]. V lidském organismu se nachází v játrech, v depotním tuku, ve svalech, varlatech, děloze, krvi a nadledvinách (v těle se skladuje po dobu 6 – 12 měsíců) [2,6,16,17]. Vitamin E snižuje i přilnavost krevních destiček a z toho důvodu se méně zachytávají na artériích (těpnách). Způsobuje také ředění krve, a proto může krev protékat zúženými cévami [30]. Vitamin E snižuje srážlivost krve (prodlužuje dobu krvácení, než je rána uzavřena krevní sraženinou). To je důležité při zúžených artériích, kdy vitamín E snižuje riziko zablokování přístupu krve k srdci nebo k mozku krevní sraženinou. Takové zablokování přístupu krve krevní sraženinou je příčinou dvou třetin srdečních infarktů a mozkových příhod [22].

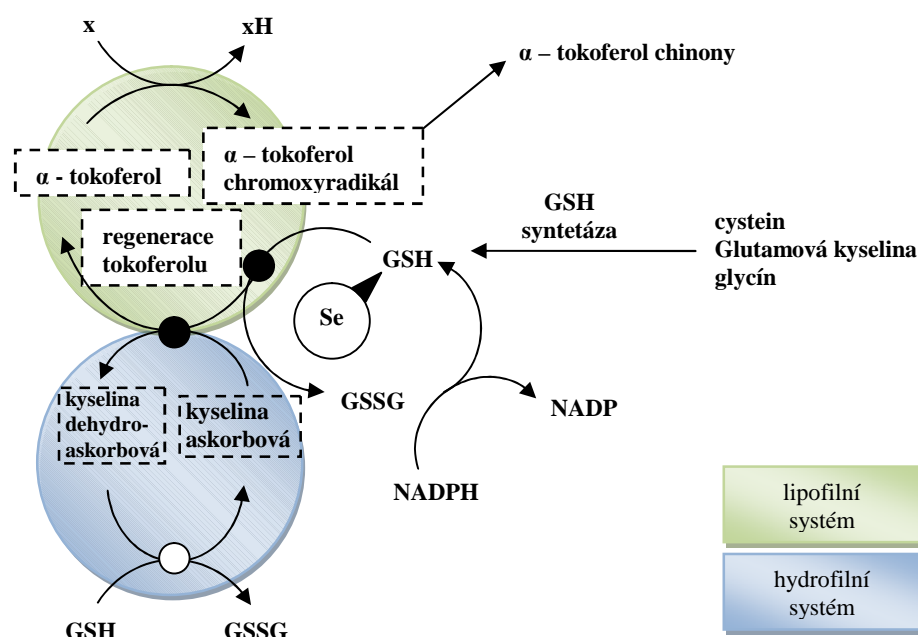
Vitamin E dále usnadňuje využívání kyslíku k podávání většího tělesného výkonu, brání oxidaci LDL, snižuje riziko vzniku šedého zákalu, působí preventivně proti rakovině, ateroskleróze a vzniku kardiovaskulárních chorob, odstraňuje únavu, urychluje hojení spálenin, snižuje krevní tlak, brání vzniku svalových křečí. Snižuje také riziko náhlých mozkových příhod, působí preventivně proti Alzheimerově nemoci a při zevním použití při hojení brání vzniku velkých deformujících jizev [2,11,14,16,19,30,31,32,33].



Obrázek 3 Reakce tokoferolu s lipoperoxylovým radikálem [34]

Antioxidační účinek vitamínu E se plně projeví při jeho regeneraci v původní formě. To zajišťují koantioxidanty (kyselina askorbová, ubichinon Q_{10} , kyselina 3-hydroxyantranilová aj.) v souhře s dalšími na sebe navazujícími reakcemi, v nichž se uplatní redukovaný glutation, koenzym NADPH a enzym glutationreduktáza [10].

Vztahy v antioxidačním systému a regeneraci antioxidantů jsou znázorněny na obrázku 4. Glutathionem se udržuje v redukovaném stavu kyselina askorbová, která je nezbytná pro redukci tokoferolu. Pro antioxidační systém a regeneraci antioxidantů je nezbytná katalytická funkce selenu [35].



x – volné radikály, **GSH** – redukovaný glutation, **GSSG** – oxidovaný glutation, **Se** - selen

Obrázek 4 Antioxidační systém vitamínu E [35]

Také podporuje syntézu DNA, RNA a je nezbytný pro funkci nervového systému, fyziologickou stavbu a chrání játra před potencionálním vlivem organických rozpouštědel. Dále chrání erytrocyty před hemolýzou a inhibuje mutageny v gastrointestinálním traktu [10,36]. Také zlepšuje účinnost inzulínu, podporuje funkci imunitního systému, zvyšuje odolnost organismu vůči stresu a infekcím [37]. Účinky vitamínu E v organismu jsou významně podpořeny již zmiňovanou přítomností vitamínu C a selenu [22].

2.4 Zdroje vitamínu E

Vitamin E se syntetizuje jen v rostlinách a je přítomen ve všech lipidech rostlinného původu, u živočichů se ukládá v jejich orgánech a tkáních. Hlavním zdrojem je olej z obilných klíčků [38], ze kterého se připravují koncentráty přirozených tokoferolů, dále rostlinné oleje (zejména slunečnicový a řepkový olej), jádra ořechů, kukuřice, hrášek, obilné výrobky a některá zelenina. Nejbohatší na vitamin E z živočišných zdrojů jsou vejce, mléko, játra, vnitřnosti, vepřové a králičí maso (tabulka 2) [6,8,15,20,21,39]. Na rozdíl od vitamínu A a D je jeho množství v rybím tuku velmi nízké [28].

Vitamin E se běžně přidává jako antioxidant do olejů, margarínů a ostatních potravin, které obsahují tuky [40].

Tabulka 2 Obsah vitamínu E ve vybraných potravinách [36]

Potravina [100 g]	Obsah vitamínu E [mg]	Potravina [100 g]	Obsah vitamínu E [mg]
Olej z pšeničných klíčků	174,48	Slunečnicová jádra	21,80
Mandlový olej	62,53	Vlašský ořech	6,04
Slunečnicový olej	40,00	Cizrna	5,83
Majonéza 80 % tuku	15,00	Rýžová mouka	10,00
Úhoř říční	5,60	Žitné klíčky	12,60
Fenykl	6,00	Pšeničné klíčky	24,74
Černý kořen, vařený	5,00	Sójové boby	13,30
Paprika	2,50	Tuňák v oleji	9,05
Šípky	4,21	Krocán	2,50
List petržele	3,70	Vepřová játra	0,60
Sladké brambory	4,00	Kaviár	10,00
Burské ořechy	10,96	Kvasnicové vločky	3,60
Lískové oříšky	26,29	Žitný chléb	1,09
Lněná semena	57,00	Vejce slepičí	2,02
Mandle	26,12	Máslo	2,02

2.5 Projevy nedostatku a nadbytku vitamínu E

Nedostatek vitamínu E může vzniknout při poruchách resorpce tuků. Příčinou může být choroba jater nebo chirurgické odstranění části střeva [37]. Deficit vitamínu E se projevuje změnami reprodukčního systému, svalstva, nervových a cévních soustav [7]. Zvyšuje se riziko kardiovaskulárních chorob a Alzheimerovy choroby [3]. Nejvíce rizikovou skupinou jsou předčasně narozené děti, pacienti s dědičnými chorobami krve nebo nemocní se selháním ledvin. U dětí se může projevit anémie [17,20,37]. Při zkonsumování vyšší dávky než 3 g může dojít k nevolnosti, průjmům, únavě, bolesti hlavy, zvracení a svalové slabosti. Dlouhodobé užívání vysokých dávek může mít za následek snížení krevní srážlivosti, protože dochází ke zhoršenému vstřebávání vitamínu K [39,41]. V případě předávkování může u těhotných žen vyvolat poškození plodu [8].

2.6 Doporučený příjem vitamínu E

V jednotlivých zemích se hodnoty doporučené denní dávky vitamínu E liší. Výživová doporučená dávka pro průměrného obyvatele ČR činí $12 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$, avšak nejvyšší tolerovaná dávka pro dospělého jedince byla stanovena $1000 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ [6,37,42]. Vyšší příjem vitamínu E je potřebný při přísunu potravin obsahujících vyšší množství nenasycených mastných kyselin [6,43,44].

U potravin se obsah vitamínů udává v jednotkách hmotnosti, ale ve farmacii a medicíně se pro množství lipofilních vitamínů využívá mezinárodní jednotky aktivity IU (International Unit). Tato jednotka je definována jako aktivita $1 \text{ mg dl-}\alpha\text{-tokoferolacetátu}$ [4,12].

2.7 Ztráty vitamínu E

Při běžném způsobu kulinárního a průmyslového zpracování potravin je vitamin E v nepřítomnosti kyslíku a oxidovaných lipidů poměrně stabilní. Ztráty při pasterizaci mléka činí 5 % a při skladování obilí činí úbytek přibližně 10 % za měsíc. K největším ztrátám dochází při smažení a pečení. Proto se tokoferoly téměř nevyskytují v tucích používaných opakovaně ke smažení potravin a ve výrobcích, které jsou smažené a mrazírensky skladované. Příkladem jsou předsmažené bramborové hranolky. Také u potravin s vyšším množstvím polyenových mastných kyselin při mrazírenském skladování postupně klesá obsah vitamínu E. Během sušení ovoce a zeleniny dochází ke ztrátám z 50 – 70 % [4].

Ke snížení obsahu vitamínu na 10 – 50 % původního obsahu dochází při rafinaci olejů. Hlavní ztráty vznikají během odkyselování a bělení, dále při deodoraci, kde jsou ztráty způsobeny především těkáním s vodní parou za sníženého tlaku. Při hydrogenaci tuků za použití niklových katalyzátorů dochází ke ztrátám vitamínu E v rozmezí 30 – 50 % [4].

2.8 Vitaminové přípravky

Vitamin E patří mezi potravní doplňky, které jsou povoleny k obohacování potravin [35]. Estery $\alpha\text{-tokoferolu}$ jsou ve srovnání s volným $\alpha\text{-tokoferolem}$ stálejší vůči oxidaci. Proto vitaminové přípravky často obsahují estery $\alpha\text{-tokoferolu}$ [4,37]. Vitamin E je možné přidat ve formě D,L- $\alpha\text{-tokoferolu}$, D- $\alpha\text{-tokoferolu}$, D,L- $\alpha\text{-tokoferolacetátu}$, D- $\alpha\text{-tokoferolacetátu}$, D- $\alpha\text{-sukcinátu kyseliny tokoferolové}$ (tabulky 3, 4 a 5) [45,46].

Tabulka 3 Přepočty jednotlivých forem tokoferolů na IU [12]

Tokoferol (1 mg)	IU
D-α-tokoferol	0,92
D,L-α-tokoferol	0,68
D-α-tokoferolacetát	1,36
D-α-tokoferolsukcinát	1,31

Tabulka 4 Vzájemné formy tokoferolů z hlediska biologické účinnosti [12]

1 IU D-α-tokoferolacetátu	odpovídá	2 IU DL-α-tokoferolu
1 IU D-α-tokoferolacetátu	odpovídá	1,4783 IU D-α-tokoferolu
1 IU D-α-tokoferolacetátu	odpovídá	1,36 IU D,L-α-tokoferolacetátu
1 IU D-α-tokoferolacetátu	odpovídá	1,038 IU D-α-tokoferolsukcinátu

Tabulka 5 Jednotlivé formy tokoferolů z chemického hlediska [12]

1 mg α-tokoferolu	odpovídá	1,098 mg α-tokoferolacetátu
1 mg α-tokoferolu	odpovídá	1,232 mg α-tokoferolsukcinátu
1 mg α-tokoferolu	odpovídá	1,288 mg α-tokoferolfosfátu
1 mg α-tokoferolu	odpovídá	1,244 mg α-tokoferolnikotinátu

3 OBILOVINY

3.1 Charakteristika obilovin

Obiloviny patří botanicky mezi trávy (*Gramineae*) [47]. Většina cereálií se řadí do čeledi lipnicovité (*Poaceae*) [48,49]. Výjimkou je např. pohanka, která patří do čeledi rdesnovité (*Polygonaceae*). V posledních letech se začaly uplatňovat také další pseudocereálie, např. amarant nebo merlík čilský [48].

3.2 Morfologické složení obilky

Zrna se liší převážně velikostí, tvarem a podílem jednotlivých vrstev. Zrna mohou být protáhlá a tenká nebo naopak téměř kulatá [50].

Podle toho, zdali jsou na povrchu obilky po výmlatu zachovány kvítkové orgány (plucha a pluška), rozlišujeme obilky pluchaté (obilka je uzavřená pluchou a pluškou) a nahé (povrch obilky tvoří oplodí). Pluchatá zrna (např. ječmen, oves, rýže) se musí před zpracováním upravovat loupáním a obrušováním. Tím dojde k odstranění pluchů a klíčků [50]. Každá obilka se skládá z obalových vrstev, klíčku a endospermu (obrázek 3). U jednotlivých obilovin je hmotnostní podíl jednotlivých částí zrna rozdílný a proměnlivý vlivem vnitřních a hlavně vnějších faktorů jako jsou půdní a klimatické poměry, hnojení, odrůda, agrotechnika aj. [51,52].

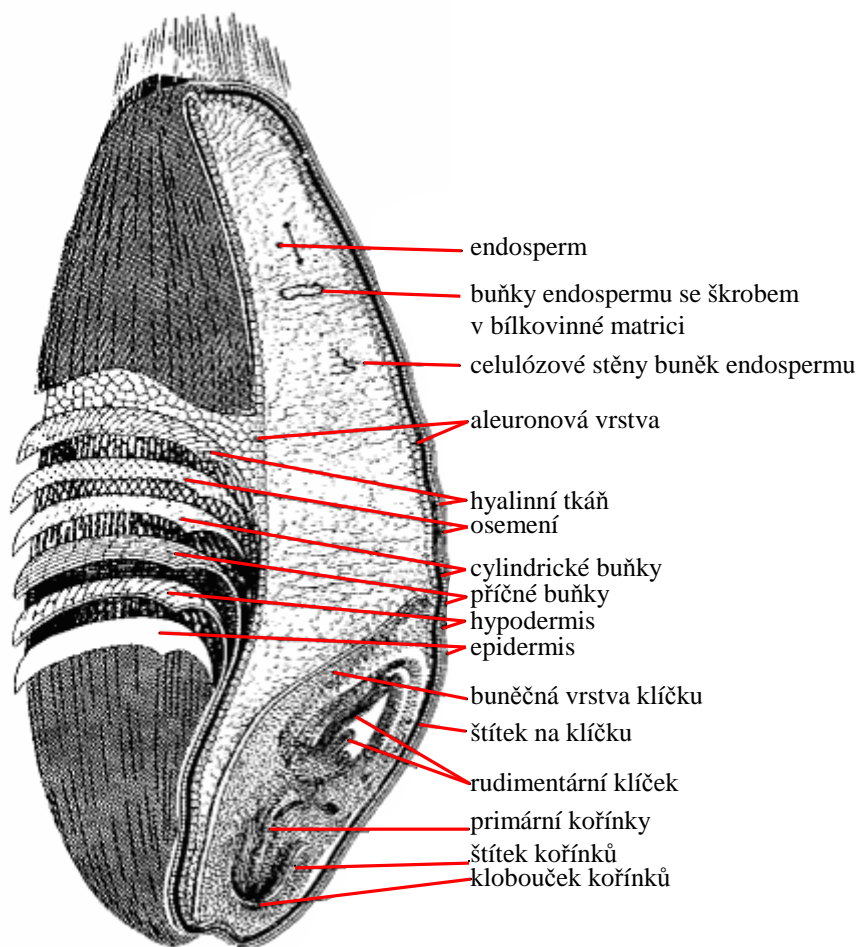
Obalové vrstvy zauímají 8 – 14 % hmotnosti zrna. Jsou tvořeny několika vrstvami buněk, které chrání klíček a endosperm před vysycháním a mechanickým poškozením. Podíl obalů stoupá s pluchatostí zrna [51,52]. Obalové vrstvy obsahují velké množství minerálních látek (železa, fosforu, hořčíku, vápníku, křemíku) a vlákniny (celulózy a hemicelulózy, ligninu). Obal je tvořen dvěma vrstvami – oplodím a osemením.

Oplodí, nejvrchnější část, tvoří ochranu zrna před mechanickým poškozením a působením škodlivých látek. Proto je oplodí tvořeno především celulózu, nerozpustnými a obtížně bobtnajícími materiály. Další vrstvou zrna je osemení, které je tvořeno vrstvou barevnou a hyalinní. Tyto vrstvy obsahují polysacharidové látky, které mají schopnost vázat vodu a bobtnat [48,50].

Endosperm tvoří 84 – 86 % celkové hmotnosti zrna. Je tvořen velkými hranolovitými buňkami s jemnou buněčnou blánou. Obsahuje především škrob a bílkoviny. Zajišťuje

výživu zárodku. Mezi obalovými vrstvami a endospermem se nachází aleuronová vrstva, která obsahuje bílkoviny, minerální látky, lipidy a vitaminy [48,51].

Klíček tvoří nejmenší podíl zrna. U pšeničné obilky zaujímá pouze 3 % hmotnosti. Klíček představuje zárodek pro novou rostlinu, proto obsahuje mnoho živin, jako jsou lipidy, sacharidy, bílkoviny, enzymy, vitaminy skupiny B a vitamin E. Významný je také štítek, který odděluje klíček od endospermu a obsahuje až 33 % bílkovin [48,51].



Obrázek 5 Stavba pšeničného zrna [52]

3.3 Chemické složení obilného zrna

Základní chemické složení různých obilovin je uvedeno v tabulce 6, rozdělení látkového složení v jednotlivých částech zrna je uvedeno v tabulce 7.

Tabulka 6 Základní chemické složení obilovin v % [4]

Obilovina	Voda	Proteiny	Lipidy	Škrob	Minerální látky
Pšenice	13,2	11,7	2,2	59,2	1,5
Žito	13,7	11,6	1,7	52,4	1,9
Ječmen	11,7	10,6	2,1	52,2	2,3
Oves	13,0	12,6	5,7	40,1	2,9
Rýže	13,1	7,4	2,4	70,4	1,2
Kukuřice	12,5	9,2	3,8	62,6	1,3

Pozn: V tabulce není zahrnut obsah vlákniny a jednoduchých cukrů.

Tabulka 7 Rozdělení látkového složení v jednotlivých částech zrna v % sušiny [48]

Složka	Popel	Bílkoviny	Lipidy	Celková vláknina	Pentózy	Škrob
Oplodí a osemení	3,4	6,9	0,8	50,9	46,6	-
Aleuronová vrstva	10,9	31,7	9,1	11,9	28,3	-
Klíček	5,8	34,0	27,6	2,4	-	-
Endosperm	0,6	12,6	1,6	0,6	3,3	80,4

3.3.1 Sacharidy

Největší podíl ze všech složek v obilovinách tvoří sacharidy. Z monosacharidů se jedná především o pentózy (arabinóza, xylóza a ribóza) a hexózy (glukóza, fruktóza, manóza a galaktóza). Pentózy jsou obsaženy v obalových a buněčných stěnách endospermu a tvoří součást vysokomolekulárních pentózanů (pšenice 1 – 3 %, loupaná rýže 1 – 2 %, hnědá rýže 2 – 2,5 %). Hexózy se převážně vyskytují v zrna žita, v pšeničném zrna se vyskytují v nepatrném množství. Hexózy jsou zastoupeny především v klíčku [48,50,52,53,54,55]. Monosacharidy zaujímají v hnědé rýži 0,6 – 1,4 % a v rýži bílé 0,3 – 0,6 % [50]. Oligosacharidy se v obilkách vyskytují v nízkých koncentracích. Jedná se zejména o sacharózu, která je zastoupena v klíčícím zrna a klíčku (0,6 %), dále pak maltózu (0,2 – 2%) a rafinózu. Nejdůležitější složkou v obilce je škrob, zásobní polysacharid.

Polysacharidy jsou z technologického hlediska v obilných zrnech nejvýznamnější skupinou. Mají zásobní a stavební funkci. Obsah škrobu v pšeničném zrně se pohybuje kolem 60 – 80 % v sušině a v rýžovém zrně 65 – 90 %. Dalšími koloidně disperzními sacharidy jsou dextriny, celulóza (pšenice 1,6 %, neloupaná rýže kolem 10 %, rýže loupaná pod 1 %), hemicelulóza [48,50,51,56].

3.3.2 Dusíkaté látky

Základními bílkovinami obilovin jsou albuminy, globuliny, gluteliny a gliadiny (nazývané také jako prolaminy). Albuminy se vyznačují svou rozpustností ve vodě, globuliny se rozpouštějí v roztocích solí. Pro gluteliny je charakteristická rozpustnost ve zředěných roztocích kyselin a zásad a pro gliadiny rozpustnost v 70% etanolu (tabulka 8) [50].

Albuminy a globuliny jsou obsaženy v klíčku a aleuronové vrstvě. Gluteliny a gliadiny tvoří podstatnou část obilného zrna a určují technologickou, nutriční a biologickou hodnotu zrn [48,50,52,53].

Tabulka 8 Proteiny pšenice a rýže [53]

Obilovina	Albumin	Globulin	Gliadin	Glutelin
Pšenice	leukosin	edestin	gliadin	glutenin
Rýže	–	–	oryzin	oryzenin

Největší význam má pšeničná bílkovina. Ta se od ostatních rostlinných bílkovin liší svou schopností tvorby lepku, pružného gelu. Lepek určuje pekařské vlastnosti a má také rozhodující úlohu při tvorbě těsta. Lepek je tvořen bílkovinami nerozpustnými ve vodě, gliadinem a gluteninem. Hlavními kritérii pekařské jakosti pšenice jsou množství a vlastnosti lepku [48,51]. Bílkoviny obilovin jsou řazeny mezi neplnohodnotné. Limitující aminokyselinou je lyzin a naopak nejvíce jsou zastoupeny glutamin a kyselina glutamová [50,51,57].

Obsah bílkovin v pšenici se pohybuje v rozmezí 9 – 16 %, u rýže 7 – 13 %. Záleží na druhu a zpracování rýže. Nejvyšší množství se nachází v zárodku, méně pak v otrubách. Loupaná rýže má tedy nejnižší obsah bílkovin [48,52,58].

3.3.3 Lipidy

V zrnech pšenice jsou 2 – 3 % lipidů [52,59]. Nejvyšší obsah lipidů se nachází v klíčku a aleuronové vrstvě. Množství lipidů v bílé rýži se pohybuje jen kolem 0,3 – 0,7 %, v hnědé rýži v rozmezí 1,5 – 2,5 % a v červené rýži se obsah lipidů pohybuje okolo 4 % [54].

Lipidy chlebových obilovin jsou nažloutlé olejové kapaliny obsahující nasycené mastné kyseliny (18 – 25 %), kyselinu linolovou (48 – 57 %), kyselinu olejovou (16 – 18 %) a kyselinu linolenovou (5 %) [52,60]. Kyseliny linolová a linolenová snadno podléhají oxidaci, a tím dochází ke žluknutí při delším skladování mouky. V obilných zrnech je také část polárních lipidů (fosfatidů), které jsou svým složením podobné tukům. Fosfatidy mají ve své molekule kyselinu fosforečnou a organickou bázi. Nejznámější zástupci jsou fosfatidylcholin a fosfatidyletanolamin [48,52]. Obsah fosfolipidů v pšeničné mouce je přibližně 0,5 % a v rýži 0,3 %. Přítomen je lyzofosfatidylcholin, fosfatidylcholin, N-acylfosfatidyletanolamin a N-acyllyzofosfatidyletanolamin. U rýže je obsažen navíc i fosfatidylinositol a lyzofosfatidylinositol [61,62].

3.3.4 Vitaminy a minerální látky

V obilovinách se vitaminy nacházejí především v klíčku a aleuronové vrstvě. Jedná se zejména o vitaminy skupiny B. Vitamin B₁ a B₂ se nachází v obalových vrstvách a klíčku. Vitamin B₃ je stálý vůči oxidaci a je termostabilní. Lokalizuje se do aleuronové vrstvy, a proto hlavní podíl přechází do otrub. Ve vyšším množství je obsažen v pšenici a ječmeni. Vitamin B₅ je obsažena zejména ve sklovité pšenici. Vitamin B₆ se nachází také ve štítku a aleuronové vrstvě (tabulka 9). Vitamin C se vyskytuje pouze ve vyklíčeném obilí [51,52,63,64]. Významný je vitamin E. Ve vysoké koncentraci je zastoupen především v pšeničných klíčcích, ze kterých se také izoluje při výrobě vitaminových preparátů [48,50,65,66]. V klíčcích je také obsažen vitamin A ve formě svého provitaminu β -karotenu [52]. Zastoupení vitaminu E v pšeničné mouce se běžně pohybuje od 15 do 50 mg.kg⁻¹, v rýži od 19 do 23 mg.kg⁻¹ a v pšeničných klíčcích se vyskytuje přibližně 250 mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty vitaminu E [4,65].

Tabulka 9 Obsah vitaminů skupiny B v hnědé a bílé rýži v mg.100g⁻¹ [63]

Rýže	B ₁	B ₂	B ₃	B ₅	B ₆
hnědá	0,403	0,065	5,433	1,457	0,563
bílá	0,057	0,043	1,423	1,080	0,161

Minerální látky představují anorganický zbytek po spálení rostlinného materiálu a označují se jako popel. Množství popela v obilných zrnech se pohybuje kolem 1,25 – 2,5 % a u rýže mezi 1 – 5 % (tabulka 10). Nejvyšší podíl popela tvoří oxid fosforečný, který je většinou ve formě fytinu. Dále jsou ve větším množství přítomny oxid draselný, hořečnatý a vápenatý. Nejvíce minerálních látek se nachází v osemeni a v aleuronové vrstvě [50,52]. Je zde zastoupeno železo, hořčík, vápník, draslík, fosfor a dusík, méně pak zinek a selen. Proti jiným cereáliím převládá selen v rýži, a to v množství 10 – 13 µg.100 g⁻¹ [50,67,68].

Tabulka 10 Obsah minerálních látek v pšeničné mouce a rýži v mg.100 g⁻¹ [68]

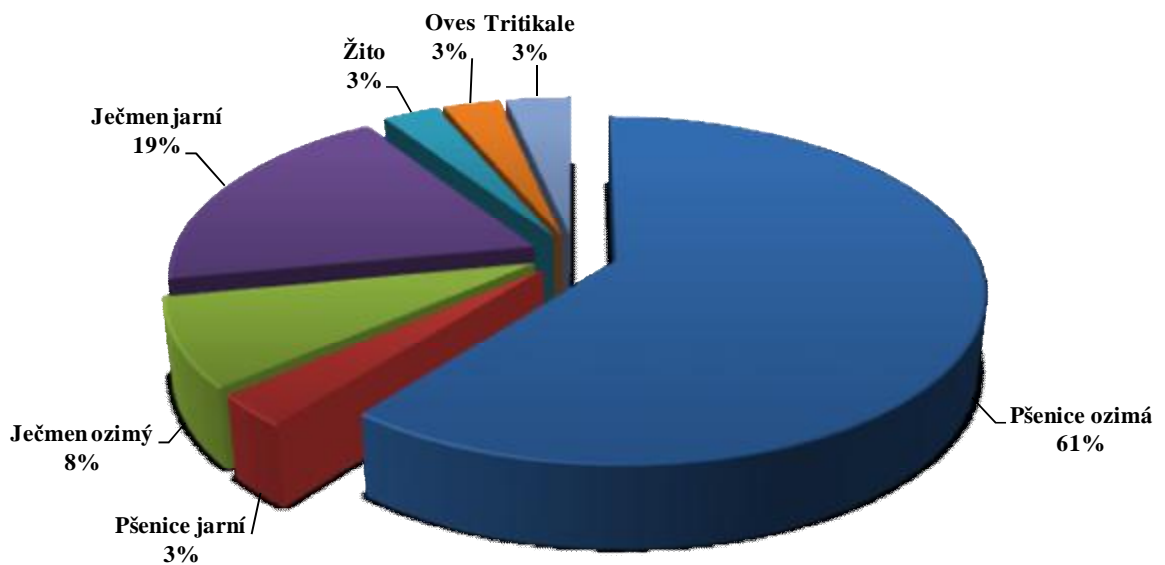
Produkt	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Se [µg]
Pšeničná mouka bílá	3	150	140	20	2,0	0,6	2
Pšeničná mouka celozrnná	3	340	38	120	3,9	2,9	6
Rýže bílá, rychlovarná	4	150	51	32	0,5	1,8	13
Rýže hnědá, neloupaná	3	250	10	110	1,4	1,8	10

3.4 Sklizeň obilovin v ČR v roce 2013

Mezi nejrozšířenější skupinu pěstovaných plodin v ČR patří obiloviny. V současnosti zaujímají přibližně 1,6 mil. ha, z čehož 1,3 mil. ha činí pšenice a ječmen. Od začlenění ČR do EU v roce 2004 je regulace trhu s obilovinami zabezpečována prostřednictvím společné organizace trhu (SOT – Společná organizace trhu). Ve spolupráci s Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ) je metodicky řízen a usměrňován rozvoj šlechtitelské činnosti, odrudového zkušebnictví a zkoušení osiva i sadby [69]. Sklizeň obilovin v roce 2013 je uvedena v tabulce 11, podíl jednotlivých komodit vystihuje obrázek 6.

Tabulka 11 Sklizeň obilovin v ČR v roce 2013 [70]

	Pšenice	Ječmen	Žito	Oves	Tritikale	Obiloviny celkem
Celkově ke sklizni [ha]	829 392	348 992	37 498	43 559	46 816	1 306 257
Sklizeno [ha]	811 615	346 353	36 870	37 688	43 015	1 275 541
Podíl sklizených ploch [%]	191,2	198,9	98,3	86,5	91,9	97,7
Celkově sklizeno [t]	4 752 098	1 653 882	183 954	140 844	215 160	6 945 938
Průměrný výnos [$t \cdot ha^{-1}$]	10,7	9,5	4,9	3,7	5,0	5,5



Obrázek 6 Podíl jednotlivých komodit na sklizni obilovin v ČR v roce 2013 [70]

3.5 Taxonomie pšenice a rýže

Pšenice (rod *Triticum*) jsou jednoděložné rostliny, ke kterým se řadí přibližně 20 druhů. Mohou být buď planě rostoucí, nebo šlechtěné [71].

Taxonomické zařazení pšenice:

- Říše: rostliny (*Plantae*)

- Podříše: cévnaté rostliny (*Tracheobionta*)
- Oddělení: krytosemenné (*Magnoliophyta*)
- Třída: jednoděložné (*Liliopsida*)
- Čeleď: lipnicovité (*Poaceae*)
- Rod: pšenice (*Triticum*) [71].

Produkčně je nejčastěji využívaná pšenice obecná (*Triticum aestivum*), pšenice tvrdá (*Triticum durum*) a pšenice špalda (*Triticum spelta*). Pšenice obecná se používá převážně v pekařské výrobě, pšenice tvrdá pro výrobu těstovin a pšenice špalda se využívá hlavně v alternativním zemědělství. Z hlediska pěstitelského se pšenice rozlišují na jarní a ozimé, z hlediska pluchatosti na nahé a pluchaté [48]. Šlechtěním vzniklo mnoho botanických druhů pšenice, které se dělí podle počtu chromozomů na diploidní ($2n = 14$), tetraploidní ($2n = 28$) a hexaploidní ($2n = 42$) [72].

Tabulka 12 Přehled druhů rodu *Triticum* podle počtu chromozomů [50,73,74,75,80,81,82,83]

Počet chromozomů	Obilky nahé	Obilky pluchaté
$2n = 14$	<i>T. sinskajae</i>	pšenice jednozrnka (<i>T. monococcum</i>) pšenice jednozrná planá (<i>T. boeoticum</i>)
$2n = 28$	pšenice tvrdá (<i>T. durum</i>) pšenice perská (<i>T. carthlicum</i>) pšenice polská (<i>T. polonicum</i>) pšenice naduřelá (<i>T. turgidum</i>) kamut – pšenice khorasan (<i>T. turanicum</i>)	pšenice dvouzrnka (<i>T. dicoccum</i>) pšenice dvouzrná planá (<i>T. dicoccoides</i>) pšenice Timofejevova (<i>T. timopheevi</i>)
$2n = 42$	pšenice setá (<i>T. aestivum</i>) pšenice shloučená (<i>T. compactum</i>) pšenice indická (<i>T. sphaerococcum</i>)	pšenice špalda (<i>T. spelta</i>) pšenice macha (<i>T. macha</i>) <i>T. zhukovskyi</i>

Rýže (rod *Oryza*) je nejrozšířenější obilovinou na světě používanou pro přímou konzumaci. Nejčastěji je konzumována světlá obroušená a leštěná. Původem je z tropických oblastí Afriky a Asie a je známo přes 20 druhů [48,50,85,86,87].

Taxonomické zařazení rýže:

- Říše: rostliny (*Plantae*)
- Podříše: cévnaté rostliny (*Tracheobionta*)
- Oddělení: krytosemenné (*Magnoliophyta*)
- Třída: jednoděložné (*Liliopsida*)
- Řád lipnicotvaré (*Poales*)
- Čeleď: lipnicovité (*Poaceae*)
- Rod: rýže (*Oryza*) [87,88].

Nejvíce využívaným druhem je rýže setá (*Oryza sativa*), méně pak rýže africká (*Oryza glaberrima*). Obilky je možné použít neloupané, loupané anebo namleté na rýžovou mouku [87,89].

Podle počtu chromozomů se rýže dělí na:

- diploidní (24 chromozomů – sady AA, BB, CC, EE, FF a GG) – *O. australiensis*, *O. barthii*, *O. alta*, *O. brachyantha*, *O. minuta*, *O. officinalis*, *O. perennis*, *O. latifolia*, *O. rhizomatis*, *O. ridleyi*, *O. coarctata*, *O. schlecteri*, *O. malampuzhaensis*, *O. eichingeri*, *O. grandiglumis*, *O. punctata*, *O. longiglumis*, *O. granulata* a *O. meyeriana*.
- tetraploidní (48 chromozomů – sady BBCC, CCDD, HHJJ a HHKK) – *O. sativa*, *O. glaberrima*, *O. rufipogon*, *O. glumipatula*, *O. nivara*, *O. breviligulata*, *O. meridionalis*, *O. longistaminata* [88,90].

Podle tvaru se rýže dělí na kulatozrnnou, krátkozrnnou a dlouhozrnnou [87].

3.6 Obilné klíčky

Klíčky vznikají naklíčením semen a jsou prvním stupněm vývoje nové rostliny. Obsahují tedy velké koncentrace výživných látek – enzymy, minerální látky, vitaminy [91].

3.6.1 Naklíčené semeno, výhonek, osení

Naklíčené semeno je semeno s krátkým klíčkem, klíčící většinou po dobu 24 až 72 hodin, během níž došlo k základní změně – k přeměně části škrobu na glukózu. Současně se v semeni zvyšuje aktivita některých enzymů (hydroláz, proteáz). Výhonek je mladá rostlina ve stáří 4 – 12 dnů. Po této době rostlina již vyčerpala zásobní látky ze semene a probíhají v ní četné procesy, představované zvýšenou enzymatickou aktivitou a rychlým růstem. Mladé výhonky obsahují vedle sacharidů, bílkovin a vlákniny také chlorofyl a četné enzymy. Jsou snadno stravitelné. Osením se nazývá 8 – 10 denní porost obilovin určený ke konzumaci většinou v čerstvém stavu nebo k přípravě šťáv jejich lisováním [92,93,94].

3.6.2 Klíčení zrn

Schopnost klíčit si semeno obilovin zachovává přibližně 6 – 8 let. Rychlost klíčení jednotlivých druhů jsou značně rozdílné. Některá semena neklíčí, případně klíčí pomalu a obtížně. Neklíčivost u některých odrůd pšenice může být způsobena i tím, že v semenech nebyly ukončeny procesy zrání, které někdy trvají i několik měsíců po sklizni [93].

Enzymy katalyzují přeměnu původních živin na chemickou formu, kterou klíčící rostlina potřebuje. U pšenice se zvyšuje především aktivita amylázy rozkládající škrob [92]. Komplexy zásobních proteinů jsou převáděny na aminokyseliny a tuky se štěpí na mastné kyseliny a glycerol. Ty se využívají jako zdroj energie. Vitamin C se spolu s ostatními vitaminy nachází v semeni jen ve stopovém množství a jeho množství při klíčení narůstá. Naklíčená zrna obsahují jak esenciální (izoleucin, leucin, lyzin, metionin, fenylalanin, treonin, tryptofan a valin), tak i semiesenciální (arginin, histidin) aminokyseliny.

Klíček pšenice obsahuje velké množství vitaminů skupiny B – tiamin, riboflavin a niacin. Komplex vitaminu B posiluje obranyschopnost organismu proti infekcím. Přispívá také k normálnímu fungování nervového systému. Pšenice, obzvláště její klíčky jsou také

jedním z nejlepších zdrojů vitamínu E. Během klíčení se obsah vitamínu E v pšenici ještě ztrojnásobí [93,94].

Látky obsažené v naklíčených semenech pomáhají posilovat imunitní systém. Naklíčené obilí (zejména pšenice) je vhodné i při redukční dietě. Zároveň díky přítomnosti antioxidantů (vitamin C a E) přispívají naklíčená zrna ke zpomalování stárnutí. Syrové rostlinné klíčky jsou výborným zdrojem důležitých enzymů, které pomáhají trávit bílkoviny, sacharidy i tuky. V naklíčených rostlinách je přítomna i celulóza, která štěpí celulózu [92,93,94].

4 KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE

Její podstatou je dělení směsi látek mezi dvěma fázemi. Jedna fáze je vždy nepohyblivá (tuhá nebo kapalina) a označuje se jako stacionární. Dochází na ní k zadržování dělených látek. Druhá fáze je pohyblivá (kapalina), nazývá se mobilní. Touto fází jsou dělené látky unášeny [95]. Složky vzorku, které lnou lépe k fázi stacionární než k fázi mobilní, se při pohybu zdržují více než složky poutající se ke stacionární fázi hůře. Takovýmto způsobem se složky od sebe postupně separují [96].

4.1 Základní rozdělení technik kapalinové chromatografie

Dle uspořádání fází se kapalinová chromatografie dělí na:

- kolonovou (sloupcovou) chromatografii (stacionární fáze je umístěna v koloně),
- plošnou chromatografii se dělí na tenkovrstevnou chromatografii (TLC – Thin Layer Chromatography) a papírovou chromatografii (PC – Paper Chromatography).

Dle děje, který probíhá, se rozlišuje kapalinová chromatografie:

- Adsorpční (LSC – Liquid Solid Chromatography) – využívá se různé schopnosti složek adsorbovat se na povrch stacionární fáze (tuhá látka).
- Rozdělovací (LLC – Liquid Liquid Chromatography) – využívá se různé rozpustnosti složek vzorku ve stacionární fázi (kapalina) a mobilní fázi (kapalina nebo plyn).
- Iontově výměnná (IEC – Ion Exchange Chromatography) – o separaci rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze (iontoměnič) a ionty vzorku.
- Gelová permeační (GPC – Gel Permeation Chromatography) – využívá se separace složek podle velikosti na pórovité stacionární fázi – gelu; menší molekuly vzorku se v pórech gelu zdržují déle.
- Afinitní – využívá se schopnosti stacionární fáze vázat ze vzorku určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah (afinitu) [95,96,97,98].

4.2 HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) je separační metoda využívající kolony s vhodnou stacionární fází, jejíž vlastnosti umožňují dosáhnout rychlé separace složitých směsí látek s vysokým rozlišením zón [98]. Vysoké účinnosti a rychlosti se u této metody dosahuje použitím kolon plněných náplněmi s velmi jemnými částicemi (3 – 15 μm) a poměrně velkých průtoků mobilní fáze, což ovšem vyžaduje použití vysokotlakých čerpadel, která zajišťují konstantní průtok mobilní fáze [95]. V HPLC se pracuje s kolonami o délce 3 – 30 cm, vnitřním průměrem 1 – 5 mm a vysokou účinností (> 40000 teoretických pater. m^{-1}) [99,100]. Aby bylo možné dosáhnout přijatelného průtoku a doby analýzy, je potřeba pracovat s kolonami při vyšších tlacích (až do 60 MPa). Proto eluát z kolony prochází detektorem s průtočnou celou malého vnitřního objemu (obvykle 0,5 – 15 μl), jehož signál je zpracováván počítačovým softwarem [100,101].

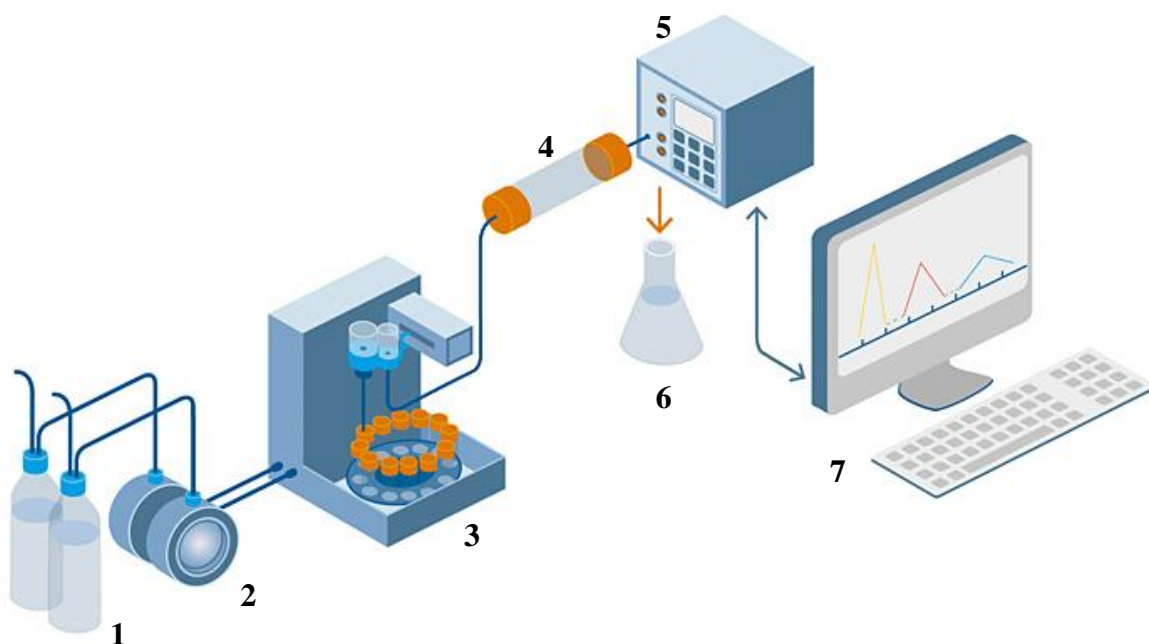
Uspořádání HPLC s tzv. normální fází – využívá polární stacionární fáze. Jimi mohou být anorganické polární absorbenty (silikagel, oxid hlinitý, oxid zirkoničitý), nebo absorbenty kde je chemickou modifikací adsorpčních center jejich polarita snížena a je možné využít selektivních interakcí funkčních skupin chemicky vázaných na povrchu adsorbentu (tzv. nitrilové, aminové, diolové a další středně polární fáze) [100].

Uspořádání HPLC s tzv. reverzními fázemi (RP-HPLC, Reversed Phase – High Performance Liquid Chromatography). Je zde využito nepolárních nebo mírně polárních stacionárních fází jako silikagel s chemicky vázanými oktadecylovými, oktalovými, alkylovými, alkylarylovými, nebo nitrilovými skupinami. Vždy jsou polárnější fáze mobilní než fáze stacionární. Skládají se povětšinou z vody, pufrů a jednoho či více rozpouštědel. Nejčastější jsou to metanol, acetonitril a tetrahydrofuran [100].

4.2.1 Instrumentace pro HPLC

Kapalinový chromatograf se skládá ze zásobníku mobilní fáze, dávkovače vzorků, vysokotlakého čerpadla (zabezpečuje transport mobilní fáze kolonou), chromatografické kolony (zde se složky vzorku separují) a detektoru, který při průchodu separovaných látek vysílá elektrický signál jako odezvu, která je úměrná změně sledované vlastnosti eluátu vytékajícího z kolony. Pro dobrou reprodukovatelnost výsledků se separační kolona umísťuje v termostátové skříni. Přístroj je doplněn zařízením pro záznam a ukládání

signálu detektoru, vyhodnocování chromatogramů a zpracování chromatografických dat (obrázek 7) [100].



1 – zásobníky mobilní fáze, 2 – vysokotlaké čerpadlo, 3 – dávkovač, 4 – separační kolona, 5 – detektor, 6 – odpad, 7 – zařízení pro zpracování dat

Obrázek 7 Uspořádání HPLC [102]

Jako zásobník mobilní fáze je možné použít jakoukoliv uzavřenou nádobu, která je chemicky odolná vůči používaným rozpouštědlům. Ze zásobníku se pak čerpá mobilní fáze přes filtr, který zabrání pronikání nečistot do čerpadla. Mobilní fáze se musí odplyňovat pomocí degasseru [103].

V současné době se nejčastěji používají čerpadla s malým objemem, které využívají rychlé frekvence pracovních cyklů. Konstrukce čerpadel musí být z materiálů odolných vůči chemické korozi, které musí odolat i použití poměrně agresivních mobilních fází. Musí být schopna dávkovat kapaliny plynule a bez kolísání průtoku při pracovním tlaku 30 – 60 MPa. Dále s průtoky přesně nastavitelnými v mezích od 0,1 až do 10 ml.min⁻¹ pro práci s konvenčními analytickými kolonami a od 0,01 nebo 0,001 do 1 ml.min⁻¹ pro práci s mikrokolonami [100,104].

K dávkování se používá ventil s dávkovací smyčkou přesně definovaného objemu, dnes už víceméně však pouze automatizovaný dávkovač (autosampler), který je vybaven

zásobníky s vialkami [100,105,106]. Vlastní separace složek analyzovaného vzorku probíhá v koloně. Separační kolony, které jsou používány v HPLC musí umožnit separaci s vysokou účinností a požadovanou selektivitou. Pláště kolon jsou vyrobené z nerezové oceli nebo z tvrzeného skla, titanu pevného polymeru a jsou opatřené na koncích fritami (zpravidla s póry o velikosti 0,5 – 2 μm). Ty v koloně zadržují částice náplně. Pro analytické separace slouží konvenční kolony o délce 3 (5) – 25 cm a vnitřním průměru 2 – 4,6 mm plněné částicemi o velikosti 2 – 5 (10) μm (obrázek 8). Při kratších kolonách tj. 3 – 6 cm stejného vnitřního průměru se umožňuje dosáhnout jednodušších separací během 1 – 3 minut, a to při významné úspoře rozpouštědel [100]. Pro regulaci požadované teploty v koloně je používán termostat. Běžně používaná teplota je v rozmezí 30 až 50 $^{\circ}\text{C}$ [107].



Obrázek 8 Kolona: Discovery C 18 (250 x 4,6 mm; 5 μm , Supelco, USA)

Náplně používané v HPLC se připravují jak z organických polymerů, tak i z pórovitých anorganických materiálů. Využívají se materiály na bázi silikagelu. A to buď bez úprav nebo jako nosiče chemicky modifikované navázáním nepolárních středně či silně polárních stacionárních fází. Méně běžné typy anorganických nosičů jsou oxid zirkoničitý, hlinitý, titaničitý nebo grafický uhlík. Jejich chemická odolnost usnadňuje separace bazických sloučenin, které vyžadují mobilní fáze s vysokým pH v rozmezí 12 – 14. Účinnou a velmi častou ochranou analytické kolony je používání předkolon [100]. Pro filtraci mobilní fáze jsou využívány filtry s porozitou 0,2 a 0,45 μm . Ty jsou vyrobené z různých materiálů.

Mobilní fáze v kapalinové chromatografii není inertní, ale i přesto se významně podílí na separačním procesu. Vzhledem k interakcím mezi složkami mobilní fáze a soluty je možné separaci ovlivnit nejen změnou zastoupení různých rozpouštědel v mobilní fázi, ale i změnou pH, iontové síly nebo přidáním činidel tvořících se soluty iontové páry, komplexy apod. [108]. Optimální mobilní fáze musí v detektoru poskytovat minimální signál, který umožní co nejreprodukovatelnější a nejcitlivější detekci solutů. Signál detektoru by neměli ovlivňovat změny ve složení mobilní fáze při gradientové eluci [109].

Detektory slouží k indikaci analytů, které vycházejí z chromatografické kolony. K detekci separovaných látek se využívá jejich specifických vlastností, jimiž se tyto látky odlišují od složek mobilní fáze [110]. Mezi požadavky kladené na detektory HPLC patří vysoká citlivost, linearita a reprodukovatelnost odezvy, nezávislost odezvy na změně složení mobilní fáze při gradientové eluci a univerzálnost [111]. V HPLC se nejčastěji používají fotometrické detektory (UV/VIS), detektory diodovým polem (DAD), fluorimetrické detektory (FLD), elektrochemické detektory (ECD), refraktometrické detektory (RI) a hmotnostní detektory (MS) [101,112].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem praktické části diplomové práce bylo optimalizovat postup extrakce pro následné chromatografické stanovení vitamínu E, nastavit chromatografické podmínky pro analýzu vitamínu E metodou HPLC s detekcí v UV oblasti a vlastní stanovení vitamínu E ve vybraných vzorcích obilovin a klíčcích. Jednalo se především o vzorky netradičních pšenic, barevných a nebarevných druhů rýže, dále o stanovení vitamínu E v klíčcích pšenice. Vzhledem k tomu, že cílem stanovení vitamínu E v klíčcích nebylo sledovat vliv podmínek růstu klíčku na obsah vitamínu E, ale šlo o vypracování a nastavení metodiky pro extrakci a následné stanovení vitamínu E z tohoto materiálu, nebyly blíže sledovány a zaznamenávány parametry růstu klíčků jako je monitorování vlhkosti, intenzity světla apod.

6 METODIKA

6.1 Použité chemikálie

- Metanol (dodavatel Ing. Petr Lukeš)
- Metanol pro HPLC (Sigma Aldrich)
- Redestilovaná voda (redestilační aparatura Aqua Osmotic typ 02, Tišnov)
- Standard D,L- α -tokoferolacetát (Roche)

6.2 Použité pomůcky a přístroje

- Standardní laboratorní vybavení
 - Analytické váhy (Adam, AFA - 210 - LC, Schoeller instruments)
 - Temperovaná vodní lázeň s třepačkou (Memmert, Německo)
 - Odstředivka (Hettich EBA 20)
 - Ultrazvuková lázeň (PS 04000A, 4 l, SR)
 - Filtrační papír (FILTRAK No.390 Ø 15 cm)
 - Mlýnek na obiloviny Waldner Biotech Combi Star
 - Sušárna (Venticell 111 Comfort, BMT, ČR)
 - Běžné laboratorní sklo a pomůcky – př. vialky s uzávěry a septy, mikrofiltry (nylon 13 mm x 0,45 μ m)
- Speciální laboratorní vybavení
 - HPLC (HPLC UV/VIS Dionex UltiMate 3000) (obrázek 9)
 - § Kolona – Discovery C 18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m, Supelco, USA)
 - § Počítač s vyhodnocovacím programem Hystar



Obrázek 9 HPLC Dionex UltiMate 3000

6.3 Analyzované vzorky obilovin

Pro analýzu bylo použito celkem 26 vzorků obilovin. Z toho 15 druhů pšenice a 11 druhů rýže.

6.3.1 Vzorky pšenice

Vzorky pšenice (kamut, červené pšenice, pšenice ozimé a pšenice špaldy) byly zakoupeny v běžné obchodní síti. Vzorky červené pšenice byly deklarovány v kvalitě bio. Před vlastní analýzou byly skladovány ne déle než 14 dní v obchodních baleních v klimatizované laboratoři při 23 °C. Od každého vzorku bylo zakoupeno vždy cca 2,5 kg vzorku. Před vlastní analýzou byly vzorky rozemlety pomocí obilného mlýnku. Poté byly vzorky přemístěny do tmavých PET lahví a uzavřeny. Skladovány byly v klimatizované laboratoři opět při 23 °C.

Vzorky pšenic (špalda Oberöko, pšenice Dickökö, Busökö, Aktöko, Dickh, Rotdri, Kli) jsou ze sklizně z roku 2012 a byly poskytnuty prof. Dr. agr. Janem Sneydem z Hochschule für Wirtschaft und Umwelt Nürtingen-Geislingen, Fakultät Agrarwirtschaft.

Dále byly analyzovány vzorky pšenic Dickopf, Klima a Rotkorn ze sklizně roku 2013 a taktéž byly poskytnuty prof. Dr. agr. Janem Sneydem. Před vlastní analýzou byly vzorky

rozemlety pomocí obilného mlýnku. Poté byly vzorky přemístěny do tmavých PET lahví a uzavřeny. Skladovány byly v klimatizované laboratoři opět při 23 °C.

Další vzorek pšenice špaldy, sklízené v období mléčné zralosti a uzené v bukovém kouři byl zakoupen v běžné obchodní síti. Jedná se o Grünkern. Tento vzorek byl zakoupen v množství cca 2 kg. Před vlastní analýzou byl vzorek rozemlet pomocí obilného mlýnku. Poté byl vzorek přemístěn do tmavých PET lahví a uzavřen. Skladován byl v klimatizované laboratoři opět při 23 °C.

Jednotlivé obrázky analyzovaných obilovin pšenice jsou uvedeny níže (obrázky 10 až 24). Vzorky namletých obilovin nebyly před analýzou skladovány déle než 14 dní, po celou dobu skladování byla monitorována jejich vlhkost. V obsahu vlhkosti nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly, a to jak u vzorků pšenice, tak u vzorků rýží [113].



Obrázek 10 Zrna kamutu



Obrázek 11 Červená pšenice



Obrázek 12 Zrna pšenice ozimé



Obrázek 13 Pšenice špalda



Obrázek 14 Pšenice špalda Oberöko



Obrázek 15 Pšenice Dickökö



Obrázek 16 Pšenice Busökö



Obrázek 17 Pšenice Aktöko



Obrázek 18 Pšenice Dickh



Obrázek 19 Pšenice červená Rotdri



Obrázek 20 Pšenice červená Kli



Obrázek 21 Grünkern



Obrázek 22 Pšenice Dickopf



Obrázek 23 Pšenice Rotkorn



Obrázek 24 Pšenice Klima

6.3.2 Vzorky rýží

V obchodní síti byly zakoupeny následující vzorky rýží: rýže basmati natural (země původu Řecko), mléčná rýže kulatozrná loupaná (země původu Itálie), dlouhozrná rýže bílá (země původu Itálie), jasmínová rýže červená (země původu Thajsko), jasmínová rýže hnědá (země původu Thajsko), černá rýže Khaw Dam (země původu Laos), lila rýže (země původu Laos), černá rýže natural (země původu EU), rýže červená (země původu Itálie), červená rýže natural (země původu Řecko) a rýže rissoto (země původu Řecko). Obrázky analyzovaných vzorků rýží je možno vidět na obrázcích 25 až 35.

Před vlastní analýzou byly vzorky rýží skladovány ne déle než 14 dní v obchodních baleních v klimatizované laboratoři při 23 °C. Od každého vzorku bylo zakoupeno vždy cca 2 kg vzorku. Před vlastní analýzou byly vzorky rozemlety pomocí obilného mlýnku. Poté byly vzorky přemístěny do tmavých PET lahví a uzavřeny. Skladovány byly v klimatizované laboratoři opět při 23 °C. Před vlastní analýzou nebyly namleté vzorky skladovány po dobu delší než 14 dní.



Obrázek 25 Rýže Basmati natural



Obrázek 26 Bio mléčná rýže kulatozrná



Obrázek 27 Dlouhozrnná rýže



Obrázek 28 Jasmínová rýže červená



Obrázek 29 Jasmínová rýže hnědá



Obrázek 30 Khaw Dam



Obrázek 31 Lila rýže



Obrázek 32 Rýže černá natural



Obrázek 33 Rýže červená



Obrázek 34 Rýže červená natural



Obrázek 35 Rýže risotto

6.3.3 Analyzované pšeničné klíčky

Mezi vzorky, které byly podrobeny klíčení patří: pšenice Dicköko, Dickopf, Klima, Rotkorn, kamut (sklizeň 2013), kamut (sklizeň 2012) a pšenice červená.

Pilotní klíčící pokus byl založen pouze laboratorně, kromě teploty nebyly monitorovány blíže růstové podmínky. Klíčky obilovin byly vypěstovány v laboratoři na vlhké přírodní vatě (z bavlněného materiálu) při laboratorní teplotě 23 °C a denním osvětlení. Klíčky byly ručně po třech dnech od založení klíčení odlamovány, a to těsně před každou analýzou. Velikost klíčků byla přibližně 1 cm. Analýza byla tedy provedena třetí den od nasazení semen. Klíčky byly rozmělněny v třecí misce. U obilných klíčků bylo provedeno stanovení vitamínu E na čerstvou hmotu.



Obrázek 36 Klíčky pšenice červené

6.4 Optimalizace extrakce vitamínu E

K optimalizaci extrakce byly použity různé navážky rozemletých vzorků obilovin, a to v množství 1 – 5 g, které byly zality 5 – 25 ml metanolu. Vzorky byly extrahovány v třepací vodní lázni při teplotě 40 °C postupně po dobu 30 minut, 1, 2 a 3 hodin. Stejně tak byla vyzkoušena extrakce těchto vzorků za použití ultrazvuku, kdy teplota vodní lázně byla nastavena také na 40 °C, doba extrakce byla shodná jako u extrakce pouze v třepací vodní lázni. Vzorky byly váženy do tmavých lékovek. Vzhledem k tomu, že obiloviny jsou potraviny s nízkým obsahem lipidů, většinou do 5 %, nebylo nutno při extrakci vitamínu E použít techniku zmydelnění vzorku v alkalickém prostředí.

Stejně tak byla optimalizována extrakce vitamínu E z klíčků, jen s použitím navážky vzorku v rozmezí 1 – 2 g.

6.5 Konečná extrakce vzorků v ultrazvukové lázni

6.5.1 Extrakce obilných zrn

5 g rozemletých zrn obilovin bylo naváženo s přesností na 0,1 mg do tmavých lékovek nebo lze využít Erlenmeyerovy baňky obalené hliníkovou fólií. Následně bylo k navážce vzorku přidáno 25 ml metanolu. Erlenmeyerova baňka nebo lékovka byly uzavřeny víčkem a pak byly vloženy do ultrazvukové lázně o teplotě 40 °C. Extrakce trvala 2 hodiny. Každý vzorek byl navážen a extrahován celkem třikrát, z každého extraktu potom byly následně provedeny tři nástřiky na kolonu. Výsledná extrakce byla samozřejmě ověřena metodou standardního přídávku. Tekutý podíl extraktu byl převeden do centrifugační zkumavky, která byla vložena na 10 minut do odstředivky při 3 421 g. Následně byl extrakt přefiltrován přes filtrační papír a mikrofiltr z nylonu o velikosti pórů 0,45 µm. Takto upraveným extraktem byly naplněny vialky.

6.5.2 Extrakce obilných klíčků

Do Erlenmeyerovy baňky, která byla obalena hliníkovou fólií, nebo do tmavých lékovek bylo naváženo 2 g rozmělněných klíčků s přesností na 0,1 mg. Poté k nim bylo přidáno 12 ml metanolu. Erlenmeyerova baňka či lékovka byla uzavřena víčkem a pak byla vložena do ultrazvukové lázně o teplotě 40 °C. Extrakce trvala 2 hodiny. Každý vzorek byl navážen a extrahován celkem třikrát, z každého extraktu byly potom provedeny tři nástřiky na kolonu. Výsledná extrakce byla také ověřena metodou standardního přídávku. Tekutý podíl extraktu byl také převeden do centrifugační zkumavky, která byla vložena na 10 minut do odstředivky při 3 421 g. Následně byl extrakt přefiltrován přes filtrační papír a mikrofiltr z nylonu o velikosti pórů 0,45 µm. Takto upraveným extraktem byly naplněny vialky.

6.6 Optimalizace chromatografických podmínek pro stanovení vitamínu E metodou HPLC

Při samotné metodice pro stanovení vitamínu E bylo nejprve nutno optimalizovat chromatografické podmínky. Byly použity následující mobilní fáze: pouze čistý metanol,

metanol:redestilovaná voda v poměrech 99:5, 90:10 a 80:20. Eluce probíhala izokraticky, kdy byly zkoušeny i různé průtoky mobilní fáze v rozmezí 0,8 až 1,1 ml.min⁻¹. Dále byly testovány různé kolony, např. Discovery C18 (250 x 4,6 mm; 5 μm), stejně tak Discovery C8 (250 x 4,6 mm; 5 μm), dále Supelcosil LC8 (150 x 4,6 mm; 5 μm) aj. Jako předkolona byla použita kolonka Meta Guard (4 x 3 mm; 5 μm). Jako detektor byl použit detektor DAD, detekce byla nastavena postupně při vlnové délce 210, 230 a 250 nm. Jako nejlepší byla zvolena pak vlnová délka 210 nm, při níž vitamin E vykazoval nejvyšší hodnotu odezvy signálu detektoru (absorbanci).

6.7 Chromatografická analýza vzorků

K separaci jednotlivých složek vzorků byla použita kolona Discovery C 18 (250 x 4,6 mm; 5 μm). Předkolona byla Meta Guard (4 x 3 mm; 5 μm). Nástřík vzorku byl nastaven na 20 μl. Jako mobilní fáze byla použita směs metanolu a redestilované vody v poměru 95:5 v izokratickém režimu. Rychlost průtoku mobilní fáze byla nastavena na 1 ml.min⁻¹. Teplota termostatu kolony při měření byla nastavena na 30 °C, celková doba analýzy byla nastavena na 35 minut. Vyhodnocování obsahu vitamínu E probíhalo při vlnové délce 210 nm. Každý vzorek byl navážen třikrát, byl vyextrahován a poté z každého extraktu byly provedeny tři nástřiky na kolonu.

6.8 Kalibrační křivka pro chromatografické stanovení vitamínu E

Pro stanovení obsahu vitamínu E byl použit jako standard stabilnější D,L- α -tokoferolacetát, kterého bylo naváženo 0,01 g s přesností na 0,0001 g. Navážka byla rozpuštěna v metanolu tak, aby byl získán zásobní roztok o koncentraci 1000 μg.ml⁻¹. Ze zásobního roztoku byla pomocí ředění metanolem připravena kalibrační řada roztoků o koncentracích 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200 μg.ml⁻¹. Jednotlivé koncentrace standardu byly proměřeny za stejných chromatografických podmínek, jako je uvedeno v kapitole 6.7. Každá koncentrace z kalibrační křivky byla proměřena 5x. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost plochy píku (mAU) na koncentraci standardu (μg.ml⁻¹).

6.9 Statistická analýza

Naměřené výsledky byly podrobeny Dean-Dixonovu testu (Q-testu) pro vyloučení odlehlého výsledku. Dále byl pro statistické hodnocení využit parametrický test

srovnávající střední hodnoty dvou nezávislých souborů (Studentův t-test). Pro vyhodnocení byl použit statistický program StatK25, hladina významnosti byla 95 % [114].

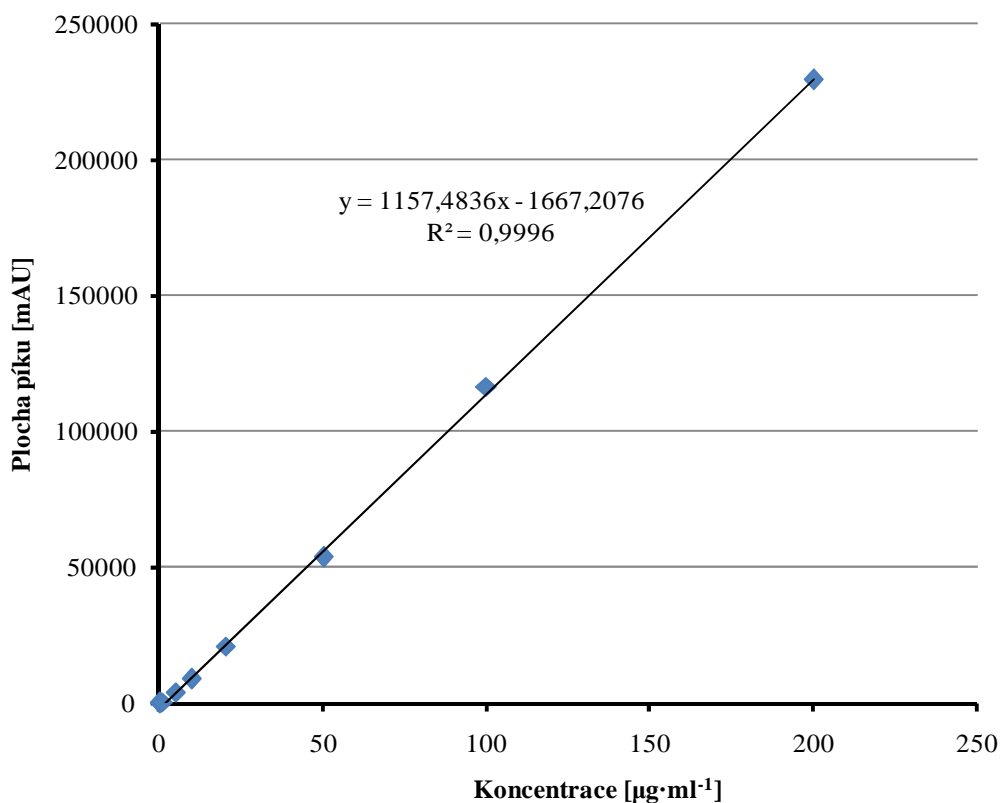
7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Výsledky měření kalibrační křivky pro stanovení vitamínu E metodou HPLC

Výsledky stanovení kalibrační křivky jsou uvedeny v tabulce 14 a samotná kalibrační křivka je na obrázku 37. Kalibrační křivka představuje závislost plochy píku (mAU) na koncentraci standardu tokoferolacetátu ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Retenční čas vitamínu E byl 23,73 minut. Rovnice lineární regrese má tvar $y = 1157,4836x - 1667,2076$, hodnota spolehlivosti činila 0,9996. Výsledky obsahu vitamínu E ve vzorcích jsou tedy prezentovány jako obsah tokoferolacetátu v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Tabulka 13 Hodnoty pro sestavení kalibrační křivky pro stanovení vitamínu E metodou HPLC

Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Průměrná plocha píku [mAU]
1	377
5	3965
10	8732
20	20863
50	53600
100	116544
200	229370



Obrázek 37 Kalibrační křivka D,L-α-tokoferolacetátu

7.2 Stanovení vitamínu E ve vzorcích obilovin metodou HPLC

Stanovení vitamínu E u vzorků cereálií i vzorků klíčků je uvedeno v kapitolách 7.2.1 – 7.2.6. Z chromatogramů byly odečteny plochy píků, které byly následně dosazeny do rovnice regresní přímky kalibrační křivky. Tím byly zjištěny koncentrace vitamínu E, ze kterých byl vypočten průměrný obsah vitamínu E. Zjištěné výsledky byly statisticky porovnány v programu StatK25. Hladina významnosti byla $\alpha = 0,05$.

7.2.1 Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích pšenice s bílou obalovou vrstvou

Výsledky stanovení obsahu vitamínu E jsou uvedeny v tabulce č. 14. Výsledky jsou uvedeny jako průměr z daných stanovení v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1} \pm$ směrodatná odchylka. Takto je tomu u všech prezentovaných výsledků v experimentální části.

Tabulka 14 Obsah vitamínu E u bílých vzorků pšenice

Vzorek	Průměrná plocha píku [mAU]	Obsah vitamínu E [mg.kg ⁻¹]
Oberöko	2204	13,33 ± 0,62 ^a
Dicköko	5184	23,34 ± 0,82 ^b
Busöko	1256	10,08 ± 0,43 ^{c-g}
Aktöko	385	7,02 ± 0,25 ^d
Dickh	9854	39,63 ± 1,56 ^e
Dickopf	7445	31,19 ± 1,08 ^f
Pšenice ozimá	713	10,22 ± 0,41 ^g
Pšenice špalda	537	9,47 ± 0,45 ^h
Kamut	2936	19,53 ± 0,76 ⁱ

U pšenice Dickh byla detekována statisticky nejvyšší koncentrace vitamínu E v množství $39,63 \pm 1,56 \text{ mg.kg}^{-1}$ ($P < 0,05$). Druhý nejvyšší obsah vitamínu E byl zjištěn u pšenice Dickopf, a to $31,19 \pm 1,08 \text{ mg.kg}^{-1}$ ($P < 0,05$). Výrazně nižší množství vitamínu E bylo u pšenice Dicköko, ve které obsah vitamínu E činil $23,34 \pm 0,82 \text{ mg.kg}^{-1}$. Vitamin E byl v kamutu přítomen v množství $19,53 \pm 0,76 \text{ mg.kg}^{-1}$ a v pšenici Oberöko $13,33 \pm 0,62 \text{ mg.kg}^{-1}$. Ve vzorcích pšenice ozimé a pšenice Busöko bylo detekováno stejné množství vitamínu E, a to $10,22 \pm 0,41 \text{ mg.kg}^{-1}$ v pšenici ozimé a $10,08 \pm 0,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ v pšenici Busöko ($P \geq 0,05$). U pšenice špaldy bylo naměřeno $9,47 \pm 0,45 \text{ mg.kg}^{-1}$ vitamínu E, přičemž statisticky nejnižší koncentrace vitamínu E byla zjištěna v pšenici Aktöko, ve které byl obsah tohoto vitamínu $7,02 \pm 0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ ($P < 0,05$).

Velíšek v literatuře uvádí, že obsah vitamínu E v pšeničné mouce se pohybuje v rozmezí $15 - 50 \text{ mg.kg}^{-1}$ [4], ve studii Tiwariho se uvádí obsah vitamínu E kolem $32,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ [115]. Z tabulek 14, 15 a 16 vyplývá, že zjištěný obsah vitamínu E se u vzorků pšenice pohybuje od $7,02$ do $39,63 \text{ mg.kg}^{-1}$. Naměřené hodnoty odpovídají rozmezí uvedené Velíškem, pouze u některých vzorků je průměrná hodnota obsahu vitamínu E o něco málo nižší. To mohlo být zapříčiněno odběrem nestejnorodých částí rozemletých vzorků. Množství vitamínu E je u obilovin závislé na podílu obalových vrstev, klíčku a endospermu [4].

7.2.2 Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorku grünkernu

Výsledný obsah vitamínu E ve vzorku Grünkernu je uveden samostatně v tabulce 15. Nejedná se o surovou obilovinu, ale o výrobek ze špaldy sklizené v období mléčné zralosti a prouzený kouřem nejčastěji z bukových pilin.

Tabulka 15 Obsah vitamínu E v pšenici Grünkern (\pm SD)

Vzorek	Průměrná plocha píku [mAU]	Obsah vitamínu E [mg.kg ⁻¹]
Grünkern	486	9,27 \pm 0,36

Koncentrace vitamínu E v pšenici Grünkern byla 9,27 \pm 0,36 mg.kg⁻¹. Jak lze již na první pohled vidět se srovnáním s tabulkou 14 v kapitole 7.2.1, pak obsah vitamínu E je u tohoto výrobku dokonce vyšší než u analyzovaného vzorku pšenice Aktökö, a zároveň srovnatelný s obsahem vitamínu E u vzorku pšenice špaldy, v níž byl naměřen obsah vitamínu E 9,47 \pm 0,45 mg.kg⁻¹.

7.2.3 Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích pšenice s červenou obalovou vrstvou

Výsledky stanovení obsahu vitamínu E u červených pšenic jsou uvedeny v tabulce 16.

Tabulka 16 Obsah vitamínu E u červených vzorků pšenic

Vzorek	Průměrná plocha píku [mAU]	Obsah vitamínu E [mg.kg ⁻¹]
Klima	4589	21,72 \pm 0,92 ^a
Rotkorn	3009	15,88 \pm 0,55 ^{b,e}
Pšenice červená	1779	14,85 \pm 0,62 ^c
Kli	8109	33,56 \pm 1,25 ^d
Rotdri	3201	16,53 \pm 0,74 ^e

U červených vzorků pšenic byl nejvyšší obsah vitamínu E v pšenici Kli, a to 33,56 \pm 1,25 mg.kg⁻¹ ($P < 0,05$). Druhé nejvyšší množství bylo zjištěno v pšenici Klima, a to 21,72 \pm 0,92 mg.kg⁻¹ a nejnižší množství 14,85 \pm 0,62 mg.kg⁻¹ v pšenici červené ($P < 0,05$). Statisticky stejné množství vitamínu E bylo detekováno v pšenicích Rotdri a Rotkorn ($P \geq 0,05$). Obsah vitamínu E v pšenice Rotdri byl 16,53 \pm 0,74 mg.kg⁻¹ a v pšenici Rotkorn 15,88 \pm 0,55 mg.kg⁻¹.

Literatura uvádí obsah vitamínu E v pšeničné mouce $15 - 50 \text{ mg.kg}^{-1}$ [4]. Obsah vitamínu E u měřených vzorků červených pšeníc odpovídá hodnotě uváděné literaturou.

7.2.4 Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích rýže s bílou obalovou vrstvou

Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích bílých druhů rýže jsou uvedeny v tabulce 17.

Tabulka 17 Obsah vitamínu E u bílých vzorků rýže

Vzorek	Průměrná plocha píku [mAU]	Obsah vitamínu E [mg.kg^{-1}]
Rýže basmati natural	521	$9,23 \pm 0,41$
Rýže bílá dlouhozrná	–	–
Rýže rissoto	–	–

Obsah vitamínu E u rýže bílé dlouhozrné a rýže rissoto nebyl naměřen, jeho obsah byl nižší, než je mez detekce této metody. Tato byla stanovena na $0,2 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ tokoferolacetátu. Nízký obsah vitamínu E u vzorků bílých rýží je způsoben zpracováním rýže. Bílé rýže se loupou, odstraňují se otruby a klíčky a semena jsou následně leštěna. Těmito úpravami dochází ke ztrátám vitamínu E [116].

Obsah vitamínu E v rýži basmati natural byl $9,23 \pm 0,41 \text{ mg.kg}^{-1}$, literatura uvádí $12,9 - 25 \text{ mg.kg}^{-1}$ [115].

7.2.5 Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích rýže s barevnou obalovou vrstvou

Výsledky stanovení obsahu vitamínu E jsou uvedeny v tabulce 18.

Tabulka 18 Obsah vitamínu E u barevných vzorků rýže

Vzorek	Průměrná plocha píku [mAU]	Obsah vitamínu E [mg.kg ⁻¹]
Jasmínová rýže červená	868	10,84 ± 0,44 ^a
Jasmínová rýže hnědá	578	9,63 ± 0,43 ^{b,d,f}
Khaw Dam černá rýže	3010	20,11 ± 0,79 ^{c,e}
Lila rýže	583	9,68 ± 0,31 ^{d,f}
Rýže černá natural	2839	19,44 ± 0,84 ^e
Rýže červená	623	9,86 ± 0,34 ^f
Rýže červená natural	1094	11,82 ± 0,55 ^g

Statistickým porovnáním bylo zjištěno, že se obsah vitamínu E v rýži Khaw Dam s rýží černou natural statisticky průkazně neliší ($P \geq 0,05$). Obsah vitamínu E v rýži Khaw Dam byl $20,11 \pm 0,79$ mg.kg⁻¹ a v rýži černé natural $19,44 \pm 0,84$ mg.kg⁻¹.

Rýže červená natural obsahovala $11,82 \pm 0,55$ mg.kg⁻¹, jasmínová rýže červená $10,84 \pm 0,44$ mg.kg⁻¹ a rýže červená $9,86 \pm 0,34$ mg.kg⁻¹ vitamínu E. Koncentrace tohoto vitamínu ve vzorku obchodního balení rýže pojmenovaného jako Lila rýže byla $9,68 \pm 0,31$ mg.kg⁻¹ a v jasmínové rýži hnědé bylo vitamínu E $9,63 \pm 0,43$ mg.kg⁻¹, přičemž se tyto dvě hodnoty vzájemně statisticky neliší ($P \geq 0,05$).

Obsah vitamínu E v rýži se podle literatury pohybuje mezi 12,9 – 25 mg.kg⁻¹ [115]. Obsah vitamínu stanovený ve vzorcích jasmínové červené rýže, rýže Khaw Dam a černé rýže natural odpovídá údajům z publikované studie. O málo nižší obsah vitamínu E má červená rýže natural. U ostatních vzorků rýží byly jejich hodnoty podprůměrné. Barevné rýže jsou neloupané nebo částečně loupané. Protože je vitamin E uložen v obalových vrstvách, obsahují barevné rýže vyšší množství tohoto vitamínu. Nízké množství vitamínu E u Lila rýže může mít souvislost s jejím složením. Je tvořena z 80 % z bílé rýže a jen 20 % z rýže s purpurově zbarveným zrnem.

7.2.6 Výsledky stanovení obsahu vitamínu E ve vzorcích pšeničných klíčků

Výsledky stanovení obsahu vitamínu E v pšeničných klíčcích jsou uvedeny v tabulce 19. Výsledky jsou prezentovány v mg.kg^{-1} vitamínu E v čerstvé hmotě.

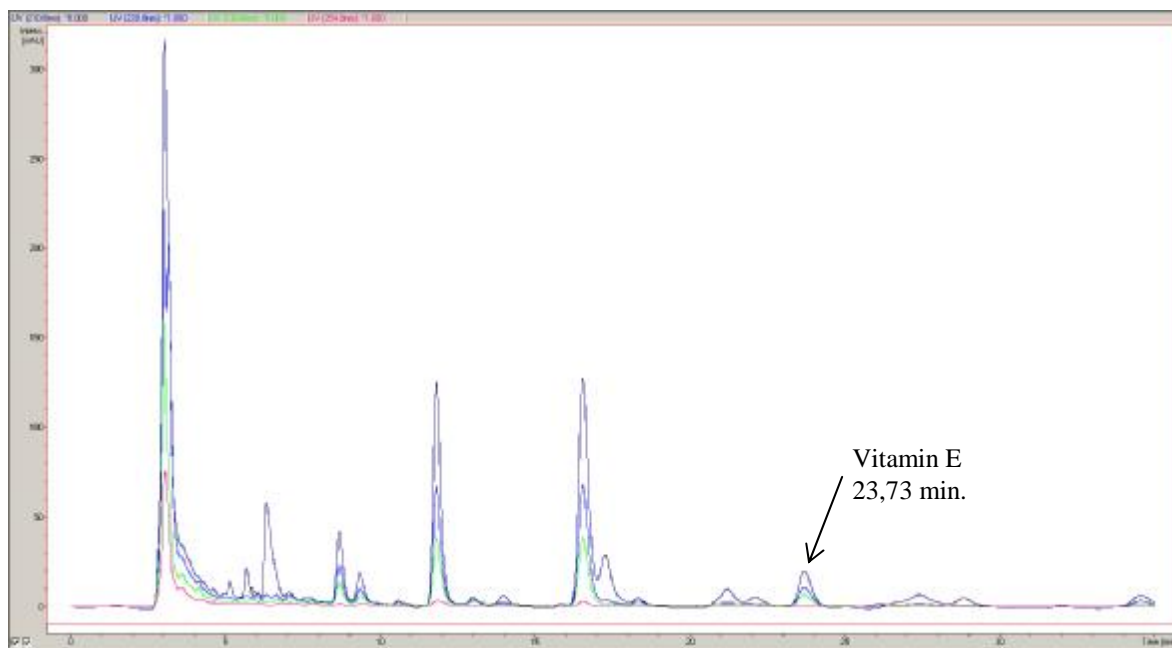
Tabulka 19 Obsah vitamínu E v pšeničných klíčcích

Vzorek	Průměrná plocha píku [mAU]	Obsah vitamínu E [mg.kg^{-1}]
Dicköko	32 216	$207,2 \pm 5,52^a$
Dickopf	33 054	$215,08 \pm 5,93^{b,e}$
Kamut 2013	28 493	$191,91 \pm 5,46^c$
Klima	36 736	$244,31 \pm 4,75^d$
Rotkorn	34 890	$215,63 \pm 4,29^e$
Pšenice červená	31 759	$211,03 \pm 5,41^{a,b,e}$
Kamut 2012	26 398	$177,69 \pm 5,07^f$

V klíčcích pšenice Klima byl detekován statisticky nejvyšší obsah vitamínu E, a to $244,31 \pm 4,75 \text{ mg.kg}^{-1}$ ($P < 0,05$). V klíčcích kamutu (sklizeň 2013) byl stanoven obsah vitamínu E $191,91 \pm 5,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ a v klíčcích kamutu (sklizeň 2012) pak byl jeho obsah $177,69 \pm 5,07 \text{ mg.kg}^{-1}$. Obsahy vitamínu E se v jednotlivých vzorcích kamutu statisticky lišily ($P < 0,05$). Obsah vitamínu E v klíčcích pšenice Dicköko byl $207,2 \pm 5,52 \text{ mg.kg}^{-1}$ a vzájemně se statisticky neliší ($P \geq 0,05$) od množství $211,03 \pm 5,41 \text{ mg.kg}^{-1}$ vitamínu E v klíčcích pšenice červené. Zároveň se koncentrace tohoto vitamínu v klíčcích pšenice červené průkazně neliší od klíčků z pšenice Dickopf ($215,08 \pm 5,93 \text{ mg.kg}^{-1}$) a také klíčků pšenice Rotkorn ($215,63 \pm 4,29 \text{ mg.kg}^{-1}$) ($P \geq 0,05$). Statisticky nejnižší obsah vitamínu E byl naměřen v klíčcích kamutu ze sklizně z roku 2013, a to $177,69 \pm 5,07$ ($P < 0,05$).

Vitamin E se v pšeničných klíčcích pohybuje kolem 250 mg.kg^{-1} [5]. Této hodnotě odpovídají i výsledky měření. Ze všech vzorků klíčků byl vyšší obsah vitamínu E naměřen u klíčků červených pšenic a nižší u bílých pšenic. Výjimkou mezi pšenicemi s bílou obalovou vrstvou byly klíčky pšenice Dickopf, které měly stejný obsah vitamínu E jako pšenice s červenou obalovou vrstvou. To mohlo být ovlivněno např. šlechtěním. U kamutu ze sklizně 2012 byl oproti kamutu ze sklizně 2013 naměřen nižší obsah vitamínu E, což mohlo být zapříčiněno skladováním, při kterém dochází ke ztrátám tohoto vitamínu.

Odlišnost zjištěného obsahu vitamínu E v klíčcích mohla být způsobena také přípravou vzorků. Příkladem mohou být nesprávně odlomené klíčky nebo odběr nestejnorodých částí rozdrčených vzorků.



Obrázek 38 Chromatogram vitamínu E ze vzorku pšenice Oberöko

ZÁVĚR

Metodou HPLC s detekcí v UV oblasti byl u vybraných druhů rýže, pšenice a jejich klíčků stanoven obsah vitamínu E, který patří mezi nejvýznamnější antioxidanty. Pro extrakci vitamínu E byl použit metanol. Extrakce vzorků byla provedena v ultrazvukové lázni při teplotě 40 °C po dobu 2 hodin. Separace vitamínu E probíhala izokraticky a jako mobilní fáze byla použita směs metanolu a redestilované vody v poměru 95:5 o průtoku 1 ml.min⁻¹. Detekce probíhala při vlnové délce 210 nm za využití kolony Discovery C 18 (250 x 4,6 mm; 5 µm). Teplota termostatu kolony byla nastavena na 30 °C. Analýza byla provedena přístrojem HPLC Dionex UltiMate 3000. Pro vyhodnocení byl použit program Hystar. Stejně podmínky byly nastaveny i pro měření kalibrační křivky, pro kterou byl použit jako standard D,L- α -tokoferolacetát. Ke zjištění obsahu vitamínu E byla využita rovnice regresní přímky.

U bílých vzorků pšenic byl nejvyšší obsah vitamínu E stanoven v pšenici Dickh ($39,63 \pm 1,56$ mg.kg⁻¹) a nejnižší u pšenice Aktöko ($7,02 \pm 0,25$ mg.kg⁻¹).

V pšenici Grünkern byl stanoven vitamin E v množství $9,27 \pm 0,36$ mg.kg⁻¹. Ve srovnání s bílými pšenicemi je obsah vitamínu E v Grünkernu vyšší než např. v pšenici Aktöko.

U červených pšenic bylo nejvyšší množství vitamínu E stanoveno v pšenici Kli ($33,56 \pm 1,25$ mg.kg⁻¹) a nejnižší u pšenice červené ($14,85 \pm 0,62$ mg.kg⁻¹).

U bílých rýží byl vitamin E stanoven pouze v rýži basmati natural ($9,23 \pm 0,41$ mg.kg⁻¹). V bílé rýži dlouhozrné a rýži rissoto nebyl obsah vitamínu E naměřen, protože jeho obsah byl nižší, než je mez detekce použité metody. Jednalo se o rýže loupané, leštěné, které jsou na vitamin E velmi chudé.

U barevných rýží bylo nejvyšší množství vitamínu E stanoveno v rýži Khaw Dam ($20,11 \pm 0,79$ mg.kg⁻¹) a v rýži černé natural ($19,44 \pm 0,84$ mg.kg⁻¹). Nejméně vitamínu E obsahovala Lila rýže ($9,68 \pm 0,31$ mg.kg⁻¹) a jasmínová rýže hnědá ($9,63 \pm 0,43$ mg.kg⁻¹).

Nejvyšší obsah vitamínu E v pšeničných klíčcích byl stanoven u klíčků pšenice Klima ($244,31 \pm 4,75$ mg.kg⁻¹). Nejnižší obsah byl v klíčcích kamutu ze sklizně 2012 ($177,69 \pm 5,07$ mg.kg⁻¹). Klíčky kamutu ze sklizně 2013 obsahovaly $191,91 \pm 5,46$ mg.kg⁻¹ vitamínu E. Mezi obsahem vitamínu E v klíčcích kamutu ze sklizně 2013 a ze sklizně 2012 je tedy statisticky významný rozdíl. Klíčky pšenice Dicköko ($207,2 \pm 5,52$ mg.kg⁻¹) a klíčky pšenice červené ($211,03 \pm 5,41$ mg.kg⁻¹) se vzájemně statisticky neliší,

zároveň se statisticky neliší obsah vitamínu E v klíčcích pšenice červené od klíčků pšenice Dickopf ($215,08 \pm 5,93 \text{ mg.kg}^{-1}$) a klíčků pšenice Rotkorn ($215,63 \pm 4,29 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Zároveň lze závěrem říci, že zvýšení konzumace obilovin a hlavně jejich klíčků je z hlediska příjmu vitamínu E žádoucí. Také bylo zjištěno, že barevné druhy pšenicči rýží obsahovaly vyšší množství vitamínu E v porovnání s bílými druhy.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] LANGE-ERNST, Maria-Elisabeth. *Vitamín E a hořčík: program proti stárnutí*. 1. vyd. Olomouc: Fontána, 2006, 64 s. ISBN 80-7336-290-2.
- [2] MINDELL, Earl a Hester MUNDIS. *Nová vitaminová bible: vitaminy, minerální látky, antioxidanty, léčivé rostliny, doplňky stravy, léčebné účinky potravin i léky používané v homeopatii*. Vyd. 3. Praha: Ikar, 2010, 572 s. ISBN 978-80-249-1419-0.
- [3] VÁVROVÁ, Jaroslava. *Vitaminy a stopové prvky 2007*. 1. vyd. Pardubice: SEKK, 2007, 155 s. ISBN 978-80-254-1171-1.
- [4] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002, 303 s. ISBN 80-86659-01-1.
- [5] FARDET, Anthony, Edmond ROCK a Christian RÉMÉSY. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo?. *Journal of Cereal Science* [online]. 2008, roč. 48, č. 2, s. 258-276 [cit. 2014-04-24]. DOI: 10.1016/j.jcs.2008.01.002. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521008000209>
- [6] HLÚBIK, Pavol a Libuše OPLTOVÁ. *Vitaminy*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2004, 232 s. ISBN 80-247-0373-4.
- [7] HOZA, Ignác, Daniela KRAMÁŘOVÁ a Pavel BUDINSKÝ. *Potravinářská biochemie II*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006, 104 s. ISBN 80-7318-395-1.
- [8] MARÁDOVÁ, Eva. *Výživa a hygiena ve stravovacích službách*. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8, 2007, 196 s. ISBN 978-80-86578-69-9.
- [9] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 202 s. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [10] MERKUNOVÁ, Alena a Miroslav OREL. *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2008, 302 s. ISBN 978-80-247-1521-6.

- [11] LANGE-ERNST, Maria-Elisabeth. *Vitamín E a hořčík: program proti stárnutí*. 1. vyd. Olomouc: Fontána, 2006, 64 s. ISBN 80-7336-290-2.
- [12] DOUŠA, Michal. *Stanovení vitamínů, doplňkových látek a vybraných léčiv v krmivech*. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, 2007, 376 s. ISBN 978-80-86548-94-4.
- [13] MIYAZAWA, Teruo, Kiyotaka NAKAGAWA a Phumon SOOKWONG. Health benefits of vitamin E in grains, cereals and green vegetables. *Trends in Food Science* [online]. 2011, roč. 22, č. 12, s. 651-654 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.07.004. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224411001506>
- [14] BENEŠOVÁ, Karolína, Helena PLUHÁČKOVÁ, Sylvie BĚLÁKOVÁ, Kateřina VACULOVÁ, Renata MIKULÍKOVÁ, Jaroslava EHRENBERGEROVÁ a Natálie BŘEZINOVÁ B. *Využití moderní separační techniky UPLC ke stanovení vitamínu E v zrně ječmene* [online]. 2012, 672-676 [cit. 2014-04-18]. 106, 7. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_07_672-676.pdf
- [15] PYKA, Alina a Jozef SLIWIOK. Chromatographic separation of tocopherols. *Journal of Chromatography A* [online]. 2001, roč. 935, 1-2, s. 71-76 [cit. 2014-04-18]. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)00944-X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196730100944X>
- [16] KATSANIDIS, Eugenios a Paul B. ADDIS. Novel HPLC analysis of tocopherols, tocotrienols, and cholesterol in tissue. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 1999, roč. 27, 11-12, s. 1137-1140 [cit. 2014-04-19]. DOI: 10.1016/S0891-5849(99)00205-1. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584999002051>
- [17] HARVEY, Richard A. a Denise R. FERRIER. *Lippincott's illustrated reviews: Biochemistry*. 5. vyd. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 2011, 520 s. ISBN 978-160-8314-126.
- [18] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: Academia, 1993, 191 s. ISBN 80-200-0471-8.

- [19] CHRISTOPHER K. MATHEWS, Christopher K.K, Kensal E. V. HOLDE a Kevin G. AHERN. *Biochemistry*. 3. vyd. San Francisco, Calif: Addison-Wesley, 2000. ISBN 978-020-1702-354.
- [20] GARRETT, Reginald H. a Charles M. GRISHAM. *Biochemistry*. 2. vyd. Fort Worth: Saunders College Pub., 1999. ISBN 00-302-2318-0.
- [21] METZLER, David E. *Biochemistry the chemical reactions of living cells*. 2. vyd. London: Elsevier, 2003. ISBN 01-249-2542-1.
- [22] JOPP, Andreas. *Rizikový faktor nedostatek vitamínů: vysoce výkonné látky pro nervy a imunitní systém : ochrana proti rakovině, srdečně-cévním onemocněním, stařecké demenci*. Vyd. 1. Praha: Gaudus, 2013, 181 s. ISBN 978-80-260-3768-2.
- [23] LACHMAN, Jaromír, Kateřina HEJTMÁNKOVÁ a Zora KOTÍKOVÁ. Tocols and carotenoids of einkorn, emmer and spring wheat varieties: Selection for breeding and production. *Journal of Cereal Science* [online]. 2013, roč. 57, č. 2, s. 207-214 [cit. 2014-04-23]. DOI: 10.1016/j.jcs.2012.05.011. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521012001075>
- [24] ŽILIC, Slađana, Vesna HADŽI-TAŠKOVIĆ ŠUKALOVIĆ, Dejan DODIG, Vuk MAKSIMOVIĆ, Milan MAKSIMOVIĆ a Zorica BASIĆ. Antioxidant activity of small grain cereals caused by phenolics and lipid soluble antioxidants. *Journal of Cereal Science* [online]. 2011, roč. 54, č. 3, s. 417-424 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.jcs.2011.08.006. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521011001469>
- [25] Vitamin E. *Chemical Book* [online]. 2010 [cit. 2014-04-24]. Dostupné z: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB5275357.htm
- [26] Vitamin E. In: *News from HPLC analysis* [online]. 2004 [cit. 2014-04-24]. Dostupné z: http://hplc1.sweb.cz/Vitamin/ch_vitaminE.htm
- [27] WILHELM, Zdeněk. *Stručný přehled fyziologie člověka pro bakalářské studijní programy*. 4. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2010, 117 s. ISBN 978-80-210-5283-3.
- [28] BALCH, Phyllis A. *Prescription for nutritional healing*. 4. vyd. New York: Avery, 2006, 869 s. ISBN 15-833-3236-7.

- [29] KIRSCHMANN, John D. *Nutrition almanac*. 6. vyd. New York: McGraw-Hill, 2007, 371 s. ISBN 978-007-1436-588.
- [30] SIMON, Emmanuelle, Jérôme GARIEPY, Anne COGNY, Nicole MOATTI, Alain SIMON a Jean-Louis PAUL. Erythrocyte, but not plasma, vitamin E concentration is associated with carotid intima-media thickening in asymptomatic men at risk for cardiovascular disease. *Atherosclerosis* [online]. 2001, roč. 159, č. 1, s. 193-200 [cit. 2014-04-19]. DOI: 10.1016/S0021-9150(01)00493-2. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915001004932>
- [31] DE OLIVEIRA, Fernando G., Cláudio L. ROSSI, Marcelo G. DE OLIVEIRA, Mário J.A. SAAD a Lício A. VELLOSO. Effect of vitamin E supplementation on antibody levels against malondialdehyde modified LDL in hyperlipidemic hamsters. *Cardiovascular Research* [online]. 2000, roč. 47, č. 3, s. 567-573 [cit. 2014-04-19]. DOI: 10.1016/S0008-6363(00)00121-8. Dostupné z: [http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1016/S0008-6363\(00\)00121-8](http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1016/S0008-6363(00)00121-8)
- [32] LEDVINA, Miroslav. *Biochemie pro posluchače pedagogické fakulty*. Vyd. 1. Hradec Králové: Gaudeamus, 1998, 273 s. ISBN 80-7041-962-8.
- [33] MENDIOLA, Jose A., Diana GARCÍA-MARTÍNEZ, F. Javier RUPÉREZ, Pedro J. MARTÍN-ÁLVAREZ, Guillermo REGLERO, Alejandro CIFUENTES, Coral BARBAS, Elena IBAÑEZ a Francisco J. SEÑORÁNS. Enrichment of vitamin E from *Spirulina platensis* microalga by SFE. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. 2008, roč. 43, č. 3, s. 484-489 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.supflu.2007.07.021. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844607002847>
- [34] ŠTÍPEK, Stanislav. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. 1. vyd. Praha: Grada, 2000, 314 s. ISBN 80-7169-704-4.
- [35] ZADÁK, Zdeněk. *Magnezium a další minerály, vitamíny a stopové prvky ve službách zdraví*. Vyd. 1. Břeclav: Presstempus, 2006, 71 s. ISBN 80-903350-7-1.
- [36] UNGER-GOEBEL, Ulla. *Vitamine: preziose sostanze attive*. Roma: L'Airone(IS), L'Airone, 1999. ISBN 88-794-4379-8.

- [37] STONE, Trevor W. a Gail DARLINGTON. *Pills, potions, and poisons: how drugs work*. New York: Oxford University Press, 2004, 476 s. ISBN 01-986-0942-6.
- [38] AL-OBAIDI, L., Nurhan T. DUNFORD a Carla L. GOAD. Mechanical Extraction of Wheat Germ Oil. *Transactions of the ASABE* [online]. 2013-11-18, s. 1871-1876 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.13031/trans.56.10270. Dostupné z: <http://elibrary.asabe.org/abstract.asp?aid=44088>
- [39] KVĚTINA, Jaroslav, Josef HERINK a Marie VOPRŠALOVÁ. *Základy farmakologie*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2000, 233 s. ISBN 80-7305-391-8.
- [40] MICHALOVÁ, Irena. *Doplňky stravy: (potraviny k doplnění jídelníčku)*. 1. vyd. Praha: Sdružení českých spotřebitelů, 2007, 35 s. ISBN 978-80-903930-1-1.
- [41] PATOČKOVÁ, Magdaléna. Vitamin E (tokoferol). In: *Ordinace.cz* [online]. 2006 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://www.ordinace.cz/clanek/vitamin-e-tokoferol/>
- [42] Vyhláška o označování výživové hodnoty potravin: č. 450/2004 Sb. In: *Sbírka zákonů*. 2009.
- [43] DOSTÁL, Jiří. *Medical chemistry*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2006, 164 s. ISBN 80-210-4128-5.
- [44] INSTITUTE OF MEDICINE. FOOD AND NUTRITION BOARD. *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids*. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000, 506 s. ISBN 03-090-6935-1.
- [45] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1925/2006 o přidávání vitaminů a minerálních látek a některých dalších látek do potravin. In: *Vyhláška č. 54/2004 Sb. o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití § 1*. 2006.
- [46] Vyhláška č. 225/2008 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin. In: *Vyhláška č. 225/2008 Sb.* 2008. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1005983>
- [47] DE VASCONCELOS, M.C.B.M., R. BENNETT, C. CASTRO, P. CARDOSO, M.J. SAAVEDRA a E.A. ROSA. Study of composition, stabilization and

- processing of wheat germ and maize industrial by-products. *Industrial Crops and Products* [online]. 2013, roč. 42, s. 292-298 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.06.007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669012003238>
- [48] KUČEROVÁ, Jindřiška. *Technologie cereálií*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2008, 141 s. ISBN 978-80-7157-811-6.
- [49] ARENDT, Elke K. a Emanuele ZANNINI. *Wheat and other Triticum grains* [online]. Sawston, UK: Woodhead Publishing, 2013, 1–66 [cit. 2014-04-21]. ISBN 978-0-85709-413-1.
- [50] PŘÍHODA, Josef, Marie HRUŠKOVÁ a Pavel SKŘIVAN. *Cereální chemie a technologie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2006, 202 s. ISBN 80-7080-530-7.
- [51] PELIKÁN, Miloš. *Zpracování obilovin a olejnin*. 2. nezměn. vyd. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2001, 148 s. ISBN 80-7157-525-9.
- [52] HRABĚ, Jan, Otakar ROP a Ignác HOZA. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: bakalářský stupeň*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006, 178 s. ISBN 80-7318-372-2.
- [53] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [54] HOUSTON, David Franklin, David Fairchild HOUSTON a G. O. KOHLER. *Nutritional Properties of Rice*. Washington, D. C.: National Academy of Sciences, 1970.
- [55] POUTANEN, K., N. SOZER a G. DELLA VALLE. How can technology help to deliver more of grain in cereal foods for a healthy diet?. *Journal of Cereal Science* [online]. 2014, s. - [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.jcs.2014.01.009. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521014000216>
- [56] HEMERY, Youna, Xavier ROUAU, Valérie LULLIEN-PELLERIN, Cécile BARRON a Joël ABECASSIS. Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *Journal of Cereal Science* [online].

- 2007, roč. 46, č. 3, s. 327-347 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.jcs.2007.09.008.
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521007001737>
- [57] *Výživa ve sportu: příručka pro sportovní medicínu*. 1. vyd. Praha: Galén, 2006, 311 s. ISBN 80-726-2318-4.
- [58] TADA, Yuichi, Masayuki NAKASE, Takahiro ADACHI, Ryo NAKAMURA, Hiroaki SHIMADA, Masayoshi TAKAHASHI, Tatsuhito FUJIMURA a Tsukasa MATSUDA. Reduction of 14–16 kDa allergenic proteins in transgenic rice plants by antisense gene. *FEBS Letters* [online]. 1996, roč. 391, č. 3, s. 341-345 [cit. 2014-04-21]. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00773-9. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0014579396007739>
- [59] BARTHOLE, Guillaume, Loïc LEPINIEC, Peter M. ROGOWSKY a Sébastien BAUD. Controlling lipid accumulation in cereal grains. *Plant Science* [online]. 2012, 185-186, s. 33-39 [cit. 2014-04-21]. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.09.002. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945211002676>
- [60] RIZZELLO, Carlo Giuseppe, Luana NIONELLI, Rossana CODA, Maria DE ANGELIS a Marco GOBBETTI. Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chemistry* [online]. 2010-04-01, roč. 119, č. 3, s. 1079-1089 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.08.016. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609000923>
- [61] NÉRON, Stéphane, Francine El AMRANI, Jacques POTUS a Jacques NICOLAS. Separation and quantification by high-performance liquid chromatography with light scattering detection of the main wheat flour phospholipids during dough mixing in the presence of phospholipase. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, roč. 1047, č. 1, s. 77-83 [cit. 2014-04-21]. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.06.105. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196730401074X>
- [62] LIU, Lei, Daniel L.E. WATERS, Terry J. ROSE, Jinsong BAO a Graham J. KING. Phospholipids in rice: Significance in grain quality and health benefits. *Food Chemistry* [online]. 2013, roč. 139, 1-4, s. 1133-1145 [cit. 2014-04-21].

- DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.12.046. Dostupné z:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814613000150>
- [63] KYRITSI, A., C. TZIA a V.T. KARATHANOS. Vitamin fortified rice grain using spraying and soaking methods. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2011, roč. 44, č. 1, s. 312-320 [cit. 2014-04-21]. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.06.001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643810002045>
- [64] HIDALGO, Alyssa a Andrea BRANDOLINI. Protein, ash, lutein and tocopherols distribution in einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) seed fractions. *Food Chemistry* [online]. 2008, roč. 107, č. 1, s. 444-448 [cit. 2014-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.08.009. Dostupné z:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814607007856>
- [65] FARDET, Anthony, Edmond ROCK a Christian RÉMÉSY. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo?. *Journal of Cereal Science* [online]. 2008, roč. 48, č. 2, s. 258-276 [cit. 2014-04-21]. DOI: 10.1016/j.jcs.2008.01.002. Dostupné z:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521008000209>
- [66] GIMÉNEZ, Isabel, Marta HERRERA, Jacqueline ESCOBAR, Elena FERRUZ, Susana LORÁN, Antonio HERRERA a Agustín ARIÑO. Distribution of deoxynivalenol and zearalenone in milled germ during wheat milling and analysis of toxin levels in wheat germ and wheat germ oil. *Food Control* [online]. 2013, roč. 34, č. 2, s. 268-273 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.04.033. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095671351300217X>
- [67] FAN, Ming-Sheng, Fang-Jie ZHAO, Susan J. FAIRWEATHER-TAIT, Paul R. POULTON, Sarah J. DUNHAM a Steve P. MCGRATH. Evidence of decreasing mineral density in wheat grain over the last 160 years. DOI: 10.1016/j.jtemb.2008.07.002.
- [68] KOPÁČOVÁ, Olga. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. Praha: ÚZPI, 2007, 55 s. ISBN 978-80-7271-184-0.
- [69] Obiloviny, olejnin, luskoviny a píce. In: *Eagri.cz* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky ve spolupráci se Svazem pěstitelů

- chmele České republiky, 2010 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/roslinne-komodity/obiloviny/>
- [70] Postup sklizně obilovin v ČR k 3. 9. 2013. In: [Http://eagri.cz](http://eagri.cz) [online]. 2013 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/roslinne-komodity/obiloviny/prubeh-sklizne/postup-sklizne-obilovin-v-cr-k-3-9-2013.html>
- [71] Pšenice. In: *Realné zemědělství: Zemědělství v realu a vše kolem něj* [online]. 2011 [cit. 2014-04-23]. Dostupné z: <http://zivotnafarme.infoblog.cz/clanek/psenice-2080/>
- [72] ZIMOLKA, Josef. *Pšenice: pěstování, hodnocení a užití zrna*. 1. vyd. Praha: Profi Press, c2005, 179 s. ISBN 80-86726-09-6.
- [73] PAZDERA, Jiří. *Pěstování rostlin - cvičení*. Vyd. 1. V Praze: Česká zemědělská univerzita, 2006, 203 s. ISBN 80-213-1538-5.
- [74] Kamut. In: *A-Z Slovník pro spotřebitele* [online]. [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92219.aspx>
- [75] MORRIS, Peter C. a James H. BRYCE. *Cereal biotechnology*. Cambridge [u.a.]: Woodhead [u.a.], 2000. ISBN 978-185-5734-982.
- [76] KENT, N.L. a A.D. EVERS. *Cereals of the World: Origin, Classification, Types, Quality* [online]. 4th ed. Cambridge: Woodhead Pub, 1994, 78–102 [cit. 2014-04-24]. ISBN 978-1-85573-361-9.
- [77] GRAUSGRUBER, Heinrich, Michael OBERFORSTER, Giorgi GHAMBASHIDZE a Peter RUCKENBAUER. Yield and agronomic traits of Khorasan wheat (*Triticum turanicum* Jakubz.). *Field Crops Research* [online]. 2005, roč. 91, 2-3, s. 319-327 [cit. 2014-04-23]. DOI: 10.1016/j.fcr.2004.08.001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429004002035>
- [78] KONVALINA, Petr. *Pěstování a využití pšenice jednozrnky v ekologickém zemědělství: Metodika pro praxi*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2012, 36 s. ISBN 978-80-7427-120-5.
- [79] HEJTMÁNKOVÁ, Kateřina, Jaromír LACHMAN, Alena HEJTMÁNKOVÁ, Vladimír PIVEC a Dagmar JANOVSÁ. Tocols of selected spring wheat (*Triticum aestivum* L.), einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.) and wild

- emmer (*Triticum dicoccum* Schuebl [Schrank]) varieties. *Food Chemistry* [online]. 2010, roč. 123, č. 4, s. 1267-1274 [cit. 2014-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.05.064. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610006382>
- [80] ZEMANOVÁ, Hana. *BioAbecedář Hanky Zemanové*. Vyd. 1. Praha: Smart Press, 2010, 422 s. ISBN 978-80-87049-30-3.
- [81] ARENDT, Elke K. a Emanuele ZANNINI. *Wheat and other Triticum grains* [online]. Sawston, UK: Woodhead Publishing, 2013, 1–66 [cit. 2014-04-21]. ISBN 978-0-85709-413-1.
- [82] SEIB, S.D. BASSI, K.S. WOO a G.D. LASATER. *Wheat Starch: chemistry and technology*. 3. vyd. London: Academic, 2009, 441–510. ISBN 9780127462752.
- [83] Rýže. In: *Realné zemědělství: Zemědělství v realu a vše kolem něj* [online]. 2011 [cit. 2014-04-23]. Dostupné z: <http://zivotnafarme.infoblog.cz/clanek/ryze-2433/>
- [84] Oryza Taxonomy. In: *Gramene: Oryza* [online]. 2008 [cit. 2014-04-23]. Dostupné z: http://archive.gramene.org/species/oryza/rice_taxonomy.html
- [85] FU, Xue-lin, Yong-gen LU, Xiang-dong LIU a Jin-quan LI. Progress on Transferring Elite Genes from Non-AA Genome Wild Rice into *Oryza sativa* through Interspecific Hybridization. *Rice Science* [online]. 2008, roč. 15, č. 2, s. 79-87 [cit. 2014-04-23]. DOI: 10.1016/S1672-6308(08)60024-4. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1672630808600244>
- [86] ZHU, Ting, Ping-Zhen XU, Jiang-Peng LIU, Sheng PENG, Xin-Chun MO a Li-Zhi GAO. Phylogenetic relationships and genome divergence among the AA-genome species of the genus *Oryza* as revealed by 53 nuclear genes and 16 intergenic regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* [online]. 2014, roč. 70, s. 348-361 [cit. 2014-04-23]. DOI: 10.1016/j.ympev.2013.10.008. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055790313003941>
- [87] http://www.vimcojim.cz/cs/spotrebitel/zdrava-vyziva/tipy-zdrave-vyzivy/Klicky:-Klic-ke-zdravi!__s639x7785.html
- [88] Organické pěstování klíčků. In: *Klíčky a klíčení semen* [online]. 2010 [cit. 2014-04-24]. Dostupné z: <http://www.proklicky.cz/klicky-a-vyhonky/pestovani-klicku/>

- [89] KOPEC, Karel. *Zelenina ve výživě člověka*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2010, 159 s. ISBN 978-80-247-2845-2.
- [90] KOPEC, Karel a Josef BALÍK. *Kvalitologie zahradnických produktů: nauka o hodnocení a řízení jakosti produktů a produkčních procesů*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008, 171 s. ISBN 978-80-7375-198-2.
- [91] JANČÁŘOVÁ, Irena a Luděk JANČÁŘ. *Analytická chemie*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003, 195 s. ISBN 80-7157-647-6.
- [92] Chromatografie. In: *Www.vscht.cz* [online]. 2006 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/ana/A03.pdf
- [93] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [94] MOTYKA, Kamil a Jan HLAVÁČ. *Stručný přehled separačních metod*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009, 45 s. ISBN 978-80-244-2304-3.
- [95] LEHOTAY, Jozef. *Separace metody v analytické chemii*. 1. vyd. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2009, 233 s. ISBN 978-80-227-3036-5.
- [96] HELÁN, Václav. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 Theta, 2005, 502 s. ISBN 80-86380-29-7.
- [97] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. 1. vyd. Praha: Lucie Nováková, 2013, 235 s. ISBN 978-80-260-4243-31.
- [98] High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). In: *Munich.linde.com* [online]. [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: http://munich.linde.com/international/web/lg/spg/like35lgspg.nsf/docbyalias/anal_hplc
- [99] PACÁKOVÁ, Věra a Karel ŠTULÍK. *Vysokoučinná kapalinová chromatografie*. 1. vyd. Praha: SPN, 1986, 144 s.
- [100] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990, 384 s. ISBN 80-03-00569-8.

- [101] OPEKAR, František. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2010, 203 s. ISBN 978-80-246-1775-6.
- [102] DOUŠA, Michal. *Základy separačních metod se zaměřením na HPLC*. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, 2002, 129 s. ISBN 80-86548-09-0.
- [103] DONG, Michael W. *Modern HPLC for practicing scientists*. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2006, 286 s. ISBN 04-717-2789-X.
- [104] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004, 263 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [105] PACÁKOVÁ, Věra a Karel ŠTULÍK. *Vysokoučinná kapalinová chromatografie*. 1. vyd. Praha: SPN, 1986, 144 s.
- [106] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990, 384 s. ISBN 80-03-00569-8.
- [107] KARLÍČEK, Rolf. *Analytická chemie pro farmaceuty*. 3. vyd. Praha: Karolinum, 2007, 281 s. ISBN 978-80-246-1453-3.
- [108] POUSTKA, Jan. Detektory v kapalinové chromatografii. In: *Vscht.cz* [online]. 2007 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20HPLC%20DETEKTORY%20092007.pdf>
- [109] ČSN ISO 712 (461014). *Obiloviny a výrobky z obilovin: Stanovení vlhkosti - Referenční metoda*. ÚNMZ, 2010, 28 s.
- [110] BUŇKA, František, Oldřich KŘÍŽ a Jan HRABĚ. *Program pro statistické vyhodnocování dat Stadvyd: verze 2.0 beta*. UTB Zlín.
- [111] TIWARI, U. a E. CUMMINS. Nutritional importance and effect of processing on tocopherols in cereals. *Trends in Food Science* [online]. 2009, roč. 20, 11-12, s. 511-520 [cit. 2014-04-15]. DOI: 10.1016/j.tifs.2009.06.001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224409002039>

- [112] BENDA, Vladimír, Ivan BABŮREK a Josef ŽĎÁRSKÝ. *Biologie II: nauka o potravinářských surovinách*. Vyd. 3., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2000, 196 s. ISBN 80-7080-402-5.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ČR	Česká republika
DAD	Diode Array Detector; detektor s diodovým polem
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ECD	Electrochemical Detector; elektrochemický detektor
EU	Evropská unie
FLD	Fluorescence Detector; fluorimetrický detektor
GPC	Gel Permeation Chromatography
HDL	Lipoproteiny o vysoké hustotě
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie
IEC	Ion Exchange Chromatography
IU	International Unit; mezinárodní jednotka aktivity
LDL	Lipoproteiny o nízké hustotě
LLC	Liquid Liquid Chromatography
LSC	Liquid Solid Chromatography
MS	Mass Spectrometry; hmotnostní detektor
NADPH	Nikotinamidadeninukleotidfosfát
PC	Paper Chromatography
PET	Polyetylentereftalát
RI	Refractive Index Detector; refraktometrický detektor
RNA	Ribonukleová kyselina
RP-HPLC	Reversed Phase – High Performance Liquid Chromatography).
SOT	Společná organizace trhu
SOT	Společná organizace trhu
SR	Slovenská republika

TLC	Thin Layer Chromatography
ÚKZÚZ	Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským
USA	United States of America; Spojené státy americké
UV/VIS	Ultraviolet/Visible Spectroscopic Detector; ultrafialová oblast, viditelná oblast
VLDL	Lipoproteiny o velmi nízké hustotě

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Tokoferoly [7,12,13]	13
Obrázek 2 Tokotrienoly [7,12,13]	14
Obrázek 3 Reakce tokoferolu s lipoperoxylovým radikálem [34].....	17
Obrázek 4 Antioxidační systém vitamínu E [35]	18
Obrázek 5 Stavba pšeničného zrna [52]	23
Obrázek 6 Podíl jednotlivých komodit na sklizni obilovin v ČR v roce 2013 [70]	28
Obrázek 7 Uspořádání HPLC [102]	35
Obrázek 8 Kolona: Discovery C 18 (250 x 4,6 mm; 5 µm, Supelco, USA).....	36
Obrázek 9 HPLC Dionex UltiMate 3000	41
Obrázek 10 Zrna kamutu	42
Obrázek 11 Červená pšenice	42
Obrázek 12 Zrna pšenice ozimé	43
Obrázek 13 Pšenice špalda	43
Obrázek 14 Pšenice špalda Oberöko	43
Obrázek 15 Pšenice Dickökö.....	44
Obrázek 16 Pšenice Busökö	44
Obrázek 17 Pšenice Aktöko	44
Obrázek 18 Pšenice Dickh.....	45
Obrázek 19 Pšenice červená Rotdri.....	45
Obrázek 20 Pšenice červená Kli	45
Obrázek 21 Grünkern	46
Obrázek 22 Pšenice Dickopf	46
Obrázek 23 Pšenice Rotkorn	46
Obrázek 24 Pšenice Klima	47
Obrázek 25 Rýže Basmati natural	48
Obrázek 26 Bio mléčná rýže kulatozrná.....	48
Obrázek 27 Dlouhozrná rýže	49
Obrázek 28 Jasmínová rýže červená.....	49
Obrázek 29 Jasmínová rýže hnědá	49
Obrázek 30 Khaw Dam	50
Obrázek 31 Lila rýže	50

Obrázek 32 Rýže černá natural.....	50
Obrázek 33 Rýže červená	51
Obrázek 34 Rýže červená natural	51
Obrázek 35 Rýže risotto	51
Obrázek 36 Klíčky pšenice červené	52
Obrázek 37 Kalibrační křivka D,L- α -tokoferolacetátu.....	57
Obrázek 38 Chromatogram vitamínu E ze vzorku pšenice Oberöko	63

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Koncentrace vitamínu E v některých orgánech, tkáních či tekutinách lidského těla [11]	15
Tabulka 2 Obsah vitamínu E ve vybraných potravinách [36]	19
Tabulka 3 Přepočty jednotlivých forem tokoferolů na IU [12]	21
Tabulka 4 Vzájemné formy tokoferolů z hlediska biologické účinnosti [12]	21
Tabulka 5 Jednotlivé formy tokoferolů z chemického hlediska [12]	21
Tabulka 6 Základní chemické složení obilovin v % [4]	24
Tabulka 7 Rozdělení látkového složení v jednotlivých částech zrna v % sušiny [48]	24
Tabulka 8 Proteiny pšenice a rýže [53]	25
Tabulka 9 Obsah vitamínů skupiny B v hnědé a bílé rýži v mg.100g ⁻¹ [63]	27
Tabulka 10 Obsah minerálních látek v pšeničné mouce a rýži v mg.100 g ⁻¹ [68]	27
Tabulka 11 Sklizeň obilovin v ČR v roce 2013 [70]	28
Tabulka 12 Přehled druhů rodu <i>Triticum</i> podle počtu chromozomů [50,73,74,75,80,81,82,83]	29
Tabulka 13 Hodnoty pro sestavení kalibrační křivky pro stanovení	56
Tabulka 14 Obsah vitamínu E u bílých vzorků pšenic	58
Tabulka 15 Obsah vitamínu E v pšenici Grünkern (± SD)	59
Tabulka 16 Obsah vitamínu E u červených vzorků pšenic	59
Tabulka 17 Obsah vitamínu E u bílých vzorků rýže	60
Tabulka 18 Obsah vitamínu E u barevných vzorků rýže	61
Tabulka 19 Obsah vitamínu E v pšeničných klíčcích	62