

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality a bezpečnosti potravin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Stanovení změn v hlízách brambor v průběhu zrání s  
pomocí  $^1\text{H}$  NMR**

**Diplomová práce**

**Bc. Kateřina Dvořáková**

**Obor studia: Kvalita potravin a zpracování zemědělských  
produktů**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Jaroslav Havlík, Ph.D.**

**© 2023 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Stanovení změn v hlízách brambor v průběhu zrání s pomocí  $^1\text{H}$  NMR" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli, doc. Ing. Jaroslavu Havlíkovi, Ph.D. za věnovaný čas, ochotu a pomoc při této práci. Děkuji také doc. Ing. Pavlovi Kloučkovi, Ph.D., Anně Mascellani a Elišce Jeníčkové, MSc. za cenné rady a pomoc při práci.

# Stanovení změn v hlízách brambor v průběhu zrání s pomocí $^1\text{H}$ NMR

## Souhrn

V průběhu skladování dochází v hlízách brambor k řadě změn, které se mohou projevit na nutriční a senzorické kvalitě. Správným řízením skladovacích podmínek lze tyto změny omezit. Mezi nové metody skladování patří skladování v atmosféře sycené L-karvonem, který omezuje klíčivost brambor a prodlužuje dobu skladování. Zatím však není známo, jak karvon ovlivňuje nutriční složení skladovaných brambor.

Cílem práce bylo porovnání chemických změn, ke kterým došlo v průběhu skladování u konvenčního skladování brambor (v chladné místnosti a při pokojové teplotě) oproti skladování ve speciálním komerčním produktu určeném ke skladování brambor, Zembagu, s řízeným uvolňováním karvonu.

Spektrometrie magnetické nukleární rezonance (NMR) umožňuje kvantitativní i kvalitativní chemickou analýzu, a je schopna kvantitativně analyzovat 30–50 metabolitů v hlízách brambor a specifikovat chemické změny, ke kterým v průběhu skladování dochází.

Byl proveden experiment, kdy každých 14 dní byly brambory odebírány a analyzovány na NMR s pomocí pulzní sekvence 1d noesy s presaturací. V získaných spektrech bylo kvantifikováno celkem 26 látek v hlízách brambor, u kterých byla vyhodnocena a graficky znázorněna změna koncentrací v průběhu 5měsíčního skladování. Největší změny byly zaznamenány v hlízách skladovaných při 6 °C. Během skladování se koncentrace prolinu zvýšila 4x, glukosy dokonce 8x. Po 126 dnech skladování byla provedena senzorická analýza, která hodnotila několik parametrů. Rozdíl byl prokázán pouze u intenzity pachu a intenzity žluté barvy ( $p < 0,05$ ).

$^1\text{H}$  NMR analýza se ukázala jako vhodná metoda pro kvantifikaci spektra volných aminokyselin a sacharidů v hlízách brambor. Obecně lze shrnout, že v hlízách skladovaných v při pokojové teplotě (21 °C) docházelo k postupnému navyšování koncentrace téměř všech aminokyselin, s výjimkou prolinu a kyseliny asparagové. Využití Zembagu s kmínovou silicí při 6 °C mělo za následek průměrně nejmenší změny koncentrací daných látek. Je potřeba, aby byla tematika předmětem dalšího zkoumání.

**Klíčová slova:** Nukleární magnetická rezonance, brambory, skladování

# Assessment of the changes in potato tubers during ripening by $^1\text{H}$ NMR

## Summary

During storage, potatoes undergo a series of changes that can affect their nutritional and sensory quality. Proper management of storage conditions can limit these changes. One new method of storage is storage in an atmosphere saturated with L-carvone, which limits potato sprouting and extends storage time. However, it is not yet known how carvone affects the nutritional composition of stored potatoes.

The aim of this study was to compare the chemical changes that occurred during storage under conventional potato storage (in a cold room and at room temperature) versus storage in a special commercial product for potato storage, Zembag, with controlled release of carvone.

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy allows for quantitative and qualitative chemical analysis and can quantitatively analyze 30–50 metabolites in potato tubers and specify the chemical changes that occur during storage.

An experiment was conducted in which potatoes were sampled every 14 days and analyzed using NMR with 1D NOESY pulse sequence with presaturation. In the obtained spectra, a total of 26 substances in potato tubers were quantified, and changes in concentrations during 5 months of storage were evaluated and graphically represented. The largest changes were observed in tubers stored at 6 °C. During storage, the concentration of proline increased fourfold, and glucose even eightfold. After 126 days of storage, a sensory analysis was performed, which evaluated several parameters. The difference was demonstrated only in the intensity of odor and the intensity of yellow color ( $p < 0.05$ ).

$^1\text{H}$  NMR analysis proved to be a suitable method for quantifying the spectrum of free amino acids and carbohydrates in potato tubers. Generally, in tubers stored at room temperature (21 °C), the concentration of almost all amino acids gradually increased, with the exception of proline and aspartic acid. The use of Zembag with caraway oil at 6 °C resulted in the smallest average changes in concentrations of these substances. Further research is needed on this topic.

**Keywords:** Nuclear magnetic resonance, potatoes, storage

# Obsah

Úvod .....	8
Vědecká hypotéza a cíle práce .....	9
Literární rešerše.....	10
<b>1.1 Chemické složení brambor.....</b>	<b>10</b>
1.1.1 Sacharidy .....	10
1.1.2 Dusíkaté látky .....	12
1.1.3 Lipidy.....	13
1.1.4 Vitamíny .....	13
1.1.5 Minerální látky.....	14
1.1.6 Karotenoidy a anthokyany .....	15
1.1.7 Kyselina chlorogenová .....	16
<b>1.2 Alkaloidy v bramborách.....</b>	<b>17</b>
1.2.1 Toxicita glykoalkaloidů hlízy brambor .....	18
<b>1.3 Dusičnany a dusitany .....</b>	<b>19</b>
<b>1.4 Solanum tuberosum .....</b>	<b>20</b>
1.4.1 Brambory ve světě .....	20
1.4.2 Kvalita brambor .....	21
1.4.3 Dormance hlíz.....	21
1.4.4 Skladování brambor.....	22
1.4.5 Zelenání brambor.....	24
1.4.6 Zpracování brambor.....	25
<b>1.5 Glykemický index.....</b>	<b>25</b>
<b>1.6 Škrob .....</b>	<b>27</b>
1.6.1 Trávení škrobu .....	27
1.6.2 Využitelnost škrobu .....	27
<b>1.7 Karvon.....</b>	<b>28</b>
<b>1.8 NMR .....</b>	<b>28</b>
<b>Metodika.....</b>	<b>33</b>
<b>1.9 Vzorky .....</b>	<b>33</b>
<b>1.10 Chemikálie .....</b>	<b>33</b>
<b>1.11 Přístroje.....</b>	<b>33</b>
<b>1.12 Design experimentu.....</b>	<b>34</b>
<b>1.13 Příprava vzorku pro měření .....</b>	<b>35</b>
<b>1.14 Příprava vzorků pro analýzu NMR .....</b>	<b>35</b>
<b>1.15 Parametry měření <sup>1</sup>H NMR spekter.....</b>	<b>35</b>
<b>1.16 Senzorická analýza.....</b>	<b>36</b>
<b>1.17 Statistické vyhodnocení .....</b>	<b>36</b>

<b>Výsledky.....</b>	<b>37</b>
<b>1.18 Statistické vyhodnocení NMR spekter .....</b>	<b>46</b>
<b>1.19 Organoleptické hodnocení brambor .....</b>	<b>48</b>
<b>Diskuse .....</b>	<b>51</b>
<b>Závěr .....</b>	<b>54</b>
<b>2 Literatura.....</b>	<b>55</b>
<b>3 Seznam obrázků .....</b>	<b>67</b>
<b>4 Seznam tabulek .....</b>	<b>67</b>

## Úvod

Ovoce a zelenina jsou a vždy i byly nezbytnou součástí lidské stravy. Pravidelná konzumace zeleniny a ovoce je důležitá především díky obsahu nezbytných živin, jako jsou vitamíny, vláknina, draslík a kyselina listová. Ztráty při sklizni, špatné uskladnění a odpad z ovoce a zeleniny stále činí ztráty až 40 % ročně. Zhoršení stavu ovoce a zeleniny do značné míry závisí na podmínkách prostředí produktu, jako je teplota, vlhkost a koncentrace okolních plynů, především CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> a methan (You et al., 2023). V průběhu skladování dochází v hlízách brambor k řadě změn, které se mohou projevit na nutriční a senzorické kvalitě. Správným řízením skladovacích podmínek lze tyto změny omezit. Mezi nové metody skladování patří skladování v atmosféře syčené L-karvonem, který omezuje klíčivost brambor a prodlužuje dobu skladování. Zatím však není známo, jak karvon ovlivňuje nutriční složení skladovaných brambor.

Metoda spektrometrie nukleární magnetické rezonance (NMR) umožňuje kvantitativní i kvalitativní chemickou analýzu, která je schopná kvantitativně analyzovat 30–50 metabolitů v hlízách brambor a specifikovat chemické změny, ke kterým dochází v průběhu skladování. Své využití nachází v mnoha oborech. Mezi hlavní využití metody patří strukturní analýza. Využívá se ale v mnoha tzv. metabolomických aplikacích, i na odhalení falšování vín, džusů, medů a na prokázání místa původu. Mezi výhody metody můžeme řadit snadnou přípravu vzorků a krátkou dobu analýzy. Tato nedestruktivní metoda se také vyznačuje vysokou reprodukovatelností.



## **Vědecká hypotéza a cíle práce**

Cílem práce je porovnání chemických změn, ke kterým došlo v průběhu skladování u konvenčního skladování brambor (v chladné místnosti a při pokojové teplotě) oproti skladování ve speciálním komerčním produktu určeném ke skladování brambor, funkčním pytli, tzv. Zembagu, s řízeným uvolňováním karvonu.

Hlavní hypotéza: Skladování brambor v Zembagu s řízeným uvolňováním karvonu zabráňuje jejich klíčení a zajišťuje dlouhodobé skladování i při pokojové teplotě.

## Literární řešerše

### 1.1 Chemické složení brambor

Brambory jsou významným a levným zdrojem potravy, zejména zdrojem fenolových sloučenin, kyseliny askorbové, minerálních látek, jako je draslík, fosfor a vápník a kvalitních bílkovin ve vztahu k jiným rostlinným bílkovinám (Raigond et al., 2021; Burton, 1989).

Hlíza bramboru obsahuje podle odrůdy, termínu sklizně i délky a způsobu skladování asi 20 % sušiny a 80 % vody. Sušina se skládá zejména ze sacharidů (11–18 %), dusíkatých látek (2 %) a tuků (0,1 %) (Prugar, 2008).



Obrázek 1: Vlastní schéma zastoupení nutrientů ve 100 g jedlého podílu ranné bramborové hlízy (Centrum pro databázi složení potravin, 2020)

Ze 100 g vařených brambor získáme energii 96,33–123,17 kcal (De Haan et al. 2019), to odpovídá 4 až 6 % energetické potřeby dospělého člověka. Příprava a podávání brambor s přísadami vysokého obsahu tuku výrazně zvyšuje kalorickou hodnotu pokrmu. 100 g brambor chipsy nebo hranolky poskytují energetickou hodnotu až 564 kcal (Burgos et al., 2020).

#### 1.1.1 Sacharidy

Sacharidy jsou hlavním podílem sušiny rostlinných pletiv. Do sacharidů se řadí látky jednoduché – monosacharidy, tak i složité – polysacharidy složené z monosacharidových jednotek. Mezi polysacharidy se řadí také škrob. Obsah cukrů v hlízách brambor (kromě škrobu) se pohybuje kolem 0,5 % v původní hmotě. Obsah sacharidů má vliv na chuť a vůni brambor. Cukry slouží jako prekurzory (látky, které se podílejí na chemické reakci, při níž vzniká jiná sloučenina) některých těkavých sloučenin, které vznikají varem nebo jinou tepelnou

úpravou brambor. Nejvyšší zastoupení cukrů v bramborách tvoří tři hlavní cukry: monosacharidy glukosy, fruktosy a disacharid sacharosy (Sirpa et al., 2009). Koncentrace cukrů ve 100 gramech syrových hlíz brambor se pohybuje v rozmezí od 3,25–255 mg glukosy, 2,5–153,7 mg fruktosy a 43–159,7 mg sacharosy (Rodríguez et al., 2010). Dalšími prokázanými cukry v bramborách jsou z monosacharidů manosa, xylosa a trisacharid rafinosa. Tyto cukry jsou už však z hlediska vlivu na kvalitu bezvýznamné (Sirpa et al., 2009).

Při teplotách 10–20 °C se ve zralých hlízách největší část sacharidů ukládá ve formě škrobu. Ostatní tři cukry jsou přítomny pouze v malém množství. Nevyzrálé hlízy mají značné množství cukrů, zejména sacharosy. V prvních dnech po sklizni nezralých hlíz obsah sacharosy klesá, zatímco obsah glukosy a fruktosy se výrazně zvyšuje. Obsah cukrů ve vyzrálých hlízách závisí na teplotě skladování. Při teplotách pod 10 °C obsah cukrů stoupá až do doby, kdy se teplota skladování přiblíží k 0 °C. Vysoký obsah tzv. redukcujících cukrů (glukosa, fruktosa) je nežádoucí při zpracování brambor na potravinářské výrobky. Při smažení lupínků a hranolků dochází vlivem vysokého obsahu redukcujících cukrů k reakci s aminokyselinami (Maillardova reakce) za tvorby hnědých produktů. Dochází tak ke zhoršení kvality výrobků, především změna barvy, chuti a vůně (Kumar et al., 2004).

Hlízy odrůd určených pro konzumní účely obsahují 11–16 % škrobu. Limitní hodnotou obsahu škrobu u brambor určených pro zpracovatelský průmysl je 18 % v čerstvé hmotě. V rostlinném organismu slouží škrob jako hlavní zásobní látka, neboť je pohotovou zásobou glukosy. Je uložen v podobě micel, zvaných škrobová zrna, v buňkách hlíz brambor. Bramborový škrob se skládá z lasturovitých škrobových zrn o různé velikosti 15–50 µm. Rozmístění škrobu v hlíze není zcela homogenní, nejvyšší koncentrace škrobu je v oblasti centrálního kruhu cévních svazků. Škrob zaujímá 87 % celkové energetické hodnoty hlízy. Avšak přes svou vysokou energetickou hodnotu patří bramborový škrob k méně stravitelným škrobům. V syrových bramborách je téměř nepřístupný pankreatické amyláze. Stravitelnost škrobu se zvyšuje při vyšších teplotách mazováním (Saar-Reismaa et al., 2020; Sharma et al., 2020).

Kromě škrobu se v hlízách vyskytují i jiné polysacharidy. Vytvářejí buněčné stěny a mezibuněčné složky. Jedná se o vlákninu (hrubá vláknina, celulóza, hemicelulózy, pentosany a pektin). Brambory obsahují přibližně 7 % denní hodnoty příjmu potravy vlákniny. Hlavní funkcí vlákniny je zajištění rozmístění potravy neboli peristaltika střev. Jedná se o pozvolný rytmický pohyb stěn některých dutých orgánů, který zajišťuje posouvání jejich obsahu jedním směrem (Chloupek et al., 2005). Brambory obsahují vlákninu v buněčných stěnách. Vařené

brambory bez slupky poskytují 1,8 g vlákniny/100 g, zatímco vařené brambory se slupkou poskytují 2,1 g vláknina/100 g) (Auestad et al., 2015).

### 1.1.2 Dusíkaté látky

Dle obsahu dusíkatých látek (hrubé bílkoviny) v bramborové hlíze se odvíjí nutriční a kalorická hodnota bramborové hlízy. Střední hodnota obsahu dusíkatých látek (hrubých bílkovin) je 2 % v čerstvé hmotě. Nebílkovinné dusíkaté látky zastupují 50 % z celkových dusíkatých látek. Rozdělují se na volné aminokyseliny, aminy, asparagin a glutamin a ostatní dusíkaté látky (Rop & Buňka, 2007; Bártová et al., 2019).

Nejdůležitějším podílem komplexu dusíkatých látek jsou bílkoviny. Jejich obsah se pohybuje v průměru 58 % celkového obsahu dusíkatých látek. Podílejí se na interakci s ostatními látkami v rostlině, zejména s cukry, fenolovými sloučeninami a rostlinnými hormony. Bramborová bílkovina se skládá se ze tří skupin rozpustných bílkovin: patatinu (30–40 %), inhibitorů proteáz (40–50 %) a ostatních bílkovin (10–15 %) (Waglay & Karboune, 2016). Bílkoviny hlíz bramboru jsou z nutričního hlediska jedny z nejkvalitnějších bílkovin rostlinného původu. Kvalita proteinu se obecně vyjadřovala „biologickou hodnotou“ (BV). Vaječný protein, který je považován za referenční protein, má BV 100. Brambory mají ve srovnání s vaječným proteinem biologickou hodnotu 90, což je relativně vysoké ve srovnání s jinými klíčovými rostlinnými zdroji bílkovin, jako je sója (BV 84) nebo fazole (BV 73) (Bárta & Čurn, 2004). Metoda biologické hodnoty (BV) pro hodnocení proteinové nutriční kvality je založena na absorpci dusíku orgánem. Metoda BV určuje kvalitu bílkovin z poměru dusíku inkorporovaného do tělesných tkání děleného dusíkem absorbovaným z potravy. Nevýhoda metody BV je, že hodnocení jsou prováděna za přísných podmínek, které neodrážejí každodenní život jednotlivců (věk, pohlaví a zdraví). V současné době se proto již používá metoda volby pro hodnocení nutriční kvality bílkovin (PDCAAS). Metoda byla přijata Organizací pro výživu a zemědělství a Světovou zdravotnickou organizací (FAO/WHO) (Zeece, 2020). Metoda PDCAAS (protein digestibility-corrected amino acid score) je nyní preferovanou metodou pro měření hodnoty bílkovin v lidské výživě. Metoda je založena na poměru koncentrací 1. limitující esenciální aminokyseliny v testované látce a stejné aminokyseliny v referenčním vzorku proteinu, korigovaného na fekální dusík. Což znamená, že poměr je upraven pro skutečnou stravitelnost bílkovin, která představuje rozdíl mezi množstvím požitého a vylučovaného dusíku, což odpovídá metabolickým ztrátám. Srovnávací spektrum aminokyselin je odvozeno od požadavků na esenciální aminokyseliny dítěte

předškolního věku (Katz et al., 2019). Hodnoty jsou uváděny v rozmezí 0–1, kdy 1 odpovídá 100 %. Brambory mají touto metodou stanovené scóre 0,93.

Brambory se tedy vyznačují příznivou skladbou aminokyselin, obsahují všech devět esenciálních aminokyselin. Nejvíce obsahují fenylalanin, tyrosin, leucin a lyzin. Vysoké zastoupení lyzinu je u rostlinných bílkovin výjimečné. Za limitující aminokyseliny jsou u brambor označovány cystein a methionin (Sharma et al., 2020). Hlavním zásobním proteinem je pak patatin, který se vyznačuje svou lipázovou aktivitou a schopností štěpit mastné kyseliny z membránových lipidů. Protein patatin tvoří 30–40 % rozpustného proteinu v hlízách brambor (Wu et al., 2021). Využití našel především v doplňcích na hubnutí, protože tento protein zvyšuje pocit sytosti a působí jako prostředek potlačující chuť k jídlu. (Sharma et al., 2020).

### **1.1.3 Lipidy**

Tuky jsou obsaženy v hlízách ve velmi nízké koncentraci a jejich podíl na nutriční hodnotě je velmi malý. Nejvíce jich je obsaženo ve slupce (Burlingame et al., 2009). V hlíze se jejich obsah pohybuje od 0,1 do 0,5 g/100 g. Jsou tvořeny nejvíce z fosfolipidů (47 %), glykolu a galaktolipidů (22 %), sloužících jako strukturální prvky biologických membrán, a neutrálních lipidů (21 %), jako např. acylglyceroly a volné mastné kyseliny. Z mastných kyselin jsou v hlíze brambor nejvíce zastoupeny kyselina linolová a linolenová (Burgos et al., 2020).

### **1.1.4 Vitamíny**

Nejdůležitější vitamíny v bramborách jsou vitamín C a některé ze skupiny vitamínů B: thiamin (vitamín B1), riboflavin (vitamín B2) a nikotinamid (vitamin B3). V bramborách byly prokázány i vitamíny rozpustné v tucích: karotenoidy (provitamíny A), tokoferol (vitamin E) a vitamín K. Z vitamínů rozpustných ve vodě pak pyridoxin (vitamín B6) a kyselina pantotenová (vitamín B5). Obsah vitamínů je odrazem odrůdy a počasí při pěstování. Vitamíny jsou celkově soustředěny více v dužnině hlíz než pod slupkou (Sharma et al., 2020; Lachman et al., 2005).

Vitamín C je významným antioxidantem. Brambory jsou obecně nejvýznamnější potravinou, ze které přijímáme nejvíce vitamínu C z hlediska pokrytí celkové denní potřeby organismu. Pro lidi je důležitý kvůli správnému fungování metabolismu a podstatnou funkci hraje i ve vstřebávání železa (Chloupek et al., 2005). Bramborové hlízy obsahují cca 20 mg/100 g vitamínu C, který odpovídá až za 13 % celkové antioxidační kapacity. Při konzumaci středně velké hlízy se slupkou (150 g), poskytuje hlíza téměř polovinu denní potřeby vitamínu C pro dospělého, která se pohybuje v rozmezí (80–100 mg/den. Během vegetace se obsah vitamínu

C zvyšuje. Po uskladnění čerstvě sklizených hlíz dochází k rychlému úbytku, který se však v pozdější fázi zpomaluje. Na jaře se obsah vitamínu C v hlízách pohybuje mezi 40 až 70 % původního obsahu. Změny v obsahu vitamínu C jsou značně ovlivněny způsobem přípravy brambor, během vaření dojde ke ztrátě minimálně 30 % vitamínu C (Prugar, 2008).

Brambory jsou jedním z nejdůležitějších zdrojů antioxidantů v lidské stravě. Mohou přispět ke snížení rizika nádorových onemocnění, kardiovaskulárních onemocnění a cukrovky druhého typu. Antioxidanty přítomné v bramborách lze rozdělit do 3 skupin na základě působení na lidský metabolismus a strukturního složení. První skupina sestává z fenolových sloučenin (flavonoidy, anthokyany, flavonoly). Druhá skupina zahrnuje isoprenoidní antioxidanty (karotenoidy a tokoferoly) a třetí skupina se skládá z příbuzných antioxidantů (askorbát a glutathion) (Burgos et al., 2020).

### **1.1.5 Minerální látky**

Jedna porce brambor denně dodá 30–62 % doporučeného denního příjmu makroprvků (hořčík, fosfor a draslík) a 12–82 % a doporučeného denního příjmu stopových minerálů (měď, železo, selen a zinek). Brambory patří mezi nejkonzentrovanejší zdroje draslíku. Draslík je v bramborách zastoupen podstatně ve větším množství než v banánu a houbách, které jsou obecně považovány za potraviny bohaté na draslík (Drewnowski & Rehm, 2013; Sharma et al., 2020).

Průměrný obsah minerálních látek v hlízách brambor je 1,1 %. Nejvýznamnějším prvkem je draslík, který je zastoupen v hlíze v průměru mezi 1,7–2,0 % v sušině (1 400–2 500 mg/100 g sušiny) a představuje zhruba polovinu všech minerálních látek. Přítomnost draslíku v hlíze zabráňuje výskytu tmavnutí po uvaření i enzymatickému zbarvení, vyskytující se po mechanickém poškození hlíz. Ovlivňuje také poměr draslíku a sodíku v těle. Obsah draslíku hraje významnou roli v celkové chuti hlíz. Obecně se uvádí, že optimum dusíku k draslíku je 1: 2,5 až 2,7. Posun tohoto poměru vede ke zhoršení celkové chuti hlíz. Draslík má z hlediska fyziologie výživy člověka velký význam, protože díky němu jsou brambory zásaditou stravou a vyvažují tak kyselé složky potravy, jako jsou tuky nebo maso (Chloupek et al., 2005). Vysoký příjem draslíku může pomoci kontrolovat vysoký krevní tlak a může snížit riziko. Sto gramů vařených brambor může přispívat až 16 % denního příjmu draslíku, doporučeného pro dospělé (4 700 mg denně) (Bethke & Jansky 2018).

Vápník je v hlízách brambor obsažen v malém množství (10–130 mg/100 g sušiny). Nejvíce se vyskytuje zejména ve slupce a vaskulárním systému. Podílí se na četných metabolických pochodech, nutných pro tvorbu a zpevnění podpůrné tkáně, a také v rostlině

neutralizuje organické kyseliny. Je nezbytný pro dělení buněk, a díky tomu je přítomen i v embryonálních tkáních (Míča, 1995).

Význam hořčíku je spojen s fotosyntézou, účastní se syntézy bílkovin a aktivuje se díky němu DNA-polymerasa. Obsah hořčíku v hlízách je velmi nízký (0,5–8 mg/100 g sušiny) (Wierzbowska et al., 2018).

V malém množství se v hlízách bramboru vyskytují i minerální látky jako síra (40–400 mg/100 g sušiny), sodík (0–330 mg/100 g sušiny), železo (1,70 až 3,88 mg/100 g sušiny), mangan (0,5–8 mg/100 g sušiny), zinek (0,8–2,2 mg na 100 g sušiny) a měď (0,06–2,8 mg/100 g sušiny). Zvláštní postavení zaujímá selen, který působí společně s vitamínem E v buněčném antioxidačním obranném systému tak, že zastavuje reakce volných radikálů (Haider et al., 2021).

Jak uvádí Lombardo et al. (2013), obsah minerálů v plodinách závisí na složení půdy při pěstování. Např. písčité struktura půdy upřednostňuje procesy oxidace železa na nerozpustné polymery a následně snižuje dostupnost železa pro rostlinu.

#### **1.1.6 Karotenoidy a anthokyany**

Karotenoidy slouží jako prevence proti oxidačnímu stresu, inhibici poškození DNA, a zvýšené metabolické detoxikaci (Fiedor & Burda 2014). Množství karotenoidů v bramborách souvisí s barvou dužiny. Tmavě žluté kultivary vykazující přibližně desetinásobně vyšší koncentraci karotenoidů než odrůdy s bílou dužinou (Brown et al., 2005). Významná a převládající množství zeaxanthinu a antheraxanthinu se nacházejí v sytě žlutých dužnatých bramborách, zatímco ve žlutých bramborách převládá violaxanthin, antheraxanthin, lutein a zeaxanthin (Burgos et al., 2009). Tepelnou úpravou dochází k redukci violaxanthinu a antheraxanthinu, ostatní karotenoidy nejsou ovlivněny (lutein a zeaxanthin). Koncentrace luteinu ve žlutých vařených bramborách se pohybuje od 73–253 µg/100 g, koncentrace zeaxanthinu 0–1048 µg/100 g (Burgos et al., 2012).

Anthokyany jsou ve vodě rozpustné flavonoidy, které vykazují řadu farmakologických účinků, jako je prevence kardiovaskulárních onemocnění, obezity a protinádorové aktivity (Lin et al., 2017). Anthokyany jsou přítomny v dřeni i ve slupce fialových a červených brambor (Brown et al., 2003). Zvýšená nadmořská výška, vyšší roční úhrn srážek a nižší teploty způsobují vyšší koncentrace anthokyanů (Lachman et al., 2009). Celková koncentrace anthokyanů s fialovou dužninou se pohybuje od 63–588 mg/100 g syrových brambor a 71–453 mg/100 g vařených hlíz brambor (Burgos et al., 2013).

Brambory se žlutou dužinou mají koncentraci karotenoidů vyšší než brambory s bílou dužinou, zatímco fialové brambory mají vyšší koncentraci anthokyanů než brambory s červenou nebo bílou dužninou. Karotenoidy a anthokyaniny vykazují vysokou regeneraci po vaření díky zlepšenému uvolňování těchto antioxidantů z potravinové matrice po uvaření (Tian et al., 2016). Studie *in vitro* ukazují, že bramborový lutein a zeaxanthin mají vysokou biologickou dostupnost a že fenolické látky z brambor podléhají mikrobiálnímu působení transformace ve střevním traktu produkující metabolity, které podporují střevní mikrobiotu (Burgos et al., 2020).

### 1.1.7 Kyselina chlorogenová

Kyselina chlorogenová byla uváděna jako převládající fenolová kyselina jak v syrových, tak i ve vařených hlízách brambor (Burgos et al., 2013). Hlavní funkcí kyseliny chlorogenové je zajištění odolnosti rostliny vůči patogenům. Koncentrace kyseliny chlorogenové stejně jako další hydroxyskořicové kyseliny jsou po invazi patogenů ukládány, aby zastavily jejich vývoj a posílily buněčné stěny (Yogendra et al., 2015). Po konzumaci slouží tyto látky u lidí jako ochranné prostředky proti reaktivním druhům kyslíku, o kterých je známo, že se podílejí na stárnutí a degenerativních onemocněních (Liang & Kitts, 2015). Kyselina chlorogenová podporuje zdravý střevní mikrobiom, díky svým mnohočetným farmakologickým vlastnostem (antioxidační, protizánětlivé, antidiabetické, antihypertenzní, antibakteriální, také působí jako stimulant na centrální nervový systém, proti obezitě) (Vollmer et al., 2017).

Pro lidský organismus je biologicky dostupná pouze částečně, její biologická aktivita závisí na střevní mikrobiotě. Zde se vytváří sekundární metabolity, jako je kyselina kávová, která má již mnohem větší biologickou dostupnost (Tomas-Barberan et al., 2014). Ve studii Mills et al. (2015) bylo ve vsádkové kultuře fermentačního modelu tlustého střeva zjištěno, že kyselina chlorogenová podporuje růst bakteriálních druhů *Bifidobacterium*, které jsou prospěšné pro zdraví střev.

Stejně tak jako ostatní látky se koncentrace kyseliny chlorogenové snižuje vařením, pečením a mikrovlnným ohřevem (Lachman et al., 2013). Ve studii Piñeros-Niño et al. (2017) uvedli že, koncentrace kyseliny chlorogenové se ve vařených hlízách ve 193 odrůdách brambor pohybovala od 19,25–399 mg/100 g. Průměrná koncentrace kyseliny chlorogenové v uvařených bramborách je 350 mg/100 g, to odpovídá přibližně množství v jednom šálku kávy (Clifford, 1999). Izomery kyseliny chlorogenové, neo-chlorogenové a kryptochlorogenové kyseliny, stejně jako kyselina kávová se nacházejí v hlízách brambor také (Andre et al., 2007).



## 1.2 Alkaloidy v bramborách

Glykoalkaloidy jsou sekundární rostlinné metabolity, které slouží jako přirozená obrana proti bakteriím, houbám, virům a hmyzu (Friedman, 2004). Často jsou označovány pod společným názvem solanin. Bylo popsáno 20 těchto sloučenin, z toho 10 jich bylo prokázáno v hlíze brambor (Zrůst, 2004). První zmínka o výskytu solaninu v bramborách pochází z roku 1826. Přibližně 95 % všech toxických glykoalkaloidů v konzumních bramborách rodu *Solanum tuberosum* tvoří 2 hlavní glykoalkaloidy  $\alpha$ -solanin a  $\alpha$ -chaconin. Obě látky obsahují stejný aglykon solanidin a jsou rozdílné pouze ve složení glykosidu. Taktéž mají rozdílnou toxicitu,  $\alpha$ -solanin má jen poloviční toxicitu jako  $\alpha$ -chaconin (Lachman et al., 2001). Co se týče struktury,  $\alpha$ -solanin má vázaný cukr  $\beta$ -solatriosu, zatímco v  $\alpha$ -chaconinu je navázána  $\beta$ -chakotriosa. Glykoalkaloidy mají vliv na sensorické vlastnosti brambor – podílí se na typické chuti a vůni vařených i jinak upravených brambor. Normální koncentrace glykoalkaloidů v bramborách se pohybuje kolem 20–100 mg/kg. (Schulzová & Hajšlová, 2007; Sharma et al., 2020). Glykoalkaloidy a produkty hydrolýzy mají také příznivé účinky např. snížení cholesterolu a inhibici růstu rakovinných buněk (Burgos et al., 2020). Nejvyšší povolené množství glykoalkaloidů v bramborách 200 mg/kg definuje zákon o potravinách ČR.

V hlízách je nejvyšší koncentrace látek hned pod slupkou nebo v okolí oček či v místech, kde došlo k poranění hlízy. Lze říci, že od povrchu směrem ke středu jejich obsah klesá. Obsah glykoalkaloidů závisí především na odrůdě, dalšími vlivy jsou pak lokalita pěstování, klimatické podmínky, fyziologická zralost, způsob hnojení nebo závlaha. Obsah roste s vyššími dávkami dusíkatých hnojiv (Mazurczyk, 1998; Zrůst et al., 2003). Přestože jsou glykoalkaloidy celkem termostabilní, v průběhu technologického a kulinárního zpracování dochází k částečnému snižování jejich obsahu. A při teplotách nad 170 °C dochází k částečnému rozkladu. Až polovinu obsahu lze odstranit pouhým oloupaním hlíz. Taktéž jsou rozpustně ve vodě, takže při vaření dochází k jejich vyplavování (Velíšek, 2002). Obsah glykoalkaloidů v potravinách můžeme snížit oloupaním, vařením či smažením. Například loupání brambor snižuje obsah glykoalkaloidů o 25–75 %, vaření o 5–65 % a smažení v oleji o 20–90 % (EFSA, 2020). Úbytek glykoalkaloidů různými formami tepelné úpravy brambor je zobrazen v tabulce č. 1.

Tabulka 1: Úbytek glykoalkaloidů vlivem zpracování brambor (Zrůst et al., 2003)

Proces zpracování hlíz	průměrný obsah celkových GA *
vaření ve slupce	75,2 %
vaření bez slupky	44,3 %
bramborové hranolky	53,9 %
bramborové lupínky	23,4 %

\* Obsah celkových GA (glykoalkaloidů) je vztažen ke 100 %, což odpovídá syrovým bramborám.

Kromě dvou hlavních glykoalkaloidů se v bramborách vyskytují i minoritní zástupci, jedná se např. o  $F$ -solanin,  $\beta$ -chaconin,  $\gamma$ -solanin,  $\gamma$ -chaconin,  $\alpha$  a  $\beta$ -solamarin (Velíšek, 2002). Hlavní steroidní glykoalkaloidy v bramborách  $\alpha$ -solanin a  $\alpha$ -chaconin jsou studovány pro jejich protinádorové vlastnosti (Friedman, 2015). Lee et al. (2004) zjistili, že  $\alpha$ -solanin vykazoval inhibici růstu a indukci apoptosy u mnohočetné rakovinové buňky (buňky lidského tlustého střeva a jater). O rok později, ve studii zabývající se hodnocením antikarcinogenních účinků  $\alpha$ -solaninu a  $\alpha$ -chaconinu extrahováno z pěti odrůd čerstvých brambor (Dejima, Jowon, Sumi, Toya a Vora Valley) bylo zjištěno, že glykoalkaloidy vykazují antiproliferativní účinky (působí selektivně na buňky s intenzivní mitochondriální aktivitou) u všech těchto nádorových buněčných linií: cervikální, játra, lymfom, buňky žaludku a normální jaterní buňky (Friedman et al., 2005).

### 1.2.1 Toxicita glykoalkaloidů hlízy brambor

Mechanismus toxického účinku glykoalkaloidů spočívá v inhibici enzymu acetylcholinesterasy centrálního nervového systému, díky němuž může dojít k narušení membrány zažívacího traktu a dalších orgánů. Zelené slupkové hlízy a zelené listy brambor, které jsou vystaveny světlu, jsou toxické. Je důležité odstranit tuto část a brambory řádně uvařit. (Sharma et al., 2020). Předávkování solaninem ve vysokých dávkách může způsobit i smrt. Typickými příznaky otravy jsou nevolnost, zvracení, průjem, žaludeční křeče, bolesti hlavy a závratě. Vysoké dávky mohou zapříčinit halucinace, ztrátu citu, ochrnutí, nebo horečku. Příznaky se vyskytnou obvykle po 8–12 hodinách po požití. Toxicita glykoalkaloidů v kyselém prostředí je relativně nízká, zatímco v zásaditém prostředí se zvyšuje. Denní příjem průměrného

konzumenta se v evropských zemích pohybuje okolo 1 mg glykoalkaloidů na kg tělesné hmotnosti, přičemž již příjem 2–3 mg glykoalkaloidů/kg tělesné hmotnosti vyvolává příznaky otravy a letální dávka je 3–6 mg glykoalkaloidů/kg tělesné hmotnosti (Schulzová & Hajšlová, 2007). V České republice stanovuje přípustné množství glykoalkaloidů vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 53/2002 Sb., a to ve výši 200 mg/kg neloupaných hlíz. Následující tabulka č. 2 zobrazuje průměrné hodnoty glykoalkaloidů v mg/kg čisté hmoty v různých částech rostliny *Solanum tuberosum*.

*Tabulka 2:: Hladiny glykoalkaloidů v jednotlivých částech rostliny Solanum tuberosum (Percival et al., 1997)*

<b>Část rostliny</b>	<b>Obsah (mg/kg č.hm.)</b>
Klíčky	2 000-4 000
Kořeny	180-400
Lodyha	20-30
Listy	400-1 000
Květy	3 000-5 000
Bobule	4 200
Celá hlíza	10-180
Dřeň	12-50
Svrchní část hlízy	300-600
Svrchní část hlízy	150-300
Slupka s očky	300-500

### **1.3 Dusičnany a dusitany**

Konzumací brambor přijímáme i podstatné množství dusíkatých látek. Protože obsah dusičnanů je v hlízách relativně nízký, nehrozí tak dospělým jedincům nebezpečí. Obsah dusičnanů v hlízách bramboru představuje zhruba 4 % celkového N. Nejvyšší obsah, jak v % původní hmoty, tak i v % sušiny, se nachází v nejmenších hlízách do 3,5 cm (obdobně jako je tomu s glykoalkaloidy). Samotné dusičnany jsou pro lidské tělo neškodné, problém nastává, až když metabolizují na dusitany (Zrůst, 2004). Většina dusičnanů je relativně rychle vyloučena močí. Zbytek se však ve střevech redukuje na dusitany vlivem střevní mikrobioty. Dusitany

mohou vznikat už při některých technologických úpravách, zvláště tepelnými procesy. Pro dospělého jedince je toxická dávka dusičnanů 6 g, pro kojence 100 mg. Letální dávka dusitanů pro člověka je 32 mg/kg, obecně se udává LD50 0,5 – 4,0 g, pro kojence 1,4 mg (Čabajová, 2009).

Dusitany vytvářejí methemoglobin, který není schopný navázat kyslík a vzniká tak methemoglobinemie. Nebezpečí hrozí především u kojenců, jejichž hemoglobin se snadněji metabolizuje na methemoglobin a hůře se redukuje zpět. Pro lidský organismus je riziko přeměna dusičnanů a dusitanů na kancerogenní, mutagenní a teratogenní nitrosaminy. Obsah dusičnanů v hlízách závisí na odrůdě, prostředí, hnojení, skladování a samotné kuchyňské úpravě. V průběhu skladování dochází k poklesu obsahu dusičnanů (Jůzl et al., 2008). Negativní vliv dusičnanů na lidský organismus je snižován současnou přítomností vitamínu C. Studie, která zjišťovala přítomnost dusičnanů a dusitanů v moči zjistila, že vylučování dusičnanů močí se snižuje se zvyšujícím se příjmem vitamínu C. Ochranný účinek vitamínu C se projeví v případě, že jeho obsah oproti dusičnanům je dvojnásobný (Bednar & Kies et al., 1994).

## **1.4 Solanum tuberosum**

### **1.4.1 Brambory ve světě**

Brambory (*Solanum tuberosum*) jsou jednou z hlavních potravin, především díky obsahu škrobu, bílkovin, minerálních látek, vysokého množství vitamínů, esenciálních aminokyselin, vlákniny, ale také velmi malého obsahu tuku. Ve světě se brambory pěstují jako čtvrtá nejčastější plodina po pšenici, rýži a kukuřici, a to i navzdory velkému podílu bramborových produktů používaných jako krmivo pro zvířata či jako osivo. Existuje přibližně 4 000 druhů brambor, z toho více než 180 divokých druhů. Brambory lze pěstovat téměř ve všech druzích prostředí. Lze je pěstovat až do nadmořské výšky 4 700 m nad mořem (Haider et al., 2021; Sharma et al., 2020). Nejvíce se brambory pěstují v mírném pásmu severní polokoule, kde se plodina pěstuje v létě v období bez mrazu. V těchto regionech se brambory pěstují hlavně jako tržní plodina. (Muthoni et al., 2010). V subtropích se plodina pěstuje jako ozimá plodina v období bez veder. Jde především o oblasti Středozemního moře, severní Indie a jižní Čína (Haverkort et al., 2014). Brambory se v současnosti celosvětově pěstují na přibližně 19 milionech hektarů zemědělské půdy a celosvětová roční produkce brambor činí 378 milionů tun. Přibližně dvě třetiny sklizně se zkonsumují, až 1,3 miliardy lidí jí brambory jako základní

potravinu (více než 50 kg na osobu a rok). Lze konstatovat, že brambory mají nejvyšší výtěžnost, vzhledem k využití ploše půdy než jakákoli jiná hlavní plodina. (Bailey et al., 2015).

Původně pochází rostlina z jižní Ameriky. V Evropě se brambory rozšířily pravděpodobně v průběhu 16. století původně jako okrasná bylina, později jako jedna z hlavních konzumních plodin (Klupal, 2008). Rostlina se vyznačuje nepohlavním rozmnožováním. Hlíza bramboru slouží jako reprodukční orgán, tak i jako potravina (Zhang et al., 2022).

Populační epidemiologické studie se zabývají asociací výživy, stravy, prevencí a rizikem metabolických poruch, jako je cukrovka, nádorová onemocnění a kardiovaskulární onemocnění. Příjem ovoce a zeleniny byl stanoven jako prevence proti těmto chronickým onemocněním (Dragsted et al., 2006). Brambory obsahují relativně vysoké koncentrace fytonutrientů. Ty vykazují vysokou biologickou aktivitu, díky níž by mohly působit proti rozvoji chronických onemocnění (Ezekiel et al., 2013). Při experimentálních i klinických studiích brambory vykazovaly zdraví prospěšné účinky včetně protirakovinných, hypocholesterolemických, protizánětlivých a antidiabetických (Visvanathan et al., 2016).

#### 1.4.2 Kvalita brambor

*Tabulka 3: Užití konzumních brambor podle varných typů dle vyhlášky č. 397/2021 Sb., příloha č.17*

Varný typ	Konzistence	Užití
A (značen zelenou barvou)	Pevná, nerozvařivá, lojovitá	do salátů, jako příloha
B (značen červenou barvou)	polopevná, polomoučná, nerozvařivá nebo slabě rozvařivá	pro přípravu jídel všeho druhu, jako příloha
C (značen modrou barvou)	měkká, moučná, středně rozvařivá	především pro přípravu těst a kaší

#### 1.4.3 Dormance hlíz

Období, než hlíza po sklizni vyklíčí, se označuje dormance. Dormance a klíčení je nedílnou součástí životního cyklu brambory (Zhang et al., 2022). Závisí na předsklizňových a

posklizňových podmínkách, ale i fyziologii a genotypu samotné rostliny. U brambor rozlišujeme tři druhy vegetačního klidu. Endodormance – v důsledku fyziologických příčin, končí při viditelném rašení z apikálního pupenu. Paradormance – fyziologický signál pocházející z jiné části rostliny než z hlízy. Ekodormance – vznik axilárních a proximálních pupenů (Haider et al., 2021).

U brambor, které jsou k přímému prodeji pro spotřebu, je nutno co nejdéle inhibovat jejich klíčení a prodloužit tak dobu dormance. Prodlouží se tak doba prodeje, zlepši se kvalita produktu a sníží se riziko akumulace glykoalkaloidů. K regulaci dormance a klíčení se využívá především skladování při nízké teplotě a aplikace chemických inhibitorů. Nízká teplota ale může zapříčinit zcukernatění a akumulaci redukcujících se cukrů, čímž dochází ke snížení kvality zpracování bramborových produktů. Doba vegetačního klidu u různých druhů brambor se mění, nejčastěji se pohybuje od jednoho do tří měsíců. Záleží především na fytohormonech a endogenních regulátorech, které řídí dormanci hlíz. Nejznámější je kyselina abscisová (ABA), která navozuje a udržuje dormanci (Zhang et al., 2022). Předpokládá se, že relativní koncentrace několika biochemických sloučenin, jako jsou regulátory růstu rostlin: kyselina abscisová (ABA), auxiny, cytokininy (CK), gibereliny (GA), ethylen a strigolaktony (SL) a další sloučeniny (sacharidy a organické kyseliny) řídí nástup a další vývoj dormance (Alamar et al., 2017). Za vývoj pupenů a zvýšení počtu klíčků jsou odpovědné především gibbereliny (GA). Energií pro klíčení dodávají rozpustné sacharidy díky metabolismu škrobu na sacharosu. Dormance hlíz nezačíná v době sklizně, ale začíná zvětšením stolonů, tvorbou hlíz a obalením pupenů. Jak hlíza postupně bobtná a dozrává, dostává se do hluboké dormance. Ve spící hlíze přetrvávají buňky v tkáni v nerozděleném stavu. Apikální pupenový meristém hlízy raší a roste po postupném uvolnění dormance. Proto je klíčení považováno za konec dormance hlíz brambor (Zhang et al., 2022).

#### **1.4.4 Skladování brambor**

Pro skladování brambor v zimním období je nutné mít k dispozici prostory, které zajistí relativní vlhkost vzduchu kolem 93–98 % a teplotu v rozmezí 4–6 °C. Pro čerstvé brambory prodávané v tržní síti se používá teplota 6–10 °C. Pro hlízy určené na další zpracování 10–15 °C. Při nižších teplotách pod 4 °C hlízy „sládnou“, tento jev slazení v důsledku akumulace redukcujících cukrů se také nazývá "sladování vyvolané chladem". Vysoká hladina cukru způsobuje zhnědnutí brambor po smažení a produkuje toxické sloučeniny, jako je akrylamid (Visse-Mansiaux et al., 2022). Sládnutí lze jednoduše eliminovat přenesením hlíz před kuchyňskou úpravou minimálně na týden do prostor s teplotou okolo 20 °C. Při vyšších

skladovacích teplotách hlízy předčasně klíčí a dochází ke snížení jejich nutričních hodnot. Naopak při teplotách pod 0 °C může dojít k nevratnému poškození hlíz (Emragi et al., 2022).

Aby se daly hlízy dlouhodobě skladovat, je nutné ihned po sklizni zajistit teplotu 15–18 °C, aby bylo zajištěno odstranění volné vody v hlízách, zahojení případných mechanických poranění a vydýchání hlíz. Takto připravené hlízy mají předpoklad pro dobrý průběh skladování. Během skladování brambor dochází ke značným posklizňovým ztrátám, obvykle se ztráty pohybují až kolem 30 %. Hlízy po sklizni ztrácejí značné množství kvality v důsledku ztráty hmoty během dýchání (Irungu et al., 2022). Hlavními příčinami ztrát jsou nadměrná ztráta vlhkosti, zhoršení způsobené infekcí mikroorganismů a samotné klíčení (Lysakov et al., 2018).

Dlouhodobé skladování hlíz brambor je spojeno s kvantitativními změnami zahrnujícími snížení původní hmotnosti hlíz v důsledku dýchání, transpirace a klíčení. V důsledku těchto nevyhnutelných procesů dochází k úbytku hmotnosti hlíz, který je největší během prvních 2 měsíců skladování. Transpirace je zodpovědná až za 90% celkové ztráty, lze ji však minimalizovat. Procesy dýchání, transpirace a klíčení jsou ovlivněny především teplotou a relativní vlhkostí vzduchu během skladování. Meteorologické podmínky během vegetačního období, genetické vlastnosti odrůd a mechanické poškození hlíz způsobené během sklizně a posklizňového ošetření mohou být také zodpovědné za přirozené ztráty bramborových hlíz. Doporučuje se používat fyzikální metody ke zlepšení stavu plodin během skladování spolu s biologickými a chemickými metodami ochrany (Jakubowski et al., 2020; Emragi et al., 2022).

K začátku růstu klíčků je zapotřebí hydrolýza škrobu. Ta je katalyzována řadou enzymů označovaných jako amylasy. Díky rozštěpení glykosidické vazby (pomocí  $\alpha$ -amylasy) uvnitř molekuly škrobu vznikají kratší oligosacharidy o několika desítkách glukosových jednotek tzv. dextriny.  $\beta$ -amylasy odštěpují od konce oligosacharidového řetězce disacharid maltosu a produkují redukující a metabolizovatelný produkt. Glukoamylasy štěpí glukosové zbytky z oligosacharidů, uvolněná molekula glukosy slouží jako zdroj energie. Na konci spícího období začínají růst pupeny v očích brambor až vytvoření klíčků. Obecně platí, že začátek fáze apikální dominance je zahájen naklíčením apikálního oka. Poté se ve fázi apikální dominance vyvinou další výhonky a začíná fáze vícenásobného klíčení. Odstranění apikálního výhonku hlízy může vyvolat tvorbu více výhonků. Dochází pak k rovnoměrnému naklíčení hlízy, která produkuje několik stonků na rostlinu. Na konci fáze vícenásobného klíčení začínají fázi senility (Šárka et al., 2013; Mani & Hannachi, 2015).

Komerční (nutriční) hodnota naklíčených brambor se výrazně snižuje v důsledku nepříznivých změn morfologických vlastností brambor. Jsou to především ztráta sušiny, snížení tlaku (turgotu) v hlíze a zvýšení koncentrací cukru. Tyto ztráty mají negativní dopad na ceny brambor i jejich zpracovatelnost (Irungu et al., 2022).

#### **1.4.5 Zelenání brambor**

Bramborové hlízy jsou nefotosyntetické podzemně modifikované stonky naplněné amyloplasty, které jsou bezbarvými plastidy zodpovědnými za syntézu a skladování škrobu (Naeem et al., 1997). Bylo prokázáno, že při expozici světlu se amyloplasty diferencují na chloramyloplasty v kortikální parenchymové tkáni, přímo pod peridermem (Grunenfelder, 2005). Tato přeměna zahrnuje vytvoření dalšího membránového váčku mezi škrobovým zrnem plastidu, což zabraňuje akumulaci chlorofylu na nově syntetizované membráně a taktéž zabraňuje zelenému zbarvení povrchu hlízy. Po expozici světlu se však amyloplasty přeměňují na chloroplasty v periferních buněčných vrstvách hlíz, které způsobují akumulaci zeleného fotosyntetického pigmentu – chlorofylu (Muraja-Fras et al., 1994; Tanios et al., 2018).

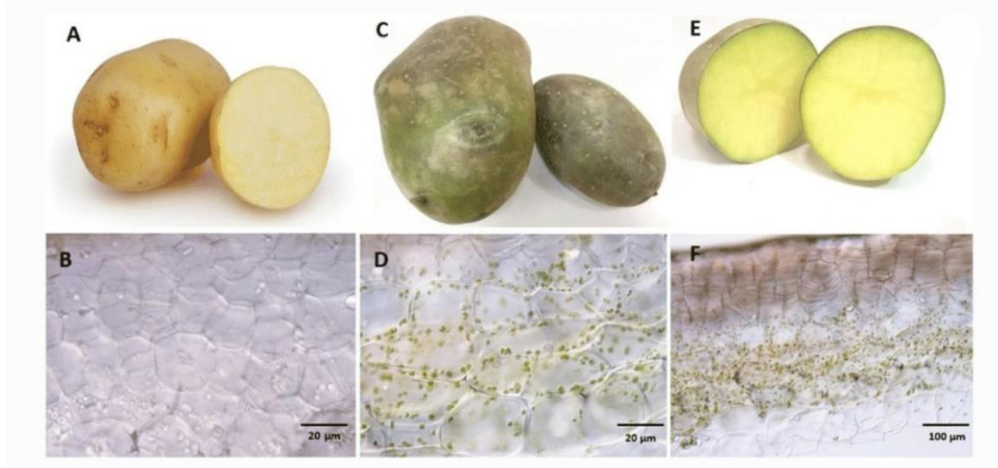
Zezelenání hlíz může být ovlivněno genetickými, kulturními, fyziologickými a environmentálními faktory, včetně hloubky výsadby, fyziologického stáří hlíz, teploty, atmosférické hladiny kyslíku a světelných podmínek (Dao & Friedman, 1994; Bamberg et al., 2015). Kultivary, které jsou vysoce citlivé na zelenání, nemusí nutně produkovat vysoké koncentrace glykoalkaloidů, taktéž expozice světlu může zvýšit hladiny glykoalkaloidů v nezelených částech hlízy (Edwards & Cobb, 1997b).

Již v roce 1992 bylo prokázáno, že chlorofyl vytvořený po několika hodinách vystavení světlu pomalu degraduje po několika dnech tmy, zatímco chlorofyl vytvořený po jednom měsíci na světle byl stabilní po dobu jednoho měsíce skladování ve tmě (Virgin & Sundqvist, 1992). V obdobné studii Gull & Isenberg (1960), hlízy skladované po dobu 8 měsíců při teplotě 4,4 °C byly méně náchylné k zezenání než hlízy skladované 3 měsíce. Podobně Griffiths et al. (1994) ukázali, že u 14 z 20 kultivarů bylo zelenání menší u hlíz skladovaných po dobu 3 měsíců při teplotě 6–8 °C než u čerstvě sklizených hlíz.

Lze říci, že rychlost zelenání je rychlejší při pokojové teplotě než při skladování v chladu. Skladovací teplota 20 °C za světla se ukázala jako optimální pro produkci chlorofylu, která je srovnatelná s teplotami ve většině maloobchodních prodejen. Proto by brambory mohly být potenciálně vystaveny v maloobchodních prodejnách při nižších teplotách, aby se snížila míra zezenání a prodloužila se tak i jejich trvanlivost (Edwards & Cobb, 1997a; Braun et al., 2010).



Zelenání bramborových hlíz je způsobeno syntézou chlorofylu pod peridermem. Na obrázku č.2 můžeme vidět hlízu bramboru (A) a mikrosnímek tkáně hlízy pod peridermem (B) před jakoukoli expozicí světlu. Bramborové hlízy vystavené světlu po dobu 15 dnů vykazuje zelenou barvu slupky (C a E), která byla způsobena vznikem chlorofylu v kortikální parenchymové tkáni pod peridermem (D a F).



Obrázek 2: Zelenání bramborových hlíz (Tanios et al., 2018)

#### 1.4.6 Zpracování brambor

Při zpracování brambor mají význam 3 druhy zbarvení:

- a) enzymatické, jen v syrovém stavu
- b) tmavnutí po uvaření
- c) neenzymatické hnědnutí (Maillardova reakce) při smažení a sušení, rovněž při skladování sušených bramborových výrobků (Mendelu, 2022).

#### 1.5 Glykemický index

Můžeme se setkat s tvrzením, že konzumace brambor má spojitost s obezitou. Brambory jsou považovány za potraviny s nízkou energetickou denzitou, a to díky nízkému obsahu tuku a vysokému obsahu vody (Anderson et al., 2013). Avšak potraviny na bázi brambor s vysokým přídatkem tuku jsou považovány za rizikové, z pohledu nadváhy a obezity. Konzumace brambor stimuluje pocit sytosti. Sytost je pocit plnosti a absence hladu, ke kterému dochází po jídle. Sytost je ovlivněna mnoha faktory, včetně rychlosti vyprazdňování žaludku a podílu makroživin v potravě. Sytost podporuje kontrolu hmotnosti tím, že oddaluje následující jídla a celkově snižuje denní spotřebované kalorie (Camire et al., 2009). Sytost je dána inhibitory proteáz, které inhibují pocit hladu, přes CCK (Cholecystokinin) signalizaci. CCK se používá

jako souhrnné označení pro všechny biologicky aktivní CCK peptidy (CCK–58, CCK–33, CCK–22 a CCK–8). Poprvé byl objeven již v roce 1928 v extraktech tenkého střeva. CCK stimuluje kontrakci žlučníku, růst pankreatu, sekreci pankreatických enzymů a inhibuje sekreci žaludeční kyseliny (Rehfeld, 2020). Jeho přítomnost způsobuje uvolnění enzymů z trávicího traktu, žluči ze slinivky břišní a žlučníku, což ve výsledku působí jako „hormon sytosti“. Taktéž potlačuje uvolňování ghrelinu, známého jako "hormon hladu" (Prater et al., 2023). CCK je syntetizován a uvolňován v endokrinních buňkách ve slizniční výstelce tenkého střeva. Tento proces nastupuje rychle jako odpověď na živiny vstupující do střeva, je široce považován za krátkodobý potravní inhibiční signál. Největším stimulatorem uvolňování CCK je přítomnost mastných kyselin nebo určitých aminokyselin v trávenině, která vstupuje do dvanáctníku (Airaodion et al., 2019). Sytost se hodnotí dle Glykemického indexu (GI). Glykemický index je označení potravin dle číselné stupnice od 0 do 100. Podle GI můžeme potraviny rozdělit do 3 skupin viz. tabulka č.4.

*Tabulka 4: Rozdělení potravin dle GI (Lal et al., 2021)*

<b>Hodnota GI</b>	<b>Potraviny</b>
nízký GI (<55)	luštěniny, zelenina, mléčné výrobky...
střední GI (56–69)	vařené brambory, rýže, těstoviny...
vysoký GI (> 70)	pečené brambory, hranolky, pšeničný chléb...

GI je dán poměrem obsahu plochy pod glykemickou křivkou sledované potraviny ve srovnání s glukosou. Čím vyšší je poměr fruktosa/glukosa, tím nižší je glykemický index. (Chlup et al., 2019). Potraviny s vysokým GI obsahují velké množství sacharidů. Ty podléhají v těle rychlému štěpení a vstřebávání, čímž dochází ke zvyšující se hladině glukosa a inzulínu v krvi. Pocit sytosti proto nevydrží tak dlouho, jako je tomu u potravin s nízkým či středním GI (Lal et al., 2021). Již v roce 1991 byla popsána zlepšená fyzická výdrž po požití čočky, která má nízký GI, ve srovnání s brambory (vysoký GI) 1 hodinu před tréninkem (Thom et al., 1991). Ve studii Akilen et al., (2016) uvedli, že společné požití masa s vařenou bramborovou kaší zapříčinilo o 40 % nižší energetický příjem ve srovnání s konzumovaným masem společně s těstovinami nebo rýží.

## 1.6 Škrob

Při počátečním vývoji hlíz brambor jsou rozpustné látky přeměněny na škrob a zásobní proteiny. Při dosažení zralosti brambory je více než 16,5–24 % sušiny hlíz tvořena škrobem a 0,69–4,63 % zásobními bílkovinami. Koncentrace redukujících cukrů se zvyšuje s postupem doby skladování. Mobilizace škrobu se však stává podstatnou během pozdějších fází klíčení, což může souviset s akumulací rozpustných cukrů. Jak začíná rašení,  $\alpha$ -amylázy a  $\beta$ -amylázy vznikají v sub-eye oblastech hlízy (pod očkem), ale ne v parenchymu. Počáteční vývoj pupenů nevyžaduje mobilizaci masivních zásob. V klidových pupenech je přítomno málo rozpustných cukrů. Koncentrace cukrů se zvyšuje při lámání pupenů, což naznačuje, že uvolnění sacharosy do pupenů je předpokladem pro růst pupenů. Nízké hladiny sacharosy v pupenech mohou působit jako signál k regulaci mobilizace škrobu v parenchymu (Haider et al., 2021).

### 1.6.1 Trávení škrobu

Molekula škrobu, podobně jako bílkoviny, je příliš velká na to, aby mohla přestupovat přes střevní stěnu do krve. Působením enzymů – glykosidasy, obsažených ve slinách, v sekretech slinivky a střevní sliznice, dochází k postupnému odštěpování krátkých fragmentů z povrchu škrobových zrn. Výsledkem je vznik krátkých řetězců obsahujících průměrně kolem 10 glukosových jednotek. Glykosidasy jsou vysoce selektivní enzymy, které hydrolyzují pouze  $\alpha$ -glykosidové vazby škrobu, zatímco  $\beta$ -glykosidové vazby obsažené v celulóze štěpit nedokážou. Tyto krátké glukosové fragmenty jsou pak transportovány krví do jaterních a svalových buněk, kde jsou buď přímo zabudovány do glykogenu, nebo jsou rozloženy až na cukr glukosu, kterou tělo dále přeměňuje za současného zisku velkého množství energie (Bach et al., 2013). Škrob lze také klasifikovat podle úrovně stravitelnosti: rychle trávený (RDS), pomalu trávený (SDS) nebo rezistentní (RS) škrob. RDS je stráven do 20 minut, SDS jsou škroby strávené během 21–120 minut po požití. Zbývající RS je fermentován, až produkcí mastných kyselin s krátkým řetězcem v tlustém střevě (Raigond et al., 2014). Hlízy bohaté na amylosu se tráví pomaleji, kvůli jejich obtížnosti želatinovat a bobtnat, na rozdíl od škrobů s vysokým obsahem amylopektinu (Brennan, 2005).

### 1.6.2 Využitelnost škrobu

Škrob je převládajícím sacharidem v bramborách. Biochemicky je bramborový škrob složen z amylosy a amylopektinu, přičemž amylopektin obvykle zaujímá 70–80 %. (Zeeman et al., 2010). Využitelnost škrobu je poměrně vysoká za předpokladu, že strava byla dobře

rozmělněna v ústech a promíchána se slinami. Nedostatečně rozložený škrob, který se dostane do střev, dokáže způsobit trávicí potíže. Díky střevním mikroorganismům dojde pak k nadýmání a nadměrné plynatosti. Nedostatečně natrávený škrob zhoršuje i dostupnost bílkovin pro pepsiny, působící v žaludku (Bach et al., 2013).

## 1.7 Karvon

Karvon je látka získaná z kmínového semene, byl identifikován jako účinný inhibitor klíčení bramborových hlíz. Byl vyvinut s cílem inhibovat růst skladovacích patogenů a potlačit klíčení brambor ve skladech (Prakash et al., 2015). Společně s látkami jako karvakrol, cinnamaldehyd, citral, p-cymen, eugenol, limonen, mentol, linalool, vanilin, citral a thymol se jedná o složky ethylenoxidů, které Evropská komise zaregistrovala jako látky určené k aromatizaci potravin s ohledem na jejich netoxický účinek na savčí systém a konzervační potenciál (Tajkarimi et al., 2010).

Studie Hartmans et al. (1995) zkoumala účinnost karvonu v porovnání s běžně používanými směsmi profamu/chlorprofamu. Karvon podávaný v pravidelných intervalech během dlouhodobého skladování byl schopen kontrolovat růst klíčků stejně dobře nebo účinněji než směsi profamu/chlorprofamu. Kromě toho karvon vykazoval antifungální aktivitu proti různým plísnovým onemocněním v experimentech *in vitro*. V *in-situ* experimentech se potvrdila antimykotická aktivita proti chorobám *Fusarium sulphureum*, *Phoma exigua var. foveata* a *Helminthosporium solani*, které vznikají při dlouhodobém skladování.

V novější studii byl zkoumán účinek esenciálních olejů z černého kmínu a hřebíčku a jejich hlavních složek, karvonu a eugenolu v dávkách 100, 200 a 300 mg/l, jako účinných faktorů při inhibici klíčení bramborových hlíz. Výsledky ukázaly, že zvýšení koncentrace esenciálních olejů zvýšila aktivitu glutathion-S-transferasy a čistý karvon měl největší účinek jako inhibitor klíčení hlíz. Taktéž zvýšená těkavost esenciálních olejů posílila antivirovou, fungicidní a antifungální aktivitu, a to vše bez změn chuti nebo kvality ošetřené hlízy. Těž uvedli, že silice z kmínu (karvon) inhibují klíčení po dobu devíti týdnů (Afifi et al., 2012).

## 1.8 NMR

Spektrometrie nukleární magnetická rezonance (NMR) je metoda, která využívá magnetických vlastností jader. Díky ní můžeme získat detailní informace o struktuře a dynamických vlastnostech organických i anorganických látek a biomolekul v kapalném, plynném či pevném stavu. Principem metody je měření absorpce elektromagnetického záření

(od 4 do 1200 MHz), díky spinové rezonanci jader v silném magnetickém poli. Účinná je však pouze na atomy, jejichž jádra mají lichý počet protonů a neutronů, obecně se tato platnost nazývá spinový moment, rotující kolem své vlastní osy. Mají spinové kvantové číslo  $I=1/2$ . Jedná se například o izotopy  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  (Buděšínský & Pelnař, 2000). Vodík  $^1\text{H}$  je nejběžnější formou a má výjimečné postavení v NMR spektroskopii organických sloučenin především díky vhodným vlastnostem, tedy vysokému přirozenému zastoupení činícím přes 99 %, vysokou citlivostí a rozsáhlým výskytem. Atomy, jejichž jádra mají sudý počet protonů a neutronů, jsou spárovány spiny částic. Hovoříme tedy o tzv. spinovém kvantovém čísle 0 ( $I=0$ ). Příkladem jsou izotopy  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ , jejichž jádra nemají magnetický moment, čímž neposkytují signály NMR (Popa & Novotná, 2012).

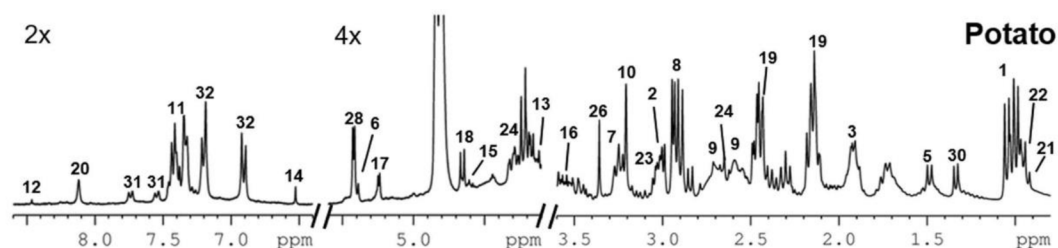
Základní stav je tehdy, když spiny nejsou uspořádány a nenajdeme mezi nimi energetický rozdíl. Po vystavení jader magnetickému poli  $B_0$ , jsou vychýlena z rovnovážné polohy a dojde k uspořádání magnetických momentů ve směru a proti směru magnetického pole (Günther, 2013). NMR spektra fungují na základě detekce vektorových součtů jader. Kromě rotačního pohybu kolem své osy se jádra pohybují tzv. Larmorovu precesi. Frekvence tohoto se vyjadřuje tzv. Larmorovou frekvencí, která je dána gyromagnetickým poměrem jádra atomu a intenzitou magnetického pole  $B_0$ . Při pulzní metodě se na všechna jádra jednoho izotopu aplikuje krátký radiofrekvenční pulz, který způsobí vychýlení z jejich rovnovážného stavu do stavu excitovaného. Tato pulzní frekvence musí být shodná s precesí magnetického momentu měřeného jádra. Po ukončení pulzu se jádra navrací do rovnovážné polohy, tzv. relaxace, tento návrat indukuje v cívce proud, který se označuje jako volné dozívání indukce (FID), který představuje závislost elektrického proudu indukovaného ve snímací cívce na čase. Pomocí Fourierovy transformace proběhne matematická konverze FID signálu, díky níž získáme spektrum v závislosti intenzity signálu na frekvenci (Dračínský, 2021).

Metoda našla své využití především ve strukturní chemii, kde slouží k určování struktur látek i složitých komplexů. V medicíně se využívá jako zobrazující technika (MRI) zejména u měkkých tkání a mozku (Brus, 2005). Lze ji použít i pro analýzu složení vzorků nebo pro detekci původu potravin a odhalení falšování potravin díky biomarkerům. Mezi všemi analytickými metodami, které se využívají pro zkoumání potravin, dosáhla NMR v posledních letech velkého uznání a bylo prokázáno, že v kombinaci s chemometrií tvoří slibnou metodu pro ověřování pravosti potravin. Nyní jsou vytvářeny spektrální databáze pro různé potraviny (např. med, víno), který se následně využívají při testování (Schievano et al., 2019).

NMR metabolomika se vyznačuje svou přesností a vysokou reprodukovatelností. Mezi výhody metody se řadí nedestruktivnost vzorků, rychlá a snadná příprava vzorků, schopnost měření několika vzorků bez nutnosti předešlé chromatografické separace (Schievano et al., 2017).

NMR byla poprvé použita pro měření obsahu vody v bramborových proužcích v roce 1950 (Shaw & Elsken, 1950). Později v roce 2000 byla NMR použita pro predikci senzorické struktury vařených brambor (Thybo et al., 2000).

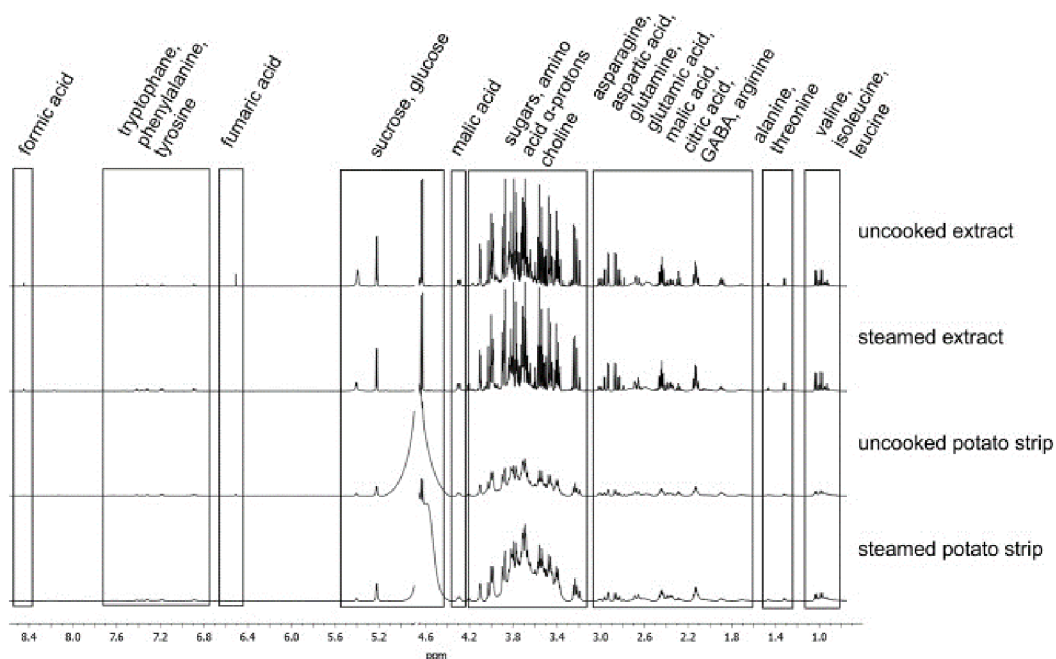
Ve studii do Prado Aparecido et al. (2022), porovnávali metabolický profil 7 hlíz a kořenů včetně *Solanum tuberosum*. Pro analýzu využili vodné extrakty hlíz a kořenů. Spektra  $^1\text{H}$  NMR nesla informace o 31 metabolitech. Pomocí PCA bylo vybráno 8 hlavních metabolitů, ve kterých byly mezi vzorky největší rozdíly: cholin,  $\gamma$ -aminobutyrát, glutamin, asparagin, isoleucin, fruktosa, glukosa a sacharosa. Obrázek č.3 zobrazuje identifikované metabolity. Nejintenzivnější spektrální signály byly připisovány sacharidům včetně fruktosy, galaktosy, glukosy, maltosy, sacharosy a trehalosy.



Obrázek 3:  $^1\text{H}$  NMR spektrum brambory včetně stanovených metabolitů, 1 – valin, 2 –  $\gamma$ -aminobutyrát, 3 – acetát, 4 – acetoacetát, 5 – alanin, 6 – allantoin, 7 – arginin, 8 – asparagin, 9 – citrát, 10 – cholin, 11 – fenylalanin, 12 – mravenčan, 13 – fruktosa, 14 – fumarát, 15 – galaktosa, 16 – glycin, 17 –  $\alpha$ -glukosa, 18 –  $\beta$ -glukosa 19 – glutamin, 20 – histidin, 21 – isoleucin, 22 – leucin, 23 – lysin, 24 – malát, 25 – maltosa, 26 – metanol, 27 – mevalonát, 28 – sacharosa, 29 – trehalosa, 30 – threonin, 31 – tryptofan, 32 – tyrosin (do Prado Aparecido et al., 2022)

Ve studii Aisala et al. (2016) analyzovali s pomocí NMR bramborové proužky, ve kterých měřili obsah sacharidů, organických kyselin a volných aminokyselin. Analýza probíhala jak z pevných vzorků (*in situ*), tak z extraktů. Pro analýzu v pevném skupenství byly použity vyříznuté válečky o průměru 4 mm a výšce cca 45 mm. Uvařené proužky brambor byly sušené vzduchem, a následně se rehydratovaly pomocí  $\text{D}_2\text{O}$ . Výsledkem byly sušené bramborové nudličky, které byly extrahovány a extrakty přeneseny do 5 mm NMR kyvety, do které se přidal  $\text{D}_2\text{O}$  tak, aby zcela pokryl proužky. Nakonec byla do NMR zkumavky na konkávní stranu bramborového proužku přidána vnitřní kapilární zkumavka obsahující TSP (sodná sůl kyseliny -(trimethylsilyl)-2,2',3,3'-tetradeuteropropionové, která se využívá jako jako vnitřní standard

pro referenci NMR spektra 0,0 ppm) v D<sub>2</sub>O. Lyofilizované vzorky určené k extrakci byly rozemlety na jemný prášek, který se následně extrahoval v D<sub>2</sub>O. Supernatant byl oddělen filtrací. Resuspendovaný supernatant byl přenesen do NMR zkumavky s vnitřní kapilárou obsahující TSP rozpuštěné v D<sub>2</sub>O. Studie identifikovala celkem 22 sloučenin v extraktech, zatímco v prouzcích brambor (*in situ*) pouze 18 sloučenin. Metoda *in situ* <sup>1</sup>H qNMR měla nižší citlivost, ale jinak vykazovala podobné rozdíly ve vzorcích brambor jako měření z extraktů. Bylo prokázáno, že metoda *in situ* pracuje se škrobovou maticí potravin, metoda tak může být aplikována na všechny druhy gelovitých potravinářských materiálů. Výsledná spektra zobrazují oblast 4,2–3,3 ppm, kde převládají převážně signály sacharidů a α-protonů aminokyselin. Tyto signály se však překrývaly se signály bramborového škrobu a amylopektinu. Pro měření NMR byla použita sekvence bez suprese vody, proto byla spektra poznamenána vysokým signálem vody (4,9 do 4,7 ppm) a ostatní píky zůstaly schované v šumu. Jinak byla spektra velmi podobná viz. obrázek č.4.

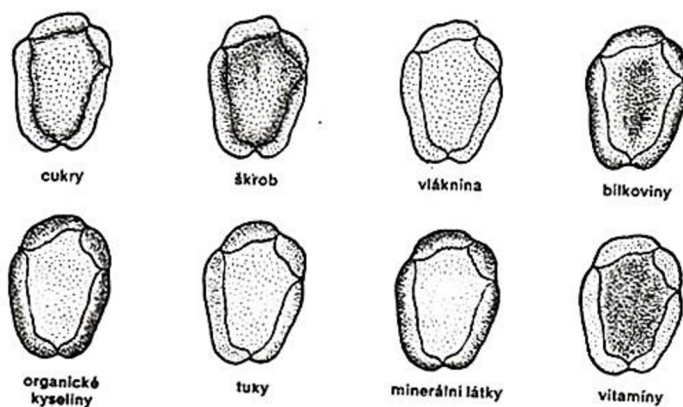


Obrázek 4: Rozdílná <sup>1</sup>H NMR spektra vzorků brambor (Aisala et al., 2016)

Studie Raletsena et al. (2022), byla zaměřena na metabolomiku brambor s pomocí <sup>1</sup>H NMR a LC-MS metod. Rostliny brambor byly zavlažovaných čtyřmi různými úpravami: kontrolní (voda z vodovodu), 1:1 (50 % odtoku z kyselých dolů–AMD), 3:1 (75 % AMD) a 100 % AMD. Metoda odhalila významnou variabilitu mezi metabolity ve vzorcích, zejména mezi primárními metabolity (cukrů), ale i v menší počtu u sekundárních metabolitů (fenolových derivátů). Studie tak dokázala, že <sup>1</sup>H profilování založené na NMR je rychlý a účinný způsob, jak zachytit metabolické variace otisků prstů mezi kultivary *Solanum tuberosum*

zavlažovanými různými koncentracemi AMD. Tato analytická metoda tak může být použita k rozlišení původu *Solanum tuberosum* nebo k identifikaci primárních a sekundárních metabolitů.

Ve většině studiích byly pro analýzu využito bramborových proužků, aby byly zastoupeny korunka, očko, pupek i slupka. Jednotlivé zastoupení základních nutričních látek v plátku brambory zobrazuje obrázek č.5.



*Obrázek 5: Schéma obsahu základních nutričních látek v bramborové hlíze, hustota teček představuje koncentraci sledované látky v průřezu hlízy (Prugar, 2008)*



## Metodika

Vzorky brambor byly rozdílně skladovány po dobu 5 měsíců. Byly porovnávány chemické změny, ke kterým docházelo v průběhu skladování u konvenčního skladování brambor (v chladné místnosti a při pokojové teplotě) oproti skladování ve speciálním komerčním produktu určeném ke skladování brambor, Zembagu, s řízeným uvolňováním karvonu. Vzorky byly odebírány s frekvencí jednou za 14 dní a byly podrobeny metabolomické analýze s pomocí  $^1\text{H}$  NMR, přesněji dle jednodimenzonálního experimentu s použitím pulzní sekvence „noesypr1d“. Data byla vyhodnocena pomocí pokročilých statistických metod jako linear mixed models a regresní analýza.

### 1.9 Vzorky

Pro měření byly použity brambory z pozemků ČZU odrůda Camelie (varný typ B), Brambory byly vyndány ze země a ponechány měsíc v klidu pro vydýchání. Po měsíci byly brambory probrány a pro diplomovou práci byly vybrány hlízy o přibližně stejné velikosti.

### 1.10 Chemikálie

- pufr  $\pm$  pH 7,4; 0,2 %  $\text{NaN}_3$ , 1,5 M fosfátový pufr, 5mM 3-(trimethylsilyl)propionová kyselina (TSP) (Sigma Aldrich; USA)

### 1.11 Přístroje

- Centrifuga Rotanta 460 R (Advance III HD 500 MHz NMR Spektrometr vybavený širokopásmovou sondou (5 mm BBFO SmartProbe); Buker BioSpin; Německo)
- Pipety 100-1000  $\mu\text{l}$  a 500-5000  $\mu\text{l}$  (VWR International s.r.o.; Česká republika)
- Centrifugační zkumavky (kónická, PP, 15 a 50 ml, plastové šroubovací víčko) (VWR International s.r.o.; Česká republika)
- Mikrozukavky EASY-LOCK<sup>®</sup> MICROTUBE (kónická, PP, 1,5 ml) (FL Medical s.r.l.; Itálie)
- IKA<sup>®</sup> VORTEX 3; IKA<sup>®</sup> (Werke GmbH & Co. KG; Německo)
- NMR kvety (5 mm, Norell ST500) (Norell Inc.; NC, USA)

## 1.12 Design experimentu

Brambory byly rozděleny do 3 skupin (brambory uskladněné volně, brambory v Zembagu (viz obrázek 6) a brambory v Zembagu s pytlíkem s přírodní silicí z českého kmínu proti klíčení). Každá skupina byla skladována při 2 teplotách (6 °C a 21–23 °C) viz tabulka č.5.

Tabulka 5: Seznam kontrolních skupin

Číslo skupiny	Název	Teplota skladování
1	brambory volně	6 °C
2	brambory v Zembagu	6 °C
3	brambory v Zembagu se silicí	6 °C
4	brambory volně	21–23 °C
5	brambory v Zembagu	21–23 °C
6	brambory v Zembagu se silicí	21–23 °C

Každá skupina byla každých 14 dní převážena a byl zaznamenáván úbytek hmotnosti. Taktéž byla zaznamenávána teplota skladování a vlhkost.



Obrázek 6: Popis Zembagu; předmětem intelektuálního vlastnictví, nelze uvést přesné složení jednotlivých vrstev

### 1.13 Příprava vzorku pro měření

Z každé z 6 kontrolních skupin se každých 14 dní odebraly 3 brambory (pro 3 opakování). Každá brambora se připravovala se zvlášť. Pro měření bylo použito 50 g hlízy bramboru  $\pm$  2 g. Brambory byly omyty vodou a zbaveny zbytků nečistot a hlíny. Následně byl použit příčný řez skrz bramboru, aby každý řez obsahoval korunku, očko, pupek i slupku. K plátku brambory se přidalo 100 ml deionizované vody (Millipore Direct-Q® 3, Merck Millipore, USA) a vše se rozmixovalo pomocí mlýnku po dobu 1 minuty. Z takto připravené směsi se odebralo 40 ml do centrifugační zkumavky a ty se daly na 10 minut do centrifugy na maximální otáčky 9 000 rpm. Pro lepší oddělení se centrifugace ještě jednou opakovala odebráním 15 ml do nové zkumavky.

### 1.14 Příprava vzorků pro analýzu NMR

Do mikrozkušavky bylo napipetováno 630  $\mu$ L vzorku. Následně bylo přidáno 70  $\mu$ L NMR pufru pH 7,4. NMR fosfátový pufr v  $D_2O$  byl připraven přidáním 1,5M  $KH_2PO_4$ , 0,2 %  $NaN_3$  a 5mM kyselinou trimethylsilylpropanovou (TSP), sloužící jako vnitřní standard pro referenci NMR spektra 0,0 ppm. Chemikálie na výrobu pufru byly z firmy Lach-Ner, CZ,  $NaN_3$  a TSP byly z firmy Merck, DE. Všechny zkumavky byly po dobu 10 sekund vortexovány. Výsledný objem 600  $\mu$ L vzorku byl kvantitativně pomocí pipety převeden do NMR kyvet (5 mm, high throughput, Norell, USA).

Výsledných 180 vzorků bylo analyzováno s pomocí  $^1H$  NMR na spektroskopu Bruker Avance III 500 MHz a BBFO sondou (Bruker, DE) s gradienty v ose z, s pomocí pulzní sekvence 1dnoesy. Výsledné signály volné precese byly transformovány Fourierovou transformací, fázovány a referencovány v programu Mestrenova v. 14 (Masterlab, ES). Jednotlivé regiony byly srovnány na změny v integrálech píků nebo jejich posuny a zaznamenány.

### 1.15 Parametry měření $^1H$ NMR spekter

Pro analýzu vzorků byl použit 1D experiment s použitím „noesypr1d” pulzní sekvence se supresí vody na spektrometru Bruker AVANCE III HD NMR pracující při 500,23 MHz při teplotě 298 K. Snímání spekter bylo realizováno s následujícími parametry: počet skenů 128, 32k datových bodů, šířka spektra 16 ppm, relaxační prodleva 1 s, směšovací čas 100 ms a akviziční čas 4,00 s. Ladění, zamykání, kalibrace  $90^\circ$  pulzu a shimming byly automaticky

optimalizovány dle nastavení spektrometru. Všechna spektra hlíz byla zpracována pomocí softwaru Topspin. Další manuální úprava a zpracování spekter byla provedena v software MestReNova. Identifikace látek proběhla v softwaru Chenomx NMR suite a statistické zpracování bylo provedeno v programech MetaboAnalyst 5.0 a Microsoft Excel 365. Integrály izolovaných signálů jednotlivých sloučenin byly převedeny na koncentrace mg/100 g dle regresních rovnic křivek získaných ze sub-setu 10 brambor kvantifikovaných v programu chenomx. Pro kvantifikaci byly určeny všechny signální oblasti, které bylo možné přiřadit známým protonům a které byly nad mezí kvantifikace. Všechny koncentrace byly vypočteny pro čerstvé vzorky.

### **1.16 Senzorická analýza**

Průběh sensorického hodnocení a vybavení místnosti odpovídalo definovaným podmínkám dle mezinárodních norem ISO 6658 (560050) a ISO 8589 (560036). Místnost byla vybavena 12 oddělenými hodnotitelskými kóji. Místnost byla osvětlena umělým osvětlením a teplota místnosti byla v rozmezí 20–23 °C. Pro sensorickou analýzu bylo vybráno 11 hodnotitelů (6 mužů a 5 žen) ve věku 21–28 let. Před vlastním sensorickým hodnocením byli hodnotitelé proškoleni a poučeni.

Pro analýzu bylo připraveno 6 vzorků hlíz brambor. Vzorky se lišily teplotou a podmínkami půlročního skladování. Z každé skupiny byly připraveny 4 hlízy o přibližně stejné velikosti. Hlízy byly uvařeny v páře po dobu 22 minut. Vzorky hlíz byly před podáním hodnotitelům randomizovány. Poté byly rozčtvrceny, a i se slupkou podávány za tepla hodnotitelům. Pro hodnocení byly použity stupnicové metody, přesněji grafické nestrukturované 10 cm dlouhá lineární stupnice v rozmezí od 0 (slabá) do 10 (silná), kde hodnotitelé zaznamenávali na úsečce intenzitu daného znaku. Pro sensorickou kvalifikaci byly hodnoceny následujících atributy: celková příjemnost barvy, intenzita žluté barvy, celková příjemnost konzistence, konzistence, celková příjemnost pachu, intenzita pachu, celková příjemnost chuti, intenzita chuti, a polykání. Výsledky jsou zobrazeny v tabulce č.10.

### **1.17 Statistické vyhodnocení**

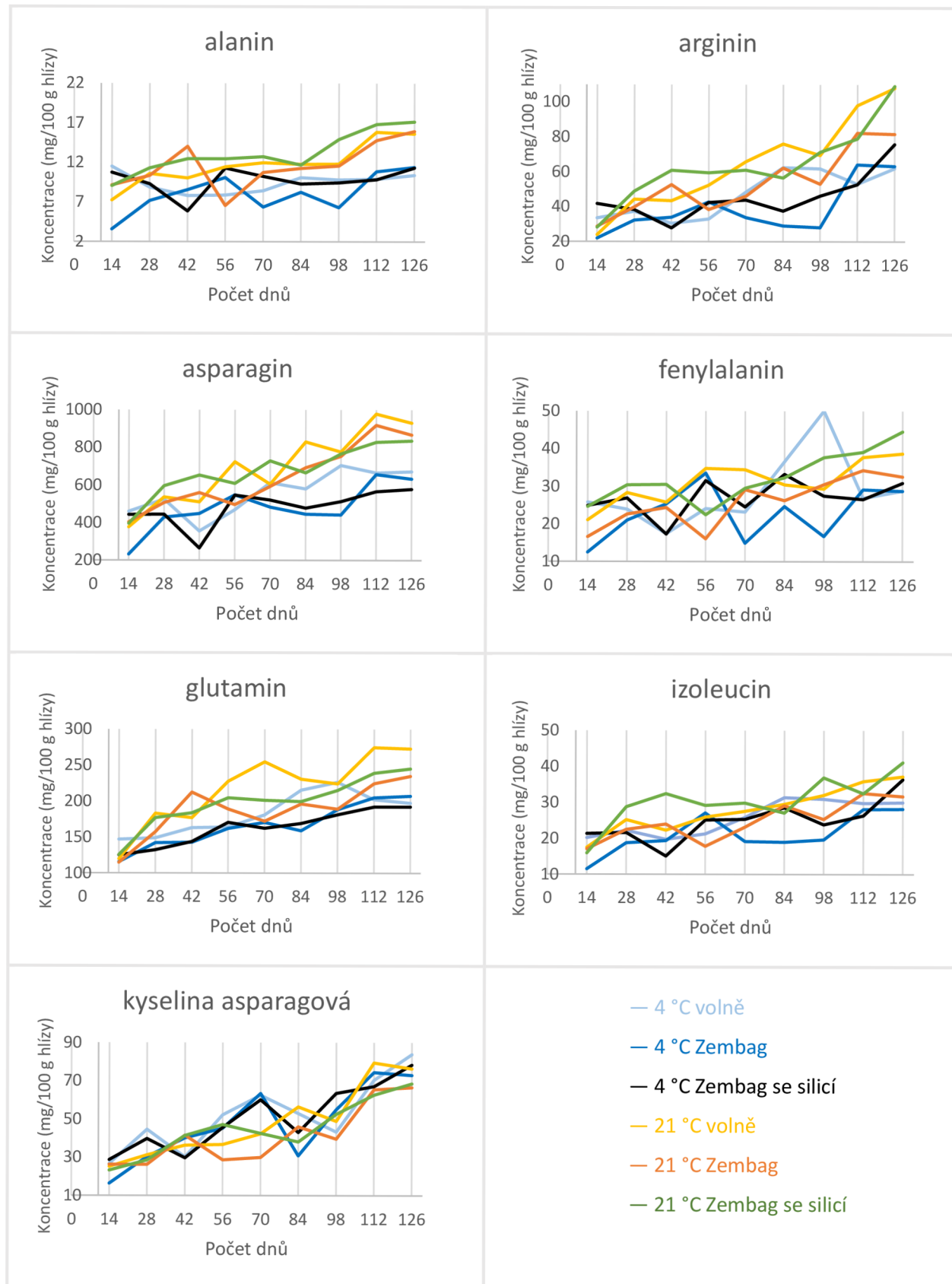
Výsledky získané ze sensorické analýzy byly statisticky vyhodnoceny na hladině významnosti  $\alpha=0.05$ . Pro hodnocení byla využita jednofaktorová ANOVA s následným posthoc testem, viz tabulka č. 11 a 12.

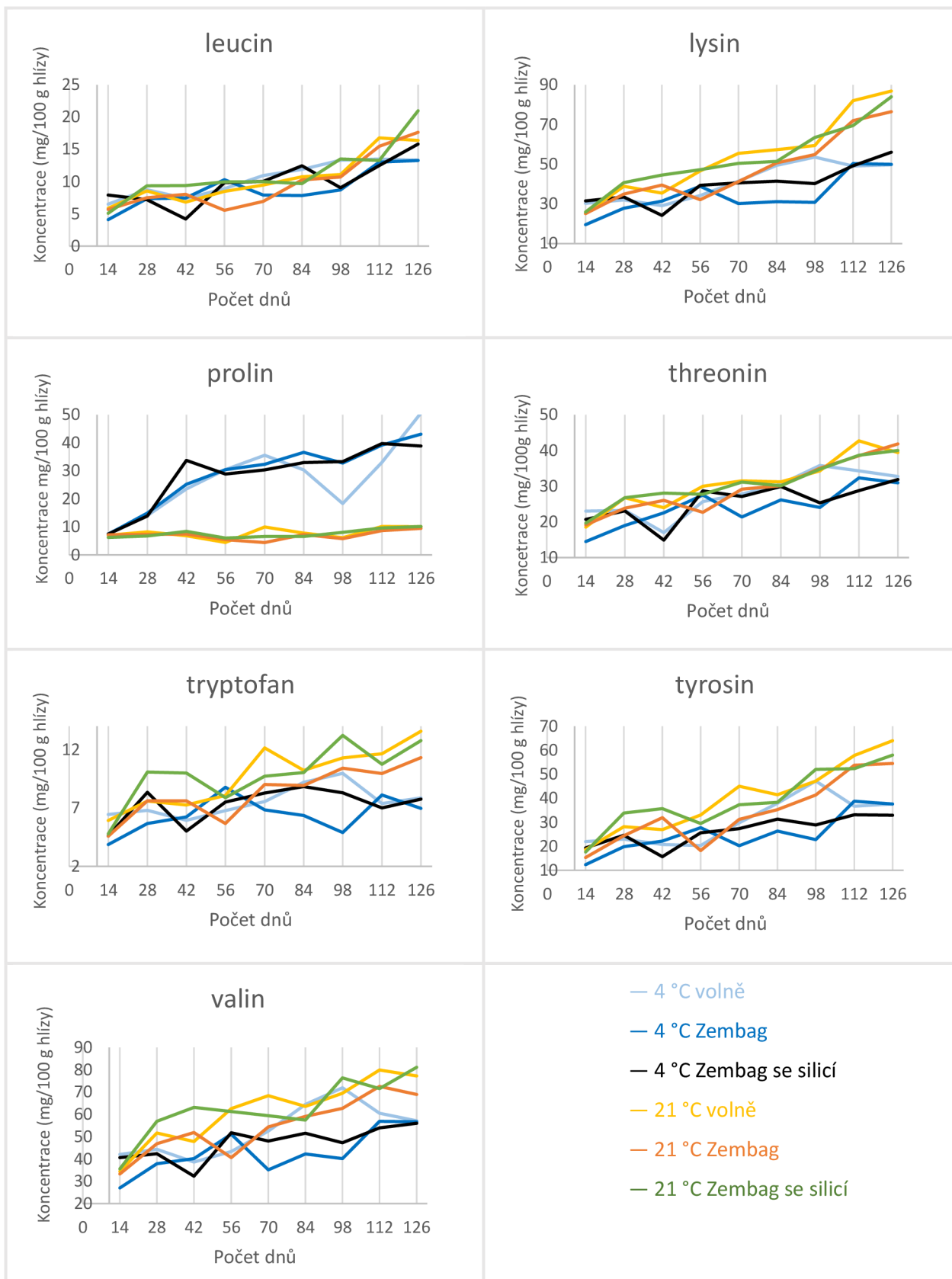
## Výsledky

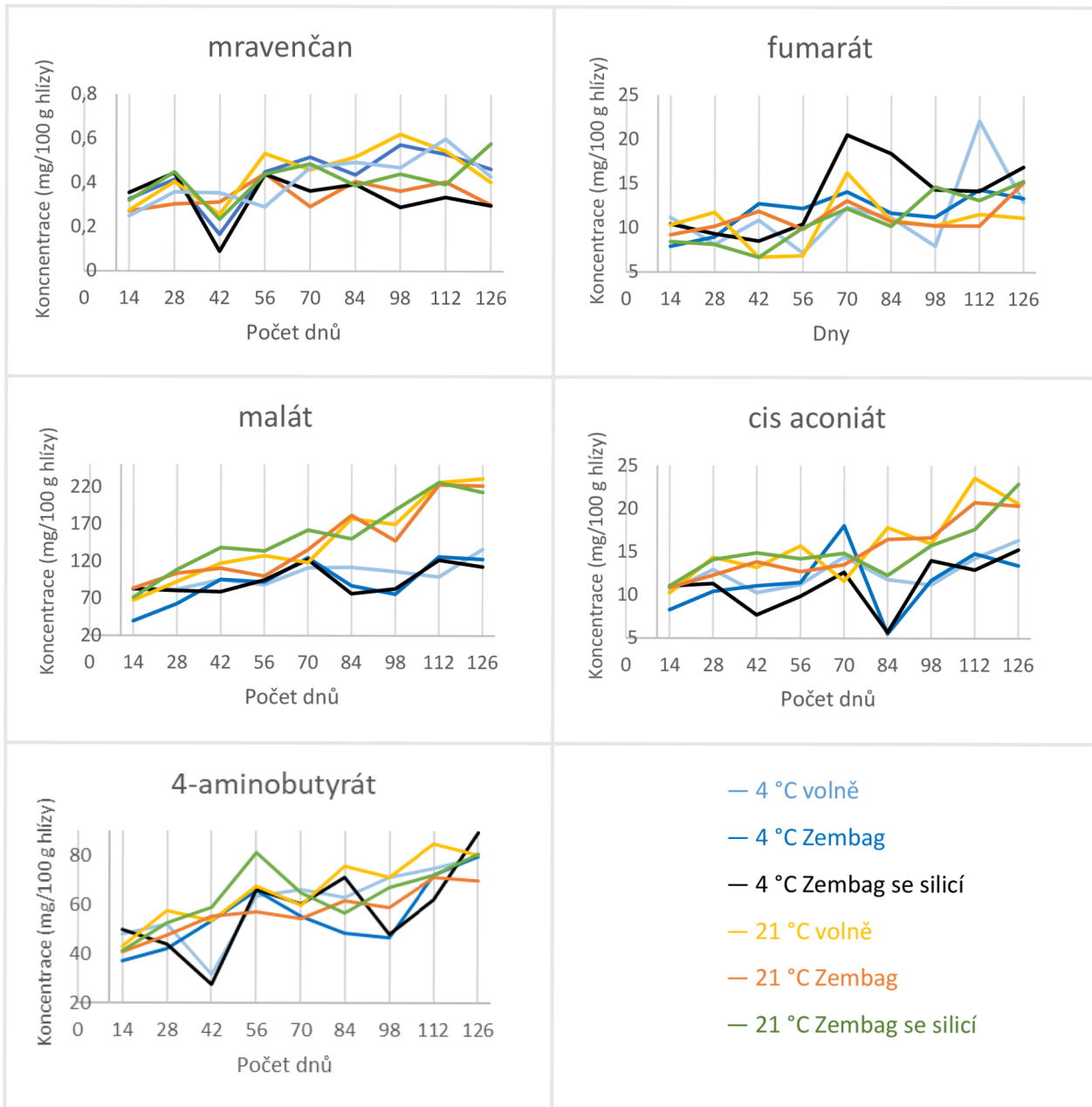
Tabulka 6: Souhrn látek detekovaných v hlízách brambor pomocí NMR

Název sloučeniny	Vzorec	Název sloučeniny	Vzorec
Alanin	$C_3H_7NO_2$	Isoleucin	$C_6H_{13}NO_2$
Alantoin	$C_4H_6N_4O_3$	Kyselina asparagová	$C_4H_7NO_4$
Arginin	$C_6H_{14}N_4O_2$	Leucin	$C_6H_{13}NO_2$
Asparagin	$C_4H_8N_2O_3$	Lysin	$C_6H_{14}N_2O_2$
Cis-aconitate	$C_6H_6O_6$	Malát	$C_4H_6O_5$
Ethanol	$C_2H_6O$	Methanol	$CH_4O$
Fenylalanin	$C_9H_{11}NO_2$	Prolin	$C_5H_9NO_2$
Formiát (mravenčan)	$CH_2O_2$	Sacharosa	$C_{12}H_{22}O_{11}$
Fruktosa	$C_6H_{12}O_6$	Threonin	$C_4H_9NO_3$
Fumarát	$C_4H_4O_4$	Tryptofan	$C_{11}H_{12}N_2O_2$
Glukosa	$C_6H_{12}O_6$	Tyrosin	$C_9H_{11}NO_3$
Glutamin	$C_5H_{10}N_2O_3$	Valin	$C_5H_{11}NO_2$
Cholin	$C_5H_{14}NO$	4-aminobutyrát	$C_4H_9NO_2$

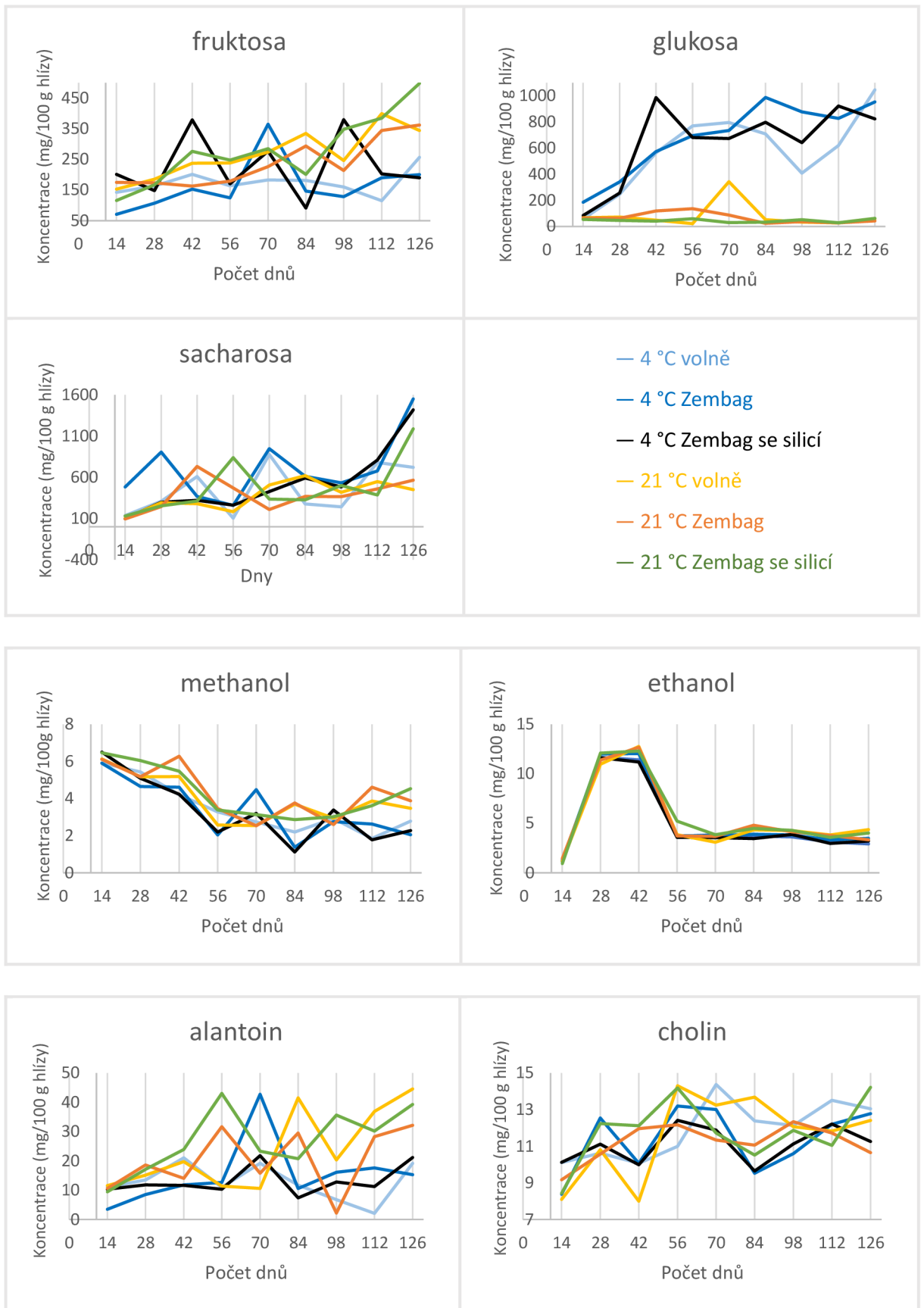
Obrázek 7: Změny koncentrací látek v závislosti na době skladování. Každá čára je průměrem 3 hodnot – opakování jednotlivých ošetření. Směrodatné odchylky nejsou ukázány z důvodu přehlednosti











Tabulka 7: Statistické vyhodnocení grafů; rozdíly skladování volně při 6 °C a ve 21 °C v Zembagu s kmínovou silicí. Červeně označený jsou látky významně odlišné ( $p < 0.05$ ), SD, směrodatná odchylka

Název látky	6 °C volně (průměrná koncentrace ± SD)	21 °C Zembag se silicí (průměrná koncentrace ± SD)	p-hodnota
fruktosa	256,93 ± 80,64	498,38 ± 201,78	0,12660
<b>glukosa</b>	1046,49 ± 155,63	62,19 ± 51,79	<b>0,00048</b>
sukrosa	719,67 ± 348,75	1187,90 ± 453,94	0,74233
ethanol	2,93 ± 0,37	4,02 ± 1,24	0,21755
methanol	2,78 ± 0,41	4,53 ± 1,03	0,05270
4-aminobutyrát	79,56 ± 9,06	80,59 ± 9,08	0,89606
<b>malát</b>	136,37 ± 5,23	213,08 ± 27,51	<b>0,00901</b>
cis aconiát	16,36 ± 3,81	22,89 ± 2,90	0,07763
cholin	13,04 ± 1,69	14,22 ± 2,35	0,52096
allantoin	19,20 ± 6,33	39,29 ± 12,30	0,08725
fumarát	12,96 ± 1,01	15,31 ± 4,54	0,43146
formát	0,46 ± 0,16	0,58 ± 0,26	0,55052
<b>prolin</b>	50,63 ± 3,15	10,13 ± 1,79	<b>0,00004</b>
kyselina asparagová	83,83 ± 10,75	68,53 ± 1,29	0,00000
<b>asparagin</b>	672,23 ± 44,29	835,92 ± 57,30	<b>0,00000</b>
fenylalanin	28,83 ± 4,99	44,57 ± 9,90	0,40549
izoleucin	30,00 ± 2,98	41,13 ± 12,39	<b>0,21068</b>
leucin	13,32 ± 2,04	20,99 ± 5,98	0,10342
<b>valin</b>	57,13 ± 1,14	81,11 ± 12,83	<b>0,03213</b>
<b>threonin</b>	32,74 ± 0,96	39,99 ± 2,58	<b>0,01034</b>
<b>alanin</b>	10,41 ± 0,99	17,15 ± 2,16	<b>0,00803</b>
<b>arginin</b>	61,90 ± 7,73	109,15 ± 20,24	<b>0,01949</b>
<b>lysin</b>	49,67 ± 5,66	84,04 ± 9,96	<b>0,00653</b>
<b>glutamin</b>	197,54 ± 3,72	245,21 ± 25,10	<b>0,03123</b>
<b>tyrosin</b>	37,60 ± 1,48	57,98 ± 7,57	<b>0,01023</b>
<b>tryptofan</b>	7,85 ± 0,31	12,77 ± 2,50	<b>0,02766</b>

Tabulka 8: Statistické vyhodnocení grafů; rozdíly skladování při 6 °C volně. Červeně označený jsou látky významně odlišné ( $p < 0.05$ ), SD, směrodatná odchylka

Název látky	na začátku skladování (průměrná koncentrace ± SD)	na konci skladování (průměrná koncentrace ± SD)	p-hodnota
fruktosa	25,77 ± 6,64	256,93 ± 80,64	0,164229
glukosa	42,05 ± 10,60	1046,49 ± 155,63	0,003388
sukrosa	11,50 ± 2,38	719,67 ± 348,75	0,110446
ethanol	1,32 ± 0,21	2,93 ± 0,37	0,012842
methanol	20,20 ± 6,27	2,78 ± 0,41	0,004068
4-aminobutyřát	10,11 ± 0,72	79,56 ± 9,06	0,027696
malát	11,09 ± 0,67	136,37 ± 5,23	0,001914
cis aconiát	26,66 ± 1,83	16,36 ± 3,81	0,127753
cholin	459,82 ± 124,05	13,04 ± 1,69	0,111827
allantoin	22,99 ± 4,23	19,20 ± 6,33	0,185336
fumarát	33,50 ± 8,29	12,96 ± 1,01	0,239333
formát	6,446 ± 0,75	0,46 ± 0,16	0,377509
prolin	6,50 ± 2,68	50,63 ± 3,15	0,000354
kys. asparagová	0,33 ± 0,10	83,83 ± 10,75	0,005783
asparagin	7,59 ± 0,10	672,23 ± 44,29	0,062497
fenylalanin	146,83 ± 37,02	28,83 ± 4,99	0,591676
izoleucin	142,60 ± 31,70	30,00 ± 2,98	0,090891
leucin	57,42 ± 0,41	13,32 ± 2,04	0,046328
valin	134,89 ± 31,61	57,13 ± 1,14	0,075853
threonin	5,92 ± 0,46	32,74 ± 0,96	0,025338
alanin	48,30 ± 7,33	10,41 ± 0,99	0,507739
arginin	83,50 ± 6,24	61,90 ± 7,73	0,029370
lysin	10,40 ± 0,37	49,67 ± 5,66	0,024631
glutamin	11,20 ± 1,78	197,54 ± 3,72	0,082265
tyrosin	30,34 ± 3,49	37,60 ± 1,48	0,019797
tryptofan	22,02 ± 6,14	7,85 ± 0,31	0,054571

Tabulka 9: Statistické vyhodnocení grafů; rozdíly skladování při 21 °C v Zembagu se silicí. Červeně označený jsou látky významně odlišné ( $p < 0.05$ ), SD, směrodatná odchylka

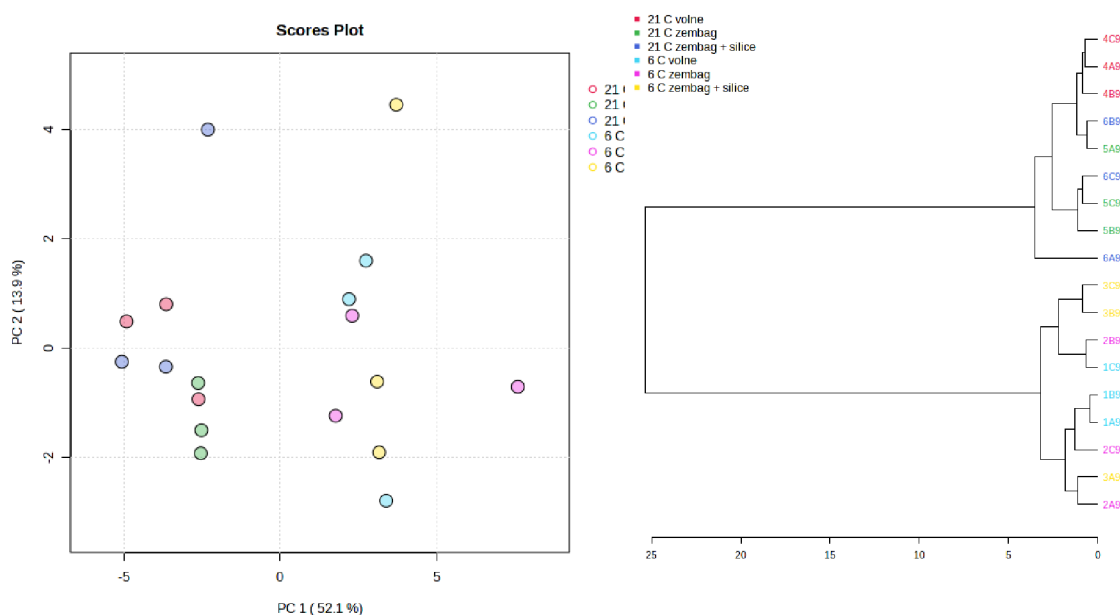
Název látky	na začátku skladování (průměrná koncentrace ± SD)	na konci skladování (průměrná koncentrace ± SD)	p-hodnota
fruktosa	115,94 ± 6,45	498,38 ± 201,78	0,030469
glukosa	54,34 ± 10,67	62,19 ± 51,79	0,809868
sukrosa	130,74 ± 43,83	1187,90 ± 453,94	0,006166
ethanol	0,93 ± 0,21	4,02 ± 1,24	0,013066
methanol	6,46 ± 0,49	4,53 ± 1,03	0,043197
4-aminobutyrát	41,14 ± 8,93	80,59 ± 9,08	0,005822
malát	71,38 ± 10,52	213,08 ± 27,51	0,001134
cis aconiát	11,04 ± 1,54	22,89 ± 2,90	0,003342
cholin	8,43 ± 1,13	14,22 ± 2,35	0,018496
allantoin	9,44 ± 1,58	39,29 ± 12,30	0,020120
fumarát	8,44 ± 2,72	15,31 ± 4,54	0,088045
formát	0,32 ± 0,09	0,58 ± 0,26	0,174941
prolin	6,22 ± 1,36	10,13 ± 1,79	0,039331
kys. asparagová	26,42 ± 5,72	68,53 ± 1,29	0,000074
asparagin	395,77 ± 58,90	835,92 ± 57,30	0,000269
fenylalanin	24,60 ± 3,64	44,57 ± 9,90	0,030551
izoleucin	15,91 ± 2,56	41,13 ± 12,39	0,026010
leucin	5,09 ± 0,90	20,99 ± 5,98	0,010409
valin	35,55 ± 5,14	81,11 ± 12,83	0,004655
threonin	19,64 ± 3,82	39,99 ± 2,58	0,001574
alanin	9,05 ± 1,48	17,15 ± 2,16	0,005877
arginin	33,01 ± 3,51	109,15 ± 20,24	0,015324
lysin	25,91 ± 5,14	84,04 ± 9,96	0,000849
glutamin	125,42 ± 18,14	245,21 ± 25,10	0,002581
tyrosin	17,63 ± 3,50	57,98 ± 7,57	0,001112
tryptofan	4,78 ± 0,71	12,77 ± 2,50	0,005980



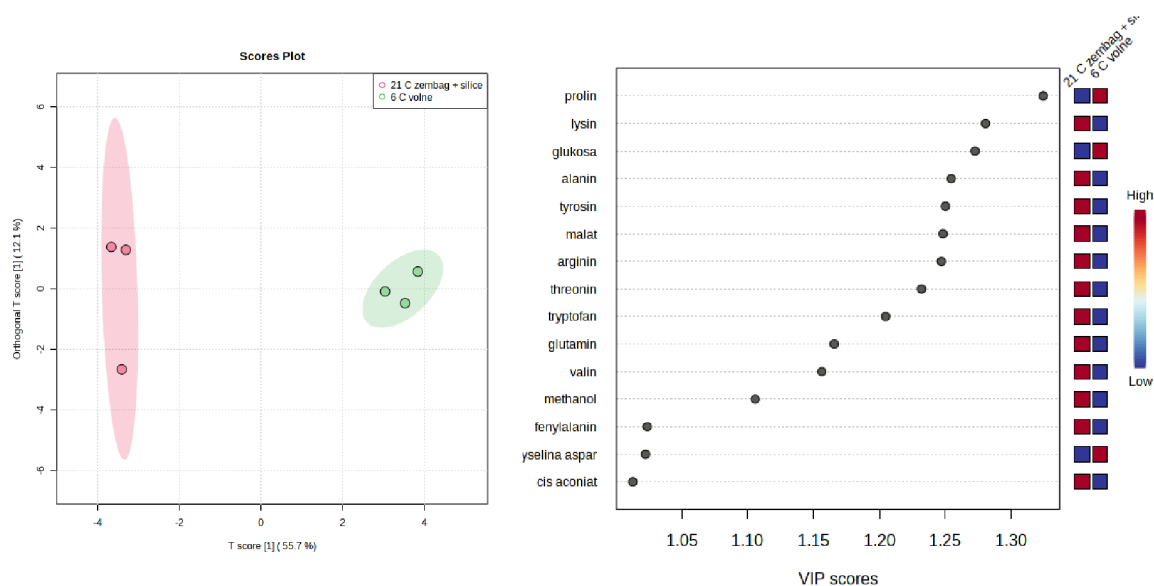
Obrázek 8: Vývoj klíčení během skladování (fotky po 14 dnech): U prvních 3 skupin (skladované při teplotě 4 °C a 99% relativní vlhkosti) nebylo pozorované žádné klíčení ani v jedné skupině. Všechny hlízy měly pevnou strukturu, nedocházelo k vysokému odparu vody; Při pokojové teplotě (skladované při teplotě 21-23 °C a 51-57% relativní vlhkosti) začaly hlízy, které byly skladovány volně, klíčit již po 28 dnech skladování. Taktéž tomu bylo i u skupiny, která byla skladována pouze v samotném Zembagu. Obdobně u obou skupin byl pozorován výrazný úbytek hmotnosti způsobený odpařováním vody. Hlízy, které při pokojové teplotě nenaklíčily, byly skladovány v Zembagu s kmínovou silicí. Odpar vody byl viditelný, ale menší než v předešlých 2 skupinách

## 1.18 Statistické vyhodnocení NMR spekter

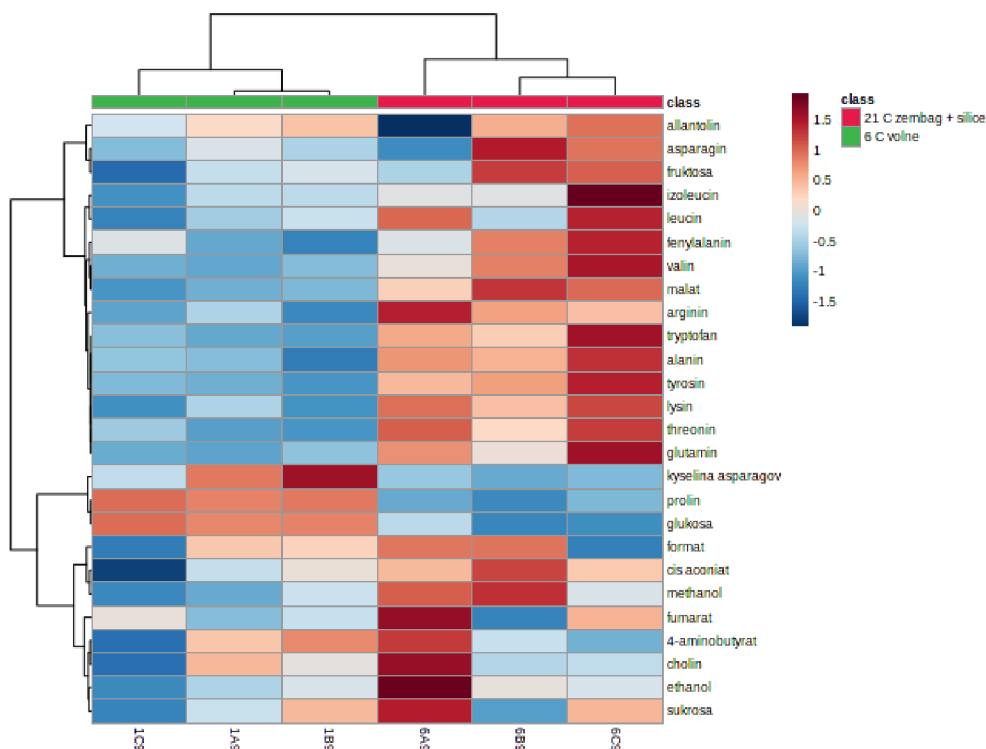
Získaná tabulka metabolitů byla vyhodnocena metodami vícerozměrné statistiky, PCA a OPLS-DA analýzou. PCA analýza dvou hlavních komponent PC1 a PC2 viz obrázek č.9a. byla schopna rozdělit vzorky do dvou nezávislých klastrů podle použité teploty skladování. Hlavní komponenta PC1 se na variabilitě dat podílela z 52,1 %, PC2 z 13,9 %. Osa PC1 však neklastrovala vzorky dle podmínek skladování (Zembag, Zembag se silicí a volně). Obrázek č.9b zobrazuje dendrogram, kde byly vzorky rozděleny taktéž do 2 klastrů, kdy v prvním klastru se oddělily zvlášť vzorky, které byly skladovány volně při 21 °. V ostatních vzorcích rozdíl nebyl. Obrázek č.10 znázorňuje rozdíly mezi vzorky, které byly skladovány volně při 6 °C a v Zembagu se silicí při 21 °C. OPLS-DA analýza byla provedena křížovou validací modelu při 20 permutacích,  $Q^2=0.891$ ,  $R^2Y=0.995$ . VIP score ukazuje prolin jako nejsignifikantnější látku. Červené čtverce znázorňují vysoké koncentrace dané látky, zatímco modré čtverce značí koncentrace nízké. Pro podrobnější zobrazení byla zvolena heatmapa, viz obrázek č.11.



Obrázek 9: a) PCA analýza spekter 126 den měření, PC1 52,1 % variace, PC2 13,9 % variace; b) Dendrogram, pearson, ward clustering algorithm



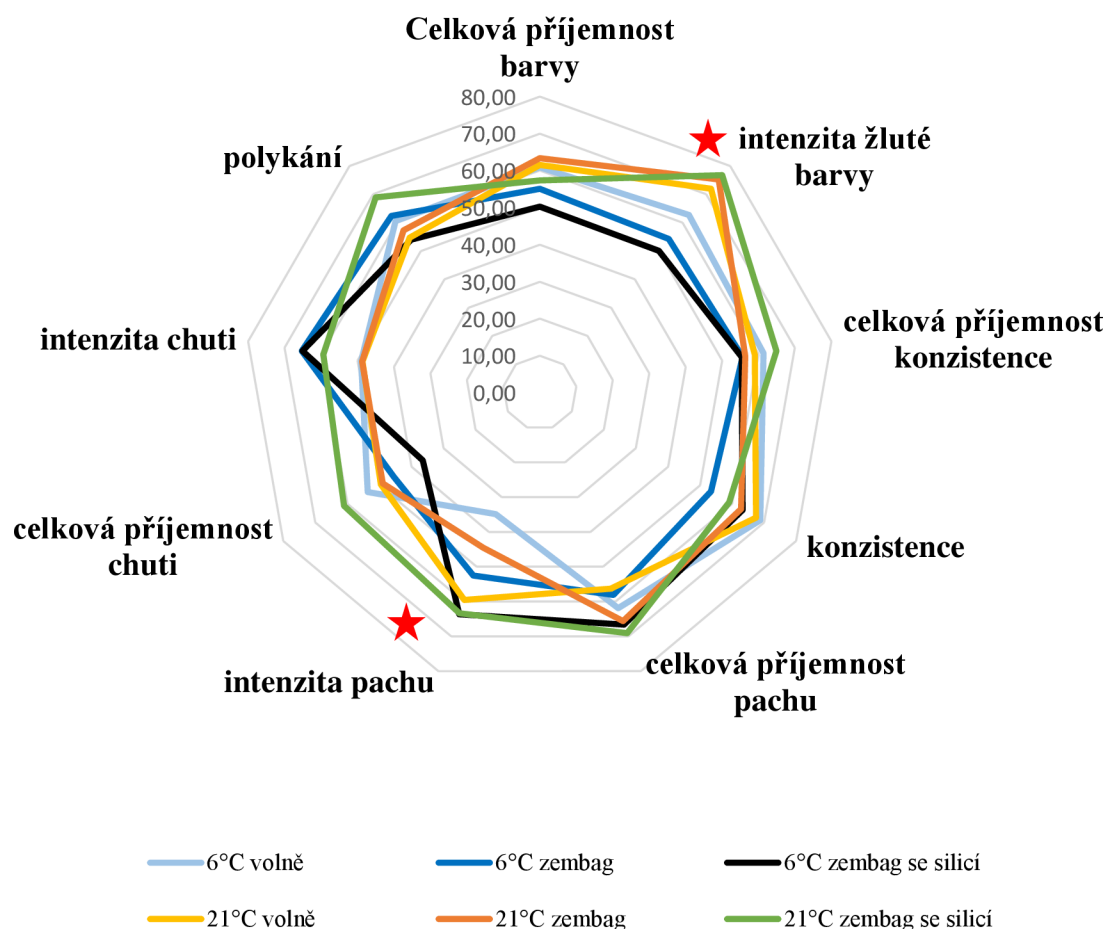
Obrázek 10: a) OPLS-DA analýza hlíz skladovaných volně při 6 °C a v Zembagu se silicí při 21 °C; křížová validace modelu při 20 permutacích:  $Q_2=0.891$ ,  $R_2Y=0.995$  b) VIP score významných látek



Obrázek 11: Heatmap k OPLS-DA analýze; pearson, ward clustering algorithm

Srovnání vybraných látek po konci skladování (skladování volně při 6 °C – zelený sloupec, v Zembagu se silicí při 21 °C – červený sloupec) ukazuje jasné rozdíly v koncentracích daných látek po 126 dnech skladování. Pro skladování v nízkých teplotách jsou typické vysoké koncentrace prolinu, glukosy a kyseliny asparagové. Naopak ve vyšších teplotách v Zembagu se silicí převládají vyšší koncentrace aminokyselin, fruktosy a sukrosy, *cis*-akoniátu, methanolu.

## 1.19 Organoleptické hodnocení brambor



Obrázek 12: Intenzita hodnocených znaků (průměrné hodnoty 12 hodnotitelů); hvězdička označuje statisticky významné rozdíly na hladině významnosti  $\alpha=0.05$

Výsledky sensorického hodnocení ukázaly vysokou podobnost mezi vzorky. Na obrázku č.12 je pavučinový graf, zobrazující průměrné hodnoty intenzit daných znaků od 12 hodnotitelů. Většina znaků nebyla statisticky významná. Statisticky významné na hladině významnosti  $\alpha=0.05$  se prokázala pouze intenzita pachu ( $p = 0,011702$ ) a intenzita žluté barvy ( $p = 0,004158$ ), viz tabulka 12. Pro post-hoc porovnávání byla použita Tukeyova mnohonásobná metoda. Testovány byly následující hypotéz:

H0: mezi jednotlivými vzorky brambor neexistuje statisticky významný rozdíl

H1: mezi jednotlivými vzorky brambor existuje statisticky významný rozdíl.

V tabulce č. 10 vidíme statisticky významné rozdíly v intenzitě pachu mezi hlízami skladovanými při 6 °C volně a hlízami skladovanými v Zembagu se silicí při 6 i 21 °C. Tabulka



č. 11 zobrazuje statisticky významné rozdíly v intenzitě žluté barvy mezi hlízami skladovanými při 6 °C v Zembagu se silicí a hlízami skladovanými pře 21 °C v samotném Zembagu a v Zembagu se silicí.

*Tabulka 10: Intenzita pachu; Tukeyův HSD test; Označené rozdíly (červeně) jsou významné na hlad.  $p < 0,05$*

	1 M=34,9	2 M=63,6	3 M=52,5	4 M=63,4	5 M=44,5	6 M=59,5
6 °C volně		0,027103	0,382063	0,029392	0,892742	0,084967
6 °C Zembag se silicí	0,027103		0,821848	1,000000	0,295022	0,997537
6 °C Zembag	0,382063	0,821848		0,836576	0,948669	0,970830
21 °C Zembag se silicí	0,029392	1,000000	0,836576		0,310389	0,998267
21 °C Zembag	0,892742	0,295022	0,948669	0,310389		0,563183
21 °C volně	0,084967	0,997537	0,970830	0,998267	0,563183	

*Tabulka 11: Intenzita žluté barvy; Tukeyův HSD test; Označené rozdíly (červeně) jsou významné na hlad.  $P < 0,05$*

	1 M=62,7	2 M=50,1	3 M=54,2	4 M=76,7	5 M=75,2	6 M=72,0
6 °C volně		0,626993	0,896785	0,518441	0,641337	0,860305
6 °C Zembag se silicí	0,626993		0,995856	0,019981	0,033517	0,088988
6 °C Zembag	0,896785	0,995856		0,073991	0,114716	0,252734
21 °C Zembag se silicí	0,518441	0,019981	0,073991		0,999966	0,991793
21 °C Zembag	0,641337	0,033517	0,114716	0,999966		0,998783
21 °C volně	0,860305	0,088988	0,252734	0,991793	0,998783	

Tabulka 12: % intenzita znaku hlíz vařených v páře se směrodatnými odchylkami

Vzorek	celková		celková		celková		celková		polykání
	příjemnost barvy	intenzita žluté barvy	příjemnost konzistence	konzistence	příjemnost pachu	intenzita pachu	příjemnost chuti	intenzita chuti	
<b>21 °C volně</b>	61,55 ± 22,72	72,00 ± 19,79	59,00 ± 24,91	67,45 ± 12,56	56,27 ± 23,79	59,55 ± 17,99	49,55 ± 18,18	48,64 ± 21,86	54,73 ± 20,89
<b>21 °C Zembag</b>	63,36 ± 21,13	75,18 ± 19,52	56,36 ± 27,13	62,82 ± 18,43	65,64 ± 17,03	44,55 ± 18,56	49,00 ± 26,28	48,72 ± 18,66	57,27 ± 18,50
<b>21 °C Zembag se silicí</b>	57,36 ± 19,38	76,73 ± 16,14	64,91 ± 18,97	59,09 ± 20,83	69,09 ± 17,53	63,36 ± 19,85	61,00 ± 24,32	59,36 ± 16,85	68,91 ± 22,83
<b>6 °C Zembag</b>	55,09 ± 17,20	54,18 ± 18,51	55,64 ± 24,25	53,36 ± 22,34	58,10 ± 15,73	52,55 ± 13,78	45,45 ± 25,70	65,27 ± 9,80	62,36 ± 15,81
<b>6 °C Zembag se silicí</b>	50,27 ± 21,44	50,09 ± 22,33	55,36 ± 15,92	63,27 ± 25,01	66,64 ± 18,05	63,64 ± 28,81	36,55 ± 22,42	65,09 ± 23,05	54,00 ± 11,10
<b>6 °C volně</b>	60,91 ± 24,57	62,73 ± 16,99	61,36 ± 20,82	68,82 ± 22,04	61,91 ± 23,88	34,91 ± 24,77	53,64 ± 27,69	49,00 ± 24,12	60,55 ± 29,17
<b>p-hodnota</b>	0,715834	<b>0,004158</b>	0,901302	0,533716	0,61522	<b>0,011702</b>	0,301049	0,105476	0,544173

## Diskuse

Cílem této diplomové práce bylo porovnání chemických změn, ke kterým došlo v průběhu skladování u konvenčního skladování brambor (v chladné místnosti a při pokojové teplotě) oproti skladování ve speciálním komerčním produktu určeném ke skladování brambor, Zembagu, s řízeným uvolňováním karvonu. Z obrázku č.8 jasně vyplývá, že použití kmínové silice zabránilo klíčení po dobu 5 měsíců v pokojové teplotě i přes relativní vlhkost, která se pohybovala od 52–57 %, což není pro skladování brambor ideální. Tímto byla splněna hlavní hypotéza, že skladování brambor v Zembagu s řízeným uvolňováním karvonu zabraňuje jejich klíčení a zajišťuje dlouhodobé skladování i při pokojové teplotě.

Spektra  $^1\text{H}$  NMR identifikovala celkem 26 metabolitů. Studie do Prado Aparecido et al. (2022), identifikovala 31 metabolitů, pro analýzu však využili vodné extrakty hlíz a kořenů brambor. Z uvedených sacharidů v této studii se povedlo identifikovat sacharosu, glukosu a fruktosu. Galaktosa, maltosa i atrehalosa nemohla být identifikována pro nedostatečnou průkaznost. Sacharidy byly nejvíce zastoupeny v části spektra 3,0–4,2 ppm. Tabulka č.6 zobrazuje identifikované metabolity. Nejintenzivnější spektrální signály byly připisovány sacharidům. Významné signály měly také aminokyseliny v oblastech 0,92–1,72 ppm. Zejména leucin 0,96–0,97 ppm, izoleucin 0,92–0,94 ppm, valin 0,98–1,00 ppm, nebo prolin 3,32–3,34 ppm.

Nejnovější poznatky pro využití přírodních silic u skladování brambor pochází z roku 2022. Studie zahrnovala čtyři zcela randomizované designové experimenty s extrakty sedmi léčivých rostlin (*Zataria multiflora* L.), máty peprné (*Mentha piperita* L.), fenyklu (*Foeniculum vulgare* L.), saturejky letní (*Satureja hortensis* L.), hřebíčku (*Eugenia caryophyllum* L.), levandule (*Lavandula officinalis* L.) a černého kmínu (*Bunium persicum* L.), při čtyřech koncentracích (0, 150, 300 a 450  $\mu\text{l/l}$ ) a třech opakováních. Hlízy byly ošetřeny výpary esenciálních olejů a poté skladovány po dobu 6 měsíců při teplotě 8 °C ve tmě. Esenciální oleje z máty peprné a fenyklu v koncentraci 300  $\mu\text{l/l}$  zcela inhibovaly klíčení hlíz. Zatímco hlízy ošetřené esenciálním olejem z černého kmínu měly nejvyšší procento (63,7 %) klíčení ve 140 den skladování. Od 160 dne skladování měly hlízy ošetřené černým kmínem nejvyšší klíčivost ze všech ošetření esenciálními oleji (Aroiee et al., 2022). V mé diplomové práci byly hlízy skladované pouze 140 dní (5 měsíců). Uskladnění v lednici při teplotě 6 °C a relativní vlhkosti 99 % umožnilo dlouhodobé skladování bez výrazných fyziologických změn hlíz, ani jedna ze 3 skupin nezačala klíčit. Hlízy vykazovaly pevnou strukturu bez výrazné ztráty hmotnosti způsobenou odparem vody. Při pokojové teplotě (21-23 °C; 51-57% relativní vlhkost) hlízy,

kteře byly uskladněny v Zembagu s řízeným uvolňováním karvonu, zůstaly nenaklíčené. Zbylé hlízy skladované volně i v samotném Zembagu začaly klíčit 28. den. V místnosti, kde byly hlízy uskladněny, nebyla dodržena dostatečná vlhkost potřebná pro správné skladování hlíz brambor.

Skladováním hlíz v chladu dochází pomocí glukoamylas ke štěpení glukosových zbytků z oligosacharidů, uvolněná molekula glukosy slouží jako zdroj energie. (Mani & Hannachi, 2015). Provedením NMR analýzy byla získána NMR spektra jednotlivých skupin hlíz brambor. Tato data byla mezi sebou následně porovnávána a převedena na hmotnost látek v mg/100 g hlízy díky integrálům přepočítaných pomocí regresní přímky. Na obrázku č.7 jsou zobrazeny jednotlivé změny koncentrací identifikovaných látek v průběhu skladování při daných podmínkách. Zajímavé jsou především rozdíly v množství glukosy a prolinu mezi vzorky brambor skladovaných v chladu a při pokojové teplotě. Zatímco prolin vykazoval 4x vyšší koncentrace při skladování v 6 °C než při pokojové teplotě, koncentrace glukosy při 6 °C byla až 8x vyšší. Aminokyseliny měly všechny téměř obdobné chování. Jejich obsah se postupem skladování mírně zvyšoval. Vyšší koncentrace byly zaznamenány u skladování při pokojové teplotě, naopak nižší koncentrace aminokyselin měly hlízy skladované v lednici. Z většiny grafů lze konstatovat, že využití Zembagu s kmínovou silicí mělo za následek průměrně nejmenší změny koncentrací daných látek, a to zejména při skladování v lednici při 6 °C. Při uskladnění ve 21 °C je tento fakt již diskutabilní. Uskladnění při pokojové teplotě v Zembagu bylo velmi podobné volně skladovaným bramborám téměř ve všech metabolitech. Rozdíly mezi volně skladovanými hlízami a hlízami v Zembagu byly znatelné u uskladnění v lednici. Jak by se hlízy chovaly po delším uskladnění není jisté, proto je určité na místě další zkoumání, které by zahrnovalo delší dobu skladování, nebo i zkoumání nových možných kombinací silic pro zvýšení účinku inhibice klíčení.

Sladká chuť brambor je ovlivněna především glukosou, fruktosou, glycinem a serinem. Kyselost závisí nejvíce na obsahu kyseliny šťavelové, askorbové a citronové. Chuť umami koreluje s obsahem kyseliny asparagové (Drapal et al., 2023). Přestože koncentrace glukosy se výrazně lišila mezi vzorky skladovanými v lednici a při pokojové teplotě, nebyly prokázány rozdíly v chuti mezi jednotlivými vzorky. Mezi vzorky v obsahu kyseliny asparagové nebyly výrazné rozdíly, proto lze lehce vyvodit, že ani chuť umami nepomohla k průkazným rozdílům mezi danými vzorky. Statisticky významné rozdíly byly prokázány v intenzitě žluté barvy mezi hlízami skladovanými při 6 °C v Zembagu se silicí a hlízami skladovanými při 21 °C v samotném Zembagu a v Zembagu se silicí, viz tabulka č.12. Studie Alenazi et al. (2019). uvádí, že zvýšené hladiny antokyanů v hlízách skladovaných za studena mohou být spojeny s

přeměnou škrobu na cukr (tzv. slazení), ke kterému dochází u uskladnění v chladných teplotách. Pro analýzu byly použity teploty 4,4 a 10 °C, kdy hlízy skladované při chladnější teplotě měly vyšší hladiny antokyanů než hlízy skladované při teplotách vyšších. Burgos et al. (2012) uvádí, že tepelná úprava brambor vede k redukci violaxanthinu a antheraxanthinu, zbylé karotenoidy nejsou ovlivněny (lutein a zeaxantin). Důležité je také zmínit, že hlavní pigmenty violaxantin a antheraxantin, jsou citlivé na kyselé prostředí (Ahmad et al., 2013). Rozdíly mohly být i v koncentraci luteinu. Zatímco ve vysokých koncentracích je lutein oranžovo–červený, v nízkých koncentracích má žluté zbarvení (Burgos et al., 2012). Studie Ahmad et al. (2013) měřila úbytek luteinu v hlízách brambor při různých teplotách skladování, celkový úbytek luteinu při použitých teplotách 10 i 20 °C však nebyl téměř pozorován. Koncentrace luteinu ve žlutých vařených bramborách se pohybuje od 73–253 µg/100 g, koncentrace zeaxantinu 0–1048 µg/100 g (Burgos et al., 2012).

Statisticky významné rozdíly byly i v intenzitě pachu vařených brambor. Pozorovatelný rozdíl byl mezi hlízami skladovanými volně při 6 °C a hlízami skladovanými v Zembagu s kmínovou silicí při 6 i 21 °C, viz tabulka č. 11. Kmínová silice byla hodnotiteli silně vnímána. Co se týká celkové příjemnosti chuti, zde nejhůře dopadly brambory skladované v Zembagu se silicí při 6 °C. Hodnotitelé popisovali hlízy jako velmi hořké. Naopak hlízy brambor skladované v Zembagu se silicí při pokojové teplotě byly hodnoceny jako nejvíce chuťově příjemné.

## Závěr

V teoretické části diplomové práce bylo popsáno chemické složení hlíz brambor, vlivy působící na brambory po sklizni, správné skladování a význam karvonu při skladování brambor. Byl shrnut princip NMR spektroskopie, použití a následné využití v analýzách zaměřených na skladování brambor.

Praktická část diplomové práce byla zaměřena na hledání rozdílů mezi jednotlivými skupinami brambor, které byly po dobu 5 měsíců odlišně uskladněny. V závěrečné fázi byla provedena senzorická analýza vařených brambor v páře po 5 měsících uskladnění.

Senzorická analýza nevykazovala přílišnou odlišnost mezi jednotlivými vzorky. Pro senzorickou kvalifikaci byly hodnoceny následujících atributy: celková příjemnost barvy, intenzita žluté barvy, celková příjemnost konzistence, konzistence, celková příjemnost pachu, intenzita pachu, celková příjemnost chuti, intenzita chuti, a polykání. Statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti  $\alpha=0.05$  byl prokázán pouze u intenzity pachu a intenzity žluté barvy. V celkové příjemnosti chuti byly nejhůře vyhodnoceny hlízy brambor skladované v Zembagu se silicí při 6 °C, kdy několik hodnotitelů zdůraznilo výraznou hořkou chuť.

Statistické vyhodnocení NMR spekter ukazuje jasné rozdíly v koncentracích daných metabolitů. Největší rozdíly koncentrací byly způsobené použitou teplotou pro skladování. Největší rozdíly v průběhu skladování byly zaznamenány v množství glukosy a prolinu. Po 126 dnech skladování byly koncentrace prolinu v hlízách skladovaných při 6 °C 4x vyšší a koncentrace glukosy dokonce 8x vyšší než při skladování při pokojové teplotě. Obecně lze shrnout, že postupem skladování měly hlízy skladované v při pokojové teplotě (21 °C) vyšší koncentrace téměř všech aminokyselin, s výjimkou prolinu a kyseliny asparagové. Z většiny grafů lze konstatovat, že využití Zembagu s kmínovou silicí mělo za následek průměrně nejmenší změny koncentrací daných látek, a to zejména při skladování v lednici při 6 °C. Při skladování při pokojové teplotě je tento fakt již diskutabilní.

NMR spektroskopická analýza se jeví jako vhodná metoda pro detekci nízkomolekulárních látek v hlíze bramboru, zejména aminokyselin. Tato studie dává základy pro navazující výzkum, který by se mohl zaměřovat na identifikaci dalších chemických látek, nebo na využití kombinující silice, zejména z máty peprné a fenyklu, které se v nynějších studiích jeví jako 100 % účinné v inhibici klíčení.

## Literatura

Afifi AE-MMR, El-Beltagi HS, Aly AA, El-Ansary AE. 2012. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation as biomarker for potato tuber stored by two essential oils from Caraway and Clove and its main component carvone and eugenol. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2**(2):S772–S780.

Aisala H, Sinkkonen J, Kalpio M, Sandell M, This H, Hopia A. 2016. *In situ* quantitative <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy discriminates between raw and steam cooked potato strips based on their metabolites. *Talanta* **161**:245–252.

Airaodion AI, Ogbuagu U, Oloruntoba AP, Agunbiade AP, Airaodion EO, Mokelu IP, Ekeh SC. 2019. Biochemical mechanisms involved in the regulation of appetite and weight-review. *International Journal of Research* **6**(2):397–409.

Ahmad FT, Robert E, Asenstorfer RE, Soriano IR, Mares DJ. 2013. Effect of temperature on lutein esterification and lutein stability in wheat grain. *Journal of Cereal Science* **58**(3):408–413.

Akilen R, Deljoomanesh N, Hunschede S, Smith CE, Arshad MU, Kubant R, Anderson GH. 2016. The effects of potatoes and other carbohydrate side dishes consumed with meat on food intake, glycemia and satiety response in children. *Nutrition and Diabetes* **6**:e195.

Alamar MC, Tosetti R, Landahl S, Bermejo A, Terry LA. 2017. Assuring Potato Tuber Quality during Storage: A Future Perspective. *Frontiers in Plant Science* **8**:2034.

Alenazi MM, Hughes HG, Stushnoff C, Holm DG. 2019. Influence of Storage Temperature and Time in Storage on Pigment Content of Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Hort Science* **41**(4):1014.

Andre CM, Oufir M, Guignard C, Hoffmann L, Hausman JF, Evers D, Larondelle Y. 2007. Antioxidant profiling of native Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) reveals cultivars with high levels of  $\beta$ -carotene, alpha-tocopherol, chlorogenic acid, and petanin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**:10839–10849.

Anderson GH, Soeandy CD, Smith CE. 2013. White vegetables: glycemia and satiety. *Advances in nutrition*, **4**(3):356–367.

Aroiee H, Babaei M, Ajdanian L, Javdani M, Azizi M, Asgari Lajayer B, Dell B. 2022. Effect of essential oil of seven medicinal plants on longevity, nongermmination, qualitative and

quantitative traits of *Solanum tuberosum* cv. Agria. *Journal of Food Processing and Preservation* **46**:e16754.

Auestad N, Hurley J, Fulgoni V, Schweitzer CM. 2015. Contribution of food groups to energy and nutrient intakes in five developed countries. *Nutrients* **7**:4593–4618.

Bach S, Yada RY, Bizimungu B, Fan M, Sullivan JA. 2013. Genotype by environment interaction effects on starch content and digestibility in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**:3941–3948.

Bailey RL, West KP Jr, Black RE. 2015. The epidemiology of global micronutrient deficiencies. *Annals of Nutrition and Metabolism* **66**:22–33.

Bamberg J, Moehninsi, Navarre R, Suriano J. 2015. Variation for Tuber Greening in the Diploid Wild Potato *Solanum Microdontum*. *American Journal of Potato Research* **92**:435–443.

Bárta J, Čurn V. (2004): Bilkoviny hlíz bramboru (*Solanum tuberosum* L.) klasifikace, charakteristika, význam, *Chemické listy* **98**:373–378.

Bártová V, Bárta J, Jarošová M. 2019. Antifungal and antimicrobial proteins and peptides of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers and their applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* **103**:5533–5547.

Bednar C, Kies C. 1994. Nitrate and vitamin-C from fruits and vegetables – impact of intake variations on nitrate and nitrite excretion of humans. *Plant foods for human nutrition* **45**:71–80.

Bembem K, & Sadana B. 2013. Effect of cooking methods on the nutritional composition and antioxidant activity of potato tubers. *International Journal of Food and Nutritional Sciences* **2**(4):26–30.

Bethke P, Jansky S. 2018. The Effects of Boiling and Leaching on the Content of Potassium and Other Minerals in Potatoes. *Journal of Food Science* **73**(5):H80–H85.

Braun H, Fontes PCR, Busato C, Cecon PR, Coelho FS, Silva MC. 2010. Effect of nitrogen rates and days of light exposure on greening evaluated by visual scale and chlorophyll meter of tubers of potato cultivars. *International Journal of Food, Agriculture and Environment* **8**:933–938.



Brennan CS. 2005. Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research* **49**:560–570.

Brown CR, Culley D, Yang CP, Durst R, Wrolstad R. 2005. Variation of anthocyanin and carotenoid contents and associated antioxidant values in potato breeding lines. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **130**:174–180.

Brown CR, Wrolstad R, Durst R, Yang P, Clevidence B. 2003. Breeding studies in potatoes containing high concentrations of anthocyanins. *American Journal of Potato Research* **80**:241.

Brus J. 2005. Principy a aplikace vícerozměrné NMR spektroskopie tuhého stavu v přírodním izotopovém složení. *Chemické Listy* **99**:99–108.

Buděšínský M, Pelnař J. 2000. Fyzikálně-chemické metody (Nukleární magnetická rezonance). Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha.

Burgos G, Amoros W, Salas E, Muñoa L, Sosa P, Díaz C, Bonierbale M. 2012. Carotenoid concentrations of native Andean potatoes as affected by cooking. *Food Chemistry* **133**:1131–1137.

Burgos G, Muñoa L, Sosa P, Bonierbale M, Zum Felde T, Díaz C. 2013. *In vitro* bioaccessibility of lutein and zeaxanthin of yellow fleshed boiled potatoes. *Plant Foods for Human Nutrition* **68**:385–390.

Burgos G, Salas E, Amoros W, Auqui M, Munoa L, Kimura M, Bonierbale M. 2009. Total and individual carotenoid profiles in the Phureja group of cultivated potatoes: I. concentrations and relationships as determined by spectrophotometry and high performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Food Composition and Analysis* **22**:503–508.

Burgos G, Zum Felde T, Andre C, Kubow S. 2020. The Potato and Its Contribution to the Human Diet and Health. Pages 37–74 in Campos H, Ortiz O, editors. *The Potato Crop*. Springer Cham. Peru.

Burlingame B, Mouillé B, Charrondière R. 2009. Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. *Journal of Food Composition and Analysis* **22**(6):494–502.

Burton WG. 1989. *The potato*. Longman Scientific and Technical, Longman Group. Harlow. England.

Camire ME, Kubow S, Donnelly DJ. 2009. Potatoes and human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **49**:823–840.

Centrum pro databázi složení potravin: Databáze složení potravin ČR, verze 8.20. Praha: Ústav zemědělské ekonomiky a informací, 2020. Available from [www.nutridatabaze.cz/potravinyny/?id=193#tab-2](http://www.nutridatabaze.cz/potravinyny/?id=193#tab-2) (accessed February 2023).

Clifford M. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**:362–372.

Čabajová K. 2009. Rok brambor – 2008. [MSc. Thesis]. Masarykova univerzita. Brno.

ČSN EN ISO 8589 (560036). 2008. Senzorická analýza – Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště. Český normalizační institut, Praha.

ČSN ISO 6658 (560050). 2022. Senzorická analýza – Metodologie – Obecný návod. Český normalizační institut, Praha.

Dao L, Friedman M. 1992. Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**(11):2152–2156.

Dao L, Friedman M. 1994. Chlorophyll, chlorogenic acid, glycoalkaloid, and protease inhibitor content of fresh and green potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42**:633–639.

De Haan S, Burgos G, Liria R, Rodriguez F, Creed-Kanashiro H, Bonierbale M. 2019. The Nutritional Contribution of Potato Varietal Diversity in Andean Food Systems: a Case Study. *American Journal of Potato Research* **96**:151.

Deng Y, He M, Feng F, Feng X, Zhang Y, Zhang F. 2021. The distribution and changes of glycoalkaloids in potato tubers under different storage time based on MALDI-TOF mass spectrometry imaging. *Talanta* **1**:121453.

do Prado Aparecido R, Barros Lopes TI, Braz Alcantara G. 2022. NMR-based foodomics of common tubers and roots. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **209**:114527.

Dračínský M. 2021. NMR spektroskopie pro chemiky. Univerzita Karlova v Praze, Praha.

Dragsted LO, Krath B, Ravn-Haren G, Vogel UB, Vinggaard AM, Jensen PB, Loft S, Rasmussen SE, Sandstrom B, Pedersen A. 2006. Biological effects of fruit and vegetables. *Proceedings of the Nutrition Society* **65**:61–67.

Drupal M, De Boeck B, Kreuze HL, Bonierbale M, Fraser PD. 2023. Identification of metabolites associated with boiled potato sensory attributes in freshly harvested and stored potatoes. *Journal of Food Composition and Analysis* **115**:104934.

Drewnowski A, Rehm CD. 2013. Vegetable cost metrics show that potatoes and beans provide most nutrients per penny. *Plos one* **8**:e63277.

Edwards EJ, Cobb AH. 1997a. Effect of temperature on glycoalkaloid and chlorophyll accumulation in potatoes (*Solanum tuberosum* L. cv. King Edward) stored at low photon flux density, including preliminary modeling using an artificial neural network. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**:1032–1038.

Edwards EJ, Cobb AH. 1997b. Is there a link between greening and light enhanced glycoalkaloid accumulation in potato (*Solanum tuberosum* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture* **76**:327–333.

EFSA. 2020. Glycoalkaloids in potatoes: public health risks assessed. Available from <https://www.efsa.europa.eu/en/news/glycoalkaloids-potatoes-public-health-risks-assessed> (accessed October 2022).

Emragi E, Kalita D, Jayanty S. 2022. Effect of edible coating on physical and chemical properties of potato tubers under different storage conditions. *LWT* DOI: 10.1016/J.LWT.2021.112580.

Ezekiel R, Singh N, Sharma S, Kaur A. 2013. Beneficial phytochemicals in potato. *Food Research International* **50**:487–496.

Fiedor J, Burda K. 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients* **6**:466–488.

Friedman M. 2004. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *Journal of Chromatography A* **1054**:143–155.

Friedman M. 2015. Chemistry and anticarcinogenic mechanisms of glycoalkaloids produced by eggplants, potatoes, and tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**:3323–3337.

Friedman M, Lee KR, Kim HJ, Lee IS, Kozukue N. 2005. Anticarcinogenic effects of glycoalkaloids from potatoes against human cervical, liver, lymphoma, and stomach cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**:6162–6169.

Griffiths DW, Dale MFB, Bain H. 1994. The effect of cultivar, maturity and storage on photo-induced changes in the total glycoalkaloid and chlorophyll contents of potatoes (*Solanum tuberosum*). *Plant Science* **98**:103–109.

Grunenfelder L. 2005. Physiological studies of light-induced greening in fresh market potatoes. M.S. Thesis: Washington State University, Pullman.

Gull DD, Isenberg FMR. 1960. Chlorophyll and solanine content and distribution in four varieties of potato tubers. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* **75**:545–556.

Günther H. 2013. NMR spectroscopy: basic principles, concepts and applications in chemistry. ISBN: 978-3-527-33000-3.

Haider MW, Nafeesa M, Amina M, Asadb HU, Ahmada I. 2021. Physiology of Tuber Dormancy and its Mechanism of Release in Potato. *Journal of Horticultural Science and Technology* **4**:13–21.

Hartmans KJ, Diepenhorst P, Bakker W, Gorris LGM. 1995. The use of carvone in agriculture: sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases. *Industrial Crops and Products* **4**(1):3–13.

Haverkort A, de Ruijter FJ, van Evert FK, Conijn JG, Rutgers B. 2014. Worldwide sustainability hotspots in potato cultivation. 1. Identification and mapping. *Potato Research* **56**:343–353.

Chloupek O, Procházková B, Hrudová E. 2005. Pěstování a kvalita rostlin. MZLU. Brno.

Chlup R, Peterson K, Kudlová P, Nečas J. 2019. Glykemický index potravin 2019. *Praktické lékařství* **15**(3):172–177.

Irungu FG, Tanga ChM, Ndiritu FG, Mathenge SG, Kiruki FG, Mahungu SM. 2022. Enhancement of potato (*Solanum tuberosum* L) postharvest quality by use of magnetic fields – A case of shangi potato variety. *Applied Food Research* **2**(2):100191.

Jakubowski, T.; Królczyk, J.B. 2020. Method for the Reduction of Natural Losses of Potato Tubers During their Long-Term Storage. *Sustainability* **12**(3):1048.

Jůzl M, Zrůst J, Hlušek J. 2008: Rizikové látky v bramboru a ve výrobcích z hlíz. MZLU. Brno.

Katz DL, Doughty KN, Geagan K, Jenkins DA, Gardner CD. 2019. Perspective: The public health case for modernizing the definition of protein quality. *Advances in Nutrition* **10**(5):755–764.

Klupal J. 2008. Vývoj regionální diferenciace pěstování brambor v Česku s důrazem na transformační období po roce 1990 [BSc. Thesis]. Univerzita Karlova, Praha.

Kumar D. Singh BP, Kumar P. 2004. An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. *Annals of Applied Biology* **145**:247–256.

Lachman J, Hamouz K, Musilová J, Hejtmánková K, Kotíková Z, Pazderu K, Domkárová J, Pivec V, Cimr J. 2013. Effect of peeling and three cooking methods on the content of selected phytochemicals in potato tubers with various colour of flesh. *Food Chemistry* **138**:1189–1197.

Lachman J, Hamouz K, Orsák M. 2005. Červeně a modře zbarvené brambory – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. *Chemické listy* **7**(99):474–482.

Lachman J, Hamouz K, Sulc M, Orsak M, Pivec V, Hejtmankova A. 2009. Cultivar differences of total anthocyanins and anthocyanidins in red and purple-fleshed potatoes and their relation to antioxidant activity. *Food Chemistry* **114**:836–843.

Lal MK, Singh B, Sharma S, Singh MP, & Kumar A. 2021. Glycemic index of starchy crops and factors affecting its digestibility: A review. *Trends in Food Science & Technology* **111**:741–755.

Lee KR, Kozukue N, Han JS, Park JH, Chang EY, Baek EJ, Chang JS, Friedman M. 2004. Glycoalkaloids and metabolites inhibit the growth of human colon (HT29) and liver (HepG2) cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**:2832–2839.

Liang N, Kitts D. 2015. Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. *Nutrients* **8**: DOI: 10.3390/nu8010016.

Lin BW, Gong CC, Song HF, Cui YY. 2017. Effects of anthocyanins on the prevention and treatment of cancer. *British Journal of Pharmacology* **174**:1226–1243.

Lombardo S, Pandino G, Mauromicale G. 2013. The influence of growing environment on the antioxidant and mineral content of “early” crop potato. *Journal of Food Composition and Analysis* **32**:28–35.

Lysakov A, Nikitenko G, Konoplev E, Tarasov Y. 2018. Advanced methods of potato loss reduction in storage. *Engineering for Rural Development* **17**:560–565.

Mani F, Hannachi C. 2015. Recent Genomic and Proteomic Profile of tuberization in potato (*Solanum tuberosum L.*). *Journal of New Sciences* **15**(6):9501.

Mazurcyk A. 1998. Vliv genotypu, zralosti ročníku balení a expozice světla na akumulaci glykoalkaloidů v hlízách brambor. *Bramborářství* **6**(1).

MENDELU. 2022. Technologie zpracování brambor a výroba škrobu. Available from [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=6889&typ=html](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=6889&typ=html) (accessed October 2022).

Míča B. 1995. Neenergetické a senzorycké a aktivní látky v hlízách brambor. *Výživa a potraviny* **5**(50):130–131.

Mills CE, Tzounis X, Oruna-Concha MJ, Mottram DS, Gibson GR, Spencer JP. 2015. In vitro colonic metabolism of coffee and chlorogenic acid results in selective changes in human faecal microbiota growth. *British Journal of Nutrition* **113**:1220–1227.

Muraja-Fras J, Krsnik-Rasol M, Wrisher M. 1994. Plastid transformation in greening potato tuber tissue. *Journal of Plant Physiology* **144**:8–63.

Muthoni J, Mbiyu MW, Nyamongo DO. 2010. A review of potato seed systems and germplasm conservation in Kenya. *Journal of Agricultural and Food Information* **11**:157–167.

Naeem M, Tetlow IJ, Emes MJ. 1997. Starch synthesis in amyloplasts purified from developing potato tubers. *Plant Journal* **11**:101–109.

Navarre DA, Goyer A, Shakya R. 2009. Nutritional Value of Potatoes: Vitamin, Phytonutrient, and Mineral Content. *Advances in Potato Chemistry and Technology* DOI: 10.1016/B978-0-12-374349-7.00014-3.

Nwafor EO, Lu P, Zhang Y, Liu R, Peng H, Xing B, Liu Y, Li Z, Zhang K, Zhang Y, Liu Z. 2022. Chlorogenic acid: Potential source of natural drugs for the therapeutics of fibrosis and cancer. *Translational Oncology* **15**:101294.

Percival GC, Dixon GR. 1997. Glycoalkaloids, Handbook of plant and fungal toxicants **2**:19-35.

Piñeros-Niño C, Narváez-Cuenca C, Kushalappa A, Mosquera T. 2017. Hydroxycinnamic acids in cooked potato tubers from *Solanum tuberosum* group Phureja. Food Science and Nutrition **5**:380–389.

Popa I, Novotná R. 2012. Základy NMR spektroskopie. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Olomouc.

Prakash B, Kedia A, Mishra PK, Dubey NK. 2015. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities – Potentials and challenges. Food Control **47**:381–391.

Prater MC, Scheurell AR, Paton CM, Cooper JA. 2023. Hunger and satiety responses to diets enriched with cottonseed oil vs. olive oil. Physiology & Behavior **259**:114041.

Prugar J. 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV. ISBN 978-80-86576-28-2.

Raigond P, Ezekiel R, Raigond B. 2014. Resistant starch in food. Journal of the Science of Food and Agriculture **95**:1968–1978.

Raigond P, Parmar V, Thakur A, Lal KM, Changan SS, Kumar D, Dutt S, Singh B. 2021. Composition of Different Carbohydrate Fractions in Potatoes: Effect of Cooking and Cooling. Starch – Stärke DOI: 10.1002/star.202100015.

Raletsena MV, Mdlalose S, Bodede OS, Assress HA, Woldesemayat AA, Modise DM. 2022. <sup>1</sup>H-NMR and LC-MS Based Metabolomics Analysis of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars Irrigated with Fly Ash Treated Acid Mine Drainage. Molecules **27**:1187.

Ratnayake WS, Jackson DS. 2008. Chapter 5 Starch Gelatinization. Advances in Food and Nutrition Research **55**:221–268.

Rehfeld JF. 2020. Measurement of cholecystokinin in plasma with reference to nutrition related obesity studies. Nutrition Research **76**:1–8.

Rodríguez B, Ríos D, Rodríguez E, Díaz C. 2010. Influence of the cultivar on the organic acid and sugar composition of potatoes. Journal of the Science of Food and Agriculture **90**:2301–2309.

Rop O, Buňka F. 2007. Změny v aminokyselinovém složení bramborových hlíz po aplikaci dusíku. *Bramborářství* **1**(15):10–12.

Saar-Reismaa P, Kotkas K, Rosenberg V, Kulp M, Kuhtinskaja M, Vaher M. 2020. Analysis of Total Phenols, Sugars, and Mineral Elements in Colored Tubers of *Solanum tuberosum* L. *Foods* **9**:1862.

Sharma S, Jaiswal AK, & Jaiswal S. 2020. Potato. *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables* **21**:339–347.

Shaw TM, Elskens RH. 1950. Nuclear magnetic resonance absorption in hygroscopic materials. *The Journal of Chemical Physics* **18**:1113–1114.

Schulzová V, Hajšlová J. 2007. Toxické alkaloidy v potravním řetězci člověka. *Vědecký výbor fyto-sanitární a životního prostředí* **6**:13–20.

Schievano E, Stocchero M, Zuccato V, Conti I, Piana L. 2019. NMR assessment of European acacia honey origin and composition of EU-blend based on geographical floral markers. *Food chemistry* **288**:96–101.

Schievano E, Tonoli M, Rastrelli F. 2017. NMR quantification of carbohydrates in complex mixtures. A challenge on honey. *Analytical chemistry* **89**(24):13405–13414.

Sirpa OK, Philip JW. 2009. Potato Proteins, Lipids, and Minerals. *Advances in Potato Chemistry and Technology* **5**:99-125.

Sun N, Wang Y, Gupta SK, Rosen CJ. 2020. Potato Tuber Chemical Properties in Storage as Affected by Cultivar and Nitrogen Rate: Implications for Acrylamide Formation. *Foods* **9**(3):352.

Šárka E, Smrčková P, Seilerová L. 2013. Rezistentní a pomalu stravitelný škrob. *Chemické listy* **107**:929–935.

Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* **21**:1199–1218.

Tanios S, Eyles A, Tegg R, Wilson C. 2018. Potato Tuber Greening: a Review of Predisposing Factors, Management and Future Challenges. *American Journal of Potato Research* **95**:248–257.

Thomas DE, Brotherhood JR, Brand JC. 1991. Carbohydrate feeding before exercise: effect of glycemic index. *International Journal of Sports Medicine* **12**:180–186.



Thybo AK, Bechmann IE, Martens M, Engelsen SB. 2000. Prediction of sensory texture of cooked potatoes using uniaxial compression, Near Infrared Spectroscopy and Low Field <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy. *Food Science and Technology* **33**:103–111.

Tian J, Chen C, Ye X, Chen S. 2016. Health benefits of the potato affected by domestic cooking. *Food Chemistry* **202**:165–175.

Tomas-Barberan F, García-Villalba R, Quartieri A, Raimondi S, Amaretti A, Leonardi A, Rossi M. 2014. *In vitro* transformation of chlorogenic acid by human gut microbiota. *Molecular Nutrition & Food Research* **58**:1122–1131.

Velišek J. 2002. *Chemie potravin*. 2. Vyd. 2., uprav. Tábor: OSSIS, 2002. 303 s. ISBN 80-86659-01-12.

Virgin HI, Sundqvist C. 1992. Pigment formation in potato tubers (*Solanum tuberosum*) exposed to light followed by darkness. *Physiologia Plantarum* **86**:587–592.

Visse-Mansiaux M, Soyeurt H, Herrera JM, Torche JM, Vanderschuren H, Dupuis B. 2022. Prediction of potato sprouting during storage. *Field Crops Research* DOI: 10.1016/J.FCR.2021.108396.

Visvanathan R, Jayathilake C, Chaminda Jayawardana B, Liyanage R. 2016. Health-beneficial properties of potato and compounds of interest. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **96**:4850–4860.

Vollmer M, Schröter D, Esders S, Neugart S, Farquharson FM, Duncan SH, & Rohn S. 2017. Chlorogenic acid versus amaranth's caffeoylisocitric acid—Gut microbial degradation of caffeic acid derivatives. *Food research international* **100**:375–384.

Waglay A, Karboune S. 2016. Chapter 4 - Potato proteins: Functional food ingredients. *Advances in Potato Chemistry and Technology* DOI: 10.1016/B978-0-12-800002-1.00004-2.

Wierzbowska J, Rychčík B, Światły A. 2018. The effect of different production systems on the content of micronutrients and trace elements in potato tubers. *Acta Agriculturae Scandinavica* **68**:701–708.

Wu J, Wu Q, Yang D, Zhou M, Xu J, Wen Q, Cui Y, Bai Y, Xu S, Wang Z, Wang S. 2021. Patatin primary structural properties and effects on lipid metabolism. *Food Chemistry* **344**:12866.

Xiong Y, Liu X, You O, Han L, Shi J, Yang J, Cui W, Zhang H, Chao Q, Zhu Y, Duan Y, Xue T, Xue J. 2022. Analysis of DNA methylation in potato tuber in response to light exposure during storage. *Plant Physiology and Biochemistry* **170**:218–224.

Yogendra KN, Kushalappa AC, Sarmiento F, Rodriguez E, Mosquera T. 2015. Metabolomics deciphers quantitative resistance mechanisms in diploid potato clones against late blight. *Functional Plant Biology* **42**:284–298.

You L, Schudel S, Defraeye T. 2023. Developing of biophysical food for monitoring postharvest supply chains for avocado and potato and deploying of biophysical apple. *Journal of Food Engineering* DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2022.111219.

Zaheer K, Akhtar MH. 2016. Potato Production, Usage, and Nutrition—A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**(5):711–721.

Zeece M. 2020. Chapter two – Proteins. *Introduction to the Chemistry of Food* DOI: 10.1016/B978-0-12-809434-1.00002-5.

Zeeman SC, Kossmann J, Smith AM. 2010. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology* **61**:209–234.

Zhang H, Liu X, Nie B, Song B, Du P, Liu S, Li L, Zhao Z. 2022. Nitrogen management can inhibit or induce the sprouting of potato tubers: Consequences of regulation tuberization. *Postharvest Biology and Technology* DOI: 10.1016/J.POSTHARVBIO.2021.111722.

Zrůst J. 2004. Faktory ovlivňující obsah nutričně významných a škodlivých látek v hlízách a výrobcích z brambor. VÚBHB. Praha 6. Available from [www.phytopsanitary.org/projekty/2004/vvf-05-04.pdf](http://www.phytopsanitary.org/projekty/2004/vvf-05-04.pdf) (accessed February 2023).

Zrůst J, Horáčková V, Přichystalová V, Rejklová M. 2003. Obsah glykoalkaloidů v potravinářských výrobcích z brambor, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod **14**:145–155.

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Vlastní schéma zastoupení nutrientů ve 100 g jedlého podílu ranné bramborové hlízy .....	10
Obrázek 2: Zelenání bramborových hlíz.....	25
Obrázek 3: <sup>1</sup> H NMR spektrum brambory včetně stanovených metabolitů .....	30
Obrázek 4: Rozdílná <sup>1</sup> H NMR spektra vzorků brambor .....	31
Obrázek 5: Schéma obsahu základních nutričních látek v bramborové hlíze .....	32
Obrázek 6: Popis Zembagu .....	34
Obrázek 7: Změny koncentrací látek v závislosti na době skladování .....	38
Obrázek 8: Vývoj klíčení během skladování .....	45
Obrázek 9: a) PCA analýza spekter 126 den měření b) Dendogram .....	46
Obrázek 10: a) OPLS-DA analýza hlíz b) VIP score významných látek.....	47
Obrázek 11: Heatmap k OPLS-DA analýze.....	47
Obrázek 12: Koláčový graf k senzorní analýze.....	48

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Úbytek glykoalkaloidů vlivem zpracování brambor.....	18
Tabulka 2: Hladiny glykoalkaloidů v jednotlivých částech rostliny <i>Solanum tuberosum</i> .....	19
Tabulka 3: Užití konzumních brambor podle varných typů dle vyhlášky č. 397/2021 Sb. ....	21
Tabulka 4: Rozdělení potravin dle GI.....	26
Tabulka 5: Seznam kontrolních skupin.....	34
Tabulka 6: Souhrn látek detekovaných v hlízách brambor pomocí NMR.....	37
Tabulka 7: Statistické vyhodnocení grafů.....	42
Tabulka 8: Statistické vyhodnocení grafů.....	43
Tabulka 9: Statistické vyhodnocení grafů.....	44
Tabulka 10: Intenzita pachu, Tukeyův HSD test .....	49
Tabulka 11: Intenzita žluté barvy, Tukeyův HSD test.....	49
Tabulka 12: % intenzita znaku hlíz vařených v páře se směrodatnými odchylkami .....	50