

VĚDECKÝ ČASOPIS

ROSTLINNÁ VÝROBA

2

ROČNÍK 13 (XL)

PRAHA,

ÚNOR 1967

CENA 18 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLH

Člen korespondent ČSAV prof. dr. ing. Václav Káš, DrSc. (předseda), doc. ing. Jozef Belej, CSc., akademik Ctibor Blatný, doc. ing. Karel Červenka, CSc., ing. Jiljí Fiedler, CSc., prof. dr. ing. Ladislav Hruška, prof. dr. Jan Hruza, ing. Ján Jasič, prof. dr. ing. Vladimír Kosil, DrSc., doc. dr. ing. František Landovský, ing. Jozef Lopatník, CSc., člen korespondent ČSAV ing. František Mareček, ing. Vladimír Martinek, CSc., ing. František Mráz, ing. Jaroslav Neuberg, CSc., ing. Ctirad Patejdl, ing. Jaroslav Prugar, CSc., doc. ing. Václav Rybáček, ing. Vladimír Segefa, CSc., ing. Milošlav Schmied, doc. ing. Vladimír Skládal, ing. Josef Slepíčka, doc. ing. Antonín Straňák, CSc., ing. Juraj Uhlár, RNDr. ing. Jaroslav Zakopal.

Vedoucí redaktorka Milena Sovová

© Ústav vědeckotechnických informací MZLH, Praha 1966

Vědecký časopis ROSTLINNÁ VÝROBA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru rostlinné výroby. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství a lesního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7. Telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 216,—.

Научный журнал ROSTLINNÁ VÝROBA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области растениеводства. Издает Институт научно-технической информации Министерства сельского и лесного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

The scientific journal ROSTLINNÁ VÝROBA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the plant production. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture and Forestry Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

Die wissenschaftliche Zeitschrift ROSTLINNÁ VÝROBA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der pflanzlichen Produktion. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land- und Forstwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7.

Le journal scientifique ROSTLINNÁ VÝROBA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de production végétale. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture et des forêts. Publié chaque mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7.

MOŽNOSTI REALIZACE SJEDNOCENÍ ANALYTICKÝCH METOD V ZEMĚDĚLSTVÍ

Ve shodě se současným vývojem našeho hospodářství, které se stále více orientuje na kvalitativní stránku výroby, je v poslední době více než dříve zdůrazňována důležitost jakosti produktů také na úseku zemědělském, a to jak u výrobků určených k přímému konzumu, tak i u těch, jež jsou surovinou pro zpracovatelský, zejména potravinářský průmysl. Význam kvality zemědělských výrobků byl zdůrazněn také nedávným vládním usnesením o racionalizaci výživy našeho obyvatelstva.

Na kvalitu zemědělských výrobků má vliv celá řada činitelů. Jsou to jednak faktory vnitřní, tj. druhové a odrudové, geneticky fixované dědičné vlastnosti dané chemickým složením a fyzikálně chemickými i fyzikálními vlastnostmi jednotlivých složek, jejichž souhrn vytváří nutriční, biologickou a technologickou hodnotu, jednak faktory vnější, např. klimaticko-půdní podmínky, agrotechnika, hnojení atd.

Ve všech případech je základem pro hodnocení kvality zemědělských produktů zjištění jejich chemického složení a technologických vlastností, čemuž slouží široký soubor analytických metod.

V přítomné době bohužel nutno konstatovat na úseku analytických metod v zemědělském a rovněž i v příbuzných resortech značnou nejednotnost a roztržitost. Příčiny jsou rozmanité. Za jednu z hlavních možno považovat chronický nedostatek vhodné příručky pro rozbor zemědělských plodin v českém jazyce. Publikace J. Horela z r. 1956, která svým obsahem jako jediná po druhé světové válce odpovídala tomuto zaměření, byla dávno rozebrána a kromě toho již značně zastarala, což je zcela pochopitelné vzhledem k tempu rozvoje analytické chemie přirozených látek v posledních deseti letech. Rukopis nově přepracované a doplněné příručky byl sice v uplynulých letech upraven, k vydání však dosud nedošlo. Za daného stavu čerpají pracovníci našich laboratoří novější poznatky většinou z publikací rozptýlených v různých časopisech.

Jiným důvodem nejednotnosti používaných postupů je značná heterogenost v přístrojovém vybavení našich pracovišť počínaje již nejzákladnějšími pomůckami, jako jsou šrotovníky, třepačky, homogenizátory apod. Také kádrové vybavení chemických oddělení a laboratoří na našich výzkumných ústavech i ostatních organizacích resortu je často nevyhovující jak co do počtu pracovních sil, tak i co do vzájemného poměru mezi odbornými pracovníky a pomocnými technickými silami. I tyto skutečnosti ovlivňují někdy volbu metody.

Závažným nedostatkem je také skutečnost, že při osvojování moderních metod používaných v zahraničí jsou naši chemici odkázáni pouze na dostupné lite-

rární údaje, zatímco jim úplně chybí vlastní osobní praktické zkušenosti, které právě v laboratorní technice jsou nesmírně důležité. Neutěšená situace v zahraničním aktivním styku našich pracovníků je všeobecně známa, sluší jen poznamenat, že v této odborné disciplině je stav zvláště zanedbaný. Někdy vznikají i jisté národohospodářské škody tím, že se ze zahraničí doveze zařízení neúplně, neboť objednatel neměl možnost získat bližší informace o aparatuře přímo na pracovištích v zahraničí, kde se s nimi již pracuje, a byl odkázán jen na často kusé a komerčně nadnesené údaje z prospektů.

Organizačně nebylo již po řadu let pro sjednocení analytických postupů nic učiněno. Akce Jednotné analytické metody, která byla rozpracována před časem na různých úsecích, nebyla dokončena. a kromě několika porad a seminářů uskutečněných v minulých letech z iniciativy Poradního sboru pro sledování jakosti rostlinných produktů ÚVÚRV, dále sestavení souboru metod používaných v odrůdovém zkušebnictví a návrhu novelizace normy pro rozbor krmiv ÚKZÚZ nedošlo k žádnému jinému podnětu širšího významu. Je proto třeba jen vítat, že vědeckovýzkumná rada MZLH si na jaře 1966 vyžádala od koordinátora výzkumného úkolu „Výzkum jakosti rostlinných produktů a metod jejího určování“ rozbor současné situace jako základ pro opatření ke zlepšení nevyhovujícího stavu, který na zasedání dne 5. 5. 1966 projednala a rozhodla, aby téma sjednocení analytických metod bylo zařazeno jako součást plánovaného výzkumu k jednotlivým dílčím úkolům R I-10 podle plodin. Určení pracovníci podle rozhodnutí koordinační komise úkolu sestaví pracovní skupiny z odborníků zemědělského i ostatních příbuzných resortů. V těchto skupinách se budou projednávat návrhy metod a podle potřeby organizovat i jejich experimentální ověřování na různých pracovištích. Výsledky a závěry pracovních skupin budou jednotně redakčně upraveny a publikaci schválených metod zajistí ÚVTI. Vědeckovýzkumná rada MZLH schválila také navrženou osnovu příručky jako základní materiál pro práci skupin a doporučila její urychlené vydání. Současně byla učiněna opatření, aby obdobná akce jako v rostlinné výrobě byla organizována také na úseku analytických metod používaných v živočišné výrobě.

Koordinační komise výzkumného úkolu R I-10 a Poradní sbor pro sledování jakosti rostlinných výrobků ÚVÚRV na svém zasedání dne 19. 9. 1966 projednaly podrobně závěry vědeckovýzkumné rady MZLH týkající se sjednocení analytických metod a učinily první opatření k jejich realizaci — jmenovaly vedoucí pracovních skupin pro jednotlivé plodiny: o b i l o v i n y a l u s k o v i n y (mimo ječmen) — ing. V. Hýža, VÚO Kroměříž; je č m e n — ing. J. Janáček, CSc., VÚO Kroměříž; b r a m b o r y — ing. B. Miča, CSc., VÚB Havlíčkův Brod; t e c h n i c k é o k o p a n i n y — dr. J. Rácik, ŠS Bučany; o l e j n i n y — J. Fiby, VSZ Opava; z e l e n i n a a o v o c e — ing. V. Toul, CSc., VÚZ Olomouc; c h m e l — ing. P. Hautke, CSc., VÚCH Žatec; t a b á k — dodatečně bude určeno.

Jmenování vedoucí sestaví z příslušných odborníků-analytiků (a to nejen zemědělského sektoru, nýbrž i resortů příbuzných) své pracovní skupiny. Vyzýváme proto i touto cestou, aby se přihlásili všichni, kdo mají zájem spolupracovat na akci Sjednocení analytických metod.

Konečným cílem je včlenění závěrů práce skupin do nových československých státních norem, podobně jako se v současné době stává na úseku krmiv. Spolupráce všech zainteresovaných resortů na akci v celém jejím průběhu zajistí názorovou jednotnost, aby pak přijaté závěry mohly být závazné pro všechny partnery.

Na akci Sjednocení analytických metod se budou podílet také Československá společnost chemická při ČSAV a Československá vědeckotechnická společnost, které ji mají plánovanou pro práci příslušných odborných skupin. Již v r. 1966 byly těmito organizacemi uspořádány dvě konference, kde se vyskytovaly aktuální otázky stanovení N-látek, sacharidů, lipidů, vitamínů, aromatických látek a enzymů v přirozeném materiálu a získal se tak cenný materiál, kterého bude využito také při realizaci akce Sjednocení analytických metod.

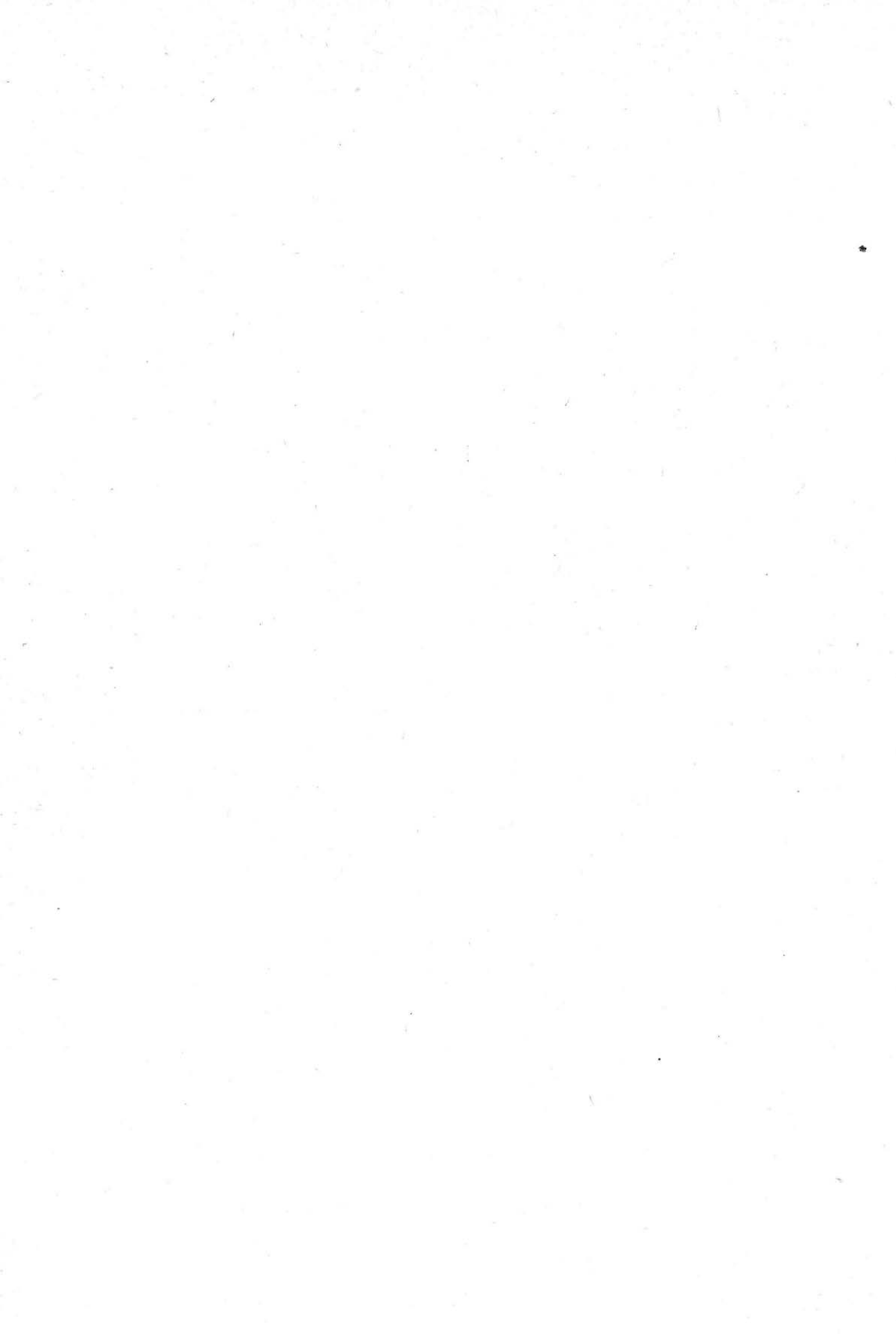
Rovněž vědecká rada státního komplexního úkolu „Způsoby zajištění racionální výživy obyvatelstva“ považuje za jednu z důležitých podmínek pro získání srovnatelného materiálu o nutriční a biologické hodnotě zemědělských a potravinářských výrobků právě sjednocení postupů používaných jak v rámci resortů, tak i mimo ně tam, kde se zájmy navzájem prolínají.

Lze předpokládat, že práce při realizaci akce Sjednocení analytických metod a dosažení vytčených cílů nebudou lehké. Neutěšenost současného stavu a složitost řešení byla již zmíněna v úvodu. Pracovníci výzkumu, kteří se do práce zapojí, jsou si vědomi, že v některých směrech není jen v jejich moci, aby závěry byly realizovány, např. pokud jde o zavádění jednotného přístrojového vybavení, přímo závislého na naší výrobě či dovozu. Zde očekáváme plnou podporu a pomoc vyšších resortních orgánů. Stejně tak doufáme ve výrazné zlepšení možností studia analytických metod v zahraničí. Na to bude třeba vzít zřetel při sestavování plánu zahraničních cest a oproti dosavadní praxi také obesílat mezinárodní konference a symposia, na jejichž programu je právě analytická problematika.

Bez reálné pomoci našeho a ostatních zúčastněných resortů jevílo by se zdárné dokončení celé akce jen velmi mlhavým. Odborná úroveň pracovníků, kteří budou přípravu a realizaci akce Sjednocení analytických metod v zemědělství zajišťovat, dává předpoklad úspěchu. Jsem přesvědčen, že ke své odborné i organizačně náročné práci přistoupí sice bez přehnaného optimismu, ale s poctivou snahou vyrovnat se s obtížným úkolem i za současné komplikované situace.

Ing. Jaroslav Prugar, CSc.,

Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně 507



■ Studiu změn skladovaného obilí a objasnění biochemických pochodů při nich probíhajících byla věnována pozornost ze strany cereálních chemiků již od počátku našeho století. Tyto otázky jsou aktuální i dnes, zejména při nových způsobech skladování.

Podrobnější obraz, týkající se chemismu změn během skladování, který se nám jeví při studiu literatury, je zaměřen na „zrání“ mouky, především pšeničné. Sdělení, zaměřená na technologické změny obilí, nejsou tak početná a zpravidla jsou také méně obsažná. I když intenzita změn probíhajících v zrně je podstatně nižší než u mouky, je jejich studium neméně důležité, zejména uvažujeme-li výhledově oddělené skladování odrůd pšenice přibližně stejných pekařských vlastností.

Studiem pochodů probíhajících při skladování mouky se zabývala celá řada autorů, kteří vesměs zjistili změnu vlastností lepkového komplexu jak při krátkodobém, tak i při dlouhodobém skladování. Poznatky, k nimž došli Ballard, Marion, Saunders, Nichols, Ostrovskij, Neumann, Berliner a Koopmann aj. (cit. Kozminová 1959), nebyly vždy jednoznačné. Kozminová (1940) došla k obecným závěrům, že pružný a pevný lepek čerstvé mouky se při skladování zpevňuje a zkracuje, obtížně se vypírá, stává se drobivým až nesoudržným. Stejným směrem probíhají změny u slabého lepku, jenže v tomto případě zpevněním lepku nastává zlepšení jeho vlastností; stává se pružnějším a pevnějším.

Závisí tedy konečný efekt skladování při jinak stejných podmínkách na původních vlastnostech lepku.

Charakteristickým příznakem stárnutí a zrání mouky je zvýšení kyselosti, zejména čísla kyselosti moučného tuku. Studium těchto změn se zabývalo mnoho významných obilních chemiků jako Kühl (1935), Schulerud (1933), Zeleny a Coleman (1938), Irvine a Anderson (1953), Geoffroy (1956), Rothe (1957) aj.

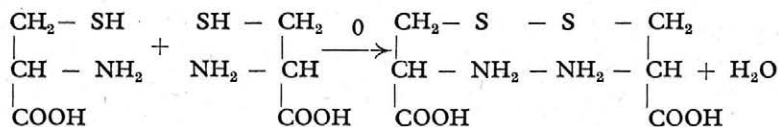
Význam hydrolytických pochodů při skladování spočívá ve specifickém působení uvolněných nenasyčených mastných kyselin na bílkovinné sloučeniny typu $R-CH=CH-COOMe$ ($Me-H$ nebo kov), čímž je ovlivněna hydratační schopnost a tedy i vlastnosti lepkového komplexu. Slabý lepek nabývá pružnosti, dobrý lepek se stává tuhým a drobivým.

Vedle tohoto specifického účinku nenasyčených mastných kyselin na vlastnosti lepku třeba poukázat na druhý neméně důležitý jev, tj. na snížení proteolytické aktivity vlivem oxydačních pochodů. Při skladování vzdušný kyslík oksyduje aktivátory proteolýzy (látky se skupinou SH), inaktivuje je, tím se snižuje činnost proteolytických enzymů v těstě, lepek se stává pružnějším.

Podle Kozminové (1959) je zatím těžko rozhodnout, jsou-li oba uvedené jevy spolu navzájem spojeny, totiž je-li zmenšení atakovatelnosti bílkovin jen ná-

sledkem oxydace SH - skupin, nebo zda odolnost bílkovin k proteolýze vzrůstá vlivem nenasyčených mastných kyselin. Je možné, že se uplatňují oba jevy současně.

Podle moderních názorů dochází při zrání pšeničné mouky k určitým změnám ve stavbě bílkovinné makromolekuly. Podle Maese (1960) spočívá zlepšení pekařské hodnoty pšeničné mouky při jejím zrání především ve změnách bílkovinných vazeb. Dochází jednak k prodlužování bílkovinných řetězců, jednak vznikají laterální vazby mezi bílkovinnými řetězci. Ze dvou molekul cysteinu, které jsou věleněny do bílkovinné molekuly, vzniká oxydací cystin. Tyto laterální vazby pak dodávají lepku stabilní strukturu:



Monografie zabývající se skladováním obilí všímají si hlavně nenormálních stavů při skladování, jako je nežádoucí rozvoj mikroorganismů, samozahřívání a jejich vliv na jakost zrna.

Trisvjatskij (1951) uvádí, že dobře dozrálé obilí, konzervované mírným sušením a ochlazením lze skladovat 10 i více let bez podstatných změn mlynářsko-pekařské jakosti. Poisson-Guilbot (1964) sestrojili na základě podrobného studia křivky, které v závislosti na teplotě a vlhkosti obilí umožňují určit přibližnou délku skladování bez změny technologických vlastností. Pro krátkodobé skladování při vlhkosti obilí 16,5 % uvádí jako bezpečnou dobu 140 dní při teplotě 14 °C, 45 dnů při 25 °C.

Podstatou změn při skladování obilí jsou změny koloidně chemického rázu, projevující se stárnutím koloidů, kdy lepek se stává tužším, kratším až drobným. Zároveň se snižuje aktivita enzymatického komplexu, což se prakticky projevuje prodloužením doby kynutí, popřípadě i menším výtěžkem těsta a chleba.

Beck (1959) udává u pšenice skladované po dobu 4 let za normálních podmínek jen nepatrné snížení množství mokrého lepku a jeho tažnosti.

Matějovský (1960, 1961) zjistil při skladování obchodní pšenice po dobu asi 32 měsíců, že množství mokrého lepku i bobtnací číslo zpočátku vesměs stoupalo, pak pozvolna klesalo. Doba, za kterou bylo dosaženo nejvyšších hodnot, činila asi 8—13 měsíců. Pokles proti původnímu množství se projevil až v třetím roce, takže jako bezpečnou dobu pro skladování uvádí 2 roky. U moučnatých pšenic množství mokrého lepku s dobou skladování klesalo, u sklovitých se zhruba udržovalo na stejné výši, u polosklovitých mírně stoupalo. Bobtnací číslo vykazovalo mírný pokles u zrn sklovitých a polosklovitých a mírné stoupání u zrn moučnatých. Velký vliv na průběh změn má, jak autor uvádí, způsob skladování. Pochody probíhají pomaleji v komorových silech než na podlahových skladištích.

Prugar (1962, 1963) sledoval jednotlivé odrůdy pšenice, skladované za laboratorních podmínek ve formě mouk po dobu 6 let. U všech odrůd zjistil pokles v množství vlhkého lepku o 5—20 % proti původnímu množství. Bobtnání se zvýšilo zejména u pekařsky slabých pšenic.

Šmíd (1963) se zabýval vlivem krátkodobého skladování na výtěžnost lepku v pšeničných škrobárnách. Na základě 3letých pokusů zjistil, že množství mokrého i suchého lepku stoupá a dosahuje maxima v jarních měsících (únor, březen). Pro dosažení maximálního výtěžku doporučuje skladovat pšenici a nikoliv mouku.

V práci jsme se zaměřili na sledování změn v množství mokrého lepku a jeho jakosti, charakterizované bobtnacím číslem. Sledování bylo prováděno u 6 odrůd pšenice s lepkem dobré i horší jakosti ('Diana I', 'Bezostaja I', 'Hadmersleb. Qualitas', 'Kaštická osinatka', 'Niva' a 'Remo'). Pro důkladnější postižení změn lepkového komplexu jsme zjišťovali rovněž vliv rozdílné doby odležení lepku na jeho množství a jakost.

Sledování bylo prováděno v průběhu jednoho roku celkem pětkrát, vždy v tříměsíčních intervalech.

METODIKA

Vzorky sledovaných odrůd pšenice byly odebrány ze školního statku v Žabčicích ze sklizně 1964 a byly uloženy v suchém, vzdušném a poměrně chladném skladu v jutových pytlích v množství asi po 15 kg. Teplota místnosti se pohybovala v průběhu roku v rozmezí 10–15 °C, relativní vlhkost vzduchu asi 60 %.

Před uložením v polovině září byly stanoveny základní ukazatele sledovaných odrůd (hl. váha, abs. váha, sklovitost, vyrovnanost, vlhkost, N×5,7). Analýzy byly provedeny běžnými metodami.

Laboratorní rozborů uskladněných vzorků byly prováděny v následujících termínech:

1. — 4. 10. 1964	— I. sledování
4. — 7. 1. 1965	— II. sledování
7. — 12. 4. 1965	— III. sledování
5. — 8. 7. 1965	— IV. sledování
3. — 6. 10. 1965	— V. sledování

Na stanovení lepku bylo použito 50 % mouky, připravené pomletím zrna na kuchyňském robotu a prosátím šrotu přes krupičné hedvábí č. 52. Příprava vzorku byla prováděna vždy týden před vlastním rozbořem, aby hlavní pochody, související s přeměnou zrna v mouku, byly z větší míry již ustáleny.

Při stanovení množství lepku bylo postupováno podle jednotné metodiky ČSN 56 0512. Odležení těstové kuličky před vypíráním bylo prováděno v Petriho misce po dobu 30, 60, 120 minut při laboratorní teplotě 18 °C. Lepek byl vypírán v přístroji Glutex 10 min. a dopírán v ruce 3–5 minut. Teplota vypírací vody byla upravována na 20 °C. Stanovení bobtnacího čísla bylo prováděno Berlinerovou metodou v modifikaci Horelově.

Ve snaze omezit pokud možno případné subjektivní vlivy, uplatňující se při stanovení množství lepku a jeho bobtnacího čísla (zadělávání, dopírání, dosoušení a dělení lepku), prováděl vždy jednotlivé operace jeden a týž pracovník, aby výsledky byly aspoň relativně přesné a vzájemně porovnatelné.

VÝSLEDKY A JEJICH ROZBOR

Získané výsledky jsou uspořádány v tabulkách a grafech. Tabulka I charakterizuje sledované odrůdy pšenice v základních ukazatelích.

V tabulce II znázorňují údaje změny v množství mokrého lepku a bobtnacího čísla v průběhu skladování jednoho roku při různých dobách odležení před vypíráním (0, 30, 60, 120 minut). Grafické znázornění je provedeno tak, že z obr. 1 a 2 jsou zřejmé především změny v množství lepku a jeho bobtnání

I. Základní ukazatele sledovaných odrůd pšenice

Odrůda	Vlhkost %	Hl. váha v kg	Abs. váha v suš. g	Sklovitost %	Vyrovnanost %	N×5,7 v suš. %
Diana I	15,65	78,0	39,8	57,0	94,4	12,82
Bezostaja I	15,4	78,7	40,7	51,2	94,8	12,96
Hadmer. Qualitas	15,62	75,8	33,1	48,7	80,3	12,79
Kaštická osinatka	15,65	76,7	39,8	51,5	93,0	12,83
Niva	14,2	77,3	34,9	73,5	92,5	15,86
Remo	14,1	77,7	37,0	71,7	93,7	14,73

II. Změny v množství lepku a jeho bobtnání u skladovaných pšenic při době odležení 0, 30, 60 a 120 minut

Odrůda	Množství mokrého lepku v suš. %					Bobtnací číslo				
	28. 9. 64	4. 1. 65	7. 4. 65	5. 7. 65	4. 10. 65	28. 9. 64	4. 1. 65	7. 4. 65	5. 7. 65	4. 10. 65
0 min. odležení										
Diana I.	25,5	25,8	27,1	24,1	23,0	16	15	16	20	19
Bezostaja 1	34,8	33,6	37,3	35,0	33,2	20	18	15	18	15
Hadmer. Qualitas	30,8	30,7	29,4	28,2	26,2	16	17,5	17	21	18
Kaštická osinatka	33,2	32,1	30,5	30,3	29,0	3	5,5	6,5	6,5	7
Niva	43,6	44,8	44,1	39,3	40,5	11	11	11	13	18
Remo	37,2	39,0	37,1	35,4	34,6	3	8	7,5	8	8
30. min. odležení										
Diana I.	27,8	28,0	29,4	25,9	26,5	18	18	16	18,5	17
Bezostaja 1	40,7	36,6	39,4	38,1	35,8	14	16	18	16	13,5
Hadmer. Qualitas	32,6	32,7	33,8	30,1	27,4	17	16	15	18	15
Kaštická osinatka	35,5	32,9	31,6	31,3	31,1	0	3	1,5	1,5	2,5
Niva	46,5	47,8	47,7	44,2	45,7	7	7,5	5,5	14	8
Remo	41,5	39,4	38,4	35,6	34,8	1	1	2	9	5
60 min. odležení										
Diana I.	28,7	28,5	29,9	27,2	27,0	16	17	15	18	16
Bezostaja 1	42,5	38,2	40,9	38,9	36,3	12	14,5	16	13,5	15
Hadmer. Qualitas	33,5	32,8	32,4	30,9	27,3	13,5	15,5	16	17	14
Kaštická osinatka	36,1	32,7	32,2	30,7	30,2	0	2	1	0	2
Niva	49,5	48,3	47,5	45,9	45,3	3	5	7	8	4
Remo	43,3	40,0	39,5	38,5	35,2	0	1	0	5,5	4
120 min. odležení										
Diana I.	29,2	29,2	29,9	26,8	27,9	14	14	14	18	17
Bezostaja 1	43,2	38,4	41,6	38,8	37,2	10	13,5	12	13	11
Hadmer. Qualitas	33,1	32,5	31,8	29,8	26,5	11,5	12	13,5	16	14
Kaštická osinatka	34,0	33,7	30,7	30,3	30,6	0	1,5	0	0	0,5
Niva	48,8	48,7	48,0	46,2	45,9	3	3	1	9	2
Remo	43,3	41,4	39,5	38,0	36,0	0	0	0	2,5	3

během skladování, obr. 3 a 4 udávají přehled o vlivu odležení lepku před vypíráním na jeho množství a bobtnací číslo.

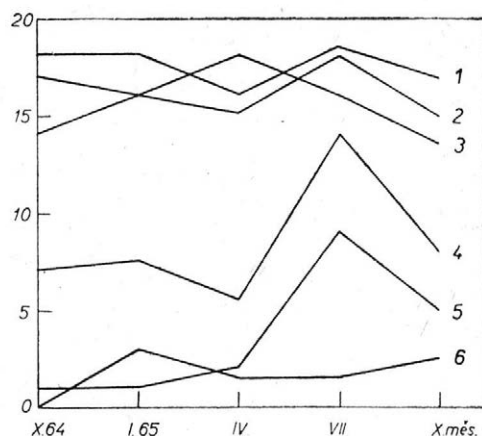
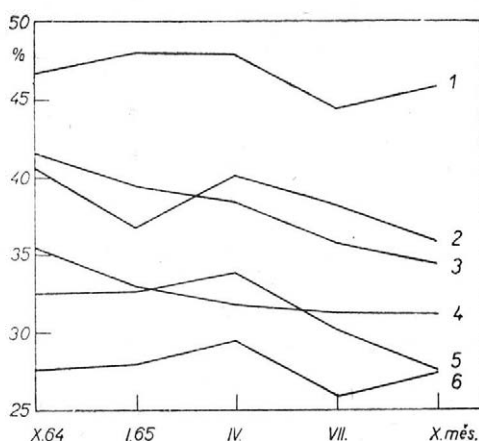
Z tabulky II a grafu 1 je zřejmé (vycházíme-li z hodnot odpovídajících lepku vypíranému ihned po zadělání a po odležení 30 min.), že množství vypraného lepku v průběhu skladování stoupá. Maximum bylo zjištěno při II. a III. sledování, tj. 6.—8. měsíc po sklizni, a pak zase klesá. Tento průběh je typický, jak se zdá, pro odrůdy s jakostním lepem ('Diana I', 'Bezostaja I', 'Hadm. Qual.', 'Niva'), kdežto odrůdy s lepem pekařsky podřadné kvality mají maximum posunuto k počátku skladování, případně je vůbec nevykazují ('Kaštická osinatka' vykazuje nejvyšší hodnotu při I. sledování a pak množství klesá).

Přihlédneme-li k výsledkům získaným po 60 a 120 min. odležení, můžeme pozorovat, že maximum je nižší a posunuje se směrem k počátku skladování.

Určitou odchylku vykazuje odrůda 'Bezostaja I', kde při II. sledování (lednovém) byla zjištěna nižší hodnota než na počátku (koncem září).

Porovnáme-li naše pozorování se zjištěním Matějovského a Šmída, docházíme v podstatě ke shodným výsledkům. Množství mokrého lepku stoupá (maximum v jarních měsících, 6.—8. měsíc po sklizni) a pak klesá.

U bobtnacího čísla (gr. 2) nejsou změny v průběhu skladování tak výrazné. V podstatě můžeme u všech sledovaných odrůd pozorovat mírný vzestup, maximum při IV. sledování (červenec) a pak opět mírný pokles. Očekávali jsme výraznější zlepšení bobtnacího čísla u pekařsky slabších odrůd ('Kaštická osinatka', 'Remo'); pravděpodobně by se zlepšení projevilo až po delší době skladování. I u tohoto znaku naše výsledky korespondují s údaji Matějovského. Maximum bobtnání se projevuje asi za 1 rok, přičemž poslední hodnoty (V. sledování — 15 měsíců po sklizni), jsou vždy vyšší než hodnoty původní. U odrůd pekařsky kvalitnějších, s tužším lepem (typ 'Diana I'), kde již nedochází bě-



1. Průběh změn v množství lepku u skladovaných pšenic (doba odležení 30 minut)

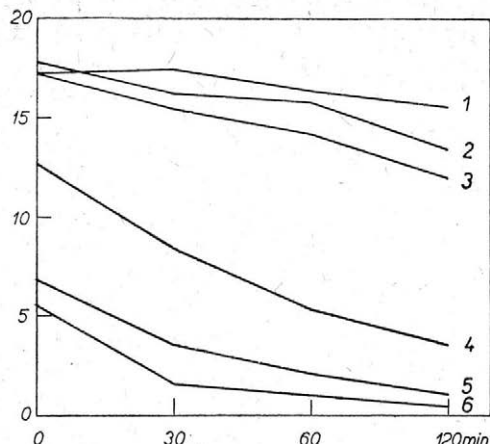
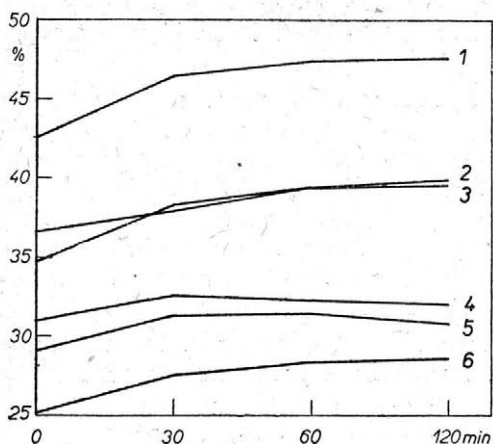
osa x = doba skladování (měsíce)
osa y = množství mokrého lepku v sušíně

1 — 'Niva', 2 — 'Bezostaja I', 3 — 'Remo', 4 — 'Kaštická osinatka', 5 — 'Hadmersl. Qual.', 6 — 'Diana I'

2. Průběh změn bobtnacího čísla lepku u skladovaných pšenic (doba odležení 30 minut)

osa x = doba skladování (měsíce)
osa y = bobtnací číslo lepku

1 — 'Diana I', 2 — 'Hadmersl. Qual.', 3 — 'Bezostaja I', 4 — 'Niva', 5 — 'Remo', 6 — 'Kaštická osinatka'



3. Průběh změn v množství lepku u sledovaných pšenic při době odležení 0, 30, 60 a 120 minut (průměrné hodnoty)

osa x = doba odležení

osa y = množství mokrého lepku v sušině

1 — 'Niva', 2 — 'Bezostaja 1', 3 — 'Remo', 4 — 'Kaštická osinatka', 5 — 'Hadmersl. Qual.', 6 — 'Diana I'

4. Průběh změn bobtnacího čísla u sledovaných pšenic při době odležení 0, 30, 60 a 120 minut (průměrné hodnoty)

osa x = doba odležení

osa y = bobtnací číslo lepku

1 — 'Diana I', 2 — 'Hadmersl. Qual.', 3 — 'Bezostaja 1', 4 — 'Niva', 5 — 'Remo', 6 — 'Kaštická osinatka'

hem skladování k zřejmému zvyšování bobtnacího čísla, ukazují dosažené výsledky na možnost jejich včasějšího zpracování, což potvrzuje také praxe.

Z grafů 3 a 4 je zřejmý vliv odležení těsta při vypírání lepku na jeho množství a bobtnání, což lépe charakterizuje proteolytickou stálost jednotlivých odrůd, popř. změny v aktivitě proteolytických fermentů během skladování. V tomto směru se všechny sledované odrůdy projevily proteolyticky poměrně stálé, neboť množství mokrého lepku s délkou odležení přibývalo a maximum výtěžku bylo dosaženo většinou až při 120 minutách. Jen slabší odrůdy ('Kaštická osinatka') vykazovaly maximum po odležení 60 min. Zřejmě tedy vesměs převážoval hydratační proces nad proteolytickou hydrolýzou.

Obdobnou skutečnost jsme zjistili také v dřívější práci (1963). Tato poměrně velmi nízká proteolytická aktivita v průběhu skladování ještě poněkud poklesla. Odrůdy, které měly maximum výtěžku lepku při 60 min. odležení při I. sledování, dosahují ho až po 120 min. u V. sledování. V této době klesá již ovšem také hydratační schopnost bílkovin lepku, což je zřejmé z jeho nižších výtěžků.

Změny v bobtnacím čísle vykazují očekávaný průběh. Nejvyšší je bobtnání u lepku vypíraného ihned po zadělání, které postupně s dobou odležení klesá. Velikost poklesu je rozdílná podle odrůd. Nízký pokles vykazují kvalitní odrůdy s tuhým lepkem ('Diana I'), kde i maxima bobtnání je dosaženo později. U slabších odrůd bobtnací číslo klesá dříve a rychleji. Absolutně nejvyšších hodnot bobtnání dosahují skladované pšenice většinou při IV. sledování (červenec).

Zajímavé je, že pekařsky kvalitní odrůda 'Bezostaja 1' vykazuje při I. sledování v průběhu odležení značný pokles bobtnacího čísla. Pravděpodobně proces posklizňového dozrávání probíhá u ní déle, čemuž nasvědčuje již v tab. II vzpomenutá anomálie v množství lepku.

Proč dochází ke zvyšování množství lepku, je obtížné jednoznačně vysvětlit. Uplatňuje se zde snížení peptizační schopnosti lepku spojené snad se syntetickými pochody, navazujícími na posklizňové dozrávání zrna a směřujícími k jeho stabilitě.

Skutečnost, že maximum mokrého lepku se nám projevilo poněkud dříve (6.—8. měsíc) než Matějovskému, souvisí se způsobem skladování. Naše malé množství zrna bylo v lepším styku se vzduchem, což proces zřejmě urychlilo. To, že maximum ve výtěžku mokrého lepku v jarních případech v letních měsících je skutečnost, dokládají výrobní data z pšeničné škrobárny, jak uvádí Š m í d.

Bylo by zajímavé zjistit, zda se i v pekárnách v tomto období projevuje vyšší výtěžnost těsta, příp. pečiva.

Z hlediska skladování konzumního obilí by bylo vhodné skladovat společně odrůdy, vykazující stejný průběh změn v množství a jakosti lepku a pak je používat v tom časovém údobí a v takovém poměru, aby byl výsledek v pekařské praxi co nejefektivnější.

SOUHRN

V průběhu jednoho roku byly sledovány změny v množství a bobtnání lepku u 6 odrůd pšenice ('Diana I', 'Bezostaja I', 'Hadmersleb. Qualitas', 'Kaštická osinatka', 'Niva', 'Remo'). Byl zjištěn odlišný průběh změn u odrůd pekařsky jakostnějších a méně jakostních. Množství lepku u jakostních odrůd stoupalo (maximum na jaře, 6.—8. měsíc) a pak pozvolna klesalo. U méně jakostních odrůd se projevil jen pozvolný pokles oproti původní hodnotě. Bobtnací číslo vykazovalo u všech odrůd nevýrazný vzestup.

Při sledování výtěžku mokrého lepku v závislosti na délce odležení před vypíráním byly zjištěny nejvyšší hodnoty po 60 a 120 minutách odležení. Bobtnací číslo vzhledem k délce odležení zvolna klesalo. Poněkud menší pokles byl pozorován při V. sledování (15 měsíců po sklizni), v důsledku snížené aktivity proteolytických enzymů.

Výsledky charakterizují sledované odrůdy při krátkodobém skladování a ukazují na vhodnost odděleného skladování pšenice s rozdílnou technologickou jakostí.

Došlo dne 19. 5. 1966

Literatura

1. BECK, R.: Qualitätsveränderung des Inlandweizens durch Lagerung. = „Die Mühle“, 96, 1959, č. 42. — 2. DUDÁŠ, F. - PELIKÁN, M.: Vliv délky odležení a teploty na množství a kvalitu pšeničného lepku. = „Sborník VŠZ“ Brno, řada A, 1964, č. 2. — 3. GEOFFROY, R.: Vues nouvelles sur l'acidité des farines. = „Bull. an. élevé de l'École Franc. Meunerie“, 1956, č. 153. — 4. IRVINE, G. N. - ANDERSON, J. A.: Kinetic studies of the lipoxidase activity of various american wheat. = „Cereal Chemistry“, 30, 1953, č. 3. — 5. KOZMINA, N. P.: Problema ulučšenija kačestva muki. Zagotizdat, Moskva, 1940. — 6. KOZMINA, N. P.: Biochemičeskije osnovy ulučšenija kačestva zerna. Chleboizdat, Moskva, 1959. — 7. KÜHL, H.: Der Einfluß freier Fettsäuren auf die Backfähigkeit der Mehle. = „Das Mühlenlaboratorium“, 5, 1935, č. 2. — 8. MAES, E.: Erfahrungen aus Versuchen zur Bestrahlung von Mehl. = „Getreidemühle“, 4, 1960, č. 9. — 9. MATĚJOVSKÝ, K.: Význam sklovitosti pro skladovatelnost pšenice. = „Technika výkupu, mlynářství a pekařství“, 6, 1960, č. 9. — 10. MATĚJOVSKÝ, K.: Poznatky ze sledování dlouhodobě skladovaného obilí. = „Technika výkupu, mlynářství a pekařství“, 7, 1961, č. 7. — 11. PRUGAR, J.: O vlivu skladování na technologické vlastnosti pšeničných mouk. = „Mlyn-

sko-pekárenský průmysl“, 8, 1962, č. 10. — 12. PRUGAR, J.: Studium změn vlastností pšeničného lepku při skladování zrna a mouk různé kvality v laboratorních podmínkách. Vědecké práce ÚVÚRV v Praze-Ruzyni, 1963. — 13. POISSON, J. - GUILBOT, A.: Bedingungen der Einlagerung und Haltbarmachung von Getreide. = „Die Mülerei“, 17, 1964, č. 18. — 14. ROTHE, M.: Zur Substrat-Spezifität der Roggen-Lipase. = „Ernährungsforschung“, 2, 1957, č. 3. — 15. SCHULERUD, A.: A study of the march of acidity in stored flours and some critical remarks of the methods used for the determination of flour acidity. = „Cereal Chemistry“, 10, 1933, č. 2. — 16. ŠMÍD, J.: Vliv skladování pšenice na kvalitu a množství lepku, získaného vypíráním. Kandidátská disertační práce, VŠZ Brno, 1963. — 17. TRISVJATSKIJ, L. A.: Skladování obilí. SZN Praha, 1954. — 18. ZELENY, L. - COLEMAN, P. A.: Acidity in cereals and cereal products, its determination and significance. = „Cereal Chemistry“, 15, 1938, č. 6.

Влияние кратковременного хранения на содержание клейковины и ее набухаемость у некоторых сортов пшеницы

Изменения в количестве и набухании клейковины наблюдались в течение одного года у 6 сортов пшеницы 'Диана I', 'Безостая I', 'Гадмерслебнер Квалитас', 'Каштицка осинатка', 'Нива' и 'Ремо'. Был установлен отличный ход изменений у более и у менее качественных сортов по хлебопекарной ценности. Количество клейковины у качественных сортов увеличивалось (максимум весной, 6–8 месяцев) и затем медленно уменьшалось. У менее качественных сортов проявилось только медленное уменьшение по сравнению с первоначальной величиной. Коэффициент набухания у всех сортов незначительно повышался.

При исследовании количества сырой клейковины в связи с продолжительностью отволаживания перед промывкой самые высокие величины были установлены через 60 и 120 минут. Коэффициент набухания постепенно снижался по отношению к продолжительности отволаживания. Несколько меньшее снижение было установлено при пятом наблюдении (15 месяцев после сбора урожая) в результате сниженной активности протеолитических ферментов.

Полученные результаты характеризуют изучавшиеся сорта при кратковременном хранении и показывают целесообразность отдельного хранения пшениц с различными технологическими качествами.

Тексты к таблицам

- I. Основные показатели изучаемых сортов пшеницы
- II. Изменения в количестве клейковины и ее набухании у хранившихся сортов пшеницы при продолжительности отволаживания 0, 30, 60 и 120 минут

Тексты к диаграммам

1. Характеристика изменений в количестве клейковины у хранившихся пшениц (время отволаживания 30 минут). Ось «х» — продолжительность хранения (месяцы), ось «у» — количество сырой клейковины в сухом веществе. 1. — 'Нива', 2. — 'Безостая I', 3. — 'Ремо', 4. — 'Каштицка осинатка', 5. — 'Гадмерслебнер Квалитас', 6. — 'Диана I'.
2. Характеристика изменений коэффициента набухания у хранившихся пшениц (время отволаживания 30 минут). Ось «х» — продолжительность хранения (месяцы), ось «у» — коэффициент набухания клейковины. 1. — 'Диана I', 2. — 'Гадмерслебнер Квалитас', 3. — 'Безостая I', 4. — 'Нива', 5. — 'Ремо', 6. — 'Каштицка осинатка'.
3. Характеристика изменений в количестве клейковины у изучаемых пшениц при продолжительности отволаживания 0, 30, 60 и 120 минут (средние величины). Ось «х» — продолжительность отволаживания, ось «у» — количество сырой клейковины в сухом веществе. 1. — 'Нива', 2. — 'Безостая I', 3. — 'Ремо', 4. — 'Каштицка осинатка', 5. — 'Гадмерслебнер Квалитас', 6. — 'Диана I'.
4. Характеристика изменений коэффициента набухания у изучаемых пшениц при продолжительности отволаживания 0, 30, 60 и 120 минут. Ось «х» — продолжительность отволаживания, ось «у» — коэффициент набухания клейковины. 1. — 'Диана I', 2. — 'Гадмерслебнер Квалитас', 3. — 'Безостая I', 4. — 'Нива', 5. — 'Ремо', 6. — 'Каштицка осинатка'.

The Influence of Short-Term Storage on the Gluten Content and on its Swelling in Some Wheat Varieties

In the course of one year the authors investigated changes in the quantity and swelling of gluten in 6 wheat varieties ('Diana I', 'Bezostaja 1', 'Hadmersleb. Qualitas', 'Kaštická osinatka', 'Niva', and 'Remo'). A different course of changes was found in varieties with higher and lower baking quality. The quantity of gluten in high quality varieties increased (maximum in spring, 6—8th month), and then it gradually decreased. In varieties of lower quality there appeared only a gradual decreasing compared with the original value. In all varieties the swelling number showed an insignificant ascent.

In an investigation of the yield of wet gluten in dependence on the length of storage before the washing the highest values were found after 60 and 120 minutes of maturing. With regard to the length of maturing the swelling number sank gradually. A somewhat smaller sinking was observed in the V. investigation (15 months after harvesting) in consequence of a decreased activity of proteolytic enzymes.

The results obtained characterize the examined varieties in the case of short-term storage and indicate the appropriateness of separate storing of wheat with different technological properties.

Text to tables

- I. Basic indices of the examined wheat varieties
- II. Changes in the quantity of gluten and in its swelling in stored wheats in the case of a maturing for 0, 30, 60, and 120 minutes

Text to graphs

1. The course of changes in the quantity of gluten in stored wheats (length of maturing 30 minutes). Axis x = time of storing (months), axis y = quantity of wet gluten in the dry substance. 1 = 'Niva', 2 = 'Bezostaja 1', 3 = 'Remo', 4 = 'Kaštická osinatka', 5 = 'Hadmersl. Qual.', 6 = 'Diana I'
2. The course of changes of the swelling number of the gluten of stored wheats (time of maturing 30 minutes). Axis x = length of storage (months), axis y = swelling of gluten. 1 = 'Diana I', 2 = 'Hadmersl. Qual.', 3 = 'Bezostaja 1', 4 = 'Niva', 5 = 'Remo', 6 = 'Kaštická osinatka'
3. The course of changes in the quantity of gluten in the examined wheat varieties in the case of a maturing for 0, 30, 60, and 120 minutes (average values). Axis x = length of maturing, axis y = quantity of wet gluten in the dry substance. 1 = 'Niva', 2 = 'Bezostaja 1', 3 = 'Remo', 4 = 'Kaštická osinatka', 5 = 'Hadmersl. Qual.', 6 = 'Diana I'
4. The course of changes of the swelling number of the examined wheat varieties in the case of a maturing for 0, 30, 60, and 120 minutes (average values). Axis x = length of maturing, axis y = swelling number of gluten. 1 = 'Diana I', 2 = 'Hadmersl. Qual.', 3 = 'Bezostaja 1', 4 = 'Niva', 5 = 'Remo', 6 = 'Kaštická osinatka'

Einfluß der kurzfristigen Lagerung auf den Gehalt an Kleber und seine Quellfähigkeit bei gewissen Weizensorten

Im Verlauf eines Jahres wurden die Veränderungen in der Menge und Quellfähigkeit des Klebers bei nachstehenden sechs Weizensorten untersucht, und zwar bei 'Diana I', 'Bezostaja 1', 'Hadmersl. Qualitas', 'Kaštická osinatka', 'Niva', 'Remo'. Hierbei wurde ein verschiedener Verlauf der Veränderungen bei den Sorten mit besserer und schlechterer Backqualität festgestellt. Bei den vollwertigeren Sorten stieg die Klebermenge an (Maximum im Frühjahr, 6. bis 8. Monat) und nahm dann langsam ab. Bei den Sorten mit geringerer Qualität zeigte sich nur eine allmähliche Senkung gegenüber dem ursprünglichen Wert. Bei der Quellzahl machte sich bei allen Sorten eine unausgeprägte Steigerung bemerkbar.

Bei der Verfolgung der Ausbeute an Naßkleber in Abhängigkeit von der Dauer der Rast vor dem Auswachsen wurden die höchsten Werte nach 60 und 120 Minuten Rast festgestellt. Die Quellzahl nimmt in bezug zu der Rastdauer allmählich

ab. Eine etwas geringere Senkung wurde bei der V. Untersuchung beobachtet (15 Monate nach der Ernte), und zwar infolge der niedrigeren Aktivität der proteolytischen Enzyme.

Die Ergebnisse charakterisieren die verfolgten Sorten bei kurzfristiger Lagerung und zeigen, daß es vorteilhaft ist, Weizen mit verschiedener technologischer Qualität getrennt zu lagern.

Text zu den Tafeln

I. Grundkennwerte der verfolgten Weizensorten

II. Veränderungen in der Menge an Kleber und seiner Quellfähigkeit bei gelagertem Weizen in Abhängigkeit von der Rastzeit von 0, 30, 60 und 120 Minuten

Text zu den Diagrammen

1. Verlauf der Veränderungen der Klebermenge bei gelagerten Weizensorten (Rastzeit 30 Minuten). X-Achse = Lagerungsdauer (Monate), Y-Achse = Naßklebermenge in der Trockensubstanz. 1 = 'Niva', 2 = 'Bezostaja 1', 3 = 'Remo', 4 = 'Kaštická osinatka', 5 = 'Hadmersl. Qualitas', 6 = 'Diana I'
2. Verlauf der Veränderungen der Kleberquellzahl bei gelagerten Weizensorten (Rastzeit 30 Minuten). X-Achse = Lagerungsdauer (Monate), Y-Achse = Kleberquellzahl. 1 = 'Diana I', 2 = 'Hadmersl. Qualitas', 3 = 'Bezostaja 1', 4 = 'Niva', 5 = 'Remo', 6 = 'Kaštická osinatka'
3. Verlauf der Veränderungen in der Klebermenge der verfolgten Weizensorten bei Rastzeiten 0, 30, 60 und 120 Minuten (Mittelwerte). X-Achse = Rastzeit, Y-Achse = Naßklebermenge in der Trockensubstanz. 1 = 'Niva', 2 = 'Bezostaja', 3 = 'Remo', 4 = 'Kaštická osinatka', 5 = 'Hadmersl. Qualitas', 6 = 'Diana I'
4. Verlauf der Veränderungen der Quellzahl bei den verfolgten Weizensorten bei einer Rastzeit von 0, 30, 60 und 120 Minuten (Mittelwerte). X-Achse = Rastzeit, Y-Achse = Kleberquellzahl. 1 = 'Diana I', 2 = 'Hadmersl. Qualitas', 3 = 'Bezostaja 1', 4 = 'Niva', 5 = 'Remo', 6 = 'Kaštická osinatka'

Adresa autorů:

Doc. ing. František Dudáš, CSc., ing. Miloš Pelikán, Vysoká škola zemědělská, Brno, Zemědělská 1

■ Ve Výzkumném ústavu obilnářském v Kroměříži byla vyvinuta mikromísička (Hýža, Špidla 1965), vhodná pro rychlou a objektivní přípravu těsta z 10 g mouky nebo i šrotu pro různé laboratorní testy. Zejména pro kvasné testy podle Pelshenka (1953), Horela (1955), Millera (1951, 1961), pro lepkové testy (Hýža, Špidla 1965) a pro pekařské mikrozkoušky (Elling, Barmore 1961). Vymísené těsto má přibližně stejnou konzistenci, což je výhodné z hlediska přesnosti následných analýz. V další etapě byla mikromísička doplněna zařízením na samočinné přidávání vody v průběhu mísení těsta a vypracován postup na informační stanovení vaznosti mouky a doby vývinu těsta.

Těsto vzniká mísením mouky s vodou a přísadami. Je systémem pravých i koloidních roztoků řady látek s hustou suspenzí škrobových zrn. Optimální fyzikální vlastnosti nabývá těsto po určité době mísení (tzv. vývin těsta — DT). Schopnost mouky přijmout při zadělání na těsto normální konzistence určité množství vody je tzv. vaznost mouky. Je to důležitý jakostní faktor, který má přímý ekonomický dopad, poněvadž rozhoduje o výtěžku těsta a pečiva. Vaznost mouky studovali zejména Finney, Yamazaki (1946), Yamazaki (1954), Hlynka (1959, 1962), Larsen (1964) a u nás Prugar, Šašek (1963).

Na stanovení vaznosti mouky byly vypracovány četné postupy. Ideální v tomto směru je hnětačka farinografu, na které je možno dosáhnout standardní konzistence těsta odpovídajícím přidavkem vody podle průběhu křivky, vyjadřující odpor těsta při hnětení. Near a Sullivan (1935) a mnozí další použili farinografu k velmi přesnému stanovení vaznosti mouky. V USA a v Kanadě je na stanovení fyzikálních vlastností těsta při mísení hojně používán mixograf, který podle postupu Larmoura a Workinga (1939) vyžaduje 35 g mouky. Na stanovení vaznosti mouky byly zkonstruovány různé extrusimetry; logaritmus rychlosti „vypuzování těsta“ je přímo úměrný obsahu vody v těstě (Bennett, Coppock 1953). Halton (1949) popsal přístroj na principu protlačování těsta ve válci. Přístroj je dnes vyráběn pod názvem „Research water absorption meter“ a pracovní postup uvádí Bennett, Coppock (1953). Extrusimetr na jiném principu popsal Stamberg a Bailey (1940) a Hagberg (1957). K odhadu množství vody v těstě byly konstruovány též penetrometry. Jeden z nich popsal Maes (1957), jiné Taupin (1954) a Auerman (1962). Všechny uváděné přístroje, extrusimetry a penetrometry vyžadují však dva pracovní úkony: přípravu těsta a vlastní měření. Maes a Pirotte (1955) zjistili vztah mezi množstvím v mouce ulpělé vody (po odstředění) a pekařskou vazností mouky. Jimi vypracovaný postup stanovení vaznosti spočívá ve čtyřnásobném mixování 1,5 g mouky s vodou a odstředění při 3250 obr/min po 25 minut. Vaznost se počítá z přírůstku váhy vlhké mouky. Sosulski (1962) našel vyšší korelace s farinografickou vazností po osminásobném mixování. Použil navážku 5 g.

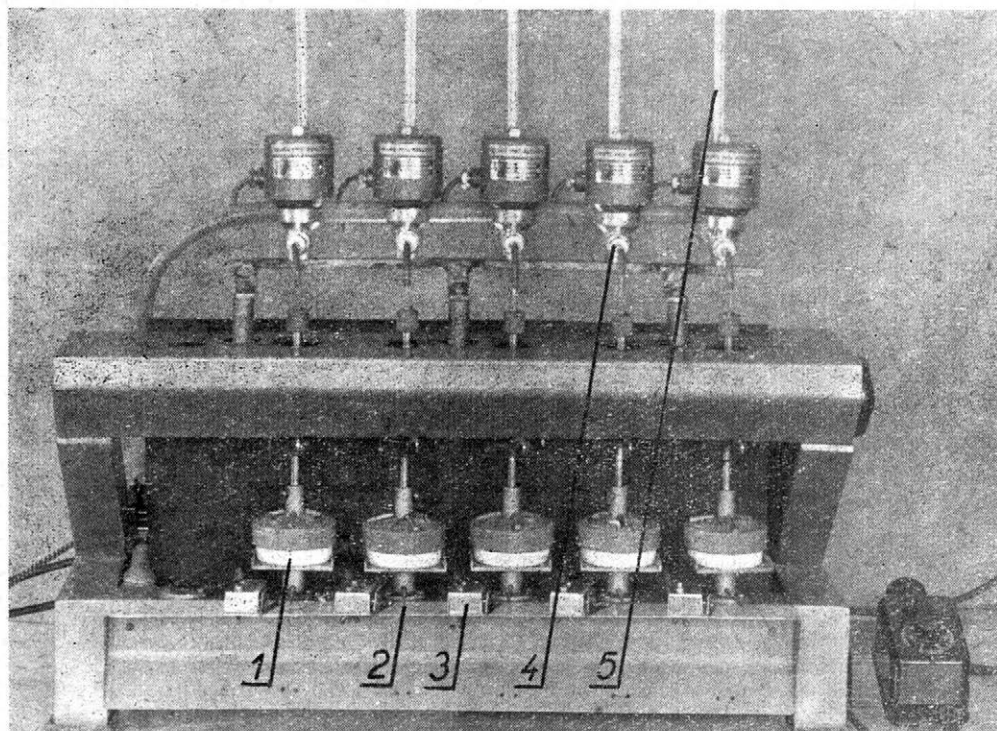
MATERIÁL

K ověřovacím rozborům byly použity jednak vzorky mouk z mlýnského provozu (A, B, C, D), jednak vzorky získané semletím ozimých odrůd pšenice na laboratorní mlynářské stolici Pokusného mlýna VÚMP v České Skalici. Záměrným výběrem vzorků byla zajištěna značná variabilita šetřených charakteristických vlastností, která byla předpokladem pro výpočet statistických veličin.

METODIKA A VÝSLEDKY

METODA STANOVENÍ V_{z15} A DT NA MIKROMÍSIČCE TĚSTA

Pracovní postup: do zadělovací misky 1 (na obr. 1), zhotovené z flexonu PF₄, se nasype 10 g mouky a automatickou pipetou se přidá 5,4 ml vody, popřípadě roztoku NaCl nebo kvasničné emulze. Miska se vloží do sedla, hřídel se sníží do pracovní polohy. Po zapnutí proudu přes vypínač „Vipo“ se těsto mísí 6 minut. Samočinné přidávání dalšího množství vody je zajištěno pomocí dynamometru podle odporu, který klade těsto při mísení. Je-li tento odpor větší než u těsta normální konzistence (asi 500 BU), zatlačí ručička 2 na vypínač 3 solenoidového ventilu 4, který se na okamžik otevře a z mikrobirety 5 přes ventil a kapiláru, vedenou středem hřídele, přikápně asi 0,01–0,06 ml vody přímo do zadělovací misky a je zamíseno do těsta. Tento postup se opakuje, pokud není konzistence normální. Po šesti minutách se přístroj samočinně vypne. Na byretě se poté přečte množství spotřebované vody a připočítá se k původním 5,4 ml. Chceme-li u vzorku rovněž informálně stanovit charakteristikou „dobu vývinu těsta“, přečte se množství spotřebované vody též po 3 minutách mísení. Nastavení polohy vypínače a pružiny se kalibruje vymísením mouky o známé vaznosti, zjištěné na farinografu.



1. Mikromísíčka těsta se zařízením na stanovení vaznosti mouky

Schopnost mouky vázat vodu v ml (vaznost), přepočítaná na 100 g substance, se vypočte podle vzorce

$$V_z = (5,4 \text{ ml} + a) \cdot 10,$$

z čehož a = množství vody v ml, přidané přes solenoidový ventil. Případný přepočet na mouku s vlhkostí 15 % (V_{z15}) se provede podle vzorce

$$V_{z15} = \frac{(V_z + V) 85}{100 - V} - 15,$$

z čehož V = vlhkost mouky.

Charakteristická hodnota „vývin těsta“ se vypočítá podle vzorce

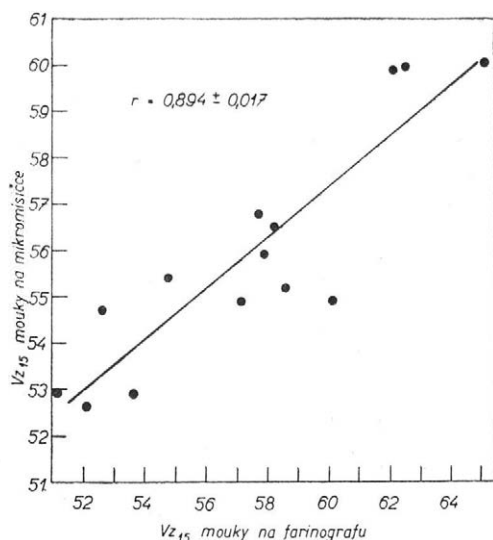
$$DT = \frac{V_z 3'}{V_z} \cdot 100,$$

z čehož V_z = vaznost mouky po 6 minutách mísení,

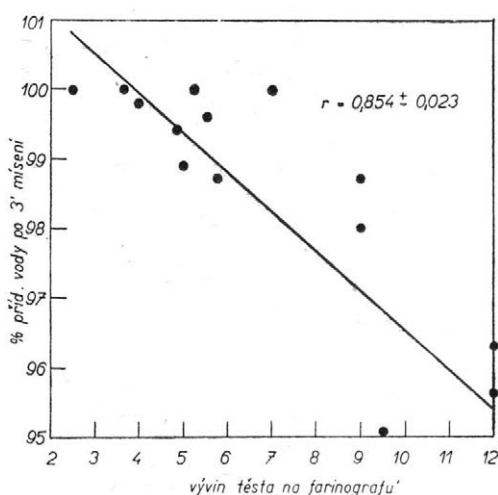
$V_z 3'$ = vaznost mouky po 3 minutách mísení.

VÝSLEDKY V_{z15} A DT , ZJIŠTĚNÉ NA MIKROMÍSIČCE TĚSTA, A VZTAH K FARINOGRAFICKÝM HODNOTÁM

Popsaným způsobem byly stanoveny hodnoty V_{z15} a DT u 14 vzorků modelového materiálu. Každý vzorek byl mísen 5X, pokaždé v jiné zadělavací misce. Průměrné hodnoty V_{z15} na mikromísičce (55,9 ml) jsou poněkud nižší než na farinografu (57,4 ml). Tuto skutečnost je možno vysvětlit dalšími faktory, které ovlivňují vaznost mouky (teplota, intenzita mísení, obsah NaCl v těstě). Mnohem významnější je srovnání dosažených hodnot pomocí korelačních koeficientů. Byl stanoven vysoce průkazný $r = 0,894^{xx}$ (obr. 2), vyjadřující vztah k vaznosti mouky podle farinografu.



2. Vztah vaznosti mouky na farinografu a na mikromísičce



3. Vztah doby vývinu těsta na farinografu k procentu množství přidané vody po 3 minutách mísení těsta na mikromísičce

Při sledování vztahu DT na mikromísíče a na farinografu byl zjištěn poněkud nižší, i když průkazný $r = 0,723$. Stanovení DT na mikromísíče je při sériovém provádění zkoušek nesnadné a nepřesné. Musí se v krátkých časových intervalech (po 1 minutě) odčítat hodnoty na byretě až do jejich ustálení. Přesto se nezjistí přesný konec přidavku vody přes ventily. Přistoupili jsme proto k jinému hodnocení vývinu těsta: Přidavky vody jsme zjišťovali pouze po 3 minutách mísení a vypočetli Vz. Podle již uváděného vzorce jsme dále vypočetli hodnoty, které dobře charakterizují DT, neboť jsou v užším vztahu k hodnotám DT na farinografu ($r = -0,854^{**}$, obr. 3). Postup je rovněž pracovně nenáročný.

DISKUSE

Navrhovaná metoda stanovení vaznosti mouky má proti dosavadním způsobům jisté přednosti:

a) umožňuje analyzování malého, 10g vzorku. Má proto uplatnění zvláště pro hodnocení vzorků slechtitelských a odrůdových materiálů i vzorků z jiných, zejména výživářských pokusů. Možnosti zvýšení vaznosti mouky šlechtěním prošetřoval zejména Sosulski (1962).

b) Pracovní postup umožňuje zpracování velkých sérií vzorků. Při použití 5 zadělavacích misek se pracuje (bez pomocných úkonů) s frekvencí 1 analýza — 70 vteřin. Pomocné úkony, zejména násyp mouky, vyjmutí těsta, čtení a zápis hodnot na mikrobyretě trvají u jednoho vzorku cca 40 vteřin.

c) Informačně se stanoví též hodnota doby vývinu těsta jako kvalitativně rozdílného znaku, který je v užším vztahu k další důležité hodnotě — poklesu konzistence těsta (index tolerance — TI na farinografu). V dalším vývoji není vyloučeno i vlastní stanovení TI na mikromísíče. Postup by vyžadoval prodloužení mísení a zjištění konzistence těsta buď přímo na mísíče, nebo na přídatném zařízení, např. na penetrometru.

d) Vymísené těsto možno použít k dalším analýzám.

Dosavadní výše uvedené postupy tyto předpoklady jednotlivě nesplňují. Především — s výjimkou metod založených na principu odstředění moučné suspenze — potřebují více materiálu. Jsou též vesměs časově náročnější nebo vyžadují obsluhu a nedají se provádět v sériích.

Vztahy Vz₁₅ a DT podle mikromísíčky k farinografickým hodnotám jsou uspokojivé. Méně uspokojivé jsou však výsledky šetření reprodukovatelnosti a přesnosti výsledků při použití různých zadělavacích misek sady prototypového zařízení, i když hlavní odrůdové rozdíly zůstávaly zachovány. Po 20násobném opakování byla zjištěna míra přesnosti stanovení Vz₁₅, vypočtená podle vzorce

$$M = \frac{3 \cdot s}{\bar{x}} \cdot 100 = 5,80 \%$$
Tato poměrně nízká reprodukovatelnost je ovlivněna především ještě nedokonalým technickým provedením prototypových zadělavacích misek, které je možno dále vylepšit. Svou úlohu jistě hraje i způsob mikroprovedení zkoušky, který pravděpodobně zůstane hlavním aspektem pro použitelnost mikromísíčky — k informativnímu stanovení hodnot malých vzorků ze šlechtění a pokusnictví.

SOUHRN

Nově vyvinutá mikromísíčka těsta byla přizpůsobena na stanovení hodnot vaznosti mouky (Vz₁₅) a doby vývinu těsta (DT). Navrhovaný pracovní postup umožňuje analyzování vzorků 10 g mouky ve velkých sériích, a vymísené

těsto, které má přibližně stejnou konzistenci, možno dále použít ke kvasným a lepkovým testům a pekařským mikrozkuškám. Zjištěné hodnoty Vz_{15} a DT jsou v dobrém vztahu se stejnými hodnotami zjištěnými na farinografu ($r = 0,894$ a $0,854$). Reprodukovatelnost navrhovaného stanovení je poměrně nízká, dá se však technickými opatřeními zlepšit.

Poděkování: Za provedení úprav mikromísíčky a elektroinstalaci děkuji J. Špidlovi a F. Motalovi, za provedení farinogramů L. Kříčkovi a F. Trojanovi z Pokusného mlýna VÚMP v České Skalici.

Došlo dne 13. 10. 1966

Literatura

1. AUERMAN, L. J.: Určování fyzikálních vlastností lepků, těsta a střídy chleba na penetrometru. = „Mlýnsko-pekárenský průmysl“, 8, 1962, č. 1, s. 28-30. — 2. BENNETT, R. - COPPOCK, J. B. M.: Dough consistency measurement of water absorption on the Brabender farinograph and Simon „research“ water absorption meter. = „Trans. Am. Assoc., Cereal Chemists“, 1953, 11, s. 172-182. — 3. ELLING, H. R. - BARMORE, M. A.: Microtests for flour quality. = „Cereal Chemistry“, 38, 1961. — 4. FINNEY, K. F. - YAMAZAKI, W. T.: Water-retention capacity as an index of the loaf volume potentialities and protein quality of hard red winter wheats. = „Cereal Chemistry“, 23, 1946, s. 416-437. — 5. HAGBERG, S.: Evaluation of flour and dough performance and bread quality. = „Cereal Sci. Today“, 2, 1957, s. 224-227. — 6. HALTON, P.: Significance of loaf extension tests in assessing the baking quality of wheat flour doughs. = „Cereal Chemistry“, 26, 1949, s. 24-25. — 7. HLYNKA, I.: Influence of temperature, speed of mixing, and salt on some rheological properties of dough in the farinograph. = „Cereal Chemistry“, 39, 1962, s. 286-303. — 8. HLYNKA, I.: Dough mobility and absorption. = „Cereal Chemistry“, 36, 1959, s. 378-385. — 9. HOREL, J.: Závěrečná zpráva úkolu č. 141.623 - Vypracování laboratorních metodik pro technologické hodnocení zemědělských plodin. ÚVÚRV Praha-Ruzyně, 1955. — 10. HÝŽA, V. - ŠPIDLA, J.: Sestavení pracovní linky na izolaci pšeničných lepků a ověřovací studie jednotlivých operací. Závěrečná zpráva VÚO Kroměříž, 1965. — 11. LARMOUR, R. K. - WORKING, E. B. - OFELT, C. W.: Quality tests on hard red winter wheats. = „Cereal Chemistry“, 16, 1939, s. 733-752. — 12. LARSEN, R. A.: Hydrotation as a factor in bread flour quality. = „Cereal Chemistry“, 41, 1964, č. 3, s. 181-187. — 13. MAES, E.: Die Bestimmung der Wasseraufnahmefähigkeit des Mehles mittels eines Penetrometers. = „Brot und Gebäck“, 11, 1957, s. 187-189. — 14. MAES, E. - PIROTTE, A.: La détermination du pouvoir d'absorption d'eau des farines par centrifugation. = „Meunerie Belge“, 51 „11“, 1955, s. 15-17. — 15. MILLER, H. - WHITESIDE, A. G. V. - KALBFLEISCH, W.: A note on the construction of a small - scale dough expansion apparatus for the estimation of wheat quality. = „Cereal Chemistry“, 38, 1961, s. 204-205. — 16. MILLER, H. - EDGAR, J. - WHITESIDE, A. G. O.: A small scale dough expansion test of the estimation of wheat quality. = „Cereal Chemistry“, 28, 1951, s. 188-195. — 17. NEAR, C. - SULLIVAN, B.: The use of the farinograph as an accurate measure of absorption. = „Cereal Chemistry“, 12, 1935, s. 527-531. — 18. PELSHEK, P. - HAMPEL, G. - SCHAEFER, W.: Die Untersuchung von Getreide und Mehl. (Kapitola z knihy Methodenbuch, Band XV). Neumann-Verlag, Radebeul und Berlin, 1953. — 19. PRUGAR, J. - ŠÁSEK, A.: Pšeničné bílkoviny - vlastnosti lepků. Studijní informace Ústavu věd. tech. informací MZLVH, zákl. a pom. vědy, 7, 1963. — 20. SOULSKI, F. W.: The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats. = „Cereal Chemistry“, 39, 1962, s. 344-350. — 21. STAMBERG, O. E. - BAILEY, C. H.: Plasticity of doughs. = „Cereal Chemistry“, 17, 1949, s. 37-44. — 22. TAUPIN, A.: Appareils pour mesurer la valeur boulangère des farines. Fr. Pat. 1,080,426 (Dec. 9, 1954). — 23. YAMAZAKI, W.: Interrelations among bread dough absorption, cookie diameter, protein content, and alkaline water retention capacity of soft winter wheat flours. = „Cereal Chemistry“, 31, 1954, s. 135-142.

Определение способности муки связывать воду и времени поспевания теста в микромесилке

Вновь сконструированная микромесилка теста была приспособлена для определения способности муки связывать воду (V_{315}) и времени поспевания теста (DT). Предлагаемый рабочий прием дает возможность проанализировать образцы по 10 г муки в крупных сериях и вымешенное тесто, которое приблизительно такой же консистенции, можно далее применить для бродильных и клейколинных тестов и пекарского микроиспытания. Полученные показатели V_{315} и DT соответствуют таким же показателям, полученным на фаринографе ($r = 0,894$ и $0,854$). Воспроизводимость предлагаемого определения сравнительно малая, однако ее можно при помощи технических мероприятий улучшить.

Текст к рисункам

1. Микромесилка теста с устройством для определения способности муки связывать воду
2. Отношение способности муки связывать воду на фаринографе и в микромесилке
3. Отношение времени поспевания теста на фаринографе к % количества добавленной воды в течение 3-минутного вымешивания теста в микромесилке

Determination of Flour Absorption and Dough Development Time in a Micromixer

The newly developed dough micromixer has been adapted for determining the flour absorption (V_{315}) and dough development time (DT). The proposed procedure enables to analyse flour samples of 10 g in large series. The prepared dough, which has about the same consistence, may further be used for dough expansion tests, gluten test as well as for microtests in baking. The observed values V_{315} and DT are in good relation to similar values given by a farinograph ($r = 0.894$ and 0.854). The reproducibility of the proposed determination is relatively small but it can be improved by the application of technical measures.

Text to the photograph and to the figures

1. Micromixer for determination of flour absorption and DT.
2. Relation of flour absorption given by the farinograph and the micromixer.
3. Relation of the development of dough given by the farinograph to the percentage amount of water added after a 3-min. mixing of the dough in the micromixer.

Die Festsetzung der Wasseraufnahmefähigkeit des Mehls und der Zeit der Teigentwicklung mit dem Mikromischer

Der neuentwickelte Teig-Mikromischer wurde zur Festsetzung der Werte der Wasseraufnahmefähigkeit des Mehls (V_{315}) und der Zeit der Teigentwicklung (DT) angepasst. Der vorgeschlagene Arbeitsvorgang ermöglicht die Analysierung der Proben von 10 g Mehl in großen Serien und der geknetete Teig, der ungefähr dieselbe Konsistenz hat, kann weiter zu den Gärungs- und Klebertesten und Bäcker-Mikroprüfungen angewendet werden. Die festgestellten Werte V_{315} und DT sind in guter Beziehung mit denselben Werten, die auf dem Farinograph festgestellt wurden ($r = 0,894$ und $0,854$). Die Reproduzierbarkeit der vorgeschlagenen Festsetzung ist verhältnismäßig niedrig, kann aber mittels technischer Maßnahmen verbessert werden.

Text zu den Ausbildungen

1. Der Teig-Mikromischer mit der Einrichtung zur Festsetzung der Wasseraufnahmefähigkeit des Mehls
2. Beziehung der Wasseraufnahmefähigkeit des Mehls auf dem Farinograph und Mikromischer
3. Beziehung der Zeit der Teigentwicklung auf dem Farinograph zu den Prozentsen der Menge des zugegebenen Wassers nach 3 Minuten der Teigknetung auf dem Mikromischer

Adresa autora:

Ing. Vojtěch Hýžla, Výzkumný ústav obilnářský, Kroměříž

Fosfor je jedním z velmi důležitých prvků jak pro výživu rostlin, tak i pro metabolismus uhlohydrátů a bílkovin. Fosfor bývá v rostlině vázán ve formě anorganické a organické, z nichž posledně jmenovaná forma má pro látkový metabolismus mimořádný význam. Stanovení obsahu organicky vázaného fosforu je závislé především na způsobu izolace sloučeniny, ve které je fosfor stanoven. Izolovaná sloučenina se v dalším postupu mineralizuje a v takto získaném základním roztoku se stanoví fosfor usanční metodou.

Při studiu látkového metabolismu bílkovin u brambor přichází v úvahu stanovení obsahu fosforu v čisté bílkovině. Vzhledem k tomu, že dosud nebyla vhodná aplikace pro bramborovou bílkovinu publikována, vypracovali jsme ve Výzkumném ústavu bramborářském metodu stanovení obsahu fosforu v čisté bílkovině u brambor.

METODIKA

Sražení bílkovin bylo prováděno podle Mothesse a Engela, jejichž metoda byla citována v práci Schuphanové (1953):

10 g bramborové třenky, získané homogenizací na mixéru, se smíchá s 50 ml horkého 1% roztoku taninu; po 40 minutách se zfiltruje a sraženina na filtru se promývá destilovanou vodou do vymizení reakce na sulfátový ion. Sraženina i s filtrem se spálí na mokré cestě (Koppová a j. 1955) přidávkou 50 ml konc. kyseliny dusičné. Po vyjasnění a odpaření tekutiny na cca 2 ml se přidá 25 ml konc. kyseliny chloristé a odpaří opět na 2 ml. Čirá kapalina se kvantitativně převede do 250ml odměrné baňky — základní roztok. V tomto roztoku se stanoví obsah P_2O_5 fosfomolybdenovou modří; Do 100ml odměrných baněk se napipetují 2 ml základního roztoku, přidá se 4 ml roztoku molybdenanu amonného. Baňka se doplní destilovanou vodou po značku. K doplněnému roztoku se přidá ještě 1 ml roztoku chloridu cínatého. Po promíchání se nechá stát 15 minut. Poté se zbarvený roztok měří na kolorimetru za použití filtru S 66.

Roztoky

1. chlorid cínatý: do 25ml odměrné baňky se napipetuje 10 ml konc. HCl, ke které se přidá 0,5 g chloridu cínatého a mírně povaří, až je roztok čirý. Po ochlazení se doplní po značku destilovanou vodou.

2. molybdenan amonný: 25 g molybdenanu amonného se rozpustí v 1 l odměrné baňce ve 200 ml destilované vody, zahřeje na 60 °C a zfiltruje. Do zchladlého roztoku se přidá po částech 280 ml konc. kyseliny sírové. Po vytemperování se doplní ke známce. Kalibrační křivka se sestojí z údajů získaných měřeními odstupňovaného množství standardu o známém obsahu P_2O_5 .

Prověření metody

Vzorek bramborových hlíz byl zhomogenizován na mixéru. Z takto získaného vzorku bylo provedeno 10 stanovení obsahu čisté bílkoviny. Současně bylo provedeno 10 stanovení obsahu P_2O_5 v čisté bílkovině. Poté bylo k získaným základním roztokům přidáno známé množství P_2O_5 ve formě kyselého fosforečnanu sodného. Při hodnocení metody byl porovnán rozdíl mezi přidáním a skutečně nalezeným množstvím P_2O_5 .

I. Prověření metody

% P_2O_5 v čisté bílkovině	% P_2O_5 s přidáním fosforem	Rozdíl	Nalezená %
0,93	1,55	0,62	95,38
0,85	1,53	0,68	104,61
0,85	1,54	0,69	106,15
0,92	1,56	0,64	98,46
0,99	1,57	0,58	89,24
0,99	1,55	0,56	85,85
1,00	1,57	0,57	87,69
0,93	1,60	0,67	103,07
0,96	1,56	0,60	92,30
1,01	1,59	0,58	89,24
Průměr $0,943 \pm 3,0,0184$	$1,562 \pm 3,0,0068$	0,62	
$s = 0,0583$	$s = 0,0216$		

přidáno 0,65 %
nalezeno 0,62 %

Průměrná hodnota % P_2O_5 v čisté bílkovině je $0,943 \pm 3,0,0184$ %. Směrodatná odchylka $s = 0,0583$ %. Průměrná hodnota % P_2O_5 s přidáním P_2O_5 v čisté bílkovině je $1,562 \pm 3,0,0068$ %, směrodatná odchylka $s = 0,0216$ %. Přidáno bylo 0,65 % P_2O_5 . Odečteme-li toto procento od průměrné hodnoty 1,562 %, dostaneme $0,912 \pm 3,0,0068$ %. Rozdíl mezi průměry byl otestován t-testem pro párované hodnoty a vyšlo $t = 1,959$, což je menší než kritická hodnota $t_{905} = 2,26$ pro 9 stupňů volnosti. Z toho vyplývá, že přidání 0,65 % P_2O_5 průkazně nesnížilo obsah % P_2O_5 v čisté bílkovině. Rozdíl 0,03 % není statisticky průkazný.

SOUHRN

Byla vypracována metoda na stanovení obsahu P_2O_5 v čisté bílkovině u brambor. Prověření metody přidáním známého množství P_2O_5 k základnímu roztoku bylo zjištěno, že rozdíl mezi přidáním a nalezeným množstvím (0,03 %) není statisticky průkazný a je tedy náhodný. Je možno dané metody použít. Metoda je vhodná zejména při studiu inkorporace fosforu do vysokomolekulárních složek jako je bramborová bílkovina apod.

Literatura

1. KOPPOVÁ, A. - PIRKL, J. - KALINA, J.: Stanovení popelovin v rostlinném materiálu přesnými expeditivními metodami. Vědecké práce ÚVÚRV Praha 1955.
2. SCHUPHAN, W.: Methodenbuch, Bd. IV., Chemische und biologische Qualitätsbestimmung gärtnerischer und landwirtschaftlicher Erzeugnisse, Neumann Verlag, Berlin 1953.

Определение содержания фосфора в чистом белке у картофеля

Был разработан метод определения содержания P_2O_5 в чистом белке у картофеля. Путем проверки метода путем добавления определенного количества P_2O_5 в основной раствор было установлено, что разность между добавленным и полученным количеством (0.03 %) статистически недостоверна и, следовательно, случайна. Данный метод можно применять. Метод пригоден главным образом при изучении инкорпорации фосфора в высокомолекулярные компоненты, равно как белок картофеля и т. п.

Текст к таблице

I. Проверка метода

Determination of the Phosphorus Content in the Pure Protein of Potatoes

A method has been worked out for determining the P_2O_5 content in the pure protein of potatoes. A control of the method by addition of a known quantity of P_2O_5 to the basic solution has revealed that the difference between the added and the found amount (0.03 %) is statistically not significant and, therefore, a random value. The given method is applicable. It is advantageous especially in the study of the incorporation of phosphorus into high-molecular-weight components, such as potato protein etc.

Text to table

I. Control of the method

Bestimmung des Phosphorgehalts im Reineiweiß von Kartoffeln

Es wurde eine Methode zur Bestimmung des P_2O_5 -Gehaltes im Reineiweiß von Kartoffeln ausgearbeitet. Bei der Überprüfung der Methode durch Zusatz einer bekannten P_2O_5 -Menge zur Grundlösung wurde festgestellt, daß der Unterschied zwischen der zugesetzten und ermittelten Menge (0,03 %) nicht statistisch signifikant und also zufällig ist. Es ist möglich, die angeführte Methode zu verwenden. Sie eignet sich besonders für das Studium der Inkorporation von Phosphor in hochmolekulare Komponenten wie Kartoffeleiweiß usw.

Text zur Tabelle

I. Überprüfung der Methode

Adresa autora:

Ing. Bohumil Míča, CSc., Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod

Československá vědeckotechnická společnost — sekce zemědělství
a lesnictví spolu s agenturou pro propagaci Made in Publicity
si dovoluují upozornit odbornou veřejnost na

**SEMINÁŘ O AUTOMATIZACI SÉRIOVÉ ANALYTICKÉ PRÁCE
V CHEMICKÝCH LABORATOŘÍCH,**

který se bude konat ve dnech 22. až 24. března 1967 v Parku J. Fučíka v Bruselském pavilónu v Praze 7.

Kromě přednášek bude současně přístup na výstavku přístrojů tohoto oboru, které budou předváděny v chodu.

Seminář bude přístupný pouze pozvaným účastníkům.

Zájemci o účast na semináři zasílejte žádost o pozvánky na adresu

Made in Publicity, s. Bazík

Praha 1, Opletalova 5

■ Velmi důležitou skupinou aminokyselin, mezi které bývá zařazován i lysin, jsou aminokyseliny zvané esenciální. Esenciální aminokyseliny jsou takové kyseliny, které není schopen ani lidský, ani zvířecí organismus sám syntetizovat a které musí být proto dodávány potravou.

Studiu podmínek ovlivnění výše obsahu esenciálních aminokyselin byla v literatuře věnována poměrně značná pozornost; dosažené výsledky jsou však protichůdné. Například Kaspers (1959) uvádí, že koncentrace volných aminokyselin a amidů je v listech i hlízách brambor velmi málo ovlivněna hnojením. Mulder a Bakema (1956) však proti tomu tvrdí, že hnojení ovlivnilo v hlízách brambor obsah některých volných aminokyselin. Tavorovská (1963 a 1964) kriticky zhodnotila současný stav studia změn obsahu volných a vázaných aminokyselin a došla k závěru, že obsah volných aminokyselin se při vysokých dávkách dusíku zvyšuje. Biologická hodnota bílkovin, tj. obsah vázaných aminokyselin, se však hnojením neovlivňuje. Z hlediska biologické hodnoty se změnami v obsahu volných i vázaných aminokyselin zabýval Schuphan (1959), který uvádí, že optimum biologické hodnoty bílkoviny lze dosáhnout při dávkách 40–60 kg N/ha u sadby a u přesadby až do výše 90 kg N/ha.

V podstatě lze říci, že literatura o vlivu výživy na obsah aminokyselin není ve svém názoru jednotná. Citované práce se zabývaly v podstatě vztahem hnojení k EAS-indexu, nebyly však studovány změny jednotlivých aminokyselin ve vztahu k faktorům, jako je např. vegetační rok, vegetační fáze a různá agrotechnika.

Vzhledem k tomu, že uvedené práce nejsou ve svých názorech shodné a řadu faktorů nesledovaly, přistoupili jsme ke studiu jednotlivých aminokyselin. Jako základní aminokyselinu jsme zvolili lysin.

METODIKA

Z pokusů skupiny výživy byly odebírány vzorky hlíz odrůdy 'Krasava' ve třech hlavních vegetačních fázích, tj. v plném květu, odkvětu a ve sklizni. Pokus měl celkem 8 variant po 6 opakováních a probíhal v letech 1962 a 1963. Stejným způsobem byly odebírány vzorky z pokusu agrotechniky, který měl celkem 12 variant po 6 opakováních.

Jednotlivé varianty pokusu výživy byly tyto:

- 1: kontrolní bez hnojení
- 2: hnojená chlévskou mrvou
- 3: standardní vyhnojení NPK (70 kg N/ha, 57,5 kg P₂O₅/ha, 264 kg K₂O/ha)
- 4: NPK (80 kg N/ha, 80 kg P₂O₅/ha, 164 kg K₂O/ha)
- 5: 1/2 N, PK
- 6: 1/2 K, NP
- 7: 1/2 P, NK
- 8: 1/2 NPK

Schéma pokusu agrotechniky bylo:

varianta A: podzimní orba a hnojení chlévskou mrvou na podzim jako základ

varianta B: podzimní orba a hnojení chlévskou mrvou na jaře jako základ

varianta C: jarní orba a hnojení chlévskou mrvou na jaře jako základ.

Každá z těchto hlavních variant pokusu agrotechniky měla 4 subvarianty, které byly u všech variant (A, B, C) stejné:

subvarianta 1: smykování, kypření při 10–12 cm, vláčení, kypření při 14–16 cm, vláčení a smykování

subvarianta 2: kypření při 14–16 cm, vláčení a smykování

subvarianta 3: kypření při 10–12 cm, vláčení, smykování

subvarianta 4: jenom smykování.

Z každého opakování byly odebrány hlízy z 5 trsů, vzorek pak tvořily hlízy z celkem 30 trsů (6 opakování). Hlízy byly rozstrouhány na laboratorním struháku (Šimek 1962).

Příprava vzorku ke stanovení aminokyselin (aplikace metody používané dr. Hrdličkou): 20 g třenky se spláchne 130 ml 80% alkoholu a ponechá 12 hodin stát za občasného protřepání. Poté se zfiltruje do 200 ml odměrky, sraženina na filtru se promyje 80% alkoholem a doplní po značku. Na chromatografický papír (Whatman 1) se nanáší hematologickou pipetou 0,4 ml extraktu. Chromatogram se vyvíjí opakované (7–8krát) ve směsi butanol:kyselina octová:voda v poměru 4:1:5. Detekce se provádí ninhydrinem. Po stabilizaci skvrn se jednotlivé skvrny eluují metanolem (10 ml) a stanoví se intenzita zabarvení na kolorimetru. Podle křivky standardu aminokyseliny se vypočítá obsah aminokyseliny. Uvedený postup odpovídá stanovení obsahu volných aminokyselin. Vázané aminokyseliny, v našem případě lépe řečeno veškeré, byly stanoveny v hydrolyzátu třenky: 25 g třenky se spláchne 250 ml 6 N HCl do 500 ml varné baňky a hydrolyzuje pod zpětným chladičem po dobu 9 hodin. Hydrolyzát se zfiltruje do porcelánových misek a odpařuje na vodní lázni na objem 25 ml, zfiltruje do 50 ml odměrné baňky a doplní po značku. Na chromatografický papír se nanáší 0,03 ml.

HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A DISKUSE

Pro získání přehledu o výskytu veškerého lysinu obsaženého v hlízách brambor stanovili jsme lysin v hydrolyzátu třenky a vyjadřovali ho jako lysin veškerý. Volný lysin odpovídá obsahu lysinu stanovenému v alkoholovém extraktu. Výsledky byly sestaveny do tabulek I–VIII. Údaje byly hodnoceny analýzou rozptylu.

HODNOCENÍ POKUSŮ S RŮZNÝM HNOJENÍM

Obsah volného lysinu: Z tabulky analýzy rozptylu pro obsah volného lysinu (tab. V) vyplývá, že vliv různých dávek hnojiv není statisticky průkazný. Přesto se však určité rozdíly projevily, a to mezi variantami 4 a 5, 7, 6, 2, 8, kde průkazné byly. Jako celek se však výživa neprojevila průkazně. Rozdíl mezi jednotlivými vegetačními ročníky nebyl též průkazný, byl však znatelný. Z průměrných hodnot v jednotlivých odběrech vyplývá, že ke konci vegetace se obsah volného lysinu snižuje. Nejvyšší hodnota byla nalezena v plném květu rostliny, nejnižší u zralých hlíz.

Obsah veškerého lysinu: Z tabulek II a VI vyplývá, že obsah veškerého lysinu je vysoce průkazně ovlivněn vegetačními roky, přičemž průměrná hodnota byla v roce 1962 vyšší než v roce 1963. Obsah vázaného lysinu se ke konci vegetace zvyšuje, a to velmi intenzívně, proti fázi plného květu rostliny zhruba o 100 %. Mezi plným květem a odkvětem je rozdíl cca 20 %. Z toho vyplývá, že intenzivní hromadění lysinu nastává až ve zrajících hlízách. Vliv výživy se na obsah veškerého lysinu opět neprojevil. Nejvyšší hodnota byla zjištěna u variant 7 a 8, nejnižší u varianty 3. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou není však statisticky průkazný.

I. Obsah volného lysinu v mg/100 g původní hmoty (výživářský pokus)

Varianty	Rok	Plný květ	Odkvět	Zrání
1	1962	3,00	1,45	1,65
	1963	2,00	1,65	1,65
2	1962	2,22	1,40	1,60
	1963	1,55	1,60	1,30
3	1962	3,25	2,15	1,35
	1963	2,40	1,55	1,05
4	1962	4,00	1,85	1,40
	1963	10,50	1,70	0,90
5	1962	2,05	1,95	1,55
	1963	1,65	1,10	1,75
6	1962	2,25	1,50	1,40
	1963	1,65	1,30	1,75
7	1962	1,40	4,75	1,15
	1963	0,87	0,80	1,05
8	1962	1,85	2,25	1,35
	1963	0,90	0,80	0,75

V. Analýza rozptylu pro obsah volného lysinu (výživářský pokus)

Výživa	16,9320	7	2,4189	1,234	×
Roky	0,8938	1	0,8938	0,456	
Odběry	12,9630	2	6,4815	3,307	
Reziduum	72,5186	37	1,9600		
Celkem	103,3074	47			

průkazný rozdíl pro výživu	1,63
vysoce průkazný rozdíl	2,18
průkazný rozdíl pro roky	0,82
vysoce průkazný rozdíl pro roky	1,09
průkazný rozdíl pro odběry	1,00
vysoce průkazný rozdíl pro odběry	1,34

Průměrné hodnoty pro varianty		Průměrné hodnoty pro roky	
varianta	obsah lysinu	rok	obsah lysinu
4	3,39	1962	2,03
3	1,96	1963	1,76
1	1,90	Průměrné hodnoty pro odběry	
5	1,68	odběr	obsah lysinu
7	1,67		
6	1,64	plný květ odkvět zrání	2,60
2	1,61		1,74
8	1,32		1,35

II. Obsah veškerého lysinu v mg/100 g původní hmoty (výživářský pokus)

Varianty	Rok	Plný květ	Odkvět	Zrání
1	1962	31,00	99,50	166,50
	1963	55,00	50,00	67,00
2	1962	25,50	70,00	159,00
	1963	52,50	45,50	58,50
3	1962	23,00	82,00	137,50
	1963	41,50	35,00	57,50
4	1962	16,50	67,00	102,00
	1963	71,50	56,00	74,50
5	1962	66,50	73,00	115,50
	1963	49,50	44,00	79,50
6	1962	84,00	77,00	128,00
	1963	32,50	37,00	53,50
7	1962	81,00	124,50	129,00
	1963	53,50	52,00	74,00
8	1962	74,50	124,50	120,00
	1963	56,00	51,00	86,50

VI. Analýza rozptylu pro obsah veškerého lysinu (výživářský pokus)

Výživa	3,353,25	7	479,04	0,858	
Roky	14,822,76	1	14822,76	26,564	**
Odběry	20,358,89	2	10179,44	18,242	**
Reziduum	20,645,98	37	557,99		
Celkem	59,180,88	47			

průkazný rozdíl pro výživu	27,55
vysoce průkazný rozdíl	36,82
průkazný rozdíl pro roky	13,78
vysoce průkazný rozdíl pro roky	18,41
průkazný rozdíl pro odběry	16,87
vysoce průkazný rozdíl pro odběry	22,55

Průměrné hodnoty pro varianty		Průměrné hodnoty pro roky	
varianta	obsah lysinu	rok	obsah lysinu
7	85,67	1962	90,70
8	85,42	1963	55,56
1	78,17	Průměrné hodnoty pro odběry	
5	71,33		
6	68,67	odběr	obsah lysinu
2	68,50	plný květ	50,88
4	64,58	odkvět	60,44
3	62,75	zrání	100,53

III. Obsah volného lysinu v mg/100 g původní hmoty (agrotechnický pokus)

Varianty	Rok	Plný květ	Odkvět	Zrání
A ₁	1962	8,00	6,00	1,80
	1963	1,40	2,00	2,20
A ₂	1962	5,00	2,75	1,30
	1963	2,40	1,60	2,15
A ₃	1962	4,00	4,00	2,25
	1963	2,65	1,70	2,15
A ₄	1962	2,75	1,80	1,25
	1963	2,00	1,75	2,35
B ₁	1962	4,00	1,90	1,40
	1963	1,95	6,00	2,05
B ₂	1962	2,75	0,90	1,35
	1963	1,50	1,55	1,85
B ₃	1962	2,25	1,90	1,85
	1963	2,40	1,20	1,55
B ₄	1962	4,50	1,00	0,70
	1963	2,50	2,05	2,05
C ₁	1962	2,75	2,25	1,80
	1963	2,07	1,75	2,05
C ₂	1962	5,25	1,95	1,15
	1963	1,75	1,80	2,30
C ₃	1962	4,50	1,10	1,20
	1963	2,00	2,05	2,30
C ₄	1962	6,00	1,50	1,25
	1963	1,45	2,50	1,90

HODNOCENÍ POKUSŮ S RŮZNOU AGROTECHIKOU

Obsah volného lysinu: Vliv různých kultivačních zásahů jako celku není průkazný (tabulky III, VII). Přesto však pro vyšší obsah volného lysinu je průkazně příznivější varianta A, subvarianta 1 než varianty B₄, C₁, A₄ a B₃ a nejsou průkazně příznivější než varianta B₂. Během vegetace se obsah volného lysinu postupně snižuje, a to rychleji od fáze plného odkvětu než od fáze odkvětu do zrání rostliny. Z toho vyplývá, že vliv odběru (fáze vegetace) je na obsah volného lysinu vysoce průkazný. Vliv vegetačních roků je též vysoce průkazný.

Obsah veškerého lysinu: Vliv kultivačních zásahů jako celku na obsah veškerého lysinu (tab.IV) není statisticky průkazný, i když varianta C₂ má průkazně vyšší obsah lysinu než varianty A₂, A₃, B₃, B₂ a varianta C₄ je průkazně vyšší než varianta B₂ (tab. VIII). Mezi jednotlivými odběry je vysoce průkazný rozdíl. Během vegetace se obsah lysinu zvyšuje. Vliv vegetačních roků je vysoce průkazný.

VII. Analýza rozptylu pro obsah volného lysinu (agrotechnický pokus)

Agrotechnika	17,9277	11	1,6298	1,097
Roky	6,2305	1	6,2305	4,195*
Odběry	24,5514	2	12,2757	8,265**
Reziduum	84,6528	57	1,4851	
Celkem	133,3624	71		

průkazný rozdíl pro agrotechniku	1,41
vysoce průkazný rozdíl pro agrotechniku	1,88
průkazný rozdíl pro roky	0,58
vysoce průkazný rozdíl pro roky	0,77
průkazný rozdíl pro odběry	0,71
vysoce průkazný rozdíl pro odběry	0,94

Průměrné hodnoty pro varianty		Průměrné hodnoty pro roky	
varianta	obsah lysinu	roky	obsah lysinu
A ₁	3,57	1962	2,67
B ₁	2,88	1963	2,08
A ₃	2,79	Průměrné hodnoty pro odběry	
A ₂	2,53	odběr	obsah lysinu
C ₁	2,43		
C ₂	2,37		
C ₃	2,19		
B ₄	2,13		
C ₁	2,11	plný květ	3,16
A ₄	1,98	odkvět	2,21
B ₃	1,86	zrání	1,76
B ₂	1,65		

Celkově z daných údajů vyplývá, že obsah volného lysinu se u obou pokusů (výživa i agrotechnika) během vegetace snižuje. Nejvyšší průměrná hodnota byla v obou případech zjištěna ve fázi plného květu rostliny. Z toho vyplývá, že ke konci vegetace se další volný lysin nehromadí, je pravděpodobně využíván jako stavební složka vysokomolekulárních sloučenin. Tomu odpovídá i zjištění, že obsah veškerého lysinu se ke konci vegetace zvyšuje. Hodnotíme-li oba pokusy — jak výživu, tak i agrotechniku — jako celek, zjistíme, že se na tvorbu volného i veškerého lysinu projeví indiferentně. Částečné, statisticky průkazné rozdíly se projeví u některých variant obou pokusů. Je však nutno poznamenat, že ani v těch případech, kdy byla podle literatury výživou rostliny ovlivněna biologická hodnota, nebylo udávané ovlivnění obsahu lysinu tak značné jako ovlivnění jiných aminokyselin nebo amidů. Naše pokusné podmínky nelze jednoznačně srovnávat s podmínkami uvedenými jinými autory, kteří sledovali změny aminokyselin ve vztahu k odstupňovaným dávkám živin, zejména dusíku. V našem případě lze z tohoto hlediska srovnávat pouze některé varianty

IV. Obsah veškerého lysinu v mg/100 g původní hmoty (agrotechnický pokus)

Varianty	Rok	Plný květ	Odkvět	Zrání
A ₁	1962	43,34	45,34	57,50
	1963	53,50	58,50	96,00
A ₂	1962	28,00	33,34	65,60
	1963	46,00	62,00	95,50
A ₃	1962	32,01	11,33	62,50
	1963	44,00	64,50	85,00
A ₄	1962	27,34	44,67	65,50
	1963	53,50	61,00	84,00
B ₁	1962	18,00	52,01	62,50
	1963	45,50	60,50	99,00
B ₂	1962	21,34	57,34	52,50
	1963	35,00	48,50	80,00
B ₃	1962	20,00	33,34	69,50
	1963	28,50	45,00	101,00
B ₄	1962	28,67	38,01	64,00
	1963	32,00	53,50	132,50
C ₁	1962	21,34	74,50	66,50
	1963	46,50	49,00	148,00
C ₂	1962	43,34	65,00	59,00
	1963	37,00	100,50	139,00
C ₃	1962	24,00	51,50	67,00
	1963	35,50	74,50	141,00
C ₄	1962	21,34	55,50	56,50
	1963	66,50	77,50	132,00

pokusu výživy, a to varianty 5 a 4. Z jejich vzájemného srovnání pak plyne jednoznačně ovlivnění obsahu volného lysinu vyšší dávkou dusíku. Proti tomu obsah veškerého lysinu je ovlivněn podstatně méně a v obráceném směru. To znamená, že u volného lysinu je průměrná hodnota vyšší pro variantu plně vyhnojenou a nižší u varianty se sníženým dusíkem na $\frac{1}{2}$, zatímco u veškerého lysinu je příznivější varianta se sníženým dusíkem na $\frac{1}{2}$. I toto ovlivnění je však podstatně nižší.

Do tvorby volného i veškerého lysinu však podstatným způsobem zasahuje vegetační rok.

SOUHRN

Byl sledován vliv výživy a agrotechnických zásahů na obsah volného a veškerého lysinu v bramborových hlízách. Výsledky byly hodnoceny analýzou rozptylu.

VIII. Analýza rozptylu pro obsah veškerého lysinu (agrotechnický pokus)

Agrotechnika	4 379,44	11	398,13	1,528
Roky	13 130,10	1	13130,10	50,378**
Odběry	32 112,23	2	16056,12	61,604**
Reziduum	14 856,13	57	260,63	
Celkem	64 477,90	71		

průkazný rozdíl pro agrotechniku	18,71
vysoce průkazný rozdíl pro agrotechniku	24,89
průkazný rozdíl pro roky	7,64
vysoce průkazný rozdíl pro roky	10,16
průkazný rozdíl pro odběry	9,35
vysoce průkazný rozdíl pro odběry	12,44

Průměrné hodnoty pro varianty		Průměrné hodnoty pro roky	
varianta	obsah lysinu	rok	obsah lysinu
C ₂	73,97	1962	45,53
C ₄	68,22	1963	72,54
C ₁	67,64	Průměrné hodnoty pro odběry	
C ₃	65,58		
A ₁	59,03	odběr	obsah lysinu
B ₄	58,11	plný květ	35,51
B ₁	56,25	odkvět	54,87
A ₄	56,00	zrání	86,73
A ₂	55,07		
A ₃	49,89		
B ₃	49,56		
B ₂	49,11		

Bylo zjištěno, že výživa i agrotechnika jako celek průkazně neovlivňují obsah volného a veškerého lysinu, i když byly v některých případech zjištěny průkazné rozdíly.

Během vegetace se obsah volného lysinu snižuje, a to jak u pokusu s výživou, tak i pokusu agrotechnického. Obsah veškerého lysinu se proti tomu během vegetace u obou pokusů zvyšuje.

Podstatný vliv na obsah jak volného, tak i veškerého lysinu má vegetační rok, a to u obou pokusů.

Došlo dne 5. 5. 1966

Literatura

1. KASPERS, H.: Über das Vorkommen und Verhalten freier Aminosäuren und Amide in der Kartoffel. = „Biol. Zentralblatt“, 78, 1959, s. 461-498. — 2. HRDLÍČKA, J.: Ústní sdělení. — 3. MULDER, E. G. - BAKEMA, K.: Effect of the nitrogen, phosphorus, potassium and magnesium nutrition of potato plants on the content

of free aminoacids and on the aminoacid composition of the protein of the tubers. = „Plant and Soil“, 1956, č. 7, s. 135-166. — 4. SCHUPHAN, W.: Der Einfluß einer steigenden N-Düngung auf den Gehalt an essentiellen Aminosäuren und auf die biologische Eiweißwertigkeit von Kartoffeln (EAS-Index nach B. L. Oser). = „Zeit. f. Pflanzenern., Düng., Bodenkunde“, 1959, č. 86, s. 1-14. — 5. ŠIMEK, J. - MÍČA, B.: Laboratorní struhák na brambory a jiný dužnatý materiál. = „Věstník CSAZV“, 1962, č. 9, s. 167-168. — 6. TAVROSKAJA, O. L.: Soderžaniye i sostav aminokislot i belkov klubnej kartofelja pri različnyh uslovijach pitanija rastenij azotom i fosforom. Avtorský referát disertace na udělení titulu kand. biol. věd, Moskva 1964. — 7. TAVROSKAJA, O. L. - PLEŠKOV, B. L.: Izmenenije soderžaniya svobodnyh aminokislot v listjach i klubnjach kartofelja v zavisimosti ot uslovij pitanija azotom i fosforom. = „Dokl. TSCHA“, 1963, č. 94, s. 277-282.

Влияние питания и агротехники на содержание несвязанного и всего лизина у картофеля

В работе изучалось влияние питания и агротехнических приемов на содержание несвязанного и всего лизина в клубнях картофеля. Результаты обрабатывались при помощи анализа дисперсии.

Было установлено, что питание и агротехника в целом достоверно не влияют на содержание несвязанного и всего лизина, хотя в некоторых случаях и были установлены достоверные различия.

В период вегетации содержание несвязанного лизина понижается, а именно как у опыта с подкормкой, так и у агротехнического опыта. Содержание всего лизина в период вегетации, наоборот, у обоих опытов повышается.

Существенное влияние на содержание как несвязанного, так и всего лизина оказывает вегетационный год, а именно у обоих опытов.

Текст к таблицам

- I. Содержание несвязанного лизина в мг/100 г первоначальной массы (опыт с подкормкой)
- II. Содержание всего лизина в мг/100 г первоначальной массы (опыт с подкормкой)
- III. Содержание несвязанного лизина в мг/100 г первоначальной массы (агротехнический опыт)
- IV. Содержание всего лизина в мг/100 г первоначальной массы (агротехнический опыт)
- V. Анализ дисперсии для содержания несвязанного лизина (опыт с подкормкой)
- VI. Анализ дисперсии для содержания всего лизина (опыт с подкормкой)
- VII. Анализ дисперсии для содержания несвязанного лизина (агротехнический опыт)
- VIII. Анализ дисперсии для содержания всего лизина (агротехнический опыт)

Influence of Nutrition and Agrotechnical Measures upon the Content of Free and Total Lysine in Potatoes

The author investigated the influence of nutrition and agrotechnical measures on the content of free and total lysine in potato tubers. The results were evaluated by an analysis of variance.

It was found that nutrition and agrotechnical measures as a whole exert no significant influence upon the content of free and total lysine, although significant differences were found in some cases.

During vegetation, the content of free lysine decreases in nutrition experiments as well as in agrotechnical experiments; on the other hand, the content of total lysine increases during vegetation in both types of experiments.

A considerable influence upon the content of both free and total lysine is exerted by the vegetation year, and this applies to both types of experiments.

Text to Tables

- I. Content of free lysine in mg/100 g of original material (nutrition experiment)
- II. Content of total lysine in mg/100 g of original material (nutrition experiment)
- III. Content of free lysine in mg/100 g of original material (agrotechnical experiment)
- IV. Content of total lysine in mg/100 g of original material (agrotechnical experiment)
- V. Analysis of variance for the content of free lysine (nutrition experiment)
- VI. Analysis of variance for the content of total lysine (nutrition experiment)
- VII. Analysis of the dispersion for the content of free lysine (agrotechnical experiment)
- VIII. Analysis of variance for the content of total lysine (agrotechnical experiment)

Einfluß der Ernährung und der ackerbaulichen Maßnahmen auf den Gehalt an freiem und Gesamtlysin in Kartoffeln

Es wurde der Einfluß der Ernährung und der ackerbaulichen Eingriffe auf den Gehalt an freiem und Gesamtlysin in Kartoffelknollen verfolgt. Die Ergebnisse wurden mit Hilfe der Varianzanalyse gewertet.

Hierbei wurde festgestellt, daß der Gehalt an freiem und Gesamtlysin durch die Ernährung und die ackerbaulichen Maßnahmen als Gesamtheit nicht signifikant beeinflusst wird, auch wenn in gewissen Fällen signifikante Unterschiede festgestellt wurden.

Während der Vegetation nimmt der Gehalt an freiem Lysin ab, und zwar sowohl in dem Ernährungsversuch als auch in dem Versuch mit verschiedenen ackerbaulichen Maßnahmen. Der Gehalt an Gesamtlysin steigt dagegen bei beiden Versuchen im Verlauf der Vegetation an.

Einen wesentlichen Einfluß sowohl auf den Gehalt an freiem Lysin als auch auf den Gesamtlysingehalt hatte in beiden Versuchen das Vegetationsjahr.

Text zu den Tafeln

- I. Gehalt an freiem Lysin in mg/100 g der ursprünglichen Masse (Ernährungsversuch)
- II. Gesamtlysingehalt in mg/100 g der ursprünglichen Masse (Ernährungsversuch)
- III. Gehalt an freiem Lysin in mg/100 g der ursprünglichen Masse (ackerbaulicher Versuch)
- IV. Gesamtlysingehalt in mg/100 g der ursprünglichen Masse (ackerbaulicher Versuch)
- V. Varianzanalyse für den Gehalt an freiem Lysin (Ernährungsversuch)
- VI. Varianzanalyse für den Gesamtlysingehalt (Ernährungsversuch)
- VII. Varianzanalyse für den Gehalt an freiem Lysin (ackerbaulicher Versuch)
- VIII. Varianzanalyse für den Gesamtlysingehalt (ackerbaulicher Versuch)

Adresa autora:

Ing. Bohumil Míča, CSc., Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod

NIKTORÉ ZMENY V CHEMICKOM ZLOŽENÍ REPNEJ ŠTAVY VYVOLANÉ VÍROVOU ŽLTÁČKOU

(PREDBEŽNÁ ZPRÁVA)

■ Negatívny vplyv vírovej žltáčky na produkčno-ekonomické vlastnosti cukrovej repy bol už viackrát signifikantne dokázaný (Drachovská 1955, Baudyš a kol. 1958, Weismann 1962, Bebjaková 1963). Veľkosť škôd kolíše v závislosti od podmienok pestovania a ochrany porastov.

Súčasný poznatky o podstate škôd vyvolávaných vírovou žltáčkou nie sú úplné. V údajoch jednotlivých autorov, zaoberajúcich sa vplyvom žltáčkového ochorenia na chemickú skladbu repnej rastliny a jej látkovú výmenu, nachádzame protirečenia. V podstate však možno zhrnúť pôsobenie vírovej žltáčky v dvoch smeroch:

- a) štruktúrne zmeny chloroplastov — rozklad chlorofylu,
- b) narušenie vodného režimu.

Dôsledky týchto porúch sa prejavujú v zabrzdzení fotosyntézy, v spomalení až zastavení rastu najmä koreňov, v znížení transpirácie i príjmu vody a v dôsledku toho v znížení príjmu živín, v zintenzívnení disimilačných procesov a poruchami cievnych zväzkov. V listoch sa okrem toho zvyšuje proteolýza a hromadia sacharidy (Drachovská 1955, Wiesner 1960).

Je teda zrejmé, že zmeny vyvolané vírovou žltáčkou sú veľmi hlboké. Podrobné štúdium celého ich komplexu má osobitný význam pre šľachtenie tolerantných odrôd, súčasne však pomáha objasniť výrazný pokles technologickej akosti cukrovej repy pochádzajúcej z napadnutých porastov. Poznanie metabolizmu chorej rastliny umožňuje tiež aktívny zásah pestovateľa sledujúceho zmierňovanie poškodení vyvolaných infekciou (Warchalowa 1962).

MATERIÁL A METODIKA

Materiál pre podrobné chemické analýzy infikovaného i zdravého materiálu pochádza z pokusu s umelou infekciou vírovou žltáčkou cukrovej repy v r. 1963 na HŠSS v Bučanoch. Rastliny boli infikované pomocou vošiek (*Aphis fabae*). Skúšalo sa 17 odrôd a novošľachtení (Bebjaková 1963). Pre podrobné chemické sledovanie som vybral 5 odrôd: 'Dobrovická A', 'Dobrovická V', 'Bučianska VS' a novošľachtenia: tetraploidná 'T02' a 'Bučianska Poly' (anisoploid). Pre chemické rozbory boli použité vzorky pozostávajúce zo 40 koreňov. Z každej sledovanej odrôdy sa odobrali 4 opakovania.

Cukornatosť sme stanovili horúcou vodnou digesciou polarimetricky, kondukciu na Šanderovom konduktometre taktiež po horúcej vodnej digescii repnej kaše.

Ostatné rozbory sme urobili s vylisovanou šťavou, redukujúce látky kolorimetricky metódou Somogyi-Nelson, alkalické kovy na plameňovom fotometri, aminokyseliny dvojrozmernou chromatografiou na papieri. Po elúcii vystrihnutých škvrn metanolom stanovil som aminokyseliny kvantitatívne na spektrálnom fotometri.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vplyv ochorenia vírovou žltáčkou na produkčné vlastnosti všetkých sledovaných odrôd sa prejavil veľmi zreteľne. Pokles úrody v infikovaných porastoch v absolútnych hodnotách i v relácii k štandardnej odrode 'Dobrovická A' (DA zdravá = 100 %) udáva tab. I. Výsledky sú priemerom zo štyroch pokusných parciel.

I. Pokles úrody v infikovaných porastoch

Odroda	Zdravé úroda v q/ha			Infikované úroda v q/ha			Relatívny pokles úrody (zdravé = 100 %)		
	koreň	list	cukor	koreň	list	cukor	koreň	list	cukor
Dobrovická A	505,2	180,4	80,4	370,6	168,5	58,3	73,3	93,4	72,6
Dobrovická V	540,4	202,6	86,1	378,3	174,8	58,6	69,8	85,9	69,5
Bučianská VS	511,7	183,8	80,2	398,0	169,7	61,7	77,4	92,3	76,8
T ₀₂ nšl.	442,0	248,3	75,7	288,0	199,2	47,2	65,2	79,8	62,5
Bučianská Poly	456,4	240,5	80,2	429,7	185,2	66,5	93,8	77,0	83,5

Z výsledkov je zjavné, že úrody koreňa poklesli od 7 % u 'Bučianskej Poly' až po 34,8 % u tetraploidnej odrody. Priemerný pokles výnosu o 24,1 % dobre korešponduje s výsledkami doterajších pozorovaní. Pomerne nízky pokles úrody koreňa u odrody 'Bučianska Poly' je však ojedinelý a v pokusoch v ďalších rokoch sa v tak výraznej miere neprejavil (B e b j a k o v á 1963).

Úroda listu tiež citelne poklesla i keď nemožno hovoriť o tak prenikavých zmenách ako pri úrode koreňa. S výnimkou polyploidného materiálu sú totiž straty úrody okolo 10 %.

Tetraploidná odroda ukazuje v oboch prípadoch maximálne poškodenie.

Produkcia cukru z hektára klesá rovnomerne s výnosom koreňa, priemerné straty sú 25,8 %.

Prehľad technologických vlastností zdravých a infikovaných koreňov podáva tabuľka II.

Z tabuľky je zjavné, že pokles digescie je s výnimkou tetraploidnej odrody celkom nepatrný (priemer 1,95 % rel.). Časť týchto strát možno ešte pripočítať na vrub zvýšenia obsahu látok s opačnou optickou otáčivosťou, čo vedie k zníženiu polarimetrického údaju pri stanovení sacharózy.

V rozpore s Wiesnerom (1965) zaznamenali sme pokles kondukcie u infikovaných riep. Výnimku tvorí iba odroda 'Bučianska Poly'. Z našich novších prác však vyplýva, že tento vzostup pozorovaný v r. 1963 sa v ročníkoch 1964 a 1965 neopakoval ani u spomínanej odrody. Určitým objasnením tejto skutočnosti je pokles sumy alkálií. Nakoľko sme však nesledovali ostatné látky podieľajúce sa na vodivosti, nemôžeme tu robiť jednoznačné uzávery. Pokles vodivosti by však mohol byť potvrdením zníženého príjmu živín.

Veľmi zaujímavú zmenu možno pozorovať v pomere K : Na. V zhode s Wiesnerom (1960) konštatujeme stúpnutie obsahu Na. Obsah K sa však znižuje. V dôsledku vírovej infekcie sa teda pomer K : Na citelne mení v prospech Na. Z prác L ü d e c k e h o (1962) vyplýva, že obsah Na je dobrým indikátorom cukru. Stúpanie obsahu Na v jednotlivých odrodách je sprevádzané po-

II. Prehľad technologických hodnôt sledovaného materiálu

Odroda	Zdravé rastliny							
	Refr. %	Dig. %	Kond.	K %	Na %	Σalk. %	K : Na	Red. látky %
Dobrovická A	18,79	15,9	43,3	0,518	0,132	0,650	3,9	1,30
Dobrovická V	18,86	16,0	44,0	0,417	0,124	0,541	3,4	1,59
Bučianská VS	18,73	15,7	45,8	0,562	0,150	0,712	3,7	1,73
T ₀₂	20,25	17,1	42,3	0,524	0,119	0,643	4,4	1,98
Bučianská Poly	19,88	17,6	41,2	0,521	0,119	0,640	4,4	1,57
Infikované rastliny								
Dobrovická A	18,85	15,8	42,0	0,466	0,135	0,601	3,4	1,93
Dobrovická V	18,85	15,6	40,5	0,331	0,128	0,459	2,6	1,73
Bučianská VS	18,59	15,5	42,2	0,352	0,155	0,507	2,7	2,97
T ₀₂	19,55	16,5	37,2	0,429	0,121	0,613	3,5	2,80
Bučianská Poly	18,35	15,5	46,0	0,263	0,155	0,418	1,7	1,80

klesom cukornatosti. Obsah Na stúpa od cukornatých cez normálne k výnosným odrodám. Pomer K : Na, tzv. K-NA-kvociet, považuje Lüdecke za dôležitý ukazovateľ technologickej akosti.

Ak uvažujeme o Na ako o dôležitom činiteli vo výžive a v adsorpcii iónov na bunkových membránach (K-Na pumpy), môže nám veľa objasniť vyšetrovanie spomínaných vzťahov v otázkach osobitností výživy infikovaného materiálu. Z pokusov Warchalowej (1962) vyplýva, že straty spôsobené virovou žltáčkou možno napr. čiastočne eliminovať zvýšenými dávkami draselných hnojív.

Zníženie obsahu K v infikovaných rastlinách súvisí pravdepodobne veľmi úzko so zmenami vodného režimu.

Riešenie týchto otázok presnými pokusmi je nevyhnutným predpokladom k poznaniu mechanizmu škodlivého pôsobenia vírusy a vyšľachteniu odrody maximálne tolerantnej voči virovej žltáčke. Na druhej strane umožní nám napraviť straty, ktoré už pri infekcii vznikli.

V zhode s literárnymi údajmi sme našli značný vzostup obsahu redukujúcich látok v infikovaných rastlinách (v priemere o 37 % — od 8 % u 'Dobrovickej V' po 71 % u 'Bučianskej VS'). To poukazuje na hlboké zmeny v metabolizme sacharidov a môže to mať tiež značný vplyv na vzostup výroby melasy pri spracovávaní rastlín z chorých porastov.

Osobitnú pozornosť venujeme voľným aminokyselinám. Z hľadiska technologickej akosti možno povedať že tzv. škodlivý dusík sa nevyznačuje veľkou melasotvornosťou (melasotvorný koeficient od 0,11 do 1,03), avšak poruchy dusíkatého metabolizmu sú poruchami syntézy, teda rastu a tvorby úrody. Prehľad zastúpenia jednotlivých aminokyselín v zdravých a chorých rastlinách podáva tabuľka III.

Zvýšenie obsahu aminokyselín (sumárne) u odrôd 'Dobrovická V', 'T₀₂' a 'Bučianská Poly' nemusí byť prejavom zvýšenia syntézy, ba práve naopak poukazuje na zvýšenú proteolýzu.

III. Zastúpenie jednotlivých aminokyselín v zdravých a chorých rastlinách

Odroda	Obsah aminokyselín v zdravých koreňoch v mg na 100 ml šťavy								
	ASP	GLU	GLU NH ₂	VAL	LEU	ASP NH ₂	ALA + THR	SER	Spolu
Dobrovická A	13,5	6,5	299,0	3,5	12,7	1,7	91,7	20,0	448,6
Dobrovická V	10,5	2,5	226,7	2,5	6,0	2,5	36,0	8,5	366,9
Bučianská VS	15,0	7,0	390,0	4,5	18,0	2,5	93,2	23,0	573,7
T ₀₂ nšl.	21,7	8,5	287,0	5,5	13,2	3,5	74,7	18,7	432,8
Bučianská Poly	24,0	9,0	234,0	2,5	15,2	2,5	27,5	13,7	328,4
Odroda	Obsah aminokyselín v infikovaných koreňoch v mg na 100 ml šťavy								
	ASP	GLU	GLU NH ₂	VAL	LEU	ASP NH ₂	ALA + THR	SER	Spolu
Dobrovická A	25,0	9,2	234,0	11,0	22,5	5,0	57,7	20,0	384,4
Dobrovická V	31,5	11,7	330,0	3,7	15,7	5,2	52,5	14,5	464,8
Bučianská VS	34,0	10,5	406,0	5,0	25,7	1,2	25,0	18,7	526,1
T ₀₂ nšl.	27,5	7,5	336,0	8,0	27,2	7,5	65,5	20,2	499,4
Bučianská Poly	36,5	8,7	508,0	8,5	17,5	3,5	75,5	15,0	673,2

U odrôd 'Dobrovická A' a 'Bučianska VS' klesá pravdepodobne sumárny obsah aminokyselín pre silnejšie zabrzdenie syntetických procesov. Výrazný je najmä pokles obsahu alanínu a treonínu, ktoré sú cez kyselinu pyrohroznovú naviazané na celú škálu metabolických dráh. Zaujímavý je tiež obsah serínu u týchto odrôd. Zatiaľ čo u ostatných odrôd pozorujeme po infekcii vzostup obsahu serínu, u odrody 'Dobrovickej A' zaostáva jeho obsah nezmenený a u odrody 'Bučianskej VS' klesá až o 18,5 % relat. v porovnaní se zdravou odrodou. Serín, ako je známe, prechádza enzymatickou dekarboxyláciou a nasledujúcou metyláciou v cholín a betaín, ktoré boli pozitívne dokázané v repných šťavách a sú opodstatnene považované za typických predstaviteľov škodlivého N ($m_k = 1,08$).

Všeobecné stúpnutie obsahu amidov v šťave infikovaných riep je pravdepodobne výsledkom väzby väčších množstiev voľného amoniaku vznikajúceho pri zintenzívnení disimilačných procesov. Oba vzniklé amidy sú látkami stredne melasotvornými (m_k glutamínanu K = 0,99) a podieľajú sa tiež na znížení technologickej akosti infikovaného materiálu.

IV. Prehľad zmien obsahu jednotlivých sledovaných látok v relácii k zdravému materiálu

Odroda	Relat. zmena obsahu sledovaných látok, zdravý koreň = 100 %							
	Refr.	Dig.	Kond.	K	Na	Suma alk.	Red. l.	Suma AMK
Dobrovická A	100,0	99,2	97,0	90,0	102,2	92,5	148,5	85,7
Dobrovická V	100,0	97,6	92,0	79,4	103,1	84,8	108,8	126,7
Bučovická VS	99,3	98,7	92,0	62,6	103,2	71,3	171,5	91,9
T ₀₂ nšl.	96,5	96,6	87,8	81,9	101,8	95,4	141,5	115,2
Bučovická Poly	92,2	88,1	111,2	50,5	131,0	65,5	114,7	205,7

Stručný prehľad zmien obsahu jednotlivých sledovaných látok v relácii k zdravému materiálu podáva tabuľka IV. Zmeny obsahu týchto látok vyvolávané ochorením repných rastlín virovou žltáčkou sú predmetom nášho ďalšieho a hlbšieho štúdia.

SÚHRN

Predložený stručný prehľad širokej škály zmien vyvolaných v chemickom zložení repných koreňov pod vplyvom ochorenia virovou žltáčkou v zhode s literárnymi údajmi konštatuje pokles hektárových úrod koreňa, listu i cukru. K objasneniu poklesu výkonnosti infikovaných rastlín slúžia analýzy obsahu plastických látok. Popisuje sa zmena pomeru K : Na pri poklese obsahu K a súčasnom vzostupe obsahu Na v infikovanom materiáli za súčasného poklesu ich sumárneho obsahu ako aj poklesu kondukcie. V metabolizme sacharidov a voľných aminokyselín dochádza po infekcii k hlbokým zmenám, ktoré by mali byť predmetom intenzívnejšieho štúdia.

Došlo dňa 16. 11. 1965

Literatúra

1. DRACHOVSKÁ, M.: Řepné virosy a jejich přenašeči. Praha, 1955. — 2. BAUDYŠ, E. a kol.: Zemědělská fytopatologie, 2. Praha, 1958. — 3. WEISMANN, L.: Práce Laboratoria ochrany rostlin. 1962, s. 169-202. — 4. BEBJAKOVÁ, G.: Výsledky pokusu s umelou infekciou virovou žltáčkou u cukrovej repy. Ústne zdelenie - nepublikované. 1963. — 5. WIESNER, K.: Tagungsberichte DAL, 24, 1960 : 65-70. — 6. WARCHALOWA, M.: Acta Microbiol. Polon., 1962, 4 : 359-362. — 7. LÜDECKE, H.: Proceeding of the XIth session of the CITS, Frankfurt 1960. 1962.

Некоторые изменения в химическом составе свекольного сока, вызванные вирусной желтухой (предварительный отчет)

Представленный краткий обзор широкой шкалы изменений, вызванных в химическом составе свекольных корней под влиянием заболевания вирусной желтухой, в соответствии с литературными данными констатирует понижение погектарных урожаев корней, ботвы, а также выхода сахара. С целью объяснения понижения урожайности инфицированных растений применялись анализы содержания пластических веществ. В статье описывается изменение отношений K : Na при понижении содержания K и одновременном увеличении содержания Na в инфицированном материале при параллельном понижении их суммарного содержания, равно как и понижения кондукции. В метаболизме сахаридов у несвязанных аминокислот после инфекции происходят большие изменения, которые могли бы быть предметом более интенсивного изучения.

Текст к таблицам

- I. Понижения урожая в инфицированных посевах
- II. Обзор технологических показателей изучаемого материала
- III. Процентная доля отдельных аминокислот у здоровых и больных растений
- IV. Обзор изменений содержания отдельных изучаемых веществ по отношению к здоровому материалу

Some Changes in the Chemical Composition of Beet Sap Caused by Virose Yellows (Preliminary Report)

The presented brief survey of numerous changes produced in the chemical composition of beet roots by the action of virose yellows confirms, in agreement with literature data, the decrease in the per hectare yields of roots, leaves, and sugar. The reduced productivity of the infected plants is elucidated on the basis of an analysis of the content of plastic substances. The author describes the change

in the ratio K : Na at decreasing K content and simultaneously rising Na content in the infected material accompanied by a decrease in the overall content of these elements as well as by a decrease in conductivity. The metabolism of saccharides and free amino acids after infection is subject to profound changes, which should be studied more intensely.

Text to Tables

- I. Decrease of yields in infected plantations
- II. Survey of technological values of the examined material
- III. Representation of individual amino acids in sound and in affected plants
- IV. Survey of changes in the content of the individual investigated substances in relation to sound material

Einige durch die viröse Gelbsucht hervorgerufene Veränderungen der chemischen Zusammensetzung des Zuckerrübensaftes (vorläufiger Bericht)

In dem vorliegenden kurzen Bericht wird eine Übersicht über die große Anzahl der Veränderungen gebracht, die in der chemischen Zusammensetzung der Rüben unter dem Einfluß der Erkrankung an Virusgelbsucht entstehen. Übereinstimmend mit den Angaben in der Literatur wird festgestellt, daß die Hektarerträge an Rüben und Rübenblatt und die Zuckerausbeute sinken. Zur Erklärung der abnehmenden Leistungsfähigkeit der infizierten Pflanzen dient die Analyse des Gehalts an plastischen Stoffen. Ferner wird die Veränderung des Verhältnisses von K : Na bei sinkendem K-Gehalt und gleichzeitigem Anstieg des Na-Gehalts im infizierten Material und die parallellaufende Senkung des Gesamtgehaltes dieser beiden Elemente sowie die Senkung der Konduktion beschrieben. Im Stoffwechsel der Saccharide und freien Aminosäuren treten nach der Infektion starke Veränderungen ein, die der Gegenstand einer intensiveren Untersuchung sein sollten.

Text zu den Tafeln

- I. Abnahme des Ertrags in den infizierten Beständen
- II. Übersicht der technologischen Werte des verfolgten Materials
- III. Vertretung der einzelnen Aminosäuren in gesunden und kranken Pflanzen
- IV. Übersicht der Veränderungen des Gehaltes der einzelnen verfolgten Stoffe in Beziehung zum gesunden Material

Adresa autora:

Vladimír M e g o, Hlavná špecializovaná šľachtiteľská stanica pre semenné okopaniny, Bučany

PŘIROZENÁ RADIOAKTIVITA JAKO SOUČÁST CHEMICKÉHO OBSAHU PŘIROZENÝCH RADIOAKTIVNÍCH PRVKŮ V KONZUMNÍCH ČÁSTECH ZEMĚDĚLSKÝCH PLODIN

■ Ze skupiny přirozených radioaktivních prvků nás z hlediska rostlinné výroby zajímají zejména prvky, které jsou pro výživu rostliny buď prvky biogenými, nebo prvky stopovými. Jsou svým charakterem přirozenými radioaktivními prvky, které se do rostlin dostávají fyziologickou činností i bez úmyslného zásahu člověka. Translokaci těchto přirozených radioaktivních prvků do rostlin nelze zabránit, neboť se přirozeně vyskytují v půdě a jsou přijímány selektivní schopností rostlin v různých kvantech, lokalizují se v konzumních částech kulturních rostlin a odtud přecházejí do potravin rostlinného (i živočišného) původu. Jde zpravidla o produkty, které jsou nezbytnou součástí potravy člověka po celý život.

SOUČASNÝ STAV PROBLÉMU

Přirozené radioaktivní prvky v půdě. Na počátku tohoto století bylo prokázáno (Elster, Geitel 1901), že radioaktivní látky jsou všeobecně rozšířeny (Duchon, Hampl 1959, Lissitzki, Michel 1952) a prokazují úzkou souvislost mezi výživou rostlin a půdoznalstvím. Z radioaktivních prvků je nejrozšířenější draslík (Picciotto 1949), uran a thorium je v zemské kůře obsaženo 10- až 100krát méně, obsah radia je milionkrát menší než obsah draslíku. Celková aktivita radioaktivního draslíku ($^{40}_{19}\text{K}$) v zemské kůře je větší než aktivita všech ostatních přirozeně radioaktivních prvků (dále jen PRP) dohromady. Radioaktivní draslík je v půdě velmi rozptýlen a je v důsledku sorpce trvale poután půdou. Koncentrace draslíku v různých oblastech kolísá a může dosáhnout v břidlicích až 6,5 %. Největší obsah PRP byl pozorován v kyselých magmatických horninách, nejmenší ve vápenci. Vyšetřováním radioaktivních látek v horninách a půdě se zabývali četní badatelé (Ambrohn 1926, Elster, Geitel 1901, Geitel 1920, Gockel 1914, Meyer, Schweidler 1927 aj.); o stopových množstvích stroncia, ruthenia a zirkonu v půdách a v rostlinách se zmiňuje Klečkovskij a Guljakin (1958). Největší množství uranu je koncentrováno v křemenco-živcové části hornin (Gerasimovský 1956).

Obsah PRP v půdě závisí hlavně na těch horninách, ze kterých se tyto půdy vytvářejí. Půdy vzniklé na kyselých magmatických horninách obsahují relativně větší množství uranu, thoria a draslíku než půdy vytvářené na ultrazásaditých a zásaditých horninách. Hlinité půdy jsou téměř všude bohatší na radioaktivní prvky než půdy písčité. Radioaktivita půdy se úměrně zvyšuje s obsahem koloidních frakcí (Vinogradov 1950, 1952, 1956). Chování thoria v půdách je charakterizováno tím, že thorium zůstává v těch horninách, které se nerozpadají, a má tendenci ke hromadění v horních vrstvách půdy. Podle četných údajů (Baranov, Grčeva 1928, 1935, Sonberg 1946, 1951) obsah radia v horních vrstvách půd Středoruské vysočiny kolísá v hranicích $2,8 \cdot 10^{-11}$ do $9,5 \cdot 10^{-11}$ %, obsah uranu dosahuje $1,10^{-5}$ až $1,80 \cdot 10^{-4}$ % (v průměru 10^{-5} %) a thoria $2,3 \cdot 10^{-4}$ až $14 \cdot 10^{-4}$ %. Z našich oblastí je uváděn obsah thoria v sedimentech — písky a pískovce $5 \cdot 10^{-4}$ %, jílovité břidlice $10 \cdot 10^{-4}$ %, vápenec $1 \cdot 10^{-4}$ % (Kašpar 1959); kyselé horniny obsahují $3,5 \cdot 10^{-4}$ % U,

neutrální $1,8 \cdot 10^{-4} \%$, zásadité $3,0 \cdot 10^{-5} \%$ U, ultrazásadité $3,2 \cdot 10^{-4} \%$ U (Stoklasa, Pěnkava 1926). Zeměpisné rozšíření PRP je ostře ohraničeno, vznikají tak radioaktivní provincie (Kašpar 1959). Velikost dávky záření z vnějších zdrojů značně kolísá podle oblasti; je značně vyšší v oblastech s radioaktivními minerály. V některých místech, například v Travencore v Indii, kde je vysoce radioaktivní písek, dávky záření z vnějších zdrojů mohou být značně vysoké, až 157 rentgenů za 30 let.

Přirozené radioaktivní prvky v rostlinách. Schopnost hromadění PRP u rostlin byla potvrzena řadou autorů (Evans 1948, Vernadský 1929 aj.), průměrný obsah zářičů alfa v rostlinách se pohybuje mezi $1,4 \cdot 10^{-10}$ a $3,1 \cdot 10^{-9}$ curie/kg. U cukrovky se K hromadí převážně ve starších listech (Myslivec 1958). Z přirozené radioaktivních látek v rostlinách vytvářejí největší dávku záření $^{40}_{19}\text{K}$, dávka vytvářená zářením uranu, thoria, radia nebo uhlíku je zanedbatelně malá. V 1 g hmoty rostliny je obsaženo 1–20 mg přírodního K, což způsobuje 3–40 β -desintegrací $^{40}_{19}\text{K}$ /1 min. Nejvíce K je obsaženo v luštěninách: v sóji, hrachu, bobech a fazolích. Obsah $^{40}_{19}\text{K}$ v rostlinách, které člověk spotřebovává v potravě, činí v průměru $1,2 \cdot 10^{-9}$ až $1 \cdot 10^{-8}$ curie/kg. V organismu zvířat je obsah $^{40}_{19}\text{K}$ menší než v rostlinách, uvádí se (Vinogradov 1956), že v 1 g měkkých tkání proběhne průměrně asi 50 rozpadů/1 min $^{40}_{19}\text{K}$. Ve tkáních domácích zvířat, jejichž maso konzumujeme, je obsaženo $4 \cdot 10^{-9}$ curie $^{40}_{19}\text{K}$ v 1 g tkáně. Koncentrace radia v organismu suchozemských zvířat, podle Vernadského 10^{-15} g/1 kg (1929), podle Vinogradova (1956) $2 \cdot 10^{-14}$ g/1 kg, odpovídá přibližně koncentraci radia v suchozemských rostlinách. Obsah radia v rostlinách je přibližně 1000× menší než obsah K (Vernadský 1929). Daleko méně máme údajů o obsahu uranu v rostlinách a organismu zvířat. Obsah radia v bramborách z různých oblastí Německa ukázal, že na severu je obsaženo průměrné množství $1 \cdot 10^{-15}$ curie/1 g čerstvého produktu neboli $3,38 \cdot 10^{-13}$ curie/1 g vápníku, který je v bramborách obsažen, ale v jižních oblastech v množství $0,6 \cdot 10^{-15}$ curie/g neboli $1,24 \cdot 10^{-13}$ curie na 1 g vápníku. Podle údajů Drobkova (1958) je K obsažen v zrnech pšenice v množství 1,61 %, hrachu 1,14 %, bramborách 2,28 %. Údaje umožňující vypočítat množství draslíku a radia, které se dostávají potravou do organismu člověka, uvádí řada autorů (Anderson 1957, Anderson, Shuch, Fischer, Langhem 1956, Hursch 1954, 1957, Marej 1958, Muth, Schraub, Aurand, Hautke 1957). Slunečnice, vojtěška, řepa mají porušený růst a nevytvářejí poupata, jestliže v půdě není obsažen uran, radium, thorium (Vinogradov 1950). Topografická distribuce PRP v plodnicích hub byla popsána v několika domácích pracích (Pešek 1963, 1964), zjištěná aktivita kolísala kolem $5 \cdot 10^{11}$ Ci. PRP obsažené v rostlinách dostávají se i do potravin rostlinného (živočišného) původu (Vlasjuk 1958).

Údaje o radioaktivitě živočišných výrobků uvádějí další zahraniční autoři (Bělousova, Štukkenberg 1963, Muth, Schraub, Aurand, Hautke 1957 atd.). V domácí literatuře nebyla dosud zjištěna práce zabývající se dozimetrickým proměřením konzumních částí jednotlivých odrůd zemědělských plodin.

MATERIÁL A METODIKA

Konzumní části zemědělských výrobků, v daném případě semena a rostlinné části, byly připraveny jako vzorky k dozimetrickému měření převedením na sušinu a popel. Jednogramové vzorky byly připevněny kanadským balzámem do měřicích hliníkových místiček. Vlastní dozimetrické měření vzorků bylo provedeno přístrojem pro měření radioaktivity RA NZQ 615 s automatickým záznamem impulsů na evidenční pásku běžně používanou měřicí technikou. Počet změřených impulsů byl srovnán se standardem o známé radioaktivitě a podle známých parametrů měřicího přístroje byl počet impulsů přepočten na jednotky radioaktivity. Před každou sérií měření bylo změřeno pozadí.

Výsledky měření byly zhodnoceny metodami experimentální statistiky. Měření bylo provedeno na katedře fyziologie rostlin přírodovědecké fakulty KU v Praze.

Odebrané vzorky konzumních částí zemědělských plodin byly odebrány jako reprezentativní vzorky téhož druhu, odrůdy a z téhož roku sklizně ve 3 oblastech ČSSR s odlišným geologickým podkladem.

Radiogramy jako doplňkovou ilustrační materiál byly zhotoveny světově uznávanou metodikou uváděnou řadou autorů (Demers 1946, Hevesy 1953, Chamie 1929, Landa 1955, Libby 1955, Lissitzki, Michel 1952, Myslivec 1958, Picciotto 1949, Zem. botanika 1962, Weil, Williams 1951). Detekčním ma-

Ia. Obsah PRP v rostlinách a potravinách z nich vyrobených

Autor	Prvek	Produkt	mg Ra v 1 g popela spáleného produktu	Poměr koncentrace Ra ke koncentraci Ca (na 1 g Ca připadá 10^{-13} g Ca)
14, 15	Ra	fazole, hrách zelený	6,2	16
		hrách zelený	21,0	80
		hrách zralý	22,0	240
21		brambory	$4 \cdot 10^{-14}$ až $87 \cdot 10^{-14}$	—

Ib. Obsah PRP v rostlinách a potravinách z nich vyrobených

Autor	Prvek	Produkt	mg K na 1 kg plodiny	obsah $\frac{40}{19}$ K v C/kg plodiny
6	K	mouka pšeničná z loupáného zrní	2430	$1,9 \cdot 10^{-9}$
		mouka pšeničná jemná	860	$0,7 \cdot 10^{-9}$
		mouka žitná z loupáného zrní	3400	$2,7 \cdot 10^{-9}$
		chléb pš. z loupáného zrní	1530	$1,2 \cdot 10^{-9}$
		chléb žitný	2420	$1,9 \cdot 10^{-9}$
		makaróny	1300	$1,1 \cdot 10^{-9}$
		pohanková krupice	1300	$1,1 \cdot 10^{-9}$
		ovesné vločky	3440	$2,8 \cdot 10^{-9}$
		ječná krupice	2410	$1,9 \cdot 10^{-9}$
		rýže	700	$0,6 \cdot 10^{-9}$
		hrách (sušený)	9070	$7,4 \cdot 10^{-9}$
		fazole	11440	$9,4 \cdot 10^{-9}$
		boby (sušené)	12290	$1,0 \cdot 10^{-9}$
		sójová mouka	22500	$1,8 \cdot 10^{-9}$
		bramborová moučka	1290	$1,0 \cdot 10^{-9}$
		brambory	4490	$3,4 \cdot 10^{-9}$
		kyselé zelí	2100	$1,7 \cdot 10^{-9}$
		řepa	3530	$2,9 \cdot 10^{-9}$
		mrkev	2870	$2,3 \cdot 10^{-9}$
		cibule	1510	$1,2 \cdot 10^{-9}$
		okurky	3370	$2,7 \cdot 10^{-9}$
		rajská jablka	3100	$2,5 \cdot 10^{-9}$
		sušená jablka	1270	$1,0 \cdot 10^{-9}$
		hrušky	1320	$1,1 \cdot 10^{-9}$
		meruňky	2840	$2,0 \cdot 10^{-9}$

teriálem byly fotodesky Isopan Agfa ISS 21⁰/Din, jejichž vhodnost ke kvalitativním účelům byla vyzkoušena v předchozích pracích (Pešek 1963, 1964 aj.), exponované 480—720 hodin. Negativní materiál byl zpracován běžným způsobem a byly zhotoveny pozitivní radiogramy. Tloušťka řezů organického materiálu byla 0,25 mm v tangenciální ose. Ověření předcházejících měření radioaktivity PRP dozimetricky bylo provedeno analyticky stanovením draslíku jako nejpodstatnějšího zdroje přirozené radioaktivity v rostlinách, a to potenciometrickou titrací z popela podle metody Doležal-Zýka (1961) a srovnáno (Heyrovský 1958, Kemula, Kornacki 1954, Langer, Stevensen 1942, Sonberg 1946, 1951, Jagoda 1949, Jasumori 1952).

Důkaz byl tedy proveden dvěma metodami: 1. dozimetricky (vyjádření radioaktivity kvantitativně), 2. analyticky (určení převážné části radioaktivity vážící se kvalitativně k určitému PRP). Šlo o orientační vyjádření radioaktivity jako sumy, nikoliv o kvalitativní určení jednotlivých složek záření.

Úkolem práce bylo provést předběžné a orientační dozimetrické měření přirozené radioaktivity konzumních částí jednotlivých odrůd zemědělských plodin ve třech oblastech ČSSR s rozdílným geologickým podkladem. Cílem pak bylo podat orientační přehled o přirozené radioaktivitě a její rozdílnosti u jednotlivých odrůd v různých oblastech a upozornit na důležitost sledování tohoto problému z hlediska agrochemie s případným aspektem na technologické vlastnosti zemědělských produktů.

VÝSLEDKY

Výsledky orientačního dozimetrického měření jsou uvedeny v tabulce II.

PŘEDBĚŽNÁ ZJIŠTĚNÍ

1. Hromadění PRP v zemědělských plodinách probíhá nerovnoměrně a je závislé na druhu rostliny, chemické povaze PRP a na tom, kterou část rostliny sledujeme. Přirozená radioaktivita (dále jen PR) zemědělských plodin téhož druhu, odrůdy a z téhož roku sklizně závisí na obsahu PRP v půdě. Obsah PRP v půdě jako zdroj PR konzumních částí zemědělských plodin (finálních výrobků) je ovlivňován geologickým podkladem, druhem a typem půdy, hnojením. PRP obsahující radioaktivní izotopy, přijímané jako minerální výživa zemědělských plodin, jsou v procesu ontogeneze zemědělských plodin translokovány do rostlinných těl, kde se v určitých rostlinných částech lokalizují.

Konzumní části zemědělských plodin obsahujících PRP jako součást chemického obsahu rostlinného těla, jsou zdrojem PR potravin z nich vyráběných. Této přirozené radioaktivitě je vystaveno obyvatelstvo (i když v malých a normu nepřekračujících dávkách) konzumující rostlinné (živočišné) potraviny jako součásti životního radioaktivního pozadí. Jde tedy o faktor uplatňující se po celý život člověka v důsledku objektivních podmínek jeho existence.

2. PR konzumních částí zemědělských plodin je značně diferencována, a to jak u jednotlivých odrůd téhož druhu zemědělské plodiny (viz tab. II např. pšenice: srovnat odrůdy poř. č. vz. 2-14; ječmen poř. č. vz. 16-28 atd.) a téže oblasti, tak i mezi jednotlivými druhy zemědělských plodin (viz tab. II např. pšenice, ječmen, oves atd.) z téže oblasti. Diferenciace přirozené radioaktivity konzumních částí zemědělských plodin v téže oblasti je určována především petrografickým charakterem geologického podkladu (zdroj PR oblasti), ze kterého vznikala půda, chemickou kvalitou dodávaných prvků do půdy hnojením, selektivní schopností rostlin osvojovat si PRP z půdy a lokalizovat je v konzumních částech rostliny. Značná je rozdílnost radioaktivity konzumních částí zemědělských plodin téhož druhu a odrůdy z různých oblastí.

II. Dozimetrické měření konzumních částí zemědělských plodin.

Měření bylo provedeno v r. 1964 na katedře fyziologie rostlin Přírodovědecké fakulty KU v Praze, vzorky k měření byly připraveny na katedře biologie Pedagogické fakulty KU v Praze. Vzorky rostlinného materiálu pocházejí z pěstování JZD Libeňnice okr. Kolín (oblast 1), šlechtitelské stanice ve Stupicích (oblast 2), botanické zahrady v Olomouci (oblast 3).

Číslo vzorku	Poř. č. vzorku	Plodina, odrůda	Původ z oblasti	Aktivita 1 kg sušiny konzumní části v mμ c
Obilniny:				
Pšenice —				
2	1	Hadmerslebener III.	1	5,4
121	2	Diana 3	2	44,0
111	3	Chlumecká 12	2	54,8
112	4	Hadmerslebener VIII.	2	143,5
109	5	Kaštická osinatka	2	0,7
126	6	Ruzyňská II.	2	14,5
208	7	Zlatka	2	36,8
120	8	Kaštická osinatka	2	18,3
119	9	Niva	2	10,0
107	10	Košutská	2	14,0
114	11	Přerovská PK	2	7,2
110	12	Slovenská 200	2	59,7
127	13	Ratbořská	2	28,3
113	14	Farsal	2	38,9
Ječmen —				
3	15	Ekonom	1	323,7
142	16	Ekonom	2	11,6
132	17	Pavlovický	2	128,9
134	18	Pavlovický	2	15,7
138	19	Branišovický	2	10,0
91	20	Víceřadý černý	2	4,0
124	21	Stupický šestiřadý	2	16,4
141	22	Stupický šestiřadý	2	2,1
125	23	Kápořský šestiřadý	2	1,3
123	24	Slovenský 802	2	28,9
128	25	Dvouřadý nahý	2	32,4
135	26	Semčický hospodář	2	38,1
115	27	Valtický jarní	2	0,7
131	28	Výnosný	2	87,0
Žito —				
5	29	Ratbořské	1	8,3
6	30	Ratbořské	1	6,2
7	31	Ratbořské	1	17,6
55	32	Ratbořské	1	50,5
57	33	Ratbořské	1	1,0
58	34	Ratbořské	1	0,5
139	35	Zenit	2	31,0
118	36	Ratbořské	2	12,8
133	37	Dobřenská krmná	2	150,8
129	38	Trsnaté	2	15,7

Číslo vzorku	Poř. č. vzorku	Plodina, odrůda	Původ z oblasti	Aktivita 1 kg sušiny konzumní části v μ c
Kukuřice —				
73	39	Hybrid KC ₃	2	175,1
68	40	Hodonínský koňský zub žlutý	2	177,2
72	41	Hybrid VH ₂	2	22,1
67	42	Čejčský raný koňský zub	2	4,6
69	43	Hybrid K a Z	2	9,4
71	44	Koňský zub bílý	2	10,2
Oves —				
137	45	Nalžovský	2	15,1
130	46	Krukanický nahý	2	11,0
140	47	Český žlutý	2	2,9
122	48	Šumavský	2	55,4
Ostatní obiloviny —				
56 A	49	pohanka	3	3,9
136	50	rýže	3	2,7
93	51	proso odr. Hanácká mana	3	4,5
95	52	proso odr. Hanácká mana	3	5,4
94	53	proso odr. Slovenské červené	3	9,4
Bob —				
101	54	Zborovický	2	35,1
63	55	Povážský	2	47,8
66	56	Chlumecký	2	17,3
Luštěniny —				
Hrách, fazole				
87	57	Milion žlutý	2	1,0
89	58	Židlochovický	2	49,4
99	59	Raman	2	23,2
62	60	Orion bílá	2	175,9
Olejniny —				
Sója, řepka, slunečnice, mák, ricinus, saflor				
100	61	sója	2	33,2
80	62	řepka odr. ozimá slapská	2	30,8
81	63	řepka odr. jarní	2	54,6
97	64	řepka odr. Třebíčská	2	4,8
78	65	slunečnice	2	3,2
23 A	66	slunečnice	3	5,5
31	67	mák	1	17,6
70 A	68	mák	3	9,4
77	69	mák	2	0,7
54 A	70	ricinus (skočec)	3	11,6
96	71	ricinus (skočec)	2	7,0
98	72	saflor	3	5,6
Ostatní plodiny —				
38	73	cibule odr. Všetatská	1	1,3
92	74	hořčice bílá odr. Přerovská	3	5,9
27	75	brambor odr. Karmen	1	12,1
10	76	řepa cukrovka odr. Dobrovická N	1	5,6
1	77	řepa cukrovka odr. Dobrovická N	1	1,6

DISKUSE

Na kongresu o cizorodých látkách v poživatinách v Brně 19. 11.—21. 11. 1964 nebylo o problému PRP v poživatinách diskutováno a dosud není ujasněno, do které skupiny látek z hlediska hygieny PRP zařadit, což se nepodařilo ani komisi expertů FAO/OMS, /SO, ani komisi Codex alimentarius. Výsledky předložené práce potvrdily přítomnost PRP po stránce kvantitativní v konzumních částech zemědělských plodin. Pro hygienu má mimořádný význam sledování oblastí s přirozenými radioaktivními prvky obsaženými v orné půdě, které jsou transportovány do konzumních částí zemědělských plodin a tím do potravin rostlinného a živočišného původu. Dosud však nebyla tomuto problému u nás věnována systematická pozornost.

Převážná část přirozené radioaktivity konzumních částí zemědělských plodin je vytvářena přírodním draslíkem, a to jeho radioaktivním izotopem $^{40}_{19}\text{K}$. Druhou skupinu PRP obsažených v konzumních částech zemědělských plodin tvoří prvky, které jsou v půdě přítomny ve značně menším množství než K, např. uran, thorium, radium, vanad, rubidium, zirkon, indium, cín, lantan, samarium, lutecium, wolfram, vizmut atd., jejichž význam v rostlinném organismu není dosud přesně znám, a rovněž není znám mechanismus uplatnění radioaktivního záření na fyziologickou činnost rostlinné buňky, uplatnění malých dávek záření na výměnu látkovou rostlin a živočichů. Značný význam hygienický i agrotechnický má sledování těchto prvků obsažených v konzumních částech zemědělských plodin z hlediska transportu z přirozených zdrojů do potravin rostlinného (živočišného) původu. Z tohoto hlediska může tentýž výrobek (potravinářský, např. mouka hladká, hrubá, krupice atd.), vyrobený z různých odrůd, např. obilovin, mít rozdílný charakter co do obsahu PRP, tedy i co do specifické aktivity, druhu rozpadu, penetrance atd. Předložená práce má informativní význam, upozorňuje na nové aspekty sledování technologické kvality zemědělských výrobků i další z toho vyplývající úkoly pro agrochemii a výživu rostlin, hnojení, pedologii atd. a upozorňuje na dosud u nás neřešené aplikované problémy v zemědělství. Stručná informace tedy jen nastiňuje cesty — informuje, a nemá charakter komplexního regionálního zpracování nebo speciálního odrůdového zpracování, které bude předloženo po komplexním zpracování naznačeného problému.

Dozimetrické měření vzorků vykazovalo rozdílnost v přirozené radioaktivitě jak u jednotlivých odrůd téhož druhu a z téže oblasti (např. vz. č. 2—14, 16—28, 29—34, 35—38, 39—44, 45—48, 54—56 atd.), tak i mezi jednotlivými druhy (např. vz. č. 2—14, srovnej 16—28, srovnej 29—34 atd.) z téže oblasti i mezi jednotlivými oblastmi (např. vz. č. 29—34, srovnej 35—38, srovnej 66—69 atd.), což bylo potvrzeno i chemicky.

Předložená práce dává metodický návod pro event. konstrukci pokusu se zaměřením agrotechnickým, na který lze navazovat.

Z hlediska látek kontaminujících potraviny je třeba věnovat problému v oblasti zemědělství zvýšenou pozornost a péči, neboť většina uváděných zemědělských plodin tvoří nezbytnou součást potravy člověka a je požívána po celý život. Určení hranic přípustné koncentrace je však záležitostí potravinářské chemie a medicíny.

SOUHRN

Předložená práce se zabývá dozimetrickým měřením přirozených radioaktivních prvků v konzumních částech zemědělských plodin ve třech oblastech ČSSR. Měření bylo provedeno přístrojem RA NZQ 615, u jednotlivých skupin

plodin byly proměřeny pěstované odrůdy a specifická radioaktivita byla vyjádřena na 1 kg sušiny zemědělského výrobku v milimikrocurie: u pšenice obsahuje 0,7–143,5; u jčmene 0,7–323,7; u žita 0,5–150,8; u kukuřice 4,6–177,2; u ovsa 2,9–55,4; u bobu 17,3–47,8; u hrachu a fazolí 1,0–175,9; u olejnin 0,7–54,6 milimikrocurie.

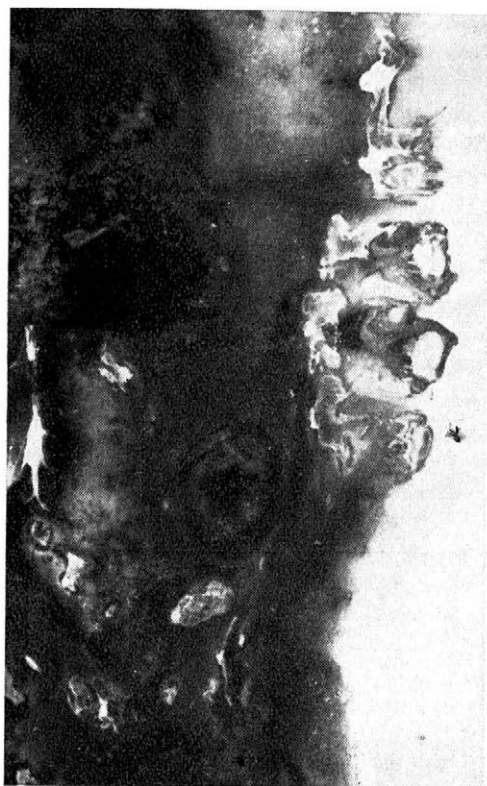
Hromadění přirozených radioaktivních prvků v zemědělských plodinách probíhá nerovnoměrně a je závislé na druhu rostliny, chemické povaze přirozeného radioaktivního prvku a na tom, kterou část rostliny sledujeme. Radioaktivita zemědělských plodin téhož druhu, odrůdy z téhož roku sklizně závisí na obsahu radioaktivních prvků v půdě. Obsah přirozených radioaktivních prvků v půdě jako zdroj radioaktivity konzumních částí zemědělských plodin (finálních výrobků) je ovlivňován geologickým podkladem, druhem a typem půdy, hnojením. Přirozené prvky obsahují radioaktivní izotopy, přijímané jako minerální výživa zemědělských plodin, jsou v procesu ontogeneze zemědělských plodin translokovány do rostlinných těl, kde se v určitých rostlinných částech lokalizují.

Radioaktivita konzumních částí zemědělských plodin je značně diferencována, a to jak u jednotlivých odrůd téhož druhu zemědělských plodin, tak i mezi jednotlivými druhy zemědělských plodin z téže oblasti. Diferenciace radioaktivity konzumních částí zemědělských plodin z téže oblasti je určována petrografickým charakterem geologického podkladu, ze kterého vznikala půda, chemickou kvalitou dodávaných prvků do půdy hnojením, selektivní schopností rostlin přijímat radioaktivní prvky z půdy a lokalizovat je v konzumních částech rostliny. Značná je rozdílnost radioaktivity konzumních částí zemědělských plodin téhož druhu z různých oblastí.

Došlo dne 16. 11. 1965

Literatura

1. AMBRONN, R.: Die Methoden der angewandten Geophysik, 1926. — 2. ANDERSON, W.: „Brit. J. of radioal., Suppl.“, 1957, 7. — 3. ANDERSON - SHUCH - FISCHER - LANGHEM: „Science“, 1956, 125, 3261. — 4. BARANOV, V. I. - GRAČEVA, E. G.: „Geofyzika i meteorologija“, 1928, č. 5, s. 4. — 5. BARANOV, V. I. - GRAČEVA, E. G.: „Geofyzika“, 1935, 1. — 6. BÉLOUSOVA, L. M. - ŠTUKKENBERG, J. M.: Přirozená radioaktivita, 1963, 7-167. — 6a. DEMERS, P.: „Phys. Rev.“, 1946, s. 70-974. — 6b. DOLEŽAL, J. - ZÝKA, J.: Potenciometrické titrace. SNTL 1961, 2, 38-39. — 7. DUCHOŇ, F. - HAMPL, J.: Agrochemie. SZN 1959, s. 423. — 8. DROBKOV, A. A.: Mikroelementy i jestestvenno radioaktivnyje elementy v žizni rastenij i životnych. Izd. AN SSSR, 1958. — 9. ELSTER, J. - GEITEL, H.: „Phys. Z.“, 1901, 2, s. 590-593. — 10. EVANS, R. D. - EVANS, R. O.: „Rev. Mod. Phys.“, 1948, 20, 305. — 11. GEITEL, H.: Die Radioaktivität von Erde u. Atmosphäre. Handbuch der Radiologie, sv. 1, 1920. — 12. GERASIMOVSKIJ, V. I.: Minerály urana. = „Atom. Energia“, Moskva, 1, 1956, s. 4-130. — 13. GOCKEL, A.: Die Radioaktivität von Boden u. Quellen. Samm. Vierweg, h. 5, 1914. — 13a. HEVESY, G.: „Naturwiss. Rundschau“, 1953, 221. — 13b. HEYROVSKÝ, A.: „Chem. listy“, 1958, 52, s. 40. — 14. HURSH, J. B.: „Nucleonics“, 1954, s. 1-12. — 15. HURSH, J. B.: „Brit. J. of radiology, Suppl.“, 7, 1957. — 15a. CHAMIE, C.: „J. phys. radium“, 1929, 10, s. 44. — 16. KAŠPAR, J.: Nerosty radioaktivních prvků. Praha 1959, s. 7-155. — 16a. KEMULA, W. - KORNACKI, J.: „Rocz. chem.“, 1954, č. 28, s. 635. — 17. KLEČKOVSKIJ, V. M. - GULJAKIN, I. V.: Povedenije v počvach i rastenijach mikroličestv stroncija, cezija, rutenija i cerkvija. = „Počvovedenije“ 1958, č. 3, s. 1-16. — 17a. LANGER, N. - STEVENSON, D. P.: „Ind. Eng. Chem. Anal. Chem.“, 1942, č. 14, s. 770. — 17b. LAUDA, H.: Photographische Methoden in der Radiochemie. Handbuch der mikrochemischen Methoden. Bd. II. Springer, Wien, 1955. — 18. LEMMERMANN, O.: „Zeitschrift f. Pflanzenernährung, Düngung u. Bodenkunde“, Ver. Chemie GMBH Weinheim B, 1952, s. 1-72. — 18a. LIBBY, W. F.: Radiocarbon Dating II. Univ. Chicago Press, 1955. — 18b. LISSITZKI, S. - MICHEL, R.: „Bull. Soc. Chim. France“ 1952, 891. — 19. MAREJ, A. N.: Sanitarnaja ochrana otkrytych vodojemov ot zagrjaznenija radioaktivnymi veščestvami. Moskva 1958. — 20. MEYER, S. - SCHWEID-



1 A

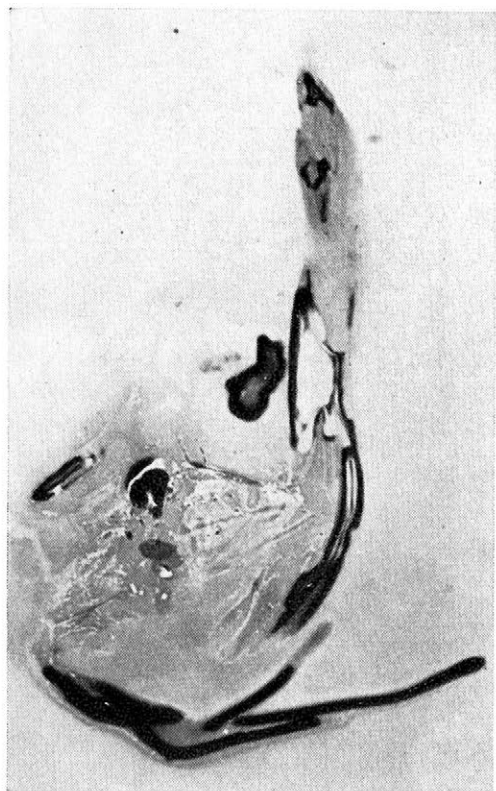
1 B



1 A—D. Pozitivní radiogramy některých dozimetricky měřených vzorků konzumních částí zemědělských plodin; expozice 480—720 hodin, tloušťka řezů organického materiálu 0,25 mm v tangenciální ose.

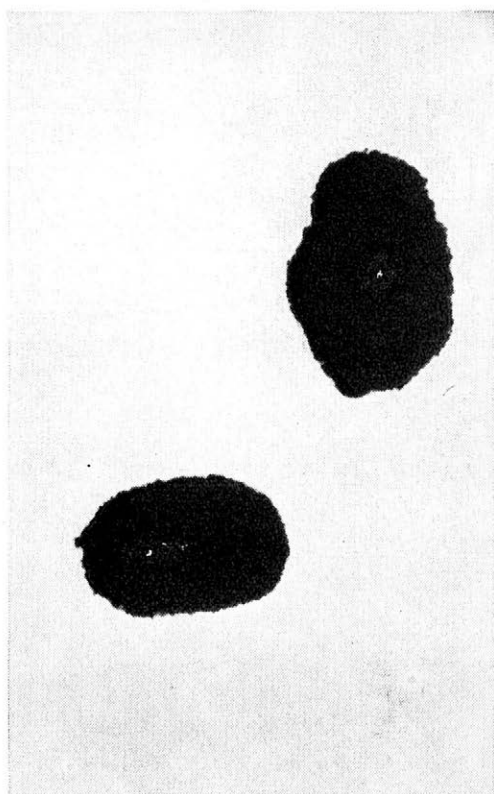
1A — Průřez kukuřičným klasem; levá část radiogramu klas, pravá část radiogramu semena

1B — Semeno hrachu v lusku; levá část radiogramu čtyři vyjmutá semena v průřezu, pravá část radiogramu apikální část lusku s dvěma semeny



1 C

1 D



1C — Klíčící semeno pšenice, lokalizace PRP patrna v růstových částech, tj. v klíčku a primárních koříncích

1D — Semeno pšenice v průřezu

Všechny autoradiograficky a dozimetricky rozborované konzumní části zemědělských plodin byly měřeny ve stavu sklizňové zralosti. Lokalizace PRP je zřetelná ve zčernalých místech radiogramu a váže se k určitým orgánům (částem) konzumních částí zemědělských plodin. (Originál ing. F. Pešek)

LER, K.: Radioaktivität. 2. Ver. 1927. — 21. MUTH, H. - SCHRAUB, A. - AURAND, K. - HANTKE, H. I.: „Brit. J. of Radiol., Suppl.“, 1957, 7. — 22. MYSLIVEC, V.: Atomy pomáhají zemědělství. SZN 1958, 9, s. 235. — 23. PEŠEK, F.: Předběžné sdělení o autoradiografickém důkazu přítomnosti radioaktivních prvků v plodnicích hub. = „Česká mykologie“, 18, 1964, č. 5, s. 232-233. — 24. PEŠEK, F.: Několik původních sdělení o houbách z oblasti Staročeského pásma na Kaňku u K. Hory. = „Mykol. sb.“ XLI, 1964, č. 3-4, s. 50-51. — 25. PEŠEK, F.: ^{199}K u houby *Lepiota*. = „Mykol. sb.“ XLI, 1964, č. 5-6, s. 75-77. — 26. PEŠEK, F.: Mykoradiobiologie jako nový směr výzkumu v mykologii. = „Mykol. sb.“ XL, 1963, č. 7-8, s. 97-103. — 27. PETROVÁ, J.: Příspěvek ke studiu radioaktivity kalia a rubidia, 1926, s. 6. — 27a. PICCIOTTO, E. E.: C. r. 228, 2020, 1949. — 28. SODERŽANIJE prirodnych radioaktivnych veščestv v atmosfere i vodach v predelach teritorii SSSR, Moskva 1956. — 28a. SONBERG, G.: „Svensk Kem. Tid.“, 1946, č. 58, s. 197. — 28b. SONBERG, B.: Sborník I. mezinár. polarograf. sjezdu, I. Praha 1951, s. 227. — 29. STOKLASA, J. - PĚNKAVA, J.: Radioaktivita půdy a vzduchu jako vegetační faktor pro vývoj rostlin kulturních. = „Zprávy veř. sl. tech.“, 1926, č. 1, s. 26. — 30. VERNADSKIJ, V. I.: „DAN SSSR“, ser. 2, 1929, č. 2. — 31. VINOGRADOV, A. P.: Geochimija redkich i rassejannyh chimičeskich elementov v počvach. Izd. AN SSSR, 1950. — 32. VINOGRADOV, A. P.: Trudy konferencii po mikroelementam. Izd. AN SSSR, Moskva 1952. — 33. VINOGRADOV, A. P.: „DAN SSSR“, T. 110, 1956, č. 3. — 34. VINOGRADOV, A. P.: „Geochimija“ 1956, č. 1. — 35. VLASJUK, O. A.: K voprosu o dejstviji jadernyh izlučenij na rasténija. = „DAN SSSR“ 108, 1953, č. 1, s. 562-564. — 36. VAJNAR, N. V.: Biologičeskaja roľ mikroelementov v organisme životnych i čeloveka. Izd. Sovetskaja nauka, 1953. — 37. ZEMĚDĚLSKÁ botanika. Praha 1962, č. 2, s. 136-137. — 38. WEIL, H. - WILLIAMS, T. I.: „Angew. Chem.“, 1951, č. 63, s. 457. — 39. YAGODA, H.: Radioactive Measurements with Nuclear Emulsions. Wiley, New York, 1949. — 40. YASUMORI, Y.: „Bull. Soc. Japan“, 1951, č. 24, s. 107; Chem. Abstr. 11028, 1952, s. 46.

Природная радиоактивность как составная часть химического содержания природных радиоактивных элементов в потребительских частях сельскохозяйственных культур

Работа занимается дозиметрическим измерением природных радиоактивных элементов (ПРЭ) в потребительских частях сельскохозяйственных культур в 3 областях ЧССР. Измерение проводилось при помощи прибора RANZQ 615, у отдельных групп культур были измерены возделываемые сорта, а специфическая радиоактивность была выражена на 1 кг сухого вещества сельскохозяйственного продукта в миллимикрорюри: у пшеницы она равна 0,7-143,5, у ячменя — 0,7-323,7, у ржи — 0,5-150,8, у кукурузы — 4,6-177,2, у овса — 2,9-55,4, у бобов — 17,3-47,8, у гороха и фасоли — 1,0-175,9, у маслиных — 0,7-54,6 миллимикрорюри. Результаты измерения были проверены также автордиографически и химически.

Накопление природных радиоактивных элементов в сельскохозяйственных культурах проходит неравномерно и зависит от вида растений, химического характера природного радиоактивного элемента, а также от того, какую часть растений мы изучаем. Природная радиоактивность сельскохозяйственных культур одного и того же вида, сорта и того же года уборки зависит от содержания природных радиоактивных элементов в почве. Содержание природных радиоактивных элементов в почве как источника радиоактивности потребительских частей сельскохозяйственных культур (финальных продуктов) находится под влиянием геологической основы, вида и типа почвы, удобрения. Природные радиоактивные элементы содержат радиоактивные изотопы, получаемые в качестве минерального питания сельскохозяйственных культур, в процессе онтогенеза сельскохозяйственных культур, они перемещаются, в растительных частях локализируются.

Природная радиоактивность потребительских частей сельскохозяйственных культур значительно дифференцирована, а именно как у отдельных сортов одного и того же вида сельскохозяйственной культуры из той же области, так и между отдельными видами сельскохозяйственных культур из той же области. Дифференциация природной радиоактивности потребительских частей сельскохозяйственных культур из одной и той же области определяется петрографическим характером геологической основы, из которой образуется почва, химическим качеством вносимых элементов в почву путем удобрения, селективной способностью растений усваивать природные радиоактивные элементы из почвы и локализовать их в потребительских частях растений. Значительное различие природной радиоактивности потреби-

тельских частей сельскохозяйственных культур одного и того же вида и сорта из разных областей.

Текст к таблицам

- I. Содержание ПРЭ в растениях и приготовленных из них продуктах (6, 14, 15, 21)
- II. Дозиметрическое измерение потребительских частей сельскохозяйственных культур
- III. Статистические параметры ориентировочного дозиметрического измерения

Текст к фотографиям

1. Положительные радиogramмы дозиметрически измеряемых образцов потребительских частей сельскохозяйственных культур, экспозиция 20—30. 24 часа
- 1а. Продольный разрез кукурузного початка, слева — початок, справа — семена
- 1б. Семена гороха в бобе; слева 4 вынутых семени в продольном разрезе, справа — апикулярная часть боба с двумя семенами в продольном разрезе
- 1в. Прорастающее семя пшеницы, локализация ПРЭ заметна в ростовых частях, т. е. в ростке и первичных корешках
- 1г. Семя пшеницы в продольном разрезе

Все авторадиграфически и дозиметрически анализируемые потребительские части сельскохозяйственных культур были измерены в стадии уборочной спелости

Локализация ПРЭ заметна в почерневших местах радиogramмы (скрытая картина) и относится к определенным органам (частям) потребительских частей сельскохозяйственных культур

Natural Radioactivity as a Component Part of the Chemical Content of Natural Radioactive Elements in the Edible Parts of Agricultural Crops

This work deals with the dosimetric measuring of natural radioactive elements in the edible parts of agricultural crops in 3 regions of the USSR. The measuring was carried out by means of the RA NZQ 615 apparatus. In the different groups of crops the cultivated varieties were measured, and the specific radioactivity was recorded per 1 kg of dry matter of the agricultural product in millimicrocuries: in wheat this is 0.7—143.5, in barley 0.7—323.7, in rye 0.5—150.8, in maize 4.6—177.2, in oats 2.9—55.4, in beans 17.3—47.8, in peas and kidney-beans 1.0—175.9, and in oil-bearing-plants 0.7—54.6 millimicrocuries. The results obtained in the measuring were further checked autoradiographically and chemically.

The accumulating of natural radioactive elements in agricultural crops takes place unequally and depends on the plant species, on the chemical character of the natural radioactive element, and on the part of the plant investigated. The natural radioactivity of agricultural crops of the same kind, variety, and of the same year of harvest depends on the content of natural radioactive elements in the soil. The content of natural radioactive elements in the soil as the source of radioactivity of the edible parts of agricultural crops (final products) is influenced by the geological substratum, by the kind and type of soil, and by manuring. Natural radioactive elements contain radioactive isotopes accepted in the form of mineral nutrition of agricultural crops, which, in the process of the ontogenesis of the agricultural crops, are translocated to the plant bodies, where they settle in certain parts of the plants.

The natural radioactivity of the edible parts of agricultural crops differs considerably both in the different varieties of the same kind of agricultural crops from the same region and in the different kinds of agricultural crops in the same region. The differentiation of the natural radioactivity of the edible parts of agricultural crops from the same region is determined by the petrographic character of the geological substratum of which the soil had been formed, by the chemical quality of elements supplied to the soil through fertilization, by the selective capacity of the plants to appropriate natural radioactive elements from the soil and to localize them in the edible parts of the plant. There is a considerable difference in the natural radioactivity of the edible parts of agricultural crops of the same kind and variety from different regions.

Text to tables

- I. Content of NRE in plants and in the foodstuffs produced from them (6, 14, 15, 21)
- II. Dosimetric measuring of the edible parts of agricultural crops
- III. Statistical parameters of an informative dosimetric measuring

Text to photographs

1. Positive radiograms of dosimetrically measured samples of edible parts of agricultural crops, exposure 20—30.24 hours
 - 1a. Lengthwise section of a maize-cob; on the right side cob, on the left side corns
 - 1b. Pea seed in the pod; on left side four extracted seeds in lengthwise section
 - 1c. Germinating wheat seed, localization of NRE evident in the germ and in the primary roots
 - 1d. Wheat seed in lengthwise section

All autoradiographically and dosimetrically analysed edible parts of agricultural crops were measured in the state of the harvest maturity.

The localization of NRE is evident in the blackened spots of the radiogram (latent picture) and is bound to certain organs (parts) of the edible parts of agricultural crops

Natürliche Radioaktivität als Bestandteil des chemischen Gehaltes natürlicher radioaktiver Elemente in den Konsumteilen der landwirtschaftlichen Fruchtarten

In dieser Arbeit befaßt man sich mit der dosimetrischen Messung natürlicher radioaktiver Elemente in den Konsumteilen der landwirtschaftlichen Fruchtarten in drei Gebieten der ČSSR. Die Messung wurde mit dem Gerät RA NZQ 615 vorgenommen; bei den einzelnen Fruchtartengruppen wurden die angebauten Sorten gemessen und die spezifische Radioaktivität wurde pro 1 kg Trockensubstanz des landwirtschaftlichen Erzeugnisses in Millimikrocurie ausgedrückt: sie beträgt bei Weizen 0,7—143,5, bei Gerste 0,7—323,7, bei Roggen 0,5—150,8, bei Mais 4,6—177,2, bei Hafer 2,9—55,4, bei Ackerbohnen 17,3—47,8, bei Erbsen und Bohnen 1,0—175,9, bei Ölfrüchten 0,7—54,6 Millimikrocurie. Die Messungsergebnisse wurden ferner autoradiographisch und chemisch überprüft.

Die Speicherung natürlicher radioaktiver Elemente in den landwirtschaftlichen Fruchtarten hat einen unregelmäßigen Verlauf und hängt von der Pflanzenart, dem chemischen Charakter des natürlichen radioaktiven Elementes und von dem Umstand, welchen Pflanzenteil wir beobachteten, ab. Die natürliche Radioaktivität landwirtschaftlicher Fruchtarten derselben Art, Sorte desselben Erntejahres hängt von dem Gehalt an natürlichen radioaktiven Elementen im Boden ab. Der Gehalt an natürlichen radioaktiven Elementen im Boden als eine Radioaktivitätsquelle der Konsumteile landwirtschaftlicher Fruchtarten (Final-Erzeugnissen) wird von der geologischen Unterlage, Bodenart und -typ und von der Düngung beeinflusst. Die natürlichen radioaktiven Elemente enthalten radioaktive Isotopen, die als Mineralernährung landwirtschaftlicher Fruchtarten aufgenommen werden und beim Prozeß der Ontogenese in die Pflanzenkörper transloziert werden, wo sie sich in bestimmten Pflanzenteilen lokalisieren.

Die natürliche Radioaktivität der Konsumteile landwirtschaftlicher Fruchtarten ist ziemlich differenziert, u. zw. sowohl bei den einzelnen Sorten derselben Art der landwirtschaftlichen Fruchtart aus demselben Gebiet wie auch bei den einzelnen Arten dieser Fruchtarten aus demselben Gebiet. Die Differenzierung der natürlichen Radioaktivität der Konsumteile landwirtschaftlicher Fruchtarten aus demselben Gebiet wird durch den petrographischen Charakter der geologischen Unterlage, aus der der Boden entstanden ist, durch die chemische Qualität der durch die Düngung in den Boden zugeführten Elemente und durch das Selektionsvermögen der Pflanzen, sich die natürlichen radioaktiven Elemente aus dem Boden anzueignen und dieselben in den Konsumteilen der Pflanze zu lokalisieren, bestimmt. Die natürliche Radioaktivität der Konsumteile landwirtschaftlicher Fruchtarten derselben Art und Sorte aus verschiedenen Gebieten ist sehr unterschiedlich.

Text zu den Tafeln

- I. Gehalt an natürlichen radioaktiven Elementen in den Pflanzen und in Nahrungsmitteln, die aus diesen erzeugt wurden (6, 14, 15, 21)
- II. Dosimetrische Messung der Konsumteile landwirtschaftlicher Fruchtarten
- III. Statistische Parameter der orientierungsmäßigen dosimetrischen Messung

Text zu den Lichtbildern

1. Positive Radiogramme der dosimetrisch gemessenen Proben der Konsumteile landwirtschaftlicher Fruchtarten; Exposition 20—30. 24 Stunden
- 1a. Längsschnitt einer Maisähre; links Ähre, rechts Samen
- 1b. Erbsensamen in der Hülse; links vier entnommene Samen im Längsschnitt, rechts apikaler Teil der Hülse mit zwei Samen im Längsdurchschnitt
- 1c. Keimender Weizensamen; die Lokalisierung der natürlichen radioaktiven Elemente ist in den Wuchsteilen, d. h. im Keim und in den Primärwurzeln bemerkbar
- 1d. Weizensamen im Längsdurchschnitt

Sämtliche autoradiographisch und dosimetrisch analysierten Konsumteile der landwirtschaftlichen Fruchtarten wurden bei Erntereife gemessen.

Die Lokalisierung der natürlichen radioaktiven Elemente ist auf den schwarzgewordenen Stellen des Radiogrammes bemerkbar (latentes Bild) und ist an bestimmte Organe (Teile) der Konsumteile landwirtschaftlicher Fruchtarten gebunden.

Adresa autora:

Ing. František Pešek, Pedagogická fakulta, katedra biologie, Ústí nad Labem, České mládeže 8

V. Jiráček
J. Košťál
B. Jirsíková

**PŘÍSPĚVEK
KE STANOVENÍ AMINOKYSELIN
V BIOLOGICKÉM MATERIÁLU
PAPÍROVOU CHROMATOGRAPHIÍ**

■ Problémem stanovení (kvantitativní analýzy) aminokyselin metodou papírové chromatografie se zabýval již velký počet prací. Přehled o dosavadním stavu této otázky podávají monografie o papírové chromatografii, např. knihy autorů českých (H a i s a M a c e k 1958 a 1963) i cizích (C r a m e r 1962, L i n s k e n s 1959, S m i t h 1960 aj.).

Aminokyseliny jsou při analýze papírovou chromatografií stanovovány buď densitometricky *in situ* nebo po eluci z papíru. Metoda densitometrická vyžaduje k přesnějšímu provedení dosti nákladné přístroje a přesnost se pohybuje obvykle od 5–10 %, ovšem za dodržení vždy stejných pokusných podmínek, což nebývá snadnou záležitostí. Metoda eluční je naproti tomu metodicky méně náročná, zato však zpravidla přesnější než metoda densitometrická, ovšem i zde jsou některá úskalí, jež za určitých okolností mohou mít za následek velkou střední chybu stanovení. Při použití detekce aminokyselin ninhydrinem a eluci vzniklého barviva lze sice dosáhnout dosti značné přesnosti (až 3–5 %), avšak na závadu je okolnost, že fialové barvivo vzniklé reakcí aminokyselin s ninhydrinem je na vzduchu málo stálé a že při detekci za nízké teploty zreaguje s ninhydrinem jen část aminokyselin a že je nutno detekci provádět delší dobu (až 24 hodin). Při detekci za vyšší teploty zreaguje sice prakticky veškeré množství aminokyselin, zároveň však dochází k reakci aminokyselin s celulózou papíru, popřípadě jinými karbonylovými sloučeninami, jež mohou být hlavně v biologickém materiálu přítomny, takže reakce aminokyselin s ninhydrinem opět není zcela kvantitativní a její průběh závisí velmi citlivě na podmínkách detekce (teplota, vlhkost papíru a doba zahřívání) (H a i s, M a c e k 1963). Nevýhodu malé stálosti fialového reakčního produktu aminokyselin s ninhydrinem lze odstranit převedením tohoto barviva na měďnaté komplexy, jež jsou stálé 24 hodin (W i e l a n d, K a w e r a u 1951) a jež lze z papíru vymýt metanolem (B o d e aj. 1952). Výhodnější je však použití kademnatých solí, které dávají s fialovým barvivem červenooranžové kademnaté komplexy, mnohem stálejší než komplexy měďnaté (H e i l m a n n aj. 1957, 1958). I v tomto případě nelze však zaručit, že veškeré množství aminokyselin na papíře za nízké teploty s ninhydrinem zreaguje a pak převede na stálé (alespoň relativně) kademnaté komplexy, jež se z papíru poté vymývají.

Po uvážení všech těchto skutečností jsme přistoupili k vypracování jednoduché, ale přitom dostatečně přesné metody stanovení aminokyselin na papíře na základě detekce ninhydrinem a tvorby kademnatých komplexů. Detekci aminokyselin na papíře provádíme poměrně koncentrovanějším roztokem ninhydrinu

v acetonu, což umožňuje pracovat při nižší teplotě (do 60 °C). Takto vzniknou na papíře slabší skvrny aminokyselin, které se vystřihají a z nich se vymyjí metanolem jak fialové barvivo, tak nezreagovaná aminokyselina. Eluát podrobíme doplňující reakci s roztokem ninhydrinu, čímž se veškeré množství aminokyselin převede na fialové barvivo. Barvivo nutno pak stabilizovat převedením na kademnaté komplexy, jejichž stabilita podle našich měření činí minimálně 72 hodin. Takto lze pohodlně zpracovat i velké série pokusných vzorků. Kromě aminokyselin lze přirozeně stanovit i peptidy, pokud ovšem jsou dobře rozpustné v metanolu a reagují s ninhydrinem.

Námi popsanou metodu lze použít jak ke stanovení volných aminokyselin v extraktech z biologického materiálu, tak aminokyselin v hydrolyzátech bílkovin. Zatímco aminokyseliny obsažené v hydrolyzátech lze dobře rozdělit jednorozměrnou chromatografií, aminokyseliny v extraktech z biologického materiálu je zpravidla nutno rozdělit chromatografií dvojrozměrnou, zejména jde-li o složité směsi. Kalibrační křivky získáme za použití chromatograficky čistých vzorků aminokyselin, jež rozdělíme na papíře jedno- nebo dvojrozměrnou chromatografií, podle toho, zda zkoumané vzorky aminokyselin v přirozeném materiálu budeme analyzovat jedno- nebo dvojrozměrnou technikou.

Prolin a hydroxyprolin reagují s ninhydrinem teprve ve větších koncentracích, a proto jsme použili v tomto případě raději reakce obou zmíněných aminokyselin s isatinem za tvorby modrého barviva, jež se vymyje z papíru a stanoví spektrofotometricky. Použili jsme v podstatě metody dříve popsané (Hrabětová, Tupý 1960), kterou jsme pro naše účely vhodně modifikovali.

MATERIÁL A METODIKA

V práci jsme se zabývali stanovením aminokyselin v biologickém materiálu (hlavně rostlinném) papírovou chromatografií. Pro jednorozměrnou chromatografií aminokyselin v extraktech a hydrolyzátech rostlinných i živočišných tkání hodí se nejlépe směs *n*-butylalkoholu, ledové kyseliny octové a vody v různých poměrech. Nám se nejlépe osvědčila tato směs v poměru 10 : 1 : 3, která se po důkladném protřepání rozdělí na fázi horní, kterou používáme k chromatografii, a velmi malý objem fáze spodní, která slouží spolu s horní fází k sycení atmosféry chromatografické komory. Pro dvourozměrnou chromatografií se osvědčila kombinace rozpouštědlových systémů fenol — 96% ethanol — chloroform (2 : 1 : 1) s přídavkem 8-hydroxychinolinu (oxinu) ve výsledné koncentraci 0,1 % v atmosféře 3 % amoniaku*) v prvním směru a *n*-butylalkohol — ledová kyselina octová — voda (6 : 1 : 2) v druhém směru. V prvním směru vyvoláváme na přetečení do přišitého filtračního papíru (k přístižití použijeme kancelářskou sešítkačku), přičemž jako indikátoru toku nejrychlejších aminokyselin používáme tropeolinu 000 nebo kresolové červeně, které nesmí opustit konec chromatografického papíru. Ve druhém směru vyvoláváme rovněž na přetečení do přišitého filtračního papíru, ale opakovaně dvakrát. Při prvním vyvíjení má doputovat skvrna tropeolinu 000 asi do $\frac{3}{4}$ délky papíru, po druhém vyvíjení má se skvrna tohoto barviva dostat skoro na konec chromatografického papíru. K chromatografii používáme zpravidla papíru Whatman No 1; pro jednorozměrnou chromatografií byly použity papíry délky 100 cm a šířky 50 cm, pro dvojrozměrnou chromatografií listy papíru o rozměrech 68 × 58 cm. Chromatogramy byly vyvíjeny ve velkých chromatografických komorách (výška 115 cm, délka 105 cm a šířka 75 cm), zhotovených z úhlového nerezového plechu (síla 2 mm), tvořícího vlastní konstrukci, jež byla zasklena polozrcadlovým sklem (síla 5—7 mm). Dna komor byla zasklena sklem s drátěnou vložkou. Do komory bylo možno umístit na jednu 20 chromatogramů v 10 žlábcích zhotovených z novoduru (Koloušek a Hartman 1956), zavěšených na nosných protilehlých rámech z úhlového nerezového plechu. Komory jsou uzavírány deskou z novoduru 10 mm silnou, na niž se

*) Lépe se nám osvědčil přídavek 25 % amoniaku přímo do rozpouštědlové směsi, a to jeden díl amoniaku na 10 dílů rozpouštědlové směsi.

pokládá rám z páskového plechu (šířka 40 mm, síla plechu 3 mm), který se pak upevní k desce a komoře šrouby s křídlovými maticemi. Šrouby (v počtu 10) jsou zasazeny do horního okraje chromatografické komory. V uvedených komorách, jež jsou scyceny parami spodní a horní fáze rozpouštědlové směsi (v případě jednofázové soustavy používáme vodu a chromatografické rozpouštědlo), nalitých do novodurových fotografických mis vyložených buničitou vatou, jsou zaručeny stejné podmínky při chromatografické analýze větší série vzorků, což má pro stanovení sledovaných látek značný význam.*)

Stanovení jsme pracovali pro 24 aminokyselin a amidů: kyselina cysteová, lysin, histidin, arginin, ornithin, kyselina asparagová, glutamová, asparagin, glutamin, taurin, serin, glycin, threonin, alanin, β -alanin, hydroxyprolin, prolin, kyselina γ -amino-máselná, tyrosin, tryptofan, valin, fenylalanin, isoleucin a leucin. Použité preparáty byly výrobky firmy California Foundation for Biochemical Research (Calbiochem, USA), byly chromatograficky homogenní, jak jsme ověřili chromatograficky. Látky byly rozpouštěny v 50% ethanolu na roztoky obsahující 20 μ g látky v 10 μ l. Roztok tyrosinu byl připraven rozpuštěním vzorku v malém objemu 0,5 N KOH, zředěním 50% ethanolom, okyselením 50% kyselinou octovou na pH = 5 a doplněním 50% ethanolom na potřebný objem.

Při jednorozměrné chromatografii jsme nanášeli na chromatografický papír Whatman No 1 (délka 100 cm) mikropipetou roztoky jednotlivých aminokyselin (25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 a 500 μ g) v podobě čárek 40 mm dlouhých a 1–2 mm silných. Mezery mezi nanesenými vzorky byly 3 cm. Každou koncentraci jsme nanесли vedle sebe celkem třikrát. Abychom ušetřili chromatografický papír, nanášeli jsme na start zpravidla směs 3 aminokyselin o dostatečně rozdílném R_F , takže počet chromatogramů se standardními vzorky se tím značně snížil. Zvolili jsme tyto kombinace aminokyselin: lysin, arginin a glutamin; threonin, prolin a fenylalanin; β -alanin, valin a isoleucin; asparagin, kyselina glutamová a serin; alanin, tyrosin a leucin; histidin, taurin a hydroxyprolin; kyselina asparagová, glycin a kyselina γ -amino-máselná; kyselina cysteová, ornithin a tryptofan. Chromatogramy se standardními vzorky byly vyvíjeny opakovaně dvakrát, vždy až čelo rozpouštědlové směsi dosáhlo konce chromatografického papíru.**) Po každém vyvíjení byly chromatogramy volně sušeny v digestoři, až rozpouštědlo vytékalo (obvykle 3 hodiny). Po skončeném vyvíjení a usušení v digestoři byla místa na chromatografickém papíře obsahující prolin a hydroxyprolin vystřižena a zpracována způsobem uvedeným v této práci později. Chromatogramy byly protaženy 0,2 % acetonovým roztokem ninhydrinu (ninhydrin nutno 2 až 3krát překrystalovat z 2 N HCl za přídavku aktivního uhlí, dobře promýt destilovanou vodou a nakonec vysušit nad pevným hydroxidem draselným ve vakuovém exsikátoru), a volně usušeny v digestoři během 15 minut. Po usušení byly chromatogramy zahřívány v sušárně při 60 °C po dobu 10 minut. Z papírů byly vystřiženy obdélníkové pruhy se skvrnami fialového barviva vzniklého reakcí aminokyselin s ninhydrinem a rozstříhány na malé čtverečky, které byly několikrát za sebou eluovány methanolem (methanol pro analýzy nebo předdestilovaný). Velikost vystřižených ploch papíru se skvrnami byla zvolena podle velikosti plochy se skvrnou o největší koncentraci aminokyseliny. Eluce byla prováděna takto: čtverečky papíru byly umístěny v elučních zkumavkách (100×20 mm) opatřených malou hubičkou k snadnému odlití eluátu, přelity 2 ml methanolu a 30 minut eluovány za stálého třepání na strojní třepače. Eluát byl opatrně odlit a odsát přes malou skleněnou fritu (Jena G 3) do kalibrované zkumavky (objem 20 ml), umístěné ve větší odsávací zkumavce k tomu účelu zhotovené. Eluce rozstříhaných skvrn byla pak provedena ještě čtyřikrát, vždy 1,5 ml methanolu po dobu 30 minut a eluáty odsáty jak výše uvedeno. Spojené eluáty byly doplněny methanolem přesně na objem 8 ml. Pak byl přidán ke každému vzorku 1 ml 2,5 % methanolového roztoku ninhydrinu (použitý ninhydrin musí být dokonale přečištěn), vhozena varná skleněná kulička a zkumavky opatřené chladicími skleněnými uzávěry (obr. 6) (plněnými destilovanou vodou) ponořeny do vodní lázně vyhřáté na 65 °C a zahřívány při této teplotě 20 minut. Pouze u vzorků kyseliny glutamové, asparagové, asparaginu, glutaminu, kyseliny cysteové, taurinu, β -alaninu, kyseliny γ -amino-máselné, tyrosinu,

*) Při manipulaci s chromatogramy v otevřené komoře nutno zásadně používat ochranné masky s filtrem proti organickým parám.

**) U vzorků z biologického materiálu bylo při jednorozměrné chromatografii obvykle vyvíjeno opakovaně 5–10krát, podle obsahu a kvality přítomných aminokyselin. Dosažené rozdělení aminokyselin bylo velmi dobré.

tryptofanu a isoleucinu bylo zahřívání prodlouženo na 40 minut, neboť zbarvení se prohlubovalo až po době delší než 20 minut. Po ochlazení vzorků na teplotu místnosti byl objem roztoků ve zkumavkách doplněn methanolem na 9 ml a přidán 1 ml 10 % roztoku octanu kademnatého ($\text{Cd}/\text{OCOCH}_3/2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) ve zředěné kyselině octové o $\text{pH} = 5$.*) Celkový objem vzorků je nakonec 10 ml. Po důkladném protřepání jsou roztoky ve zkumavkách zbarveny oranžovočerveně v důsledku vzniku kademnatých komplexů původně fialového barviva. Toto zbarvení je stále minimálně 72 hodin a jeho intenzitu měříme na spektrofotometru při 500 $\text{m}\mu$. Vzhledem k tomu, že vzorky jsou příliš intenzivně zbarveny a ve vyšších koncentracích (nad 100 μg) nemá kalibrační křivka lineární průběh, nutno ze vzorku odebrat 1 ml a ten zředit do 10 ml methanolem. Pouze vzorky glutamínu není nutno ředit, jelikož jejich zbarvení je málo intenzivní. Takto ve všech koncentracích (25–500 μg) platí Lambert-Beerův zákon a získané kalibrační křivky jsou přímky. Slepý pokus provádíme stejným způsobem se stejnou plochou chromatografického papíru vystřiženého z chromatogramu a neobsahujícího žádnou z ninhydrinem reagující látku. Eluce i celý další postup se provede stejně jako u pokusných vzorků. Zabarvení slepých vzorků je slabě žluté, takže jejich extinkce při 500 $\text{m}\mu$ je prakticky zanedbatelná.

Při analýze volných nebo vázaných aminokyselin v biologickém materiálu si nejprve dvojrozměrnou chromatografii za použití několika rozpouštědlových systémů ověříme počet a identitu aminokyselin ve vzorku a podle toho zvolíme ke stanovení jedno- nebo dvojrozměrnou techniku vyvíjení. Za stejných podmínek provedeme rozdělení standardních vzorků těchto aminokyselin, které jsou obsaženy ve zkoumaných vzorcích, v několika koncentracích (v rozmezí 25–500 μg) a získáme tak kalibrační křivky pro jednotlivé aminokyseliny, potřebné k odečtení obsahu aminokyselin ve zkoumaných vzorcích. Při dvojrozměrné analýze nanášíme na start směs většího počtu standardních aminokyselin, všechny ve stejné koncentraci. Každá koncentrace reprezentuje tedy jeden chromatogram. Při použití nových šarží jednotlivých chemikálií nutno zhotovit nové kalibrační křivky nebo alespoň překontrolovat kalibrační křivky z předchozího pokusu. Kalibrační křivky pro jednotlivé aminokyseliny rozdělené jednorozměrnou nebo dvojrozměrnou technikou jsou buď zcela totožné, nebo se liší jen málo svou směrnici.

Stanovení prolinu a hydroxyprolinu jsme prováděli na základě reakce s isatinem za vzniku modrého barviva (Acher j. 1950, Pasička a Morgan 1956). Pracovali jsme v podstatě podle metody Barroliera a spolupracovníků (1956) a Hrabětové a Tupého (1960). Při zhotovování kalibračních křivek jsme chromatogramy s nanesenými standardními vzorky prolinu a hydroxyprolinu (25–500 μg) vyvíjeli jednorozměrně ve směsi n-butylalkohol — kyselina octová — voda (6:1:2, popřípadě 10:1:3) opakovaně dvakrát. Na základě polohy skvrn indikačních barviv Karmoisine S a Nerol B jsme vystříhli z chromatogramů pásy, obsahující prolin a hydroxyprolin. Tyto pásy jsme protáhli isatinovým činidlem**) (Barrolier a spolupracovníci 1956), usušili volně na vzduchu v digestoři během 20 minut a pak zahřívali v sušárně při 80 °C 30 minut. Skvrny prolinu byly intenzivně modré, skvrny hydroxyprolinu byly spíše modrozelené a i v nejvyšších koncentracích poměrně málo intenzivní. Protože pozadí chromatogramů bylo silně žlutě zbarvené, což by mělo za následek malou optickou propustnost slepého pokusu, promývali jsme vyvolané chromatogramy 30 °C teplou vodou (Hrabětová a Tupý 1960). Chromatogramy jsme pak sušili znovu 5 minut při 80 °C. Pozadí takto promytých chromatogramů bylo jen slabě nažloutlé. Plochy papíru se skvrnami prolinu a hydroxyprolinu jsme vystříhli opět podle velikosti plochy, kterou zaujímal skvrna o nejvyšší koncentraci prolinu, resp. hydroxyprolinu, a rozstříhali na drobné čtverečky. Modré barvivo ze skvrn jsme vymyli poté fenolem (předestilovaným předtím se zinkovým prachem) nasyceným vodou, a to takto: první eluce byla uskutečněna 3 ml fenolu nasyceného vodou po dobu 10 minut, druhá eluce 2 ml po dobu 5 minut. Eluce probíhala ve tmě za občasného protřepávání. Spojené eluáty byly doplněny fenolem nasyceným vodou na objem 5 ml. Eluční dobu nelze prodloužit, neboť modré barvivo je nestálé (Hrabětová a Tupý 1960). Eluci je možno podle našeho zjištění provést též

*) Potřebný zředěný roztok kyseliny octové připravíme tak, že 6 kapek ledové kyseliny octové přidáme do 250 ml destilované vody.

**) Příprava činidla: 1 g isatinu a 1,5 g octanu zinečnatého vneseme do 95 ml isopropylalkoholu, přidáme 1 ml ledové kyseliny octové a 5 ml vody. Poté zahříváme při 80 °C 30 minut až se všechny isatin rozpustí. Činidlo pak rychle ochladíme na teplotu místnosti.

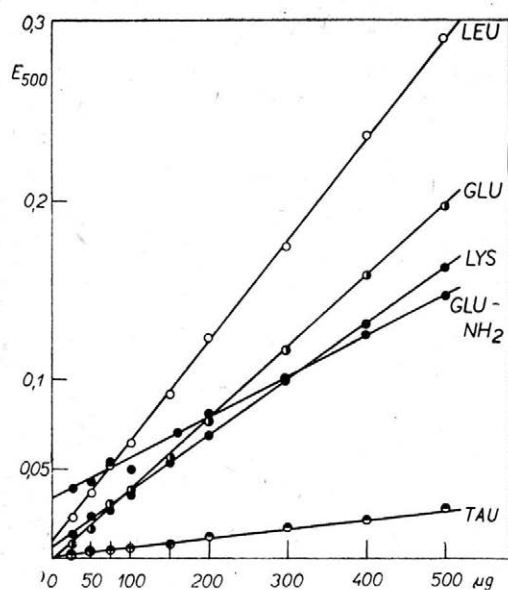
dimethylformamidem, ovšem modré barvivo je v něm značně nestálé a rychle se rozkládá, dokonce i ve tmě.

Po skončené eluci jsme vzorky prolinu ředili fenolovým elučním roztokem v poměru 1:10 (0,5 ml eluátu zředěno do 5 ml fenolem nasyceným vodou), neboť nezředěné eluáty byly příliš intenzivně zbarvené. Naproti tomu vzorky hydroxyprolinu ředěny nebyly, neboť byly jen málo intenzivně zbarvené.

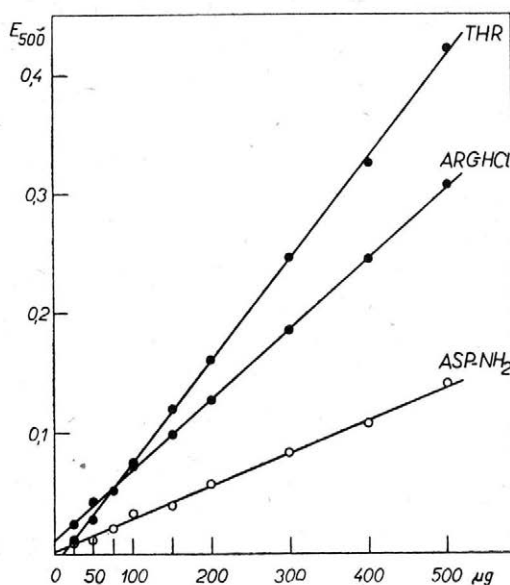
Slepý pokus byl proveden stejným postupem jako vzorky pokusné. K eluci jsme použili papíru, který byl použit k dělení vzorků prolinu a hydroxyprolinu. Plocha papíru odpovídající velikosti ploše skvrny o nejvyšší koncentraci prolinu, resp. hydroxyprolinu, prostá sebemenší stopy uvedených aminokyselin, byla po detekci isatinem vystřižena, rozstříhána a eluována stejným způsobem jako pokusné vzorky.

VÝSLEDKY A DISKUSE

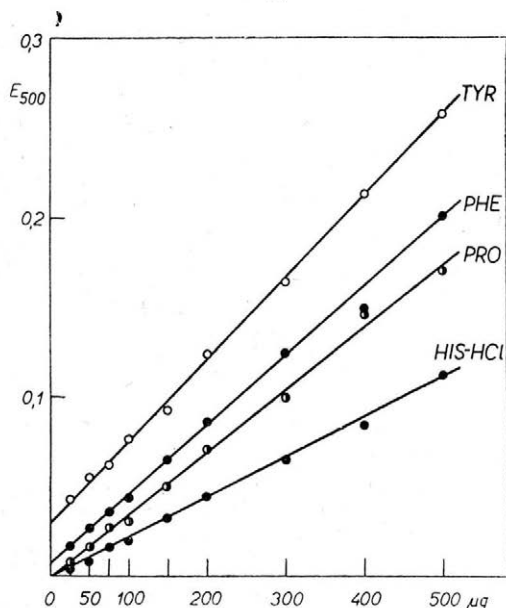
Analýza volných i vázaných aminokyselin v biologickém materiálu bývá prováděna buď chromatografií na iontoměničích, nebo na papíře. Při použití iontoměničů může dojít k rozkladu bazických aminokyselin. Použití automatizované kolonové ionexové chromatografie (Moore a Stein 1958) je obvykle pro běžné výzkumné laboratoře z finančních důvodů neúnosné. Papírová chromatografie je pak jedinou vhodnou metodou, která při pečlivém provedení může dosáhnout přesnosti $\pm 3-5\%$, což je pro většinu analýz obvykle postačující. Po uvážení všech dosud používaných metod analýzy aminokyselin vypracovali jsme chromatografickou analýzu na papíře 24 jednotlivých aminokyselin, nejčastěji se v biologickém materiálu vyskytujících. Vycházeli jsme z práce Heilmanna a spolupracovníků (1957, 1958), ve které bylo použito kademnatých komplexů barviva vzniklého reakcí ninhydrinu s aminokyselinami ke spektrofotometrickému stanovení aminokyselin po předchozím rozdělení papírovou chromatografií. Navazovali jsme na zjištění, že reakce mezi ninhydrinem a aminokyselinami není stechiometrická (Harding a MacLean 1915). Proto jsme postupovali tak, že jsme vyvinutý chromatogram detekovali 0,2% acetonovým roztokem ninhydrinu za poměrně mírných podmínek, vzniklé fialové skvrny vymývali opakovaně 5krát methanolem v průběhu 2½ hodiny. Aby se reakce účastnily i ty podíly aminokyselin, které nezreagovaly s ninhydrinem na papíře a byly vymyty methanolem, přidali jsme ke každému vzorku 2,5% methanolvý roztok ninhydrinu a provedli doplňující reakci při 65 °C po dobu 20, příp. 40 minut. Po ochlazení bylo fialové barvivo vzniklé reakcí ninhydrinu s aminokyselinami převedeno 10% roztokem octanu kademnatého na červenooranžové kademnaté komplexy. Získané sytě zbarvené roztoky byly zředěny methanolem 10krát a extinkce změřena proti slepému pokusu spektrofotometricky při 500 m μ . Získali jsme takto kalibrační křivky pro 22 aminokyselin v rozmezí koncentrací 25–500 μ g. Ve všech případech byla zjištěna lineární závislost mezi extinkcí a analyzovaným množstvím aminokyseliny. Většina kalibračních křivek vychází z počátku souřadnicového systému, v některých případech křivky nevycházejí z počátku, ale jsou poněkud posunuty, mají však vždy lineární průběh. Vzhledem k tomu, že jsme na chromatogramech aminokyselin volných i vázaných z biologického, hlavně rostlinného materiálu chtěli zachytit i malé koncentrace některých aminokyselin současně s vysokými koncentracemi některých jiných aminokyselin, pracovali jsme v koncentračním rozpětí 25–500 μ g jednotlivých aminokyselin. Z tohoto důvodu bylo nutno na konec příliš silně zbarvené vzorky ředit, a to v poměru 1:10. Pracujeme-li však pouze v koncentračním rozpětí 2,5 až 100 μ g jednotlivých aminokyselin, není nutno vzorky před spektrofotometrickým měřením ředit. Na kalibračních křivkách uvedených na obrázcích 1–5 je na ose x uvedeno množství aminokyseliny v neředěném vzorku. Koncentrace ve



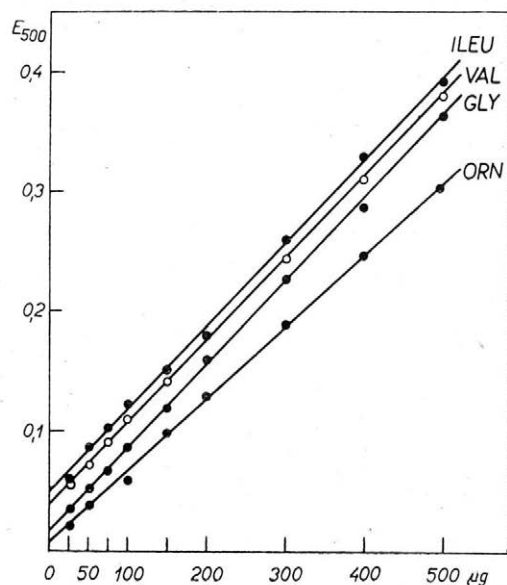
1.



2.



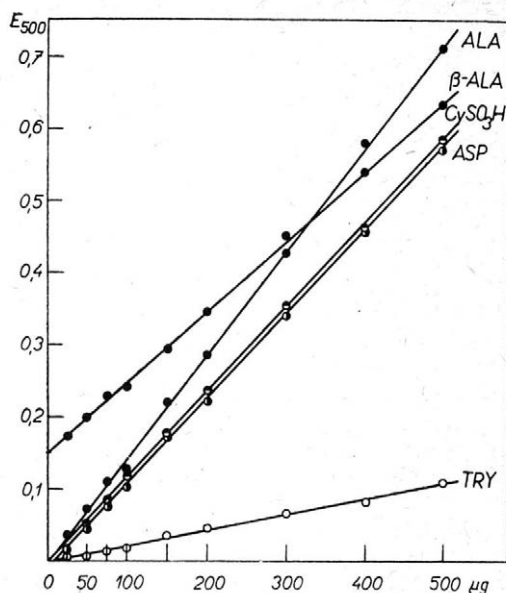
3.



4.

zředěném (1 : 10) vzorku je tedy 10krát menší než uvedeno na obrázcích. Uvedené hodnoty extinkce náležejí ovšem ve skutečnosti koncentracím ve vzorcích zředěných. Naše obrázky jsou tedy vlastně jakýmsi nomogramy, které umožňují na základě změřené extinkce zředěného vzorku ihned odečíst množství příslušné aminokyseliny ve zkoumaném neředěném vzorku.

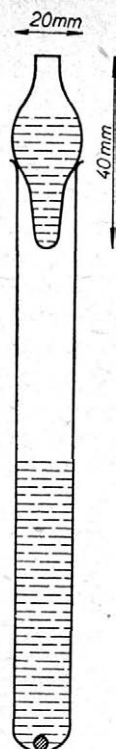
Abychom zjistili přesnost a spolehlivost námi popsané metody, zjišťovali jsme rozdíly v hodnotách extinkce u stejných koncentrací aminokyselin, které však byly chromatografovány na různých arších téhož druhu papíru (What-



5.

1.—5. Kalibrační křivky některých aminokyselin, získané postupem popsaným v experimentální části článku.

Na ose x jsou uvedena množství (v μg) v původním neředěném vzorku, na ose y extinkce (při 500 m μ) vzorků 10krát zředěných (výjimku tvoří pouze glutamin)



6. Zkumavka s erakční kapalinou uzavřená skleněným uzávěrem, plněným destilovanou vodou, na jehož povrchu kondenzují unikající páry organického rozpouštědla

man 1). Rozdíly, které jsme zjistili, pohybovaly se v rozmezí $\pm 1,5-3,0 \%$. Kolísání hodnot extinkce u jednotlivých stanovení téhož vzorku aminokyselin bylo velmi malé a činilo průměrně $\pm 5 \%$. Abychom zjistili, do jaké míry dochází při chromatografii aminokyselin ke ztrátám v důsledku rozptýlení látek po papíru a eventuálního nedostatečného vymytí z papíru, srovnávali jsme extinkce jednotlivých vzorků aminokyselin vymytých z papíru po chromatografii s extinkcemi těchž vzorků týchž aminokyselin, jež nebyly chromatografy na papíře. Zjistili jsme, že pro většinu aminokyselin jsou extinkce vzorků získaných vymytím z papíru po chromatografii o 2–15 % vyšší než extinkce vzorků v případě provedení barevné reakce ve zkumavce bez předchozí chromatografie na papíře. Pouze u kyseliny glutamové a glutaminu byla extinkce roztoku určité koncentrace po vymytí z papíru po chromatografii nižší nežli při provedení reakce bez chromatografie, a to v obou případech až o 20 %. To by nasvědčovalo tomu, že kyselina glutamová a glutamin jsou zřejmě značně adsorbovány na celulóзовou strukturu chromatografického papíru a nelze je tedy úplně z papíru vymýt použitým elučním činidlem, v našem případě methanolem. Zjištěné skutečnosti ovšem nijak nepůsobí rušivě při vlastním stanovení, neboť při odečítání obsahu určité aminokyseliny ve zkoumaném vzorku používáme kalibrační křivky, kde je tato nepřesnost způsobená chromatografií a elucí z papíru již zahrnuta. Poměry u prolinu a hydroxyprolinu jsme nemohli takto srovnávat, neboť isatinové reagens s těmito aminokyselinami reaguje pouze na papíru, nikoli však ve zkumavce.

Abychom nemuseli při analýzách aminokyselinového složení hydrolyzátů vzorků biologického materiálu nanášet několik chromatogramů, z nichž kupř. jeden by byl detegován ninhydrinem a druhý isatinem (ke stanovení prolinu a hydroxyprolinu), hledali jsme vhodné indikační barvivo, které naneseno po stranách chromatogramu by na základě stejného nebo blízkého R_F udávalo polohu prolinu, popřípadě hydroxyprolinu ve zkoumaném vzorku. V tomto případě by bylo možno z nedetegovaného chromatogramu vystříhnout pás, obsahující prolin, resp. hydroxyprolin, a teprve ten detegovat isatinem. Zbytek chromatogramu by bylo možno detegovat normálně ninhydrinem a použít ke stanovení ostatních aminokyselin. Při této příležitosti jsme studovali chromatografické chování 300 různých barviv ve směsi n-butyalkohol — kyselina octová — voda (10 : 1 : 3) a snažili se nalézt indikátory toku i pro jiné aminokyseliny. To by umožnilo alespoň zhruba sledovat dělení aminokyselin ve zkoumaných vzorcích v uvedené rozpouštědlové směsi přímo na papíře na základě sledování dělení směsi barviv, jejíž jednotlivé složky by svými polohami na chromatogramu simulovaly polohu jednotlivých aminokyselin. Takto jsme vskutku našli pro řadu aminokyselin vhodný indikátor polohy na chromatogramu: pro kyselinu cysteovou je to orthokyanin 6 G, pro lysin thiazinová červeň, pro histidin anthrakyani- nová violeť 3 B, pro arginin temná zeleň G (Dunkelgrün G), pro kyselinu glutamovou karmoisine S, pro threonin anthosinvioleť BBM, pro alanin nerol VL, pro prolin nerol B, pro γ -amino-máselnou kyselinu spolu s tyrosinem thionin, pro fenylalanin fenolová červeň, pro isoleucin helianthin a pro leucin tropeolin 00 nebo akridinová žluť R. Současně je však nutno upozornit, že preparáty těchto barviv bývají obvykle směsmi několika složek, z nichž pouze jedna je opravdovým indikátorem polohy určité aminokyseliny na chromatogramu, jak bylo výše uvedeno. V tomto případě je nutno žádanou složku preparátu barviva izolovat, nejlépe preparativní chromatografií na sloupci celulózy nebo papíru Whatman 3 za použití rozpouštědlové směsi butanol-kys. octová- voda (10 : 1 : 3).

Ještě před započítáním analýz aminokyselin v biologickém materiálu provedli

I. Srovnání přesnosti stanovení některých aminokyselin jedno- příp. dvojrozměrnou chromatografií

Aminokyselina	Způsob vyvíjení	Množství v μg		Odchylka v %
		skutečné	nalezené	
Cysteová kyselina	jednorozměrně	100	104	+4
	dvojrozměrně	100	106	+6
Asparagin	jednorozměrně	25	24	-4
	dvojrozměrně	25	24	-4
Threonin	jednorozměrně	100	99	-1
	dvojrozměrně	100	104	+4
Valin	jednorozměrně	75	76	+1,3
		100	104	+4
	dvojrozměrně	75	81	+8
		100	106	+6

jsme srovnání přesnosti stanovení standardních vzorků aminokyselin jedno- a dvourozměrnou technikou. Výsledky dosažené u některých druhů aminokyselin jsou uvedeny v tabulce I. Odchytky množství nalezených od skutečných při jedno- rozměrné chromatografii nepřesáhly zpravidla $\pm 4 \%$, při dvojrozměrné chromatografii byly poněkud vyšší, nepřesáhly však zpravidla $\pm 8 \%$, obvykle činily 4–6 %.

ZÁVĚRY

Námi popsanou metodikou jsme analyzovali hydrolyzáty orgánů různých druhů rostlin a stanovili poměr molárních koncentrací některých aminokyselin v těchto vzorcích. Jako příklad uvádíme hodnoty poměrů molárních koncentrací lysinu, kyselin asparagové a glutamové, serinu a alaninu v hydrolyzátu květů červeného leknínu (*Nymphaea rubra*). Pro srovnání jsou uvedeny i hodnoty získané chromatografií na ionexové koloně metodou Spackmana, Moorea a Steina (1958)* (tabulka II).

II. Hodnoty poměrů molárních koncentrací některých aminokyselin v hydrolyzátu květů červeného leknínu (*Nymphaea rubra*).

Výsledky dosažené metodou papírové chromatografie jsou uvedeny ve sloupci A, výsledky získané ionexovou chromatografií ve sloupci B

Aminokyseliny	Hodnota poměru molárních koncentrací	
	A	B
Lysin: asparagová kyselina	0,90	1,00
Lysin: glutamová kyselina	0,90	1,17
Asparagová k. : glutamová k.	1,00	1,17
Serin : alanin	0,83	0,71

Výsledky dosažené naší metodou jsou v dobré shodě s výsledky získanými na automatickém analyzátoru aminokyselin (čs. výroby); vzájemné rozdíly výsledků jsou celkem malé a leží v přípustných mezích.

Na základě námi dosažených výsledků lze oprávněně tvrdit, že přesnost a spolehlivost naší metody se značně blíží parametrům udávaným pro metodu analýzy aminokyselin ionexovou chromatografií. Analýza papírovou chromatografií je ovšem časově náročnější, což vyplývá již z podstaty této metody. Pro běžné laboratorní účely však plně dostačuje; určitého urychlení možno dosáhnout kombinací vysokovoltové elektroforesy s chromatografií (Atfield a Morris 1961).

SOUHRN

Stanovením volných i vázaných aminokyselin v biologickém materiálu se zabývala již řada autorů. Vypracované metody mají však různé, větší či menší nedostatky a velmi často nevyhovují zejména při práci s rostlinným materiálem.

*) Za provedení analýz na automatickém analyzátoru aminokyselin děkujeme RNDr. V. Rábkovi a p. Kašíkovi z Výzkumného ústavu pro farmaci a biochemii v Praze.

Po uvážení těchto skutečností přistoupili jsme k vypracování jednoduché a přitom dostatečně přesné metodiky stanovení aminokyselin v biologickém, zejména rostlinném materiálu. Vycházeli jsme ze zjištění, že reakce aminokyselin s ninhydrinem není stechiometrická a že barevný reakční produkt je nestálý. Náš postup spočívá v tom, že extrakt nebo hydrolyzát biologického materiálu analyzujeme na obsah aminokyselin jedno- nebo dvojrozměrnou chromatografií (podle obsahu a počtu aminokyselin), detekci aminokyselin na papíře provádíme 0,2% roztokem ninhydrinu v acetonu při 60 °C po dobu 10 minut. Poté provedeme opakovanou eluci vzniklého barviva spolu se zbytky nezreagovaných aminokyselin methanolem, eluáty podrobíme doplňující reakci s 2,5% ninhydrinem v methanolu při 65 °C po dobu 20–40 minut (podle druhu aminokyseliny) a fialový reakční produkt převedeme octanem kademnatým v oranžovočervené komplexy, stále minimálně 72 hodin. Takto zbarvené roztoky eventuálně zředíme methanolem a extinkci měříme při 500 m μ . Sledovali jsme kalibrační křivky 22 aminokyselin v koncentračním rozmezí 25–500 μ g. Ve všech případech byla nalezena lineární závislost extinkce na analyzovaném množství. Přesnost stanovení u naší metody se pohybuje zpravidla v rozmezí $\pm 4-6\%$.

Na základě sledování chromatografického chování 300 barviv ve směsi n-butylalkohol-kys. octová-voda (10 : 1 : 3) našli jsme barevné indikátory polohy většiny aminokyselin na chromatogramech vyvolávaných touto rozpouštědlovou soustavou. Sledování dělení směsi barviv, z nichž každé simuluje chromatografickým chováním určitou aminokyselinu, umožňuje současně sledovat postup dělení aminokyselin ve vzorku souběžně naneseném na též chromatogramu při jednorozměrném, opakovaném vyvíjení. Jako indikátory polohy aminokyselin na jednorozměrném chromatogramu vyvíjeném výše uvedenou rozpouštědlovou směsí hodí se tato barviva (resp. jejich složky): orthokyanin 6 G (kys. cysteová), thiazinová červeň (lysin), anthrakyraninová violeť 3 B (histidin), temná zeleň G (arginin), karmoisine S (kys. glutamová a hydroxyprolin), anthosinvioleť BBM (threonin), nerol VL (alanin), nerol B (prolin), thionin (tyrosin a kys. γ -aminomáselná), fenolová červeň (fenylalanin), helianthin (isoleucin), tropeolin OO nebo akridinová žluť R (leucin).

Došlo dne 15. 10. 1965

Literatura

1. ACHER, R. - FROMAGEOT, C. - JUTISZ, M.: Séparations chromatographiques d'acides aminés et de peptides. V. Les acides aminés individuels de l'insuline avec une note sur le dosage de la proline. = „Biochim. et Biophys. Acta“ 5, 1950, s. 81-88. — 2. ATFIELD, G. N. - MORRIS, C. J. O. R.: Analytical separations by high-voltage paper electrophoresis. Amino acids in protein hydrolysates. = „Biochem. J.“ 81, 1961, s. 606-614. — 3. BARROLIER, J. - HEILMANN, J. - WATZKE, E.: Polychrome Sichtbarmachung von Aminosäuren auf Papierchromatogrammen und Papierelektropherogrammen. = „Hoppe-Seyler's Zeitschr. physiol. Chem.“ 304, 1956, s. 21-25. — 4. BODE, F. - HÜBENER, H. J. - BRÜCKNER, H. - HOERES, K.: Bestimmung der Aminosäuren auf den Papierchromatogrammen. = „Naturwissenschaften“ 39, 1952, s. 524. — 5. CRAMER, F.: Papierchromatographie - 5. vyd., Verlag Chemie, Weinheim 1962. — 6. HAIS, I. M. - MACEK, K. (red.): Handbuch der Papierchromatographie I. Grundlagen und Technik; II. Bibliographie und Anwendungen. G. Fischer Verlag, Jena 1958 a 1960. — 7. HAIS, I. M. - MACEK, K. (red.): Handbuch der Papierchromatographie I. Grundlagen und Technik - II. vyd. - G. Fischer Verlag, Jena 1963. — III. - Bibliographie 1957 bis 1960 und Anwendungen - G. Fischer Verlag, Jena 1963. — 8. HARDING, V. J. - MAC LEAN, R. M.: A colorimetric method for the estimation of amino acid α -nitrogen. = „J. Biol. Chem.“ 20, 1915, s. 217-230. — 9. HEILMANN, J. - BARROLIER, J. - WATZKE, E.: Beitrag zur Aminosäurebestimmung auf Papierchromatogrammen. = „Hoppe-Seyler's Zeitschr. physiol. Chem.“ 309, 1957, s. 219-220; BARROLIER, J. - HEILMANN, J. -

WATZKE, E.: Ein Beitrag zur Direktphotometrie von Papierchromatogrammen mit Hilfe eines einfachen Extinktionenschreibers. Quantitative Bestimmung von Aminosäuren. = „J. Chromatog.“ 1, 1958, s. 434-445. — 10. HRABĚTOVÁ, E. - TUPÝ, J.: Quantitative determination of proline by paper chromatography. = „J. Chromatog.“ 3, 1960, s. 199-201. — 11. KOLOUSEK, J. - HARTMAN, J.: Laboratorní výroba chromatografických žlábků. = „Chem. listy“ 50, 1956, s. 676-677. — 12. LINSKENS, H. F. (red.): Papierchromatographie in der Botanik - II. vyd., Springer Verlag, Berlin 1959. — 13. MOORE, S. - SPACKMAN, D. H. - STEIN, W. H.: Chromatography of amino acids on sulphonated polystyrene resins. = „Anal. Chem.“ 30, 1958, s. 1185-1190. — 14. PASIEKA, A. E. - MORGAN, J. F.: Specific determination of proline in biological materials. = „Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.“ 93, 1956, s. 54. — 15. SMITH, I. (red.): Chromatographic and electrophoretic techniques. I. Chromatography - W. Heinemann, London 1960. — 16. SPACKMAN, D. H. - STEIN, W. H. - MOORE, S.: Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. = „Anal. Chem.“ 30, 1958, s. 1190-1206. — 17. WIELAND, T. - KAWERAU, E.: Conservation of amino acid chromatograms. = „Nature“ 168, 1951, s. 77.

К вопросу определения аминокислот в биологическом материале методом бумажной хроматографии

Определением несвязанных и связанных аминокислот в биологическом материале занимался уже ряд авторов. Однако разработанные методы обладают различными, большими или меньшими недостатками и очень часто неудовлетворительны, особенно при работе с растительным материалом. По рассмотрении этих обстоятельств мы приступили к разработке простой и притом достаточно точной методики определения аминокислот в биологическом и, в частности, в растительном материале. Мы исходили из установленного факта, что реакция аминокислот с нингидрином не стехиометрическая и что окрашенный продукт реакции не устойчив. Наш метод заключается в том, что экстракт или гидролизат биологического материала подвергается анализу на содержание аминокислот путем одно- и двухмерной хроматографии (в зависимости от содержания и числа аминокислот). Детектирование аминокислот на бумаге мы производим 0,2% раствором нингидрида в ацетоне при 60 °C в продолжение 10 минут. Затем производится повторное элюирование возникшего красителя вместе с остатками неореагировавших аминокислот при помощи метанола. Элюаты подвергаются дополнительной реакции с 2,5 % нингидрином в метаноле при 65 °C в продолжение 20—40 минут (в зависимости от вида аминокислоты) и фиолетовый продукт реакции переводится ацетатом кадмия в оранжево-красные комплексы, которые устойчивы минимум 72 часа. Окрашенные таким образом растворы можно разбавлять метанолом при измерении экстинкции при 500 мкм. Мы наблюдали калибровочные кривые 22 аминокислот в пределах концентраций 25 и 500 мкг. Во всех случаях была установлена линейная зависимость экстинкции от анализируемого количества. Точность определения нашим методом, как правило, колеблется в пределах $\pm 4-6\%$.

На основании наблюдения хроматографического поведения 300 красителей в смеси н-бутиловый спирт — уксусная кислота — вода (в отношении 10:1:3) мы установили цветные индикаторы положения большинства аминокислот на хроматограммах, проявленных этим смешанным растворителем. Наблюдение над разделением смеси красителей, из которых каждое своим хроматографическим поведением симулирует известную аминокислоту, позволяет одновременно наблюдать процесс разделения аминокислот в образце, нанесенном параллельно на той же хроматограмме при одномерном повторном проявлении. В качестве индикаторов положения аминокислот на одновременной хроматограмме, проявленной приведенной выше смесью, применимы следующие красители (или их компоненты): ортоцианин 6 Г (цистеиновая кислота), тицианиновая красная (лизин), антрицианиновая фиолетовая 3 Б (гистидин), темно-зеленая Г (аргинин), кармоизин С (глутаминовая кислота и гидроксипролин), антоцин-фиолетовая ББМ (треонин), нерол Вл (аланин), нерол Б (пролин), тионин (тирозин и гамма-аминомасляная кислота), феноловая красная (фенилаланин), гелиантин (изолейцин), тропеолин 00 или акридиновая желтая Р (лейцин).

Тексты к таблицам

- I. Сравнение точности определения некоторых аминокислот методом одно- или двухмерной хроматографии
- II. Величины отношений молярных концентраций некоторых аминокислот в гидролизате цветков кувшинки
 - A — бумажная хроматография. Б — ионообменная хроматография

- 1—5. Калибровочные кривые некоторых аминокислот, полученные методом, описанным в экспериментальной части статьи. На оси «х» — количество (в мкг) в первоначальном неразбавленном образце, на оси «у» — экстинкция (при 500 мμ) образцов, разбавленных в 10 раз (с исключением глутамина)
6. Пробирка с реактивной жидкостью, закрытая стеклянным затвором, наполненным дистиллированной водой, на поверхности которого конденсируются улетучивающиеся пары органического растворителя

On the Determination of Amino Acids in Biological Material by means of Paper Chromatography

The determination of free and of bound amino acids in biological material has been dealt with by a number of authors. However, the methods worked out have various, larger or smaller deficiencies, and very frequently they are not adequate particularly for work with plant material. After consideration of this fact we attempted the working out of a simple and simultaneously sufficiently accurate method for the determination of amino acids in biological, and in particular in plant material. We based our work on the finding that the reaction of amino acids with ninhydrine is not stoichiometric, and that the coloured reaction product is unstable. Our procedure is based on the fact that the extract or hydrolysate of the biological material is analysed for the amino acid content by means of one-dimensional or two-dimensional chromatography (according to the content and number of amino acids), detection of amino acids on paper is carried out by means of a 0.2% solution of ninhydrine in acetone at 60°C for 10 minutes. Then we carry out a repeated elution of the arisen coloured spots with the remains of non-reacted amino acids with methanol, we subject the eluates to a supplementary reaction with 2.5% ninhydrine in methanol at 65°C for 20—40 minutes (according to the kind of amino acid), and we convert the violet reaction product by means of cadmium acetate into orange-red complexes, which are stable for at least 72 hours. The coloured solutions are then diluted with methanol, and extinction is measured at 500 mμ. We examined the calibration curve of 22 amino acids within a concentration range of 25—500 μg. In all cases a linear dependence of extinction on the analysed quantity was found. With the application of our method the accuracy of determination ranges as a rule within limits of $\pm 4-6$ per cent.

On the basis of the examination of the chromatographic behaviour of 300 stains in the mixture n-butyl alcohol — acetic acid — water (10:1:3) we found coloured indicators of the position of a majority of amino acids on chromatograms developed by means of this solvent system. Investigation of the separation of stain mixtures, each of which simulates with its chromatographic behaviour a certain amino acid, makes possible a simultaneous following of the separation process of the amino acids in the sample plotted parallelly on the same chromatogram in the case of a one-dimensional repeated development. As indicators of the position of amino acids on a one-dimensional chromatogram developed by means of the above mentioned solvent mixture the following stains (or their components) are suitable: ortho-cyanine 6 G (cysteic acid), thiazine red (lysine), anthracyanine violet 3 B (histidine), dark green (arginine), carmoisine S (glutamic acid and hydroxyproline), anthosine violet BBM (threonine), nerol VL (alanine), nerol B (proline), thionine (tyrosine and γ -aminobutyric acid), phenol red (phenylalanine), helianthine (isoleucine), tropaeoline 00 or acridine yellow R (leucine).

Text to tables

- I. Comparison of the accuracy of the determination of some amino acids by means of one- or two-dimensional chromatography
- II. The values of the ratios of molar concentrations of some amino acids in a hydrolysate of flowers of *Nymphaea rubra*
A = paper chromatography, B = ion exchanger chromatography

Text to graphs

- 1.—5. Calibration curves of some amino acids obtained by means of the procedure described in the experimental part of the paper. On the axis x = quantity (in μg)

- in the original non-diluted sample, on the axis y = extinction (at 500 $m\mu$) of 10 times diluted samples (with exception of glutamine)
6. Test tube with reaction liquid closed by means of a glass stopper filled with distilled water, on the surface of which the escaping vapours of the organic solvent condensate

Beitrag zur Bestimmung von Aminosäuren in biologischem Material mit Hilfe der Papierchromatographie

Mit der Bestimmung der freien und gebundenen Aminosäuren in biologischem Material hat sich schon eine Reihe von Autoren befaßt. Die ausgearbeiteten Methoden haben aber verschiedene größere oder kleinere Mängel, und entsprechen sehr häufig besonders bei der Arbeit mit pflanzlichem Material nicht den an sie gestellten Anforderungen. Nach Erwägung dieser Tatsache gingen wir an die Ausarbeitung einer einfachen und hierbei ausreichend genauen Methode zur Bestimmung von Aminosäuren in biologischem und vornehmlich in pflanzlichem Material heran. Wir gingen von der Ermittlung aus, daß die Reaktion der Aminosäuren mit Ninhydrin nicht stöchiometrisch ist und daß die farbigen Reaktionsprodukte unbeständig sind. Unser Verfahren beruht darauf, daß wir das Extrakt oder Hydrolysat des biologischen Materials mit Hilfe ein- oder zweidimensionaler Chromatographie (nach der Menge und der Anzahl der Aminosäuren) auf den Gehalt an Aminosäuren analysieren. Die Detektion der Aminosäuren auf dem Papier nehmen wir mit einer 0,2 %igen Lösung von Ninhydrin in Azeton bei 60 °C während der Dauer von 10 Minuten vor. Dann wird der entstandene Farbstoff gemeinsam mit den Resten der nicht durch die Reaktion erfaßten Aminosäuren wiederholt mit Methylalkohol ausgewaschen. Die Eluaten unterwerfen wir einer zusätzlichen Reaktion mit 2,5 %igem Ninhydrin in Methylalkohol bei 65 °C während der Dauer von 20 bis 40 Minuten (je nach der Art der Aminosäuren) und führen das violette Reaktionsprodukt mit Kadmiunazetat in orangerote Komplexe über, die mindestens 72 Stunden stabil sind. Die so gefärbten Lösungen verdünnen wir eventuell mit Methylalkohol und messen die Extinktion bei 500 $m\mu$. Wir verfolgten die Kalibrationskurven von 22 Aminosäuren im Konzentrationsbereich von 25 bis 500 μg . In allen Fällen wurde eine lineare Abhängigkeit der Extinktion von der analysierten Menge gefunden. Die Genauigkeit der Bestimmung liegt bei unserer Methode in der Regel im Bereich vom ± 4 bis 6 %.

Auf Grund der Verfolgung des chromatographischen Verhaltens von 300 Farbstoffen in einem Gemisch von n-Butylalkohol — Essigsäure — Wasser (10 : 1 : 3) fanden wir die Farbindikatoren der Lage der meisten Aminosäuren auf den Chromatogrammen, die mit diesem Lösungsmittelsystem entwickelt wurden. Die Verfolgung der Trennung des Gemisches der Farbstoffe, von denen jeder durch sein chromatographisches Verhalten eine bestimmte Aminosäure simuliert, ermöglicht gleichzeitig, den Verlauf der Trennung der Aminosäuren in der Probe zu verfolgen, die parallel auf dem gleichen Chromatogramm aufgetragen wurde, und zwar bei eindimensionalem wiederholtem Entwickeln. Als Lageindikatoren der Aminosäuren auf dem eindimensionalen, mit dem oben angeführten Lösungsmittelgemisch entwickelten Chromatogramm eignen sich nachstehende Farbstoffe (beziehungsweise ihre Komponenten): Orthozyanin 6 G (Cystinsäure), Thiazinrot (Lysin), Anthrazyaninviolett 3 B (Histidin), Dunkelgrün G (Arginin), Karmoisine S (Glutaminsäure und Hydroxyprolin), Anthosinviolett BBM (Threonin), Nerol VL (Alanin), Nerol B (Prolin), Thionin (Tyrosin und γ -Aminobuttersäure), Phenolrot (Phenylalanin), Helianthin (Isoleuzin), Tropelion 00 oder Akridingelb R (Leuzin).

Text zu den Tafeln

- I. Vergleich der Bestimmungsgenauigkeit gewisser Aminosäuren mit Hilfe der Einbeziehungsweise Zweidimensionalchromatographie
- II. Werte der Molarkonzentrationsverhältnisse gewisser Aminosäuren im Hydrolysat der Blüten roter Seerosen (*Nymphaea rubra*)
A = Papierchromatographie, B = Ionenaustauscherchromatographie

Text zu den Diagrammen

1. bis 5. Kalibrationskurven einiger Aminosäuren, die mit dem im Experimentaltel beschriebenen Verfahren gewonnen wurden. Auf der x-Achse ist die Menge in

der ursprünglichen nicht verdünnten Probe (in μg), auf der y-Achse ist die Extinktion (bei 500 $\text{m}\mu$) der zehnmals verdünnten Proben (mit der Ausnahme von Glutamin)

6. Probierröhrchen mit der Reaktionslösung. Das Röhrchen ist mit einem mit destilliertem Wasser gefüllten Glasverschluß verschlossen, an dessen Oberfläche die entweichenden Dämpfe des organischen Lösungsmittels kondensieren

Adresa autorů:

RNDr. Vladimír Jiráček, CSc., profesor RNDr. Josef Koštíř, Božena Jirsíková, promovaná chemička, Karlova universita, přírodovědecká fakulta, katedra biochemie, Praha 2, Albertov 2030

■ Vědecký výzkum výživy rostlin i jeho praktické využívání věnují stále více pozornosti otázce mikroprvků, tj. prvků, které sice nejsou hlavními živinami, avšak rostliny jich nezbytně potřebují pro správný růst a vývin. Že otázka přihnojování mikroprvky je velmi ožehavá, dosvědčuje například konání Mezinárodní konference o mikroprvcích ve dnech 6.—8. dubna 1965 v Liblicích, z něhož vyšel požadavek zavedení sériových rozborů půd na obsah mikroprvků v ČSSR (lit. 1).

S tímto problémem úzce souvisí potřeba vhodných laboratorních metodik, které by sériové rozborů půd na stopové prvky umožnily. V naší i světové literatuře je popsáno mnoho různých způsobů stanovení stopových prvků v půdách i rostlinách. Značná část z nich je i prakticky využívána.

Jedním z nejdůležitějších mezi mikroprvky je molybden. Jeho význam zdůraznilo již mnoho autorů u nás, např. Duchoň (1959). Také Dostál, Panýr a Maštalíř se zabývali již v roce 1957 molybdenem a zpracovanou metodiku na jeho stanovení publikovali (1958). Popsali tehdy metodu založenou na kolorimetrii barevného komplexu molybdenu s rhodanidovým aniontem za současné redukce chloridem cínatým. Tato metoda se velmi osvědčila v praxi a dosud se jí používá. Později vyšla zcela nezávisle ve sborníku Akademie věd SSSR práce Dobrické (1958), jejíž metodika stanovení molybdenu je až na některé odchylky (jako např. způsob výluhu) téměř totožná s metodikou Dostála, Panýra a Maštalíře (1958).

Praxe však ukázala, že pro určité procento půd dává tato metoda nesprávné výsledky, a to vyšší. Bylo na první pohled zřejmé, že v těchto případech oranžovo-hnědé zbarvení, charakteristické pro zmíněný molybdenový komplex, je překrýváno rušícím žlutozeleným zbarvením některé další, nám neznámé složky výluhu*). Předložená práce popisuje kromě některých změn v postupu stanovení právě odstranění těchto rušících složek, založené na čištění půdního výluhu pomocí měniče iontů. Princip metody bude možno pravděpodobně aplikovat i na stanovení některých jiných prvků, např. na bor.

V poslední době se analytická praxe odklání od dělicích extrakčních metod a orientuje se na modernější způsoby dělení pomocí ionexů. Výměna iontů se dnes stává jednou ze základních chemických operací, její význam neustále stoupá a nachází stále větší použití v nejrůznějších oborech chemické vědy a výroby.

Dělením molybdenu na ionexech se již v roce 1947 zabývali sovětsí autoři Lurje a Filippova (1947), kteří uvedli, že molybdenový ion patří mezi tzv. amfoterní ionty. Roztoky molybdenu se chovají ke katexu rozličně. Záleží velmi mnoho na reakci roztoku. Při filtraci alkalického molybdenu katexovým filtrem se molybden nezachycuje. Je-li roztok kyselý, pak se část molybdenu na katexu zachytí. Při filtraci okyseleného roztoku (pH asi 3) katexem zachytí se Fe, Cu i Mo, do filtrátu přejdou ostatní anionty. Pak se filtr s katexem eluuje slabým roztokem hydroxydu sodného nebo amonného. Fe a Cu zůstávají vázány na katexu. Mo přechází do filtrátu jako molybdenan sodný. Autoři neuvádějí, zda reakce probíhá kvantitativně.

*) Pravděpodobně jde o vanad, který poskytuje s rhodanidem žluté zbarvení. Spektrální analýza potvrdila u těchto půd zvýšené množství vanadu.

Později uveřejnili Šemjakin a Charlanov práci (1950), v níž rovněž popsali dělení molybdenu od Fe, Cu a V na katexu pomocí hydroxydu sodného. V roce 1953 publikovali titíž autoři chromatografickou metodu dělení Mo a V.

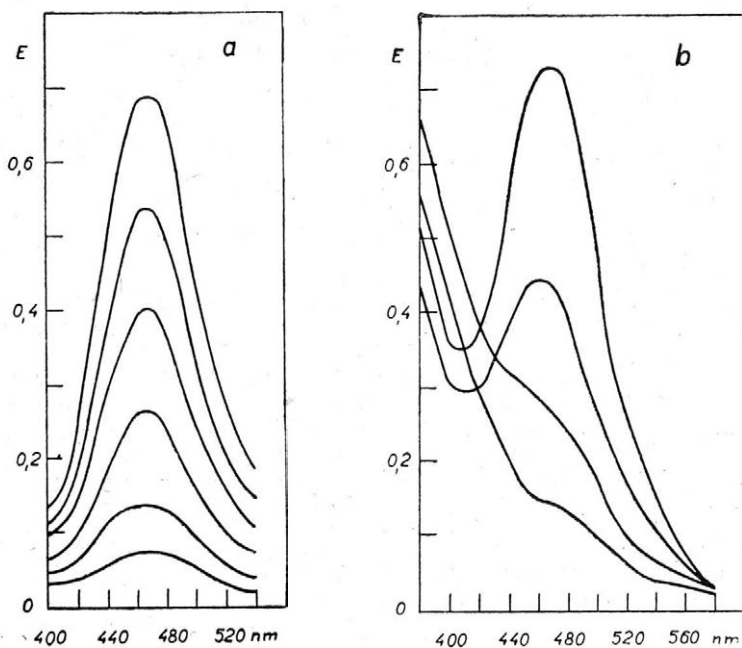
Roku 1955 modifikovali tuto metodu Japonci Matsuo a Iwase tak, že místo hydroxydu sodného použili 5% roztoku fosforečnanu sodnoamonného ($\text{pH} = 9$).

Klement (1956) oddělil molybden od těžkých kovů Cu, Pb, Cr, Ni, Fe a V na katexu a poprvé využil tvorby komplexu molybdenanu s kyselinou citrónovou, který prochází ionexem, zatímco ostatní kovy se zachytávají ve sloupci.

Moračevskij a Gordějev (1957) popsali oddělení molybdenu od Fe, Al, Ca na anexu. Na ionexovém sloupci v NO_3^- nebo Cl^- cyklu se zachytí molybden jako anion (kationty projdou) a potom se eluuje roztokem hydroxydu sodného.

Do agrochemické praxe zavedli ionexy Scharrer a Mengel (1959), kteří ve své práci použili měniče iontů k dělení molybdenu od ostatních složek při stanovení mikroprvků v hnojivech. Téměř současně uveřejnili svou práci Scharrer a Höfner (1959), ve které poprvé využili ionexové kolony k dělení molybdenu při stanovení jeho obsahu v půdách. Autoři připravili výluh půd podle Grigga (1953a, 1953b), ovšem před přidáním vybarvovací činidla oddělili molybden na ionexové koloně. Při tom použili kyselinu citrónovou jako ústojný roztok, který má zajistit vhodné pH na sloupci. Filtrát pak vybarvili pomocí dithiolu.

Z literatury plyne, že by použití ionexových sloupců mohlo být schůdnou cestou jak odstranit přítomnost rušících složek v půdním výluhu při kolorimetrickém stanovení molybdenu metodou Dostála, Panýra a Maštaliře (1958). Že vskutku jde o rušivé složky, bylo prokázáno proměřováním standardů a půdních výluhů na spektrálním fotometru (obr. 1). Při předběžných zkouškách s ionexy se potvrdilo, že čištění výluhu na ionexech je z dostupných způsobů nejrychlejší a nejspolehlivější cestou jak odstranit rušivé složky z půdních výluhů.



1. Srovnání absorpčních křivek standardních roztoků (a) a výluhů z obohacené půdy (b)

Absorpční křivky na obr. 1 a, b byly získány proměřením jednak jednotlivých standardů obsahujících 5, 10, 20, 30, 40 a 50 μg molybdenu, jednak výluhů zvláště vybrané půdy obohacené postupně o 0, 10, 30 a 50 μg molybdenu na 5 g půdy. Grafy jasně ukazují rozdíl mezi absorpčními křivkami standardů

zhotovenými z čistých chemikálií bez rušících složek a mezi absorpčními křivkami výluhů přirozené půdy. Je z nich rovněž zřejmé, že vlivem rušícího efektu neznámých složek roztoku se naměří podstatně vyšší extinkce, a že tedy výsledky, které se získají proměřováním výluhů bez předběžného oddělení molybdenu od rušivých složek, jsou značně vyšší. Rozdíl mezi naměřeným výsledkem a správným výsledkem se však mění od jednoho půdního vzorku ke druhému. Nelze proto ani najít přepočítávací faktor, nýbrž je nutno použít takového postupu, jímž by se rušící složky z výluhu odstranily.

Autor vyzkoušel několik postupů dělení molybdenu na ionexové koloně. Srovnával postup podle Lurje a Filippové (1947) za použití katexu FN a katexu S a dále postup podle Klementa (1956) za použití katexu S. Jako komplexotvorná činidla vyzkoušel kromě kyseliny citrónové rovněž některé jiné vícesytné organické kyseliny, jako kyselinu šťavelovou, kyselinu vinnou a komplexon 3 (tj. dvojsodná sůl kyseliny etylendiaminotetraoctové).

První varianta, tj. postup podle Šemjakina a Charlamova (1950) za použití katexu FN, nedávala uspokojivé výsledky, a proto byl pro další pokusy použit katex S (varianta druhá). Při tom bylo postupováno tímto způsobem:

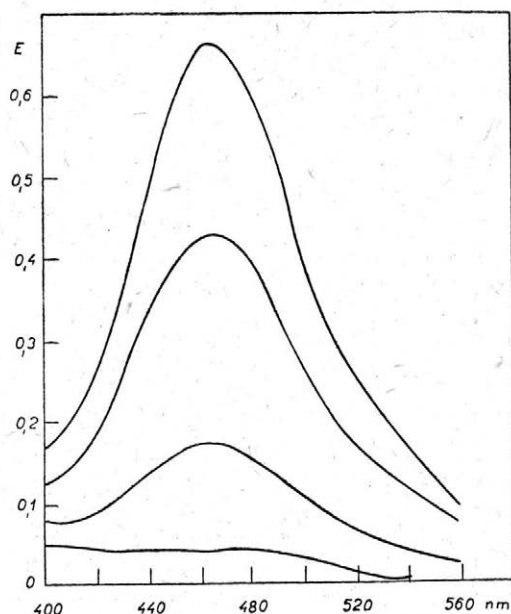
Katex S byl důkladně proprán dekantací destilovanou vodou, pak 10% kyselinou solnou a znovu vodou. Pak jím byla naplněna 25 ml byreta s rovným skleněným kohoutem tak, že na vrstvičku skleněné vaty se postupně naplavil ionex, až jeho celkový objem byl asi 25 ml. Byl znovu promyt 10% kyselinou solnou a deionizovanou vodou až do neutrální reakce (kontroluje se indikátorovými papírky). Na takto připravený katex S se nalila směs obsahující 50 μg Mo, 5 ml roztoku Fe (viz Metodika), 5 kapek koncentrované kyseliny solné a asi 10 ml destilované vody. Veškerý eluát se zachytával ve skleněné odpařovací misce. Kolonka se dále promyla vodou do neutrální reakce a pak asi 75 ml 5% hydroxidu sodného a znovu se promyla vodou do neutrální reakce. Takto získaný eluát se po okyselení odpařil na vodní lázni na objem asi 10–20 ml (nikoli však do sucha). Další postup vybarvení a stanovení molybdenu byl stejný, jak je popsán v následující metodice.

Tento postup se osvědčil jako dobrý, avšak byl značně časově náročný. Proto byla dále vyzkoušena třetí varianta podle Klementa (1956), tj. za použití komplexotvorného činidla, které zabraňuje tomu, aby se molybden nezachytil na katexu, nýbrž napomáhá tomu, aby kvantitativně prošel do eluátu.

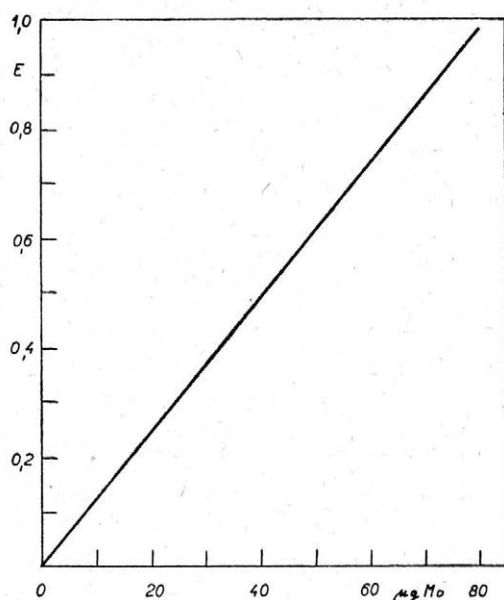
Jako maskovací činidla byla vyzkoušena kyselina citrónová, kyselina šťavelová, kyselina vinná a komplexon 3. Kyselina šťavelová nevyhovovala, ježto jednak značně zvyšovala extinkce a jednak by v půdních výluzích 20% kyselinou solnou srážela vápník. Komplexon 3 rovněž nevyhovoval proto, že značně snižoval extinkci. Ze zkoušených kyselin vyhovovaly pouze dvě: kyselina citrónová a kyselina vinná.

Obr. 2 ukazuje absorpční křivky molybdenu ve výluzích z obohacené půdy (podobně jako graf 1b), avšak po oddělení rušivých prvků na ionexové koloně za roužení kyseliny citrónové jako maskovacího činidla. Z křivek je patrný značný pokles extinkce i u výluhu z neobohacené půdy, z něhož můžeme názorně usuzovat na velikost chyby, které se dopouštíme, jestliže interferující komponenty neodstraníme.

Obr. 3 ukazuje standardní křivku molybdenu, změřenou na spektrálním fotometru Spekol v kyvetách o šířce 1 cm při vlnové délce 465 nm. Při této vlnové délce v oboru použitých koncentrací, tj. 0–50 μg Mo, je závislost extinkce



2. Absorpční křivky výluhů z obohacené půdy, po oddělení rušivých složek na ionexové koloně



3. Standardní křivka molybdenu, změřená na spektrálním fotometru Spekol v kytetách o šířce 1 cm při vlnové délce 465 nm

na koncentraci v podstatě přímková; je tudíž možno říci, že odpovídá přibližně Lambert-Beerovu zákonu.

Stanovení molybdenu v rostlinách není nesnadné, můžeme ho stanovit buď přímo bez použití ionexové kolony, anebo, v případě rušivých vlivů, aplikovat dělení na ionexech.

METODIKA

A. STANOVENÍ MOLYBDENU V PŮDÁCH

Chemikálie

1. molybdenan amonný p. a. ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, mol. váha 1139,954), 1,84 g se rozpustí v 1000 ml odměrné baňce v destilované nebo deionizované vodě a doplní po značku (roztok A). Z roztoku A se odpipetuje 10 ml opět do 1000ml odběrné baňky a doplní. Tento roztok obsahuje 10 μg Mo na 1 ml (roztok B);
2. kamenec železitý p. a. ($(\text{NH}_4\text{Fe}/\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), 21,5 g se rozpustí ve vodě a doplní do 250 ml. Přidá se několik kapek koncent. kyseliny solné, aby roztok zezelenal. Obsahuje 10 mg Fe na 1 ml;
3. koncentrovaná kyselina solná p. a. (36%);
4. 20% kyselina solná (139 ml 36% HCl do 500 ml);
5. 10% kyselina solná (139 ml 36% HCl do 1000 ml);
6. 4% fluorid sodný (40 g NaF p. a. do 1000 ml, rozpustí se za tepla a zfiltruje);

7. 20% dusičnan sodný (100 g NaNO_3 p. a. do 500 ml);
8. 20% rhodanid draselný (100 g KCNS p. a. do 500 ml);
9. roztok chloridu cínatého (kovový cín, spektrálně čistý, se nastrouhá na jemné piliny a rozpustí se v koncentrované kyselině solné);
10. amylalkohol p. a.;
11. etylalkohol (denaturovaný benzenem);
12. 10% kyselina citrónová nebo 10% kyselina vinná.

POSTUP STANOVENÍ

Půdní výluh

5 g na vzduchu vysušené a jemně rozetřené půdy se naváží do platinové misky a žihá v peci při maximální teplotě 550°C asi 2 hodiny, aby se odstranily organické látky. Vyžíhaný vzorek se přenesse do varných zábrusových baněk obsahu 200 ml, kde se přeleje 50 ml 20% kyseliny solné a vaří se pod zpětným chladičem jednu hodinu. Potom se obsah baňky zfiltruje do skleněné odpařovací misky. Zbytek na filtru se řádně promyje horkou destilovanou vodou. Filtrát v misce se umístí na vodní lázeň a odpaří se k suchu. Odparek se pak suší v sušárně při 120°C asi půl hodiny. Vysušený odparek se ovlhčí pod hodinovým sklíčkem co nejmenším množstvím koncentrované kyseliny solné (cca 5–8 kapek) a po chvíli se rozpustí asi ve 20 ml horké vody. Po ochlazení se přidají 2 ml 10% kyseliny citrónové nebo vinné, roztok se důkladně promíchá a zfiltruje se přímo do zásobní nálevky ionexové kolony, aby se odstranila vyloučená kyselina křemičitá. Roztok se pak filtruje rychlostí 3–5 ml za minutu přes předem řádně připravenou kolonku (příprava kolonky byla popsána v části experimentální). Veškerý filtrát se zachycuje do skleněné odpařovací misky. Kolonka se dále promyje asi 100 ml destilované vody. Obsah skleněné misky se zahustí na vodní lázni asi na 10–20 ml (nikoliv až do sucha). Takto připravený filtrát se použije k vlastnímu stanovení molybdenu.

Vybarvení a změření

Do dělicí nálevky (150 ml) se přenesse kvantitativně výše uvedený filtrát, přidá se 5 ml roztoku Fe, 1 ml koncentrované kyseliny solné a důkladně se promíchá. Dále se přidá 10 ml 4% NaF , 4 ml 20% NaNO_3 a voda do obsahu 50 ml. Po důkladném protřepání se dále přidají 2 ml 20% KCNS a 2–4 ml roztoku chloridu cínatého. Důkladně se třepe až do odbarvení železa a pak se přidá z byrety 12,5 ml amylalkoholu. Opět se řádně protřepe. Po oddělení vrstev odpustí se vodní fáze a alkoholová fáze se zachytí do zkumavky, předem obsahující 0,5 ml etylalkoholu. Čirý extrakt se použije ke změření extinkce na kolorimetru nebo na spektrálním fotometru při vlnové délce 465 nm, jak je zřejmé z absorpčních křivek na grafu 1a. Obsahy molybdenu se stanoví odečtením ze standardní křivky. Chyba měření je asi $\pm 2\%$.

Standardní křivka

Do dělicí nálevky (150 ml) se postupně pipetuje 0, 0,5, 1, 2, 3, 4 a 5 ml roztoku B (molybdenan amonný), což odpovídá 0, 5, 10, 20, 30, 40 a 50 μg Mo, dále pak po 5 ml roztoku Fe, po 1 ml koncentrované kyseliny solné a 2 ml kyseliny citrónové nebo 10% kyseliny vinné a vše se důkladně protřepe. Pak se při-

dá 10 ml 4% NaF atd. Další postup je stejný jako u vzorků. Po změření extinkce se zhotoví standardní křivka tak, že na osu x se nanesou příslušné koncentrace Mo a na osu y tomu odpovídající extinkce.

B. STANOVENÍ MOLYBDENU V ROSTLINÁCH

Chemikálie

Viz „A. Stanovení molybdenu v půdách“.

Výluh z rostlinné sušiny

5 g sušiny (např. sena) se žihá v platinové misce zpočátku mírně, později až do 550 °C asi 2 hodiny. Popel se pak spláchne vodou (co nejmenším množstvím) do 150ml kádinky a přidá se asi 50 ml koncentrované kyseliny solné (celkový objem má být maximálně 100 ml). Digeruje se pod hodinovým sklíčkem 1 hodinu. Pak se reakční směs přenesse bez filtrace kvantitativně na skleněnou odpařovací misku a odpaří se na vroucí vodní lázni do sucha. Po odpaření se miska vloží na půl hodiny do sušárny při teplotě 120 °C. Zbytek v misce se pokape koncentrovanou kyselinou solnou a rozpustí horkou vodou. Po vychladnutí se odfiltruje vyloučená kyselina křemičitá. Filtrát se jímá do 150ml kádinek. I s vodou použitou k promytí filtru má být filtrátu asi 75 ml. Filtrát se pak kvantitativně přenesse do dělicí nálevky (250 ml) a vybarví se.

Vybarvení a změření

Viz „A. Stanovení molybdenu v půdách“.

Standardní křivka

Zhotoví se stejným způsobem jako při stanovení Mo v půdách, avšak bez přídavku kyseliny citrónové nebo vinné.

SOUHRN

Je popsáno dělení půdních výluhů na ionexech, jímž se dosahuje přesnějších výsledků při stanovení molybdenu v těchto výluzích. Současně se popisuje i vlastní elektrofotometrické stanovení molybdenu v půdách a rostlinách.

Došlo dne 11. 1. 1966

Literatura

1. MATERIÁLY z Mezinárodní konference o mikroprvcích, konané ve dnech 6.-8. dubna 1965 v Liblicích. — 2. DUCHOŇ, F. - HAMPL, J.: Agrochemie. ČSAZV, Praha 1959, 423 s. — 3. DOSTÁL, A. - PANÝR, M. - MAŠTALÍŘ, L.: Příspěvek ke kolorimetrickému stanovení molybdenu v půdách. = „Rostlinná výroba“, 4 (XXXI), 1958, č. 5, s. 621-630. — 4. DOBRICKAJA, Ju. I.: Opredelenije valovogo molybdena v počvach i rastenijach. = In: Metody opredelenija mikroelementov v počvach i rastenijach. Sborník Akademie věd SSSR, Moskva 1958. — 5. LURJE, Ju. Ju. - FILIPPOVA, J. P.: Dělení kationtů pomocí ionexů. = „Zavodskaja laboratorija“, 13, 1947, s. 539. — 6. ŠEMJAKIN, F. M. - CHARLAMOV, J. P.: Dělení molybdenu od Fe, Cu a V na katexu louhem sodným. = „Zav. lab.“, 16, 1950, s. 1126. — 7. ŠEMJAKIN, F. M. - CHARLAMOV, J. P.: Chromatografická metoda dělení molybdenu a vanadu. = „Zav. lab.“, 1, 1953, s. 7. — 8. MATSUO, T. - IWASE, A.: Dělení molybdenu od Fe, Cu a V pomocí natriumamoniumfosfátu. = „Japan Analyst“, 4, 1955, s. 148. — 9. KLEMENT, R.: Trennung des Molybdäns von Schwermetallen mit Hilfe

von Ionenaustauschharzen. = „Z. anal. Chem.“, 136, 1936, s. 17. — 10. MORACEVSKIJ, J. V. - GORDEJEVA, M. N.: Otdelenije molibdena ot Fe, Al i Ca s pomoščju aniontov. = „Zav. lab.“, 23, 1957, s. 1066. — 11. SCHARRER, K. - MENGEL, K.: Die Bestimmung von Mikronährstoffen in Mikronährstoffvolldüngern. = „Landwirtschaftliche Forschung“, 12, 1959, s. 118-124. — 12. SCHARRER, K. - HÖFNER, W.: Kationenabtrennung durch Ionenaustauscher bei der photometrischen Molybdenbestimmung mit Dithiol. = „Z. f. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde“, 86, 1959, s. 49. — 13. GRIGG, J. L.: Determination of available soil molybdenum. = „New Zealand Soils News“, 3, 1953, s. 34-35. — 14. GRIEGG, J. L.: A rapid method for the determination of molybdenum in soils. = „Analyst“, 78, 1953, s. 470-473.

К вопросу спектрофотометрического определения молибдена в почвах и растениях

В статье описывается деление экстрактов в ионообменнике, при помощи которых получаются более точные результаты при определении молибдена в этих экстрактах. Одновременно описывается и собственно спектрофотометрическое определение молибдена в почвах и растениях.

Текст к графикам

1. Сопоставление абсорбционных кривых стандартных растворов (а) и экстрактов из обогащенной почвы (б)
2. Абсорбционные кривые экстрактов из обогащенной почвы, после удаления мешающих компонентов в колонне ионообменника
3. Стандартная кривая молибдена, измеренная на спектральном фотометре Спекол в кюветах шириной 1 см при длине волны 465 нм

On the Problem of Spectrophotometric Determination of Molybdenum in Soils and Plants

The author describes the separation of extracts on ion exchangers, whereby more accurate results are obtained in the determination of molybdenum in these extracts. Moreover, he also describes the spectrophotometric determination of molybdenum in soils and plants.

Text to graphs

1. Comparison of absorption curves of standard solutions (a) and of extracts from enriched soil (b)
2. Absorption curves of extracts from enriched soil after separation of disturbing components on an ion-exchanger column
3. Standard curve of molybdenum, measured by means of a Spekol spectrophotometer in 1 cm cells at a wavelength of 465 nm

Zur Frage der spektrophotometrischen Bestimmung von Molybdän in Böden und Pflanzen

In der vorliegenden Arbeit wird die Teilung des Auslagungen auf Ionenaustauschern beschrieben, wodurch genauere Ergebnisse bei der Bestimmung ihres Molybdängehaltes erzielt werden. Gleichzeitig wird auch die eigentliche spektrophotometrische Bestimmung des Molybdäns in den Böden und Pflanzen gebracht.

Text zu den Diagrammen

1. Vergleich der Absorptionskurven von Standardlösungen (a) und Auszügen aus angereicherten Böden (b)
2. Absorptionskurven von Auszügen aus angereichertem Boden nach Beseitigung der störenden Komponenten mit einer Ionenaustauscherkolonne
3. Molybdänstandardkurve, gemessen auf einem Spektralphotometer Spekol in Küvetten mit 1 cm Breite bei der Wellenlänge 435 nm

Question de dosage spectrophotométrique du molybdène dans les sols et les plantes

On donne la description de la répartition des extraits sur les échangeurs d'ions qui permet d'obtenir des résultats plus précis lors du dosage du molybdène dans ces extraits. Simultanément on donne également la description du dosage spectrophotométrique propre du molybdène dans les sols et les plantes.

Textes des graphiques

1. Comparaison des courbes d'absorption des solutions standard (a) et des extraits du sol enrichi (b)
2. Courbes d'absorption des extraits du sol enrichi, après la séparation des éléments perturbateurs sur la colonne d'échangeurs d'ions
3. Courbe standard du molybdène, mesurée sur le photomètre spectral Specol dans les cuvettes d'une largeur de 1 cm, la longueur d'onde étant de 465 nm

Adresa autora:

Miloš Panýr, prom. chemik, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský,
Praha 8 - Karlín, Sokolovská 1

**ZRYCHLENÉ METODY URČOVÁNÍ
OBSAHU N-LÁTEK
V ROSTLINNÉM MATERIÁLU**

**XVIII. OXIDAČNÍ ČINIDLA A PRODLUŽOVÁNÍ SPALOVACÍ
DOBY PO ODBARVENÍ SMĚSI U KJELDAHOVY
METODY**

Ve své dřívější práci (Purš, Obrtelová 1966) jsme se zabývali účinností jednotlivých katalyzačních směsí. Dalšími faktory, které ovlivňují trvání a průběh reakce, jsou oxidační činidla a délka spalovací doby po vyjasnění roztoku, potřebná k dokonalému převedení všeho dusíku na amoniak.

Oxidační činidla

Po proběhnutí počátečních fází rozkladné reakce přidával již Kjeldahl (1883) krystalický manganistan draselný, aby urychlil rozklad analyzované látky. Wilfahrt (1885) však poukazoval na zbytečnost a v některých případech škodlivost jeho používání, protože manganistan působil někdy ztráty a při použití kovových katalyzátorů spalovací dobu nezkracoval.

Zavedení 30% peroxidu vodíku do Kjeldahlovy metody se obvykle připisuje Kleemanovi (1921). Ale již několik let před ním peroxidu používal Migault (1910). Později se otázkou jeho užití zabývala celá řada prací (Heuss 1923, Engelke 1937, Schwarze 1944). Peroxid je doporučován obzvláště při semimikro a mikrostanoveních (Lang 1958) a při spalování, po němž následuje stanovení amoniaku formolovou titrací (Bolling aj. 1960), nebo pomocí Nesslerova činidla (Exley 1956), protože nezanechává žádné rušící příměsi.

Z dalších oxidovadel byl doporučován Robinsonem aj. (1932) peroxodvojsíran. Jeho používání se však nerozšířilo.

Používání tak radikálního oxidačního prostředku jako je kyselina chloristá se objevuje u Mearse a Husseyho (1921). Tito autoři dosahují odbarvení reakční směsi při spalování 1 g látky s 25 ml koncentrované kyseliny sírové, 1 g síranu draselného a 2 ml 60% kyseliny chloristé již po 3–7 minutách. Oba autoři současně upozorňují, že přebytek kyseliny chloristé může působit ztráty dusíku.

Wicks a Firminger (1942) se zabývali příčinami těchto ztrát a závěry jejich práce jsou:

a) i při nepatrném přebytku kyseliny chloristé vnikne chloristan amonný, který se rozkládá intenzivně již při teplotách nad 200 °C a uvolňuje elementární dusík;

b) kyselina chloristá, která se nespotřebuje k oxidaci organických látek, oxiduje amonný ion až na elementární dusík. Pokud jsou přítomny organické látky, toto nebezpečí nehrozí, protože se veškerá kyselina chloristá spotřebuje na jejich oxidaci.

Prodloužení spalovací doby po vyjasnění

Nedostatkem spalovacího procesu je nesnadná rozpoznatelnost konce přeměny dusíkatých sloučenin na amoniak. Vyjasnění spalovacího roztoku totiž neindikuje konec rozkladné reakce. K jejímu dokončení se používalo buď oxidace manganistanem draselným, nebo se prodlužovala doba varu.

Názory na délku této doby se různily. Někteří autoři (Flamand aj. 1906) spalovali pouze do odbarvení, jiní (Atterberg 1898, Scherman aj. 1904, Stolzenberg 1913) spalovací dobu prodlužovali o 10, 15 až 120 min. Dlouhé doby (8 až 16 hod.) potřebné k dokonalému převedení všeho dusíku na amoniak se uvádějí

u látek, kde je dusík vázán v heterocyklickém jádře (Pregl aj. 1959), nebo u takových směsí, kde je nízká koncentrace síranu draselného (menší než 0,3 g/l ml kyseliny sírové). U koncentrací 0,6 g/l ml kyseliny sírové a vyšších stačilo pro organické zbytky v půdě prodloužení varu o 15 minut (Bremner 1960).

Cílem práce je zjistit, zda lze při sériových rozbořech využít lákavého snížení spalovací doby pomocí různých oxidovadel a určit časové podmínky pro dokončení mineralizace po odbarvení reakční směsi.

MATERIÁL

Analyzovaný materiál: sacharóza $C_{12}H_{22}O_{11}$, síran amonný $(NH_4)_2SO_4$, acetanilid $CH_3CONHC_6H_5$; zelené rostliny pšenice, obilky a hrách.

Oxidační činidla a katalyzační směsi podle

Robinsona aj. (1932) $K_2S_2O_8$ (D)

Engelkeho (1937) H_2O_2 30% (E)

Neumanna (1951) $HClO_4$ 70% (G)

Horela (1956) $K_2SO_4 : CuO = 100 : 1$ (H)

Heusse (1923) H_2O_2 30% + K_2SO_4 (K)

Purše aj. (1966) $K_2SO_4 : CuSO_4 \cdot 5 H_2O :: Se : HgO = 130 : 16 : 5 : 35$ (X)

METODIKA

Působení oxidačních činidel

V předběžných zkouškách s manganistanem draselným jsme s použitím techniky uvedené Beetem (1955) nedosáhli uspokojivých výsledků. Nepodařilo se nám dosáhnout popisovaného odbarvení. V dalších pokusech s manganistanem jsme proto nepokračovali (Wilfahrt 1885).

Z dalších oxidovadel jsme použili 30% peroxidu vodíku (E), 70% kyseliny chloristé (G) a peroxodvojsíranu (D). Jednotlivá oxidační činidla jsme porovnali mezi sebou a současně i se standardní katalyzační směsí H a směsí X.

Kvalitativní časová studie

Za podmínek praktického provádění reakce jsme sledovali čas potřebný ke spálení 500 mg sacharózy. Výsledky jsou v tabulce I.

KVANTITATIVNÍ PRŮBĚH REAKCÍ

Z dalších pokusů jsme vyřadili peroxodvojsíran a kombinaci peroxidu vodíku se síranem draselným, protože působily příliš pomalu.

I. Časová studie se sacharózou

Statistická hodnota	Oxidační činidla a katalyzátory							
	D	E	G	H	K	X	$X_{H_2O_2}$	X_{HClO_4}
$\bar{x}$ min.	23,8	4,8	3,6	23,6	19,8	7,2	9,6	2,4
s min.	2,4	0,4	1,2	4,8	4,8	1,2	1,6	1,2
v %	10,1	8,3	33,3	20,4	24,2	16,7	16,7	50,0

$\bar{x}$ = aritmetický průměr dob potřebných k odbarvení směsi

s = směrodatná odchylka

v = variační koeficient

n = 5 ve všech případech

II. Časová a kvantitativní studie se sacharózou a síranem amonným

Statistická hodnota	Měřená hodnota	Oxidační činidla a katalyzátory					
		E	G	H	X	X _{HClO₄}	slepý pokus
$\bar{x}$	min.	13,4	4,1	25,8	9,6	46	
	ml	14,88	12,52	15,00	14,96	11,46	14,94
s	min.	11,6	1,6	4,4	1,6	0,8	
	ml	0,12	0,95	0,20	0,52	1,48	0,20
v %	min.	86,5	39,0	17,1	16,7	30,8	
	ml	0,81	3,60	1,33	1,87	12,92	1,34

$\bar{x}$ = aritmetický průměr dob potřebných k odbarvení směsi a objemu 0,1 N H₂SO₄ spotřebovaných k titraci přidaného síranu amonného

s = směrodatná odchylka

v = variační koeficient

n = 5 ve všech případech

III. Časová a kvantitativní studie se sacharózou a acetanilidem

Statistická veličina	Měřená hodnota	Oxidační činidla a katalyzátory		
		E	H	X
$\bar{x}$	min.	—	30,0	9,2
	výtěžnost %	98,3	98,6	99,0
s	min.	—	4,4	2,0
v %	min.	—	14,7	21,7
	výtěžnost %	2,04	0,96	1,76

$\bar{x}$ = aritmetický průměr dob v minutách, potřebných k odbarvení směsi a zpětná výtěžnost acetanilidu v %

s = směrodatná odchylka

v = variační koeficient

n = 5 ve všech případech

Kontrola na síranu amonném

Z 15 ml 0,1 N síranu amonného jsme v přítomnosti 5 ml koncentrované kyseliny sírové odpařili vodu; po vychladnutí jsme přidali sacharózu a katalyzační směs. Sledovali jsme čas potřebný ke spálení a množství síranu amonného, které zbylo po spalování. Výsledky jsou v tabulce II.

Kontrola na acetanilidu

Ke 200 mg acetanilidu a 300 mg sacharózy jsme přidali kyselinu sírovou a buď oxidační činidlo nebo katalyzační směs. Sledovali jsme čas potřebný ke spálení a množství amoniaku vzniklého z acetanilidu. Výsledky jsou v tabulce III.

IV. Časová a kvantitativní studie s přirozeným materiálem

Materiál	Statistická veličina	Oxidační činidla a katalyzátory		Rozdíl v %	
		E	H	absol.	rel.
Pšenice Niva	$\bar{x}$	1,61	1,65	0,04	2,4
	s	0,031	0,016		
	v	1,94	0,95		
Ječmen Valtický	$\bar{x}$	1,57	1,59	0,02	1,3
	s	0,042	0,016		
	v	2,65	0,98		
Zelené rostliny pšenice Kaštické osinaté	$\bar{x}$	2,98	3,08	0,10	3,4
	s	0,052	0,042		
	v	1,75	1,35		
Žito	$\bar{x}$	1,73	1,73	0,00	0,0
	s	0,026	0,026		
	v	1,50	1,50		
Pšenice Diana I	$\bar{x}$	1,71	1,81	0,10	5,5**
	s	0,021	0,021		
	v	1,22	1,15		
Ječmen Domen	$\bar{x}$	1,67	1,68	0,01	0,8
	s	0,031	0,016		
	v	1,87	0,93		
Hrách Dětenický žlutý	$\bar{x}$	3,33	3,42	0,09	2,6
	s	0,073	0,026		
	v	2,19	0,76		
	$\bar{x}$	35,4	35,7		

v = variační koeficient v %

s = směrodatná odchylka v min. a % N

 $\bar{x}$ = aritmetický průměr v min. a % N

n = 3 ve všech případech

xx = vysoce průkazný rozdíl

V. Prodloužení spalovací doby

Použitý materiál	Statistická veličina	Prodloužení spalovací doby po vyjasnění v minutách					
		0	15	30	60	120	180
Pšenice Niva	$\bar{x}$	1,59	1,65	1,67	1,65	1,65	1,67
	v	2,94	0,95	1,25	1,89	0,95	1,87
Ječmen Valtický	$\bar{x}$	1,52	1,58	1,60	1,58	1,56	1,58
	v	2,74	2,31	1,95	1,65	1,33	1,32
Zelené rostliny pšenice Kaštická osinatka	$\bar{x}$	2,99	3,14	3,12	3,10	3,14	3,11
	v	2,78	1,33	1,17	1,80	1,16	0,67
Žito	$\bar{x}$	1,60	1,77	1,76	1,77	1,75	1,77
	v	1,30	1,76	1,18	1,47	0,89	1,47
Hrách Dětenický žlutý	$\bar{x}$	3,24	3,49	3,47	3,56	3,48	3,46
	v	2,41	1,05	0,90	1,02	1,20	1,05
	y	94,70	100,00	100,16	100,12	99,50	99,90

$\bar{x}$ = aritmetický průměr v ‰ N

v = variační koeficient v ‰

n = počet měření = 3

y = celkový aritmetický průměr v ‰, vztažený na hodnotu pro spalovací dobu prodlouženou o 15 minut a položenou rovnu 100 ‰

Va. Analýza variance

Příčina proměnlivosti	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F
Prodloužení spalovací doby	5	343,7	68,7	22,1
Opakování	84	261,0	3,11	
Celkem	89	604,7		

Nejmenší průkazný rozdíl

$d_{0,05} = 1,28 ‰$

$d_{0,01} = 1,71 ‰$

Aritmetický průměr pro spalovací dobu prodlouženou o 15 minut = 100 ‰

Kontrola na přirozeném materiálu

Stejně hodnoty jsme sledovali na materiálu, který se běžně analyzuje v našich laboratořích. Výsledky jsou v tabulce IV.

Prodloužení spalovací doby po vyjasnění

U obilovin je dusík vázán převážně ve formě bílkovin a jen malá část (2 až 10 ‰) je ve formě nebílkovinné (Petěrburgskij 1952). Z této malé části pak

připadá opět pouze nepatrný zlomek na sloučeniny s dusíkem, vázaným v heterocyklickém jádře. Je proto nepravděpodobné, že by bylo zapotřebí používat k dokonalému převedení dusíku na amoniak příliš vysokých teplot a značně dlouhých dob.

U katalyzační směsi X jsme u některých přirozených vzorků přerušili spalování ihned po odbarvení, v dalších případech po 15 a 30 minutách, po 1, 2 a 3 hodinách po odbarvení. Časy jsme měřili pro každou baňku individuálně. Výsledky jsou v tabulce V.

Analýzu variance (tab. Va) jsme zpracovali takovým způsobem, že jsme vzali za základ (100%) průměrné hodnoty obsahu dusíku po prodloužení spalovací doby o 15 minut a pro jednotlivě naměřené hodnoty jsme vypočítali odpovídající procentuální indexy.

Uspořádání pokusů

Vzorky jsme vysušili na vzduchu a pomleli tak jemně, aby propadly plně sítem o vzdálenosti drátů 0,5 mm (Robinson aj. 1932). Spalovali jsme 500 mg $\pm$ 1 mg látky v 5 ml koncentrované kyseliny sírové s přidavkem 1,5 g $\pm$ 0,01 g zhomogenizované katalyzační směsi nebo těchto dávek oxidačních činidel: 5 ml 30% peroxidu vodíku, 0,5 g peroxidovosíranu, 1 až 2 ml kyseliny chloristé.

Spalovali jsme na vlastním spalovacím zařízení (Fojtová aj. 1960). Vzniklý amoniak jsme destilovali na přístroji Parnas-Wagner (Laboratorní potřeby n. p.) a pohlcovali ve 2% kyselině borité (Purš 1960).

Hodnocení výsledků

Výsledky jsme hodnotili rychlými (Lokvenc 1954) a běžnými (Rod aj. 1958) statistickými metodami.

DISKUSE

PŮSOBNÍ OXIDAČNÍCH ČINIDEL

Kvalitativní časová studie

30% peroxid vodíku a zvláště 70% kyselina chloristá se ukázaly být mimořádně účinné. Po proběhnutí prudké reakce, provázené u kyseliny chloristé vývojem velkého množství bílých dýmů, se směs během 3—5 minut odbarvila. Doplnili jsme proto tabulku I kombinací nejúčinnější katalyzační směsi (X) s peroxidem a s kyselinou chloristou. Zatím co kombinace s kyselinou chloristou byla účinnější než jednotlivé složky, měla kombinace s peroxidem vodíku opačný účinek a spalovací dobu prodlužovala zhruba o dobu potřebnou k odpaření vody vzniklé rozkladem peroxidu. Stejný jev jsme pozorovali u způsobu K. Z technických důvodů jsme v těchto dvou případech zvolili opačný postup, než jaký navrhoval Heuss (1923), tj. přidávali jsme napřed síran draselný, popřípadě katalyzační směs a teprve potom peroxid. Opačný způsob (napřed peroxid) vlastní průběh reakce sice zrychlí, ale celková doba potřebná k odbarvení reakční směsi je delší, protože je třeba baňky před přidáváním síranu draselného (katalyzační směsi) ochladit. Málo účinný byl i peroxidovosíran.

Podle průkaznosti rozdílů v délce spalovací doby lze seřadit výsledky do těchto odlišných skupin: X_{HClO_4} , G — G, E — X — H_2O_2 — K — H, D.

Z dalších pokusů jsme proto způsoby D, K a $X_{H_2O_2}$ vypustili.

Kontrola na síranu amonném

V této sérii pokusů zklamal peroxid vodíku. Místo preparátu Merck jsme použili peroxidu zn. Reanal, který měl skutečný obsah H_2O_2 pouze 22,5 %. I při úměrně zvýšené dávce se spalovací časy podstatně prodloužily.

Podle časové účinnosti lze na základě nejmenšího průkazného rozdílu seřadit výsledky do těchto odlišných skupin: X_{HClO_4} , G — X — E — H.

Při sledování zpětné výtěžnosti přidaného síranu amonného jsou na první pohled zatíženy hrubou chybou výsledky v těch případech, kde jsme použili k oxidaci kyseliny chloristé. Zjištěné rozdíly mezi všemi ostatními hodnotami nejsou průkazné.

Použití kyseliny chloristé (G, X_{HClO_4}) jsme pro značné snižování výsledků z dalších pokusů vyřadili.

Kontrola na acetanilidu

Pro potíže s použitím peroxidu zn. Reanal jsme čas potřebný ke spálení n sledovali.

Mezi hodnotami pro zpětnou výtěžnost acetanilidu není průkazných rozdílů. Všechny odpovídají teoretickému požadavku (acetanilid obsahoval 1,1 % vody).

Kontrola na přirozeném materiálu

Při spalování pomocí peroxidu vodíku se opakovaly tytéž jevy jako při pokusech s acetanilidem. Časové údaje, které se pohybovaly řádově na úrovni katalyzátorů H, jsme proto nehodnotili.

Obsah dusíku byl při použití peroxidu jednou vysoce průkazně nižší, jednou se rozdíl přiblížil hranici průkaznosti. Tato průkazná snížení i všechny ostatní neprůkazně nižší hodnoty lze přičíst na vrub ztrátám způsobených pravděpodobně oxidací amonného iontu na dusík přebytečným peroxidem. Kromě provozní nevhodnosti se ukázal peroxid vodíku jako možný zdroj chyb při předávkování.

Prodloužení spalovací doby po vyjasnění

Analýza variance (tab. Va) ukázala vysoce průkazný rozdíl mezi hodnotami, kdy spalování bylo ukončeno ihned po odbarvení reakční směsi, a ostatními hodnotami souboru. Mezi zbývajících hodnotami jsme nezjistili průkazné rozdíly.

Prodloužení spalovací doby o 15 minut od okamžiku odbarvení je tedy dostatečné.

SOUHRN

Práce řeší otázku, zda se mohou při sériových analýzách rostlinného materiálu používat bez obav oxidační činidla, která při jednotlivých analýzách podstatně zkracují spalovací dobu.

Oxidační činidla neprojevila očekávaný činek. Peroxodvojsíran účinkoval pomalu. Kyselina chloristá způsobovala vysoké ztráty dusíku i při malých dávkách. Peroxid vodíku vyžaduje velmi přesné dávkování při jednorázovém přidávání, neboť jinak vzniká nebezpečí ztrát dusíku. Opakované dílčí dávky jsou z provozního hlediska při větších sériích vzorku nevhodné. Ve spojení s běžnými spalovacími katalyzacími směsmi peroxid vodíku dobu potřebnou ke spálení nezkracoval, naopak proti samotné katalyzací směsi ji prodloužil zhruba o dobu potřebnou k odpaření vody, vzniklé rozkladem peroxidu.

Používání 30% peroxidu vodíku nemůžeme proto pro veliké série vzorků doporučit.

Ve druhé části práce si všímáme doby, o kterou je třeba prodloužit spalování po odbarvení reakční směsi, aby byl dusík, přítomný ve vzorku, kvantitativně převeden na amoniak.

Samotné odbarvení směsi konec této přeměny neindikuje.

Prodloužení spalovací doby o 15 minut po vyjasnění reakční směsi bylo v daných podmínkách (0,3 g katalyzací směsi na 1 ml kyseliny sírové) dostatečné.

Došlo dne 2. 10. 1965

Literatura

1. ATTERBERG, A.: Über die Modifikationen der Kjeldahl'schen Stickstoffbestimmungsmethode. = „Chem. ztg.“, 1893, č. 22, s. 505-506. — 2. BEET, A. E.: Potassium Permanganate in the Kjeldahl Method for the Determination of Nitrogen in Organic Substances. = „Nature“, 175, 1955, s. 513-514. — 3. BOLLING, H. - SEIBEL, W.: Theoretische Grundlagen und praktische Einsatzmöglichkeiten der Formol-Titration bei der Proteinbestimmung in Getreideprodukten. = „Getreide u. Mehl“, 10, 1960, s. 5-8. — 4. BREMNER, J. M.: Determination of Nitrogen in Soil by the Kjeldahl Method. = „J. Agric. Sci.“, 55, 1960, s. 11-33. — 5. EXLEY, D.: The Determination of 20-100 μ g Quantities of Organic Nitrogen. = „Biochem. J.“, 63, 1956, s. 496-501. — 6. ENGELKE, H.: Versuche zur Beschleunigung und Verbilligung der Eiweißbestimmung bei Getreide. = „Mühlenlab.“, 7, 1937, s. 137-152. — 7. FLA-

MAND, W. - PRAGER, B.: Ber. deutsch. chem. Ges. Berlin, 38, 559 cit. z „Z. anal. Chem.“, 45, 1906, s. 353. — 8. FOJTOVÁ, V. - PURŠ, J. - ŠPIDLA, J.: Spalovací zařízení pro semimikro a mikrostanovení dusíku podle Kjeldahla. = „Chem. listy“, 54, 1960, s. 1069-1071. — 9. HEUSS, R.: Über die Anwendung von Wasserstoffsperoxyd zur Stickstoffbestimmung. = „Wochenschr. f. Brauerei“ 40, 1923, s. 73-74. — 10. HOREL, J.: Chemicko-technologické rozborý zemědělských plodin. Praha, 1956. — 11. KJELDAHL, J.: Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. = „Ztschr. anal. Chem.“ 22, 1883, s. 366-382. — 12. KLEEMANN, A.: Ztschr. angew. Chemie 34, 625 (1921), cit. z „Z. anal. Chem.“ 61, 1922, s. 344. — 13. LANG, C. A.: Simple Mikrodetermination of Kjeldahl Nitrogen in Biological Materials. = „Anal. Chem.“ 30, 1958, s. 1692-1694. — 14. LOKVENC, F. A.: Matematicko-statistické metody hodnocení. Kapitola XIV z knihy Kočková-Kratochvílová A. Praktikum technické mikrobiologie Praha, 1954. — 15. MEARS, B. - HUSSEY, R. E.: J. Ind. Eng. Chem. A. E. 13, 1054 (1921), cit. z „Z. anal. Chem.“ 67, 1925-26, s. 416. — 16. MIGAULT, W.: Nasse Verbrennung mittels Caroscher Säure. = „Chem. Ztg.“ 34, 1910, s. 337. — 17. NEUMANN, F.: Über eine Fehlermöglichkeit beim Kjeldahlaufschluß mit Perchlorsäure. = „Z. anal. Chem.“ 132, 1951, s. 416-419. — 18. PETERBURGSKIJ, A. V.: Praktikum po agrochemii. Moskva, 1952. — 19. PREGL, F. - ROTH, H.: Quantitative organische Mikroanalyse. Wien, 1958. — 20. PURŠ, J.: Kvantitativní makrostanovení amoniaku za použití kyseliny borité. = „Rostlinná výroba“ 6, (XXXIII), 1960, s. 525-54. — 21. PURŠ, J. - OBRTLOVÁ, V.: Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu. XII. Prověření účinnosti různých katalyzačních směsí při spalovacím procesu Kjeldahlovy metody. = „Rostlinná výroba“ 12, 1966, s. 539-546. — 22. ROBINSON, R. J. - SHELLENBERGER, J. A.: Microdetermination of Protein in Cereal Products. = „Ind. Eng. Chem. A. E.“ 4, 1932, s. 243. — 23. ROD, J. - WAGNEROVÁ, V.: Základy biometrie. Praha, 1958. — 24. SHERMAN - LAUGHLIN - OSTERBERG: J. Am. Chem. Soc. 26, 367 (1904) cit. z „Z. anal. Chem.“ 45, 1906, s. 353. — 25. SCHWARZE, P.: Über die Methodik der Auslese eiweißreicher Zuchtstämme und Variabilität der Eiweißqualität in Zuchtmaterial. = „Ztschr. Pflanzenzücht.“ 26, 1944, s. 1-55. — 26. STOLZENBERG, H.: Ztschr. Verein. Deutschen Zucker - Ind. 62, 440 cit. z „Z. anal. Chem.“ 52, 1913, s. 513. — 27. WICKS, L. F. - FIRMINGER, H. I.: Perchloric Acid in Micro-Kjeldahl Digestion. = „Ind. Eng. Chem. A. E.“ 14, 1942, s. 760-762. — 28. WILFAHRT, H.: Eine Modifikation der Kjeldal'schen Stickstoffbestimmungsmethode 1. und 2. Mitt. = „Chem. C. Bl. 3. F.“ 16, 1885, s. 17-19, „Chem. C. Bl. 3. F.“ 16, 1885, s. 113-15.

Ускоренные методы определения N-веществ в растительном материале

XVIII. Процесс сгорания при определении азота по Кьельдалю в зерновых

Окислительные реактивы не дали ожидаемого действия. Пероксипирисульфат действовал медленно. Хлорная кислота вызывала большие потери и при малых дозах. Перекись водорода требует очень точной дозировки при одноразовом добавлении, так как в противном случае появляется опасность потери азота. Повторные частичные дозы с точки зрения производства при больших сериях образцов непригодны. В соединении с обычными горючими каталитическими смесями перекись водорода не сокращает времени, необходимого для сгорания, а наоборот, по сравнению с одной только каталитической смесью оно увеличилось в общем за счет времени, необходимого для испарения воды, образовавшейся путем разложения перекиси.

Применение 30 % перекиси водорода мы поэтому не можем рекомендовать для большой серии образцов.

Продление срока сгорания на 15 минут после просветления реактивной смеси было достаточным.

Текст к таблицам

- I. Наблюдение времени у сахарозы
- II. Наблюдение времени и количества у сахарозы с сульфатом аммония
- III. Наблюдение времени и количества у сахарозы с ацитанилидом
- IV. Наблюдение времени и количества у природного материала
- V. Продление времени сгорания
- VI. Анализ дисперсии

Accelerated Methods Serving to Determine the Content of Nitrogenous Substances in Plant Material

XVIII. Combustion Process during Nitrogen Determination in Cereals according to Kjeldahl

The oxidative agents have not shown the effect expected. Peroxidisulphate has acted slowly. Perchloric acid has caused great losses even at small doses. Hydrogen peroxide requires a very accurate dosing at one-time addition, in order to prevent nitrogen losses. The repetition of a partial dose is in a larger number of samples inappropriate from the viewpoint of operation. It has not shortened the time needed for combustion in connection with the usually applied catalyzation mixture of hydrogen peroxide effecting combustion. On the contrary; it prolonged the process when compared to the catalyzation mixture itself by roughly the period of time needed for water evaporation, which occurred by the decomposition of peroxide.

We cannot, therefore, recommend the application of 30% peroxide for a large number of samples.

A 15-min. prolongation of the combustion time after the clarification of the reaction mixture has been adequate.

Text to the tables

- I. Time study using saccharose
- II. Time and quantity study using saccharose and ammonium sulphate
- III. Time and quantity study using saccharose and acetanilide
- IV. Time and quantity study on natural material
- V. Prolonged combustion time
- VI. Analysis of variance

Schnellmethoden zur Bestimmung des N-Gehaltes im pflanzlichem Material

Aufschlußprozeß bei der Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl in den Getreidearten

Die oxydierenden Reagentien haben nicht die erwartete Wirkung erwiesen. Das Peroxydisulfat wirkte langsam. Die Perchlorsäure verursachte hohe Verluste auch bei kleinen Gaben. Das Wasserstoffperoxyd erfordert eine sehr genaue Dosierung bei einer einmaligen Zugabe, denn sonst besteht die Gefahr der Stickstoffverluste. Die wiederholten Teilgaben sind vom betrieblichen Gesichtspunkt bei größeren Probenserien ungeeignet. In Verbindung mit den laufenden Aufschluß-Katalysatorgemischen hat das Wasserstoffperoxyd die notwendige Zeit zum Aufschluß nicht verkürzt, im Gegenteil die alleinigen Katalysationsgemische haben sie beiläufig um die Zeit, die zur Abdampfung des Wassers notwendig ist die durch die Zersetzung des Peroxyds entstand, verlängert.

Die Anwendung von 30 % Wasserstoffperoxyd kann daher für die großen Probenserien nicht empfohlen werden.

Die Verlängerung der Aufschlußzeit um 15 Minuten nach der Klärung der Reaktionsgemische war ausreichend.

Text zu den Tafeln

- I. Zeitstudie mit der Saccharose
- II. Zeit- und quantitative Studie mit der Saccharose und Ammoniumsulfat
- III. Zeit- und quantitative Studie mit der Saccharose und Azetanilid
- IV. Zeit- und quantitative Studie mit natürlichem Material
- V. Verlängerung der Aufschlußzeit
- VI. Varianzanalyse

Méthodes accélérées de détermination de la teneur en matières azotées dans le matériel végétal

XVIII. Processus de combustion au cours du dosage de l'azote suivant Kjeldahl, dans les céréales

Les corps oxydants n'ont pas donné l'effet prévu. Le peroxobisulfate n'exerçait qu'une action lente. L'acide chloreux occasionnait des pertes élevées, même à

des doses petites. Le peroxyde d'hydrogène exige un dosage très précis, appliqué en une seule fois, car autrement il y a danger des pertes en azote. Les doses répétées partielles ne conviennent pas sur le plan pratique, lorsqu'il s'agit des séries d'échantillons un peu plus importantes. Le peroxyde d'hydrogène ne raccourcissait pas, en jonction avec les mélanges courants catalytiques de combustion, le temps nécessaire à la combustion, le prolongeant, au contraire, comparativement au mélange catalytique lui-même, approximativement d'un temps nécessaire à l'évaporation de l'eau produite par la décomposition du peroxyde.

C'est pour cette raison que nous ne pouvons pas recommander l'utilisation du peroxyde d'oxygène à 30 p. 100 pour des séries importantes d'échantillons.

Le prolongement du temps de combustion de 15 minutes après l'éclaircissement du mélange réactif, était suffisant.

Textes des tableaux

- I. Etude chronométrique avec la saccharose
- II. Etude chronométrique et quantitative avec la saccharose et le sulfate d'ammonium
- III. Etude chronométrique et quantitative avec la saccharose et l'acétanilide
- IV. Etude chronométrique et quantitative avec un matériel naturel
- V. Prolongement du temps de combustion
- VI. Analyse de variance

Adresa autorů:

Vlasta Obrtelová, Jiří Purš, Výzkumný ústav obilnářský, Kroměříž

J. Prugar
J. Veselá
E. Nováková
J. Nováková

ZRYCHLENÉ METODY URČOVÁNÍ OBSAHU N-LÁTEK V ROSTLINNÉM MATERIÁLU

XIX. MOŽNOSTI ŠIRŠÍHO VYUŽÍ PRO-METERU V ČSSR

Od roku 1964 byl do Československa dovezen již větší počet dánských pro-meterů, které byly instalovány na různých pracovištích zemědělského a potravinářského výzkumu i průmyslu (např. ve sladovnách) a na některých vysokých školách. Z dosavadních zkušeností získaných u nás s tímto přístrojem se jako hlavní obtíž jeví zajištění pravidelného přísunu pracovního roztoku barviva, které výrobce dodává v 10litrových barelech z plastické hmoty, nebo — jak z posledního jednání s firmou Foss Electric vyplynulo — také ve formě koncentrátu v balení menším. Trvanlivost reakčního roztoku je omezena 6měsíční záruční lhůtou, takže nelze dopředu objednávat větší množství, než je předpokládaná spotřeba.

V souvislosti s používaným roztokem oranže G je třeba se zmínit ještě o jedné další negativní stránce práce na pro-meteru, na niž upozorňují někteří zahraniční autoři hlavně v citovaných publikacích z dřívější doby (Böhmová-Prugar 1965), a to o kolísavé koncentraci dodávaných pracovních roztoků, tedy o jejich problematické standardnosti. Některými uživateli pro-meteru bylo totiž konstatováno, že zásilky barviva ve formě reakčního roztoku, došlé v určitém časovém odstupu, jsou natolik nestandardní, že vznikají odchylky ve výsledcích.

Ideálním stavem by bylo, kdyby se barvivo dodávalo v krystalické formě a uživatelé sami si připravovali pracovní roztok předepsané koncentrace podle příslušného návodu. Tím by se vyřešil problém pravidelné zásobenosti i standardnosti současně.

Proto jsme se v naší práci zaměřili na studium možností přípravy pracovního roztoku z reagenty vyrobené v ČSSR.

ČÁST EXPERIMENTÁLNÍ

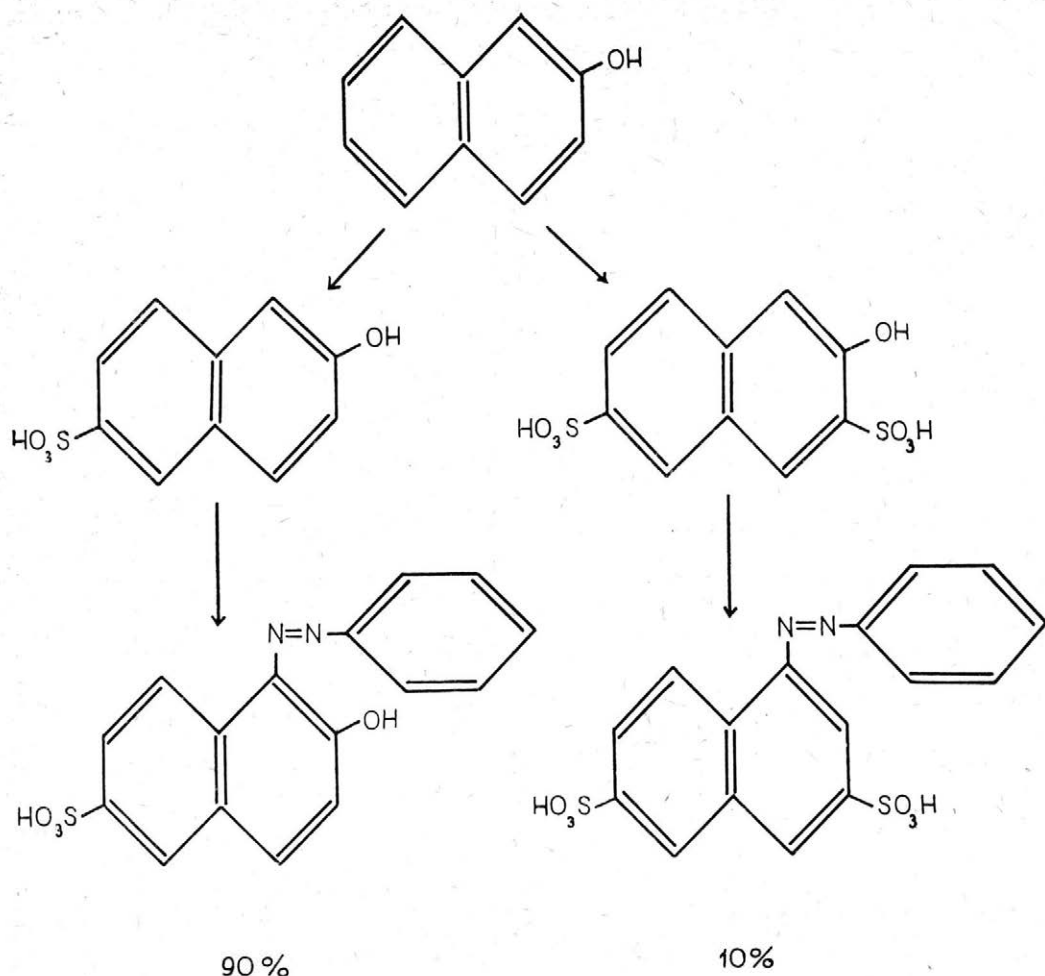
Pomocí chromatografie roztoku na papíře (W₄, butanol — kyselina octová — voda, vzestupný princip) jsme zjistili, že jde o směs dvou barviv s rozdílnými R_f. Při podrobnějším šetření v Ústavu organických syntéz v Pardubicích-Rybitví bylo identifikováno jako oranž GG, s příměsí 10 % vedlejšího produktu, vznikajícího při její přípravě, jak vyplývá z připojeného schématu (obr. 1).

Rozdíly ve složení výsledného barviva jsou zřejmě dány kolísáním poměru hlavní složky a vedlejšího produktu. Dokonalá reprodukovatelnost postupu přípravy není snadným technologickým problémem. Upozorňuje na to též Udy (1956), který konstatuje, že obsah vedlejšího produktu vznikajícího při výrobě oranže G kolísá v rozmezí 3—6,5 % a doporučuje proto doplnit přípravu ještě rekrystalizací z 90 % etanolu.

Naším cílem bylo 1) ověřit identičnost našeho barviva s dováženým, 2) najít správný postup pro přípravu pracovního roztoku, 3) prakticky ověřit možnost náhrady původního pracovního roztoku roztokem naším na přirozeném materiálu.

Pro důkaz totožnosti obou barviv jsme provedli následující operace:

a) sestupnou papírovou chromatografií (W₂, izobutanol — kyselina octová — voda 4 : 1 : 5) vodných roztoků oranže G firmy Foss Electric, oranže GG připravené ve VÚOS Rybitví a několika dalších barviv, vybraných po předchozím chromato-



1. Schéma přípravy oranže G: Sulfonací beta-naftolu vznikají dva produkty — Schäfferova beta-kyselina (90%) a R-kyselina (10%), jejichž následující kopulací s benzendiazoniumchloridem a okyselením vzniká konečná směs obou složek barviva

grafickém vyšetřování, o nichž se dalo předpokládat, že mohou mít podobné vlastnosti: TROPEOLIN 0, TROPEOLIN 000, Oranž G pro mikroskopii.

Ukázalo se, že oranž G a GG mají stejné hodnoty R_f . Oranž G však vytvořila na chromatogramu dvě skvrny, z nichž daleko méně intenzivní a s menší hodnotou R_f patří zřejmě vedlejšímu produktu, který vzniká při její přípravě, jak již zmíněno výše.

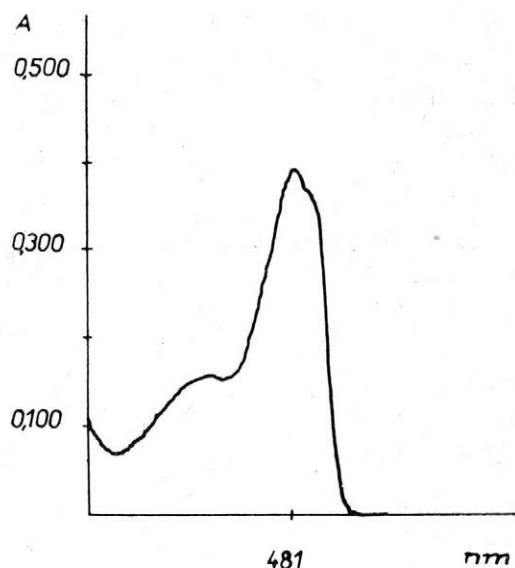
Naše oranž má zřejmě přednost v dokonalejší čistotě (laboratorní příprava!), proto druhá skvrna nevznikla. Podobnou hodnotu R_f má i oranž G pro mikroskopii, o níž jsme se pokusem přesvědčili, že má i odpovídající adsorpční vlastnosti.

b) Zjištění absorpčních křivek vodných roztoků barviv. Hodnoty extinkce na spektrokolorimetru Spekol firmy Zeiss-Jena jsme měřili při vlnové délce 420 až 560 nm. U oranže G i GG vznikalo stejné absorpční pásmo 481–489 nm.

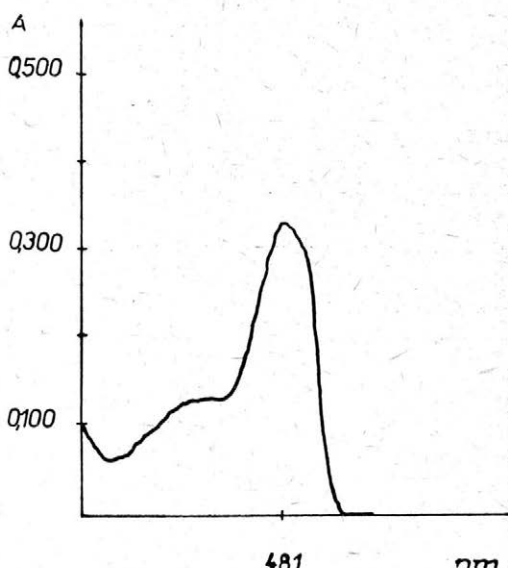
V rámci spolupráce s ÚVÚPP v Praze-Smíchově jsme získali také absorpční křivku vodných roztoků obou oranží na anglickém přístroji Unicam. Měření se provádělo při vlnové délce 330–580 nm. Obě barviva měla shodné absorpční maximum při 481 nm, tedy obdobně jako při měření na Spekolu (obr. 2).

Získané údaje jsme považovali za natolik přesvědčující, aby bylo možno vyslovit závěr o identičnosti oranže G, dodávané firmou Foss Electric v pracovním roztoku k pro-meteru, a oranží GG tuzemské výroby.

Další úlohou bylo vyřešit přípravu vlastního pracovního roztoku, tj. otázky volby vhodného pufru, koncentrace roztoku a jeho konzervace.



2 a



2 b

2 a, b. Absorpční křivky barviv získané na spektrofotometru Unicam:
a — oranž G, b — oranž GG

VOLBA REGULÁTORU

Vznik komplexu mezi bílkovinami a barvivem je závislý na pH roztoku. Pracovní roztok firmy Foss Electric má hodnotu pH 2,27. K našemu účelu jsme použili pufr Mc Ilvaneův (směs roztoků kyseliny citrónové a sekundárního fosforečnanu sodného), který při své práci používal také U d y (1956).

VOLBA KONZERVAČNÍHO ČINIDLA

Během poměrně krátké doby několika týdnů dochází u nekonzervovaného roztoku oranže GG v pufru k výskytu plísni. Abychom tomu zabránili, použili jsme pro konzervaci roztoku thymolu v alkoholu, kterého použil U d y (1 ml 10% roztoku thymolu na 8 l roztoku barviva). Ukázalo se, že tato koncentrace nestačila zabránit vzniku plísní v našem reakčním roztoku. Proto jsme udělali pokus se vzrůstající koncentrací konzervačního prostředku a kromě thymolu jsme vyzkoušeli také kyselinu benzoovou a salicylovou v množství 5 ml nasycených vodných roztoků na 1 litr pracovního roztoku a v případě thymolu až 5 ml 10% alkoholického roztoku na 1 litr.

Všechny zkoušené prostředky konzervovaly pufrovaný roztok barviva dokonale (pozorováno bylo po dobu 4 měsíců). Opakovaným měřením na pro-meteru v určitých časových intervalech jsme ověřili, že žádný z použitých konzervačních přípravků v udaných koncentracích neovlivňuje adsorpční vlastnosti pracovního roztoku. V naší další práci jsme jako konzervační činidlo používali 10% alkoholický roztok thymolu.

ZJIŠTĚNÍ ODPOVÍDAJÍCÍ KONCENTRACE PRACOVNÍHO ROZTOKU ORANŽE GG

Vzájemným srovnáváním hodnot získaných měřením na pro-meteru a použitím roztoku oranže G a námi připraveného roztoku oranže GG na vzorcích pšenice jsme

zjistili správnou koncentraci. Na základě údajů Udyho jsme za výchozí koncentraci zvolili 0,1% roztok. Získané hodnoty byly však v porovnání s hodnotami roztoku oranže G příliš nízké, takže bylo třeba navážku barviva zvyšovat postupně v tomto sledu:

0,10%, 0,11%, 0,12%, 0,13%, 0,14% a 0,15%.

Poslední koncentrace se již jevila jako vyšší a proto se další zpřesnění navážky hledalo mezi hodnotami 0,14 až 0,15 a jako plně odpovídající koncentrace posléze zjištěna hodnota 0,1485 %, která pak v další naší práci byla používána.

Po vyřešení otázky přípravy vlastního pracovního roztoku, jehož účinnou složkou je oranž GG tuzemské výroby, zbývalo ověřit jeho identičnost s činidlem dováženým přímo při práci na pro-meteru. Výsledky získané na vzorcích pšenice jsou uvedeny v tabulce I.

I. Porovnání výsledků získaných u stejných vzorků pšenice na pro-meteru při použití různých pracovních roztoků a biuretovou metodou (průměrné hodnoty v % bílkovin v sušině vzorku ze 3 paralelních stanovení)

Vzorek čís.	Pro-meter		Biuretová metoda
	oranž GG	oranž G	
1	13,2	13,3	13,05
2	13,0	13,3	13,0
3	14,75	14,75	14,7
4	15,25	15,4	15,25
5	15,8	15,8	15,7
6	15,9	15,95	15,65

Návod pro přípravu pracovního roztoku oranže GG

Chemikálie: 1,485 g oranže GG

1,000 g thymolu

20,700 g kyseliny citrónové (monohydrát)

1,440 g sekundárního fosforečnanu sodného $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$

Postup: Rozpuštěním fosforečnanu a kyseliny citrónové v 1 litru destilované vody získáme roztok pufru. K němu přidáme 5 ml alkoholického roztoku thymolu (1 g thymolu v 10 ml ethanolu) a protřepeme. V případě částečného vysrážení thymolu roztok přefiltrujeme.

Navážku oranže GG postupně rozpouštíme asi ve 100 ml pufru. Roztok pak

II. Porovnání výsledků získaných se 3 zvlášť připravenými pracovními roztoky oranže GG (průměrné hodnoty v procentech bílkovin v sušině vzorku ze 3 paralelních stanovení)

Vzorek	Roztok oranže GG			Maximální odchylka
	I.	II.	III.	
1	13,75	13,65	13,76	0,11
2	14,73	14,79	14,70	0,09
3	15,26	15,36	15,28	0,10
4	15,80	15,85	15,91	0,11

převedeme do odměrné baňky 1000 ml, přidáme regulátor s konzervačním činidlem až po značku a dobře promícháme.

Abychom si ověřili reprodukovatelnost přípravy našeho pracovního roztoku, provedli jsme ji paralelně ze tří navážek barviva a s těmito získanými třemi pracovními roztoky jsme pak stanovili obsah bílkovin ve vzorcích pšenice, lišící se obsahem bílkovin (tabulka II).

Zjištěné rozdíly ve výsledcích byly velmi malé, maximální odchylka průměrů při přepočtu na sušinu činila 0,11 % bílkovin.

Jak již bylo výše uvedeno, je některými uživateli pro-meteru poukazováno na nestandardnost pracovních roztoků dodávaných postupně v různých intervalech. Naše vlastní výsledky to do jisté míry potvrdily u zásilek dodávaných koncem roku 1964 a v I. polovině 1965, kdy např. byly při použití tří různých dodaných roztoků naměřeny u téhož vzorku průměrné hodnoty ze tří paralelních stanovení: 15,43 % — 15,05 % — 14,76 %, tedy maximální odchylka činila 0,67 %, přičemž všechny zkoušené reakční roztoky byly ještě v záruční době. U pozdějších dodávek jsme již mohli konstatovat podstatné zlepšení v tomto směru, snad v souvislosti s reklamacemi uživatelů pro-meteru.

V tabulce III uvádíme výsledky šetření, kterým jsme porovnávali 3 reakční roztoky došlé od firmy Foss Electric v době od konce roku 1965 do března 1966. Jak zřejmo, činí maximální odchylka 0,26 % bílkovin v sušině vzorku.

III. Porovnání výsledků získaných se 3 postupně došlými reakčními roztoky oranže G (průměrné hodnoty v procentech bílkovin v sušině vzorku ze 3 paralelních stanovení)

Vzorek čís.	Roztok oranže G Foss. El.			Maximální odchylka
	I.	II.	III.	
1	14,20	14,13	14,30	0,17
2	15,06	14,80	14,98	0,26
3	15,45	15,35	15,56	0,21
4	15,96	15,71	15,95	0,25

SOUHRN

Práce byla zaměřena na vyhledání a přezkoušení pracovních roztoků k práci na pro-meteru připravených z barviva vyrobeného u nás. Správnost složení vlastního roztoku byla ověřena různými metodami a srovnávacími pokusy přímo na přístroji. Výsledky jsou uspokojivé natolik, že je možno je doporučit v případě potřeby jako náhradu reagens dováženého roztokem připraveným z tuzemského preparátu. Příprava je snadná a plně reprodukovatelná. Hlavním činidlem je krystalická oranž GG.

Došlo dne 13. 10. 1966

Literatura

1. BÖHMOVÁ, J. - PRUGAR, J.: Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu. IX. = „Rostlinná výroba“ 11, 1965, č. 8, s. 885-888. — 2. HECHT, H.: Die Eiweißvorherbestimmung bei Weizeneinzelbeständen. = „Bayer. landwirt. Jb.“, 42, 1965a, č. 4, s. 425-431. — 3. PRUGAR, J.: Možnosti praktického využití některých expeditivních metod ke stanovení obsahu bílkovin v obilovinách. Závěrečná zpráva ÚVÚRV Praha 1966. — 4. UDY, D. C.: Estimation of protein in wheat and flour by ion-binding. = „Cere. Chem.“ 33, 1956, č. 3, s. 190-197. — 5. ULONSKA, E. - FRITZ, A. - LENZ, W.: Kjeldahl- und Prometeruntersuchungen über die Entwicklung des Eiweißgehaltes bei der Gerste während der Ausreifung im Feldbestand und nach dem Drusch sowie Nutzenwendungen für die Vermarktung. = „Bayer. landwirt. Jb.“, 42, 1965, č. 4, s. 410-424.

XIX. Возможности более широкого применения про-метра в ЧССР

Работа была направлена на получение и проверку рабочих растворов для работы на про-метре, приготовленных из красителя, отечественного производства. Правильность состава собственного раствора была проверена разными методами и сравнительными опытами непосредственно на приборе. Результаты настолько удовлетворительны, что их можно рекомендовать в случае потребности как замену реагента, дополненного раствором, приготовленным из отечественного препарата. Приготовление простое и полностью воспроизводимое. Главным реагентом является кристаллический оранжевый GG.

Текст к таблицам

- I. Сравнение результатов, полученных у одинаковых образцов пшеницы на про-метре при использовании разных рабочих растворов, а также биуретовым методом (средние значения в % белков в сухом веществе образца по 3 параллельным определениям)
- II. Сравнение результатов, полученных с тремя особо приготовленными рабочими растворами оранжевого GG (средние значения в процентах белков в сухом веществе образца по 3 параллельным определениям)
- III. Сравнение результатов, полученных с тремя постепенно поступившими реактивными растворами оранжевого G (средние значения в процентах белков в сухом веществе по 3 параллельным определениям)

Accelerated Methods Serving to Determine the Content of Nitrogenous Substances in Plant Material

XIX. Possibilities of a Wider Utilization of a Pro-Meter in the ČSSR

The present study has been aimed at the finding and testing of solutions, which were produced from dyestuff made in this country for the work on a pro-meter. The correctness of the proper composition of the solution has been verified by various methods and comparative tests directly on the apparatus. The results obtained are satisfactory enough to replace the imported reagent by a solution made in this country, the preparation of which is easy and fully reproducible. The main agent is crystal orange GG.

Text to the tables

- I. Comparison of the results obtained for the same wheat samples on a pro-meter by the use of various laboratory solutions and the biuret method (average values in percentage of proteins in dry weight of the sample from three parallel determinations)
- II. Comparison of the results obtained from specially prepared solutions of proteins in dry weight of the sample from three parallel determinations
- III. Comparison of the results obtained from laboratory solutions of G-orange successively obtained (average values in percentage of proteins in dry weight of the samples from three parallel determinations)

Adresa autorů:

Ing. Jaroslav Prugar, CSc., Jana Veselá, Eva Nováková, Jana Nováková,
Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně 507

Před necelými dvěma roky, počínaje číslem 3/1965, jsme v našem časopise uvedli seriál krátkých sdělení pod společným titulkem „Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu“. Vyvolal živý ohlas v řadách analytických chemiků, kteří pracují v zemědělském a v příbuzných resortech. Kromě iniciátorů, pracovníků ÚVÚRV — Praha-Ruzyně, se na celé akci svými příspěvky podílela další pracoviště: Katedra biochemie přírodovědecké fakulty KU Praha, Výzkumný ústav obilnářský Kroměříž, HŠSS pro obiloviny Branišovice, HŠSS pro mutační šlechtění Stupice, Státní inspekce jakosti zemědělských výrobků Praha a Institut für Pflanzenzüchtung Hadmersleben NDR. Také zájem ze zahraničí o separáty prací publikovaných v seriálu potvrdil vysokou aktuálnost tohoto tématu v celém světě. V současné době se totiž středem pozornosti stávají právě tyto postupy, jimiž se rychle a s dostatečnou přesností stanoví v přirozeném materiálu obsah bílkovin a nikoliv celkových dusíkatých látek, z něhož se teprve pomocí přepočítávacích koeficientů bílkoviny zjišťují. Jako příklad z poslední doby svědčící o tom, že výzkum zrychlených metod určování obsahu bílkovin je dnes středem zájmu řady analytiků v celém světě uvádíme. Že u příležitosti IV. mezinárodního kongresu o chlebovém obilí a chlebu ve Vídni v květnu 1966 navrhl předseda pracovní skupiny „Bílkoviny“ Mezinárodní společnosti pro obilní chemii (ICC) prof. J. A. Shellenberger z USA, aby se zformovala nová pracovní skupina, která by se zabývala speciálně kolorimetrickými metodami založenými na vazbě barviv, neboť tyto dovolují lepší charakteristiku pšeničného zrna po stránce jeho jakosti tím, že stanoví skutečný obsah bílkovin.

Z prací publikovaných v rámci seriálu „Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu“ na stránkách našeho časopisu možno pro zemědělskou laboratorní praxi vyvodit tato doporučení:

K určování obsahu bílkovin v pšeničném zrně a mouce, ječmeni a sladu dobře vyhovuje dánský pro-meter, jehož další rozšíření v našich laboratořích možno vítat. Hodí se zejména pro jednotlivé rozbor, kdy je třeba výsledek získat v co nejkratší době, zatímco pro analýzy velkých sérií vzorků je ekonomičtější Kjeldahlova metoda v bateriovém uspořádání. V současné době byla pracemi v ÚVÚRV vyřešena otázka stálé dostupnosti barviva, jakož i standardnosti pracovního roztoku oranže G.

Pro rozbor samotného pšeničného zrna, resp. mouky, kde není k dispozici pro-meter, lze doporučit modifikaci biuretové metody ÚVÚRV pro její rychlost, poměrně malou spotřebu chemikálií a okolnost, že nevyžaduje žádné speciální zařízení (centrifuga a kolorimetr patří k běžnému přístrojovému vybavení každé laboratoře).

Pro ostatní materiály, u nichž není možno aplikovat ani adsorpční, ani biuretovou metodu, lze použít zrychleného postupu Kjeldahlova tím, že se destilace nahradí mikrodifusí amoniaku ve speciálních Conwayových nádobkách z parafinu nebo plastických hmot.

Pro orientační hodnocení podle obsahu bílkovin, jaké dostačuje např. při hodnocení šlechtitelského materiálu v prvních fázích šlechtění, je možno použít některou z rychlých metod, jichž byla uvedena celá řada jak ze zahraničních pramenů, tak i na základě vlastních domácích experimentálních studií (např. modifikace adsorpčních metod s oranží — Kastner, Schmieder, Hrdlička aj., nebo s biuretovou reakcí — Jermakov a jiní atd.).

Při volbě metody nechť se každé pracoviště řídí svým vybavením. Zásadou při všech orientačních jednoduchých metodách je, aby se při postupu dodržovaly pokud možno stále stejné podmínky, počítaje v to v neposlední řadě i týž personál, a dále, aby se kalibrace prováděla vždy na tomtéž materiálu, se kterým se pak v sériové práci dále pokračuje. Pak je možno dospět i u těchto orientačních metod k uspokojivým výsledkům s ohledem na účel rozboru a požadovanou přesnost.

Otázky rychlého určování obsahu N-látek v biologickém materiálu doporučujeme dále výzkumně sledovat ve shodě se současným světovým trendem na tomto analytickém úseku.

Tímto stručným shrnutím náš seriál uzavíráme. V úvodníku tohoto čísla je nastíněna perspektiva realizace akce „Sjednocení analytických metod v zemědělství“, na niž se má v příštích letech soustředit pozornost našich analytiků. Bezpochyby i náš seriál přispěje v rámci této akce k řešení otázek týkajících se sjednocení metod na úseku stanovení N-látek a bílkovin v různých druzích biologického materiálu.

SOUHRN

Článek uzavírá seriál prací, které byly v časopisu Rostlinná výroba pod společným názvem uveřejňovány od března 1965. Přináší výčet pracovišť, která se autorsky na seriálu podílela a shrnuje závěry vyplývající z publikovaných prací pro zemědělskou laboratorní praxi i další výzkumnou práci na tomto úseku: k určování obsahu bílkovin v pšeničném zrně a mouce, ječmeni a sladu dobře vyhovuje dánský pro-meter, který se hodí zejména pro jednotlivé rozbor, kdy je třeba výsledek získat co nejrychleji. Pracemi ÚVÚRV byla vyřešena otázka stálé dostupnosti barviva a standardnosti pracovního roztoku oranže G. Pro rozbor pšeničného zrna na pracovištích, kde není k dispozici pro-meter, se doporučuje modifikace biuretové metody, která nevyžaduje žádné speciální zařízení. Pro ostatní materiály, u nichž není možno aplikovat ani adsorpční ani biuretovou metodu, lze použít postupu Conwayova za použití nádobek z parafinu nebo plastických hmot. Pro orientační hodnocení materiálu podle obsahu bílkovin možno použít některé z rychlých metod, jichž byla v rámci seriálu citována celá řada ze zahraničních pramenů, jakož i na základě vlastních experimentálních studií. Při volbě metody je v neposlední řadě rozhodující materiální vybavení pracoviště. Důležité je, aby se při každém postupu dodržovaly stále stejné podmínky a aby se kalibrace prováděla vždy na tomtéž materiálu, se kterým se v sériové práci dále pracuje. Práce uveřejněné v rámci seriálu přispějí k řešení otázek týkajících se sjednocení metod na úseku stanovení N-látek a bílkovin v přirozeném materiálu v rámci připravované akce Sjednocení analytických metod.

Došlo dne 13. 10. 1966

Literatura

Seznam publikovaných částí seriálu „Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu“:

1. PRUGAR, J. - BÖHMOVÁ, J.: I. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 3, s. 307-316. — 2. KRYŽÁNEK, R. - PRUGAR, J. - VESELÁ, J.: II. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 3, s. 317-320. — 3. PRUGAR, J. - BÖHMOVÁ, J.: III. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 3, s. 321-326. — 4. BÖHMOVÁ, J. - PRUGAR, J.: IV. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 3, s. 327-330. — 5. SCHWARZBACH, E. - ŠIRŮČEK, J.: V. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 3, s. 331-336. — 6. KRYŽÁNEK, R. - PRUGAR, J. - JIRÁČEK, V.: VI. část: „Rostlinná výroba“, 11, č. 3, s. 337-340. — 7. JIRÁČEK, J. - KOŠTÍŘ, J. - KRYŽÁNEK, R. - PRUGAR, J.: VII. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 8, s. 877-880. — 8. POPELKA, M.: VIII. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 8, s. 881-884. — 9. BÖHMOVÁ, J. - PRUGAR, J.: IX. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 8, s. 885-888. — 10. KASTNER, J.: X. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 8, s. 889-890. — 11. HRDLÍČKA, J.: XI. část: „Rostlinná výroba“, 11, 1965, č. 8, s. 891-894. — 12. PURŠ, J. - OBRTILOVÁ, V.: XII. část: „Rostlinná výroba“, 12, 1966, č. 5, s. 539-546. — 13. SCHMIEDER, W.: XIII. část: „Rostlinná výroba“, 12, 1966, č. 5, s. 547-550. — 14. PURŠ, J.: XIV. část: „Rostlinná výroba“, 12, 1966, č. 5, s. 551-558. — 15. PURŠ, J. - OBRTILOVÁ, V.: XV. část: „Rostlinná výroba“.

ba", 12, 1966, č. 5, s. 559-564. — 16. PRUGAR, J. - BÖHMOVÁ, J. - VESELÁ, J.: XVI. část: „Rostlinná výroba“, 12, 1966, č. 5, s. 565-574. — 17. BÖHMOVÁ, J. - PRUGAR, J. - VESELÁ, J.: XVII. část: „Rostlinná výroba“, 12, 1966, č. 5, s. 575-580. — 18. OBRTELOVÁ, V. - PURŠ, J.: XVIII. část: „Rostlinná výroba“, 13, 1967, č. 2, s. 187-196. — 19. PRUGAR, J. - VESELÁ, V. - NOVÁKOVÁ, E. - NOVÁKOVÁ, J.: XIX. část: „Rostlinná výroba“, 13, 1967, č. 2, s. 197-202.

Ускоренные методы определения N-веществ в растительном материале

XX.

Статья заканчивает серию работ, которые начиная с марта 1965 г. были опубликованы в журнале «Растениеводство». В статье приводится перечень рабочих объектов, работники которых приняли участие в этой серии работ, и обобщаются заключения, вытекающие из опубликованных работ для сельскохозяйственной лабораторной практики, а также для дальнейшей исследовательской работы в этой области: для определения содержания белков в пшеничном зерне и муке, ячмене и солоде хорошо удовлетворяет датский про-метр, который пригоден в особенности для отдельных анализов, когда необходимо получить результат как можно быстрее. Работами ЦНИИР был решен вопрос постоянной доступности красителя и стандартности рабочего раствора оранжевого G. Для анализов пшеничного зерна на рабочих объектах, где не имеется про-метра, рекомендуется модификация биуретового метода, которая не требует никакого специального устройства. Для остальных материалов, у которых нельзя применить на адсорбционный, ни биуретовый метод, можно применить метод Конвея при использовании мисок из парафина или пластической массы. Для ориентировочной оценки материала по содержанию белков можно применить один из быстрых методов, целый ряд которых в рамках серии цитировался из зарубежных источников, а также на основе собственных экспериментальных работ. При выборе метода в последнюю очередь решающим является материальное оснащение рабочего объекта. Важно, чтобы при каждом методе соблюдались одинаковые условия и чтобы калибровка проходила всегда на том же материале, с которым ведутся далее серийные работы. Работы, опубликованные в рамках серии, помогут при решении вопросов, касающихся объединения методов по определению N-веществ и белков в естественном материале в рамках подготавливаемого мероприятия «Объединение аналитических методов».

Accelerated Methods Serving to Determine the Content of Nitrogenous Substances in Plant Material

XX.

The present treatise completes a number of papers, which were published under one common title in the monthly *Rostlinná výroba* (Plant Production) since March 1965. It brings a list of the contributing workplaces and summarizes the following conclusions for the use in agricultural laboratory practice and further research work within this field: For the determination of the content of proteins in wheat grain and wheat flour, barley and malt, the Danish pro-meter has been found suitable, particularly for single analyses which require very quick results. The publications of ÚVÚRV (Central Research Institute of Plant Production) helped to solve the problem of a permanent accessibility of dyestuffs and the standardization of the laboratory G-orange solution. Workplaces which carry out wheat analyses but have no pro-meter at their disposal are recommended to use the modified biuret method without any requirements for special equipment. The other material to which neither the adsorption technique nor the biuret method is applicable, the Conway procedure using paraffin or plastic vessels is suitable. For a preliminary evaluation of the material according to the content of proteins it is possible to apply one of the many accelerated methods from foreign sources given in the above-mentioned papers or those based on our experimental studies. The equipment of the workplace plays a primary role in the choice of the appropriate method. It is of importance to observe the same conditions for each of the procedures and to carry out the needed calibration for the same material used during the individual experiment. The number of studies issued serially will contribute to the problems concerning the unification of the methods of determining N-substances and proteins in natural material within the planned "Unification of analytical methods".

Der Artikel beschließt das Serial der Arbeiten, die in der Zeitschrift Pflanzliche Produktion unter dem gemeinsamen Titel vom März 1965 veröffentlicht wurden. Dieser bringt ein Verzeichnis der Arbeitsstätten, die sich als Autoren an dem Serial beteiligten und faßt Schlüsse zusammen, die sich aus den veröffentlichten Arbeiten für die landwirtschaftliche Laborpraxis und auch für weitere Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet ergeben: zur Feststellung des Gehaltes der Eiweißstoffe im Weizenkorn und -Mehl, in der Gerste und Malz, eignet sich gut der dänische Prometer, der hauptsächlich für die einzelnen Analysen geeignet ist, wo es notwendig ist das Ergebniss so schnell als möglich zu erreichen. Mit den Arbeiten des Zentralen Forschungsinstitutes für pflanzliche Produktion wurde die Frage der ständigen Zugänglichkeit des Farbstoffes und des Standards der Laborlösung Orange G gelöst. Für die Analysen des Weizenkorns in den Arbeitsstätten, wo kein Prometer zur Verfügung steht, wird die Modifikation der Biuretmethode empfohlen, die keine speziellen Einrichtungen erfordert. Für die sonstigen Materialien, bei denen weder die Adsorptions- noch die Biuretmethode appliziert werden kann, kann die Methode nach Conway angewendet werden, mit der Anwendung von kleinen Gefäßen aus Paraffin oder Kunststoff. Für die Orientierungsbewertung des Materials laut des Gehaltes von Eiweißstoffen, kann eine der beschleunigten Methoden angewendet werden, von denen im Rahmen des Serials eine ganze Reihe aus den ausländischen Quellen sowie auch auf Grund der eigenen experimentellen Studien zitiert wurde. Bei der Wahl der Methode ist nicht zuletzt die Materialausstattung der Arbeitsstätte entscheidend. Wichtig ist, daß bei jedem Vorgang stets dieselben Bedingungen eingehalten werden und daß die Kalibration stets bei demselben Material, mit dem in der Serienarbeit weiter gearbeitet wird, durchgeführt wird. Die im Rahmen des Serials veröffentlichten Aufgaben werden zur Lösung der Fragen betreffs der Vereinigung der Methoden auf dem Gebiet der Feststellung der N-Stoffe und Eiweißstoffe im natürlichen Material im Rahmen der vorbereiteten Aktion „Vereinbarung der analytischen Methoden“ beitragen.

Adresa autora:

Ing. Jaroslav Prugar, CSc., Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby,
Praha-Ruzyně 507

ZARÍZENÍ K NANÁŠENÍ VZORKŮ NA PAPIROVÉ CHROMATOGRAMY

Stálý rozvoj papírové chromatografie, která se z experimentálních a výzkumných pracovišť dostává do provozních laboratoří a je běžně prováděna při sériových analýzách, vyžaduje technické zdokonalení obtížnějších pracovních operací. Za pracné je možno považovat nanášení vzorků na papír, zejména pokud jde o vzorky, které není možno vhodně zahustit. Opakované nanášení určitého objemu na jedno místo je zdlouhavé a provozně neekonomické, pracovník, který nanáší na start 50 a více mikrolitrů po malých dávkách, nanáší tuto skvrnu dlouhou dobu. Nejvíce prodlužuje celou operaci schnutí jednotlivých nanášek; látky se koncentrují na okraji skvrny, která je velká a ostrost dělení tím trpí.

Snaha po zdokonalení a urychlení nanášení vedla ke konstrukci chromatografického stolečku (Melooun, Mikeš 1957), na kterém je papír sušen ohřátým vzduchem, vedeným zespolu papíru. Logothetis (1960) popisuje nanášecí zařízení, kterým je možno současně nanášet vzorek na 8 chromatogramech. Roztoky vzorků se nanášejí pomocí injekčních stříkaček. Pod místem nanášení je vzduch odsáván vývěvou.

Naše konstrukce využívá dostupných způsobů sušení a rychlost vysychání nanášky je regulovatelná. Přístroj na obr. č. 2 sestává z kovového stolku, jehož kostra je v horní části kryta rámem z novoduru (1). V rámu jsou zasazeny dvě nestejně velké skleněné desky (2), které tvoří horní část (pracovní plochu) stolku. Vlastní sušící zařízení, které je posuvné mezi skleněnými deskami, je složeno ze dvou částí, vzájemně na sebe přisedajících. Dolní část (3) je vyrobena z plexiskla a je zapojena na vodní vývěvu, se kterou je spojena odsávacím ramenem (4). Je v ní umístěna 6V žárovka (5) k osvětlení místa nanášení. Horní část (6) je rovněž vyrobena z plexiskla, je odklopitelná, čtvercového tvaru, uvnitř vrtaná a je spojena přírodním ramenem (7) s ohřívačem plynu a plynovou lahví přes redukční ventil.

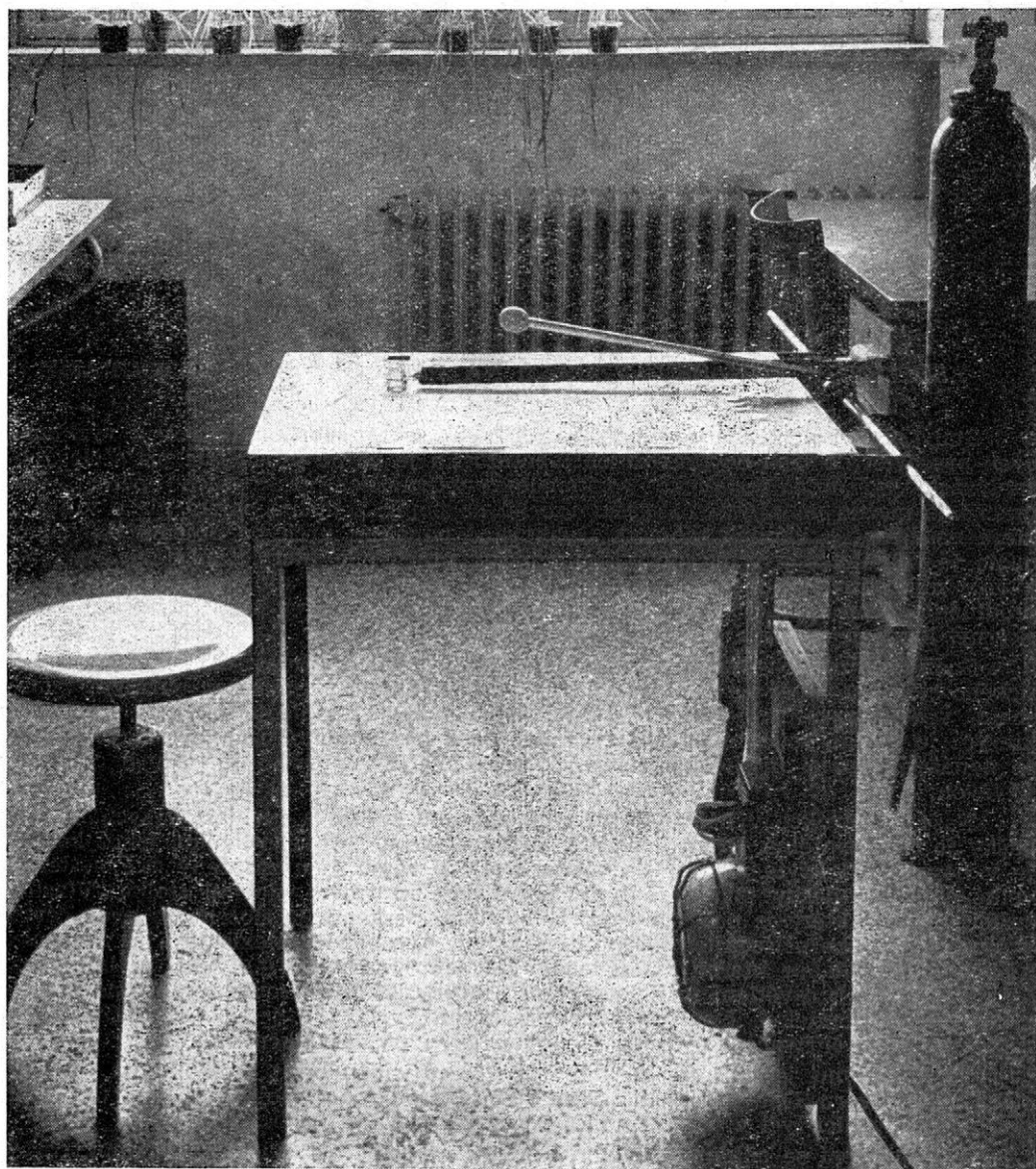
Přívod plynu je upraven tak, že plyn je přiváděn osmi tryskami na obvod středového otvoru. Obě tyto části (horní i dolní) jsou spolu spojeny objímkou a jsou posuvné po vodící tyči v jedné rovině. Posun se provádí pomocí páky.

Při nanášení se odklopí přírodní rameno v horní části sušícího zařízení, chromatografický papír se vloží na skleněnou desku stolku a vyrovná se do žádané polohy pomocí zárázek tak, aby vzdálenost startu od okraje papíru odpovídala potřebě metodiky (vzestupně, sestupně) a konstrukci chromatografické vany. Rameno se přiklopí zpět, pustí se vodní vývěva a přes redukční ventil plyn z plynové lahve. Současně se zapne ohřívač vzduchu, který je vložen mezi plynovou lahví a stolek, nastaví se na kontaktním teploměru potřebná teplota a vypínačem na boku stolku se rozsvítí osvětlovací žárovka. Ohřívač vzduchu sestává z topné spirály napojené na síť. Plyn procházející kolem spirály je takto ohříván na žádanou teplotu, která je kontrolována a udržována kontaktním teploměrem.

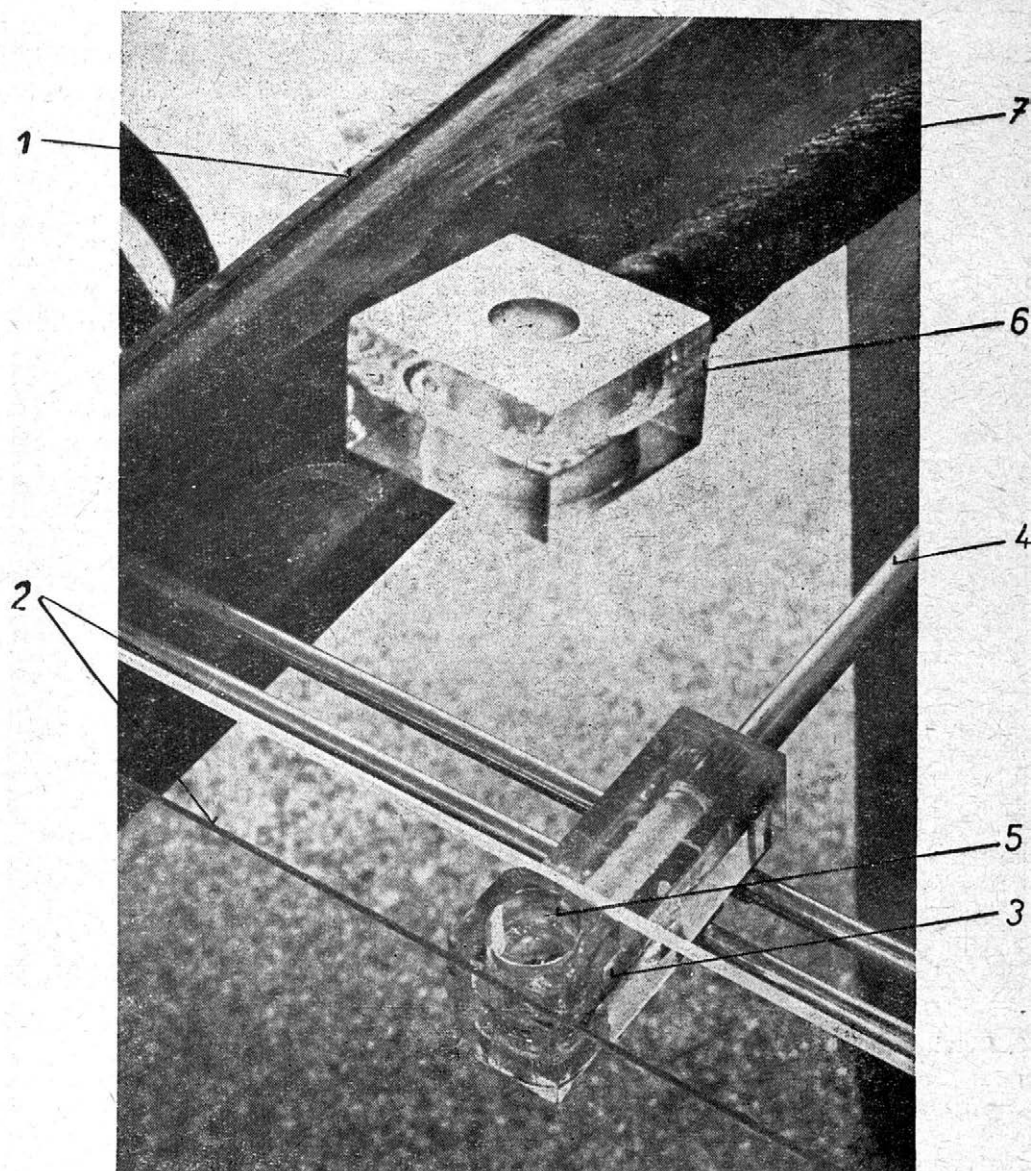
Redukčním ventilem plynové lahve a proudem vody ve vodní vývěvě se seřídí proudění plynu tak, aby ohřátý plyn, přicházející z lahve, byl z větší části odváděn odsávací (spodní) částí sušícího zařízení.

Za tohoto stavu je možno přikročit k nanášení vzorku libovolným způsobem. Je možno pracovat i s obyčejnou skleněnou kapilárkou kalibrovanou vážením.

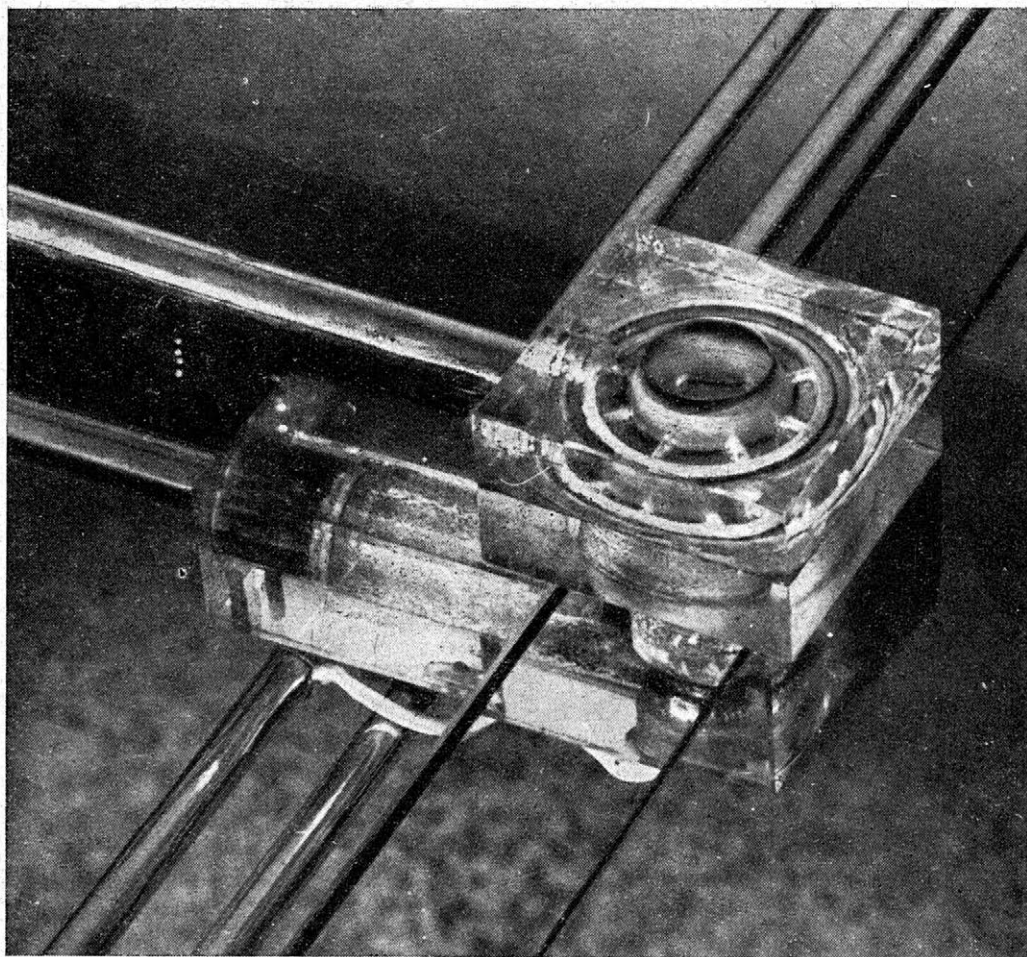
Nanáší se tak, že se pipeta vloží kruhovým otvorem v horní části sušícího zařízení na chromatografický papír. Osvětlovací žárovka ve spodní části sušícího zaří-



1. Celkový pohled na přístroj



2. Sušicí zařízení. Popis: 1 — rám z novoduru, 2 — skleněné desky (pracovní plocha), 3 — dolní část (odsávací) sušícího zařízení, 4 — odsávací rameno, 5 — žárovka, 6 — horní část odsávacího zařízení, 7 — přívodné rameno



3. Detail sušícího zařízení

zení prosvětlí vlhkou skvrnu, která dobře kontrastuje s bílým pozadím a během sušení s ním pozvolna splývá. Jakmile se skvrna vyrovná s pozadím, je možno nanášení opakovat. Vhodnou synchronizací teploty, proudu plynu a rychlosti odsávání s rychlostí dávkování je možno dosáhnout kontinuálního nanášení.

Výhodou popsaného zařízení je především to, že skvrna je sušena v proudu teplého plynu, čímž je dosaženo maximálního sušícího efektu. K sušení je podle potřeby možno použít inertní plyn, který zabraňuje oxydaci vzorku během nanášení. Snadná ovladatelnost ohřívání plynu umožňuje přizpůsobení na různý materiál. Rovněž osvětlení papíru zespodu přesně určuje polohu, velikost a stav (vlhkost) skvrny. Použití plynu z tlakové lahve zaručuje, že na papír je veden plyn naprosto suchý, který má značnou schopnost odnámat nanášeče vodu i při nízkých teplotách, což má význam při práci s thermolabilním materiálem.

Usměrnění proudu plynu směrem seshora dolů je výhodné především proto, že tento proud napomáhá při vyprazdňování kapiláry se vzorkem. Při průchodu vzduchu opačným směrem bývá vyprazdňování obtížnější. Popsaným zařízením lze nanášet skvrny o minimálním průměru, což má velký význam při kvantitativní papírové chromatografii. Tlakovou láhev s inertním plynem lze nahradit elektrickým dmýchadélkem, např. suchá vývěva LP, která nahradí současně i vodní vývěvu. Na-

sávací část se napojí na odsávací rameno (4), přívodné rameno (7) se zapojí tak, aby do něj byl vzduch vháněn. Doporučuje se do tohoto okruhu zařadit U-trubicí se silikagelem.

Literatura

1. Logothetis, J.: „J. Chromatography“, 1960, č. 3, s. 488-491. — 2. Meloun, B. - Mikeš, O.: Zařízení na nanášení vzorků při papírové chromatografii. = „Chem. listy“ 51, 1957, s. 1574-1575.

Jan Hradilík, Výzkumný ústav obilnářský, Kroměříž

CHROMATOGRAFICKÁ KOMORA

S postupujícím vývojem se neustále zdokonalují používaná zařízení úměrně jejich potřebě a použití v praxi. Příkladem takového rozvoje může být vývoj zařízení, sloužícího k provádění papírové chromatografie (podrobněji Hais, Macek: Papírová chromatografie, Praha 1959), které se od prvního primitivního válce zdokonalovalo až po špičková zařízení firmy Precision Scientific Company, USA, jež jsou poměrně nákladná.

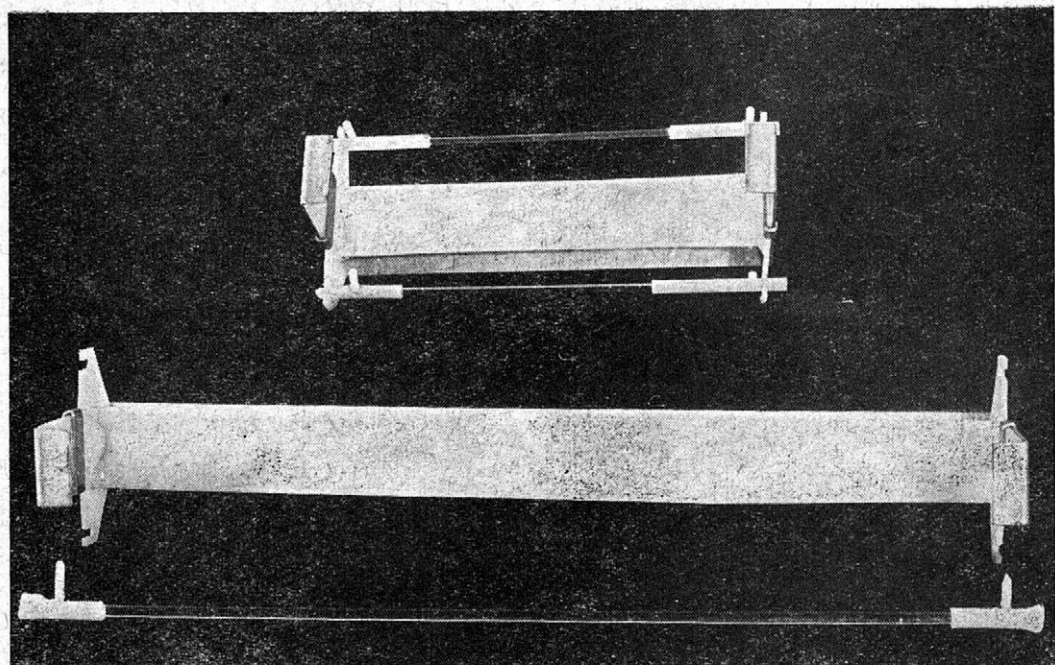
Naše zařízení, které lze celkem snadno zhotovit, je konstruováno tak, aby bylo univerzálně použitelné pro libovolnou dělicí směs a chromatografickou techniku. Lze v něm provádět vzestupnou i sestupnou chromatografii, a to jednorozměrně nebo dvourozměrně. Snadná manipulace, dobrý přístup k žlábkům, možnost exhaustace nebo dělení v atmosféře inertního plynu i to, že je možno žlábek kdykoliv vyjmout nebo víko i se žlábkem a papírem zajistit v libovolné poloze, jsou hlavní přednosti tohoto zařízení.

Základem je litá skleněná vana o rozměrech 520 mm X 220 mm X 580 mm, základna 520 mm X 220 mm, kterou vyrobily sklárny Moravia n. p. Kyjov, provoz Dubňany. Vana je umístěna ve tvarovaném stativu z novoduru, ve kterém jsou upevněny dvě kovové chromované tyče, po kterých se pohybuje víko vany se žlábkem. Víko je vyrobeno rovněž z novoduru, na spodních okrajích je vyfrézovaná drážka, která je vyložena pryží, aby bylo dosaženo dokonalé hermetičnosti vnitřního prostoru. Spodní část víka, která uzavírá vnitřní prostor vany, je potažena polyethylenovou fólií, aby páry dělicích směsí nepřicházely do styku s novodurem, který není vůči některým směsím odolný. Teprve na polyethylenové vrstvě jsou přišroubovány nerezovými šroubky nerezové úchytky, do kterých se zasouvá chromatografický žlábek. Žlábek je ze svařovaného polyethylenu (síla 2 mm) a je opatřen nerezovou výztuží z vnější strany, která zabraňuje deformaci žlábků a je jeho nosnou částí. Je dlouhý 49 cm a široký 4 cm. Jeho objem je asi 200 ml. Žlábek je na obou stranách ukončen tvarovanými čely, ve kterých jsou zářezy. Do nich se vkládá vodicí tyčinka (skleněná) s výčnělkem, na které je navlečen v otvorech na okraji chromatografický papír. Vodicí tyčinka se vkládá při dělení do zářezů v čelech žlábků.

Uvedené zařízení, jehož výhody byly popsány již na začátku, vylučuje systémem vodicích tyčinek kontakt pracovníka s papírem během celé pracovní operace. Papír je přenášen a do vany vkládán již zavěšený na vodicí tyčince. Obdobný postup je po ukončení dělení, eventuálně při opakovaném dělení, kde se tento způsob velmi osvědčil, i při sušení papíru.

Vodicí tyčinka zajišťuje papír v horizontální poloze a zabraňuje jeho event. posunu nebo spadnutí během dělení.

Během provozu se nám tato chromatografická vana osvědčila.



1. Chromatografické žlábký pro oba typy komor

Byl sestroyen i menší typ o základně 280 mm X 220 mm a výšce 520 mm jen pro jednorozměrné vyvíjení.

Víka a pomocné zařízení zhotovil s. Špidla z naší vývojové dílny, kterému jsem zavázán za technickou pomoc.

Jan Hradilík, Výzkumný ústav obilnářský, Kroměříž

Prugar J.: Možnosti realizace sjednocení analytických metod v zemědělství	113
Dudáš F., Pelikán M.: Vliv krátkodobého skladování na obsah lepku a jeho bobtnavost u některých odrůd pšenice	117
Hýža V.: Stanovení vaznosti mouky a doby vývinu těsta na mikromísěnce	127
Míča B.: Stanovení fosforu v čisté bílkovině u brambor	133
Míča B.: Vliv výživy a agrotechniky na obsah volného a veškerého lysinu	137
Mego V.: Niektoré zmeny v chemickom zložení repnej šťavy vyvolané virovou žltáčkou (predbežná zpráva)	147
Pešek F.: Přirozená radioaktivita jako součást chemického obsahu přirozených radioaktivních prvků v konzumních částech zemědělských plodin	153
Jiráček V., Košíř J., Jirsíková B.: Příspěvek ke stanovení aminokyselin v biologickém materiálu papírovou chromatografií	165
Panýr M.: K otázce spektrofotometrického stanovení molybdenu v půdách a rostlinách	179
Obřtelová V., Purš J.: Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu. XVIII. Oxidační činidla a prodlužování spalovací doby po odbarvení směsi u Kjeldahlovy metody	187
Prugar J., Veselá J., Nováková E., Nováková J.: Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu. — XIX. Možnosti širšího využití pro-meteru v ČSSR	197
Prugar J.: Zrychlené metody určování obsahu N-látek v rostlinném materiálu. — XX.	203
Krátká sdělení	
Hradilík J.: Zařízení k nanášení vzorků na papírové chromatogramy	207
Hradilík J.: Chromatografická komora	212

СОДЕРЖАНИЕ

Дудаш Ф., Пеликан М.: Влияние кратковременного хранения на содержание клейковины и ее набухаемость у некоторых сортов пшеницы (124). — Гижа В.: Определение способности муки связывать воду и времени поспевания теста в микро-месилке (132). — Мича Б.: Определение содержания фосфора в чистом белке у картофеля (135). — Мича Б.: Влияние питания и агротехники на содержание несвязанного и всего лизина у картофеля (145). — Мего В.: Некоторые изменения в химическом составе свекольного сока, вызванные вирусной желтухой (предварительный отчет) (151). — Пешек Ф.: Природная радиоактивность как составная часть химического содержания природных радиоактивных элементов в потребительских частях сельскохозяйственных культур (161). — Йирачек В., Кошгирж Й., Йирсикова Б.: К вопросу определения аминокислот в биологическом материале методом бумажной хроматографии (175). — Паныр М.: К вопросу спектрофотометрического определения молибдена в почвах и растениях (185). — Обртелова В., Пурш Й.: Ускоренные методы определения N-веществ в растительном материале. XVIII. Процесс сгорания при определении азота по Кьельдалю в зерновых (194). — Пругар Я., Весела Я., Новакова Е., Новакова Я.: Ускоренные методы определения N-веществ в растительном материале. XIX. Возможности более широкого применения про-метера в ЧССР (202). — Пругар Я.: Ускоренные методы N-веществ в растительном материале. XX. часть (205). — Градилик Й.: Приспособление для нанесения образцов на бумажные хроматограммы (207). — Градилик Й.: Хроматографическая камера (211).
--

CONTENT

Dudáš F., Pelikán M.: The Influence of Short-Term Storage on the Gluten Content and on its Swelling in Some Wheat Varieties (125). — Hýža V.: Determination of Flour Absorption and Dough Development Time in a Micro-mixer (132). — Míča B.: Determination of the Phosphorus Content in the Pure Protein of Potatoes (135). — Míča B.: Influence of Nutrition and Agrotechnical Measures upon the Content of Free and Total Lysine in Potatoes (145). — Mego V.: Some Changes in the Chemical Composition of Beet Sap Caused by Virous Yellows (Preliminary Report) (151). — Pešek F.: Natural Radioactivity as a Component Part of the Chemical Content of Natural Radioactive Elements in the Edible Parts of Agricultural Crops (162). — Jiráček V., Košíř J., Jirsíková B.: On the Determination of Amino Acids in Biological Material by means of Paper Chromatography (176). — Panýr

M.: On the Problem of Spectrophotometric Determination of Molybdenum in Soils and Plants (185). — Obrtelová V., Purš J.: Accelerated Methods Serving to Determine the Content of Nitrogenous Substances in Plant Material. XVIII. Combustion Process during Nitrogen Determination in Cereals according to Kjeldahl (195). — Prugar J., Veselá J., Nováková E., Nováková J.: Accelerated Methods Serving to Determine the Content of Nitrogenous Substances in Plant Material. XIX. Possibilities of a Wider Utilization of a Pro-Meter in the ČSSR (202). — Prugar J.: Accelerated Methods Serving to Determine the Content of Nitrogenous Substances in Plant Material. XX. Parth (205). — Hradilík J.: Device for Plotting of Samples on the Paper Chromatograms (207). — Hradilík J.: Chromatographical Chamber (211).

INHALT

Dudáš F., Pelikán M.: Einfluß der kurzfristigen Lagerung auf den Gehalt an Kleber und seine Quellfähigkeit bei gewissen Weizensorten (125). — Hýža V.: Die Festsetzung der Wasseraufnahmefähigkeit des Mehls und der Zeit der Teigentwicklung mit dem Mikromischer (132). — Míča B.: Bestimmung des Phosphorgehalts im Reinweiß von Kartoffeln (135). — Míča B.: Einfluß der Ernährung und der ackerbaulichen Maßnahmen auf den Gehalt an freiem und Gesamtlysin in Kartoffeln (146). — Mego V.: Einige durch die viröse Gelbsucht hervorgerufene Veränderungen der chemischen Zusammensetzung des Zuckerrübensaftes (vorläufiger Bericht) (152). — Pešek F.: Natürliche Radioaktivität als Bestandteil des chemischen Gehaltes natürlicher radioaktiver Elemente in den Konsumteilen der landwirtschaftlichen Fruchtarten (163). — Jiráček V., Košťál J., Jirsíková B.: Beitrag zur Bestimmung von Aminosäuren in biologischem Material mit Hilfe der Papierchromatographie (177). — Panýr M.: Zur Frage der spektrophotometrischen Bestimmung von Molybdän in Böden und Pflanzen (185). — Obrtelová V., Purš J.: Schnellmethoden zur Bestimmung des N-Gehaltes im pflanzlichem Material. Aufschlußprozeß bei der Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl in den Getreidearten (195). — Prugar J., Veselá J., Nováková E., Nováková J.: Schnellmethoden zur Bestimmung der N-Gehaltes in pflanzlichem Material. XIX. Möglichkeiten einer breiteren Ausnützung des Prometers in der ČSSR (res. E/292). — Prugar J.: Schnellmethoden zur Bestimmung des N-Gehaltes in pflanzlichem Material. XX. Teil (206). — Hradilík J.: Vorrichtung für Aufzeichnung von Proben auf die Papierchromatogramme (207). — Hradilík J.: Chromatographische Kammer (211).

TABLE DES MATIÈRES

Dudáš M., Pelikán M.: Influence de stockage de courte durée sur la teneur en gluten et son aptitude au gonflement chez certaines variétés de blé (res. An, Al/125). — Hýža V.: Détermination de l'adsorption de la farine et de la durée de l'évolution de la pâte dans un micro-mélangeur (res. An, Al/132). — Míča B.: Dosage du phosphore dans la matière albuminoïde pure des pommes de terre (res. An, Al/135). — Míča B.: Influence de la nutrition et de l'agrotechnie sur la teneur en lysine libre et totale (res. An/145, Al/146). — Mego V.: Certaines modifications dans la composition chimique du jus de betteraves, provoquées par la jaunisse à virus (res. An/151, Al/152). — Pešek F.: Radioactivité naturelle en tant qu'élément du contenu chimique des éléments radioactifs naturels dans les parties des plantes agricoles destinées à la consommation (res. An/162, Al/163). — Jiráček V., Košťál J., Jirsíková B.: Contribution au dosage des acides aminés dans le matériel biologique à l'aide de la chromatographie sur papier (res. An/176, Al/177). — Panýr M.: Question de dosage spectrophotométrique du molybdène dans les sols et les plantes (186). — Obrtelová V., Purš J.: Méthodes accélérées de détermination de la teneur en matières azotées dans le matériel végétal. XVIII. Processus de combustion au cours du dosage de l'azote suivant Kjeldahl dans les céréales (196). — Prugar J., Veselá J., Nováková E., Nováková J.: Méthodes accélérées de dosage de la teneur en matières azotées dans le matériel végétal. XIX. Possibilités d'une utilisation plus large de pro-meter en Tchécoslovaquie (res. An/202). — Prugar J.: Méthodes accélérées de dosage de la teneur en matières azotées dans le matériel végétal. Partie XX (res. An/205, Al/206). — Hradilík J.: Dispositif capable d'appliquer les échantillons aux chromatogrammes sur papier (207). — Hradilík J.: Chambre chromatographique (211).

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 2, provoz 22, Legerova 22, Praha 2.