

Variabilita aktivity vitamínu E a jeho izomerů v zru ječmene

Variability of activity of vitamin E and its isomers in a barley grain

NATÁLIE BŘEZINOVÁ BELCREDI¹, JAROSLAVA EHRENBARGEROVÁ¹, KAROLÍNA BENEŠOVÁ², KATEŘINA VACULOVÁ³

¹ Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno / Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic
e-mail: ehren@mendelu.cz

² Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Sladařský ústav Brno, Mostecká 7, 614 00 Brno / Research Institute of Brewing and Malting, Plc., Malting Institute Brno, Mostecká 7, Czech Republic

³ Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž /
Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd., Havlíčkova 2787/121, 767 01 Kroměříž, Czech Republic

Březinová Belcredi, N. – Ehrenbergerová, J. – Benešová, K. – Vaculová, K.: Variabilita aktivity vitamínu E a jeho izomerů v zru ječmene. Kvasny Prum. 56, č. 2, s. 88–92.

Byla stanovena antioxidační aktivita vitamínu E a obsah jeho jednotlivých izomerů tokoferolů a tokotrienolů v souboru 12 odrůd/linií zrna ječmene jarního. Pokus, z něhož byly odebrány vzorky zrna k analýzám, probíhal na dvou stanovištích – v Žabčicích a v Kroměříži v letech 2005 a 2007–2008. Sledován byl také vliv způsobu ošetření porostu (s aplikací pesticidů a bez aplikace pesticidů) na stanovišti Žabčice. Pokusy na stanovišti Kroměříž probíhaly bez chemické aplikace, tj. bez použití pesticidů. Byl zjištěn statisticky průkazný vliv odrůd/linií, ročníku a způsobu ošetření na aktivitu vitamínu E. Bezpluchá linie KM 1057 (15,71 mg.kg⁻¹) měla průkazně vyšší aktivitu vitamínu E oproti celému souboru (10,23–13,74 mg.kg⁻¹) neošetřených variant pěstování. Odrůdy Prestige, Merlin, Sebastian a Amulet (13,42–13,74 mg.kg⁻¹) měly také vysokou aktivitu vitamínu E a významně se nelišily od sladovnické odrůdy Malz (13,20 mg.kg⁻¹) doporučené pro výrobu Českého piva.

Březinová Belcredi, N. – Ehrenbergerová, J. – Benešová, K. – Vaculová, K.: Variability of activity of vitamin E and its isomers in a barley grain. Kvasny Prum. 56, No. 2, p. 88–92.

Antioxidant activity of vitamin E and content of its individual isomers, tocopherols and tocotrienols, were determined in the set of 12 varieties/lines of barley grain. from which Grain samples for the analyses were collected from the experiments performed in two localities – Žabčice and Kroměříž in 2005 and 2007–2008. The effect of the method used for the growth treatment (with the application of pesticides and without pesticides) was studied in the locality of Žabčice. The experiments in the locality of Kroměříž were carried out without chemical application, i.e. without the use of the pesticides. A statistically significant effect of the varieties/lines, year and treatment method on the activity of vitamin E was determined. The hull-less line KM 1057 (15.71 mg.kg⁻¹) had significantly higher vitamin E activity compared to the whole set (10.23–13.74 mg.kg⁻¹) of the non-treated variants of growing. The varieties Prestige, Merlin, Sebastian, and Amulet (13.42–13.74 mg.kg⁻¹) also had a high vitamin E activity and they did not differ significantly from the malting variety Malz (13.20 mg.kg⁻¹) recommended for the production of Czech Beer.

Březinová Belcredi, N. – Ehrenbergerová, J. – Benešová, K. – Vaculová, K.: Variabilität der Vitamin E-Aktivität und seinen Isomeren im Gerstenkorn. Kvasny Prum. 56, Nr. 2, S. 88–92.

Es wurde die Antioxidationsaktivität des Vitamin E und Gehalt an einzelnen Isomeren der Tokopherolen und Tokotrienolen in der Kollektion von 12 Sorten/Linien des Sommergerstenkornes festgestellt. Der Versuch, aus dem die Kornmuster entnommen worden sind, fand im Zeitraum 2005 und 2007–2008 an zwei Orten Žabčice und Kroměříž statt. Weiterhin wurde es auch der Einfluss des Pflanzenbestandbehandlungsverfahrens (mit und ohne Applikation von Pestiziden) im Ort Žabčice verfolgt. Im Ort Kroměříž verfolgen die Versuche ohne Applikation von Pestiziden. Es wurde ein statistisch erweisbar Einfluss der Sorten/Linien, des Jahrganges und Behandlungsverfahrens auf die Vitamin E-Aktivität festgestellt. Die spelzenlose Sorte KM 1057 (15,71 mg.kg⁻¹) wies eine erweisbare Vitamin E-Aktivität gegenüber den nicht behandelten Varianten der gesamten Kollektion (10,23–13,74 mg.kg⁻¹) auf. Die Sorten Prestige, Merlin, Sebastian und Amulet (13,42–13,74 mg.kg⁻¹) wiesen auch eine hohe Vitamin E-Aktivität auf und waren von der zur Bierherstellung des Tschechisches Bier empfohlenen Sorten Malz (13,20 mg.kg⁻¹) nicht wesentlich verschieden.

Klíčová slova: odrůdy, vitamín E, tokoferoly, tokotrienoly, lokality, ošetření porostu

Key words: varieties, vitamin E, tocopherols, tocotrienols, localities, treatment of stands

1 ÚVOD

Antioxidační aktivita ječmene je způsobena třemi hlavními fenolickými typy sloučenin: flavan-3-oly (více jak 85 %), hydroksycinnovými kyselinami (asi 10 %) a flavony (méně než 5 % celkového obsahu polyfenolů). Mezi další antioxidanty lze zařadit vitamín C a E včetně jeho izomerů tokoferolů a tokotrienolů [1]. Vitamín E představuje pro člověka esenciální chemickou látku podílející se 3 % na celkové antioxidační kapacitě [2]. Absorpce vitamínu E je závislá na obsahu mastných kyselin v potravě, na žlučových kyselinách, pankreatických enzymech a na obsahu lipidů v plazmě [3], kde je vitamín E transportován asociovaný s lipidovou fází lipoproteinových částic LDL [4]. Tokotrienoly, zvláště γ - a δ -tokotrienol [5], jsou schopné redukovat sérový LDL cholesterol u člověka. Působí jako inhibitory 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzymu A reduktasy (HMG-CoA reduktasy), což je klíčový enzym syntézy cholesterolu v játrech [6]. Za nejúčinnější izomer vitamínu E, pro zpomalení zanášení cév

1 INTRODUCTION

Antioxidant activity in barley is caused by three main phenolic-type compounds: flavan-3-ols (more than 85 %), hydrocinnamic acids (ca 10 %) and flavones (less than 5 % of the total polyphenol content). Other antioxidants are vitamin C and vitamin E including its isomers, tocopherols and tocotrienols [1]. In humans, vitamin E represents an essential chemical substance contributing to the total antioxidant capacity with 3 % [2]. Absorption of vitamin E depends on fatty acid content in food, bilious acids, pancreatic enzymes and lipid content in plasma [3] where vitamin E associated with lipoprotein particle lipid phase LDL is transported [4]. Tocotrienols, namely γ - and δ -tocotrienol [5], are capable of reducing serum LDL cholesterol in humans. They act as inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase), a key enzyme of cholesterol synthesis in the liver [6]. δ -tocotrienol is considered the most effective isomer of vitamin E in the prevention of atherosclerosis [5]. Recent studies have

při ateroskleróze, je pokládán δ -tokotrienol [5]. Současné studie ukazují na to, že tokotrienoly preventivně působí proti bujení a rozšiřování několika typů humánních rakovinných buněk [5, 6].

Je zajímavé, že právě v zru ječmene je zastoupeno všech osm izomerů vitamínu E, tj. α -, β +, γ -, δ -tokoferoly a α -, β +, γ -, δ -tokotrienoly, které chrání obilku před oxidací během skladování a klíčení [6, 7, 8, 9, 10], což je důležité pro výrobu sladu. Peterson [8] udává, že v klíčku obilky je obsažen izomer α -tokoferol a menší množství γ -, δ -tokoferolů a β -tokotrienolu. Ostatní izomery jsou zastoupeny v pluse a endospermu obilky, kde je v největším množství obsažen α -tokotrienol. Ehrenbergerová et al. [7] zjistili signifikantně vyšší množství vitamínu E v obilkách bezpluchých waxy genotypů ječmene oproti odrůdám sladovnickým s pluchatými obilkami.

Cílem naší studie bylo zjistit variabilitu aktivity vitamínu E a obsah jeho jednotlivých izomerů v zru sladovnických a nesladovnických odrůd/linií a možné ovlivnění vitamínu E v závislosti na pěstební lokalitě a způsobu chemického ošetření porostu.

2 MATERIÁL A METODY

2.1 Vzorky

Bylo použito sedm sladovnických odrůd (Amulet, Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Sebastian, Tolar), jedna bezpluchá kanadská odrůda Merlin a čtyři bezpluché KM linie vyšlechtěné v Zemědělském výzkumném ústavu Kroměříž, s. r. o. (KM 1057, KM 2084, KM 2283 a odrůda AF Lucius- před registrací KM 1910). Odrůdy/linie byly vypěstovány po ozimé pšenici na lokalitě Školního zemědělského podniku Mendelu v Žabčicích ve dvou variantách ošetření (s chemickým ošetřením, tj. s použitím pesticidů během vegetace a bez chemického ošetření) a na lokalitě Kroměříž (bez chemického ošetření) v letech 2005, 2007–2008. Pokusné parcely jednotlivých variant (odrůda/ošetření) měly výměru 10,5 m² a byly umístěny randomizovaně ve třech opakováních.

2.2 Analytické stanovení

Zmýdlnění – Vzorek zrna byl pomlet na laboratorním mlýnku. Byly odváženy 2 g vzorku, ke kterému se přidalo 100 mg kyseliny askorbové a 50 ml ethanolu. Poté se vzorek třepal 1 minutu na třepačce a po 10 min stání ve tmě bylo přidáno 10 ml 50% KOH. Takto připravený vzorek se nechal stát přes noc v temnu v dusíkové atmosféře při laboratorní teplotě, aby došlo ke zmýdlnění.

Extrakce – Zmýdlněný vzorek byl přelit do dělicí nálevky, baňka byla vypláchnuta 100 ml vody. Extrakce byla provedena 2 × 50 ml diethyletheru. Spojené etherové fáze byly promyty vodou do neutrální reakce tak, že do etherové fáze byla přidávána voda (2 × cca 100 ml) a opatrně byla protřepána, aby se nevytvořila emulze. Promytá etherová fáze byla vysušena bezvodým síranem sodným. Rozpouštědlo bylo odpařeno do sucha na vakuové odparce a odparek byl okamžitě převeden 4 ml metanolu do vialky.

HPLC stanovení – Extrakty vzorků byly analyzovány pomocí HPLC metody s fluorescenčním detektorem podle Evropské normy EN 12822 2000 na pracovišti VÚPS, a. s., Sladařském ústavu v Brně. Obsah jednotlivých izomerů tokoferolů a tokotrienolů byly odečteny z chromatogramu.

Vitamin E se vyjadřuje v mg α -tokoferol-ekvivalentu, což představuje součet jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů (celkové tokoly) se zohledněním jejich biologické aktivity [11]. Obsah β - a γ -tokoferolů a tokotrienolů nebyl stanovován odděleně, neboť bylo zjištěno, že stanovení společné (β +) je z chromatografického hlediska výhodnější z důvodu lepší stability systému a reprodukovatelnosti výsledků. V současné době je toto stanovení nejvyužívanější.

Výsledné hodnoty aktivity vitamínu E, obsahu celkových tokolů a izomerů tokoferolů a tokotrienolů jsou uvedeny v jednotkách mg.kg⁻¹.

2.3 Statistická analýza

Získané experimentální údaje z chemických analýz aktivity vitamínu E, celkového obsahu tokolů a jednotlivých izomerů tokoferolů a tokotrienolů byly zpracovány analýzou variance (ANOVA) s trojnásobnými interakcemi mezi faktory v programu STATISTICA verze 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, Oklahoma, USA) a mnohonásobným porovnáním průměrných hodnot testem podle Fischera (LSD test) při P = 0,05. K chemickým analýzám byly použity každý rok dva vzorky od každé odrůdy/linie.

shown that tocotrienols act preventively against the growth and proliferation of several types of carcinogenic cells in humans [5, 6].

Interestingly, barley grain contains all eight isomers of vitamin E, i.e. α -, β +, γ -, δ -tocopherols and α -, β +, γ -, δ -tocotrienols that protect the caryopsis against oxidation during storage and germination [6, 7, 8, 9, 10], this is important for malt production. Peterson [8] claims that α -tocopherol isomer and a smaller amounts of γ -, δ -tocopherols and β -tocotrienols are contained in a caryopsis germ. The other isomers occur in a hull and caryopsis endosperm, where α -tocotrienol is represented in the highest amount. Ehrenbergerová et al. [7] found significantly higher amount of vitamin E in the caryopses of the hull-less waxy barley genotypes versus malting varieties with hulled caryopses.

The aim of this study was to determine the variability of vitamin E activity and content of its individual isomers in a grain of malting and non malting varieties/lines and possible effects of the growing locality and method used for the chemical treatment of the stand on vitamin E.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Samples

Seven malting varieties (Amulet, Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Sebastian, Tolar), one hull-less Canadian variety Merlin, and four hull-less KM lines bred in the Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd. (KM 1057, KM 2084, KM 2283, and the variety AF Lucius- prior to registration KM 1910) were used. The varieties/lines were grown after winter wheat in the locality of the Mendelu School Farm in Žabčice in two treatment variants (with chemical treatment, i.e. with the use of pesticide during vegetation period and without chemical treatment) in the locality Kroměříž (without chemical treatment in 2005, 2007–2008). The area of the experimental lots of the individual variants (variety/treatment) was 10.5 m², lots were placed randomly in three replications.

2.2 Analytical determination

Saponification – A malt sample was ground on a laboratory mill. Then 100 mg of ascorbic acid and 50 ml of ethanol were added to 2 g of the sample and the sample was shaken on a shaker for 1 minute and let stay at dark for 10 minutes, finally 10 ml of 50% KOH was added. The prepared sample was allowed to stay overnight at laboratory temperature under a nitrogen atmosphere in the dark to saponify.

Extraction – The saponified sample was added to a separatory funnel washed with water (100 ml). Extraction was carried out with 2 × 50 ml of diethylether. The combined ether phases were washed with water (2 × cca 100 ml) to neutral reaction and shaken carefully to avoid creation of emulsion. The washed ether phase was dried over anhydrous sodium sulphate. The dissolvent was evaporated to dryness on a vacuum evaporator and the residue was transferred immediately to 4 ml of methanol into a vial.

HPLC determination – Extracts of samples were analyzed using the HPLC method with the fluorescent detector according to the European Standard EN 12822 2000 in the RIBM, Plc., Malting Institute in Brno. Contents of the individual isomers of tocopherols and tocotrienols were read from the chromatogram.

Vitamin E is given in mg of α -tocopherol-equivalent, which represents a sum of the individual tocopherols and tocotrienols (total tocols) with respect to their biological activity [11]. Contents of β - a γ -tocopherols and tocotrienols were not determined separately since it was found out that from a chromatographic aspect it was more advantageous to determine them (β +) together due to better stability of the system and reproducibility of the results. Currently this determination has been the most frequently method used

The determined values of vitamin E activity, total tocol content and isomers of tocopherols and tocotrienols are given in mg.kg⁻¹.

2.3 Statistical analysis

The experimental data obtained from the chemical analyses of vitamin E activity, total content of tocols and individual isomers of tocopherols and tocotrienols were processed with the analysis of variance (ANOVA) with triple interactions among the factors in the program STATISTICA version 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, Oklahoma,

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve sledovaném souboru odrůd/linií bylo stanoveno všech osm izomerů vitamínu E, přičemž 25 % bylo zastoupeno tokoferoly a 75 % tokotrienoly (obr. 1). K podobným výsledkům dospěli také autoři Panfili et al. [9] a Ehrenbergerová et al. [7]. Holasová et al. [12] zjistili 37% zastoupení tokoferolů a 63% zastoupení tokotrienolů v zrna. Izomer α -tokotrienol (57 %, obr. 1) byl zastoupen největším procentem z celkových tokolů a po něm následoval α -tokoferol (15 %), izomer s největší biologickou aktivitou. V zrna ječmene byly nejméně zastoupeny δ -izomery (4 %). Panfili et al. [9] dokonce stanovili jen 2,5% přítomnost δ -izomerů z celkových tokolů v zrna ječmene.

Na základě analýzy variance hlavních faktorů lze říci, že na variabilitu aktivity vitamínu E, obsahu celkových tokolů, α -izomerů, β + γ - a δ - tokotrienolů měly statisticky průkazný vliv odrůdy/linie, lokality, roky i jejich vzájemné interakce. Ostatní sledované izomery nebyly statisticky významně ovlivněny všemi sledovanými faktory a jejich interakcemi. Chemické ošetření na lokalitě Žabčice mělo statisticky průkazný vliv na vyšší aktivitu vitamínu E i vyšší obsah α -, β + γ -tokoferolů a β + γ -tokotrienolů.

Průměrná aktivita vitamínu E byla naměřena v intervalu od 10,23 do 15,71 mg.kg⁻¹ (tab. 1) a celkový obsah tokolů 31,00–41,75 mg.kg⁻¹ u odrůd/linií z obou sledovaných lokalit. Panfili et al. [9] stanovili rozpětí obsahu celkových tokolů v zrna ječmene 50,3–88,6 mg.kg⁻¹ s průměrnou hodnotou 69,1 mg.kg⁻¹, Ehrenbergerová et al. [7] sledali ve svém souboru 12 odrůd/linií obsah v intervalu 46,72–67,57 mg.kg⁻¹. Cavallero et al. [6] v průměru šestiřádkových genotypů ječmene uvádí 51,0–61,4 mg.kg⁻¹ s průměrnou hodnotou celkových tokolů 54,5 mg.kg⁻¹ a podle autora jsou bezpluché genotypy charakterizovány nižší hladinou většiny izomerů, ale s vyšším obsahem δ - a γ -tokoferolů. V našem souboru byl potvrzen pouze vyšší obsah δ -tokotrienolů o 17 % u bezpluchých linií ve srovnání s pluchatými odrůdami. Waxy odrůdy (s voskovým endospermem) ječmene (67,57–60,32 mg.kg⁻¹) měly podle Ehrenbergerové et al. [7] nejvyšší obsah celkových tokolů ve srovnání se sladovnickými i bezpluchými odrůdami/liniemi.

Statisticky významně vyšší průměrnou aktivitu měla bezpluchá linie KM 1057 (15,71 mg.kg⁻¹), zatímco významně nižší aktivita vitamínu E byla zjištěna u linie KM 2084 (10,23 mg.kg⁻¹) ve srovnání s ostatními odrůdami/liniemi v neošetřených variantách pokusů na obou lokalitách (tab. 1). Vysoká průměrná aktivita vitamínu E u této pokusu byla také stanovena u skupiny sladovnických odrůd Prestige, Merlin, Sebastian, Amulet a Malz (13,42–13,74 mg.kg⁻¹), které se aktivitou mezi sebou statisticky významně nelišily, ale měly významně vyšší aktivitu ve srovnání s linií KM 2283 a odrůdami AF Lucius, Tolar a Bojos (11,51–12,19 mg.kg⁻¹, tab. 1).

Linie KM 1057 měla významně vyšší obsah α -tokoferolu a δ -tokotrienolu (9,27 mg.kg⁻¹ a 0,76 mg.kg⁻¹) oproti ostatním studovaným genotypům (4,55–5,96 mg.kg⁻¹ a 0,42–0,71 mg.kg⁻¹), ale v obsahu

Tab. 1 Průměrná aktivita vitamínu E z chemicky neošetřených variant (lokality Žabičce, Kroměříž v letech 2005, 2007–2008) / Average activity of vitamin E in chemically non treated variants (localities Žabčice, Kroměříž in 2005, 2007–2008)

Odrůda / Variety	Aktivita vitamínu E Activity of vitamin E (mg.kg ⁻¹)
KM 2084	10.23 ^a
Bojos	11.51 ^b
KM 2283	11.6 ^{bc}
Tolar	11.68 ^{bc}
KM 1910	12.19 ^{bc}
Jersey	12.44 ^{cd}
Malz	13.20 ^{de}
Amulet	13.42 ^e
Sebastian	13.52 ^e
Merlin	13.69 ^e
Prestige	13.74 ^e
KM 1057	15.71 ^f

Pozn.: průměry označené různými písmeny jsou od sebe statisticky významně odlišné P=0,05

Note: averages marked with various letters differ statistically significantly one from the other P=0.05

USA) and multiple comparison of mean values using the Fischer's test (LSD test) at P = 0.05. Two samples from each variety/line were used for the chemical analyses each year.

3 RESULTS AND DISCUSSION

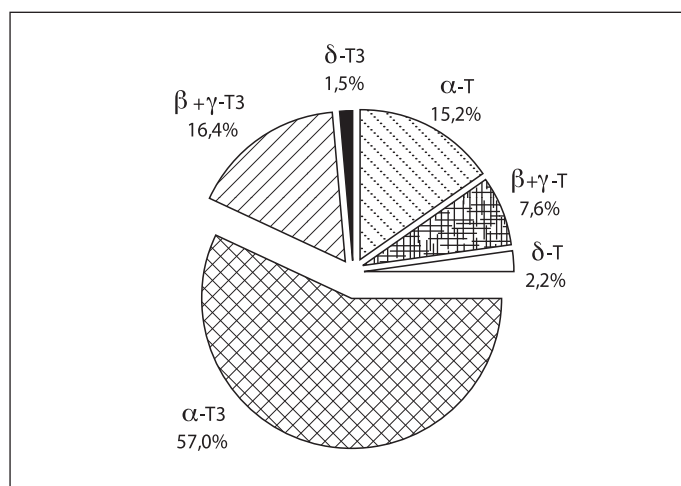
In the studied set of the varieties/lines, all eight isomers of vitamin E were determined, of which 25 % were constituted by tocopherols and 75 % tocotrienols (Fig. 1). Similar results were also achieved by the authors Panfili et al. [9] and Ehrenbergerová et al. [7]. Holasová et al. [12] found 37% representation of tocopherols and 63% of representation of tocotrienol in a grain. Isomer α -tocotrienol (57 %, Fig. 1) was represented by the highest percentage of the total tocopherols, followed by α -tocopherol (15 %), isomer with the highest biological activity. δ -isomers were the least presented (4 %) in a barley grain. Panfili et al. [9] even determined only 2.5% presence of δ -isomers of the total tocopherols in a barley grain.

Based on the analysis of variance of main factors, we can conclude that variability of vitamin E activity content of total tocopherols, α -isomers, β + γ - and δ - tocotrienols were statistically significant affected by the varieties/lines, localities, years and their interactions. The other isomers studied were not statistically significantly affected by all the followed factors and their interactions. Chemical treatment in the locality Žabčice had statistically significant effect on higher activity of vitamin E and higher contents of α -, β + γ -tocopherols and β + γ -tocotrienols.

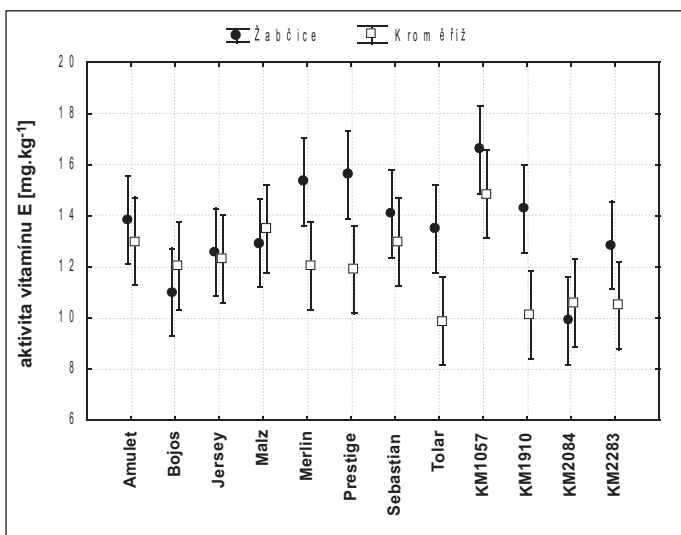
Average activity of vitamin E was measured in the interval from 10.23 to 15.71 mg.kg⁻¹ (Tab. 1) and total content of tocopherols moved from 31.00–41.75 mg.kg⁻¹ in the varieties/lines from both the studied localities. Panfili et al. [9] determined the range of total tocopherol content in a barley grain 50.3–88.6 mg.kg⁻¹ with the average value of 69.1 mg.kg⁻¹, Ehrenbergerová et al. [7] found content in the interval of 46.72–67.57 mg.kg⁻¹ in their set of 12 varieties/lines. Cavallero et al. [6] gave 51.0–61.4 mg.kg⁻¹ on the average of six-rowed barley genotypes with the average value of total tocopherols 54.5 mg.kg⁻¹ and according to this author the hull-less genotypes were characterized by lower level of most isomers but higher δ - and γ -tocopherol content. In this set, δ -tocotrienol content higher by 17 % was confirmed in the hull-less lines compared to the hulled varieties. According to Ehrenbergerová et al., the waxy barley varieties (with waxy endosperm) had the highest total tocopherol content (67.57–60.32 mg.kg⁻¹) compared to the malting and hull-less varieties/lines [7].

The hull-less line KM 1057 had statistically significantly higher average activity (15.71 mg.kg⁻¹), whereas significantly lower vitamin E activity was determined namely in the line KM 2084 (10.23 mg.kg⁻¹) compared to the other varieties/lines in the non-treated variants of the experiments in both the localities (Tab. 1). High average activity of vitamin E in the same experiment was also determined in the set of malting varieties Prestige, Merlin, Sebastian, Amulet, and Malz (13.42–13.74 mg.kg⁻¹) which did not differ statistically significantly but had significantly higher activity compared to the line KM 2283 and varieties AF Lucius, Tolar, and Bojos (11.51–12.19 mg.kg⁻¹, Tab. 1).

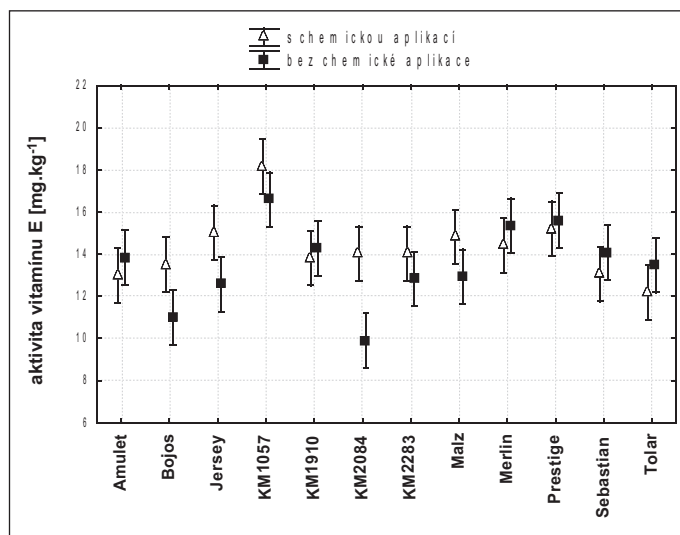
Obr. 1 Procentický podíl jednotlivých izomerů vitamínu E / Fig. 1 Percentage share of the individual isomers of vitamin E



Note: T = tocopherol, T3 = tocotrienol



Obr. 2 Průměrná aktivita vitamínu E (s intervaly spolehlivosti $P=0,05$) v znu odrůd/linií na lokalitách Žabčice a Kroměříž (bez chemické aplikace; 2005, 2007–2008) / Fig. 2 Average activity of vitamin E (with confidence intervals $P=0.05$) in grain of varieties/lines in the localities Žabčice and Kroměříž (without chemical application; 2005, 2007–2008)



Obr. 3 Průměrná aktivita vitamínu E (s intervaly spolehlivosti $P=0,05$) v znu odrůd/linií ze dvou způsobů pěstování na lokalitě Žabčice (2005, 2007–2008) / Fig. 3 Average activity of vitamin E (with confidence intervals $P=0.05$) in grain of varieties/lines from two growing variants in the locality Žabčice (2005, 2007–2008)

β - γ -izomerů, α -tokotrienolu a δ -tokoferolu patřila mezi podprůměrné odrůdy/linie v neošetřených vzorcích z obou lokalit.

Bezpluchá odrůda Merlin kanadské provenience měla vysoké zastoupení α -izomerů, na druhé straně měla velmi nízký obsah β - γ -izomerů a δ -tokotrienolu.

Ze sladovnických odrůd (Bojos, Malz, Tolar), určených pro výrobu Českého piva, pouze odrůda Malz patřila ke skupině sladovnických odrůd s vyšší průměrnou aktivitou vitamínu E ($13,20 \text{ mg.kg}^{-1}$, tab. 1). Obě další odrůdy měly výrazně nižší aktivity vitamínu E v porovnání s většinou sladovnických i nesladovnických odrůd/linií. Zno odrůdy Malz mělo vysoký obsah α -tokotrienolu ($23,35 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Významně vyšší průměrná aktivita vitamínu E, obsah α - a β - γ -izomerů byl zjištěn v roce 2005 oproti rokům 2007 a 2008. Naopak v roce 2008 byla aktivita vitamínu E, obsah α -izomerů a β - γ -tokoferolu významně nižší oproti ostatním dvěma rokům. V roce 2006 byly extrémní deště a následně vlhko, z tohoto důvodu nebylo možné zrno z lokality Žabčice sklídit a analyzovat, proto tento rok z této lokality ve výsledcích tokoferolů a tokotrienolů chybí. Uvedená lokalita byla nahrazena dvěma jinými pěstebními lokalitami (Uherský Ostroh, Branišovice), u kterých byla prokázána statisticky významná odlišnost v obsahu tokolů [14].

Významně vyšší aktivita vitamínu E ($13,53 \text{ mg.kg}^{-1}$), ale také obsah α -izomerů (α -T $6,02 \text{ mg.kg}^{-1}$, α -T3 $22,83 \text{ mg.kg}^{-1}$) byl v tříletém průměru (chemicky neošetřených variant pokusu) zaznamenan na lokalitě Žabčice ve srovnání s druhou pěstební lokalitou Kroměříž ($11,96$; $5,34$ a $19,77 \text{ mg.kg}^{-1}$, obr. 2). Z obr. 2 je patrná i odrůdová reakce na environmentální podmínky lokalit, neboť odrůdy Prestige, Tolar a AF Lucius měly stanovenou vždy statisticky významně vyšší aktivitu vitamínu E ve vzorcích z lokality Žabčice. Na lokalitě Kroměříž ($0,61 \text{ mg.kg}^{-1}$) byl zaznamenan významně vyšší obsah δ -tokotrienolů oproti Žabčicím ($0,54 \text{ mg.kg}^{-1}$). Ve studii Peterson a Qureshi [15] se uvádí, že lokalita ovlivnila statisticky významně obsah vitamínu E pouze u ova, ale ne u ječmene.

Způsob pěstování (obr. 3), který byl studován na lokalitě Žabčice, měl významný vliv na aktivitu vitamínu E, obsah α -tokotrienolu a β - γ -izomerů v znu. Průkazně vyšší průměrné hodnoty byly u variant s chemickou aplikací pesticidů ve srovnání bez chemické aplikace, avšak rozdílné průměrné hodnoty mezi způsoby ošetření nebyly z praktického hlediska významné. Výrazná odrůdová reakce na způsob pěstování je z obr. 3 patrná u linie KM 2084 v průběhu tříletého sledování, a to ve prospěch ošetřené varianty. Ehrenbergerová et al. [7] uvádí statisticky významný rozdíl v obsahu tokolů vybraného souboru odrůd mezi systémy pěstování jarního ječmene. Cavallero et al. [6] dospěli k závěru, že vliv environmentálních podmínek na obsah tokolů nebyl statisticky významný.

Z uvedené studie vyplývá, že zastoupení jednotlivých izomerů vitamínu E v znu závisí nejenom na genotypu, pěstební lokalitě, ale

The line KM 1057 had significantly higher content of α -tocopherol and δ -tocotrienol ($9,27 \text{ mg.kg}^{-1}$ and $0,76 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectively) versus the other studied genotypes ($4,55$ – $5,96 \text{ mg.kg}^{-1}$ and $0,42$ – $0,71 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectively), but as per the content of β - γ -isomers, α -tocotrienol, and δ -tocopherol it belonged to the below average varieties/lines in the non-treated samples from both localities.

The hull-less variety Merlin of the Canadian provenience had high representation of α -isomers, on the other hand it had a very low content of β - γ -isomers and δ -tocotrienol.

Of the malting varieties (Bojos, Malz, Tolar) assigned for the production of Czech Beer, only the variety Malz belonged to the malting varieties with a higher average activity of vitamin E ($13,20 \text{ mg.kg}^{-1}$, Tab. 1). Both the other varieties had significantly lower activity of vitamin E compared to the most malting and non malting varieties/lines. Grain of the variety Malz had a high content of α -tocotrienol ($23,35 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Significantly higher average activity of vitamin E, contents of α - and β - γ -isomers were determined in 2005 versus 2007 and 2008. On the contrary, in 2008 activity of vitamin E, content of α -isomers and β - γ -tocopherol was significantly lower versus the other two years. Year 2006 was extremely rainy and subsequently wet, it was not possible to harvest grain from the locality Žabčice and analyze it, therefore year 2006 from this locality was not included in the results of tocopherols and tocotrienols. The given locality was replaced by two other growing localities (Uherská Ostroh, Branišovice), which differed statistically significantly in tocopherol content [14].

Significantly higher activity of vitamin E ($13,53 \text{ mg.kg}^{-1}$) and also content of α -isomers (α -T $6,02 \text{ mg.kg}^{-1}$, α -T3 $22,83 \text{ mg.kg}^{-1}$) based on three-year average (of chemically non-treated variants of the experiment) were recorded in the locality Žabčice compared to the other growing locality Kroměříž ($11,96$; $5,34$, and $19,77 \text{ mg.kg}^{-1}$, Fig. 2). Further, Fig. 2 apparently shows varietal reaction of the localities to the environmental conditions as statistically significantly higher activity of vitamin E was always determined in the samples of the varieties Prestige, Tolar, and AF Lucius from the locality Žabčice. Significantly higher content of δ -tocotrienols was recorded in the locality Kroměříž ($0,61 \text{ mg.kg}^{-1}$) versus Žabčice ($0,54 \text{ mg.kg}^{-1}$). In their study Peterson and Qureshi [15] showed that the locality affected statistically significantly vitamin E content only in oats but not barley.

The methods of growing (Fig. 3), which were studied in the locality Žabčice significantly affected the activity of vitamin E, α -tocotrienol content and β - γ -isomers in a grain. Significantly higher average values were in the variants with chemical pesticide treatment compared to those without chemical application, however, different average values between the treatment variants were not significant from the practical point of view. Pronounced varietal reaction to the growing method is apparent from Fig. 3 in the line KM 2084 during a three-year mon-

také na roku pěstování a jeho povětrnostních podmínkách, což dokládají četné studie [6, 7, 8, 9, 10, 12].

4 ZÁVĚR

Ve sledovaném souboru zrna odrůd/linií ječmene jarního bylo detekováno všech osm izomerů vitamínu E, které chrání obilku před oxidací během skladování a klíčení, což je z praktického hlediska důležité pro výrobu sladu. Výsledky studia vitamínu E prokázaly, že byly významné rozdíly nejenom v aktivitě vitamínu E, ale také v zastoupení jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů mezi odrůdami/liniemi. Nejvyšší aktivity vitamínu E dosáhla bezpluchá linie KM 1057, hned po ní následovaly sladovnými preferované odrůdy Prestige, Sebastian a odrůda Malz, která je doporučena Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským pro výrobu Českého piva. Lze konstatovat, že většinou odrůdy/linie s vyšším zastoupením majoritních α -izomerů obsahovaly významně nižší obsah δ -izomerů a naopak. Lokalita i způsob pěstování měly významný vliv na hladinu aktivity vitamínu E.

Poděkování

Výsledky aktivity vitamínu E a obsah tokolů a tokotrienolů v zrně ječmene jarního byly získány a zpracovány za podpory MŠMT VC 1M0570.

LITERATURA / REFERENCES

- Lachman, J.: Obilniny – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. Úroda **8**, 2003, 20–23.
- Holeček, V.: Volné Radikály, Antioxidanty a Jak Dále? Klin. Biochem. Metab. **14**, 2006, 140–145.
- Pruthi, S., Allison, T. G., Hensrud, D. D.: Vitamin E Supplementation in the Prevention of Coronary Heart Disease. Mayo Clin. Proc. **76**, 2001, 1131–1136.
- Emmert D. H., Kirchner J. T.: The Role of Vitamin E in the Prevention of Heart Disease. Arch Fam Med. **8**, 1999, 537–542.
- Nesaretnam, K., Yew, W. W., Wahid, M. B.: Tocotrienols and Cancer: Beyond Antioxidant Activity. Eur. J. Lipid Sci. Technol. **109**, 2007, 445–452.
- Cavallero, A., Gianinetti, A., Finocchiaro, F., Delogu, G., Stanca, A. M.: Tocols in Hull-less and Hulled Barley Genotypes Grown in Contrasting Environments. J. Cereal Sci. **39**, 2004, 175–200.
- Ehrenbergerová, J., Belcrediová, N., Prýma, J., Vaculová, K., Newman, C. W.: Effect of Cultivar, Year Grown, and Cropping System on the Content of Tocopherols and Tocotrienols in Grains of Hulled and Hullless Barley. Plant Food Hum. Nutr. **61**, 2006, 145–150.
- Peterson, D. M.: Barley tocals: Effects of Milling, Malting, and Mashing. Cereal Chem. **72**, 1994, 42–44.
- Panfil, G., Fratianni, A., di Criscio, T., Marconi, E.: Tocol and b-glucan Levels in Barely Varieties and in Pearling By-products. Food Chem. **107**, 2008, 84–91.
- Andersson, A. A. M., Lampi, A. M., Nystrom, L., Piironen, V., Li, L., Ward, J. L., Gebruers, K., Courtin, C. M., Delcours, J. A., Boros, D., Fras, A., Dynkowska, W., Rakszegi, M., Bedo, Z., Shewry, P. R., Aman, P.: Phytochemical and Dietary Fiber Components in Barley Varieties in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. J. Agric. Food Chem. **56**, 2008, 9767–9776.
- McLaughlin P. J., Weihrauch J. L.: Vitamin E content of foods. J Am Diet Assoc. **75**, 1979, 647–65.
- Holasová, M., Velíšek, J., Davídek, J.: Cereals Grains – the Sources of Tocopherols and Tocotrienols. In Vaculová, K., Ehrenbergerová, J. Proceedings of the International conference Cereal for human health and preventive nutrition, Brno, Czech Republic, 7.–11. 7. 1998, p. 185–187.
- Prýma, J., Havlová, P., Šusta, J., Mikulíková, R., Ehrenbergerová, J., Němejce, R.: Zdravotně nezávadné látky v ječmeni a v pivu. Kvasný Prům. **46**, 2000, 350–353.
- Březinová Belcredi, N., Marková, J., Ehrenbergerová, J., Prýma, J., Vaculová, K., Lancová, K., Hajšlová, J.: Antioxidants and mycotoxins in barley grain. In UGARČIČ-HARDI, Ž. Proceedings of 4th International Congress FLOUR – BREAD'07 and 6th Croatian Congress of Cereal Technologists. J.J. Strossmayer University of Osijek, Croatia: Faculty of Food Technology, 2008, p. 248–253.
- Peterson, D. M., Qureshi, A. A.: Genotype and Environment Effects on Tocols of Barley and Oats. Cereal Chem. **70**, 1993, 157–162.

itoring in favor of the treated variant. Ehrenbergerová et al. [7] presented a statistically significant difference in tocol content of the selected set of varieties in the spring growing barley systems. Cavallero et al. [6] concluded that the effect of the environmental conditions on the tocol content was not statistically significant.

This study suggests, that representation of the individual isomers of vitamin E in a grain depends not only on the genotype, growing locality but also on the growing year and weather conditions as confirmed by numerous studies [6, 7, 8, 9, 10, 12].

4 CONCLUSION

All eight isomers of vitamin E were detected in the studied set of grain of spring barley varieties/lines. They protect caryopsis against oxidation during storage and germination, which is from the practical point of view important for malt production. Results of vitamin E study proved significant differences not only in the vitamin E activity but also in the representation of the individual tocopherols and tocotrienols among the varieties/lines. The highest activity of vitamin E was achieved by the hull-less line KM 1057, followed by the varieties preferred by the malt houses Prestige, Sebastian, and the Malz recommended by the Research Institute of Brewing and Malting for the production of Czech Beer. We can state that the varieties/lines with a higher representation of major α -isomers mostly contained significantly lower content of δ -isomers and vice versa. The locality and growing method affected significantly the level of vitamin E activity.

Acknowledgements

Results of vitamin E activity and content of tocals and tocotrienols in spring barley grain were achieved and worked out with support of the MEYS (RC 1M0570).

Recenzovaný článek
Do redakce došlo 30. 10. 2009
Přijato k publikování: 7. 1. 2010

JEČMENÁŘSKÁ ROČENKA 2010

Vyjde květnu 2010 v limitovaném nákladu
Cena 160 Kč



Lze již nyní objednat na adrese: kvas@beerresearch.cz
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Lípová 15, 120 44 Praha 2