

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Vliv stresu suchem na obsah karotenoidů bramborových
hlíz (*Solanum tuberosum* L.)**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Kamila Portová

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Zora Kotíková, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv stresu suchem na obsah karotenoidů bramborových hlíz (*Solanum tuberosum* L.)" 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 13.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Zoře Kotíkové, Ph.D. za cenné rady, ochotu a pomoc během zpracování diplomové práce.

Vliv stresu suchem na obsah karotenoidů bramborových hlíz (*Solanum tuberosum* L.)

Souhrn

Cílem předkládané práce bylo sledování vlivu stresu suchem na obsah a složení karotenoidů v hlízách brambor. Stanovené obsahy karotenoidů byly statisticky zpracovány a byla zhodnocena jejich závislost na odrůdě a variantě závlahy. Pokus byl proveden v roce 2015 na demonstračním poli ČZU v Praze. Testovány byly 4 odrůdy brambor – Marabel, Milva, Laura (se žlutou barvou dužniny) a Valfi (s modrofialovou barvou dužniny). Odrůdy byly pěstovány ve třech různých variantách závlahy – závlaha zavlažováním, kapková závlaha a stres suchem. Obsahy karotenoidů byly změřeny metodou HPLC s PDA detekcí.

Výsledky potvrdily hypotézu, že obsah karotenoidů v hlízách brambor je odrůdově závislý. Nejvyšší schopnost tvorby karotenoidů byla zjištěna v odrůdě Laura s průměrnou hodnotou 23,67 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny a nejnižší schopnost ve fialové odrůdě Valfi s průměrnou hodnotou 1,96 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny.

Stres suchem se jevil jako faktor, který ovlivňuje obsah karotenoidů v hlízách, ale statisticky se to nepodařilo jednoznačně prokázat. Výsledky ukázaly, že obsah karotenoidů v některých odrůdách narůstal vlivem stresu suchem. Byly také zjištěny značné interakce mezi odrůdou a variantou závlahy. Hypotéza, že stres suchem povede k poklesu obsahu karotenoidů v hlízách, byla tedy vyvrácena.

Cílem této práce bylo také sledovat změny profilů karotenoidů jednotlivých odrůd brambor způsobené stresem sucha. Fialová odrůda Valfi se svým profilem karotenoidů od ostatních odrůd výrazně odlišovala. V této odrůdě dominovaly karotenoidy lutein (26 %), violaxanthin (25 %) a neoxanthin (26 %). Ve žlutých odrůdách Marabel, Milva a Laura měl majoritní zastoupení stejný karotenoid a to violaxanthin (54 %, 53 %, 45 %). Nejvíce byl zastoupen při závlaze zaléváním a nejméně při stresu suchem. Naopak podíl zeaxanthinu, luteinu a β -karotenu se vlivem stresu suchem zvyšoval. Profily karotenoidů se vlivem variant závlahy měnily, nicméně každá odrůda reagovala odlišně.

Tento pokus mohl být do značné míry ovlivněn extrémním počasím během měsíců pěstování vzorků, neboť bylo abnormálně teplé a suché. Kromě testovaného stresu suchem, mohly být brambory stresovány také nadměrným slunečním ozářením a teplotou.

Klíčová slova: brambory, karotenoidy, stres suchem, HPLC/UV-VIS

Carotenoid content in tubers of drought stressed potato plants

(*Solanum tuberosum* L.)

Summary

The aim of this study was to monitor the effect of drought stress factor on carotenoid content and composition in potato tubers. Measured contents of carotenoids were statistically evaluated and the dependency on variety and type of irrigation was assessed. The experiment took place on a demonstration field of the Czech University of Life Sciences in Prague in 2015. Four cultivars of potatoes – Marabel, Milva, Laura (with yellow-fleshed tuber) and Valfi (with purple-fleshed tuber) were sampled. Each cultivar was grown in three different variants of irrigation – irrigation watering, drip irrigation and drought stress (without irrigation). The carotenoid content was analysed by HPLC/PDA method.

The results confirmed the hypothesis that carotenoid content is dependent on a potato variety. The highest ability to produce carotenoids was found in the variety Laura with an average value $23,67 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DM and the lowest ability in the purple variety Valfi with an average value $1,96 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DM. Drought stress influenced the content of carotenoids in tubers but the statistically significant effect was not uniquely found. The results showed that carotenoid content in some varieties increased due to drought stress. There were also detected significant interactions between a variety and a variation of irrigation. The hypothesis that drought stress leads to decrease of carotenoids in tubers was disproved.

This study also aimed at monitoring changes in carotenoid profiles of potato varieties caused by drought stress factor. Carotenoid profile of the purple variety Valfi was significantly different from the other varieties. Carotenoids lutein (26 %), violaxanthin (25 %) and neoxanthin (26 %) dominated in this variety. Carotenoid violaxanthin (54 %, 53 %, 45 %) had a majority part in the yellow varieties Marabel, Milva and Laura. Violaxanthin was most represented in irrigation watering and least in drought stress. On the contrary, the proportion of zeaxanthin, lutein and β -carotene was increased due to drought stress. The effect of different irrigation changed carotenoid profiles in tubers but each variety reacted differently.

This experiment could have been influenced by extreme weather during the months of sample's growing because it was abnormally warm and dry. Apart from drought stress, potatoes could have been stressed also by an excessive solar radiation and temperature.

Keywords: potatoes, carotenoids, drought stress, HPLC/UV-VIS

OBSAH

1 ÚVOD	1
2 CÍL PRÁCE	2
3 LITERÁRNÍ REŠERŠE	3
3.1 Lilek brambor (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	3
3.1.1 Význam brambor	3
3.1.2 Pěstitelské podmínky	4
3.2 Chemické složení bramboru	6
3.2.1 Sacharidy	6
3.2.2 Dusíkaté látky	7
3.2.3 Tuky	8
3.2.4 Vitaminy	8
3.2.5 Barviva.....	9
3.2.6 Minerální látky.....	10
3.2.7 Rizikové látky	11
3.3 Karotenoidy	13
3.3.1 Chemická charakteristika.....	14
3.3.1.1 Karoteny	14
3.3.1.2 Xanthofyly	16
3.3.2 Biosyntéza karotenoidů.....	16
3.3.3 Karotenoidy v rostlinách.....	19
3.3.4 Význam pro člověka	20
3.4 Vliv stresu na růst rostlin	24
3.4.1 Vodní stres	24
3.4.2 Kyselina abscisová (ABA).....	26
3.5 Metody analýzy karotenoidů	28
3.5.1 Kapalinová chromatografie (LC).....	28
3.5.2 Identifikace karotenoidů	29
3.5.2.1 UV-VIS spektrometrie.....	30
3.5.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS).....	30
3.5.2.3 Nukleární magnetická rezonance (NMR).....	30
4 MATERIÁL A METODY	31
4.1 Rostlinný materiál	31
4.2 Stanoviště pokusu	31
4.3 Podmínky pokusu	31
4.4 Příprava vzorků	33
4.5 Stanovení sušiny	33

4.6	Použité přístroje a chemikálie.....	34
4.6.1	Standardy	34
4.6.2	Chemikálie	34
4.6.3	Přístroje	35
4.7	Stanovení obsahu karotenoidů.....	35
4.7.1	Extrakce karotenoidů	35
4.7.2	Chromatografická separace.....	36
4.7.3	Identifikace a kvantifikace.....	36
4.8	Statistická analýza.....	37
5	VÝSLEDKY	38
5.1	Celkové karotenoidy	38
5.2	Jednotlivé karotenoidy.....	39
5.3	Profily karotenoidů	46
6	DISKUZE.....	51
7	ZÁVĚR.....	55
8	SEZNAM LITERATURY	56
9	PŘÍLOHY	65

1 ÚVOD

Lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.) je významná zlepšující plodina v osevních sledech, patří mezi základní potraviny a také to je důležitá průmyslová surovina. Brambory se využívají v potravinářském, lihovarnickém, škrobárenském průmyslu a uplatňují se při krmení hospodářských zvířat. V současné době je také velká poptávka po polotovarech a potravinářských výrobcích z brambor.

Brambory jsou nejen oblíbenou chutnou potravinou, ale jsou zároveň potravinou hodnotnou. Jejich hodnota pro veškeré směry využití je dána jejich chemickým složením. Jsou zdrojem energie pro obsah sacharidů, malého množství tuků, ale i zdrojem mnoha nutričně významných látek, a to bílkovin, vitaminů, enzymů a minerálních látek. Brambory také obsahují značné množství antioxidantů (polyfenolů, karotenoidů, askorbové kyseliny), které mají příznivý vliv na zdraví konzumenta.

Karotenoidy jsou lipofilní barviva obsažená v hlízách brambor, která se účastní fotosyntézy, vykazují antioxidační aktivitu a slouží jako prekurzory některých vitaminů a hormonů. Hrají důležitou roli při ochraně proti rakovině a působení volných radikálů, také posilují imunitní systém a snižují aterosklerotické procesy. Majoritně zastoupenými karotenoidy v bramboru jsou lutein, violaxanthin a zeaxanthin. V českých odrůdách brambor se celkový obsah karotenoidů pohybuje v rozmezí 0,16–6,36 mg.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti. Jejich obsah se může v hlízách měnit v závislosti na různých faktorech jako je odrůda, stupeň zralosti, použitá agrotechnika, klimatické podmínky, skladování atd. Také působení nepříznivých faktorů prostředí, jako je vodní deficit, nízká a vysoká teplota, nedostatek kyslíku v půdě či zasolení, může mít významný vliv na obsah biologicky aktivních látek v hlízách.

2 CÍL PRÁCE

Cílem předkládané práce bylo sledování vlivu stresu suchem na obsah karotenoidů v bramborových hlízách. Jednotlivé cíle práce byly následující:

1. Stanovit obsah a složení karotenoidů v testovaných odrůdách brambor
2. Porovnat a statisticky zhodnotit obsahy karotenoidů v odrůdách pěstovaných se závlahou s odrůdami pěstovanými bez závlahy
3. Zhodnotit vliv stresu suchem na složení jednotlivých karotenoidů v hlízách

Vědecké hypotézy

Na základě studia odborné literatury byly navrženy tyto hypotézy:

1. Obsah a složení karotenoidů v hlízách brambor jsou závislé na odrůdě
2. Stres suchem povede k poklesu obsahu karotenoidů v hlízách
3. Odrůdy stresované suchem budou mít změněný profil karotenoidů v hlízách

3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.)

Lilek brambor patří do větve asteridů vyšších dvouděložných rostlin, čeledi lilkovité (*Solanaceae*). Vedle bramboru jsou do této čeledi zařazeny další hospodářsky významné plodiny jako rajče, paprika, lilek, petúnie a tabák. Mezi těmito plodinami je brambor jedinečný tvorbou hlíz, které vznikají za vhodných podmínek tloustnutím podzemních stonků (Vokál a kol., 2013). Brambor je jednoletá bylina a může být rozmnožována generativně i vegetativně. V zemědělské výrobě se u nás brambor rozmnožuje pouze vegetativně hlízami. Brambory jsou považovány za velmi důležitou základní potravinu a významnou zemědělskou plodinu s vysokým výnosovým potenciálem a příznivým působením v osevním postupu (Taufarová a kol., 2014).

3.1.1 Význam brambor

Brambory jsou díky své všestranné použitelnosti významnou hospodářskou plodinou (Ošřádalová a Pokorná, 2014). Patří celosvětově k nejrozšířenějším kulturním plodinám. S plochou, která se v posledních letech pohybuje kolem 19 mil. hektarů, se řadí po kukuřici, pšenici a rýži na čtvrté místo (Vokál a kol., 2013). V některých zemích jsou brambory nadále využívány jako důležité krmivo pro hospodářská zvířata. Spotřebitelé ve střední Evropě preferují odrůdy se žlutou barvou dužniny, ale odrůdy s červeně nebo modře zbarvenou dužninou mívají vyšší antioxidační schopnost a tím i vyšší biologickou hodnotu. Červené a modré zbarvení dužniny je způsobeno přítomností anthokyanových barviv (Taufarová a kol., 2014). Konzumace brambor plní funkci objemovou, ale i sytící (sacharidová složka) a ochrannou (obsah vitaminů a minerálií). Současná spotřeba brambor ke konzumním účelům činí v ČR 70 kg/osoba/rok (Ošřádalová a Pokorná, 2014). Brambory lze používat ve všech formách diet, dokonce i v dietách pro alergiky. Důvodem je dobrá stravitelnost, obsah hodnotných bílkovin, alkalizační účinek a nízký potenciál alergenů (Vokál a kol., 2003). Můžeme říci, že brambory jsou nejlepším potravinovým koncentrátem na světě a zároveň levným zdrojem energie a nutričně významných látek. Čerpáme z nich asi 14 % pokrmové energie (Čepl a kol., 2012).

Vzhledem ke své nenáročnosti, možnosti pěstování ve vyšších polohách, výnosnosti a dobré skladovatelnosti se brambory často podílely na překonávání hladomorů, kurdějů a jiných hypovitaminóz. Hlízy mají vysoký obsah škrobu, lehce stravitelných bílkovin, vitamínu C,

menší množství provitaminu A a vitamínu B. Skladovatelné stolní odrůdy jsou dnes hlavní složkou zimního jídelníčku. Brambory jsou důležitou plodinou pro škrobárny, lihovary a průmyslové zpracování na pochoutky a polotovary (Pekárková, 2014).

3.1.2 Pěstitelské podmínky

Rozhodující jsou stanovištní podmínky zahrnující půdu, podnebí a povětrnostní podmínky (počasí). Půdní prostředí je do určité míry regulovatelné (struktura plodin, agrotechnika, závlaha), ale u povětrnostních podmínek to možné není. Pěstitel pouze může na jejich vývoj reagovat volbou opatření, která sledují minimalizaci případného negativního působení průběhu počasí na vývoj a růst rostlin. Pro výběr pozemků má význam především sklonitost, skeletovitost, půdní druh, obsah živin, organické hmoty a hodnota pH (Vokál a kol., 2013).

Při jarní přípravě půdy se převážně využívá technologie zkameňování, která rozhodujícím způsobem eliminuje nepříznivý vliv kamenů na mechanické poškození hlíz při sklizni, dopravě a následně manipulaci a do určité míry se podílí i na ochraně před erozí (Vokál a kol., 2013).

Jsou-li půdní podmínky vyhovující, vyrovnají do určité míry i negativní vlivy počasí. Druh půdy má vliv i na škrobnatost hlíz, která bývá vyšší právě v těžkých půdách. Pro pěstování brambor jsou nejvhodnější půdy střední až lehké s propustnou spodinou. Půdní reakce by se měla pohybovat mezi 5,5–6,5 pH (Jun, 1983). Bramborům vyhovují provzdušněné půdy zejména v té části půdního horizontu, ve kterém se nachází největší množství kořenů. I proto příznivě reagují na zkamenění a pěstování na propustných, písčitohlinitých a hlinitopísčitých půdách bez zhutnělých vrstev a dostatečnou zásobou organických látek (Vokál a kol., 2004).

Dostatek vláhy zajišťuje lepší mobilizaci živin v půdě a jejich využití rostlinami, čímž se urychluje sklizeň o 7–10 dní. Za suššího počasí je třeba začít brambory zavlažovat již od jejich vzejití (druhá až třetí dekáda dubna). Na vláhu jsou však nejnáročnější v květnu a červnu. V období rychlého růstu natě, nasazování hlíz, ale zejména v době intenzivního růstu hlíz (konec května, červen, kdy přírůstek výnosu dosahuje až 500 kg na hektar denně) je potřeba vody vysoká a při sušším počasí přináší závlaha značný efekt (Vokál a kol., 2013). Každé extrémní letní počasí, tj. jak velké sucho, tak i mokro, značně snižuje výnos a zhoršuje jakost sklizně. Zvláště škodlivé může být příliš vlhké teplé počasí v létě, které podporuje napadení a zničení natě plísní bramborovou. Trvá-li takové vlhké počasí déle, hnijí i hlízy. Stejně nepříznivé je vlhké studené počasí, které zmenšuje výnos, snižuje škrobnatost hlíz a zhoršuje jejich trvanlivost (Šimon, 1958).

Dostatek vody v rozhodujících fázích růstu vývoje brambor je podmínkou pro dosažení požadované výnosové úrovně. Do vzejití rozhodují zásobní látky a voda obsažená v hlízách. Obecně srážky v první polovině vegetace ovlivňují růst natě, od května až do poloviny července počet hlíz a ve druhé polovině vegetace růst a hmotnost hlíz. Nedostatek vody v období od sázení do vzejití působí na výnos relativně příznivě (vytvoří se více kořenů, rostliny následně lépe hospodaří s vodou ve vegetaci). Od tvorby pupat až do začátku fyziologického zrání probíhá intenzivní růst hlíz a většina odrůd reaguje velmi citlivě na nedostatek půdní vláhy (Vokál a kol., 2004).

Spolu se srážkami se na růstu a vývoji uplatňuje i teplota. Brambor je ke změnám teploty poměrně citlivý, a to nejen v průběhu vegetačního období, ale i při přípravě sadby, manipulaci s hlízami a při skladování (Vokál a kol., 2003). Pro růst hlíz byla zjištěna optimální teplota 17 °C. Při snižování nebo zvyšování teploty od optima se růst hlíz zpomaluje. Jak při teplotě 2 °C tak i při 29 °C se růst zastavuje. Všeobecně mohou být nejvyšší výnosy brambor dosahovány v klimatických podmínkách, kde průměrná teplota v nejteplejším měsíci nepřesahuje 18,5 °C a průměrné roční srážky kolísají v rozsahu 700–800 mm (Rybáček a kol., 1988). Vokál a kol. (2003) uvádí, že teplotní a srážkové požadavky nejlépe splňuje klimatický region mírně teplý, vlhký, s průměrnou roční teplotou 6–7 °C a průměrným úhrnem ročních srážek 650–750 mm.

Povětrnostní podmínky jsou vhodné pro pěstování brambor za předpokladu, že se srážkový úhrn a průměrná denní teplota blíží hodnotám uvedených v tabulce 1.

Tabulka 1 Povětrnostní podmínky vhodné pro pěstování brambor (Vokál a kol., 2004)

Období	Srážkový úhrn (mm)	Průměrná denní teplota (° C)
2. pol. března	20	nad 5
duben	45	8–10
květen	45	12–18
červen	90	15–18
červenec	80–90	18–20
srpen	80–90	16–18

3.2 Chemické složení bramboru

Brambory jsou nejen zdrojem energie pro obsah sacharidů a malého množství tuků, ale i potravinou ochrannou, neboť jsou důležitým zdrojem bílkovin, vitaminů, minerálních a dalších bioaktivních látek. Obsah jednotlivých látek v hlízách není stálý, ale je závislý na odrůdě, klimatu, agrotechnickém ošetřování a způsobu uskladnění (Bulková, 2011). Nutriční hodnotu brambor vytváří řada kalorických i nekalorických látek. K látkám kalorickým patří sacharidy, dusíkaté látky a tuk. Nekalorické látky je možno dělit na látky pochutinové, které mohou mít vedle své účinnosti na vůni a chuť i další význam, a balastní (vláknina). Patří sem polysacharidy (mimo škrobu), vitaminy, enzymy a barviva, dále pak minerální látky, organické kyseliny, aromatické látky, fenoly a glykosidy (Čepl a kol., 2012).

Hlízy bramboru obsahují velké množství vody, podobně jako ostatní sklizňové produkty okopanin. Voda běžně představuje 70–82 % hmotnosti hlíz v závislosti na jejich stupni vývoje a zralosti, na zvolené odrůdě, podmínkách stanoviště, ročníkových poměrech a uplatněné pěstitelské technologii (Vokál a kol., 2013).

Sušina hlízy, v průměru kolem 24 %, je tvořena ze 70 % škrobem, 9,5 % tvoří N-látky, 1 % tuk, 3 % cukry, 2,5 % organické kyseliny, 2,5 % minerální látky, 11 % připadá na balastní látky a 0,5 % tvoří zbytek (vitaminy apod.). Obsah sušiny je variabilní a závisí na vegetačních podmínkách daného ročníku, na agrotechnice a odrůdě. Tvorbu sušiny a škrobu příznivě ovlivňuje sluneční záření (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

3.2.1 Sacharidy

Škrob je zásobní polysacharid a nejvýznamnější složka hlízy, v níž rostlina ukládá zásobu potenciální energie. Obsah škrobu určuje také energetickou a konzumní hodnotu brambor. Bylo zjištěno, že existuje vztah mezi obsahem škrobu v hlíze a kvalitou brambor, jako je moučnatost, konzistence, měknutí hlíz apod. Brambory obsahují v průměru 17 % škrobu, jeho množství kolísá v našich poměrech od 13 % do 24 % (Ošťádalová a Pokorná, 2014). Obsah škrobu v bramborové hlíze je geneticky fixován, tj. závislý především na odrůdě. Obecně platí, že s prodlužující se dobou vegetace se zvyšuje i obsah škrobu. Z hlediska fyziologie výživy je bramborový škrob pro lidský organismus nestravitelný. Aby byl stravitelný, musí být brambory vařeny, popř. jinak tepelně upraveny (Rybáček a kol., 1988).

Škrob není jediným sacharidem hlíz. Jsou zde obsaženy i jednodušší sacharidy (cukry) – monosacharidy glukóza a fruktóza, které patří mezi tzv. redukující cukry, a také disacharid

sacharóza. Obsah cukrů je u vyzrálých hlíz do 0,5 %, ale může být i vyšší. Obecně souvisí obsah cukrů v hlízách s jejich fyziologickým stavem a u sklizených hlíz také s podmínkami jejich skladování. Za běžných teplot (10–20 °C) obsahují vyzrálé hlízy minimum cukrů. Při nízkých teplotách se jejich obsah zvyšuje, při 0 °C se množství cukrů již projevuje nasládlou chutí hlíz (Vokál a kol., 2013).

Neškrobové polysacharidy, tvořící hlavně buněčné stěny a intracelulární součásti, označované jako hrubá vláknina, jsou tvořeny celulórou, hemicelulórou a pektinovými látkami, jejich množství je uváděno 1,40–3,06 % v sušině brambor (Ošřádalová a Pokorná, 2014). Uvedené polysacharidy jsou pro organismus nestravitelné, z toho vyplývají následující funkce – zajišťují dobré rozdělení potravy v žaludku a ve střevech, umožňují peristaltiku střev a slouží k promísení ingesta (Rybáček a kol., 1988).

3.2.2 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky (hrubé bílkoviny) obsažené v bramborové hlíze představují jeden z nejvýznamnějších komplexů sloučenin. Spoluvytvářejí nutriční a kalorickou hodnotu bramborové hlízy. Obvykle je uváděna střední hodnota obsahu dusíkatých látek 2 % v původní hmotě, tzn. kolem 10 % v sušině (Čepl a kol., 2012). Obsah dusíkatých látek je do jisté míry závislý na odrůdě. Podmínky prostředí však mohou výrazně ovlivnit obsah dusíkatých látek v hlízách (Rybáček a kol., 1988).

Nejdůležitějším podílem komplexu dusíkatých látek je tzv. čistá bílkovina. Podíl čisté bílkoviny se na celkovém obsahu dusíku pohybuje v rozmezí 1/3–1/2, přičemž v ojedinělých případech také překračuje tuto hodnotu. Bílkovina brambor není chemicky homogenní složkou. Je tvořena zhruba ze 70 % globulinem a 30 % albuminem (Rybáček a kol., 1988). Bílkoviny brambor jsou po nutriční stránce jedny z nejkvalitnějších bílkovin rostlinného původu. Vysoká nutriční hodnota je dána příznivou skladbou aminokyselin a hodnotou indexu esenciálních aminokyselin, který se pohybuje kolem 83 % vaječného indexu. Jako limitující jsou v bílkovinách hlíz uváděny sирné aminokyseliny (zejména metionin). Značný význam má u bramborových bílkovin, na rostlinné bílkoviny poměrně vysoký, obsah lysinu. Pro udržování dusíkaté bilance dospělých lidí má bramborová bílkovina dokonce vyšší nutriční hodnotu než hovězí maso či maso z tuňáka. Na základě klasifikace podle molekulové hmotnosti lze spektrum hlízových bílkovin členit na tři hlavní skupiny – patatin či rodinu patatinových bílkovin, skupinu inhibitorů proteáz a ostatní bílkoviny (hlavně bílkoviny s enzymovou účastí na syntéze škrobu) (Bárta a Čurn, 2004). Patatin (20–40 % bílkovin hlíz)

je považován za hlavní bílkovinu hlíz se zásobní funkcí, vykazuje enzymové reakce a předpokládá se i jeho podíl na obranných reakcích hlíz. Úloha inhibitorů proteáz (30–60 % bílkovin hlíz) je obdobná (Vokál a kol., 2013).

Nebílkovinné dusíkaté látky jsou členěny na volné aminokyseliny, amidy asparagin a glutamin a ostatní dusíkaté látky (Bárta a Čurn, 2004). Při skladování se obsah dusíkatých látek výrazně nemění, avšak jednodušší dusíkaté látky bývají často příčinou rozkladných hnilobných procesů. Vysoké dávky dusíku při hnojení plodiny mohou být příčinou zvýšeného obsahu dusičnanů (Ošřádalová a Pokorná, 2014).

3.2.3 Tuky

Energetická hodnota tuku obsaženého v bramborových hlízách je značně vysoká, avšak v důsledku jeho velmi nízkého obsahu (0,1 %) v původní hmotě neovlivňuje podstatně celkovou kalorickou bilanci hlíz (Rybáček a kol., 1988). Převládají v něm nenasycené mastné kyseliny: linolová (50 %), linolenová (20 %), a nasycené mastné kyseliny jako je palmitová (20 %) a stearová (5 %). Celkově je tuk v bramborové hlíze poměrně stabilní (Ošřádalová a Pokorná, 2014).

3.2.4 Vitaminy

Vitaminy patří mezi faktory, které řadí brambory mezi potraviny zvláštního významu (Čepl a kol., 2012). Největší pozornost je věnována obsahu vitamínu C, protože zejména v zemích s vysokou spotřebou brambor představují brambory důležitý zdroj vitamínu C z hlediska krytí celkové potřeby organismu (Rybáček a kol., 1988). Obsah tohoto vitamínu vytváří z brambor tzv. ochrannou potravinu proti kurdějím. Vitamin C je vitamínem rozpustným ve vodě, takže během vaření se ho ztrácí minimálně 30 % (Čepl a kol., 2012).

Ve 100 g čerstvé hmoty je obsaženo v průměru 15 mg vitamínu C, 1,2 mg kyseliny nikotinové, 0,46 mg kyseliny pantotenové, 0,11 mg thiaminu, 0,05 mg riboflavinu, 0,19 mg pyridoxinu, 0,003 mg provitaminu A. Kolísání obsahu vitaminů je odvislé od odrůdy a klimatických podmínek (Ošřádalová a Pokorná, 2014). Podobné výsledky předkládají i Čepl a kol. (2012) a dané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2 Obsah vitaminů v bramborách a jejich podíl na denní spotřebě (Čepl a kol., 2012)

Vitamin	Obsah (mg.100 g ⁻¹)	% denní spotřeby
C kyselina askorbová	20,0	33
B1 thiamin	0,1	5
B2 riboflavin	0,03	2
B3 niacin	1,1	6
B5 kyselina pantotenová	0,3	3
B6 pyridoxin	0,2	9
B9 kyselina listová	0,018	5
K	0,0028	4

3.2.5 Barviva

V dužnině všech bramborových hlíz se vyskytují rostlinné pigmenty, které jsou nositeli zbarvení brambor. Karotenoidy jsou nositelem žlutého zbarvení dužniny hlíz (Čepl a kol., 2012). Některé karotenoidy (α -karoten, β -karoten aj.) jsou provitaminy vitamínu A. Kromě provitaminové aktivity to jsou účinné zhášedce volných radikálů a chrání lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL) proti oxidaci (Voutilainen et al., 2006). Majoritními karotenoidy brambor jsou violaxanthin, anteraxanthin, lutein a zeaxanthin, jejich celkový obsah se pohybuje okolo 1,75 mg.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti (Breithaupt and Bamedi, 2002). V hlízách lze nalézt také flavonoly, flaviny a flavony. (Rybáček a kol., 1988). V dužnině bíle zbarvených brambor je přítomno až 0,3 mg flavonoidů.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti a u červeně a modře zbarvených odrůd je množství zhruba dvojnásobné. Převládajícími flavonoidy jsou katechin a epikatechin. Barva červeně a modře zbarvených odrůd pochází především z anthokyanů, jejich obsah v celé neloupané hlíze se pohybuje okolo 400 mg.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti (Brown, 2005). Anthokyaniny jsou dobře známá rostlinná barviva zodpovědná za spektrum barev – modré, fialové, červené a oranžové odstíny rostlin. Anthokyaniny jsou biologicky aktivní a přispívají ke zdraví konzumentů (Eichhorn and Winterhalter, 2005). Pod vlivem světla se hlízy zabarvují dozelená, což je způsobeno tvorbou chlorofylu, tzn. přeměnou leukoplastů na chloroplasty přímo pod slupkou do maximální tloušťky 3 mm (Čepl a kol., 2012). Všechna tyto barviva, kromě chlorofylu, neovlivňují kvalitu hlíz (Rybáček a kol., 1988).

3.2.6 Minerální látky

Minerální látky (popeloviny) jsou obsaženy v hlíze v průměru v množství 1 % čerstvé hmoty, převážně ve slupce (Ošťádalová a Pokorná, 2014). Některé minerální látky jsou esenciálními katalyzátory metabolismu v rostlině, zatímco jiné jsou v hlízách přítomny jen proto, že byly přítomny v půdním roztoku s esenciálními prvky (Rybáček a kol., 1988). Biologický význam minerálních látek v bramborách spočívá v převaze zásaditých minerálních prvků (K, Na, Ca, Mg), jež jsou zastoupeny asi ze 70 %, oproti složkám kyselým (P, S, Cl, Si), čímž přispívají, podobně jako ovoce a zelenina, k vyrovnávání acidobazické rovnováhy v organismu. Průměrný obsah minerálních látek v bramborách je uveden v tabulce 3. Brambory jsou však také zdrojem těžkých kovů. Jejich obsah lze snížit loupáním. Ztráty na minerálních látkách jsou odvislé od způsobu kuchyňské přípravy brambor (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

Nejvýznamnějším prvkem je draslík, jehož obsah se v průměru pohybuje mezi 1,7–2,0 % v sušině a představuje zhruba 1/2 všech minerálních látek. Z hlediska dietetického působí draslík v bramborách pozitivně tím, že vyvažuje poměr K : Na ve stravě (Rybáček a kol., 1988). Draslík omezuje černání brambor po uvaření i enzymové zbarvení, k němuž dochází po mechanickém poranění hlíz. Obsah draslíku významně ovlivňuje chuť brambor (Bulková, 2011).

Tabulka 3 Obsah minerálních látek v bramborách a jejich podíl na denní spotřebě (Čepl a kol., 2012)

Prvek	Obsah (mg.100 g ⁻¹)	% denní spotřeby
Vápník	10,0	1
Měď	0,1	7
Železo	0,5	4
Hořčík	22,0	5
Mangan	0,1	7
Fosfor	78,0	6
Draslík	450,0	15
Selen	0,5	1
Zinek	0,5	2

3.2.7 Rizikové látky

Mezi hlavní obsahové látky brambor, které mají antinutriční charakter, můžeme zařadit glykoalkaloidy, zatímco ostatní nežádoucí látky jsou látky cizorodé (těžké kovy, dusičnany, rezidua pesticidů) nebo látky vznikající tepelnou úpravou, např. akrylamid. Těžké kovy by do hlíz mohly přejít v případě pěstování na silně kontaminovaných půdách, rezidua pesticidů při jejich nadměrné aplikaci a dusičnany při silném přehnojení dusíkem (Čepl a kol., 2012).

Glykoalkaloidy, také steroidní glykoalkaloidy brambor, dříve často uváděné pod společný název solanin, jsou přirozené toxiny vyskytující se ve všech částech rostliny. Koncentrované jsou ve slupce a korové vrstvě (Ošřádalová a Pokorná, 2014). Ve slupce (peridermu), jež zaujímá hmotnostně 2–3 % hlízy, se pohybuje obsah celkových glykoalkaloidů v rozmezí 300–640 mg.kg⁻¹, v korové vrstvě (10–12 % hlízy – loupaná vrstva) 150–1068 mg.kg⁻¹, v dřeni 1–100 mg.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti (Zrůst, 2004). Malé brambory, které mají vyšší poměr povrchové plochy k objemu, mají vyšší hladiny glykoalkaloidů v hmotnostním vyjádření než brambory velké (Smith et al., 1996). Malé hlízy (10–40 g) obsahují 90–400 mg.kg⁻¹ glykoalkaloidů a velké (nad 40 g) obsahují 10–150 mg.kg⁻¹ (Bulková, 2011). Syntéza glykoalkaloidů v hlízách může být výrazně stimulována fyziologickým stresem jako je fyzické poškození, vystavení světlu či mikrobiální napadení (Smith et al., 1996).

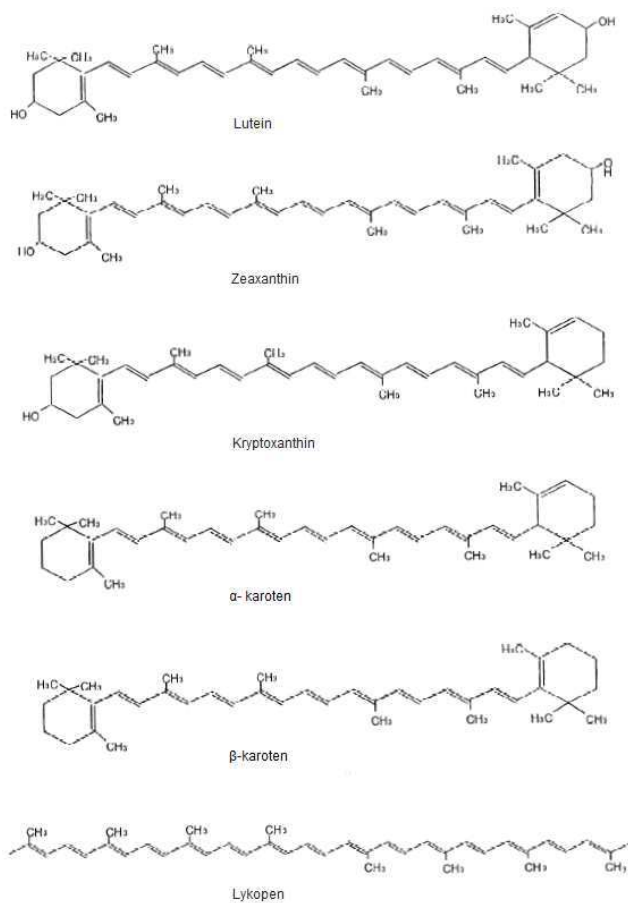
Hlavními glykoalkaloidy jsou α -solanin a α -chaconin, (uvádí se poměr 1 : 1,7), a představují asi 95 % celkových glykoalkaloidů v hlíze. Solanin není homogenní látka, ale směs šesti glykosidů, označovaných jako α , β , γ -solanin a α , β , γ -chaconin (Ošťádalová a Pokorná, 2014). Celkový obsah glykoalkaloidů je významně závislý zejména na odrůdě, ale důležité jsou také podmínky stanoviště a ročníku. Přítomnost hlíz na světle vede k jejich zelenání a ke zvyšování obsahu glykoalkaloidů (Vokál a kol., 2013). Brambory s obsahem glykoalkaloidů nad 200 mg.kg^{-1} čerstvé hmotnosti mají toxické účinky a mohou vyvolat gastrointestinální potíže, neklid, apatii aj. (Bulková, 2011). Vyšší koncentrace glykoalkaloidů vyvolávají dva smyslové vjemy – hořkou chuť podobnou kofeinu a svíravý palčivý pocit. Významné snížení je docíleno hlavně při úpravě oloupaním hlíz. V pokusu, kdy byly brambory zbaveny slupky (cca 1,5 mm), se snížil obsah glykoalkaloidů u českých odrůd v průměru o 51,5 %, u zahraničních odrůd o 55,1 % (Zrůst, 2004).

Lachman et al. (2013) zkoumali ve své studii dopad loupání a tepelného opracování hlíz (vaření, pečení a mikrovlnný ohřev) na celkový obsah glykoalkaloidů. Ze získaných výsledků je zřejmé, že všechny tři způsoby kuchyňských úprav snižují hladinu glykoalkaloidů. Nejvíce byla hladina snížena varem a to zejména kvůli předchozímu oloupaní hlíz. Ve všech testovaných odrůdách klesl obsah glykoalkaloidů nejvíce ve vařených loupaných bramborách (na 26 % původní hodnoty), následně v pečených bramborách (na 49 %) a nejméně v bramborách pečených mikrovlnným ohřevem (na 51 % obsahu v syrových hlízách).

3.3 Karotenoidy

Karotenoidy jsou významnými a nejrozšířenějšími lipofilními barvivy mnoha druhů ovoce a zeleniny. Vyskytují se ve všech fotosyntetizujících rostlinných pletivech, kde jsou přítomny jako fotochemicky aktivní složky plastidů nazývaných chloroplasty. Jejich přítomnost v zelených částech rostlin je často maskována chlorofylem (Velíšek, 1999b). Karotenoidy jsou přírodní pigmenty, které jsou syntetizovány rostlinami a mikroorganismy. Struktura každého karotenoidu určuje jeho barvu a fotochemické vlastnosti jeho molekuly. Z této struktury dále vyplývá i chemická reaktivita karotenoidů vzhledem k oxidujícím agens nebo volným radikálům (Hlúbik a Opltová, 2004). Dosud je známo více než 600 druhů těchto látek, z nichž okolo 50 bylo zjištěno v ovoci a zelenině. Mezi nejvýznamnější z nich (obrázek 1) patří α -karoten, β -karoten, kryptoxanthin, lykopen, lutein a zeaxanthin (Mindell a Mundis, 2010). Karotenoidy představují velmi důležitou skupinu látek, která se podílí na mnoha biologických procesech. Jsou nezbytné v mnoha organismech jako antioxidantní činidla, protože mohou zhášet nebezpečný a agresivní singletový kyslík (Walla, 2014).

Obrázek 1 Nejvýznamnější karotenoidy (upraveno (Su et al., 2002))



3.3.1 Chemická charakteristika

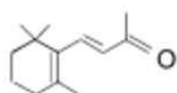
Většina karotenoidních látek se řadí mezi tetraterpeny (C₄₀), tedy mezi terpenoidy formálně obsahující osm isoprenových jednotek. Za svoji barevnost vděčí řetězci konjugovaných dvojných vazeb, který se vyskytuje v několika základních strukturách a jejich kombinacích. Karotenoidy se dělí na dvě hlavní skupiny – uhlovodíky nazývané karoteny a kyslíkaté sloučeniny odvozené od karotenů xanthofyly (Velíšek, 1999b).

3.3.1.1 Karoteny

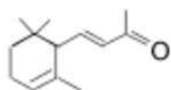
Nejjednodušším prototypem karotenů je acyklický polynenasycený uhlovodík lykopen. Běžně rozšířené jsou i hydroderiváty lykopenu jako je 3,4-dehydrolykopen a další sloučeniny. Další karoteny vznikají enzymově katalyzovanou cyklizací z acyklických ψ -karotenů, kdy se tvoří β - nebo α -jononové struktury (obrázek 2). Struktura s β -jononovým cyklem se nazývá β -karoten, struktura s α -jononovým cyklem je ϵ -karoten. Příkladem uhlovodíků s β -jononovým cyklem pouze na jednom konci molekuly je γ -karoten neboli β,ψ -karoten. Cyklizací na obou koncích molekuly vznikají struktury přítomné například v β -karotenu nebo v α -karotenu. Sloučenina β -karoten se tedy nazývá jinak β,β -karoten, α -karoten je potom β,ϵ -karoten. Karoteny s β -jononovým cyklem jako je β -karoten, α -karoten aj. jsou prekurzory retinolu. Řadí se proto mezi retinoidy (Velíšek, 1999b).

Obrázek 2 α -jononová a β -jononová struktura (upraveno (Simkin et al., 2004))

β -jononová struktura



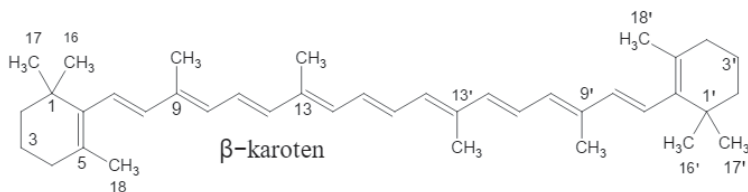
α -jononová struktura



β -karoten

β -karoten je v přírodě nejrozšířenějším provitaminem A. Molekula β -karotenu je tvořena dvěma β -iononovými kruhy spojenými čtyřmi isoprenovými jednotkami (obrázek 3) (Hlúbik a Opltová, 2004). Podobně jako u retinolu dochází při skladování a zpracování potravin kombinovaným účinkem světla, tepla, kyslíku, hydroxoniových iontů a dalších faktorů k isomerii, oxidaci a degradaci β -karotenu i jiných provitaminů A. Některé stereoisomery β -karotenu, jako jsou 13-*cis*- a 9-*cis*- β -karoten, se vyskytují jako minoritní přirozené pigmenty v ovoci a zelenině, zejména v zelených druzích. Jejich přítomnost v zelených pletivech rostlin, ve kterých probíhá fotosyntéza, se vysvětluje přítomností chlorofylů. Ty fungují jako fotosenzibilizátory a katalyzují fotoisomeraci β -karotenu na 13-*cis* a 9-*cis*-isomer (Velíšek, 1999a). Z 13-*cis* a 9-*cis*-isomeru β -karotenu se mohou biologicky vytvořit 13-*cis* a 9-*cis*-retinová kyselina, která má v organismu vysokou biologickou aktivitu (Nagao and Olson, 1994).

Obrázek 3 β -karoten (upraveno (Hlúbik a Opltová, 2004))



β -karoten v organismu plní dvě základní funkce: za prvé je prekurzorem vitamínu A a za druhé má významné antioxidační vlastnosti, které chrání organismus před oxidativním poškozením. Také má významnou úlohu při fotosyntéze, kde se vyskytuje v jádře obou fotosystémů. Molekula β -karotenu stejně jako u ostatních karotenoidů vzhledem ke své konfiguraci velmi snadno podléhá *cis*, *trans* isomerizaci, all-*trans* isomery jsou stálější a v přirozených systémech se vyskytují nejčastěji (Hlúbik a Opltová, 2004).

3.3.1.2 Xanthofyly

Xanthofyly primárně vznikají jako produkty biochemické oxidace (hydroxylace) karotenů. Nejběžnějšími látkami jsou monohydroxysubstituované deriváty alicyklických karotenů nazývané kryptoxanthiny. Většina rostlinných pletiv obsahuje malá množství α -kryptoxanthinu odvozeného od α -karotenu a β -kryptoxanthinu odvozeného od β -karotenu, které jsou prekurzory xanthofylů obsahujících dvě hydroxylové skupiny v molekule. Xanthofyl β -kryptoxanthin se řadí mezi retinoidy, protože mu zbývá jeden nesubstituovaný β -jononový kruh, který je nezbytný pro provitaminovou aktivitu. Příkladem dihydroxysubstituovaných pigmentů jsou zeaxanthin a lutein. Oxidací těchto sloučenin vznikají následně 5,6-epoxydy, jakými jsou například anteraxanthin odvozený od β -karotenu a taraxanthin neboli luteinepoxid odvozený od α -karotenu. Oxidací na obou koncích molekuly vznikají 5,6,5',6'-diepoxidy jako je violaxanthin. Neoxanthin dříve také nazývaný foliaxanthin, který se vyskytuje ve vyšších rostlinách a fukoxanthin, karotenoidní barvivo řas, jsou příkladem v přírodě se vyskytujícími sloučeninami nazývanými alleny (Velíšek, 1999b).

Za jeden z ochranných mechanismů rostlin proti nadměrné ozáření je považován xanthofylový cyklus, zahrnující vzájemné přeměny violaxanthinu, anteraxanthinu a zeaxanthinu. Při neúměrně vysokých ozářeních je karotenoid violaxanthin deepoxidován na anteraxanthin a následně až na zeaxanthin právě v rámci xanthofylového cyklu. Zeaxanthin může nejen deaktivovat singletový a tripletový stav chlorofylů, ale také ničit kyslíkové radikály. Přitom rozsah této přeměny závisí na tom, do jaké míry je zářivá energie absorbovaná chlorofyly nadměrná (Procházka a kol., 1998).

3.3.2 Biosyntéza karotenoidů

Veškeré karotenoidy jsou odvozeny od isoprenoidů (Svoboda, 2011). Všechny isoprenoidy jsou odvozeny od společného prekurzoru isopentenylidifosfátu (IPP), který je v rostlinách syntetizován pomocí dvou různých drah (Vranová et al. 2012). Dráhy jsou zobrazeny na obrázku 4.

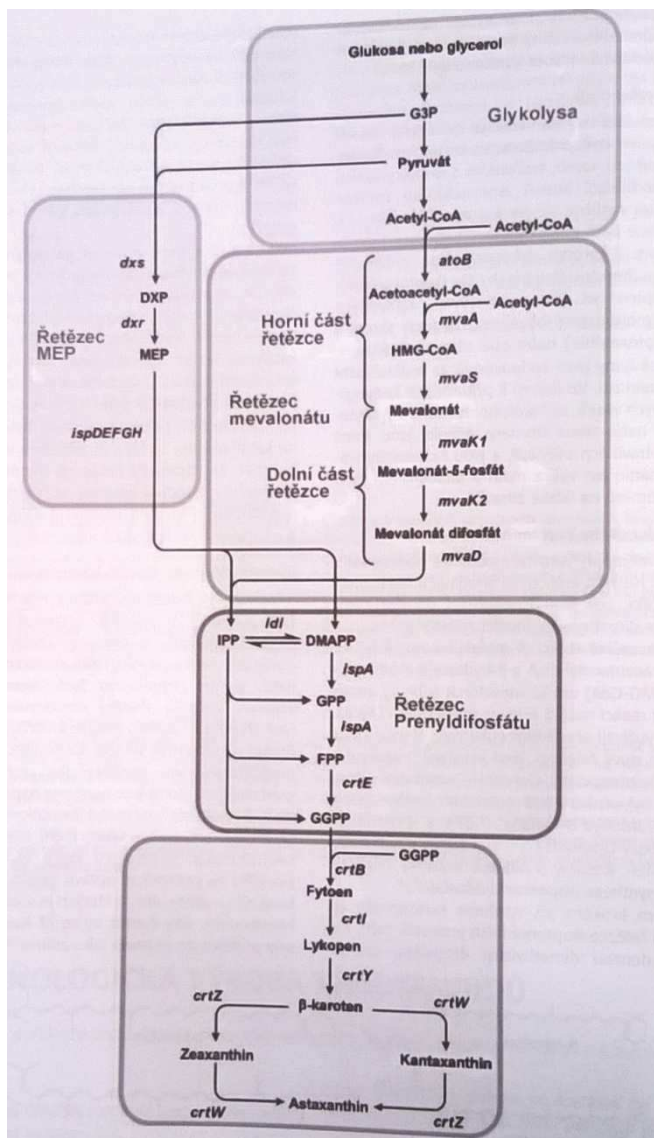
První dráha začíná reakcí 3 molekul acetyl-CoA, ze kterých přes acetoacetyl-CoA a β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA vzniká mevalonát. Proto se tento sled reakcí nazývá řetězec mevalonátu (MVA) a probíhá v cytoplasmě (Svoboda, 2011). Následují dvě po sobě jdoucí fosforylace mevalonátu a dekarboxylace – eliminační krok vedoucí ke vzniku IPP. Druhá

dráha probíhá v plastidech a byla pojmenována 2-C-methyl-D-erythritol-4-fosfát (MEP). Počáteční reakce MEP dráhy je katalyzována enzymem 1-deoxy-D-xylulosa-5-fosfátsynthasou (dxs) a zahrnuje kondenzaci pyruvátu s glycerinaldehyd-3-fosfátem za vzniku 1-deoxy-D-xylulosa-5-fosfátu (DXP). V druhém kroku, intramolekulárním přesmyku a redukci DXP enzymem DXP reduktasou (dxr), vzniká MEP (Vranová et al. 2012). Rostliny využívají obě dráhy k syntéze IPP. IPP odvozený z MVA dráhy je rostlinami využíván hlavně pro syntézu seskviterpenů, triterpenů, sterolů, dolicholu a brassinosteroidů. MEP dráha obecně dodává prekurzory pro syntézu především diterpenů, karotenoidů, gibberelinů a chlorofylu (Yang et al., 2012).

Následujícím krokem při syntéze karotenoidů je prodlužování řetězce isoprenoidních jednotek. Začíná kondenzací isopentenylidifosfátu s dimethylallyldifosfátem (DMAPP), což je reaktivnější isomer IPP. Isomerace je katalyzována enzymem isopentenylidifosfátisomerasou. Syntéza řetězce je katalyzována prenyltransferasami. Krátký polyprenylidifosfátový řetězec je prodlužován na geranylidifosfát (GPP), který má 10 uhlíků. Připojením dalších pěti uhlíkatých jednotek vzniká farnesyldifosfát (15 uhlíků) a geranylgeranylidifosfát (20 uhlíků). Geranylgeranylidifosfát je prekurzorem pro syntézu mnoha látek, např. terpenů, chinonů, karotenoidů, gibberelinů, tokoferolů, chlorofylů (Svoboda, 2011).

Redukční kondenzací dvou molekul geranylgeranylidifosfátu, katalyzovanou fytoensynthasou, vzniká nejjednodušší karotenoid, resp. karoten, fytoen, který jako prekurzor karotenoidů (tetraterpenů) podléhá postupně dehydrogenaci za vzniku „all-trans“ konfigurace karotenoidů (Šivel a kol., 2013). Enzymem fytoendesaturasou jsou vnášeny do fytoenu čtyři dvojně vazby, postupnou desaturací uhlovodíkového řetězce vzniká lykopen. Enzymem lykopen β -cyklasou je katalyzována reakce, při níž je na obou koncích lykopenu tvořena cyklická struktura a vzniká β -karoten, který může být dále přeměněn β -karoten hydroxylasou na zeaxanthin nebo β -karoten ketolasou na kanthaxanthin, ze kterého následně vzniká astaxanthin. Popřípadě může být lykopen konvertován lykopen β -cyklasou a lykopen ϵ -cyklasou na α -karoten a následně přeměněn pomocí β -karoten hydroxylasy a ϵ -karoten hydroxylasy na lutein (Svoboda, 2011).

Obrázek 4 Schéma syntézy karotenoidů s řetězcem MVA a MEP (Svoboda, 2011)



3.3.3 Karotenoidy v rostlinách

Tyto strukturně různorodé pigmenty mají mnoho rozmanitých biologických funkcí: účastní se fotosyntézy, fungují jako antioxidanty a slouží jako prekurzory pro mnoho hormonů a vitaminů v živočišném organismu. Karotenoidy zbarvují červeně, oranžově, žlutě či hnědě listy rostlin, květy nebo ovoce (Svoboda, 2011). Jsou základní strukturní složkou fotosyntetického aparátu, který chrání před fotooxidačním poškozením, zároveň v něm fungují jako pomocné světloměrné pigmenty. Karotenoidy hrají také ekologickou roli v lákání opylovačů z důvodu rozdílných barev listů, květů a plodů. Některé karotenoidy (neoxanthin a violaxanthin) také působí jako prekurzory pro biosyntézu kyseliny abscisové (Saini et al., 2015). Kvalitativní a kvantitativní složení karotenoidů závisí na mnoha faktorech, jako je druh a odrůda rostliny, sezóna, stupeň zralosti, způsob zpracování apod. V některých druzích ovoce a také v bramborech se karotenoidy vyskytují v jednotkách mg.kg^{-1} , ve většině druhů ovoce a zeleniny jsou přítomny v desítkách mg.kg^{-1} , v mrkvi, rajčatech a paprikách se nachází stovky mg.kg^{-1} karotenoidů. Určitá část karotenoidů je asociována s bílkovinami podobně, jako je tomu u chlorofylů. Tyto asociáty se obecně nazývají karotenoproteiny. Xanthofyly se navíc vyskytují jako volné látky a také jako estery s mastnými kyselinami nebo jako glykosidy (Velíšek, 1999b).

All-*trans*-isomery karotenoidů jsou v čerstvých i tepelně zpracovaných materiálech doprovázeny malým množstvím *cis*-isomerů, které se nazývají neokarotenoidy. Např. β -karoten doprovází hlavně geometrické isomery 9-*cis*, 13-*cis* a 15,15'-*cis*- β -karoteny. Lutein doprovází hlavně 9-*cis* a 9'-*cis*, 13-*cis* a 13'-*cis*-isomery a méně 15-*cis* a 15'-*cis* isomerů. Neoxanthin doprovází 9-*cis* a 9'-*cis*, 13-*cis* a 13'-*cis*-isomery (Velíšek, 1999b).

Akumulace karotenoidů uděluje hlízám brambor žlutou nebo oranžovou barvu. Lutein, violaxanthin a zeaxanthin jsou převládající karotenoidy brambor. Lutein a zeaxanthin jsou součástí lidské sítnice a musí být získávány ze stravy. Listová zelenina je dobrým zdrojem luteinu, ale chudá na zeaxanthin, který se nachází ve významných koncentracích v menším počtu potravin. Tato skutečnost vyzdvihuje brambory jako strategický zdroj potravin pro zásobování těla luteinem a zeaxanthinem (Fernandez-Orozco et al., 2013). Největší koncentrace karotenoidů v bramborách je ve slupkách, nejmenší pak v dužnině. Celkový obsah karotenoidů je nejvyšší v raném stádiu vývoje hlízy, se zvyšováním sušiny se jejich obsah snižuje a koreluje exponenciálně dobře s intenzitou žlutého zbarvení dužniny (Čepl a kol., 2012). Brown (2005) uvádí, že celkový obsah karotenoidů v bramborách se pohybuje v rozmezí $0,5\text{--}1 \text{ mg.kg}^{-1}$ čerstvé hmotnosti v odrůdách s bílou dužninou

a v odrůdách se sytě žlutou až oranžovou dužninou do 20 mg.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti. V českých odrůdách brambor se celkový obsah karotenoidů pohybuje v rozmezí 0,16–6,36 mg.kg⁻¹ s průměrnou hodnotou 1,94 mg.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti. Nejvíce zastoupené jsou lutein (0,13–0,60 mg.kg⁻¹) a β-karoten (0,03–0,40 mg.kg⁻¹), v raných odrůdách jsou hlavními složkami lutein, zeaxanthin a β-karoten. Zeaxanthin přispívá k oranžovému odstínu zabarvení dužniny. Během skladování se celkový obsah karotenoidů snižuje jen nepatrně (Čepl a kol., 2012).

V rostlinách se kromě karotenoidů vyskytuje velké množství produktů jejich katabolismu (degradovaných karotenoidů). Štěpení molekuly karotenoidů *in vivo* při zrání a také během některých způsobů zpracování rostlinných materiálů probíhá za katalýzy regioselektivními dioxygenasovými enzymy ze skupiny oxidoreduktas (Velíšek, 1999b).

Některé z primárních degradačních produktů karotenoidů jsou již samy důležitými vonnými látkami, např. α- a β-jonon. Vyskytují se jako složky aróma malin, ostružin, rajčat, zeleného a černého čaje, také petržele a mnoha jiných druhů ovoce a zeleniny. Z některých polárních primárních degradačních produktů, které jsou samy sensoricky indiferentními sloučeninami, vznikají vonné látky až následnými enzymovými reakcemi a reakcemi, které jsou katalyzované kyselinami. Složky aróma ovoce, zeleniny aj. potravin tvoří velké množství sloučenin vznikajících rozkladem karotenoidů. Mechanismy jejich vzniku nejsou často dostatečně známy (Velíšek, 1999b).

3.3.4 Význam pro člověka

Skupina karotenoidů nazývaná retinoidy jsou prekurzory vitamínu A neboli provitaminy A (Velíšek, 1999b). Nejvýznamnějším provitaminem A je β-karoten (Velíšek, 1999a). β-karoten štěpí enzym karoten-monooxygenasa na 1 nebo 2 molekuly retinalu (Blatná, 2007). Ke štěpení β-karotenu dochází pouze, pokud tělo nedostává dostatečné množství vitamínu A v potravě. Jako zdroj tohoto vitamínu je totiž β-karoten 6× méně účinný než samotný retinol (Glasová, 2011). Bylo prokázáno, že všechny karotenoidy jsou účinnými antioxidanty (Ošťádalová a Pokorná, 2014). Obsah antioxidantů v lidské výživě snižuje ve značné míře aterosklerotické procesy, inhibuje akumulaci cholesterolu v krevním séru a zvyšuje rezistenci cévních stěn. Antioxidanty mohou zachycovat volné radikály předtím, než mohou škodit, a mohou bránit rozšíření oxidačního poškození (Čepl a kol., 2012). Některé karotenoidy jako například lykopen, astaxanthin a kanthaxanthin jsou účinnější při zhášení singletového kyslíku než β-karoten. Další karotenoidy jako jsou kryptoxanthin, zeaxanthin a lutein

vykazují asi poloviční aktivitu. Pro svoje antioxidační vlastnosti se karotenoidy uplatňují v prevenci degenerativních procesů (Velíšek, 1999b). Aktuální výživová doporučení pro boj proti chronickému onemocnění, včetně rakoviny a ischemické choroby srdeční, doporučují zvýšený příjem rostlinných potravin, které jsou bohatým zdrojem antioxidantů (Riccioni, 2009). Kromě antioxidačního působení karotenoidy napomáhají i mezibuněčné komunikaci využívající tzv. gap junctions mezi buňkami. Gap junctions jsou proteinové můstky mezi sousedícími buňkami a sestávají ze specifických proteinů, konexinů. Tyto proteinové můstky mají rozhodující význam při karcinogenezi. Zvýšená tvorba konexinů, a tím vyvolané zlepšení komunikace mezi buňkami, je důvodem karcinoprotektivního účinku karotenoidů (Kasper, 2015).

V krvi byl prokázán výskyt až 14 různých karotenoidů, z nichž převažuje β -karoten a lykopen. Denní dávka karotenoidů se pohybuje okolo 6 mg. Častá konzumace zeleniny a ovoce bohatého na karotenoidy zřejmě způsobuje, podle dosavadních studií, snížení rizika onemocnění kardiovaskulárního systému a preventivně působí také proti různým typům rakoviny (Konopka, 2004). Astorg (1997) uvádí, že studie na rozvoji karcinomu plic u myší prokázala inhibiční účinnost α -karotenu (nikoli však β -karotenu). Dvě další studie na křečcích, u kterých byla chemicky vyvolána rakovina dýchacích cest, také neprokázaly ochranný efekt samotného β -karotenu. Nishino et al. (2009) však uvádějí, že epidemiologická studie provedená v Tichomoří prokázala snížené riziko vzniku rakoviny plic u lidí s vysokým příjmem kombinace tří karotenoidů α -karotenu, β -karotenu a luteinu.

Voutilainen et al. (2006) poukazují na dosavadní epidemiologické studie, které prokázaly, že vysoký příjem karotenoidů je spojen se sníženým rizikem kardiovaskulárního onemocnění, i když některé výsledky jsou trochu rozporuplné. Gaziano et al. (1995) získali ze studie mezi seniory v Massachusetts výsledky, které naznačují, že příjem potravin s vysokým obsahem karotenoidů je nepřímo spojen se snížením úmrtnosti na kardiovaskulární onemocnění. Toto zjištění je v souladu s již dříve provedenými výzkumy a je kompatibilní s hypotézou, že antioxidanty mohou zpomalit progresi aterosklerózy.

Lidský organismus nedokáže karotenoidy syntetizovat, proto všechny karotenoidy, které jsou přítomny v lidské krvi a tkáních, jsou přijímány potravou nebo v doplňcích stravy (Britton et al., 2009). Karotenoidy se ve střevech vstřebávají špatně – jen z 2 až 50 %. Míra vstřebání karotenoidů v těle závisí na potravině, ve které se vyskytují, na způsobu její přípravy a také na vzájemné kombinaci s jinými složkami potravy, především s tuky

(Kasper and Burghardt, 2009). Omezené vstřebávání je navíc u dětí, starých osob a pacientů s poruchou funkce pankreatu či sekrece žluči. Samotné karotenoidy se konvertují na retinol ve střevní stěně a Kupferových buňkách jater za pomoci enzymu karotinázy. Z molekuly β -karotenu po rozložení ve střevní sliznici vznikají 2 molekuly retinolu při tzv. symetrickém štěpení. Bylo ale zjištěno, že u savců za silně oxidačních podmínek a při vysokých dávkách β -karotenu může docházet i ke štěpení asymetrickému, které poskytuje oxidační produkty, apokarotenaly, u nichž bylo prokázáno toxické působení. Účinnost přeměny klesá s rostoucí dávkou, proto ani při vysokém příjmu β -karotenu otrava vitamínem A nehrozí (Hlúbik a Opltová, 2004).

β -karoten

β -karoten má v našem těle mnoho funkcí. Stimuluje růst živočišných buněk, správný vývoj kosterního skeletu a má také vliv na reprodukci. Je také prekurzorem vitamínu A, který je dáván do souvislosti s naší odolností proti zhoubnému bujení (Glasová, 2011). Vitamin A ovlivňuje metabolismus rodopsinu, tedy procesu vidění (prekurzor fotosenzitivních pigmentů oční sítnice), dále působí na diferenciaci a růst epitelových buněk, zasahuje rovněž do syntézy bílkovin, nukleových kyselin a lipoproteinů a má mírné antioxidační vlastnosti (Hlúbik a Opltová, 2004). β -karoten také posiluje imunitní systém, snižuje riziko arteriosklerózy, srdečního infarktu, mozkové příhody a očního zákalu (Mindell a Mundis, 2010).

Hladina β -karotenu v séru a tělních tekutinách není ovlivňována pouze příjmem z potravy, ale i faktory fyziologickými a životním stylem jedince. Ze všech karotenoidů pouze u hladin β -karotenu byla nalezena přímá souvislost s hladinami HDL-cholesterolu v séru (Hlúbik a Opltová, 2004).

Lutein

Lutein je karotenoid, který se v těle nemění ve vitamin A, ale je účinným antioxidantem. Vyniká ochranou očí, kde odstraňuje volné radikály, které vznikají působením ultrafialových paprsků na sítnici. Zastavuje také degenerativní změny na žluté skvrně, jež bývají příčinou slepoty (Mindell a Mundis, 2010).

Zeaxanthin

Tento karotenoid chrání oči podobně jako lutein před volnými radikály, které mohou vyvolat degeneraci žluté skvrny sítnice a postupně oslepnutí (Blatná, 2007). Chrání také před některými druhy nádorů tím, že potlačuje růst nádorových buněk (Mindell a Mundis, 2010).

3.4 Vliv stresu na růst rostlin

Každá změna životního prostředí ovlivňuje růst a vývoj rostlin. Stres začíná omezením (biotickým nebo abiotickým), nebo nepředvídatelnými výkyvy metabolismu, které způsobují tělesné napětí. Stres obecně zhoršuje vitální funkce, nebo funkce, které reagují na změny životního prostředí nebo na vlastní genetické vady. Stres, ve smyslu fyziologického stavu, je stav způsobený faktory, které mají tendenci narušovat rovnováhu (Gaspar et al., 2002). Flexibilita metabolismu umožňuje zahájení odpovědí na změny životního prostředí, které pravidelně kolísají a jsou předvídatelné během denních a sezonních cyklů. Tudíž každá odchylka faktoru od optima nemusí pro rostlinu nutně znamenat stres. Tolerance k abiotickým změnám je velmi komplikovaný jev v důsledku složité interakce mezi stresovými faktory a různými molekulami, biochemickými a fyziologickými jevy, které ovlivňují růst a vývoj rostlin (Jaleel et al., 2009).

Nepříznivé vlivy způsobující stres rostlin jsou vodní deficit, infekce, nízká a vysoká teplota, nedostatek kyslíku v půdě, zasolení, vliv imisí a další. Na působení těchto nepříznivých faktorů prostředí (stresorů) se rostlina adaptuje. Vlivem stresorů je zasažen metabolismus rostlin, transkripce i translace, zvyšuje se permeabilita membrán, zvedá se obsah prolinu atd. Většina stresorů zasahuje i do hladiny fytohormonů a jejich metabolismu. Tak se mění i růst, vývoj a morfogeneze rostlin (Procházka a Šebánek, 1997).

3.4.1 Vodní stres

Ze všech abiotických faktorů, které omezují růst a produktivitu rostlin, stojí na prvním místě nedostatek vody (Procházka a kol., 1998). Rostlinné reakce na nedostatek vody jsou závislé na množství ztráty vody a trvání tohoto stavu. Vodní deficit nastává, když rychlost transpirace přesahuje absorpci vody, a je složkou několika různých stresů – sucho, slanost a nízká teplota. Schopnost rostliny reagovat a přežít vodní deficit závisí na mechanismu celé rostliny. Odpověď na nedostatek vody se může objevit během několika sekund (např. změna fosforylace proteinů), nebo během několika minut až hodiny (změna genové exprese) (Bray, 1997). Stres suchem vede k uzavření průduchů a omezení výměny plynů. Může vést k hrubému narušení metabolismu a struktury buněk a nakonec i k zastavení enzymových reakcí. Vodní stres omezuje růst rostlin tím, že ovlivní různé fyziologické a biochemické procesy, jako je například fotosyntéza, dýchání, translokace, metabolismus sacharidů, živin a růstových stimulátorů. Reakce se značně liší v závislosti na intenzitě a délce trvání stresu, jakož i na rostlinném druhu a fázi růstu (Jaleel et al., 2009).

Voda, na rozdíl od minerálních živin, má velmi rychlý koloběh v ekosystémech a její zásoba v rostlinách i v půdě stačí jen na poměrně krátkou dobu. Vzhledem ke složitým vztahům mezi množstvím vody v rostlině a v okolním prostředí nelze dosti dobře zavést jednoduché kritérium, podle kterého bychom hodnotili, jak velkému stresu z nedostatku vody je rostlina vystavena. Vodní potenciál vzduchu v okolí listů je téměř vždy velmi nízký, a proto rostliny ve všech typech prostředí jsou ohroženy vodním stresem. K udržení maximální rychlosti růstu je zapotřebí udržovat plně turgescenční stav buněk, což se však v denních hodinách daří jen velmi zřídka. K měřitelnému zpomalení růstu dochází již při velmi malé ztrátě vody, kdy turgor klesne jen o 0,1 až 0,2 MPa. Příjem oxidu uhličitého pro fotosyntézu otevřenými průduchy je obvykle spojen s takovou ztrátou vody, jakou nelze okamžitě nahradit. Nejvíce postiženým orgánem jsou vždy listy (Procházka a kol., 1998).

U běžných druhů rostlin hodnoty vodního potenciálu listů do -0,5 MPa indikují působení mírného vodního stresu, od -0,5 do -1,5 MPa stres středně velký. Při hodnotách nad -1,5 MPa jde pak o stres velmi silný, při kterém již často klesá turgorový tlak v buňkách listů na nulu a listy začínají vadnout (Procházka a kol., 1998).

Při poklesu vodního potenciálu buněk zhruba na hodnotu -0,2 až -0,8 MPa dochází k rychlým změnám aktivity některých enzymů. Přibližně ve stejném rozmezí hodnot vodního potenciálu dochází v buňkách k velmi podstatnému (až čtyřicetinásobnému) zvýšení koncentrace kyseliny abscisové, což má za následek zavírání průduchů. Změna v otevřenosti průduchů pak vede ke snížení rychlosti výměny plynů, a tím i rychlosti fotosyntézy a transpirace. Při větším poklesu vodního potenciálu k hodnotám okolo -1,0 MPa dochází u mnoha druhů k tvorbě aminokyseliny prolinu, jejíž koncentrace se zvyšuje často až stonásobně. Některé druhy reagují syntézou jiných metabolitů, zejména cukrů, složitějších alkoholů a betainu. Hlavní význam těchto syntéz je ve zvýšení osmotického tlaku v buňkách (Procházka a kol., 1998). Jedním z hlavních signálů působících během sucha je rostlinný hormon kyselina abscisová (Bray, 1997).

3.4.2 Kyselina abscisová (ABA)

Za normálních podmínek se hladina ABA v rostlinných buňkách udržuje na nízké úrovni. Hladina se může dramaticky zvyšovat během zrání semen a v reakci na environmentální namáhání. Mimo vývoje semen hraje ABA důležitou roli v mnoha jiných buněčných procesech včetně dormance, klíčení, vegetativního růstu či environmentální reakce na stres. Tyto různé funkce ABA zahrnují mnoho regulačních mechanismů, které kontrolují její produkci, degradaci, signální vnímání a transdukcii (Xiong and Zhu, 2003). I když má ABA v rostlinách mnoho funkcí, její hlavní funkcí je regulovat vodní rovnováhu rostlin a její toleranci k osmotickým změnám (Zhu, 2002).

ABA je rostlinný hormon, který se podílí na odezvě na stres, je rychle syntetizován v mnoha rostlinných druzích, pokud jsou vystaveny stresu z vodního deficitu. ABA podporuje uzavření průduchů, aby rostlina minimalizovala ztráty vody (Iuchi et al., 2001). ABA brání vstupu iontů K^+ do svěracích buněk a výstupu iontů H^+ z nich. Stimuluje uvolňování iontů K^+ ze svěracích buněk průduchů a vzestup volných iontů Ca^{2+} v cytosolu svěracích buněk. Obojí je významné pro vliv ABA na uzavírání průduchů. Protože ABA podporuje růst kořenů a omezuje růst prýtlů, mohou mít rostliny vystavené suchu snížený poměr mezi prýtlíky a kořeny (Procházka a Šebánek, 1997). Mimo to i zvyšuje hydraulickou vodivost kořenů. Nedostatek vody vyvolá velmi rychlý růst obsahu volné ABA v listech a kořenech. Abscisová kyselina redukuje nejen negativní vliv nedostatku vláhy, ale i dalších stresů, které nedostatek vody v buňce vyvolávají, jako nízkých teplot, zasolení apod. (Procházka a kol., 1998).

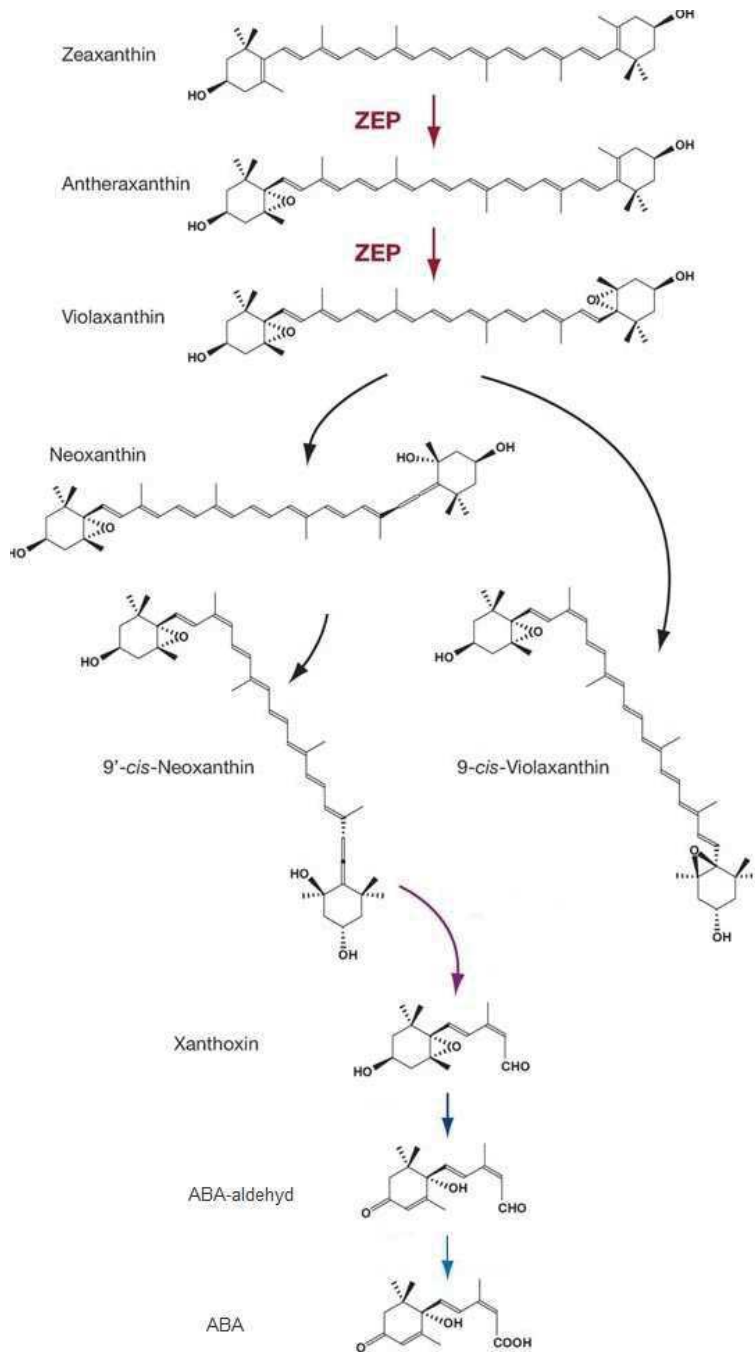
3.4.2.1 Biosyntéza ABA

Okolními podmínkami, které nejčastěji vyvolají biosyntézu ABA, jsou sucho a zasolení. Biosyntéza ABA je indukována především regulací transkripce ABA biosyntetických genů (Xiong and Zhu, 2003).

ABA je ve vyšších rostlinách syntetizována z nepřímé dráhy štěpením C-40 prekurzoru karotenoidů, následuje dvoustupňová konverze meziprojektu xanthoxinu na ABA přes ABA-aldehyd (obrázek 5). Prvním krokem, který je specifický pro biosyntézu ABA, je epoxidace zeaxanthinu a anteraxanthinu na violaxanthin, tento krok je katalyzován enzymem zeaxanthinepoxidázou (ZEP). Violaxanthin je poté isomerován na 9-*cis*-epoxykarotenoid. Oxidativním štěpením hlavního epoxykarotenoidu 9-*cis*-neoxanthinu vznikne xanthoxin C-15. Xanthoxin je následně přenesen do cytosolu, kde je konvertován na ABA prostřednictvím

dvoukrokové reakce přes ABA-aldehyd, ABA-aldehydoxidáza pak katalyzuje poslední krok této dráhy a vzniká ABA (Xiong and Zhu, 2003).

Obrázek 5 Biosyntéza ABA (upraveno (Nambara and Marion-Poll, 2005))



3.5 Metody analýzy karotenoidů

Výrazné kvalitativní a kvantitativní rozdíly karotenoidů mezi rostlinami, mezi kultivary stejné rostliny, složitost matrice a citlivost karotenoidů na *cis/trans* isomerizaci a oxidaci v průběhu skladování a analýzy jsou faktory, které významně ovlivňují spolehlivost a přesnost analýzy karotenoidů v rostlinném materiálu (Saini et al., 2015).

Hlavní problémy při analýze karotenoidů vyplývají z jejich nestability. Důležitá jsou preventivní opatření, aby se zabránilo tvorbě artefaktů a kvantitativním ztrátám. Patří mezi ně dokončení analýzy v co nejkratším čase, vyloučení přístupu kyslíku ke skladovaným vzorkům, ochrana před světlem a vysokými teplotami, využití vysoce čistých rozpouštědel. Kyslík, a to zejména v kombinaci se světlem a teplem, je velmi destruktivní faktor (Rodriguez-Amaya, 2001). Dalším problémem při kvantifikaci karotenoidů je získávání a udržování čistých karotenoidních standardů (Saini et al., 2015).

Analýza karotenoidů se obvykle skládá z odběru a přípravy vzorků, extrakce karotenoidů do vhodného rozpouštědla, alkalické hydrolýzy následného vymytí alkálií z extraktu, z odpaření rozpouštědla vedoucího k zakoncentrování vzorku, převedení do rozpouštědla kompatibilního s mobilní fází, chromatografické separace, identifikace a kvantifikace (Rodriguez-Amaya, 2001).

Hlavními zdroji chyb v analýze karotenoidů jsou: vzorky, které nejsou reprezentativní pro zkoumanou potravinu, ztráty karotenoidů v jednotlivých krocích, neúplná chromatografická separace, nesprávná identifikace, špatná kvantifikace a výpočty, isomerie a oxidace karotenoidů během analýzy nebo nevhodné skladování vzorků před analýzou. Lyofilizace je považována jako vhodný způsob zachování vzorků před analýzou karotenoidů. Vzhledem k různým faktorům, které ovlivňují složení karotenoidů, má správný odběr a příprava vzorků pro analýzu rozhodující význam (Rodriguez-Amaya, 2001).

3.5.1 Kapalinová chromatografie (LC)

Kapalinová chromatografie je nejčastěji používaná metoda pro analýzu karotenoidů (Su et al., 2002). Chromatografie lipofilních pigmentů pomocí kapalinové chromatografie je v podstatě metodou volby umožňující souběžně identifikaci i kvantifikaci většiny aktivních látek, pokud jsou k nim dostupné standardy. Jelikož karotenoidní pigmenty jakožto barevné látky absorbují ve viditelné oblasti světla, lze využít UV-VIS detekce v oblasti 420–480 nm. Jako mobilní fáze se využívá obvykle směs metanolu a vody, případně acetonitrilu a vody, přičemž

v některých případech je vhodná a dostačující isokratická eluce, zatímco některé systémy vyžadují gradientovou eluci (Márová a Obruča, 2013).

Nejčastějším uspořádáním kapalinové chromatografie je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, High Performance Liquid Chromatography). Při tomto uspořádání je mobilní fáze přiváděna do systému pomocí čerpadla za vysokého tlaku (Nováková a Douša, 2013). Mobilní fáze proudí chromatografickou kolonou, kde probíhá separace, a dále přes detektor, který je schopen generovat signál úměrný koncentraci analytu. Oddělené složky ze směsi eluované v různých časech jsou zobrazeny jako píky. Různé píky na chromatogramu patří různým složkám oddělených ze směsi (Moldoveanu et David, 2013). Existuje mnoho HPLC metod, které se liší ve svých analytických podmínkách, takže je obtížné vybrat tu nejvhodnější techniku. Pečlivým výběrem mobilní fáze, kolony a extrakčního rozpouštědla lze dosáhnout dobré separace karotenoidů. HPLC nabízí výhody z hlediska jednoduchosti, rychlosti a nákladů (v závislosti na způsobu detekce), citlivosti, specifčnosti, přesnosti a uchování vzorků. Vzhledem k tomu, že karotenoidy snadno oxidují, je užitečné přidat antioxidanty, jako je butylovaný hydroxytoluen (BHT), do extrakčního rozpouštědla a mobilní fáze a udržovat nízkou a konstantní teplotu kolony (Su et al., 2002).

3.5.2 Identifikace karotenoidů

Infračervená spektroskopie poskytuje informace o povaze vazeb a atomů v analyzované sloučenině, zatímco nukleární magnetická rezonance protonu a uhlíku umožňuje přiřazení těchto atomů ke specifické struktuře. HPLC spojená s hmotnostní spektrometrií bývá často použita ve studiích zaměřených na identifikaci karotenoidů z biologických vzorků (Su et al., 2002). Nejvhodnější metodou identifikace karotenoidů je hmotnostní spektrometrie, nicméně její dostupnost je v častých případech velmi omezena zřejmě proto, že je velmi nákladná. Hlavní známé karotenoidy potravin mohou být identifikovány kombinovaným použitím chromatografických dat, UV-VIS spekter a chemických reakcí (Rodriguez-Amaya, 2001). Chemické reakce jsou využívány k potvrzení typu, polohy a počtu funkčních skupin. Tyto reakce mohou být provedeny rychle a pouze s malým množstvím stanovovaných karotenoidů (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2004).

3.5.2.1 UV-VIS spektrometrie

Spektrofotometrické detektory (UV-VIS, DAD) měřící absorbanci jako součást HPLC jsou pro kvantifikaci karotenoidů používány již mnoho let. Nicméně složitost profilu karotenoidů v mnoha biologických vzorcích vyžaduje sofistikovanější metody pro konečnou identifikaci píků (Su et al., 2002). Kvantifikace karotenoidů v roztoku vychází z Lambert-Beerova zákona, vyjadřujícího lineární závislost absorbance na koncentraci stanovované látky. Tak jsou karotenoidy kvantifikovány spektrofotometricky za předpokladu, že jsou k dispozici přesné absorpční koeficienty v požadovaném rozpouštědle (Rodriguez-Amaya and Kimura, 2004).

3.5.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)

HPLC-MS systém má oproti UV detekci řadu výhod např. velmi malé množství vzorku potřebné pro analýzu (Su et al., 2002). Hmotnostní spektrometrie je účinná technika pro identifikaci nových sloučenin, dokonce pigmenty s velmi podobnou strukturou mohou být rozlišeny pomocí jejich fragmentačních spekter. Pro získání potvrzujících výsledků v objasnění struktury velmi podobných isomerů se obvykle používá hmotnostní spektrometrie v kombinaci s protonovou nukleární magnetickou rezonancí (Saini et al., 2015). V ideálním případě by identifikace karotenoidů měla být prováděna pomocí hmotnostní spektrometrie, ale dostupnost MS vybavení je velmi omezená (Rodriguez-Amaya, 2001).

3.5.2.3 Nukleární magnetická rezonance (NMR)

HPLC-NMR umožňuje jednoznačnou identifikaci každého stereoisomeru karotenoidů. Měření NMR spektra vyžaduje velmi čistou sloučeninu ve větším množství než u UV-VIS a MS detekce (Su et al., 2002).

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Rostlinný materiál

Do pokusu byly zařazeny 4 odrůdy brambor (Marabel, Milva, Laura a Valfi). Všechny testované vzorky brambor byly poskytnuty katedrou rostlinné výroby ČZU v Praze. Sadby odrůd Marabel, Milva a Laura byly zakoupeny od Europlant šlecht. spol. s r.o., sadba odrůdy Valfi byla pořízena od Výzkumného ústavu bramborářského Havlíčkův Brod (Matoušková, 2016).

Tabulka 4 Odrůdy (Čermák, 2014)

Odrůda	Délka vegetační doby	Barva slupky	Barva dužniny	Užitkový směr
Marabel	raná	žlutá	světle žlutá	konzum
Milva	poloraná	žlutá	žlutá	konzum
Laura	poloraná	červená	tmavě žlutá	konzum
Valfi	poloraná	modrá	modrostrakatá	barevné kaše a výrobky

4.2 Stanoviště pokusu

Pokus byl proveden na demonstračním poli ČZU v Praze. Pole se nachází ve výšce 290 m n.m. Půdní druh je hlinitý a půdní typ pole je černozem. Jedná se o výrobní oblast řepařskou. Hodnota pH půdy je 7,5 a obsah humusu je 2,75 %. Průměrný roční úhrn srážek na stanovišti činí 590 mm (Matoušková, 2016).

4.3 Podmínky pokusu

Na demonstračním poli bylo vysázeno 15 vzorků sadbových brambor – od každé odrůdy a typu závlahy (závlaha zaléváním, kapková závlaha, stres suchem). Sadba byla provedena ve dvou opakováních. Spon výsadby činil 30 cm x 70 cm. Vzorky zavlažované zaléváním byly zalévány průměrně 3× týdně v množství vody 10 l.m⁻² dle počasí. Vzorky pěstované ve variantě kapková závlaha byly zavlažované stejným objemem vody, kapková závlaha byla spuštěna vždy přes noc. Vzorky stresované suchem nebyly zavlažovány nijak (jen srážkami). Sadba proběhla 16. 4. 2015 a sklizeň pak 26. 8. 2015. Brambory byly pěstovány podle zásad

běžné agrotechniky. Na pole bylo aplikováno 500 kg NPK.ha⁻¹ před vlastní výsadbou. Během vegetace byl použit postřik proti plísním Ridomil a postřik proti mandelince bramborové Spintor (Matoušková, 2016).

V následující tabulce 5 jsou uvedeny průměrné teploty vzduchu a úhrn srážek za každý měsíc pěstování vzorků brambor. Data byla získána z Meteorologické stanice ČZU v Praze. V tabulce 6 jsou zobrazeny dlouhodobé průměrné měsíční teploty a srážky. A tabulka 7 uvádí rozdíly v měsících pěstování vzorků od dlouhodobých normálů. Na základě této tabulky lze říci, že měsíce pěstování vzorků byly teplotně nadprůměrné a podprůměrné v úhrnu srážek.

Tabulka 5 Průměrné teploty a srážky v měsících pěstování vzorků (Matoušková, 2016)

	Duben 2015	Květen 2015	Červen 2015	Červenec 2015	Srpen 2015
Průměrná teplota (°C)	10,8	13,7	16,8	21,6	22,6
Suma srážek (mm.měsíc⁻¹)	22,2	31,9	38,6	31,6	59,7

Tabulka 6 Dlouhodobé měsíční průměrné teploty a srážky Praha – Suchdol (Kožnarová, 2005)

	Duben	Květen	Červen	Červenec	Srpen
Průměrná teplota (°C)	9,1	14,2	17,6	19,3	18,7
Suma srážek (mm.měsíc⁻¹)	35	58	66	78	67

Tabulka 7 Rozdíl teplot a srážek ve sledovaném období oproti dlouhodobému průměru

	Duben	Květen	Červen	Červenec	Srpen
Průměrná teplota (°C)	+1,7	-0,5	-0,8	+2,3	+3,9
Suma srážek (mm.měsíc⁻¹)	-12,8	-26,1	-27,4	-46,4	-7,3

4.4 Příprava vzorků

Pro přípravu reprezentativních vzorků byly vybrány zdravé hlízy průměrné velikosti a tvaru. Byly odebrány 4 hlízy od každé odrůdy a každého typu závlahy. Celkem bylo tedy použito 48 hlíz. Všechny hlízy byly omyty a osušeny na filtračním papíru. Poté byly rozčtvrceny a z každé hlízy byla použita jedna čtvrtina, tj. čtyři čtvrtiny různých hlíz tvořily jeden laboratorní vzorek. Takto připravené vzorky byly zmrazeny a následně vloženy do lyofilizátoru (Matoušková, 2016).

4.5 Stanovení sušiny

Omyté, osušené a nadrobno nakrájené brambory (cca 25 g) byly sušeny při teplotě 105 °C v sušárně do konstantní hmotnosti (48 hodin). Procento sušiny bylo stanoveno z rozdílu hmotnosti čerstvého a suchého vzorku.

4.6 Použité přístroje a chemikálie

4.6.1 Standardy

- lutein (UV, $\geq 95\%$, $\geq 98\%$, Extrasynthese, Genay, Francie)
- zeaxanthin (UV, $\geq 95\%$, $\geq 98\%$, Extrasynthese, Genay, Francie)
- β -karoten (HPLC, $\geq 95\%$, Sigma–Aldrich, St. Louis, USA)
- neoxanthin (HPLC, 97%, CaroteNature, GmbH, Lupsingen, Švýcarsko)
- violaxanthin (HPLC, 95%, CaroteNature, GmbH, Lupsingen, Švýcarsko)
- antheraxanthin (HPLC, 95%, CaroteNature, GmbH, Lupsingen, Švýcarsko)

4.6.2 Chemikálie

- ethanol (absolutní, Ph.Eur., Sigma–Aldrich, St. Louis, USA)
- butylovanýhydroxytoulén (BHT, Ph.Eur., Sigma–Aldrich, St. Louis, USA)
- *tert*-butyl methyl ether (HPLC grade, Sigma–Aldrich, St. Louis, USA)
- methanol (HPLC grade, Lachner Ltd., Neratovice, Česká republika)
- aceton (p.a., Lachner Ltd., Neratovice, Česká republika)
- ethanol (p.a., Lachner Ltd., Neratovice, Česká republika)
- hexan (p.a., Lachner Ltd., Neratovice, Česká republika)
- ultra čistá voda (Merck Millipore, KGaA, Darmstadt, Německo).

4.6.3 Přístroje

- sušárna Venticell 111 (BMT, Medical Technology, Ltd., Brno, Česká republika)
- lyofilizátor (Lyovac GT2, Steris, Hürt, Německo)
- laboratorní mlýnek (HR 2185, Philips, Amsterdam, Nizozemsko)
- analytická váha (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- vortex (Basic 3, IKA, KG, Staufen, Německo)
- ultrazvuková lázeň (PS 04, Powersonic-Notus, Ltd., Vráble, Slovensko)
- centrifuga (5810R, Eppendorf, Hamburg, Německo)
- vakuová rotační odparka (Rotavapor R-200, Büchi Labortechnik, AG, Flawil, Švýcarsko)
- kapalinový chromatograf Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA)
- spektrofotometr (Helios γ , Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA)

4.7 Stanovení obsahu karotenoidů

4.7.1 Extrakce karotenoidů

Pro extrakci a separaci karotenoidů byla použita metoda od Kotíková et al. (2016). Lyofilizovaný vzorek byl rozemlet na laboratorním mlýnku na jemný prášek. 1,5 g lyofilizátu bylo naváženo na analytických vahách a extrahováno 10 ml 100% acetonu v 50ml plastové uzavíratelné kyvetě přes noc ve tmě v chladničce (při teplotě 4 °C). Vzorek byl poté promíchán na vortexu, vložen na 10 minut do ultrazvukové lázně a nakonec odstředěn po dobu 10 minut, při 4 °C a 8228 rcf. 8 ml supernatantu bylo odebráno do 50ml odparné baňky. Extrakční postup byl proveden ještě jednou přidáním dalších 10 ml acetonu. Sloučený supernatant (16 ml) byl odpařen do sucha při 40 °C na vakuové rotační odparce. Suchý extrakt byl rekonstituován do 2–4 ml směsi ethanol : aceton (3 : 2) s přísádkem 0,2% BHT. V konečné fázi byl vzorek přefiltrován pomocí 1ml stříkačky s mikrofiltrem (PVDF, 0,45 μ m) do tmavé vialky a ihned byl podroben HPLC analýze s PDA detekcí.

4.7.2 Chromatografická separace

Analýzy byly provedeny pomocí kapalinového chromatografu Ultimate 3000 vybaveného kvartérní pumpou, autosamplerem, termostatem kolony a detektorem diodového pole. Analyty byly separovány na YMC C30 karotenoidní koloně (150 mm × 3,0 mm, S-3 μm, YMC, Wilmington, USA). Podmínky separace byly následující: rychlost průtoku 0,6 ml.min⁻¹; teplota kolony 25 °C; teplota autosampleru 10 °C; objem nástřiku 10 μl; detekce při λ = 445 nm (spektrální akvizice 300–700 nm); celková doba analýzy 33 min. Mobilní fáze byla složena z methanolu (A), vody (B) a *tert*-butyl methyl etheru (C). Separace jednotlivých analytů byla provedena pomocí gradientové eluce: počáteční podmínky 90 % A, 10 % B a 0 % C byly udržovány konstantní po dobu 1 min, následoval lineární gradient na 90 % A, 0 % B a 10 % C v 6 min, dosahující maxima 40 % A, 0 % B a 60 % C ve 22 min, následoval proplach kolony a re-ekvilibrace po dobu 11 minut.

4.7.3 Identifikace a kvantifikace

Analyty karotenoidů (violaxanthin, neoxanthin, antheraxanthin, lutein, zeaxanthin, β-karoten) byly ve vzorcích identifikovány porovnáním retenčních časů a absorpčních spekter s externími standardy. Jejich kvantifikace byla provedena metodou externí kalibrace (konc. rozsah 0,1–20 μg.ml⁻¹). Přesná koncentrace roztoků standardů byla stanovena spektrofotometricky. Standardní roztoky o koncentraci 1 μg.ml⁻¹ byly proměřeny na spektrofotometru, přesná koncentrace analytů byla vypočítána pomocí extinkčních koeficientů (EC, L.g⁻¹.cm⁻¹) uvedených v následující tabulce.

Tabulka 8 Extinkční koeficienty (EC) karotenoidů

Analyt	EC (L.g ⁻¹ .cm ⁻¹)	λ _{max} (nm)	Rozpouštědlo
Violaxanthin	255	443	Ethanol
Neoxanthin	233	437	Ethanol
Antheraxanthin	235	446	Ethanol
Lutein	255	445	Ethanol
β- karoten	259	453	Hexan
Zeaxanthin	234	452	Aceton

Luteoxanthin (5,8-epoxid) byl identifikován po přeskupení standardu violaxanthinu (5,6,5',6'-diepoxidu) v kyselém prostředí na luteoxanthin. 1 ml violaxanthinu v ethanolu (0,1 mg.ml⁻¹) byl smísen se 100 µl 40% kyseliny octové ve vodě. Směs se ponechala reagovat po dobu 7 hodin při pokojové teplotě. Identifikace luteoxanthinu ve vzorcích byla provedena porovnáním jeho typického absorpčního spektra, kvantifikován byl alternativně za použití kalibrační křivky violaxanthinu.

Obsah karotenoidů v bramborách byl vyjádřen v µg konkrétního analytu na 1 g sušiny. Všechny analýzy byly provedeny ve třech opakováních.

Kalibrace a validace parametrů analytické metody jsou shrnuty v následující tabulce 9.

Tabulka 9 Kalibrace a validace parametrů

Analyt	Body kalibrace	Typ kalibrace *	Sklon (b)	Zakřivení (a)	LOD ** (µg.g ⁻¹ DM)
Violaxanthin	10	kvadratická	1,85	0,04	0,03
Neoxanthin	10	kvadratická	0,5	0,04	0,06
Lutein	10	kvadratická	1,18	0,07	0,08
Antheraxanthin	10	kvadratická	0,05	0,04	0,25
β- karoten	8	kvadratická	0,72	0,08	0,12
Zeaxanthin	9	kvadratická	1,67	0,04	0,07

* $y=ax^2+bx$

** Limit detekce (LOD) byl vypočítán podle metody popsané v International Conference on Harmonization (1996). Pro výpočet byla použita rovnice $3,3 \times \sigma \cdot S^{-1}$, kde S je průměrná hodnota směrnice přímek a σ je směrodatná odchylka průsečíků na ose y získané z pěti (tříbodových) kalibračních křivek sestrojených okolo limitu detekce.

4.8 Statistická analýza

Data byla zpracována v programu Chromeleon (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) a Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA). Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí softwaru STATISTICA (ver. 12; StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Vliv odrůdy a způsobu zavlažování na obsah karotenoidů byl vyhodnocen pomocí dvoufaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) s interakcemi ($p \leq 0.05$). Pro detailní statistické zhodnocení byl použit Tukeyův Post Hoc HSD test.

5 VÝSLEDKY

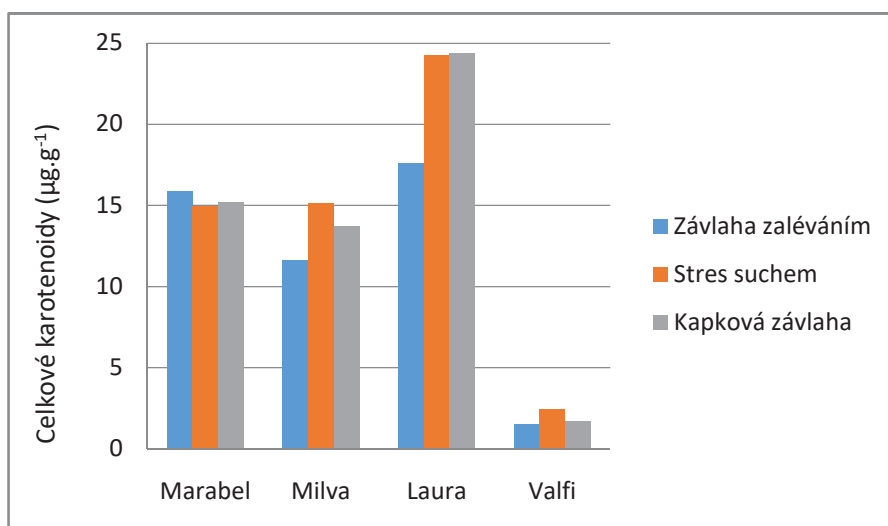
Provedený pokus byl zaměřen na sledování vlivu stresu suchem na obsah a složení karotenoidů v různých odrůdách brambor. Pokus byl proveden v roce 2015 na demonstračním poli ČZU v Praze. Zkoumány byly 4 odrůdy brambor – Marabel, Milva, Laura a Valfi. Vzorky byly pěstovány ve třech různých variantách závlahy – závlaha zavlažováním, kapková závlaha a stres suchem. Poté byl sledován vliv jednotlivých odrůd brambor a způsobů závlahy na obsah karotenoidů. Naměřené hodnoty karotenoidů jsou v celé kapitole uváděny v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Kompletní naměřené výsledky jsou uvedeny v příloze 1.

5.1 Celkové karotenoidy

Statistické zhodnocení výsledků (příloha 4, obrázek 17) potvrdilo, že existují významné difference v obsahu celkových karotenoidů mezi všemi odrůdami brambor. Nejvyšší schopnost tvorby karotenoidů byla zjištěna v odrůdě Laura s průměrnou hodnotou $23,67 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Nejnižší schopnost syntézy karotenoidů měla odrůda Valfi s průměrnou hodnotou $1,96 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 9). Zbylé dvě odrůdy měly střední, srovnatelné obsahy celkových karotenoidů (Milva $14,54 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny a Marabel $16,02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny).

Rozdíly byly nalezeny také mezi variantami závlahy. Celkově lze říci, že vzorky stresované suchem vykazovaly vyšší obsahy karotenoidů oproti zavlažovaným variantám, statisticky významný rozdíl byl prokázán pouze mezi variantou stresovanou suchem a variantou zavlažovanou zaléváním. Byly nalezeny významné interakce mezi odrůdami a variantami závlahy. V jediné odrůdě Marabel došlo k poklesu obsahu karotenoidů ve variantě stresované suchem (obrázek 6).

Obrázek 6 Celkový obsah karotenoidů jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy



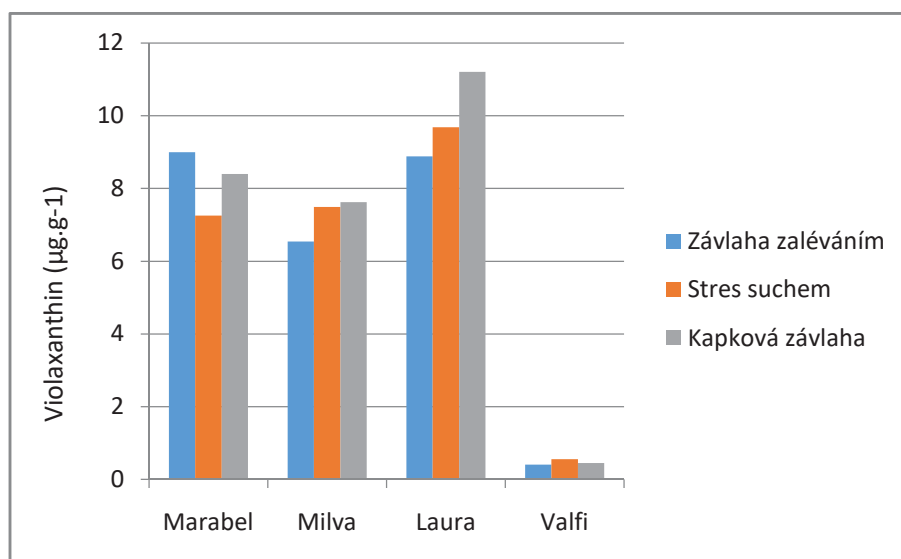
5.2 Jednotlivé karotenoidy

Violaxanthin

Statistické zhodnocení výsledků (příloha 4, obrázek 18) potvrdilo významné rozdíly v obsahu violaxanthinu mezi všemi odrůdami brambor. Nejvyšší schopnost tvorby violaxanthinu byla zjištěna v odrůdě Laura s průměrnou hodnotou $9,92 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Nejnižší schopnost syntézy vykazovala odrůda Valfi s průměrnou hodnotou $0,47 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 10).

Obsah violaxanthinu se v odrůdách pěstovaných v různých variantách závlahy lišil, nicméně tyto rozdíly se nepodařilo statisticky prokázat. Lze říci, že v porovnání se závlahou zaléváním se obsah karotenoidů zvyšoval vlivem stresu suchem (i kapkové závlahy). Výjimkou byla jen odrůda Marabel, ve které se hodnoty naopak snížily. Tento trend je zobrazen i na obrázku 7.

Obrázek 7 Obsah violaxanthinu jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy

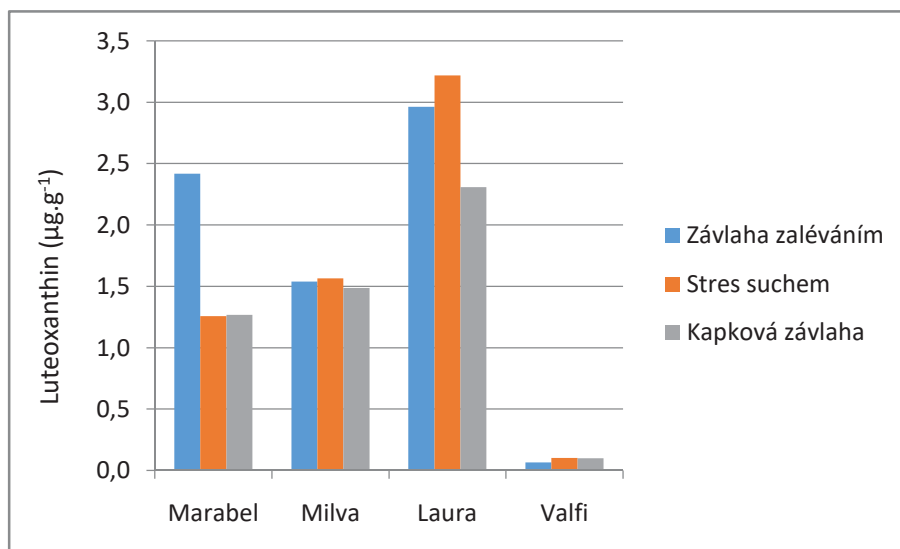


Luteoxanhin

Vyjma odrůd Milva a Marabel se mezi testovanými odrůdami brambor statisticky prokázalo, že existují významné diference v obsahu luteoxanthinu (příloha 4, obrázek 19). Nejvyšší obsah luteoxanthinu byl zjištěn v odrůdě Laura s průměrnou hodnotou $2,83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Nejnižší obsah luteoxanthinu měla odrůda Valfi s průměrnou hodnotou $0,09 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 11).

Významné rozdíly byly nalezeny také mezi variantami závlahy. Odrůdy pěstované ve variantě stresované suchem vykazovaly nejvyšší hodnoty v porovnání s ostatními variantami (s výjimkou odrůdy Marabel, která v této variantě obsahovala luteoxanthinu nejméně) (obrázek 8).

Obrázek 8 Obsah luteoxanthinu jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy

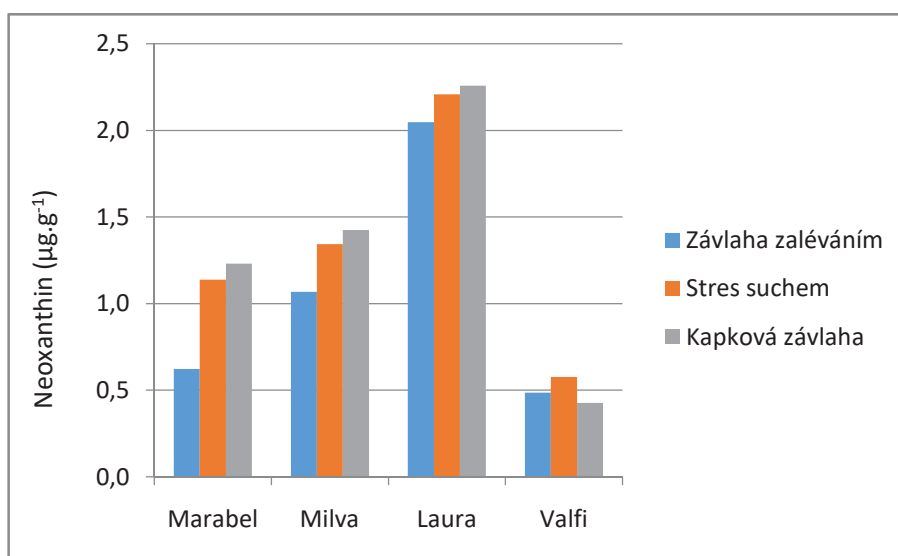


Neoxanthin

Mezi všemi odrůdami brambor byly nalezeny statisticky významné diference v obsahu neoxanthinu (příloha 4, obrázek 20). Nejvyšší schopnost tvorby neoxanthinu byla zjištěna v odrůdě Laura s průměrnou hodnotou $2,17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny, naopak nejnižší v odrůdě Valfi s průměrnou hodnotou $0,50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 12).

Rozdíly byly nalezeny také mezi variantami závlahy. Obsahy neoxanthinu v odrůdách pěstovaných ve variantách stres suchem a kapkové závlahy významně převyšovaly obsahy zjištěné v odrůdách pěstovaných ve variantě závlahy zaléváním. Obsah neoxanthinu dosahoval nejvyšších hodnot v odrůdách pěstovaných ve variantě kapkové závlahy. Výjimkou byla pouze odrůda Valfi, u které byly hodnoty v této variantě naopak nejnižší (obrázek 9).

Obrázek 9 Obsah neoxanthinu jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy

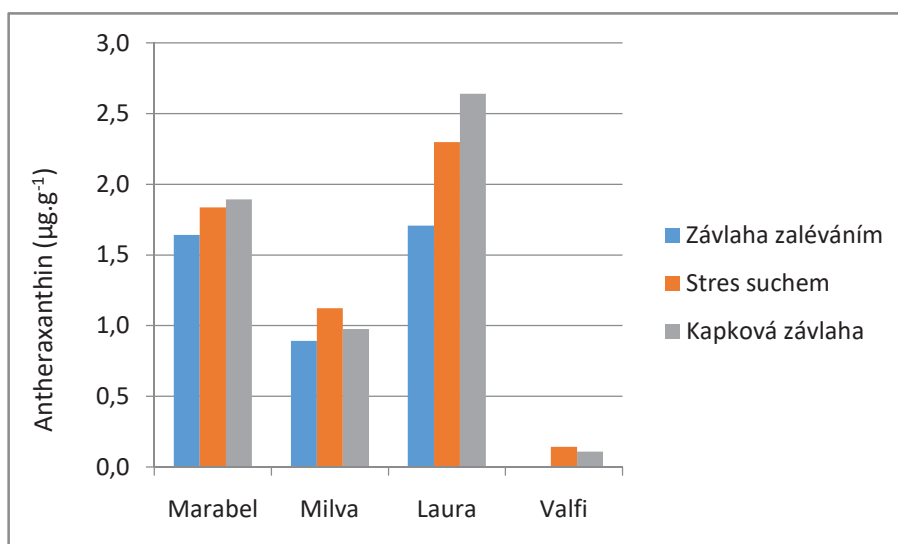


Antheraxanthin

I v případě antheraxanthinu ukazují statistické výsledky (příloha 4, obrázek 21) průkazné rozdíly v obsahu antheraxanthinu mezi všemi odrůdami brambor. Nejvíce antheraxanthinu obsahuje odrůda Laura s průměrnou hodnotou $2,22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny, nejméně odrůda Valfi s průměrnou hodnotou $0,12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 13).

Množství antheraxanthinu v hlízách se vlivem variant závlahy výrazně lišilo. Průkazně nejnižší hodnoty antheraxanthinu vykazovaly odrůdy ve variantě závlaha zaléváním (obrázek 10).

Obrázek 10 Obsah antheraxanthinu jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy

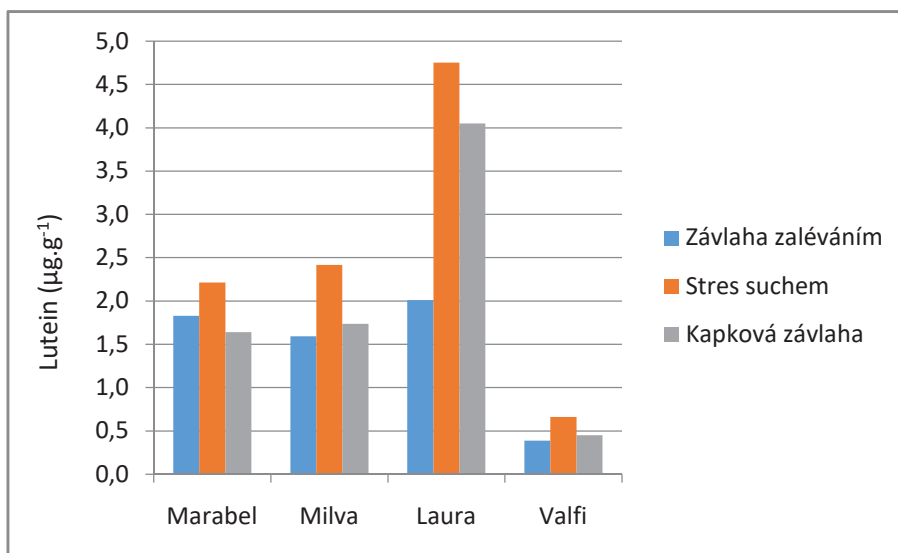


Lutein

Také v případě luteinu byly prokázány značné rozdíly ve schopnosti tvorby tohoto karotenoidu (příloha 4, obrázek 22). Výjimkou byly jen odrůdy Milva a Marabel, mezi kterými nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. Nejvyšší obsah vykazovala odrůda Laura s průměrnou hodnotou $3,60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny a nejnižší obsah odrůda Valfi s průměrnou hodnotou $0,50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 14).

Statisticky průkazné rozdíly byly nalezeny mezi jednotlivými variantami závlahy. Všechny odrůdy pěstované ve variantě stres suchem vykazovaly nejvyšší hodnoty obsahu luteinu. V průměru nejnižší obsahy luteinu byly naměřeny v odrůdách pěstovaných ve variantě závlaha zaléváním. (obrázek 11).

Obrázek 11 Obsah luteinu jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy

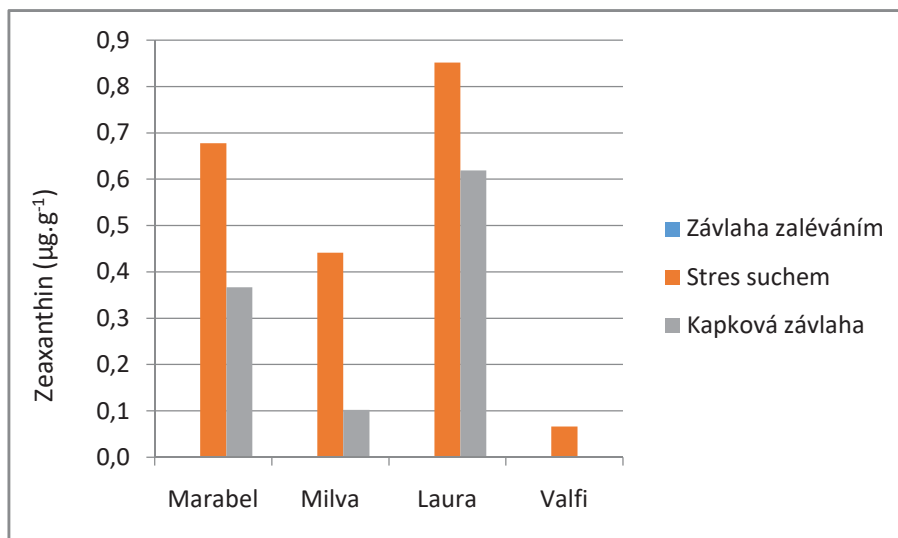


Zeaxanthin

Byly potvrzeny významné difference v obsahu zeaxanthinu mezi odrůdami brambor. Nejvyšší schopnost tvorby zeaxanthinu vykazovala odrůda Laura s průměrnou hodnotou $0,52 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny, zatímco nejnižší schopnost tvorby měla odrůda Valfi s průměrnou hodnotou $0,09 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 15).

Významné rozdíly byly potvrzeny také mezi všemi variantami závlahy. Nejvyšší obsahy zeaxanthinu byly naměřeny v odrůdách pěstovaných ve variantě stres suchem. Nejnižší hodnoty byly zjištěny v odrůdách zavlažovaných zaléváním, kde byly stanovené obsahy zeaxanthinu dokonce pod limitem detekce (obrázek 12).

Obrázek 12 Obsah zeaxanthinu jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy

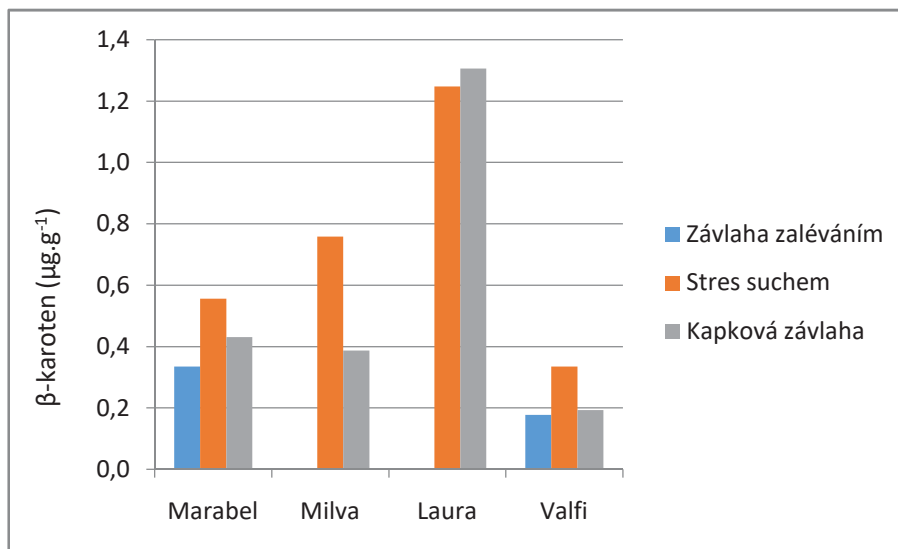


β -karoten

Z výsledků (příloha 4, obrázek 24) vyplývá, že existují statisticky významné difference ve schopnosti testovaných odrůd syntetizovat β -karoten. Výjimku tvořily odrůdy Milva a Marabel. Nejvyšší obsah β -karotenu byl zjištěn v odrůdě Laura s průměrnou hodnotou $0,89 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny a nejnižší v odrůdě Valfi s průměrnou hodnotou $0,24 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny (příloha 3, obrázek 16).

Obsah β -karotenu byl průkazně odlišný vlivem variant závlahy. Brambory stresované suchem obsahovaly nejvíce β -karotenu v porovnání s ostatními variantami (výjimkou byla jen odrůda Laura, která obsahovala nejvíce β -karotenu ve variantě kapková závlaha). Naopak nejnižší obsah β -karotenu měly brambory zavlažované zaléváním (obrázek 13).

Obrázek 13 Obsah β -karotenu jednotlivých odrůd brambor dle varianty závlahy



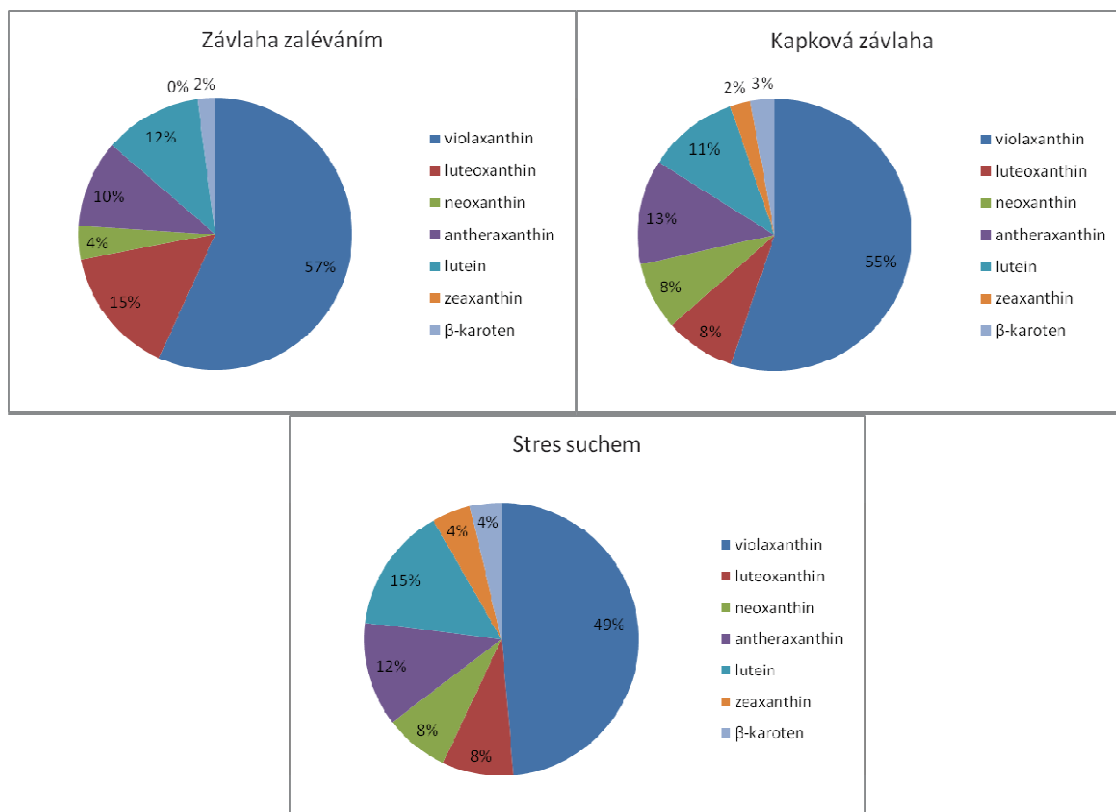
5.3 Profily karotenoidů

V rámci stanovování obsahu karotenoidů v hlízách brambor byly také pozorovány změny profilů karotenoidů jednotlivých odrůd vlivem varianty závlahy.

Marabel

V odrůdě Marabel byl majoritním karotenoidem violaxanthin, jehož zastoupení se vlivem varianty závlahy měnilo (obrázek 14). Srovnatelně vyššího zastoupení dosahoval při závlaze zaléváním (57 %) a při kapkové závlaze (55 %), nejnižší podíl na celkovém množství karotenoidů tvořil ve variantě stresované suchem (49 %). Výraznou změnu vykazoval i karotenoid luteoxanthin, jehož podíl se snížil z 15 % při závlaze zaléváním vlivem kapkové závlahy i stresu suchem na 8 %. Naopak podíl neoxanthinu se při kapkové závlaze a stresu suchem zdvojnásobil (ze 4 % při závlaze zaléváním na 8 %). K nárůstu vlivem stresu suchem došlo v případě luteinu i zeaxanthinu. V závlahových variantách tvořil lutein 11 % a 12 %, ve variantě stresované suchem došlo k jeho nárůstu na 15 %. Obsah zeaxanthinu byl při závlaze zaléváním pod limitem detekce, ve variantě stresu suchem dosahoval 4% zastoupení.

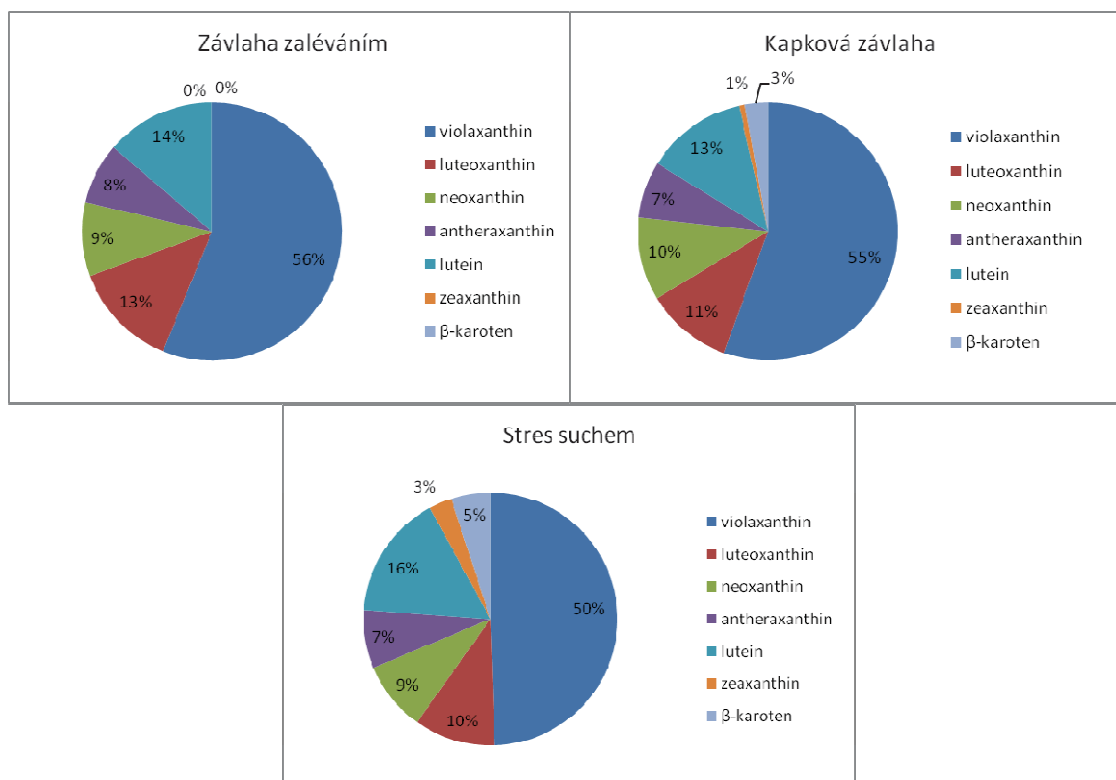
Obrázek 14 Profil karotenoidů odrůdy Marabel vlivem varianty závlahy



Milva

Dominantním karotenoidem odrůdy Milva byl violaxanthin (obrázek 15). Největší zastoupení měl tento karotenoid při závlaze zaléváním (56 %), poté při kapkové závlaze (55 %) a nejnižší při stresu suchem (50 %). Naopak zvýšení dosahoval lutein, jehož podíl vzrostl ze 14 % při závlaze zaléváním na 16 % vlivem stresového faktoru. Zvýšení vlivem stresu suchem bylo zjištěno také pro karotenoidy zeaxanthin a β -karoten, jejichž obsah byl při závlaze zaléváním pod limitem detekce. Jejich podíl v zastoupení byl nejvyšší ve variantě stresu suchem (3% podíl zeaxanthinu a 5% podíl β -karotenu).

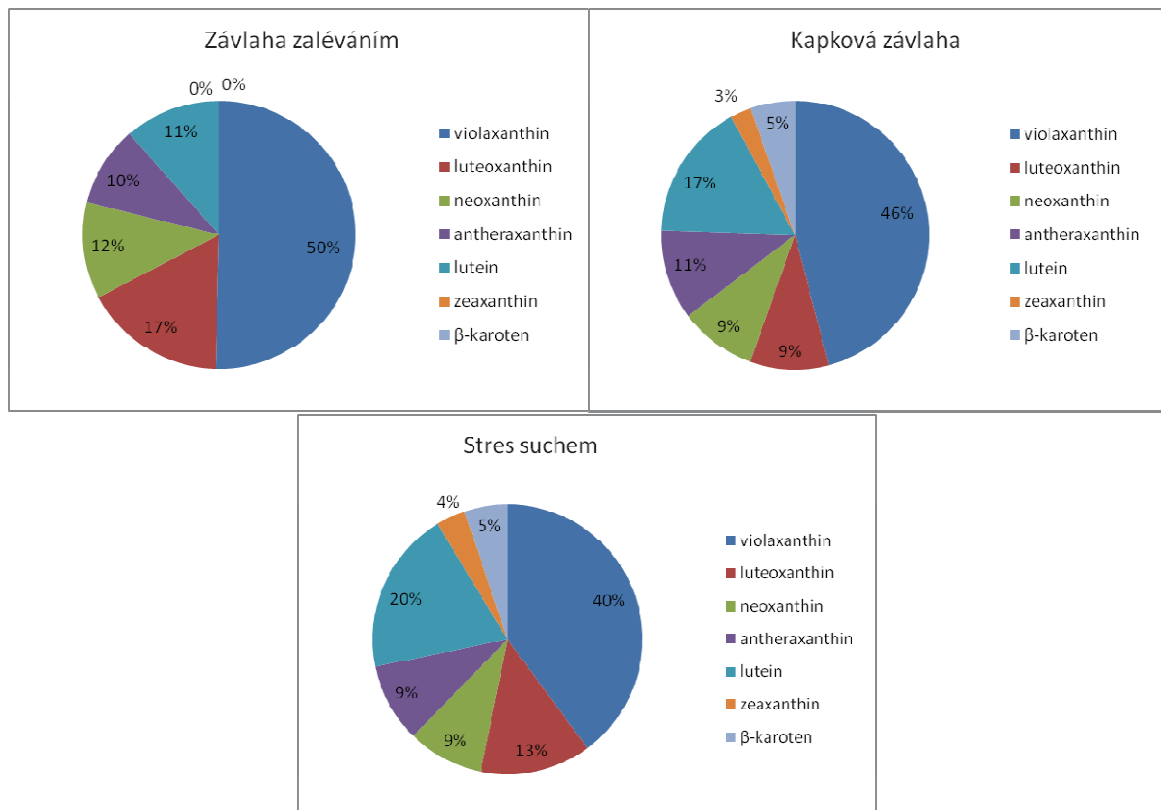
Obrázek 15 Profil karotenoidů odrůdy Milva vlivem varianty závlahy



Laura

I v odrůdě Laura měl majoritní zastoupení karotenoid violaxanthin (obrázek 16). Nejvyššího podílu dosahoval při závlaze zaléváním (50 %), při kapkové závlaze (46 %) a nejnižšího při stresu suchem (40 %). Výraznou změnu vykazoval také karotenoid luteoxanthin, jehož podíl se snížil vlivem kapkové závlahy i stresu suchem. Výrazné změny byly pozorovány i v případě luteinu, jehož zastoupení se zvýšilo z 11 % při závlaze zaléváním na 20 % při stresu suchem. Zvýšení dosahovaly také karotenoidy zeaxanthin a β -karoten, jejichž obsah byl při závlaze zaléváním pod limitem detekce. Jejich podíl v zastoupení byl nejvyšší ve variantě stresu suchem (4% podíl zeaxanthinu a 5% podíl β -karotenu).

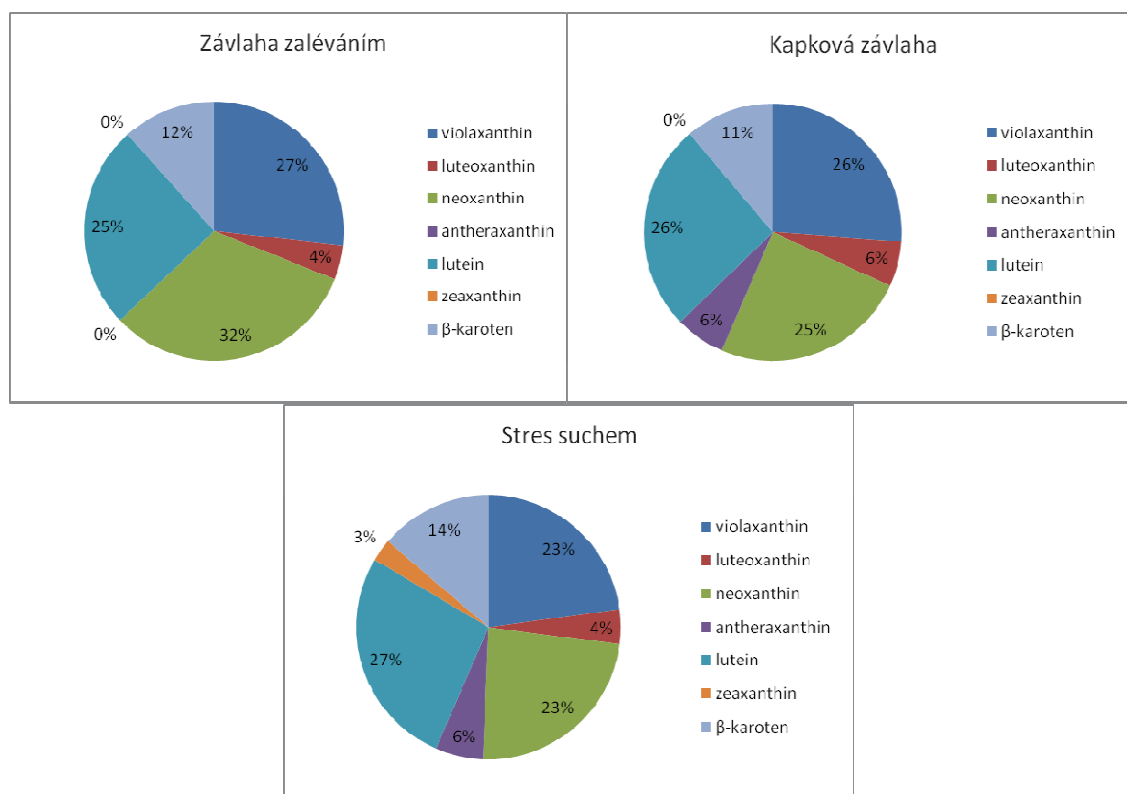
Obrázek 16 Profil karotenoidů odrůdy Laura vlivem varianty závlahy



Valfi

Valfi, jediná odrůda s modrofialovou barvou slupky i dužniny, byla odrůda s nejnižším obsahem karotenoidů a její profil se od ostatních odrůd značně lišil (obrázek 17). Majoritní zastoupení měly karotenoidy neoxanthin, violaxanthin a lutein. Největších změn vlivem varianty závlahy dosahoval neoxanthin (32 % u závlahy zaléváním, 25 % u kapkové závlahy, 23 % u stresu suchem). Výrazné změny vykazovaly také karotenoidy zeaxanthin a antheraxanthin, jejichž obsah byl při závlaze zaléváním pod limitem detekce. Jejich podíl v zastoupení byl nejvyšší ve variantě stresu suchem (3% podíl zeaxanthinu a 6% podíl antheraxanthinu).

Obrázek 17 Profil karotenoidů odrůdy Valfi vlivem varianty závlahy



Valfi se svým profilem karotenoidů od předchozích odrůd brambor výrazně odlišovala. Majoritní zastoupení měl ve žlutých odrůdách Marabel, Milva a Laura stejný karotenoid a to violaxanthin. Nejvíce byl zastoupen při závlaze zaléváním a nejméně při stresu suchem. Všechny tři odrůdy obsahovaly naopak v minoritním zastoupení zeaxanthin a β -karoten, jejichž podíl se zvýšil vlivem stresu suchem. V relativně vyšší míře byly v odrůdách zastoupeny také karotenoidy lutein a luteoxanthin. Zastoupení luteoxanthinu se vlivem stresu suchem spíše snižovalo a u luteinu se zvyšovalo. Jako odrůda s nejstálejším profilem karotenoidů se jeví odrůda Milva. Celkově lze říci, že profily karotenoidů hlíz stresovaných suchem a zalévaných kapkově si byly více podobné, než v porovnání s profily hlíz zavlažovaných zaléváním.

6 DISKUZE

V provedeném pokusu byl sledován obsah jednotlivých karotenoidů ve vzorcích brambor. Množství i složení karotenoidů může záviset na mnoha faktorech, jako je odrůda, stanoviště, pěstitelské podmínky, ročník, sklizeň, skladování atd. V této práci byl zkoumán vliv odrůdy a vliv stresu suchem. Lze očekávat, že stres suchem by měl vést ke změnám v obsahu i složení karotenoidů v hlízách.

Statistické zhodnocení výsledků potvrdilo, že existují významné diference v obsahu celkových karotenoidů mezi všemi odrůdami brambor. Průkazný vliv odrůdy na obsah karotenoidů uvádějí také autoři Kotíková et al. (2007), Othman (2009), Hejtmánková et al. (2013) i Čížek (2009).

Nejvyšší schopnost tvorby karotenoidů byla zjištěna v odrůdě Laura s průměrnou hodnotou celkových karotenoidů $23,67 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Laura je odrůda se sytě žlutou barvou dužniny. Tyto výsledky podporují tvrzení, že celkový obsah karotenoidů koreluje exponenciálně s intenzitou žlutého zbarvení (Čepl a kol., 2012). Nejnižší schopnost syntézy karotenoidů byla zjištěna v odrůdě Valfi s průměrnou hodnotou celkových karotenoidů $1,96 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Valfi je odrůda s modrofialovou dužninou. Lze tedy usuzovat, že odrůdy s fialovou barvou dužniny zřejmě vykazují nižší schopnost syntézy karotenoidů v hlízách. Ke stejnému zjištění dospěli i autoři Kotíková et al. (2016). Tito autoři uvádí, že žluté odrůdy vykazovaly mnohem vyšší průměrný obsah celkových karotenoidů ($26,22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny) ve srovnání s odrůdami s červenou/fialovou dužninou ($5,69 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny). Také Murniece et al. (2014) uvádějí, že bramborové hlízy s fialovou dužninou obsahovaly o 78 % méně karotenoidů než hlízy s dužninou bílou a žlutou. Rovněž Čížek (2009) ve své práci dospěl k závěru, že nejvyšším obsahem vynikaly odrůdy se žlutou dužninou (Marabel, Agria a Karin), odrůda Valfi s fialovou dužninou se od ostatních odrůd odlišila výrazně nejnižším obsahem karotenoidů.

Rozdílné byly také profily karotenoidů jednotlivých odrůd. Majoritním karotenoidem žlutých odrůd Marabel, Milva a Laura byl violaxanthin. Dále se zde ve vyšším množství vyskytovaly karotenoidy luteoxanthin, lutein, antheraxanthin a neoxanthin. V odrůdě Valfi měly majoritní zastoupení tři karotenoidy – neoxanthin, violaxanthin a lutein. Fernandez-Orozco, (2013) testoval 60 odrůd brambor – 37 odrůd mělo jako majoritní karotenoid violaxanthin, 16 odrůd lutein a 7 odrůd neoxanthin. V souladu s výsledky této práce bylo zjištěno, že odrůdy s vyšším celkovým obsahem karotenoidů mají jako hlavní karotenoid violaxanthin.

Zatímco odrůdy s nižším celkovým obsahem karotenoidů mají jako hlavní karotenoid lutein nebo neoxanthin.

Ve sledovaných vzorcích brambor byl stanoven obsah celkových karotenoidů v rozmezí 1,53–24,38 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. I jiní autoři uvádějí široké rozmezí obsahu karotenoidů. Podle Fernandez-Orozco (2013) se obsah celkových karotenoidů v hlízách pohybuje od 0,5 do 15,52 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Hejtmánková et al. (2013) uvádí, že obsah celkových karotenoidů se pohybuje v rozmezí 0,78–13,3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny. Daná variabilita je v první řadě způsobena genotypem rostlin. Vliv genotypu je naprosto zásadní, jak je patrné z našich výsledků, tak z výsledků ostatních autorů. V menší či větší míře se na této variabilitě mohou podílet další faktory, jako je stanoviště, průběh počasí atd. Stanovené obsahy karotenoidů, které jsou poněkud vyšší v porovnání s ostatními autory, mohly být do jisté míry ovlivněny extrémním počasím, neboť období pěstování vzorků bylo teplotně nadprůměrné a podprůměrné v úhrnu srážek (tabulka 7). Hamouz et al. (2016) ve své studii také uvádí obsah celkových karotenoidů v rozmezí 1,1–12,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny a tvrdí, že byl ovlivněn genotypem, lokalitou i rokem pěstování. Lokalita a rok s vyššími průměrnými teplotami během vegetačního období shodně vykazovaly vyšší obsah celkových karotenoidů v hlízách. Toto tvrzení podporuje také Othman (2009), který ve své studii tvrdí, že faktory životního prostředí, jako jsou sezónní klimatické změny, mohou ovlivnit hromadění karotenoidů i jejich složení v hlízách brambor. Dále naznačuje, že i lokace má vliv na individuální obsah karotenoidů brambor stejné odrůdy. Také Matějková (2009) ve své studii o obsahu karotenoidů v mrkvi tvrdí, že vliv pěstebního roku (klimatických podmínek) se projevil jako hlavní faktor způsobující změny v obsahu karotenoidů. Podle těchto výsledků se dá vyvodit významný vliv teploty na akumulaci hlízových karotenoidů.

Možný vliv na obsah a složení karotenoidů v bramborách se připisuje i lokaci pěstování. Hlavními karotenoidy identifikovanými v hlízách všech kultivarů byly neoxanthin, violaxanthin, zeaxanthin, lutein a β -karoten. Data naznačují, že lokace měla vliv i na individuální obsah karotenoidů brambor stejné odrůdy (Othman, 2009). Payyavula et al. (2012) také odhalili nápadné rozdíly mezi obsahy jednotlivých karotenoidů vlivem místa pěstování. Ve svém pokusu pěstovali vzorky brambor na Aljašce, Floridě a v Texasu. Výsledky ukázaly, že violaxanthin byl hlavním karotenoidem ve všech vzorcích pěstovaných na Aljašce a tvořil více než 50 % celkových karotenoidů. Naproti tomu hlízy z Floridy obsahovaly violaxanthinu pouze 3,5 % z celkových karotenoidů a hlízy z Texasu 20 %. Lutein dominoval v Texasu, kde tvořil 50 % celkových karotenoidů, v ostatních lokacích

tvořil lutein pouze 19–25 %. Hlízy pěstované na Floridě obsahovaly mnohem více zeaxanthinu. Tvořil okolo 40 % celkových karotenoidů, ve vzorcích z ostatních lokalit tvořil méně než 1 %. Výrazné diference v obsazích jednotlivých karotenoidů v bramborech pěstovaných na Aljašce a Floridě by mohly být připsány odlišným klimatickým podmínkám těchto lokalit. Teplé a slunné počasí na Floridě zřejmě podporovalo syntézu zeaxanthinu na úkor violaxanthinu. Za jeden z ochranných mechanismů proti nadměrné ozáření fotosyntetického aparátu, která podporuje vznik destruktivního reaktivního singletního kyslíku, je xantofylový cyklus zahrnující vzájemné přeměny violaxanthinu, antheraxanthinu a zeaxanthinu. Při nadměrných ozářeních dochází k deepoxidaci violaxanthinu přes antheraxanthin až na zeaxanthin. Zeaxanthin je schopen tuto energii do sebe vstřebat a uvolní ji ve formě tepla a tím ji zneškodní (Procházka a kol., 1998). Proto zřejmě odrůdy pěstované na Floridě vykazovaly podstatně vyšší obsahy zeaxanthinu a podobně také odrůdy pěstované na Aljašce vykazovaly naopak vysoké hodnoty violaxanthinu (nehrozilo nadměrné ozáření).

V tomto pokusu byl zkoumán také vliv stresového faktoru sucha, kde se předpokládal snížený obsah karotenoidů. Výsledky nicméně ukázaly, že v porovnání se závlahou zaléváním se obsah celkových karotenoidů zvyšoval (výjimkou byla jen odrůda Marabel, u které se hodnoty naopak nepatrně snížily). Zvyšoval se i obsah jednotlivých stanovovaných karotenoidů. Tento nárůst karotenoidů ve variantě stresované suchem byl průkazný v případě luteinu, zeaxanthinu a β -karotenu.

Podobné testování bylo provedeno i na jiných rostlinách. Paspal obilní byl vystaven stresu suchem a jeho celkový obsah karotenoidů se také zvýšil (Ahmad et al., 2013). Ve studii na vikvi seté Abbasi et al. (2014) popisují, že stres suchem významně ovlivnil fotosyntetické pigmenty a celkové karotenoidy. Výsledky některých autorů naopak ukázaly významný pokles celkových karotenoidů. Hanci and Cebeci (2014) ve své studii na cibuli kuchyňské zjistili, že obsah karotenoidů v podmínkách sucha klesl. Usuzují, že sucho způsobilo značný oxidační stres akumulací reaktivních forem kyslíku.

Rozdílné chování rostlin v podmínkách stresu suchem bude pravděpodobně zapříčiněno rozdílnou genetickou výbavou rostlin, jejich různou schopností reagovat a zvládat stres způsobený rozličnými faktory. Důležitou úlohu zde zřejmě bude také hrát geografický původ rostlin, ze kterých byly testované odrůdy vyšlechtěny.

Výsledky této studie také ukázaly, že stresový faktor sucha způsobuje změny v poměrech zastoupení jednotlivých karotenoidů. Profily se vlivem variant závlahy měnily, nicméně každá odrůda reagovala odlišně. Vlivem stresu suchem se podíl violaxanthinu u všech odrůd snižoval, zvyšoval se naopak podíl zeaxanthinu, luteinu a β -karotenu, změny profilů ostatních karotenoidů nelze jednoznačně charakterizovat.

Kyselina abscisová (ABA) je hormon, který je syntetizován, pokud je rostlina vystavena vodnímu deficitu. Jelikož jsou violaxanthin a neoxanthin prekurzory ABA, předpokládá se jejich pokles. Zastoupení violaxanthinu v karotenoidním profilu suchem stresovaných rostlin klesalo, v případě neoxanthinu tento trend patrný nebyl. Li and Walton (1990) zjistili, že vlivem stresu suchem docházelo ke snížení celkových xantofylů v listech fazolí. Výsledky těchto autorů také podporují předpoklad, že violaxanthin je ABA prekurzorem. Snížení hladiny violaxanthinu tvořilo nejméně 75 % vyprodukované ABA.

Pokles zastoupení violaxanthinu mohl být také vyvolán jeho konverzí na antheraxanthin a zeaxanthin, jehož zastoupení v hlízách vzrostlo. Toto tvrzení podporuje studie na oleandru, kde Demming et al. (1988) uvádějí, že poměry zeaxanthinu, antheraxanthinu a violaxanthinu byly do značné míry ovlivněny vystavením rostliny stresu suchem. Listy s vysokým obsahem vody obsahovaly několikrát více violaxanthinu než zeaxanthinu. Při stresu suchem se obsah zeaxanthinu a antheraxanthinu zvýšil na úkor obsahu violaxanthinu. Součet tří složek xantofylového cyklu (zeaxanthin + antheraxanthin + violaxanthin) se však celkově zvýšil. Munné-Bosch and Peñuelas (2004) ve své studii shodně popisují, že vystavení planiky obecné silnému stresu vyvolalo zvýšení obsahu zeaxanthinu o 75 %. Výsledky jsou v souladu s tím, že sucho způsobuje oxidační stres rostlin. Zvýšené zastoupení zeaxanthinu může také poukazovat na vystavení rostlin nadměrnému světelnému ozáření. Chaves et al. (2002) se domnívají, že schopnost pohlcování energie je spojena se zvýšením koncentrace zeaxanthinu na úkor violaxanthinu. Toto tvrzení podporují ve svých publikacích také Rockholm and Yamamoto (1996), Havaux and Niyogi (1999), Nisar et al. (2015).

Výsledky této práce mohly být do jisté míry ovlivněny extrémním počasím, jelikož období pěstování vzorků brambor bylo velmi teplé a suché. Krom testovaného stresu suchem, mohly být rostliny ve všech variantách stresovány také nadměrným ozářením a teplotou. Pro ověření výsledků by bylo tedy vhodné tento pokus provést opakovaně se stejnými odrůdami a na stejné lokalitě, aby mohla být přesněji vyhodnocena míra vlivu klimatických podmínek na obsah karotenoidů v hlízách.

7 ZÁVĚR

Cílem práce bylo sledování vlivu stresu suchem na obsah karotenoidů v bramborových hlízách. Do pokusu byly zařazeny čtyři odrůdy – Marabel, Milva, Laura a Valfi. Tyto odrůdy byly pěstovány ve třech variantách závlahy – závlaha zaléváním, kapková závlaha a stres suchem. Pokus probíhal v roce 2015 na demonstračním poli ČZU v Praze. Období pěstování bylo teplotně nadprůměrné a podprůměrné v úhrnu srážek.

Statistické zhodnocení výsledků potvrdilo, že existuje významný rozdíl ve schopnosti odrůd syntetizovat karotenoidy. Nejvyšší schopnost tvorby karotenoidů byla zjištěna v odrůdě Laura a nejnižší schopnost v odrůdě Valfi. Pro odrůdy Milva a Marabel byly typické střední hodnoty obsahu karotenoidů.

Stres suchem se ukázal jako faktor, který ovlivňuje obsah karotenoidů, ale statisticky se to nepodařilo jednoznačně prokázat. Hodnoty byly v porovnání s variantou závlaha zaléváním zvýšené (výjimkou byla jen odrůda Marabel v obsahu violaxanthinu a luteoxanthinu). Vyjma violaxanthinu byly u všech karotenoidů nalezeny významné difference mezi stresovanou variantou a závlahou zaléváním. Jistý vliv mohlo mít abnormálně teplé a suché počasí během měsíců pěstování. Byly také zjištěny značné interakce mezi odrůdou a variantou závlahy. Testované odrůdy reagovaly odlišně na různé závlahové podmínky. Hypotéza, že stres suchem povede k poklesu obsahu karotenoidů v hlízách, byla tedy zamítnuta.

Žluté odrůdy Marabel, Milva a Laura vykazovaly podobné profily karotenoidů. V těchto odrůdách měl majoritní zastoupení stejný karotenoid a to violaxanthin. Valfi byla jediná odrůda s modrofialovou dužninou a její profil karotenoidů se od ostatních odrůd značně lišil. V této odrůdě dominovaly karotenoidy lutein, violaxanthin a neoxanthin. Profily se vlivem variant závlahy měnily, nicméně každá odrůda reagovala odlišně. Podíl violaxanthinu se vlivem stresu suchem snižoval, zvyšoval se naopak podíl zeaxanthinu, luteinu a β -karotenu, změny profilů ostatních karotenoidů nelze jednoznačně charakterizovat. Z grafického znázornění lze říci, že profily karotenoidů hlíz stresovaných suchem a zalévaných kapkově si byly více podobné v porovnání s profily hlíz zavlažovaných zaléváním.

8 SEZNAM LITERATURY

- Abbasi, A. R., Sarvestani, R., Mohammadi, B., Bagheri, A. 2014. Drought stress-induced changes at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 16. 505–516.
- Ahmad, M. A., Murali, P. V., Panneerselvam, R. 2013. Drought stress induced biochemical alterations in two varieties of *Paspalum scrobiculatum* L. *International Journal of Current Science*. 7. 80–96.
- Astorg, P. 1997. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends in Food Science & Technology*. 8. 406–413.
- Bárta, J., Čurn, V. 2004. Bílkoviny hlíz bramboru (*Solanum tuberosum* L.) – klasifikace, charakteristika, význam. *Chemické Listy*. 98. 373–378.
- Blatná, J. 2007. Současné znalosti o karotenoidech. *Výživa a potraviny*. 62 (3), 79–80.
- Bray, E. A. 1997. Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*. 2 (2). 48–54.
- 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 (24). 7175–7181.
- Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. 2009. Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health. Birkhäuser Verlag. Basel. p. 431. ISBN: 978-3-7643-7500-3.
- Brown, C. R. 2005. Antioxidants in potato. *American Journal of Potato Research*. 82. 163–172.
- Bulková, V. 2011. Rostlinné potraviny. Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů. Brno. 162 s. ISBN: 978-80-7013-532-7.

Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., Carvalho, I., Faria, T., Pinheiro, C. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*. 89. 907–916.

Čepl, J., Červínová, E., Čížek, M., Domkářová, J., Exnarová, J., Greplová, M., Hausvater, E., Krpálková, A., Vokál, B., Zášková, J. 2012. Máme rádi brambory: proč jsou brambory zdravé, jak je správně nakupovat i pěstovat, úspěšné projekty PRV a několik osvědčených receptů. Ministerstvo zemědělství České republiky. Praha. 111 s. ISBN: 978-80-7434-060-4.

Čermák, V. 2014. Seznam doporučených odrůd bramboru 2014. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno. Brno. 98 s. ISBN: 978-80-7401-087-3.

Čížek, M. 2009. Možnosti zvýšení obsahu nutričně významných látek v bramborách. Dizertační práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Agronomická fakulta. Havlíčkův Brod. 96 s.

Demmig, B., Winter, K., Krüger, A., Czygan, F. C. 1988. Zeaxanthin and the heat dissipation of excess light energy in *Nerium oleander* exposed to a combination of high light and water stress. *Plant Physiology*. 87. 17–24.

Eichorn, S., Winterhalter, P. 2005. Anthocyanins from pigmented potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. *Food Research International*. 38. 943–948.

Fernandez-Orozco, R., Gallardo-Guerrero, L., Hornero-Méndez, D. 2013. Carotenoid profiling in tubers of different potato (*Solanum* sp.) cultivars: Accumulation of carotenoids mediated by xanthophyll esterification. *Food Chemistry*. 141. 2864–2872.

Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Jouve, L., Hausman, J. F., Dommes, J. 2002. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation*. 37. 263–285.

Gaziano, J. M., Manson, J. E., Branch, L. G., Colditz G. A., Willett, W. C., Buring, J. E. 1995. A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Annals of Epidemiology*. 5 (4). 255–260.

Glasová, E. 2011. Využití β -karotenu v organismu. *Bioprospect*. 21 (4/2011), 76–78.

Hamouz, K., Pazderů, K., Lachman, J., Čepl, J., Kotíková, Z. 2016. Effect of cultivar, flesh colour, locality and year on carotenoid content in potato tubers. *Plant, Soil and Environment*. 62 (2). 86–91.

Hanci, F., Cebeci, E. 2014. Investigation of proline, chlorophyll and carotenoids changes under drought stress in some onion (*Allium cepa* L.) cultivars. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*. Special Issue: 2, 1499–1504.

Havaux, M., Niyogi, K. K. 1999. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96. 8762–8767.

Hejtmánková, K., Kotíková, Z., Hamouz, K., Pivec, V., Vacek, J. 2013. Influence of flesh colour, year and growing area on carotenoid and anthocyanin content in potato tubers. *Journal of Food Composition and Analysis* 32. 20–27.

Hlúbik, P., Opltová, L. 2004. *Vitaminy*. Grada Publishing, a.s. Praha. 232 s. ISBN: 80-247-0373-4.

International Conference on Harmonization (ICH). 1996. *Guideline on the validation of analytical procedures: Methodology Q2B*. Geneva.

Iuchi, S., Kobayashi, M., Taji, T., Naramoto, M., Seki, M., Kato, T., Tabata, S., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. 2001. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*. 27 (4). 325–333.

Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11. 100–105.

Jun, J. 1983. *Skladování brambor*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 231 s.

Kasper, H. 2015. *Výživa v medicíně a dietetika: Překlad 11. vydání*. Grada Publishing, a.s. Praha. 592 s. ISBN: 978-80-247-4533-6.

Kasper, H., Burghardt, W. 2009. *Ernährungsmedizin und Diätetik*. Elsevier GmbH. München. p. 644. ISBN: 978-3-437-42012-2.

Konopka, P. 2004. *Sportovní výživa*. KOPP. České Budějovice. 125 s. ISBN: 80-7232-228-1.

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 and Environment*. 53 (8). 355–360.

Kotíková, Z., Šulc, M., Lachman, J., Pivec, V., Orsák, M., Hamouz, K. 2016. Carotenoid profile and retention in yellow-, purple- and red-fleshed potatoes after thermal processing. *Food Chemistry*. 197. 992–1001.

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

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

Li, Y., Walton, D. C. 1990. Violaxanthin is an abscisic acid precursor in water-stressed dark-grown bean leaves. *Plant Physiology*. 92. 551–559.

Márová, I., Obruča, S. 2013. Vybrané instrumentální úlohy z aplikované biochemie. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Brno. 168 s. ISBN: 978-80-214-4788-2.

Matějková, J. 2009. Analýza cibulové a kořenové zeleniny na obsah vybraných antioxidantních látek. Dizertační práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Zahradnická fakulta v Lednici. Lednice. 123 s.

Matoušková, V. 2016. Vliv stresového faktoru sucha na obsah glykoalkaloidů brambor (*Solanum tuberosum* L.). Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 44 s.

Mindell, E., Mundis, H. 2010. Nová vitaminová bible: vitaminy, minerální látky, antioxidanty, léčivé rostliny, doplňky stravy, léčebné účinky potravin i léky používané v homeopatii. Ikar. Praha. 576 s. ISBN: 978-80-249-1419-0.

Moldoveanu, S. C., David, V. 2013. Essentials in modern HPLC separations. Elsevier. Waltham, MA. p. 532. ISBN: 978-0-12-385013-3.

Munné-Bosch, S., Peñuelas, J. 2004. Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. Plant Science. 166 (4). 1105–1110.

Murniece, I., Tomson, L., Skrabule, I., Vaivode, A. 2014. Carotenoids and total phenolic content in potatoes with different flesh colour. 9th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food for Consumer Well-Being” FOODBALT 2014 Conference Proceedings. 206–211.

Nagao, A., Olson, J. A. 1994. Enzymatic formation of 9-*cis*, 13-*cis*, and all-*trans* retinals from isomers of beta-carotene. The FASEB Journal. 8 (12). 968–73.

Nambara, E., Marion-Poll, A. 2005. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. Annual Review Of Plant Biology. 56. 165–185.

Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N. C., Pogson, B. J. 2015. Carotenoid metabolism in plants. *Molecular Plant*. 8. 68–82.

Nishino, H., Murakoshi, M., Tokuda, H., Satomi, Y. 2009. Cancer prevention by carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 483. 165–168.

Nováková, L., Douša, M. 2013. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi I.* Lucie Nováková, Michal Douša. Klatovy. 300 s. ISBN: 978-80-260-4243-3.

Ošťádalová, M., Pokorná, J. 2014. *Hygiena a technologie brambor, škrobu, luštěnin, olejnatých semen a tuků.* Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 106 s. ISBN: 978-80-7305-709-1.

Othman, R. 2009. *Biochemistry and genetics of carotenoid composition in potato tubers.* PhD thesis. Lincoln University. p. 193.

Payyavula, R. S., Navarre, D. A., Kuhl, J. C., Pantoja, A., Pillai, S. S. 2012. Differential effects of environment on potato phenylpropanoid and carotenoid expression. *BMC Plant Biology*. 12 (39). 1–17.

Pekárková, E. 2014. *Zelenina: její pěstování a význam v ilustracích Zdenky Krejčové.* Aventinum s.r.o. Praha. 255 s. ISBN: 978-80-7442-037-5.

Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J. 1998. *Fyziologie rostlin.* Academia. Praha, 484 s. ISBN: 80-200-0586-2.

Procházka, S., Šebánek, J. a kolektiv. 1997. *Regulátory rostlinného růstu.* Academia. Praha. 395 s. ISBN: 80-200-0597-8.

Riccioni, G. 2009. Carotenoids and cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports*. 11. 434–439.

- Rockholm, D. C., Yamamoto, H. Y. 1996. Violaxanthin de-epoxidase: purification of a 43-kilodalton luminal protein from lettuce by lipid-affinity precipitation with monogalactosyldiacylglyceride. *Plant Physiology*. 110 (2). 697–703.
- Rodriguez-Amaya, D. B. 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Press. Washington, D. C. p. 64. ISBN: 1578810728.
- Rodriguez-Amaya, D. B., Kimura, M. 2004. Harvestplus handbook for carotenoid analysis. HarvestPlus. Washington, D. C. p. 58.
- Rybáček, V. a kolektiv autorů. 1988. Brambory. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 360 s.
- Saini, R. K., Nile, S. H., Park, S. W. 2015. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*. 76. 735–750.
- Simkin, A. J., Schwartz, S. H., Auldridge, M., Taylor, M. G., Klee, H. J. 2004. The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone. *The Plant Journal*. 40. 882–892.
- Smith, D. B., Roddick, J. G., Jones, J. L. 1996. Potato glycoalkaloids: Some unanswered questions. *Trends in Food Science & Technology*. 7. 126–131.
- Su, Q., Rowley, K. G., Balasz, N. D. H. 2002. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. Review. *Journal of Chromatography B*. 781. 393–418.
- Svoboda, P. 2011. Biotechnologická výroba karotenoidů. *Bioprospect*. 21 (1/2011), 18–22.
- Šimon, J. 1958. Pěstování rostlin: Brambory. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 308 s.
- Šivel, M., Klejdus, B., Kráčmar, S., Kubáň, V. 2013. Lutein – významný karotenoid ve výživě člověka. *Chemické listy*. 107 (6/2013), 456–463.

Tauferová, A., Petrášová, M., Pokorná, J., Tremlová, B., Bartl, P. 2014. Rostlinná produkce. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 140 s. ISBN: 978-80-7305-716-9.

Velíšek, J. 1999a. Chemie potravin 2. OSSIS. Tábor. 328 s. ISBN: 80-902391-4-5.

Velíšek, J. 1999b. Chemie potravin 3. OSSIS. Tábor. 368 s. ISBN: 80-902391-5-3.

Vokál, B a kolektiv autorů. 2013. Brambory: šlechtění, pěstování, užití, ekonomika. Profi Press s.r.o. Praha. 160 s. ISBN: 978-80-86726-54-0.

Vokál, B., Čepl, J., Čížek, M., Domkářová, J., Hausvater, E., Rasocha, V., Diviš, J., Hamouz, K. 2004. Technologie pěstování brambor: (rozhodovací systémy pro optimalizaci pěstitelských technologií u jednotlivých užitkových směrů brambor). Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 91 s. ISBN 80-7271-155-5.

Vokál, B., Čepl, J., Hausvater, E., Rasocha, V. 2003. Pěstujeme brambory. Grada Publishing a.s. Praha. 104 s. ISBN: 80-247-0567-2.

Voutilainen, S., Nurmi, T., Mursu, J., Rissanen, T. H. 2006. Carotenoids and cardiovascular health. The American Journal of Clinical Nutrition. 83. 1265–1271.

Vranová, E., Coman, D., Gruissem, W. 2012. Structure and dynamics of the isoprenoid pathway network. Molecular Plant. 5 (2). 318–333.

Walla, P. J. 2014. Modern biophysical chemistry : detection and analysis of biomolecules. Wiley-VCH. Weinheim. p. 344. ISBN: 978-3-527-33773-6.

Xiong, L., Zhu, J. K. 2003. Regulation of abscisic acid biosynthesis. Plant Physiology. 133. 29–36.

Yang, D., Du, X., Liang, X., Han, R., Liang, Z., Liu, Y., Liu, F., Zhao, J. 2012. Different roles of the mevalonate and methylerythritol phosphate pathways in cell growth and tanshinone production of *Salvia miltiorrhiza* Hairy roots. PLOS ONE. 7 (11). 1–9.

Zhu, J. K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review Of Plant Biology*. 53. 247–273.

Zrůst, J. Glykoalkaloidy u brambor a ostatních komodit [online]. Vědecký výbor fytoosanitární a životního prostředí. 31. 1. 2004 [cit. 20017-01-25]. Dostupné z <<http://www.phytopsanitary.org/projekty/2003/vvf-19-03.pdf>>.

9 PŘÍLOHY

Seznam příloh:

Příloha 1 Výsledky měření pokusu

Příloha 2 Statistické vyhodnocení výsledků – dvoufaktorová ANOVA s interakcemi ($\alpha=0,05$)

Příloha 3 Grafické znázornění vlivu odrůdy a způsobu závlahy na obsah karotenoidů

Příloha 4 Statistické vyhodnocení vlivu odrůdy a varianty pěstování – Tukeyův HSD test