

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta

Studijní program: Zemědělství

Studijní obor: Trvale udržitelné systémy hospodaření v krajině

Katedra: Genetiky a speciální produkce rostlinné

Vedoucí katedry: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

Bakalářská práce

Barevné vlastnosti a stabilita rostlinných barviv rodu křídlatka

(Colorant properties and stability of Reynoutria pigments)

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Jana Pexová Kalinová

Autor bakalářské práce: Vojtěch Dvořák

České Budějovice 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Vojtěch DVOŘÁK
Osobní číslo:	Z17460
Studijní program:	B4131 Zemědělství
Studijní obor:	Trvale udržitelné systémy hospodaření v krajině
Téma práce:	Barevné vlastnosti a stabilita rostlinných barviv u rostlin rodu křídlatka
Zadávací katedra:	Katedra genetiky a speciální produkce rostlinné

Zásady pro vypracování

Cílem práce je zhodnotit vlastnosti barviv obsažených u rostlin rodu křídlatka v laboratorních podmínkách a navrhnout možnost využití získaných poznatků.

Vlastní řešení práce bude probíhat podle následujícího schématu.

- 1) Shromáždění názorů domácích a zahraničních autorů na řešenou problematiku a shrnutí informací o využití rostlinných barviv a jejich vlastnostech, obsažených barvivech v rodu křídlatka atp.
- 2) Odběr rostlinného materiálu z vybraných lokalit.
- 3) Získání barevného extraktu z různých částí rostlin. Zhodnocení barevného spektra a jeho změny v různých pH, teplotách a doby skladování.
- 4) Statistické zpracování a vyhodnocení získaných dat a dále uspořádání v podobě tabulek grafů či obrazových příloh. Součástí vyhodnocení bude porovnání zjištěných výsledků s výsledky obdobných pokusů u dostupných prací a závěrečný souhrn získaných výsledků.


Rozsah pracovní zprávy: 25 – 30 stran
Rozsah grafických prací: 5 stran
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná


Seznam doporučené literatury:

- Cai, Y., Sun, M., & Corke, H. (1998). Colorant properties and stability of *Amaranthus betacyanin* pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11), 4491-4495.
- Gong, Y., Jin, H., & Yu, H. (2010). Ultrasonic-assisted extraction of pigments from *Polygoni cuspidati* and stability of extracts. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 8(2), 36-40.
- Liu, Y., Ahmed, S., Liu, B., Guo, Z., Huang, W., Wu, X., ... & Long, C. (2014). Ethnobotany of dye plants in Dong communities of China. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 10(1), 23.
- Yoshitama, K., Nishino, H., Ozawa, H., Sakatani, M., Okabe, Y., & Ishikura, N. (1987). Distribution pattern of anthocyanidins and anthocyanins in Polygonaceous plants. *The botanical magazine= Shokubutsu-gaku-zasshi*, 100(2), 143-149.
- Macfarlane, J. S. (2011). Development of strategies for the control and eradication of Japanese knotweed.
- Patočka, J. (2005). Křídlatka: obtížný plevel, nebo perspektivní surovina. *Vesmír*, 84, 465.
- Frouz J., ?Moldan B. (2015) Příležitosti a výzvy environmentálního výzkumu. Charles University in Prague, Karolinum Press, 312
- Božin, B., Gavrilović, M., Kladar, N., Rat, M., Anačkov, G., & Gavarić, N. (2017). Highly invasive alien plant *Reynoutria japonica* Houtt. represents a novel source for pharmaceutical industry-evidence from phenolic profile and biological activity. *J. Serb. Chem. Soc.*, 82(7-8), 803-813.

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Jana Pexová-Kalinová, Ph.D.
Katedra genetiky a speciální produkce rostlinné

Datum zadání bakalářské práce: 25. února 2019
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2020


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan


prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
vedoucí katedry

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Československá 1868, 370 05 České Budějovice

V Českých Budějovicích dne 25. února 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci na téma „Barevné vlastnosti a stabilita rostlinných barviv rodu křídlatka“ jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47 b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 29. 6. 2020

.....

Vojtěch Dvořák

Poděkování

Na této stránce bych rád poděkoval především vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Janě Pexové Kalinové, Ph.D., za pomoc, zajímavé podněty k mé práci a trpělivost. Dále bych chtěl poděkovat rodině, která mě podporovala po celou dobu studia.

Abstrakt

Tato bakalářská práce je zaměřena na invazní druh rostlin rodu křídlatka (*Renoutria*) konkrétně na získání barevných extraktů z jejich oddenků a následné hodnocení jejich barevných vlastností, při různých podmínkách prostředí v laboratorních podmínkách. Barevné vlastnosti extraktu L, a, b, Cab, h a Δ Eab byly hodnoceny pomocí kolorimetru. Extrakty byly získány pomocí 95°C teplé vody, studené vody a 100% etanolu ze sušeného i čerstvého materiálu. Obsah barviv byl hodnocen v kořenech a stoncích křídlatky japonské (*Reynoutria japonica*) a křídlatky sachalinské (*Reynoutria sachalinesis*) na základě celkového obsahu antrachinonů stanoveném spektrofotometricky. Jako zdroj žlutého až červenofialového barviva lze využít kořeny křídlatky japonské i sachalinské. Pro přípravu extraktu lze doporučit sušené kořeny při extrakčním poměru 3g na 1 litr vody a extrakci při 95°C po dobu 1 hodiny. Získané informace lze potenciálně využít při aplikaci barviv křídlatek v průmyslu případně po ověření zdravotní nezávadnosti také v potravinářství.

KLÍČOVÁ SVOLA: křídlatka japonská, křídlatka sachalinská, extrakt, antrachinon

..

Abstract

This bachelor thesis is focused on invasive species of the genus *Reynoutria*, specifically on obtaining color extracts from their rhoots and subsequent evaluation of their color properties under various environmental conditions in laboratory conditions. The color properties of extract L, a, b, Cab, h and Δ Eab were evaluated using a colorimeter. The extracts were obtained with 96°C warm water, cold water and 100% ethanol from dried and fresh material. The dye content in rhizomes and stems of *Reynoutria japonica* and *Reynoutria sachalinesis* was evaluated based on the total The roots of *Reynoutria japonica* and *Reynoutria sachalinesis* can be used as a source of yellow to red-violet dye. For the preparation of the extract, dried roots can be recommended at an extraction ratio of 3 g per 1 liter of water and extraction at 95 ° C for 1 hour. The information obtained can potentially be used in the application of dyes in industry or, after verification of health safety, also in the food industry.

KEYWORDS: *Reynoutria japonica*, *Reynoutria sachalinensis*, extract, anthraquinone

Obsah

1. Úvod.....	10
2. Cíl práce	11
3. Literární část.....	12
3.1 Taxonomické zařazení rostlin rodu křídlatka	12
3.2 Morfologické znaky rodu <i>Reynoutria</i>	12
3.2.1 Křídlatka japonská (<i>Reynoutria japonica</i>).....	12
3.2.2 Křídlatka sachalinská (<i>Reynoutria sachalinensis</i>).....	14
3.2.3 Křídlatka česká (<i>Reynoutria bohemica</i>)	15
3.3 Původ a rozšíření rostlin z rodu <i>Reynoutria</i>	16
3.3.1 Původ a rozšíření křídlatky japonské.....	16
3.3.2 Původ a rozšíření křídlatky sachalinské.....	17
3.3.3 Původ a rozšíření křídlatky české	18
3.4 Využití rostlin rodu <i>Reynoutria</i>	19
3.5 Charakteristika rostlinných barviv	20
3.5.1 Vznik rostlinných barviv	21
3.5.2 Výskyt v rostlinách	21
3.5.3 Rozdělení barviv dle chemického hlediska	21
3.6. Nejvýznamnější látky obsažené v křídlatkách	26
3.6.1 Stilbeny	27
3.6.2 Flavonoidy	27
3.6.3 Antrachinony	28
4. Materiál a metodika.....	30
4.1 Místo odběru rostlinného materiálu	30
4.2 Zpracování vzorků a příprava extraktů.....	31
4.3 Příprava vodného extraktu z čerstvého materiálu	31
4.4 Příprava vodného extraktu ze sušeného materiálu	32

4.5 Příprava lihového extraktu ze sušeného materiálu	32
4.6 Potvrzení přítomnosti antrachinonových barviv v extraktu	32
4.7 Mikroskopické stanovení distribuce barviva v kořenech	33
4.8 Stanovení barevnosti extraktů	33
4.9 Stanovení stability barevných látek	35
4.10 Stanovení celkového obsahu antrachinonů	35
4.11 Tenkovrstevná chromatografie extraktu křídlatky	35
5. Výsledky	36
5.1 Mikroskopické stanovení obsahu barviva v kořenech.....	36
5.2 Potvrzení přítomnosti antrachinonových barviv v extraktu	38
5.3 Stanovení barevnosti extraktů	38
5.4 Stanovení barevnosti extraktů z čerstvých stonků a kořenů ze druhého stanoviště	39
5.5 Stanovení změn barevnosti během skladování extraktu po měsíci	40
5.6 Vliv způsobu extrakce na barevnost.....	41
5.7 Tenkovrstevná chromatografie vodného extraktu z kořenů křídlatky.....	42
5.8 Obsah celkových antrachinonů v extraktu	43
5.9 Změna obsahu antrachinonů v jednotlivých variantách extrakce.....	44
6. Diskuze.....	45
7. Závěr	46
Seznam použité literatury.....	48
Seznam obrázků	54
Seznam tabulek	55
Seznam grafů.....	55
Seznam příloh.....	55
Přílohy	57

1. Úvod

Rostlinná barviva jsou látky organického původu, které mají velký význam v biosféře. Většina z nich hraje velmi důležitou roli v mnoha biochemických procesech, jako je fotosyntéza. Studium rostlinných barviv se tedy zabývá nejen obory biologické, ale také obory chemické. Přesněji můžeme rostlinná barviva definovat jako látky mající schopnost absorpce elektromagnetického záření ve viditelné oblasti spektra. V přírodě se nejčastěji nacházejí ve formě pigmentů u rostlinných i živočišných druhů, jsou obsaženy také v houbách a mikroorganismech.

V rostlinách jsou nejčastěji ukládány ve vakuolách nebo v plastidech, celé rostlině nebo jen v oddencích, kořenech a stoncích. Jejich společným strukturním znakem je vysoký počet konjugovaných dvojných vazeb v molekulách. Charakteristická je jejich barevnost, která je lidmi od nepaměti využívána v barvířském, farmaceutickém, potravinářském, kosmetickém či textilním průmyslu.

Už od pradávna si lidé barvili oblečení přírodními barvivy. Barvila se hlavně vlna a hedvábí. Barvicí látky se získávají ze suchých nebo čerstvých bylin, pomocí vodní extrakce za studena nebo při bodu varu. Hlavní roli při barvení textilií hraje rostlinný druh, ale i výběr barevného materiálu. Některé druhy vláken přijímají barevné pigmenty odlišně. V dnešní době barvení rostlinnými barvivy ztratilo význam, v důsledku syntetických barviv.

Kromě barvení textilu, potravin a papíru je možný použít rostlinná i na výrobu malířských barviv. Některé barviva rostlinného původu jsou také významnými antioxidanty, jako zeaxanthin, lutein, nebo beta – karoten, to znamená, že mohou kladně působit na lidský organizmus a zdravotní stav. V poslední době stoupá zájem o přírodní barviva. Lidé si začínají uvědomovat zdravotní a environmentální problémy související s použitím chemicky vyrobených barviv. Barvení přírodními barvivy snižuje význam toxického znečištění odpadních vod z procesu barvení umělými barvivy.

2. Cíl práce

Cílem mé práce bylo zhodnotit vlastnosti barviv obsažených v rodu křídlatka v laboratorních podmínkách a navrhnout možnost využití získaných poznatků.

3. Literární část

3.1 Taxonomické zařazení rostlin rodu křídlatka

Křídlatky jsou zařazovány do čeledi rdesnovitých (*Polygonaceae*) zařazení do tohoto rodu, ale prošlo v historii změnami (BEERLING et al., 1994).

Různorodost křídlatky japonské vedla k tomu, že v roce 1777 byla pojmenovaná jako *Reynoutria japonica* a v roce 1846 jako *Polygonum cuspidatum* (BEERLING et al., 1994). V roce 1901 bylo zjištěno, že se jedná o stejný druh. Pro podobné znaky s popínavými rostlinami řazenými do rodu jako *Fallopia*, vedly v roce 1856 opět ke změně taxonomického zařazení křídlatek. Z rodu *Fallopia* byl v roce 1971 vyčleněn rod *Reynoutria* (BAILEY et al., 2007) a ten je v České republice platným vědeckým označením (MANDÁK et al., 2004).

3.2 Morfologické znaky rodu *Reynoutria*

Rod *Reynoutria* se vyznačuje několika společnými morfologickými znaky, díky kterým je takřka nezaměnitelný. Patří mezi ně duté lodyhy až 4 metry vysoké, které se od horní poloviny větví vzpřímeně nahoru. Větve nesou listy vejčitého tvaru s řapíky. Jedná se o rostliny dvoudomé. Květenství je lata, plodem bývá trojhranná nažka (BAILEY et al., 1994). Rod *Reynoutria* zahrnuje 3 druhy, Křídlatku japonskou (*Reynoutria japonica*), Křídlatku sachalinskou (*Reynoutria schalinensis*) a Křídlatku českou (*Reynoutria bohemica*) (MANDÁK et al., 2004).

3.2.1 Křídlatka japonská (*Reynoutria japonica*)

Křídlatka japonská též nazývána jako opletka japonská, je nejznámější druh rodu křídlatka. Je to statná, vytrvalá rostlina s křehkými, výrazně článkovitými dutými stonky (obr. 1). Křídlatka vyrůstá obvykle v březnu nebo dubnu z podzemních oddenku, které jsou bohatě větvené (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990). Oddenky 6 až 8 cm silné sahají až 20 m od rostliny, tím je zajištěna stabilita v horších terénech a optimální podmínky pro vegetativní rozmnožování (FUNTES et al., 2009). Tkáň oddenku je žlutá až oranžová s tmavším středem (obr. č. 3) rašící očka bývají obvykle do červené barvy (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990).

Obrázek 1. Křídlatka japonská (Barney et al., 2006)



Křídlatka tvoří téměř neprostupné porosty, stonky jsou přímé v horní polovině hustě větvené, vzrostlé rostliny dosahují výšky od 1,5 až do 3,5 metru. Na řezu jsou oblé, bývají jemně bradavčité nebo úplně lysé. Mladé rostliny jsou zelené s načervenalým nádechem a v pozdějším věku přechází do tmavě kropenaté barvy. Tloušťka stonku může být až 4 cm. Listy jsou lysé s poměrně krátkými řapíky načervenalé barvy dlouhé 1,5 až 3,5 cm. Listy vyrůstají na stoncích střídavě (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990). Listová čepel je dlouhá 10 až 17 cm a 8 až 12 cm široká, tvar je trojúhelníkovitý nebo vejčitý. V místě srůstu čepele s řapíkem je čepel uťatá nebo tupě klínovitá, na druhém konci je u spodních listů zakončena trojúhelníkovou špičkou (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990).

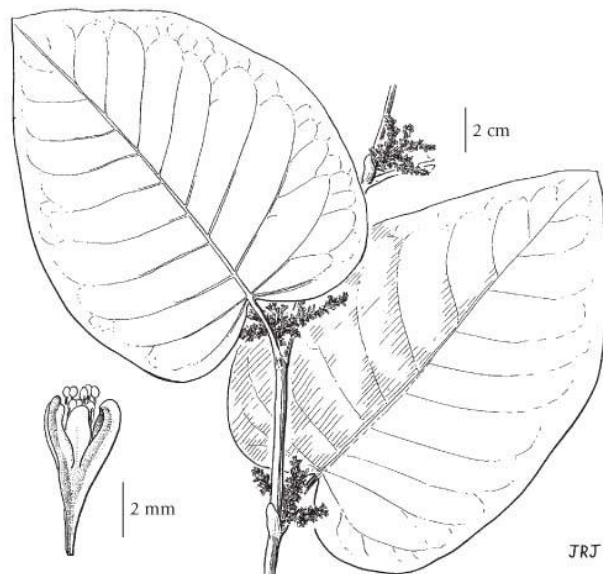
Listy jsou rovné, oboustranně zelené ve spodu s výraznou žilnatinou, naopak mladé listy mají okraje stočené. Křídlatka japonská je dvoudomá rostlina, mnohokvěté lichoklasy sestavené do lat mohou být dlouhé až 10 cm. Pětičetné květy mají okvěti s bělavými lístky. Kvete od začátku července do konce září. Plodem je trojhranná černohnědá až černá nažka dlouhá 3 až 4 mm. Nažky mají křídélka po neopadavém okvěti (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990).

3.2.2 Křídlatka sachalinská (*Reynoutria sachalinensis*)

Křídlatka sachalinská někdy nazývaná jako opletka sachalinská je vytrvalá rostlina, která má silné, bohatě větvené podzemní oddenky, sahající hluboko do země. Z oddenku vyrůstají duté, hladké nebo drobně rýhované stonky. Stonky jsou vysoké od 1,5 do 3 m, podle půdy v dobré výživné a vlhké půdě může dorůst až 4 m. Přímé stonky jsou oválného tvaru a v horní části se větví. U křídlatky sachalinské bývá stoněk poměrně křehký a podélně slabě rýhovaný (obr. 2). Stonky dělí výrazná kolínka na internodia (CVACHOVÁ et al., 2002).

Listy s dlouhými řapíky 2 až 5 cm rostou na stoncích střídavě, seshora jsou zelené a ze spodu šedozelené barvy s trichomy. Listové čepele na délku měří 20 až 40 cm, a na šířku 20 až 25 cm, jsou měkké a na pohled vypadají, jako kdyby byly zvadlé. Listy jsou srdčitého tvaru na konci tupě špičaté až zaokrouhlené, žilnatina je nevystouplá. Křídlatka sachalinská je dvoudomá rostlina, květenstvím je lata tvořená hustými lichoklasy dlouhými 2 až 4 cm. Drobné pětičetné květy zelenobílé až nažloutlé barvy kvetou od července do konce září. Plodem je asi 3 mm, trojhranná, lesklá nažka tmavohnědé barvy (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990).

Obrázek 2. Křídlatka sachalinská (Fojcik 2000)

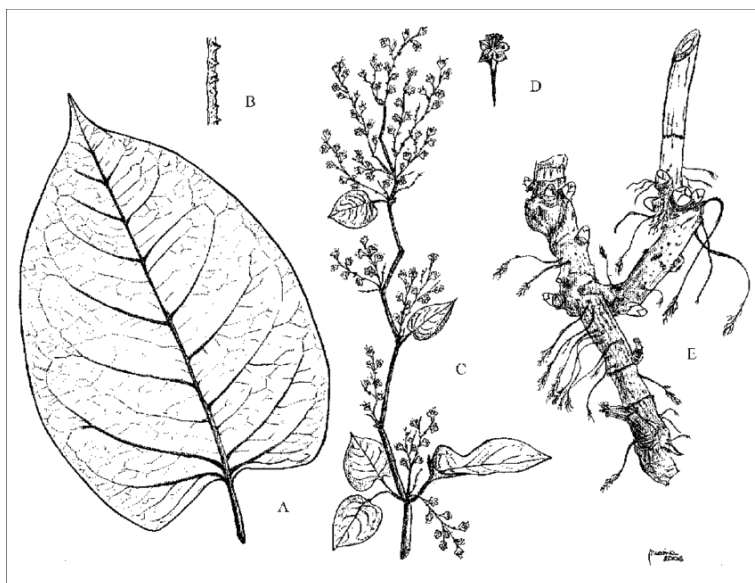


Polygonum sachalinense

3.2.3 Křídlatka česká (*Reynoutria bohemica*)

Křídlatka česká, též nazývaná jako pohánkovec český je druh křídlatky vzniklý křížením křídlatky japonské a křídlatky sachalinské (BAILEY et al., 2009). Stejně jako rodičovské druhy je křídlatka česká vytrvalá rostlina s dlouhými, silnými a bohatě větvenými oddenky. Lodyha dosahuje výšky 2 až 3 m, je silná, dutá, červeně skvrnitá. Listové čepele na délku měří 15 až 20 cm a na šířku 12 až 20 cm. Tvar čepele je široce vejčitý na vrcholu s dlouhou ostrou špičkou na rubu s krátkými chloupky (obr. 3). Křídlatka česká je dvoudomá rostlina, květenstvím je lata tvořená lichoklasy. Drobné, bílé květy kvetou od července do září. Plodem je trojhraná (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990). Křídlatku českou lze jednoduše zaměnit za rodičovské druhy (HEJNÝ, SLAVÍK, 1990). Druhy křídlatek lze dobře rozeznat podle velikostí listů (PYŠEK, TICHÝ, 2001).

Obrázek 3. Křídlatka česká (Chrtek, Chrtková 1983)



3.3 Původ a rozšíření rostlin z rodu *Reynoutria*

3.3.1 Původ a rozšíření křídlatky japonské

Původní areál výskytu křídlatky je Korejský poloostrov, Čína, Taiwan a Japonsko. Křídlatka roste ve vlhčích údolích nebo na horských svazích, zřídka i na krajích horských polích ve vyšších nadmořských výškách do 2 600 m. n. m., většinou na chudých půdách. Rozšiřuje se na člověkem obhospodařované pozemky jako jsou pastviny, kde se stává obtížným plevelem (BEERLING et al., 1994).

Na Evropský kontinent byl dovezen pouze jediný samičí klon, který byl dovezen holandským zahradníkem a badatelem Philippem von Sieboldem roku 1840. O osm let později roku 1848 byla dovezena ve větším množství a začala se pěstovat a prodávat do mnoha zemí jako dekorační rostlina zahrad a parků. Křídlatka japonská se tak začala rychle a nekontrolovatelně šířit po celé Evropě. Dostala se také do Austrálie nebo na Nový Zéland ale i do Severní Ameriky (MANDÁK et al., 2004).

U nás se vyskytuje téměř na celém území České republiky (obr.4). V České republice se vyskytuje podél vodních toků, cest nebo železničních tratí. Do současné doby bylo zaznamenáno asi 1 335 lokalit, ale toto číslo se stále navyšuje, druh má stále tendenci se masově rozšiřovat na nová území. V jižních Čechách byla křídlatka japonská poprvé nalezena v parku města Netolice (MANDÁK et al., 2004).

Obrázek 4. Rozšíření křídlatky japonské na území ČR (Mandák 2006)

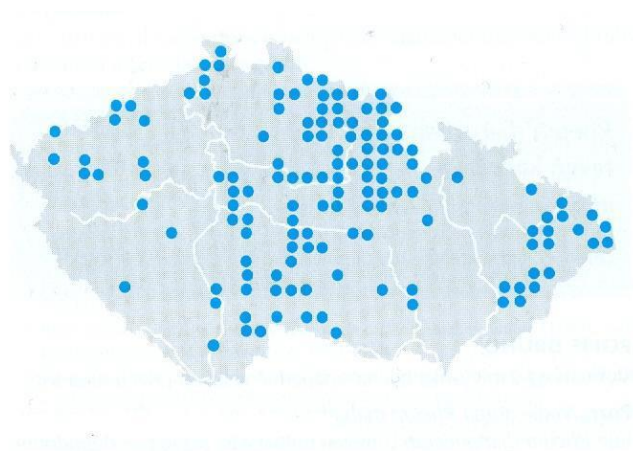


3.3.2 Původ a rozšíření křídlatky sachalinské

Původním areálem rozšíření je Japonsko přesněji ostrov Honshu, Sachalin, Hokkaido a Ullung-do. Na Evropský kontinent byla zavlečena několikrát, vždy jako materiál z nejrůznějších expedic dálného východu. Poprvé roku 1855, kdy jí přivezl H. Weyrich a v roce 1861 byla přivezena F. Schmidtem. Všechny přivezené rostliny byly věnovány Petrohradské botanické zahradě, odkud byly posílány do dalších koutů Evropy (MLÍKOVSKÝ, STÝBLO, 2006).

Křídlatka sachalinská v ČR většinou osidluje erozí postižené břehy řek a potoků. Vyskytuje se po celém území České republiky, výjimkou jsou hory (obr. 5). Další rozšiřování druhu je více než pravděpodobné (MLÍKOVSKÝ, STÝBLO, 2006). I když je křídlatka sachalinská nejméně agresivním invazním druhem tohoto rodu, může sloužit jako dárce pylu a hybridizovat s křídlatkou japonskou nebo s křídlatkou českou. V druhotném areálu rozšíření se vyskytují funkčně sami i samčí rostliny křídlatky sachalinské. Tudíž je s nejvyšší pravděpodobností možné pohlavní rozmnožování, ke kterému nepravidelně dochází. Ve Velké Británii byl zjištěn poměrně velký rozdíl jednotlivých genotypů mezi lokalitami a jejich variabilita v rámci jednotlivých lokalit (HOLLINGSWORTH et al., 2000). Křídlatka sachalinská je více geneticky rozrůzněná ve srovnání s křídlatkou japonskou, což je způsobené vysazováním v nepůvodních areálech a generativním rozmnožováním (BAILEY et al., 2007)

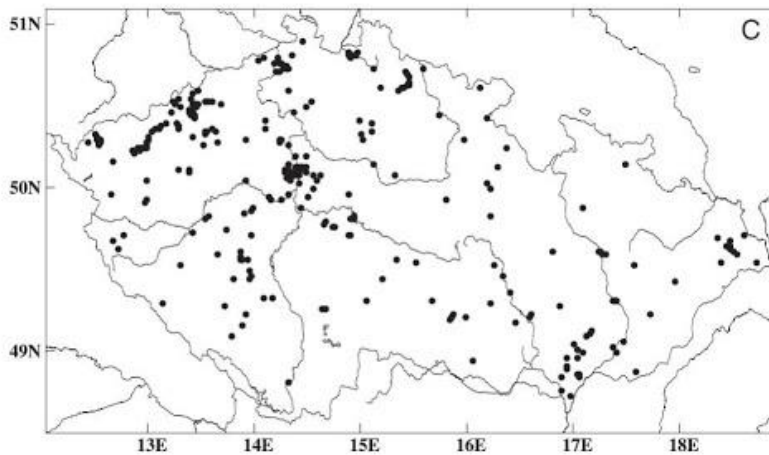
Obrázek 5. Rozšíření křídlatky sachalinské na území ČR (Mandák 2006)



3.3.3 Původ a rozšíření křídlatky české

Křídlatka česká je rozšířena na většině území Evropy a v Severní Americe. V severním Japonsku byl výskyt křídlatky české potvrzen teprve nedávno (BAILEY et al., 2009). Nejstarší zmínka o křídlatce české přichází z roku 1872, z Manchesteru kde byla pěstovaná v botanické zahradě, ale podle dnešních analýz není jisté, zda se nejednalo o křídlatku sachalinskou (BAILEY, CONOLLY, 2000). Na našem území byla nalezena v roce 1950 v zahradě Karlovy univerzity (MANDÁK et al., 2004). Křídlatka česká se ze všech druhů křídlatek největší regenerační schopnost oddenků a lodyh, která je téměř 100 %. V ČT se vyskytuje se na místech narušených lidskou činností, ale také podél toků potoků a řek (obr 6). V rámci našich křídlatek má křídlatka česká nejvyšší genetickou variabilitu, to pravděpodobně vede ke vzniku lokálních odolných typů, který mají vysoký potenciál se rozšiřovat na nová stanoviště (PYŠEK, TICHÝ, 2001).

Obrázek 6. Rozšíření křídlatky české na území ČR (Mandák 2006)



3.4 Využití rostlin rodu *Reynoutria*

Křídlatky si zasloužily pozornost jako rostliny použitelné ve fytoenergetice. Jeví se jako velmi vhodná plodina s výnosem nadzemní hmoty 30 až 40 t/ha. Výhřevnost sušiny se pohybuje kolem 17 MJ/kg (PATOČKA, 2005).

Ve Východní Asii je křídlatka tradiční bylina používána při různých zánětlivých onemocněních, infekcích, kožních onemocněních a opaření (PENG et al., 2013), nebo bolesti kloubů, kašle a vředů. Oddenek křídlatky byl nedávno zařazen do Evropského lékopisu mezi mnoho dalších tradičních bylin používaných v čínské medicíně (EOM et al., 2017). Oddenek *Reynoutria japonica* je v čínské medicíně znám pod označením Hu Zhang a apoužívá se při léčbě různých zánětlivých onemocnění, infekcí, kožních chorob, či hyperlipidémie (PATOČKA et al 2016).

Své uplatnění rostliny rodu křídlatka mohou nalézt i v zemědělství a to jako krmivo. Mladé rostliny se dají zkrmovat jako čerstvé nebo konzervované krmivo pro dobytek. Nutriční hodnota krmiva je 0,20 až 0,23 nutričních jednotek s metabolizovatelným obsahem energie pro skot 2,43 až 2,87 MJ/kg (TELEUTA et al., 2013).

Do budoucna by se mohli křídlatky používat pro výrobu biopesticidů. Výluh z listů ve vodě nebo v alkoholu působí jako ochranný prostředek proti plísním. Listy obsahují flavonoidy a antrachinony, které působí antioxidantně a neznámou fungicidní látku, která působí zejména proti různým druhům padlí. To by mohlo v budoucnu ovlivnit využití pro ekologické farmy (DAAYF et al., 1995).

V průmyslu se může křídlatka použít na výrobu papíru a různého obalového materiálu například krabičky nebo jednorázové tácky. Antrachinony se používají při výrobě barviv, v dřevozpracujícím průmyslu nebo k moření osiva proti ptactvu (STUPAVSKÝ, 2008). Barevné pigmenty získané z křídlatky se v Asii používají k barvení rýžové mouky nebo k samotnému barvení rýže (obr. 7.) (FREUND et al., 1988) či v domácnostech k barvení látek (ZHANG et al., 2008). Byla zkoumána extrakce přírodních barviv z křídlatky japonské a jejich použití na textilie ze sojového hedvábí. Výtěžek barviva se měnil s hodnotou pH, optimální pro barvení je pH 4-5, teplota 95°C po dobu 60 minut (GAO et al., 2009). Barvivo křídlatky japonské má dobrou termostabilizaci a jeho barva je žlutá až červenohnědá. Optimální proces úpravy bavlny je: 10% modifikačního činidla, 10 g/l roztoku hydroxidu sodného,

teplota 80°C po dobu 30 minut a optimální proces barvení bavlny křídlatkou japonskou je pH 4-6, NaCl 5-10 g/l, teplota 100 stupňů celsia po dobu 60 minut (ZHANG et al., 2008).

Přírodní pigmenty křídlatky japonské byly také smíchány s PBS (poly(butylensukcinát) – biologicky rozložitelné látky. Přírodní pigmenty tak i barevné filmy měli dobrou tepelnou stabilitu (SONG et al., 2012).

Obrázek 7. Rýže obarvená rostlinnými barvivy v provincii Hunan v Číně (LIU et al., 2014)



3.5 Charakteristika rostlinných barviv

Rostlinné barvivo je látka, která se vyskytuje v kterékoli části rostlinného materiálu a lidskému oku se jeví jako barevná. Můžeme říci, že rostlinná barviva se objevují u všech vyšších rostlin a to převážně v částech, které jsou nad zemí. Barevné pigmenty můžeme najít jak ve stonku, listech, květech, ale i plodech (VODRÁŽKA, 2002).

Nejdůležitější funkci z rostlinných barviv mají chlorofyly, které jsou nezbytně nutné pro průběh fotosyntézy a karotenoidy, které fotosyntézu doprovázejí (VODRÁŽKA, 2002). Barva rostlin, hlavně květů, slouží jako poutač pro opylovače, barva plodů pak láká živočichy, kteří napomáhají jejich roznosu. K tomu slouží převážně anthokyaniny, které plní i funkci obranou. Další funkce barviv je ochrana rostlin před UV zářením, k tomu slouží flavony a flavanoly (JAHODÁŘ 2012, VELÍŠEK 2002).

Stálost rostlinných barviv je různá. Mezi vnější působící faktory patří pH prostředí, teplota prostředí, světelné záření nebo přítomnost dalších chemických látek (ČOPÍKOVÁ et al., 2005).

3.5.1 Vznik rostlinných barviv

Rostlinné pigmenty vznikají jako produkt sekundárního metabolismu. Sekundární metabolismus rostlině zajišťuje produkty, které nejsou důležité pro růst nebo další vývoj rostliny. Vlastnosti těchto metabolitů jsou spíše doplňující nebo podpůrné. Mohou být charakteristický pro určitý organizmus, případně pro jeho část, nebo se mohou dále specificky vytvářet (VODRÁŽKA, 1998).

Rostlinná barviva můžeme rozřídovat podle nejrůznějších kritérií, mezi které patří výskyt v rostlině, případně v buňce, chemické hledisko, struktura barviv, dělení na základě barevného spektra nebo rozpustnost ve vodě (VELÍŠEK, 2002).

3.5.2 Výskyt v rostlinách

Barviva se v rostlině nachází téměř ve všech částech až na výjimky. Jejich určování v rámci jedné buňky je omezen vzhledem k tomu, že barviva mají charakter hydrofilní, nebo lipofilní (KUBIENOVÁ A VINTER 2013). Dle výskytu v buňce lze pigmenty rozdělit do dvou skupin a to na plastidové (chlorofyl, karotenoidy) a vakuolární. Pigmenty, které jsou obsaženy ve vakuole, jsou hydrofilního charakteru, to znamená, že se rozpouští ve vodě. Příkladem může být skupina betalainu, anthokyanů nebo flavonoidů (VOTRUBOVÁ, 2017). Některá z nich můžeme nalézt i v cytoplazmě, například jako karotenoidy ve vazbě na bílkoviny se nacházejí v cytoplazmě buněk (VODRÁŽKA 2002, VOTRUBOVÁ 2017).

3.5.3 Rozdělení barviv dle chemického hlediska

Přírodní barviva, barevné látky nebo pigmenty jsou syntetizované a nahromaděné nebo vylučované látky z živých či umírajících buněk. Tyto látky vyskytují se v potravinářských materiálech se staly součástí potravin a některé další pigmenty byly a jsou využívány při přípravě potravin a nápojů po dlouhou dobu (EMERTON, 2008).

Podle chemického hlediska rozdělujeme barviva do skupin následovně (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ, 2009).

- Dusíkaté heterocyklické sloučeniny. Do této skupiny patří pigmenty odvozené od pyrrolu (chlorofylová a hemová barviva), indolu (betakyaniny a melaniny), isochinolinu, flavinu, pirimidinu, fenazinu a fenoxazinu, některé z nich se řadí mezi alkaloidy.

- Kyslíkaté heterocyklické sloučeniny. Do této skupiny patří zejména fenolové sloučeniny jako flavonoidy, z nichž nejdůležitější jsou xanthy, antokyany a stilbeny.
- Chinoidy a jejich redukované formy fenolu, jejich kondenzační formy a další produkty jako jsou kurkuminoidy.
- Terpenoidy (karotenoidy, iridoidy) sem patří karotenoidy.

Dusíkaté heterocyklické sloučeniny

Dusíkaté heterocyklické sloučeniny jsou první skupinou rostlinných barviv. Tyto látky jsou popisovány jako cyklické uhlovodíky, protože mají jedním atomem dusíku ve svém cyklu, též nazývaný jako heteroatom (McMURRY, 2007).

Pyrolová barviva

Mezi pyrolová barviva patří sloučeniny, které se skládají z jednoho nebo více pyrrolů. Podle počtu pyrrolových částí ve sloučenině je můžeme dále dělit na monopyrroly, dipyrroly, tripyrroly a tetrapyrroly. Pyrolová barviva jsou výrazná jak v říši rostlinné, tak i v živočišné. Pro rostliny je nejdůležitější skupina tetrapyrrolu (VELÍŠEK, 2002).

U tetrapyrrolu rozlišujeme dvě hlavní struktury. První je cyklická forma, do které patří nejvýznamnější rostlinná barviva chlorofyly. Druhá lineární forma zahrnuje bilinová barviva (VELÍŠEK, 2002). Chlorofyl jako zelené barvivo se využívá hlavně v potravinářském průmyslu. Získává se především z vojtěšky nebo kopřivy dvoudomé (MORAVCOVÁ, 2006).

Bilinová barviva se vyskytují u řas nebo ve žlučových barvivech. K nejznámějším bilinům patří červené fykoerytriny, modré fytokyaniny a žlučový bilirubin (MORAVCOVÁ 2006, VELÍŠEK 2002).

Indolová barviva

Indolová barviva, též nazývaná jako dihydroindoly jsou dusíkatá barviva. Vyskytují se ve formě červených, oranžových a žlutých odstínů. Patří sem skupina betalainů a indolů (VELÍŠEK, 2002).

Do skupiny betalainů spadá asi padesát žlutých, červených a oranžových barviv. Tato barviva lze najít například v opuncii. Nejvýznamnější z betalainů je červený betanin,

který najdeme v bulvě červené řepy. Toto barvivo se používá v potravinářském průmyslu k dobarvování potravin (MORAVCOVÁ, 2006).

Indoly se vyskytují v rostlinách poměrně hojně. Nejznámějším indolem je indigo, který je známý už od starověku, kde se využíval k barvení textilií (VELÍŠEK, 2002).

Kyslíkaté heterocyklické sloučeniny

Další skupinou rostlinných barviv jsou kyslíkaté heterocyklické sloučeniny. Tyto látky na rozdíl od dusíkatých heterocyklických sloučenin obsahují atom kyslíku (McMURRY, 2007).

Pyranová barviva

Pyranová barviva mají základ ve sloučenině pyran. Tyto barviva se často vyskytují ve vazbě na sacharidy. Pyranová barviva zahrnují tyto skupiny: flavonoidy, xanthyony a isochomery (MORAVCOVÁ, 2006).

Flavonoidy

Etiologie slova pochází z latinského slova flavus, což znamená žlutý (ANONYM 1). Flavonoidy jsou bohatou skupinou rostlinných fenolických látek, které se řadí mezi sekundární metabolity rostliny (BLECHA 2012).

Flavonoidy slouží rostlinám jako ochrana před UV zářením, které je zdrojem reaktivních forem kyslíku i jako ochrana před býložravci a patogeny (RHODES 1996). Obsah flavonoidů v rostlině má vliv i na její barvu (COOKE et al., 2005). Flavonoidy jsou látky s velkým antioxidačním účinkem, které jsou přítomné v potravě. Můžeme je najít v ovoci, zelenině, v červeném víně a zeleném čaji (KONDROVÁ et al., 2006). Byla zjištěna jejich protirakovinná a antivirová aktivita, nebo protizánětlivý účinek. Některé flavonoidy mají ale naopak také mutagenní účinky (HODEK et al., 2002).

Flavonoidy jsou asi největší skupinou rostlinných barviv, řadí se mezi ně až 4000 sloučenin. Tyto pigmenty zahrnují především žlutou, červenou a modrou barvu vyskytující se ve vakuolách buněk. Flavonoidy se často vyskytují ve vazbě na sacharidy a působí jako antioxidant (HARMATHA 2002, VELÍŠEK 2002).

Xanthony

Základní strukturu této skupiny představuje sloučenina xanthon. Vyskytují se jako žluté pigmenty. Význačné jsou pro rod mangovníku nebo pro některé lišejníky. V dnešní době se využívají hlavně v potravinářském průmyslu (VELÍŠEK, 2002).

Anthokyaniny

Anthokyaniny patří mezi nejvýznamnější skupinu flavonoidů. Jsou často vázány na sacharidy. Vyskytují se ve vakuolách a zahrnují mnoho pigmentů od červené až po modrou. Mezi nejvýznamnější patří například fialový peonidin a kyanidin, červený petunidin, fialovočervený pelargonin nebo modrofialový malvidin, který se vyskytuje ve vinné révě (VELÍŠEK, 2002).

Rostliny s největším obsahem anthokyaninů jsou z čeledi brukvovité, růžkovité nebo révovité. Tyto pigmenty obsahuje například rod pivoňka, růže šípková, lesní a zahradní ovoce, ale i mnohá zelenina. Anthokyaniny nacházejí své uplatnění v potravinářství k dobarvování potravin (DOLEŽAL, 2016).

Flavanoly

Flavanoly náleží do skupiny žlutých pigmentů, které se vyskytují v citrusech nebo luštěninách. Například apigenin nacházející se v heřmánku nebo hesperidin v citrusech (MORAVCOVÁ, 2006).

Flavanonoly

Flavanonoly jsou skupinou světle žlutých barviv, které se vyskytují jen zřídka. Můžeme je nalézt u rostlin čeledi bobovité, například u podzemnice olejné, ale také v česneku nebo chmelu (VELÍŠEK 2002, MORAVCOVÁ 2006).

Flavonoly

Flavonoly společně s flavony patří do skupiny nejvýznamnějších žlutých barviv, které nalezneme například u citrusu. Flavony můžeme nalézt i v čajovníku, brusnice borůvky nebo v jablkách (HARMATHA 2002, VELÍŠEK 2002).

Chalkony

Chalkony jsou barvy vyskytující se například u světlice barvířské. Asi nejvýznamějším chalkonem je karthamin červené barvy a saflorová žluť žluté barvy. Tyto pigmenty se využívají k barvení textilií (VELÍŠEK, 2002).

Chinoidy a jejich redukované formy fenolu

Fenolová a chinonová barviva obsahují zpravidla 1-3 benzenová jádra, na které se váží dvě oxo skupiny. Jak vyplývá z názvu, odvozují se od fenolu a chinonu (HARMATHA, 2002). Tato skupina zahrnující 200 zástupců má široké spektrum barviv od žluté, hnědé až po červenou. Chinonová barviva můžeme najít v částech vyšších rostlin, řasách, houbách a lišejníků. Tyto barviva mají dlouhou historii, dříve se využívali k barvení textilií a kůží, dnes je nahradili barviva syntetická. V dnešní době se některá barviva využívají v kosmetickém, potravinářském, ale i farmakologickém průmyslu. Do skupiny chinonů patří podskupiny benzochinony, naftochinony a anthrachinony (VELÍŠEK, 2002).

Benzochinony

Benzochinony nalezneme především u hub a lišejníků. Dále je můžeme nalézt v ovoci, brusnici brusince nebo v obilninách ve formě arbutinu, který obsahuje molekulu glukosy. Terfenylchinony jsou látky hlavně hnědé a žluté barvy. Běžně se vyskytují u hub, lišejníků a plísní (MORAVCOVÁ, 2006).

Naftochinony

Nejnámější pigment, který lze zařadit do skupiny naftochinonů je henna z henovníku bílého. Henna především obsahuje nažloutlý lawson. Druhý známý naftochinon nalezneme například v ořešáku královském a nese název juglon. Juglon způsobuje hnědé zbarvení a využívá se jako přísada v opalovacích krémech. Mezi naftochinony patří také nahnědlý alkannin, který se nachází u rostlin čeledi brutnákovité. Méně podobným naftochinonům je pigment gossypol žluté barvy. Nalezneme ho v bavlníku a má toxické účinky. (MORAVCOVÁ 2006, VELÍŠEK 2002).

Antrachinony

Antrachinon derivát athracenu je organická aromatická sloučenina. Je to žlutá krystalická látka, ve vodě špatně rozpustná, ale je dobře rozpustná v horkých organických rozpouštědlech. V přírodě se vyskytují v mnoha rostlinách například v aloe, rebarboře nebo řešetláku. Antrachinon je stavebním kamenem mnoha barviv, využívá se při výrobě barviv například alizarinu, jako katalyzátor ve dřevozpracujícím a papírenským průmyslu nebo při moření osiv jako odpuzovač ptactva a dalších živočichů (VOGEL 2002). Antrachinon má i své farmaceutické využití, přírodní deriváty mají laxativní účinky (MULLER-LISSNER 1993).

Mezi tyto pigmenty patří purpurin červené barvy nebo alizarin oranžovo-červené barvy. Vyskytují se v rostlině mořeny barvířské využívané v textilním průmyslu. Skupinou odvozenou od antrachinonů jsou emodiny. Vyskytují se ve vyšších rostlinách zastoupených rodem reveně, řešetláku a aloe. Emodin se používá ve farmaceutickém průmyslu. Další odvozený pigment je fialový hypericin, který nalezneme například v květech třezalky tečkované. Do skupiny antrachinonů náleží také známý pigment červené barvy a živočišného původu košenila. Košenila se používá v potravinářském průmyslu při barvení potravin (VELÍŠEK, 2002).

Terpenoidy

Poslední skupina rostlinných barviv jsou terpenoidy, kam patří karotenoidy a iridoidy (McMURRY, 2007)

Karotenoidy

Karotenoidy nalezneme jak v říši rostlinné, tak i v živočišné. U rostlin se vyskytují společně s chlorofyly. Karotenoidy jsou ve velkém množství obsaženy v ovoci a zelenině. Velká část těchto pigmentů se používá v potravinářském průmyslu k barvení nápojů nebo mléčných výrobků (VELÍŠEK, 2002).

3.6. Nejvýznamnější látky obsažené v křídlatkách

Listy a kořeny křídlatky obsahují aromatické uhlovodíky zvané stilbeny například resveratrol a polydatin (VRCHOTOVÁ et al., 2007). Dále obsahují flavonoidy například rutin, apigenin, hyperosid, reynoutrin, kvercitrin, isokvercitrin, kemferol a kvercetin (ZHANG et al., 2005).

Dalšími látkami zastoupenými v křídlatkách jsou antrachinony, například emodin, parietin, fycion, chrysofanol a fylochinon (PENG et al., 2013).

A další (lapathoside, 8-hydroxyklamenen, kyselina oleanolová, kyselina chlorogenová, kyselina protokatechová, kyselina galová, tachiosid, β -sitosterol atd.) (PENG et al., 2013)

Křídlatka sachalinská obsahuje výrazně méně antrachinonů a žádné stilbeny, ale vyšší množství disacharidů odvozených od fenylypropanoidů než křídlatka japonská (NAWROT-HADZIK et al., 2018).

3.6.1 Stilbeny

Resveratrol

Resveratrol je rostlinný fenol a fytoalexin, který se přirozeně produkuje 72 různými druhy rostlin, zejména vinnou révou, borovicemi, luštěninami, a arašídami (SOLEAS et al., 1997). Je produkován v reakci na stres v životním prostředí, jako jsou nepříznivé klimatické podmínky, expozice ozonu, slunečnímu záření a těžkým kovům a infekce patogenními organismy (JASIŃSKI et al., 2013).

Bylo zjištěno, že díky své silné antioxidační aktivitě působí proti tvorbě nádorových buněk, upravuje krevní tlak nebo modulovat imunitní systém a energetický metabolismus (YANG et al., 2014).

Polydatin

Polydatin je stilbenoidní glukosid a je hlavním derivátem resveratrolu v hroznových šťávách (ROMERO-PÉREZ et al., 1999). Ten můžeme nalézt i v kůře smrku sitky (*Picea sitchensis*) (ARITOMI, DONNELLY 1976). Může být také izolován z křídlatky japonské (*Reynoutria japonica*) (WANG et al., 2007).

3.6.2 Flavonoidy

Kvercetin

Kvercetin je rostlinný flavonol ze skupiny flavonoidů. Je obsažen v mnoha druzích ovoce, zeleniny, listů, semen a zrn. Běžné potraviny, které kvercetin obsahují, jsou například kapusta, nebo červená cibule. Kvercetin má hořkou chuť a používá se jako složka v doplňcích stravy, nápojích a potravinách (FORMICA, REGELSON 1995).

Apigenin

Apigenin je přírodní látka, která patří do třídy flavonů. Vyskytuje se v mnoha druzích ovoce a zeleniny, nejčastějším zdrojem jsou celer, petržel a heřmánkový čaj (FORKMANN 1991). Apigenin se vyskytuje hlavně v květech heřmánkových rostlin, ty tvoří 68 % celkových flavonoidů. Má žlutou barvu a využívá se k barvení vlny (VENIGALLA et al., 2015)

3.6.3 Antrachinony

Emodin

Emodin derivát antrachinonu, můžeme najít v rakytníku, rebarboře nebo v křídlatkách. Používá se více než 2000 let v tradiční čínské medicíně a je stále přítomen v různých bylinných přípravcích. Má široké spektrum farmaceutických vlastností, včetně protizánětlivých a protirakovinných (DONG 2016). Emodin se využívá k barvení papíru, vlny a kůže. Dále se používá pro tisk na kaliko, barvení potravin a hedvábí. Barva emodinu je žlutá s přidáním různých mořidel můžeme získat i jiné barvy například přidáním mědi vznikne hnědá barva, přidáním chromu zase barva červeno fialová (SINGH, BHARATI, 2014)

Parietin

Parietin je sekundární produkt rostlin, který byl nalezen v kořenech šťovíku kadeřavého (*Rumex crispus*), vyskytuje se ale i lišejníků rodu *Caloplaca*. Má oranžově žlutou barvu a pohlcuje modré světlo. Chrání rostliny před UV-B zářením ve vyšších nadmořských výškách (NYBAKKEN et al., 2004). (CHOI et al., 2004).

Chryzofanol

Chryzofanol je sekundární metabolit oranžovo žluté barvy produkovaný rostlinami. Je téměř nerozpustný ve vodě, ale dobře se rozpouští v etanolu. Chrání rostliny před napadením škůdci nebo před poškozujícím efektem některých typů záření. Jeho protizánětlivé a protinádorové účinky se využívají ve farmacii. V zemědělství nachází uplatnění při výrobě biofungicidů (ANONYM 2).

Fylochinon

Fylochinon je znám také jako vitamin K se nachází v listové zelenině nebo v několika rostlinných olejích například sójový, olivový, řepkový a bavlníkovém semenu (BOOTH, SUTTIE, 1998). Vitamin K je nezbytný pro funkci několika proteinů podílejících se na srážení krve (SHEARER, 1995).

4. Materiál a metodika

4.1 Místo odběru rostlinného materiálu

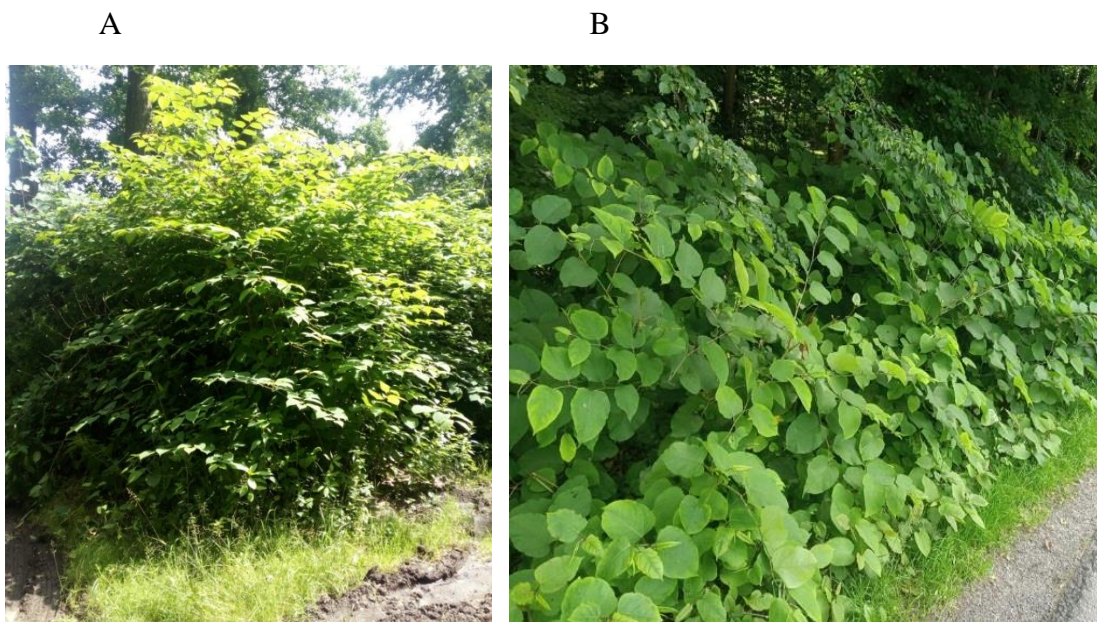
Podzemní části i se stonky rostlin křídlatky japonské a křídlatky sachalinské (obr. 9) byly odebrány v lesním porostu nedaleko města Soběslavi v chatové oblasti, které se říká na cihelně (GPS souřadnice 49.2582636N, 14.6955083E). Oddenky byly vykopány na podzim v měsíci říjnu. Obě dvě křídlatky se nacházeli cca 20 metrů od sebe. Místem protéká potok, na jehož břehu roste křídlatka japonská, křídlatka sachalinská roste podél blízké silnice. Odebrané vzorky byly uloženy do lednice.

Obrázek 8. Mapa místa odběru křídlatky japonské a sachalinské (Anonym 2020)



Pro porovnání obsahu látek v kořenech křídlatek bylo potřeba získat rostlinný materiál z jiné lokality. Druhé místo kde jsem kořeny a stonky odebíral se nachází v okrese Jindřichův Hradec. Křídlatka japonská zde roste podél silnice z Deštné do Jindřichova Hradce. Rostlinný materiál byl odebrán v říjnu a vzorky po vykopání byly uloženy do lednice.

Obrázek 9. Místo odběru A) křídlatky japonské B) křídlatky sachalinské



4.2 Zpracování vzorků a příprava extraktů

Podzemní části rostlin jsme v laboratoři důkladně očistili, vyprali pod vodou, aby nebyli nežádoucí příměsi, a poté jsme je nastříhali na cca 1 cm dlouhé části. Stonky jsme upravili stejným způsobem bez praní. Před zpracováním vzorků byly kořeny jednotlivých rostlin zváženy. Následně byla část materiálu usušena v laboratorní sušárně při 50°C do konstantní hmotnosti pro stanovení sušiny vzorků.

4.3 Příprava vodného extraktu z čerstvého materiálu

Extrakty byly připraveny ve třech variantách. K 20 g nastříhaných kořenů křídlatky japonské a křídlatky sachalinské jsme přidali 200 ml destilované vody, ke 40 g kořenů 200 ml destilované vody a k 60 g kořenů také 200 ml destilované vody. To samé jsme udělali i se stonky křídlatky japonské. K 20 g nastříhaných čerstvých stonků jsme přidali 200 ml destilované vody, ke 40 g stonků 200 ml destilované vody a k 60 g stonků také 200 ml destilované vody. Vzorky jsme nechali extrahovat ve vyhřívané vodní lázni (Julabo SW 22) při teplotě 95°C otáčkách 30 rpm po dobu 60 minut.

Zchlazené extrakty jsme pomocí filtračního papíru (K1) a vakuové vývěvy přefiltrovali. Získané extrakty byly uloženy do lednice.

4.4 Příprava vodného extraktu ze sušeného materiálu

Usušené kořeny jsme namleli na laboratorním nožovém mlýnku (Retsch GM 200) při 4000 otáčkách za minutu. Získaný materiál jsme proseli přes síto s otvory 1,6 mm. 10g sušeného materiálu z křídlatky japonské a sachalinské jsme extrahovali 100 ml destilované vody ve vodní lázni (Julabo SW 22) při teplotě 95°C a otáčkách 30rpm po dobu 60 minut. Zchlazený extrakt jsme pomocí filtračního papíru (K1) a vakuové vývěvy přefiltrovali a uložili do lednice.

Další variantou byla příprava vodného extraktu při pokojové teplotě za občasného protřepání ($21\pm 1^\circ\text{C}$) po dobu 24 hodin.

4.5 Příprava lihového extraktu ze sušeného materiálu

Lihový extrakt jsme připravili obdobným způsobem jako vodný, ale za použití 100 % etanolu. K 20 g křídlatky sachalinské a japonské jsme dali 100 ml. Vzorky jsme nechali extrahovat při pokojové teplotě ($21\pm 1^\circ\text{C}$) po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách jsme extrakt přefiltrovali pomocí filtračního papíru (K1) a vakuové vývěvy. Získaný extrakt jsme uložili do lednice.

4.6 Potvrzení přítomnosti antrachinonových barviv v extraktu

Zkouška přítomnosti druhu rostlinných barviv v extraktech proběhla na základě odlišné reakce rostlinných barviv na změnu pH. Antokyany s rostoucím pH mění barvu z červené do modré až zelené, karotenoidy nereagují na rostoucí pH barevnými změnami, betaliny mají purpurový odstín, který je v širokém rozmezí pH barevně stálé a až v silně zásaditém prostředí mění barvu na žlutou. Antrachinonová barviva jsou žlutá v kyselém prostředí a červeno fialová v alkáliích (Gajová 2020).

K 5 ml extraktu bylo přidáno několik kapek koncentrované kyseliny chlorovodíkové nebo několik mg uhličitanu sodného.

4.7 Mikroskopické stanovení distribuce barviva v kořenech

Z čerstvých kořenů jsme zhotovili příčný a podélný řez žiletkou a z nich zhotovili mikroskopický preparát. Řez jsme vložili na připravené podložní sklíčko, do kapky destilované vody a přikryli krycím sklíčkem.

4.8 Stanovení barevnosti extraktů

Na měření barvy extraktů byl použit kolorimetr Lovibond PFX195. Tento přístroj je připojený na počítač, ve kterém je nainstalován softwarový program PFXi Windows V3.02, který umožňuje vyjádření barvy v barevném prostoru CIELab (obr. 10). Pro kolorimetrické stanovení byly použity květy 10 mm, režim osvětlení D 65. Měření probíhalo ve čtyřech opakováních (obr. 11).

Stupnice CIELab:

L* (Lightness - luminance) relativní číslo, udává míru jasů barvy,

a* - udává procentuální zastoupení červené (+), případně zelené (-) barvy,

b* - udává procentuální obsah žluté (+) nebo modré (-) barvy.

Další parametry barevnosti vypočítané na základě získaných dat:

Vzorec na výpočet barevných odstínů $h^0 = \tan^{-1} \left(\frac{a^*}{b^*} \right)$

h – Hue. Barevný odstín (dominantní vlnová délka)

Vzorec na výpočet sytosti $Cab = \sqrt{a^2 + b^2}$

C* - Chroma: sytost (relativní podíl intenzity dominantní vlnové délky k celkové intenzitě)

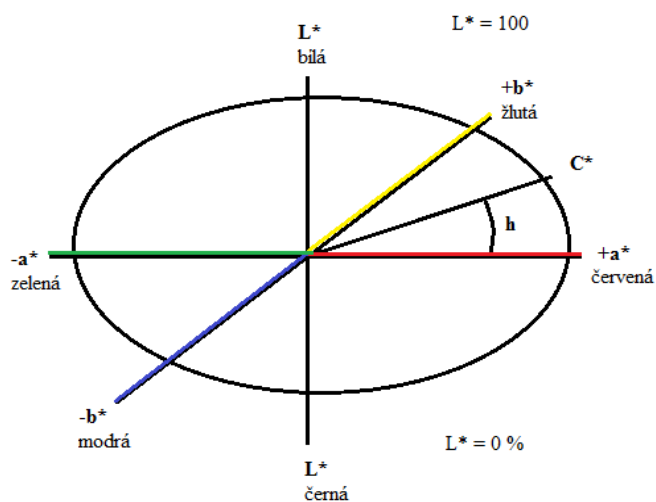
Pokud se hodnoty a* a b* vzdalují od středu, zvyšuje se sytost barvy.

Celková barevná diference (totální barevná diference) ΔE^* se vypočítá podle rovnice

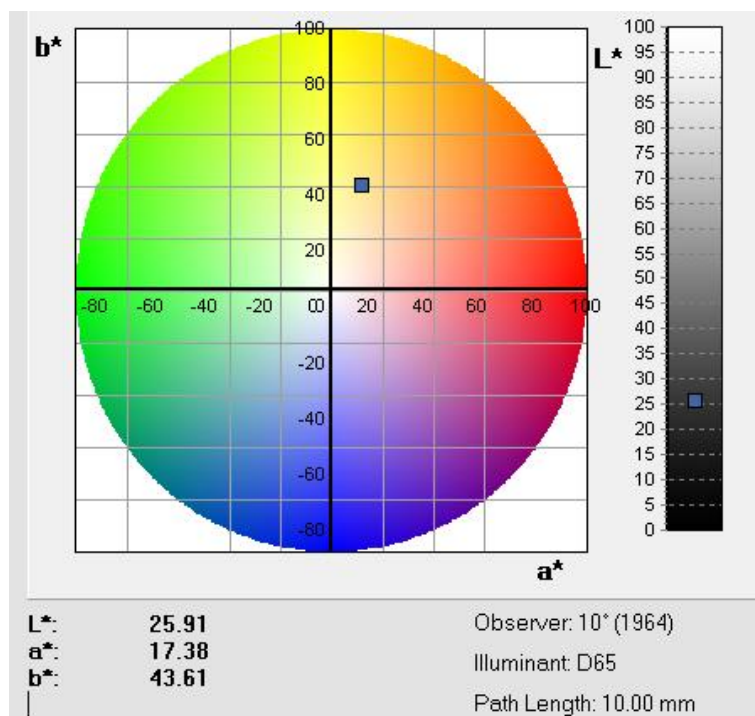
$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

ΔE^* je mírou velikosti barevného rozdílu mezi předlohou (standartem) a vzorkem, nemůže však indikovat povahu této difference (zesvětlení nebo ztmavnutí). Je-li hodnota větší než 3 jednotky, jsou barevné rozdíly vnímány lidským okem (VIK 1995).

Obrázek 10. Pravoúhlé a cylindrické souřadnice CIELab barevného prostoru (VIK 1995)



Obrázek 11. Příklad výstupu v programu Lovibond PFX195 při měření extraktů křídlatky



4.9 Stanovení stability barevných látek

Extrakty byly umístěny ve tmě (vzorky byly zabaleny do alobalu) do -18°C , 4°C a pokojové teplotě (cca 21°C). Vzorky při pokojové teplotě byly v další variantě vystaveny světlu a to při různém pH – původní pH extraktu (5,5), okyselené pH (4) a zásadité pH (12). Změny barevnosti a obsahu antarachinonů byly hodnoceny po 36 dnech, některé extrakty (pokud nebyly kontaminovány) byly měřeny ještě po 34 dnech.

4.10 Stanovení celkového obsahu antrachinonů

Celkový obsah antrachinonů byl stanoven podle YANG a kol (2009), kde je využito barevné reakce antrachinonů v alkalickém prostředí. 1 ml extraktu jsme napipetovali do kyvet a přidali 1 ml destilované vody s 11,6 mg uhličitanu sodného kvůli úpravě pH. Takto zhotovené vzorky jsme po 10 minutové inkubaci vložili do spektrofotometru (Biomate 5) a změřili při vlnové délce 524 nm. Standardem pro přepočítání celkového obsahu antrachinonů byl zvolen chryzofanol z důvodu přítomnosti v křídlatce a jeho cenové dostupnosti. Kalibrační křivka byla zhotovena z koncentrace 2,5 mg chryzofanolu na 3 ml 60°C teplé vody nasycené uhličitanem sodným. Po rozpuštění byla připravena koncentrační řada chryzofanolu 0,8 - 0,0008 mg/ml. Kalibrační závislost byla ve studovaném rozsahu lineární. Regresní koeficient R^2 byl 0,9908, což značí velmi dobrou linearitu. Výsledné koncentrace jsou uváděny v mg CPE (ekvivalent chryzofanolu).

4.11 Tenkovrstevná chromatografie extraktu křídlatky

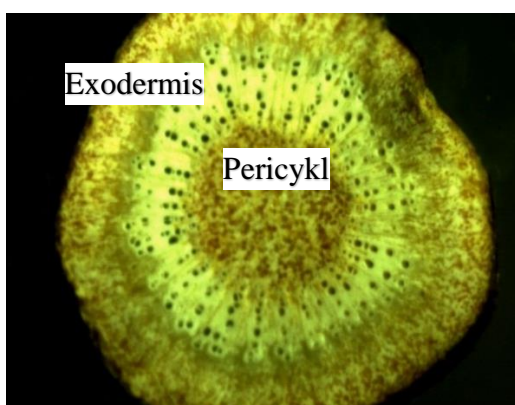
Asi 1,5 cm od spodního okraje destičky TLC ALUGRAM (hliníková fólie se silikagelem Silica 60, velikost částic 5–17 μm , tloušťka vrstvy 0,20 mm) o velikosti 5 x 10 cm jsme pomocí pravítka narýsovali tužkou čáru neboli start. Na čáru jsme pomocí kapiláry nanесли extrakt z křídlatky japonské a křídlatky sachalinské. Po nanesení extraktu jsme destičku vložili do vyvíjecí komory, kam jsme nalili 150 ml směsi ethylacetát (45%) : voda (45%) : metanol (25%). Jakmile vztlínající fáze dorazila cca 1 cm pod horní okraj, destičku jsme vyjmuli ven a narýsovali konec. Destičku jsme po oschnutí postříkali reakčním činidlem (roztokem uhličitanu sodného), aby vznikly viditelné barevné (světle růžové) skvrny.

5. Výsledky

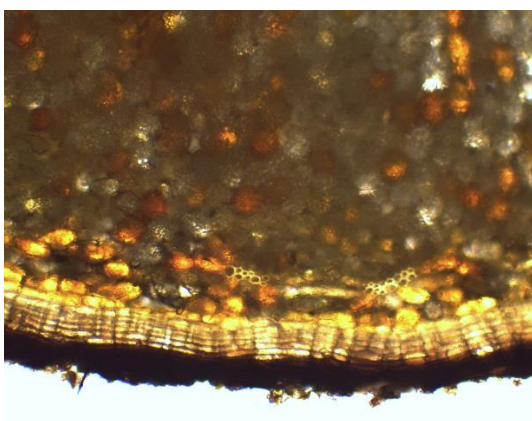
5.1 Mikroskopické stanovení obsahu barviva v kořenech

Zjistili jsme, že nejvíce barviva je obsaženo pod pokožkou kořene přesněji řečeno v exodermisu primární kůry a uprostřed kořenu takzvaném pericyklu (obr. 12 a 13). Kořeny jednotlivých druhů se od sebe výrazně neliší stavbou a uložením barviva. Na obr. 14 při porovnání stonků můžeme vidět, že stonky neobsahují barvivo viditelné na pohled jako kořeny. Barvivo ve stonku bylo lokalizováno pouze pod pokožkou a bylo viditelné jen pod mikroskopem. Kořeny křídlatky japonské měly po rozříznutí tmavší barvy primární kůry a pericyklu než křídlatka sachalinská (obr. 15).

Obrázek 12. Příčný řez kořenem křídlatky japonské pod mikroskopem



Obrázek 13. Detail primární kůry kořene křídlatky japonské



Obrázek 14. Příčný řez stonkem (vlevo k. japonská, vpravo k. sachalinská)



Obrázek 14. Příčný řez kořenem A) křídlatka japonská B) křídlatka sachalinská

A



B

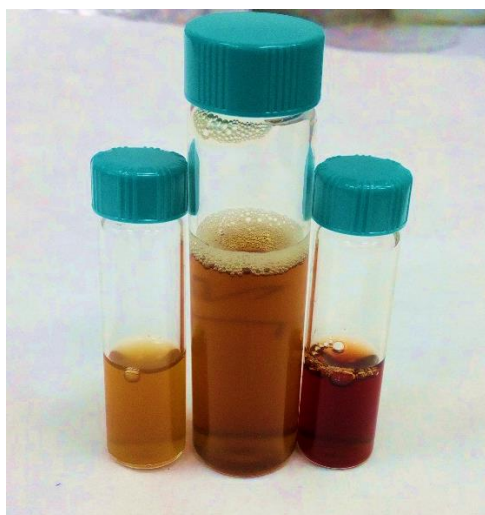


5.2 Potvrzení přítomnosti antrachinonových barviv v extraktu

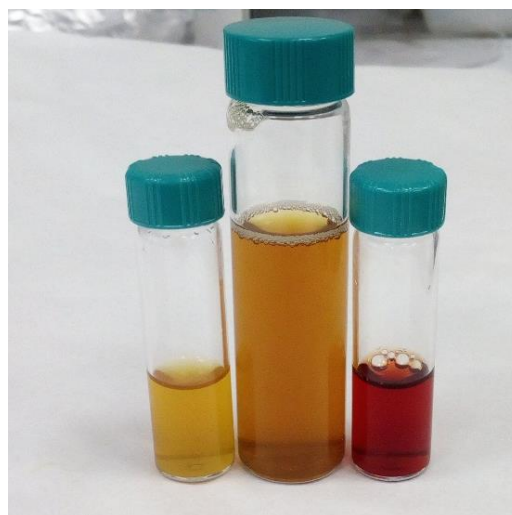
Zkouška přítomnosti druhu rostlinných barviv v extraktech na základě odlišné reakce rostlinných barviv na změnu pH, potvrdila přítomnost antrachinonových barviv v extraktu z křídlatky, která jsou žlutá v kyselém prostředí a červeno fialová v alkáliích viz obr. 16.

Obrázek 15. Extrakt z křídlatky A) japonské a B) sachalinské (zleva výchozí zbarvení, zbarvení po okyselení a alkalický extrakt)

A



B



5.3 Stanovení barevnosti extraktů

Zjistili jsme, že se zvyšující se koncentrací roztoku byla barva získaného extraktu tmavší, ale méně sytá. Rozdíl barevnosti mezi druhy křídlatky je znatelný.

Extrakt z křídlatky japonské měli tmavší zbarvení oproti křídlatce sachalinské a to ve všech testovaných koncentracích. U extraktů křídlatky sachalinské je méně zastoupená červená barva v extraktu a převažuje barva žlutá, proto jsou extrakty jasnější a mají celkově žluté zbarvení (viz. tabulka 1).

U křídlatky japonské převažuje také barva žlutá, ale je zde větší zastoupení barvy červené než u křídlatky sachalinské a proto jsou extrakty méně jasné a celkové zbarvení je žluto červené (viz. tabulka 1).

Tabulka 1. Hodnoty barevnosti extraktů z křídlatky stanovené na kolorimetru

křídlatka	extrakční poměr (g/l)	L	a	b	C*ab	h
sachalinská	1	74,00	9,07	91,72	92,16	1,73
	2	46,39	17,85	73,72	75,84	4,22
	3	36,05	22,39	59,76	63,82	6,54
japonská	1	65,03	10,17	82,30	82,92	2,15
	2	43,91	19,03	71,05	20,81	4,67
	3	26,70	17,27	44,79	47,99	6,73

*L-míra jasů barvy, (0=tmavá, 100=světlá)

*a-procentuální zastoupení červené nebo zelené barvy

*b-procentuální zastoupení žluté nebo modré barvy

C*ab- sytost barvy

h - barevný odstín

5.4 Stanovení barevnosti extraktů z čerstvých stonků a kořenů ze druhého stanoviště

Extrakt ze stonků křídlatky japonské byl zbarven více do zelena (přítomnost chlorofylu), byl zbarven nepatrně do červené barvy a více do barvy žluté než extrakt z kořenů. Celkově byl extrakt ze stonků jasnější a odlišné barvy (tabulka 2).

Extrakt z kořenů křídlatky japonské z druhého stanoviště (JH) měl barvu tmavší a obsahuje více červené barvy (tabulka 2) než extrakt z kořenů křídlatky japonské ze Soběslavi (tabulka 1).

Tabulka 2. Hodnoty barevnosti extraktů u křídlatky japonské z druhého stanoviště (JH)

část	extrakční poměr (g/l)	L	a	b	C*ab	h
stonky	1	83,42	2,14	15,54	15,68	2,40
	2	81,31	2,03	16,75	16,87	2,11
	3	75,96	2,97	23,37	23,56	2,21
kořeny	1	53,83	25,76	88,95	93,84	5,24
	2	33,98	29,80	58,04	65,23	8,96
	3	25,40	29,41	43,59	52,57	10,01

*L-míra jasů barvy, (0=tmavá, 100=světlá)

*a-procentuální zastoupení červené nebo zelené barvy

*b-procentuální zastoupení žluté nebo modré barvy

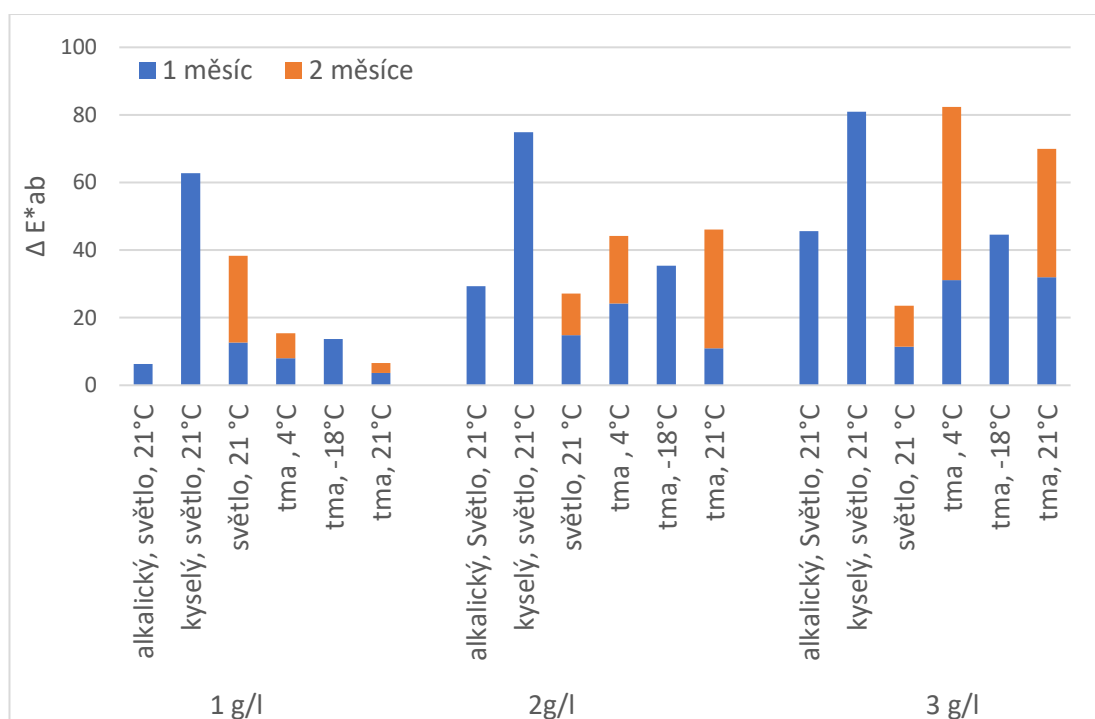
C*ab- sytost barvy

h - barevný odstín

5.5 Stanovení změn barevnosti během skladování extraktu po měsíci

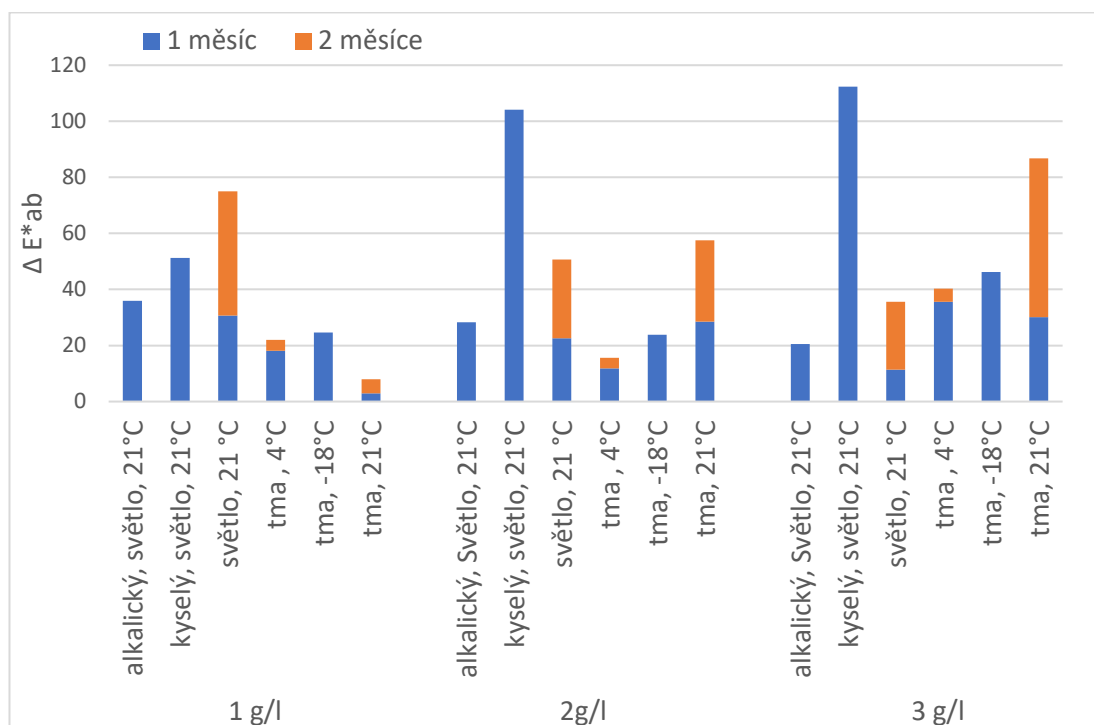
Na základě výpočtu odchylky změny barvy ΔE^*ab po jednom či dvou měsících skladování jsme zjistili, že kyselé extrakty nejvíce ztráceli jas a barvy byli méně syté. Poměrně stálý jas barev vykazovaly extrakty skladované na světle při 21°C kde změna po měsíci byla minimální. S nárůstem koncentrace extraktu byl zaznamenán růst změn barevnosti cca o 15 jednotek ΔE^* . Extrakty skladované ve tmě při 4°C jas zvyšovaly. Změny barevnosti u vzorků ve tmě narůstaly při dalším měsíci skladování především u koncentrace 3 dokonce o více než 40 jednotek (graf 1).

Graf 1. Změna barevnosti (ΔE^*ab) po jednom a dvou měsících skladování extraktů z kořenů křídlatky sachalinské při různých koncentracích extraktu



Také u extraktů z křídlatky japonské nastala největší změna barevnosti po měsíci skladování u kyselých extraktů. Extrakty skladované ve tmě při 21°C svůj jas zvyšovaly, nejvíce koncentrace 3, kde hodnota ΔE^* stoupla průměrně o 30 jednotek. Nejstálejší sytost a jas vykazovaly extrakty skladované na světle při teplotě 4°C (graf 2).

Graf 2. Změna barevnosti (ΔE^*ab) po jednom a dvou měsících skladování extraktů z kořenů křídlatky japonské při různých koncentracích extraktu



5.6 Vliv způsobu extrakce na barevnost

Z čerstvého materiálu byly extrakty více jasné než extrakty ze sušeného materiálu. Převládalo zastoupení žluté barvy, červená barva byla v extraktech zastoupena jen v malém množství (tabulka 3)

Extrakt ze sušeného materiálu z křídlatky sachalinské byl méně jasný než extrakt křídlatky japonské, obsah žluté a červené barvy byl vyšší u křídlatky japonské (tabulka 3).

Vodné extrakty byly více jasné extrakty než lihové. Extrakt křídlatky sachalinské byl zbarven více do žluté barvy než extrakt křídlatky japonské (tabulka 3).

Z tabulky 3. můžeme vidět, že nejtmaší extrakt poskytla metoda extrakce křídlatky sachalinské a křídlatky japonské vodou při 95°C, dále pak extrakce křídlatky sachalinské lihem při 21°C.

Tabulka 3. Porovnání barevnosti extraktů získaných ze sušených kořenů křídlatek různým způsobem extrakce

křídlatka	extrakční poměr (g/l)	L	a	b	C*ab	h
sachalinská ext. vodou v 95°C	1	28,94	12,54	44,26	45,99	4,94
japonská, ext. vodou v 95°C	1	48,34	17,38	71,45	73,53	4,25
sachalinská, ext. vodou v 21°C	1	68,59	15,65	82,28	83,75	10,77
japonská, ext. vodou v 21°C	1	53,30	16,06	71,51	73,29	12,66
sachalinská, ext. lihem v 21°C	1	40,29	14,99	65,61	67,30	12,87
japonská, ext. lihem v 21°C	1	78,11	9,14	107,43	107,81	4,86

*L-míra jasů barvy, (0=tmavá, 100=světlá)

*a-procentuální zastoupení červené nebo zelené barvy

*b-procentuální zastoupení žluté nebo modré barvy

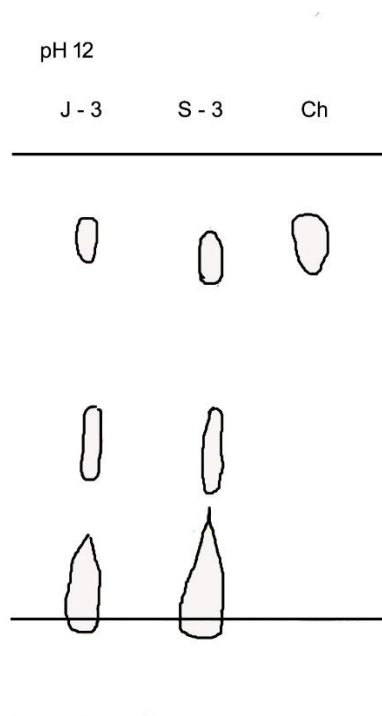
C*ab- sytost barvy

h - barevný odstín

5.7 Tenkovrstevná chromatografie vodného extraktu z kořenů křídlatky

Metoda TLC potvrdila přítomnost látek blízkých chryzopanolu viz. obr. 17 v obou druzích extraktu. Extrakt obsahoval další dvě skupiny méně polárních látek blízkých antrachinonům, nebo od nich odvozených např. cukry.

Obrázek 16. Výsledky metody TCL (zleva křídlatka japonská, křídlatka sachalinská a chryzofanol)



5.8 Obsah celkových antrachinonů v extraktu

Tabulka 4. Porovnání vlivu pH a podmínek skladování po dobu jednoho měsíce na celkový obsah antrachinonů (mg CPE/ml) v extraktech z kořenů křídlatek

křídlatka	extrakční poměr (g/l)	počáteční obsah	alkalický extrakt v 21°C	kyselý extrakt v 21°C	extrakt při 4°C	extrakt při -18°C
japonská	1	0,778	0,906	0,339	0,428	0,568
	2	1,484	1,836	0,516	0,677	0,740
	3	1,586	2,627	0,580	0,706	0,789
sachalinská	1	0,747	0,414	0,256	x	0,524
	2	1,155	1,060	0,451	x	0,649
	3	1,625	1,829	0,576	0,802	1,419

CPE - ekvivalent chryzofanolu, x- kontaminace plísní

Celkový obsah antrachinonů v extraktu se zvyšoval s koncentrací extraktu, jak u křídlatky sachalinské, tak u křídlatky japonské. Počáteční obsah antrachinonů je u obou křídlatek ve vodném extraktu získaného při 95°C podobný. U extraktů křídlatky japonské se obsah antrachinonů v alkalické prostředí zvýšil, největší nárůst byl v extraktu s největší koncentrací. Kyselé prostředí rapidně snížilo obsah antrachinonů

v extraktu a to více než o polovinu počátečního obsahu. U extraktu, který byl skladovaný při teplotě 4°C v lednici, také klesl obsah antrachinonů, v průměru cca o 37 % (tabulka 4).

Z tabulky 4. můžeme vidět, že kyselé prostředí negativně ovlivňuje obsah antrachinonů ve vodném extraktu a to u obou druhů křídlatek. Naopak největší stabilitu vykazovaly extrakty v alkalickém prostředí, kde se obsah antrachinonů zvyšoval.

Tabulka 5. Porovnání celkového obsahu antrachinonů (mg CPE/ml) v extraktech z kořenů a stonků křídlatky japonské

extrakční poměr (g/l)	kořeny	kořeny	stonky
	Soběslav	Jindřichův Hradec	Jindřichův Hradec
1	0,778 ±0,101	1,093 ±0,111	0,0739 ± 0,010
2	1,483 ±0,193	1,558 ±0,201	0,0882 ± 0,010
3	1,586 ±0,206	1,948 ±0,232	0,3223 ± 0,042

CPE - ekvivalent chryzofanolu

Obsah antrachinonů v extraktech z kořenu křídlatky z prvního a druhého stanoviště je rozdílný. Ačkoliv jde o stejný druh obsah antrachinonů byl v extraktu ze druhého stanoviště (Jindřichův Hradec) v průměru větší o 0,250g. V extraktu získaném ze stonků byl obsah celkových antrachinonů v porovnání s obsahem v extraktu z kořenů minimální (tabulka 5)

5.9 Změna obsahu antrachinonů v jednotlivých variantách extrakce

Z tabulky 6. je patrné, že největší výtěžnost antrachinonů byla při extrakci sušených kořenů v lihu při 21°C po dobu 24 hodin. Druhá metoda, při které se dosáhlo vysoké výtěžnosti antrachinonů byla extrakce ze sušených kořenů ve vodě při 95°C po dobu 1 hodiny. Nejmenší výtěžnosti antrachinonů se dosáhlo extrakcí suchého materiálu ve vodě při 21°C po dobu 24 hodin.

Tabulka 6. Porovnání různých způsobů extrakce při použití 2g sušiny kořenů křídlatky na 1l extrakčního činidla

křídlatka	extrakce	mg CPE/ml	mg CPE/g sušiny
sachalinská	suché voda 21°C	1,280 ± 0,166	6,400
japonská	suché voda 21°C	1,576 ±0,205	7,878
japonská	suché líh 21°C	2,698 ± 0,351	13,493
sachalinská	suché líh 21°C	2,806±0,304	14,033
sachalinská	*čerstvé voda 95°C	1,586± 0,206	7,930

japonská	*čerstvé voda 95°C	1,625 ±0,211	8,125
japonská	suché voda 95 °C	1,920 ± 0,250	9,596
sachalinská	suché voda 95 °C	1,826 ± 0,237	9,134

*- průměrný obsah sušiny v kořenech činil 74,69±8,60%

6. Diskuze

Zjistili jsme, že kořen křídlatky sachalinské a japonské je v primární kůře zbarven do žluto oranžova (obsah barviva) a uprostřed kořenu, tzv. xylému je sytě oranžový (obsah barviva). Podobně Hejný a Slavík (1990) uvádí, že tkáň oddenků křídlatek je žlutá až oranžová s tmavším středem rašící očka bývají obvykle do červené barvy.

Zkouška přítomnosti druhu rostlinných barviv v extraktech na základě odlišné reakce rostlinných barviv na změnu pH, potvrdila přítomnost antrachinonových barviv v extraktu z křídlatky, která jsou žlutá v kyselém prostředí a červeno fialová v alkáliích. Gessler et al. (2013) tvrdí, že nesubstituovaný antrachinon má slabě žlutou barvu a substituenty dávají molekule různé odstíny (žlutá, oranžová, oranžovo-hnědá, červená, hnědá, fialová). Také Bechtold et al. (2002) uvádí, že snížení pH v barvicí lázni, přidáním 1 ml kyseliny mravenčí ukázaly světlejší zbarvení extraktů.

Při porovnání extraktů z první lokality (Soběslav) a druhé lokality (Jindřichův Hradec) obsahoval více antrachinonů extrakt z kořenů křídlatky z druhé lokality. To může být způsobeno vyšší nadmořskou výškou. Wang et al. (2013) uvádí, že extrakt z rebarbory, která byla odebrána z lokality ve vyšší nadmořské výšce (3360 m. n. m.) vykazoval vyšší obsah antrachinonu, než v extraktech z rebarbory z nižší nadmořské výšky (2500 m. n. m.). Další vliv na obsah antrachinonu a dalších látek v extraktu může mít půdní druh. Jak uvádí Kovářová et al. (2010), zvýšený obsah antrachinonových derivátů a rasveratrolu byl sledován v kořenech křídlatky rostoucí na jílu a spraších.

Obě dvě křídlatky, ze kterých byl extrakt získán, vykazovaly poměrně vysoký obsah antrachinonů a materiál pro extrakci byl získán v době po květu. Naproti tomu Fan et al. (2009) uvádí, že extrakty před květem vykazovaly vyšší obsah antrachinonů a dalších devíti hlavních sloučenin než extrakty po květu.

Z jednotlivých variant extrakce, byla nejúčinnější z hlediska celkového obsahu antrachinonů z vysušených kořenů extrakce v lihu při 21°C po dobu 24 hodin. Další varianta kdy bylo dosaženo vysokého obsahu celkových antrachinonů byla extrakce vysušených kořenů ve vodní lázni při 95°C po dobu 1 hodiny. Podobně Wang et al. (2013), uvádí nejvyšší výtěžek antrachinonů při extrakci sušeného materiálu rebarbory v 80% methanolu po dobu 30 minut.

Největší stabilitu vykazovaly extrakty skladované na světle při 21°C, což dává předpoklad stability obarveného materiálu na světle. Bechtold a Mussak (2009) uvádí, že antrachinony a barviva od nich odvozené jsou téměř nejstálejší ke světlu ze všech červených organických barviv.

7. Závěr

- Jako zdroj případného barviva lze využít kořeny křídlatky japonské i sachalinské. Barvivo lze použít jako zdroj žluté či červenofialové barvy.
- Barvivy obsaženými v kořenech křídlatek jsou antrachinony.
- Extrakty získané z křídlatky japonské měly tmavší zbarvení oproti křídlatce sachalinské, kde byly barvy jasné.
- Vyšší obsah látek v extraktu měla křídlatka japonská oproti křídlatce sachalinské.
- Stanoviště má vliv na barevnost a obsah antrachinonů v extraktech.
- Největší vliv na změnu barvy extraktů měli kyselé podmínky, kde během skladování jas barev klesl, naopak extrakty skladované ve tmě při 4°C jas barev zvyšovaly.
- Způsob extrakce má vliv na barevnost extraktů. Ze sušených kořenů při lihové extrakci při 21°C bylo získáno více barviva a antrachinonů než z kořenů extrahovaných ve vodou za stejných podmínek.
- Celkový obsah antrachinonů v extraktech během skladování závisí na pH prostředí, u alkalických extraktů se obsah antrachinonů zvyšoval, u kyselých extraktů byl zaznamenán pokles jejich obsahu.

- Pro skladování extraktu lze doporučit extrakt bez úpravy pH a jako nevhodná ke skladování se jeví především kyselá úprava extraktu. Stabilitu extraktu nezvýšilo uložení ve tmě.
- Pro přípravu extraktu lze doporučit sušené kořeny při extrakčním poměru 3g na 1 litr vody a extrakci při 95°C po dobu 1 hodiny.
- Získané informace lze využít při aplikaci barviv křídlatek v průmyslu případně po ověření zdravotní nezávadnosti také v potravinářství.

Seznam použité literatury

Anonym 1 (2009): Bioflavonoidy [online]. [cit. 2019-01-20]. Dostupné z: <http://firesnake.pise.cz/106273-bioflavonoidy.html> (2.5.09)

Anonym 2 (2017): Aplikace chrysopanolu [online]. [cit. 2020-01-06]. Dostupné z: <http://cz.nfextract.com/info/application-of-chrysophanol-25171923.html>

ARITOMI, M., DONNELLY, D. M. X. (1976): Stilbene glucosides in the bark of *Pieca sitchensis*. *Phytochemistry* 15 (12): 2006-2008.

AXEL VOGEL. (2002): Anthraquinone in Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, Wiley-VCH, Weinheim.

BAILEY J. P., BEERLING D. J., CONOLLY A. P. (1994): *Fallopia japonica* (Houtt.) Ronse Decraene. *Journal of Ecology* 82: 959–979

BAILEY, J. P., BÍMOVÁ, K., MANDÁK, B. (2007): The potential role of polyploidy and hybridisation in the further evolution of the highly invasive *Fallopia taxa* in Europe. *Ecological Research* 22: 920–928.

BAILEY, J. P., BÍMOVÁ, K., MANDÁK, B. (2009): Asexual spread versus sexual

BAILEY, J. P., CONOLLY, A. P. (2000): Prize winners to pariahs – A history of

BEERLING, D. J., BAILEY, J. P., CONOLLY, A. P. (1994): *Fallopia japonica* (Houtt.) Ronse Decraene. *Journal of Ecology* 82: 959–979.

BECHTOLD, T., MUSSAK, R. (2009): Handbook of Natural Colorants (Steven, Ch. V., Ed.), Wiley. (19): 339–343.

BECHTOLD, T., TURCANU, A., GEISLER, S., GANGLBERGER, E. (2002): Process Balance and Product Quality in the Production of Natural Indigo From *Polygonum Tinctorium* Ait. Applying Low-Technology Methods, *Bioresource Technol.*, 81(3): 171.

BLECHA, J. (2012): Rakytník řešetlákový (*Hippophae Rhamnoides* L.) jako zdroj biochemicky aktivních látek, Bakalářská práce, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze.

BOOTH, S. L., SUTTIE J.W. (1998): Dietary intake and adequacy of vitamin K. *J Nutr.* 20(5):785-788.

COOKE, D., STEWARD, W. P., GESCHER, A. J., MARCZYLO, T. (2005): Anthocyanins from fruits and vegetables--does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41(13): 1931-1940.

- CVACHOVÁ, A., CHROMÝ, P., GAJDIČOVÁ, E., LESKOVJANSKÁ, A., PIETOROVÁ, E., ŠIMKOVÁ, A., ZALIBEROVÁ, M. (2002):** Průručka na určovanie vybraných invázných druhov rastlín [online]. [cit. 2013-03-14]. Dostupné z:http://www.sopsr.sk/publikacie/invazne/doc/prirucka_kluc.pdf
- ČOPÍKOVÁ, J., UHER, M., LAPČÍK, O., MORAVCOVÁ, J., DRAŠAR, P. (2005):** Přírodní barevné látky. *Chemické Listy* 99: 802-816.
- DAAYF, F., SCHMITT, A., BÉLANGER, R. R. (1995):** The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long english cucumber. *Plant Disease* 79(6): 577-580.
- DOLEŽAL, M. (2016):** Sloučeniny ovlivňující barvu potravin. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze 2016.
- DONG, X., FU, J., YIN, X., XINGBIN, YIN., SALI, CAO., XUECHUN, LI., LONGFEI, LIN. (2016):** Emodin: A review of its pharmacology, Toxicity and pharmacokinetics. *Phytother Res.* 30(8): 1207–1218.
- EMERTON, V., (2008):** *Food Colours*. Leatherhead International Ltd, Surrey, 197s.
- EOM, M. R., WEON, J. B., JUNG, Y. S., RYU, G. H., YANG, W. S., MA, C. J. (2017):** Neuroprotective compounds from *Reynoutria sachalinensis*. *Arch. Pharm. Res.* 40: 704–712.
- FAN, P., HAY, A. E., MARSTON, A., LOU, H., HOSTETTMANN, K. (2009):** Chemical variability of the invasive neophytes *Polygonum cuspidatum* Sieb. and Zucc. and *Polygonum sachalinensis* F. Schmidt ex Maxim. *Biochemical Systematics Ecology* 37(1): 24–34.
- FORKMANN, G. (1991):** Flavonoids as flower pigments: The formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering. *Plant Breeding.* 106 (1): 1–26.
- FORMICA, J. V., REGELSON, W. (1995):** "Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids". *Food and Chemical Toxicology* 33 (12): 1061–1080.
- FREUND, P. R, WASHAM, C. J, MAGGION, M. (1988):** Natural color for use in foods. *Cereal Foods World* 33: 553-559.
- FUENTES, N., SALDANA, A., PFANZELT, S. (2009):** *Fallopia japonica* (Houtt.) Ronse Decr. (Polygonaceae): a new rekord for the alien flora of Chile. *Gayana Botanica* 66(2): 283–285.

- FUENTES, N., SALDANA, A., PFANZELT, S. (2011):** *Falopia sachalinensis* (F.Schmidt) Ronse Decr. (Polygonaceae): a new rekord for the alien flora of Chile. *Gayana Botanica* 68(2): 338–340.
- GAJOVÁ, A. (2020):** Fungal anthraquinones. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 49(2): 85–99.
- GAO, P. P., YU, Z. C., ZHANG, W. W., LV, G. L., YANG, B., DAI, X. Q. (2009):** The extraction of natural dyes from *Polygonum cuspidate* Sieb and its application in soybean protein fabrics. *Silk* (1), 16.
- GESSLER, N. N., EGOROVA, A. S., BELOZERSKAYA, T. A. (2013):**
- HARMATHA, J. (2002):** *Chemie a biochemie přírodních látek. Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha.*
- HEJNÝ, S., SLAVÍK, B. (1990):** *Květena České republiky. 2., Praha:Academia..*
- HEJNÝ, S., SLAVÍK, B. (1990):** *Květena České republiky: 2. díl. Praha:Academia.*
- HODEK, P., TREFIL, P., STIBOROVÁ M. (2002):** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P 450, *Chemico-Biological Interactions* 139: 1-21.
- HOLLINGSWORTH, M. L., BAILEY, J. P. (2000):** Evidence for massive clonal growth in the invasive weed *Fallopia japonica* (Japanese Knotweed). *Botanical Journal of the Linnean Society* 133(4): 463–472.
- CHOI, G. J., SEON-WOO, L., KYOUNG, S. J., JIN-SEONG, KIM., KWANG, Y, CH., JIN-CHEOL, K. (2004):** "Effects of chrysophanol, parietin, and nepodin of *Rumex crispus* on barley and cucumber powdery mildews". *Crop Protection* 23 (12): 1215–1221.
- JAHOĐÁŘ, L., (2012):** *Farmakobotanika-semenné rostliny. Praha: Karolinum.*
- Japanese Knotweed s. l. (Polygonaceae). Watsonia* 23:93–110.
- JASIŃSKI, M., JASIŃSKA, L., OGRODOWCZYK, M. Resveratrol in prostate diseases - a short review. Cent European J Urol.. 66(2):144-149.**
- KONDROVÁ, E., OZGOVÁ, Š., GUT, I. (2006):** Přirozené fenolické látky jako antioxidanty a prooxidanty a mechanismy jejich působení, *České pracovní lékařství* 4: 195-200.
- KOVÁŘOVÁ, M., BARTUŇKOVÁ, K., FRANTÍK, T., KOBLIHOVÁ, H., PRCHALOVÁ, K., VOSÁTKA, M. (2010):** Factors influencing the production of stilbenes by the knotweed, *Reynoutria x bohemica*. *BMC Plant Biology*, 10:19.

KUBIENOVÁ, L., VINTER, V. (2013): Experimenty pro přírodovědné kroužky na téma: Rostliny, léčivé látky, drogy. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.

LIU, Y., AHMED, S., LIU, B., GUO, Z., HUANG, W., WU, X., LONG, C. (2014): Ethnobotany of dye plants in Dong communities of China. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10(1): 23.

MANDÁK, B., PYŠEK, P., BÍMOVÁ, K. (2004): History of the invasion and distribution of *Reynoutria* taxa in the Czech Republic: a hybrid spreading faster than its parents. *Preslia* 76: 15–64.

MCMURRY, J. (2007): Organická chemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická.

MLÍKOVSKÝ, J., STÝBLO P. (2006): Nepůvodní druhy fauny a flory České republiky. Praha: Český svaz ochránců přírody.

MORAVCOVÁ, J. (2006): Biologicky aktivní přírodní látky. Praha, Dostupné z: <http://www.vscht.cz/lam/new/bapl2003-01.pdf>.

MULLER-LISSNER, S.A. (1993): Adverse effects of laxatives: fact and fiction. *Pharmacology* 47 (Suppl 1): 138–145

NYBAKKEN, L., ASBJORN, S. K., BILGER, W., GAUSLA, Y. (2004): The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats. *Oecologia* 140 (2): 211–216.

PATOČKA, J. (2005): Křídlatka: obtížný plevel, nebo perspektivní surovina? *Vesmír* 84(8):465.

PATOČKA, J. (2016): Křídlatka jako zdroj bioaktivních látek. *Botanika* 4(2): 10.

PENG, W., QIN, R., LI, X., ZHOU, H. (2013): Botany, phytochemistry, pharmacology, and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb.et Zucc.: A review. *J. Ethnopharmacol.* 148: 729–745.

PYŠEK, P., TICHÝ, L. (2001): Rostlinné invaze. Brno: Rezekvítek.

reproduction and evolution in Japanese Knotweed s. l. sets the stage for the “Battle of the Clones“. *Biological Invasions* 11: 1189–1203.

RHODES, MJ. (1996): Physiologically-active compounds in plant foods: an overview. *Proc Nutr Soc.* 55(1B): 371-84.

ROMERO-PÉREZ, A. I., IBERN-GOMEZ, M., LAMUELA-RAVENTON, R. M., DE LA TORRE-BORONAT, M. C. (1999): Piceid, the major resveratrol

derivative in grape juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (4): 1533–1536.

SHEARER, M. J. (1995): Vitamin K. *Lancet*. 345(8944):229-234.

SINGH, H. B., BHARATI, K. A. (2014): *Handbook of Natural Dyes and Pigments*. Woodhead Publishing New Delhi.

SOLEAS, G. J., DIAMANDIS, E. P., GOLDBERG, D. M. (1997): Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clin. Biochem.* 30: 91–113.

SONG, J., ZHANG, M., TIAN, Y., AN, S. S. (2012): Study on the preparation and performance of natural *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc pigments dyed PBS composite. *Advanced Materials Research* 393: 1497-1500.

STUPAVSKÝ, V. (2008): Nezapomínejme na křídlatku. *Biom.cz* [online]. 2008-07-07 [cit. 2019-01-14]. Dostupné z: <https://biom.cz/cz/odborneclanky/nezapominejme-nakridlatku>.

TELEUȚĂ, A., ȚÎȚEL, V., COȘMAN, S. (2013): Biological characteristics and fodder value of some species of plants of the genus *Polygonum* L. Under the conditions of the Republic of Moldova. *Bulletin UASMV, Agriculture*, 70(1): 258–257.

VELÍŠEK, J. (2002): *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS.

VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. (2009): *Chemie potravin*. OSSIS, Tábor.

VENIGALLA, M., GYENGESI, E., MUNCH, G. (2015): "Curcumin and Apigenin – novel and promising therapeutics against chronic neuroinflammation in Alzheimer's disease". *Neural Regeneration Research* 10 (8): 1181–5.

VIK, M. (1995): Měření barevnosti a vzhledu: barevné odchylky [online]. [cit. 2016-04-18]. Dostupné z: <http://dirk.kmi.tul.cz/depart/ktc/sylaby/Kolorimetrie/vcoldif.pdf>

VODRÁŽKA, Z. (1998): *Biochemie pro studenty středních škol a všechny, které láká tajemství živé přírody*. Scientia. Praha.

VODRÁŽKA, Z. (2002): *Biochemie*. Praha: ACADEMIA.

VOTRUBOVÁ, O. (2017): *Anatomie rostlin*. Charles University in Prague, Karolinum Press.

VRCHOTOVÁ, N., SERÁ, B., TRÍSKA, J. (2007): The stilbene and catechin content of the spring sprouts of *Reynoutria* species. *Acta Chromatographica* 19: 21–28.

WANG, H., LIU, L., GUO, Y. X., DONG, Y. -S., ZHANG, D. J., XIU, Z. L. (2007): Biotransformation of piceid in *Polygonum cuspidatum* to resveratrol by *Aspergillus oryzae* *Applied Microbiology and Biotechnology* 75 (4): 763–768.

WANG, Z., XU, L., HE, CH., PENG, Y., XIAO, P. (2013): Evaluation of the content variation of anthraquinone glycosides in rhubarb by UPLC-PDA. *Chemistry Central Journal* 7:170.

YANG, H., HUANG, Y. Q., & LUO, Y. H. (2009): Optimization the Water Extracting Technology for Pingzhi Capsule and determination of Total Anthraquinones in it [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 12.

YANG, X., LI, X., REN, J. (2014): From french paradox to cancer treatment: Anti-cancer activities and mechanisms of resveratrol. *Anticancer Agents Med Chem.* 14 (6): 806-25.

ZHANG, H., LI, C., KWOK, S.T., ZHANG, Q.W., CHAN, S.W. A. (2013): Review of the pharmacological effects of the dried root of *Polygonum cuspidatum* (Hu Zhang) and its constituents. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* (1): 208–349.

ZHANG, W. W., GAO, P. P., LU, G. L., YU, Z. C., YANG, B., DAI, X. Q. (2008): Natural dye extraction from *Reynoutria japonica* and its usage in cotton dyeing. *J Zhejiang Sci-Tech Univ* 4: 8.

ZHANG, W. W., GAO, P. P., LV, G. L., YU, Z. C., YANG, B., DAI, X. Q. (2008): Extraction of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et natural dye and its usage in cotton dyeing. *Journal of Zhejiang Sci-Tech University* 4: 8.

Seznam obrázků

Obrázek 1. Křídlatka japonská (Barney et al., 2006).....	13
Obrázek 2. Křídlatka sachalinská (Fojcik 2000).....	14
Obrázek 3. Křídlatka česká (Chrtek, Chrtková 1983).....	15
Obrázek 4. Rozšíření křídlatky japonské na území ČR (Mandák 2006).....	16
Obrázek 5. Rozšíření křídlatky sachalinské na území ČR (Mandák 2006)	17
Obrázek 6. Rozšíření křídlatky české na území ČR (Mandák 2006).....	18
Obrázek 7. Rýže obarvená rostlinnými barvivy v provincii Hunan v Číně (LIU et al ., 2014)	20
Obrázek 8. Mapa místa odběru křídlatky japonské a sachalinské (Anonym 2020)...	30
Obrázek 9. Místo odběru A) křídlatky japonské B) křídlatky sachalinské	31
Obrázek 10. Pravoúhlé a cylindrické souřadnice CIELab barevného prostoru (Vik 1995)	34
Obrázek 11. Příklad výstupu v programu Lovibond PFX195 při měření extraktů křídlatky	34
Obrázek 12. Příčný řez kořenem křídlatky japonské pod mikroskopem	36
Obrázek 13. Detail primární kůry kořene křídlatky japonské.....	36
Obrázek 14. Příčný řez stonkem (vlevo k. japonská, vpravo k. sachalinská) ...	Chyba!
Záložka není definována.	
Obrázek 15. Příčný řez kořenem A) křídlatka japonská B) křídlatka sachalinská.....	37
Obrázek 16. Extrakt z křídlatky A) japonské a B) sachalinské (z leva výchozí zbarvení, zbarvení po okyselení a alkalický extrakt).....	38
Obrázek 17. Výsledky metody TCL (z leva křídlatka japonská, křídlatka sachalinská a chryzofanol).....	43

Seznam tabulek

Tabulka 1. Hodnoty barevnosti extraktů z křídlatky stanovené na kolorimetru	39
Tabulka 2. Hodnoty barevnosti extraktů u křídlatky japonské z druhého stanoviště (JH)	39
Tabulka 3. Porovnání barevnosti extraktů získaných ze sušených kořenů křídlatek různým způsobem extrakce.....	42
Tabulka 4. Porovnání vlivu pH a podmínek skladování po dobu dvou měsíců na celkový obsah antrachinonů (mg CPE/ml) v extraktech z kořenů křídlatek.....	43
Tabulka 5. Porovnání celkového obsahu antrachinonů (mg CPE/ml) v extraktech z kořenů a stonků křídlatky japonské	44
Tabulka 6. Porovnání různých způsobů extrakce při použití 2g sušiny kořenů křídlatky na 1l extrakčního činidla	44

Seznam grafů

Graf 1. Změna barevnosti (ΔE^*ab) po jednom a dvou měsících skladování extraktů z kořenů křídlatky sachalinské při různých koncentracích extraktu.....	40
Graf 2. Změna barevnosti (ΔE^*ab) po jednom a dvou měsících skladování extraktů z kořenů křídlatky japonské při různých koncentracích extraktu	41

Seznam příloh

Tabulka 1. Hodnoty L, a, b, naměřené na počátku skladování extraktů z kořenů křídlatky při úpravě pH a různých koncentracích extraktu	55
Tabulka 2. Hodnoty L, a, b, naměřené na kolorimetru na začátku skladování extraktů z kořenů křídlatky v různých podmínkách bez úpravy pH a při různých koncentracích extraktu.....	55
Tabulka 3. Hodnoty L, a, b, naměřené na konci skladování extraktů z kořenů křídlatky při různých koncentracích.....	56
Příloha 4. Hodnoty L, a, b, na konci skladování extraktů z kořenů křídlatky v různých podmínkách bez úpravy pH a při různých koncentracích extraktu.....	58

Příklad 1. Schopnost extraktu křídlatky sachalinské získaného ze sušeného kořene extrakcí ve vodě 95°C po dobu 1 hodiny obarvit bílé bavlněné plátno při vložení 95°C horkého extraktu po dobu 1 hodiny.....57

Přílohy

Tabulka 1. Hodnoty L, a, b, naměřené na počátku skladování extraktů z kořenů křídlatky při úpravě pH a různých koncentracích extraktu

	L	a	b
Sachalinská, alkalický, světlo 1 (21°C)	39,95	54,02	68,36
Sachalinská, alkalický, světlo 2 (21°C)	28,63	48,67	49,14
Sachalinská, alkalický, světlo 3 (21°C)	14,49	38,18	29,95
Japonská, alkalický, světlo 1 (21°C)	27,28	43,76	46,85
Japonská, alkalický, světlo 2 (21°C)	0,19	27,66	7,18
Japonská, alkalický, světlo 3 (21°C)	0,17	19,49	6,7
Japonská, kyselý, světlo 1 (21°)	43,49	17,55	65,26
Japonská, kyselý, světlo 2 (21°)	11,65	16,03	19,49
Japonská, kyselý, světlo 3 (21°C)	0,19	12,98	9,59
Sachalinská, kyselý, světlo 1 (21°C)	63,3	10,37	82,82
Sachalinská, kyselý, světlo 2 (21°C)	39,59	18,74	64,41
Sachalinská, kyselý, světlo 3 (21°C)	19,31	18,9	32,99

Tabulka 2. Hodnoty L, a, b, naměřené na kolorimetru na začátku skladování extraktů z kořenů křídlatky v různých podmínkách bez úpravy pH a při různých koncentracích extraktu

	L	a	b
Japonská, světlo 1 (21°C)	42,69	25,33	67,59
Japonská, světlo 2 (21°C)	32,15	28,74	54,35
Japonská, světlo 3 (21°C)	24,8	28,21	42,42
Sachalinská, světlo 1 (21°C)	66,55	19,27	91,79
Sachalinská, světlo 2 (21°)	51,85	27,4	83,64
Sachalinská, světlo 3 (21°C)	30,09	30,86	64,5
Sachalinská, tma 1 (21°C)	65,41	17,33	88,88
Sachalinská, tma 2 (21°C)	39,99	19,18	64,98
Sachalinská, tma 3 (21°C)	53,24	25,65	86,52
Japonská, tma 1 (21°C)	44,4	24,19	69,7
Japonská, tma 2 (21°C)	28,45	26,23	48,15
Japonská, tma 3 (21°C)	11,23	21,25	19,29
Sachalinská, tma 1 (4°C)	68,58	12,04	89,11
Sachalinská, tma 2 (4°C)	61,34	19,28	92,68
Sachalinská, tma 3 (4°)	52,7	24,9	85,93
Japonská, tma 1 (4°C)	54,85	16,55	77,81
Japonská, tma 2 (4°C)	50,14	23,21	80,16
Japonská, tma 3 (4°C)	45,15	26,07	73,91

Tabulka 3. Hodnoty L, a, b, naměřené na konci skladování extraktů z kořenů křídlatky při různých koncentracích extraktu

	L	a	b
Sachalinská, alkalický, světlo 1 (21°C)	34,94	49,22	60,17
Sachalinská, alkalický, světlo 2 (21°C)	11,4	36,94	19,66
Sachalinská, alkalický, světlo 3 (21°C)	0,14	2,1	0,56
Japonská, alkalický, světlo 1 (21°C)	0,2	31,79	13,21
Japonská, alkalický, světlo 2 (21°C)	0,14	0,14	0,05
Japonská, alkalický, světlo 3 (21°C)	0,14	0,12	0,04
Japonská, kyselý, světlo 1 (21°)	61,16	11,2	64,94
Japonská, kyselý, světlo 2 (21°)	59,15	21,26	87,28
Japonská, kyselý, světlo 3 (21°C)	58,03	25,28	89,83
Sachalinská, kyselý, světlo 1 (21°C)	81,65	5,55	78,82
Sachalinská, kyselý, světlo 2 (21°C)	70,75	14,7	92,19
Sachalinská, kyselý, světlo 3 (21°C)	54	25,75	86,64

Tabulka 2. Hodnoty L, a, b, naměřené na konci skladování extraktů z kořenů křídlatky v různých podmínkách bez úpravy pH a při různých koncentracích extraktu

19. 12. 2019	L	a	b
Japonská, světlo 1 (21°C)	34,64	31,33	58,17
Japonská, světlo 2 (21°C)	18,14	29,12	30,1
Japonská, světlo 3 (21°C)	12,92	26,85	21,35
Sachalinská, světlo 1 (21°C)	55,18	24,81	84,12
Sachalinská, světlo 2 (21°)	50,62	29,61	82,3
Sachalinská, světlo 3 (21°C)	37,13	32,18	62,64
Sachalinská, tma 1 (21°C)	55,68	24,3	86,11
Sachalinská, tma 2 (21°C)	61,28	19,97	93,02
Sachalinská, tma 3 (21°C)	68,14	16,45	96,09
Japonská, tma 1 (21°C)	48,38	22,48	72,19
Japonská, tma 2 (21°C)	44,26	27,12	72,44
Japonská, tma 3 (21°C)	40,43	28,72	67,25
Sachalinská, tma 1 (4°C)	78,08	5,45	92,84
Sachalinská, tma 2 (4°C)	72,5	13,93	101,06
Sachalinská, tma 3 (4°)	65,64	22,54	101,56
Japonská, tma 1 (4°C)	58,34	17,83	76,88
Japonská, tma 2 (4°C)	51,92	25,45	82,76
Japonská, tma 3 (4°C)	47,45	28,58	77,23

Příklad 1. Schopnost extraktu křídlatky sachalinské získaného ze sušeného kořene extrakcí ve vodě 95°C po dobu 1 hodiny obarvit bílé bavlněné plátno při vložení 95°C horkého extraktu po dobu 1 hodiny