

Aminokyselinový a bílkovinný profil odrůd potravinářské pšenice pěstované v ČR

Ing. Lenka Nenutilová

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Ing. Lenka NENUTILOVÁ
Osobní číslo: T11803
Studijní program: N2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin
Forma studia: prezenční

Téma práce: Aminokyselinový a bílkovinný profil odrůd
potravinářské pšenice pěstované v ČR

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika pšenice *Triticum aestivum* L.
2. Anatomická stavba a chemické složení pšeničného zrna.
3. Význam pšeničných aminokyselin a bílkovin.

II. Praktická část

1. Cíl diplomové práce.
2. Použitý materiál a metodika stanovení aminokyselin a bílkovinného profilu ve vzorcích pšenice.
3. Výsledky stanovení aminokyselin a bílkovinného profilu a diskuze získaných výsledků.
4. Formulace závěrů práce a porovnání výsledků s jinými autory.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2004. 203 s. ISBN 80-7080-530-7.

[2] BUSHUK, W. RASPER, V. F. Wheat: production, properties and quality. Blackie Academic & Professional, Ontario 1994. 239 s. ISBN 0-7514-0181-1.

[3] SLUKOVÁ, M. Kvalitativní ukazatele pšenice a pšeničných mouk [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze [cit. 2012-10-05]. Dostupné z WWW: http://www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpbt/grant_TRP/dokumenty/06.pdf.

[4] POMERANZ, Y. Wheat: Chemistry and Technology, American Association of Cereal Chemists, 1988, 514 s. ISBN 0-913250-65-1.

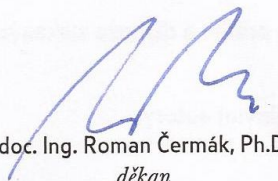
[5] WEISS, M., MANNEBERG, M., JURANVILLE, J. F., LAHM, H. W., FOUNTOULAKIS, M. Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. Journal of Chromatography A, 1998, 795, s. 263 ? 275.

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Iva Burešová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **16. ledna 2013**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




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

Příjmení a jméno: NENUTILOVÁ LENKA, ING.


Obor: THEVP

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 užit 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, považuji 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 2. 5. 2013



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 nevdělečně 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 vzdělávacího 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). Odpírá-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 výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce se zabývá charakteristikou pšenice seté (*Triticum aestivum* L.), anatomickým a chemickým složením pšeničného zrna a významem pšeničných aminokyselin a bílkovin.

Praktická část diplomové práce byla zaměřena na hodnocení forem pšenice seté a vzorků introgresivní hybridní linie z hlediska obsahu aminokyselin a složení bílkovin. Ve vzorcích byl nalezen nejvyšší obsah kyseliny glutamové a prolinu. První limitující aminokyselinou byl lyzin, dále methionin. Z esenciálních aminokyselin byl nejvíce zastoupen leucin. Obsah esenciálních aminokyselin v bílkovině nepřesahuje 30 %. Aminokyselinová skladba je závislá na genotypu pšenice, roku sklizně a podmínkách pěstování. Nejvyšší zastoupení sirných aminokyselin pozitivně ovlivňujících kvalitu lepku vykazují vzorky introgresivní hybridní linie. Při použití metody SDS-PAGE byly na polyakrylamidových gelech zjištěny čtyři skupiny bendů.

Klíčová slova: pšenice, aminokyseliny, bílkoviny, SDS-PAGE

ABSTRACT

The theoretical part of master thesis deals with the characteristics of wheat grain (*Triticum aestivum* L.), anatomical and chemical composition and the importance of wheat amino acids and proteins content.

The practical part of focuses on the evaluation of wheat forms and introgression lines in terms of amino acid content and composition of proteins. In the samples was found high content of glutamic acid and proline. The first limiting amino acid was lysine, and methionine. The essential amino acid leucine is the most represented. The content of essential amino acids in the protein did not exceed 30 %. The amino acid composition was dependent on the genotype of wheat, crop year and growing conditions. The highest proportion of sulfur amino acids positively affecting the quality of gluten had been detected in introgression line. In applying SDS-PAGE on polyacrylamide gels were identified four groups bends.

Keywords: wheat, amino acids, protein, SDS-PAGE

Děkuji vedoucí mé diplomové práce Mgr. Ivě Burešové, Ph.D. za velkou pomoc, odborné vedení, trpělivost, poskytnuté konzultace a především za cenné rady k teoretické i praktické části diplomové práce.

Dále pak mé poděkování patří paní Ing. Ludmile Zálešákové za poskytnutou pomoc při měření diplomové práce, firmě Oseva, a.s., Bzenec za poskytnutý materiál pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) a panu profesorovi Börnerovi za poskytnutý materiál vzorků introgresivní hybridní linie.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHARAKTERISTIKA PŠENICE.....	12
1.1 HISTORIE PŠTOVÁNÍ PŠENICE.....	12
1.2 PRODUKCE PŠENICE.....	12
1.3 BOTANICKÁ CHARAKTERISTIKA PŠENICE.....	14
1.3.1 Pšenice setá (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	16
1.3.2 Pšenice tvrdá (<i>Triticum durum</i> Desf.)	18
1.3.3 Pšenice špalda (<i>Triticum spelta</i> L.)	20
2 ANATOMICKÁ STAVBA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ PŠENIČNÉHO ZRNA.....	21
2.1 MORFOLOGIE PŠENIČNÉHO ZRNA	21
2.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ PŠENIČNÉHO ZRNA	24
2.2.1 Sacharidy pšeničného zrna.....	24
2.2.2 Enzymy	28
2.2.3 Lipidy pšeničného zrna.....	28
2.2.4 Vitaminy, minerální látky a minoritní složky pšeničného zrna	29
3 PŠENIČNÉ AMINOKYSELINY A BÍLKOVINY	31
3.1 AMINOKYSELINY	31
3.2 POLYPEPTIDY.....	33
3.3 BÍLKOVINY	34
3.3.1 Struktura bílkovin.....	34
3.3.2 Denaturace bílkovin.....	35
3.3.3 Klasifikace bílkovin.....	36
3.4 BÍLKOVINY PŠENIČNÉHO ZRNA.....	36
3.5 GLIADINY (PROLAMINY) PŠENICE.....	37
3.6 GLUTENIN (GLUTELIN PŠENICE)	38
3.7 PŠENIČNÝ LEPEK	41
3.8 ALBUMINY A GLOBULINY	43
II PRAKTICKÁ ČÁST	44
4 CÍL PRÁCE.....	45
5 MATERIÁL A METODIKA	46
5.1 MATERIÁL	46
5.2 METODIKA STANOVENÍ OBSAHU AMINOKYSELIN	47
5.3 METODIKA SDS-PAGE.....	49
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	53
6.1 VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU AMINOKYSELIN	53
6.2 VÝSLEDKY STANOVENÍ BÍLKOVINNÝCH FRAKČÍ POMOCÍ SDS-PAGE.....	69
6.3 DISKUZE ZÍSKANÝCH VÝSLEDKŮ.....	74
ZÁVĚR	78
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	80

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	89
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	91
SEZNAM TABULEK.....	93
SEZNAM PŘÍLOH.....	94

ÚVOD

Obiloviny jsou strategickou a historicky nejvýznamnější plodinou. Výrazně ovlivňují výživovou bilanci světové populace. Uplatňují se především pro lidskou výživu, představují hlavní surovinu pro výrobu potravin, slouží jako krmivo pro hospodářská zvířata a část je zpracovávána technicky. Z obilovin se pro lidskou výživu používá výhradně zrna [1]. V českém zemědělství je dominantní plodinou pšenice, která je v potravinářství převážně využívána na výrobu kynutého pečiva, proto musí splňovat požadavky na technologickou kvalitu potravinářské pšenice dané ČSN 46 1100-2 [2]. Technologická kvalita pšenice je určena znaky souvisejícími s množstvím hlavních složek tj. bílkovin a škrobu, a jejich chováním v definované suspenzi nebo standardně připraveném těstě [3].

AMK jsou po chemické stránce substituované karboxylové kyseliny. V některých případech nejsou v řetězci bílkoviny zastoupeny jen přímo samotné AMK, ale jejich aminy. V obilné bílkovině to jsou aminy odvozené od glutaminu a asparaginu. Kyselina glutamová (převážně ve formě glutaminu) představuje více než 1/3 bílkoviny pšeničného zrna. Vysoký podíl je i prolínu a leucinu, které jsou také významné pro tvorbu zesíťovaných struktur. Prolin tvoří druhý největší podíl AMK v pšeničné lepkové bílkovině (cca 10 %) [4].

Obsah bílkovin závisí na odrůdě pšenice a podmínkách jejího pěstování. Zralá zrna obsahují v průměru 11,5 % bílkovin v sušině [5]. Většina bílkovin je uložena v endospermu a aleuronové vrstvě. Bílkoviny pšenice mají z cereálních největší technologický význam [4]. Pšeničný endosperm má statisticky největší podíl bílkovin s největší makromolekulou a nejvyššími molárními hmotnostmi. Struktury pšeničné bílkoviny jsou také zdaleka nejdůkladněji prostudovány [4]. Zásobní bílkoviny v pšeničném zrna jsou gliadiny a gluteniny, které jsou obsaženy v endospermu. Albuminy a globuliny se nacházejí v osemeni, aleuronové vrstvě a klíčku [6].

Teoretická část diplomové práce se zaměřuje na charakteristiku pšenice, v níž je obsažena krátce popsána historie pěstování, produkce, botanická charakteristika, popis rostliny a její anatomické a chemické složení, dále pak popisuje význam pšeničných AMK a bílkovin. Praktická část je zaměřena na charakteristiku vzorků, stanovení jednotlivých AMK metodou kyselá a oxidativně kyselá hydrolyzy s následným odpařením na vakuové rotační odparce a vyhodnocením pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie na automatickém analyzátoru AMK, stanovení bílkovinných frakcí pomocí SDS-PAGE a vyhodnocení získaných výsledků.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA PŠENICE

Obiloviny tvoří ekonomicky, agronomicky a spotřebitelsky nejdůležitější skupinu plodin ve struktuře rostlinné výroby. Pěstují se v první řadě pro konzumní, dále také pro krmné účely, průmyslové zpracování a jako osivo. Jejich hlavními výhodami jsou dlouhá údržnost a výhodné chemické složení pro člověka z výživového hlediska [7]. Nejvíce využívanými obilovinami pro výživu lidí v České republice jsou pšenice a žito, vyrábí se z nich hlavně chleba a běžné pečivo, které je denně konzumováno [8]. Pšeničné šroty a otruby představují vysoce koncentrované krmivo, vhodné pro všechny druhy hospodářských zvířat [9]. V zabezpečení bílkovin jsou obiloviny na druhém místě za masem, na výživě člověka se podílí až 30 %. Jejich velkou výhodou oproti živočišným zdrojům bílkovin je to, že obsahují zanedbatelné množství tuku [9][10].

1.1 Historie pěstování pšenice

Pšenici lze považovat za nejstarší obilninu, která se rozšířila z oblasti přední a malé Asie na většinu severní i jižní polokoule. Počátky pěstování pšenice jsou spojeny se vznikem zemědělství. Nejstarší nálezy jsou z období 8000-7500 před n. l. a vztahují se k pěstování pšenice jednozrnky (*Triticum monococcum*) a dvouzrnky (*Triticum dicoccum Shrank*) [11]. V 6. století před n. l. se začala pěstovat pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) a pšenice špalda (*Triticum spelta* L.) [9].

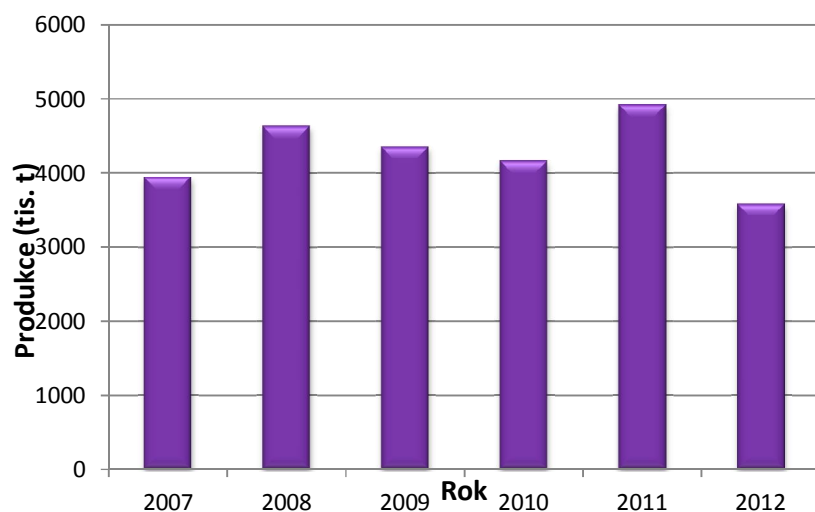
1.2 Produkce pšenice

Pšenice je dominantní obilovinou v řadě zemí světa včetně ČR. Podíl pšenice na produkci všech obilovin má dlouhodobě vzrůstající tendenci. Vzhledem ke značnému počtu odrůd a jejich adaptabilitě se může pšenice pěstovat téměř po celém světě [9].

Největšími tradičními světovými producenty pšenice jsou Spojené státy americké (USA), Rusko a Čína. Extenzivně se pěstuje také v Indii, Kanadě, Evropské unii (EU), Pákistánu, Austrálii a Argentině [12]. Hlavními exportéry jsou USA, Kanada, Francie, Austrálie a Argentina. Naopak mezi importní státy patří především Brazílie, Itálie, Írán, Japonsko, Alžírsko a Egypt [4].

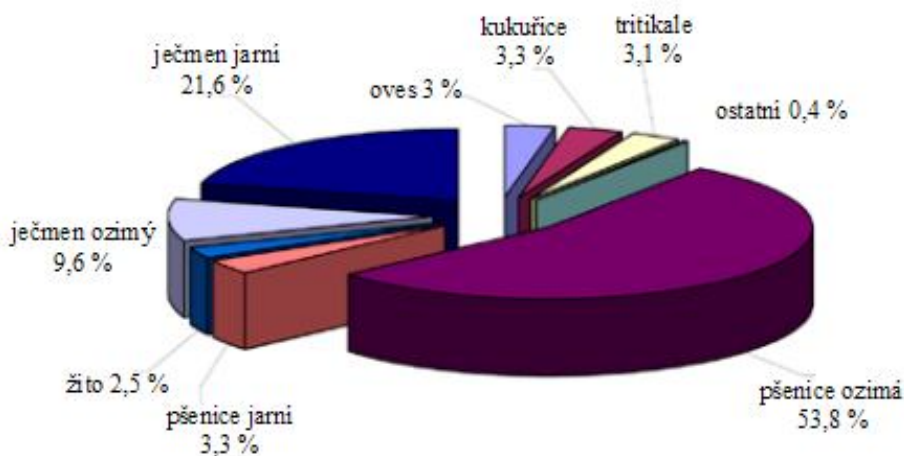
Pšenice představuje více jak 30 % světové produkce cereálií [12]. Také v ČR se pšenice stala dominantní obilovinou. Její produkce od 2. světové války postupně stoupala a přibližně od 70. let se produkce ČR stala soběstačnou [4]. Vývoj celkové produkce pšenice v ČR

od roku 2007 znázorňuje obrázek 1. Výrazný pokles v produkci pšenice v roce 2012 je způsoben jednak vlivem nepříznivých povětrnostních podmínek v zimním období (únor 2012), kdy porosty ozimé pšenice ve většině oblastí zničily holomrazy, a dále pak vlivem sucha v jarním období (duben a květen 2012), kdy se formují generativní orgány rostlin, které mají podstatný vliv na výnos [13].



Obrázek 1: Vývoj celkové produkce jarní a ozimé pšenice v ČR od roku 2007 [13]

Podíl pšenice na produkci všech obilovin má dlouhodobě vzrůstající tendenci. Skladbu osávaných obilovin v ČR v roce 2001 znázorňuje obrázek 2. Podíl pšenice jarní i ozimé celkem v tomto roce tvořil 57 %, zatímco například v roce 1993 to bylo 48,5 % [4].



Obrázek 2: Skladba obilovin vysávaných v ČR v roce 2001 [4][12]

V roce 2008 vznikl velký přebytek vypěstované pšenice, což zapříčinilo prudký pokles cen na trhu. V roce 2009 produkce výrazně poklesla, sklídilo se 4358,1 tisíc tun, na poklesu se především podílel jak meziroční pokles průměrného hektarového výnosu, tak i pokles osevních ploch jarní pšenice, ale i tak zůstává pšenice dominantní plodinou, která tvoří 55,6 % nabídky všech obilovin [14].

1.3 Botanická charakteristika pšenice

Rod pšenice (*Triticum* L.) patří botanicky mezi traviny (*Gramineae*) a patří do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*), řádu lipnicotvaré (*Poales*), třídy jednoděložné (*Liliopsida*), oddělení krytosemenné (*Magnoliophyta*), podříše cévnaté rostliny (*Tracheobionta*) a říše rostliny (*Plantane*) [4][14][15]. Je to jednoletá samosprašná rostlina [16]. Rod pšenice zahrnuje několik druhů a velký počet forem a kultivarů. Hlavní jsou 2 druhy: pšenice obyčejná (*Triticum aestivum* L.) a pšenice tvrdá (*Triticum durum* Desf.). Rod pšenice se zpravidla dělí na 3 podrody:

- diploidní pšenice se 14 chromozomy, např. pšenice jednozrnka (*Triticum monococcum* L.), pšenice jednozrnka planá (*Triticum boeoticum* Bois.),
- tetraploidní pšenice s 28 chromozomy, např. pšenice tvrdá (*Triticum durum*), pšenice dvouzrnka (*Triticum dicoccum*), pšenice polská (*Triticum polonicum*),
- hexaploidní pšenice se 42 chromozomy, např. pšenice setá (*Triticum aestivum* L.), pšenice špalda (*Triticum spelta*) [14].

Charakteristika významných druhů pšenice:

a) diploidní druhy

- Jednozrnka planá (*Triticum boeoticum* Bois.) má klas úzký, plochý, rozpadavý, klásky jsou dvoukvěté, spodní je plodný.
- Jednozrnka kulturní (*Triticum monococcum* L.) vznikla mutací z plané jednozrnky, klas má úzký, rozpadavý, klásky jsou dvoukvěté, obvykle dozrává jedna obilka, je úzká a sklovitá. Převážně se pěstuje jako jarní forma [17].

b) tetraploidní druhy

- Dvouzrnka planá (*Triticum dicoccum* L.) má klas dlouze osinatý, rozpadavý, lámavý, klásky jsou 2- až 3květé, obilky pluchaté, jarní i ozimá forma.

- Dvouzrnka kulturní (*Triticum dicoccum* Schr.) má klas hustý, rozpadavý, klásky jsou dvoukvěté, osinaté, bezosinné, plevy prodloužené. Obilky jsou úzké, pluchaté, většinou jarní forma.
- Timofejevova pšenice (*Triticum timofheevi* Zhuk.) má klas lámavý, klásky dvoukvěté, dozrávají dvě obilky, jarní forma, odolná proti sněti a padlí travnímu.
- Pšenice tvrdá (*Triticum durum* Desf.) má klas nelámavý, dlouze osinatý, plevy dlouhé jako pluchy, výrazně kýlnaté. Obilky sklovité, trojhranné, s vpadlým klíčkem, nechmýřené, ozimé i jarní formy, vyniká zvýšeným obsahem bílkovin.
- Pšenice naduřelá (*Triticum turgidum* L.) má klas nelámavý, mohutný, i větvenatý, osinatý (osina kratší než klas), plevy jsou ochmýřené, naduřelé, kýlnaté. Obilky nahé, buclaté, oblé na průřezu, málo významný druh.
- Pšenice polská (*Triticum polonicum* L.) má klas nelámavý, velmi dlouhý, krátce osinatý, plevy jsou dlouhé jako pluchy. Obilky nahé, velmi dlouhé, formy ozimé i jarní, hospodářsky nevýznamné [17].

c) hexaploidní druhy

- Pšenice špalda (samopše; *Triticum spelta* L.) je kulturní druh, klas má lámavý, dlouhý, velmi řídký, klásky jsou spojeny s články klasového větene. V klásku 4 kvítky, jen dvě obilky dozrají, pevně uzavřeny v pluchách, ozimá i jarní forma.
- Pšenice setá (obecná; *Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol., syn. *Triticum sativum* Lam., *Triticum vulgare* Vill.) má klas nelámavý, osinatý, bezosinný, různě hustý. Plevy a pluchy jsou vejčité, podlouhle vejčité, kýlnaté. Obilky jsou nahé, buclaté, na průřezu oblé, s mírně vystouplým klíčkem, ochmýřené na protější straně. Ozimé i jarní formy, nejvíce pěstovaný druh pšenice.
- Pšenice nahloučená (*Triticum compactum* L.) je blízká pšenici obecné, klas má kompaktní [17].

Každý podrod se dá rozdělit na kulturní nahé pšenice (bezpluchaté), kulturní pluchaté pšenice a planě rostoucí druhy [16]. Dále se dělí dle vegetační doby na ozimé a jarní [11].

Komerčně nejdůležitější je *Triticum aestivum* (pšenice setá) subspecies *vulgare* a tvrdá pšenice *Triticum durum*, která se používá téměř výhradně pro výrobu těstovin [12].

1.3.1 Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.)

Na obrázku 3 je znázorněna pšenice setá (obecná), která patří mezi kulturní pluchaté (nejrozšířenější hexaploidní pšenice pěstovaná pro potravinářské účely je bezpluchá) hexaploidní pšenice [12] s třemi různými, ale příbuznými genomy A, B a D. Každý genom obsahuje sedm párů ($n = 7$) chromozomů. Příbuzné (homeologní) chromozomy vytváří skupiny. Pšenice obecná má těchto skupin celkem sedm a značí se číslicemi 1-7. Každá homeologní skupina je tvořena jedním párem chromozomů genomu A, jedním párem chromozomů genomu B a jedním párem chromozomů genomu D [18]. Značení chromozomů pšenice seté je uvedeno v tabulce 1.

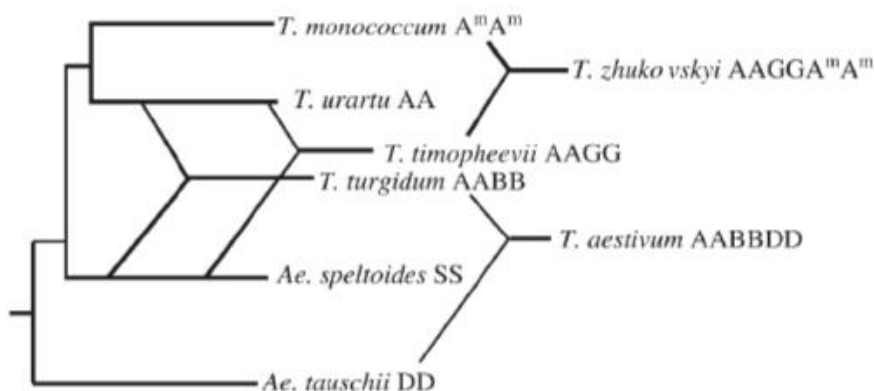
Tabulka 1: Značení chromozomů pšenice *Triticum aestivum* L. [18]

Homeologní skupina	A-genom	B-genom	D-genom
1	1A	1B	1D
2	2A	2B	2D
3	3A	3B	3D
4	4A	4B	4D
5	5A	5B	5D
6	6A	6B	6D
7	7A	7B	7D



Obrázek 3: Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) [9]

Příbuznost genomů je dána evolucí, během které se výchozí společný diploidní druh *Aegilops* rozpadl do několika větví. Zároveň docházelo ke vzájemnému křížení některých vzniklých druhů [18][19][20]. Schéma na obrázku 4 zobrazuje evoluci pšenice seté a příbuzenské vztahy mezi druhy *Triticum* a *Aegilops*.



Obrázek 4: Schéma evoluce pšenice seté [20]

Vnesení genomu D do hexaploidní pšenice zlepšilo její pečárenské vlastnosti. Jedinečnost pšeničného genomu D jej předurčuje k tomu, aby byl využíván jako donor unikátních pečárenských vlastností. Přenesení vybraných vlastností podmíněných přítomností alel pšeničného genomu D do obilovin umožňuje cíleně zlepšit pečárenskou kvalitu zrna nově vytvořených amfiploidních druhů [21][22].

Vznik pšenice obecné se datuje asi 5800 let před n. l. Pšenice setá má nelámavý klas, bezosinatý i osinatý, různě hustý. Plevy a pluchy jsou vejčité nebo podlouhle vejčité se zřetelným kýlem, obilky nahé, buclaté, na průřezu oblé, s mírně vystouplým klíčkem, na protější straně ochmýřené. Z botanického hlediska se člení druh *Triticum aestivum* na 11 ekologických skupin, z nichž jsou nejvýznamnější čtyři variety, které se člení podle barvy (bílá a červená) a osinatosti klasů (osinatý a bezosinný) [12].

Pšenice setá má ozimou i jarní formu. V ČR se více pěstuje forma ozimá (cca 94 % ploch) [12]. Pšenice ozimá má vyšší nároky na půdu. Vyžaduje půdy strukturní, hrubší hlinité a jílovitohlinité s neutrální až slabě kyselou půdní reakcí, dobře zásobené živinami. Nevhodné jsou půdy písčité, kyselé a trvale zamokřené. Ozimá pšenice se seje na podzim a při dostatku vláhy a teplotě kolem 15 °C vzchází za 7-9 dní. Po vzejití poměrně rychle roste až do poklesu teploty na 4-5 °C, kdy se růst zastavuje. Postupným přechodem do zimy získává aktuální mrazuvzdornost -18 až -25 °C. Květy a plody tvoří po přezimování na jaře a v létě dalšího roku. Ze všech obilnin je nejnáročnější na předplodinu. Nejlep-

šími předplodinami jsou luskoviny, jeteloviny, okopaniny, olejninu a zeleniny. Pěstování po obilnině je nevýhodné, protože obiloviny způsobují zhoršení půdních vlastností. Zvyšuje se také riziko zaplevelení a napadení porostu chorobami a škůdci. Výnos zrna výrazně ovlivňuje hnojení dusíkem. Rozmezí celkové dávky dusíku se pohybuje od 80 do 120 kg.ha⁻¹. Dobře se uplatňuje také hnojení organickými hnojivy, zejména slámou a zelené hnojení [11].

V ekologickém zemědělství zaujímá významné místo také jarní forma pšenice z důvodu poškození divokou zvěří, zaplevelení a deficitu dusíku. Nejvyšší pšenice se pěstuje v kukuřičné výrobní oblasti, naopak v bramborářské výrobní oblasti je kvalita nejhorší. Optimální teplota pro pěstování je 25-30 °C (nejnižší 0-5 °C). Je doplňkovým druhem k pšenici ozimé. Pšenice jarní se seje obvykle v březnu [11].

Pšenice setá je v českém zemědělství dominantní plodinou, zaujímá cca 30 % orné půdy. Pro potravinářské účely se využívá pouze 40 % vypěstované pšenice a z toho je 5 % využito pro jiné účely např. k výrobě biolíhu. Nejčastěji je v potravinářství využívána na výrobu pečiva, chleba, krup a v cukrářství [23].

1.3.2 Pšenice tvrdá (*Triticum durum* Desf.)

Pšenice tvrdá (obrázek 5) pochází z oblasti Středozemního moře. Pěstovala se před více než třemi tisíci lety ve starém Egyptě a Řecku a dodnes se ve Středomoří pěstuje. Mimo to je rozšířena na Blízkém východě, Ukrajině, v Rusku, Kanadě, USA a Argentině. V Evropě se kromě Středomoří pěstuje v teplejších oblastech Německa, Rakouska, Maďarska i Slovenska. V ČR se pšenice tvrdá pěstovala v omezené míře (asi 400 ha) na jižní Moravě. Pšenice tvrdá je druhým nejrozšířenějším druhem rodu *Triticum*. Světové plochy pěstování činí přes 20 milionů ha, tj. necelých 9 % z celkové výměry pšenice. Roční spotřeba pšenice tvrdé v ČR (30-35 tisíc tun) je kryta převážně dovozem. Obsah bílkovin se pohybuje mezi 14 až 16 % dle odrůdy a ročníku. Pšenice tvrdá obsahuje více než 32 % lepku. Lepek je tužší a pružný. Endosperm je tvrdý, barvy světle jantarové. Zrna jsou oproti pšenici seté větší. Vykazuje vyšší objemovou hmotnost a hmotnost tisíce zrn. Hrubá mouka z pšenice tvrdé se nazývá semolina. Těsto ze semoliny má být kompaktní, pružné, netrhavé, nelepivé a dostatečně plastické. Pšenice tvrdá se používá pro výrobu těstovin, nekynutého pečiva (sušenky, oplatky) a dalších výrobků jako například bulgur, kuskus, pufované cereálie, dezerty či různé druhy speciálních chlebů [17][24].

Pšenice tvrdá patří mezi tetraploidní pšenice s 28 chromozomy a vznikla z kulturní pšenice dvouzrnky. Je převážně jarního charakteru. Ozimé formy jsou málo zimovzdorné a mrazuvzdorné. V Itálii se pěstují přesívky (výsev v listopadu). Pšenice tvrdá je nahozrná. Plevy jsou široce křídlaté, pluchy dlouze osinaté, někdy bezosinné. Barva plev je žlutá, méně často hnědá nebo černá. Obilky jsou barvy žluté, sklovité, s vysokým obsahem lepku [24].

a)



b)



Obrázek 5: Pšenice tvrdá (*T. durum*) a) [24], pšenice špalda (*T. spelta*) b) [25]

Podobně jako pšenice setá je i pšenice tvrdá náročná na půdu. Nejvhodnější pro její pěstování jsou hluboké, středně těžké, hlinité půdy s dostatečnou zásobou živin a vláh, především na počátku vegetace. Má i vyšší nároky na teplo, proto se jí nejlépe daří v oblastech s dlouhým, teplým a poměrně suchým létem. Pšenice tvrdá je málo odolná proti vymrzání. Výnosy pšenice tvrdé dosahují 85 % výnosů pšenice seté [24].

1.3.3 Pšenice špalda (*Triticum spelta* L.)

Pšenice špalda (obrázek 5) vznikla křížením mnohoštětu Tauschova s pšenicí dvouzrnkou. Je kulturní pluchatou pšenicí, má 42 chromozomů jako pšenice setá (*Triticum aestivum* L.), která z pšenice špaldy vznikla mutací [25].

Pšenice špalda (*Triticum spelta* L.) patří mezi starověké odrůdy pšenice pěstované na území Evropy. V oblastech Germánie byla hojně pěstovaná až do začátku 20. století. Její ořechová chuť byla dlouhá staletí populární především v Itálii (farro), v jižním Německu (dinkel), Španělsku, Belgii, Švýcarsku, Anglii, Polsku a Skandinávii. Špalda (staročesky samopše) byla pěstována na území ČR v polovině 18. století. Nejvíce byla pěstována na Litomyšlsku, kde se z ní pražila kávovina. V první polovině dvacátého století postupně z našich polí vymizela. V Československu od roku 1918 do roku 2000 nebylo povoleno pěstování žádné odrůdy pšenice špaldy. Nyní jsou k dispozici dvě odrůdy – Rubiota a Franskernkorn [23][25].

V ČR se špalda znovu objevila počátkem devadesátých let v souvislosti se zaváděním ekologického zemědělství. Její plochy se v současnosti pohybují mezi 1100 až 1200 ha. Zájem o pěstování špaldy roste i mezi konvenčními pěstiteli. Z mouky pšenice špaldy se připravují těstoviny, vločky a celá řada druhů pečiva, kávovinová náhražka, pivo, krupice na kaše. Z obilí pražených v mléčné zralosti se vyrábí tzv. zelený kaviár jako přísada do polévek či příloha jídel [25].

Zrno má vyšší obsah bílkovin, tuku, minerálních látek, vitaminů a esenciálních aminokyselin (dále jen AMK) než pšenice obecná. Obsah lepku je vyšší, ale má horší kvalitu. Pšenice špalda má ozimé i jarní formy, přičemž v Evropě převládají ozimé. Špalda patří k pěstitelsky nejméně náročným obilninám. Vyznačuje se odolností vůči nepříznivým klimatickým podmínkám, chorobám a škůdcům. Vzhledem k nenáročnosti na hnojení a ochranu proti škodlivým činitelům je vhodná pro ekologické zemědělství [11].

2 ANATOMICKÁ STAVBA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ PŠENIČNÉHO ZRNA

Pro lidskou výživu se přímo (bez např. chemického zpracování) používá z obilovin výhradně zrna. Společný botanický původ obilovin předurčuje jejich značnou vzájemnou podobnost jak ve struktuře a tvorbě zrna, tak v jeho chemickém složení, např. v uspořádání obalových a podobalových vrstev zrna, nebo v zastoupení jednotlivých AMK v obilné bílkovině nebo mastných kyselin (dále jen MK) v tukových složkách. Vlivem různých klimatických podmínek a během staletí šlechtění a pěstování se však současně vytvořily odlišnosti mezi jednotlivými botanickými rody a druhy obilovin i mezi jednotlivými odrůdami téhož druhu, např. ve složení a obsahu tzv. slizovitých látek, které silně váží vodu, v obsahu tuku nebo v kvalitě bílkovin. Postupem doby se zjistila vhodnost různých obilovin pro různá zpracování, a proto jen některé získaly dominantní postavení ve využití pro pekárenské účely. Možnosti a výsledky šlechtění posledních desetiletí rozčlenily v mnoha případech i odrůdy stejné obiloviny pro určitá speciální použití. Další teoretickou možností ovlivnění specifických zpracovatelských vlastností dávají metody genové manipulace [4].

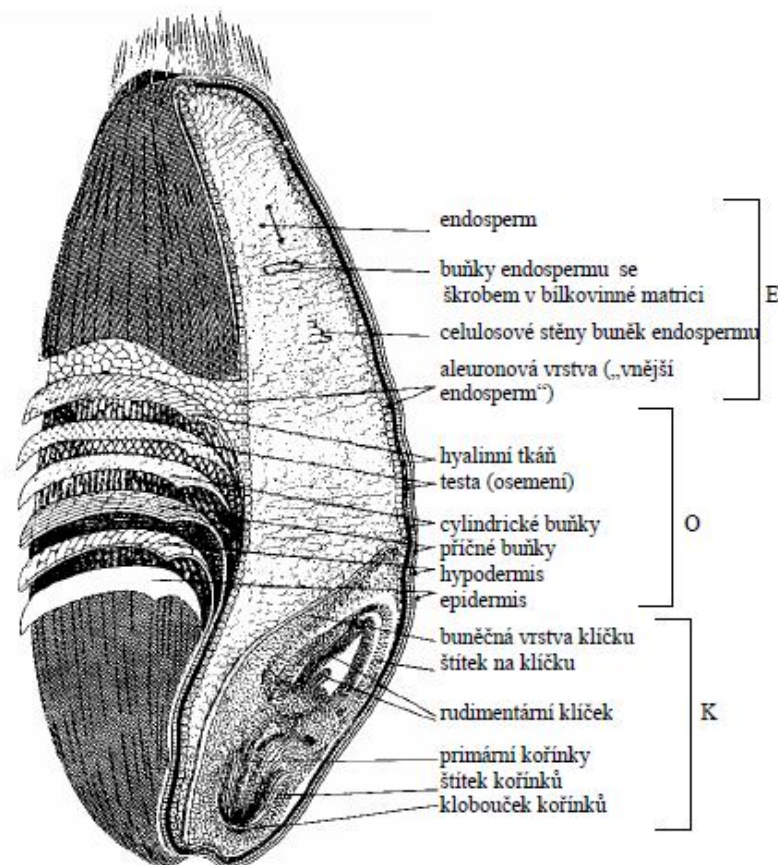
2.1 Morfologie pšeničného zrna

Morfologická skladba zrna všech obilovin je zhruba stejná. Zrna se liší především tvarem, velikostí a podílem jednotlivých vrstev. Tvary zrna jsou od tenkých dlouhých až po téměř kulatá, zastoupení a pořadí jednotlivých vrstev je však shodné. Charakteristické pro jednotlivé obiloviny je to, zda má zrna pluchy nebo je nahé, a tvar zrna. Absolutní rozměry zrna se mohou poněkud lišit i pro stejný druh obiloviny v závislosti na odrůdě, klimatických podmínkách každého roku a lokality (především dešťové srážky, sluneční svit, nadmořská výška, teplotní profil), kvalitě půdy a agrotechnice (především přihnojování a dodržování agrotechnických termínů) [4][8][12].

Každá obilka se skládá ze škrobnatého endospermu, zárodka a obalových vrstev. Hmotnostní podíl jednotlivých částí zrna je rozdílný u jednotlivých obilovin. Rozmezí hmotnostních podílů jednotlivých částí pšeničného zrna je uvedeno v tabulce 2. Jednotlivé složky zrna mají různé mechanické, fyzikálně chemické a strukturní vlastnosti a plní v životě obilky i při následném zpracování zrna své specifické funkce [26][27].

Tabulka 2: Zjištěná maximální rozmezí hmotnostních podílů částí zrna pšenice [4]

Část zrna	Rozmezí podílů (% hm.)
Oplodí a osemení (bez hyalinní vrstvy)	3,5-9,5
Aleuronová a hyalinní vrstva	4,6-10,4
Endosperm	80,1-88,5
Klíček	2,3-3,6



Obrázek 6: Podélný řez pšeničným zrnem (Vrstva přicházející při mletí do otrub označena O, do mouky E a odstraňované s klíčkem K.) [4]

Skladba jednotlivých vrstev zrna je znázorněna na podélném řezu pšeničného zrna na obrázku 6. Nejvrchnější vrstvy (**oplodí**) pokožky mají za úkol chránit zrnko před mechanickým poškozením a krátkodobými účinky vody a škodlivých látek. Jsou proto tvořeny nerozpustnými a obtížně bobtnajícími materiály, především celulózu. Podpovrchové vrstvy (**osemení**) nesou v buňkách barviva a určují tak vnější barevný vzhled zrna. Dále některé další vrstvy obsahují polysacharidické látky, schopné do různé míry bobtnání

a vázání vody, čímž do jisté míry přispívají k udržování rovnováhy vlhkosti zrna. Všechny tyto vrstvy tvoří pevnou houževnatou vrstvu, která při mletí zrna přichází do otrub (na obrázku 6 označeno O) [4]. Oplodí (*pericarp*) tvoří pokožka (*epidermis*), buňky podélné (*epicarp*), buňky příčné (*mesocarp*) a buňky hadicové (*endocarp*). Osemení (*perisperm*) je tvořeno vrstvou barevnou a hyalinní (skelnou) [8].

Na rozhraní mezi obalovými vrstvami a endospermem je měkčí jednoduchá vrstva velkých buněk nazývaná **aleuronová vrstva**. Buňky aleuronové vrstvy obsahují vysoký podíl bílkovin (cca 30 %), což je téměř trojnásobek obsahu v endospermu. Tyto buňky mají také nejvyšší obsah minerálních látek ze všech buněk zrna, proto se při vymílání aleuronové vrstvy výrazně zvyšuje obsah minerálních látek (popela) v mouce a mírně se také zvýší obsah bílkovin, které však nedosahují tak velkých a strukturně uspořádaných makromolekul jako v endospermu. Z aleuronové vrstvy se také uvolňují hydrolytické enzymy, které rozkládají škrob v buňkách endospermu. Aleuronová vrstva může být vymleta společně s endospermem do mouky nebo část vrstvy zůstává ulpělá na otrubách. Vzhledem k blízkosti endospermu a snadné vymílatelnosti aleuronové vrstvy se také někdy označuje jako vnější endosperm [4][28].

Endosperm je tvořen velkými hranolovitými buňkami a obsahuje především škrob (téměř 75 % obsahu) a bílkoviny (přibližně 10 % obsahu). Zajišťuje výživu zárodka a při zpracování tvoří podstatnou složku finálního výrobku (mouky, škroby) a při výživě a krmení je hlavním zdrojem energie a bílkovin. Na obrázku 6 je endosperm označen E [1][29].

Klíček (na obrázku 6 označen K) tvoří nejmenší část obilky, např. u obilky pšenice je to pouze kolem 3 % hmotnosti. Klíček je oddělen od endospermu štítkem, který obsahuje až 33 % bílkovin. Obsahuje mnoho živin, protože slouží jako zárodek pro nové rostliny (zárodek rostlinných pletiv a obilky), které musí být pohotově k dispozici v době příznivých podmínek pro vyklíčení. Mimo jednoduchých cukrů obsahuje klíček bílkoviny, AMK, vitaminy rozpustné ve vodě (hlavně thiamin – B1) a značné množství vitamínu E. V klíčku je obsažen rovněž tuk [1]. Před mlýnským zpracováním zrna je vždy předem odstraňován celý blok klíčku, který velmi rychle podléhá oxidačním a enzymovým změnám a podstatně by zhoršoval senzoryckou kvalitu výrobku. Pokud má být klíček zpracován pro další potravinářské použití, musí být inhibovány jeho enzymy během několika hodin, jinak se už projeví příznaky chuťových a pachových změn [4].

2.2 Chemické složení pšeničného zrna

Zastoupení hlavních chemických složek v jednotlivých částech zrna je velmi rozdílné [4]. Základními stavebními složkami pšeničného zrna jsou: sacharidy, bílkoviny, voda, lipidy, minerální látky, vitaminy, barviva a složky, které mají růstové regulační a genetické funkce [1]. Chemické složení zrna je závislé na vnitřních a zejména vnějších faktorech, jako jsou odrůda, půdní a klimakterické podmínky, hnojení, agrotechnika aj. [30].

Podmínky pěstování, zejména průběh počasí během vegetační doby, hrají velmi významnou roli při tvorbě technologické kvality v podmínkách nestabilního klimatu ČR [31].

Teplota ovlivňuje růst a vývoj rostlin pšenice, stejně jako kvalitu zrna. Některé zprávy uvádějí, že i krátkodobý „tepelný šok“ (35-40 °C) může mít na pšenici negativní vliv, zvláště na kvalitu zrna [32].

Vedle teploty je velmi důležité i světlo. Účinek světla se na pšeničné rostlině projevuje ihned na počátku růstu. Dobré sluneční osvětlení působí příznivě v období odnožování pšenice na tvorbu krátkých a silných dolních internodií, tvorbu produktivních odnoží a živě zelené zbarvení listů. Sluneční světlo spolu s teplem pomáhá zvyšovat intenzitu fotosyntézy a formování rostlinného orgánu, zejména tvorbou zrn a hromaděním cukrů, bílkovin a jiných látek v něm obsažených [33].

K řádnému vývoji pšenice vyžaduje půdy bohaté živinami a dostatečně teplé podnebí [34].

Pšenice je také náročná na vodu. Podle vědeckovýzkumných poznatků by množství půdní vody pro ozimou pšenici ve fázi metání v hloubce 0,60 m nemělo klesnout pod 70-75 % polní vodní kapacity. Nahromadění a uchování vody závisí na předplodině, kvalitě přípravy půdy, zásobení půdy organickou hmotou a na jiných podmínkách [34].

Obecně platí, že povětrnostní podmínky, jako je teplota, intenzita slunečního svitu nebo dešťové srážky mohou v průběhu nalévání zrna výrazně ovlivnit obsah bílkovin, složení pšeničného zrna a další [35].

2.2.1 Sacharidy pšeničného zrna

V pšeničném zrně lze nalézt pestrou škálu sacharidů od jednoduchých cukrů až po vysokomolekulární polysacharidy. Některé z nich jsou ovšem obsaženy v mikromnožství, zatímco jiné představují desítky procent z obsahu zrna [4][36]. Obsahy sacharidů v jednotlivých odrůdách se mohou významně lišit a jsou ovlivňovány lokálními klimatickými a půd-

ními podmínkami [8]. V tabulce 3 jsou uvedeny obsahy hlavních skupin sacharidů v pšenici.

Tabulka 3: Obsahy hlavních skupin sacharidů v sušině pšenice [4]

Typ sacharidů	Zrno	Mouka	Otruby
Volné cukry (%)	2,1-2,6	1,2-2,1	7,6
Škrob (%)	53	65-74	14,1
Amylóza ze škrobu (%)	17-27	16-19	3,5
Celulóza (%)	1,6	0,3	35
Hemicelulózy (%)	0,64	2,4	43
Pentózy (%)	1,4-2,4	1,1-1,6	21,6-26,5
β -glukany (%)	0,34-1,4	0,7	-
Vláknina potravy (%)	9,9-12,1	2,3-5,6	42,6
Rozpustná vláknina (%)	2,1	1,7	-

Monosacharidy jsou aldehydové nebo ketonové deriváty polyhydroxyalkoholů s nevětveným řetězcem [37] a jsou základními stavebními jednotkami oligosacharidů a polysacharidů. Volné se vyskytují ve zralých obilných zrnech pouze v nepatrném množství a to především v klíčku. Do mouky se jich dostává jen velmi málo (maximálně 1 až 3 % na mouku) [4]. Nejdůležitější monosacharidy představují především pentózy: arabinóza, xylóza, ribóza, které jsou základními stavebními částicemi pentózanů, důležitých složek podpůrných pletiv. Dále je to glukóza, fruktóza a galaktóza [26].

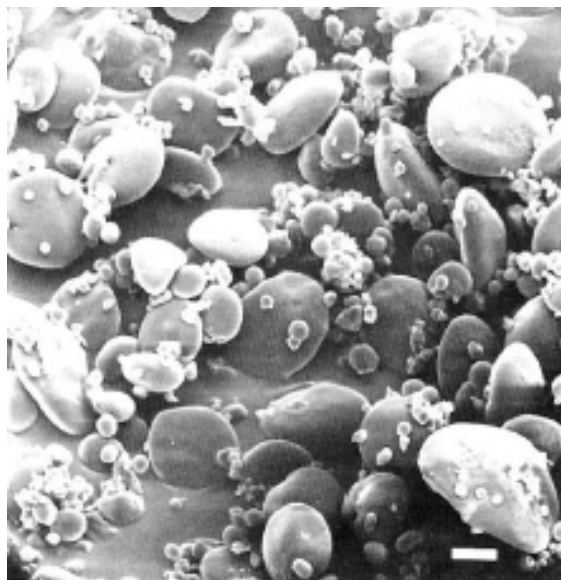
Oligosacharidy jsou cukry, které obsahují 2 až 10 monosacharidů navzájem spojených glykosidovou vazbou [37]. Ve zralém neporušeném a suchém zrne se vyskytují ve velmi nízkých koncentracích. Pouze klíček obsahuje vyšší množství sacharózy. Maltóza vzniká jako předposlední produkt hydrolyzy škrobu (před glukózou) a u narušeného škrobu se vyskytuje ve větším podílu. Vedle maltózy mohou jako výsledek velkého narušení škrobu být přítomny nízkomolekulární dextriny, které se podle své velikosti svými fyzikálními vlastnostmi více nebo méně blíží maltóze [4][36].

Z technologického hlediska jsou vedle bílkovin nejvýznamnější skupinou biopolymerů obilovin **polysacharidy**. Jedná se o vysokomolekulární látky složené z více než 10 monosacharidových jednotek, zpravidla však z několika set až milionů stavebních jednotek [37]. Makromolekuly polysacharidů v obilovinách jsou často tvořeny pouze jedním typem, méně často dvěma typy monosacharidů. Polysacharidy obilovin mají dvě základní funkce – funkci zásobní a stavební. Zásobní polysacharidy, jejichž hlavním představitelem je v rostlinách škrob, jsou pro obiloviny zdrojem či rezervoárem energie. Stavební (strukturální) polysacharidy jsou základem buněčných stěn rostlin a tudíž vlastně nosným skeletem rostlinných pletiv. Jejich představiteli jsou např. celulóza, hemicelulózy, pentózany, lignin aj. [4][36].

Polysacharidy obilných zrn se dělí zpravidla na škrob a skupinu neškrobových polysacharidů. **Škrob** je obsažen v zrně obilovin v parenchymatických buňkách endospermu. Jeho obsah tvoří přibližně 60 až 75 % sušiny obilky. Škrob se v obilovinách a rostlinách obecně vyskytuje ve formě škrobových zrn, která se u jednotlivých druhů liší tvarem a velikostí [4][36]. Pšeničný škrob se vyskytuje ve dvou charakteristických velikostních frakcích: velké granule (typ A) mají tvar čočky s průměrem 20-30 μm , naopak malé granule (typ B) jsou sférické částice a mají průměr 2-8 μm [5][38][39][40]. Tyto granule se liší chemickým složením, ultrastrukturou amylopektinu, způsobem jeho uložení ve škrobovém zrně a dalšími vlastnostmi [40]. Na obrázku 7 je snímek granulačního rozložení pšeničného škrobu z elektronového mikroskopu.

Pšeničný škrob má větší podíl menších zrn než je tomu u tritikale nebo ječmene. Rozměr zrn pšeničného B-škrobu závisí na tvrdosti pšeničného zrna [40]. Tyto zrna mají vliv na zhoršenou kvalitu lepku v pšeničných těstech, snižují výtěžnost škrobu a obsahují větší množství dusíkatých látek než velká škrobová zrna [41].

Obě frakce jsou z hlediska chemického složení tvořeny stejně. Jejich základními stavebními jednotkami jsou molekuly glukózy, které jsou však v případě amylozy spojeny α -1,4 glykosidickou vazbou, zatímco v molekulách amylopektinu se častěji vyskytují i vazby α -1,6 glykosidické (průměrně po 20 až 25 jednotkách), výjimečně se mohou objevovat i vazby α -1,3 glykosidické [4][36]. Škrob je polymerem disacharidu maltózy a isomaltózy [38].



Obrázek 7: Elektronový mikrosnímek granulí pšeničného škrobu [4]

Amylóza představuje u našich tradičních obilovin cca 25 % celkového obsahu škrobu. Molekula amylozy je díky převládajícím vazbám α -1,4 ve vodě a neutrálních roztocích náhodně svinutá, místy s helikální levotočivou strukturou. Helixy jsou dále v prostoru uspořádány lineárně. Jednotlivé závitky šroubovice jsou udržovány vodíkovými vazbami. Amylóza je směsí polymerů s různým stupněm polymerace, u obilovin zpravidla obsahuje 1000 až 2000 glukózových jednotek. Molekulová hmotnost amylozy se řádově pohybuje kolem 10^6 Da. Amylóza je částečně esterifikována kyselinou fosforečnou (pšeničný škrob obsahuje cca 0,055 % fosforu) a tvoří komplexy s lipidy [4][38][39][42][43].

Amylopektin představuje u našich tradičních obilovin cca 75 % celkového obsahu škrobu. Ve vodě pouze bobtná a na rozdíl od amylozy není schopen vytvořit roztok. Polymerační stupeň amylopektinu je vyšší než u amylozy, a to 50 000-1 000 000. Molekulová hmotnost amylopektinu je v rozmezí cca 10^7 až 10^8 Da [4][38][43].

Z fyzikálních vlastností škrobu jsou nejvýznamnější schopnosti bobtnání, mazovatění a retrogradace. Škrobová zrna jsou ve vodě nerozpustná. Ve studené vodě mírně bobtnají, dochází k přijímání vody a postupně začínají měnit svou strukturu, bobtnání se zintenzivňuje se zvyšující se teplotou. Po dosažení teploty 60 °C dochází k rozrušování mezimolekulárních vodíkových můstků, dojde k mnohonásobnému zvětšení objemu zrn, amylóza difunduje do roztoku, se zvyšující se teplotou pokračuje hydratace, zrna ztrácejí integritu (praskají), jejich obsah se uvolní do vnějšího prostředí a vznikne silně viskózní gel tzv. škrobový maz [44]. Škrobový maz je trojrozměrná spojitá síť obsahující velké množ-

ství vody. Po ochlazení dochází k retrogradaci (rekrytalizaci) škrobu, u amylozy probíhá v celém obsahu hned po ochlazení na pokojovou teplotu, u amylopektinu trvá déle, je primární příčinou stárnutí pečiva. Během doby stárnutí se molekuly amylopektinu vracejí do původního pevného stavu krystalických granulí a uvolňuje se voda [45].

Celulóza je lineární polymer obsahující až 15 000 glukózových zbytků spojených β -1,4 glykosidickými vazbami [37]. Celulóza je převážně obsažena v obalových vrstvách. V celozrnných moukách, resp. pekařských výrobcích, vykazuje celulóza příznivé účinky na fyziologii trávení a její konzumace zlepšuje nepříliš dobrou bilanci spotřeby vlákniny populace. Význam nestravitelných, tzv. balastních látek v poslední době neustále vzrůstá. Kromě pentózanů a β -glukanů obsažených v cereáliích se k těmto látkám řadí rovněž pektiny [12].

V případě **rostlinných slizů** se jedná většinou o různě zesíťované makromolekuly polysacharidů na bázi pentóz (xylózy a arabinózy, čistých pentózanů nebo glykoproteinů). Slizy se mohou vyskytovat ve formě nerozpustné, které jsou součástí buněčných stěn, buněčného obsahu a zúčastňují se metabolismu nebo ve formě nerozpustné řadící se k hemicelulózám [46].

V případě **hemicelulóz** se jedná o strukturní necelulózové polysacharidy buněčných stěn rostlin, které v přírodě doprovázejí celulózu [37]. Jsou uloženy převážně v podobalových vrstvách a tvoří nestravitelnou vlákninu potravy. Jejich hlavní složkou jsou pentózany heterogenního složení, s převahou arabinózy a xylózy. Rozpustná část hemicelulóz má značnou aktivitu vázání vody a je schopna tvořit vysoce viskózní roztoky. Pentózany hrají významnou roli při tvorbě žitného těsta [12].

2.2.2 Enzymy

Enzymy jsou makromolekulární organické sloučeniny, které mají převážně charakter složitých bílkovin. Jsou to přirozené biokatalyzátory v průběhu růstu a technologického zpracování regulují výměnu látek [1].

2.2.3 Lipidy pšeničného zrna

Zrna pšenice obsahují 1,5 až 3 % lipidů. Vyšší výskyt tuků je patrný v klíčcích (přibližně 64 % hmotnosti klíčku) a aleuronové vrstvě. Tuk z obilních klíčků je z výživového hlediska velmi cenný, proto se z některých z nich lisují oleje. Naproti tomu v endospermu je obsah lipidů nízký a to přibližně 3,3 % hmotnosti endospermu [4]. Klíčky jsou před mletím

odstraňovány a vyrobená mouka musí být vhodně skladována, jinak by mohlo dojít k hydrolyze fosfatidů za uvolnění kyseliny fosforečné a MK a tím ke zvyšování kyselosti mouky, tento proces se nazývá mineralizace fosforu [23]. Z chemického hlediska tvoří lipidy obilovin pestrou skupinu látek, mezi které patří tzv. neutrální lipidy, neboli tuky a oleje, polární lipidy zastoupené především fosfolipidy (lecitin), dále pak steroidy, vosky, lipofilní pigmenty a některé vitaminy, zvláště vitamin E. Z MK převládá kyselina linolová (u pšenice 58 % hm.) [4]. Tuky obilovin obsahují nasycené MK v obsahu cca 18-25 % hm. [46]. Významný je i podíl dalších nenasyčených MK (kyselina olejová 16 až 18 % hm., kyselina linolenová 5 % hm.), jichž je celkem většinou více než 75 % ze všech MK. Tím je předurčena vysoká výživová hodnota obilných lipidů, ale také nestabilita MK po hydrolyze tuků lipázami při delším skladování mouk. Hydrolytické žluknutí má za následek zvýšení kyselosti mouky a nežádoucí zhoršení sensorických vlastností. Z dalších lipidů je třeba zmínit i lipofilní pigmenty. V obilovinách se vyskytují zejména karotenoidy, žlutá a oranžová barviva. Jejich představitelem je lutein. Vyšší obsah těchto látek vykazuje zejména pšenice *Triticum durum*, z níž se připravuje semolina (krupice pro výrobu italských těstovin) [1][4][47].

V pekárenství jsou velmi důležité lipidy, protože nenasyčené MK ovlivňují přeměny sulfhydrylových a disulfidických skupin bílkovin a tím i reologické vlastnosti těsta. Část lipidů se váže na molekuly škrobu, bílkovin a kovových iontů a uplatňují se v biochemických procesech v průběhu kynutí a pečení [23].

2.2.4 Vitaminy, minerální látky a minoritní složky pšeničného zrna

V pšeničném zrně se vyskytují vitaminy důležité pro výživu člověka i hospodářských zvířat [48]. Endosperm obilovin však obsahuje **vitaminy** v minoritním množství. Vitaminy se vyskytují zejména v obalových vrstvách a klíčku. Obiloviny je možno považovat za zdroj vitaminů skupiny B. Thiamin (B₁) a riboflavin (B₂) se vyskytují v obalových vrstvách většiny obilovin a v klíčcích. Kyselina nikotinová a nikotinamid, další z vitaminů skupiny B, jsou ve vyšších množstvích přítomny v pšenici a ječmeni. Vitamin E (tokoferol) se ve vysoké koncentraci vyskytuje v pšeničných klíčcích, z nichž se dokonce izoluje při výrobě vitaminových preparátů ve farmaceutickém průmyslu [4][26][49]. Pšenice u nás pokrývá z výživového hlediska potřebu thiaminu z 30 %, riboflavinu z 15 % a niacinu z 25 % [48]. V menším množství je přítomen také β-karoten [11].

Minerální látky nazýváme sohrnně jako tzv. popel, tzn. anorganický zbytek po spálení rostlinného materiálu. Obsah popele se v celých zrnech pšenice pohybuje v rozmezí 1,25 až 3 % (nejčastěji v rozsahu 1,7-2 %) v závislosti na odrůdě, půdě a podmínkách v průběhu vegetace, přičemž jeho koncentrace je nejvyšší v obalových vrstvách a nejnižší v endospermu. Popel obilovin je tvořen převážně oxidem fosforečným, nejhojnějšími kovy jsou hořčík, vápník a železo. V popelu se často objevují i minerální kontaminanty, zejména těžké kovy. Obsah popela v mouce vzrůstá se stupněm vymletí [4].

Obiloviny obsahují některé další složky v minoritním množství. Tři z těchto složek mohou být významné. **Kyselina fytoová** (přítomná spíše ve formě solí fytoátů v obalových vrstvách) má schopnost vázat na jednu svou molekulu 6 atomů vápníku, hořčíku či dvojmocného železa. Tyto sloučeniny nejsou v lidském organizmu rozložitelné, a tudíž takto vázané kovy nejsou už využitelné. **Cholin** má velký význam pro nervomotorickou činnost našeho organismu. Jeho výhodným zdrojem je i nízkovymletá mouka, neboť je v obilném zrně rozložen dosti rovnoměrně. **Kyselina p-aminobenzoová** je významným růstovým faktorem a je obsažena nejvíce v obalových vrstvách zrna [4][26].

Dalšími základními složkami pšenice jsou aminokyseliny a bílkoviny, o kterých je pojednáno v samostatné kapitole 3.

3 PŠENIČNÉ AMINOKYSELINY A BÍLKOVINY

Proteiny neboli bílkoviny jsou biopolymery, které vznikají procesem proteosyntézy a jejichž molekuly dosahují někdy ohromných rozměrů. Relativní molekulová hmotnost těchto látek dosahuje hodnot řádově stovek tisíc až milionů. Molekuly proteinů jsou tvořeny vždy různě dlouhými řetězci AMK spojených vzájemně tzv. peptidovou vazbou. Pořadí a počet aminokyselinových zbytků v řetězci jsou pro každý protein specifické, determinované genovou výbavou buněk [4][37][50].

Bílkoviny zastávají při všech životních pochodech důležitou úlohu, jsou zdrojem energie v průběhu skladování a klíčení zrna. Tvoří podstatnou část výrobku a určují jeho technologickou, nutriční, krmnou a biologickou hodnotu [51].

Obsah bílkovin závisí na odrůdě pšenice a podmínkách jejího pěstování (složení půdy, průběh počasí během vegetační doby, použité agrotechnice). Zralá zrna obsahují v průměru 11,5 % bílkovin v sušině [5]. Většina bílkovin je uložena v endospermu a aleuronové vrstvě. Bílkoviny pšenice mají z cereálních největší technologický význam [1][52].

3.1 Aminokyseliny

AMK jsou po chemické stránce substituované karboxylové kyseliny. V potravinách se mohou AMK vyskytovat volné (např. v sojovém hydrolyzátu nebo při delším skladování dochází k proteolýze u sýrů, vína aj.), nejčastěji však vázané v peptidy nebo proteiny. V přírodě bylo dosud identifikováno kolem 700 AMK [37][50].

Z AMK, které se v přírodě vyskytují, pouze 20 tvoří molekuly bílkovin, pro každou takovou existuje příslušná tRNA, která ji odnáší na ribozom, kde se využívá k proteosyntéze [4][50].

Ze základních AMK je:

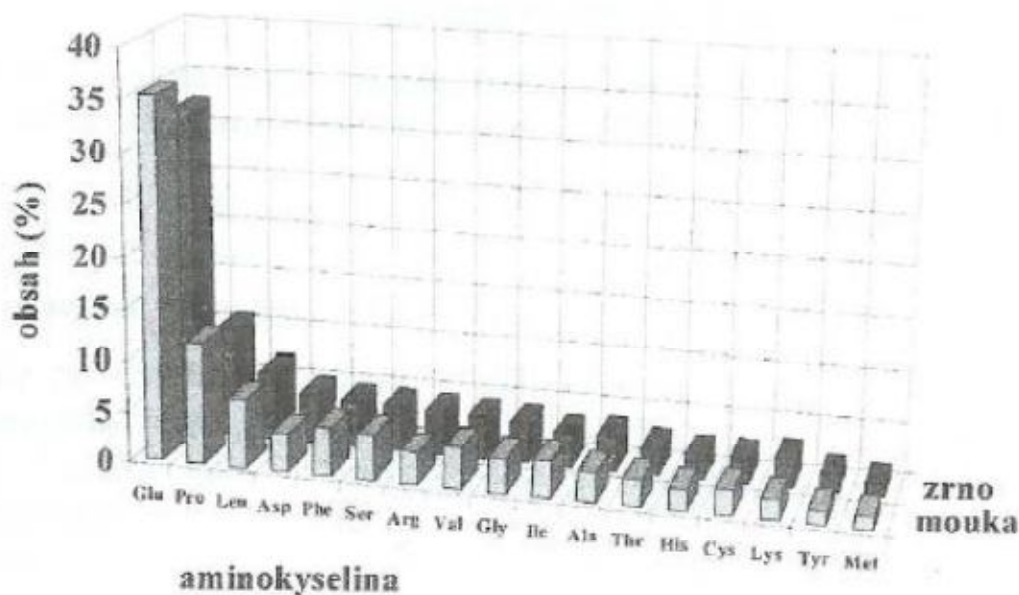
- **8 esenciálních** (valin – Val, leucin – Leu, isoleucin – Ile, threonin – Thr, methionin – Met, lysin – Lys, fenylalanin – Phe a tryptofan – Trp), které si člověk nedokáže syntetizovat a musí je získávat výhradně potravou [37]. V zrnu pšenice se nachází tyto esenciální AMK všechny, ale v malém množství [53]. V případě obilovin je limitující AMK především lysin. Vzhledem k pestrosti stravy člověka však deficit určité AMK nehrozí [54].
- **2 semiesenciální** (arginin – Arg a histidin – His), které organismus neumí vytvořit v době růstu (dětství) nebo při selhání ledvin [50].

- **10 neseenciálních** (glycin – Gly, kyselina glutamová – Glu, glutamin – Gln, serin – Ser, alanin – Ala, cystein – Cys, prolin – Pro, tyrosin – Tyr, kyselina asparagová – Asp a asparagin – Asn), které si člověk umí sám vytvářet z jiných bílkovin [55].

Ostatní AMK se v bílkovinách zásadně nevyskytují. V některých případech nejsou v řetězci bílkoviny zastoupeny jen přímo samotné AMK, ale jejich aminy, které mají místo charakteristické skupiny -COOH skupinu -CONH₂. V obilné bílkovině to jsou aminy odvozené od dikarboxylových kyselin glutamin a asparagin. Zastoupení jednotlivých AMK v pšeničné bílkovině je uvedeno v tabulce 4 a znázorněno na obrázku 8 [4][52].

Tabulka 4: Obsah AMK v bílkovině pšenice [4]

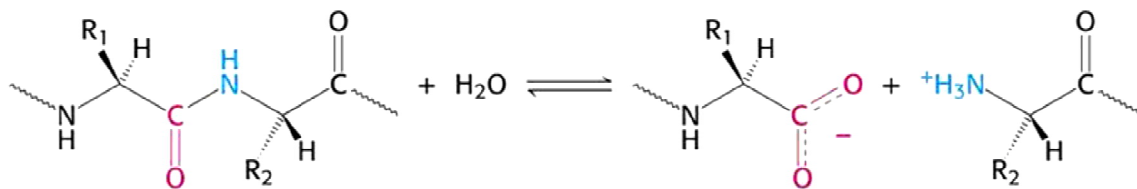
AMK	Glu	Pro	Leu	Asp	Phe	Ser	Arg	Val	Gly
Obsah [%]	34,6	11,5	6,2	3,7	2,9	4,0	2,9	2,6	2,8
AMK	Ala	Thr	His	Cys	Lys	Tyr	Met	Trp	Ile
Obsah [%]	2,0	2,3	2,0	2,3	1,9	1,1	1,6	1,0	3,1



Obrázek 8: Obsah AMK v bílkovině pšeničného zrna a mouky [4]

Kyselina glutamová (převážně ve formě glutaminu) představuje více než 1/3 bílkoviny pšeničného zrna. Ve struktuře vysokomolekulárních částí bílkoviny je to významný faktor, neboť je zdrojem vodíkových vazeb, kterých je proto velký počet, a přestože jsou slabé,

považujeme za hranici mezi peptidy a bílkoviny hodnotu 100. Z hlediska hmotnosti pak volíme hranici 10 000, tj. bílkoviny mají relativní molekulovou hmotnost 10 000 a výše. Jejich molekulové hmotnosti však bývají většinou podstatně vyšší [4][37].



Obrázek 11: Vznik peptidové vazby [50]

3.3 Bílkoviny

Pro bílkoviny je typický především proces jejich vzniku. Jednotlivé proteiny v buňkách zastávají často velmi důležité a přísně specializované funkce, např. strukturální, katalytické, transportní, pohybové, obranné, zásobní, sensorické, regulační a výživové [4][37]. Pro výkon takových funkcí je nutné přesné specifické složení molekuly proteinu a jeho struktura [4]. Funkci stavební zastávají zejména nerozpustné fibrilární bílkoviny. Bílkoviny obilného lepku jsou typickým příkladem zásobních proteinů a část bílkovin se uplatňuje jako enzymy [52].

3.3.1 Struktura bílkovin

Chemickou strukturu proteinů popisuje tzv. kovalentní struktura proteinu, která zahrnuje sekvenci aminokyselinových zbytků a všechny jiná kovalentní spojení a kovalentně připojené další skupiny [37]. Kovalentní strukturu udává primární struktura proteinu, konformaci neboli prostorové uspořádání popisuje sekundární, terciární a u některých proteinů kvartérní struktura [57].

AMK nejsou v řetězcích bílkovin řazeny nahodile. Pořadí jednotlivých AMK v molekulách proteinů je řízeno geneticky, tzn. každá buňka má ve svém buněčném jádře v chromozomech zakódován přesný „předpis“ pro syntézu svých bílkovin. Pro řadu obilovin, zejména pro pšenici a ječmen, jsou dnes už známy geny, které předurčují určité sekvence a struktury bílkovin i ostatních polymerů. Následkem toho jsou také různě odlišné užitné a zpracovatelské vlastnosti zrna [4].

Strukturu proteinů popisujeme na několika úrovních:

1. **Primární struktura** je dána pořadím jednotlivých AMK a jejich počtem v polypeptidovém řetězci [4]. Nemění se ani s denaturací příslušného proteinu [50]. Primární struktura určuje vlastnosti a biologické funkce proteinu [57].

Val-Arg-Val-Pro-Val-Pro-Glu-Leu-Glu-

Obrázek 12: Část primární struktury pšeničné bílkovinné makromolekuly [4]

2. **Sekundární struktura** udává prostorové uspořádání (konformaci) atomů v hlavním polypeptidovém řetězci. Sekundární struktury lze rozdělit do dvou základních typů:
 - a) pravidelné – šroubovice (helixy) ve tvaru pravotočivé spirály nebo tzv. zřasené struktury, které vyváří ve struktuře „destičky“ nebo „polštářky“ a β -struktury [4][52],
 - b) nepravidelné – v pravidelných strukturách, α -helixech a ve sdružených β -strukturách se nacházejí různá ohnutí, stočení nebo jiné deformace tvarů vyvolané nepravidelně vytvořenými vodíkovými můstky nebo sterickými vlivy jiných částí molekuly [37][50].
3. **Terciární struktura** popisuje celkové prostorové uspořádání bílkovinné molekuly i uspořádání postranních řetězců. Její prostorové uspořádání podmiňuje její biochemickou funkci [4].
4. **Kvartérní struktura** udává vzájemné prostorové uspořádání bílkovinných podjednotek, mají ji jen některé bílkoviny. Skládají se z několika globulárních podjednotek (protomerů), samostatných polypeptidových řetězců se svou vlastní charakteristickou terciární strukturou. Nekovalentními vazbami se podjednotky navzájem spojují a vytvářejí kvartérní strukturu oligomerního proteinu [57].

3.3.2 Denaturace bílkovin

Každá molekula proteinu má svou specifickou strukturu, která jí umožňuje vykonávat právě tu funkci, která jí byla předurčena. Tento stav označujeme jako nativní. Pokud dojde k porušení struktury na kterékoliv úrovni, dochází zpravidla ke ztrátě biologické funkce a tento proces se nazývá denaturace. Podle míry porušení nativní struktury je buď denaturace vratná (reverzibilní), nebo nevratná (ireverzibilní). Denaturace může být způsobena buď chemickým zásahem různými denaturačními činidly, nebo fyzikálně. Častým příkla-

dem je tepelná denaturace bílkovin, která nachází uplatnění v potravinářství a kulinářství. K tepelné denaturaci dochází v podstatě při jakékoliv tepelné úpravě poživatin. Bílkoviny jsou pak stravitelnější. Při výrobě pečiva je denaturace bílkovin jedním z hlavních biochemických dějů v pečícím procesu [4]. Po tomto procesu se z pšeničné bílkovinné struktury stává pružná, ale pevná prostorová síť, která tvoří nosnou kostru hotového výrobku. V obilovinách se převážně vyskytují glykoproteiny i lipoproteiny [52].

3.3.3 Klasifikace bílkovin

Obilní bílkoviny se mohou charakterizovat z několika hledisek. Podle **morfologického původu** rozlišujeme bílkoviny endospermu, aleuronové vrstvy a zárodečné, pocházející z klíčku. V endospermu se snižuje obsah bílkovin směrem do středu obilky. Tyto bílkoviny přechází do mouky a jsou hlavními nositeli technologických vlastností. Podle **biologické funkce** v rostlině můžeme rozlišit bílkoviny metabolicky aktivní, tzn. cytosplazmické s funkcemi v buňce (např. enzymy, membránové složky ribozomů apod.) a zásobní, které můžeme rozdělit na nízkomolekulární a vysokomolekulární. Podle **chemického složení** rozlišujeme jednoduché bílkoviny bez jiných sloučenin a komplexní – lipoproteiny, glykoproteiny, nukleoproteiny aj. V roce 1907 publikoval Osborne frakcionaci pšeničných proteinů na základě jejich **rozpustnosti v různých rozpouštědlech**. Bílkoviny tak byly rozděleny do čtyř skupin: albuminy (rozpustné ve vodě), globuliny (rozpustné v roztocích solí), gliadiny (rozpustné v 70% etanolu) a gluteliny (z části rozpustné ve zředěných roztocích kyselin a zásad). Albuminy a globuliny se označují jako bílkoviny rozpustné, zatímco gliadiny a gluteliny jako bílkoviny lepku [4][26]. Dále můžeme bílkoviny klasifikovat dle **výživového hlediska**. Obilní bílkoviny patří k neplnohodnotným bílkovinám, jsou limitovány esenciálními AMK [4]. A v poslední řadě rozlišujeme bílkoviny dle **prostorového uspořádání v nativní molekule** na globulární (jejich molekuly mají kulovitý nebo elipsovité tvar) a fibrilární, které jsou vláknité. Globulární bílkoviny bývají rozpustné ve vodě nebo v roztocích solí, fibrilární bílkoviny bývají naopak nerozpustné [52].

3.4 Bílkoviny pšeničného zrna

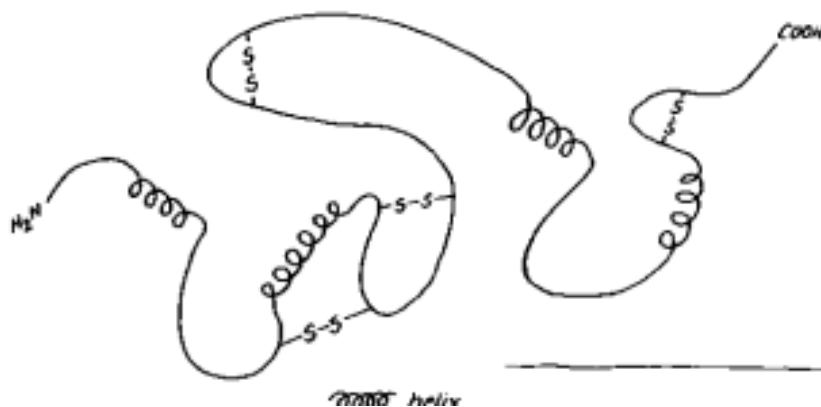
Pšeničný endosperm má statisticky největší podíl bílkovin s největší makromolekulou a nejvyššími molárními hmotnostmi. Struktury pšeničné bílkoviny jsou také zdaleka nejdůkladněji prostudovány [4].

Zásobní bílkoviny obsažené v pšeničném zrně jsou gliadiny a gluteniny, které jsou obsaženy v endospermu v poměru 2:3. Albuminy a globuliny se nacházejí v osemeni, aleuronové vrstvě a klíčku [6]. Mezi albuminy a globuliny patří všechny obilné enzymy a řada dalších bílkovin [52]. Gluteniny a gliadiny jsou v pšenici i jiných obilovinách zastoupeny příbuznými proteiny u každé odrůdy pšenice je jich až několik desítek [38]. Tyto frakce jsou součástí komplexu, který se nazývá lepek, gluteninové frakce vytváří páteř, ke které jsou vázány molekuly gliadinu různě pevnými vazbami [58].

3.5 Gliadiny (prolaminy) pšenice

Jedná se o jednořetězcové makromolekuly, jejichž řetězce jsou spojitě, zčásti tvořené úseky helixů a zčásti tvořené náhodnými ohyby. Helixy jsou udržovány vodíkovými vazbami, kterých je velké množství, ale jednotlivě nemají velkou pevnost. Ohyby řetězce jsou stabilizovány pevnými disulfidickými vazbami [4]. Struktura gliadinu je znázorněna na obrázku 13.

Moderními metodami byl gliadin frakcionován pomocí elektroforézy na gelu. Získané frakce jsou charakteristické pro každou odrůdu pšenice. Tato metoda slouží k identifikaci odrůd [4].



Obrázek 13: Představa struktury gliadinu (Lasztity R. 1984) [4]

Gliadiny jsou bílkoviny nerozpustné ve vodě, rozpustné v 70% etanolu [4]. Dělí se na čtyři skupiny: α - (15 %), β - (35 %), γ - (27 %) a ω -gliadiny (23 %) [59].

Gliadiny obsahují velké množství glutaminu (36 až 45 %), prolinu (14 až 30 %), v malém množství obsahuje kyselinu asparagovou a kyselinu glutamovou a velmi málo bazických AMK (argininu, lysinu a histidinu). Kvůli malému množství polárních AMK jsou gliadiny

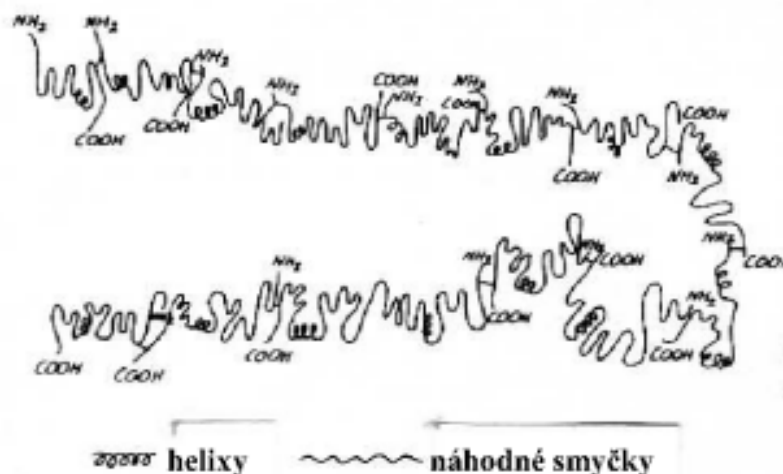
velmi málo rozpustné a za horka nekoagulují [38]. Dodávají lepkovému komplexu tažnost [43].

Pšeničné gliadiny (jsou tvořeny cca 40 proteiny) mají nižší molekulovou hmotnost (20 000-50 000) ve srovnání s gluteniny a poskytují lepku tažnost [4][52].

3.6 Glutenin (glutelin pšenice)

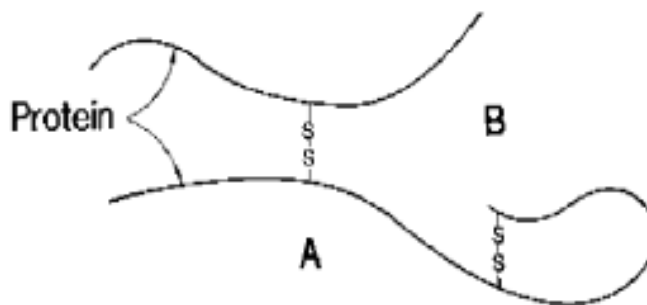
Glutenin je složitý komplex tvořený mnoha řetězci různé velikosti [4]. Jeho struktura je znázorněna na obrázku 14. Pšeničné gluteniny jsou vysokomolekulární frakcí (molekulová hmotnost řádově 10^3 až 3 miliony) a poskytují lepku pružnost [4][52].

Obsahuje 2 typy podjednotek: vysokomolekulární gluteninovou podjednotku (HMW-GS) a nízkomolekulární gluteninovou podjednotku (LMW-GS). Tyto jednotky jsou vzájemně zesíťovány do polymeru, který je nerozpustný ve vodě a v etanolu, rozpustný ve zředěných roztocích kyselin a zásad. Obsahuje velké množství kyseliny glutamové a patří mezi největší molekuly v přírodě [38][60].



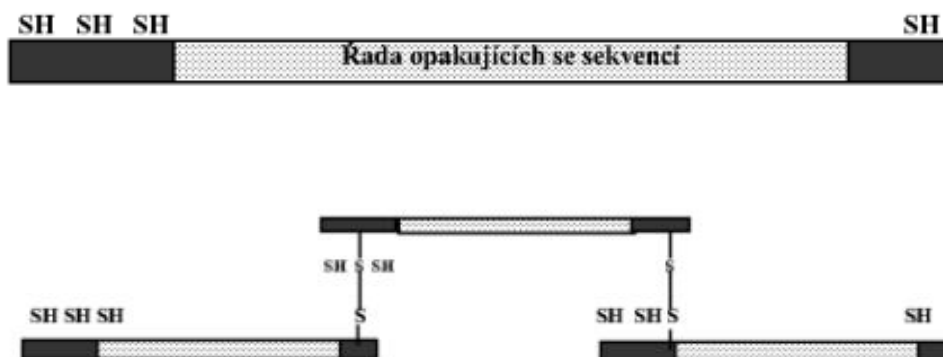
Obrázek 14: Schematické znázornění modelu propojení složek gluteninu (Lasztity R. 1984) [4]

Nízkomolekulární řetězce jsou uvnitř udržovány disulfidickými a vodíkovými vazbami, ale navenek jsou s ostatními řetězci spojeny kromě toho vodíkovými vazbami a udržovány hydrofóbními silami. Vysokomolekulární složky mají 2 druhy disulfidických vazeb: intrařetězcové obdobně jako gliadin a interřetězcové, které udržují pevnou a pružnou strukturu [4]. Jejich základní představa strukturního postavení je znázorněna na obrázku 15.



Obrázek 15: Představa umístění interřetězcových (A) a intrařetězcových (B) -S-S- vazeb [4]

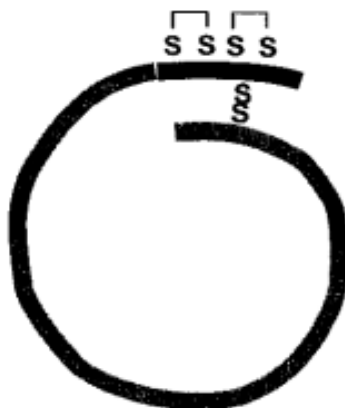
Na základě studia pšeničných makromolekulárních bílkovin během 90. let 20. století se ukázalo, že cysteinové jednotky nejsou v makromolekulárních polypeptidických řetězcích umístěny libovolně. Jednotlivé řetězce v gluteninu, tzv. gluteninové podjednotky mají umístěny cysteinové jednotky pouze v koncových částech řetězce. Část přiléhá ke koncové volné aminoskupině (N-terminál, N-doména, y-ty) a část ke karboxylové skupině (C-terminál, C-doména, x-ty), mezi nimi jsou umístěny opakující se sekvence AMK (repetitivní doména). N-doména obsahuje 114 AMK a 3 až 5 cysteinových jednotek, celkový počet AMK v jednom řetězci je 827 a odhaduje se, že C-doména obsahuje 50 aminokyselinových jednotek a jen 1 nebo 2 cysteinové jednotky [4].



Obrázek 16: Model přímé vysokomolekulární gluteninové podjednotky: nahoře model jednořetězcové jednotky se 3 cysteinovými -SH skupinami na N-koncové doméně a 1 -SH skupinou na C-koncové doméně, dole model vzájemného příčného spojení přímých řetězců pomocí -S-S- vazeb v koncových doménách [4]

V pšenici vypěstované po přenesení genů vysokomolekulárních jednotek byl prokázán přímý tvar dlouhé makromolekuly, který nevytváří žádné smyčky a umožňuje tak tvorbu pouze interřetězcových vazeb. Samotný řetězec může tvořit helixy. Tvorba intrařetězcových vazeb je v tomto případě vyloučena. Vazby se účastní pouze jedna ze tří -SH skupin N-domény. Obecně tak může být za sebou navázáno velké množství podjednotek a vytvářet tak obrovskou polymerní makromolekulu [4]. Model přímé vysokomolekulární gluteninové jednotky je znázorněn na obrázku 16.

V transgenní pšenici byly dokázány i tvary kruhového svinutí makromolekuly s intrařetězcovými vazbami mezi koncovými doménami (znázorněno na obrázku 17) [4].



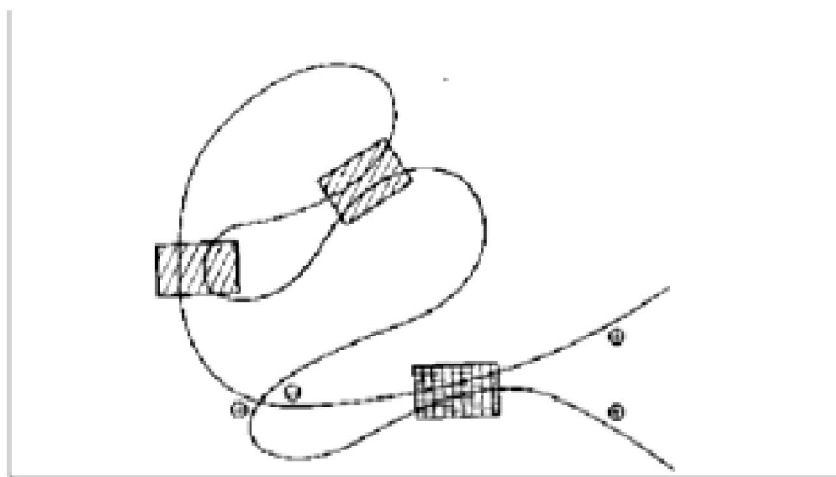
Obrázek 17: Svinutá forma jednořetězcové gluteninové podjednotky s intrařetězcovými vazbami mezi jednou z 5 cysteinových -SH skupin N-koncové domény a 1 -SH skupinou C-koncové domény (podle Kasardy 1999) [4]

Kvalita a využitelnost pšenice je spojena s počtem a charakteristikou vysokomolekulárních gluteninových podjednotek v polymeru gluteninu. Mouka vyrobená z pšenice s malým počtem HMW-GS vytváří málo pružná těsta, jako např. u pšenice durum, která se z tohoto důvodu používá pro výrobu těstovin [4].

Kromě kovalentních disulfidických vazeb v gluteninové makromolekule existuje celá řada dalších vazeb. Daleko nejpočetnější jsou **vodíkové vazby** mezi volnými skupinami bez nábojů (-NH₂, -OH), které jsou velmi slabé, ale vzhledem k jejich velkému počtu významně stabilizují strukturu těsta. Zároveň umožňují poměrně snadnou mobilitu vazeb při vnějších působeních na těsto při jeho tvorbě a zpracování. Dalším typem jsou **iontové vazby** mezi kyselými a bazickými skupinami AMK. Kyselé skupiny jsou u kyseliny glutamové a asparagové a bazické u lysinu, histidinu, argininu a tryptofanu. Početně je jich mnohem

méně než vazeb vodíkových. Při přiblížení 2 sousedních hydrofobních řetězců AMK se vytvářejí **hydrofobní vazby** na bázi Van der Waalsových a jiných sil. Těchto vazeb se mohou zúčastnit AMK valin, leucin, isoleucin, alanin, tyrosin, fenylalanin, cystein, cystin, prolin, methionin a glycin. Tyto vazby také nejsou pevné a jsou mobilní. Pokud je bílkovina ve vodě, uplatňují se **hydrofilní síly**, které mohou vytvořit AMK glutamin, asparagin, serin a threonin [4].

Při vytváření terciární struktury pšeničné bílkoviny se v různé míře uplatňují všechny uvedené síly, ale prvotně jsou prostorové možnosti vytvoření struktury určeny sekvencí jednotlivých aminokyselinových jednotek a jejich zastoupením v makromolekule [4]. Představa těchto nekovalentních sil v řetězci bílkoviny je znázorněna na obrázku 18.



Obrázek 18: Představa propojení řetězce iontovými silami (kladný a záporný náboj skupin na řetězci), vodíkovými vazbami (šikmo pruhované oblasti) a hydrofobními silami (čtverečkovaná oblast) [4]

Bílkoviny ostatních obilovin nemají schopnost vytvářet podobné samostatné trojrozměrné struktury. Většinou mají menší podíl vysokomolekulárních bílkovin než má pšeničný glutenin [4].

3.7 Pšeničný lepek

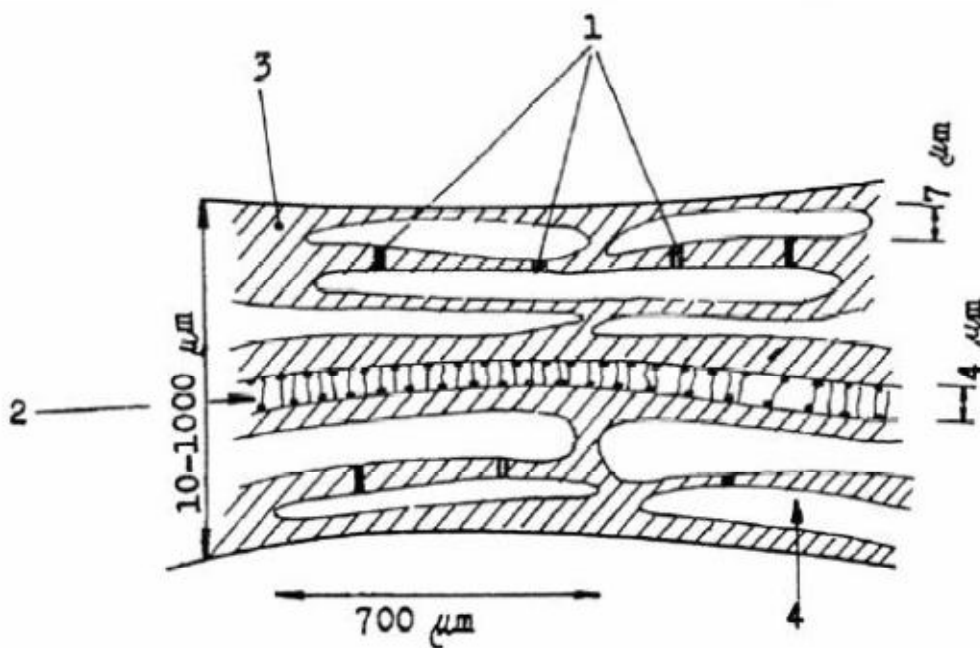
Pšeničné gliadiny a gluteniny bobtnají pouze omezeně a za současného vložení mechanické energie na hnětení za přítomnosti vzdušného kyslíku tvoří pevný gel, tzv. **lepek** [4]. Lepek je pružný gel, ve kterém jsou gliadiny a gluteniny v poměru 2:3. Ve struktuře lepku

vytvářejí gluteniny nadmolekulární vláknité struktury [4][52]. Tato frakce je považována za klíčový faktor při výrobě těsta a pečiva [46].

Lepek vytváří konstituci těsta tím, že vytváří trojrozměrnou síť peptidických řetězců propojených navzájem různými můstky a vazbami, důležité jsou hlavně disulfidové můstky mezi AMK a vodíkové můstky stabilizující řetězce bílkovin [46]. Struktura lepkového vlákna je znázorněna na obrázku 19.

Hydratované lepkové vlákno obsahuje (viz obrázek 19): 1 – vodíkové můstky mezi bílkovinnými destičkami, 2 – vrstva lipoproteinu o šířce 4 μm , 3 – vodní fáze, 4 – bílkovinné destičky o šířce 7 μm . Celková šířka vlákna se pohybuje v rozmezí 10-1000 μm [46].

Důležitou složkou lepku jsou i lipidy, zejména fosfatidy. Dále se v lepku nachází i vláknina, škrob, sacharidy, kyselina fosforečná a další minerální látky [46].



Obrázek 19: Model struktury hydratovaného lepkového vlákna [46]

Pšeničný lepek lze z těsta jednoduše izolovat vypráním vodou, přičemž se postupně vyplavují látky rozpustné ve vodě a škrob a po určité době zůstává tzv. **mokrý lepek**. Ten lze poté zbavit přebytečné vody vymačkáním nebo odstředěním. Vypraný lepek sestává průměrně z 90 % proteinů, 8 % lipidů a 2 % sacharidů v sušině. Po vysušení se z něj získá suchý lepek, který představuje hmotnostně asi 1/3 mokrého lepku. Lepek je charakteristický tažností, pružností a schopností bobtnat ve zředěném roztoku kyseliny mléčné [4].

Dle obsahu a vlastností lepkových bílkovin rozlišujeme mouku silnou - to je taková, která obsahuje více jak 13 % (tj. 25 % mokrého lepku) a mouku slabou a střední, která obsahuje

méně jak 12 % lepku [61]. **Silná mouka** má lepek spíše tužší a málo tažný. Je vhodná pro výrobu biologicky kypřeného pečiva a chleba. **Slabá mouka** má nižší obsah lepku a opačné vlastnosti oproti mouce silné. Tyto mouky jsou vhodné pro pečivářenskou výrobu [62].

Při technologickém zpracování dochází k významným změnám struktury lepku, nejdůležitější je denaturace. Při denuraci lepku dochází, nejčastěji vlivem zvýšené teploty, ke změně globulární struktury na fibrilární strukturu, čímž se stane lepek nerozpustným. Termická denaturace začíná už při teplotě kolem 40 °C, teplota nad 50 °C má za následek snížení rozpustnosti globulinové frakce, nad 60 °C snížení rozpustnosti prolaminů a záhřev nad 70 °C se projeví snížením rozpustnosti všech lepkových frakcí [56].

3.8 Albuminy a globuliny

Albuminy a globuliny jsou bílkoviny obsažené v množství cca 15 až 20 % v osemeni, aleuronové vrstvě a klíčku. Jejich zastoupení je jen velmi málo závislé na vnějších podmínkách. Z hlediska biologické hodnoty mají protoplazmatické bílkoviny optimální složení, ale vzhledem k jejich nízkému podílu v obilném zrně je biologická hodnota obilovin malá [63].

Albuminy se v pšenici nazývají leukosin, jsou to neutrální bílkoviny dobře rozpustné ve vodě, které se vysolují ze svých vodných roztoků síranem amonným při nasycení vyšším než 60 % a při teplotě 75 °C nevratně koagulují [38].

Globuliny se v pšenici nazývají edestin, jsou nerozpustné ve vodě, rozpustné ve zředěných roztocích solí. Vysolují se síranem amonným při nasycení větším než 40 % a za tepla koagulují [38].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo sestavení aminokyselinového a bílkovinného profilu odrůd potravinářské pšenice pěstované na území České republiky.

Cíle bylo dosaženo řešením dílčích cílů:

- Zpracovat literární rešerži týkající se charakteristiky potravinářské pšenice rodu *Triticum*, jejího anatomického a chemického složení se zaměřením především na AMK a bílkoviny.
- Určit bílkovinné frakce ve vzorcích potravinářské pšenice metodou SDS-PAGE.
- Stanovit AMK metodou kyselá a oxidativně kyselá hydrolýzy s následným odpařením na vakuové rotační odparce a vyhodnocením pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie na automatickém analyzátoru AMK.
- Statisticky vyhodnotit výsledky, diskutovat výsledky se závěry publikovanými jinými autory, formulovat závěry diplomové práce.

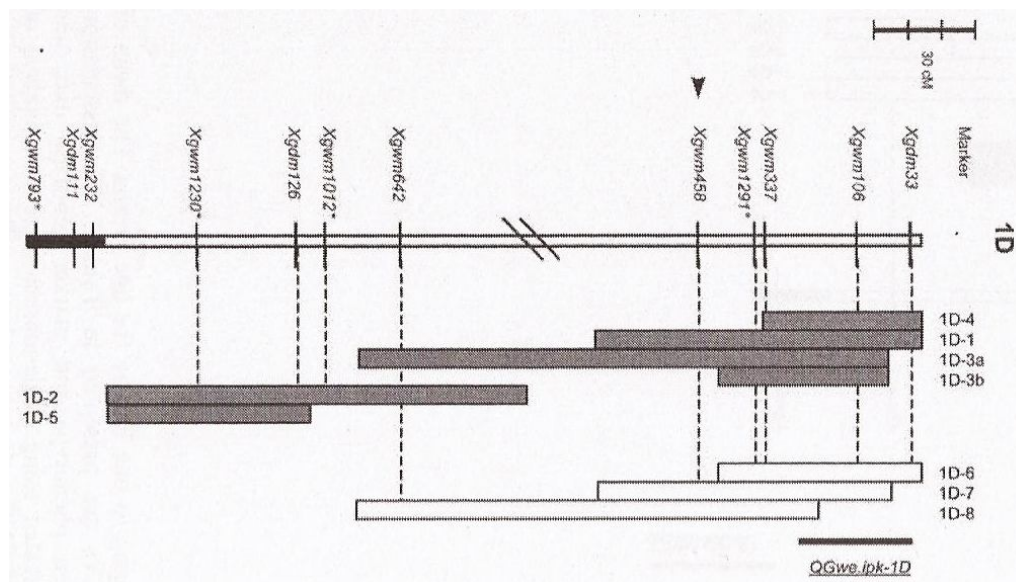
5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Materiál

Aminokyselinový a bílkovinný profil odrůd potravinářské pšenice *Triticum aestivum* L. pěstované v České republice byl zkoumán celkem u 38 vzorků pšenice. Všechny vzorky zrna potravinářské pšenice byly navlhčeny na 16% vlhkost a následně pomlety v souladu s metodikami pro následné analýzy na laboratorním mlýnku Quadrumat Junior (Brabender, Německo) [64].

Aminokyselinový a bílkovinný profil byl zkoumán u 11 odrůd ozimé potravinářské pšenice *Triticum aestivum* L. sklizené v roce 2012: Sultan, Bohemia, Akteur, Jindra, Elly, Elan, Evina, Matylda, Princeps, Potenzial a Turandot. Vzorky každé z výše uvedených odrůd potravinářské pšenice byly ze dvou odlišných oblastí – z Čáslavi a Uherského Ostrohu. Dále byl aminokyselinový a bílkovinný profil zkoumán u 7 odrůd ozimé potravinářské pšenice *Triticum aestivum* L. sklizené v roce 2009: Samanta, Ludwig, Meritto, Globus, Etela, Rapsodia a Cubus. Vzorky byly dodány firmou OSEVA, a.s., Bzenec. Charakteristika jednotlivých odrůd potravinářské pšenice je uvedena v příloze IV.

Aminokyselinový a bílkovinný profil byl zkoumán také u 9 vzorků introgresivní hybridní linie (chromozomové rekombinantní linie): 1D-1, 1D-2, 1D-3a, 1D-3b, 1D-4, 1D-5, 1D-6, 1D-7 a 1D-8. Jednotlivé chromozomy pšenice seté *Triticum aestivum* L. byly nahrazeny homologními „syntetickými 6x“ chromozomy na sedmém D-genomu pšenice. „Syntetické 6x“ chromozomy byly získány křížením tetraploidní pšenice dvouzrnky (*Triticum dicoccoides* var. *spontaneovillosum*) a divoké trávy *Aegilops tauschii* (*Aegilops squarrosa* ssp. *eusquarrosa*). Na obrázku 20 je graficky znázorněno rozmístění „syntetických 6x“ chromozomů na sedmém D-genomu pšenice *Triticum aestivum* L. Nahoře jsou vyznačena krátká ramena chromozomů, s šipkami ukazujícími pozici centromery. Celkem bylo vyvíjeno 84 introgresivních hybridních linií, šedě vyznačené pruhy označují introgresivní hybridní linie využitě v polních studiích, kterých bylo celkem 52 [65]. Vzorky introgresivní hybridní linie byly dodány profesorem Andreasem Börnerem z Ústavu genetiky rostlin a výzkumu rostlinných plodin, Gatersleben, Německo.



Obrázek 20: Grafické genotypy 9 vzorků introgresivní hybridní linie [65]

5.2 Metodika stanovení obsahu aminokyselin

Stanovení obsahu AMK ve vzorcích pšenice bylo provedeno pomocí hydrolyzy HCl o koncentraci 6 mol.dm^{-3} [66]. Vzorek o hmotnosti 100 mg byl po přidavku 15 ml HCl o koncentraci 6 mol.dm^{-3} a probublání argonem (cca 30 s) umístěn do termobloku a byl zde ponechán při teplotě $115 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 23 hodin, následně byl vzorek kvantitativně přefiltrován pomocí HCl o koncentraci $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ do odpařovací baňky. Filtrát byl na vakuové rotační odparce odpařen do sirupovité konzistence při teplotě maximálně $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Následně byl odparek rozpuštěn v několika ml redestilované vody a znovu odpařen do sirupovité konzistence (tento krok byl proveden 3x). Nakonec byl odparek kvantitativně převeden pomocí sodno-citrátového pufru o pH 2,2 do 25ml odměrné baňky a přefiltrován přes mikrofiltr o velikosti pórů $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ do 3 ependorfek [67].

Pro stanovení siřných AMK (cystein a methionin) bylo nutné provést oxidativně kyselou hydrolyzu, protože během kyselá hydrolyzy dochází k degradaci těchto AMK. Oxidací vzniká kyselina cysteová a methioninsulfon [68][69]. Ke vzorku pšeničné mouky, který měl hmotnost cca 1 g, bylo přidáno 15 ml oxidační směsi: 30% (w/w) peroxid vodíku a 85% (w/w) kyselina mravenčí v poměru 1:9. Oxidační směs byla smíchána se vzorkem pšeničné mouky a byla ponechána 16 hodin při teplotě $6 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Po uplynutí požadované doby byla přidána k oxidovanému vzorku koncentrovaná HCl o objemu cca 1 ml a po odpění 50 ml HCl o koncentraci 6 mol.dm^{-3} . Baňka byla umístěna do olejové lázně, kde byla provedena hydrolyza při teplotě $118 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 23 hodin. Hydrolyzát byl poté

kvantitativně převeden přes filtrační papír do 250ml odměrné baňky pomocí HCl o koncentraci $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ a po vytemperování doplněn $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ HCl po rysku. Doplněné baňky byly ponechány při teplotě $(6 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ do druhého dne. Alikvotní množství (25 ml) filtrátu bylo odpařeno na vakuové rotační odparce do sirupovité konzistence při teplotě max. $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Následně byl odparek rozpuštěn v několika ml redestilované vody a znovu odpařen do sirupovité konzistence (tento krok byl proveden 3x). Vzniklý odparek byl pomocí sodno-citrátového pufru o pH 2,2 převeden do 25ml odměrné baňky a následně pre-filtrován přes mikrofiltr o velikosti pórů $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ do 3 ependorfek [67].

Vlastní stanovení obsahu AMK bylo po hydrolýze provedeno pomocí iontově výměnné kapalinové chromatografie se sodno-citrátovými pufrů, ninydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí [70][71] na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400, Ingos, ČR (znázorněn na obrázku 21).

Z esenciálních AMK byly stanoveny: threonin, valin, isoleucin, leucin, fenylalanin, methionin a lysin. Tryptofan nebyl stanovován, protože při kyselé hydrolýze dochází k jeho degradaci. Dále byly stanoveny semiesenciální AMK arginin a histidin. Z neesenciálních AMK byly stanoveny následující AMK: kyselina asparagová (spolu s asparaginem), kyselina glutamová (s glutaminem), serin, prolin, glycin, alanin, tyrosin a cystein. Výsledky byly vyjádřeny v $\text{g.16 g}^{-1} \text{ N}$ (neboli $100 \text{ g N} \times 6,25$). Tyto hodnoty v podstatě vyjadřují koncentraci AMK v proteinu. Uvedené hodnoty v gramech vlastně představují procentický obsah dané AMK ve sledované bílkovině [72][73].

Každý vzorek byl pro kyselou hydrolýzu navážen 3x ($n = 6$) a pro oxidativně kyselou hydrolýzu 2x ($n = 8$).



Obrázek 21: Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 (Ingos, ČR) [74]

Seznam použitých chemikálií a roztoků je uveden v příloze II a seznam použitých pomůcek a přístrojů v příloze III.

5.3 Metodika SDS-PAGE

SDS-PAGE (sodium dodecylsulfát polyakrylamidová gelová elektroforéza) je separační metoda, která je používána ke stanovení proteinů na základě odlišné molekulové hmotnosti, při které se uplatňuje elektrické pole. Elektrické pole nám při této metodě zajišťuje migraci nabitých částic v tekutém prostředí a jejich oddělení na gelové matrici podle molekulové hmotnosti [75].

Podstatou této separace je přítomnost aniontového detergentu dodecylsulfátu sodného (SDS), který se shodně váže na všechny bílkoviny v poměru 1,4 g SDS na 1 g bílkoviny. Navázáním SDS mění proteiny svou konformaci. K této změně může dojít až po rozštěpení disulfidických můstků v molekule proteinu, což zajišťuje např. merkaptoetanol. K dokonalému navázání SDS je nutné vystavit vzorky vysoké teplotě [75][76].

Výsledný komplex SDS-bílkovina získá záporný náboj a umožní pohyb všech molekul vzorku v elektrickém poli stejným směrem. Jako porézní matrice slouží polyakrylamidový gel, který se připravuje kopolymerací akrylamidu a N,N'-metylenbisakrylamidu. Polymerací monomerů akrylamidu vznikají lineární řetězce, které jsou propojeny bisakrylamidovými můstky do trojrozměrné sítě. Na poměru mezi akrylamidem a bisakrylamidem závisí velikost pórů gelu a tím i rozsah molekulových hmotností, v němž se bude uplatňovat tzv. síťovací efekt [75][76].

V praxi pro separaci proteinů velmi často bývá využívána tzv. diskontinuální elektroforéza skládající se ze dvou gelů – koncentračního a separačního. Tyto gely mívají různé hodnoty pH. Koncentrační gel má pH cca 6,8, při kterém mají ionty obsažené v gelu nízkou mobilitu. Separační gel má pH cca 8,8, při kterém je mobilita iontů v gelu vysoká. Dle Ohmova zákona musí být při konstantním proudu v systému odpor koncentračního gelu vyšší než odpor separačního gelu. Při dostatečně odlišné koncentraci pufru v koncentračním a separačním gelu, bude napětí v koncentračním gelu dostatečně vyšší než napětí v separačním gelu, aby kompenzovalo rozdíl v mobilitách iontů. V systému je poté mobilita separovaných proteinů následující: mobilita koncentračního gelu < proteiny < mobilita separačního gelu. Díky této mobilitě se separované proteiny na rozhraní gelů zkoncentrují a seřadí dle svých mobilit [75].

Sestavení aparatury a příprava gelů

Byla složena sendvičová kazeta pro nalití gelu (na obrázku 22 v levé části) dle návodu výrobce.



Obrázek 22: Aparatura pro SDS-PAGE Mini-PROTEAN Tetra Cell (BIO-RAD Laboratories, USA) [77]

Pro separaci proteinů byl použit 12% separační gel (složení je uvedeno v příloze II). Roztok byl dobře promíchán a pomocí kapátka aplikován mezi skla do výšky cca 3 cm od horního okraje. Pro získání hladkého povrchu a zamezení polymerace na vzduchu byl gel přelit cca 1 ml deionizované vody. Polymerace probíhala při pokojové teplotě cca 1 hodinu. Po uplynutí této doby byla voda vysušena filtračním papírem. Následně byl kapátkem aplikován 5% koncentrační gel (složení je uvedeno v příloze II) až těsně pod horní hranu skla. Poté byl opatrně vsunut teflonový hřeben. Stojan i s připravenými gely byl vsunut do vlhké komůrky a gely se nechaly polymerovat do druhého dne při pokojové teplotě [75][78][79].

Příprava vzorků

Cca 0,5 g vzorku pšenice bylo homogenizováno v poměru 1:9 ve fosfátovém pufru, do něhož bylo přidáno 1 % merkptoetanolu a 1 % 20% SDS a následně inkubováno při teplotě 40 °C po dobu 3 hodin. Z takto připravených vzorků bylo odebráno 100 µl do ependorfeku, přidáno 25 µl 20% SDS, 12,5 µl merkptoetanolu a vzorkový pufr v objemu 115 µl. Složení jednotlivých roztoků je uvedeno v příloze II. Vzorky byly dobře promíchány a inkubovány při teplotě 100 °C po dobu 10 minut [75][78][79]. Vzorky byly uchovány při mrazírenských teplotách.

Nanášení vzorků a vlastní elektroforéza

Skla s gely byla umístěna do drážek v elektrodovém držáku (na obrázku 22 v pravé části). Z gelu byl vyjmut teflonový hřebínek. Připravené vzorky byly nanášeny v objemu 20 µl pomocí příslušné pipety. Kromě vzorků byl nanesen i molekulový hmotnostní standard

(SERVA) [80] v objemu 15 μ l. Po nanesení vzorků byl elektrodový držák umístěn do elektrodové vany. Do komůrky mezi skly byl nalit elektrodový pufr (složení je uvedeno v příloze II) až po okraj a do elektrodové vany bylo nalito cca 200 ml elektrodového pufru. Poté byla elektroforetická komůrka překryta víkem a připojena ke zdroji stejnosměrného proudu PowerPac Universal Power Supply (BIO-RAD Laboratories, USA) – je znázorněn na obrázku 23. Pro koncentrační gel byla použita hodnota 35 mA. Jakmile doputovalo čelo elektroforézy vizualizované bromfenolovou modří k rozhraní koncentračního a separačního gelu, byla nastavena hodnota proudu na 50 mA. Po doputování čela elektroforézy ke spodní hranici separačního gelu byl dělicí proces ukončen. Elektroforéza trvala cca 2,5 hodiny. Po jejím skončení byla opatrně od sebe oddělena skla, mezi kterými se gel nacházel. Následně byl z gelu odstraněn koncentrační gel a takto upravený gel byl fixován 30 minut fixačním roztokem (složení uvedeno v příloze II) [75][78][79].



Obrázek 23: Zdroj stejnosměrného proudu PowerPac Universal Power Supply (BIO-RAD Laboratories, USA) [81]

Barvení gelů

Každý gel se barvil barvicím roztokem (složení je uvedeno v příloze II) samostatně v plastové misce po dobu 60 minut. Po uplynutí této doby byl barvicí roztok odstraněn, gel opláchnut deionizovanou vodou a převrstven odbarvovacím roztokem a nechal se odbarvovat za občasné výměny odbarvovacího roztoku za čerstvý [78][79].

Hodnocení gelů

Gely byly sejmuty digitálním fotoaparátem. Výsledky SDS-PAGE byly následně vyhodnoceny pomocí shlukové analýzy. Cílem shlukové analýzy je seskupit analyzované vzorky dle příbuznosti stanovované veličiny. Provedením dané analýzy dostaneme z velké skupiny

dat několik stejnorodých skupin neboli shluků. Dva objekty z jednoho shluku by si měly být podobné, oproti tomu dva objekty z rozdílných shluků by si podobné býti neměly. Postupuje se tak, že se nejdříve vypočtou korelační koeficienty mezi všemi páry vzorků. Korelační koeficienty mohou být pozitivní i negativní. Mezi těmi vzorky, u nichž je hodnota korelačních koeficientů nejvyšší, se vytvoří první shluk, a pak se postupně tvoří další. Podobně se mohou vytvořit shluky z deskriptorů sensorických profilů podle vzájemné příbuznosti, eventuálně i mezi deskriptory organoleptických vlastností a fyzikálními nebo chemickými ukazateli. Průběh celého procesu shlukování se obvykle znázorňuje ve formě stromového grafu, tzv. dendrogramu [82][83].

Při vyhodnocování shlukové analýzy byl použit program Unistat 5.5 (Unistat Ltd., Londýn, Velká Británie).

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

U vzorků potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) pěstované v České republice a vzorků introgresivní hybridní linie bylo provedeno hodnocení z hlediska složení spektra aminokyselin a bílkovinných frakcí.

6.1 Výsledky stanovení obsahu aminokyselin

Obsah jednotlivých aminokyselin byl stanoven pomocí iontově výměnné kapalinové chromatografie se sodno-citrátovými pufrů, ninydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400, Ingos, ČR.

Přepočtené výsledky obsahu sedmnácti aminokyselin v $g \cdot 16 g^{-1} N$ jsou uvedeny v tabulce 5 až 8. Obsahy aminokyselin jsou v tabulkách uvedeny jako průměr \pm směrodatná odchylka. V dolní části každé tabulky je uveden celkový obsah aminokyselin (Σ AMK), obsah esenciálních aminokyselin (Σ EAA) a obsah neesenciálních aminokyselin (Σ NEAA) v $g \cdot 16 g^{-1} N$.

V tabulce 5 jsou uvedeny obsahy stanovení aminokyselin v devíti vzorcích introgresivní hybridní linie (chromozomové rekombinantní linie): 1D-1, 1D-2, 1D-3a, 1D-3b, 1D-4, 1D-5, 1D-6, 1D-7 a 1D-8. V tabulce 6 jsou uvedeny obsahy stanovení aminokyselin v sedmi vzorcích ozimé potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2009 (Samanta, Ludwig, Meritto, Globus, Etela, Rapsodia a Cubus). Tabulka 7, 8 a 9 dokumentuje obsahy stanovení aminokyselin v jedenácti vzorcích ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu (Sultan, Bohemia, Akteur, Jindra, Elly, Elan, Evina, Matylda, Princeps, Potenzial a Turandot).

U vzorků introgresivní hybridní linie byl nejnižší celkový obsah AMK u vzorku 1D-6 a to $111,69 g \cdot 16 g^{-1} N$. Naopak nejvyšší celkový obsah AMK měl vzorek 1D-3b – $145,14 g \cdot 16 g^{-1} N$. Nejnižší obsah esenciálních AMK byl u vzorku 1D-4 ($24,57 g \cdot 16 g^{-1} N$) a nejvyšší u vzorku 1D-3b ($37,32 g \cdot 16 g^{-1} N$). Nejnižší obsah neesenciálních AMK vykazoval vzorek 1D-6 ($83,78 g \cdot 16 g^{-1} N$) a naopak nejvyšší vzorek 1D-3b ($107,83 g \cdot 16 g^{-1} N$). Při analýze obsahu AMK ve všech vzorcích introgresivní hybridní linie bylo zjištěno, že prokazatelně nejvyšší průměrný obsah byl zaznamenán u kyseliny glutamové. Obsah kyseliny glutamové se pohyboval v rozmezí cca $40,85 g \cdot 16 g^{-1} N$ (1D-6) – $56,97 g \cdot 16 g^{-1} N$ (1D-3b).

Tabulka 5: Obsah aminokyselin ve vzorcích introgresivní hybridní linie v g.16 g⁻¹ N

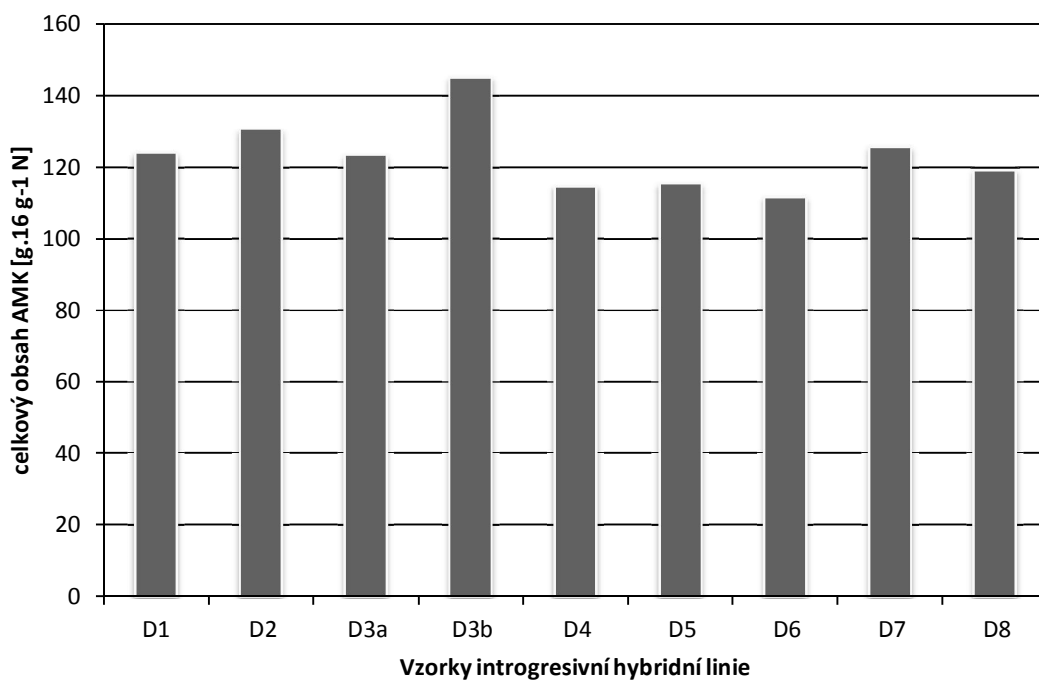
AMK	Obsah aminokyselin [g.16 g ⁻¹ N]								
	1D-1	1D-2	1D-3a	1D-3b	1D-4	1D-5	1D-6	1D-7	1D-8
Asp	5,39 ± 0,18	5,69 ± 0,25	5,07 ± 0,19	6,28 ± 0,31	4,96 ± 0,19	4,81 ± 0,12	4,47 ± 0,38	5,52 ± 0,36	5,11 ± 0,48
Thr	2,83 ± 0,15	2,89 ± 0,12	2,76 ± 0,06	3,49 ± 0,15	2,53 ± 0,05	2,42 ± 0,23	2,53 ± 0,08	2,94 ± 0,06	2,86 ± 0,05
Ser	5,51 ± 0,09	5,76 ± 0,22	5,55 ± 0,06	6,99 ± 0,37	5,99 ± 0,08	5,91 ± 0,38	5,25 ± 0,24	5,78 ± 0,06	5,50 ± 0,09
Glu	44,62 ± 0,15	47,47 ± 1,62	44,51 ± 0,32	56,97 ± 3,03	43,61 ± 0,66	43,25 ± 2,54	40,85 ± 0,76	45,33 ± 0,36	42,26 ± 0,59
Pro	15,81 ± 0,67	14,51 ± 0,19	14,88 ± 0,25	12,12 ± 0,09	13,77 ± 0,18	14,47 ± 1,32	13,40 ± 0,46	15,44 ± 0,23	14,26 ± 0,62
Gly	4,07 ± 0,14	4,24 ± 0,10	3,97 ± 0,04	4,67 ± 0,23	3,97 ± 0,06	4,03 ± 0,17	3,56 ± 0,03	3,86 ± 0,08	3,68 ± 0,05
Ala	3,45 ± 0,07	3,64 ± 0,09	3,42 ± 0,01	4,39 ± 0,26	3,34 ± 0,04	3,33 ± 0,16	3,08 ± 0,03	3,30 ± 0,06	3,21 ± 0,06
Val	4,65 ± 0,07	5,04 ± 0,09	4,78 ± 0,02	6,21 ± 0,31	2,60 ± 0,20	2,52 ± 0,19	3,76 ± 0,13	3,89 ± 0,02	3,79 ± 0,07
Ile	4,36 ± 0,08	4,48 ± 0,08	4,19 ± 0,04	5,49 ± 0,24	1,95 ± 0,03	1,91 ± 0,16	3,35 ± 0,02	3,72 ± 0,05	3,57 ± 0,09
Leu	8,24 ± 0,08	8,67 ± 0,24	8,24 ± 0,08	10,19 ± 0,51	6,55 ± 0,04	6,62 ± 0,44	7,17 ± 0,07	7,99 ± 0,10	7,65 ± 0,14
Tyr	3,23 ± 0,12	3,97 ± 0,16	3,60 ± 0,06	4,13 ± 0,17	3,78 ± 0,27	3,79 ± 0,22	3,61 ± 0,32	3,82 ± 0,03	3,62 ± 0,05
Phe	6,35 ± 0,32	7,08 ± 0,11	6,63 ± 0,02	7,07 ± 0,40	6,31 ± 0,40	6,28 ± 0,07	6,10 ± 0,48	6,87 ± 0,05	6,45 ± 0,11
His	2,76 ± 0,03	2,91 ± 0,09	2,65 ± 0,02	2,84 ± 0,13	2,78 ± 0,07	2,82 ± 0,11	2,12 ± 0,14	2,37 ± 0,04	2,33 ± 0,01
Lys	2,50 ± 0,10	2,65 ± 0,04	2,42 ± 0,05	2,74 ± 0,16	2,00 ± 0,06	1,94 ± 0,12	2,19 ± 0,08	2,51 ± 0,03	2,46 ± 0,07
Arg	4,69 ± 0,20	5,45 ± 0,23	4,91 ± 0,06	6,01 ± 0,42	3,79 ± 0,15	3,64 ± 0,32	2,71 ± 0,18	5,33 ± 0,36	5,53 ± 0,39
Cys	3,49 ± 0,09	3,73 ± 0,19	3,68 ± 0,05	3,41 ± 0,14	4,18 ± 0,09	4,78 ± 0,11	4,73 ± 0,02	4,29 ± 0,31	4,42 ± 0,38
Met	2,09 ± 0,05	2,21 ± 0,10	2,28 ± 0,10	2,13 ± 0,07	2,63 ± 0,04	2,92 ± 0,06	2,81 ± 0,08	2,65 ± 0,26	2,68 ± 0,24
∑ AMK	124,03	130,4	123,52	145,14	114,73	115,44	111,69	125,61	119,38
∑ EAA	31,02	33,02	31,3	37,32	24,57	24,61	27,91	30,57	29,46
∑ NEAA	93,01	97,38	92,22	107,82	90,16	90,83	83,78	95,04	89,92

Druhou nejvíce zastoupenou AMK byl prolin. Nejvíce prolinu obsahoval vzorek 1D-1 (15,81 g.16 g⁻¹ N) a paradoxně nejméně vzorek obsahující nejvyšší množství kyseliny glutamové – 1D-3b (12,12 g.16 g⁻¹ N).

V pořadí třetí nejvíce zastoupenou AMK je leucin, jehož obsah se ve vzorcích introgresivní hybridní linie pohyboval v rozmezí 6,55 g.16 g⁻¹ N (1D-4) – 10,19 g.16 g⁻¹ N (1D-3b).

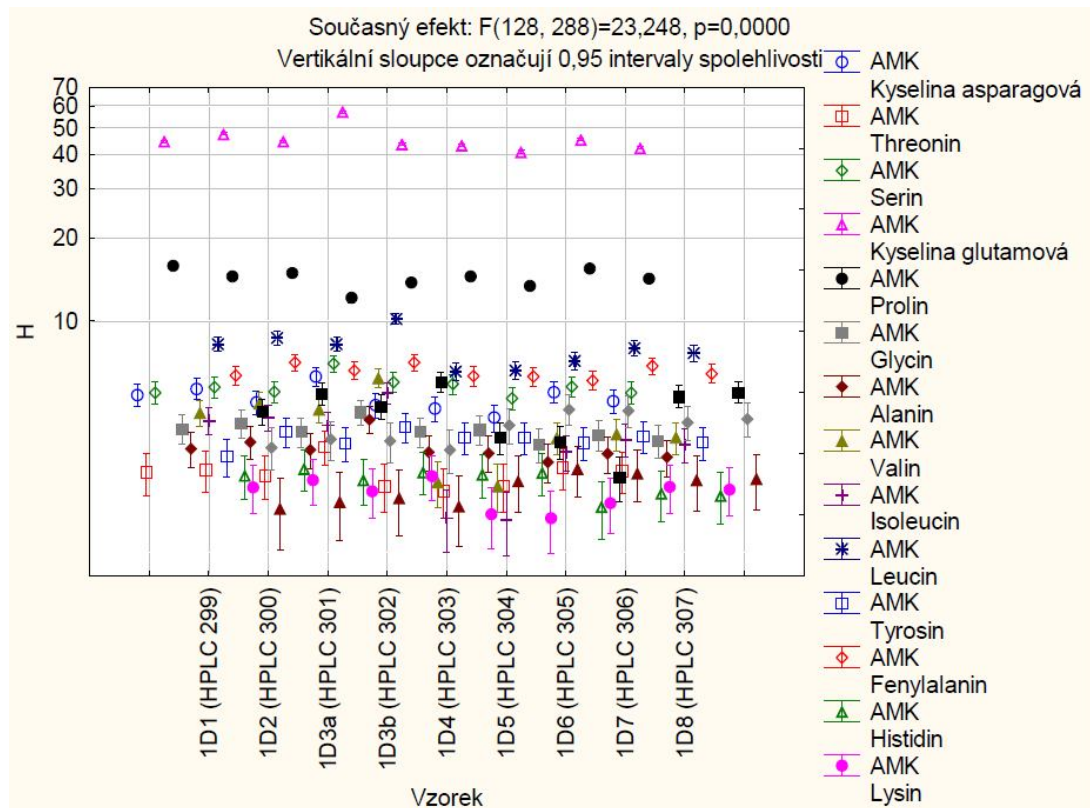
Mezi AMK, jejichž obsah byl vyhodnocen jako nejnižší, patřily u vzorků introgresivní hybridní linie lysin, methionin, histidin a threonin.

Na obrázku 24 jsou graficky vyjádřeny celkové obsahy AMK v devíti vzorcích introgresivní hybridní linie v g.16 g⁻¹ N. Z grafu je na první pohled patrné, že nejvyšší celkový obsah AMK vykazoval vzorek označený 1D-3b a nejnižší naopak vzorek označený 1D-6.



Obrázek 24: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v g.16 g⁻¹ N ve vzorcích introgresivní hybridní linie

Na obrázku 25 je statisticky vyjádřena dekompozice efektivní hypotézy u devíti vzorků introgresivní hybridní linie. Parametr H na ose y vyjadřuje obsah konkrétní aminokyseliny v g.16 g⁻¹ N. Z obrázku je výrazný rozdíl v hodnotách mezi obsahy jednotlivých aminokyselin u různých vzorků introgresivní hybridní linie (např. u aminokyselin kyselina glutamová a prolin je spolehlivost poměrně vysoká, zatímco u aminokyselin alanin, lysin, isoleucin a histidin naopak nízká). Některé vzorky introgresivní hybridní linie vykazují velký rozsah intervalu spolehlivosti, čímž se snižuje spolehlivost výsledků.



Obrázek 25: Dekompozice efektivní hypotézy u vzorků introgresivní hybridní linie pro 14 aminokyselin

U vzorků potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2009 byl nejnižší celkový obsah AMK u odrůdy Rapsodia a to $80,74 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$. Naopak nejvyšší celkový obsah AMK měla odrůda Meritto a to $125,28 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$. Nejnižší obsah esenciálních AMK byl shodně jako u celkového množství AMK u odrůdy Rapsodia ($21,32 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$) a nejvyšší taktéž shodně u odrůdy Meritto ($37,46 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$). Nejnižší obsah neesenciálních AMK vykazovala rovněž odrůda Rapsodia ($59,42 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$) a naopak nejvyšší opět odrůda Meritto ($87,82 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$).

Při analýze obsahu AMK u všech sedmi odrůd potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 bylo zjištěno, že prokazatelně nejvyšší průměrný obsah byl zaznamenán u kyseliny glutamové. Obsah kyseliny glutamové se pohyboval v rozmezí cca $27,51 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$ (Rapsodia) – $42,54 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$ (Meritto).

Druhou nejvíce zastoupenou AMK byl prolin. Nejvíce prolinu obsahovala odrůda Cubus ($16,35 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$) a naopak nejméně odrůda Rapsodia ($9,79 \text{ g.16 g}^{-1} \text{ N}$).

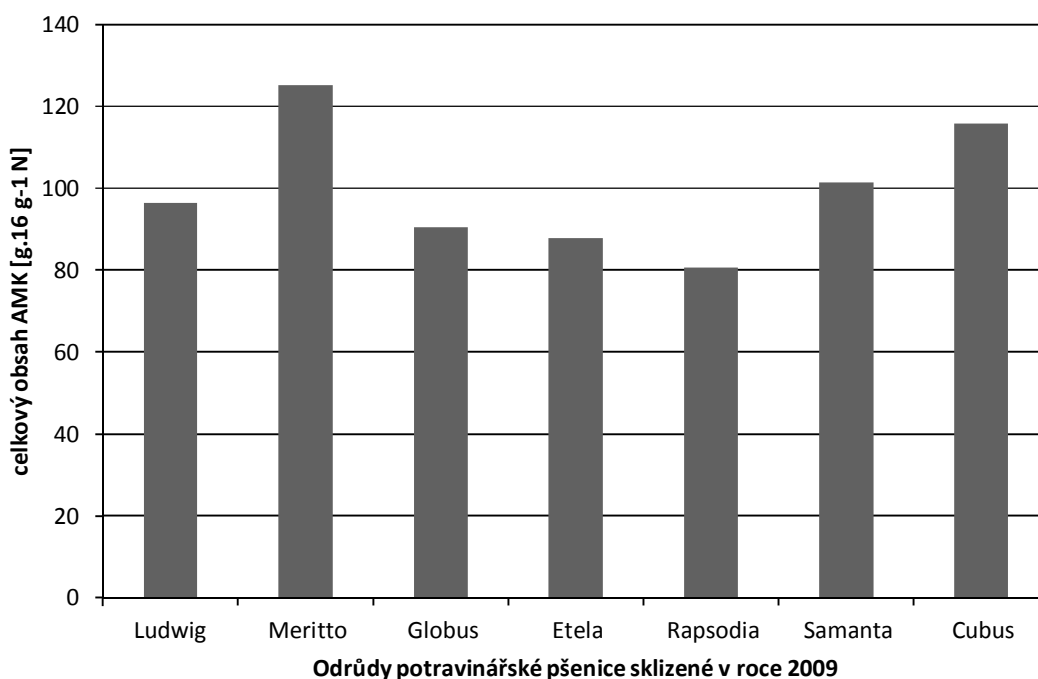
Tabulka 6: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 v g.16 g⁻¹ N

AMK	Obsah aminokyselin [g.16 g ⁻¹ N]						
	Ludwig	Meritto	Globus	Etela	Rapsodia	Samanta	Cubus
Asp	3,86 ± 0,22	4,54 ± 0,40	3,63 ± 0,19	3,74 ± 0,03	3,30 ± 0,09	4,04 ± 0,01	4,46 ± 0,30
Thr	2,32 ± 0,08	2,78 ± 0,11	2,31 ± 0,12	2,28 ± 0,15	2,05 ± 0,06	2,53 ± 0,12	2,88 ± 0,19
Ser	4,20 ± 0,13	5,03 ± 0,38	3,95 ± 0,28	3,80 ± 0,10	3,48 ± 0,07	4,52 ± 0,34	5,13 ± 0,28
Glu	34,92 ± 1,16	42,54 ± 2,83	31,15 ± 2,57	29,68 ± 0,53	27,51 ± 0,37	36,40 ± 2,89	41,16 ± 2,65
Pro	12,91 ± 0,33	13,15 ± 0,43	10,95 ± 0,92	10,42 ± 0,10	9,79 ± 0,30	11,62 ± 0,56	16,35 ± 1,23
Gly	2,92 ± 0,17	4,34 ± 0,38	2,99 ± 0,14	2,92 ± 0,03	2,86 ± 0,09	3,40 ± 0,29	3,78 ± 0,24
Ala	2,58 ± 0,14	3,65 ± 0,24	2,56 ± 0,09	2,52 ± 0,04	2,32 ± 0,16	2,76 ± 0,26	3,25 ± 0,25
Val	3,83 ± 0,26	6,84 ± 0,50	3,83 ± 0,06	3,79 ± 0,03	3,56 ± 0,24	4,24 ± 0,34	5,03 ± 0,13
Ile	3,57 ± 0,16	5,25 ± 0,25	3,23 ± 0,13	3,18 ± 0,13	2,96 ± 0,19	3,81 ± 0,28	3,96 ± 0,17
Leu	6,57 ± 0,29	10,07 ± 0,58	6,03 ± 0,28	5,87 ± 0,10	5,40 ± 0,26	7,11 ± 0,51	7,44 ± 0,20
Tyr	2,29 ± 0,13	3,02 ± 0,27	2,43 ± 0,21	2,58 ± 0,58	2,12 ± 0,13	2,64 ± 0,19	2,50 ± 0,10
Phe	5,18 ± 0,24	7,85 ± 0,50	4,51 ± 0,20	4,39 ± 0,00	4,09 ± 0,21	5,42 ± 0,37	5,63 ± 0,38
His	2,10 ± 0,11	2,20 ± 0,09	1,99 ± 0,03	1,98 ± 0,03	1,79 ± 0,05	2,39 ± 0,22	2,57 ± 0,13
Lys	1,84 ± 0,12	2,28 ± 0,12	1,91 ± 0,13	1,98 ± 0,02	1,82 ± 0,03	2,14 ± 0,12	2,24 ± 0,10
Arg	3,82 ± 0,38	5,36 ± 0,29	3,85 ± 0,16	3,94 ± 0,08	3,61 ± 0,07	4,02 ± 0,32	4,52 ± 0,31
Cys	2,05 ± 0,02	3,96 ± 0,01	3,19 ± 0,02	2,95 ± 0,09	2,63 ± 0,10	2,84 ± 0,15	3,18 ± 0,05
Met	1,48 ± 0,07	2,39 ± 0,02	1,84 ± 0,06	1,69 ± 0,09	1,44 ± 0,11	1,50 ± 0,05	1,76 ± 0,08
∑ AMK	96,42	125,28	90,36	87,7	80,74	101,38	115,86
∑ EAA	24,79	37,46	23,66	23,18	21,32	26,75	28,94
∑ NEAA	71,63	87,82	66,70	64,52	59,42	74,63	86,92

V pořadí třetí nejvíce zastoupenou AMK byl leucin, jehož obsah se pohyboval v rozmezí $5,40 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ (Rapsodia) – $10,07 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ (Meritto).

Mezi AMK, jejichž obsah byl vyhodnocen jako nejnižší, patřily u vzorků potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 methionin, lysin, histidin, tyrosin a threonin.

Na obrázku 26 jsou graficky vyjádřeny celkové obsahy AMK u sedmi odrůd ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009. Z grafu je na první pohled patrné, že nejvyšší celkový obsah AMK byl zaznamenán u odrůdy Meritto a naopak nejnižší u odrůdy Rapsodia.



Obrázek 26: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v $\text{g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ v sedmi vzorcích ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009

U vzorků potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu byl nejnižší celkový obsah AMK u odrůdy Jindra a to $93,90 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$. Naopak nejvyšší celkový obsah AMK vykazovala odrůda Bohemia – $139,48 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$. Nejnižší obsah esenciálních AMK byl shodně jako u celkového množství AMK u odrůdy Jindra ($24,95 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$) a nejvyšší taktéž shodně u odrůdy Bohemia ($35,03 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$). Nejnižší obsah neesenciálních AMK měla rovněž odrůda Jindra ($68,95 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$) a naopak nejvyšší opět odrůda Bohemia ($104,45 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$).

Při analýze obsahu AMK u všech jedenácti odrůd ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu bylo zjištěno, že prokazatelně nejvyšší průměrný

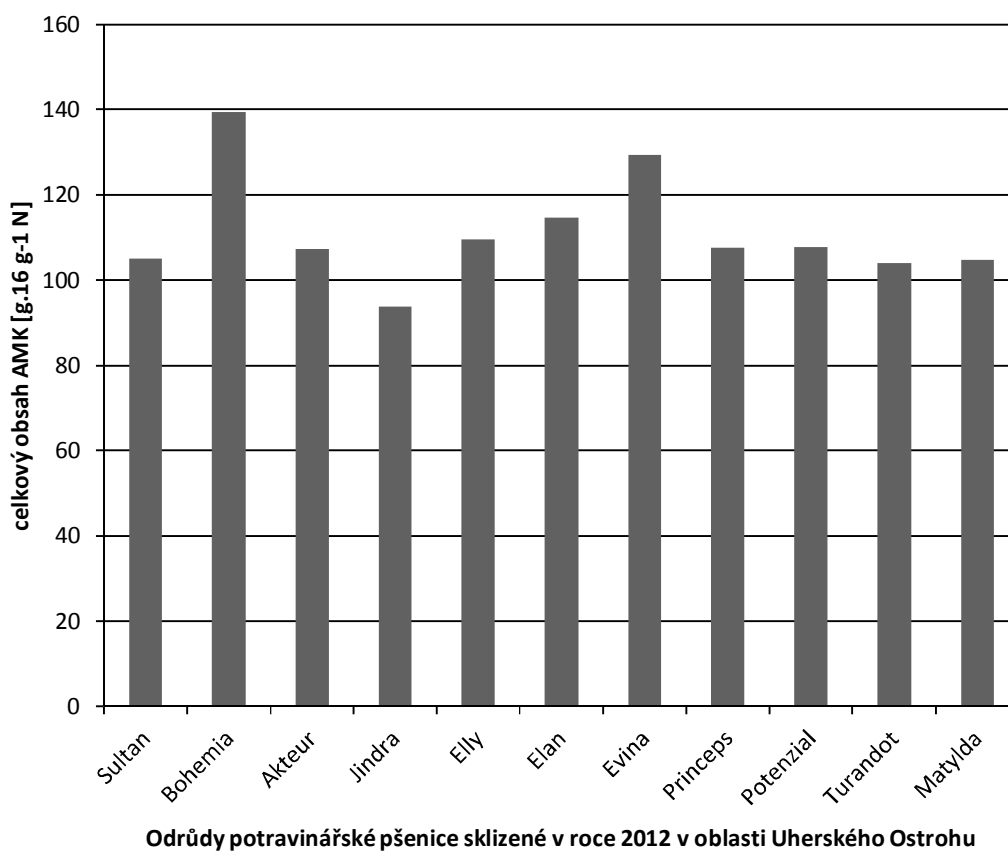
obsah byl zaznamenán u kyseliny glutamové. Obsah kyseliny glutamové se pohyboval v rozmezí cca 35,04 g.16 g⁻¹ N (Jindra) – 50,34 g.16 g⁻¹ N (Bohemia).

Druhou nejvíce zastoupenou AMK byl prolin. Nejvíce prolinu obsahovala odrůda Bohemia (17,14 g.16 g⁻¹ N) a naopak nejméně odrůda Akteur (10,00 g.16 g⁻¹ N).

V pořadí třetí nejvíce zastoupenou AMK byl leucin, jehož obsah se pohyboval v rozmezí 6,41 g.16 g⁻¹ N (Jindra) – 9,29 g.16 g⁻¹ N (Bohemia).

Mezi AMK, jejichž obsah byl vyhodnocen jako nejnižší, patřily u vzorků pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu lysin, histidin, methionin, alanin a threonin.

Na obrázku 27 jsou graficky vyjádřeny celkové obsahy AMK u jedenácti odrůd ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu. Z grafu je na první pohled patrné, že nejvyšší celkový obsah AMK vykazovala odrůda Bohemia a naopak nejnižší odrůda Jindra.



Obrázek 27: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v jedenácti vzorcích ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu

Tabulka 7: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu v g.16 g⁻¹ N

AMK	Obsah aminokyselin [g.16 g ⁻¹ N]							
	Sultan Čáslav	Sultan Uh. Ostroh	Bohemia Čáslav	Bohemia Uh. Ostroh	Akteur Čáslav	Akteur Uh. Ostroh	Jindra Čáslav	Jindra Uh. Ostroh
Asp	3,86 ± 0,15	3,13 ± 0,16	4,81 ± 0,21	2,75 ± 0,06	4,13 ± 0,29	3,44 ± 0,16	3,40 ± 0,29	2,29 ± 0,06
Thr	2,97 ± 0,13	2,03 ± 0,14	3,24 ± 0,10	1,88 ± 0,07	2,61 ± 0,12	2,29 ± 0,07	2,10 ± 0,20	2,04 ± 0,17
Ser	4,34 ± 0,05	3,94 ± 0,25	5,72 ± 0,32	3,30 ± 0,10	4,66 ± 0,42	3,95 ± 0,11	3,85 ± 0,35	2,88 ± 0,25
Glu	37,93 ± 0,56	28,14 ± 1,17	50,34 ± 1,72	27,76 ± 0,80	40,24 ± 2,19	34,10 ± 0,28	35,04 ± 1,27	23,99 ± 0,89
Pro	11,29 ± 0,34	9,12 ± 0,26	17,14 ± 0,71	8,84 ± 0,28	10,00 ± 0,66	10,40 ± 0,13	10,25 ± 0,55	8,97 ± 0,65
Gly	3,21 ± 0,05	2,87 ± 0,03	4,57 ± 0,13	2,59 ± 0,07	3,40 ± 0,31	2,93 ± 0,28	3,38 ± 0,28	2,59 ± 0,13
Ala	2,72 ± 0,20	2,35 ± 0,10	3,56 ± 0,10	2,12 ± 0,06	2,86 ± 0,19	2,49 ± 0,10	2,45 ± 0,19	1,99 ± 0,13
Val	4,00 ± 0,24	3,62 ± 0,13	5,58 ± 0,23	3,29 ± 0,02	4,70 ± 0,38	3,81 ± 0,06	4,12 ± 0,31	3,17 ± 0,31
Ile	4,07 ± 0,26	3,33 ± 0,26	4,96 ± 0,15	2,91 ± 0,06	4,66 ± 0,20	3,55 ± 0,26	3,54 ± 0,08	2,37 ± 0,19
Leu	7,47 ± 0,37	5,25 ± 0,34	9,29 ± 0,24	5,35 ± 0,12	7,66 ± 0,30	6,38 ± 0,34	6,41 ± 0,21	5,10 ± 0,34
Tyr	3,81 ± 0,14	1,95 ± 0,18	3,82 ± 0,27	2,54 ± 0,14	2,37 ± 0,07	2,62 ± 0,18	2,82 ± 0,23	1,86 ± 0,03
Phe	5,36 ± 0,15	4,68 ± 0,35	7,02 ± 0,27	4,13 ± 0,08	5,37 ± 0,16	4,59 ± 0,21	4,16 ± 0,16	3,15 ± 0,29
His	2,14 ± 0,05	1,63 ± 0,04	2,81 ± 0,11	1,65 ± 0,02	2,39 ± 0,19	2,02 ± 0,13	2,08 ± 0,16	1,67 ± 0,16
Lys	1,89 ± 0,06	1,51 ± 0,13	2,60 ± 0,16	1,58 ± 0,02	2,12 ± 0,15	1,95 ± 0,08	2,83 ± 0,27	1,38 ± 0,11
Arg	3,91 ± 0,16	2,16 ± 0,13	7,57 ± 0,26	3,25 ± 0,27	4,25 ± 0,14	4,19 ± 0,38	2,70 ± 0,09	2,79 ± 0,06
Cys	3,83 ± 0,16	3,40 ± 0,10	4,12 ± 0,03	3,38 ± 0,22	3,65 ± 0,05	2,62 ± 0,04	2,99 ± 0,08	2,73 ± 0,19
Met	2,25 ± 0,02	1,89 ± 0,03	2,34 ± 0,03	1,91 ± 0,15	2,24 ± 0,11	1,72 ± 0,12	1,79 ± 0,16	1,54 ± 0,07
∑ AMK	105,06	81,01	139,48	79,22	107,29	93,03	93,9	70,49
∑ EAA	28,01	22,31	35,03	21,05	29,36	24,29	24,95	18,75
∑ NEAA	77,05	58,7	104,45	58,17	77,93	68,74	68,95	51,74

Tabulka 8: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu v g.16 g⁻¹ N

AMK	Obsah aminokyselin [g.16 g ⁻¹ N]							
	Elly Čáslav	Elly Uh. Ostroh	Elan Čáslav	Elan Uh. Ostroh	Evina Čáslav	Evina Uh. Ostroh	Princeps Čáslav	Princeps Uh. Ostroh
Asp	5,94 ± 0,17	2,86 ± 0,13	4,59 ± 0,19	4,03 ± 0,32	5,04 ± 0,45	3,93 ± 0,02	4,22 ± 0,28	3,37 ± 0,18
Thr	4,55 ± 0,20	1,70 ± 0,07	2,57 ± 0,14	2,33 ± 0,11	2,89 ± 0,23	2,38 ± 0,04	2,45 ± 0,18	2,09 ± 0,10
Ser	3,03 ± 0,02	2,65 ± 0,16	4,08 ± 0,15	2,99 ± 0,22	4,47 ± 0,36	3,69 ± 0,00	3,90 ± 0,31	3,35 ± 0,23
Glu	38,80 ± 0,68	29,19 ± 0,34	41,64 ± 2,19	35,08 ± 1,07	48,53 ± 3,89	38,03 ± 0,17	39,17 ± 2,39	31,32 ± 1,47
Pro	15,72 ± 1,01	11,12 ± 0,67	13,59 ± 1,02	11,39 ± 0,33	15,97 ± 1,37	12,51 ± 0,22	13,11 ± 0,81	10,31 ± 0,72
Gly	3,03 ± 0,17	2,48 ± 0,20	3,82 ± 0,17	3,00 ± 0,04	4,30 ± 0,40	3,51 ± 0,10	3,56 ± 0,20	2,92 ± 0,16
Ala	2,33 ± 0,16	2,02 ± 0,08	2,99 ± 0,13	2,63 ± 0,03	3,37 ± 0,33	2,73 ± 0,04	2,79 ± 0,19	2,37 ± 0,14
Val	4,29 ± 0,30	3,39 ± 0,16	4,76 ± 0,21	4,01 ± 0,24	5,25 ± 0,32	4,54 ± 0,18	4,51 ± 0,14	3,73 ± 0,10
Ile	3,76 ± 0,06	3,01 ± 0,17	4,43 ± 0,23	3,75 ± 0,08	5,00 ± 0,40	4,12 ± 0,05	4,13 ± 0,24	3,39 ± 0,20
Leu	7,15 ± 0,34	5,42 ± 0,39	7,94 ± 0,37	6,66 ± 0,31	8,59 ± 0,67	7,19 ± 0,09	7,39 ± 0,44	6,15 ± 0,34
Tyr	2,99 ± 0,23	2,55 ± 0,08	3,08 ± 0,23	2,76 ± 0,15	2,93 ± 0,15	2,57 ± 0,07	2,93 ± 0,15	2,19 ± 0,07
Phe	5,30 ± 0,36	4,02 ± 0,13	6,06 ± 0,27	4,86 ± 0,24	6,57 ± 0,37	5,37 ± 0,04	5,50 ± 0,38	4,36 ± 0,29
His	2,24 ± 0,14	1,60 ± 0,01	2,61 ± 0,13	1,92 ± 0,15	2,89 ± 0,16	2,72 ± 0,20	2,43 ± 0,13	2,05 ± 0,08
Lys	1,95 ± 0,10	1,57 ± 0,13	2,35 ± 0,15	1,29 ± 0,11	2,60 ± 0,23	2,44 ± 0,07	2,13 ± 0,17	1,84 ± 0,08
Arg	3,45 ± 0,28	2,64 ± 0,05	4,49 ± 0,34	2,99 ± 0,13	5,01 ± 0,22	4,20 ± 0,18	4,03 ± 0,24	3,32 ± 0,26
Cys	2,98 ± 0,09	2,79 ± 0,11	3,54 ± 0,05	2,89 ± 0,14	3,78 ± 0,13	3,29 ± 0,00	3,41 ± 0,06	3,37 ± 0,04
Met	2,01 ± 0,12	1,70 ± 0,05	2,13 ± 0,05	1,66 ± 0,06	2,29 ± 0,03	1,94 ± 0,01	2,04 ± 0,07	1,91 ± 0,08
∑ AMK	109,53	80,71	114,66	94,25	129,47	105,16	107,7	88,02
∑ EAA	27,06	20,81	30,24	24,56	33,19	27,98	28,15	20,47
∑ NEAA	82,47	59,9	84,42	69,69	96,28	77,18	79,55	67,55

Tabulka 9: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu v g.16 g⁻¹ N

AMK	Obsah aminokyselin [g.16 g ⁻¹ N]					
	Potenzial Čáslav	Potenzial Uh. Ostroh	Turandot Čáslav	Turandot Uh. Ostroh	Matylda Čáslav	Matylda Uh. Ostroh
Asp	4,36 ± 0,12	3,65 ± 0,12	4,36 ± 0,19	3,06 ± 0,18	4,23 ± 0,12	3,06 ± 0,11
Thr	2,44 ± 0,13	2,15 ± 0,12	1,82 ± 0,13	1,52 ± 0,12	1,72 ± 0,01	1,45 ± 0,03
Ser	3,72 ± 0,18	3,10 ± 0,15	2,15 ± 0,14	1,75 ± 0,12	1,89 ± 0,14	1,62 ± 0,13
Glu	38,12 ± 1,54	31,72 ± 1,37	38,60 ± 3,52	29,25 ± 1,63	40,15 ± 1,08	29,15 ± 2,03
Pro	12,88 ± 0,40	10,40 ± 0,45	12,23 ± 0,96	9,75 ± 0,39	13,12 ± 0,81	9,45 ± 0,25
Gly	3,76 ± 0,19	3,12 ± 0,11	3,66 ± 0,32	2,89 ± 0,15	3,64 ± 0,11	2,73 ± 0,25
Ala	3,01 ± 0,20	2,55 ± 0,07	2,86 ± 0,26	2,19 ± 0,11	2,97 ± 0,08	2,21 ± 0,15
Val	4,94 ± 0,22	4,18 ± 0,12	4,25 ± 0,21	3,58 ± 0,29	4,62 ± 0,09	3,54 ± 0,08
Ile	4,15 ± 0,08	3,58 ± 0,14	3,93 ± 0,34	3,12 ± 0,19	4,08 ± 0,14	3,06 ± 0,03
Leu	7,52 ± 0,25	6,49 ± 0,26	7,19 ± 0,70	5,74 ± 0,36	7,60 ± 0,20	5,78 ± 0,23
Tyr	2,90 ± 0,08	2,36 ± 0,10	2,99 ± 0,22	2,24 ± 0,11	2,72 ± 0,04	2,15 ± 0,18
Phe	5,28 ± 0,08	4,49 ± 0,19	5,26 ± 0,50	4,10 ± 0,22	5,79 ± 0,09	4,31 ± 0,17
His	2,48 ± 0,12	2,15 ± 0,10	2,37 ± 0,23	1,89 ± 0,10	2,49 ± 0,05	1,91 ± 0,11
Lys	2,22 ± 0,02	1,93 ± 0,11	2,05 ± 0,11	1,68 ± 0,10	2,18 ± 0,08	1,75 ± 0,13
Arg	4,36 ± 0,03	3,98 ± 0,24	4,47 ± 0,14	3,22 ± 0,13	4,21 ± 0,13	3,28 ± 0,25
Cys	3,61 ± 0,20	3,41 ± 0,09	3,59 ± 0,18	3,59 ± 0,10	1,91 ± 0,06	1,96 ± 0,11
Met	2,01 ± 0,01	1,95 ± 0,03	2,21 ± 0,06	2,02 ± 0,05	1,43 ± 0,03	1,49 ± 0,00
∑ AMK	107,77	91,21	103,96	81,59	104,73	78,91
∑ EAA	28,56	24,77	26,71	21,76	27,42	21,38
∑ NEAA	79,21	66,44	77,25	59,83	77,31	57,53

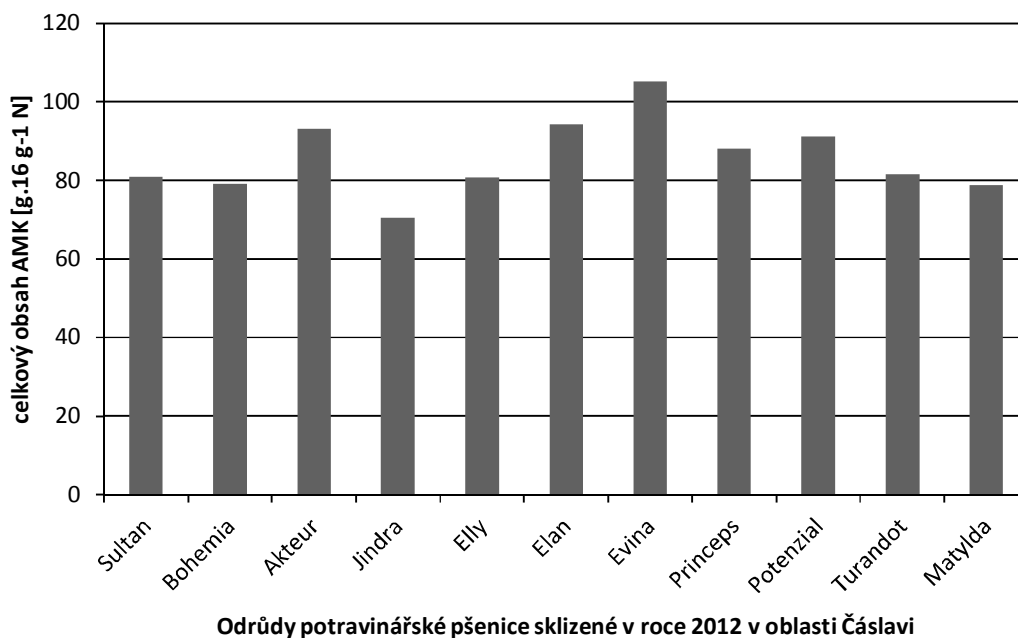
U vzorků potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi byl nejnižší celkový obsah AMK u odrůdy Jindra a to $70,49 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$. Naopak nejvyšší celkový obsah AMK měla odrůda Evina a to $105,16 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$. Nejnižší obsah esenciálních AMK byl shodně jako u celkového množství AMK u odrůdy Jindra ($18,75 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$) a nejvyšší taktéž shodně u odrůdy Evina ($27,98 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$). Nejnižší obsah neesenciálních AMK vykazovala odrůda Jindra ($51,74 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$) a naopak nejvyšší odrůda Evina ($77,18 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$).

Při analýze obsahu AMK u všech jedenácti odrůd potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi bylo zjištěno, že prokazatelně nejvyšší průměrný obsah byl zaznamenán u kyseliny glutamové. Obsah kyseliny glutamové se pohyboval v rozmezí cca $23,99 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ (Jindra) – $38,03 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ (Evina).

Druhou nejvíce zastoupenou AMK byl prolin. Nejvíce prolinu obsahovala odrůda Evina ($12,51 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$) a naopak nejméně odrůda Bohemia ($8,84 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$).

V pořadí třetí nejvíce zastoupenou AMK byl leucin, jehož obsah se pohyboval v rozmezí $5,10 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ (Jindra) – $7,19 \text{ g} \cdot 16 \text{ g}^{-1} \text{ N}$ (Evina).

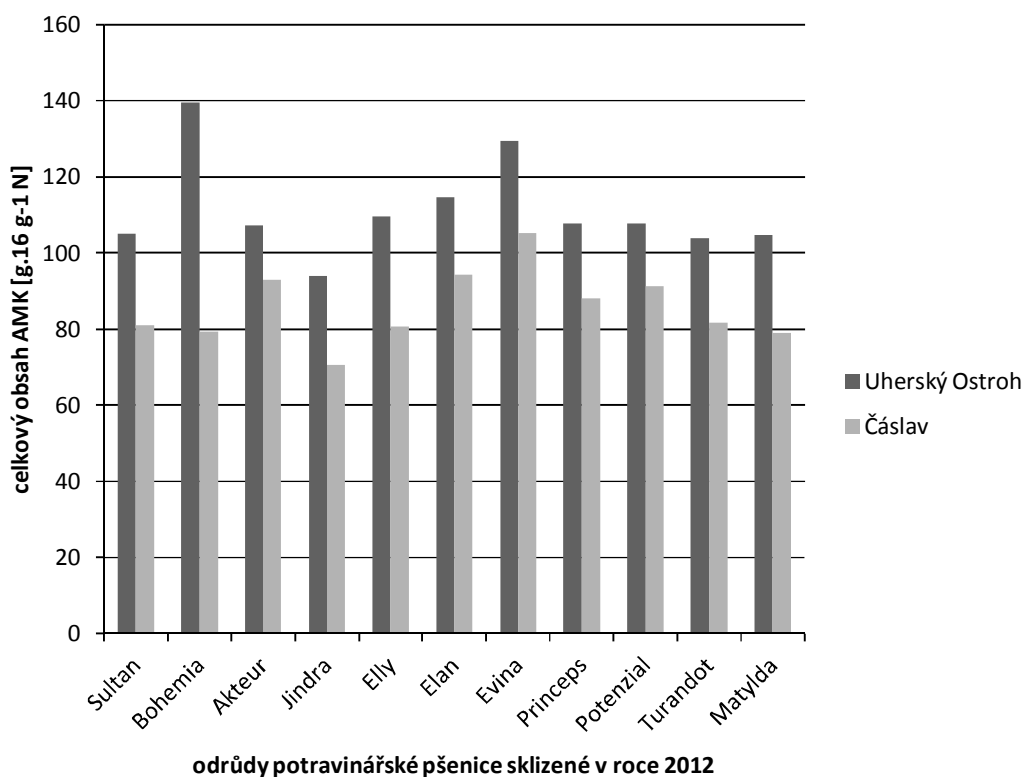
Mezi AMK, jejichž obsah byl vyhodnocen jako nejnižší, patřily u vzorků pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi lysin, histidin, methionin, tyrosin, threonin a alanin.



Obrázek 28: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v jedenácti vzorcích ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi

Na obrázku 28 jsou graficky vyjádřeny celkové obsahy aminokyselin u jedenácti odrůd ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi. Z grafu je na první pohled patrné, že nejvyšší celkový obsah AMK vykazovala odrůda Evina a naopak nejnižší odrůda Jindra.

Na obrázku 29 jsou pro srovnání uvedeny výsledky stanovení celkového množství aminokyselin u jedenácti odrůd ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v odlišných oblastech – v Čáslavi a Uherském Ostrohu. Z grafu je patrné, že vzorky sklizené v oblasti Uherského Ostrohu vykazují výrazně vyšší hodnoty celkového množství aminokyselin.



Obrázek 29: Grafické porovnání výsledků stanovení obsahu AMK u vzorků stejných odrůd sklizených ve dvou odlišných oblastech

Celkový obsah aminokyselin u vzorků introgresivní hybridní linie stoupal v následujícím pořadí: 1D-6 < 1D-4 < 1D-5 < 1D-8 < 1D-3a < 1D-1 < 1D-7 < 1D-2 < 1D-3b. U odrůd potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 stoupal celkový obsah aminokyselin v pořadí: Rapsodia < Etela < Globus < Ludwig < Samanta < Cubus < Meritto. U vzorků pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu stoupal celkový obsah AMK následovně: Jindra < Turandot < Matylida < Sultan < Akteur < Princeps < Potenzial < Elly < Elan < Evina < Bohemia. A u vzorků pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi stoupal cel-

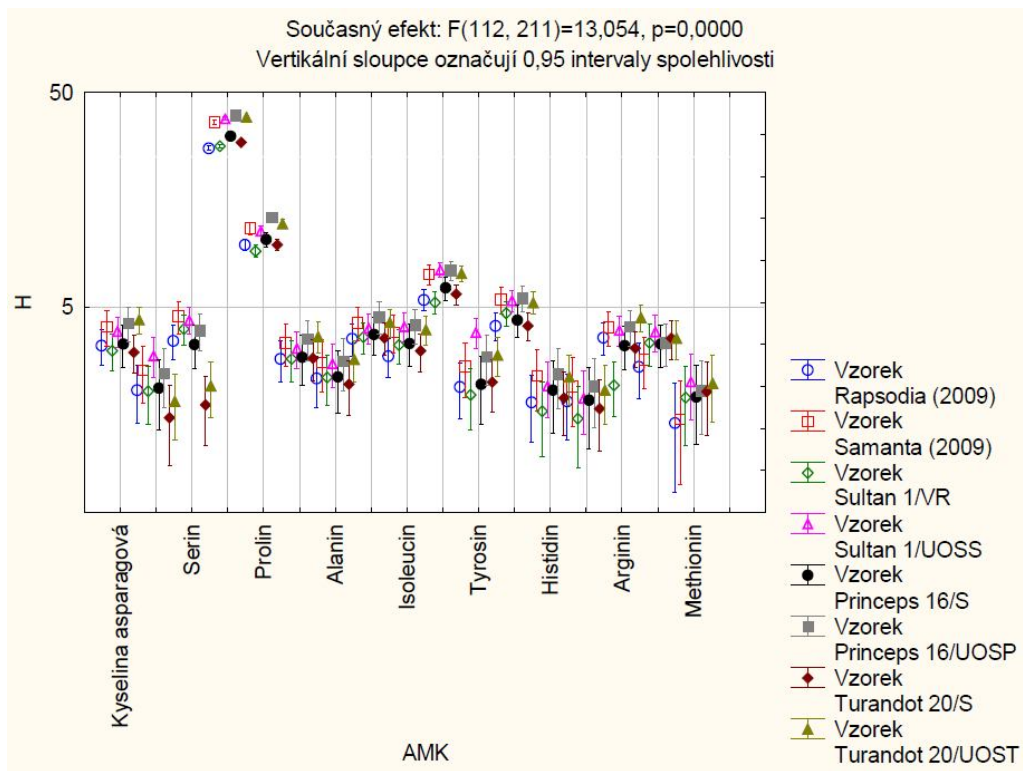
kový obsah AMK v tomto pořadí: Jindra < Matylida < Bohemia < Elly < Sultan < Turandot < Princeps < Potenzial < Akteur < Elan < Evina. Nejvýraznější rozdíl byl zaznamenán u odrůdy Bohemia, v oblasti Uherského Ostrohu dosahoval celkový obsah AMK nejvyšší hodnoty ze všech odrůd (139,48 g.16 g⁻¹ N), zatímco v oblasti Čáslavi byl celkový obsah AMK třetí nejnižší (79,22 g.16 g⁻¹ N). Odrůdy potravinářské pšenice pěstované v oblasti Uherského Ostrohu dosahovaly výrazně vyšších hodnot celkového obsahu AMK než tožné odrůdy pěstované v oblasti Čáslavi – cca o 13,3 % (Akteur) až 43 % (Bohemia).

Ze všech vzorků vykazuje vůbec nejnižší celkový obsah aminokyselin odrůda Jindra sklizená v roce 2012 v oblasti Čáslavi (70,49 g.16 g⁻¹ N) a nejvyšší celkový obsah aminokyselin vzorek introgresivní hybridní linie 1D-3b (145,14 g.16 g⁻¹ N).

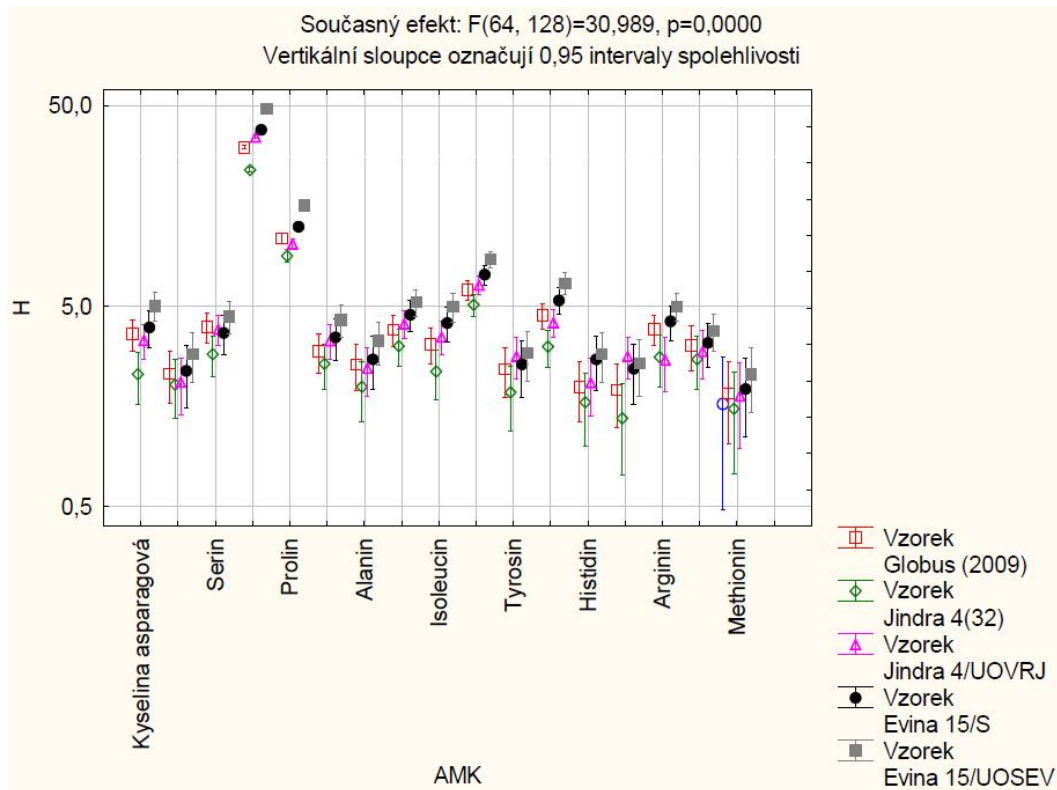
Na obrázcích 30 až 34 jsou statisticky vyjádřeny dekompozice efektivní hypotézy u vzorků ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 a u vzorků ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu. Hodnota H na ose y vyjadřuje obsah konkrétní aminokyseliny v g.16 g⁻¹ N. Pořadí 17 aminokyselin na obrázcích zleva doprava je následující: Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Ile, Leu, Tyr, Phe, His, Lys, Arg, Cys a Met.

Na obrázku 30 je vyjádřena dekompozice efektivní hypotézy pro dva vzorky ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 (odrůda Rapsodia a Samanta) a pro šest vzorků ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu (odrůdy Turandot, Sultan a Princeps). Z obrázku je výrazný rozdíl v hodnotách mezi obsahy jednotlivých aminokyselin u různých vzorků ozimé potravinářské pšenice (např. u aminokyselin kyselina glutamová a prolin je spolehlivost poměrně vysoká, zatímco u aminokyselin methionin, lysin, tyrosin, threonin, alanin a histidin naopak nízká). Některé vzorky ozimé potravinářské pšenice vykazují velký rozsah intervalu spolehlivosti, čímž se snižuje spolehlivost výsledků.

Na obrázku 31 je vyjádřena dekompozice efektivní hypotézy pro jeden vzorek ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 (odrůda Globus) a pro čtyři vzorky ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu (odrůdy Jindra a Evina). U aminokyselin prolin a kyselina glutamová je spolehlivost výsledků opět poměrně vysoká. Naopak u aminokyselin methionin, lysin, histidin, tyrosin, serin a threonin je spolehlivost výsledků nízká.

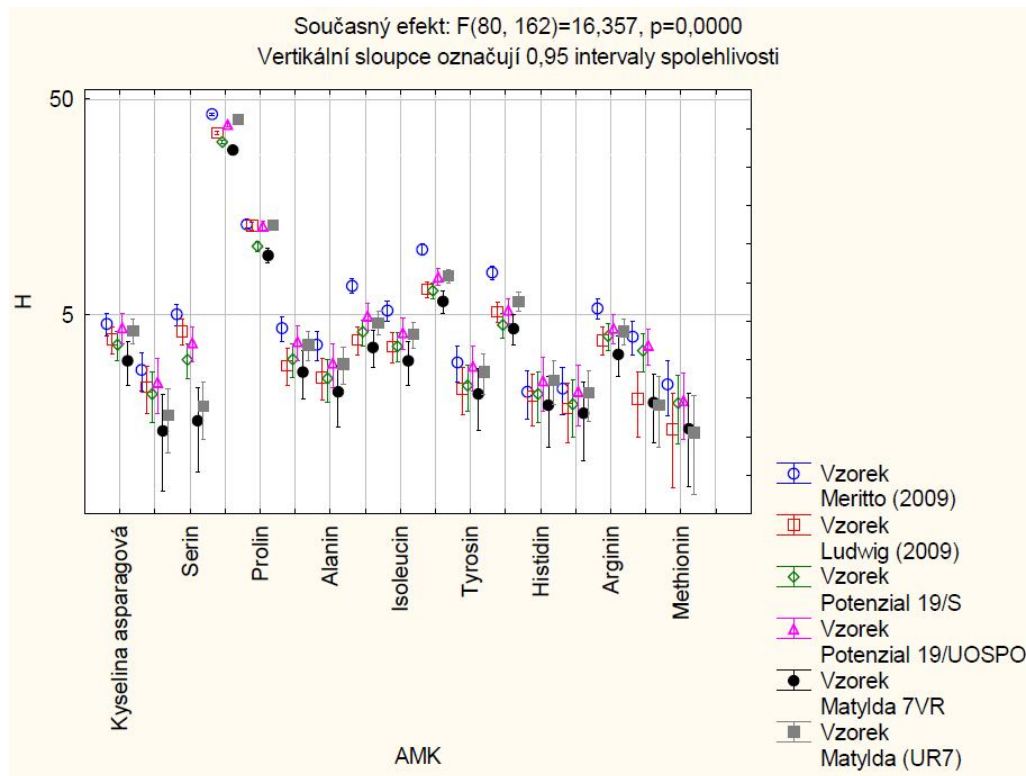


Obrázek 30: Dekompozice efektivní hypotézy osmi vzorků potravinářské pšenice



Obrázek 31: Dekompozice efektivní hypotézy pěti vzorků potravinářské pšenice

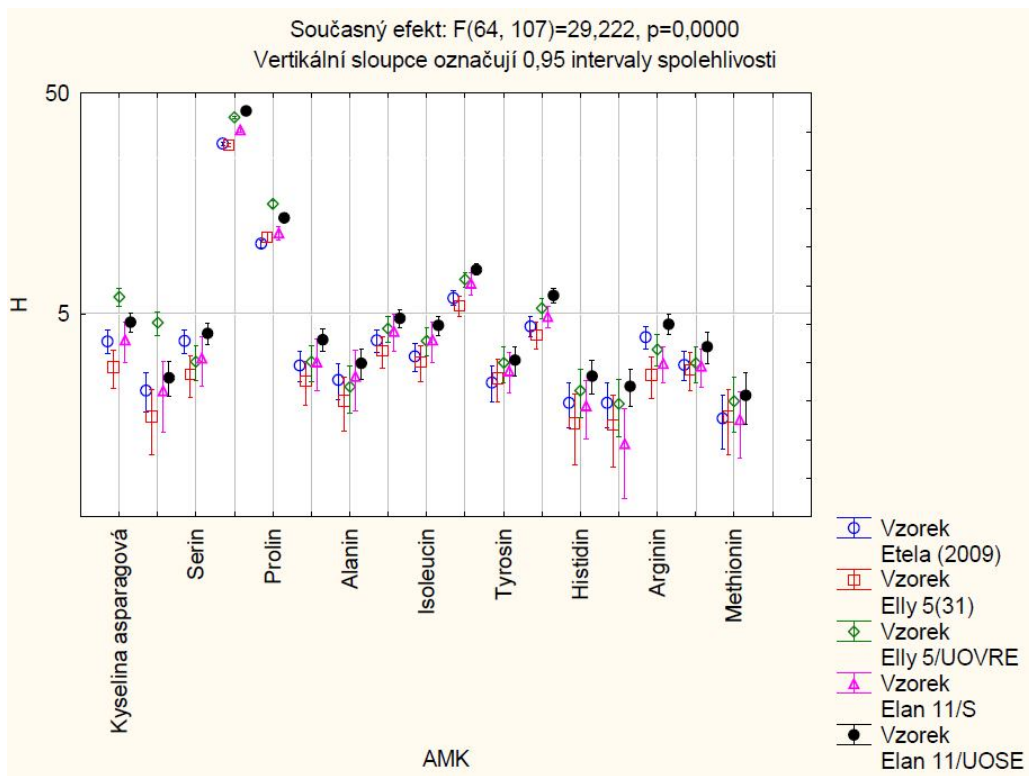
Na obrázku 32 je vyjádřena dekompozice efektivní hypotézy dvou vzorků ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 (odrůdy Meritto a Ludwig) a čtyř vzorků ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu (odrůdy Potenzial a Matylda). Nejlépe jsou na tom u všech vzorků potravinářské pšenice uvedené na obrázku 32 aminokyseliny prolin, kyselina glutamová, leucin a fenylalanin. Hůře jsou na tom aminokyseliny methionin, cystein, lysin, histidin, tyrosin, serin a threonin.



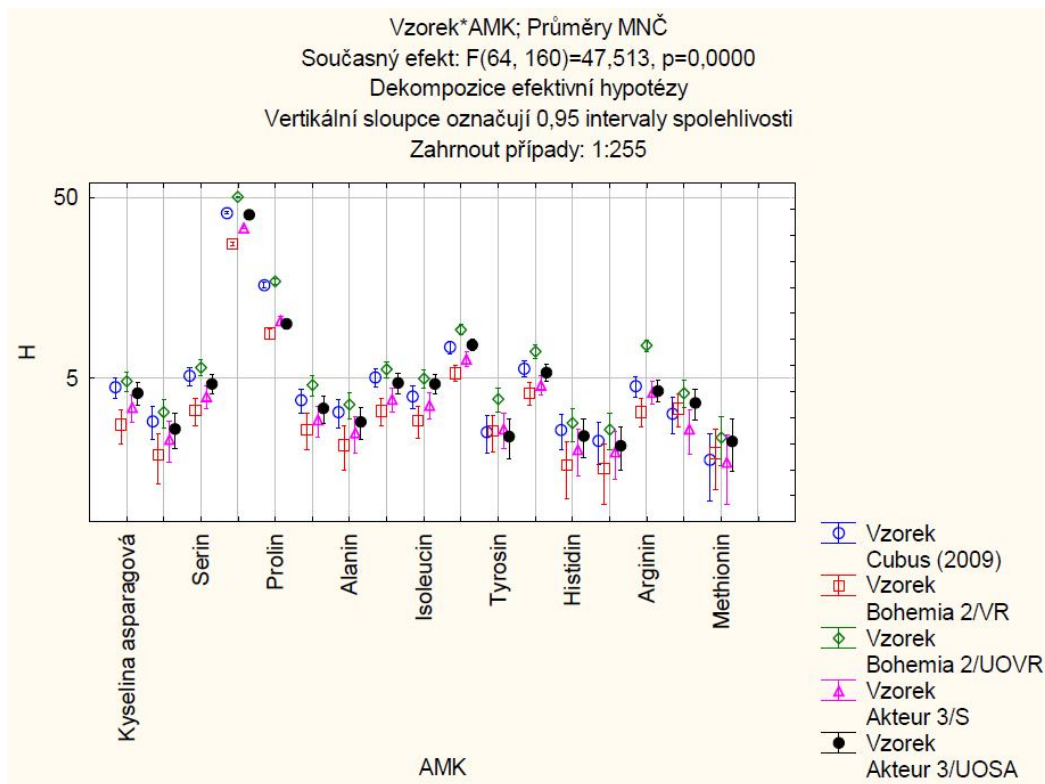
Obrázek 32: Dekompozice efektivní hypotézy šesti vzorků potravinářské pšenice

Na obrázku 33 je vyjádřena dekompozice efektivní hypotézy jednoho vzorku ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 (odrůda Etela) a 4 vzorků ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v obou oblastech (Elan a Elly). Z obrázku je patrná poměrně vysoká spolehlivost u AMK prolin, kyselina glutamová, leucin a fenylalanin. A naopak nízká spolehlivost je u aminokyselin methionin, histidin, lysin, serin, alanin a threonin.

A na obrázku 34 je vyjádřena dekompozice efektivní hypotézy jednoho vzorku ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 (odrůda Cubus) a čtyř vzorků ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v obou oblastech (odrůdy Bohemia a Akteur). Nejlépe jsou na tom u všech vzorků potravinářské pšenice uvedené na obrázku 34 aminokyseliny prolin, kyselina glutamová, serin, leucin a fenylalanin.



Obrázek 33: Dekompozice efektivní hypotézy pěti vzorků potravinářské pšenice



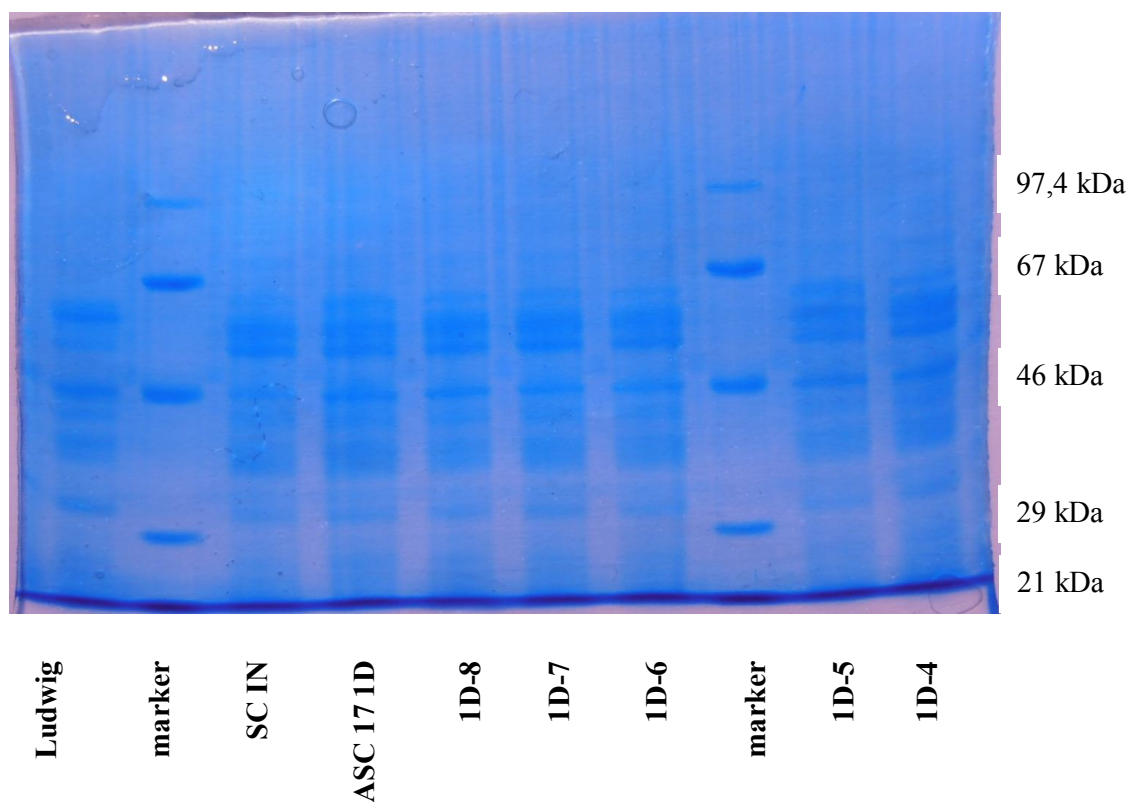
Obrázek 34: Dekompozice efektivní hypotézy pěti vzorků potravinářské pšenice

Nejhůře jsou na tom aminokyseliny methionin, histidin, threonin a lysin.

6.2 Výsledky stanovení bílkovinných frakcí pomocí SDS-PAGE

U vzorků introgresivní hybridní linie i vzorků potravinářské pšenice byla provedena polyakrylamidová gelová elektroforéza, která je schopna použitou metodou zachytit molekuly proteinů o molekulové hmotnosti 3 kDa a vyšší. Výsledky polyakrylamidové elektroforézy byly podrobeny shlukové analýze, ale vzhledem k nedostatečnému zbarvení bendů na některých gelech byla analýza neúspěšná. Na obrázku 35 až 39 jsou vyobrazeny gely této analýzy. Sledovaným znakem byla molekulová hmotnost proteinů v daných vzorcích introgresivní hybridní linie a vzorcích ozimé potravinářské pšenice.

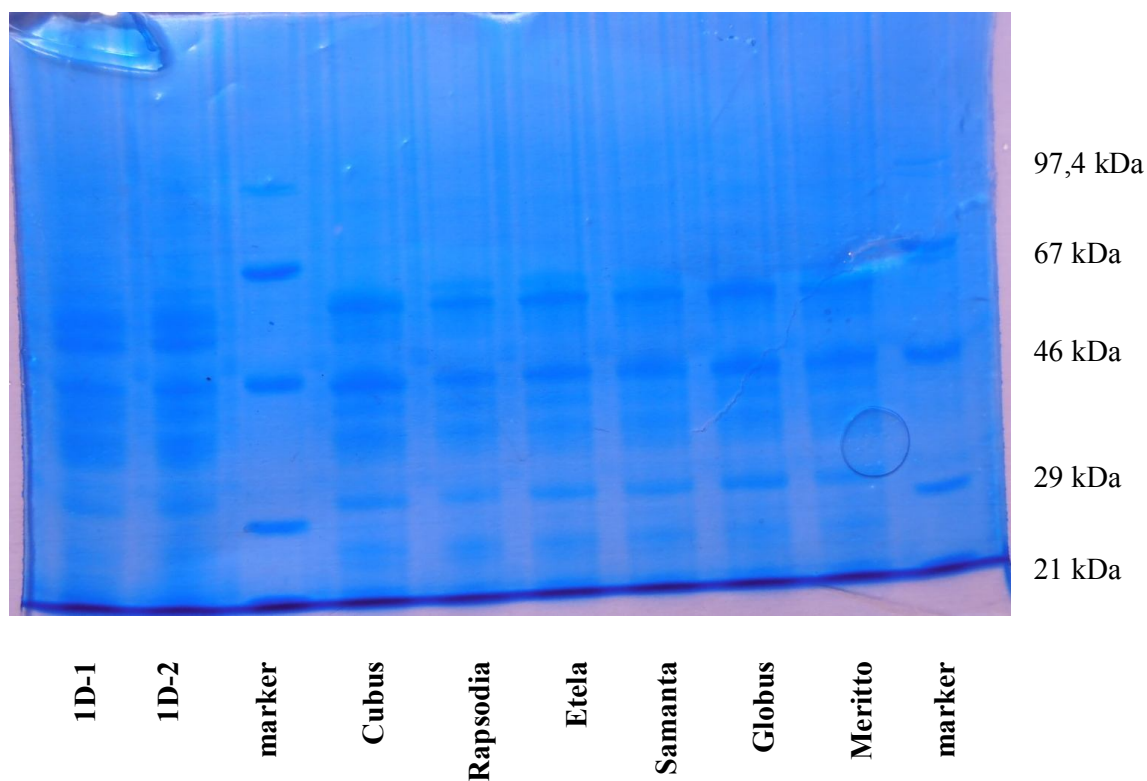
Na obrázku 35 jsou znázorněny elektroforetické mobility vzorků introgresivní hybridní linie 1D-4, 1D-5, 1D-6, 1D-7 a 1D-8 a vzorku potravinářské pšenice sklizené v roce 2009, odrůda Ludwig. Vzorky novošlechtění označené SC IN a ASC 17 1D nebyly v rámci diplomové práce hodnoceny.



Obrázek 35: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE

Vzorky introgresivní hybridní linie jsou si ve složení bílkovinných frakcí značně podobné. Na polyakrylamidovém gelu vytvořily všechny vzorky introgresivní hybridní linie čtyři skupiny bendů na základě jejich molekulové hmotnosti: první skupina bendů byla mezi molekulovou hmotností 21 až 29 kDa, druhá užší skupina bendů byla mírně nad molekulovou hmotností 29 kDa, třetí skupina bendů byla umístěna od poloviční vzdálenosti mezi molekulovými hmotnostmi 29-46 kDa až do molekulové hmotnosti 46 kDa a poslední skupina bendů je umístěna ve středu mezi molekulovými hmotnostmi 46 a 67 kDa. Ve vzorcích introgresivní hybridní linie nebyly na polyakrylamidových gelech pozorovány bílkovinné frakce s molekulovou hmotností nad 67 kDa.

Na obrázku 36 jsou znázorněny elektroforetické mobility vzorků introgresivní hybridní linie 1D-1 a 1D-2 a vzorky potravinářské pšenice sklizené v roce 2009: odrůdy Meritto, Globus, Samanta, Etela, Rapsodia a Cubus.

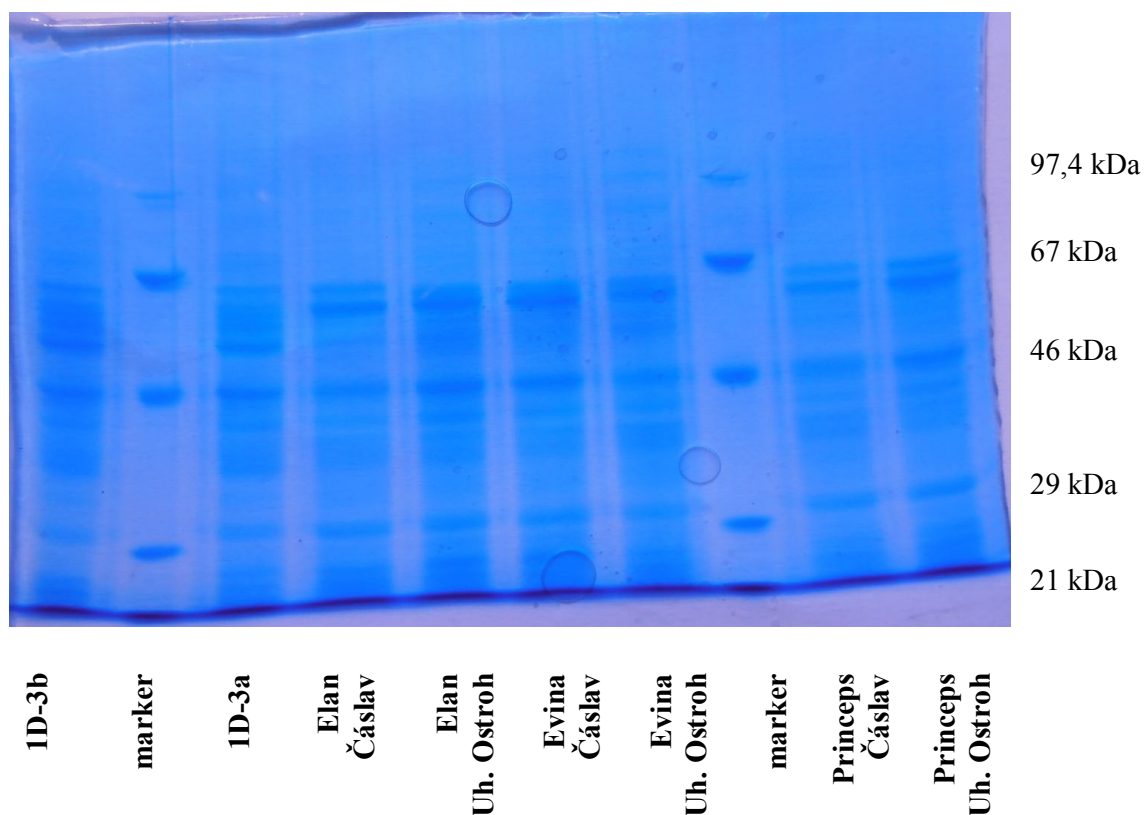


Obrázek 36: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE

Vzorky sedmi odrůd potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2009 mají složení bílkovinných frakcí také značně podobné. Všechny vzorky potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 mají skupinu bendů mezi molekulovými hmotnostmi

21 až 29 kDa, těsně nad molekulovou hmotností 29 kDa je přítomen osamocený zřetelně viditelný bend. Druhá skupina bendů začíná v polovině mezi molekulovými hmotnostmi 29 a 46 kDa a končí výrazně viditelným bendem o molekulové hmotnosti 46 kDa. Ve 2/3 vzdálenosti mezi molekulovými hmotnostmi 46 a 67 kDa je osamocený zřetelně viditelný bend. Ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 nebyly na polyakrylamidových gelech pozorovány bílkovinné frakce s molekulovou hmotností nad 67 kDa.

Na obrázku 37 jsou znázorněny elektroforetické mobility vzorků introgresivní hybridní linie 1D-3a a 1D-3b a vzorků potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi i Uherského Ostrohu: odrůdy Elan, Evina a Princeps.



Obrázek 37: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE

Jednotlivé dvojice odrůd potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a oblasti Uherského Ostrohu vykazují na polyakrylamidových gelech značnou podobnost ve složení bílkovinných frakcí.

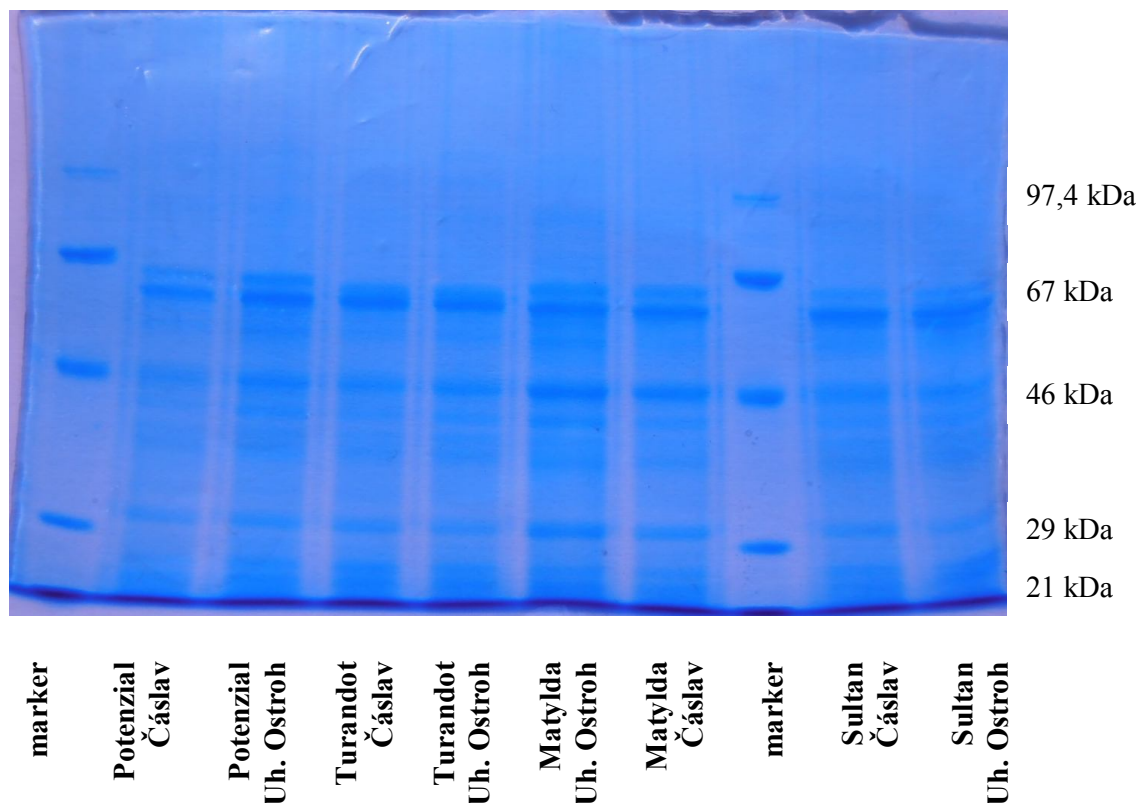
Odrůda Princeps sklizená v obou oblastech v roce 2012 obsahuje skupinu bendů mezi molekulovou hmotností 21-29 kDa, těsně nad molekulovou hmotností 29 kDa byl zřetelně viditelný osamocený bend, další skupina bendů je na polyakrylamidovém gelu vidět od poloviční vzdálenosti mezi molekulovými hmotnostmi 29 až 46 kDa a je ukončena zřetelně viditelným bendem o molekulové hmotnosti 46 kDa. Těsně před molekulovou hmotností 67 kDa jsou dva zřetelně viditelné bendy. U odrůdy Princeps nebyly na polyakrylamidových gelech prokázány bílkovinné frakce s molekulovou hmotností nad 67 kDa.

Odrůda Elan sklizená v roce 2012 v oblasti Čáslavi má spektrum elektroforetických mobilit shodný jako odrůda Princeps.

Odrůda pšenice Evina sklizená v obou oblastech v roce 2012 a odrůda Elan sklizená v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu obsahují skupinu bendů mezi molekulovou hmotností 21-29 kDa, těsně nad molekulovou hmotností 29 kDa je na polyakrylamidovém gelu přítomen osamocený zřetelně viditelný bend, další skupina bendů je od poloviční vzdálenosti molekulových hmotností 29 a 46 kDa a je ukončena zřetelně viditelným bendem o molekulové hmotnosti 46 kDa. Poslední skupinka bendů je od poloviční vzdálenosti mezi molekulovými hmotnostmi 46-67 kDa až těsně pod molekulovou hmotnost 67 kDa. U odrůdy Evina z oblasti Čáslavi a Elan z obou oblastí sklizně nebyly na polyakrylamidových gelech pozorovány bílkovinné frakce s molekulovou hmotností nad 67 kDa. Odrůda Evina z oblasti Uherského Ostrohu má na polyakrylamidovém gelu 2 slabě zbarvené bendy s molekulovou hmotností těsně pod 97,4 kDa a přímo o molekulové hmotnosti 97,4 kDa.

Na obrázku 38 jsou znázorněny elektroforetické mobility vzorků potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi i Uherského Ostrohu: odrůdy Potenzial, Turandot, Matylida a Sultan.

Odrůdy potravinářské pšenice Potenzial, Matylida a Sultan sklizené v obou oblastech v roce 2012 mají spektrum elektroforetických mobilit shodný jako odrůda Princeps. Odrůda potravinářské pšenice Turandot sklizená v obou oblastech v roce 2012 má spektrum elektroforetických mobilit shodný s odrůdou Evina. U odrůd potravinářské pšenice Potenzial, Turandot, Matylida a Sultan sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu nebyly na polyakrylamidových gelech pozorovány bílkovinné frakce s molekulovou hmotností nad 67 kDa.



Obrázek 38: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE

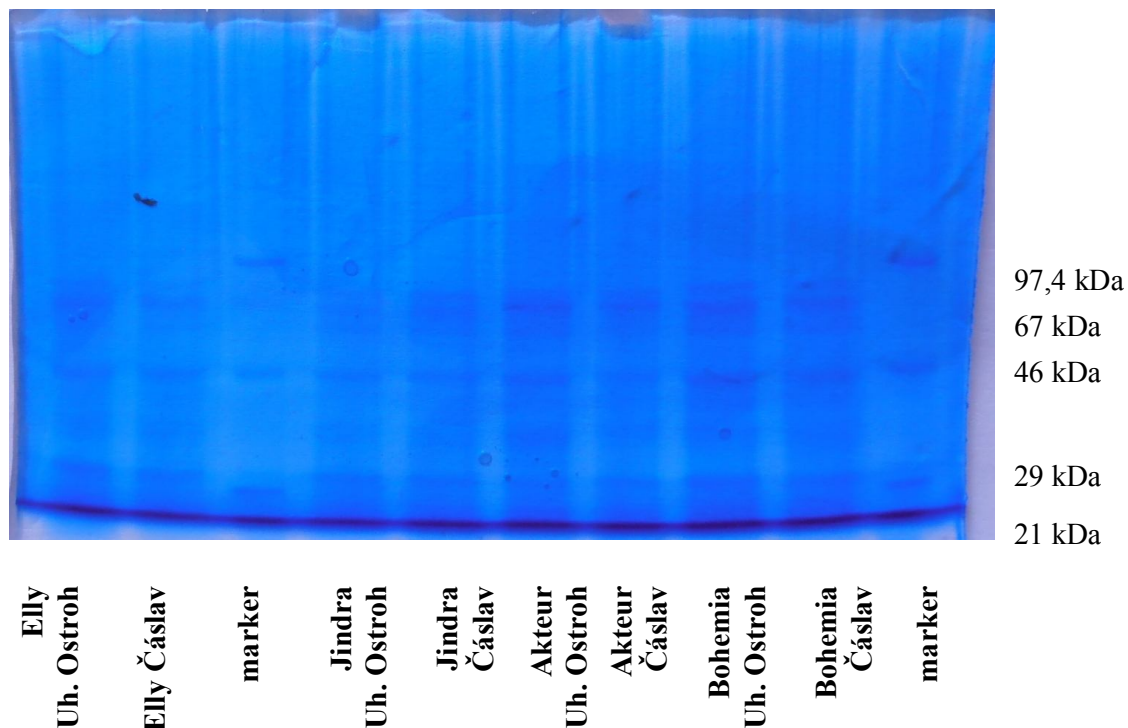
Na obrázku 39 jsou znázorněny elektroforetické mobility vzorků potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi i Uherského Ostrohu: odrůdy Elly, Jindra, Akteur a Bohemia.

Vyhodnocení polyakrylamidového gelu s odrůdami potravinářské pšenice Elly, Jindra, Akteur a Bohemia sklizené v roce 2012 v obou oblastech bylo problematické kvůli špatnému barevnému kontrastu.

Odrůdy Bohemia, Jindra a Elly sklizené v obou oblastech mají na polyakrylamidovém gelu skupinu bendů od molekulové hmotnosti 21 kDa zakončenou ostře viditelným bendem nad molekulovou hmotností 29 kDa. Další skupina bendů začíná v třetinové vzdálenosti mezi molekulovou hmotností 29 a 46 kDa a končí ostře viditelným bendem o molekulové hmotnosti 46 kDa. Těsně pod molekulovou hmotností 67 kDa mají skupinku bendů, která končí dvěma ostře viditelnými benty o molekulové hmotnosti 67 kDa.

Odrůda potravinářské pšenice Akteur sklizená v obou oblastech má průběh elektroforetických mobilit podobný, ale těsně pod molekulovou hmotností 67 kDa obsahuje skupinku

bendů, ve které je ostře viditelný pouze jeden bend o molekulové hmotnosti 67 kDa.



Obrázek 39: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE

U odrůd potravinářské pšenice Elly, Bohemia, Jindra a Akteur sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi i Uherského Ostrohu nebyly na polyakrylamidových gelech pozorovány bílkovinné frakce s molekulovou hmotností nad 67 kDa.

6.3 Diskuze získaných výsledků

U 29 vzorků potravinářské pšenice (*Triticum aestivum* L.) a 9 vzorků introgresivní hybridní linie byl sledován obsah aminokyselin a složení bílkovinných frakcí metodou SDS-PAGE. Mezi sledované aminokyseliny patřila kyselina asparagová, threonin, serin, kyselina glutamová, prolin, glycin, alanin, valin, isoleucin, leucin, tyrosin, fenylalanin, histidin, cystein, methionin, lysin a arginin.

Při analýze obsahu aminokyselin ve všech vzorcích pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) i vzorcích introgresivní hybridní linie bylo zjištěno, že z neesenciálních aminokyselin prokazatelně převládá kyselina glutamová (přibližně 1/3 obsahu všech aminokyselin). Druhou nejvíce zastoupenou aminokyselinou byl prolin (cca 1/10 obsahu všech aminokyselin).

Získané výsledky korespondují s údaji zjištěnými v literatuře, že zcela dominantní aminokyselinou v pšenici bývá kyselina glutamová následovaná prolinem [4][26][84][85].

Z výsledků diplomové práce vyplývá, že suma esenciálních aminokyselin představuje v pšeničné bílkovině relativně nízký podíl, nepřesahující 30 %, což je v souladu s literárními poznatky [86]. Nejnižší podíl byl zaznamenán u odrůdy Princeps sklizené v oblasti Čáslavi (23,26 %) a naopak nejvyšší u odrůdy Meritto (29,90 %). Zbytek je tvořen neesenciálními aminokyselinami.

Z esenciálních aminokyselin je nejvíce zastoupena aminokyselina leucin, následovaná aminokyselinami fenylalanin, valin a arginin. O těchto souvislostech referuje rovněž Pomeranz, 1988 [48]; Steinbachová a kol., 2005 [73]. Esenciální aminokyselinou, jejíž obsah byl vyhodnocen jako nejnižší, byla u vzorků introgresivní hybridní linie a vzorků potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 (oblast Čáslavi a Uherského Ostrohu) aminokyselina lysin. V dostupné literatuře [4][26][36][38][84][80] bývá jako limitující aminokyselina pšenice uváděn právě lysin. Výsledky diplomové práce toto zjištění částečně potvrzují. U vzorků potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 byl limitující esenciální aminokyselinou methionin. Mezi další esenciální aminokyseliny, jejichž obsah byl u všech vzorků vyhodnocen jako nejnižší, patří kromě zmiňovaného lysinu a methioninu také histidin, threonin a tryptofan. V minimu je zastoupena i další sirá neesenciální aminokyselina cystein. Tyto skutečnosti uvádí také Pomeranz, 1988 [48]; Steinbachová a kol., 2005 [73].

Sírné aminokyseliny (především cystein) podstatně ovlivňují kvalitu bílkovin, především lepkových a jejich rostoucí koncentrace má pozitivní vliv na reologické vlastnosti těsta [87]. Nedostatek sirných AMK má za následek zvýšení syntézy bílkovin chudých na síru jako jsou ω -gliadin a vysokomolekulární podjednotky gluteninu (HMW). Jsou vytvořeny jako náhrada za bílkoviny bohaté na síru – α - a γ -gliadin a nízkomolekulární jednotky gluteninu (LMW) [80][88]. Z výsledků diplomové práce vyplývá, že nejnižší obsah sirných aminokyselin vykazovaly odrůdy Matylda, Ludwig, Rapsodia a Jindra. Naopak nejvyšší obsah sirných aminokyselin měly odrůdy Bohemia, Meritto a Turandot. Vzorky introgresivní hybridní linie vykazovaly oproti ostatním vzorkům značně vyšší obsah sirných aminokyselin, přičemž nejvyšší obsah měl vzorek 1D-5 a 1D-6.

Nejvyšší obsahy aminokyselin vykazovaly vzorky introgresivní hybridní linie (průměrný celkový obsah AMK 123,33 g.16 g⁻¹ N), o něco nižší obsah pak měly vzorky jedenácti odrůd ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu

(průměrný celkový obsah AMK 111,23 g.16 g⁻¹ N), dále vzorky potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 (průměrný celkový obsah AMK 99,68 g.16 g⁻¹ N) a nejnižší celkové obsahy aminokyselin měly vzorky sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi (průměrný celkový obsah AMK 85,78 g.16 g⁻¹ N). Zjištěné výsledky potvrzují skutečnost, že obsah aminokyselin je závislý na genotypu pšenice, geograficko-klimatických a pěstitelských podmínkách a také roku sklizně [5][30][73]. Burešová a kol., 2010 [89] uvádějí, že kvalita pšeničného zrna sklizeného v roce 2009 je nižší, čemuž odpovídají i nižší celkové obsahy aminokyselin a nižší obsahy sirných aminokyselin u sedmi vzorků sklizených v tomto roce. Watanabe *et al.*, 2006 [90] uvádějí, že *Aegilops tauschii* ve vzorcích introgresivní hybridní linie je považován za cenný zdroj pro zlepšení vlastností pšenice seté (*Triticum aestivum* L.), což dokládají nejvyšší celkové obsahy AMK a především i nejvyšší obsahy sirných AMK ve všech předložených vzorcích.

U vzorků potravinářské pšenice a vzorků introgresivní hybridní linie byla provedena polyakrylamidová elektroforéza.

Graveland *et al.*, 1982 [80] uvádějí, že albuminy mají poměrně malou molekulovou hmotnost (15-50 kDa) a představují cca 15 % bílkovin pšeničného zrna. Globuliny představují cca 7 % bílkovin pšeničného zrna a jejich molekulová hmotnost je značně variabilní a pohybuje se do 58 kDa [4]. Gluteliny se skládají z různých podjednotek navzájem vázaných mezimolekulárními disulfidovými vazbami, liší se molekulovou hmotností a molárním složením [80]. Jsou považovány za nejvýznamnější složku pšeničných lepkových bílkovin s rozhodujícím vlivem na pekárenskou kvalitu zrna. Představují cca 46 % bílkovin pšeničného zrna. Jejich molekulová hmotnost může dosahovat několika set až milionů Da. Podle molekulové hmotnosti se dělí na vysokomolekulární (80 až 150 kDa) a nízkomolekulární (30 až 51 kDa) podjednotky [4]. Vysokomolekulární gluteniny vykazují nižší elektroforetickou pohyblivost ve srovnání s ostatními endospermálními proteiny kvůli vysoké molekulové hmotnosti [79]. Gliadiny tvoří velmi heterogenní, ale homologní skupinu polypeptidů s průměrnou molekulovou hmotností 20 až 70 kDa a představují cca 33 % bílkovin pšeničného zrna [91].

Velmi často je prokazován přechod těžké frakce HMW (vysokomolekulárních) gluteninů do spektra gliadinů a rovněž překrývání lehčího gluteninového spektra LMW (nízkomolekulárních) s α , β a γ gliadiny v prostředí SDS-PAGE [91].

Pouze u odrůdy Evina sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu byly na polyakrylamidových gelech pozorovány bendy s molekulovou hmotností kolem 97,4 kDa. Pravděpodobně se jedná o vysokomolekulární podjednotky gluteninů, jejichž molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí 80-150 kDa. U všech ostatních vzorků nebyly na polyakrylamidových gelech pozorovány bílkovinné frakce s molekulovou hmotností nad 67 kDa, což je způsobeno nižší elektroforetickou pohyblivostí vysokomolekulárních frakcí.

U všech vzorků byly na polyakrylamidových gelech pozorovány čtyři skupiny bendů. První skupina bendů začínala od molekulové hmotnosti 21 kDa a končila před molekulovou hmotností 29 kDa. V tomto případě může jít o monomery albuminů, globuliny nebo gliadiny. Dále byl na polyakrylamidových gelech přítomen osamocený ostře viditelný bend s molekulovou hmotností mírně nad 29 kDa. Další, v pořadí třetí, skupina bendů byla umístěna od poloviční vzdálenosti mezi molekulovou hmotností 29-46 kDa a končila ostře viditelným bendem o molekulové hmotnosti 46 kDa. V obou případech se může jednat o polymery albuminů, polymery globulinů, gliadiny nebo nízkomolekulární gluteniny. Poslední, čtvrtá, skupina bendů byla na polyakrylamidových gelech umístěna těsně pod molekulovou hmotností, případně až do molekulové hmotnosti 67 kDa. Zde se pravděpodobně jedná o gliadiny.

ZÁVĚR

Pšenice je ve středoevropských podmínkách pro člověka nejvýznamnějším zdrojem rostlinných bílkovin. Cílem diplomové práce bylo zhodnotit odrůdy pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) a vzorky introgresivní hybridní linie z hlediska obsahu aminokyselin a složení bílkovin. Analýza obsahu jednotlivých aminokyselin byla provedena po kyselé nebo oxidačně kyselé hydrolyze pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie se sodno-citrátovými pufrů, nynhidrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí na automatickém analyzátoru aminokyselin. Analýza složení bílkovinných frakcí byla provedena metodou SDS-PAGE.

Byly hodnoceny vybrané odrůdy pšenice seté sklizené v roce 2009, v roce 2012 ve dvou odlišných oblastech (v Čáslavi a Uherském Ostrohu) a vzorky introgresivní hybridní linie z hlediska obsahu aminokyselin a složení bílkovinných frakcí. Po vyhodnocení výsledků obsahu aminokyselin získaných pomocí iontově výměnné chromatografie bylo potvrzeno, že:

- zcela dominantní aminokyselinou v pšenici je kyselina glutamová,
- druhou nejvíce obsaženou aminokyselinou je prolin,
- pšeničné zrno téměř neobsahuje esenciální aminokyselinu lysin, která je tedy limitující aminokyselinou,
- z esenciálních aminokyselin obsahuje pšenice nejvyšší množství leucinu,
- obsah aminokyselin je závislý na genotypu pšenice, roku sklizně a podmínkách pěstování,
- vzorky introgresivní hybridní linie vykazují proti běžným odrůdám pšenice vyšší obsah sirných aminokyselin pozitivně ovlivňujících kvalitu lepku,
- obsah esenciálních aminokyselin v bílkovině nepřesahuje 30 %.

Z předložených vzorků měla nejnižší celkový obsah aminokyselin odrůda Jindra sklizená v oblasti Čáslavi a nejvyšší vzorek introgresivní hybridní linie 1D-3b. Nejnižší obsah esenciálních aminokyselin vykazovala odrůda Princeps sklizená v oblasti Čáslavi a naopak nejvyšší odrůda Meritto. Nejnižší množství limitující aminokyseliny lysin obsahovala odrůda Jindra z oblasti Čáslavi a nejvyšší taktéž odrůda Jindra, ale sklizená v oblasti Uherského Ostrohu. Odrůda Jindra sklizená v oblasti Čáslavi měla také nejnižší obsah kyseliny glutamové. A nejvyšší množství kyseliny glutamové obsahoval vzorek introgresivní hybridní linie 1D-3b. Nejméně prolinu obsahovala odrůda Bohemia z oblasti Čáslavi a nejvíce

opět odrůda Bohemia, tentokrát ale sklizená v oblasti Uherského Ostrohu. Kromě vzorků introgresivní hybridní linie, které vykazují vyšší obsahy sirných aminokyselin pozitivně ovlivňujících kvalitu lepku, má nejvyšší obsah těchto aminokyselin odrůda Bohemia z oblasti Uherského Ostrohu a nejnižší srovnatelně odrůdy Samanta a Matylda sklizená v oblasti Uherského Ostrohu. Z výsledků diplomové práce vyplývá, že lepší oblastí pro pěstování potravinářské pšenice je oblast Uherského Ostrohu, nežli oblast Čáslavska.

Po vyhodnocení výsledků složení bílkovinných frakcí pomocí SDS-PAGE bylo potvrzeno, že:

- na polyakrylamidových gelech byly přítomny 4 skupiny bendů s různou molekulovou hmotností,
- pouze u odrůdy Evina sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu byly na polyakrylamidových gelech pozorovány vysokomolekulární frakce s molekulovou hmotností cca 97,4 kDa.

Diplomová práce prokázala vliv genotypu, roku sklizně, geograficko-klimatických a pěstitelských podmínek na aminokyselinovou i bílkovinnou skladbu potravinářské pšenice a vzorků introgresivní hybridní linie.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno 2008. 141 s. ISBN 978-80-7157-811-6.
- [2] PETR, J. *Problémy kolem potravinářské pšenice*. Zemědělec, 1994, roč. 2, č. 14, s. 14.
- [3] KULOVANÁ, E. *Kvalita obilovin* [online]. [cit. 2013-04009]. Dostupné z WWW: http://www.agroweb.cz/KVALITA-OBILNIN__s44x8475.html.
- [4] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. *Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2004. 203 s. ISBN 80-7080-530-7.
- [5] PALÍK, S., BUREŠOVÁ, I., EDLER, S., SEDLÁČKOVÁ, I., TICHÝ, F., VÁŇOVÁ, M. *Metodika pěstování ozimé pekárenské pšenice*. Agrotest fyto, Kroměříž 2009. 68 s. ISBN 978-80-86888-07-1.
- [6] PELLE, R. P., STRICKLAND, F. M. Plants, polysaccharides and the treatment and prevention of neoplasia. *Critical Reviews in Oncogenesis*, č. 11, 2000, s. 189 – 225.
- [7] JAKUBECOVÁ, H. Znovuobjavenie jačmeňa. *Výživa a Zdravie, časopis pre výživu a zdravý zdravotný štýl*, č. 1, 2004, s. 28 – 29.
- [8] KADLEC, P., MELZUCH, K., VOLDŘICH, M. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vysoká škola chemicko technologická v Praze. Praha, 2009. 536 s. ISBN 80-7418-051-4.
- [9] GAJDOŠOVÁ, A., ŠTURDÍK, E. *Biologické, chemické a nutrično-zdravotné charakteristiky pekárskych cereálií*. Katedra výživy a hodnotenia potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity, Nova biotechnologica. Bratislava, 2004. s. 133 - 154.
- [10] RINCÓN-LEÓN, F. *Functional foods. Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, Vol. 5. 2nd edn, pp 2827-32. Academic Press, London, s. 692-699.
- [11] ANONYM. *Pšenice obecná (Triticum aestivum L.)* [online]. [cit. 2012-11-21]. Dostupný z WWW: <http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/psenice.htm>.

- [12] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 2007. 53 s. ISBN 978-80-7271-184-0.
- [13] Ministerstvo zemědělství. *Situační a výhledová zpráva obiloviny*. AMAPRINT Kerndl, s.r.o., Praha. ISBN 978-80-7434-055-0.
- [14] KŮST, F. *Pěstování a produkce pšenice ozimé*. Ministerstvo zemědělství ČR [online]. 2010. [cit. 2012-11-21]. Dostupné z WWW: http://www.agroweb.cz/Pestovani-a-produkce-psenice-ozime__s1302x47004.html.
- [15] ZIMOLKA, J. *Pšenice: pěstování, hodnocení a užití zrna*. Profi Press. Praha, 2005. 179 s. ISBN 80-8672-609-6.
- [16] SOBOTKA, M., JELÍNKOVÁ-PAROULKOVÁ, D. *Atlas obilnin československých povolených a rayonovaných odrůd*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha, 1958. 280 s.
- [17] GRAMAN, J., ČURN, V. *Šlechtění rostlin (obiloviny, luskoviny)*. Jihočeská univerzita, zemědělská fakulta. České Budějovice, 1998. 204 s.
- [18] BELDEROK, B., MESDAG, J. a DONNER, D. A. *Bread-Making Quality of Wheat. A century of breeding in Europe. Part One: Developments in bread-making processes. Part Two: Breeding for bread-making quality in Europe*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2000, 416 s.
- [19] FABRIANI, G., LINTAS, C. *Durum wheat: Chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, USA, 1988, 332 s. ISBN 0913250503.
- [20] DVORAK, J., AKHUNOV, E. D., AKHUNOV, A. R., DEAL, K. R., LUO, M. CH. *Molecular Characterization of a Diagnostic DNA Marker for Domesticated Tetraploid Wheat Provides Evidence for Gene Flow from Wild Tetraploid Wheat to Hexaploid Wheat*. Department of Plant Sciences, University of California, Davis. 2006, 11 s.
- [21] BALLESTEROS, B. D., BARCELO, D. A., DANKWARDT, P., SCHNEIDER, M. P., MARCO. Evaluation of a fieldtest kit for triazine herbicides (SensioScreen TR500) as a fast assay to detect pesticide contamination in water samples. *Anal. Chim. Acta.*, 2003, č. 475, s. 105 – 115.

- [22] LUKASZEWSKI, A. J., CURTIS, C. A.: Transfer of the Glu-D1 gene from chromosome 1D to chromosome 1A in hexaploid triticale. *Plant Breeding*, 1994, č. 112, s. 177 – 182.
- [23] PRUGAR, J. (ed.) *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí, 43. publikace*. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., 2008. 327 s. ISBN 978-80-86576-28-2.
- [24] ANONYM. *Pšenice tvrdá (Triticum durum Desf.)* [online]. [cit. 2013-02-06]. Dostupný z WWW: <http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/skripta/2/psenice_tvrda.html>.
- [25] ANONYM. *Pšenice špalda (Triticum spelta L.)* [online]. [cit. 2013-02-06]. Dostupný z WWW: <http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/skripta/2/psenice_spalda.html>.
- [26] KADLEC, P. *Technologie potravin I*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2002. 299 s. ISBN 80-7080-509-9.
- [27] PELIKÁN, M. *Zpracování obilovin a olejnin*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno 1999. 152 s. ISBN 80-7157-195-4.
- [28] LERSTEN, N. R. *Flowering plant embryology*. Blackwell Publishing Ltd., Iowa 2004. 213 s. ISBN 0-8138-2747-7.
- [29] OLSEN, O. A. *Endosperm: developmental and molecular biology*. Springer - Verlag Berlin Heidelberg, New York 2007. 248 s. ISBN 978-3-540-71234-3.
- [30] ODSTRČIL, J., ODSTRČILOVÁ, M. *Chemie potravin*. Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotních oborů, Brno 2006. 164 s. ISBN 80-7013-435-6.
- [31] BUREŠOVÁ, I., PALÍK, S. Faktory ovlivňující pekárenskou kvalitu pšeničného zrna. *Farmář*. 2010, č. 6, s. 13 – 15.
- [32] SPIERTZ, J. H. J., HAMER, R. J., XU, H., PRIMO-MARTIN, C., DON, C., VANDER PUTTEN, P. E. L. Heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.): Effects on grain growth and quality traits. *European Journal of Agronomy*. Elsevier, 2006, č. 25, s. 40 – 43.
- [33] ŠPALDON, E. *Rostlinná výroba*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha, 1986, 714 s.
- [34] KAVINA, K. *Obilí*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha, 1930, 185 s.

- [35] DALLA, A. M., GRIFONI, D., MANCINI, M., ZIPOLI, G., ORLANDINI, S. The influence of climate on durum wheat quality in Tuscany, Central Italy. *International Journal of Biometeorology*. 2010, č. 55, s. 25 – 32.
- [36] KENT, N. L., EVERS, A. D. *Technology of cereals: an introduction for students of food science and agriculture*. 4th ed. Elsevier Science Ltd., Oxford 1994. 334 s. ISBN 0-08-040833-8.
- [37] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDINSKÝ, P. *Potravinářská biochemie I*. Vyd. 2. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Zlín 2011. 167 s. ISBN 978-80-7318-936-5.
- [38] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. OSSIS, Tábor 1999. 352 s. ISBN 80-902391-3-7.
- [39] PARKER, R. *Introduction to food science*. Delmar, a division of Thomson learning Inc., New York 2003. 612 s. ISBN 0-7668-1314-2.
- [40] ŠÁRKA, E., BUBNÍK, Z. Morfologie, chemická struktura, vlastnosti a možnost využití pšeničného B-škrobu. *Chemické listy*, 2010, č. 104, s. 318 – 328.
- [41] KADLEC, P. *Procesy potravinářských a biochemických výrob*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2003. 1. vyd., 308 s. ISBN 80-7080-527-7.
- [42] BYONG, H. L. *Fundamentals of food biotechnology*. Wiley-VCH Inc., Quebec 1996. 417 s. ISBN 1-56081-694-5.
- [43] ČEPIČKA, J. *Obecná potravinářská technologie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 1995. 246 s. ISBN 80-7080-239-1.
- [44] HAMPL, J., PŘÍHODA, J. *Cereální chemie a technologie II.*, Pekárenství. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 1985. 1. vyd. 248 s.
- [45] KOPÁČOVÁ, Olga. *Balení prodlužuje dobu údržnosti pekařských výrobků*. In: Agronavigátor [online]. June 18, 2004 [cit. 2012-11-09]. Dostupné z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=418&ch=13&typ=1&val=27106>>.
- [46] HRABĚ, J., KOMÁR, A. *Technologie zbožížalství a hygiena potravin rostlinného původu III*. Vysoká vojenská škola pozemního vojska ve Vyškově. Vyškov, 2003. 163 s. ISBN 80-7231-107-7.
- [47] BUSHUK, W. RASPER, V. F. *Wheat: production, properties and quality*. Blackie Academic & Professional, Ontario 1994. 239 s. ISBN 0-7514-0181-1.

- [48] POMERANZ, Y. *Wheat: Chemistry and Technology*, American Association of Cereal Chemists, 1988, 514 s. ISBN 0-913250-65-1.
- [49] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDINSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II*. Univerzita Tomáše ati ve Zlíně, Zlín 2007. 104 s. ISBN 80-7318-395-1.
- [50] *Biochemie – Distanční text* [elektronická skripta]. © 2007 [cit. 2012-11-12]. Po přihlášení je text dostupný z WWW: <http://web.ft.utb.cz/cs/docs/KD201120_03_-_Cita_n__let_k.pdf>.
- [51] DUDÁŠ, F., POVOLNÝ, M., TICHÝ, I. *Skladování a zpracování rostlinných výrobků*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha, 1981. 1. vyd. 384 s.
- [52] SLUKOVÁ, M. *Kvalitativní ukazatele pšenice a pšeničných mouk* [online]. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze [cit. 2012-10-05]. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpbt/grant_TRP/dokumenty/06.pdf>.
- [53] ČERNÝ, J., ŠAŠEK, A. *Bílkovinné signální geny pšenice obecné*. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha, 1996. 61 s. ISBN 80-85120-55-0.
- [54] FOŘT, P. *Výživa (hlavně) pro kulturistiku a fitness*. Svět kulturistiky, Východočeská tiskárna. Pardubice, 2006. 151 s. 2. vyd. ISBN 80-86462-21-8.
- [55] ŠKÁRKA, B., NOVÁK, M., TURECKÝ, L., FERENČÍK, M. *Biochémiá*. Slovak Academic Press. Bratislava, 2000. 924 s. ISBN 80-88908-57-4.
- [56] PELIKÁN, M., HŘIVNA, L., HUMPOLA, J. *Technologie sacharidů*. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita. Brno, 1999. 152 s. ISBN 80-7157-407-4.
- [57] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin*. SNTL. Praha, 1983. 1. vyd. 632 s. ISBN 04-815-83.
- [58] SHEWRY, P. R. The structure and properties of gluten an elastic protein from wheat grain. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 2002, č. 357, s. 133-142.
- [59] KOCNA, P. *Bezlepková dieta od teorie k praxi* [online]. Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky. 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy [cit. 2012-11-13]. Dostupné z WWW: <http://celiak.cz/download/media/cs_dieta07.pdf>.
- [60] WRIGLEY, C. W. *Giant proteins with flour power*. *Nature*, 1996. č. 381, s. 738 - 739.

- [61] MURRAY, K., GRANNER, K. D., MAYES, P. A., RODWELL, V. W. *Harperova biochemie*. Nakladatelství H + H. Jinočany, 2002. 3. vyd. 872 s. ISBN 80-7319-013-3.
- [62] JANÍČEK, G., HALAČKA, K. *Základy výživy*. SNTL. Praha, 1985. 1. vyd. 174 s.
- [63] JAROLÍMKOVÁ, S. *Jak připravovat obiloviny, luštěniny, semena a ořechy*. MOTTO. Praha, 2007. 170 s. ISBN 978-80-7246-355-8.
- [64] VACULOVÁ, K., JIRSA, O., MARTINEK, P., BALOUNOVÁ, M. *Hodnocení kvality zrna vybraných vzorků netradiční pšenice a bezpluchého ječmene*. *Obilnářské listy*, 2010, roč. 18, č. 3, s. 71 – 77.
- [65] PESTSOVA, E. G., BÖRNER, A., RÖDER, M. S. Development and QTL Assessment of Triticum Aestivum-Aegilops Tauschii Introgression Lines. *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, 2006, č. 112(4), s. 634 – 647. ISSN 0040-5752.
- [66] ANONYM. *Stanovení aminokyselinového složení bílkovin* [online]. [cit. 2013-03-23]. Dostupné z WWW: http://web.vscht.cz/koplikr/%C4%8C%C3%A1stB2_2.pdf.
- [67] ZBÍRAL, J. *Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv. 21 – Stanovení obsahu aminokyselin*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Národní referenční laboratoř. 2009. 7 s.
- [68] DOUŠA, M. *Stanovení aminokyselin v krmivech* [online]. [cit. 2013-02-11]. Dostupný z WWW: <http://hplc1.sweb.cz/Amk/amk.htm>.
- [69] KOPLÍK, R. *Bílkoviny a aminokyseliny* [online]. [cit. 2013-02-11]. Dostupný z WWW: <http://web.vscht.cz/koplikr/B%C3%ADlkoviny%20a%20aminokyseliny.pdf>.
- [70] ČSN EN ISO 20 483 – *Obiloviny a luštěniny a výrobky – Stanovení obsahu dusíku a výpočet obsahu dusíkatých látek – Kjeldahlova metoda*. Český normalizační institut. Praha, 2007. 24 s.
- [71] WEISS, M., MANNEBERG, M., JURANVILLE, J. F., LAHM, H. W., FOUNTOULAKIS, M. Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *Journal of Chromatography A*, 1998, 795, s. 263 – 275.

- [72] MUDŘÍK, Z., KODEŠ, A., DVOŘÁČEK, V., HUČKO, B., NĚMEC, Z., STEINBACHOVÁ, E. 2005. Variabilita aminokyselinové skladby proteinu zrna u rozdílných typů pšenice seté. *Sborník mezinárodní konference Výživa zvířat 2006 – Proteiny*, MZLU Brno, 2006, s. 104 – 108. ISBN 80 – 7157 – 954 – 8.
- [73] STEINBACHOVÁ, A., KODEŠ, A., HEFFEROVÁ, M., HUČKO, B., MUDŘÍK, Z. Posouzení krmné hodnoty proteinu zrna perspektivních linií pšenice s využitím chemických metod. *Výživa zvířat 2005*. Česká zemědělská univerzita v Praze, 2005, s. 13 – 16. ISBN 80-213-1373-0.
- [74] ANONYM. *Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400* [online]. [cit. 2013-02-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.instruments.ingos.cz/pristroj-detail.php?id=analyzator-aminokyselin-aaa-400>>.
- [75] ANONYM. *SDS polyakrylamidová gelová elektroforéza (SDS PAGE)* [online]. [cit. 2013-02-12]. Dostupné z WWW: http://cheminfo.chemi.muni.cz/-chem_sekce/predmety/C7300/EF/SDSPAGE%20kolecko.pdf.
- [76] COX, M. M., PHILLIPS, G. N. *Handbook of proteins: structure, function and methods*. Chichester. Wiley, 2007. 1319 s. ISBN 978-0-470-06098-8.
- [77] ANONYM. *Mini-PROTEAN Tetra Cell* [online]. [cit. 2013-04-08]. Dostupné z WWW: <http://www.bio-rad.com/prd/en/US/LSR/PDP/5cf78e19-7ed5-4373-a988-3e62456a488e/Mini-PROTEAN-Tetra-Cell>.
- [78] BRADOVÁ, J., ŠAŠEK, A. *Optimalizace metod elektroforézy proteinů pro identifikaci odrůd pšenice (Triticum aestivum L.)*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha – Ruzyně, 2007. 36 s. ISBN 978-80-87011-10-2.
- [79] BRADOVÁ, J. *Optimalizovaná metodika SDS-PAGE pro analýzu LMW-podjednotek gluteninů pšenice*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha – Ruzyně, 2006. 12 s. ISBN 80-86555-98-4.
- [80] GRAVELAND, A., BOSVELD, P., LICHTENDONK, W. J., MOONEN, H. H. E., SCHEEPSTRA, A. Extraction and Fractionation of Wheat Flour Proteins. *Journal Sci. Food Agric.* 1982, č. 33, s. 1117 – 1128.
- [81] ANONYM. *Power Pac Universal Power Supply* [online]. [cit. 2013-04-08]. Dostupné z WWW: <http://www.bio-rad.com/prd/en/US/adirect/biorad?cmd=catProductDetail&vertical=LSE&country=US&lang=en&productID=164-5070EDU>.

- [82] POKORNÝ, J. *Metody senzorické analýzy potravin a stanovení senzorické jakosti*. 2. vyd. ÚZPI, Praha, 1997. 196 s. ISBN 80-85120-60-7.
- [83] ANONYM. *Shluková analýza* [online]. [cit. 2013-04-25]. Dostupné z WWW: <http://www.statsoft.cz/page/index2.php?segmentace>.
- [84] PÁNEK, J., POKORNÝ, J., DOSTÁLOVÁ, J., KOHOUT, P. *Základy výživy*. Praha: Svoboda Servis, 2002, s. 207. ISBN 80-86320-23-5.
- [85] RYSOVÁ, J., STEHNO, Z., MARTINEK, P. Obsah aminokyselin ve vybraných odrůdách pšenice. *Úroda – vědecká příloha časopisu*, č. 12, 2011, s. 515 – 519. ISSN 0139-6013.
- [86] KASARDA, D. D., BERNARDIN, J. E., QUALSET, C. O. Relationship of gliadin protein components to chromosomes in hexaploid wheats (*Triticum aestivum* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1976.
- [87] GÁLOVÁ, J., HŘIVNA, L. Vliv hnojení ozimé pšenice dusíkem a sírou na pekařskou jakost. *MendelNET'99 – Sborník z odborného semináře posluchačů postgraduálního doktorandského studia*, Brno, 1999.
- [88] WIESER, H., GUTSER, R. Influence of sulphur fertilization on quantities and proportions of gluten proteins types in wheat flour. *Journal Cereal Sci.* 2004, 40, s. 239 – 244.
- [89] BUREŠOVÁ, I., PALÍK, S., SEDLÁČKOVÁ, I. Kvalita pšenice a žita sklizně 2009. *Obilnářské listy*. 2010, č. 1, s. 19 – 22.
- [90] WATANABE, N., FUJII, Y., TAKESADA, N., MARTINEK, P. Cytological and microsatellite mapping of the gene for brittle rachis in a *Triticum aestivum*-*Aegilops tauschii* introgression line. *Euphytica*. 2006, v. 151, s. 63 – 69.
- [91] DVOŘÁČEK, V. *Optimalizace Osbornovy metody kvantifikace bílkovinných frakcí zrna pšenice ozimé (Triticum aestivum L.)*. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha, 2006. 10 s. ISBN 80-86555-81-X.
- [92] ANONYM. *Aegilops tauschii* [online]. [cit. 2013-04-27]. Dostupné z WWW: <http://www.k-state.edu/wgrc/Germplasm/Aegilops/tauschii.html>.
- [93] ANONYM. *Ozimé obilniny 2012* [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupné z WWW: http://www.osevabzenec.cz/zd/oseva_ozimy2012.pdf.

- [94] ANONYM. *Matylda* [online]. [cit. 2013-08-11]. Dostupné z WWW: http://selgen.cz/sprava/wp-content/uploads/2011/12/2011_04_23_Matylda.pdf.
- [95] ANONYM. *Turandot* [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupné z WWW: <http://selgen.cz/obiloviny/pšenice-ozima-2/turandot/>.
- [96] ANONYM. *Seznam doporučených odrůd 2006 pšenice ozimá* [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupné z WWW: www.ukzuz.cz/Uploads/7483-7-SDO_Listovka_POpdf.aspx.
- [97] ANONYM. *Etela* [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupné z WWW: http://www.limagraincentraleurope.com/docs/products/335_pdf1.pdf.
- [98] ANONYM. *Ozimé obiloviny* [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupné z WWW: http://www.bor-sro.cz/catalogues/katalog_ozimy_2012.pdf.
- [99] ANONYM. *Seznam doporučených odrůd 2009* [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupné z WWW: http://www.ukzuz.cz/Folders/Articles/Uploads/105722-7-Obilniny_2009pdf.aspx.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Ala	alanin
AMK	aminokyseliny
Arg	arginin
Asp	kyselina asparagová
BVO	bramborářská výrobní oblast
Cys	cystein
ČSN	Česká státní norma
Da	Dalton – jednotka molekulové hmotnosti
EAA	esenciální aminokyselina
EU	Evropská unie
Glu	kyselina glutamová
Gly	glycin
ha	hektar
His	histidin
HMW-GS	vysokomolekulární gluteninová podjednotka
HTZ	hmotnost tisíce zrn
Ile	isoleucin
KVO	kukuřičná výrobní oblast
Leu	leucin
LMW-GS	nízkomolekulární gluteninová podjednotak
Lys	lysin
Met	methionin
MK	mastné kyseliny
MKS	milion klíčivých semen

NEAA	neesenciální aminokyselina
OVO	obilnářská výrobní oblast
Phe	fenylalanin
Pro	prolin
ŘVO	řepařská výrobní oblast
SDS	dodecylsulfát sodný
SDS-PAGE	sodium dodecylsulfát polyakrylamidová gelová elektroforéza
Ser	serin
Thr	threonin
Tris	tris(hydroxymethyl)aminomethan
Trp	tryptofan
Tyr	tyrosin
USA	Spojené státy americké
Val	valin

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Vývoj celkové produkce jarní a ozimé pšenice v ČR od roku 2007 [13].....	13
Obrázek 2: Skladba obilovin vysévaných v ČR v roce 2001 [4][12].....	13
Obrázek 3: Pšenice setá (<i>Triticum aestivum</i> L.) [9].....	16
Obrázek 4: Schéma evoluce pšenice seté [20].....	17
Obrázek 5: Pšenice tvrdá (<i>T. durum</i>) a) [24], pšenice špalda (<i>T. spelta</i>) b) [25].....	19
Obrázek 6: Podélný řez pšeničným zrnem (Vrstva přicházející při mletí do otrub označena O, do mouky E a odstraňované s klíčkem K.) [4]	22
Obrázek 7: Elektronový mikrosnímek granulí pšeničného škrobu [4]	27
Obrázek 8: Obsah AMK v bílkovině pšeničného zrna a mouky [4]	32
Obrázek 9: Chemická struktura kyseliny glutamové (a) a glutaminu (b) [50].....	33
Obrázek 10: Chemická struktura prolinu [37].....	33
Obrázek 11: Vznik peptidové vazby [50].....	34
Obrázek 12: Část primární struktury pšeničné bílkovinné makromolekuly [4]	35
Obrázek 13: Představa struktury gliadinu (Lasztity R. 1984) [4].....	37
Obrázek 14: Schematické znázornění modelu propojení složek gluteninu (Lasztity R. 1984) [4].....	38
Obrázek 15: Představa umístění interřetězcových (A) a intrařetězcových (B) -S-S- vazeb [4].....	39
Obrázek 16: Model přímé vysokomolekulární gluteninové podjednotky: nahoře model jednořetězcové jednotky se 3 cysteinovými -SH skupinami na N- koncové doméně a 1 -SH skupinou na C-koncové doméně, dole model vzájemného příčného spojení přímých řetězců pomocí -S-S- vazeb v koncových doménách [4].....	39
Obrázek 17: Svinutá forma jednořetězcové gluteninové podjednotky s intrařetězcovými vazbami mezi jednou z 5 cysteinových -SH skupin N- koncové domény a 1 -SH skupinou C-koncové domény (podle Kasardy 1999) [4].....	40
Obrázek 18: Představa propojení řetězce iontovými silami (kladný a záporný náboj skupin na řetězci), vodíkovými vazbami (šikmo pruhované oblasti) a hydrofobními silami (čtverečková oblast) [4].....	41
Obrázek 19: Model struktury hydratovaného lepkového vlákna [46].....	42
Obrázek 20: Grafické genotypy 9 vzorků introgresivní hybridní linie [65].....	47

Obrázek 21: Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 (Ingos, ČR) [74].....	48
Obrázek 22: Aparatura pro SDS-PAGE Mini-PROTEAN Tetra Cell (BIO-RAD Laboratories, USA) [77].....	50
Obrázek 23: Zdroj stejnosměrného proudu PowerPac Universal Power Supply (BIO- RAD Laboratories, USA) [81].....	51
Obrázek 24: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v g.16 g ⁻¹ N ve vzorcích introgresivní hybridní linie.....	55
Obrázek 25: Dekompozice efektivní hypotézy u vzorků introgresivní hybridní linie pro 14 aminokyselin.....	56
Obrázek 26: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v g.16 g ⁻¹ N v sedmi vzorcích ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2009.....	58
Obrázek 27: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v jedenácti vzorcích ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Uherského Ostrohu.....	59
Obrázek 28: Grafické vyjádření celkového obsahu aminokyselin v jedenácti vzorcích ozimé potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi.....	63
Obrázek 29: Grafické porovnání výsledků stanovení obsahu AMK u vzorků stejných odrůd sklizených ve dvou odlišných oblastech.....	64
Obrázek 30: Dekompozice efektivní hypotézy osmi vzorků potravinářské pšenice.....	66
Obrázek 31: Dekompozice efektivní hypotézy pěti vzorků potravinářské pšenice.....	66
Obrázek 32: Dekompozice efektivní hypotézy šesti vzorků potravinářské pšenice.....	67
Obrázek 33: Dekompozice efektivní hypotézy pěti vzorků potravinářské pšenice.....	68
Obrázek 34: Dekompozice efektivní hypotézy pěti vzorků potravinářské pšenice.....	68
Obrázek 35: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE.....	69
Obrázek 36: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE.....	70
Obrázek 37: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE.....	71
Obrázek 38: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE.....	73
Obrázek 39: Znázornění elektroforetických mobilit jednotlivých vzorků na polyakrylamidovém gelu při využití metody SDS-PAGE.....	74

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Značení chromozomů pšenice <i>Triticum aestivum</i> L. [18].....	16
Tabulka 2: Zjištěná maximální rozmezí hmotnostních podílů částí zrna pšenice [4].....	22
Tabulka 3: Obsahy hlavních skupin sacharidů v sušině pšenice [4].....	25
Tabulka 4: Obsah AMK v bílkovině pšenice [4].....	32
Tabulka 5: Obsah aminokyselin ve vzorcích introgresivní hybridní linie v g.16 g ⁻¹ N.....	54
Tabulka 6: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2009 v g.16 g ⁻¹ N.....	57
Tabulka 7: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu v g.16 g ⁻¹ N.....	60
Tabulka 8: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu v g.16 g ⁻¹ N.....	61
Tabulka 9: Obsah AMK ve vzorcích potravinářské pšenice sklizené v roce 2012 v oblasti Čáslavi a Uherského Ostrohu v g.16 g ⁻¹ N.....	62

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI: Obrázky vybraných odrůd pšenice

Příloha PII: Použité chemikálie a roztoky

Příloha PIII: Použité pomůcky a přístroje

Příloha PIV: Charakteristika jednotlivých odrůd potravinářské pšenice *Triticum aestivum*
L.

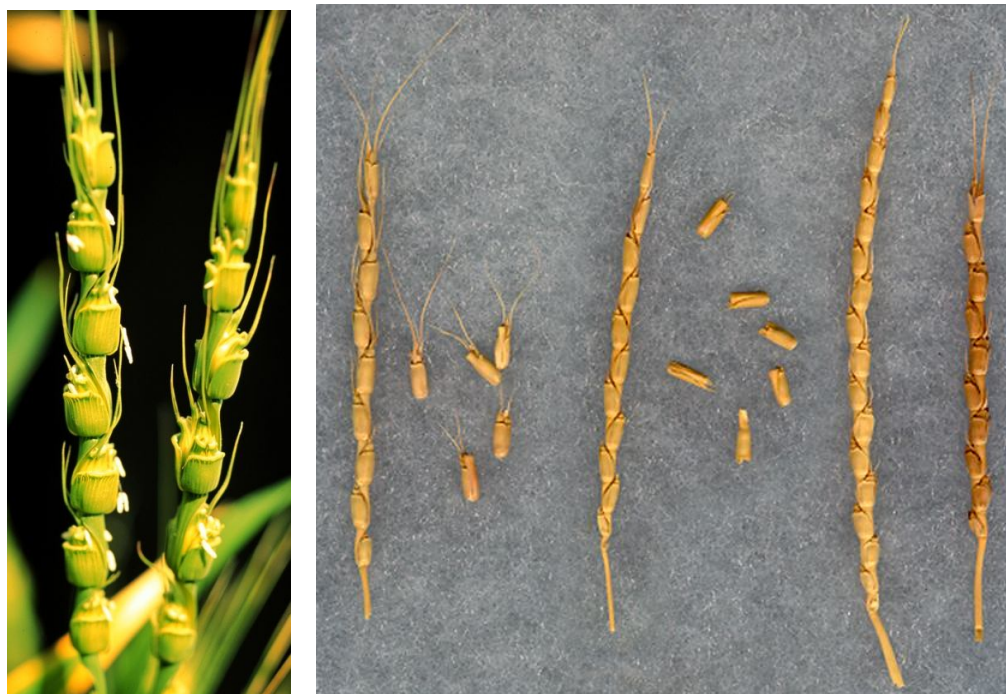
PŘÍLOHA P I: OBRÁZKY VYBRANÝCH ODRŮD PŠENICE

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) [12]



Pšenice tvrdá (*Triticum durum* Desf.) [24]



Pšenice špalda (*Triticum spelta* L.) [25]Předchůdce pšenice – *Aegilops tauschii* [92]

PŘÍLOHA PII: POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

- Kyselina chlorovodíková, HCl, min. 35%, $\rho = 1,18 \text{ g.cm}^{-3}$, $c(\text{HCl}) = 11,4 \text{ mol.l}^{-1}$
- Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok, $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol.l}^{-1}$ (Do tmavé zásobní lahve byl nalit 1 l deionizované vody a poté 1 l HCl, p.a.)
- Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ (Do dvoulitrové odměrné baňky byl nalit 1 l deionizované vody a 17,2 ml HCl, p.a. a poté byla baňka doplněna deionizovanou vodou po rysku.)
- Peroxid vodíku, H_2O_2 , $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 30 \%$
- Kyselina mravenčí, HCOOH, $c(\text{HCOOH}) = (99 \pm 1)\%$
- Kyselina mravenčí, HCOOH, roztok, $c(\text{HCOOH}) = 85 \%$ (Ke 150 ml deionizované vody bylo přidáno 850 ml kyseliny mravenčí.)
- Inertní plyn argon (čistoty 5.0)
- Thiodiglykol, koncentrovaný
- Hydroxid sodný, NaOH
- Hydrindantin
- Kyselina citronová, monohydrát
- Citronan sodný, dihydrát
- Chlorid sodný, NaCl
- Kyselina boritá, H_3BO_3
- Azid sodný, NaN_3
- Ninhydrin (Bylo naváženo 20 g ninhydrinu, převedeno do tmavé zásobní lahve a rozpuštěno v 730 ml methylcellosolvu za stálého probublávání inertním plynem, po rozpuštění bylo přidáno 250 ml acetátového tlumivého roztoku. Pokud se připravuje ninhydrin s přidavkem hydrindantinu, přidá se do směsi 0,625 g hydrindantinu a nechá se probubláváním úplně rozpustit. Místo hydrindantinu lze použít i 0,4 g SnCl_2 .)
- Methylcellosolv
- Standardní roztoky AMK s deklarovaným obsahem od výrobce, $c = 0,25 \text{ } \mu\text{mol.ml}^{-1}$
- Tlumivý roztok, pH 2,2 (Bylo naváženo 28 g kyseliny citronové, 23 g chloridu sodného a 0,2 g azidu sodného. Vše bylo převedeno do 2litrové odměrné baňky. Bylo přidáno 10 ml thiodiglykolu a deionizovaná voda, po dokonalém rozpuštění byla baňka doplněna po značku vodou.)

- Acetátový tlumivý roztok, pH 5,5 (Bylo naváženo 1088 g octanu sodného, převedeno do 2litrové odměrné baňky, přidáno 200 ml kyseliny octové a deionizovaná voda. Rozpuštění trvá okolo 14 dní, postupně se dolévá voda, aby se snížila hustota roztoku a usnadnilo se rozpouštění. Po dokonalém rozpuštění se doplní odměrná baňka po značku. Roztok se také dodává komerčně kvůli zdlouhavé přípravě.)
- Oxidační směs (Byl smíchán peroxid vodíku a kyselina mravenčí v poměru 1:9. Směs se nechala stát 2 hodiny při laboratorní teplotě a poté byla na 15 minut umístěna do lednice.)
- Deionizovaná voda
- Chlorid cínatý, SnCl_2
- Isopropanol, roztok 12%
- Akrylamid
- N, N'-methylenbisakrylamid
- Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)
- Dodecylsulfát sodný (SDS)
- Persíran amonný
- 2 – merkaptoethanol
- TEMED (NNN'N'-tetramethylethylendiamin)
- Kyselina trichloroctová, Tris-HCl
- Ledová kyselina octová
- Glycin
- Glycerol
- Methanol CH_3OH
- Coomassie Brilliant Blue R-250
- 12% separační gel: 13,65 ml 30% roztoku akrylamidu, 9,1 ml Tris pufru (pH 8,8), 12,25 ml deionizované vody, 0,175 ml 20% SDS, 140 μl 10% persíranu amonného a 17,5 μl TEMEDu
- 5% koncentrační gel: 1,36 ml 30% roztoku akrylamidu, 2,0 ml Tris pufru (pH 6,8), 4,6 ml deionizované vody, 40 μl 20% SDS, 40 μl 10% persíranu amonného a 10 μl TEMEDu

- Tris pufr pro separační gel, pH 8,8 (18,15 g Tris rozpustit v deionizované vodě, pomocí HCl upravit pH na hodnotu 8,8, kvantitativně převést do 50ml odměrné baňky a doplnit deionizovanou vodou po rysku. Uchovávat při teplotě 6 ± 2 °C.)
- Tris pufr pro koncentrační gel, pH 6,8 (6,0 g Tris rozpustit v deionizované vodě, pomocí HCl upravit pH na hodnotu 6,8, kvantitativně převést do 50ml odměrné baňky a doplnit deionizovanou vodou po rysku. Uchovávat při teplotě 6 ± 2 °C.)
- Fosfátový pufr
- 30% roztok akrylamidu (29,2 g akrylamidu a 0,8 g N, N' - methylenbisakrylamidu rozpustit v deionizované vodě a kvantitativně převést do 100ml odměrné baňky a doplnit po rysku. Uchovávat v tmavé láhvi při teplotě 6 ± 2 °C.)
- 10% persíran amonný (1 g persíranu amonného rozpustit v deionizované vodě a kvantitativně převést do 10ml odměrné baňky a doplnit deionizovanou vodou po rysku. Roztok persíranu amonného připravit čerstvý před každou elektroforézou.)
- 20% SDS (10 g SDS dokonale rozpustit v deionizované vodě a doplnit deionizovanou vodou do 50 ml. Uchovávat v temné láhvi.)
- Fixační roztok (Smíchat 300 ml 96% ethanolu, 100 ml ledové kyseliny octové a 600 ml deionizované vody.)
- Elektrodivý pufr (12,0 g Tris, 57,6 g glycinu a 4,0 g SDS rozpustit v deionizované vodě, doplnit na objem 4 l deionizovanou vodou a upravit pH na hodnotu 8,3 – 8,6.)
- Vzorový pufr (0,0977 g Tris-HCl, 0,5 g merkaptoethanolu, 1,0 g glycerolu a 0,01 g bromfenolové modři rozpustit v deionizované vodě, upravit pH na hodnotu 6,8 a kvantitativně převést do 10ml odměrné baňky a doplnit deionizovanou vodou po rysku. Uchovávat při teplotě 6 ± 2 °C.)
- Barvicí roztok (Smíchat 25 ml Coomassie Blue R-250, 50 ml methanolu, 10 ml ledové kyseliny octové a 15 ml deionizované vody. Uchovávat v tmavé láhvi při teplotě 6 ± 2 °C.)
- Odbarvovací roztok (Smíchat 250 ml methanolu, 100 ml ledové kyseliny octové a 650 ml deionizované vody.)
- Molekulový hmotnostní standard Protein test Mixture 6 (SERVA)

PŘÍLOHA PIII: POUŽITÉ POMŮCKY A PŘÍSTROJE

Běžné laboratorní pomůcky a laboratorní sklo

Analytické váhy GR – 200 (Labicom, Česká republika)

Termobox Evaterm (Labicom, Česká republika)

Olejová lázeň (Memmert, Německo)

Kombinovaná chladnička (Gorenje, Chorvatsko)

Vakuová rotační odparka Laborota 4010 digital (Heidolph, Německo)

Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 (Ingos, Česká republika)

Zdroj stejnosměrného proudu pro SDS-PAGE PowerPac Universal Power Supply (BIO-RAD Laboratories, USA)

Aparatura pro SDS-PAGE Mini Protean Tetra Cell (BIO-RAD Laboratories, USA)

Inkubátor INCU-LINE (VWR Division, Anglie)

Laboratorní digestoř

Laboratorní mlýnek Quadrumat Junior (Brabender, Německo)

Program Unistat 5.5 (Unistat Ltd., Londýn, Velká Británie)

PŘÍLOHA PIV: CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÝCH ODRŮD POTRAVINÁŘSKÉ PŠENICE *TRITICUM AESTIVUM* L.

SULTAN [93]

- Polopozdní odrůda, rostliny středně vysoké, vhodná do řepařské výrobní oblasti (ŘVO), obilnářské výrobní oblasti (OVO) a bramborářské výrobní oblasti (BVO).
- Zimovzdorná, středně odolná proti poléhání, zdravotní stav dobrý, odolná proti braničnatkám a padlí travnímu v klasech.
- Výsevek 3 – 5 MKS.ha⁻¹, tolerantní k předplodině, snáší pozdní výsev (MKS - milion klíčivých semen).
- Doporučeno použití střední až vyšší dávky morforegulátorů.
- Hmotnost tisíce zrn (HTZ) střední, objemová hmotnost vysoká.
- Pekařská jakost A (kvalitní).

BOHEMIA [93]

- Raná odrůda, vysoká až velmi vysoká, je vhodná do všech výrobních oblastí.
- Odolná proti vyzimování, středně odolná proti poléhání, dobrý zdravotní stav, středně odolná proti většině chorob, odolná proti braničnatce plevové v klasu, středně odolná k fuzarióze, méně odolná vůči rzi travní.
- Kvalitní pekařské vlastnosti – vysoký obsah dusíkatých látek, vysoká hodnota Zelenyho testu.
- HTZ vysoká, pekařská jakost A – E.

AKTEUR [93]

- Pozdní odrůda středního vzrůstu, vhodná do všech oblastí.
- Vysoce výnosná především v kukuřičné výrobní oblasti (KVO) a ŘVO.
- Středně odolná k vyzimování, středně až dobře odnožuje, odolná proti poléhání, odolná proti braničnatce, středně odolná proti rzi pšeničné a listové skvrnitosti, středně až méně odolná proti padlí travnímu, méně odolná proti rzi travní a plebové.
- Výsevek 3,5 – 4,5 MKS.ha⁻¹, snáší pozdní setí.
- HTZ střední, pekařská jakost E (elitní).

JINDRA [93]

- Raná osinatá odrůda, rostliny středně vysoké, vysoce výnosná ve všech oblastech včetně teplejších a sušších.
- Středně odolná k poléhání, dobře odnožující, středně odolná až odolná proti padlí travnímu na listu a braničnatce v klasu, středně odolná proti rzi pšeničné a padlí travnímu v klasu, středně až méně odolná proti listovým skvrnitostem.
- Vhodné použití morforegulátoru růstu ve střední dávce.
- Doporučený výsevek v ŘVO a OVO 3,5 – 4 MKS.ha⁻¹, v KVO a BVO 4 – 4,5 MKS.ha⁻¹.
- Vhodný včasný termín setí, doporučena zlepšující předplodina.
- HTZ střední, pekařská jakost A.

ELLY [93]

- Velmi raná vysoce výnosná odrůda středního vzrůstu vhodná do všech oblastí, dle zkušebních výsledků vhodná i do sušších oblastí.
- Středně odnožující odrůda kompenzačního typu, odolná k vyzimování, střední odolnost k poléhání.
- Odolná proti rzi plevové, středně odolná proti rzi pšeničné, padlí travnímu, braničnatce plevové v klasu a listovým skvrnitostem.
- Výsevek 3,5 – 4,0 MKS.ha⁻¹, setí v agrotechnickém termínu.
- Doporučeny střední dávky morforegulátoru.
- HTZ střední, pekařská jakost A.

MATYLDA [94]

- Poloraná až raná odrůda, délka rostlin střední, průměrná odolnost k poléhání.
- Doporučena střední dávka morforegulátoru, při intenzivním pěstování vyšší.
- Středně odolná proti napadení padlí travním na listu, v klasu, listovými skvrnitostmi, braničnatkou plevovou v klasu, rzi pšeničnou, odolná proti napadení rzi plevovou a travní.
- Velmi vysoká objemová hmotnost, vysoký objem pečiva, středně vysoký obsah dusíkatých látek, středně vysoká až vysoká hodnota Zeleného testu, velmi vysoká vaznost mouky, středně vysoká až vysoká hodnota čísla poklesu.
- Pekařská kvalita A.

ELAN [93]

- Pozdní, středně vysoká odrůda, vysoce výnosná ve všech oblastech.
- Středně odnožující, odolná k poléhání, střední mrazuvzdornost, odolná k běžným chorobám (obzvláště listovým).
- Středně vysoký obsah dusíkatých látek, vysoká hodnota čísla poklesu, střední objemová hmotnost.
- Lze pěstovat ve všech výrobních oblastech, dobře snáší i pěstování po obilnině.
- Doporučen výsev v agrotechnické lhůtě v množství 3,5 – 4,5 MKS.ha⁻¹.
- Pekařská jakost A.

EVINA [93]

- Polopozdní odrůda středního vzrůstu.
- Vysoký výnos zrna ve všech výrobních oblastech v ošetřené i neošetřené variantě.
- Plastická, vhodná do všech výrobních oblastí.
- Rostliny s dobrou odnoživostí a dobrou odolností k poléhání, střední zimovzdornost, vysoká odolnost ke rzi pšeničné, travní a braničnatce plevové.
- Možno vysévat i po obilnině a včas sklizené kukuřici.
- Vysoká HTZ, pekařská jakost E.

POTENZIAL [93]

- Poloraná odrůda nízkého až středního vzrůstu.
- Velmi vysoký výnos zrna, nenáročná na půdně-klimatické podmínky.
- Dobře odnožující, odolná proti poléhání, dobrý zdravotní stav, odolná proti padlí travnímu a rzi pšeničné.
- Výsevek 3,2 – 4,5 MKS.ha⁻¹, lze pěstovat po obilnině, tolerantní k pozdnímu setí.
- HTZ střední, objemová hmotnost vysoká, pekařská jakost A.

TURANDOT [95]

- Poloraná odrůda, střední délka rostlin, vhodná do všech výrobních oblastí.
- Střední odolnost k poléhání, vyšší mrazuvzdornost, tolerantní k pozdnímu výsevu.
- Výsevek 3 – 4 MKS.ha⁻¹, střední potřeba morforegulátoru.

- Dobrá odolnost padlí travnímu na listu, vysoká odolnost padlí travnímu v klasu, vysoká odolnost k braničnatce v klasu i na listu, dobrá odolnost proti rzi pšeničné a vysoká odolnost proti plísni *Fusarium* v klasu.
- Pekařská jakost A.

CUBUS [93]

- Polopozdní odrůda nízkého vzrůstu vhodná do všech oblastí, vysoký výnos zrna (zejména v ŘVO a BVO).
- Střední odolnost k vyzimování i k poléhání, střední odnoživost, odolná vůči rzi plevové a braničnatce plevové v klasu, méně odolná k chorobám pat stébel.
- Výsevek 3,5 – 4,0 MKS.ha⁻¹, nutné setí v agrotechnickém termínu, snáší pěstování po obilnině, je ale nutná vyšší dávka hnojení dusíkem k dosažení výnosu a zachování kvality A.
- HTZ nižší, pekařská jakost A.

RAPSODIA [96]

- Polopozdní až pozdní odrůda, doporučené pěstování ve všech oblastech, v ŘVO Čech a OVO má velmi vysoké výnosy, v ŘVO Moravy, KVO a BVO má vysoké výnosy.
- Rostliny nízké až velmi nízké, velmi dobře odnožující, zrno středně velké.
- Odolnost proti napadení rzi pšenice a poléhání, menší odolnost proti napadení chorobami pat stébel, náchylnost k napadení plísni sněžnou.
- Vysoký výnos, pekařská kvalita C.

ETELA [97]

- Poloraná odrůda, vhodná do všech výrobních oblastí, možnost pěstování po obilnině.
- Velmi vysoká HTZ, velké zrno.
- Velmi dobrá odolnost vůči vyzimování a plísni sněžné, velmi dobrá odolnost vůči padlí travnímu a rzi pšeničné, střední odolnost vůči braničnatkám na listu a chorobám pat stébel, velmi dobrá odolnost k poléhání.
- Výsevek v ŘVO a OVO 3,5 – 4,0 MKS.ha⁻¹, v BVO a KVO 4,0 – 4,5 MKS.ha⁻¹.
- Nízká dávka morforegulátoru.
- Pekařská kvalita C.

GLOBUS [96]

- Pozdní odrůda, doporučena pro pěstování v ŘVO, OVO a BVO, kde má vysoký výnos.
- V KVO má středně vysoký výnos.
- Středně vysoká až nízká objemová hmotnost.
- Rostliny nízké, středně až méně odnožující, zrno středně velké.
- Odolnost proti napadení padlí travním na listu a v klasu a braničnatkou plevovou v klasu, střední odolnost proti napadení rzi pšenice, listovými skvrnitostmi a fuzariózami klasů.
- Náchylná k vyzimování.
- Pekařská jakost B (chlebová).

MERITTO [96]

- Středně raná odrůda, doporučena pro pěstování ve všech oblastech, v ŘVO a BVO má velmi vysoký výnos, v KVO a OVO má vysoký výnos.
- Rostliny vysoké, středně odnožující, zrno středně velké.
- Mrazuvzdornost vysoká, vysoký výnos, výsevek 4,5 MKS.ha⁻¹, vyšší potřeba morforegulatoru.
- Menší odolnost proti napadení padlí travním na listu, vysoká odolnost padlí travnímu v klasu, dobrá odolnost proti braničnatce v klasu i na listu, střední odolnost proti rzi pšeničné, nízký obsah dusíkatých látek, náchylnost k napadení plísní sněžnou.
- Pekařská jakost B.

LUDWIG [96]

- Středně raná odrůda se středně vysokým výnosem, doporučena pro pěstování v ŘVO Moravy, OVO a BVO.
- Rostliny velmi vysoké, méně odnožující, zrno velké.
- Odolnost proti napadení braničnatkou plevovou v klasu, střední odolnost proti napadení fuzariózami klasů, menší odolnost proti porůstání.
- Pekařská jakost E.

PRINCEPS [98]

- Středně raná odrůda, velmi dobrá mrazuvzdornost, středně odnožující odrůda.

- Velké zrno, vysoká HTZ.
- Vhodná do všech pěstitelských oblastí, lze pěstovat po obilnině.
- Výsevek 3,5 – 4,5 MKS.ha⁻¹, méně odolná vůči rzi pšenice a fuzariózám.
- Pekařská jakost A (vysoký objem pečiva, velmi vysoká vaznost mouky a velmi vysoká objemová hmotnost).

SAMANTA [99]

- Pekařská jakost B (nízká úroveň vaznosti mouky, měkká struktura endospermu zrna).
- Poloraná odrůda, v KVO má středně vysoký výnos, v ostatních oblastech nízký.
- Středně vysoké rostliny, středně odnožující, zrno je středně velké.
- Odolná proti vymrzání, menší odolnost proti napadení padlí travnímu na listu, rzi pšeničnou, listovými skvrnitostmi a komplexem chorob pat stébel.

Kvalitativní ukazatele pšeničného zrna jednotlivých odrůd potravinářské pšenice *Triticum aestivum* L. [93][98][99]

Odrůda	Kvalita zrna						
	Sedimentační test Zeleny (ml)	Obsah dusíkatých látek v sušině (%)	Číslo poklesu (s)	Objemová hmot- nost (g.l ⁻¹)	Tvrdość PSI (%)	HTZ (g)	Rok registrace
Sultan	44	13,7	313	789	13	45	2008
Bohemia	63	13,8	359	786	15	50	2007
Akteur	62	14,0	357	800	15	44	2004
Jindra	49	12,8	362	807	14	45	2010
Elly	53	13,1	346	810	13	45	2010
Matylda	49	13,0	354	810	14	46	2011
Elan	45	13,5	396	775	-	45	2012
Evina	60	13,9	332	791	-	47	2012
Princeps	-	13,7	217	773	-	47,7	2012
Potenzial	52	13,0	364	797	-	44	2012
Turandot	73	12,5	320	790	-	53	2012
Cubus	55	12,7	349	788	14	42	2004
Rapsodia	19	12,6	299	750	20	42	2003
Etela	18	13,1	277	772	25	50	2006
Globus	46	13,0	367	783	14	44	2003
Meritto	30	12,3	311	798	12	44	2003
Ludwig	57	13,7	336	808	13	49	2000
Samanta	37	13,7	335	799	24	43	1993