

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Vliv stresu sucha na obsah vitamínu C a antioxidačně působících látek v hlízách brambor

Diplomová práce

Autor práce: Karolína Hebká

Vedoucí práce: Ing. Matyáš Orsák Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv stresu sucha na obsah vitamínu C a antioxidačně působících látek v hlízách brambor " 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 4.4. 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu práce panu Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za vedení při tvorbě mé diplomové práce, za jeho odbornou konzultaci, poznatky a připomínky. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Vladimíru Pivcovi, CSc. za užitečné rady a výpomoc v laboratoři. V neposlední řadě bych také ráda poděkovala Ing. Ph.D. Zoře Kotíkové za pomoc a trpělivost při zpracování statistické analýzy.

Vliv stresu sucha na obsah vitamínu C a antioxidačně působících látek v hlízách brambor

Souhrn

Brambory jsou prakticky nejdůležitější pěstovanou plodinou ve světě určenou k základní výživě člověka, jelikož tvoří velmi často přílohu u pokrmů a jsou základem i některých jídel. Mají ale i své další využití, slouží také jako krmivo pro hospodářská zvířata nebo jsou zdrojem škrobu a také pro výrobu lihu. U brambor byla prokázána řada pozitivních zdravotních účinků, mezi něž patří právě antioxidační aktivita, protizánětlivé účinky, protirakovinné účinky a mnoho dalších. Kvůli zmiňovaným pozitivním účinkům bylo již několikrát zkoumáno jejich složení a ony účinné látky jako jsou například antioxidanty v bramborách, které zodpovídají za příznivé působení na zdraví obyvatel. Řada autorů se také zabývá faktory jako je odrůda, rok a způsob pěstování, klimatické podmínky, stupeň zralosti, způsob sklizně a skladování, které mají vliv na obsah antioxidačních látek v bramborách. Cílem diplomové práce proto bylo stanovit obsah vitamínu C a látek s antioxidační aktivitou v hlízách brambor a porovnat výsledky vitamínu C a antioxidantů v hlízách mezi rostlinami zásobenými dostatečně vodou a rostlinami pod vodním stresem.

V práci byly vytyčeny tři hypotézy. První hypotéza předpokládá, že obsah vitamínu C koreluje s antioxidační aktivitou hlíz brambor. Druhou hypotézou je předpoklad, že stres suchem ovlivňuje obsah vitamínu C a dalších antioxidantů v hlízách brambor. A v poslední třetí hypotéze se očekává, že stresované rostliny mají v hlízách nižší obsah vitamínu C, ale vyšší antioxidační aktivitu hlíz.

Po zpracování literárního přehledu jsem se aktivně podílela na pokusu katedry chemie ČZU v Praze, z něhož jsem získala podklady pro tuto diplomovou práci. Pokus byl založen na pokusné lokalitě - demonstračním poli na Suchdole. Výzkumný pozemek byl rozdělen na tři části: na 1/3 jsme měli brambory s pravidelnou závlahou, na druhé třetině byly brambory zalévány pomocí kapkové závlahy a třetí část tvořily brambory vystavené stresu suchem (bez závlahy). Do pokusů byly zařazeny čtyři odrůdy brambor a to jak se žlutou, tak i s barevnou dužninou. Jedna odrůda byla fialová, zbylé tři tedy se

žlutou barvou dužniny. Po sklizni jsem se podílela na stanovení a na přípravě vzorků pro laboratorní rozborů na katedře chemie. Výsledky rozborů jsem připravila pro statistické zhodnocení výsledků, které bylo provedeno metodou analýzy dvoufaktorové anovy s interakcemi na hladině pravděpodobnosti $\alpha = 0,05$ s faktory odrůda a typ závlahy s podrobnějším hodnocením Tukeyho metodou v programu Statistica.cz. Z počítačových sestav jsem výsledky zpracovala do tabulek či grafů, samostatně vyhodnotila, diskutovala a formulovala z nich závěry. Práce také shrnuje informace z výzkumů, které byly zveřejněny v posledních desetiletích, a srovnává je se získanými výsledky z tohoto pokusu.

První hypotéza zkoumající korelaci mezi obsahem vitamínu C a antioxidační aktivitou se nepotvrdila. U dvou odrůd sice znamenal vyšší obsah vitamínu C i vyšší antioxidační aktivitu, u zbylých dvou tomu tomu bylo ovšem přesně naopak. Zamítnuta byla i hypotéza druhá, jelikož stres suchem nepřinesl prokazatelně jiné výsledky v obsahu vitamínu C ani celkové antioxidační aktivity oproti ostatním dvěma zavlažovacími metodám. A nepotvrdila se ani hypotéza třetí, kdy na základě naměřených výsledků nelze říci, že by hlízy stresované suchem měly nižší obsahy vitamínu C a vyšší hodnoty antioxidační aktivity oproti hlízám zavlažovaným. Tyto hodnoty se liší zejména v závislosti na zkoumané odrůdě.

Klíčová slova: antioxidanty, brambory, vitamin C, HPLC, stres

Effect of dry stress on the content of vitamin C and antioxidant active substances in potato tubers

Summary

Potatoes are practically the most important cultivated crop in the world, used for basic human nutrition. Potatoes are a very frequent side dish and they are a basis of some meals. They are also used as a feed for livestock or as a source of starch, and also for a production of alcohol. A number of positive health effects of potatoes has been demonstrated, such as antioxidant activity, anti-inflammatory effects, anti-cancer effects and many others. Because of these positive effects their composition has already been examined several times. Their active substances such as antioxidants have a beneficial effect on health of population. Many authors also deal with factors such as a variety, year and a method of cultivation, climatic conditions, a degree of ripeness, a method of harvesting and storage, which have an impact on the content of antioxidants in potatoes. Therefore, the aim of this thesis was to determine the content of vitamin C and substances with antioxidant activity in potato tubers and to compare the results of vitamin C and antioxidants in tubers of plants supplied with enough water and plants under water stress.

Three hypotheses were set in this work. The first one assumes that the vitamin C content correlates with antioxidant activity of potato tubers. The second hypothesis is an assumption that drought stress affects the content of vitamin C and other antioxidants in potato tubers. And in the last hypothesis it is expected that stressed plants have tubers lower in content of vitamin C, but higher in antioxidant activity tubers.

After processing the literature review, I had been actively involved in an experiment of the Department of Chemistry ČZU in Prague, where I had collected evidence for this thesis. This experiment was based on an experimental locality - a demonstration field in Suchdol. The research ground was divided into three parts: 1/3 with potatoes with a regular irrigation, the other third of the potatoes were watered by using a drip irrigation and the third part consisted of potatoes exposed to a drought stress (no irrigation). The experiment included four potato varieties with yellow, and with colored flesh. One variety was purple the other three had a yellow color of the flesh. After the harvest, I participated in establishment and preparation of samples for laboratory

analysis at the Department of chemistry. I had prepared the results of the analysis for a statistical evaluation, it was done by the method of analysis of anova with two-factor interactions at the level of probability $\alpha = 0.05$, with a variety of factors and the type of irrigation system with a more detailed evaluation of the Tukey method in a program called Statistica.cz. I processed the results in tables or charts, separately assessed, discussed and formulated conclusions from them. The work also summarizes information from studies that have been published in the last decades, and compares them with the results obtained in this experiment.

The first hypothesis examining the correlation between the content of vitamin C and antioxidant activity has not been confirmed. Two varieties may have shown a higher content of vitamin C and higher antioxidant activity, with the other two, however, it was exactly the opposite. The second hypothesis was rejected, because the drought stress did not demonstrate different results in vitamin C or total antioxidant activity compared to the other two irrigation methods. The third hypothesis was also not confirmed, as on the basis of measured results it can not be said that the tubers stressed by drought were lower in vitamin C and higher in antioxidant activity compared to irrigated tubers. These values vary depending mainly on the examined variety.

Keywords: antioxidants, potatoes, vitamin C, HPLC, stress

OBSAH

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Úvod | 10 |
| 2 | Cíle práce | 12 |
| 2.1 | Vědecké hypotézy | 12 |
| 3 | Literární rešerše..... | 13 |
| 3.1 | Brambory – charakteristika | 13 |
| 3.2 | Půdní podmínky a meteorologické vlivy | 14 |
| 3.2.1 | Stres suchem | 16 |
| 3.3 | Chemické složení hlíz | 18 |
| 3.3.1 | Sacharidy | 21 |
| 3.3.2 | Bílkoviny | 22 |
| 3.3.3 | Lipidy..... | 24 |
| 3.4 | Antioxidanty..... | 24 |
| 3.4.1 | Karotenoidy | 25 |
| 3.4.2 | Askorbová kyselina..... | 27 |
| 3.4.2.1 | Vznik askorbové kyseliny | 27 |
| 3.4.2.2 | Chemická struktura vitamínu C..... | 27 |
| 3.4.2.3 | Reakce kyseliny askorbové s volnými radikály | 28 |
| 3.4.2.4 | Askorbová kyselina v bramborách | 28 |
| 3.4.2.5 | Faktory ovlivňující obsah askorbové kyseliny v bramborách..... | 29 |
| 3.4.3 | Polyfenoly | 30 |
| 3.4.4 | Anthokyany..... | 33 |
| 3.4.5 | Selen..... | 36 |
| 3.4.6 | Ostatní antioxidanty | 37 |
| 3.4.7 | Mechanismus působení antioxidantů..... | 38 |
| 3.4.8 | Antioxidanty a jejich vliv na zdraví člověka | 39 |
| 3.5 | Celková antioxidační aktivita brambor | 39 |
| 3.5.1 | Metody stanovení..... | 40 |
| 3.5.1.1 | Metody založené na eliminaci radikálů | 41 |
| 3.5.1.2 | Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek | 45 |
| 3.5.1.3 | Vysoce účinná kapalinová chromatografie | 46 |
| 3.5.1.4 | Spektrofotometrie | 49 |
| 4 | Materiál a metodika..... | 52 |
| 4.1 | Materiál a podmínky pokusu..... | 52 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4.2 | Charakteristika pokusného stanoviště | 53 |
| 4.2.1 | Základní informace o pokusné lokalitě Suchdol..... | 53 |
| 4.3 | Meteorologické údaje | 53 |
| 4.4 | Charakteristika pokusných odrůd..... | 55 |
| 4.4.1 | Milva..... | 56 |
| 4.4.2 | Laura | 56 |
| 4.4.3 | Marabel | 57 |
| 4.4.4 | Valfi | 57 |
| 4.5 | Použité přístroje, chemikálie a pomůcky | 58 |
| 4.6 | Metody stanovení | 59 |
| 4.6.1 | Příprava vzorku pro stanovení vitamínu C..... | 59 |
| 4.6.2 | Stanovení vitamínu C..... | 59 |
| 4.6.3 | HPLC/DAD analýza | 60 |
| 4.6.4 | Identifikace a kvantifikace..... | 60 |
| 4.6.5 | Stanovení antioxidační aktivity | 60 |
| 4.6.6 | Příprava vzorku:..... | 61 |
| 4.6.7 | Příprava radikálu:..... | 61 |
| 5 | Statistické zhodnocení | 62 |
| 6 | Výsledky..... | 63 |
| 6.1 | Zhodnocení výsledku obsahu vitamínu C | 63 |
| 6.1.1 | Faktor odrůda..... | 63 |
| 6.1.2 | Faktor závlahová varianta | 64 |
| 6.1.3 | Interakce odrůda vs varianta | 65 |
| 6.2 | Zhodnocení výsledku antioxidační aktivity | 66 |
| 6.2.1 | Faktor odrůda u antioxidační aktivity | 66 |
| 6.2.2 | Faktor varianta u antioxidační aktivity | 68 |
| 6.2.3 | Interakce odrůda vs varianta u antioxidační aktivity | 69 |
| 6.3 | Počáteční hypotézy: | 70 |
| 7 | Diskuze..... | 72 |
| 8 | Závěr | 76 |
| 9 | Seznam použitých zkratk a symbolů..... | 78 |
| 10 | Literatura | 81 |

1 Úvod

Brambory (*Solanum tuberosum*) v našich zeměpisných šířkách tvoří velmi důležitou součást skladby zemědělských plodin a jejich produkce je spolu s obilovinami základem rostlinné výroby. Společně s kukuřicí, rýží a pšenicí jsou prakticky nejdůležitější světově pěstovanou plodinou určenou k základní výživě člověka. Jejich pěstování je však důležité nejen z hlediska lidské výživy. V hojné míře jsou využívány rovněž jako krmivo pro hospodářská zvířata, jako významný zdroj škrobu a také pro výrobu lihu.

Brambory, zvláště u nás, mají ve stravovacích zvyklostech nezastupitelnou roli. Na jídelních talířích se s nimi lze setkat téměř denně, ať již v podobě různě upravených příloh, nebo jako se základem pro některé z pokrmů jako je například bramborák či škubánky. Díky svému látkovému složení jsou prakticky komplexní potravinou a již z historie je známo, že zvláště pro chudé obyvatelstvo byly brambory prostředkem přežití nepříznivých období.

Brambory se pěstují celkem v 80 % všech zemí a celosvětově se jich ročně sklídí více než 368 mil. tun. Tím se tato plodina řadí ve světové rostlinné produkci na čtvrté místo za první kukuřicí, druhou pšenicí a třetí rýží. V České republice se v posledních letech plochy osévané bramborami neustále snižují a to hlavně díky poklesu pěstování brambor raných. I přesto se zde, dle hospodářských údajů z roku 2013/2014, brambory pěstují stále na ploše 29,3 tis./ha s výnosem 647 tis. tun (Baudisová, 2014). Ovšem nedosahujeme již v této komoditě soběstačnosti. Průměrná spotřeba na obyvatele v ČR se pohybuje kolem 70 kg ročně s tím, že přibližně 15 % spotřeby zahrnuje konzumace výrobků z brambor, jako jsou hranolky, lupínky či bramborová kaše, zbylých 85 % připadá na konzumaci brambor ve slupce.

Význam brambor lze spatřovat v mnoha znacích. Jsou levným zdrojem energie a nutričně významných látek. Obsahují značné množství minerálů, vitamínů a bílkovin, naopak minimální složkou je u nich tuk. Obsažené látky lze v základu rozdělit na dvě skupiny - kalorické a nekalorické. Mezi kalorické látky patří škrob, dusíkaté látky a tuk.

Nekalorické látky se dělí na:

- látky v hlíze přítomné – mající sice svůj význam, avšak často nestravitelné a neovlivňující vůni a chuť
- látky pochutinové – kromě vlivu na vůni a chuť mají i další význam, a to především nutriční

Mezi látkami v hlíze přítomnými můžeme jmenovat především polysacharidy (mimo škrobu), vitaminy, enzymy a barviva. Mezi pochutinové látky se pak řadí cukry, minerální látky, organické kyseliny, aromatické látky, fenoly a glykosidy. Obecně je ovšem třeba říci, že striktní ostrá hranice mezi jednotlivými látkami a skupinami neexistuje (Míča, 1995).

Důležité místo mezi nutričně významnými látkami zauímají především antioxidanty a právě bramborové hlízy představují jeden z nejbohatších zdrojů antioxidantů z hlediska jejich zastoupení v lidské výživě (Lachman a kol., 2000).

Největší zastoupení mají polyfenoly (1226-4405 mg/kg) a askorbová kyselina (170-990 mg/kg), dále jsou to karotenoidy (4-4,5 mg/kg), α -tokoferol (0,5-2,8 mg/kg), v menším množství selen (0,1 mg/kg) či kyselina α -lipoová. Jednu z nejrozšířenějších skupin antioxidantů představují fenolové látky, ze kterých je nejvíce zastoupená kyselina chlorogenová a její izomery a kyselina kávová (Lachman a kol., 2006).

Cílem této práce je pak posouzení vlivu stresu sucha na obsah vitamínu C a antioxidačních látek v hlízách brambor.

2 Cíle práce

1. Stanovit obsah vitamínu C a látek s antioxidační aktivitou ve hlízách brambor.
2. Porovnat výsledky vitamínu C a antioxidantů v hlízách od rostlin zásobených dostatečně vodou a rostlinami pod vodním stresem.

2.1 Vědecké hypotézy

Na základě studia odborné literatury byly navrženy následující hypotézy:

1. Obsah vitamínu C koreluje s antioxidační aktivitou hlíz brambor.
2. Stres suchem ovlivňuje obsah vitamínu C a dalších antioxidantů v hlízách brambor.
3. Stresované rostliny mají v hlízách nižší obsah vitamínu C, ale vyšší antioxidační aktivitu hlíz.

3 Literární rešerše

3.1 Brambory – charakteristika

Brambory mají svůj původ v Jižní Americe, přesněji v její západní části. Podle vykopávek a historických nálezů lze usuzovat, že brambory tam byly pěstovány již ve 2. století n. l. (Pelikán a Sáková, 2001). Do Evropy si díky zámořským objevům dostaly koncem 16. století a odtud se poté šířily po celém světě. I díky tomu se v Evropě dařilo mírnit následky hladomorů.

V současné době lze po celém světě identifikovat více než 5 000 odrůd brambor, většinou patřící k druhu *Solanum tuberosum*. Mimo tento druh je kultivováno dalších 10 druhů rodu *Solanum*, identifikováno pak bylo ještě dalších 200 druhů (Burlingame a kol., 2009). Evropské odrůdy brambor patří k druhu lilek brambor (*Solanum tuberosum*) z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*).

Na území Čech byly brambory dovezeny lékárníkem Jiřím Agricolou z Jáchymova v roce 1628, ovšem byly zde jen jako zahradní rostlina (Pelikán a Sáková, 2001). Nejprve se jim říkalo erteple či zemská jablka. V průběhu zbytku 17. století došlo k jejich zdomácnění, často se objevovaly v klášterních, šlechtických a městských zahradách. I v této době však byly stále ještě spíše doplňkem jídla a netradiční plodinou (Kutnar, 2005). Postupně však jejich význam stoupal, zvláště pak když se stále více ukazovalo, že mohou být úspěšnou náhradou obilovin v jídelníčku chudších lidí.

V polovině 19. století u nás již patřily mezi základní potraviny a i v zemědělských lihovarech postupně nahrazovaly žito. O něco později začaly být ve škrobárnách zpracovávány také na bramborový škrob. Největší rozmach v pěstování brambor se pak datuje do období před druhou světovou válkou (Pelikán a Sáková, 2001).

Lilek brambor je jednoletou rostlinou, která se rozmnožuje jak vegetativně, tak i generativně, vegetativně hlízkami a generativně semeny. Pro zemědělskou výrobu se využívá výhradně množení vegetativního, generativní množení je vhodné zejména pro účely šlechtitelské (Schulzová a Hubert, 2004). Taxonomické zařazení je uvedeno v Tabulce 1.

Tabulka 1 Taxonomické zařazení brambor (Kubát a kol., 2002)

| | Český název | Latinský název |
|----------|--------------------|--------------------------|
| Říše | Rostliny | <i>Plantae</i> |
| Podříše | Vyšší rostliny | <i>Cormobionta</i> |
| Oddělení | Krytosemenné | <i>Magnoliophyta</i> |
| Třída | Vyšší dvouděložné | <i>Dicotyledones</i> |
| Řád | Lilkočvčeté | <i>Solanales</i> |
| Čeleď | Lilkovité | <i>Solanaceae</i> |
| Rod | Lilek | <i>Solanum</i> |
| Druh | Lilek brambor | <i>Solanum tuberosum</i> |

Brambory plní ve výživě člověka tři funkce:

- 1) objemovou – dostatečný objem potravy pro trávicí trakt.
- 2) sytící – při optimální denní dávce 300 g brambor kryje bramborový škrob energetickou potřebu lidského organismu z 11,4 %.
- 3) ochrannou – vhodný obsah vitaminů, minerálních látek a dalších pozitivně působících bioaktivních látek (Prugar a kol., 2008).

Energetická hodnota brambor je poměrně nízká a pohybuje se mezi 310 a 350 kJ, tj. 70-90 kcal na 100 g hlíz (Prugar a kol., 2008).

3.2 Půdní podmínky a meteorologické vlivy

Brambory by se měly sázet tam, kde jsou lehčí až středně těžké půdy s dobře propustnou spodinou, slabě kyselou půdní reakcí (pH 5,5-6,5) a kde jsou pozemky

pravidelně hnojené organickými hnojivy. U nás nejvíce vyhovují písčitohlinité až hlinité půdy, které zajišťují nejlepší výnosy (Hamouz, 1994). Hloubka ornice má dosahovat alespoň 15 cm (Křišťan a kol., 1973). Sklonitost pozemku nesmí přesáhnout 8° (Vokál a kol., 2004). Co se týká obsahu humusu, měl by tvořit minimálně 2 % z celkového množství půdy, obsah fosforu by se měl pak pohybovat v rozmezí 70-110 mg/kg půdy, u draslíku je to hodnota 200-300 mg/kg půdy a u hořčíku 160-230 mg/kg půdy (Čepl a kol., 2003). Vliv na kvalitu brambor má samozřejmě i dostupnost vody. Ta tvoří až 76 % hmotnosti bramborových hlíz, v rostlinné části pak zajišťuje důležité metabolické funkce jako je biosyntéza organických sloučenin, doprava asimilátů a metabolitů, působí rovněž jako teplotní regulátor (Hrabě a kol., 2005; Čepl, 2005). Oproti jiným plodinám mají brambory středně vysoké nároky na vodu, ale poměrně hodně je ovlivňuje rozdělení srážek v průběhu roku. V době klíčení je potřeba vody nejnižší, během sázení má dostatek srážek naopak velmi příznivý vliv, neboť rostliny tvoří bohatý kořenový systém. V období od začátku vytváření pupat po fyziologickou zralost porostu jsou brambory citlivější na nedostatek půdní vláhy a týká se to všech odrůd (Čepl a kol., 2003). Souhrnné množství srážek pak také ovlivňuje celkový výnos. V první polovině vegetace působí a ovlivňují růst natě. Čím pozdější odrůda, tím později přichází ovlivnění počtu hlíz. Na počet hlíz má také vliv termín sázení a stanoviště. V druhé polovině vegetace srážky ovlivňují velikost hlíz (Gregory a Simmonds, 1992). Rybáčka a kol. (1988) uvádí, že nejvýhodnější podmínky pro pěstování brambor jsou takové, kdy roční úhrny srážek dosahují přibližně 700 mm, z čehož 400 mm připadne na vegetační období. Dále je vhodná průměrná roční teplota pohybující se v rozmezí 6 až 7,5 °C, v době vegetace pak mezi 12,5 až 13,6 °C. Celkový vodní režim, v součinnosti se vzdušným, je tedy v souhrnu ovlivněn půdou a srážkovou či závlahovou vodou. Na růst brambor může mít negativní vliv také proudění vzduchu. I v porostu, kde je menší horizontální proudění vzduchu a vyšší relativní vlhkost, se často mohou tvořit houbové choroby (Vokál a kol., 2004). Vlhkost půdy v hloubce 60 cm by se měla pohybovat v rozmezí 60-80 % (Mikula, 1997). Optimální poměr obou režimů závisí na vlastnostech půdy, zejména na půdním druhu a obsahu humusu v půdě (Minx a Diviš, 1994). Brambory jsou velmi citlivé na teplotu a existuje úzké rozmezí teplot, které brambory nepoškozuje (Vokál a kol., 2004). Dalším důležitým faktorem ovlivňující růst a vývin rostlin má viditelné záření o vlnové délce 400-750 nm (Procházka, 2007). UV-B záření má pravděpodobně účinky na rostliny a je více či méně přímým důsledkem buněčné

poškození způsobeného aberantními fotoproducty v makromolekulách, jako je například DNA a proteiny. Nejběžnější ochranný mechanismus proti potenciálně škodlivému vlivu ozáření je biosyntéza UV záření absorbující sloučeniny, které zahrnují různé třídy flavonoidů. Flavonoidy se hromadí ve vakuolách z epidermálních buněk, zmírňují UV složky slunečního světla s minimální absorpcí fotosynteticky aktivního záření. Flavonoidy jsou silné antioxidanty a většina flavonoidů překoná i antioxidanty, jako je askorbát a alfa-tokoferol, v testu in vitro (Pessarakli, 2010).

3.2.1 Stres suchem

Jak napovídá samotný název této práce, hlavní oblast zkoumání se týká toho, jaký význam má pro kvalitu brambor, respektive pro obsah vitamínu C a antioxidační aktivitu, stres suchem. Proto si v této části popíšeme, co se za těchto podmínek s rostlinou děje. Vlivem vodního stresu dochází v první řadě k poklesu funkce fotosyntézy. Nejdříve nastane uzavření průduchů v listech, po třech dnech pak dochází vlivem snížené kapacity mezofylu k potlačení fotosyntézy (Schapendonk a kol., 1989). Během stresu suchem jsou průduchy uzavírány tak, aby se zamezilo ztrátám vody a v důsledku toho je potom omezena koncentrace CO₂ v listu v mezofylové části tkáně. Například u rozmarýnu byl pokles vodního potenciálu na -3 MPa a relativní obsah vody na 42 %, který způsobil snížení maximální rychlosti denní asimilace CO₂ o 80 %. Pokles CO₂ vede k akumulaci NADPH (Nicotinamidinnukleotidfosfát). Také dochází vlivem nedostatku vody a jeho trvání ke změnám v antioxidační aktivitě enzymů. GR (glutathion reduktáza) aktivita v listech pšenice byla během sucha vyšší než v zavlažovaných rostlinách. Přejídné zvýšení SOD (superoxiddismutáza), APX (askorbát peroxidáza) a GR (glutathion reduktáza) činnosti došlo po 6 a 12 dnů po vyschnutí, respektive u Kostřavy a Lipnice luční, nicméně aktivita všech tří enzymů se snižuje s delším obdobím sucha. Například u sazenic *Vigna*, aktivita katalázy a obsah askorbátu klesala s rostoucím nedostatkem vody (-0,5 až -1,5 MPa). U mnoha druhů trav byl během sucha pozorován nárůst v celkovém obsahu glutathionu a vyloučení askorbátu. Koncentrace alfa-tokoferolu se zvýšila 15 násobně, dále pak karotenoidy cca o 26 % ve vodním stresu u rozmarýnu. Stejně tak v šalvěji a meduňce došlo k významnému zvýšení alfa-tokoferolu a úrovně askorbátu v chloroplastech [Pessarakli, 2010]. Odolnost vůči suchu lze rozdělit zhruba do tří kategorií: Za první na schopnost udržovat tkáňovou hydrataci nebo toleranci vůči suchu při vysokém

potenciálu vody. Za druhé na schopnost udržovat tkáňovou hydrataci nebo toleranci vůči suchu při nízkém potenciálu vody. A za třetí se rostlina snaží vyhnout suchu tím, že dokončí životní cykly před nástupem suchých období k udržení nějaké reprodukce. Tyto mechanismy se liší podle zeměpisné oblasti na základě půdních a klimatických podmínek (Shabala, 2012). Stefanelli a kol. (2010) rovněž vyslovují hypotézu, že vodní stres patrně stimuluje biosyntézu flavonoidů. Andre a kol. (2009) během svého výzkumu brambor přišli pro změnu na hromadění polyfenolů, karotenoidů a glykoalkaloidů vlivem sucha, a zároveň poukázali na závislost obsahu těchto látek zejména na odrůdě barevných brambor, která se liší odlišnou genovou expresí vyvolanou suchem. Při pozorování pěti původních andských odrůd získali výsledky, které však vycházely poměrně rozporupně. U některých odrůd nebyly anthokyaniny zjištěny, u dalších došlo k výraznému poklesu či nárůstu hodnot. Další výzkumy na podobné téma provedl i Hamouz a kol. (2011), a bylo při nich zjištěno, že v nížinné oblasti (178 m n. m.) s ročním úhrnem srážek 352 mm měly brambory vyšší obsah anthokyaninů než ve výše položené oblasti (460 m n. m.) s vyšším úhrnem srážek (417 mm). Na vyšší antioxidační aktivitu z více zavlažované lokality naproti tomu ukazovaly výzkumy, které provedli Rosenthal a Jansky (2008). Zvýšený obsah karotenoidů během období stresu suchem (v rostlině je méně vody) byl částečně objasněn jednoduchým koncentračním efektem a hraje podstatnou úlohu především v toleranci k suchu a ochraně před oxidativním poškozením. Nový trend v zavlažovacích strategiích je v současné době možné spatřovat v částečném zavlažování kořenové zóny, při které se šetří vodou a kořen je vystaven suché i mokré půdní zóně (Andre a kol., 2009). V roce 2007 a 2008 se tomuto tématu věnoval Jansen a Flamme (2006), kteří porovnávali antioxidační aktivitu u brambor při plném a částečném zavlažování kořenové zóny. Druhá metoda zavlažování se ukázala nejen jako úspěšnější v celkové spotřebě vody, kdy ji bylo na zavlažování použito o 33-42 % méně, ale zároveň byl potvrzen nárůst antioxidační aktivity. Právě této oblasti se bude věnovat i praktická část této práce, kde bude zkoumán vliv stresu suchem a dvou zavlažovacích metod na vybrané odrůdy bramborových hlíz.

3.3 Chemické složení hlíz

Chemické složení hlíz brambor je významné nejen z hlediska konzumace, ale také z důvodu jejich skladování a dalšího zpracování. Průměrné hodnoty chemického složení bramborových hlíz uvádí Tabulka 2. Jak bylo zmíněno již výše, všechny obsažené složky může ovlivňovat mnoho faktorů. Mezi ně patří zejména poloha a stanoviště pěstování, dále odrůda, složení půdy, místní klima či užívaná zemědělská praxe (Rivero a kol., 2003).

Tabulka 2 Chemické složení bramborových hlíz (Souci a kol., 2008)

| Složky brambor | | Množství v mg na 100 g jedlého podílu | Rozmezí |
|--------------------------|----------------------------|--|---------------|
| Hlavní složky brambor | Voda | 77 800 | 73 800-81 800 |
| | Celkový dusík | 330 | - |
| | Bílkoviny | 2 400 | 1 420-2 930 |
| | Tuky | 110 | 40 - 170 |
| | Sacharidy | 14 800 | - |
| | Organické kyseliny | 610 | - |
| | Minerální látky (celk.) | 1 020 | 600-1 300 |
| | Na | 2,7 | 0,8-5,2 |
| | K | 418 | 340-600 |
| | Mg | 21 | 17-32 |
| | Ca | 6,4 | 5,6-18 |
| | P | 50 | 35-79 |
| | Fe | 0,434 | 0,118-1,5 |
| | Zn | 0,344 | 0,289-0,450 |
| Vitaminy | Askorbová kyselina | 17 | 10-40 |
| | Thiamin | 0,110 | 0,068-0,140 |
| | Riboflavin | 0,047 | 0,030-0,75 |

| | | | |
|---------------|--------------------|-----|-----------|
| | Niacin | 1,2 | 0,8 – 1,6 |
| Aminokyseliny | Asparagová kys. | 430 | - |
| | Glutamová kyselina | 460 | - |
| | Asparagin | 890 | - |
| | Glutamin | 380 | - |

Bramborová hlíza obsahuje v průměru 23-24 % sušiny, zbylou část tvoří voda. Procento sušiny je dáno pěstovanou odrůdou, stupněm vývoje hlíz, důležitou roli hrají rovněž povětrnostní podmínky a použitá pěstitelská technologie. Z důvodu převažujícího množství vody, které kolísá v rozmezí 70-80 % čerstvé hmoty, jsou brambory mnohem citlivější na podmínky skladování a například oproti obilovinám se mnohem častěji kazí (Chloupek a kol., 2005).

Významnou složku sušiny brambor tvoří škrob. Samotný obsah je v hlíze fixován geneticky a důležitá je tak zejména jejich odrůda. Obsah škrobu se rovněž zvyšuje, pokud se prodlouží doba vegetace. Odrůdy brambor, které jsou určeny pro přímou konzumaci, ho obsahují 11-16 % (někdy i více), limitní hodnota obsahu u brambor určených pro zpracovatelský průmysl je pak stanovena na 18 %. Škrob má v rostlinném organismu funkci hlavní zásobní látky, protože je pohotovým zdrojem glukózy (Velíšek, 2002).

Další složku brambor, ve výši cca 2 % čerstvé hmoty, tvoří dusíkaté látky (v případě sušiny je to asi 10 %). Obsah tuku je téměř zanedbatelný (0,1-0,2 % čerstvé hmoty) a jeho množství je stálé. Nejvíce je ho obsaženo ve slupce (Jůzl a kol., 2005). Většinu tvoří nenasycené mastné kyseliny a to kyselina linolová, α -linolenová, palmitová a stearová. Tyto zde mají funkci především jako nositelé chuti brambor. Jejich význam se projevuje zejména u sušených výrobků, jelikož tuky se zde díky sušení koncentrují a při nevhodném skladování takto ošetřených výrobků může dojít k jejich znehodnocení v důsledku nežádoucí změny vůně a chuti (Míča, 1995).

Dále jsou to vitaminy, díky kterým lze brambory řadit mezi potraviny zvláštního významu. V bramborách se ve větší míře vyskytuje vitamin C (10-30 mg ve 100 g čerstvé hmoty) a vitaminy skupiny B jako je thiamin (vitamin B1), riboflavin

(vitamin B2) a nikotinamid (vitamin PP, synonymum pro vitamin B3). Obsah těchto vitaminů ovlivňuje čas a podmínky skladování brambor, dále pak jejich konečná kuchyňská úprava.

V bramborách byly rovněž prokázány karotenoidy (provitaminy A), tokoferol (vitamin E) a vitamin K. Všechny tyto se řadí k vitaminům rozpustným v tucích. Z vitaminů rozpustných ve vodě je to dále pyridoxin (vitamin B6), kyselina pantotenová (vitamin B5) a další. Velký rozptyl obsahu vitaminů je zapříčiněn především odrůdou brambor a vliv má rovněž počasí. Vitaminy jsou soustředěny především v dužnině hlíz, kolem cévních svazků, méně se vyskytují naopak pod slupkou (Brown, 2004).

Také minerální látky jsou v hlíze nerovnoměrně rozloženy a představují komplex mnoha prvků. Část minerálních látek slouží jako esenciální katalyzátory metabolismu v rostlině, další jsou v hlízách obsaženy pouze z toho důvodu, že byly přítomny v půdním roztoku s esenciálními prvky. Průměrný obsah minerálních látek v bramborových hlízách je 1,1 % (Bárta a kol., 2008). Nejvýznamnějším minerálním prvkem obsaženým v hlízách brambor je draslík (1,7-2,02 % sušiny). Ve větší míře jsou zastoupeny ještě hořčík, železo a fosfor.

Dále hlízy bramboru obsahují ještě antioxidanty, organické kyseliny, aromatické látky, fenoly aj. Mimo nutričně významných látek však v bramborách najdeme i některé látky nežádoucí, škodlivé či cizorodé, rovněž pak látky ovlivňující jakost potravin (Storey, 2007).

Tímto názvem bývají souhrnně označovány glykoalkaloidy obsažené v hlízách brambor. Jedná se o celou skupinu příbuzných látek. V bramborách jich lze nalézt deset a některé se vyskytují v celé rostlině. Jsou součástí obranných mechanismů proti škůdcům ať již mikrobiálním (hniloby, plísně), či hmyzím (mandelinka bramborová), ale také vůči býložravcům. Asi nejznámější je solanin. Nejvíce solaninu obsahují květy a klíčky. Pokud jde o hlízy, solanin se koncentruje do slupky a těsně pod její povrch. Konzumní brambory obsahují hlavně α -solanin a α -chaconin, které zastupují až 95 % všech přítomných glykoalkaloidů. Samotné množství glykoalkaloidů v hlízách ovlivňuje mnoho činitelů. Patří mezi ně například ročník, odrůda, stanoviště nebo technologie pěstování. Jejich obsah se zvyšuje také u mechanicky poškozených hlíz, u brambor naklíčených a zelených (Kalač, 1992).

Průměrně se hladiny solaninu pohybují v rozmezí 3-15 mg na 100 g neloupaných hlíz. Množství přesahující 20 mg obsahu se již považuje za toxické. V současné době dosáhnou pěstované odrůdy této hranice pouze ve zvláštních případech. Pro člověka bývá toxická dávka pohybující se v oblasti 5 mg solaninu na kilogram tělesné hmotnosti a smrtelná je pak hladina mezi 3-6 mg/kg tělesné hmotnosti. Glykoalkaloidy jsou značně termostabilní, jejich obsah při kuchyňském zpracování lze však snížit zejména oloupáním, a to v průměru o 50 % (Míča, 1991).

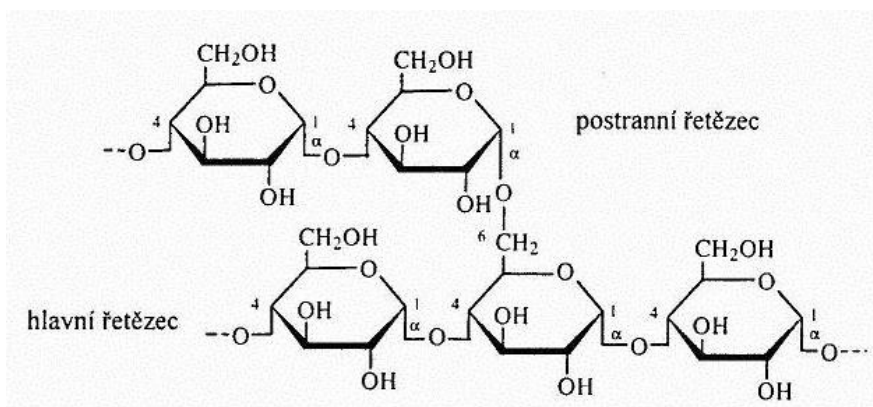
Dále je vhodné zmínit kalysteginy, což jsou nortropanové alkaloidy. Jejich koncentrace jsou proměnlivé nejen u jednotlivých rostlin, ale i v rámci jedné rostliny. Největší zastoupení má kalystegin B₂. Nejvyšší koncentrace lze pak nalézt v mladých tkáních, což u brambor znamená v klíčcích (více než 3 mg/g čerstvé hmoty). Kořeny a nadzemní části rostlin dosahují mnohem nižších hodnot (Jůzl a kol., 2008).

3.3.1 Sacharidy

Škrob tvoří hlavní složku sušiny brambor. Je nehomogenní látkou, kterou tvoří z 80 % amylopektin na Obrázku 1 a z 20 % amylosa. Škrob vytváří nejen energetickou hodnotu brambor, ale vstupuje také do reakcí při jejich zpracování. Základní stavební jednotkou obou polymerních látek je α -D-glukóza, ovšem obě složky se liší jak velikostí, tak i uspořádáním D-glukózových řetězců, ze kterých pak vyplývají rozdílné fyzikálně-chemické vlastnosti (Chloupek a kol., 2005).

Škrob funguje v rostlinách jako hlavní zásobní látka, je totiž pohotovou zásobou glukózy. Buňky bramborových hlíz obsahují škrob ve dvou podobách. První formou jsou škrobová zrna, mající tvar lastury ve velikost 15-50 μ m, druhou formou jsou amyloplasty. Rozmístění škrobu v hlíze je nerovnoměrné, nejvíce koncentrován je v oblasti centrálního kruhu cévních svazků.

Množství škrobu v hlíze je proměnlivé, vliv má zejména pěstovaná odrůda a způsob samotného pěstování. Mezi dalšími polysacharidy, které se vyskytují v bramborách a podílejí se především na tvorbě buněčných stěn, můžeme jmenovat celulozu, hemicelulozu, pentozany a pektiny (Schulzová a Hubert, 2004).



Obrázek 1 Amylopektin (Velíšek, 2002)

3.3.2 Bílkoviny

K nejhodnotnějším bílkovinám rostlinného původu se řadí bílkoviny brambor (Vokál a kol., 2004). Proteinová kvalita se u nich pohybuje kolem 70 % kvality bílkoviny vaječné (Lister a Munro, 2000). Porovnání je zachyceno v Tabulce 3. Vzhledem k tomu, že v hlízách brambor je obsah dusíkatých látek nízký, nejsou bílkoviny v bramborách většinou příliš reflektovány. Střední hodnota obsahu dusíkatých látek bývá uváděna okolo 2 % čerstvé hmoty bramborových hlíz, tzn. asi 10 % v sušině. Podíl bílkovin na obsahu dusíkatých látek se pohybuje v poměrně velkém rozpětí, mezi 34 až 70 %, a to zejména v závislosti na genotypu a podmínkách prostředí.

Bílkoviny bramboru lze na základě molekulové hmotnosti dělit na tři hlavní skupiny:

- patatin (patatinový komplex)
- inhibitory proteáz
- ostatní bílkoviny (zejména s enzymovou účastí na syntéze škrobu)

Patatin má funkci hlavní zásobní bílkoviny a je to vlastně skupina imunologicky identických glykoproteinů o molekulové hmotnosti 40-43 kDa. Pravděpodobně se také zúčastňuje obranných mechanismů rostliny. Tvoří asi 20-40 % z celkových extrahovatelných proteinů z bramborových hlíz (Bárta a Bártová, 2008).

Z pohledu nutričního dosahují bílkoviny brambor vysokých hodnot a dá se říci, že mají i velmi dobrou skladbu aminokyselin s vysokým podílem lyzinu. Za limitující lze považovat sирné aminokyseliny, hlavně methionin, cystein a potenciálně také isoleucin.

V souvislosti s bílkovinami je nutné zmínit nebezpečí vzniku akrylamidu, který je klasifikován jako potenciální lidský karcinogen způsobující neurologické změny u člověka a jedná se o prokázaný karcinogen laboratorních hlodavců (Abramsson–Zetterberg, 2003). Při tepelné úpravě potravin s vysokým obsahem škrobu dochází ke vzniku akrylamidu v případě, kdy je přítomen v dostatečném množství jeho prekurzor, což je u brambor asparagin. Akrylamid vzniká v potravinách vystavených při zpracování teplotám vyšším než 100 °C tzv. Maillardovou reakcí (Yaylayan a kol., 2003).

Tabulka 3 Obsah esenciálních aminokyselin v bílkovinách bramborových hlíz (Burton, 1989; Bárta a Čurn, 2004)

| Aminokyselina | Obsah mg/100 g čerstvé hmoty | Brambory – prům. hodnoty (v %) | Standardní vaječná bílkovina (v %) | Aminokyselino vé skóre (v %) |
|---------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| Isoleucin | 102 | 5,1 | 6,3 | 81,0 |
| Leucin | 151 | 8,1 | 8,8 | 92,0 |
| Lyzin | 154 | 6,6 | 7,0 | 94,3 |
| Methionin | 40 | 2,8 | 5,8 | 48,3 |
| Fenylalanin | 112 | 10,8 | 10,1 | 106,7 |
| Threonin | 91 | 4,7 | 5,1 | 92,2 |
| Tryptofan | 39 | 1,5 | 1,6 | 93,8 |
| Valin | 143 | 5,5 | 6,8 | 80,9 |

3.3.3 Lipidy

Zastoupení lipidů v hlízách brambor je velice nízké, obsahují pouze 0,1 % jejich objemu. Patří k nim volné mastné kyseliny, neutrální lipidy a fosfolipidy. Mezi nejvýznamnější mastné kyseliny, které jsou součástí lipidů brambor, řadíme kyselinu linolovou, linolenovou, palmitovou a stearovou (Zrůst a Vokál, 1998).

3.4 Antioxidanty

Antioxidanty obecně můžeme rozčlenit dle jejich původu na přírodní nebo syntetické. Přírodní antioxidanty jsou přijímány v potravě z přírodních zdrojů a za syntetické antioxidanty považujeme ty, které jsou záměrně přidávány do potravin v průběhu výroby. Velmi významné syntetické antioxidanty jsou galláty, které se přidávají za účelem zabránění žluknutí do rostlinných olejů a margarínů. Existují také monofenolové antioxidanty (Velíšek, 1999).

Přírodní antioxidanty jsou antioxidanty obsažené především v rostlinách. V menší míře se pak jedná i o antioxidanty živočišného a mikrobiálního původu. Z pohledu chemické struktury mohou být děleny na polyfenoly (flavonoidy, anthokyany, fenolkarboxylové kyseliny a kumariny), karotenoidy (karoteny–prekursory vitamínu A a xanthofyly) a tokoferoly (vitamin E).

Rostlinné antioxidanty jsou především polyfenolické sloučeniny, obvyklé u vyšších rostlin. Dají se rozdělit na flavonoidy, kumariny, vysokomolekulární taniny a fenolické kyseliny.

Flavonoidy mají strukturu odvozenou od difenylpyranů a jsou hydroxylovány v polohách 3, 5, 7, 3', 4' a 5'. Podle přítomnosti nebo nepřítomnosti hydroxylové skupiny v poloze 3 se určuje jejich rozdělení na dvě hlavní podskupiny:

- 3–hydroxyflavony (flavonoly, flavanonoly, katechyny)
- Flavonoidy, u kterých hydroxylová skupina v poloze 3 chybí (flavony a flavanony).

Brambory patří k nejdůležitějším zdrojům antioxidantů v lidské stravě a díky jejich časté konzumaci bývají nejvýznamnějšími rostlinnými produkty, které zabezpečují jejich potřebný denní příjem (Al-Saikhani a kol., 1995).

Ve Francii se mezi ostatní zeleninou podílí hlízy brambor na zajištění průměrného denního příjmu polyfenolů ze 45 % a to opět zejména díky jejich vysoké míře spotřeby (17,8 mg GAE-ekvivalentu kyseliny galové na den). Na druhé pozici jsou následovány rajčaty (Brat a kol., 2006). Podobně uvádí i Vinson (1996), že v USA se hlízy brambor podílí na zajištění průměrného denního příjmu cca 64 mg polyfenolů na jednu osobu a patří jim tak tentokrát druhé místo za rajčaty. Ze všech antioxidantů pak brambory vykazují nejvyšší obsah polyfenolů (1226-4405 mg/kg) a askorbové kyseliny (170-990 mg/kg). Z dalších antioxidantů zde můžeme dále najít karotenoidy (až 4-4,5 mg/kg), α -tokoferol (0,5-2,8 mg/kg), v menším množství pak i selen (0,01 mg/kg) či kyselinu α -lipoovou (Storey, 2007).

3.4.1 Karotenoidy

Karotenoidy jsou významná přírodní barviva. Jde o fytochemikálie působící jako antioxidanty chránící před některými druhy rakoviny. Působí jako ochrana před ultrafialovými paprsky slunečního záření i dalšími druhy, které mohou rakovinu způsobovat (Mindell a Mundis, 2006).

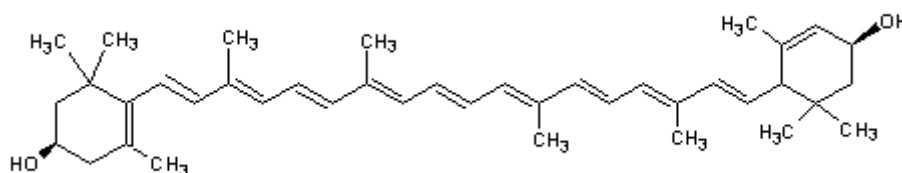
Mimo antioxidantní aktivity mají karotenoidy v lidské výživě významnou provitaminovou funkci. Asi 50 karotenoidních sloučenin jsou provitaminy vitamínu A. Aby karotenoidy mohly plnit zmíněnou provitaminovou funkci, je nutné, aby obsahovaly nejméně jeden nesubstituovaný β -iononový kruh na konci molekuly prekursoru. Nejznámějším, nejvýznamnějším a nejrozšířenějším provitaminem A je β -karoten (Kotíková a kol., 2007).

Karotenoidy se chemickou strukturou řadí mezi tetraterpeny a jsou rovněž lipidovými sloučeninami. Vyskytují se v rostlinách, kde se druhotně zúčastňují fotosyntézy, ale i v živočišných organismech. Rozdělují se na uhlovodíky-karoteny žlutooranžové barvy a jejich kyslíkaté deriváty xantofyly, které jsou žlutozelené.

Například v mrkvi jsou obsaženy hned tři karoteny, v rajčatech se nachází lykopen a v paprice kapsanthin.

Dále se karotenoidy dělí na primární a sekundární. Primární se nacházejí v zelených částech rostlin, kde slouží jako ochrana před slunečním zářením. Jako sekundární označujeme ty v barvivech květů či plodů. Zde slouží především k lákání opylovačů a roznašečů semen. Živočichové je na rozdíl od rostlin, řas, hub a mikroorganismů nedokáží syntetizovat. Musí je přijímat potravou a ve svém organismu je pouze ukládají nebo chemicky přeměňují (Kalač, 2003).

Obsah karotenoidů v bramborách se uvádí v rozmezí 0,5-1 mg/kg u bílých až světle žlutých odrůd, 1-3,5 mg/kg u středně žlutých odrůd a do 20 mg/kg u tmavožlutých až oranžových odrůd (Brown a kol., 2008). Brown (2005) uvádí jako majoritní karotenoidy brambor lutein na Obrázku 2, violaxanthin a zeaxanthin. Další autoři stanovili, že v hlízách lze nalézt také antheraxanthin, neoxanthin a β -cryptoxanthin (Breithaupt a Bamedi, 2002). Uvedené karotenoidy se řadí do skupiny oxidačních produktů karotenů tzv. xantofylů, které ovšem nemají funkci provitaminu A (Velíšek a Hajšlová, 2009b). Brown (2005) ještě dále uvádí, že v hlízách je ve stopových množstvích i β -karoten a α -karoten. Brambory přijímané prostřednictvím stravy lze považovat za kvalitní zdroj xantofylů, jež jsou u člověka součástí sítnice oka. Na straně druhé jsou ovšem jen nepatrným zdrojem provitaminu A (Brown a kol., 2007). Karotenoidy jsou také obsaženy v barevných odrůdách brambor, jejich obsah je ovšem snižován ve prospěch obsahu anthokyanů (Brown a kol., 2007).



Obrázek 2 Lutein (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

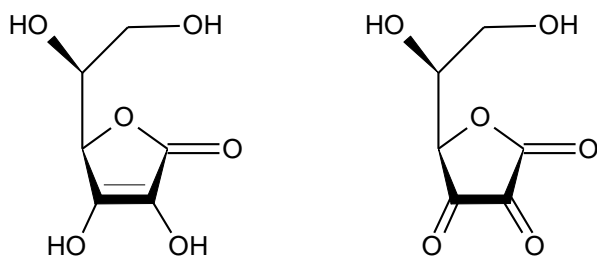
3.4.2 Askorbová kyselina

3.4.2.1 Vznik askorbové kyseliny

Kyselina L–askorbová je obvykle známá jako vitamin C. Je to γ –lakton hexonové kyseliny s endiolovou strukturou na druhém a třetím uhlíku. Odvozuje se od několika různých hexoz (Hoza a Kramářová, 2006). U kyseliny L–askorbové probíhá biosyntéza přes kyselinu D–glukuronovou, dále její redukci na kyselinu L–gulonovou vzniká lakton. Enzym L–gulonlaktonoxidáza oxiduje lakton na 3–keto–L–gulonolakton, potom následuje enolizace na kyselinu L–askorbovou (Velíšek, 1999).

3.4.2.2 Chemická struktura vitaminu C

Komerčně známý vitamin C se mnohdy skládá ze směsi askorbové kyseliny, askorbátu sodného nebo dalších askorbátů (Velíšek, 1999). Konkrétně tedy zahrnuje navíc její kyselinu L–monodehydro–askorbovou a kyselinu L–dehydroaskorbovou na Obrázku 3 [Hoza a Kramářová, 2006]. Aktivitu vitaminu C vykazují 2 formy askorbové kyseliny na Obrázku 3, L–askorbová a L–dehydroaskorbová kyselina (Burgos a kol., 2009). Vitamin C je velmi dobře rozpustný ve vodě. V neutrálním, kyselém a alkalickém prostředí za katalytického působení těžkých kovů (Cu, Fe) podléhá lehce oxidaci za tvorby již uvedené kyseliny L–dehydroaskorbové. Jako katalyzátory této reakce působí enzymy, jako jsou peroxidasa, askorbasa nebo cytochromoxidasa. Přenos elektronů je reverzibilní, dokud se nenaruší kruhová struktura kyseliny L–dehydroaskorbové. Jestliže nastane její hydrolytické rozštěpení, vzniká kyselina 2, 3–dioxo–L–gulonová (Hoza a Kramářová, 2006).



Obrázek 3 L–askorbová a L–dehydroaskorbová kyselina Kyselina chlorogenová (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

3.4.2.3 Reakce kyseliny askorbové s volnými radikály

Kyselina askorbová spolu s jejími isomery i deriváty mohou reagovat také s volnými radikály. Tato reakce způsobuje zbrzdění oxidačních pochodů a působí tak podobně jako ostatní antioxidanty. V obecné rovině je pak účinnějším antioxidantem v případě, zkombinuje-li se s tokoferoly. Ty totiž jako první reagují s volnými radikály lipidů, vzniklé radikály tokoferolů jsou pak na fázovém rozhraní tuk–voda redukovány zpět na tokoferoly právě pomocí kyseliny askorbové. Askorbát reaguje podobně také s toxickými formami kyslíku, jako je hydroxylový radikál (HO•), anion superoxidového radikálu (O₂•) a singletový kyslík (1O₂). Všechny zmíněné reakce, tedy kromě oxidačních pochodů, současně zpomalují i oxidaci lipidů (Velíšek, 1999).

3.4.2.4 Askorbová kyselina v bramborách

Pokud jde o askorbovou kyselinu, tak brambory neobsahují příliš vysoké množství tohoto vitamínu (asi 80-400 mg/kg č. hm.), ale protože jsou brambory častou složkou jídelníčku, je tento zdroj pro člověka významný. Je však třeba zmínit, že obsah vitamínu během delšího uskladnění poměrně výrazně klesá. Během prvních třech měsíců skladování to může být o 30-40 %, vyšší pokles je pak logicky u odrůd s vyšším přirozeným obsahem vitamínu C (Tudela a kol., 2002). Pokusy bylo například zjištěno, že v hlízách křížence *Solanum phureja* × *Solanum tuberosum* bylo po skladování obsaženo dvojnásobné množství vitamínu C v porovnání s odrůdami *Solanum tuberosum* (Storey, 2007). Díky konzumaci brambor pokrývá člověk v dnešní době průměrně téměř 30 % své potřeby vitamínu C (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Denní doporučená dávka vitamínu C pro dospělé je 45-60 mg, v USA a v Evropě se průměrný denní příjem pohybuje v rozmezí 73-86 mg, naopak v rozvojových zemích je nižší než 8,2 mg na osobu a den (Love a Pavek, 2008).

Kyselina L–askorbová je významným ukazatelem nutriční jakosti brambor. Uplatňuje se v biologických systémech jako přenašeč elektronů v oxidačně redukčních systémech a má antioxidantní účinky (Burgos a kol., 2009).

3.4.2.5 Faktory ovlivňující obsah askorbové kyseliny v bramborách

Obsah askorbové kyseliny v bramborových hlízách ovlivňuje mnoho faktorů. Nejvýznamnějšími jsou odrůda, rok a způsob pěstování, klimatické podmínky, stupeň zralosti, způsob sklizně či skladování. Nejvyšší hladinu vitamínu C obsahuje střední část dužniny, nejméně je ho pak v okolí slupky (Storey, 2007). Jeho obsah dále ovlivňuje také stanoviště. Více vitamínu C lze najít v plodinách pěstovaných v suchých a teplejších podmínkách, nejlépe pak ještě na lehčích půdách (Lachman a kol., 2006). Záporný vliv na obsah kyseliny askorbové mají naopak vysoké dávky dusíkatého hnojení (Prugar a kol., 2008). Teplo však odbourávání vitamínu C také urychluje. Tomu napomáhají speciální enzymy, které jsou zvláště účinné při teplotách kolem 40 °C, při 70 °C již ale dochází k jejich inaktivaci (Combs a Gerald, 2012). Leskova a kol. (2006) uvádí, že při rychlém a pečlivém zmrazení lze ztráty vitamínu udržet relativně nízké, takže hluboko zmrazená zelenina často vykazuje více vitamínu C než čerstvé ovoce a zelenina, které je skladováno mnohem kratší dobu. Obsah však klesá také vlivem jejich kuchyňské úpravy. Například Burgos a kol. (2009) uvádí, že vařením si brambory uchovávají vyšší obsah vitamínu C než při pečení. Stejný poznatek uvádí i Lachman a kol. (2000), který tvrdí, že ve vařených bramborách zůstává obsah vitamínu C poměrně vysoký, průměrně 130 mg/kg. Nejvyšší obsah vitamínu C pak zůstává v bramborách, které jsou vařené ve slupce (Brown, 2005). Oloupaním brambor se totiž sníží obsah vitamínu C o 30 až 50 % (Leskova a kol., 2006). Míča (1995) také uvádí, že vaření brambor v tlakovém hrnci je jedním ze způsobů s nejmenšími ztrátami kyseliny askorbové (10-15 %). Při vaření ve vodě se ztráty zvyšují o 10 %. Pokud se brambory kladou až do vroucí vody, jsou ztráty o více než 20 % menší v porovnání s vložením do vody studené. Při úpravě hlíz v mikrovlnné troubě jsou ztráty 25 %, při pečení (restování) 20-45 %, u smažených lupínků 35-50 %. Vařené hlízy by měly být konzumovány nejlépe ihned, neboť i po uvaření dochází v průběhu času k dalším ztrátám askorbové kyseliny.

Askorbová kyselina je také hlavním přírodním inhibitorem hnědnutí brambor. Je zodpovědná za redukci primárních produktů oxidace o-chinonů zpět na o-difenoly. Kyselina L-dehydroaskorbová se zúčastňuje i na Streckeho degradaci. Těmito reakcemi se vysvětluje zapojení kyseliny L-dehydroaskorbové do reakcí neenzymového hnědnutí, hlavně při tepelné úpravě zeleniny a ovoce. Do potravin se na zpomalení

autooxidace aplikuje jako antioxidant ve volné formě nebo ve formě sodné soli, do potravin tukového charakteru pak ve formě esteru s kyselinou palmitovou. Na retenci kyseliny L–askorbové má vliv celá řada faktorů jako je pH, způsob technologického opracování, skladování, teplota, množství kyslíku, přítomnost kovových kationů. Termodestrukce kyseliny L–askorbové nastává při teplotě nad 100 °C (Lachman a kol., 2000).

3.4.3 Polyfenoly

Další rozšířenou skupinou antioxidantů jsou polyfenoly. Ty lze řadit mezi sekundární metabolity a jsou významné především z hlediska ochrany rostlin před napadením bakteriemi, houbami a viry. Uplatnění mají v tomto případě zejména oxidační produkty těchto sloučenin (Lachman a kol., 2000).

Rostlinné polyfenoly jsou látky rozšířené téměř ve všech rostlinách, převážně v listech, květech, semenech, plodech, v patologických útvarech, a najít je můžeme také v produktech rostlinného původu jako je med, propolis či víno. V hlízách brambor jsou fenolické kyseliny akumulovány především ve slupce a jsou zapojeny do obranných mechanismů rostliny, jak bylo již uvedeno obecně výše (Rodriguez–Saona a kol., 1998).

Skupina polyfenolů zahrnuje rozsáhlou a různorodou škálu sloučenin od jednoduchých fenolických kyselin až po vysokopolymerizované taniny. Dosud je známo více než osm tisíc fenolických látek, ale jen několik set z nich bylo identifikováno v jedlých částech rostlin (Timoracká a kol., 2008). Následující Tabulka 4 zachycuje rozdělení polyfenolů tak, jak ho uvádí Parkányiová a kol. (2003).

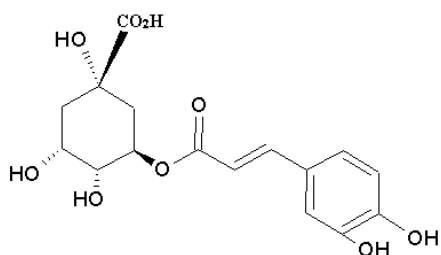
Tabulka 4 Rozdělení polyfenolů (Parkányiová a kol., 2003)

| Třída polyfenolů | Zástupci |
|---------------------------|------------------------------------|
| Flavonoidy | |
| Flavonoly | kvercetin, kemferol |
| Flavony | luteolin, apigenin |
| Flavan-3-oly | Katechiny |
| Flavanony | naringenin, hesperetin |
| Izoflavony | daidzein, genistein |
| Antokyanidiny | Kyanidin |
| Polyfenolové kyseliny | |
| Hydroxybenzoové kyseliny | kyselina swingová |
| Hydroxyskořicové kyseliny | kyselina ferulová, kyselina kávová |
| Stilbeny | <i>trans-resveratrol</i> |
| Lignany | secoizolariciresinol, matairesinol |

V hlízách bramboru je nejvíce zastoupena kyselina chlorogenová na Obrázku 4, která zaujímá až 90 % z celkového obsahu polyfenolů. Bylo identifikováno několik izomerů této kyseliny, jedná se o kyselinu isochlorogenovou, neochlorogenovou a kryptochlorogenovou. Kyselina chlorogenová je za běžných laboratorních podmínek v roztoku nestálá, rozkládá se na kyselinu chinovou a kávovou a také izomeruje. Navarre a kol. (2010) uvádí u raných odrůd brambor vyšší obsah kyseliny chlorogenové i některých dalších fytonutrientů a to v porovnání s odrůdami pozdními.

V hlízách byl také zjištěn nízký obsah rutinu, quercetinu, myricetinu, naringeninu, kemferolu a několika dalších flavonoidů (Reyes a kol., 2005).

Navarre a kol. (2011) pak uvádí mezi nejvíce zastoupenými flavonoly v bramborách rutin a kemferol-3-rutinosid.



Obrázek 4 Kyselina chlorogenová (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

V hlízách brambor jsou polyfenolické sloučeniny asi z 50 % obsaženy ve slupkách a přilehlých tkáních (kortex + pokožka), směrem do středu hlízy pak koncentrace těchto antioxidantů klesá. Hladiny kyseliny chlorogenové v jednotlivých částech rostliny jsou, jak píše Friedman (1997), uvedeny v následující Tabulce 5.

Tabulka 5 Hladiny kyseliny chlorogenové v jednotlivých částech rostliny *Solanum tuberosum* (Friedman, 1997)

| Část rostliny | Obsah kyseliny chlorogenové v mg.kg ⁻¹ |
|---------------|---|
| Hlízy | 173,6 ± 11,9 |
| Kořeny | 263,4 ± 8,2 |
| Listy | 2 235,3 ± 9,5 |
| Klíčky | 7 540,6 ± 251,7 |

Celkové hladiny polyfenolů v hlízách bramboru jsou rovněž nejvíce závislé na pěstované odrůdě, sekundárně má pak vliv i lokalita pěstování. Leo a kol. (2008) uvádí nejvyšší antioxidační aktivitu i celkový obsah polyfenolů u brambor s fialovou dužninou, následují brambory s dužninou červenou a teprve pak odrůdy žlutomasé. Výběry s podobnou barvou dužniny se průkazně nelišily z hlediska antioxidační aktivity ani celkových polyfenolů, mezi antioxidační aktivitou a celkovými polyfenoly byla zjištěna vysoce průkazná lineární korelace.

Hamouz a kol. (1999) také uvádí rozdíly v obsahu celkových polyfenolů v závislosti na způsobu pěstování. V tomto případě byly sledovány odlišnosti mezi ekologickou a konvenční produkcí. U brambor z ekologického způsobu pěstování bylo během tří let zjištěno, že jejich hlízy obsahují více celkových polyfenolů než brambory pěstované konvenční technologií.

Vliv na obsah polyfenolických sloučenin v hlízách brambor má i způsob jejich skladování. Nižší skladovací teploty zajišťují vyšší obsah polyfenolů. Při vyšších teplotách se totiž aktivizuje enzym polyfenoloxidáza (PPO), který urychluje transformaci polyfenolů na polymerní pigmenty. Dalším faktorem určujícím množství polyfenolů v hlízách brambor je světlo. Pokud jsou brambory vystaveny světelné expozici, zvyšuje se u nich koncentrace kyseliny chlorogenové, dochází k biosyntéze chlorofylu a výsledným barevným projevem je poté zelenání bramborových hlíz. Při uchovávání ve tmě dochází k mnohem mírnějšímu nárůstu obsahu této kyseliny (Friedman, 1997)

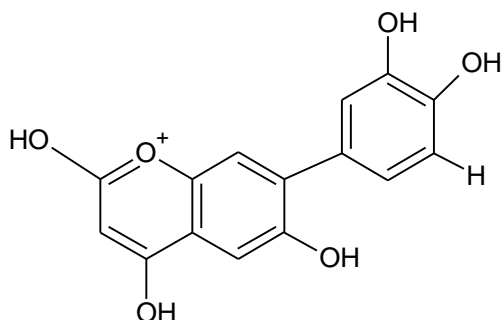
Polyfenolické látky jsou spoluzodpovědné za typické nežádoucí barevné změny dužniny (tmavnutí či hnědé až šedé zbarvení) během zpracování brambor, což nebývá konzumenty vnímáno příliš pozitivně. Na změnách barvy při zpracování se podílejí mechanismy, jako je enzymové hnědnutí (v případě syrových brambor), neenzymové hnědnutí (tepelná úprava brambor) či tmavnutí po uvaření (Voldřich a kol., 1996; Friedman, 1997).

Polyfenolické sloučeniny vykazují také účinky antimutagenní, antiglykemické, antikarcinogenní a antimikrobiologické, snižují dokonce i hladinu cholesterolu. Po zjištění příznivých zdravotních účinků polyfenolů se v současné době stále více výzkumů věnuje i možnostem uchovávání či zvyšování jejich obsahu v plodinách (Friedman, 1997).

3.4.4 Anthokyany

Anthokyaniny jsou nejrozšířenější a nejvýznamnější skupinou rostlinných barviv. Patří do skupiny flavonoidů, které jsou známé pro své antioxidační působení. Jsou to vodorozpustné pigmenty, které se nacházejí ve vakuolách některých buněk.

V rostlinách se vyskytují ve formě glykosidů. Barevnost těchto pigmentů závisí na faktorech jako např. pH, množství Fe nebo Al. V alkalickém prostředí modrají, v kyselém se zbarvují do červena (Velíšek, 1999). Nejběžnějším zástupcem anthokyanů je cyanidin na Obrázku 5.



Obrázek 5 Cyanidin (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

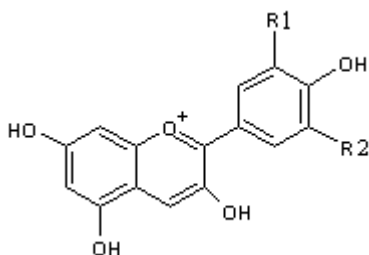
Glykosidy anthokyanidinů se nazývají Anthokyaniny. Všechny anthokyanidiny jsou odvozeny od struktury flavyliového (2-fenylbenzylpyryliového) kationtu. Jednotlivé formy se od sebe liší počtem hydroxylových skupin a stupněm jejich metylace (Galvano a kol., 2004).

V literatuře se uvádí, že v přírodě existuje celkem 17 různých anthokyanidinů, význam v potravinách jich má však pouze 6, což je shrnuto v Tabulce 6. Liší se svým zbarvením i zastoupením v různých rostlinách. Podle latinských názvů rostlin bývají rovněž pojmenovány (Velíšek a Hajšlová, 2009b).

Následující Obrázek 6 také zachycuje obecné schéma nejběžnějších anthokyanidinů. Glykosilace bývá vždy v poloze 3 a součástí molekuly anthokyanů je pět následujících sacharidů: D-glukosa, L-rhamnosa, D-galaktosa, D-xylosa a L-arabinosa.

Tabulka 6 Majoritní anthokyanidiny v potravinách (Velíšek a Hajšlová, 2009b)

| Anthokyanidin | Barva | Rostlina, v níž je obsažen | Latinský název |
|----------------------|-----------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Cyanidin | Fialový | Chřpa | <i>Cyanus</i> spp |
| Pelargonidin | Šarlatový | Pelargonie | <i>Pelargonium</i> spp. |
| Peonidin | Fialový | Pivoňka | <i>Paeonia</i> spp. |
| Delfinidin | Purpurově modrý | Stračka | <i>Delphinium</i> spp. |
| Petunidin | Purpurově modrý | Petunie | <i>Petunia</i> spp. |
| Malvidin | Purpurový | Sléz | <i>Malva</i> spp. |

**Obrázek 6** Obecné schéma nejběžnějších anthokyanidinů (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

Anthokyanová barviva jsou další významnou skupinou látek, které vykazují silnou antioxidační aktivitu, neutralizují volné radikály a chrání tak organismus před poškozením (Lachman a kol., 2009). Do dnešní doby bylo identifikováno více než 500 různých anthokyanů. V závislosti na pH existují jak barevné, tak nebarevné formy. Nachází se především v ovoci a zelenině. Mezi nejbohatší zdroje patří drobné ovoce jako brusinka, borůvka, ostružina, černý rybíz, malina, jahoda nebo hrozny vinné révy. Vyskytují se zejména ve slupkách, s výjimkou některého červeného ovoce, jako jsou např. jahody či třešně, u kterých se nacházejí v dužině. Dále je můžeme nalézt v červeném víně, některých obilovinách, některé kořenové a listové zelenině

(Hrnčířová, 2011). Ve větší míře jsou obsaženy také v odrůdách brambor s červenou nebo fialovou dužinou. V porovnání s bramborami s bílou dužinou je u nich hladina antioxidantů dvakrát až třikrát vyšší (Jůzl a Jůzl ml., 2006).

Pokud jde o hlízy brambor, pigmentována může být samotná slupka nebo může být částečně či úplně pigmentována i dužnina. Nejvíce anthokyanů je obsaženo v tenké fialové zóně v dužnině, 5-10 mm od povrchu hlízy (Fossen a kol., 2003).

Množství záleží na tom, zda je dužina hlízy zbarvená úplně či jen částečně (Brown a kol., 2003). Rodriguez–Saona a kol. (1998) pak uvádí obsah anthokyanů u hlíz bramboru s červenou dužninou na 20-400 mg/kg čerstvé hmoty a jako hlavní anthokyan je zde uváděn pelargonidin (asi 70 %). Hung a kol. (1997) uvádí, že hlavními antokyany obsaženými v peridermu hlíz jsou pelargonidin a peonidin.

Mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových anthokyaninů byla zjištěna vzájemná pozitivní korelace ($r = 0,94$, $P < 0,001$) [Lachman a kol., 2012; Brown a kol., 2008]. U odrůd s nejvyšším obsahem anthokyaninů (Violette 2258 mg/kg sušiny, Vitelotte 2065 mg/kg sušiny, Highland Burgundy Red 1514 mg/kg sušiny) byly zaznamenány také nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity. Přesto i u ostatních odrůd s nižším obsahem anthokyaninů, např. u Blue Congo s 278 mg/kg sušiny, byla antioxidační aktivita poměrně vysoká (1626 mg/kg sušiny) [Lachman a kol., 2012].

Celková antioxidační účinnost brambor je zvýšena acylací anthokyanů skořicovými kyselinami. Na synergické působení antioxidantů ukazují i mnohem vyšší antioxidační vlastnosti přírodních extraktů oproti čistým individuálním látkám (Lachman a Hamouz, 2005).

3.4.5 Selen

Selen patří mezi skupinu stopových prvků, tvoří součást bílkovin a enzymů a je tak významný pro zdraví lidského organismu (Dralle, 2005). Chrání jak jednotlivé buňky, tak i celý organismus před oxidačním poškozením a snižuje tak riziko různých onemocnění (Stratil, 1993). Jeho nedostatek zvyšuje riziko kardiovaskulárních chorob a rakoviny, vliv má rovněž na metabolismus a toxicitu řady chemikálií, včetně léků. Podle provedených studií (Kvíčala a kol., 2003; Kvíčala a kol., 2004) bylo zjištěno,

že v případě vysokého nedostatku selenu (vedle nedostatku jodu) mohou nastat závažné změny v regulaci organismu thyroideálními hormony (štítná žláza). Úplný biochemický význam selenu však dosud nebyl ještě zcela spolehlivě objasněn (Třebichavský a kol., 1998).

Co víme je, že se jedná o esenciální prvek a významný antioxidant působící na buněčné úrovni. Lidské tělo ho nedokáže syntetizovat, musíme ho proto přijímat potravou. Příjem selenu je však v populaci dosti nedostatečný, průměrný denní příjem je odhadován na pouhých 0,07 mg oproti doporučené denní dávce 0,10 až 0,15 mg. Jeho obsah v rostlinách je proměnlivý, ve velké míře závisí na tom, v jaké míře se vyskytuje v půdě. Pokud tedy chceme zvýšit příjem selenu, je třeba zajistit jeho větší obsah v půdě již před sázením rostlin, případně ho aplikovat na jejich listy. Brambory přijímají selen z půdy poměrně intenzivně, více ho ovšem najdeme v natích než v samotných jedlých hlízách (Jůzl a kol., 2005).

Při pokusech zkoumajících aplikaci selenu do půdy a na listy bylo zjištěno, že vyšší obsah selenu v hlízách brambor koreloval s jeho vyšší aplikovanou dávkou. Kromě toho bylo jeho množství dále ovlivněno i pěstovanou odrůdou. Nárůst obsahu selenu v hlízách brambor po jeho aplikaci do půdy se při pokusu zvýšil z 0,20 na 3,69 ppm Se, respektive z 0,20 na 3,21 ppm Se. Aplikací roztoku selenu se zvyšuje celkový hektarový výnos brambor. Hlíz je sice méně, ale jsou v průměru větší (Jůzl a kol., 2005).

Zvýšení obsahu selenu v potravě by bylo z hlediska lidského zdraví více než žádoucí. Ovšem je třeba mít na paměti, že kuchyňskou úpravou se obsah selenu snižuje. Vařením je to až o 15 % a smažením dokonce o 22 %.

3.4.6 Ostatní antioxidanty

V hlízách brambor jsou, kromě již zmíněných, obsaženy ještě další významné látky. Z antioxidantů jsou to například tokoferol a kyselina α -lipoová. Uvádí se, že obsah α -tokoferolu (zdroj vitamínu E) se pohybuje v rozmezí 0,27-2,80 mg/kg (Andre a kol., 2007). Spolu se selenem inaktivuje reakce volných radikálů.

Tokoferoly jsou skupinou osmi sloučenin, do které patří tokoferoly (alfa-, beta-, gama- a delta-) a 4 tokotrienoly (alfa-, beta-, gama- a delta-). Nejznámější z nich je právě α -tokoferol, který se díky tomu stal synonymem celé skupiny. Tato forma se vyskytuje nejčastěji, a co se týče podpory reprodukce, jeho účinky jsou nejprokazatelnější. (Papas, 2000). Patří mezi tzv. lypofylické antioxidanty, u kterých se předpokládá, že hrají klíčovou roli v obraně membrán chloroplastů a fotosyntetického aparátu proti fotooxidativnímu poškození (Hofius a kol., 2004).

Kyselina α -lipoová jako další zástupce antioxidantů pak rovněž působí jako růstový faktor brambor (Lachman a kol., 2005). Uvnitř buněk je kyselina α -lipoová redukována na dihydrolipoovou kyselinu, která neutralizuje a ničí volné radikály. Bez této redukce pak přímo likviduje škodlivé superoxidové radikály, hydroperoxylové a hydroxylové radikály. Ovšem ani v případě kyseliny α -lipoové není zatím poznatků o jejím obsahu v zelenině známo příliš. Kromě brambor byla nalezena ještě v pšenici a v chřestu (Navari-Izzo a kol., 2002).

3.4.7 Mechanismus působení antioxidantů

U potravin často dochází ke změnám projevujícím se změnou sensorických vlastností jako je barva, chuť a vůně. Během těchto změn vznikají volné radikály a tyto změny můžeme označit jako „radikálovou oxidaci“. Vlivem působení UV-záření, kyslíku a některých organických látek vyskytujících se v ovzduší dochází k poškození vazeb u vyšších mastných aminokyselin a dalších látek (Velíšek, 1999), (Pospíšil, 1968). Antioxidanty jsou látky, které chrání organismus před nadměrným výskytem volných radikálů a to tím, že je převádí na nereaktivní nebo méně reaktivní formy (Kalač, 2003). Oddalují nebo zamezují oxidaci substrátu, kterým mohou být lipidy, proteiny, sacharidy, DNA, a tím prodlužují údržnost potravin (Velíšek 1999). Pokud se tedy radikálové oxidace zúčastní antioxidant, zpomalí se tím proces vzniku nežádoucích radikálů, zkracuje se antioxidační řetězec a urychluje se terminační reakce. Antioxidant se však při těchto reakcích postupně spotřebovává, a když je jeho zásoba zcela vyčerpána, autooxidace poté pokračuje opět dále (Velíšek, 1999; Pospíšil, 1968).

3.4.8 Antioxidanty a jejich vliv na zdraví člověka

V současné době jsou antioxidanty žádané především kvůli svým nutričním a terapeutickým účinkům. Přírodní antioxidanty vyskytující se v potravinách působí pozitivně na lidský organismus tím, že ničí volné radikály, které mohou v organismu vyvolat oxidativní stres a podílejí se na vzniku a vývoji závažných onemocnění jako jsou například kardiovaskulární, neurodegenerativní choroby, rakovina apod. Mimo to mohou také poškozovat DNA, lipidy a proteiny. Svoji roli sehrávají volné radikály i v oblasti stárnutí (Palace a kol., 1999). Například ohledně atherosklerózy se uvádí (Fořt, 2005), že antioxidanty ji dokáží zpomalit, jelikož zabraňují hromadění cholesterolu v krevním séru a zvyšují odolnost cévních stěn proti lámavosti. Zároveň také snižují riziko onemocnění koronárních cév, za které zodpovídá volný radikál „peroxidovaný cholesterol.“ Naše tělo si umí některé antioxidanty vytvořit samo, některé životně důležité však musí získávat z potravy. Mezi druhou skupinu patří zejména vitaminy C a E, bioflavonoidy, karotenoidy a několik sloučenin obsahujících síru (Passwater, 2002). Bramborové hlízy (*Solanum tuberosum* L.) se vedle zeleniny a ovoce řadí mezi nejdůležitější zdroje antioxidantů v lidské výživě. Průměrně zabezpečují denní příjem 64 mg polyfenolů na osobu a jak již bylo zmiňováno, zauímají tím mezi všemi potravinami druhé místo v přísunu antioxidantů, a to hned za rajčaty (Jang a Song, 2004).

3.5 Celková antioxidační aktivita brambor

V návaznosti na několik rozdílně použitých metod zkoumání můžeme dle Pellegriniho a kol. (2003) dělit obsah fenolových látek a antioxidační kapacitu v bramborových hlízách takto:

- FRAP 3,67 (mmol Fe 2+/kg),
- TRAP 0,85 (mmol Trolox/kg)
- TEAC 0,80 (mmol Trolox/kg).

Antioxidační kapacitě se věnují ve své publikaci i Lachman a Hamouz (2004), dle kterých je antioxidační kapacita červeně a modře zbarvených brambor oproti těm s dužninou bílou či žlutou vyšší, a to přibližně 2-3x. Vyšší antioxidační aktivitu u červených a modrých brambor dokládají za využití metod ORAC A FRAP ve své

práci i Brown (2004), ovšem i bílé hlízy se dle nich vyznačují značnou oxidační aktivitou, a to konkrétně 930-1380 troloxových ekvivalentů na kg čerstvé hmoty. Tyto barevné odrůdy brambor by tak mohly v budoucnu zaujmout výraznější roli v lidské stravě a zvýšit tak celkový příjem antioxidantů. Tradičně pěstované odrůdy však budou pravděpodobně ještě delší dobu převažovat.

Celkový antioxidační význam brambor není dosud zcela doceněn a to i přesto, že např. ve studii, kterou provedl Vinson a kol. (1998), se brambory, co se úspěšnosti inhibice oxidace lipoproteinů s nízkou hustotou týče, umístily na druhé pozici z celkových 23 zkoumaných druhů zeleniny a obsahovaly při tom i nejméně fenolů. V dalším výzkumu dle Cao a kol. (1996) pak ve zkoušce ORAC vyšla antioxidační aktivita brambor jako třináctá nejvyšší z 22 druhů zeleniny. To sice již není úplně nejvyšší postavení, nicméně i tak se dají brambory považovat za zeleninu s vysokou antioxidační kapacitou, obzvláště pak ty s netradičně zbarvenou dužinou (Brown, 2005).

3.5.1 Metody stanovení

Celková antioxidační aktivita (total antioxidant activity–TAA) vyjadřuje schopnost biologického materiálu eliminovat radikály (Arnao a kol., 1999). Jde tedy o termín charakterizující souhrnnou koncentraci všech látek s antioxidačními účinky ve vzorku. Antioxidační aktivita potravin se obvykle zkoumá vícero rozdílnými metodami a to z důvodu specifitějšího určení (Boyle a kol., 2000; Zloch a kol., 2004a). Metody zkoumání se obecně dělí na dvě základní skupiny a to na metody hodnotící schopnost eliminovat radikály či posuzující redoxní vlastnosti látek.

Aktivitu antioxidantů lze měřit širokou škálou fyzikálních a chemických procesů, jelikož antioxidanty mají schopnost působit různými mechanismy jako např. zhášením či vychytáváním radikálů nebo reakcí s přechodnými kovy. Chemické metody mohou být založeny na použití činidel, které vytvářejí spolu s volnými kyslíkovými radikály barevné produkty, jejichž vzniku brání právě ve vzorku obsažené antioxidanty. Intenzita zbarvení se ve většině případů měří spektrofotometricky. Rozdíl hodnot absorbancí měřeného a slepého vzorku je pak určující pro obsah látek s antioxidačními účinky. Fyzikální metody naproti tomu nesledují přímo změny obsahů látek při

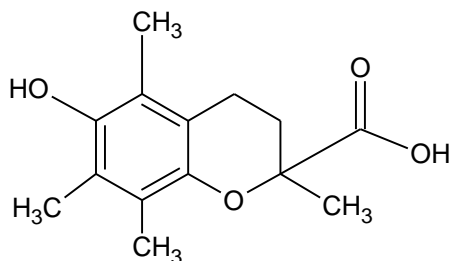
chemických reakcích, ale zaznamenávají změny fyzikálních vlastností, které tyto procesy provázejí (Šulc a kol., 2007; Karabín a kol., 2006).

Mezi nejběžnější používané metody patří DPPH, ORAC, FRAP, ABTS, galvinoxyllová metoda a elektrochemická cyklická voltametrie (Šulc a kol., 2007; Paulová a kol., 2004).

3.5.1.1 Metody založené na eliminaci radikálů

Nejčastěji používanou metodou je metoda ABTS, jinak také TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Jde o metodu, která vyjadřuje antioxidační kapacitu vzorku, jež je ekvivalentní určitému množství standardu Troloxu (6-hydroxy-2, 5, 7, 8 – tetramethylchroman-2-dikarboxylová kyselina, Obrázek 7). TEAC je většinou definována jako milimolární koncentrace Troloxu odpovídající antioxidační aktivitě testované látky o koncentraci 1 mmol/dm³ pro čisté látky. Pro směsné vzorky se jedná o látkové množství Troloxu, které odpovídá aktivitě 1 g nebo 1 ml vzorku (Rice–Evans a kol., 1995).

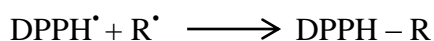
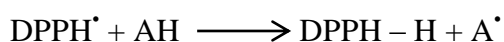
ABTS je v reakční směsi oxidován peroxidem vodíku na radikál, kation ABTS^{•+}. Radikály reagují se substrátem (metmyoglobin) za vzniku modrozeleného zbarvení, které je měřeno spektrofotometricky při 600 nm. Antioxidanty v biologickém vzorku fungují jako donory elektronu pro ABTS^{•+}. Antioxidační kapacita je vyhodnocena jako míra schopnosti potlačit tvorbu ABTS^{•+} a tím i tvorbu barevného produktu (Paulová a kol., 2004).



Obrázek 7 Trolox (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

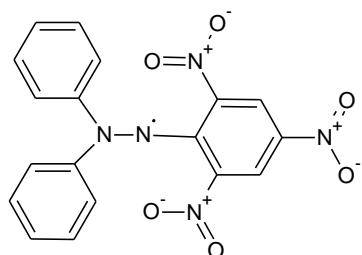
Metoda stanovení TAA vzorků pomocí ABTS je jednoduchá, rychlá v provedení a má široké uplatnění. Lze jí použít na hodnocení antioxidační aktivity látek různého původu i pro směsné vzorky.

Metoda používající DPPH se řadí mezi základní postupy, jejichž cílem je posouzení antiradikálové aktivity. Metodu lze využít jak v případě čistých látek, tak i pokud zkoumáme směsné vzorky. Je založena na reakci vzorku se stabilním volným radikálem difenylpikrylhydrazylem–DPPH na Obrázku 8, který má schopnost reagovat s donory vodíku. Díky přítomnosti redukčních faktorů dochází při reakci k redukcí radikálů (radikál se zháší, tím se odbarvuje) a vzniká difenylpikrylhydrazin – DPPH–H. DPPH radikál vykazuje silnou absorpci v UV–VIS spektru. DPPH je fialový (působením železité soli) a po redukcí se vytvoří žlutohnědé zbarvení (Paulová a kol., 2004).



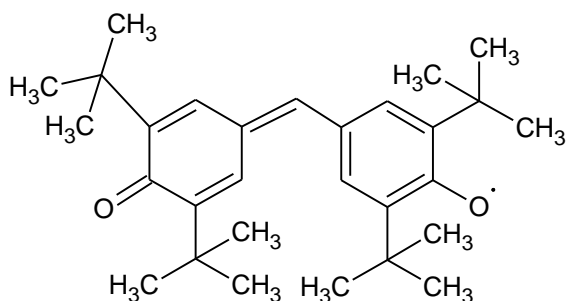
Reakce je sledována spektrofotometricky, metodou elektronové spinové rezonance nebo HPLC. Použití HPLC, při které je hodnocen pík radikálu DPPH, se používá nejvíce u barevných vzorků, kde se zbarvení vzorku eliminuje (Paulová a kol., 2004).

Při spektrofotometrické metodě se měří úbytek absorbance při vlnových délkách 515, 517 nebo 522 nm proti etanolu nebo metanolu. Absorbance je měřena po 1 hodině, poté se vypočítává úbytek absorbance v procentech. Jako standard se může použít kyselina askorbová nebo trolox (6–hydroxy–2, 5, 7, 8–tetramethylchroman–2–karboxylová kyselina), na jejichž ekvivalentní množství se může antioxidační aktivita vzorku přepočítat (Paulová a kol., 2004).



Obrázek 8 Difenylpikrylhydrazyl (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

Také test s galvinoxylem (2, 6-di-terc-butyl-4- [(3, 5-di-terc-butyl-4-oxocyklohexa-2, 5-dien-1-yliden) methyl]fenoxyl) patří k postupům využívajícím reakci antioxidantu se stabilními radikály. V tomto případě je cílem redukce stabilního radikálu galvinoxylu na Obrázku 9 látkami poskytujícími vodík, podobně jako je to u testu DPPH. Reakce se sleduje spektrofotometricky při vlnové délce 428 nm nebo na základě ESR (Shi a kol., 2001). V závislosti na přijetí elektronů se roztok odbarvuje a určuje se tak dynamika aktivity antioxidantu. Tuto metodu lze proto využít nejen pro stanovení a porovnání antioxidační aktivity, ale i pro získání jiných konstant týkajících se konkrétního antioxidantu (Honglian a kol., 2001). Radikál galvinoxyl je nejčastěji využíván ve spojení s elektronovou-spinovou rezonancí (Gardner a kol., 1998).



Obrázek 9 Galvinoxyl (ACD/ChemSketch (Freeware)-[noname02.sk2])

Schopnost látek poskytovat vodíkový atom nebo elektron můžeme posuzovat i pomocí dalších radikálů, jako je například syntetický volný radikál zvaný Fremyho sůl (nitrosodisulfonan draselný). Měření reakcí se poté uskutečňuje za využití ESR (Pedersen a kol., 2000).

Dále lze využít metodu hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů ORAC, která radikál určuje kvantitativně fluorimetricky a hodnotí se při ní rychlost úbytku signálu po přidání testovaného vzorku.

Při využití metody ORAC (oxygen radical absorbance capacity) se ve sledované látce vytvářejí kyslíkové radikály a poté se sleduje schopnost látky zpomalit či zastavit radikálovou reakci (Cao a kol., 1996). Detekce vychází ze sledování poklesu fluorescence β -fykoerytrinu (β -PE) po zapojení radikálů. Originální metoda ORAC, jež využívá jako sondu β -PE (ORAC_{PE}), má rozsáhlé možnosti využití a umožňuje získat důležité informace o antioxidační kapacitě vzorků rozdílného typu (Cao a kol., 1997). Zpřesnění metodiky přišlo s dalším typem fluorescenční sondy a to s fluoresceinem (FL,

ORAC_{FL}). Tato metoda je oproti předchozí přesnější a to zejména díky jednoduchému reakčnímu mechanismu, jež spočívá v klasickém přenosu vodíku (OU a kol., 2001).

Další metoda spočívá ve vychytávání OH-radikálů, které jsou generovány různými postupy, jako například Fentonovou reakcí, UV fotolýzou peroxidu vodíku či fotolýzou syntetických derivátů. Detekce radikálu se provádí látkami, jejichž reakční produkty jsou lehce stanovitelné. Jako příklad takové látky můžeme uvést salicylovou kyselinu, 2, 2-dimethyl-2H-pyrrol-1-oxid (DMPO). Antioxidanty vychytávající OH radikály snižují tvorbu těchto produktů (Paulová a kol., 2004).

Další typ metod, tentokrát založené na vychytávání superoxidového anion-radikálu spočívají v neenzymové reakci 5-methylfenazinium-methylsulfátu a NADH (Robak a Gryglewski, 1988) nebo na systému xanthin/xanthinoxidáza (Lu a Foo, 2001). Radikál v tomto případě redukuje nitrotetrazoliovou modř a detekuje se spektrofotometricky při 550-560 nm. Nitrotetrazoliová modř může být nahrazena syntetickým formazanovým barvivem WST-1, které je vzhledem k rozpustnosti vhodnější pro provádění testu na mikrotitračních destičkách (Wood a kol., 2002).

Dále lze provádět detekci metodou ESR pomocí reakce superoxidového anion - radikálu s DMPO. Použit lze rovněž kombinaci HPLC a chemiluminiscence, kdy se měří inhibice chemiluminiscence luminolu látkami separovanými při HPLC (Paulová a kol., 2004).

Poslední skupinou těchto metod jsou postupy sledující eliminaci lipidové peroxidace. Tento typ metod se provádí v pufovaných modelovaných systémech, jež kromě testovaného vzorku dále obsahují nenasycené mastné kyseliny a vhodný indikátor radikálové reakce. Lipidová peroxidace, která je způsobena volnými radikály, patří mezi nejdůležitější patologické pochody v organismu. Proto se i řada metod zaměřuje přímo na testování inhibičních účinků na lipidovou peroxidaci. Postupy vycházející z detekce produktů peroxidace linolové kyseliny pak patří k nejzákladnějším testům (Rapisarda a kol., 1999).

Jednou z nejužívanějších metod k hodnocení schopnosti látek eliminovat lipidovou peroxidaci je metoda TBA-MDA, která je založena na stanovení jednoho ze sekundárních produktů lipidové peroxidace malondialdehydu (MDA) na základě jeho

barevné reakce s kyselinou thiobarbiturovou (TBA). Stanovení produktů TBA–MDA je jednoduché a citlivé, absorbance se měří při 532 nm (Daglia a kol., 2000).

3.5.1.2 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek

Druhou velkou skupinou jsou metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek. Neenzymové antioxidanty lze v tomto případě charakterizovat jako redukční činidla, která reagují s oxidanty, redukují je a tím je inaktivují. Antioxidační aktivitu pak tedy můžeme hodnotit z hlediska redukční schopnosti látek (Paulová a kol., 2004).

Jedním z používaných postupů je metoda FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power assay), která patří mezi metody chemické. Je založena na redukcí železitého komplexu TPTZ (2, 4, 6–tripiryridyl–S–triazin) s hexokyanatanem draselným nebo chloridem železitým. Ty jsou téměř bezbarvé a po redukcí nebo reakci s dalším činidlem vytváří barevné, nejčastěji modře zbarvené železnaté komplexy, kterými může být např. berlínská modř. Barevný produkt se měří spektrofotometricky při 593 nm. Jako standard je možné použít roztok kyseliny gallové, epikatechinu nebo troloxu. Mírou antioxidační kapacity vzorku je pak nárůst absorbance, která odpovídá množství komplexu $\text{Fe}^{2+}(\text{TPTZ})_2\text{Cl}_3$. Výsledky se vyjadřují ekvivalentním množstvím standardu, odpovídajícího 1 g nebo 1 ml vzorku se stejnou redukční aktivitou. Metoda FRAP se provádí v kyselém prostředí s hodnotou pH 3, 6, přičemž se zde nezachytí pomalu reagující polyfenolické látky a thioly. Tato metoda tedy nemusí ukazovat celkovou antioxidační aktivitu daného vzorku, ale pouze schopnost redukovat ion Fe^{3+} (Šulc a kol., 2007; Paulová a kol., 2004; Zloch a kol., 2004b).

Dalšími možnými postupy jsou elektrochemické metody, mezi jejichž zástupci můžeme uvést cyklickou voltometrii. Je to jedna z mnoha metod odvozených od polarografie, kdy se sleduje elektrický proud procházející zkoumanou soustavou v závislosti na potenciálu vkládaném na pracovní elektrodu (Nakamura a kol., 1998). Při této metodě se používají tři elektrody, a to pracovní (např. z uhlíkového vlákna, Pt či Au), referentní (kalomelová nebo argentchloridová) a pomocná (např. Pt drátek nebo plíšek). Na pracovní elektrodu se vkládá potenciálový pulz s určitou rychlostí polarizace a současně se sledují proudové odezvy v roztoku studované látky. Z průběhu

naměřeného voltamogramu lze hodnotit redoxní vlastnosti látek, tedy jejich schopnost odštěpovat a přijímat elektrony. Redukční schopnost látek se vyhodnocuje dvěma parametry, a to z potenciálu anodického oxidačního píku E_A a jeho anodického proudu I_A . Při nízké hodnotě E_A látka snadněji odevzdává elektrony a může být lepším antioxidantem. Koncentraci látek zjistíme z hodnoty výšky proudu anodického píku I_A . Díky využití cyklické voltametrie můžeme tedy ověřit, zda dokáže látka snadno odevzdávat elektron, v návaznosti na to je pak možno vybrat vhodnou metodu na stanovení antioxidační kapacity (Hoyle a Santos, 2010; Paulová a kol., 2004).

Elektroaktivní látky lze velmi úspěšně a s velkou citlivostí detekovat při analýze HPLC (HPLC–ECD High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection). Princip detekce při metodě HPLC–ECD spočívá v tom, že se na pracovní elektrodu detektoru v průtokové coulometrické nebo voltametrické cele vkládá určitý kladný potenciál. Sleduje se pík látky, který se projeví vždy, pokud je látka při tomto potenciálu oxidována. Potenciál, při kterém dochází k oxidaci, je pro každou látku charakteristický a stejně tak i retenční čas. Tato skutečnost tedy umožňuje i analýzu směsi a následnou identifikaci jednotlivých účinných antioxidačních komponent. (Peyrat–Maillard a kol., 2000; Paulová a kol., 2004).

3.5.1.3 Vysoce účinná kapalinová chromatografie

Hodnocení antioxidačních vlastností látek za využití metody HPLC–ECD koresponduje s dalšími metodami používanými pro testování celkové antioxidační aktivity látek, např. s metodou DPPH. Jako příklad lze uvést HPLC systém kombinující reverzní fáze vysokoúčinné kapalinové chromatografie s coulometrickým detektorem, který byl použit při měření antioxidační aktivity komplexní směsi fenolových kyselin (Paulová a kol., 2004).

Churáček (1990) řadí chromatografické metody mezi fyzikálně - chemické separační metody. Podstatou této metody je separace složek směsi mezi dvěma nemísitelnými fázemi. První fáze je stacionární a druhá se nazývá mobilní. K rozdělení látek dochází v důsledku rozdílné přilnavosti jednotlivých složek k těmto fázím. Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC–High Performance Liquid Chromatography) je v dnešní době jednou z nejpoužívanějších.

Principem HPLC je separace analytů na základě jejich rozdělení mezi stacionární a mobilní fázi, která je vždy kapalná (Anon1, n. d.). Stacionární fáze je upevněná na pevném nosiči uvnitř chromatografické kolony, proto je nepohyblivá. Oproti tomu pohyblivá mobilní fáze je zase pod vysokým tlakem protlačována kolem stacionární fáze (Moffat a kol., 2004). Mezi výhody HPLC patří široký rozsah použitelnosti, vyznačuje se rovněž vysokou účinností, robustností a lze ji dobře opakovat. Tato metoda se používá pro dělení organických méně těkavých látek kapalného či pevného skupenství, které se vyznačují rozpustností ve vodě, v organických rozpouštědlech či zředěných kyselinách (Anon1, n. d.). Dále je vhodná pro separaci nepolárních a iontových tepelně nestálých látek (Klouda, 2003).

Samotný děj probíhá tak, že jsou vzorky nejprve dávkovány dávkovačem do mobilní fáze, která unáší jednotlivé složky vzorku na kolonu. Zde dochází k opětovnému ustanovení rovnováhy mezi mobilní a stacionární fází a k rozdělení analytů podle fyzikálně–chemických vlastností (Anon1, n. d.). Děj, při kterém se látky zdržují v koloně, se nazývá retence. Vymývání látek z kolony se říká eluce. Čím rychleji jsou vymývány látky z kolony, tím má mobilní fáze vyšší eluční sílu (Kryštof, 2005). Poté následuje průchod separační kolonou a analyty jsou v mobilní fázi detekovány v průtokové cele detektoru. Získané měřené veličiny jsou fluorescence, absorbance, index lomu a elektrická vodivost. Výsledným výstupem z detektoru je záznam v grafické podobě charakterizující závislost odezvy detektoru na retenčním čase, neboli chromatogram, na kterém se posuzuje plocha nebo výška píku. Kvantitativní analýza se poté uskutečňuje na základě hodnocení kalibrační křivky. Mezi vhodné náplně do kolon stacionární fáze patří polární nemodifikované adsorbenty (silikagel, méně často oxid hlinitý) a náplně s chemicky vázanými stacionárními fázemi na silikagelovém nosiči. Při mobilní fázi se zpravidla užívají voda, organická rozpouštědla a jejich směsi (Anon1, n. d.). Vysokoúčinná kapalinová chromatografie existuje jako tzv. „normální“ a „reverzní“ fáze. U normálních fází jsou funkční skupiny stacionární fáze polární, mobilní fází bývá nepolární rozpouštědlo (pentan, hexan, ethylacetát). U reverzních fází jsou funkční skupiny stacionární fáze nepolární a mobilní fází bývá polární organické rozpouštědlo a voda (Anon2, n. d.).

Kapalinovou chromatografii můžeme rozdělit do čtyř hlavních aplikačních skupin: 1. adsorpční chromatografie (LSC), 2. rozdělovací chromatografie (LLC), 3. chromatografie založená na disociaci slabých nebo silných elektrolytů–iontově výměnná chromatografie (IEC), 4. gelová chromatografie (GPC) [Mikeš a kol., 1980].

Základní části kapalinového chromatografu

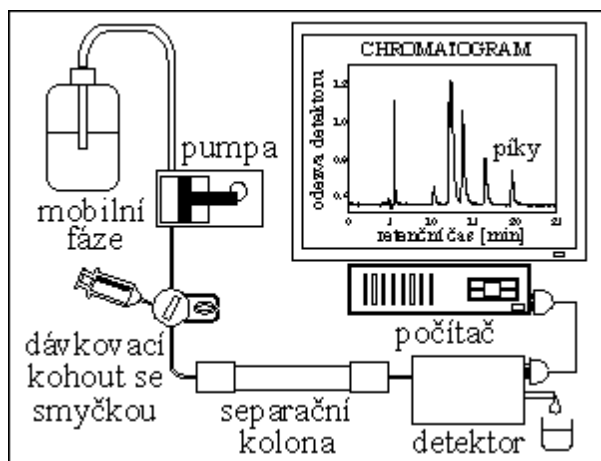
Kapalinový chromatogram, který lze vidět na Obrázku 10 se skládá z částí, které zabezpečují transport mobilní fáze, dávkování vzorku, separaci látek a jejich detekci.

1) Zásobník mobilní fáze – nejčastěji se používají skleněné nebo nerezové nádoby. Důležité je, aby byl zásobník dobře uzavřen, aby kapalina v nich mohla dobře odtékat a její páry neunikaly do okolí (Štulík a kol., 2004).

b) Vysokotlaké čerpadlo – práce s tlaky až do 60 MPa, průtok by měl být konstantní, pohybující se v rozmezí 0,5-1,2 ml/min. Důležité je aby bylo dávkování plynulé, bez pulsů, které by mohly způsobit výkyvy v detektoru. Mezi nejčastěji používaná čerpadla patří membránová čerpadla a pístová čerpadla s malým pracovním tlakem (Štulík a kol., 2004).

c) Dávkovač vzorku – nejčastěji se používají typické manuální smyčkové dávkovače na principu přepínacích ventilů nebo automatické dávkovače různé konstrukce. Manuální dávkovač je šesticestný ventil se smyčkou. Dávkovací ventily mohou být ovládány elektricky nebo pneumaticky. Autosampléry umožňují vstřikování série vzorků v průběhu časové periody (Douša, 2002).

d) Separační kolona – rovné trubice z nerezové oceli o délce 10 až 25 cm a vnitřním průměru 3, 4 nebo 4,6 mm naplněné sorbentem o průměru zrn 3, 5 nebo 10 μm , který je držen v koloně pomocí frit (Štulík a kol., 2004). Účinnost kolon závisí nejen na kvalitě použitého sorbentu, ale i na délce, tvaru a vnitřním povrchu kolony (Churáček, 1990). Materiálem chromatografických kolon je většinou antikorozivní ocel nebo speciálně tvrzené borosilikátové sklo, lze použít i kombinaci obou materiálů. Materiály pro plnění kolon mohou být založeny na organické nebo anorganické matrici (silikagel, oxid hlinitý, oxid zirkoničitý, oxid titaničitý, pórovité sklo). Nejpoužívanější typ kolon je C18, kde jsou molekuly octadecylsilanu vázány na částicích silikagelu (Anon2, n. d.).



Obrázek 10 Schéma Kapalinového chromatografu

(<http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/hplc.html>)

e) Termostat – jeho funkcí je uchovat teplotu kolony. Teplotní rozmezí u moderního termostatu se pohybuje od 10 °C pod okolní teplotou až do 140 °C. Zajišťuje šíření tepla chromatografickou kolonou a zároveň předehřívá mobilní fázi před vstupem do kolony (Štulík a kol., 2004).

f) Detektor – Mezi běžně používané detektory v HPLC patří absorpční fotometrický detektor, fluorimetrický detektor, refraktometrický detektor, amperometrický detektor, vodivostní detektor, detektor s diodovým polem (DAD) nebo hmotnostní spektrometr jako detektor (Štulík a kol., 2004). Detektor zaznamenává rozdíl mezi průchodem čisté mobilní fáze a mobilní fáze obsahující eluovanou složku. K detekci separovaných látek se často využívá jejich vlastností, kterými se tyto látky liší od mobilní fáze (Churáček, 1990). Nejpoužívanější jsou fotometrické detektory (UV/VIS), neboť jsou celkem jednoduché, provozně spolehlivé, lze jimi detekovat velký počet látek a jsou kompatibilní s gradientovou elucí. Základním požadavkem je nízká absorbance mobilní fáze při použité vlnové délce detekce. Fotometrické detektory fungují na principu absorpce záření v oblasti vlnových délek od 190 do 800 nm, v ultrafialové a viditelné části spektra (Štulík a kol., 2004).

3.5.1.4 Spektrofotometrie

Spektrofotometrie je optická metoda, kterou se stanovují látky absorbující elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek hlavně z oblasti ultrafialové

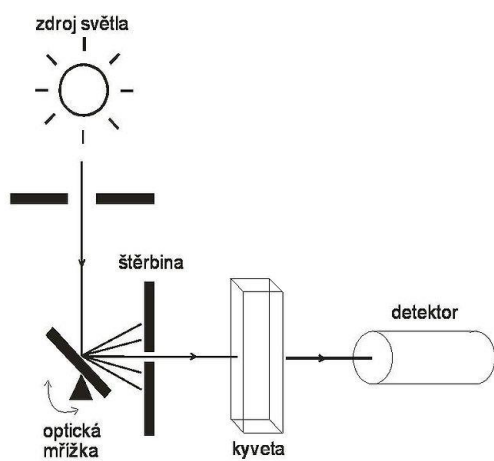
a viditelné, mnohdy i z oblasti infračervené. Množství záření, které je absorbováno, má určitou vlnovou délku, která závisí na povaze a množství absorbující látky (Volka, 1995). Důvodem je, že mohou být v určitém kvantovém stavu lišícím se obsahem energie. Pokud molekula přechází ze stavu s nižší energií do stavu s energií vyšší, absorbuje záření o frekvenci odpovídající rozdílu energií mezi energetickými hladinami (Sinica, n. d.).

Měří se při konstantní vlnové délce, která odpovídá maximu absorpce stanovovanou látkou. O spektrometrii se jedná tehdy, když se neměří jen při jedné vlnové délce, ale hodnotí se určitý úsek spektra.

Důležitým zákonem ve spektrofotometrii je Lambertův–Beerův zákon, kde je absorbance přímo úměrná koncentraci absorbující látky. $A = \varepsilon \cdot l \cdot c$ (2) A ... absorbance l ... délka kyvety [cm] c ... koncentrace [mol/dm³] ε ... molární absorpční koeficient [dm³/mol/cm] (Volka, 1995). Absorpci záření je možné měřit na přístrojích zvaných absorpční spektrofotometr. Na většině spektrofotometrů lze odečíst hodnotu absorbance A neboli záporný logaritmus propustnosti: $A = -\log \tau = \log (\Phi_0 / \Phi)$. Vstupující tok záření se označuje jako Φ_0 a Φ znamená vystupující zářivý tok (Sinica, n.d.). Podíl zářivých toků Φ a Φ_0 se nazývá propustnost neboli transmitance. Schéma spektrofotometru lze vidět na Obrázku 11.

Spektrofotometr je tvořen čtyřmi základními částmi:

- 1) **Zdroj záření** – může být použita žárovka poskytující záření o spojitém spektru ve viditelné a infračervené oblasti nebo pro ultrafialové záření se používá vodíková či deuteriová výbojka. Jako zdroj pro UV a viditelné světlo je vhodná i xenonová výbojka.
- 2) **Monochromátor** – skládá se ze vstupní a výstupní štěrbin, rozkladného prvku (hranol nebo reflexní mřížka) a zrcadlové nebo čočkové soustavy.
- 3) **Absorpční prostředí** – tvoří především kyveta s roztokem.
- 4) **Detekční systém** – tvoří detektor záření a elektronického zařízení na zpracování jeho odezvy. Detektor převádí zářivý tok na elektrický signál (Sinica, n. d.).



Obrázek 11 Schéma Spektrofotometru (commons.wikimedia.org)

4 Materiál a metodika

Hlavním cílem této práce bylo stanovit obsah vitamínu C a látek s antioxidační aktivitou v bramborách. Porovnat poté výsledky vitamínu C a antioxidantů v hlízách mezi rostlinami zásobenými dostatečně vodou a rostlinami pod vodním stresem u rozšiřujících se odrůd brambor s fialovou a žlutou dužninou. K této problematice jsem vytvořila literární přehled a dále jsem měla za úkol zhodnotit výsledky pokusu ČZU v Praze, na kterém jsem se aktivně podílela. Konkrétně jsem se zúčastnila založení pokusu, průběžného zavlažování a sklizně pokusů. Po sklizni jsem se podílela také na přípravě vzorků hlíz pro kvalitativní rozborů na katedře chemie ČZU v Praze. Výsledky jsem připravila pro statistické vyhodnocení a z počítačových sestav jsem je upravila do tabulek či grafů a samostatně je vyhodnotila.

4.1 Materiál a podmínky pokusu

Zdrojem sadby byl dodavatel Havlíčkův Brod pro odrůdu Valfi a ostatní odrůdy Marabel, Luru a Milvu nám dodal Europlant šlecht. Spol. s.r.o. Výsadba proběhla 16. 4. 2015 a brambory byly sklizeny koncem léta dne 26. 8. 2015. Sázeny byly vždy 4 rostliny na m^2 a od každé odrůdy bylo vysázeno 15 kusů. Vzdálenost řádků od sebe byla 70 cm a šířka řádků 30 cm. Výzkumný pozemek byl rozdělen na tři části: na 1/3 byly brambory s pravidelnou závlahou, na druhé třetině brambory zalévané pomocí kapkové závlahy a třetí část tvořily brambory vystavené stresu suchem (bez závlahy). Z hlediska hnojení bylo aplikováno 500 Kg NPK / Ha před vlastní výsadbou. Z postřiků byl aplikován v červnu Ridomil (proti plísni) a Spintor (proti mandelince–insekticid). Žádné mulčování natě ani její chemické ošetření nebylo u našich brambor provedeno, stejně jako aplikace herbicidů. Brambory byly současně pěstovány dle zásad běžné agrotechniky.

Systém zavlažování byl následovný. Na brambory s pravidelnou závlahou bylo použito cca 10 l vody na m^2 a byly pravidelně zavlažovány 3 krát týdně dle potřeby a aktuálního počasí. U brambor zavlažovaných pomocí kapkové závlahy (Gardena Classic T 1030 D Germany) byl předem nastavený pravidelný režim, který fungoval v noci po dobu 6 hodin. Při tomto způsobu zalévání bylo rovněž použito 10 l

vody na m². Třetí skupina brambor byla vystavena stresu suchem, tudíž tyto nebyly zalévány a zůstaly ponechány aktuálnímu počasí.

4.2 Charakteristika pokusného stanoviště

4.2.1 Základní informace o pokusné lokalitě Suchdol

Demonstrační pole leží v nadmořské výšce cca 290 m. Pokusná lokalita Suchdol leží ve výrobní oblasti řepařské. Půdní typ je typická černozem, z hlediska půdního druhu se jedná o půdu hlinitou. Hloubka ornice je 30 cm, pH půdy 7,5.

Lokalita spadá do mírně teplé klimatické oblasti, klimatického okrsku mírně teplého, mírně suchého, převážně s mírnou zimou. Nejteplejší měsíc má průměrnou měsíční teplotu vzduchu < 22° C a víc než čtyři měsíce je průměrná měsíční teplota vzduchu > 4° C. Roční úhrn srážek se pohybuje cca kolem 590 mm (Kožnarová, 2005).

4.3 Meteorologické údaje

Co se týká meteorologických vlivů, téměř celé sledované období roku 2015 se vyznačuje dvěma významnými znaky. Při pohledu na Tabulku 8, kde je uveden přehled teplot zkoumané oblasti Suchdol v roce 2015 ve srovnání s dlouhodobým normálem, je patrné, že pro většinu roku bylo typické teplotně nadprůměrné počasí. Také v Tabulce 7 lze vidět přehled průměrných měsíčních teplot a srážek pro Suchdol v roce 2015. Teplotně nadprůměrný oproti dlouhodobému průměru byl první již jarní měsíc duben a to o 2,7 °C. Květen a červen sice teplotně za průměrem nepatrně zaostávali, o 0,5 a 0,8 °C, nicméně výrazně vyšší teploty pak byly zaznamenány opět během července a srpna, kdy průměrné naměřené hodnoty převyšovaly dlouhodobý normál o 2,3 °C v červenci, resp. o 3,9 °C v srpnu, kdy průměrná denní teplota dosahovala 22,6 °C. Oba měsíce se vyznačovaly velkým počtem dnů, kdy teploty přesahovaly hranici 30 °C. V červenci jich bylo 10, tedy celá třetina, v srpnu to bylo dokonce 15 dní, kdy v několika dnech přesahovaly maximální teploty i přes hranici 37 °C. Z hlediska normality měsíců tak můžeme na základě stanovených odchylek označit měsíce květen a červen za teplotně normální, duben za teplý, červenec za silně teplý a srpen za mimořádně teplý.

Tabulka 7 Přehled průměrných měsíčních teplot a srážek Suchdol 2015

| Měsíc | Ø Teplota (°C) | Ø Úhrn srážek (mm) |
|----------|----------------|--------------------|
| duben | 10,79 | 1,48 |
| květen | 13,65 | 1,03 |
| červen | 16,77 | 1,29 |
| červenec | 21,55 | 1,02 |
| srpen | 22,61 | 2,30 |

Tabulka 8 Srovnání územních teplot

| ÚZEMNÍ TEPLoty (°C) | Duben | Květen | Červen | Červenec | Srpen |
|---------------------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|
| Rok 2015 - Suchdol | 10,8 | 13,7 | 16,8 | 21,6 | 22,6 |
| Dlouhodobý normál Suchdol | 9,1 | 14,2 | 17,6 | 19,3 | 18,7 |
| Rozdíl | 1,7 | -0,5 | -0,8 | 2,3 | 3,9 |

Ještě více výrazný byl rok 2015 z pohledu srážek. Jak lze vidět v Tabulce 9, všechny sledované měsíce se pohybovaly pod dlouhodobými srážkovými průměry. Duben dosáhl 74 % obvyklých hodnot, květen 55 %, červen 59 % a červenec dokonce jen 41 %, což byl jednoznačně nejslabší srážkový měsíc. Nejvíce se dlouhodobému průměru přiblížil srpen, kdy napršelo 60 mm, což je téměř 90 % dlouhodobého normálu. Srpen tak byl poměrně příznivý pro růst a vývoj porostu brambor, nicméně nedostatek srážek v předchozích měsících mohl mít negativní dopad na vytváření bohatého kořenového systému v období sázení a tvorbu pupat v další fázi růstu. Nízké souhrnné množství srážek může mít vliv rovněž na celkový výnos a velikost hlíz. Vše výše jmenované však závisí i na dalších faktorech jako je druh pěstované odrůdy, její vegetační době, dále pak na stanovišti, termínu sázení, způsobu agrotechniky, hnojení a dalších meteorologických vlivech. Z hlediska normality pak můžeme na základě odchylek opět označit měsíce duben a srpen za srážkově normální, květen, červen a červenec však již za suché s tím, že červenec se již velmi blíží k hranici pro označení měsíce za velmi suchý.

Tabulka 9 Srovnání územních srážek

| ÚZEMNÍ SRÁŽKY (mm) | Duben | Květen | Červen | Červenec | Srpen |
|---------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Rok 2015 - Suchdol | 26 | 32 | 39 | 32 | 60 |
| Dlouhodobý srážkový normál Suchdol | 35 | 58 | 66 | 78 | 67 |
| Rozdíl | -9 | -26 | -27 | -46 | -7 |
| Procentuální srovnání (%) | 74,3 | 55,2 | 59,1 | 41,0 | 89,6 |

4.4 Charakteristika pokusných odrůd

Při pokusu byl sledován vliv čtyř odrůd brambor (Milva, Marabel, Laura, Valfi) z různých skupin ranosti (vhodné pro přímý konzum nebo pro potravinářské výrobky) na obsah antioxidantů a askorbové kyseliny. Vzorky hlíz pro rozbor byly odebrány při sklizni 26.8. 2015 ve fyziologické zralosti porostů z pokusu, který proběhl na pokusném pozemku ČZU na Suchdole. V souvislosti s rozšířením odrůd s barevnou (fialovou) dužninou byla sledována antioxidační aktivita hlíz u vybrané odrůdy z této skupiny (Valfi), ostatní tři odrůdy patřily mezi odrůdy žlutomasé. V rámci pokusů bylo tedy pěstováno vícero genotypů s různými barvami dužniny a slupky, s čímž souvisí také rozdílný obsah pigmentů a antioxidační aktivity. Tyto odrůdy se dále liší také varným typem, zralostí a rozdílem ve výnosu tržních hlíz.

V kapitole antioxidantů již bylo zmíněno dle Lea a kol. (2008), že nejvyšší antioxidační aktivitu i celkový obsah polyfenolů mají brambory s fialovou dužninou, potom následují brambory s dužninou červenou a teprve pak odrůdy žlutomasé. Výběry s podobnou barvou dužniny se průkazně nelišily z hlediska antioxidační aktivity ani celkových polyfenolů, mezi antioxidační aktivitou a celkovými polyfenoly byla zjištěna vysoce průkazná lineární korelace. Prugar a kol. (2008) také uvádí, že obsah antioxidantů u brambor s fialovou či červenou dužninou bývá až 3 krát vyšší než u odrůd žlutých či bílých. Dle Šulce a kol. (2007) fialově nebo červeně zbarvené odrůdy vykazují nejvyšší antioxidační aktivitu díky přítomným antokyanům. Dále pak Lachman a kol. (2005) poukazují na důležitost genotypu odrůdy, která má také prokazatelný vliv na obsah celkových polyfenolů (CP), askorbové kyseliny a na antioxidační aktivitu hlíz. Byly zjištěny značné odlišnosti v obsahu CP mezi různými odrůdami se žlutou dužninou, ale značně vyšší obsah CP je typický pro odrůdy s fialově zbarvenou dužninou.

4.4.1 Milva

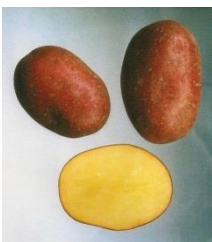
Milva je poloraná konzumní odrůda, vhodná k balení umytých hlíz. Jedná se o varný typ AB (Vaneková, 1981). Hlízy jsou kulovitooválné, se žlutou dužninou, po uvaření netmavnou. Mimořádně se hodí k praní a loupání. Vhodná na přílohy a ideální na saláty. Vydrží dlouhé skladování, je odolná k háďátku a strupovitosti, méně však odolná k virovým chorobám. Mívá vysoký výnos (Anon 3, 2009). A lze ji vidět na Obrázku 12.



Obrázek 12 Milva (www.zelenina-horni-kamenice.cz/products/brambory-milva/)

4.4.2 Laura

Odrůda Laura na Obrázku 13 je poloraná, konzumní odrůda, z varného hlediska označována jako typ B. Hlízy jsou charakteristické pěkným, dlouze oválným tvarem, typická je pro ně rovněž sytě žlutá barva dužniny a červeně zbarvená slupka. Pozitivní vlastností hlíz je, že netmavnou za syrova ani po uzavření a vyznačují se vysokou stolní hodnotou. Využívá se proto hlavně pro přímou konzumaci, dále pak i pro další zpracování jako např. na výrobu hranolků. Odrůda je velmi rezistentní proti háďátku bramborovému (Ro 1-5), virovým chorobám i obecné strupovitosti (Anon4, n. d.). Pro svou vysokou kvalitu je vhodná i pro dlouhodobé skladování (Anon5, n. d.).



Obrázek 13 Laura (<http://www.rikea.cz/nabidka-brambor/laura/>)

4.4.3 Marabel

Marabel je raná konzumní odrůda varného typu B s velmi dobrou chutí. Je vhodná na praní a loupání. Hlízy jsou středně velké, oválné, s mělkými očky, se světle žlutou dužninou, s hladkou a světlou slupkou. Výhodou je vysoký výnos, dobrá prodejnost a odolnost proti napadení virovými chorobami, odolnost proti šednutí dužniny, velmi dobrá kvalita konzumních hlíz a vzhledné hlízy. Rizikem je náchylnost k napadení plísní bramboru v nati (Čermák, 2008). Lze ji vidět na Obrázku 14.



Obrázek 14 Marabel (<http://www.sadbovezemiaky.sk/cz/>)

4.4.4 Valfi

Valfi na Obrázku 15 je polopozdní až pozdní odrůda (Čermák, 2008). Hamouz a kol. (2012) uvádí, vznik modré odrůdy brambor Valfi jako klonový výběr z odrůdy British Columbia Blue. Registrace této odrůdy proběhla v ČR v roce 2005. Je vhodná pro přípravu přírodních kaší, bramboráčků, smažených hranolků, lupínků a pestře zbarveného salátu. Valfi je rozvářivý typ BC, z tohoto důvodu je vhodnější při přípravě salátů vařit opatrně menší hlízy (Hamouz a kol., 2012). Hlízy jsou středně velké, oválné, se středně hlubokými očky, s modrostrakatou dužninou a modrou slupkou. Výhodou je neklíčivost ve skládce. Mezi rizika u této odrůdy patří velmi nízký výnos, náchylnost k napadení virovými chorobami a plísní bramboru v nati, menší odolnost proti napadení aktinomycetovou obecnou strupovitostí a menší rezistence proti mechanickému poškození (Čermák, 2008).



Obrázek 15 Valfi (<http://www.cuketka.cz/?p=4772>)

4.5 Použité přístroje, chemikálie a pomůcky

Použité přístroje a pomůcky na HPLC

- běžné laboratorní sklo (dělicí nálevky, kádinky, destilační baňky, odměrné baňky (5 ml, 10 ml, 25 ml, 100 ml), odměrné válce
- filtrační aparatura
- váhy s přesností na 3 a 4 desetinná místa (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- ruční mixér Braun MR 6550 MCA (Braun, Německo)
- filtrační papír Filtrak (č. 388), Spezielpapier Filtrak (GmbH, Německo)
- stříkačky Hamilton plynotěsné 100 µl, 500 µl a 1000 µl (Chromservis, ČR)
- membránový filtr PVDF (0,45 µm) (SISw, ČR)
- vialky, Clear Snap-it, 2 ml, Thermo Fisher Scientific
- víčka na vialky, polypropylen, Clear Snap– it, 11 mm, Thermo Fisher Scientific
- chromatografický systém pro HPLC/DAD, Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, USA)
 - vysokotlaká kvartérní pumpa Ultimate 3000
 - autosampler Ultimate 3000
 - DAD detektor Ultimate 3000
 - termostat kolon Ultimate 3000

Použité chemikálie na HPLC

- kyselina metafosforečná, p.a. (Penta, Česká republika)
- kyselina sírová, p.a. min. 96 % (Chemapol, Česká republika)

Použité přístroje a pomůcky na stanovení antioxidační aktivity

- buničina
- struhadlo
- váhy s přesností na 3 a 4 desetinná místa (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- běžné laboratorní sklo
- míchačka magnetická IKA RET control-visc C, (ILABO, Česká republika)
- membránový skleněný filtr (0,45 µm) [Whatman, USA]
- pipety Acura: 10-100 µl, 100-1000 µl
- jednorázové plastové kyvety 1,5 ml, Plastibrand (GmbH, Německo)

- spektrofotometr Helios γ , (Spectronic Unicam, Anglie)

Použité chemikálie

- destilovaná voda – katedra chemie ČZU
- redestilovaná voda (GFL, Německo)
- oxid manganičitý 90 % (Lachner, Česká republika)
- fosfátový pufr

Standardy

- ABTS (Sigma–Aldrich, USA, čistota > 99 %)
- kyselina L–askorbová (Sigma-Aldrich, USA čistota > 99 %)

Programy

- Microsoft Office 2007 Excel, Microsoft

4.6 Metody stanovení

4.6.1 Příprava vzorku pro stanovení vitamínu C

Pro stanovení vitamínu C byly použity vždy čtyři hlízy z každé odrůdy. Každá odrůda byla pro zajištění reprezentativnosti výběru použita ze dvou opakování A a B, kdy toto rozdělení představuje rozložení pěstovaných hlíz na různých částech pole. Takový výběr pak proběhl vždy celkem třikrát, a to z důvodu tří závlahových variant (Závlaha podmokem, Kapková závlaha, Stresované suchem). Použité hlízy byly střední velikosti, mechanicky a fyziologicky nepoškozené. Vzorek hlíz pro laboratorní rozbory z jednotlivých variant byl odebrán prostřednictvím náhodného výběru. Brambory byly nejprve omyty, poté usušeny a nakrájeny na čtvrtky. K samotné analýze byla odebrána pouze jedna čtvrtka z každé brambory, která byla nakrájena ještě na drobné kostičky.

4.6.2 Stanovení vitamínu C

Cca 7,5 g na drobno nakrájených neloupaných brambor bylo ihned po rozkrájení přelito 50 ml 3% HPO_3 a extrahováno pomocí ručního mixéru po dobu

jedné minuty. Poté byl vzorek zfiltrován přes filtrační papír a alikvot byl převeden pomocí 0,45 µm PVDF mikrofiltru do vialky a následně podroben HPLC/DAD analýze.

4.6.3 HPLC/DAD analýza

- Kapalinový chromatograf: UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Analytická kolona: ACE 5 C18 [250 × 4,6 mm] (HICHROM, UK)
- Mobilní fáze: 2,5 mM kyselina sírová, izokratická eluce
- Průtok: 1 ml/min
- Nástřik: 10 µl
- Teplota kolony: 30 °C
- Doba analýzy: 10 min
- Detekce: DAD ($\lambda = 251 \text{ nm}$)

4.6.4 Identifikace a kvantifikace

Identifikace analytu ve vzorcích byla provedena porovnáním retenčního času vzorků s retenčním časem standardu. Výsledky byly vyhodnoceny metodou kalibrační přímky. Rozsah kalibrační přímky byl 5-100 µg/ml.

4.6.5 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometrickou metodou založenou na reakci antioxidačně aktivních látek s volným radikálem ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazolin-6-sulfon) diamonný). Byla měřena změna absorbance radikálu po přidání 100 µl vzorku (nebo standardu) k 1 ml roztoku radikálu při vlnové délce 734 nm po uplynutí jedné minuty. Výsledky byly vyhodnoceny metodou kalibrační křivky a vyjádřeny jako ekvivalent vitamínu C. Kalibrační křivka byla vytvořena z roztoků standardu vitamínu C o koncentracích 0; 5; 10; 15; 25 a 35 µg/ml. Přístroj byl na začátku každé analýzy vynulován na destilovanou vodu a radikál byl naředěn tak, aby jeho výchozí absorbance byla přesně $0,800 \pm 0,01$.

Název metody v programu VISION: ABTS_voda_july.

4.6.6 Příprava vzorku:

Přefiltrovaná šťáva z nastrouhaných brambor byla naředěna redestilovanou vodou (fialové odrůdy 40 krát, žlutomasé 10 krát) a ihned podrobena reakci s radikálem.

4.6.7 Příprava radikálu:

Bylo naváženo přibližně 54,8 mg radikálu ABTS a 1g MnO₂ do kádinky. Směs byla zalita 20 ml redestilované vody a 20 minut míchána magnetickým míchadlem. Poté byla pomocí 0,45μm membránového filtru zfiltrována do kádinky a ředěna fosfátovým pufrům o pH = 7,4 na A734 = 0,8 (±0,01).

5 Statistické zhodnocení

K tomu aby mohly být potvrzeny či vyvráceny počáteční hypotézy, bylo třeba statisticky zpracovat naměřené hodnoty. Všechny výsledky byly vyhodnoceny v programu STATISTICA.CZ pomocí dvoufaktorové anovy s interakcemi na hladině pravděpodobnosti $\alpha = 0,05$ s faktory odrůda a typ závlahy. Poté byla vyhodnocena interakce mezi oběma faktory s ohledem na obsah vitamínu C a celkové antioxidační aktivity. Byly tak postupně vytvořeny grafy znázorňující obsah vitamínu C v hlízách v závislosti na typu odrůdy a použitém způsobu závlahy, plus interakce mezi odrůdou a typem závlahy. Podobné grafy byly vytvořeny také pro antioxidační aktivitu v hlízách. Na závěr byla pomocí grafu vyhodnocena korelace mezi obsahem vitamínu C s antioxidační aktivitou hlíz brambor. Na počátku byly stanoveny tři nulové hypotézy: H_{01} : Obsah vitamínu C koreluje s antioxidační aktivitou hlíz brambor. H_{02} : Stres suchem ovlivňuje obsah vitamínu C a dalších antioxidantů v hlízách brambor. H_{03} : Stresované rostliny mají v hlízách nižší obsah vitamínu C, ale vyšší antioxidační aktivitu hlíz. Pro vyhodnocení byl použit F– test. Pokud u něj P–hodnota vyjde nižší než stanovená hladina významnosti, nulovou hypotézu zamítáme.

6 Výsledky

Výsledky statistické analýzy jsou uvedeny v následujících tabulkách. U každého grafu je krátký komentář k výsledku pokusu. Všechny výsledky v této kapitole jsou vyjádřeny jako množství mg sledované látky v suché hmotnosti celých neloupaných brambor. Obsah sušiny byl u všech vzorků poměrně stálý, pohyboval se v rozmezí od 19 do 23 % čerstvé hmotnosti.

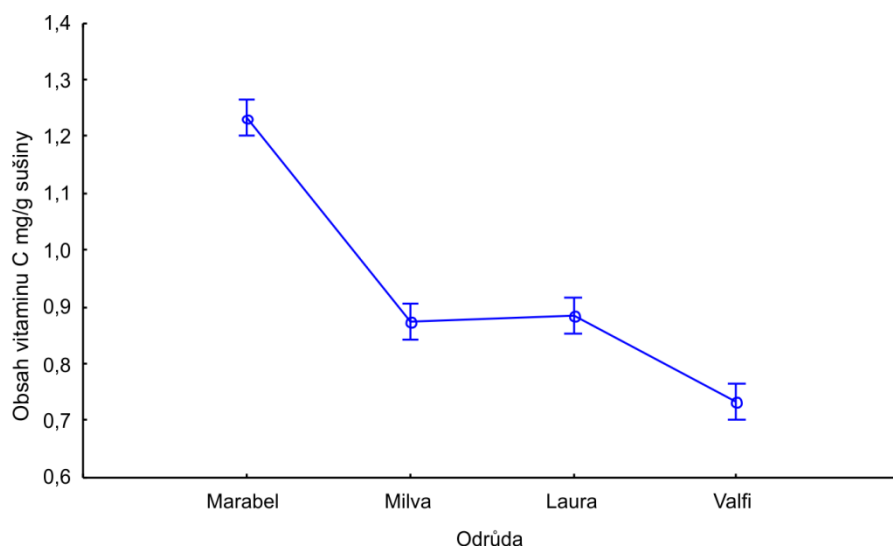
6.1 Zhodnocení výsledku obsahu vitamínu C

6.1.1 Faktor odrůda

Jak lze vidět v Tabulce 10, ze čtyř sledovaných odrůd má významně nejvyšší obsah vitamínu C jednoznačně odrůda Marabel, kde obsah vitamínu C dosahuje v průměru hodnoty 1,23 mg/g sušiny. Naopak významně nejnižší obsah vitamínu C byl zjištěn u odrůdy Valfi, kde byla naměřena průměrná hodnota 0,73 mg/g sušiny. Rozdíl obsahů u odrůdy Milva a Laura byl statisticky nevýznamný, čísla jsou totiž téměř totožná. Graficky to znázorňuje i Graf 1.

Tabulka 10 Vliv faktoru odrůdy na obsah vitamínu C

| Tukeyův HSD test; proměnná Obsah vitamínu C mg/g sušiny | | | | | |
|---|---------|-------------------------------------|------|------|------|
| Homogenní skupiny, alfa = ,05000 | | | | | |
| Chyba: Meziskup. PČ - ,00203, sv - 24,000 | | | | | |
| Č.buňky | Odrůda | Obsah vitamínu C mg/g sušiny-Průměr | 1 | 2 | 3 |
| 4 | Valfi | 0,732222 | | **** | |
| 2 | Milva | 0,874444 | **** | | |
| 3 | Laura | 0,884444 | **** | | |
| 1 | Marabel | 1,233333 | | | **** |



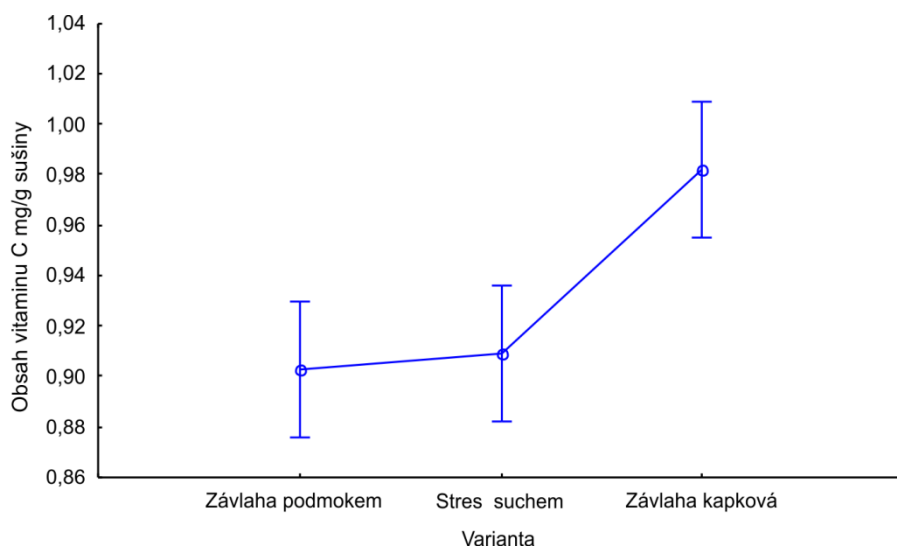
Graf 1 Vliv faktoru odrůdy na obsah vitamínu C mg/g sušiny (Odrůda: Průměry MNČ, Současný efekt: $F(3, 24) = 201,35$, $p = 0,0000$, Dekompozice efektivní hypotézy, Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti)

6.1.2 Faktor závlahová varianta

Když srovnáme typy závlahových variant, z Tabulky 11 nám vyplývá, že statisticky nejvýznamnější je varianta kapkové závlahy, kdy obsah vitamínu C dosahoval v průměru hodnoty 0,98 mg/g sušiny. Ostatní dvě metody se opět ukázaly jako statisticky nevýznamné. Jejich hodnota byla stanovena v rozmezí 0,90-0,91 mg/g sušiny. Grafické znázornění udává Graf 2.

Tabulka 11 Vliv faktoru závlahové varianty na obsahu vitamínu C

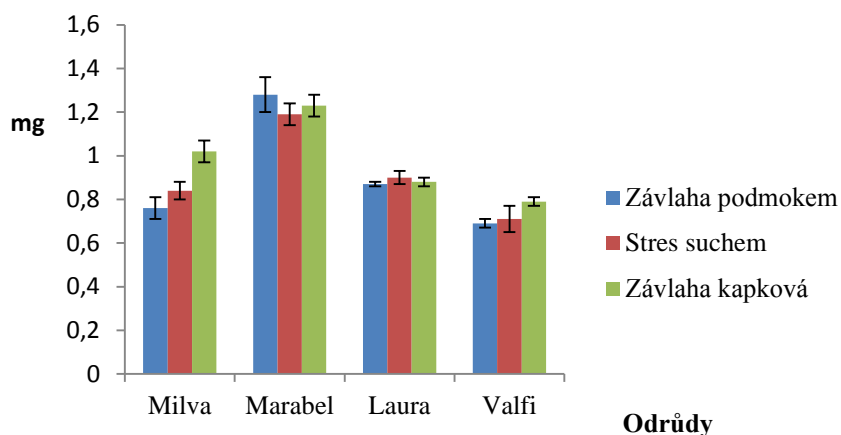
| Tukeyův HSD test; proměnná Obsah vitamínu C mg/g sušiny | | | | |
|---|------------------|--|------|------|
| Homogenní skupiny, alfa = ,05000 | | | | |
| Chyba: Meziskup. PČ - ,00203, sv - 24,000 | | | | |
| Č.buňky | Varianta | Obsah vitamínu C mg/g sušiny - Průměr | 1 | 2 |
| 1 | Závlaha podmokem | 0,902500 | **** | |
| 2 | Stres suchem | 0,909167 | **** | |
| 3 | Závlaha kapková | 0,981667 | | **** |



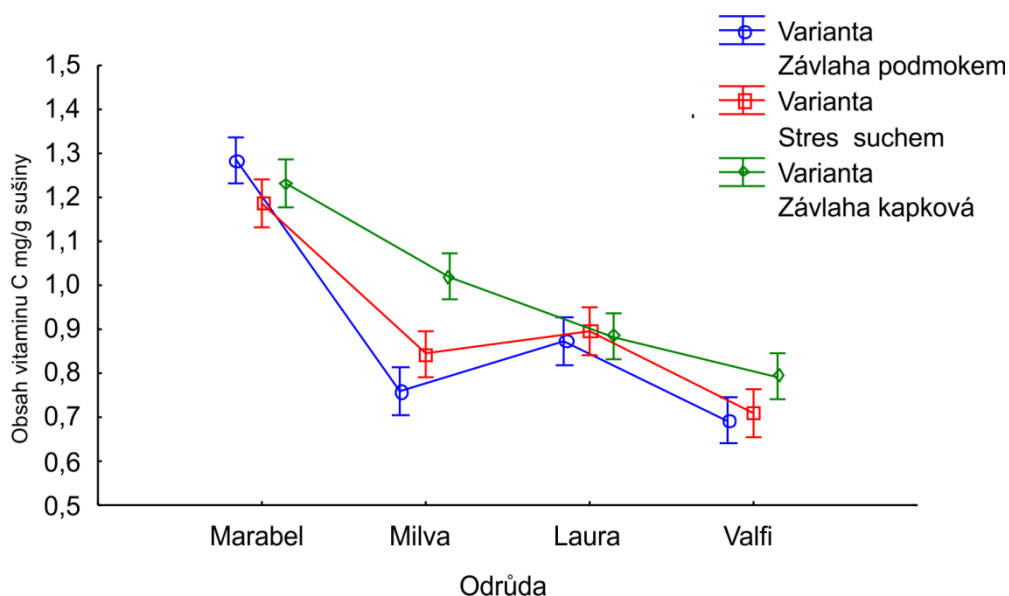
Graf 2 Vliv faktoru závlahové varianty na obsahu vitamínu C mg/g sušiny (Odrůda: Průměry MNČ, Současný efekt: $F(2, 24) = 11,394$, $p = 0,00033$, Dekompozice efektivní hypotézy, Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti)

6.1.3 Interakce odrůda vs varianta

Zajímavější než samostatný pohled na jednotlivé odrůdy či metody závlahy nám nabízí sdružený graf všech sledovaných odrůd a závlahových variant, ze kterého lze vysledovat vzájemnou interakci všech kombinací. U všech typů odrůd vychází výsledky obsahu vitamínu C víceméně podobně, rozdíly u všech způsobů závlahy nejsou příliš výrazné. Výjimkou je odrůda Milva, která reaguje výrazně hůře na stres suchem a obsah vitamínu C se u ní snižuje již výrazněji. Ještě větší pokles v obsahu vitamínu C byl u Milvy zaznamenán při závlaze podmokem. Pokud bychom měli zhodnotit vhodnost jednotlivých typů závlah i u ostatních odrůd, třebaže nejsou difference tak výrazné, najdeme zde částečné rozdíly a u každé odrůdy se ukázala jako nejvhodnější jiná varianta závlahy. Jak už bylo řečeno, u odrůdy Marabel vychází obsah vitamínu C nejlépe ve všech variantách. Jako nejpříznivější se u ní ukázala závlaha podmokem, stres suchem se u ní naopak prokázal z hlediska vitamínu C jako nevyhovující. U odrůdy Laura byl stres suchem naopak nejpříznivější a u Valfi to byla stejně jako u Milvy závlaha kapková, která vycházela i samostatně jako nejpříznivější. Grafické znázornění udávají Graf 3 a 4.



Graf 3 Obsah vitamínu C v 1g suché hmotnosti – průměr odrůdy (mg)



Graf 4 Interakce odrůda vs varianta (Odrůda*Varianta: Průměry MNC, Současný efekt: $F(6, 24)= 7,5180$, $p=,00013$, Dekompozice efektivní hypotézy, Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti)

6.2 Zhodnocení výsledku antioxidační aktivity

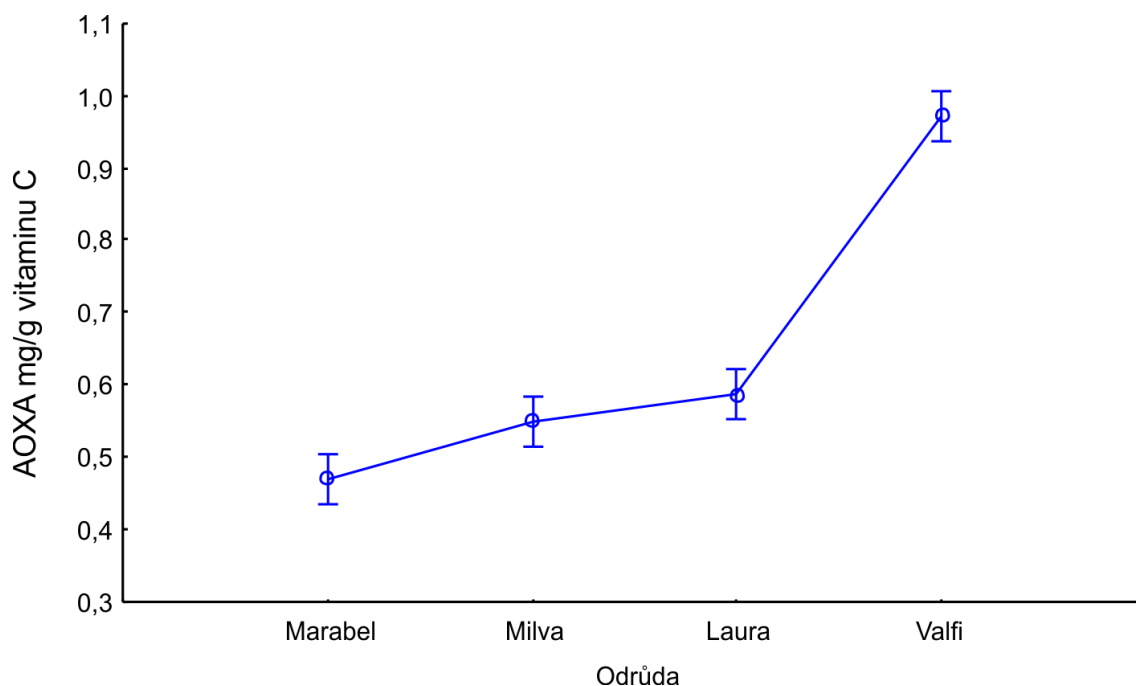
6.2.1 Faktor odrůda u antioxidační aktivity

Jak lze vidět v Tabulce 12, ze čtyř sledovaných odrůd má významně nejvyšší antioxidační aktivitu odrůda Valfi, kde vychází hodnota antioxidační aktivity v průměru 0,97 mg/g sušiny. Naopak významně nejnižší byla antioxidační aktivita zjištěna

u odrůdy Marabel, kde byla naměřena průměrná hodnota 0,47 mg/g sušiny. Rozdíl obsahů u odrůdy Milva a Laura byl statisticky nevýznamný, čísla jsou totiž téměř totožná. Graficky to znázorňuje i Graf 5.

Tabulka 12 Vliv faktoru odrůdy na antioxidační aktivitu v hlízách

| Tukeyův HSD test; proměnná AOXA mg/g vitaminu C | | | | | |
|---|---------|-----------------------------|------|------|------|
| Homogenní skupiny, alfa = ,05000 | | | | | |
| Chyba: meziskup. PČ = ,01137, sv = 132,00 | | | | | |
| Č.buňky | Odrůda | AOXA mg/g vitaminu C-Průměr | 1 | 2 | 3 |
| 1 | Marabel | 0,469684 | | **** | |
| 2 | Milva | 0,548591 | **** | | |
| 3 | Laura | 0,586966 | **** | | |
| 4 | Valfi | 0,970350 | | | **** |



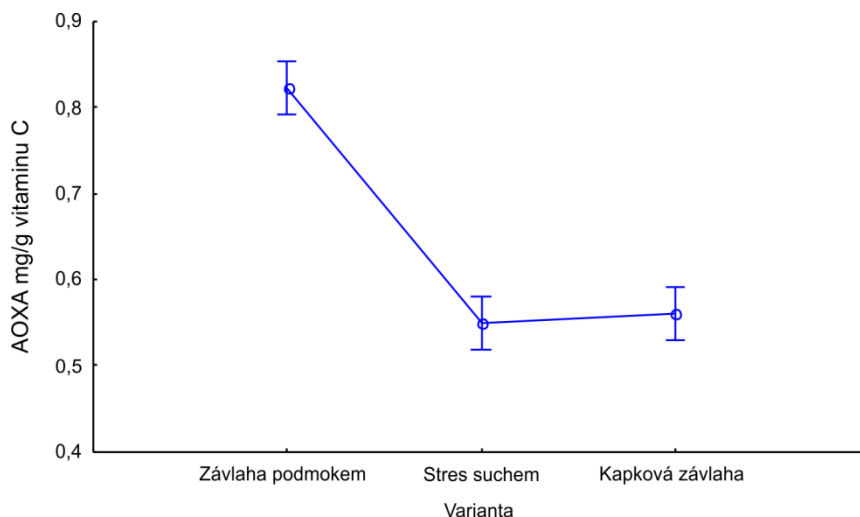
Graf 5 Vliv faktoru odrůdy na antioxidační aktivitu v hlízách (Odrůda: Průměry MNČ, Současný efekt: $F(3, 132) = 157,50$, $p = 0,0000$, Dekompozice efektivní hypotézy Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti)

6.2.2 Faktor varianta u antioxidační aktivity

Když srovnáme typy závlahových variant, z Tabulky 13 nám vyplývá, že statisticky nejvýznamnější je varianta závlahy podmokem, kdy antioxidační aktivita dosáhla v průměru 0,82 mg/g sušiny. Ostatní dvě metody se opět ukázaly jako statisticky nevýznamné. Jak u stresu suchem, tak u kapkové závlahy vycházejí hodnoty antioxidační aktivity podobně. Při stresu suchem to bylo 0,55 mg/g sušiny a ve druhém případě za použití kapkové závlahy to bylo 0,56 mg/g sušiny. Grafické znázornění udává Graf 6.

Tabulka 13 Vliv faktoru závlahové varianty na antioxidační aktivitu v hlízách

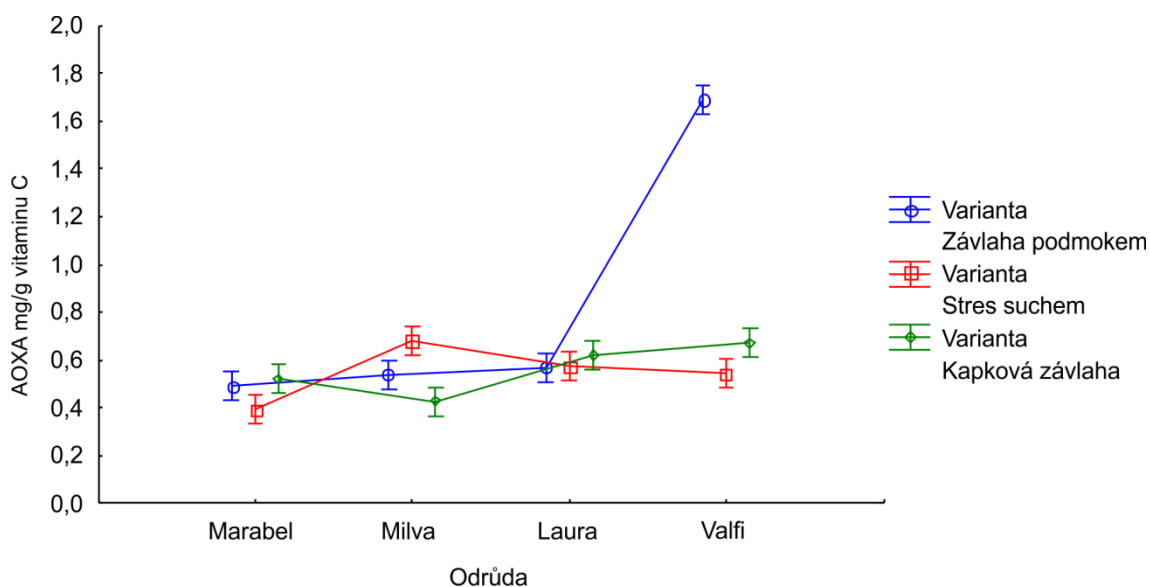
| Tukeyův HSD test; proměnná AOXA mg/g vitaminu C | | | | |
|---|------------------|-----------------------------|------|------|
| Homogenní skupiny, alfa = ,05000 | | | | |
| Chyba: Meziskup. PČ - ,00203, sv - 24,000 | | | | |
| Č.buňky | Odrůda | AOXA mg/g vitaminu C-Průměr | 1 | 2 |
| 2 | Stres suchem | 0,548631 | **** | |
| 3 | Kapková závlaha | 0,560415 | **** | |
| 1 | Závlaha podmokem | 0,822646 | | **** |



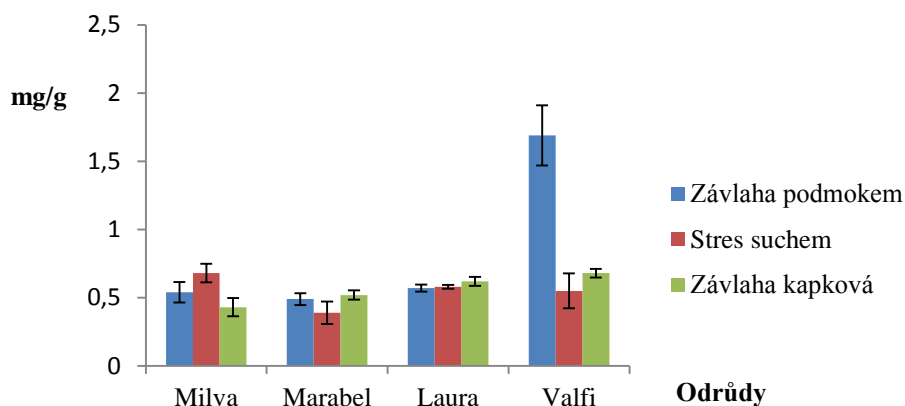
Graf 6 Vliv faktoru závlahové varianty na antioxidační aktivitu v hlízách (Varianta: Průměry MNC, Současný efekt: $F(2, 132) = 101,30$, $p = 0,0000$, Dekompozice efektivní hypotézy, Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti)

6.2.3 Interakce odrůda vs varianta u antioxidační aktivity

Stejně jako u vitamínu C, i v případě antioxidační aktivity nám přináší ucelený pohled na kombinace všech odrůd a závlahových variant Grafy 7 a 8. I zde je vidět, že mezi jednotlivými odrůdami nejsou v závislosti na typu závlahy příliš zřejmé rozdíly. Výjimkou je opět jen jedna odrůda, tentokrát Valfi, kde vycházela celková antioxidační aktivita výrazně nejlépe při závlaze podmokem. Celková antioxidační aktivita u všech odrůd se od sebe jinak příliš neliší. U Milvy je jen nepatrně vyšší hodnota při stresu suchem, u Marabel a Laury při kapkové závlaze.



Graf 7 Interakce odrůda vs varianta u antioxidační aktivity (Odrůda * Varianta: Průměry MNČ, Současný efekt: $F(6, 132) = 112,39, p = 0,0000$, Dekompozice efektivní hypotézy, Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti)



Graf 8 Antioxidační aktivita v 1g suché hmotnosti – průměr odrůdy (mg)

6.3 Počáteční hypotézy:

H₀₁: Obsah vitamínu C koreluje s antioxidační aktivitou hlíz brambor

Při hodnocení toho, zda obsah vitamínu C koresponduje s celkovou antioxidační aktivitou, vycházíme z korelačního grafu, kde nám hodnota korelace vyháží -0,4864, což svědčí o tom, že vyšší obsah vitamínu C neznamena vyšší antioxidační aktivitu, ale je tomu spíše naopak. Čím více bylo naměřeno vitamínu C, tím byla celková antioxidační aktivita nižší. Neplatí to však v případě všech odrůd. Vyše napsanému vyhovovali odrůdy Marabel a Valfi, v případě odrůd Laura a Milva by se jistá pozitivní korelace mezi obsahem vitamínu C a antioxidační aktivitou dala najít. Jako celek však tuto počáteční hypotézu zamítáme.

H₀₂: Stres suchem ovlivňuje obsah vitamínu C a dalších antioxidantů v hlízách brambor.

Pro hodnocení vlivu stresu suchem na obsah vitamínu C a dalších antioxidantů v hlízách můžeme využít Tukeyův HSD test. Při pohledu na Tabulky 11 a 13 lze konstatovat, že vliv stresu suchem se jeví v obou případech jako statisticky nevýznamný. V případě vitamínu C hodnoty vycházejí téměř stejně jako v případě závlahy podmokem (0,90 a 0,91 mg/g), vyšší obsahy vitamínu C byly naměřeny jen v případě kapkové závlahy (0,98 mg/g). Při zkoumání celkové antioxidační aktivity se jako statisticky významná ukázala naopak pouze závlaha podmokem (0,82 mg/g),

u stresu suchem byla naměřena přibližně stejná čísla jako u kapkové závlahy (0,55 a 0,56 mg/g). Počáteční hypotéza se tedy nepotvrdila ani v jednom případě.

H₀₃: Stresované rostliny mají v hlízách nižší obsah vitamínu C, ale vyšší antioxidační aktivitu hlíz.

Tato hypotéza nebyla potvrzena ani v jednom parametru. Jak můžeme vidět na Grafu 3, v případě vitamínu C původnímu předpokladu vyhovovala pouze odrůda Marabel, u které se potvrdilo, že v případě stresu suchem je oproti zbylým dvěma typům závlahy obsah vitamínu C opravdu nejnižší. To samé se však nepotvrdilo u odrůd ostatních, kde obsah vitamínu C nejvíce snižovala závlaha podmokem, u Laury byly zaznamenány nižší hodnoty i při použití kapkové závlahy. Laura se však vyznačuje tak malými rozdíly, že lze říci, že u této odrůdy nemá způsob závlahy na obsah vitamínu C téměř žádný vliv.

Když se podíváme na Graf 8, i zde se počáteční hypotéza potvrdila pouze v jednom případě. Nejvyšší antioxidační aktivita při stresu suchem se projevila v případě Milvy, u Marabel a Valfi byla naopak nejnižší, u Laury se dá kvůli malému rozdílu opět říci, že použitá metoda závlahy není rozhodující a hodnoty jsou téměř totožné.

7 Diskuze

V následující kapitole jsou porovnány výsledky pokusu se současnými poznatky z vědecké literatury. Storey (2007) uvádí ve své publikaci řadu faktorů, které mají vliv na obsah askorbové kyseliny v bramborových hlízách. Mezi nejvýznamnější jmenuje odrůdu, rok a způsob pěstování, klimatické podmínky, stupeň zralosti, způsob sklizně a skladování. Rivero a kol. (2003) ještě dodává význam polohy a stanoviště pěstování a složení půdy. Burgos a kol. (2009) poukazuje také na význam nadmořské výšky, ve které jsou brambory pěstovány. Mezi dalšími faktory bývá uváděn například ještě genotyp. Tyto zmíněné faktory se uplatňují i v případě antioxidační aktivity. Wang a Frei (2011) poukazují rovněž na zvýšenou koncentraci antioxidantů vlivem stresu způsobeného UV zářením nebo světlem.

Cílem této práce bylo prokázat především to, zda obsah vitamínu C a celkovou antioxidační aktivitu ovlivňuje způsob používané závlahy. Jak vyplývá ze zpracované analýzy, z námi naměřených hodnot nelze jednoznačně určit, že by na obsah vitamínu C měla rozhodující vliv určitá závlahová metoda. V průměru sice vychází nejlépe metoda zavlažování kapkovou závlahou, nicméně tento rozdíl není příliš velký (0,982 mg/g oproti 0,903 mg/g při závlaze podmokem a 0,909 mg/g při stresu suchem) a tento výsledek se rovněž nepotvrdil ani u všech zkoumaných odrůd. Jako mnohem významnější se zde ukázalo právě to, že množství vitamínu C je více než na metodě zavlažování závislé na pěstované odrůdě, kde byly rozdíly mezi jednotlivými druhy již výraznější (od 0,732 mg/g do 1,233 mg/g). Dle námi zpracované analýzy lze tedy konstatovat, že v případě vitamínu C se jedná v mnohem větší míře o odrůdovou záležitost. To koresponduje i se studii, které provedl například Alfawaz a Almainan (2003), u nichž byl významný vliv odrůdy na obsah askorbové kyseliny rovněž prokázán. Na význam odrůdy upozorňuje také Burgos a kol., (2009) ve své studii zabývající se 25 žlutomasými odrůdami brambor pěstovanými ve třech různých lokalitách. Právě pěstovaná odrůda zde má na obsah vitamínu C v hlízách největší vliv a je jí přikládána až 3 krát větší váha v porovnání s jinými již zmiňovanými vlivy jako je např. lokalita. Hamouz a kol. (1999) pak uvádí statisticky průkazný vliv genotypu na obsah askorbové kyseliny.

S předchozími studii se tato práce shoduje i v případě srovnání žlutomasých hlíz oproti hlízám s barevnou dužninou. Z výzkumu, který provedla například

Hejtmánková (2011) vyplynulo, že obsah vitamínu C u žlutomasých brambor byl vyšší než u těch s barevnou dužninou. V jimi zkoumaném roce 2008 byl obsah vitamínu C vyšší v průměru o 40 %. V této práci barevné odrůdy zastupovala fialová odrůda Valfi a i zde byl oproti zbývajícím třem žlutým druhům obsah vitamínu C skutečně nižší. Hodnota 0,732 mg/g (Valfi) vzhledem k 0,997 mg/g (průměr Marabel, Laura, Milva) nám dává podobný rozdíl jako výzkum z roku 2008, v našem případě je to 36 % v neprospěch fialové odrůdy. Hamouz a kol. (1999) je také ve shodě s dosaženými výsledky. I v jeho studiích byl u odrůdy Valfi s fialovou dužninou zjištěn obsah vitamínu C mírně pod průměrem u dané skupiny odrůd, kde měly mnohem vyšší obsah vitamínu C žlutomasé odrůdy.

Na naměřené hodnoty vitamínu C se můžeme podívat ještě z dalších úhlů pohledů. Tím pohledem může být třeba srovnání výsledných obsahů vitamínu C této práce z roku 2015 s hodnotami zjištěnými při jiných studiích. Využít k tomu můžeme opět práce Hejtmánková (2011). Obecně se udává, že brambory obsahují vitamínu C v průměru 63,6 mg/100 g v sušině, což pro lepší srovnání znamená 0,636 mg/g. Hejtmánková (2011) pak udává hodnoty vitamínu C v rozmezí 0,407-1,054 mg/g sušiny. Hodnoty našich odrůd však dosahují mezi 0,732 mg/g-1,233 mg/g, tedy čísel poměrně vyšších. Jelikož se při analýze neprokázal vliv stresu suchem, mají na této skutečnosti svůj podíl zřejmě jiné stresové faktory jako je například teplota nebo UV záření. Právě celkový charakter počasí mohl sehrát velice významnou roli, kdy se rok 2015, zejména pak jeho letní měsíce, vyznačovaly nadprůměrnými teplotami, vysokým počtem slunečných dnů a podprůměrným množstvím srážek. Teplejší podnebí s nižším úhrnem srážek je totiž dle odborných autorů právě jedním z důležitých faktorů, které mají na obsah vitamínu C v bramborách pozitivní vliv. To potvrzuje například Lachman a kol. (2006), kteří zjistili, že více vitamínu C lze najít v plodinách pěstovaných v suchých a teplejších podmínkách a v lepším případě na lehčích půdách. Rovněž ve zmiňovaném výzkumu Hejtmánkové byl rok 2009 charakterizován jako teplejší, zároveň s nižším úhrnem srážek, což se projevilo opět zvýšeným obsahem vitamínu C v bramborách oproti letům jiným. Ale důvodů proč byl obsah vitamínu C zvýšený, může být samozřejmě více. Otázkou k diskuzi o vlivu zavlažování může být například i to, zda bylo v takto teplotně výrazném a suchém roce používáno při obou zavlažovacích metodách dostatečné množství vody pro to, aby to mělo na hlízy

dostatečný vliv a při následné analýze pak bylo možné tyto rozdíly relevantně zjistit. K dostatečné odpovědi by bylo patrně třeba dalších výzkumů.

Pokud si zrekapitulujeme účinky závlahové metody u druhého zkoumaného jevu, tedy v případě antioxidační aktivity, nejvíce příznivý vliv měla v tomto ohledu závlaha podmokem. Ani zde se to ovšem nepotvrdilo u všech měřených skupin tak, abychom mohli jednoznačně říci, že závlaha podmokem je pro antioxidační aktivitu brambor nejpříznivější. Nadprůměrné hodnoty této zavlažovací metody byly totiž ovlivněny především výsledkem u odrůdy Valfi, kde byla celková antioxidační aktivita v případě této metody jednoznačně nejvyšší. U ostatních odrůd však vidíme z hlediska účinku jednotlivých metod opět rozdíly a i zde lze přikládat vyšší váhu právě odrůdovému faktoru. Dále potom autoři (Hamouz a kol. 2012) poukazují na genotyp, který ovlivňuje antioxidační aktivitu hlíz i v rámci skupiny odrůd s barevnou dužninou. Také Friedman (1997) či Pawelczik (1999) uvádějí ve svých pracích opět vysoce průkazný vliv genotypu, který mohl mít pravděpodobně prokazatelný vliv na antioxidační aktivitu i u našich odrůd. Ještě pak Lachman a kol. (2005) poukazují na důležitost genotypu odrůdy, která má také evidentní vliv na obsah celkových polyfenolů (CP), askorbové kyseliny a na antioxidační aktivitu hlíz.

Podobně jako u vitamínu C je i v případě antioxidační aktivity zajímavé srovnání fialové odrůdy Valfi s odrůdami žlutými. Ve výzkumech, které provedli například Prugar a kol. (2008) či Lachman a Hamouz (2004) vychází vyšší hodnoty antioxidační aktivity vždy u odrůd s barevnou dužninou, a to přibližně 2-3 krát oproti hlízám žlutým či bílým. To se projevilo i ve studiích řady dalších autorů jako je například Gromes a Herrmann (2008) nebo Brown a kol. (2003), kde všechny odrůdy brambor s barevnou dužninou z hlediska antioxidační aktivity hlíz vždy výrazně převyšují tradiční odrůdy se žlutou nebo bílou barvou dužniny. Stejný výsledek se opět potvrdil i u analýzy zpracované v této práci, kdy antioxidační aktivita fialové Valfi (0,97 mg/g) byla přibližně 1,8 krát vyšší než průměrná hodnota odrůd žlutomasých (0,535 mg/g).

Stejně jako u Hejtmánkové (2011), tak i v naší studii se prokázalo, že není možné určit závislost mezi antioxidační aktivitou a obsahem vitamínu C. Bramborové hlízy s vyšší antioxidační aktivitou ve více případech obsahovaly vitamínu C méně, pravděpodobně se tak vyznačovaly a lišily vyšším obsahem dalších antioxidantů, jako jsou například polyfenolické sloučeniny - kyselina chlorogenová, jelikož vitamín C není

hlavním antioxidantem zastoupeným v bramborách. Například dle Šulce a kol. (2007) mají fialově nebo červeně zbarvené odrůdy nejvyšší antioxidační aktivitu hlavně díky přítomným antokyanům.

Z této práce tedy opět vyplývá, že antioxidační aktivita není až tak ovlivněna použitou závlahovou metodou, ale zejména jinými stresovými faktory jako je již zmiňované počasí, UV záření či teplota. To potvrzují Wang a Frei (2011), kteří poukazují na zvýšenou koncentraci fenolů vlivem stresu způsobeného UV zářením nebo světlem. Pessarakli (1999) zase udává, že nejběžnější ochranný mechanismus proti potenciálně škodlivému vlivu ozáření je právě biosyntéza UV, které absorbují sloučeniny zejména různé třídy flavonoidů. Flavonoidy se pak hromadí ve vakuolách a zmírňují UV složky slunečního světla. Reyes a kol. (2004) prokázali ve své studii, že hlízy stresované vysokou intenzitou slunečního záření a delších dnů obsahovaly vyšší množství anthokyaninů a polyfenolů.

8 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala studiem vlivu stresu sucha na obsah vitamínu C a antioxidantně působících látek v hlízách brambor. Cílem bylo stanovit obsah vitamínu C a látek s antioxidantní aktivitou ve čtyřech odrůdách brambor a porovnat naměřené hodnoty mezi rostlinami zásobenými dostatečně vodou a rostlinami pod vodním stresem. Zároveň byly stanoveny tři hypotézy.

1. Předpokládalo se, že obsah vitamínu C koreluje s antioxidantní aktivitou hlíz brambor. Tato hypotéza byla jako celek zamítnuta, neboť výsledná hodnota korelace vyšla záporně -0,4864. Této hypotéze pak vůbec nevyhovovaly především odrůdy Marabel a Valfí, jelikož se v jednom znaku objevovaly na prvním místě mezi sledovanými odrůdami, ve druhém faktoru však byly zase na opačném pólu a zaujímaly místo poslední. Marabel se konkrétně ukázala jako odrůda obsahující největší množství vitamínu C, ale celková antioxidantní aktivita u ní byla nejnižší. U Valfí se zase potvrdilo, že jako fialová odrůda se vyznačuje nejvyšší antioxidantní aktivitou, ovšem vitamínu C u ní bylo naměřeno nejméně. Antioxidantní aktivita u brambor je tak více ovlivněna jinými polyfenolickými látkami než jenom obsahem vitamínu C.

2. Očekávalo se, že stres suchem ovlivňuje obsah vitamínu C a dalších antioxidantů v hlízách brambor. Ani tato počáteční hypotéza se nepotvrdila a to ani v jednom parametru. Při zkoumání vlivu závlahové metody na obsah vitamínu C se metoda stresu suchem statisticky významně nelišila od závlahy podmokem, v případě antioxidantní aktivity pak vycházely téměř stejné hodnoty jako u kapkové závlahy. Obsah vitamínu C bramborových hlíz i jejich antioxidantní aktivita tak byla vyhodnocena jako odrůdová záležitost, nikoliv jako skutečnost, jež by byla ovlivněna závlahovou metodou.

3. Bylo odhadováno, že stresované rostliny mají v hlízách nižší obsah vitamínu C, ale vyšší antioxidantní aktivitu hlíz. Tento předpoklad se opět nepodařilo prokázat a i tato hypotéza byla jako celek zamítnuta. Stres suchem sice oproti ostatním zavlažovacím metodám snižoval obsah vitamínu C u odrůdy Marabel, u zbylých třech už tomu tak ovšem nebylo. Stejně tak i u antioxidantní aktivity původní předpoklad naplňovala pouze odrůda Milva, stejný trend u ostatních odrůd se však opět nepotvrdil. I zde se tak ukázalo, že na obě skutečnosti měl větší vliv faktor odrůdy.

Při celkovém zhodnocení výsledků práce jsem tedy dospěla k závěru, že z pohledu obsaženého množství vitamínu C ani antioxidační aktivity brambor nelze na metodu zavlažování pohlížet jako na faktor rozhodující. Mnohem více stěžejní je vliv zkoumané odrůdy, kde má změna ve způsobu zavlažování jen nepatrný účinek a co je hlavní, u každé odrůdy se projevuje jinak. Nezanedbatelný vliv na tuto skutečnost mohl mít v našem případě nepochybně i charakter počasí, které po dobu sledování celkovou závlahu rostlin ovlivňovalo. Zde by samozřejmě muselo dojít k dalším pokusům, aby se dal tento vliv částečně eliminovat a výsledky tak byly průkaznější. S jinými autory se však tato studie ve spoustě charakteristik shoduje. Je to především již zmíněný význam odrůdy pro obě sledované veličiny, tedy jak pro obsah vitamínu C, tak pro antioxidační aktivitu hlíz. Potvrdila se i rozdílnost fialových a žlutomasých odrůd, kdy fialová Valfi obsahovala prokazatelně menší množství obsahu vitamínu C, ale vyznačovala se vysokou hladinou antioxidační aktivity, jako tomu bylo u barevných odrůd v jiných pracích. V neposlední řadě se pak na absolutních číslech obsahu vitamínu C potvrdila tvrzení odborných autorů, kteří tvrdili, že na tento znak má pozitivní vliv celkově sušší a teplejší charakter počasí, což rok 2015 bezpochyby splňoval.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

| | |
|-----------------|--|
| ABTS | 2,2'- azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonan)diamonný |
| Al | Hliník, Aluminium |
| ANOVA | Analýza rozptylu |
| AOXA | Antioxidační aktivita |
| APX | Askorbát peroxidázy |
| Au | Zlato, Aurum |
| B1 | Thiamin |
| B2 | Riboflavin |
| B3 | Nikotinamid, Kyselina nikotinová |
| B5 | Kyselina pantotenová |
| B6 | Riboflavin |
| β-PE | β-fykoerytrin |
| Ca | Vápník, Calcium |
| CO ₂ | Oxid uhličitý |
| CP | Celkové polyfenoly |
| Cu | Měď, Cuprum |
| Č.hm | čerstvá hmotnost |
| ČZU | Česká zemědělská univerzita |
| ČR | Česká republika |
| DAD | Spektrometrický detektor s diodovým polem (Diode Array Detector) |
| DMPO | 2, 2-dimethyl-2H-pyrrol-1-oxid |
| DNA | Deoxyribonukleová kyselina |
| DPPH | Deoxyribonukleová kyselina, radikál, 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl |
| EA | Anodický oxidační pík |

| | |
|----------|---|
| ESR | Erythrocyte sedimentation rate |
| Fe | Železo, Ferrum |
| FL | Fluorescein |
| FRAP | Ferric reduction ability of plasma |
| GAE | Ekvivalent kyseliny galové |
| GPC | Gelová chromatografie |
| GR | Glutathion reduktáza |
| HPLC | Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography) |
| HPLC-ECD | High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection |
| IA | Anodický proud |
| K | Draslík, Kalium |
| Kcal | Kilokalorie |
| kDa | Kilodalton |
| Kj | Kilojoule |
| IEC | Iontově výměnná chromatografie |
| LLC | Rozdělovací chromatografie |
| LSC | Adsorpční chromatografie |
| MDA | Malondialdehyd |
| Mg | Hořčík, Magnesium |
| MS | Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry) |
| MPa | Megapascal |
| Na | Sodík, Natrium |
| NADH | Nikotinamidadenindinukleotid |
| NADPH | Nicotinamiddinukleotid fosfát |
| NPK | Nejvyšší povolená koncentrace |

| | |
|-----------|---|
| ORAC | Oxygen radical absorbance capacity |
| P | Fosfor, Phosphorus |
| PH | Potential of hydrogen, Potenciál vodíku |
| PP | Nikotinamid |
| ppm | Parts per million |
| PPO | Polyphenol oxidasa |
| Pt | Platinum |
| Se | Selen, Selenium |
| TAA | Total antioxidant activity (celková antioxidační aktivita) |
| TBA | Kyselina thiobarbiturová |
| TEAC | Trolox equivalent antioxidant capacity |
| TPTZ | 2, 4, 6-tripyridyl-S-triazin |
| TRAP | Total radical – trapping antioxidant parameter |
| SOD | Superoxiddismutáza |
| USA | Spojené státy americké |
| UV | Ultrafialová oblast spektra |
| UV-B | Záření UVB má vlnovou délku v rozsahu od 280 do 315 nm |
| UV- VIS | Ultrafialovo-viditelná spektroskopie |
| Vitamin A | Axeroftol |
| Vitamin E | Tokoferoly |
| Vitamin K | K ₁ fylochinon, Vitamin K ₂ - menachinon, |
| Vitamin C | Askorbová kyselina |
| WST-1 | Formazanové barvivo |
| Zn | Zinek, Zincum |

10 Literatura

AbramssonZetterberg, L. 2003. The dose - response relationship at very low doses of acrylamide is linear in the flow cytometer - based mouse micronucleus assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 535(2). 215 - 222.

Alfawaz, M. A., Almaiman, S. A. 2003. Vitamin C content of selected potatoes cultivated across Saudi Arabia. *Annals of Agricultural Science Cairo*, 48(2). 619–625.

Al - Saikhan, M. S., Howard, L. R., Miller, J. C. 1995. Antioxidant activity and total phenolic in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum*, L). *Journal of Food Science*. 60 (2). 341.

Anon 1. HPLC - vysokoúčinná kapalinová chromatografie [online]. Vyšší odborná škola zdravotnická a Střední zdravotnická škola. n. d. [cit. 2016-3-3]. Dostupné z <<http://labmet.zshk.cz/vyuka/hplc.aspx>>.

Anon 2. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie [online]. n. d. [cit. 2016-3-3]. Dostupné z <<http://ciselniky.data.mzcr.cz/hypertext/200540/hypertext/BOAJALB.htm>>.

Anon 3. Odrůdy brambor-jak chutnají? [online]. 2009 [cit. 2016-3-3]. Dostupné z <<http://odrudybrambor.blog.cz/0909/odruda-milva-salatove-ab>>.

Anon 4. Sadbové brambory pozdní a poloran [online]. n. d. [cit. 2016-3-3]. Dostupné z <<http://www.ovoimont.cz/sadbove-brambory-polorane-a-polopozdni>>.

Anon 5. Bramborárna Šanca [online]. n. d. [cit. 2016-3-3]. Dostupné z <<http://www.bramborarnasanca.cz/?c=22>>.

Arnao, M. B., Cano, A., Acosta, M. 1999. Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion. *Free Radical Research*. 31(Suppl. S). 89 – 96.

Andre, C. M., Oufir, M., Guignard, C., Hoffman, L., Hausman, J. F., Evers, D., Larondelle, Y. 2007. Antioxidant profilig 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(26), 10839-10849.

Andre, M. A., Schafleitner, R., Guignard, C., Oufir, M., Aliaga, C. A., Nomberto, G., Hoffman, L., Hausman, J. F., Evers, D., Larondelle, Y. 2009. Modification of the health-promoting value of potato tubers field grown under drought stress: emphasis on dietary antioxidant and glycoalkaloid contents in five native andean cultivars (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (2). 599 – 609.

Bárta, J., Bártová, V. 2008. Patatin, the Major Protein of Potato (*Solanum tuberosum* L.). Tubers, and its Occurence as Genotype Effect. Processing Versus Table Potatoes, *Czech Journal of Food Sciences*. 26. 347-359.

Bárta, J., Čepl, J., Diviš J., Hamouz, K., Jůzl, M., Vacek, J. 2008. Brambory. In: Prugar J. (ed.): *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha, Kvasný průmysl. s. 241 - 261. ISBN: 978-80-86576-28-2.

Bárta, J., Čurn, V. 2004. Bílkoviny hlíz bramboru (*Solanum tuberosum* L.) a klasifikace, charakteristika, význam. *Chem. Listy*. 98. 373 - 378.

Baudisová, H. 2014. Pěstování brambor v ČR. *Farmář*. 10. 22 - 24.

Boyle, S. P., Dobson, V. L., Duthie, S. J. 2000. Absorption and DNA protective effects of flavonoid glycosides from an onion meal. *European Journal of Nutrition*. 39. 213 – 223.

Brat, P., Georgé, S., Bellamy, A., Du Chaffaut, L., Scalbert, A., Mennen, L., Arnault, N., Amiot, M. J. 2006. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *The Journal of Nutrition*. 136. 2368 – 2373.

- Breithaupt, D. E., Bamedi A. 2002. Carotenoids and Carotenoid Esters in Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). New Insights into an Ancient Vegetable. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50. 7175 - 7178.
- Brown, C. R., Wrolstad, R., Durst, R., Yang, C. P., Clevidence, B. 2003. Breeding studies in potatoes containing high concentrations of anthocyanins. *American Journal of Potato Research*. 80(4). 241 – 250.
- Brown, C. R. 2004. Nutrient status of potato: Assesment of future trends. In *Proc. Washington State Potato Conference*. 11 – 17.
- Brown, C. R. 2005. Antioxidants in potato. *American Journal of Potato Research*. 82. 163 - 172.
- Brown, C. R., Culley, D., Bonierbale, M., Amoros, W. 2007. Anthocyanin, Carotenoid Content, and Antioxidant Values in Native South American. Potato Cultivars, *HortScience*. 42. 1733 - 1736.
- Brown, C. R., Durst, R. W., Wrostad, R., De Jong, W. 2008. Variability of Phytonutrient Content of Potato in Relation to Growing Location and Cooking Method. *Potato Research*. 51 (3-4). 259 - 270.
- Burgos, G., Auqui, S., Amoros, W., Salas, E., Bonierbale, M. 2009. Ascorbic acid concentration of native Andean potato varieties as affected by environment, cooking and storage. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22. 533 - 538.
- Burlingame, B., Mouillé B., Charrondiére, R. 2009. Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22. 494 - 502.
- Burton, W. G. 1989. *The Potato*. Harlow UK, Longman Scientific and Technical London. p. 742. ISBN: 9780470211915.
- Cao, G., Sofic, E., Prio, R. L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44 (11). 3426 - 3431.

Cao, G. H., Sofic, E., Prior, R. L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure- activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*. 22(5). 749 - 760.

Combs, Jr., Gerald, F. 2012. *The Vitamins*. second edition, Academic press.

Čepl, J., Vokál, B., Hausvater, E., Rasocha, V. 2003. *Pěstujeme brambory*. Grada Publishing a. s. Praha. s. 7. 104. ISBN: 8024705672.

Čepl, J. 2005. Brambory – zdravá potravina. *Bramborářství*. 13 (6). 20 - 21.

Čermák, V. 2008. *Přehled odrůd 2008: Brambory*. 1. vyd. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský a Národní odrůdový úřad. s. 127: ISBN 978-80-7401-003-3.

Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Berte, F., Gazzani, G. 2000. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* 48. 1449-1454.

Dralle, H. 2005. Ist eine Aufwertung der Kartoffel durch Selendüngung möglich? In *Kartoffeltrends 2005: Züchtungsfortschritt, Vermehrung und Pflanzgutbereitstellung*. Bergen/Dumme: Agrimedia. 42 – 43.

Douša, M. 2002. *Základy separačních metod se zaměřením na HPLC*. 1. vyd. Brno: ÚKZÚZ. s. 129. ISBN: 80-86548-09-0.

Fořt, P. 2005. *Zdraví a potravní doplňky*. Euromedia Group. Ikar. 1. 363 - 372.

Fossen, T., Ovstedal, D. O., Slimestad, R., Andersen, O. M. 2003. Anthocyanins from a Norwegian potato cultivar. *Food Chemistry*. 81(3). 433 – 437.

Friedman, M. 1997. Chemistry, biochemistry and dietary role of potato polyphenols – a review. *J. Agric. Food Chem.* 45 (5). 1523 - 1540.

Galvano, F., Fauci, L. L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N. C., Tavazzi, B., Galvano, G. 2004. Cyanidins: metabolism and biological properties, *Journal of Nutritional Biochemistry*. 15. 2 - 11.

Gardner, P. T., McPhail, D. B., Duthie, G. G. 1998. Electron spin resonance spectroscopic assessment in the antioxidant potential of teas in aqueous and organic media. *J.Food Sci. Agr.* 76. 257 - 262.

Gregory, P. J., Simmonds, L. P. 1992. Water relations and growth of potatoes. In: Harris, P. M. *The potato crop*. London. Chapman & Hall. 214 - 241.

Gromes, R., Herrmann, M. E. 2008: Antioxidative capacity of potatoes. *Ernährungs – Umschau*. 55(2). 78 – 82.

Hamouz, K. 1994. *Základy pěstování konzumních a průmyslových brambor*. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR v Praze. Praha. s. 56. ISBN: 8071050903.

Hamouz, K., Lachman, J., Vokál, B., Pivec, V. 1999. Influence of environmental conditions and way of cultivation on polyphenol and ascorbic acid content in potato tubers. *Rostlinná výroba*. 45 (7). 297 - 298.

Hamouz, K., Lachman, J., Vacek, J., Domkářová, J., Horáčková, V. 2009. Brambory sbarevnou dužninou vynikají zvýšeným obsahem antioxidantů. *Bramborářství*. 17. 12 – 14.

Hamouz, K., Lachman, J., Pazderů, K., Tomášek, J., Hejtmánková, K., Pivec, V. 2011. Differences in anthocyanin content and antioxidant activity of potato tubers with different flesh colour. *Plant, Soil and Environment*. 57 (10). 478 - 485.

Hamouz, K., Lachman, J., Vacek, J., Domkářová, J. 2012. Výnos a kvalita brambor s barevnou dužninou. *Agromanuál*. 11/12. 56 - 60.

- Hejtmánková, K. 2011. Vliv faktorů na obsah vybraných ukazatelů jakosti hlíz brambor
Doktorská disertační práce. FAPPZ. Katedra chemie. Praha. s. 110.
- Hofius, D., Hajirezaei, M. R., Geiger, M., Tschiersch, H., Melzer, M., Sonnewald, U.
2004). RNAi-mediated tocopherol deficiency impairs photoassimilate export in
transgenic potato plants. *Plant Physiology*. 135(3). 1256 – 1268.
- Honglian S., Noguchi N., Etsuo N. 2001. Natural antioxidants – Introducing natural
antioxidants. *Antioxidants in Food – Practical Applications*, část 3. Cambridge:
Woodhead Publishing.
- Hoyle, C. H. V., Santos, J. H. 2010. Cyclic Voltammetric Analysis of Antioxidant
Activity in Citrus Fruits from Southeast Asia. *IFRJ*. 17. 937-946.
- Hoza, I., Kramářová, D. 2006. *Potravinářská biochemie II*, FT - UTB ve Zlíně. s. 104
ISBN: 80-7318-395-1.
- Hrabě, J., Rop, O., Hoza, I. 2005. *Technologie potravin rostlinného původu*. FT - UTB
ve Zlíně. s. 178. ISBN 80-7318-372-2.
- Hrnčířová, K. 2011. Méně využívaná rostlinná barviva - chlorofyly a anthokyany:
Anthokyany. *Výživa a potraviny: časopis Společnosti pro výživu*. Praha: Výživa servis
s. r. o.. 66 (3). 64 - 65.
- Hung, CH. Y., Murray, J. R., Ohman, S. M., Tong, C. B. S. 1997. Anthocyanin
accumulation during potato tuber development. *Journal of the American Society for
Horticultural Science*. 122. 8 – 145.
- Chloupek, O., Procházková, B. Hrudová, E. 2005. *Pěstování a kvalita rostlin*. Brno:
MZLU. s. 178. ISBN: 978-80-7157-897-0.
- Churáček, J. 1990. *Analytická separace látek*. Praha. SNLT. s. 384. ISBN: 80-03-
00569-8.

Jang, J., Song, K. B. 2004. Purification of Polyphenoloxidase from the Purple-fleshed Potato (*Solanum tuberosum* *Jasim*) and its Secondary Structure. *Journal of food science*, 69 (8). C648 - C651.

Jansen, G., Flamme, W. 2006. Coloured potatoes (*Solanum tuberosum* L.) – Anthocyanin content and tuber quality. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53 (7). 1321-1331.

Jůzl, M., Hlušek, J., Elzner, P. 2005. Možnosti zvýšení obsahu selenu v hlízách brambor. *Bramborářství*. 13 (4). 14-16.

Jůzl, M., Jůzl, M. jun. 2006. Brambory náš druhý chléb. *Výživa a potraviny*. 61 (6). 142-145.

Jůzl, M., Zrůst, J., Hlušek, J.. 2008. Rizikové látky v bramboru (*Solanum tuberosum* L.) a ve výrobcích z hlíz. Vyd. 1. Brno. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. s. 139. ISBN: 978-80-7375-167-8.

Kalač, P. 1992. Solanin v bramborách. *Výživa*. 47 (2) s. 44 - 46.

Kalač, P. 2003. Funkční potraviny. České Budějovice. DONA. s. 130. ISBN: 8073220296.

Karabín, M., Dostálek, P., Hofta, P. 2006. Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarství. *Chemické listy*. 100. 184 - 189.

Klouda P, 2003. Moderní analytické metody 2. Nakladatelství Klouda Pavel. Vyd 2., upr. a dopl. Ostrava. ISBN: 80-86369-07-2.

Kotíková, Z., Hejtmánková, A., Lachman, J., Hamouz, K., Trnková, E., Dvořák, P. 2007. Effect of selected factors on total carotenoid content in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Soil Environment*. 53. 355 - 360.

Kožnarová, V. 2005. Inovace výuky meteorologie a klimatologie. Projekt FRVŠ 3452/2005, MŠMT. FAPPZ ČZU v Praze. 23 posterů

.

Kryštof, V., McNae, I. W., Walkinshaw, M. D., Fischer, P. M., Müller, P., Vojtěšek, B., Strnad, M. (2005). Antiproliferative activity of olomoucine II, a novel 2, 6, 9 - trisubstituted purine cyclin-dependent kinase inhibitor. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. 62(15). 1763-1771.

Křišťan, F., Šimon, J., Strnad, P., Černý, V., Vrkoč, F., Martínek, V. 1973. Soustava pěstitelských opatření pro dosažení maximálních výnosů cukrovky a brambor. Československá akademie zemědělská. Praha. s. 44.

Kubát, K., Hrouda, L., Chrtěk, J. jun., Kaplan, Z., Kirschner, J., Štěpánek, J. 2002. Klíč ke květeně České republiky, Academia Praha. s. 928 . ISBN: 80-200-0836-5.

Kutnar, F. 2005. Malé dějiny brambor. Pelhřimov: Havlíčkův Brod: Praha: Nová tiskárna Pelhřimov; Výzkumný ústav bramborářský; Etnologický ústav AVČR. Vyd. 2. s. 216. ISBN 80-85010-58-5.

Kvíčala, J., Zamrazil, V., Jiránek, V. 2003. Selenium status of inhabitants of region Jablonec, Czech Republic. Trace Elements and Electrolytes. 20(2). 83 - 88.

Kvíčala J., Gauner V., Zamrazil V., Pobišová Z., Jiránek, V. 2004. Relationship between selenium status and antropometric parameters in humans. International Journal of Obesity. 28 (Suppl. S1). 63.

Lachman, J., Hamouz, K. Dvořák, P., Orsák, M., Pivec, V. 2000. Potato tubers as a significance source of antioxidants in human nutrition. Plant production. 46. 231 - 236.

Lachman, J., Hamouz, K. 2004. Anthokyany v hlízách brambor s červeně až modře zbarvenou dužninou - významný zdroj antioxidantů ve výživě. Bramborářství. 12(2). 12 - 15.

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

Lachman, J., Hamouz, K. 2005. Red and purple coloured potatoes as a significant source in human nutrition - a review. *Plant, Soil and Environment*. 51 (11). 477 - 482.

Lachman, J., Hamouz, K., Čepl, J., Pivec, V., Šulc, M., Dvořák, P. 2006. Vliv vybraných faktorů na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu hlíz brambor. In *Chemické listy*. 100 (7). 522 - 527. ISSN: 1213-7103.

Lachman, J., Hamouz, K., Šulc, M., Orsák, M., Pivec, V., Hejtmánková, A., Dvořák, P., Čepl, J. 2009. Cultivar differences of total anthocyanins and anthokyanidins in red and purple-fleshed potatoes and their relation to antioxidant activity. *Food Chemistry*. 114. 836-843.

Lachman, J., Hamouz, K., Orsák, M., Pivec, V., Hejtmánková, A., Pazderů, K., Dvořák, P., Čepl, J. 2012. Impact of selected factors – Cultivar, storage, cooking and baking on the content of anthocyanins in coloured-flesh potatoes. *Food Chemistry*. 133 (4). 1107-1116.

Leo, L., Leone, A., Longo, C., Lombardi, D. A., Raimo, F., Zacheo, G. 2008. Antioxidant compounds and antioxidant activity in „early potatoes“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (11). 4154 - 4163.

Leskova, E., Kubikova, J., Kováčiková, E., Košická, M., Porubská, J. and Holčíková, K., 2006. Vitamin losses, retention during heat treatment and continual ganges expressed by methemathical models, *Journal of food composition and analysis*. 19. p. 252-276. ISSN: 0889-1575.

Lister, C. E., Munro, J. 2000. Nutrition and health qualities of potatoes – a future focus. *Crop & Food Research*. Confidential Report No. 143. 4 - 39.

Love, S. L., Pavek, J. J. 2008. Positioning the potato as a primary food source of vitamin C. *American Journal of Potato Research*. 85(4). 277 – 285.

Lu, Y. R., Foo, L. Y. 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*. 75(2). 197 – 202.

Míča, B. 1991. Změna nutriční hodnoty brambor po oloupání. *Výživa*. 46 (2). 47 - 47.

Míča, B. 1995. Neenergetické a senzoricky aktivní látky v hlízách brambor. *Výživa a potraviny*. 50(5). 130 - 131.

Mikeš, O., Hejtmánek, M., Komers, R., Krejčí, M., Meloun, B., Motl, O., Novák, J., Novotný, L., Procházka, Ž., Prusík, Z., Šebesta, K., Štamberg, J., Tomášek, V., Turková, J. 1980. *Laboratorní chromatografické metody*. Nakladatelství: Technické literatury. Praha. 673 s.

Mikula, P. 1997. *Pěstování brambor. Ústav zemědělských a potravinářských informací*. Praha. s. 49. ISBN: 8086153231.

Mindell, E., Mundis, H. 2006. *Nová vitaminová bible: nejnovější informace o vitamínech, minerálních látkách, antioxidantech, léčivých rostlinách, o doplňcích stravy, léčebných účincích potravin i lécích používaných v homeopatii*. Vyd 2. Praha: Euromedia Group – Ikar. s. 572. ISBN: 80-249-0744-5.

Mínx, L., Diviš, J. 1994. *Rostlinná výroba – III (okopaniny)*. Vyd 1. Praha: Agronomická fakulta VŠZ v Praze. s. 153. ISBN 80-213-0154-6.

Moffat, A., Osselton, M. D., Widdop, B., Clarke E., G., C. 2004. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons : in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material*. Vyd.3. Pharmaceutical Press. S. 1931. ISBN 0 85369 473 7.

Nakamura, T., Nishi, H., Kokusenya, Y., Sato, T. 1998. Antioxidative activity estimation of methanol extracts of crude drugs by electrochemical detection high performance liquid chromatography (ECD-HPLC) and correlation with 1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 46 (9). 1388 - 1392.

Navarre, D. A., Shakya, R., Holden, J., Kumar, S. 2010. The Effect of Different Cooking Methods on Phenolics and Vitamin C in Developmentally Young potato Tubers. *American Journal of Potato Research*. 87. 350 - 359.

Navarre, D. A., Syamkumar, S. P., Shakya, R., Holden, M. J. 2011. HPLC profilig of phenolics in diverse potato genotypes. *Food Chemistry*. 127. 34 - 41.

Navari-Izzo, F., Quartacci, M. F., Sgherri, C. 2002. Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *Plant Physiology and Biochemistry*. 40(6-8) 463 – 470.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R. L. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49. 4619 – 4626.

Palace, V. P., Khaper, N., Qin, Q., Singal, P. K. 1999. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (5), 746 - 761.

Papas, A. 2000. Vitamin E: zázračný antioxidant při prevenci a léčbě srdečních chorob, rakoviny a stárnutí. Praha: Pragma. s. 380. ISBN: 80-720-5773-1.

Parkányiová, J., Parkányiová, L., Pokorný, J. 2003. Rostliny jako zdroje přírodních antioxidantů. In *Vitamins 2003 - Přírodní antioxidanty a volné radikály*. Univerzita Pardubice. s. 199 - 204. ISBN: 80-7194-549-8.

Passwater, R. A. 2002. All about antioxidants. Pragma. Praha. p. 94. ISBN: 80-7205-897-5.

Paulová, H., H. Bochořáková, E., Táborská, 2004. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chem. listy*. 98. 174 - 179.

Pawelzik, E., Delgado, E., Poberezny, J., Rogozinska, I. 1999. Effect of different climatic conditions on quality of certain German and Polish potato varieties. In Abstracts of Conference Papers, Posters and Demonstrations of 14th Triennial Conference of the EAPR. Sorrento 2-7 May 1999 (Assessorato Agricoltura Regiona Compañia ed.). 635 – 636.

Pedersen, C. B., Kyle, J., Jenkinson, A. M., Gardner, P. T., McPhail, D. B., Duthie, G. G. 2000. Effects of blueberry and cranberry juice consumption on the plasma antioxidant capacity of healthy female volunteers. *European Journal of Clinical Nutrition*. 54(5). 405 – 408.

Pelikán, M., Sáková, L. 2001. Jakost a zpracování rostlinných produktů. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice. s. 235. ISBN: 80-7040-502-3.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*. 133 (9). 2812 – 2819.

Pessaraki, M. 2010 Handbook of plant and crop stress. Third Edition. Boca Raton: CRC Press. ISBN: 978-1-4398-1396-6.

Peyrat - Maillard, M. N., Bonnely, S., Berset, C. 2000. Determination of the antioxidant activity of phenolic compounds by coulometric detection. *Talanta*. 51(4). 709 – 716.

Pospíšil J. 1968. Antioxidanty. Academia, Praha. Vyd. 1. s. 273.

Procházka, S. 2007. Botanika: morfologie a fyziologie rostlin. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. s. 242. ISBN 978-80-7375-125-8.

Prugar, J., Perlín, C., Čepl, J., Dostálová, J., Kopec, K. 2008. Kvalita rostlinných produktu na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s. s. 327. ISBN: 978-80-86576-28-2.

- Rapisarda, P., Tomaino, A., Cascio, R. L., Bonina, F., Pasquale, A. D., Saija, A. 1999. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47. 4718 – 4723.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramlez, P. M., Pridham, J. B. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*. 22. 375 - 383.
- Reyes, L. F., Miller, J. C., Cisneros-Zevallos, L. 2004. Environmental conditions influence the content and yield of anthocyanins and total phenolics in purple- and red-flesh potatoes during tuber development. 81 (3). 187-193.
- Reyes, L. F., Miller, J. C., Cisneros-Zevallos, Jr. 2005. Antioxidant Capacity, Anthocyanins, and total Phenolics in Purple- and red-fleshed Potato (*Solanum tuberosum* L.) Genotypes. *American Journal of Potato Research*. 82. 271 - 277.
- Rivero, R. C., Hernández, P. S., Rodríguez, E. M. R., Mertín, J. D., Romeo, C. D. 2003. Mineral concentrations in cultivar of potatoes. *Food chemistry*. 83. 247 - 253.
- Robak J., Gryglewski, R. J. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology*. 37 (5). 837 – 841.
- Rodriguez-Saona, L. E., Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. 1998. Anthocyanin pigment composition of red - fleshed potatoes. *Journal of Food Science*. 63. 458 - 465.
- Rosenthal, S., Jansky, S. 2008. Effect of production site and storage on antioxidant levels in speciality potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88 (12). 2087 – 2092.
- Schapendonk, A. H. C. M., Spitters C. J. T., Groot, P. J. 1989. Effects of water stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of five potato cultivars. *Potato Research*. 32 (1). 17 - 32.

Schulzová, V., Hubert, J. 2004. Kvalita produktů organického zemědělství ve vazbě na stav agrárního ekosystému ve skladech a na polích. Vědecká práce VVF: PROJ/2003/14deklas. s. 54.

Shabala, S. 2012. Plant stress physiology. CABI. Nosworthy Way. Wallingford. ISBN: 978-1-84593-995-3.

Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. 2001. Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. Methods in etymology. 335. 157 - 166.

Sinica, A. Spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra [online]. VŠCHT. n. d. [cit. 2016-02-03]. Dostupné z <http://www.vscht.cz/anl/lach1/5_Foto.pdf>.

Souci, S. W., Fachman, W., Kraut, H. 2008. Potato (*Solanum tuberosum* L.). Food composition and nutrition tables. CRC press. p. 1300. ISBN: 9780849341410.

Stefanelli, D., Goodwing, I., Jones, R. 2010. Minimal nitrogen and water use in horticulture: effects on quality and content of selected nutrients. Food Research International. 43 (7). 1833 - 1843.

Storey, M. 2007. The Harvested Crop. In: Vreugdenhil D. (Ed.) Potato Biology and Biotechnology, Advanced and Perspectives, Elsevier. Oxford. p. 441 – 470. ISBN: 978-0-444-51018-1.

Stratil, P. 1993. A B C zdravé výživy - Díl 2. 1. vyd. Brno: Stratil. s. 580. ISBN: 80-900029-8-6.

Štulík K., Ševčík J., Pacáková V., Jelínek I., Coufal P., Bosáková Z, 2004. Analytické separační metody. Nakladatelství Karolinum, Praha. Vyd. 1. s. 264. ISBN: 80-246-0852-9.

Šulc, M., Lachman, J., Hamouz, K., Orsák, M., Dvořák, P., Horáčková, V. 2007. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. Chemické listy. 101. 584 - 591. ISSN: 0009 - 2770.

Timoracká, M., Vollmannová, A., Bajčan, D. 2008. Analýza polyfenolických látok v rastlinnom materiáli. In Kvalita potravín. Šumperk: Qualifood. 8 (2). 4 - 17.

Třebichavský, J., Šavrdová, D., Blohberger, M. 1998. Toxické kovy. Kutná Hora: NSO. s. 509.

Tudela, J. A., Espín, J. C., Gil, M. I. 2002. Vitamin C retention in fresh-cut potatoes, Postharvest Biology and Technology. 26. 75 - 84.

Vaneková, Z. 1981. Pěstování raných brambor. 1. vydání. Liptovský Mikuláš: Květ. 50 s.

Velíšek, J. 1999. Chemie potravín. OSSIS. Tábor. s. 342. ISBN: 80-902391-5-3.

Velíšek, J. 2002. Chemie potravín 2. Vydání 2. upravené. Tábor: Ossis. s. 303. ISBN 80-86659-01-1.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009a. Chemie potravín I. 3. vydání. OSSIS. Tábor. s. 580. ISBN: 978-80-86659-15-2.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009b. Chemie potravín II. 3. vydání. OSSIS. Tábor. s. 623. ISBN: 978-80-86659-16-9.

Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X., Zubik, L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46 (9). 3630 – 3634.

Vinson, J. A. 1996. U. S. per capita polyphenol consumption from common fruits, vegetables & beverages. Am. Chem. Soc. Annual Meeting, Orlando, August.

Volka, K. 1995. Analytická chemie II, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha. s. 236. ISBN 80-7080-227-8.

Vokál, B., Čepl, J., Čížek, M., Diviš, J., Domkářová, J., Fér, J., Hamouz, K., Hausvater, E., Jůzl, M., Rasocho, V., Zrůst, J. 2004. Pěstování brambor. Agrospoj. Praha. s. 261. ISBN: 8023942352.

Voldřich, M., Votavová, L., Volf, M., Vacek, J., Kadlec, P. 1996. Colour changes during the processing of potato tubers, in Chemical reactions in foods III. 21 - 25.

Wang, Y., Frei, M. 2011. Stressed food – The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. Agriculture, Ecosystems and Environment. 141. 271-286.

Wood, J. E., Senthilmohan, S. T., Peskin, A. V. 2002. Antioxidant activity of procyanidin - containing plant extracts at different pHs. Food Chemistry. 77 (2). 155 – 161.

Yaylayan, V. A., Wnorowski, A., Perez Locas, C. 2003. Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(6), 1753-1757.

Zloch, Z., Čelakovský, J., Aujezdská, A. 2004a. Posuzování biologické hodnoty potravin na základě jejich antioxidační aktivity. Česká a slovenská hygiena. 1(3). 82 – 87.

Zloch, Z., Čelakovský, J., Aujezdská, A. 2004b. Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu. Závěrečná zpráva o plnění výzkumného projektu podpořeného finančně Nadačním fondem Institutu Danone. Ústav hygieny Lékařské fakulty UK, Plzeň.

Zrůst, J., Vokál, B. 1998. České bramborářství a kvalitní konzumní brambory. Úroda. 46 (11) příloha: 6 – 8.

Přílohy

Seznam příloh:

Příloha 1 Plán pole na Suchdole

Příloha 2 Metoda stanovení vitamínu C pomocí HPLC

Příloha 3 Metoda stanovení antioxidační aktivity spektrofotometrickou metodou

Příloha 4 Základní tabulky analýzy rozptylu

Příloha 5 Graf Vitamin C vs. Antioxidační aktivita

Příloha 6 Foto demonstračního pole na Suchdole

Příloha 7 Foto předmětu zkoumání - brambor

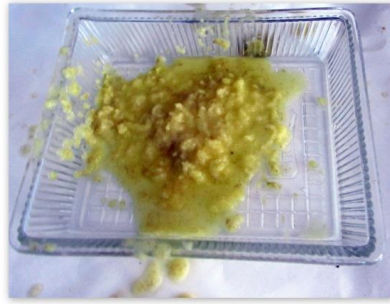
Příloha 1 Plán pole na Suchdole

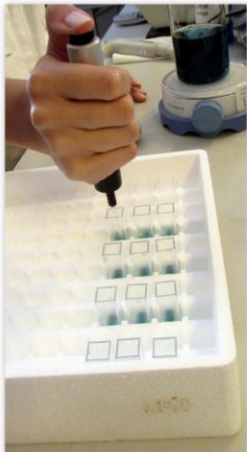
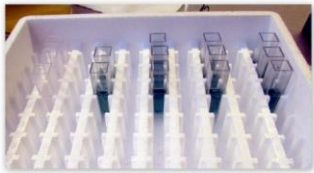
| LEGENDA | | | | | | | | | | |
|--------------|---------------------|---|--------|------------|----------|----------|----------|-----------|--------------------|-------------------|
| 1. MARABEL R | 3. LAURA PR ružová | IZ = IZOLACE | | | | | | | | |
| 2. MILVA PR | 4. VALFI PP fialová | iné = brambory už predtým vysadené na políčku | | | | | | | X = neznáma odroda | |
| | 30cm\70cm | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| 1 | 1 | IZ iné | IZ iné | IZ X | IZ X | IZ X | IZ X | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 2 | 2 | IZ iné | IZ iné | IZ X | IZ X | IZ X | IZ X | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 3 | 3 | IZ iné | IZ iné | IZ X | IZ X | IZ X | IZ X | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 4 | 4 | IZ iné | IZ iné | IZ X | IZ X | IZ X | IZ X | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 5 | 5 | IZ iné | IZ iné | IZ X | IZ X | IZ X | IZ X | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 6 | 6 | IZ iné | IZ iné | IZ X | IZ X | IZ X | IZ X | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 7 | 7 | IZ iné | IZ iné | IZ X | IZ X | IZ X | IZ X | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 8 | 1 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 9 | 2 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 10 | 3 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 11 | 4 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 12 | 5 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 13 | 6 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 14 | 7 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 15 | 8 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 16 | 9 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 17 | 10 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 18 | 11 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 19 | 12 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 20 | 13 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 21 | 14 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 22 | 15 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 23 | 1 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 24 | 2 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 25 | 3 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 26 | 4 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 27 | 5 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 28 | 6 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 29 | 7 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 30 | 8 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 31 | 9 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 32 | 10 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 33 | 11 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 34 | 12 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 35 | 13 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 36 | 14 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 37 | 15 | IZ iné | IZ iné | MARABEL | VALFI | LAURA | MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Závlaha postrekom |
| 38 | 1 | IZ iné | IZ iné | IZ MARABEL | IZ VALFI | IZ LAURA | IZ MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 39 | 2 | IZ iné | IZ iné | IZ MARABEL | IZ VALFI | IZ LAURA | IZ MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 40 | 3 | IZ iné | IZ iné | IZ MARABEL | IZ VALFI | IZ LAURA | IZ MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 41 | 4 | IZ iné | IZ iné | IZ MARABEL | IZ VALFI | IZ LAURA | IZ MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 42 | 5 | IZ iné | IZ iné | IZ MARABEL | IZ VALFI | IZ LAURA | IZ MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 43 | 6 | IZ iné | IZ iné | IZ MARABEL | IZ VALFI | IZ LAURA | IZ MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 44 | 7 | IZ iné | IZ iné | IZ MARABEL | IZ VALFI | IZ LAURA | IZ MILVA | IZ IMPALA | IZ IMPALA | |
| 45 | 1 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 46 | 2 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 47 | 3 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 48 | 4 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 49 | 5 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 50 | 6 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 51 | 7 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 52 | 8 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 53 | 9 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 54 | 10 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 55 | 11 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 56 | 12 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 57 | 13 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 58 | 14 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |
| 59 | 15 | IZ iné | IZ iné | LAURA | MILVA | MARABEL | VALFI | IZ IMPALA | IZ IMPALA | Kapková závlaha |

Příloha 2 Metody stanovení vitamínu C pomocí HPLC



Příloha 3 Metoda stanovení antioxidační aktivity spektrofotometrickou metodou





Příloha 4 Základní tabulky analýzy rozptylu

| Jednorozměrné testy významnosti pro AOXA mg/g vitamínu C | | | | | |
|--|---------|--------------------|---------|---------|---|
| Sigma-omezená parametrizace | | | | | |
| Dekompozice efektivní hypotézy | | | | | |
| | SČ | Stupně volnosti | PČ | F | p |
| Efekt | | | | | |
| Abs.člen | 59,703 | 1 | 59,703 | 5250,46 | 0 |
| Odrůda | 5,37286 | 3 | 1,79095 | 157,502 | 0 |
| varianta | 2,30381 | 2 | 1,1519 | 101,302 | 0 |
| Odrůda*Varianta | 7,66764 | 6 | 1,27794 | 112,386 | 0 |
| Chyba | 1,50097 | 132 | 0,01137 | | |

| Jednorozměrné testy významnosti pro Obsah vitamínu C mg/g sušiny | | | | | |
|--|---------|--------------------|---------|---------|----------|
| Sigma-omezená parametrizace | | | | | |
| Dekompozice efektivní hypotézy | | | | | |
| | SČ | Stupně volnosti | PČ | F | p |
| Efekt | | | | | |
| Abs.člen | 31,2108 | 1 | 31,2108 | 15370,6 | 0 |
| Odrůda | 1,22656 | 3 | 0,40885 | 201,35 | 0 |
| varianta | 0,04627 | 2 | 0,02314 | 11,39 | 0,000332 |
| Odrůda*Varianta | 0,09159 | 6 | 0,01527 | 7,52 | 0,000129 |
| Chyba | 0,04873 | 24 | 0,00203 | | |

| Statistické shrnutí: ZP: AOXA mg vitamínu c/g sušiny | |
|--|-------------|
| Statist. | Hodnota |
| Vícenás. R | 0,486352089 |
| Vícenás. R2 | 0,236538355 |
| Upravené R | 0,214083601 |
| F(1,34) | 10,5339988 |
| p | 0,00263352 |
| SM.chyba odhadu | 0,30215362 |

Výsledky regrese se závislou proměnnou: AOXA mg vitaminu C/ g sušiny

R=,48635209 R2=,23653835 Upravené R=,21408360

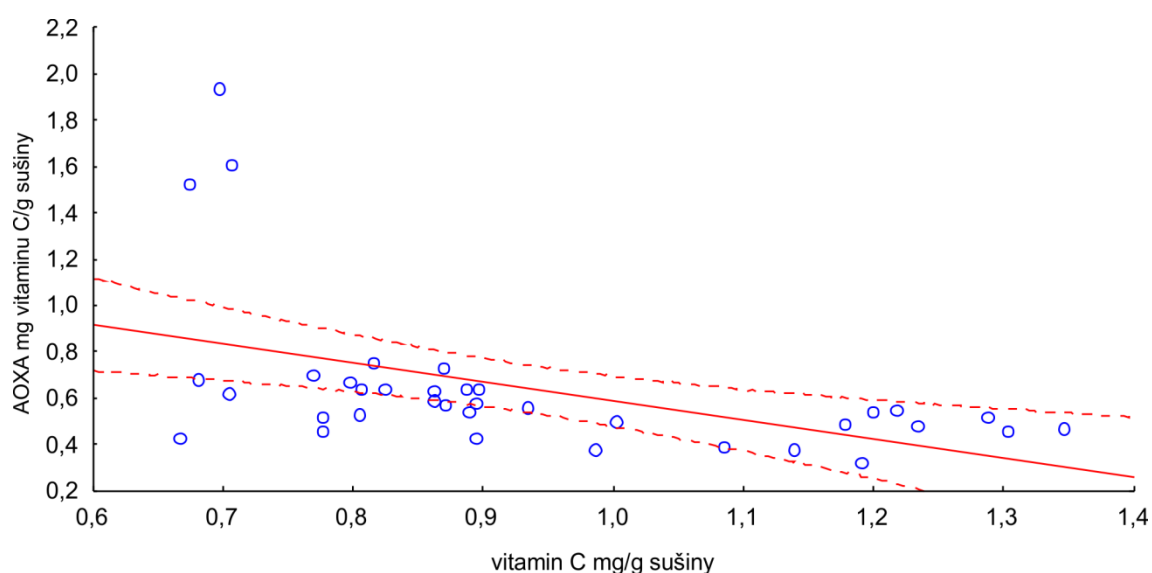
F(1,34)=10,534 p<,00263 Směrod. Chyba odhadu: ,30215

| N=36 | b* | Sm.chyba z b* | b | Sm.chyba z b | t(34) | p-hodn. |
|------------------------------|-----------|----------------------|----------|---------------------|--------------|----------------|
| Abs.člen | | | 1,41136 | 0,24176 | 5,83776 | 0,000001 |
| vitamin C mg/g sušiny | -0,4864 | 0,14985 | -0,8245 | 0,25404 | -3,2456 | 0,002634 |

Příloha 5 Vitamin C vs. Antioxidační aktivita (AOXA mg vitaminu C/g sušiny vs.

Vitamin C mg/g sušiny, AOXA mg vitaminu C/g sušiny=1,4114 - ,8245 * vitamin C

mg/g sušiny, Korelace: r= -,4864



Příloha 6 Foto demonstračního pole na Suchdole



Příloha 7 Předmět zkoumání - brambor

