

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO - TECHNOLOGICKÁ

Vitamin E v potravinách

Petra Remešová

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2012

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL - TECHNOLOGY

Vitmin E in foodstuff

Petra Remešová

BACHELOR THESIS
2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Petra Remešová**
Osobní číslo: **C09150**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Vitamín E v potravinách**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Vypracujte teoretickou rešerši zabývající se vitamínem E s ohledem na jeho výskyt v potravinách.

1. Struktura a biochemické vlastnosti vitamínu E.
2. Jeho výskyt v potravinách - potraviny s nízkým a vysokým obsahem vitamínu E.
3. Důsledky jeho nedostatečného příjmu.
4. Možnosti jeho stanovení se zaměřením na analýzu potravin.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucí práce.

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce:

20. února 2012

Termín odevzdání bakalářské práce:

22. června 2012



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2012

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20. 6. 2012.

Petra Remešová

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat RNDr. Lucii Korecké, PhD. za odborné vedení, cenné rady, pomoc při řešení problémů a připomínky v průběhu vypracování bakalářské práce. Velké díky patří rodině, která mě podporovala během celé doby studia.

Souhrn

Bakalářská práce se zabývá jedním z lipofilních vitaminů, vitaminem E.

V první části jsou shrnuty teoretické informace o vitaminu E, jeho struktuře, vlastnostech a funkci v organismu, dále pak o vlivu tohoto vitaminu na lidský organismus - fyziologie, patologie, a o výskytu v potravinách a jeho chemických reakcích.

V druhé části práce jsou popsány metody, které lze využít při stanovení vitaminu E se zaměřením na analýzu potravin.

Klíčová slova: Vitamin E

Tokoferoly

Stanovení vitaminu E

Summary

This bachelor thesis deals with one of the lipophilic vitamins, vitamin E.

In the first section there are summarized theoretical information about the vitamin E, its structure, properties and function in the organism, followed by facts about impact of the vitamin E on the human organism – physiology, pathology, and finally about the vitamin E presence in the food and its chemical reactions.

The second part describes methods which can be used for the determination of the vitamin E with the focus on food analysis.

Key-words: Vitamin E

Tocopherols

Determination of vitamin E

Obsah

1. ÚVOD	11
2. BIOCHEMIE VITAMINU E	12
2.1 Historie a objev	12
2.2 Struktura a složení vitamínu E	12
2.3 Fyzikální a chemické vlastnosti vitamínu E	15
3. FYZIOLOGIE A PATOLOGIE VITAMINU E	18
3.1 Doporučené denní dávky vitamínu E	22
3.2 Projevy nedostatku vitamínu E	23
3.3 Projevy nadbytku vitamínu E	24
4. VÝSKYT VITAMINU E V POTRAVINÁCH	25
4.1 Potraviny rostlinného původu	25
4.2 Potraviny živočišného původu	26
4.3 Průmyslová výroba	27
5. METODY STANOVENÍ VITAMINU E	29
5.1 Stanovení vitamínu E v potravinách	30
5.2 Stanovení vitamínu E v krvi	34
6. ZÁVĚR	36
7. LITERATURA	37
8. SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	41

1. ÚVOD

Vitaminy jsou látky nezbytné pro správný růst a vývoj lidského organismu. Jsou to látky esenciální povahy, které lidský organismus získává převážně z potravy nebo formou potravinových doplňků. Významnou roli hrají při fyziologických procesech a ochraně organismu. Existuje 13 základních druhů vitaminů [1].

Vitamin E se řadí mezi vitaminy rozpustné v tucích a ukládá se zejména v tukové tkáni, játrech a svalech. Patří mezi významné antioxidanty, které v organismu napomáhají eliminaci nežádoucích volných radikálů. Důležitou roli má také pro lidský imunitní a nervový systém, při prevenci a léčbě srdečních chorob a karcinogenních onemocnění [2,3]. Zahrnuje osm přirozeně se vyskytujících látek, které se dělí do dvou tříd označovaných jako tokoferoly a tokotrienoly [4].

Ke stanovení vitaminu E se využívají nejrůznější analytické metody. Těmito metodami jsou např. vysokoúčinná kapalinová chromatografie, plynová chromatografie, tenkovrstvá chromatografie a spektrofotometrická stanovení. Metody lze využít pro kvalitativní i kvantitativní analýzu vitaminu E [5].

V současné době v souvislosti s vitaminem E probíhají různé studie např. vliv vitaminu E na zvrácení plešatění u mužů nebo jistá ochrana před onemocněním srdce, a dokonce i Alzheimerovou chorobou [6,7].

2. BIOCHEMIE VITAMINU E

2.1 Historie a objev

Vitamin E byl objeven při reprodukčních studiích krys a charakterizován jako v tucích rozpustná (lipofilní) nutriční složka potravy. Tuto studii zveřejnili v roce 1922 doktor Herbert McLean Evans s jeho asistentkou Katherine Scott Bishopovou a jimi charakterizovaná látka s výrazným pozitivním účinkem podporujícím plodnost byla pojmenována jako faktor X, který byl později přejmenován Katherine Scott Bishopovou na vitamin E [3,8,9].

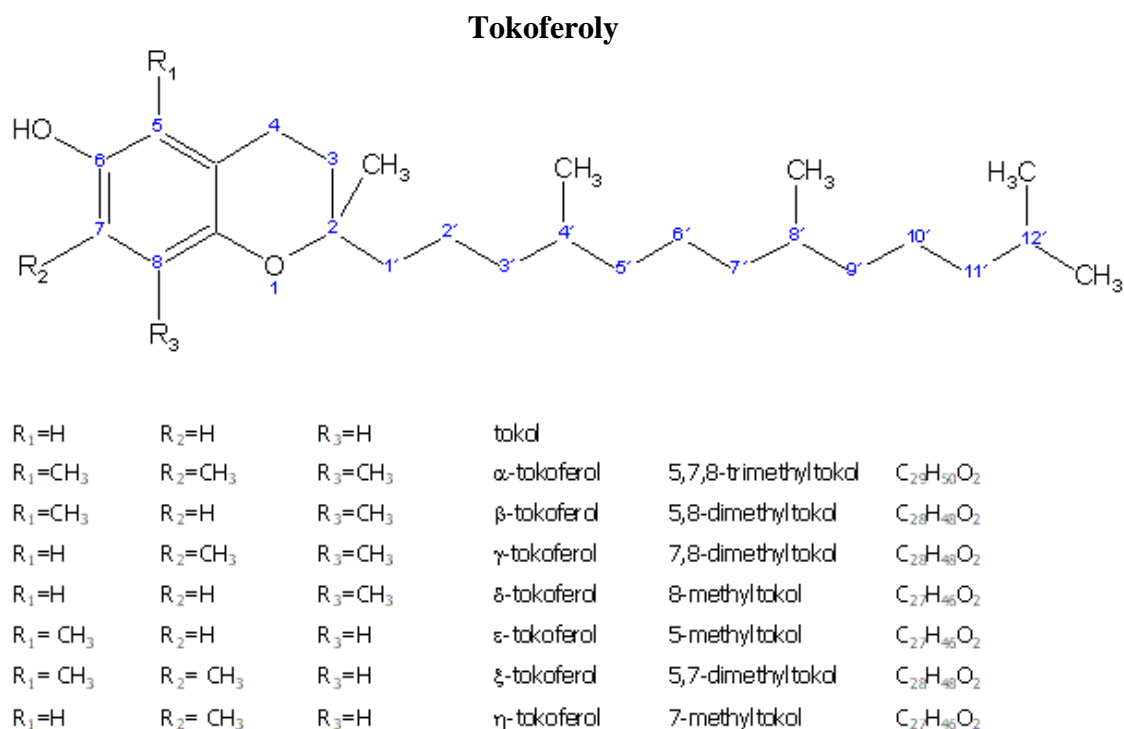
Následné studie ukázaly, že přítomnost žluklého tuku ve stravě u pokusných potkanů a slepic vedla k různým onemocněním těchto zvířat, a že tyto poruchy mohou být „vyléčeny“ pomocí koncentráту ojele z pšeničným klíčků, u kterého bylo později prokázáno, že obsahuje látky označované jako tokoferoly [9].

V roce 1936 se doktoru Herbertu McLean Evansovi a jeho spolupracovníkům podařilo poprvé izolovat z oleje pšeničných klíčků čistou aktivní složku vitaminu E. Touto aktivní složkou byl α -tokoferol. V roce 1937 byl izolován β -tokoferol a γ -tokoferol z rostlinného oleje a byla prokázána jejich antioxidační aktivita. Roku 1938 německý vědec Erhard Fernholz sestavil strukturní vzorec vitaminu E a tentýž rok laureát Nobelovy ceny Paul Karrer úspěšně syntetizoval α -tokoferol z trimethylhydrochinonu a fytyl bromidu [4,8].

2.2 Struktura a složení vitaminu E

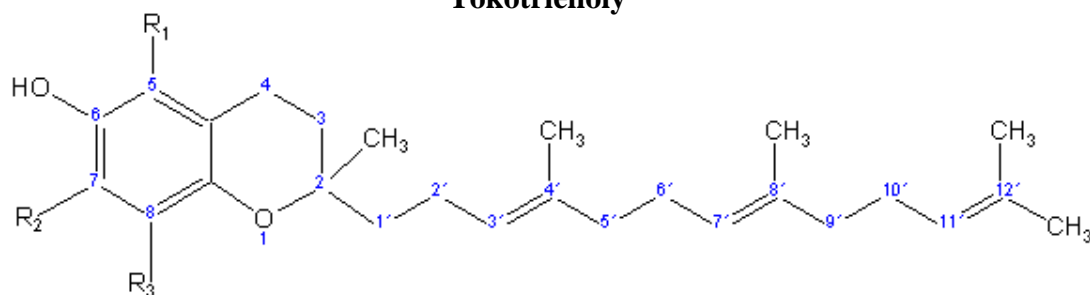
Vitamin E je souhrnný termín pro lipofilní 6-hydroxychromanové sloučeniny, které vykazují biologickou aktivitu α -tokoferolu [8]. Základní strukturou, která je společná všem sloučeninám s touto aktivitou, jsou tokol neboli 2-methyl-2-(4,8,12-trimethyltridecylchroman-6-ol) a tokotrienol neboli 2-methyl-2-(4,8,12-trimethyltrideka-3,7,11-trien-1-ylchroman-6-ol) [3,10]. Struktura tokolu a tokotrienolu a od nich odvozených sloučenin jsou znázorněny na Obr. 1 a 2. Jejich molekuly obsahují chromanový cyklus (jádro) s hydrofobním nasyceným nebo nenasyceným isoprenoidním postranním řetězcem o 16 atomech uhlíku. Chromanový cyklus obsahuje ještě vedle hydroxylové skupiny v poloze C-6 metylovou skupinu v poloze C-2 [10,11].

Vitamin E zahrnuje osm přirozeně se vyskytujících látek. Čtyři z nich mají nasycený postranní řetězec, který je odvozený od tokolu a označujeme je jako tokoferoly a čtyři obsahují nenасыcený postranní řetězec, který je odvozený od tokotrienolů a jsou označovány jako tokotrienoly. Podle počtu a polohy methylových skupin na chromanovém cyklu rozlišujeme jednotlivé tokoferoly a tokotrienoly lišící se také svou biologickou aktivitu [10,11,12,13].



Obr. 1: Struktura tokolu a chemické vzorce odvozených sloučenin. (Převzato z: [8])

Tokotrienoly

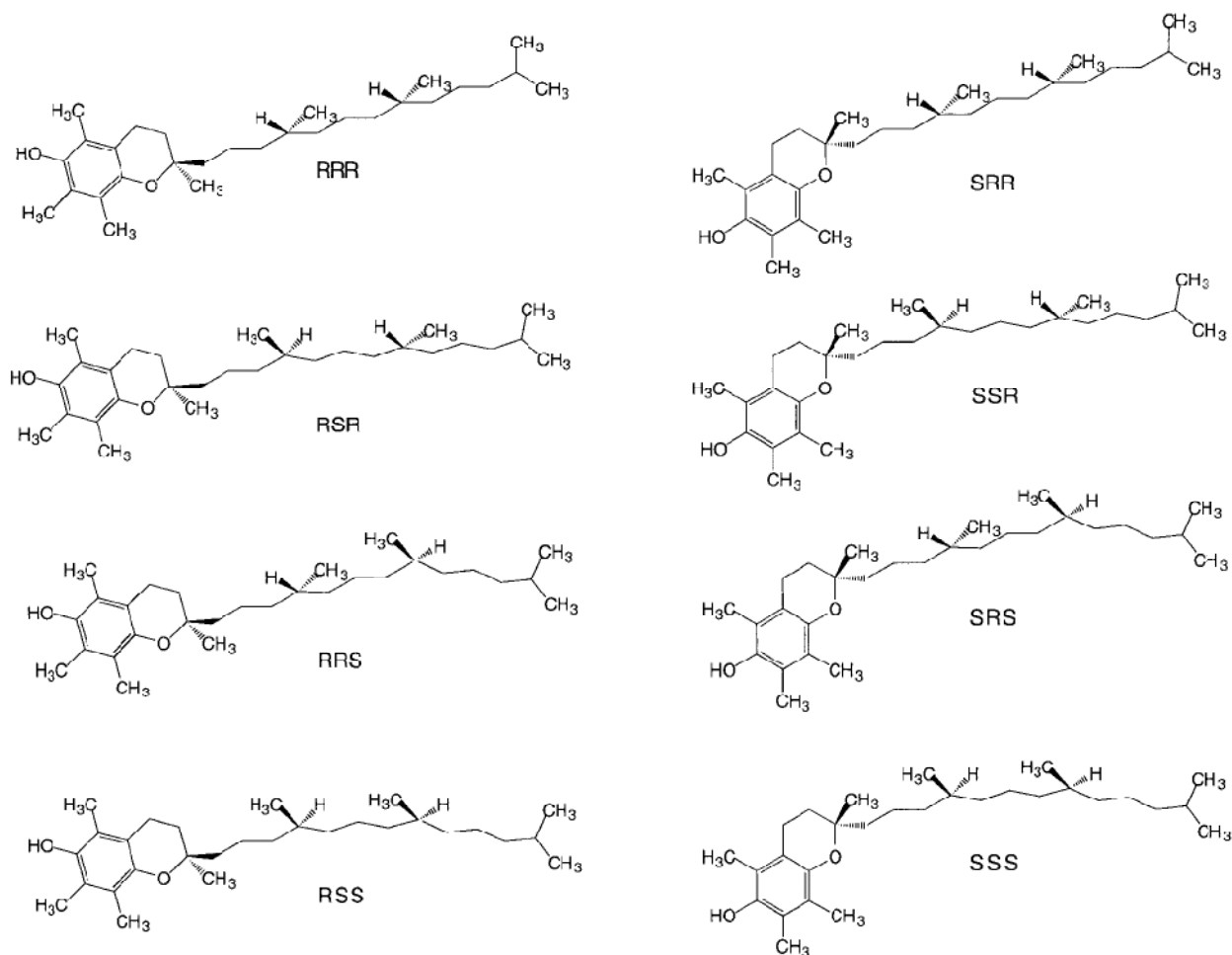


$R_1=H$	$R_2=H$	$R_3=H$	tokotrienol		
$R_1=CH_3$	$R_2=CH_3$	$R_3=CH_3$	α - tokotrienol	5,7,8-trimethyltokotrienol	$C_{29}H_{44}O_2$
$R_1=CH_3$	$R_2=H$	$R_3=CH_3$	β - tokotrienol	5,8-dimethyltokotrienol	$C_{28}H_{42}O_2$
$R_1=H$	$R_2=CH_3$	$R_3=CH_3$	γ - tokotrienol	7,8-dimethyltokotrienol	$C_{28}H_{42}O_2$
$R_1=H$	$R_2=H$	$R_3=CH_3$	δ - tokotrienol	8-methyltokotrienol	$C_{27}H_{40}O_2$

Obr. 2: Struktura tokotrienolu a chemické vzorce odvozených sloučenin. (Převzato z: [8])

Základní látkou je α -tokoferol, ale v přírodních zdrojích jsou přítomny i β -, γ -, δ -tokoferol a jim příbuzné tokotrienoly. Jednotlivé tokoferoly mají různý vitaminózní účinky. Nejúčinnější je α -tokoferol, přičemž účinnost klesá s klesajícím počtem methylových skupin v pořadí α -tokoferol > β -tokoferol > γ -tokoferol > δ -tokoferol v poměru 100 : 40 : (5 - 8) : 1 [3,10,14].

Tokoferoly mají tři asymetrické uhlíky (chirální centra), na pozici 2 v chromanovém cyklu a na pozicích 4',8' v postranním řetězci. Proto pro každý tokoferol existuje osm možných optických izomerů. Syntetický all-rac- α -tokoferol je racemická směs, která obsahuje stejné díly každého stereoizomeru [12,13]. Jednotlivé stereoizomery jsou znázorněny na Obr. 3.



Obr. 3: Jednotlivé stereoizomery α -tokoferolu. (Převzato z: [8])

Všechny přirozeně se vyskytující tokoferoly jsou opticky aktivní a vesměs pravotočivé, synteticky vyrobené jsou racemické. Optická aktivita má malý vliv na biologický účinek tokoferolů [15].

2.3 Fyzikální a chemické vlastnosti vitamínu E

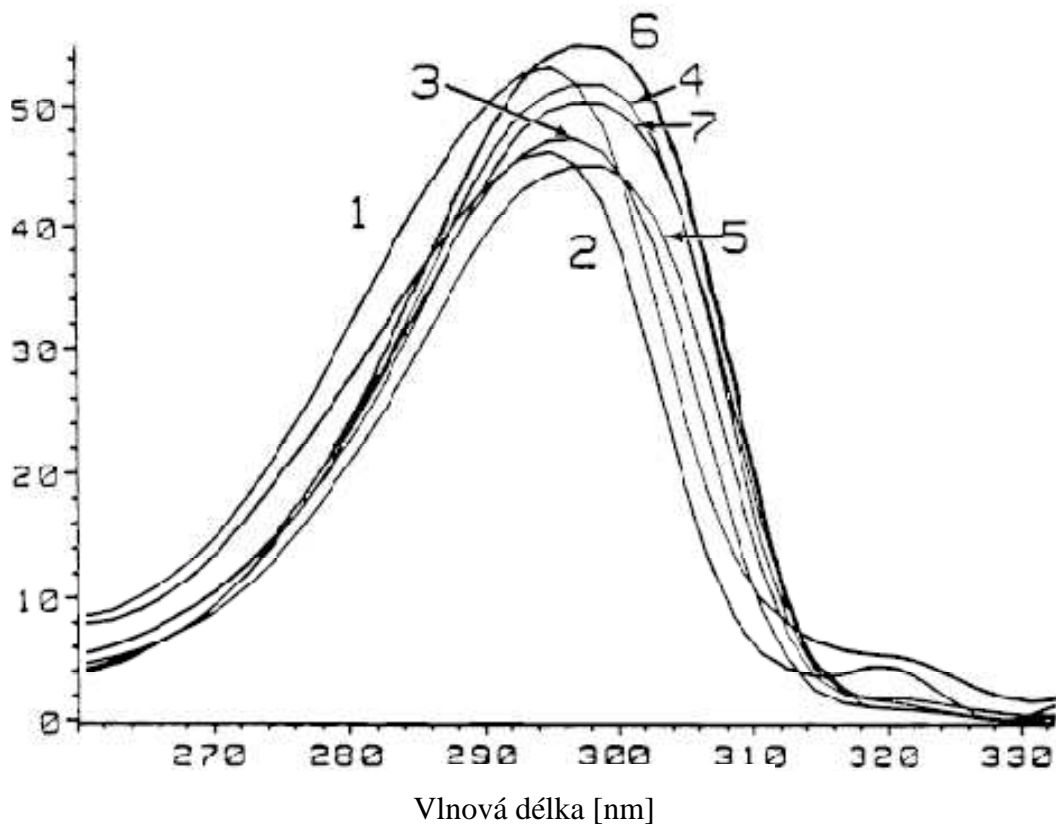
Tokoferoly jsou při pokojové teplotě světle žluté nebo žluto-hnědé viskózní oleje. Vysoce čisté jsou téměř bez zápachu a bez barvy [12]. Sumární vzorce a molekulové hmotnosti tokoferolů jsou uvedeny v Tab. 1 [8].

Tab. 1: Sumární vzorce a molekulové hmotnosti tokoferolů. (Převzato z: [8])

Tokoferol	Molekulová hmotnost Mr	Sumární vzorec
dl- α -tokoferol	430,7	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
dl- α -tokoferolacetát	472,8	C ₃₁ H ₅₂ O ₃

Volné tokoferoly jsou prakticky nerozpustné ve vodě, ale jsou rozpustné v tucích, acetonu, etanolu, chloroformu a jiných organických rozpouštědlech. Mohou být oxidovány atmosférickým kyslíkem, oxidace je navíc urychlena teplem, světlem, alkalickým prostředím a přítomností iontů kovů jako např. Fe³⁺, Fe²⁺, Cu²⁺. [12, 16]. Za nepřístupu kyslíku jsou při zvýšené teplotě a v alkalickém prostředí relativně stabilní. Mají silné redukční vlastnosti [2]. Jejich citlivost k oxidaci kyslíkem stoupá s rostoucím počtem methylových skupin v molekule. Stabilita je vyšší, jsou-li ve formě esterů [17].

Tokoferoly a tokotrienoly absorbují světlo v UV oblasti. Mají specifická absorpční spektra. Na Obr. 4 je znázorněno absorpční spektrum jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů. K maximální absorpci světla dochází při vlnových délkách 292-298 nm naopak minimální absorpce nastane při vlnových délkách 250-260 nm. Intenzita absorpce světla se snižuje s esterifikací [8].



Obr. 4: Absorpční spektrum v UV oblasti.

1 - α -tokoferol; 2 - α -tokotrienol; 3 - β -tokoferol; 4 - γ -tokoferol; 5 - γ -tokotrienol;
6 - δ -tokoferol; 7 - δ -tokotrienol (Převzato z: [5])

Vykazují také intenzivní přirozenou fluorescenci (excitace 210 - 292 nm, maximální emise 320 nm). Jejich silný a charakteristický fluorescenční systém chromanového jádra poskytuje ideální způsob pro detekci po separaci kapalinovou chromatografií (LC) [5]. Synteticky vyráběný a komerčně dostupný vitamin E (α -tokoferylacetát), nevykazuje na rozdíl od tokoferolů a tokotrienolů fluorescenci a není schopen elektrochemické oxidace, protože jeho fenolická hydroxylová skupina je blokována [2,12].

3. FYZIOLOGIE A PATOLOGIE VITAMINU E

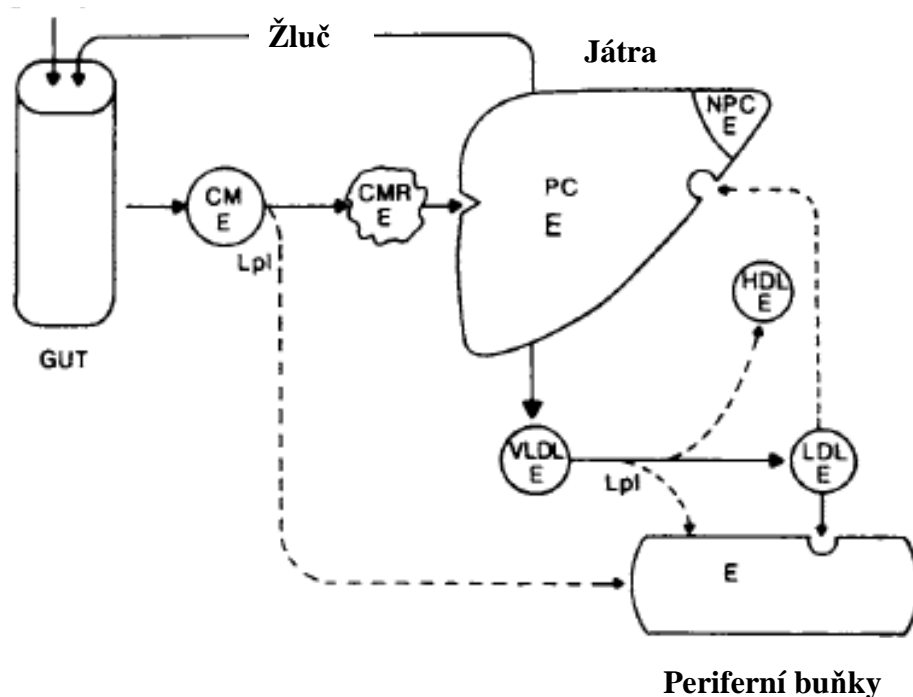
V potravě je vitamin E rozpuštěný v tucích a také pro správné vstřebávání potřebuje všechny procesy nutné pro vstřebávání tuků [18,19]. Podobně jako u lipidů jsou tokoferoly resorbovány v tenkém střevě [12]. Účinnost resorpce závisí na povaze tuků, které jsou vstřebávány společně s tokoferoly [15]. Resorpce vitaminu E je poměrně malá - jen asi 20-40% z přijatého množství. Tuto resorpci podporují nasycené mastné kyseliny triglyceridů, a to se středně dlouhými řetězci, naopak inhibují ji polynenasycené mastné kyseliny [20].

U lidí je většina α -tokoferolu transportována prostřednictvím lymfatických cest, pouze malá část přechází do krevního oběhu. Při transportu z gastrointestinálního traktu nemá vitamin E specifický bílkovinný nosič. Přibližně 99% α -tokoferolu je transportováno lymfou chylomikronech, které jsou bohaté na triglyceridy a vznikají ve střevní stěně [12,21].

Po vstupu do krevního oběhu jsou chylomikrony natráveny lipoproteinovými lipázami, které jsou přítomny v kapilárních stěnách všech tkání [22]. Zbytky chylomikronů, které obsahují určitý vitamin E, se dostávají do jaterní tkáně. V játrech je vitamin E zabudován do lipoproteinů o velmi nízké hustotě (VLDL), nízké hustotě (LDL) a vysoké hustotě (HDL). Z těchto lipoproteinů přechází vitamin E výměnou do buněčných membrán, kde plní svojí antioxidační funkci. Na Obr. 5 je uvedeno schéma transportu α -tokoferolu z tenkého střeva do jiných tkání.

V lidském organismu je vitamin E skladován po dobu 6 až 12 měsíců uložen především v tukových tkáních [21,22]. Exkrece (vyloučení) vitaminu probíhá ze 70-80% játry v průběhu 7 dnů, 20-30% močí [2].

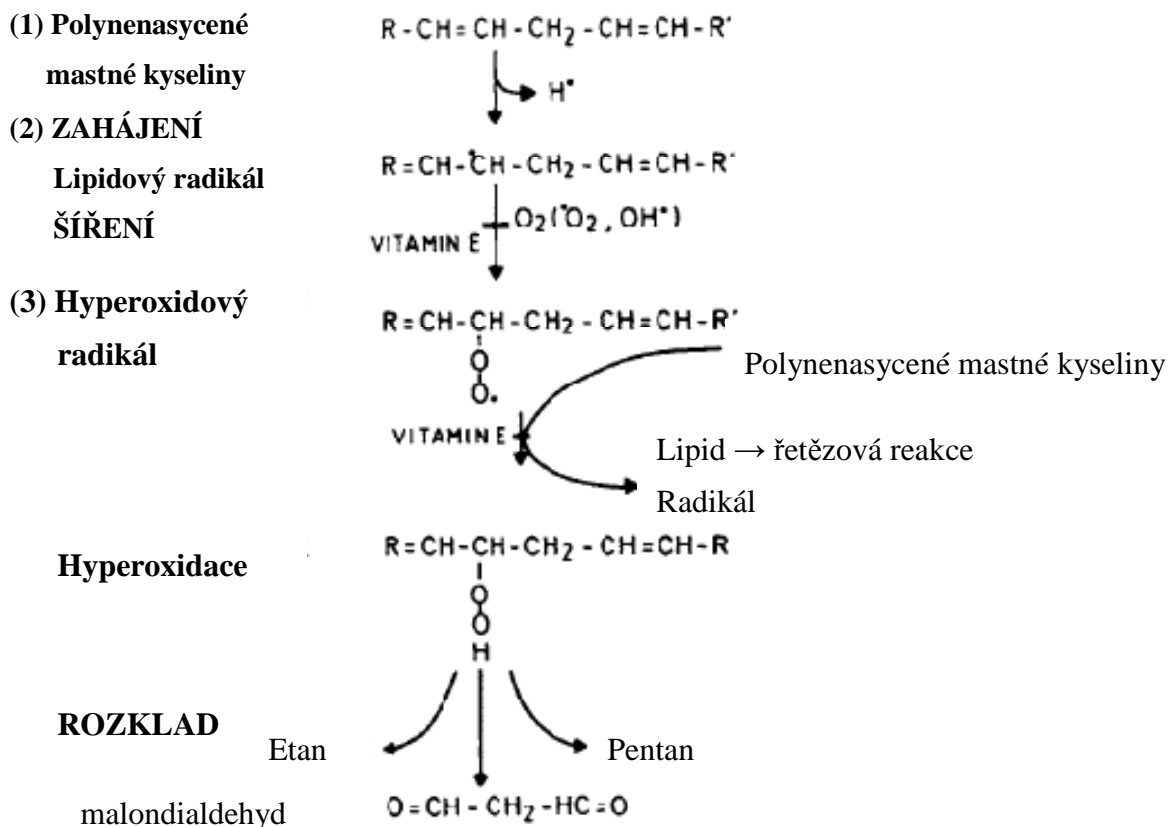
Doplňování vitamínem E



Obr. 5: Schéma transportu α -tokoferolu z tenkého střeva do jiných tkání. (Převzato z: [21])

Vitamin E (E) se z potravy vstřebává v tenkém střevě v neesterifikované formě. V tenkém střevě je zahrnut do chylomikronů (CM) a vylučován do lymfy. Pomocí enzymu lipoproteinové lipázy (LPL) jsou triacylglyceroly hydrolyzovány v chylomikronech, a tím vznikají chylomikronové zbytky (CMR). Tyto chylomikronové zbytky vstupují do jater prostřednictvím specifických receptorů, které jsou umístěné v parenchymálních buňkách (PC). Určité množství vitamínu E je také uloženo v nonparenchymálních buňkách (NPC) v játrech. Dále je transportován lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (VLDL) až k periferním tkáním nebo je přenesen lipoproteiny o nízké hustotě (LDL) anebo je vylučován lipoproteiny s vysokou hustotou (HDL) [22].

V lidském organismu působí vitamin E (zejména α -tokoferol) jako velice významný a účinný přirozený antioxidant. Své uplatnění nachází v obraně proti peroxidaci polyenových kyselin (nenasycených vyšších mastných kyselin s více dvojnými vazbami), které se nacházejí ve fosfolipidech buněčných i vnitrobuněčných membrán. Na Obr. 6 je znázorněno schéma peroxidace lipidů. Vitamin E se hromadí na místech, která mají afinitu k α -tokoferolu (fosfolipidy mitochondrií, endoplasmatického retikula a plasmatických membrán) [3,11,23].



Obr. 6: Schéma peroxidace lipidů. (Převzato z: [21])

Peroxidace je řetězová reakce, která je iniciovaná odběrem atomu vodíku z polynenasycené mastné kyseliny (1). Vzniklý lipidový radikál může dále reagovat s kyslíkem za tvorby hydroperoxidového radikálu (2). Ten může dále pokračovat v řetězové reakci, reakcí s volnými atomy vodíků z jiných lipidových molekul, nebo reaguje s vitaminem E, který tuto reakci ukončí (3) [21].

Antioxidanty obecně chrání buňky před škodlivými účinky volných radikálů. Za volné radikály jsou považovány atomy nebo molekuly, které mají jeden nebo více nespárovaných elektronů. Jejich vysoká reaktivita je způsobena snahou získat elektron z jiných látek (sloučenin) [3,11,23].

Existuje více druhů volných radikálů, ale největší ničivý vliv pro buňky a jejich části mají radikály odvozené od kyslíku, např.: superoxidový radikál, peroxid vodíku či volný hydroxylový radikál [3,11,23]. Volné radikály poškozují buňky imunitního systému, čímž se vysvětluje vyšší výskyt zhoubných nádorů a různých imunitních onemocnění jako je např. alergie. Mohou také přispět k rozvoji kardiovaskulárních a karcinogenních onemocnění [24].

Lidský organismus je vystaven tzv. oxidačnímu stresu, který je způsoben volnými radikály vznikajícími jako vedlejší produkty látkové výměny a vlivy z vnějšího prostředí např. ozónem, UV zářením ze slunce, cigaretovým kouřem, těžkými kovy, různými chemikáliemi, pesticidy, herbicidy, organickými rozpouštědly či některými léky. [26].

Tokoferol ve spojení s jinými antioxidanty jako např. vitaminem C a redukovaným glutathionem synergisticky inhibují oxidační poškození buněčných membrán, pravděpodobně přes regeneraci α -tokoferolu [27]. Antioxidační aktivita tokoferolů a tokotrienolů je dána jejich schopností přenášet vodík ze své fenolové skupiny na volný peroxy-radikál peroxidované polyenové kyseliny, a to má za následek přerušení řetězové reakce volných radikálů [8,23,28].

Touto reakcí (rovnice 1) vznikají volné tokoferoxy-radikály (T-O•) a hydroperoxid lipidu (ROOH) [22].



Tokoferoxy-radikály jsou relativně stabilní a nereaktivní, nejsou schopny dále pokračovat v řetězové reakci, namísto toho mohou reagovat buď s dalším volným peroxylovým radikálem tak, že jsou chromanový kruh a postranní řetězec oxidovány na produkt zbavený nepárového elektronu (rovnice 2) [22].



Vzniklý neaktivní molekulární produkt posléze reaguje s hydroxylovou skupinou kyseliny glukuronové a vyloučen do žluče (rovnice 3) [22,23].



Nebo tokoferoxy-radikály reagují s vitaminem C nebo koenzymem Q (koantioxidanty) a dochází tak k regeneraci tokoferolu (rovnice 4) [22].



Antioxidační aktivita tokoferolů a tokotrienolů v potravinářských lipidech je ovlivněna řadou faktorů. Nejvýznamnějšími faktory jsou složení polyenových mastných kyselin, podmínky skladování potravin, teplota, přítomnost kyslíku a především stabilita radikálů tokoferolů vznikajících jako meziprodukty při reakci s oxidovanými lipidy [11]. Relativní antioxidační aktivita tokoferolů (*in vivo*) je stejná jako biologická účinnost, tj. $\alpha > \beta > \gamma > \delta$, ale v modelových systémech a potravinách je variabilní [8].

Kromě své činnosti jako antioxidant se vitamin E podílí i na imunitních funkcích, a jak je uvedeno v některých studiích *in vitro* i na buněčné signalizaci, regulaci genové exprese a dalších metabolických procesech. Vitamin E také zvyšuje expresi dvou enzymů, které potlačují metabolismus kyseliny arachidonové, čímž se zvyšuje uvolňování prostacyklinu, který rozšiřuje cévy a brání shlukování krevních destiček, a tvorbě krevních sraženin [24,25].

Zatím je vědecky zkoumáno, zda vitamin E může být prospěšný v prevenci onemocnění, jako jsou karcinogenní onemocnění a ateroskleróza. Tato onemocnění souvisejí s působením volných radikálů. Vitamin E může napomáhat předcházení vzniku aterosklerózy, tím že brání tukům a minerálům v ukládání v arteriálních stěnách. V krvi jsou obsaženy specifické nosiče pro látky typu cholesterolu a mastných kyselin, které označujeme jako lipoproteiny. Jeden z nich - LDL (lipoprotein o nízké hustotě), pokud je oxidován volnými radikály, zvyšuje riziko vzniku aterosklerózy. Vitamin E chrání LDL proti oxidaci, a tím pravděpodobně snižuje riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Vitamin E je používán také jako doplněk léků pro léčení Parkinsonovy nemoci, avšak vitamin sám o sobě není schopen tuto nemoc léčit [29]. Fariss M. W. a Zhang J-G. (2003) ve své studii docházejí k závěru, že vitamin E dokáže oddálit nástup nemoci a rovněž zpomalit její průběh díky své antioxidační schopnosti [30]. Je používán i jako doplněk při léčbě ženské i mužské neplodnosti [29]. Výzkumy ukázaly, že vitamin E nejen napomáhá posilovat životaschopnost funkčních spermií přítomných ve spermatu nízké kvality ale i zlepšuje pohyblivost a přežití většího množství spermií, které mají normální tvar [31,32]. U žen vitamin E napomáhá zejména díky svému antioxidačnímu působení proti reaktivním formám kyslíku, které vyvolávají oxidační stres, a tím mohou negativně ovlivnit vývoj embrya např. změnou genové exprese [33].

3.1 Doporučené denní dávky vitaminu E

Doporučená denní dávka vitaminu E pro člověka není přesně známa. Značně závisí na příjmu polyenových mastných kyselin ve stravě. Určení denní dávky vitaminu E je poměrně obtížné i díky značné šíři projevů jeho biologické aktivity. V jednotlivých zemích se hodnoty doporučených denních dávek liší [3,11,34,35].

Za dostatečné množství vitaminu E se považuje asi 5 mg/den. Dále je nutné uvažovat 0,5-0,6 mg α -tokoferolu na každý 1 g přijatých polyenových mastných kyselin, nacházejících se v potravě. Z toho vyplývá, že denní potřeba pro dospělého člověka je asi

15 mg. Výživová doporučená dávka vitamínu E pro průměrného obyvatele ČR je 12 mg/den. U těhotných žen je doporučován denní příjem vyšší o 2 mg a u kojících žen pak o 5 mg vyšší [3,11,34,35]. Tolerované horní hranice příjmu vitamínu E jsou uvedeny v Tab. 2 [24,25].

Tab. 2: Tolerovaná horní hranice příjmu (ULS) pro vitamin E. (Převzato z: [24,25])

Věk	Muži	Ženy	Ženy v období těhotenství	Ženy v období laktace
1-3	200 mg (300 IU)	200 mg (300 IU)	-	-
4-8	300 mg (450 IU)	300 mg (450 IU)	-	-
9-13	600 mg (900 IU)	600 mg (900 IU)	-	-
14-18	800 mg (1,200 IU)	800 mg (1,200 IU)	800 mg (1,200 IU)	800 mg (1,200 IU)
19 a více	1,000 mg (1,500 IU)	1,000 mg (1,500 IU)	1,000 mg (1,500 IU)	1,000 mg (1,500 IU)

Z denní dávky vitamínu E je 60-70 % vylučováno v exkrementech. Na rozdíl od ostatních vitaminů rozpustných v tucích je vitamin E uložen v těle relativně krátkou dobu (10-20 hod), podobně jako vitaminy B a C [36].

3.2 Projevy nedostatku vitamínu E

Nedostatečné množství vitamínu E v těle (hypovitaminóza) se u jednotlivých živočišných druhů projevuje odlišně. U lidí se nedostatek vitamínu E projevuje změnami ve funkci reprodukčního systému, svalstvu, nervové a cévní soustavě, v krvetvorbě (anémie) [37].

U těhotných a kojících žen je vyšší příjem vitamínu E nezbytný. Ovlivňuje tvorbu gonadotropinů a pozitivně působí na průběh těhotenství. V gravidním organismu přispívá deficit vitamínu E k potratům nebo k předčasným porodům [38]. U novorozenců a předčasně narozených dětí může vlivem nedostatku vitamínu E docházet k anémiím. Dochází k poškození volnými radikály, snižuje se produkce hemoglobinu a zkracuje se životnost červených krvinek [9,23,37-39].

U lidí, žijících se běžnou potravou se však projevy nedostatku vitamínu E vykytují jen velmi zřídka. Deficit vitamínu E u člověka je nejvíce spojen se syndromem špatného vstřebávání tuků, které může nastat s genetickými nebo vyvinutými onemocněními postihující střeva, slinivku břišní nebo játra. Těžký nedostatek vitamínu E vede k nervosvalovým poruchám. Neurologické potíže mohou být vyvolány vysokým příjmem nenasycených mastných kyselin nebo nemocemi zhoršujícími vstřebávání tuků v důsledku nedostatku vitamínu E. K periferní neuropatii pravděpodobně dochází vlivem poškození nervů volnými radikály a u lidí je popisována jako postupné vymírání nervů [9,23,37,39].

Hladiny vitamínu E nižší než 11,5 $\mu\text{mol/l}$ značí deficitní stav zásob vitamínu E, rozmezí 11,6 - 16,2 $\mu\text{mol/l}$ se považuje za nízkou hladinu vitamínu E v organismu [2].

3.3 Projevy nadbytku vitamínu E

Protože se vitamin E řadí mezi vitamíny rozpustné v tucích, a tyto vitamíny jsou v těle zadržovány delší dobu než vitamíny rozpustné ve vodě, může dojít k projevům jejich nadbytku. Jsou uchovávány v tukové tkáni a játrech. Vitamin E se také může ukládat v srdci, svalech, varlatech, děloze, krvi, nadledvinkách a podvěsku mozkovém [29].

Při nadbytečném užívání vitamínu E však nehrozí vážnější potíže jako u ostatních vitamínů rozpustných v tucích (vitamin A a D). Přímá toxicita vitamínu E není uváděna, setkáváme se pouze s nežádoucími účinky. Nežádoucími účinky se rozumí zažívací potíže, únava, bolesti hlavy či svalová slabost [2].

Může docházet ke snížení hladiny tyroxinu v krvi suplementací vysokými dávkami tokoferolu. U těhotných žen může vzácně dojít k předávkování a tím k poškození plodu [2,3].

Při dlouhodobém užívání dávek vyšších než 800 mg/den vitamínu E se mohou objevit potíže při vstřebávání vitamínu K a tím může dojít i ke snížení srážlivosti krve. Pro dospělé je nejvyšší tolerovaná dávka α -tokoferolu 1000 mg/den, pro děti od 3 do 13 let v rozmezí 200-600 mg/den a pro adolescenty 800 mg/den [2,3].

4. VÝSKYT VITAMINU E V POTRAVINÁCH

Vitamin E lze snadno získat z potravy, ale relativně málo potravin obsahuje jeho vysoké koncentrace. Mezi nejbohatší zdroje vitaminu E patří potraviny rostlinného původu. Vyskytuje se také v potravinách živočišného původu, ale v menší míře. Může být přítomen i v některých kvasinkách a houbách. V přírodě (potravinách) se nachází všech osm biologicky aktivních forem tokoferolu a tokotrienolu. Nejvýznamnějším a nejvíce přítomným v potravinách je α -tokoferol, a to zejména v produktech živočišného původu. V potravinách se dále nacházejí i β - , γ - , δ -tokoferoly a α - a β -tokotrienoly [3,11,15,40].

Průmyslovou syntézou se vyrábí také all-rac- α -tokoferol, který je směsí osmi stereoizomerů o různé biologické aktivitě. Bývá využíván do vitaminových preparátů nebo jako aditivum - při zvyšování biologické hodnoty jedlých olejů [3,11,40].

4.1 Potraviny rostlinného původu

Obecně platí, že nejbohatším zdrojem vitaminu E jsou rostlinné oleje. Nejvíce je obsažen v oleji z obilných klíčků. Olej z pšeničných klíčků, světlicový, slunečnicový obsahuje převážně α -tokoferol, zatímco v sójovém a kukuřičném oleji se nachází hlavně γ -tokoferol. Všechny tyto oleje obsahují polynenasycené mastné kyseliny. Dobrým zdrojem α -tokoferolu jsou také oleje, které obsahují mononenasycené mastné kyseliny např. olivový nebo řepkový olej. Avšak při zpracování těchto surovin v průmyslu, dochází ke značným ztrátám vitaminu E. Rafinací rostlinných olejů, dochází ke ztrátě až 70% z původně přítomného množství vitaminu E. Například obsah vitaminu E v surovém (lisovaném za studena) řepkovém oleji bývá v rozmezí 360-1000 mg.kg⁻¹, ale v rafinovaném v rozmezí 140-850 mg.kg⁻¹. To je jeden z důvodů, proč se do rostlinných olejů a margarínů vitamin E přidává. Vitamin E přidávaný pro obohacení stravy nebo potravinových doplňků se skládá hlavně z α -tokoferolu, ať už pochází z přírodních zdrojů (tj. denaturovaný γ -tokoferol z rostlinného oleje) nebo ze syntetické výroby, a to je obvykle ve formě esteru, který vykazuje vyšší stabilitu [11,40-42].

Obilná zrna (oves, ječmen, žito, pšenice, kukuřice, rýže) jsou druhým nejvýznamnějším zdrojem vitaminu E v naší stravě, v návaznosti na skupinu rostlinných olejů. V obilovinách se vitamin E nachází především v klíčcích a otrubách. Mezi další významné zdroje α -tokoferolu patří para ořechy, lískové a vlašské ořechy a mandle. Ovoce a zelenina, ačkoliv jsou bohaté na antioxidanty rozpustné ve vodě, nejsou významným

zdrojem vitamínu E. Obsah vitamínu E v ovoci a zelenině většinou nepřekračuje 10 mg.kg^{-1} [11,40-42].

4.2 Potraviny živočišného původu

Je zřejmé, že potraviny v této kategorii jsou relativně chudšími zdroji vitamínu E. Tuky živočišného původu obsahují podstatně méně vitamínu E, než tomu je u rostlinných olejů [11]. Celkový obsah vitamínu E v živočišných tkáních je uveden v Tab. 3.

Tab. 3: Obsah vitamínu E v živočišných tucích. (Převzato z: [11])

Druh tuku	máslo	vepřová sádlo	hovězí loj	kuřecí tuk	jaterní tresčí tuk
Obsah vitamínu [mg.kg ⁻¹]	do 50	6-30	do 20	do 25	0,25

Obsah jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů v živočišných tkáních je ovlivňován zejména složením krmiv zvířat (kuřat, krůt, prasat a králíků). Např. u mléka v Nizozemsku bylo hlášeno, že obsahuje 0,02 mg tokoferolu na 100 g. V - tab. 4, kde jsou uvedeny hodnoty naměřené ve Spojených státech amerických, je vidět, že u mléka je hodnota tokoferolu 0,12 mg na 100 g, tato hodnota je vyšší než u mléka v Nizozemsku. Částečné vysvětlení mohou poskytnout, s použitím analytických postupů, možné rozdíly v obsahu tokoferolu ve stravě krav. Když je úroveň vitamínu E ve výživě nízká, sezonně nebo lokalitou, budou i potraviny živočišného původu obsahovat adekvátně nízký obsah vitamínu E a naopak [11,43].

Tab. 4: Obsah tokoferolu v mase, rybách, drůbeži a mléčných výrobcích. (Převzato z: [43])

Potravina	mg/100 g čerstvého materiálu			% celkového obsahu tokoferolu
	Celkový obsah	γ -T + δ -T	α -T	α -T
Maso				
Slanina	0,53	< 0,09	0,44	> 83
Hovězí steak	0,63	< 0,16	0,47	> 75
Hovězí játra	1,40	0,00	1,40	> 100
Jehněčí kotlety	0,77	< 0,15	0,62	> 81
Vepřové kotlety	0,71	< 0,08	0,63	> 89
Treska	0,39	< 0,04	0,35	> 90
Kuře	0,25	< 0,04	0,21	> 84
Vejce (celé)	2,00	< 0,84	1,16	58
Mléčné výrobky				
Máslo	2,40			
Sýr (americký)	1,00			
Zmrzlina (vanilková)	0,30			
Mléko (tekuté)	0,12			
Mléko (odpařené)	0,30			

Kravné mléko je obecně relativně chudý zdroj vitamínu E. Jeden litr mléka poskytne jen asi 0,5 mg tokoferolu. Zpracováním mléka k výrobě sýrů, másla nebo kondenzovaného mléka zřejmě nedochází k výrazným ztrátám vitamínu E [11,43].

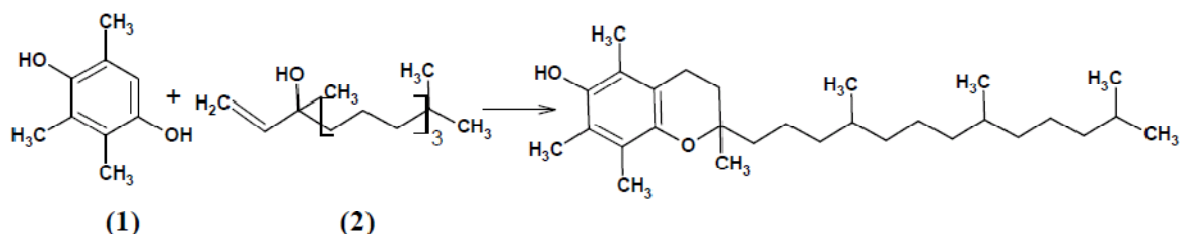
Nízký obsah tokoferolů, ale může být odrazem ztrát, které nastávají během a po zpracování těchto potravin. Uložené živočišné tkáně i při nízkých teplotách oxidují a rychle ztrácí vitamín E [11,43].

4.3 Průmyslová výroba

Každý vitamín lze průmyslově vyrobit a přidat do jednotlivých potravin nebo krmiv. Výroba probíhá většinou chemickou syntézou. V tucích rozpustné vitamíny, tedy i vitamín E lze získat i jeho izolací z přírodních zdrojů [14].

Přírodní vitamín E (D- α -tokoferol) též RRR- α -tokoferol obsahuje pouze jeden izomer, ale synteticky vyrobený vitamín E (DL- α -tokoferol) též all-rac- α -tokoferol je směsí osmi izomerů. Rozdíl mezi přírodním a syntetickým vitamínem E je jak v molekulární struktuře, tak v biologické aktivitě, kdy RRR- α -tokoferol je 1,36x účinnější než synteticky vyrobený all-rac- α -tokoferol a tedy i účinnější při působení v lidském organismu [3,26].

Průmyslová výroba α -tokoferolu je založena na kyselé katalyzované kondenzaci 2,3,5-trimethylhydrochinonu (TMHCH) (1) s isofytolem (2) dle rovnice na Obr. 6.

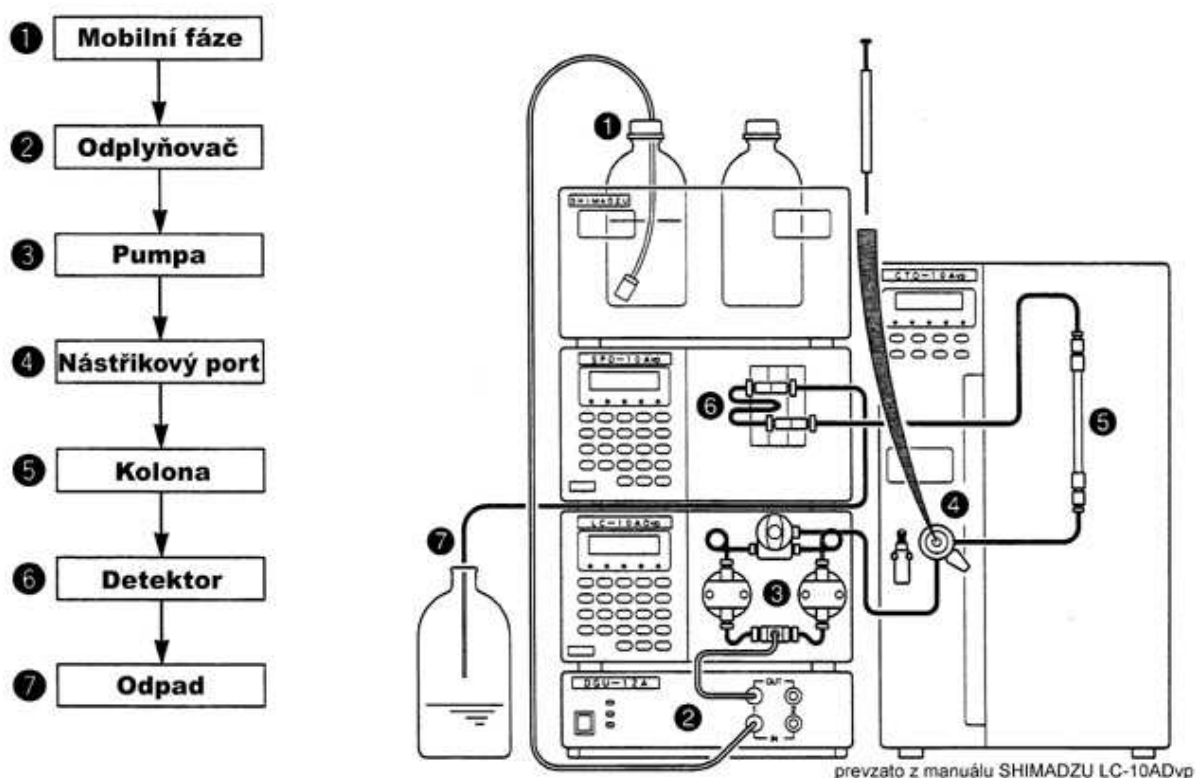


Obr. 6: Syntéza α -tokoferolu. (Převzato z: [44])

Jako katalyzátory při průmyslové výrobě vitamínu E se používají Brønstedovy a Lewisovy kyseliny např. HCO_2H , MeCO_2H , $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, ZnCl_2 . V poslední době se využívají heterogenní katalyzátory, jejichž hlavní předností je jednoduché oddělení pevného katalyzátoru z reakční směsi a vyšší čistota (96-97%) získaného α -tokoferolu. Mezi nejvíce preferované heterogenní katalyzátory patří hlinitokřemičitanové, a to zejména díky své dostupnosti a kapacitě. Bylo zjištěno, že pokud reakci provedeme ve vroucím uhlovodíkovém rozpouštědle např. n-heptanu nebo n-nonanu, dostaneme téměř kvantitativní výtěžek (98%) all-rac- α -tokoferolu. Produktem této reakce je racemická směs všech možných stereoizomerů α -tokoferolu, a proto je označován jako all-rac- α -tokoferol [44].

5. Metody stanovení vitamínu E

Pro stanovení vitamínu E (α -tokoferolu) bylo popsáno mnoho různých metod. Mezi nejčastěji využívané patří metody chromatografické. Oficiální metodou EU, dle ČSN EN ISO 6867 (467020), která je zároveň i nejpoužívanější, se stala vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) s fluorescenční detekcí, a to zejména díky své specifitě a citlivosti [10,45,46]. Využívá se zejména k separaci látek rozpuštěných v roztoku, které nejsou příliš těžké. Své využití nachází u nejrůznějších biologicky a farmakologicky účinných látek tj. i vitaminů [47]. Na Obr. 7 je znázorněno a popsáno uspořádání HPLC.



Obr. 7: Schéma uspořádání HPLC. (Převzato z: [47])

Mobilní fáze prochází pod tlakem kolonou, která obsahuje stacionární fázi. Podle typu jednotlivých fází rozlišujeme uspořádání s normální fází nebo s reverzní fází, tj. s obrácenými fázemi. Chromatografie s normální fází využívá polární stacionární fáze např. skupiny $-CN$, $-NH_2$ a nepolární mobilní fáze např. chloroform, metylenchlorid. Chromatografie s reverzními fázemi využívá nepolární stacionární fáze a polární mobilní

fáze např. metanol, H₂O, acetonitril. U výstupu z kolony je připojen detektor, kterým v různém čase prochází mobilní fáze s jednotlivými složkami separované směsi. Detektory se používají spektrofotometrické, kde se měří absorbance vzorku v koncentracích až 10⁻⁷ g/l, anebo fluorescenční, kde se měří intenzita fluorescence v koncentracích až 10⁻⁹ g/l. Záznam z detektoru je pak na počítači převeden do grafické podoby a chromatogram je tvořený specifickými píky jednotlivých látek [47].

5.1 Stanovení vitamínu E v potravinách

Metody stanovení vitamínů v potravinách jsou důležité, nejen protože na jejich obsahu do značné míry závisí výživová hodnota potravin ale i pro potravinářský průmysl při výrobě a zpracování potravin [14]. Zejména je důležité měřit obsah tokoferolů a tokotrienolů v olejích kvůli oxidační stabilitě ale i pro jejich nutriční kvalitu. Kromě toho tokoferolový profil je někdy používán jako identická charakteristika pro oleje [48].

Stanovení vitamínu E, jeho správného a přesného obsahu v krmivech a potravinách je poměrně náročný a složitý proces. Náročnost procesu je dána nízkou koncentrací vitamínu ve vzorcích potravin, citlivostí k oxidaci a světelnému záření. Tento proces zahrnuje několik dílčích kroků, a to přípravu vzorku buď alkalickou hydrolyzou, nebo zmýdelněním, extrakci vitamínu a vlastní stanovení vhodnou analytickou metodou [10,49,50].

Tuhé vzorky jsou nejprve upraveny homogenizací a mletím na částice vhodné velikosti. Při mletí by nemělo docházet k zahřívání vzorku. Poté je vzorek hydrolyzován např. v kónické baňce na rotační třepačce při laboratorní teplotě přes noc [10,49].

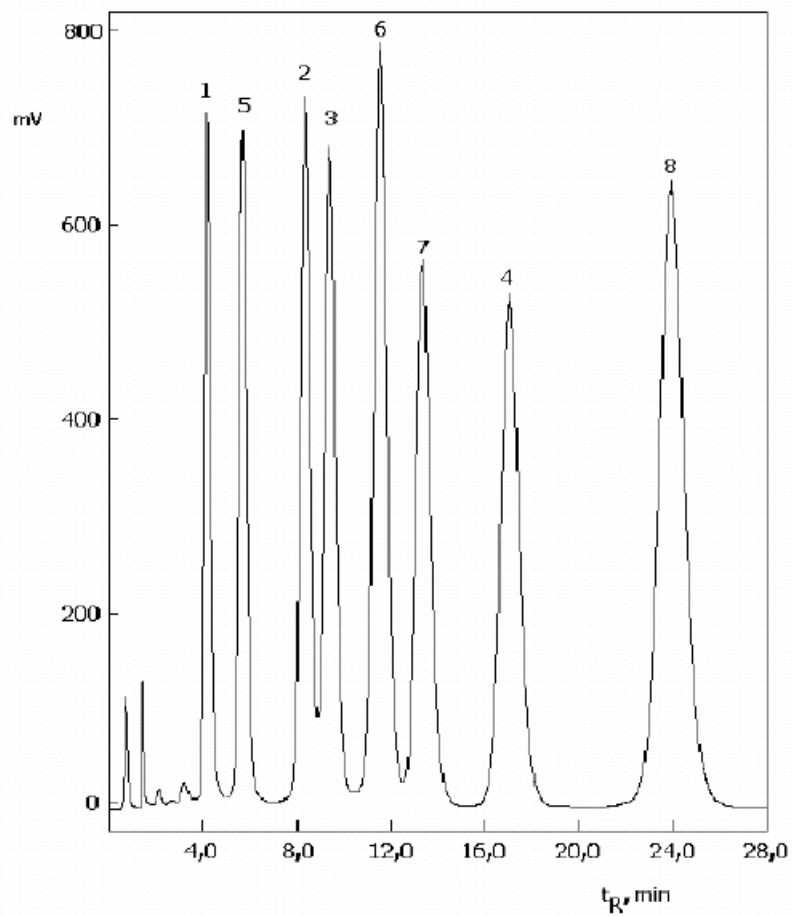
Hosmanová R. a Douša M. (2007) použili při svém stanovení obsahu vitamínu E v krmných surovinách, krmivech a potravinách pro hydrolyzu vzorku 60% roztok KOH v roztoku etanol-voda (1:2), kyselinu L-askorbovou, hydrochinon a kyselinu etylendiamintetraoctovou (EDTA) [10].

Získaný hydrolyzát je dále upraven podle zvolené metody při měření. Při stanovení metodou HPLC s použitím normální fáze je hydrolyzát extrahován hexanem, sušen např. přefiltrováním přes vrstvu bezvodého síranu sodného a odpařen na rotační vakuové odparce při 50 °C. V případě separace s použitím reverzní fáze se takto získaný extrakt odpaří pod proudem dusíku při teplotě 45 °C k suchu a získaný odparek se rozpustí v metanolu [10].

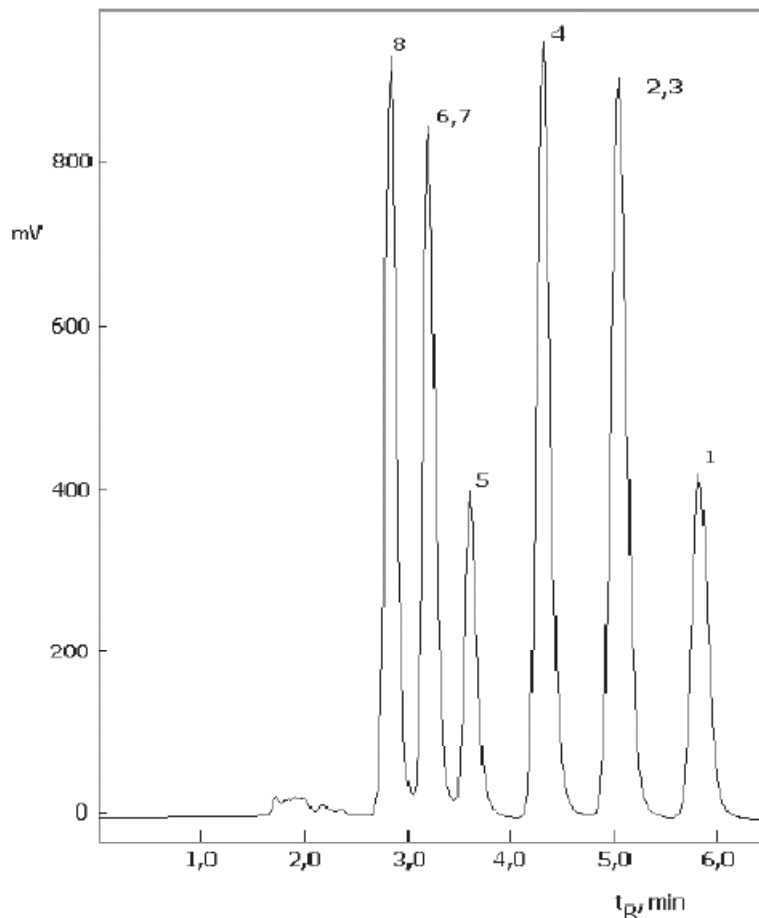
Aoun a kol. (2005) využili při stanovení obsahu α -tokoferolu v přírodní rostlině *Ferula hermonis*-Zalooch (z kořenů této rostliny), která je známá pro své afrodisiakální účinky, metodu HPLC s UV detekcí. Metoda zahrnuje saponifikaci vzorku a separaci α -tokoferolu pomocí směsi acetonitril-metanol, v poměru 1:1 [51].

Saponifikace použitá podle Rougereau a Person (1982) byla upravena pro ošetření kořenů Zalooch. Kořeny jsou namlety a po přidání metanolového roztoku kyseliny askorbové jsou udržovány ve vroucí vodní lázni nejprve 15-20 minut a po přidavku 70% NaOH dalších 40 minut. Nakonec je roztok zbaven vodné fáze a organická fáze se promyje bezvodým síranem sodným. Poté se získaný vzorek rozpustí v metanolu a je připraven pro analýzu na HPLC [51].

K separaci tokoferolů a tokotrienolů může být použito, jak rozdělení v systému s normálními fázemi tzn. obvykle na silikagelové stacionární fázi, tak rozdělení v systému s reverzními fázemi tzn. nejčastěji na stacionární fázi C18. Při analýze s použitím normální stacionární fáze je možno separovat až osm tokoferolů a tokotrienolů v isokratickém uspořádání s mobilní fází hexan-tetrahydrofuran (99,5:0,5) nebo hexan-diethylether (95:5). Na Obr. 8 a 9 jsou znázorněny chromatografické separace tokoferolů a tokotrienolů s použitím normální a reverzní fáze [10].



Obr. 8: Chromatografická separace tokoferolů a tokotrienolů na normální fázi (silikagel)
 1: α -tokoferol; 2: β -tokoferol; 3: γ -tokoferol; 4: δ -tokoferol; 5: α -tokotrienol;
 6: β -tokotrienol; 7: γ -tokotrienol; 8: δ -tokotrienol (Převzato z: [10])



Obr. 8: Chromatografická separace tokoferolů a tokotrienolů na reverzní fázi (C18)
 1: α -tokoferol; 2: β -tokoferol; 3: γ -tokoferol; 4: δ -tokoferol; 5: α -tokotrienol;
 6: β -tokotrienol; 7: γ -tokotrienol; 8: δ -tokotrienol (Převzato z: [10])

V současné době se při stanovení celkového obsahu α -tokoferolu v krmivech a potravinách upřednostňuje použití reverzní fáze i přes to, že ke stanovení všech forem tokoferolů je nutné použití silikagelové stacionární fáze [10].

Metoda AOCS (Americká společnost chemiků pro oleje) č. Ce 8-89 popisuje postup pro určení obsahu tokoferolů a tokotrienolů v rostlinných olejích a tucích pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC). Normální fáze se nejčastěji používají k oddělení tokolových konců, protože β -tokoferol a γ -tokoferol mohou být rozloženy. Naopak reverzní fáze (RP) s oktadecylsilikátovou kolonou nemohou rozložit β -tokoferoly ani γ -tokoferoly [48].

Tasioula-Margari a kol. (2001) popsali jednoduchý postup pro stanovení fenolů a tokoferolů v panenském olivovém oleji metodou HPLC s UV detekcí. Extrakce

fenolických látek a tokoferolu byla provedena s použitím metanolu a směsi isopropanol-metanol. Tato metoda může být použita jak pro jednoduché i komplexní fenoly a stejně tak pro α -tokoferol při stanovení, které probíhá v jednom chodu. Fenolické látky jsou touto metodou extrahovány zcela, zatímco u α -tokoferolu bylo dosaženo průměrného využití 80%. Separace byla provedena na reverzní fázi C18 s použitím rozpouštědel - 2% kyseliny octové ve vodě, metanolu, acetonitrilu a isopropanolu [52].

Abidi (2003) zjistil, že při stanovení metodou HPLC v systému s polární reverzní fází, s využitím pentafluorofenylsilikátové kolony, by mohl oddělit β -tokoferol a γ -tokoferol [48].

V české krmivářské legislativě je doporučena silikagelová fáze jako alternativa k reverzní fázi s použitím mobilní fáze cyklohexan-etanol (98,5:1,5). K separaci vitamínu E dochází na silikagelu za použití mobilní fáze, která je složena z hexan-1,4-dioxan (97:3) s fluorescenční detekcí [10].

Hosmanová R. a Douša M. (2007) použili při svém stanovení obsahu vitamínu E v krmných surovinách, krmivech a potravinách mobilní fáze cyklohexan-tetrahydrofuran (99,6:0,4), cyklohexan-etanol (98,5:1,5), metanol-voda (98:2) [10].

Aoun a kol. (2005) využili při stanovení α -tokoferolu z přírodní rostliny *Ferula hermonis*-Zalooch (z kořenů této rostliny), mobilní fázi acetonitril-metanol a stacionární fázi silikagel [51].

5.2 Stanovení vitamínu E v krvi

Koncentrace vitaminů rozpustných v tucích, tedy i tokoferolů, se stanovují zejména v krevním séru, plazmě nebo tukové tkáni, a to kvůli stanovení jejich případného nedostatku nebo případné toxicitě v organismu [49].

Julianto a kol. (1999) vyvinuli metodu HPLC s UV detekcí pro stanovení α -tokoferolu v lidské plazmě. Metoda zahrnuje přímé vstříkávání vzorku plazmy po předchozím odstranění proteinů pomocí acetonitril-tetrahydrofuranu (3:2). Mobilní fázi tvořil methanol a tetrahydrofuran (94:6). Tato metoda je vhodná pro rutinní stanovení α -tokoferolu v lidské plazmě. Pro analýzu je zapotřebí jen malý objem vzorku plazmy (100 μ l) [53].

Johnson-Davis a kol. (2009) upravili metodu HPLC pro analýzu vitamínu E v séru nebo plazmě pomocí vysoké propustnosti analytické kolony a malého průměru hadiček, čímž výrazně snížili čas analýzy. Pro extrakci vitamínu byl použit hexan a získaný extrakt byl odpařen v dusíkové atmosféře, rozpuštěn v absolutním etanolu a analyzován metodou HPLC s UV detekcí. Úprava analytické kolony a průměru hadiček byla použita pro vytvoření pediatrických referenčních intervalů pro vitamíny rozpustné v tucích [54].

Jak již bylo zmíněno vitamin E je sloučenina rozpustná v tucích, která je uložena v tukové tkáni, a proto je jeho koncentrace v tukové tkáni lepším ukazatelem jeho množství než v krevní plazmě, kde může být ovlivněn plazmatickými lipoproteiny [45,49].

Byla publikována metoda pro stanovení vitamínu E (α -tokoferolu) v tukových tkáních a prsních žlázách březích a pohlavně neaktivních potkanů. Lze využít tři různé typy extrakčních metod, a to extrakci lipidů, která je následovaná zmýdlením a extrakcí lipidů, které nelze zmýdelnit. Jako další metodu lze uvést přímé zmýdlení tkáně s následnou extrakcí rozpouštědlem, anebo přímou extrakci tokoferolů, která využívá sloučeninu dodecyl sulfát sodný (SDS). Bylo však prokázáno, že zmýdlení způsobuje velké ztráty tokoferolů a SDS je obtížné odstranit z chromatografických kolon, čímž se snižuje jejich životnost. Odebrané tkáně jsou uchovány v atmosféře dusíku a při teplotě -80 °C. Před vlastním stanovením jsou tkáně homogenizovány ve směsi ethanol-voda (1:1) a extrahovány v n-hexanu. Jako vnitřní standard se používá vitamin K. Separaci lze provést metodou HPLC v systému s reverzními fázemi s použitím rozpouštědla methanol-voda (96,5:3,5). Využívá se fluorescenční detekce s excitací při 295 nm a emisí při 350 nm pro vitamin E [45].

6. Závěr

Tato bakalářská práce shrnuje biochemické vlastnosti vitamínu E, jeho funkce, jeho vztah k potravinám a v neposlední řadě možnosti jeho stanovení.

Vitamíny jsou nedílnou součástí výživy. Jedná se o látky esenciální povahy, které si tělo nedokáže syntetizovat a získává je především potravou. Významnou měrou, většinou jako koenzymy, zasahují do metabolických procesů v organismu. Jejich pravidelný příjem v určitých dávkách je pro organismus nezbytný.

Vitamin E je významný antioxidant, chrání lipidy buněčných membrán a lipoproteiny přítomné v plazmě před poškozením volnými radikály. Důležitou roli má také pro lidský imunitní a nervový systém, při prevenci a léčbě srdečních chorob a karcinogenních onemocnění. Také ovlivňuje tvorbu gonadotropinů.

V současné době je věnována pozornost vlivu vitamínu E na zvrácení plešatění u mužů, nebo využití vitamínu E jako jistou ochranu před onemocněním srdce, a dokonce i Alzheimerovy choroby.

Vitamin E se nachází především v potravinách rostlinného a v menším množství v potravinách živočišného původu. Mezi nejbohatší zdroje vitamínu E patří oleje vyrobené z obilných klíčků.

Stanovení vitaminů v potravinářském materiálu je velmi složitý proces, neboť jejich koncentrace jsou ve srovnání s ostatními složkami analyzovaného vzorku velmi nízké. Vitamíny jsou navíc látky velice citlivé k oxidaci a na světelné záření.

Pro stanovení vitamínu E (α -tokoferolu) bylo popsáno mnoho různých metod. Nejčastěji využívanou metodou je vysokoúčinná kapalinová chromatografie s fluorescenční detekcí.

7. Literatura

- 1 Racek J. et al.: Klinická biochemie, Galén, Praha, 1. vydání, (1999), s. 133-135, ISBN 80-7262-023-1.
- 2 Vávrová J., Pechová A., Wilhem Z., Kazda A., Friedecký B., Jabor A.: Vitaminy a stopové prvky 2007, ČSKB ČLS JEP a SEKK spol. s r.o., Praha, 1. vydání, (2007), s. 40-42, ISBN 978-80-254-1171-1.
- 3 Hlúbik P., Opltová L.: Vitaminy, Grada Publishing, Praha, 1. vydání, (2004), s. 55-64, ISBN 80-247-0373-4.
- 4 <http://www.vitamin-basics.com/index.php?id=39>, [cit. 2012-28-02].
- 5 Eitenmiller R. R., Landen W. O.: Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences, CRC Press LLC, Georgia, 1. vydání, (1998), s. 109-148, ISBN 978-0849326684.
- 6 Daniells S.: Vitamin E may reverse male patternbaldness: Study [online]. (2009), [cit. 2012-28-02]. Dostupné z (<http://www.nutraingredients.com/Research/Vitamin-E-may-reverse-male-pattern-baldness-Study>).
- 7 Kennard Ch.: Vitamin E Treatments in Alzheimer's [online]. (2005), [cit. 2012-29-02]. Dostupné z (<http://alzheimers.about.com/od/treatmentoptions/a/vitaminE.htm>).
- 8 Eitenmiller R. R., Lee J.: Vitamin E: Food Chemistry, Composition, and Analysis, Marcel Dekker, Inc., New York, (2004), 505 s., ISBN 0-8247-0688-9.
- 9 Traber M. G., Atkinson J.: Vitamin E, Antioxidant and Nothing More, Free Radical Biology and Medicine, July 1, (2007), 43(1): 4-15.
- 10 Hosmanová R., Douša M.: HPLC stanovení obsahu vitamínu E v krmných surovinách, krmivech a potravinách, Chemické listy, 101, (2007), s. 578-583.
- 11 Velíšek J., Hajšlová J.: Chemie potravin I, OSSIS, Tábor, 3. vydání, (2009), s. 387-395, ISBN 978-80-86659-15-2.
- 12 Rucker R. B., Suttie J. W., McCormick D. B., Machlin L. J.: Handbook of Vitamins, Marcel Dekker, Inc., New York, (2001), s. 165-197, ISBN 0-8247-0428-2.
- 13 Traber M. G.: Vitamin E - Metabolism and Requirements. In: Encyclopedia of Human Nutrition (Caballero B., Allen L., Prentice A.). Elsevier Academic Press, 2. vydání, (2005), s. 383-388, ISBN 0-12-150110-8.
- 14 Vodrážka Z.: Biochemie 3, ACADEMIA, Praha, 1. vydání, (1993), s. 160-165, ISBN 80-200-0471-8.

- 15 Hoza I., Kramářová D., Budínský P.: *Potravinářská biochemie II.*, Univerzita Tomáše Bati, Zlín, (2006), s. 42-45, ISBN 80-7318-395-1.
- 16 Yoshida Y., Saito Y., Sargent L. J., Shigeri Y.: Chemical Reactivities and Physical Effects in Comparison between Tocopherols and Tocotrienols: Physiological Significance and Prospects as Antioxidants, *Journal of Bioscience and bioengineering*, 104, (2007), s. 439–445.
- 17 Davídek J., Janíček G., Pokorný J.: *Chemie potravin*, SNTL, Praha, 1. vydání, (1983), s. 180-182.
- 18 Litwack G.: *Vitamin E/ Vitamins and Hormones*, Elsevier, USA, 76, (2007), 588 s., ISBN 978-0-12-373592-8.
- 19 Jeanes Y. M., Hall W. L., Ellard S., Lee E., Lodge J. K.: The absorption of vitamin E is influenced by the amount of fat in a meal and the food matrix, *British Journal of Nutrition*, 92, (2004), s. 575-579.
- 20 Bender D. A.: *Nutritional Biochemistry of the Vitamins*, Cambridge University Press, New York, 2. vydání, (2003), s. 109-129, ISBN 978-0-511-06365-7.
- 21 Bjorneboe A., Bjorneboe G. Aa., Drevon Ch. A.: Absorption, Transport and Distribution of Vitamin E, *The Journal of Nutrition*, 120, (1990), s. 233-242.
- 22 Ball G. F. M.: *Vitamins: Their role in the human body*, Blackwel Publishing Ltd, London, 1. vydání, (2004), s. 234-255, ISBN 0-632-06478-1.
- 23 Murray R. K., Granner D. R., Mayes P. A., Rodwell V. W.: *Harperova biochemie*, H+H, Jihlava, 4. vydání, (2002), s. 622-627, ISBN 80-7319-013-3.
- 24 Traber M. G.: Vitamin E. In: *Modern Nutrition in Health and Disease* (Shils M. E., Olson J. A., Shine M., Ross C.). Lippincott Williams & Wilkins, 10. vydání, (2006), s. 396-411, ISBN 068330769X.
- 25 Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*, National Academy Press, Washington, DC, 1. vydání, (2000), s. 186-283, ISBN 0-309-06949-1
- 26 <http://www.swisspharma.info/data/evit.pdf>, [cit. 2012-18-03].
- 27 Piterková J., Tománková K., Luhová L., Petřivalský M., Peč P.: Oxidační stres: Loklizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu, *Chemické listy*, 99, (2005), s. 455-466.
- 28 Oral E., Muratoglu O. K.: Highly Crosslinked UHMWPE Doped with Vitamin E. In: *UHMWPE Biomaterials Handbook - Ultra - High Molecular Weight*

- Polyethylene in Total Joint Replacement and Medical Devices (Kurtz S. M.). Elsevier, 2. vydání, (2009), s. 221-236, ISBN 978-0-12-37421-1.
- 29 Arndt T.: Vitamin E (tocoferolumaceticum, tokoferol) [online]. (2008), [cit. 2012-20-03]. Dostupné z (<http://www.celostnimediceina.cz/vitamin-e-tocoferolum-aceticum-tokoferol.htm>).
- 30 Fariss M. W., Zhang J-G.: Vitamin E therapy in Parkinson's disease, Toxicology, 189, (2003), s. 129-146.
- 31 Papas A. M.: Vitamin E, Pragma, 1. vydání, (2001), 380 s., ISBN 9788072057733.
- 32 Dalvit G.C., Cetica P.D., Beconi M.T.: Effect of α -tocopherol and ascorbic acid on bovine in vitro fertilization, Elsevier Science Inc., 49, (1998), s. 619-627.
- 33 Sekhon L. H., Gupta S., Kim Y., Agarwal A.: Female Infertility and Antioxidants, Current Women's Health Reviews, 6, (2010), s. 84-95.
- 34 Ferencík M., Škárka B., Novák M., Turecký L.: Biochémiá, Slovak Academic Press s.r.o., Bratislava, (2000), s. 637-642, ISBN 80-88908-58-2.
- 35 ČESKO. Předpis č. 330 ze dne 25. 9. 2009 o změně vyhlášky č. 450/2004 Sb., o označování výživové hodnoty potravin. In: Sbírka zákonů České republiky. 2009, částka 102, s. 4679. Dostupný také z:
<http://www.sagit.cz/pages/sbirkatxt.asp?cd=76&typ=r&zdroj=sb09330>.
- 36 Mindell E.: Vitamin Bible for the Twenty-First Century, E-Reads Ltd, New York, 1. vydání, (1999), s. 56-58, ISBN 0-7592-0860-3.
- 37 Šicho V., Vodrážka Z., Králová B.: Potravinářská biochemie, SNTL, Praha, 2. vydání, (1981), s. 135, ISBN 04-815-81.
- 38 Hronek M.: Význam vitaminů a jejich použití v době gravidity a laktace, Praktické lékařství, 2, (2006), s. 102-106.
- 39 Brigelius-Flohé R., Traber M. G.: Vitamin E: Function and Metabolism, The FASEB Journal, 13, (1999), s. 1145-1155.
- 40 Coates P. M., Blackman M. R., Cragg G. M., Levine M., Moss J., White J. D.: Encyclopedia of Dietary Supplements, Marcel Dekker, Inc., New York, (2005), s. 757-769, ISBN 0-8247-5504-9.
- 41 Watson R. R., Preedy V. R.: Tocotrienols Vitamin E beyond Tocopherols, CRC Press, New York, (2009), 403 s., ISBN 978-1-4200-8037-7.
- 42 Lennarz W., Lane M. D.: Encyclopedia of Biological Chemistry 4, Elsevier Inc., Oxford, 1. vydání, (2004), s. 384-388, ISBN 0-12-443710-9.

- 43 Harris P. L., Quaife M. L., Swanson W. J.: Vitamin E content of Foods, *The Journal of Nutrition*, 40, (1950), s. 367-381.
- 44 Odínokov V. N., Spivak A. Y., Emelyanova G. A., Mallyabaeva M. I., Nazarova O. V., Dzhemilev U. M.: Synthesis of α -tocopherol (vitamin E), vitamin K₁-chromanol, and their analogs in the presence of aluminosilicate catalysts Tseokar-10 and Pentasil, ARKAT USA, Inc., ARKIVOC, xiii, (2003), s. 101-118.
- 45 Rupérez F. J., Barbas C., Castro M., Martínez S., Herrera E.: Simplified method for vitamin E determination in rat adipose tissue and mammary glands by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 823 (1998), s. 483-487.
- 46 <http://csnonline.unmz.cz/Vysledky.aspx>, [cit. 2012-08-06].
- 47 Kvasnicová V., Balínová P.: Praktická cvičení z lékařské chemie a biochemie [online]. (2006), [cit. 4. 5. 2012]. Dostupné z (http://old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/praktika/uloha_B2.htm).
- 48 Warner K.: Methods of analysis to determine the quality of oils. In: *Modifying Lipids for Use in foods* (Gunstone F.). Woodhead Publishing Ltd., 1. vydání, (2006), s. 118, ISBN 1-85573-971-2.
- 49 Self R.: *Extraction of Organic Analytes from Food - A Manual of Methods*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, (2005), s. 57, ISBN 0-85404-592-9.
- 50 Hálková J., Rumíšková M., Rieglová J.: *Analýza potravin*, RNDr. Ivan Straka, Brno, 1. vydání, (2000), s. 71-75, ISBN 80-902775-3-5.
- 51 Aoun E., Rima J., Chidias G. a Hanna K.: High-performance liquid chromatographic and spectrofluorometric determination of α -tocopherol in a natural plant: *Ferula hermonis* (Zalooch root), *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, (2005), s. 607-615.
- 52 Tasioula-Margari M. a Okogeri O.: Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection, *Food Chemistry*, 74, (2001), s. 377-383.
- 53 Julianto T., Yuen K. H., Noor A. M.: Simple high-performance liquid chromatographic method for determination of α -tocopherol in human plasma, *Journal of Chromatography B*, 732, (1999), s. 227-231.
- 54 Johnson-Davis K. L., Moore S. J., Owen W. E., Cutler J. M., Frank E. L.: A rapid HPLC method used to establish pediatric reference intervals for vitamins A and E, *Clinica Chimica Acta*, 405, (2009), s. 35-38.

8. Seznam použitých symbolů a zkratek

VLDL	Lipoproteiny o velmi nízké hustotě
LDL	Lipoproteiny o nízké hustotě
HDL	Lipoproteiny o vysoké hustotě
UV	Ultrafialové záření
T-O•	Radikál tokoferolu (tokoferyxyl-radikál)
ROOH	Hydroperoxid (lipidu)
ROO•	Hydroperoxylový radikál lipidu
T-OH	Tokoferol
CoQH ₂	Koenzym Q
CoQH•	Peroxid koenzymu Q
AH ⁻	Askorbát
A ⁻	Askorbátový radikál
IU	Měrná jednotka pro množství účinné látky (1IU = 1mg)
ULS	Tolerovaná horní hranice příjmu
EU	Evropská unie
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
AOCS	Americká společnost chemiků pro oleje
SDS	Dodecylsulfát sodný
RP	Reverzní fáze