

Analýza obsahu aminokyselin ve vybraných netradičních druzích cereálií

Bc. Tereza Hlaváčová

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Tereza HLAVÁČOVÁ**
Osobní číslo: **T09533**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Analýza obsahu aminokyselin ve vybraných
netradičních druzích cereálií**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Popis anatomické stavby a chemického složení obilného zrna.
2. Charakteristika vybraných druhů pšenice.
3. Obecná charakteristika a metody stanovení aminokyselin.

II. Praktická část

1. Stanovení vlhkosti a popele.
2. Stanovení obsahu hrubé bílkoviny.
3. Stanovení obsahu aminokyselin .

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] SAMUEL A. M. *The chemistry and technology of cereals as food and feed*. 2 ed., New York: Van Nostrand Reinhold/AVI, 1991, 727 s. ISBN 0-442-30830-2

[2] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. *Cereální chemie a technologie I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2006, 200 s. ISBN 80-7080-530-7

[3] KENT, N.L. and EVERS, A.D. *Technology of cereals*. 4th ed. Oxford: Elsevier Science, Ltd., 1994. 334 s. ISBN 0 08 040833 8

[4] POTTER N. N., HOTCHKISS J. H. *Food science*. 5th ed. Gaithersburg: Aspen Publishers Inc., 1995, 583 s. ISBN 0-8342-1265-X

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Zuzana Lazárková, Ph.D.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Tereza Hlaváčová

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 obhajoby¹⁾;
- 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. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ 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 § 60³⁾ 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, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 15.5.2011


.....

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

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

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

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

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

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odprá-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 užit či poskytnout jinému licencí, 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 přihledne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

ABSTRAKT

Netradiční druhy obilovin se vyznačují zpravidla menší výnosností, naopak jejich předností je vysoká nutriční hodnota a nenáročnost na pěstování. Mezi tyto alternativní cereálie řadíme např. některé druhy rodu *Triticum* – pšenice ozimá, špalda loupaná, kamut, grünkern.

Obiloviny jsou nejvýznamnějším zdrojem rostlinných bílkovin. Při sledování potřeb a příjmu proteinů je důležité sledovat i aminokyselinové složení. Bílkoviny cereálií řadíme dle zastoupení jednotlivých esenciálních aminokyselin mezi neplnohodnotné. Limitující aminokyselinou pšenice je lyzin.

V teoretické části diplomové práce je uveden význam cereálií z hlediska výživy a jsou zde popsány vybrané netradiční druhy cereálií. Dále se diplomová práce zabývá charakteristikou aminokyselin a rozebírá metody stanovení aminokyselin v cereáliích.

V praktické části je popsána metodika a výsledky jednotlivých chemických analýz – stanovení vlhkosti, popele, celkového obsahu dusíkatých látek. Vlastní stanovení obsahu aminokyselin bylo provedeno pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie.

Chemické analýzy byly provedeny na vzorcích pšenice ozimé, pšenice špaldy, špaldového kernotta, grünkernu a kamutu. Obsah vlhkosti u všech vzorků byl do 15 %, tím byly splněny podmínky dané vyhláškou č. 268/2006 Sb. Obsah popele u analyzovaných vzorků se pohyboval v rozmezí 1,60 – 1,93 %. Průměrný obsah dusíkatých látek u analyzovaných vzorků netradičních cereálií byl cca 12,5 %. Při analýze obsahu aminokyselin ve všech vzorcích netradičních cereálií bylo zjištěno, že prokazatelně nejvyšší průměrný obsah byl zaznamenán u kyseliny glutamové, dále bylo potvrzeno, že limitující aminokyselinou pšeničného zrna je lyzin. Index esenciálních aminokyselin se pohyboval v rozmezí 58,5 – 67,1 %. Z nutričního hlediska je nejvhodnější obilovinou kamut, následovaný grünkernem.

Klíčová slova: cereálie, pšenice, špalda, kamut, grünkern, aminokyseliny

ABSTRACT

Non-traditional types of cereals are characterized by generally lower returns, but advantage of non-traditional cereals is the high nutritional value and undemanding to grow. The alternative cereals are represented e.g. by some species of the genus *Triticum* – winter wheat, spelt, kamut, grünkern.

Cereals are the most important source of vegetable protein. During the monitoring of requirements and income of protein is important to monitor the amino acid composition. Proteins of cereals are included into the non-full-valued proteins because of the composition of amino acids. Limiting amino acid of wheat is lysine.

The theoretical part describes the nutritional importance of cereals and it describes selected types of non-traditional cereals. Furthermore, the thesis deals with the characteristics of amino acids and it discusses methods for the determination of amino acids in cereals.

The practical part characterises the methodology and results of chemical analysis – determination of moisture, ash and crude protein. The determination of amino acid content was performed using ion-exchange liquid chromatography.

Chemical analysis was performed in samples of winter wheat, spelt, spelt kernotto, grünkern and kamut. The content of moisture of all samples was under 15%, therefore conditions of the regulation No 268/2006 was accomplished. The average content of ash of the analyzed samples ranged from 1.60 to 1.93%. The average content of crude protein of the analyzed samples of non-traditional cereals was about 12.5%. It was found that glutamic acid possessed the highest average content and it was confirmed that the limiting amino acid of wheat grains is lysine. Essential amino acid index ranged from 58.5 to 67.1%. From the nutritional point of view kamut is the most suitable cereal, followed by grünkern.

Keywords: cereals, wheat, spelt, kamut, grünkern, amino acids

Ráda bych na tomto místě srdečně poděkovala Ing. Zuzaně Lazárkové, Ph.D. za poskytnuté materiály, cenné připomínky, ochotu a trpělivost při odborném vedení mé diplomové práce. Poděkování patří také doc. Ing. Františku Buňkovi Ph.D., za umožnění analýzy aminokyselin a laborantce Bc. Zálešákové za pomoc v laboratoři. Touto cestou bych také ráda poděkovala mé rodině, snoubenci a přátelům za podporu a pomoc během studia.

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

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 ANATOMICKÁ STAVBA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ OBILNÉHO ZRNA	13
1.1 MORFOLOGIE OBILNÉHO ZRNA	13
1.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ZRNA.....	15
1.2.1 Sacharidy	16
1.2.2 Proteiny	19
1.2.2.1 Lepek.....	20
1.2.3 Lipidy	20
1.2.4 Vitamíny, minerální látky a další biologicky aktivní sloučeniny	21
2 PŠENICE	22
2.1 BOTANICKÉ ZAŘAZENÍ PŠENICE	22
2.2 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ PŠENICE	23
2.2.1 Pšenice ozimá.....	23
2.2.2 Kamut.....	24
2.2.3 Pšenice špalda	26
2.2.3.1 Špaldové kernotto	29
2.2.3.2 Grünkern	30
3 AMINOKYSELINY	31
3.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA AMINOKYSELIN	31
3.2 METODY STANOVENÍ AMINOKYSELIN	34
3.2.1 Hydrolýza bílkovin.....	35
3.2.2 Chromatografické metody.....	35
3.2.2.1 Vysokoučinná kapalinová chromatografie HPLC	35
3.2.2.2 Iontoměničová chromatografie aminokyselin IEC	36
3.2.2.3 Plynová chromatografie GC.....	37
3.2.2.4 Tenkovrstvá chromatografie TLC.....	37
3.2.3 Kapilární elektroforéza.....	38
II PRAKTICKÁ ČÁST	39
4 CÍL PRÁCE	40
5 MATERIÁL A METODY	41

5.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	41
5.2	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY	41
5.3	CHARAKTERISTIKA VZORKŮ NETRADIČNÍCH OBILOVIN.....	42
5.4	STANOVENÍ VLHKOSTI	42
5.5	STANOVENÍ POPELE	43
5.6	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU DUSÍKATÝCH LÁTEK	44
5.7	STANOVENÍ OBSAHU AMINOKYSELIN.....	45
5.8	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ	46
6	VÝSLEDKY A DISKUSE	47
6.1	VÝSLEDKY ZÁKLADNÍCH CHEMICKÝCH ANALÝZ	47
6.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU AMINOKYSELIN	48
6.2.1	Určení nutriční hodnoty proteinů	51
	ZÁVĚR	53
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	55
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	60
	SEZNAM OBRÁZKŮ	61
	SEZNAM TABULEK.....	62
	SEZNAM PŘÍLOH.....	63

ÚVOD

Obiloviny jsou strategickou a historicky nejvýznamnější plodinou. Výrazně ovlivňují výživovou bilanci světové populace na celém světě. Uplatňují se především pro lidskou výživu, představují hlavní surovinu pro výrobu potravin, slouží jako krmivo pro hospodářská zvířata a malé množství je zpracováváno technicky, např. při výrobě škrobu a lihu. Z obilovin se pro lidskou výživu používá výhradně zrno [1].

V souvislosti s rozvojem ekologického zemědělství stoupá zájem o tzv. netradiční, maloobjemové či alternativní plodiny. Tyto plodiny se vyznačují vysokou nutriční hodnotou, menší náročností na půdní a klimatické podmínky, je možné je pěstovat bez použití průmyslových hnojiv a pesticidů. Mezi netradiční druhy obilovin lze zařadit např. některé druhy pšenice – pšenici špaldu, pšenici jednozrnku a dvouzrnku, kamut, dále oves, či proso.

Netradiční druhy cereálií mohou doplňovat a rozšiřovat potravinářský sortiment. Většina těchto plodin má specifické reologické a významné nutriční vlastnosti. Alternativní druhy obilnin jsou nedílnou součástí racionální výživy a léčebných diet i tzv. funkčních potravin [2].

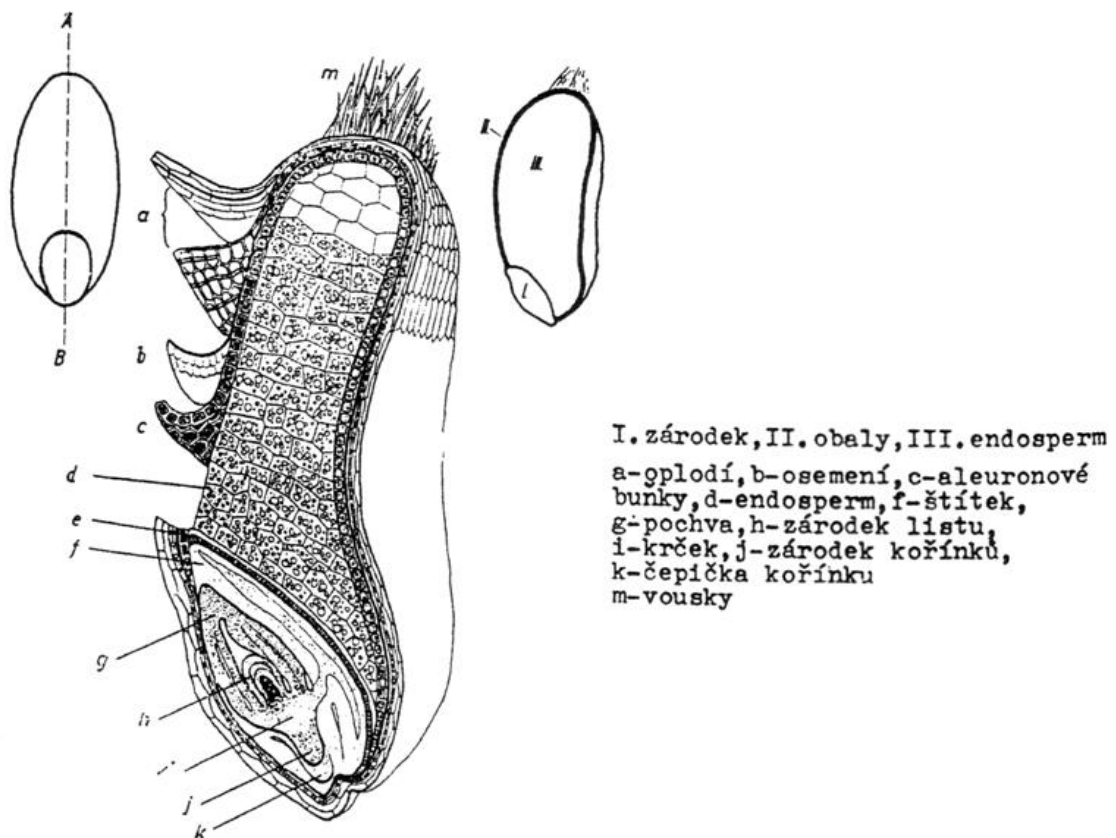
Teoretická část práce popisuje cereálie z hlediska anatomické stavby a chemického složení. Další část byla věnována charakterizaci zkoumaných druhů cereálií a metodám stanovení aminokyselin. V praktické části jsou popsány metody stanovení vlhkosti, popele, celkových dusíkatých látek a aminokyselin a shrnuty získané výsledky.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ANATOMICKÁ STAVBA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ OBILNÉHO ZRNA

1.1 Morfologie obilného zrna

Morfologická skladba zrna všech obilovin je přibližně stejná. Zrna se liší především tvarem, velikostí a podílem jednotlivých vrstev. Tvary zrna se mohou vyskytovat od tenkých protáhlých až po téměř kulatá. Zastoupení a pořadí jednotlivých vrstev je však shodné. Charakteristické pro jednotlivé obiloviny je to, zda má zrno pluchy nebo je nahé, a tvar zrna. Skladba jednotlivých vrstev zrna je znázorněna na podélném řezu obilného zrna na Obrázku 1 [3,4,5].



Obrázek 1. Podélný řez obilným zrnem [4]

Každá obilka se skládá ze škrobnatého endospermu, zárodku a obalových vrstev. Hmotnostní podíl jednotlivých částí zrna je rozdílný u jednotlivých obilovin. Rozmezí hmotnostních podílů jednotlivých částí pšeničného zrna je uvedeno v Tabulce 1. Jednotlivé složky zrna mají různé mechanické, fyzikálně chemické a strukturní vlastnosti a plní v životě obilky i při následném zpracování zrna své specifické funkce [4,6].

Tabulka 1. Zjištěná maximální rozmezí hmotnostních podílů částí zrna pšenice [3]

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

Obalové vrstvy tvoří 8 – 14 % hmotnosti zrna. Jejich hlavní funkcí je chránit endosperm a klíček před vysycháním a mechanickým poškozením. Obaly zrn jsou tvořeny několika vrstvami buněk. Obalové vrstvy se skládají z oplodí a osemení. **Oplodí** (*perikarp*) tvoří pokožka (*epidermis*), buňky podélné (*epikarp*), buňky příčné (*mezokarp*) a buňky hadicové (*endokarp*). Nejsvrchnější vrstvy zrna (oplodí) jsou tvořeny nerozpustnými a obtížně bobtnajícími látkami, především celulózou, jsou určeny k ochraně zrna před mechanickým poškozením a krátkodobými účinky vody a škodlivých látek. **Osemení** (*perisperm*) je tvořeno vrstvou barevnou a hyalinní (skelnou). Podpovrchové vrstvy osemení nesou v buňkách barviva a určují tak vnější barevný vzhled zrna [3,4,5].

Na rozhraní mezi obalovými vrstvami a endospermem je 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 minerálií (popela) v mouce a mírně se také zvýší obsah bílkovin, které však nedosahuje 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 [3,7].

Endosperm představuje 84 – 86 % hmotnosti zrna, je tvořen velkými hranolovitými buňkami. Endosperm obsahuje především škrob (téměř $\frac{3}{4}$) a přibližně 10 % endospermu tvoří bílkoviny. Od obalových vrstev je oddělen vrstvou aleuronových buněk, obsahujících bílkoviny, minerální látky, tuky a vitaminy. Endosperm zajišťuje výživu zárodka, při zpracování tvoří podstatnou složku finálního výrobku (mouky, škroby) a při výživě a krmení je hlavním zdrojem energie a bílkovin. Pšeničná mouka je téměř čistý rozdrcený endosperm [1,4,8].

Klíček tvoří nejmenší část obilky; např. u obilky pšenice představuje pouze 2,5 – 3 % hmotnosti. Je vlastním zárodkem nové rostliny a nese genetickou informaci. Klíček je oddělen od endospermu štítkem, který obsahuje až 33 % bílkovin. Obsahuje mnoho živin, protože slouží jako zárodek nové rostliny (rostlinných pletiv a obilky), které musí být pohotově v době příznivých podmínek pro vyklíčení k dispozici. Mimo jednoduchých cukrů obsahuje klíček bílkoviny, aminokyseliny, vitaminy rozpustné ve vodě (vitaminy skupiny B) a značné množství vitamínu E. V klíčku je obsažen rovněž tuk. Tuk má na vzduchu krátkou stabilitu, proto jsou klíčky před mletím z obilky odstraňovány, aby v získané mouce nebyl tuk hydrolyzován a nevznikla tak žluklá chuť [1,4].

1.2 Chemické složení zrna

Chemické složení obilky je závislé na vnitřních a zejména vnějších faktorech, jako jsou odrůda, půdní a klimatické podmínky, hnojení, agrotechnika aj. [9].

Základními stavebními složkami obilovin jsou:

- sacharidy a bílkoviny
- voda
- lipidy, minerální látky
- vitaminy, barviva
- složky, které mají růstové regulační a genetické funkce [1].

Základní složení běžných obilovin (ve kterém není zahrnut obsah vlákniny a jednoduchých cukrů) je uveden v Tabulce 2.

Tabulka 2. Základní chemické složení obilovin (v %) [10]

obilovina	voda	proteiny	lipidy	škrob	minerální látky
pšenice	13,2	11,7	2,2	59,2	1,5
žito	13,7	11,6	1,7	52,4	1,9
ječmen	11,7	10,6	2,1	52,2	2,3
oves	13,0	12,6	5,7	40,1	2,9
rýže	13,1	7,4	2,4	70,4	1,2
kukuřice	12,5	9,2	3,8	62,6	1,3

1.2.1 Sacharidy

Sacharidy tvoří hlavní podíl jednotlivých složek obsažených v obilovinách. V obilném znu lze nalézt pestrou paletu sacharidů od jednoduchých cukrů až po vysokomolekulární polysacharidy. Některé z nich jsou obsaženy v mikromnožství, zatímco jiné představují desítky procent z obsahu zrna. Obsahy sacharidů v jednotlivých odrůdách se mohou významně lišit a jsou ovlivňovány lokálními klimatickými a půdními podmínkami [3,4].

Volné monosacharidy nemají ve zralých zrnech velký význam. Nejdůležitější monosacharidy představují především pentózy: arabinóza, xylóza, ribóza, které jsou základními stavebními částicemi pentózanů, důležitých složek podpůrných pletiv. Dále je to glukóza a fruktóza. Monosacharidy se vyskytují spíše jako součást polymerů, které představují strukturální složky zrn a mají vliv na skladování a zpracování obilí, resp. mohou být obsaženy v oligosacharidech. Do mouky se jich dostává maximálně 1 – 3 % [11].

Z disacharidů je nejdůležitější sacharóza, která je obsažena především v klíčku. Mezi disacharidy vyskytující se v obilce lze dále zařadit maltózu, která vzniká jako produkt při hydrolýze škrobu [3,12].

Největší zastoupení v obilce mají koloidně disperzní polysacharidy, kde hlavními zástupci jsou škrob, dextriny, celulóza, hemicelulózy, pentózany a slizovité látky.

Neškrobové polysacharidy představují stavební polysacharidy a jsou základem buněčných stěn rostlin. Hlavními představiteli jsou celulóza, hemicelulózy, případně lignin (polyfenol vázaný na polysacharidy) aj. Tyto látky jsou nerozpustné ve vodě. Další skupinou jsou látky rozpustné nebo bobtnající ve vodě, které jsou schopny tvořit viskózní a vysokovazné koloidní systémy. Do této skupiny patří žitné pentózany, ječné a ovesné β -glukany. Tyto látky jsou hlavní součástí vlákniny [11].

Tabulka 3. Charakteristika škrobových granulí [12]

cereálie	druh	tvar	průměr [μm]
pšenice	malé	čočkovitý	15 – 30
	velké	kulovitý	1 – 10
tritikale (žitovec)	malé	čočkovitý	1 – 30
	velké	kulovitý	1 – 10
ječmen	malé	kulovitý	2 – 10
	velké	čočkovitý	10 – 30
	malé	kulovitý	1 – 5
oves	složené	vejčitý	do 60
	jednoduché	hranatý	2 – 10
kukuřice		hranatý, kulovitý	2 – 30

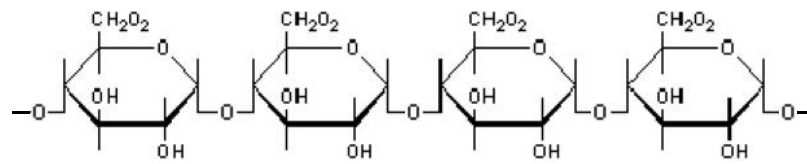
Škrob je polysacharid vyskytující se ve formě granulí v rostlinných orgánech. Na rozdíl od strukturních polysacharidů, které se nacházejí v buněčných stěnách, se škrob nachází v organelách cytoplazmy, které nazýváme plastidy. V obilce je škrob obsažen v parenchymatických buňkách endospermu. Je uložen v nerozpustných micelách nazývaných škrobová zrna nebo škrobové granule. Cereální škroby mají bimodální distribuci granulí. Velké granule (typ A) mají tvar čočky, naopak malé granule (typ B) jsou sférické částice. Škrobová zrna mají geneticky daný tvar i velikost (viz. Tabulka 3) [10,13].

Škrob je nejdůležitější zásobní látkou v obilce a slouží jako pohotovný zdroj glukózy. Obsah škrobu v žitě se pohybuje od 52 do 60 %, v ječmeni je to 56 – 66 %, v kukuřici je obsah mírně vyšší, a to 60 – 70 %. V pšenici je obsah škrobu mezi 58 – 76 % v sušině zrna. Mouka je tvořena především endospermem, díky tomu tvoří obsah škrobu v mouce až 80 % [1,10,14].

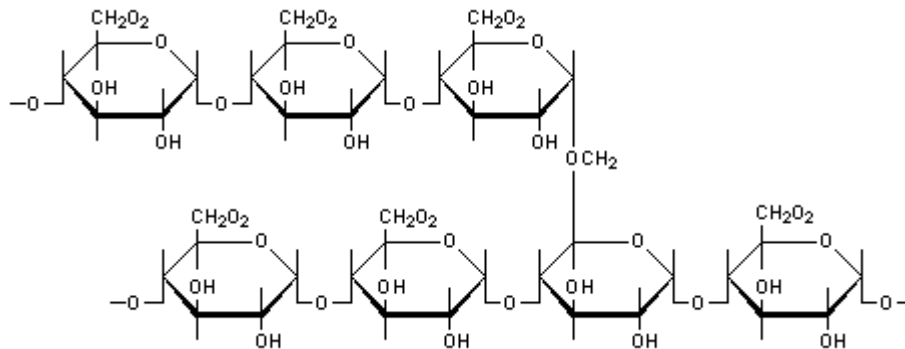
Škrob není jednotná látka, ale směs dvou polysacharidů amylozy a amylopektinu. Základní monomerní jednotkou obou polysacharidů je glukóza, škrob je polymerem disacharidu maltózy a izomaltózy [10].

Amylóza (viz Obrázek 2) představuje 20 až 50 % celkového obsahu škrobu. Amylóza je tvořena α -D-glukopyranózovými jednotkami, které jsou navzájem propojeny vazbou α -(1 \rightarrow 4). Molekula amylozy je díky převládajícím vazbám 1 (axiální) \rightarrow 4 (ekvatoriální) ve vodě a neutrálních roztocích náhodně svinutá, místy s helikální strukturou a vytváří levotočivou šroubovici. Amylóza je směsí polymerů s různým stupněm polymerace. Amylóza obilovin zpravidla obsahuje 1000 – 2000 glukózových jednotek. Molekulová hmotnost se pohybuje mezi 180 a 1000 kDa. Amylóza je částečně esterifikována kyselinou fosforečnou (pšeničný škrob obsahuje cca 0,055 % fosforu) a tvoří komplexy s lipidy [10,13,15,16].

Amylopektin (viz Obrázek 3) má α -D-glukopyranózové jednotky navzájem propojeny vazbami α -(1 \rightarrow 4) a α -(1 \rightarrow 6). Molekula amylopektinu se skládá z řetězců D-glukózových jednotek vázaných vazbami α -(1 \rightarrow 4), z nichž se po 10 – 100 (průměrně 25) jednotkách odvětvují postranní řetězce vazbou α -(1 \rightarrow 6). Výjimečně se mohou objevovat i vazby α -(1 \rightarrow 3). Polymerační stupeň amylopektinu je vyšší než u amylozy, a to 50 000 – 1000 000. Molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí od 10 do 200 MDa [10,16].



Obrázek 2. Amylóza [17]



Obrázek 3. Amylopektin [17]

1.2.2 Proteiny

Obsah bílkovin v obilovinách závisí na druhu a odrůdě obiloviny. Zralá zrna obsahují nejčastěji 9 – 16 % bílkovin v sušině. Většina bílkovin je uložena v endospermu a aleuronové vrstvě [1].

Technologicky významné proteiny se nachází v endospermu obilky. Jejich podíl ve vymletém zru je téměř stejný jako v endospermu zrna. Obsah bílkovin a jejich rozdílná kvalita je rozhodující pro pekárenskou výrobu [16].

Proteiny můžeme rozdělit na jednoduché (jsou tvořeny pouze polypeptidovým řetězcem) a složené (tzv. proteidy). Proteidy obsahují v molekule částice nebílkovinné povahy. V obilovinách se například mohou vyskytovat glykoproteiny obsahující sacharidické složky nebo lipoproteiny, které obsahují lipidické složky. Jednoduché bílkoviny můžeme dělit na protoplazmatické (albuminy, globuliny) nacházející se v klíčku a aleuronové vrstvě. Tyto bílkoviny jsou tvořeny katalytickými, enzymaticky aktivními a stavebními bílkovinami. Albuminy jsou ve vodě rozpustné, globuliny se rozpouštějí v roztocích solí. Pšenice obsahuje 15 – 20 % albuminů a globulinů. Druhou skupinou jednoduchých bílkovin jsou zásobní bílkoviny (prolaminy, gluteliny), které tvoří většinu obilného zrna. Zásobní bílkoviny jsou důležité z hlediska technologické, biologické,

nutriční a krmné hodnoty zrna. Prolaminová frakce je rozpustná v 70% etanolu, jedná se o značně heterogenní bílkovinu, která se skládá z mnoha složek (α , β , γ , ω). V pšenici je hlavním představitelem gliadin. Další frakce zásobních bílkovin je frakce glutelinová, která je rozpustná ve zředěných roztocích kyselin a zásad. Nejvýznamnějším zástupcem glutelinu je glutenin. Gliadin a glutenin tvoří ve vodě nerozpustný lepek [1,7,18].

1.2.2.1 Lepek

Bílkoviny pšenice se liší od ostatních rostlinných proteinů svou schopností tvořit lepek. Lepek je tvořen gliadinem a gluteninem. Tyto frakce jsou zastoupeny v lepku ve vzájemném poměru přibližně 2 : 3. Pšeničné gliadiny a gluteniny bobtnají pouze omezeně a za současného vložení mechanické energie na hnětení za přítomnosti vzdušného kyslíku tvoří pevný gel, který nazýváme lepek. Gliadin je nositelem tažnosti a glutenin pružnosti a bobtnavosti lepku. Lepek lze z těsta izolovat vypíráním proudem vody, přičemž se postupně vyplavují látky rozpustné ve vodě a škrob. Po určité době zůstává substance, kterou nazýváme “mokrý lepek”. Vypraný lepek je složen průměrně z 90 % proteinů, 8 % lipidů a 2 % sacharidů v sušině. Struktura lepku je tvořena trojrozměrnou sítí peptidových řetězců, tyto řetězce jsou různě zřaseny a navzájem propojeny různými můstky a vazbami. Tvorba můstků zmenšuje pohyblivost peptidových řetězců a tím se lepek zesiluje [1,3,19].

1.2.3 Lipidy

Zrna pšenice obsahují 2 – 3 % lipidů. Nejvyšší množství lipidů můžeme najít v klíčku a aleuronové vrstvě. Z chemického hlediska tvoří lipidy obilovin pestrou skupinu látek, mezi které patří tzv. neutrální lipidy, neboli tuky a oleje, polární lipidy zastoupené především fosfolipidy, dále pak steroidy, vosky, lipofilní pigmenty a některé vitaminy, zvláště vitamin E (viz kapitola 1.2.4). Vyšší výskyt lipidů je patrný v klíčcích. Hmotnostní podíl klíčku představuje přibližně 2,54 % z celého zrna, ale podíl lipidů v něm obsažených je přibližně 64 %. Naproti tomu v endospermu, který tvoří více jak 80 % zrna, jsou obsažena asi 3,3 % lipidů. Tuk obilných klíčků je cenný z výživového hlediska, proto se z některých klíčků lisují oleje. Z mastných kyselin převládá kyselina linolová. Tato kyselina snadno podléhá oxidaci, díky tomu může dojít ke žluknutí mouky při jejím dlouhodobém skladování. Hydrolytické žluknutí má za následek zvýšení kyselosti mouky. Mezi lipidy řadíme i lipofilní barviva. V obilninách se vyskytují především karotenoidy, žlutá a oranžová barviva. Hlavním představitelem je barvivo lutein. Vyšší obsah vykazuje

především druh *Triticum durum*, který je určen převážně k výrobě těstovin. Naopak v mouce pro pekařské účely se používá mouka s nižším obsahem lipofilních pigmentů [1,18].

1.2.4 Vitaminy, minerální látky a další biologicky aktivní sloučeniny

Vitaminy se v endospermu obilovin vyskytují pouze v minoritním množství. Ve větším množství se vyskytují převážně v obalových vrstvách a klíčku. Obiloviny lze považovat za zdroj vitaminů řady B. V obilných obalech a klíčcích se vyskytuje hlavně tiamin (vitamin B₁) a riboflavin (vitamin B₂). Ve světlých moukách po vymletí zbývá pouze 10 – 20 % původního množství vitaminů B₁ a B₂. Kyselina nikotinová a nikotinamid (vitamin B₃) se vyskytují ve větším množství v pšenici a ječmeni. Z lipofilních vitaminů převažuje přítomnost tokoferolu (vitamin E), který se vyskytuje převážně v klíčcích. Vysokého obsahu tokoferolu se využívá ve farmaceutickém průmyslu při výrobě vitaminových preparátů [11,20].

Minerální látky nazýváme souhrnně popel, který představuje anorganický zbytek po dokonalém spálení rostlinného materiálu. Obsah minerálních látek v zrnech obilovin se pohybuje v rozmezí 1,25 – 2,5 %. Nejvyšší obsah lze nalézt v obalových vrstvách, naopak v endospermu se téměř nevyskytují. Obsah popela stoupá se stupněm vymletí a je základním aspektem pro stanovení kvality mouky. Mouka nese typové označení, které představuje 1000 násobek průměrného obsahu popela; např. mouka T 530 obsahuje 0,53 % minerálií. Popel obilovin je tvořen převážně oxidem fosforečným, hořčíkem, vápníkem a železem [3].

Dalšími biologickými významnými látkami vyskytujícími se v pšeničném zrně jsou kyselina fytová (fosforečný ester šestisýtného cyklického alkoholu *myo*-inositolu). Kyselina fytová se vyskytuje v obilovinách ve formě fytátů, a to vápenatých, hořečnatých nebo železnatých. Největší množství těchto sloučenin lze nalézt v obalových vrstvách. Tyto sloučeniny jsou tělem nevyužitelné, jedná se o antinutriční látky. V poslední době se ovšem objevily zprávy o jejich ochranných účincích proti rakovině. V obilce se dále vyskytuje cholin, který je důležitý pro neuromotorickou činnost lidského organismu. V obalových vrstvách se také vyskytuje kyselina *p*-aminobenzoová, která je významným růstovým faktorem [11].

2 PŠENICE

2.1 Botanické zařazení pšenice

Obiloviny lze z botanického hlediska zařadit mezi trávy (*Gramineae*). Téměř všechny známé obiloviny patří do čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Všechny druhy pšenice lze zařadit do rodu *Triticum* [1].

Rod pšenice (*Triticum*) tvoří asi 8 druhů, z nichž jsou produkčně nejvíce využívány:

- **pšenice obecná** (*Triticum aestivum*): jedná se o velmi rozšířený druh pšenice, ze kterého bylo vyšlechtěno velké množství odrůd, které se využívají zvláště v pekařské technologii,
- **pšenice tvrdá** (*Triticum durum*): používá se především při výrobě těstovin, pěstována je zvláště v příznivých vnitrozemských oblastech,
- **pšenice špalda** (*Triticum spelta*): specifická je pro své pluchaté zrna, které se pěstuje jen místně, využívána je hojně především v rámci alternativního zemědělství a pro výrobu speciálních výrobků [1,21].

Díky šlechtění došlo ke vzniku mnoha botanických druhů pšenice. Na základě odlišného počtu chromozomů lze rozdělit rod *Triticum* do tří skupin: diploidní ($2n=2x=14$ chromozomů), tetraploidní ($2n=4x=28$ chromozomů) a hexaploidní ($2n=6x=42$ chromozomů) (viz Tabulka 4) [21].

Tabulka 4. Rozdělení druhů pšenice dle počtu chromozomů [21]

počet chromozomů	druh pšenice	latinský název
42	obecná (pekařská)	<i>Triticum aestivum</i>
	shloučená	<i>Triticum compactum</i>
	špalda (samopše)	<i>Triticum spelta</i>
28	dvouzrnná	<i>Triticum dicoccum</i>
	naduřelá	<i>Triticum turgidum</i>
	tvrdá	<i>Triticum durum</i>
	polská	<i>Triticum polonicum</i>
14	-	<i>Triticum dichasians</i>
	jednozrnná	<i>Triticum monococcum</i>
	-	<i>Triticum tauschii</i>

2.2 Charakteristika vybraných druhů pšenice

V následující kapitole jsou blíže charakterizovány pouze ty druhy pšenice, které byly v rámci této práce analyzovány.

2.2.1 Pšenice ozimá

Ozimá forma pšenice obecné (*Triticum aestivum L.*) je nejrozšířenější domácí plodinou, která zaujímá asi čtvrtinu plochy orné půdy. Mezi obilninami jí patří dominantní postavení, pěstuje se téměř na polovině plochy oseté obilninami. Zrna pšenice ozimé (viz Obrázek 4) zaujímají nezastupitelné postavení v potravinářském a krmivářském průmyslu. K potravinářskému zpracování se využívá 28 – 32 % z celkové produkce pšenice v ČR [22].

Pšenice ozimá patří mezi nejnáročnější obilniny na půdní podmínky a živiny. Ozimá pšenice se seje na podzim při dostatku vláhy a teplotě kolem 15 °C. Květy a plody tvoří po přezimování na jaře a v létě dalšího roku. Pšenice ozimá je náročná na předplodinu. Nejvhodnějšími předplodinami jsou luskoviny, jeteloviny, okopaniny, olejninu a zeleniny. Výnos zrna výrazně ovlivňuje hnojení dusíkem. V ekologickém zemědělství se uplatňuje spíše hnojení organickými hnojivy, zejména slámou a zelené hnojení [23,24].

Pšeničné zrna je nenahraditelnou surovinou na výrobu potravinářských výrobků. Používá se na výrobu různých druhů pečárenských a pečivárenských výrobků, snídaňových cereálií, těstovin a mnoha dalších výrobků. Z pšenice se vyrábí např. pšeničná trhanka, otruby, bulgur, či kuskus. Pšeničná trhanka vzniká šetrným drcením obilných zrn. Pšenice ozimá, která je nazývána také královnou obilnin, obsahuje vysoké množství minerálních látek a vitamínů. Roste také nepotravinářské využití pšenice. Pšeničné zrna tvoří nedílnou součást krmných směsí, je surovinou pro výrobu škrobu a etanolu [23,25].



Obrázek 4. Pšenice ozimá [26]

2.2.2 Kamut

Kamut (*Triticum turgidum* subsp. *turanicum*) patří k nejstarším druhům obilí na světě. Tento příbuzný z rodu pšenice tvrdé byl pěstován před 6000 lety v okolí řeky Nilu. Avšak po vpádu Řeků a Římanů byla tato odrůda z Egypta vytlačena a upadla v zapomnění. Slovo kamut představuje starověké egyptské označení pro pšenici. O původu kamutu panuje několik teorií. Spekuluje se, že původními pěstiteli kamutu byli Turci a dodnes lze nalézt na území Turecka malá políčka s touto starodávnou odrůdou pšenice. Legendy nazývají kamut „velbloudí zuby“ či „zrna proroka“. Turecké legendy vyprávějí, že kamut byla obilovina, kterou si Noe vzal na cestu do své archy. Proto i turečtí

zemědělci, kteří tuto plodinu znají a stále pěstují, nazývají kamut obilím prorokovým [27,28].

V moderní době zažívá kamut jakousi renezanci a je pěstován výhradně v ekologickém zemědělství a před případným šlechtěním a zneužitím je chráněn registrovanou značkou Kamut®. V roce 1990 bylo slovo kamut zapsáno jako ochranná známka s patentem Spojených států a známkového úřadu, odrůda kamut byla oficiálně pojmenována QK-77. Získaný patent slouží k zachování výjimečných vlastností určité odrůdy starověké pšenice khorasan. Výrobky pocházející z pšenice kamut khorasan obsahují jen čisté staré odrůdy, pěstované pouze organicky a nesoucí vysokou kvalitu. Na podporu značky kamut byla založena Kamut asociace Severní Ameriky (KANA). Tato organizace podporuje rozšiřování ekologického zemědělství, poskytuje informace o dostupných produktech, uvádí výsledky výzkumů a výživové studie [29,30].

Ochrannou známkou je zaručeno, že zrna Kamut® Khorasan:

- pocházejí ze starověké odrůdy pšenice khorasan,
- jsou pěstovány pouze jako certifikované bio obilí,
- obsah proteinů je v rozmezí 12 až 18 %,
- nesmí být kontaminovány moderními odrůdami v množství větším jak 1 %,
- z 98 % nesmí nést příznaky onemocnění,
- musí obsahovat 400 až 1000 ppb selenu [29].

Oproti klasické pšenici má kamut dvakrát až třikrát delší zrno. Starobylá odrůda kamut má oproti tradiční pšenici také vyšší obsah bílkovin, a to o 20 až 40 %, vyšší obsah lipidů, aminokyselin, vitaminů, především vitaminu E. Kamut je cenným zdrojem minerálních látek, zvláště selenu – významného antioxidantu, dále pak zinku a hořčíku. Protože kamut obsahuje vyšší procento lipidů produkujících více energie než sacharidy, může být kamut nazýván jako „vysoce energetické obilnina“ [29].

Pro své nutriční složení, dobrou stravitelnost a snášenlivost je kamut (viz Obrázek 5) oblíbený i u jedinců, kteří jsou na klasickou pšenici přecitlivělí. Konzumace těchto nešlechtěných obilovin vykazuje mnohem nižší toxicitu pro lidi alergické na pšenici a v některých případech alergii nevyvolávají vůbec. Celkový vliv je však individuální. Dr. Ellen Yoder, prezident IFAA (Mezinárodní asociace pro potravinovou alergii), došel

s týmem nezávislých vědců a lékařů při svém výzkumu k závěru, že pro většinu lidí trpící nesnášenlivostí na pšenici může být kamut vynikající náhrada klasické pšenice [30,31].



Obrázek 5. Kamut [32]

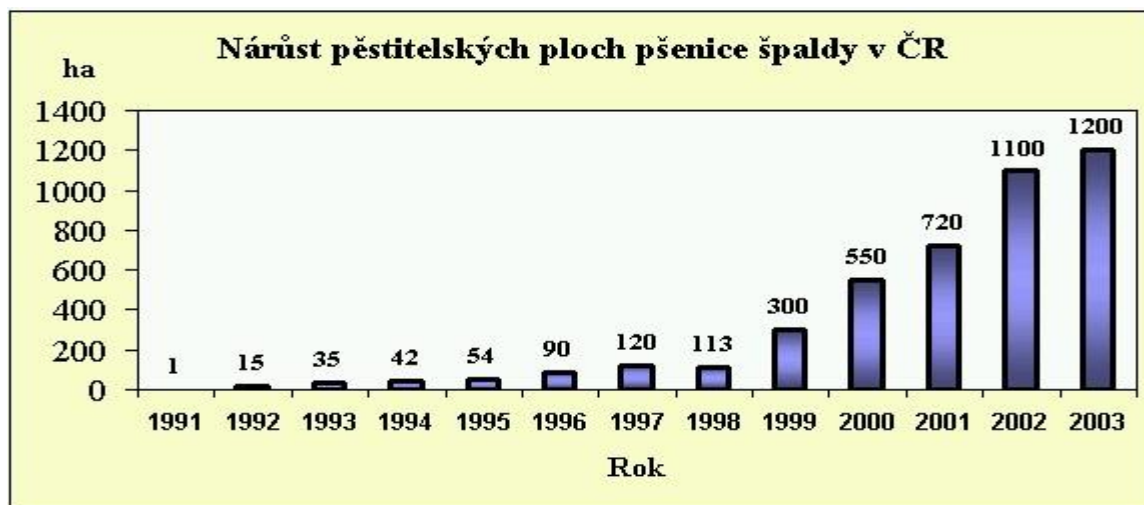
2.2.3 Pšenice špalda

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 dlouhé staletí populární především v Itálii (farro), v jižním Německu (dinkle), Španělsku, Belgii, Švýcarsku, Anglii, Polsku a Skandinávii. Špalda (staročesky samopše) byla pěstována na území Čech 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 [33,34].

V České republice se špalda znovu objevila počátkem devadesátých let v souvislosti se zaváděním ekologického zemědělství (Obrázek 6). Její plochy se pohybovaly v letech 2002 a 2003 mezi 1100 – 1200 ha. Ministerstvo zemědělství ve své ročence ekologického zemědělství uvedlo, že v roce 2008 byla špalda pěstována na ploše 1 982 ha. V roce 2009 zaujímala pšenice špalda necelých 2 560 ha ploch orné půdy a zájem o pěstování špaldy roste, a to i mezi konvenčními pěstiteli [35,36].

Na rozdíl od tradičních obilnin patří pšenice špalda do skupiny tzv. *pluchatých pšeníc*. Proto první zpracovatelskou operací po vyčištění je vyloupávání zrna z klásku. Vyloupané zrna se dále čistí a další potravinářské zpracování je podobné jako u běžných

obilnin a závisí na druhu finálního výrobku. Pluchy, které pevně obalují zrna, jsou poměrně účinnou ochranou vůči vlivům vnějšího prostředí a hmyzu [33].



Obrázek 6. Pěstitelské plochy špaldy seté [35]

Podle posledních výzkumů lze konstatovat, že ve srovnání s pšenicí obecnou se špalda vyznačuje vyšším obsahem bílkovin, minerálních látek, tuku, vlákniny a vitaminů (viz Tabulka 5) [34,37].

Tabulka 5. Složení zrna pšenice špaldy a pšenice seté [34]

	N-látky (%)	tuk (%)	vláknina (%)	popeloviny (%)
pšenice špalda	12,1	1,7	2,3	2,4
pšenice obecná	11,6	1,4	1,8	1,8

Obsah bílkovin u pšenice špaldy se v různých publikacích liší. Vybrané publikované výsledky obsahu dusíkatých látek pšenice špaldy jsou uvedeny v Tabulce 6.

Obsah škrobu ve špaldě se téměř rovná obsahu v pšenici seté. Průměrný obsah škrobu v znu špaldy byl zjištěn 63,5 % [42].

Pšenice špalda je výborným zdrojem některých *vitaminů skupiny B*, především tiaminu (B_1), riboflavinu (B_2), ale také niacinu (B_3). Zajímavý je obsah β -karotenu a tiokyaátu, který působí regeneračně na tělní buňky a chrání proti infekcím [33].

Tabulka 6. Publikované výsledky obsahu dusíkatých látek u pšenice špaldy

obsah dusíkatých látek v % (w/w)	
12,1	PRUGAR, J. [34]
12,7	RANHORTA et al. [38]
15,4	LOJE et al. [39]
11,4 – 13,7	MARCONI et al. [40]
7,5 – 10,8	ZIELINSKI et al. [41]

Pšenice špalda se vyznačuje velmi příznivým aminokyselinovým složením. Obsah esenciálních aminokyselin je nepatrně vyšší, ale podobně jako u pšenice seté je limitující aminokyselinou lyzin, následovaný treoninem. Z ostatních aminokyselin je výrazně vyšší obsah leucinu. Zastoupení některých aminokyselin ve špaldě a pšenici seté je zaznamenáno v Tabulce 7 [33].

Tabulka 7. Zastoupení vybraných aminokyselin v pšenici špaldě a pšenici seté [34]

aminokyselina	pšenice špalda	pšenice setá
	(g.100g ⁻¹ proteinu)	
leucin	9,0	6,0
metionin	4,0	2,4
lyzin	2,8	3,4
fenylalanin	7,0	5,0

Pšenice špalda (viz Obrázek 7) je potenciálním zdrojem nových potravinářských produktů s vysokým obsahem vlákniny. Zpracování a využití pšenice špaldy má největší tradici v německy hovořících zemích. Zrna špaldy se zpracovávají na kroupy, krupici a vločky, připravují se z nich základy či přísady do těstovin (spätzle), tvoří přísadu *müsli*. Špaldový chléb je typický pro svou výraznou chlebovou vůni a dlouhou trvanlivost [34].



Obrázek 7. Pšenice špalda [43]

2.2.3.1 Špaldové kernotto

Kernotto (viz Obrázek 8) jsou kroupy z pšenice špaldy. Špaldové kernotto vzniká šetrným broušením zrn. Zrno špaldy se zbaví broušením tvrdých obalových vrstev. Oproti špaldovému zrnu je kernotto rychleji uvařené a je pro většinu lidí lépe stravitelné. Kernotto je vhodné do polévek, karbanátků, k dušení a je vynikající jako příloha [44].



Obrázek 8. Špaldové kernotto [45]

2.2.3.2 *Grünkern*

Zpracováním zelených zrn pšenice špaldy získáme grünkern (viz Obrázek 9). Pšenice na výrobu grünkernu byla pěstována v poměrně malé oblasti v jižním Německu kolem města Boxberg. Výroba grünkernu má svou dlouholetou historii. V Baden-Württenbersku se ze zelených zrn špaldy připravovala sváteční jídla a rozšířené bylo i pivo ze špaldy tzv. Dinkelbier, které si zachovalo dodnes místní tradici.

Špaldová zrna se sklídí již ve stádiu mléčné zralosti, kdy jsou ještě zelená. Sklizená zrna se opraží nad ohněm z bukového dřeva při teplotě 120 °C nebo se mohou udit. Tímto postupem získají zrna nezaměnitelnou chuť a aroma [34,46].



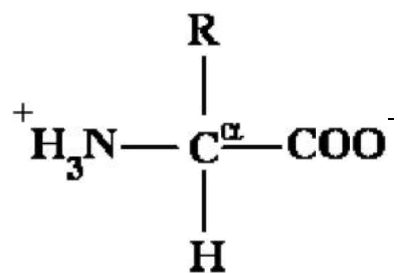
Obrázek 9. Grünkern [47]

3 AMINOKYSELINY

3.1 Obecná charakteristika aminokyselin

Základní stavební složky proteinů představují aminokyseliny. Aminokyseliny jsou sloučeniny, v jejichž molekule se nachází minimálně jedna primární aminoskupina $-\text{NH}_2$ a současně alespoň jedna karboxylová skupina $-\text{COOH}$. Aminokyseliny lze tedy považovat za substituované karboxylové kyseliny. Každá aminokyselina má nejméně dvě ionizovatelné skupiny: karboxylovou, která může odštěpovat H^+ a aminoskupinu, která může ionty H^+ přijímat. Při fyziologickém pH existují aminokyseliny převážně jako karboxylátový ion ($\text{R}-\text{COO}^-$). Na základě náboje při pH 7,4 lze aminokyseliny členit na kyselé, zásadité a neutrální. Mezi kyselé aminokyseliny patří asparagová a glutamová kyselina. Naopak zásadité aminokyseliny představují histidin, lyzin a arginin. Mezi neutrální aminokyseliny se řadí alanin, glycin, valin, leucin, izoleucin a prolin, dále amidy aminokyselin glutamin a asparagin, aminokyseliny obsahující ve své molekule síru cystein a metionin, aminokyseliny s hydroxylovou skupinou serin a treonin a aromatické aminokyseliny fenylalanin, tyrozin a tryptofan [10,48].

Ve většině potravin se nachází 99 % aminokyselin vázaných v bílkovinách a peptidech. V bílkovinách většiny organismů se vyskytuje 20 základních aminokyselin. Tyto základní aminokyseliny lze řadit mezi α -aminokyseliny, které mají primární, případně sekundární aminoskupinu na uhlíku sousedícím s karboxylovou skupinou. Všechny aminokyseliny s výjimkou glycinu jsou opticky aktivní tzv. chirální sloučeniny řady L. Obecný vzorec α -aminokyselin je na Obrázku 10 [49].



Obrázek 10. Vzorec α -aminokyselin [50]

V polovině minulého století definoval Rose na základě změn dusíkové bilance po příjmu diet ochuzených o jednotlivé aminokyseliny dvě skupiny aminokyselin – esenciální a neesenciální. Nejprve bylo definováno pouze osm esenciálních aminokyselin (izoleucin, leucin, lyzin, metionin, fenylalanin, treonin, tryptofan a valin). Deficit těchto aminokyselin vedl k rychlému rozvoji negativní dusíkové bilance. Dodatečně byl seznam doplněn o histidin, jehož nedostatek se projeví poklesem koncentrace hemoglobinu a o arginin, který je esenciální ve fetálním období vývoje člověka. Někteří autoři tyto dvě aminokyseliny zařazují mezi tzv. semiesenciální. Ostatní aminokyseliny jsou považovány za neesenciální, tj. postradatelné; tyto aminokyseliny není nutné přijímat stravou, protože si je organismus umí sám syntetizovat [48].

Při hodnocení potřeby a příjmu proteinů je nutné brát v úvahu celkový příjem proteinů i složení aminokyselin, dostupnost peptidových vazeb proteinu trávicím enzymům a další biologické faktory. Při určení nutriční hodnoty proteinů se vychází ze skutečnosti, že organismus není schopen syntetizovat esenciální aminokyseliny. Proto se v proteinech stanovuje složení esenciálních aminokyselin a výsledky se vztahují k obsahu esenciálních aminokyselin přítomných v určitém referenčním proteinu. Tento protein má z výživového hlediska optimální složení esenciálních aminokyselin. K hodnocení výživové hodnoty proteinů se používají dvě kritéria:

- aminokyselinové skóre AAS
- index esenciálních aminokyselin EAAI

Aminokyselinové skóre AAS (%) lze vypočítat pro každou esenciální aminokyselinu dle vztahu:

$$AAS = \frac{100A_i}{A_{si}}$$

A_i ...obsah dané esenciální aminokyseliny v testovaném proteinu

A_{si} ...obsah téže aminokyseliny ve standardním (referenčním) proteinu

Referenčním (standardním) proteinem byl organizacemi FAO/WHO (Organizace pro výživu a zemědělství/Světová zdravotnická organizace) určen fiktivní protein, který má optimální aminokyselinové složení a hodnota AAS pro každou z nich je 100 %. V praxi se jako standardní proteiny používají např. proteiny celovaječné nebo soubor proteinů

odstředěného mléka [10]. Složení standardního (referenčního) proteinu je uvedeno v Tabulce 8.

Tabulka 8. Obsah esenciálních aminokyselin ve standardním proteinu v g. 16 g N⁻¹ a denní potřeba těchto aminokyselin [10]

aminokyselina	standardní protein (g. 16 g N ⁻¹)	denní potřeba (g)
valín	5,0	11 – 14
leucin	7,0	11 – 14
izoleucin	4,0	10 – 11
metionin a cystein	3,5	11 – 14
treonin	4,0	6 – 7
lyzin	5,4	9 – 12
fenylalanin a tyrosin	6,1	13 – 14
tryptofan	1,0	3 – 3,5

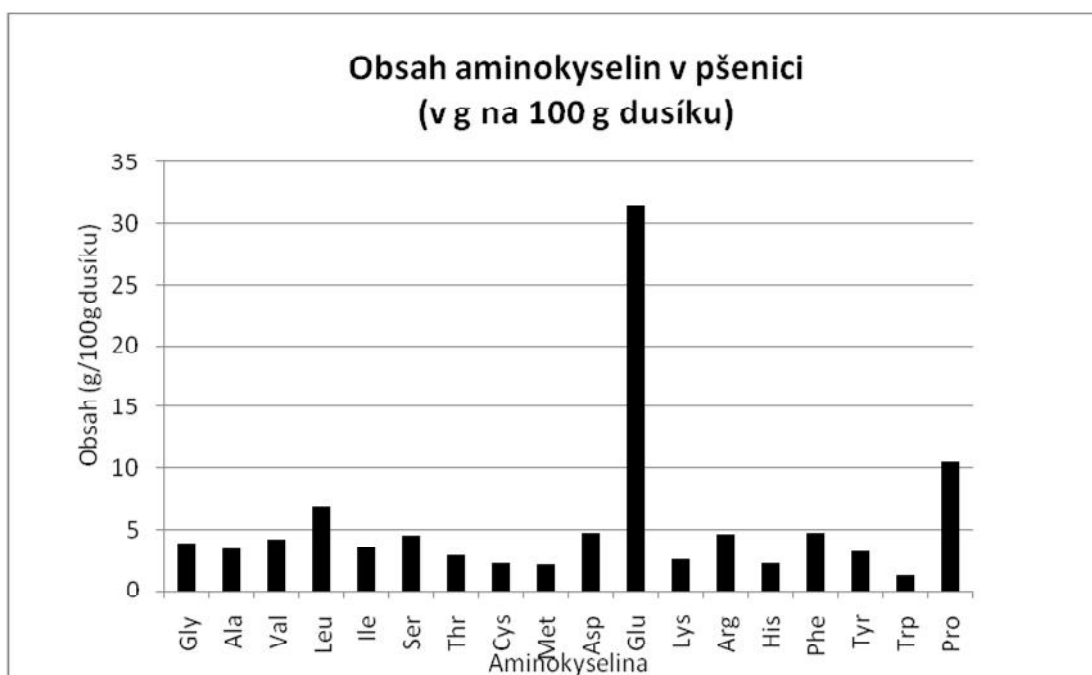
Esenciální aminokyselina, která má ze všech esenciálních aminokyselin nejnižší hodnotu kritéria AAS a určuje tedy nutriční hodnotu proteinu, se nazývá limitující aminokyselina [10].

Hodnota AAS se počítá vždy pro jednu konkrétní aminokyselinu, přesnější údaje o výživové hodnotě proteinů poskytuje index esenciálních aminokyselin EAAI. Tento index zahrnuje příspěvek všech esenciálních aminokyselin k výživové hodnotě proteinu. Pro každou esenciální aminokyselinu se určí hodnota AAS a vypočte se geometrický průměr těchto hodnot:

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{100A_1}{A_{S1}} \cdot \frac{100A_2}{A_{S2}} \cdot \dots \cdot \frac{100A_n}{A_{Sn}}}$$

Velíšek uvádí, že limitující aminokyselinou v pšenici je lyzin. Aminokyselinové skóre pro tuto limitující aminokyselinu je 44 % a hodnota indexu esenciálních aminokyselin je 68 % [10].

Zcela dominantní aminokyselinou v obilovinách je kyselina glutamová, která je výhradně přítomná jako glutamin. Jeho obsah může v obilce představovat více než 1/3 z celkového obsahu aminokyselin. Druhou nejvíce obsaženou aminokyselinou je prolin. Prolin díky svému strukturnímu uspořádání dává předpoklady k vytvoření pružné prostorové struktury pšeničného těsta. Pšeničné zrno naopak téměř neobsahuje lyzin, který je tedy, jak již bylo uvedeno výše, limitující aminokyselinou. Díky velmi nízkému obsahu lyzinu řadíme obilnou bílkovinu mezi neplnohodnotnou. Obsah jednotlivých aminokyselin v pšeničném zrnu v jednotkách g.100 g N⁻¹ je znázorněn na Obrázku 11 [11,51].



Obrázek 11. Obsah aminokyselin v pšeničném zrnu [19]

3.2 Metody stanovení aminokyselin

Stanovení aminokyselin patří mezi časově a finančně náročné analytické operace. Při stanovování aminokyselinového složení musíme v první řadě převést vázané aminokyseliny v bílkovinách a peptidech na formy volné. Během tohoto procesu musíme

zabránit případným ztrátám aminokyselin. Poté je nutné zvolit takové analytické metody, které zaručí dostatečnou přesnost a správnost získaných výsledků, zároveň musí být tyto metody rychlé a přiměřeně levné [52].

3.2.1 Hydrolýza bílkovin

V peptidech a bílkovinách jsou aminokyseliny vzájemně vázány peptidovými vazbami. Pomocí hydrolýzy lze aminokyseliny z těchto vazeb uvolnit. Hydrolýza může probíhat v kyselém nebo alkalickém prostředí. Při kyselé hydrolýze se materiál hydrolyzuje za varu konstantně vroucí kyselinou chlorovodíkovou o koncentraci $6 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Výhodou kyselé hydrolýzy je, že nedochází k racemizaci, a L-konfigurace aminokyselin zůstává zachována. Dochází však k rozkladu tryptofanu a sírných aminokyselin. Cystein a metionin podléhají oxidaci během hydrolýzy v přítomnosti kyseliny chlorovodíkové. Této degradaci sírných aminokyselin je možno zabránit použitím kyseliny mravenčí a peroxidu vodíku, kdy jsou tyto aminokyseliny před vlastní hydrolýzou převedeny na kyselinu cysteovou a metioninsulfon. Alkalická hydrolýza je vhodná pro analýzu tryptofanu. Pro alkalickou hydrolýzu lze použít NaOH, KOH, LiOH nebo $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Rychlost rozkladu peptidických vazeb se liší podle struktury a druhu jednotlivých aminokyselin [52,53].

3.2.2 Chromatografické metody

V současné době se k separaci a kvantifikaci aminokyselin používají výhradně metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC – high performance liquid chromatography) nebo kapalinové chromatografie na iontoměničích (IEC – ion exclusion chromatography) [52].

3.2.2.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC

Stanovení pomocí HPLC se provádí po hydrolýze analyzovaného vzorku. V klasické kapalinové chromatografii se naplní kolona zrnitým sorbentem. Na horní vrstvu náplně se dávkuje malé množství vzorku, poté se přivádí mobilní fáze (eluent). Působením gravitační síly mobilní fáze prostupuje kolonou, složky vzorku se od sebe separují a opouštějí spodní část kolony v různých časech. Tento princip se stal základem pro HPLC, kde se k účinnější separaci používá dostatečně malých zrníček sorbentu, které kladou

prostupující kapalině značný odpor a je nutno pracovat za vysokého tlaku. K dělení se používá metoda HPLC s UV detekcí (338 nm a 266 nm) nebo s fluorescenční detekcí. Při použití HPLC metody se ponejvíce využívá separace aminokyselin na reverzní fázi oktadecylu (C_{18}). Při UV i fluorescenční detekci aminokyselin se používá různých činidel k derivatizaci před kolonou i za kolonou. Mezi derivatizační činidla při stanovení aminokyselin lze zařadit ninhydrin, fenylizotiokyanát, naftylizotiokyanát, benzoylchlorid, 2,4-dinitro-1-fluorbenzen. [54,55].

3.2.2.2 *Iontoměničová chromatografie aminokyselin IEC*

Aminokyseliny lze separovat pomocí chromatografie založené na výměně iontů. Kolona je naplněná pryskyřicí s negativním nábojem. Na začátek kolony jsou přiváděny aminokyseliny při nízkém pH, kdy všechny aminokyseliny mají kladný náboj. Kolona je promývána mobilní fází a zatím nedochází k chromatografickému dělení. Jako mobilní fáze se používají pufrы se vzrůstající hodnotou pH a iontovou silou. Aminokyselina je převedena do izoelektrického bodu pomocí zvýšení teploty, zvýšení pH nebo při vyšší iontové síle. Složky v aminokyselině ztratí přitažlivost svých iontů k pryskyřici a jsou eluovány z kolony. Chromatografické dělení je založeno na dosažení různých izoelektrických bodů v různých časech. Metoda je vhodná pro separaci směsí volných aminokyselin i aminokyselin vyskytujících se v bílkovinných hydrolyzátech [53].

Na principu střednětlaké kapalinové chromatografie s ionexovou kolonou, postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a fotometrickou detekcí pracuje Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400. Tento přístroj je vhodný pro analýzu aminokyselin v hydrolyzátech bílkovin a peptidů, pro stanovení volných aminokyselin ve fyziologických roztocích a extraktech a pro stanovení biogenních aminů. Jednotlivé aminokyseliny jsou postupně z kolony eluovány do vyhřátého reaktoru, kde reagují s ninhydrinem. Ninhydrin patří mezi silná oxidační činidla, která rozkládají aminokyseliny na oxid uhličitý, amoniak a aldehyd. Redukovaný ninhydrin – hydrindantin reaguje se vzniklým amoniakem za vzniku purpurové substance (Ruhemanova červeň). Prolin a hydroxyprolin reagují s ninhydrinem za vzniku žlutého zbarvení při 440 nm. Barevné produkty reakce jsou detekovány fotometricky. Ruhemanova červeň má absorpční maximum při 570 nm. Koncentrace aminokyselin je přímo úměrná množství těchto produktů a jejich množství je přímo úměrné odezvě detektoru [52,53,56].

3.2.2.3 *Plynová chromatografie GC*

Princip plynové chromatografie (GC – gas chromatography) spočívá v tom, že se vzorek dávkuje do proudu plynu, který je dále unášen kolonou, mobilní fázi tedy představuje plyn. V koloně se složky analytu separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky postupně opouštějí kolonu a jsou identifikovány pomocí detektoru. Při použití plynové chromatografie je nutné analyt přeměnit v plyn. Látky, které lze separovat pomocí plynové chromatografie musí mít dostatečný tlak syté páry, musí být tepelně stálé a mít relativní molekulovou hmotnost menší než 1000. Aminokyseliny jsou silně polární látky, velmi málo těkavé a proto je nutné jejich převedení na vhodný, dostatečně těkavý derivát. Aminokyseliny lze stanovovat plynovou chromatografií ve formě esterů. Obvykle se při stanovení aminokyselin metodou GC provádí dvoustupňová derivatizace. V prvním kroku se provede esterifikace aminokyseliny alkoholem např. metanolem, propanolem, butanolem v prostředí HCl o koncentraci 3 mol.dm^{-3} . Následuje acylace aminoskupiny esteru anhydridem kyseliny (např. octové, trifluorocetové, pentafluorpropanové, heptafluorbutanové). Z retenčního času píku lze určit, o jakou aminokyselinu se jedná, plocha píku odpovídá koncentraci aminokyseliny [53,54].

3.2.2.4 *Tenkovrstvá chromatografie TLC*

Stacionární fáze je umístěná v ploše, respektive je součástí tenké vrstvy. Stacionární fázi nejčastěji představuje celulóza, oxid hlinitý nebo silikagel. Mobilní fází je směs rozpouštědel. V tenkovrstvé chromatografii se uplatňuje adsorbce. Vzorek se nanáší pomocí kapiláry či mikropipety na start, který je blíže k jednomu konci ploché desky. Tímto koncem se po vyschnutí rozpouštědla ponoří podložka s tenkou stacionární vrstvou do mobilní fáze. Celý systém se umístí do prostoru nasyceného parami mobilní fáze. Mobilní fáze vzlíná tenkou vrstvou pomocí kapilárních sil a dochází k separaci jednotlivých složek analytu. Složky vzorku, které jsou poutány stacionární fází silněji, jsou unášeny pomaleji a naopak. Vzorek se tedy rozdělí na zóny obsahující různé složky. Analýza končí, když čelo mobilní fáze dosáhne blízkosti druhého konce. Podle povahy testovaných látek se používají různé směsi rozpouštědel. Mezi nejčastěji používané rozpouštědla lze zařadit např. směsi chloroform:etanol (9:1), chloroform:etanol (19:1), hexan:etylacetát (7:3), chloroform:aceton (85:15), butanol:kyselina octová:voda (4:1:1). Detekce chromatografovaných látek se provádí po vyjmutí podložky a jejím následném

vysušení. Detekce se provádí buď přímo vizuálně, pokud jsou chromatografované látky barevné, nebo se využívá jejich fluorescence pod UV zářením, či se provádí postřik detekčním činidlem za vzniku barevných skvrn. Univerzální detekční činidlo představuje konc. kyselina sírová, protože většina organických látek pod jejím dehydratačním vlivem uhelnatí a tvoří tmavé skvrny. Při použití trinitrobenzensulfonové kyseliny dojde ke vzniku žlutých produktů, reakcí aminokyselin a 2,4-dinitro-1-fluorbenzenu vznikají také žlutě zbarvené deriváty. Dansylchlorid vytváří reakcí s aminokyselinami fluoreskující dansylderiváty. Aminokyseliny reagují s ninhydrinem za vzniku modrých až modrofialových skvrn a následná identifikace jednotlivých aminokyselin se provádí podle příslušných standardů [53,54].

3.2.3 Kapilární elektroforéza

K separaci aminokyselin po jejich uvolnění z bílkovin hydrolyzou je možné využít i elektroforetických metod. Při stanovení aminokyselin kapilární elektroforézou dochází k separaci složek díky jejich různé pohyblivosti v elektrickém poli. Pro každou aminokyselinu existuje specifický izoelektrický bod, který je určen hodnotou pH, při nichž aminokyselina vykazuje nulový náboj. Vzhledem k tomu, že rychlost pohybu částic je závislá na velikosti náboje a velikosti molekuly, různě velké a různě nabitě molekuly se pohybují odlišnou rychlostí a tím dochází k jejich separaci [57].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovit aminokyselinové složení vybraných netradičních druhů cereálií (pšenice ozimé, špaldy loupané, kamutu, špaldového kernotta a grünkernu).

Pro dosažení tohoto hlavního cíle byly stanoveny tyto dílčí cíle:

- Zpracovat literární rešerši zabývající se obecně obilovinami, vybranými netradičními druhy cereálií a aminokyselinami
- U vybraných druhů netradičních obilovin stanovit obsah vlhkosti, popele, celkových dusíkatých látek a aminokyselin (metodou IEC)
- Statisticky zhodnotit získané výsledky a diskutovat je s dostupnou odbornou literaturou

5 MATERIÁL A METODY

5.1 Použité chemikálie

kyselina sírová (Lachema)

peroxid vodíku (Lachema)

katalyzátor ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ v poměru 10:1) (Ing. Petr Lukeš)

kyselina boritá (Lachema)

hydroxid sodný (30% w/w) (Lachema)

indikátor Tashiro (Lachema)

kyselina chlorovodíková (Ing. Petr Lukeš)

kyselina mravenčí (Ing. Petr Lukeš)

sodnocitrátový pufr pH 2,2 (Ing. Petr Lukeš)

ninhydrinové činidlo (ZMBD chemik)

pufry pro stanovení aminokyselin (INGOS)

standardy aminokyselin (INGOS)

5.2 Použité přístroje a pomůcky

běžné laboratorní pomůcky a laboratorní sklo

tyčový mixér MR 6560 MCA (BRAUN)

sušárna Venticell 111 Comfort (BMT Medical Technology s.r.o.)

muflová pec 018 LP (Elektrické pece Svoboda)

analytické váhy Explorer Pro model EP 214 CM (Ohaus)

předvážky KB 600-2 (KERN)

automatická destilační jednotka Pro-Nitro 1430 (J.P. Selecta)

vakuová rotační odparka RVO 400 A (INGOS)

mineralizátor Bloc Digest 12 (J.P. Selecta)

Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 (INGOS)

5.3 Charakteristika vzorků netradičních obilovin

Chemické analýzy a následné stanovení obsahu aminokyselin byly provedeny u pěti druhů cereálií: pšenice ozimá, špalda loupaná, kamut, špaldové kernotto a grünkern. Výrobky pocházely přímo od výrobce PRO-BIO s.r.o. a byly označeny značkou BIOHARMONIE. Bližší charakteristika vzorků je uvedena v Tabulce 9.

Vzorky k analýzám byly odebírány z původního neotevřeného balení z PVC. Vzorky cereálií byly uchovávány v temnu a při podmínkách, které doporučuje výrobce, tj. do teploty 25 °C a vlhkosti do 75 %. Zrna byla důkladně rozemleta pomocí tyčového mixéru těsně před chemickými analýzami.

Tabulka 9. Charakteristika analyzovaných vzorků cereálií

cereálie	země původu	hmotnost balení (g)
pšenice ozimá	Česko	1000
špalda loupaná	Slovensko	1000
špaldové kernotto	Česko	500
kamut	Kanada	500
grünkern	Rakousko	300

5.4 Stanovení vlhkosti

Vlhkost lze definovat jako úbytek hmotnosti výrobku, vyjádřený v procentech, ke kterému dojde za podmínek definovaných mezinárodní normou. Za vlhkost (neboli vodu), jsou pokládány látky, které ze vzorku za podmínek metody vytěkají. Pevný zbytek vzorku po odstranění vody označujeme jako sušinu. Pro stanovení vlhkosti mouky se nejčastěji používá nepřímá vážková metoda, kdy se stanovuje obsah sušiny vzorku. Obsah sušiny se stanovuje gravimetricky. Vyjadřuje se jako hmotnostní zlomek nebo v hmotnostních procentech [58,59].

Stanovení obsahu sušiny a následný výpočet obsahu vlhkosti ve vzorku obilnin bylo provedeno sušením 5 g vzorku namletého zrna v sušárně při teplotě 130 ± 3 °C do konstantního úbytku hmotnosti. Bylo postupováno dle ČSN EN ISO 712 [59].

Do předem vysušených a zvážených hliníkových misek bylo naváženo 5 g vzorků s přesností na čtyři desetinná místa. Misky se vzorky obilnin byly umístěny do laboratorní sušárny přehřáté na 130 °C a vzorek byl sušen do konstantního hmotnostního úbytku. Poté byla miska se vzorkem vložena do exsikátoru a po vychlazení byly misky zváženy na analytických váhách. Byl proveden výpočet obsahu sušiny a následně přepočten na obsah vlhkosti [56]. Výsledky byly vyjádřeny v % (w/w). Každý vzorek byl stanoven 3 krát.

Výpočet obsahu sušiny v % (w/w) :

$$S = \frac{m_3 - m_1}{m_2} \cdot 100$$

S...obsah sušiny v % (w/w)

m_1 ...hmotnost prázdné misky [g]

m_2 ...navážka vzorku [g]

m_3 ... hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g].

Výpočet obsahu vlhkosti v % (w/w) :

$$v = 100 - S$$

v...obsah vlhkosti v % (w/w).

5.5 Stanovení popele

Popel je souhrn minerálních složek obilovin. Popel mouky je definován jako množství anorganických látek, které se nespálily v průběhu spalování vzorku v peci při teplotě 550 ± 10 °C. Obsah popele vzorku lze vypočítat po zvážení zbytku vzorku [58]. Stanovení obsahu popele bylo provedeno podle ČSN ISO 2171 [60].

Vzorek příslušných obilných zrn byl promísen a dokonale rozemlet. Z takto připraveného analytického vzorku byl navážen 1 g zkušební vzorku s přesností na 4 desetinná místa do předem vyžíhaných a zvážených kelímků. Kelímky se vzorky byly žihány při teplotě 550 °C po dobu 4 hodin. Po zchlazení v exsikátoru byly kelímky zváženy [59]. Výsledky byly vyjádřeny v % (w/w). Každý vzorek byl analyzován 3 krát.

Výpočet obsahu popele v % (w/w) :

$$\% \text{ popele} = \frac{m_3 - m_1}{m_2} \cdot 100$$

m_1 ...hmotnost prázdného vyžíhaného kelímku [g]

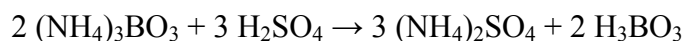
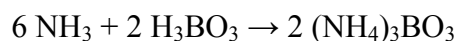
m_2 ...navážka vzorku [g]

m_3 ...hmotnost kelímku se vzorkem po žíhání [g].

5.6 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek

Zjišťování obsahu bílkovin je založeno na skutečnosti, že bílkoviny obsahují 16 % dusíku. Obsah dusíku je v bílkovinách různý, záleží na původu této bílkoviny. Pro výpočet obsahu hrubé bílkoviny se obecně používá přepočítávací faktor 6,25 (100/16). Pro obiloviny, mouku a těstoviny byl určena hodnota 5,7. Obsah hrubé bílkoviny lze vypočítat, pokud zjištěný obsah dusíku vynásobíme tímto faktorem.

Principem stanovení celkového obsahu dusíkatých látek je skutečnost, že z mineralizátu bílkovinného materiálu, připraveného podle Kjeldahla, se amoniak, uvolněný ze síranu amonného koncentrovaným roztokem NaOH, předestiluje s vodní parou v destilačním přístroji do roztoku kyseliny trihydrogenborité. Vzniklý boritan amonný se stanoví titračně odměrným roztokem kyselinv sírové na indikátor Tashiro. Z množství spotřebované kyseliny se vypočítá obsah dusíku [61]. Stanovení obsahu celkového dusíku bylo provedeno podle ČSN EN ISO 20483 [62].



Do mineralizační baňky bylo naváženo 0,1 g rozemletého vzorku obiloviny, ke vzorku bylo přidáno 10 ml koncentrované H_2SO_4 , čtyři kapky H_2O_2 a malá lžička směsného katalyzátoru ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ v poměru 10:1). Baňky se vzorky byly umístěny do mineralizátoru Bloc Digest 12 s přidavným zařízením, které umožňovalo odsávání par. Byla zapnuta pračka plynů, digestoř a vyhřívací blok. Teplota ohřevu byla nastavena na 400 °C. Po skončení mineralizace byly zkumavky ponechány zchladnout při zapnuté pračce, poté byla do zkumavek doplněna do objemu 25 ml destilovaná voda. Pro stanovení obsahu dusíku byla použita automatická destilační jednotka Pro-Nitro 1430. Byl připraven

čerstvý roztok 30% NaOH a H₃BO₃ s indikátorem, jako odměrný roztok byl použit roztok 0,1 mol.l⁻¹ HCl. Po zahřátí přístroje byl proveden slepý pokus s destilovanou vodou a dále byly analyzovány vlastní vzorky obilovin. Po provedené analýze bylo na displeji odečteno množství spotřebované HCl a obsah dusíku v mg (S_N). Každý vzorek byl analyzován 4 krát.

Výpočet obsahu hrubých bílkovin v % (w/w):

$$\% \text{ bílkovin} = \frac{S_N \cdot 5,7}{m} \cdot 100$$

S_N...obsah dusíku [mg]

m...navážka vzorku [mg]

5,7...přepočítávací faktor

5.7 Stanovení obsahu aminokyselin

Stanovení obsahu aminokyselin ve vzorku bylo provedeno pomocí hydrolyzy HCl o koncentraci 6 mol.dm⁻³. Vzorek o hmotnosti 0,1 g byl umístěn do termobloku a byl zde ponechán při teplotě 115 ± 1 °C po dobu 23 hodin, následně byl vzorek přefiltrován. Filtrát byl na vakuové rotační odparce RVO 400 A odpařen do sirupovité konzistence. Následně byl odparek kvantitativně převeden pomocí pufru o pH 2,2 do 25 ml odměrné baňky.

Pro stanovení sirných aminokyselin cystein a metionin bylo nutné provést oxidativně kyselou hydrolyzu, protože během kyselé hydrolyzy dochází k degradaci těchto aminokyselin. Oxidací vzniká kyselina cysteová a metioninsulfon [52,53]. Ke vzorku cereálie, 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 cereálie a byla ponechána 16 hodin při teplotě 6 ± 1 °C. Po uplynutí požadované doby byla přidána k oxidovanému vzorku koncentrovaná HCl o objemu 1 – 2 ml a po odpěnění 150 ml HCl o koncentraci 6 mol.dm⁻³. Baňka byla umístěna do olejové lázně, kde byla provedena hydrolyza při teplotě 115 ± 1 °C po dobu 23 hodin. Hydrolyzát byl poté kvantitativně převeden do 250 ml baňky a po vytemperování doplněn 0,1 mol.dm⁻³ HCl po rysku. Doplněné baňky byly ponechány při teplotě 6 ± 1 °C

do druhého dne. Alikvotní množství (25 ml) filtrátu bylo odpařeno na odparce a vzniklý odparek byl pomocí pufru o pH 2,2 převeden do 25 ml odměrné baňky.

Vlastní stanovení obsahu AMK bylo po hydrolýze provedeno pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie se sodno-citrátovými pufrů, ninydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí [62,63] na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400 (viz Obrázek 12).



Obrázek 12. Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 [64]

Z esenciálních aminokyselin byly stanoveny: treonin, valin, izoleucin, leucin, fenyloalanin, metionin a lyzin. Tryptofan nebyl stanovován, protože při kyselé hydrolýze dochází k jeho degradaci. Dále byly stanoveny semiesenciální aminokyseliny arginin a histidin. Z neesenciálních aminokyselin byly stanoveny následující aminokyseliny: kyselina asparagová (spolu s asparaginem), kyselina glutamová (s glutaminem), serin, prolin, glycin, alanin, tyrozin a cystein. Výsledky byly vyjádřeny v $\text{g} \cdot 16 \text{ g N}^{-1}$ a $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Každý vzorek byl pro kyselou hydrolýzu navážen 3x ($n=6$) a pro oxidativně-kyselou hydrolýzu 2x ($n=8$).

5.8 Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky chemických analýz a stanovení obsahu aminokyselin byly podrobeny statistickému hodnocení s použitím parametrického testu srovnávajícího střední hodnoty dvou nezávislých výběrů (Studentův t-test). Statistická analýza byla provedena pomocí programu StatK25 na hladině významnosti 5 %.

6 VÝSLEDKY A DISKUSE

6.1 Výsledky základních chemických analýz

U vzorků cereálií byl stanoven průměrný obsah vlhkosti, popelu a celkový obsah dusíkatých látek. Zjištěné výsledky chemických analýz byly zaznamenány do Tabulky 10.

Tabulka 10. Obsah vlhkosti, sušiny, popele a dusíkatých látek

vzorek	vlhkost	sušina	popel	dusíkaté látky
	% (w/w)			
pšenice ozimá	13,22 ± 0,091 ^a	86,78 ± 0,091 ^a	1,69 ± 0,041 ^a	10,69 ± 0,112 ^a
špalda loupaná	12,02 ± 0,085 ^b	87,98 ± 0,085 ^b	1,93 ± 0,114 ^b	12,28 ± 0,359 ^b
špaldové kernotto	12,23 ± 0,067 ^c	87,77 ± 0,067 ^c	1,60 ± 0,043 ^c	12,77 ± 0,342 ^c
kamut	10,98 ± 0,146 ^d	89,02 ± 0,146 ^d	1,62 ± 0,041 ^{a,c}	13,17 ± 0,240 ^c
grünkern	8,75 ± 0,104 ^e	91,25 ± 0,104 ^e	1,86 ± 0,021 ^b	14,10 ± 0,445 ^d

Pozn.: Výsledky uvedeny jako průměr ± SD (n = 3, dusíkaté látky: n = 4). Průměrné hodnoty ve sloupcích se stejným horním indexem se statisticky neliší (P ≥ 0,05).

Hodnoty vlhkosti u analyzovaných vzorků byly zjištěny v rozmezí 8,75 – 13,22 hmot. %. Nejvyšší průměrný obsah vlhkosti byl vypočten u vzorku pšenice ozimé, naopak nejnižší vlhkost měl grünkern. Nízký obsah vlhkosti grünkernu je způsoben specifickým způsobem, při kterém se zrna grünkernu praží nad ohněm z bukového dřeva [46]. Průměrná vlhkost kamutu byla zjištěna cca 11 %. U špaldy loupané a špaldového kernotta hodnota průměrné vlhkosti nepřesahovala 12,30 %. V příloze č. 2 k vyhlášce č. 268/2006 Sb., která uvádí požadavky na smyslovou, fyzikální a chemickou jakost mouk ze všech druhů obilovin, je maximální přípustná hodnota vlhkosti 15 % [65]. Lze konstatovat, že obsah vlhkosti ve všech vzorcích obilnin splňoval požadavky vyhlášky č. 268/2006 Sb.

Obsah minerálních látek (popelé) v zrnech obilovin se běžně pohybuje v rozmezí 1,25 – 2,5 hmot. % [3]. Průměrný obsah popelé u analyzovaných vzorků se pohyboval v rozmezí 1,60 – 1,93 hmot. %. Nejnižší obsah popelé byl určen u špaldového kernotta, a to $1,60 \pm 0,043$ hmot. %. Příčinou nízkého obsahu popelé je pravděpodobně způsob zpracování špaldového zrna. Špaldové kernotto se získává odstraněním obalových vrstev šetrným broušením. Nejvyšší obsah minerálních látek lze nalézt v obalových vrstvách [3,44], v důsledku obroušení těchto obalových vrstev má špaldové kernotto ze všech analyzovaných cereálií nejnižší obsah popelé. U pšenice ozimé byl zjištěn průměrný obsah popelé cca 1,7 %, u kamutu 1,6 % a u grünkernu 1,9 %. Nejvyšší obsah popelé byl určen u špaldy loupané, a to cca 1,9 %. PRUGAR, J. a kolektiv uvádí, že průměrný obsah popelé u zrn špaldy loupané je 2,4 hmot. % [34].

Obsah bílkovin v obilovinách závisí na druhu a odrůdě obiloviny. Zralá zrna obsahují nejčastěji 9 – 16 % bílkovin v sušině [1]. Průměrný obsah dusíkatých látek u analyzovaných vzorků netradičních cereálií byl cca 12,5 %. Nejvyšší obsah dusíkatých látek byl stanoven u grünkernu (cca 14 %) a kamutu (cca 13 %). Ochrannou známkou je zaručeno, že zrna Kamut® Khorasan mají obsah proteinů v rozmezí 12 až 18 % [29]. Podmínka daná touto ochranou značkou byla tedy u analyzovaného vzorku kamutu dodržena. U špaldy loupané a špaldového kernotta se průměrný obsah dusíkatých látek pohyboval v rozmezí 12,3 – 12,8 %. PRUGAR, J. a kolektiv uvádí, že obsah N-látek u špaldy loupané se pohybuje kolem 12,1 % [34]. Nejnižší obsah dusíkatých látek byl zaznamenán u pšenice ozimé (cca 10,7 %).

6.2 Výsledky stanovení obsahu aminokyselin

Obsah jednotlivých aminokyselin byl stanoven pomocí iontově výměnné kapalinové chromatografie. Zjištěné hodnoty byly zapsány do Tabulky 11. Údaje o obsahu aminokyselin v $\text{g} \cdot 16 \text{ g N}^{-1}$ jsou pro srovnání uvedeny v příloze P I.

Při analýze obsahu aminokyselin ve všech vzorcích netradičních cereálií bylo zjištěno, že prokazatelně nejvyšší průměrný obsah byl zaznamenán u kyseliny glutamové. Obsah kyseliny glutamové se pohyboval v rozmezí cca $18,4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (pšenice ozimá) – $29,6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (grünkern).

Tabulka 11. Obsah aminokyselin ve vybraných druzích cereálií v g.kg⁻¹

AMK	obsah aminokyselin [g.kg ⁻¹]				
	pšenice ozimá	špalda loupaná	špaldové kernotto	kamut	grünkern
Asp	4,58 ± 0,235 ^a	4,73 ± 0,156 ^b	3,83 ± 0,094 ^c	6,22 ± 0,253 ^d	5,99 ± 0,127 ^e
Thr	2,23 ± 0,063 ^a	2,39 ± 0,100 ^b	2,34 ± 0,120 ^b	2,89 ± 0,135 ^c	2,98 ± 0,102 ^c
Ser	3,50 ± 0,088 ^a	4,09 ± 0,203 ^b	4,06 ± 0,158 ^b	4,83 ± 0,176 ^c	4,83 ± 0,313 ^c
Glu	18,38 ± 0,433 ^a	24,81 ± 0,788 ^b	23,39 ± 0,664 ^c	27,71 ± 1,421 ^d	29,58 ± 2,033 ^e
Pro	7,33 ± 0,229 ^a	10,54 ± 0,613 ^b	10,66 ± 0,289 ^b	11,30 ± 0,508 ^c	11,45 ± 0,634 ^c
Gly	3,11 ± 0,090 ^a	3,33 ± 0,141 ^b	3,26 ± 0,171 ^b	3,71 ± 0,178 ^c	3,83 ± 0,125 ^c
Ala	2,72 ± 0,115 ^a	2,72 ± 0,095 ^a	2,76 ± 0,169 ^a	3,38 ± 0,135 ^b	4,02 ± 0,001 ^c
Val	2,84 ± 0,020 ^a	3,11 ± 0,117 ^b	3,16 ± 0,215 ^b	4,17 ± 0,178 ^c	4,12 ± 0,199 ^c
Ile	2,05 ± 0,076 ^a	2,45 ± 0,126 ^b	2,50 ± 0,101 ^b	3,03 ± 0,140 ^c	3,05 ± 0,005 ^c
Leu	4,67 ± 0,159 ^a	5,61 ± 0,311 ^b	5,70 ± 0,209 ^b	6,81 ± 0,167 ^c	6,77 ± 0,212 ^c
Tyr	2,09 ± 0,303 ^a	2,13 ± 0,091 ^a	2,73 ± 0,026 ^b	2,70 ± 0,192 ^b	2,99 ± 0,041 ^c
Phe	3,11 ± 0,303 ^a	4,01 ± 0,139 ^b	3,60 ± 0,217 ^c	4,79 ± 0,350 ^d	4,35 ± 0,093 ^e
His	1,74 ± 0,050 ^a	1,99 ± 0,098 ^b	1,97 ± 0,089 ^b	2,46 ± 0,058 ^c	2,27 ± 0,010 ^d
Lys	2,12 ± 0,153 ^a	2,12 ± 0,047 ^a	2,26 ± 0,075 ^b	2,60 ± 0,093 ^c	2,39 ± 0,104 ^d
Arg	4,07 ± 0,313 ^a	4,42 ± 0,148 ^b	4,40 ± 0,385 ^b	5,49 ± 0,372 ^c	4,79 ± 0,063 ^d
Cys	3,13 ± 0,052 ^a	3,34 ± 0,070 ^b	3,47 ± 0,133 ^c	3,30 ± 0,095 ^b	3,30 ± 0,208 ^b
Met	1,90 ± 0,078 ^a	2,45 ± 0,049 ^b	2,07 ± 0,062 ^c	2,34 ± 0,051 ^d	2,29 ± 0,148 ^d

Pozn.: Obsah aminokyselin je uveden jako průměr ± SD (n = 6, cystein a metionin: n = 8).

Průměrné hodnoty v řádcích se stejným horním indexem se statisticky neliší (P ≥ 0,05).

Druhou nejvíce zastoupenou aminokyselinou byl prolin. Nejvíce prolinu obsahoval stejně jako u kyseliny glutamové grünkern (cca $11,5 \text{ g.kg}^{-1}$) a nejméně opět pšenice ozimá ($7,3 \text{ g.kg}^{-1}$). Získané výsledky korespondují s údaji zjištěnými v literatuře, že zcela dominantní aminokyselinou v obilovinách je kyselina glutamová následovaná prolinem [11,51].

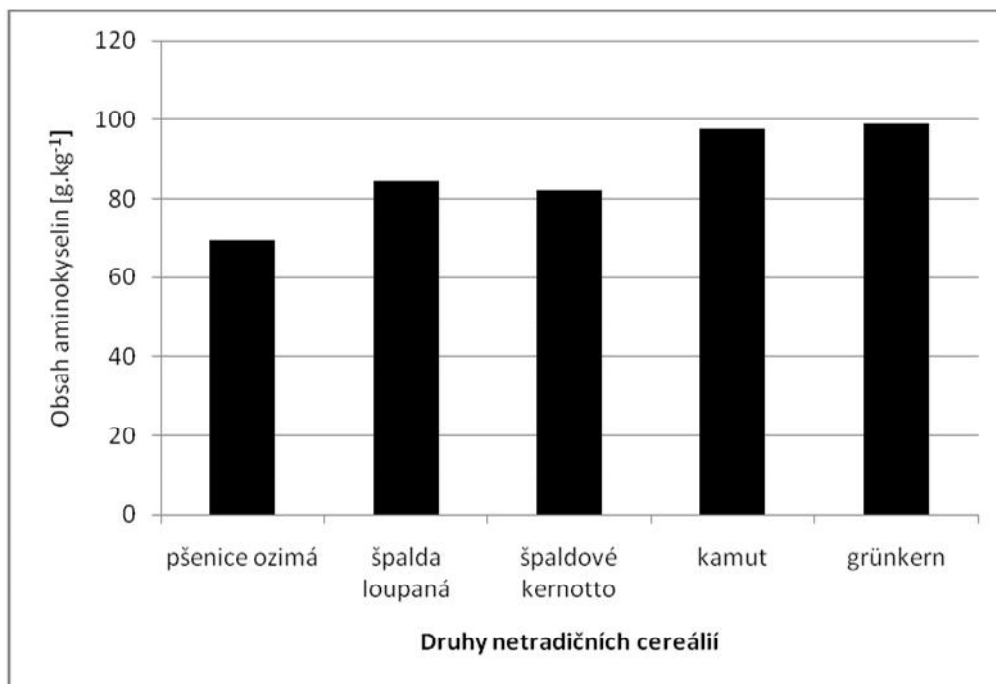
Mezi aminokyseliny, jejichž obsah byl vyhodnocen jako nejnižší, patřily u pšenice ozimé histidin, metionin, izoleucin, tyrozin a lyzin. U špaldy loupané pak histidin, lyzin, tyrozin, metionin a treonin, u špaldového kernotta histidin, metionin, lyzin, treonin a izoleucin, u kamutu metionin, histidin, lyzin, tyrozin a treonin a konečně u grünkernu byly nejméně zastoupenými aminokyselinami histidin, metionin, lyzin, treonin a tyrozin. V dostupné literatuře [10,11,12,48,51] bývá jako limitující aminokyselina v obilovinách uváděn lyzin. Naše výsledky toto zjištění částečně potvrzují. U špaldy loupané byl lyzin druhou aminokyselinou s nejnižším obsahem, u špaldového kernotta, kamutu a grünkernu třetí a u pšenice ozimé pak pátou.

Po vyhodnocení výsledků obsahu aminokyselin získaných pomocí iontové výměnné chromatografie bylo potvrzeno, že:

- zcela dominantní aminokyselinou v obilovinách je kyselina glutamová,
- druhou nejvíce obsaženou aminokyselinou je prolin,
- pšeničné zrno téměř neobsahuje esenciální aminokyselinu lyzin, která je tedy limitující aminokyselinou.

Celkový obsah aminokyselin u jednotlivých druhů cereálií byl znázorněn graficky (viz Obrázek 13).

Nejvyšší celkový obsah aminokyselin byl stanoven u grünkernu (99 g.kg^{-1}) a kamutu ($97,73 \text{ g.kg}^{-1}$). Špalda loupaná měla celkový obsah aminokyselin $84,23 \text{ g.kg}^{-1}$ a špaldové kernotto $82,16 \text{ g.kg}^{-1}$. Nejnižší celkový obsah aminokyselin byl zaznamenán u pšenice ozimé, a to $69,56 \text{ g.kg}^{-1}$. Všechny netradiční druhy obilovin tedy vykazovaly vyšší obsah aminokyselin (o 18 – 42 %) než tradiční plodina pšenice ozimá.



Obrázek 13. Celkový obsah aminokyselin v g.kg⁻¹

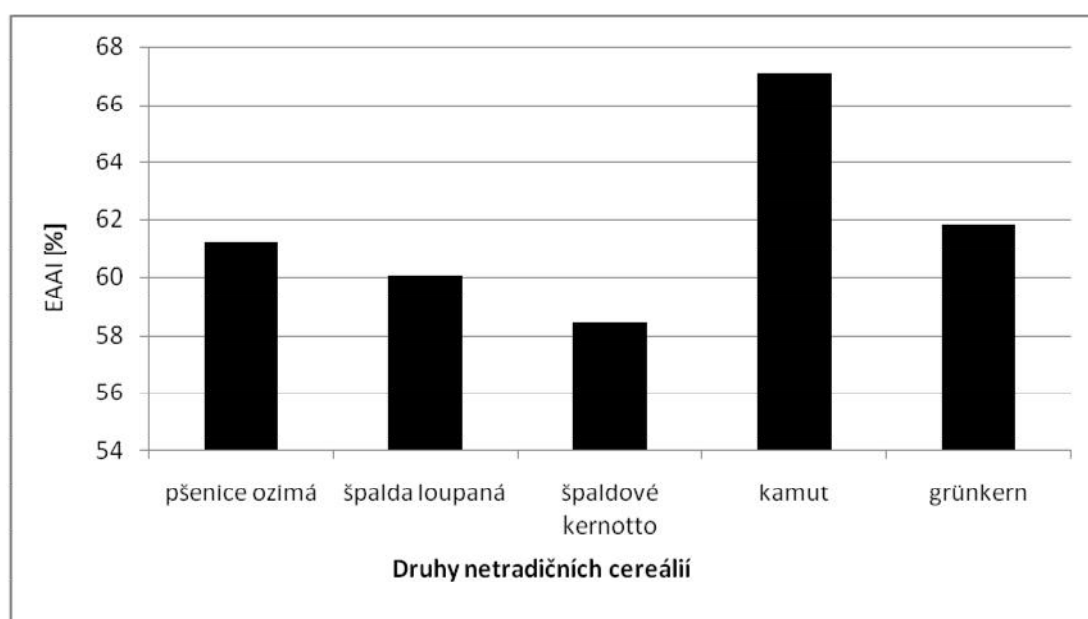
6.2.1 Určení nutriční hodnoty proteinů

K hodnocení výživové hodnoty proteinů se používají dvě kritéria: aminokyselinové skóre AAS a index esenciálních aminokyselin EAAI. Vypočtené hodnoty AAS pro jednotlivé obiloviny byly zaznamenány do Tabulky 12. Vypočtené hodnoty EAAI byly uvedeny do grafu (viz Obrázek 14).

Nejnižší AAS bylo u všech obilovin stanoveno u lyzinu. Hodnota tohoto kritéria se pohybovala v rozmezí 31,3 % (grünkern) – 36,7 % (pšenice ozimá). Velíšek [10] uvádí, že aminokyselinové skóre pro limitující aminokyselinu (tj. lyzin) je 44 %. Index esenciálních aminokyselin (EAAI) byl nejnižší u špaldového kernotta (cca 58 %) a naopak nejvyšší u kamutu (67 %) a grünkernu (62 %). Velíšek uvádí hodnotu EAAI pro pšenici 68 % [10]. Z nutričního hlediska je nejvhodnější obilovinou kamut, následovaný grünkernem.

Tabulka 12. Hodnoty AAS pro jednotlivé obiloviny

cereálie	pšenice ozimá	špalda loupaná	špaldové kernotto	kamut	grünkern
aminokyselina	AAS (%)				
valin	53,20	50,60	49,40	63,20	58,40
leucin	62,43	65,29	63,86	73,86	68,57
izoleucin	47,75	49,75	49,00	57,50	54,00
metionin + cystein	134,29	134,86	124,00	122,29	113,43
treonin	52,00	48,50	45,75	54,75	52,75
lyzin	36,67	32,04	32,78	36,48	31,30
fenylalanin + tyrozin	79,67	81,80	81,15	93,11	85,41



Obrázek 14. Hodnoty EAAI pro jednotlivé cereálie

ZÁVĚR

Od nepaměti patří cereálie mezi nejvýznamnější kulturní plodiny. Mají strategický význam ve výživě celé populace. Cereálie jsou cenným zdrojem vitaminů, minerálií, sacharidů a vlákniny. V souvislosti s rozvojem ekologického zemědělství stoupá zájem o tzv. netradiční či maloobjemové plodiny. Tyto plodiny se vyznačují vysokou nutriční hodnotou, menší náročností na půdní a klimatické podmínky, je možné je pěstovat bez použití průmyslových hnojiv a pesticidů. Netradiční cereálie se vyznačují vyšším obsahem dusíkatých látek oproti klasickým druhům obilovin. Mezi tyto alternativní plodiny lze zařadit např. kamut, pšenici špaldu a výrobky z ní – grünkern a špaldové kernotto.

V rámci zpracování diplomové práce byly prováděny chemické analýzy na vzorcích pšenice ozimé, pšenice špaldu, grünkernu, špaldového kernotta a kamutu. V praktické části byly popsány metody stanovení vlhkosti, popele, celkového obsahu dusíkatých látek. Analýza obsahu jednotlivých aminokyselin byla provedena po kyselé hydrolýze pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie se sodno-citrátovými pufrů, ninydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí na automatickém analyzátoru aminokyselin.

Průměrná hodnota vlhkosti u analyzovaných vzorků se pohybovala v rozmezí 8,75 hmot. % (grünkern) – 13,22 hmot. % (pšenice ozimá). Na základě tohoto zjištění lze konstatovat, že obsah vlhkosti ve všech vzorcích obilnin splňoval požadavky vyhlášky č. 268/2006 Sb., která udává, že maximální přípustná hodnota vlhkosti u všech obilovin je 15 %. Průměrný obsah popele u analyzovaných vzorků se pohyboval v rozmezí 1,60 – 1,93 hmot. %. Průměrný obsah dusíkatých látek u analyzovaných vzorků netradičních cereálií byl cca 12,5 %.

Prokazatelně nejvyšší průměrný obsah aminokyselin byl zaznamenán u kyseliny glutamové. Obsah kyseliny glutamové se pohyboval v rozmezí 18,4 g.kg⁻¹ (pšenice ozimá) – 29,6 g.kg⁻¹ (grünkern). Druhou nejvíce zastoupenou aminokyselinou byl prolin. Nejvíce prolinu obsahoval grünkern (11,5 g.kg⁻¹) a nejméně pšenice ozimá (7,3 g.kg⁻¹). Naše výsledky částečně potvrdily, že limitující aminokyselinou pšenice je lyzin. U špaldu loupané byl lyzin druhou aminokyselinou s nejnižším obsahem, u špaldového kernotta, kamutu a grünkernu třetí a u pšenice ozimé pak pátou.

Nejvyšší celkový obsah aminokyselin byl stanoven u grünkernu (99 g.kg^{-1}) a kamutu ($97,73 \text{ g.kg}^{-1}$). Naopak nejnižší celkový obsah aminokyselin byl zaznamenán u pšenice ozimé, a to $69,56 \text{ g.kg}^{-1}$.

Při hodnocení potřeby a příjmu proteinů je nutné brát v úvahu celkový příjem proteinů i složení aminokyselin, dostupnost peptidových vazeb proteinu trávicím enzymům a další biologické faktory. Při určení nutriční hodnoty proteinů se vychází ze skutečnosti, že organismus není schopen syntetizovat esenciální aminokyseliny. Proto se v proteinech stanovuje složení esenciálních aminokyselin a výsledky se vztahují k obsahu esenciálních aminokyselin přítomných v určitém referenčním proteinu. Tento protein má z výživového hlediska optimální složení esenciálních aminokyselin. K hodnocení výživové hodnoty proteinů se používají dvě kritéria:

- aminokyselinové skóre AAS a
- index esenciálních aminokyselin EAAI.

Nejnižší AAS bylo u všech obilovin stanoveno u lyzinu. Pohybovalo se v rozmezí 31,3 % (grünkern) – 36,7 % (pšenice ozimá). Index esenciálních aminokyselin byl nejnižší u špaldového kernotta (cca 58 %) a naopak nejvyšší u kamutu (67 %) a grünkernu (62 %).

Z výsledků analýzy obsahu aminokyselin vyplývá, že netradiční cereálie jsou výživově velmi hodnotné. Ke konzumaci lze doporučit zejména kamut a grünkern, které vykazovaly jak nejvyšší celkový obsah aminokyselin, tak i nejvyšší hodnotu indexu esenciálních aminokyselin.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií*. Brno: Mendelova zemědělská lesnická univerzita, 2008, 141 s. ISBN 978-80-7157-811-6
- [2] CAPOUCHOVÁ, I. *Netradiční obiloviny v ekologickém zemědělství*. Zpráva ze semináře ČZU FAPPZ. Praha, 25. 2. 2010, 12 s.
- [3] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. *Cereální chemie a technologie I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2006, 200 s. ISBN 80-7080-530-7
- [4] HRABĚ, J., BUŇKA, F., HOZA, I. *Technologie výroby potravin rostlinného původu pro kombinované studium*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007, 189 s. ISBN 978-80-7318-520-6
- [5] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2007, 53 s. ISBN 978-80-7271-184-0
- [6] PELIKÁN, M. *Zpracování obilovin a olejnin*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1999, 152 s. ISBN 80-7157-195-4
- [7] LERSTEN, N. R. *Flowering plant embryology*. Iowa: Blackwell Publishing Ltd., 2004, 213 s. ISBN 0-8138-2747-7
- [8] OLSEN O. A. *Endosperm: developmental and molecular biology*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007, 248 s. ISBN 978-3-540-71234-3
- [9] ODSRTČIL, J., ODSTRČILOVÁ, M. *Chemie potravin*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotních oborů, 2006, 164 s. ISBN 80-7013-435-6
- [10] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. Tábor: OSSIS, 1999, 352 s. ISBN 80-902391-3-7
- [11] KADLEC, P. *Technologie potravin I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, ISBN 80-7080-509-9
- [12] KENT, N.L. and EVERS, A.D. *Technology of cereals*. 4th ed. Oxford: Elsevier Science Ltd., 1994. 334 s. ISBN 0-08-040833-8
- [13] PARKER R. *Introduction to food science*. New York: Delmar, a division of Thomson learning Inc., 2003, 612 s. ISBN 0-7668-1314-2
- [14] POTTER N. N., HOTCHKISS J. H. *Food science*. 5th ed. Gaithersburg: Aspen Publishers Inc., 1995, 583 s. ISBN 0-8342-1265-X

- [15] BYONG H. L. *Fundamentals of food biotechnology*. Quebec: Wiley-VCH Inc., 1996, 417 s. ISBN 1-56081-694-5
- [16] ČEPIČKA, J. *Obecná potravinářská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995, 246 s. ISBN 80-7080-239-1
- [17] ANONYM. *Vzorec amyulózy a amylopektinu* [online]. [cit. 2010-11-24]. Dostupný z WWW: <<http://school.chem.umu.se/Experiment/80>>
- [18] BUSHUK W., RASPER V.F. *Wheat: production, properties and quality*. Ontario: Blackie Academic & Professional, 141 s. ISBN 0-7514-0181-1
- [19] LASZTITY, R. *Amino acid composition and biological value of cereal proteins*. Budapest: Akadémiai Kiadó, 646 s. ISBN 90-277-1937-3
- [20] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDINSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007, 104 s. ISBN 80-7318-395-1
- [21] SAMUEL A. M. *The chemistry and technology of cereals as food and feed*. 2nd ed., New York: Van Nostrand Reinhold/AVI, 1991, 727 s. ISBN 0-442-30830-2
- [22] ANONYM. *Pšenice ozimá*. [online]. [cit. 2011-3-4]. Dostupný z WWW: <http://www.agrokrom.cz/texty/METODIKY/Radce_hospodare/radce_psenice_ozima_uvo d.pdf>
- [23] PALÍK, S., BUREŠOVÁ, I., EDLER, S., SEDLÁČKOVÁ, I., TICHÝ, F., VÁŇOVÁ, M. *Metodiky pěstování ozimé pekárenské pšenice*. Kroměříž: Agrotest fyto, s.r.o., 2009, 66 s.
- [24] MIKULÍKOVÁ, D., MASÁR, Š., HORVÁTHOVÁ, V., KRAIC, J. Stability of quality traits in winter wheat cultivars. *Czech Journal of Food Science*, 2009, 27, s. 403 – 417
- [25] ZIMOLKA, J. *Pšenice: pěstování, hodnocení a užití zrna*. Praha: Profi Press, 2005, 68 s. ISBN 978-80-7394-116-1
- [26] ANONYM. *Pšenice ozimá* [online]. [cit. 2011-4-3]. Dostupný z WWW: <<http://dnn.vladyka.net/Default.aspx?tabid=345>>
- [27] ATLAS, N. The Rebirth of Ancient Grains. *Vegetarian Times*, 1994, 3, s. 53 – 54
- [28] ROEHL, E. *Whole food facts*. Vermont: Rochester, 1996, 284 s. ISBN 0-89281-635-X
- [29] ANONYM. *Kamut® brand khorasan wheat* [online]. [cit. 2011-2-2]. Dostupný z WWW: <<http://www.kamut.com/en/index.html>>

- [30] ANONYM. *Kamut a dvouzrnka* [online]. [cit. 2011-2-2]. Dostupný z WWW: <<http://www.probio.cz/vyrobky/obilniny/kamut-a-dvouzrnka>>
- [31] QUINN, R. M. Kamut®: Ancient grain, new cereal. In Janick, J. (ed.) *Perspectives on new crops and new uses*. Alexandria: ASHS Press, 1999, s. 182 – 183
- [32] ANONYM. *Kamut* [online]. [cit. 2011-2-2]. Dostupný z WWW: <<http://www.bio-life.cz/bio-vyrobky/kamut.html>>
- [33] ANONYM. *Pšenice špalda* [online]. [cit. 2011-2-2]. Dostupný z WWW: <<http://www.probio.cz/ARCHIV/vyrobky/psenice-spalda.htm>>
- [34] PRUGAR, J. a kol. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2008, 327 s. ISBN 978-80-86576-28-2
- [35] MOUDRÝ, J., KALINOVÁ J. *Pěstování speciálních plodin – multimediální texty*. České Budějovice: Jihočeská univerzita [online]. [cit. 2011-3-7]. Dostupný z WWW: <<http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/skripta/>>
- [36] HRABALOVÁ, A., LEIBL, M., ŠARAPATKA, B., PAJURKOVÁ, B. a kol. *Ročenka ekologického zemědělství v České republice*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2009, 44 s. ISBN 978-80-7084-927-9
- [37] EHSANZADEH, P. *Agronomic and growth characteristics of spring spelt compared to common wheat*. Dizertační práce. University of Saskatchewan, 1999, 192 s. ISBN 0-612-37882-9
- [38] RANHORTA, G. S., GERROTH, J. A., GLASSER, B. K., LORENZ, K. J. Baking and nutritional qualities of a spelt wheat sample. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 1995, 28, s. 118 – 122
- [39] LOJE, H., MOLLER, B., LAUSTSEN A. M., HANSEN, A. Chemical composition, functional properties and sensory profiling of einkorn (*Triticum monococcum* L.). *Journal of Cereal Science*, 2003, 37, s. 231 – 240
- [40] MARCONI, E., CARCEA, M., SCHIAVONE, M., COBADDA, R. Spelt (*Triticum spelta* L.) pasta quality: Combined effect of flour properties and drying conditions. *Cereal Chemistry Journal*, 2002, 79, s. 634 – 639
- [41] ZIELINSKI, H., CEGLINSKA, A., MICHALSKA, A. Bioactive compounds in spelt bread. *European Food Research and Technology*, 2008, 226, s. 537 – 544 s.
- [42] LACKO-BARTOŠOVÁ, M., RÉDLOVÁ, M. *The significance of spelt wheat cultivated in ecological farming in the Slovak Republic*. In Proceeding of Conference

„Organic Farming 2007”, Praha: Česká zemědělská univerzita, s. 79 – 81. ISBN 978-80-213-1611-9

[43] ANONYM. *Spelt* [online]. [cit. 2011-3-1]. Dostupný z WWW: <<http://www.all-creatures.org/recipes/i-spelt.html>>

[44] ANONYM. *Špaldové kernotto* [online]. [cit. 2011-3-7]. Dostupný z WWW: <<http://www.bioletnany.cz/sortiment/lusteniny-bio//mouky-krupice-kroupy-obiloviny/>>

[45] ANONYM. *Špaldové kernotto* [online]. [cit. 2011-4-29]. Dostupný z WWW: <<http://makrobiotika.aspone.cz/e-shop/Detail-Produktu.aspx?VyrobekID=185>>

[46] ANONYM. *Grünkern* [online]. [cit. 2011-2-2]. Dostupný z WWW: <<http://www.probio.cz/ARCHIV/recepty/grunkern.htm>>

[47] ANONYM. *Grünkern* [online]. [cit. 2011-1-3]. Dostupný z WWW: <<http://www.kuechengoetter.de/rezepte/warenkunde/15048/Gruenkern.html>>

[48] HOLEČEK, M. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*. Praha: Grada Publishing, 2006, 288 s. ISBN 978-80-247-1562-9

[49] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007, 169 s. ISBN 978-80-7318-295-3

[50] ANONYM. *Vzorec α -aminokyseliny* [online]. [cit. 2011-3-19]. Dostupný z WWW: <http://orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/03-Aminokys/03-AK2bez.htm>

[51] PÁNEK, J., POKORNÝ, J., DOSTÁLOVÁ, J., KOHOUT, P. *Základy výživy*. Praha: Svoboda Sevis, 207 s. ISBN 80-86320-23-5

[52] DOUŠA, M. *Stanovení aminokyselin v krmivech* [online]. [cit. 2011-3-16]. Dostupný z WWW: <<http://hplc1.sweb.cz/Amk/amk.htm>>

[53] KOPLÍK, R. *Bílkoviny a aminokyseliny* [online]. [cit. 2011-3-16]. Dostupný z WWW: <<http://web.vscht.cz/koplikr/B%C3%ADlkoviny%20a%20aminokyseliny.pdf>>

[54] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2

[55] HANAI, T. *HPLC a Practical Guide*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1999, 133 s. ISBN 0-85404-515-5

[56] ANONYM. *Analyzátor aminokyselin AAA 400* [online]. [cit. 2011-3-16]. Dostupný z WWW: <<http://www.instruments.ingos.cz/pristroj-detail.php?id=analyzator-aminokyselin-aaa-400>>

- [57] ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004, 264 s. ISBN 80-246-0852-9
- [58] DAVÍDEK, J. a kol. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. Praha: STNL, 1977, 718 s.
- [59] ČSN EN ISO 712 – *Obiloviny a výrobky z obilovin – Stanovení vlhkosti – Praktická referenční metoda*. Praha: Český normalizační institut, 2003. 12 s.
- [60] ČSN ISO 2171 – *Obiloviny, luštěniny a výrobky z nich – Stanovení obsahu popela spalováním*. Praha: Český normalizační institut. 2008. 16 s.
- [61] FOUNTOULAKIS, M., LAHM, H. W. Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography A*, 1998, 826, s. 109 – 134
- [62] ČSN EN ISO 20483 – *Obiloviny a luštěniny a výrobky – Stanovení obsahu dusíku a vypočet obsahu dusíkatých látek – Kjehdalova metoda*. Praha: Český normalizační institut. 2007. 24 s.
- [63] 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
- [64] ANONYM. *Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400* [online]. [cit. 2011-4-27]. Dostupný z WWW: <<http://www.instruments.ingos.cz/pristroj-detail.php?id=analyzator-aminokyselin-aaa-400>>
- [65] Vyhláška č. 268/2006 Sb. [online]. [cit. 2011-3-17]. Dostupné z: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1007478&docType=ART&nid=11816>>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AMK	Aminokyseliny
AAS	Amino Acid Score (aminokyselinové skóre)
EAAI	Essential Amino Acid Index (index esenciálních aminokyselin)
FAO	Food and Agriculture Organization (Organizace pro výživu a zemědělství)
GC	Gas chromatography (plynová chromatografie)
HPLC	High-performance liquid chromatography (vysokoučinná kapalinová chromatografie)
IEC	Ion exclusion chromatography (iontoměničová chromatografie)
IFAA	International food allergy association (Mezinárodní organizace pro potravinovou alergii)
KANA	Kamut association of North America (Kamut asociace Severní Ameriky)
PVC	polyvinylchlorid
TLC	Thin layer chromatography (tenkovrstvá chromatografie)
UV	Ultra violet (ultrafialové)
WHO	World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Podélný řez obilným zrnem	13
Obrázek 2. Amylóza	19
Obrázek 3. Amylopektin	19
Obrázek 4. Pšenice ozimá	24
Obrázek 5. Kamut	26
Obrázek 6. Pěstitelské plochy špaldy seté	27
Obrázek 7. Pšenice špalda	29
Obrázek 8. Špaldové kernotto	29
Obrázek 9. Grünkern	30
Obrázek 10. Vzorec α -aminokyseliny	31
Obrázek 11. Obsah aminokyselin v pšeničném zrně	34
Obrázek 12. Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 (INGOS)	46
Obrázek 13. Celkový obsah aminokyselin v $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	51
Obrázek 14. Hodnoty EAAI pro jednotlivé cereálie	52

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Zjištěná maximální rozmezí hmotnostních podílů částí zrna pšenice	14
Tabulka 2. Základní chemické složení obilovin (v %)	16
Tabulka 3. Charakteristika škrobových granulí	17
Tabulka 4. Rozdělení druhů pšenice dle počtu chromozomů	22
Tabulka 5. Složení zrna pšenice špaldy a pšenice seté	27
Tabulka 6. Publikované výsledky obsahu dusíkatých látek u pšenice špaldy	27
Tabulka 7. Zastoupení vybraných aminokyselin v pšenici špaldě a pšenici seté	28
Tabulka 8. Obsah esenciálních aminokyselin ve standardním proteinu v g. 16 g N ⁻¹ a denní potřeba těchto aminokyselin	33
Tabulka 9. Charakteristika analyzovaných vzorků cereálií	42
Tabulka 10. Obsah vlhkosti, sušiny, popele a dusíkatých látek	47
Tabulka 11. Obsah aminokyselin ve vybraných druzích cereálií v g.kg ⁻¹	48
Tabulka 12. Hodnoty AAS pro jednotlivé obiloviny	52

SEZNAM PŘÍLOH

PI Obsah aminokyselin v g.16 g N⁻¹

PŘÍLOHA P I: OBSAH AMINOKYSELIN v g.16 g N⁻¹

AMK	obsah aminokyselin [g.16 g N ⁻¹]				
	pšenice ozimá	špalda loupaná	špaldové kernotto	kamut	grünkern
Asp	4,28 ± 0,220	3,85 ± 0,127	3,00 ± 0,074	4,72 ± 0,192	4,25 ± 0,090
Thr	2,08 ± 0,059	1,94 ± 0,082	1,83 ± 0,094	2,19 ± 0,102	2,11 ± 0,073
Ser	3,27 ± 0,082	3,33 ± 0,166	3,18 ± 0,124	3,67 ± 0,134	3,43 ± 0,222
Glu	17,19 ± 0,405	20,21 ± 0,642	18,32 ± 0,520	21,04 ± 1,079	20,98 ± 1,442
Pro	6,85 ± 0,214	8,58 ± 0,499	8,35 ± 0,227	8,58 ± 0,385	8,12 ± 0,450
Gly	2,91 ± 0,071	2,71 ± 0,115	2,55 ± 0,134	2,82 ± 0,135	2,72 ± 0,088
Ala	2,54 ± 0,108	2,22 ± 0,077	2,16 ± 0,132	2,57 ± 0,103	2,85 ± 0,001
Val	2,66 ± 0,018	2,53 ± 0,096	2,47 ± 0,168	3,16 ± 0,135	2,92 ± 0,141
Ile	1,91 ± 0,071	1,99 ± 0,103	1,96 ± 0,079	2,30 ± 0,106	2,16 ± 0,004
Leu	4,37 ± 0,148	4,57 ± 0,253	4,47 ± 0,164	5,17 ± 0,127	4,80 ± 0,150
Tyr	1,95 ± 0,070	1,73 ± 0,074	2,13 ± 0,021	2,05 ± 0,146	2,12 ± 0,029
Phe	2,91 ± 0,284	3,26 ± 0,113	2,82 ± 0,170	3,63 ± 0,266	3,09 ± 0,066
His	1,63 ± 0,047	1,62 ± 0,080	1,54 ± 0,070	1,87 ± 0,044	1,61 ± 0,007
Lys	1,98 ± 0,143	1,73 ± 0,038	1,77 ± 0,059	1,97 ± 0,071	1,69 ± 0,074
Arg	3,81 ± 0,293	3,60 ± 0,121	3,44 ± 0,301	4,17 ± 0,283	3,40 ± 0,045
Cys	2,92 ± 0,049	2,72 ± 0,057	2,72 ± 0,104	2,50 ± 0,072	2,34 ± 0,147
Met	1,78 ± 0,073	2,00 ± 0,040	1,62 ± 0,049	1,78 ± 0,039	1,63 ± 0,105
Součet	65,05	68,61	64,33	74,22	70,22