

**Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici**



**Stanovení flavonoidů ve vybraném sortimentu rodu *Iris* L. a možnosti
jejich použití jako rostlinných barviv**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:
Ing. Jarmila Neugebauerová, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Barbora Valešová

Lednice 2017



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autorka práce: Bc. Barbora Hejlová
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Zahradnictví
Vedoucí práce: Ing. Jarmila Neugebauerová, Ph.D.

Název práce: **Stanovení flavonoidů ve vybraném sortimentu rodu *Iris* L. a možnosti jejich použití jako rostlinných barviv**

Zásady pro vypracování:

1. Charakterizovat druhy rodu *Iris* L. významné ve fytoterapii.
2. Zabývat se obsahem a chemismem flavonoidů a metodami jejich stanovení.
3. Stanovit obsah flavonoidů v oddencích a květech vybraných druhů, zjištěné hodnoty porovnat a statisticky vyhodnotit.
4. V praktické části se kromě stanovení jednotlivých flavonoidů zabývat i využitím květů k barvení bavlny a navázat tak na výsledky prezentované v bakalářské práci.

Rozsah práce: do 60 stran textu, počet příloh není omezen

Literatura:

1. GAZDÍK, Z. -- ŘEZNIČEK, V. -- SALOUN, B. -- ADAM, V. -- BABULA, P. -- HORNA, A. -- KIZEK, R. Employing of high performance liquid chromatography with UV-VIS and electrochemical detection for determination of phenols in plants tissues. In *Vitamins 2008 - Nutrition and Diagnostics*. 1. vyd. Pardubice, Czech Republic: University of Pardubice, 2008, s. 158--159. ISBN 978-80-7318-708-8.
2. ANDERSEN, O M. -- MARKHAM, K R. *Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 1237 s. ISBN 0-8493-2021-6.

3. RICE-EVANS, C. -- PACKER, L. Flavonoids in health and disease. New York. 2003. ISBN 9781439858110, 978-0-8247-4234-8. URL: <http://marc.crcnetbase.com/isbn/9781439858110>.
4. KAŠŠÁK, P. Secondary Metabolites of the Chosen Genus Iris Species. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 2012. sv. 60, č. 8, s. 269--280. ISSN 1211-8516.
5. KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
6. CAIVANO, J L. -- PILAR BUERA, M D. Color in food : technological and psychophysical aspects. Boca Raton, Fla. 2012. ISBN 978-1-4398-7693-0, 9781439876947. URL: <http://dx.doi.org/10.1201/b11878>.
7. GROTEWOLD, E. *The science of flavonoids*. New York: Springer, 2006. 273 s. ISBN 0-387-28821-X.
8. DYKES, W R. *The genus Iris*. New York: Dover Publications, 1974. 245 s. ISBN 0-486-23037-6.
9. KAŠŠÁK, P. -- KULIG, M. Dyeing Potential of the Iris sibirica L. flowers. *European Scientific Journal*. 2014. sv. September, č. Vol. 2, s. 372--380. ISSN 1857-7881.
10. ZÁVIŠKOVÁ, L. *Hodnocení kvetení vabraných druhů kosatců skupiny Limniris*. Bakalářská práce. Brno: MENDELU Brno, 2014. 43.
11. AUSTIN, C. *Iris : a gardener's encyclopedia*. Portland, Or.: Timber Press, 2005. 339 s. ISBN 0-88192-730-9.
12. KAŠŠÁK, P. Porovnanie morfológických charakteristík kultivarov Iris sibirica L. a Iris pseudacorus L. vzhľadom na klimatické podmienky prostredia. *Zahradníctví*. 2012. sv. 11, č. 3, s. 40--43. ISSN 1213-7596.
13. KAŠŠÁK, P. Screening of the presence of Iron (C14H22-0) in the rootstocks of the chosen Iris species. In *Proceedings in Advanced Research in Scientific Areas*. 1. vyd. Žilina: EDIS - Publishing Institution of the University of Žilina, 2012, s. 1487--1489. ISBN 978-80-554-0606-0.
14. KAŠŠÁK, P. -- BABULA, P. -- ŠMEJKAL, K. Screening přítomnosti vybraných antokyanových farbív V kvetoch najpestovanejších kultivarov Iris sibirica. [CD-ROM]. In *Zahradníctvo* 2012. s. 51--56. ISBN 978-80-552-0820-6.
15. GOLDBLATT, P. -- MANNING, J. *The Iris family : natural history and classification*. Portland: Timber Press, 2008. 290 s. ISBN 978-0-88192-897-6.

Datum zadání: prosinec 2015

Datum odevzdání: květen 2017

Bc. Barbora Hejlová

Autorka práce

Ing. Jarmila Neugebauerová, Ph.D.

Vedoucí práce

prof. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.

Vedoucí ústavu

prof. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.

Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci:

vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:.....

Podpis studentky:.....

Poděkování

Velice děkuji paní doktorce Ing. Jarmile Neugebauerové, Ph.D. za pomoc při zpracování podkladů, vyhodnocení výsledků z laboratorní části, odborné vedení a cenné rady, které mi byly poskytovány po celou dobu zpracování mé diplomové práce. Za pomoc při laboratorních pokusech děkuji Marcele Hořínkové a v neposlední řadě, děkuji i mému manželovi, který mě celou dobu podporoval.

OBSAH

1 ÚVOD.....	10
2 CÍL PRÁCE.....	11
3 LITERÁRNÍ ČÁST	12
3.1 Charakteristika čeledi <i>Iridaceae</i>	12
3.1.1 Charakteristika rodu <i>Iris</i> L.....	13
3.1.2 Podrod <i>Limniris</i> (bezbradé kosatce)	16
3.1.3 Vybrané kultivary <i>Iris sibirica</i>	18
3.1.4 Podrod <i>Barbata</i> (bradaté kosatce)	23
3.1.5 Vybrané kultivary <i>Iris barbata</i>	24
3.1.6 Kosatce ve fytoterapii	31
3.2 Obsahové látky.....	33
3.2.1 Primární metabolity	33
3.2.2 Sekundární metabolity	33
3.2.3 Sekundární metabolity obsažené v čeledi <i>Iridaceae</i>	37
3.3 Antioxidanty.....	39
3.3.1 Primární antioxidanty	40
3.3.2 Sekundární a synergické antioxidanty	40
3.3.3 Účinky antioxidantů.....	40
3.3.4 Fenolické látky.....	42
3.4 Barvení pomocí květů kosatce	52
3.4.1 Historie barvení.....	52
3.4.2 Mořidla užívaná ke stabilizaci barev	53
3.4.3 Charakteristika textilního materiálu.....	54
3.4.4 Metody barvení	54
3.4.5 Příprava barvené textilie	55
3.4.6 Příprava filtrátu k barvení	56

3.4.7 Barvení za studena (louhování)	56
3.4.8 Barvení za varu	56
3.4.9 Hodnocení získaných barev	56
3.4.10 Výsledky barvení bakalářské práce, HEJLOVÁ, 2015	57
4. MATERIÁL A METODY	60
4.1 Materiál	60
4.1.1 Charakteristika místa sběru pokusného materiálu	60
4.1.2 Použitý rostlinný materiál	60
4.2 Metody	63
4.2.1 Stanovení sušiny	63
4.2.2 Methanolový výluh pro stanovení flavonoidů, fenolů, antioxidační kap.	64
4.2.3 Methanolový výluh pro stanovení anthokyanů.....	64
4.2.4 Stanovení celkového obsahu fenolů	65
4.2.5 Stanovení celkového obsahu flavonoidů	65
4.2.6 Stanovení celkového obsahu antioxidační kapacity	65
4.2.7 Stanovení celkového obsahu anthokyanů (pH diferenciální metoda)	65
4.2.8 Barvení.....	66
5 VÝSLEDKY A VYHODNOCENÍ	68
5.1 Výsledky stanovení celkového obsahu fenolů.....	68
5.2 Výsledky stanovení celkové obsahu flavonoidů.....	70
5.3 Výsledky stanovení celkové antioxidační kapacity	73
5.4 Výsledky stanovení celkového obsahu anthokyanů	75
5.5 Výsledky barvení	77
6 DISKUZE	82
7 ZÁVĚR	87
8 SOUHRN	89
9 RESUME	90

10 POUŽITÁ LITERATURA	91
11 PŘÍLOHY	99

1 ÚVOD

Iris byla starořeckou bohyní duhy. Starověcí Řekové pěstovali kosatce, protože věřili, že jim usnadní pouť do podsvětí. Zmínky o kosatcích sahají více do historie, konkrétně na Blízkém východě je pěstovali zemědělci již před více než 7000 lety. Další významná kultura, u které byly zmínky o kosatcích zaznamenány, jsou Egyptané. Konkrétní záznam se nachází ve výčtu válečné kořisti, kterou faraón Thutmos přivezl ze syrských válek v roce 1915 př. n. l. Okolo roku 1500 př. n. l. se začíná kosatec objevovat na seznamu léčivých rostlin. I když byly kosatce pěstovány především jako okrasné rostliny, tak již Římané věděli, že oddenky některých druhů po usušení příjemně fialkově voní a byly používány pro svoji vonnou funkci. V Itálii se dodnes pěstuje pro získání vonné esence *Iris pallida*, někdy přezdívaný „fialkový kořen“. Toto pojmenování nalezneme i v české literatuře.

U některých druhů kosatců byly prokázány léčivé účinky. Účinnou látkou je silice, kterou tvoří především kyselina myristová, dále jsou to glykosidy (iridin), slizy, škroby a organické kyseliny. Droga (kořen kosatce) snižuje dráždivost a usnadňuje odkašlávání. V čínské medicíně se kromě evropských druhů užívají i druhy např. *Iris anguifuga* jako projímadlo a při uštknutí hadem. Proti horečce nebo plicní tubeře se užívá *Iris japonica* a na léčbu angíny a akutní bronchitidy se užívá *Iris confusa*.

Díky celé řadě chemických látek, které v sobě obsahují, jsou zástupci celosvětově rozšířeného rodu *Iris* L. hojně využíváni nejen v léčitelství, ale i v kosmetice.

Další možností, jak využít kosatce je jako rostliny barvířské. Ve středověku byla známá kosatcová zeleň, která se nejprve užívala v malbách středověkých rukopisů a následně k barvení textilií.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo charakterizovat čeleď *Iridaceae*, rod *Iris* L. a kultivary užité pro detekci obsahových látek a také popsat význam čeledi ve fytoterapii. Zabývat se chemismem a obsahem flavonoidů v oddencích a květech vybraných kultivarů. Popsat metody, jejichž užití je nejvhodnější pro stanovení obsahu flavonoidních, fenolických, antioxidačních a anthokyanových látek. V praktické části bylo předmětem zjistit přítomnost výše zmíněných látek u konkrétních kultivarů druhu *Iris barbata* a dvou kultivarů *Iris sibirica*, změřit, stanovit a celkově vyhodnotit. V neposlední řadě se kromě stanovení výše zmíněných obsahových látek zabývat i využitím květů vybraných kultivarů druhu *Iris sibirica* k barvení za užití mořidel a navázat tak na výsledky prezentované v bakalářské práci (HEJLOVÁ, 2015).

3 LITERÁRNÍ ČÁST

3.1 Charakteristika čeledi *Iridaceae*

Iridaceae, česky kosatcovité je čeleď, kterou roku 1789 zavedl A. L. de JUSSIEUM a je brána jako samostatná čeleď ve všech klasifikačních systémech (TAKHTADZHĀN, 2009). Významné rody především z pohledu ekonomického jsou *Iris* (240 druhů), *Gladiolus* (230 druhů), *Moraea* (125 druhů), *Sisyrinchium* (100 druhů), *Crocus* (75 druhů), *Ixia* (45 druhů), *Freesia* (20 druhů) a *Tigridia* (12 druhů) (SINGH, 2010).

Morfologie

Čeleď je charakteristická svou širokou barevnou škálou květů a velkou diverzitou. Čeleď *Iridaceae* zahrnuje především trvalky a ojediněle letničky, ve většině případů jde o byliny, keře se vyskytují ojediněle. Zásobními orgány jsou oddenky a někdy to mohou být i bazální hlízy (BARANEC, 1998).

Dle (JACKSON, 1992) jsou typickými znaky *Iridaceae* okrouhlé buňky v kořenech, na obvodu kořene s malými mezibuněčnými prostory. Kořeny obsahují dva, tři, čtyři i více protoxylemových skupin. Listy bývají ve většině případů střídavé, dvojřadé, jednoduché, celokrajné s rovnouběžnou žilnatinou. Obvykle unifaciální (je možné je na příčném řezu rozdělit jednou osou souměrnosti na dvě stejné části). Jsou nedělené, rovné, mají mečovitý tvar, rostou souběžně s květním stonkem (SIMPSON, 2010).

Zástupci z čeledi *Iridaceae* tvoří květní stonek, který nese jeden květ, nebo více květů, které jsou seskupené do soukvětí. Květy jsou oboupohlavné aktinomorfní či zygomorfní, stopkaté nebo přisedlé. Nejčastější počet okvětních listů je 6, v některých případech jsou venkovní odlišné od vnitřních. Květní obaly se nalézají ve dvou kruzích. Květy v cymózních soukvětích jsou podpořené listeny, ty bývají v počtu jeden nebo dva (MÁRTONFI, 2003). Vzhledově jsou květy podobné čeledi amarilkovitých, liší se pouze v počtu tyčinek. U většiny kosatcovitých se vyskytuje spodní semeník, ale ztratily vnitřní kruh tyčinek. Tyčinky jsou volné nebo zastrčené ve spodní části květu. Gynoceum je synkarpní (plodolisty srůstají s bočními stranami), semeník je epigymický (spodní), někdy se objeví i horní semeník (hypogymický), to však jen výjimečně (SIMPSON, 2010). Plodem je tobolka. Osemení má většinou hnědou barvu (HARBORNE, 2000).

Ekologie a cenologie

Rostliny čeledi můžeme nalézt na březích vodních ploch, toků, rákosin, porostů a lužních lesů. Převážně se jí daří na osluněných stanovištích popř. v polostínu. Půdy preferuje nivní, oglejené a hydromorfní.

Rozšíření

Největší druhové zastoupení čeledi nalezneme v Africe, hlavně v oblasti jižní Sahary. Výskyt ukazuje na skoro 1300 druhů, z nichž více než 1100 nalezneme v jižní Africe (GOLDBLATT, 2008). Na území Evropy, Asie, severní Afriky a Kanárských ostrovů bylo zaznamenáno 335 druhů, původem z Ameriky je 290 druhů a v Austrálii se nachází 36 druhů (GOLDBLATT, 2000).

3.1.1 Charakteristika rodu *Iris* L.

Říše: *Plantae*

Oddělení: *Magnoliophyta* – krytosemenné rostliny

Třída: *Liliopsida* – jednoděložné rostliny

Řád: *Asparagales* – chřestotvaré

Čeleď: *Iridaceae* – kosatcovité

Podčeleď: *Iridoideae*

Rod: *Iris* – kosatec

(BATOUŠEK, 2010)

Kosatce můžeme rozeznat dle charakteristických znaků, kterými jsou stavba květu, tvar listu a oddenek (VANĚK, 1968). Kosatce mohou dorůst až do výšky 2 m a květy zahrnují širokou škálu barev od bílé přes žlutou až k černé (MALÝ, 2012). Irisy řadíme mezi vytrvalé byliny, které vytváří podzemní systém pomocí hlíz, oddenků nebo cibulí, to vše pro schopnost přežití v extrémních podmínkách (AUSTIN, 2005).

Rod *Iris* je rodem jednoděložných rostlin, který má velmi rozsáhlý počet druhů, okolo 250, odrůd je několik tisíc (GOLOVKIN, a další, 1990). Druhy kosatců jsou rozšířeny jak v mírných, tak i subtropických oblastech severní polokoule (GOLDBLATT, 2008).

Vyskytují se od horských oblastí, přes pastviny, husté lesy, pobřežní oblasti až pouště. (AUSTIN, 2005).

Řadíme je k jednomu z nejproměnlivějších rostlin a to díky různorodým barvám a tvarům listů a květů, stavbě oddenků i cibulím (ŠTURSA, 1997). Rod *Iris* patří do čeledi *Iridaceae* (VANĚK, 1968). Počet druhů v této čeledi se mírně u různých autorů liší, také se liší rozdělení podrodů nebo sekcí. Dykes (1974) dělí rod do 12 sekcí, Goldblatt a Manning (2008) zase dělí na 6 podrodů. Mezi autory, kteří se tříděním také zabývali, jsou Lawrence a Rodionenka, ti však vycházejí převážně z Dykese (AUSTIN, 2005). Většinu druhů rodu *Iris* nalezneme na otevřených a slunných stanovištích. Pár z nich však můžeme najít na zastíněných a zamokřených místech (GOLOVKIN, a další, 1990). Základní počet chromozomů je 10 nebo 12. Známe jak diploidní, tak tetraploidní rostliny. Diploidní kosatce jsou menší s jemnými květy a stonky. Tetraploidní rostliny mají květy větší, silnější stonky a širší paletu barev květů (AUSTIN, 2005).

Morfologie

Celý rod je charakterizován stavbou květu, který se skládá z šesti okvětních pláteků, tři jsou vnější a tři vnitřní. Vnější okvětní plátky bývají větší, rozložené, nebo sklopené. Vnitřní plátky bývají více či méně vztyčené, stejně velké nebo menší (užší) (GOLOVKIN, a další, 1990).

Barevná škála květů je od bílé, přes žlutou, oranžovou, všechny tóny modré, fialovou, růžovou, hnědou až po černou. Znamé jsou i rostliny v zelených a červených tónech (AUSTIN, 2005). V květu jsou pod rameny čnělky ukryté tři tyčinky (ŠTĚPÁNKOVÁ, 2011). Barva pylu bývá bílá, krémová, světle modrá, ale i oranžová (DYKES, 1974). Semeník ukrytý v listenech je spodní. Listeny bývají buď zelené, podobně jako listy, nebo zčásti nezelené, vlnité až suché (VANĚK, 1968). Plodem je trojpouzdrá tobolka. Počet květů není jednotný, u nízkých druhů bývá jeden květ, u vysokých je zaznamenáno deset i více květů na málo větvené lodyze. Vůně květů jsou také odlišné dle druhů. Jedny voní sladce po medu, jiné květinově, svěže, po citrusech či kořeněně (AUSTIN, 2005).

Úzké mečovité listy vyrůstající v plochých vějířích jsou dalším typickým znakem pro kosatce (GOLOVKIN, a další, 1990). Některé listy se podobají listům trav, jiné se naopak plazí po zemi. Listy jsou střídavé, přisedlé ve spodní části pochvaté. Listové čepele jsou postavené k lodyze hranou a někdy voní (ŠTĚPÁNKOVÁ, 2011).

Udávaná délka listů se pohybuje v rozmezí 0,08-1,50 m, šířka 2-6 mm (MAREČEK, 2001). Barva listů bývá obvykle zelená, může však přecházet až do fialova (AUSTIN, 2005).

Zásobními orgány, které se nalézají pod zemí, jsou ve většině případů oddenky, někdy však i hlízy dokonce i cibule (GOLOVKIN, a další, 1990). Velikost oddenků kosatců se liší dle druhu, menší jsou u kosatců sibiřských, velké se nachází u bradatých kosatců (AUSTIN, 2005). Z oddenku vyrůstají kořeny s postranními kořínky. V době po odkvětu kosatců (od července do září) začínají vyrůstat postranní kořínky. V případě suššího období je přírůstek kořenů na čas zastaven, závlaha vše navrací do normálu (VANĚK, 1968). Svrchní část kořenového systému by měla být lehce nad povrchem půdy, aby jí nebyl odepřen přístup slunečního světla. Oddenky jsou náchylné k různým typům hnilobných chorob (ŠTURSA, 1997).

Ekologie a cenologie

Kosatce vyžadují pro pěstování lehčí půdu. Jílovitou půdu můžeme upravit zapravením hrubého písku či humusu. Z hnojiv lze užít ta s nízkým obsahem dusíku. U mladých rostlin je potřeba dát si pozor na přehnojení, které by mohlo vést k hnilobám. Půdní reakce by se měla pohybovat okolo 7. Znamé svou citlivostí na převápnění jsou *Iris cristata* a *Iris japonica*.

Taktéž je nutné se vyhnout použití vysoce dusíkatých hnojiv, které podporují hnilobu oddenku. Kořeny je nutné uložit hluboko do půdy, aby rostlina pevně držela, naopak oddenkům je nutné dodat slunce a vzduch. Listy se po odkvětu nestříhají, fotosyntéza v nich probíhající zajistí růst pro příští rok. Hnilobám je taktéž možno předejít zakrácením kvetoucího stonku. K přesazení by mělo dojít po dvou až pěti letech, kdy jsou trsy již zahlceny půdou. Ideální doba k přesadbě je těsně po rozkvětu. Mezi škůdce mohou patřit slimáci, hlemýždi, mšice a hlístice (KŘESADLOVÁ, 2009).

Rozšíření

Kosatce jsou celosvětově významnými zahradními rostlinami. Na kosatce v přírodě narazíme ve Skandinávii, na Floridě, v Evropě, také v Japonsku a v některých oblastech Severní Ameriky (AUSTIN, 2005).

Některé z druhů jsou vázány na subtropické podmínky, většina však snáší dobře i podmínky mírného pásma. Patří mezi základní zahradní rostliny severní i jižní polokoule (BATOUŠEK, 2010).

3.1.2 Podrod *Limniris* (bezbradé kosatce)

Původem z Asie. Jde o kosatce s vysokými silnými stonky, mečovitými listy. Skupina *Limniris* patří mezi bezbradaté kosatce s oddenkem. Kosatce této skupiny jsou mnohem známější než bradaté, proto jsou ve velké míře pěstovány po celém světě. Všeobecná definice mluví o podrodu *Limniris* jako o kosatcích, kterým chybí „kartáček“ nebo „brada“ (trichomy přítomné na kališních listcích sloužící pro přilákání opylovačů) (WILSON, 2006). Zástupci se vyskytují po celé severní polokouli, v horských oblastech, v lesích, na pobřeží i v bažinách (AUSTIN, 2005). Podrod zahrnuje v současné době 80 druhů, které nemají všechny stejnou evoluční historii. Botanicky se dělí na 16 sérií, většina pěstitelů však dělí kosatce do 5 skupin dle morfologických znaků (viz výše bezbradé kosatce).

TILLIE et al. (2000) na rozdíl od uvedeného dělení, rozděluje podrod pouze na tři části a to na *Sibiricae*, *Californicae* a *Spuriae*. Při svém dělení vychází ze studií DNA prováděných v chloroplastech kosatců.

Podrod obsahuje asi 45 druhů, je mnohem obsáhlejší než jiné podrody. Tyto kosatce mají odlišné květy, vnitřní okvětní plátky jsou menší a také jsou užší než vnější (GOLOVKIN, a další, 1990). Patří mezi oddenkaté kosatce, vyžadují tedy správnou péči o kořenový systém. Druhotné kořeny se vytvářejí na oddencích, nemají kořenovou čepičku. Oddenky jsou tuhé, dřevnaté, rostou vodorovně na povrchu půdy, popř. šikmo dolů, často do značné hloubky (ŠTURSA, 1997). U bezbradých kosatců nejsou květy tak velké, jako u bradatých kosatců. Nejvíce barevné květy mají louisianské kosatce, japonské kosatce a pacifické kosatce. Nejlépe se jim daří v teplém klimatu a kyselé půdě (WADDICK, 1992).

Známých je 5 skupin: **spuria kosatce** (*Iris crocea*, *Iris graminea*, *Iris kerneriana*, *Iris lilacina*, *Iris longipedicellata*, *Iris monnieri*, *Iris orientalis*, *Iris pontica*, *Iris sintenesii* a *Iris spuria*), **sibiřské kosatce** (*Iris bulleyana*, *Iris chrysographes*, *Iris clarkei*, *Iris delavayi*, *Iris dykesii*, *Iris forrestii*, *Iris phragmitetorum*, *Iris sanguinea*, *Iris sibirica*, *Iris typhifolia*, *Iris wilsonii*), **japonské kosatce** (*Iris ensata*, *Iris laevigata*, *Iris maackii*, *Iris pseudacorus*, *Iris versicolor*, *Iris virginica*), **louisianské kosatce** (*Iris brevicaulis*, *Iris fulva* a *Iris nelsonii*), **kosatce pobřeží Pacifiku** (*Iris bracteata*, *Iris chrysophylla*, *Iris douglasiana*, *Iris fernaldii*, *Iris hartwegii*, *Iris innominata*, *Iris macrosiphon*, *Iris munzii*, *Iris purdyi*, *Iris tenax*, *Iris tenuissima*). První čtyři skupiny je možné nalézt běžně v zahradách, naopak pátá skupina (kosatce pobřeží Pacifiku) se vyskytuje převážně ve volné přírodě v západních oblastech USA (AUSTIN, 2005).

Charakteristika rodu *Iris sibirica*

Kosatec sibiřský dosahuje výšky 0,4-1 m a jde o vytrvalou bylinu. Má silně plazivý a krátký oddenek (RANDUŠKA, 1983). Listy jsou úzce čárkovité, šířka 2–6 mm, kratší než kvetoucí lodyha. V úžlabí kopinatých listenů vyrůstají květy jednotlivě nebo po dvou až třech, jsou vonné a přisedlé. Barva květů je modrofialová, někdy i bílá. Vnější okvětní lístky jsou obvejčité a modrou až fialovou žilnatinou. Vnitřní okvětní lístky mají vzpřímený tvar a jejich barva je tmavší než u bliznových laloků. Pyl je smetanový nebo namodralý (DYKES, 1974).

Plodem je dlouze stopkatá tobolka 3–4 cm dlouhá (SCHAUER, 2008). Kvetení probíhá od května do července. Listy a stonky pokrývá voskový povlak, který umožňuje stékání vody. *Iris sibirica* dává přednost vlhčím až bažinatým půdám, proto se řadí mezi hodnotnou rostlinu pro porosty okrajů vodních ploch (TIMMERMANN, 2005). Jedná se o geofyt rozšířený v subditeránní, mírné až subkontinentální oblasti Evropy a Asie (RANDUŠKA, 1983). Výskyt je uváděn od vápenatých slatinných luk až po rašelinné louky.

3.1.3 Vybrané kultivary *Iris sibirica*

Stručný popis vybraných kultivarů druhu *Iris sibirica*:

'Still Waters'



Obr. 1 *Iris sibirica* 'Still Waters'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,4-0,7 m,
- modro fialové květy,
- půdy hlinitopísčité,
- slunná stanoviště (KAŠŠÁK, 2015).

'Soft Blue'



Obr. 2 *Iris sibirica* 'Soft Blue'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,5–1,2 m,
- šest květů na stonku,

- květy mají tmavě modré žíhání,
- půdy preferuje hlinité, hlinitopísčité,
- stanoviště polostinná,
- listy úzké (Society).

'Orville Fay'



Obr. 3 *Iris sibirica* 'Orville Fay'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,6-0,7 m,
- stanoviště slunná až polostín,
- půdy vlhké, ale ne zamokřené s obsahem organických látek,
- listy jsou trávového tvaru (Garden).

'Navy Brass'



Obr. 4 *Iris sibirica* 'Navy Brass'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,6-0,9 m,
- preferuje slunné stanoviště a humózní půdy,
- barva květu tmavě modrá (KAŠŠÁK, 2015).

'Harpwell Haze'



Obr. 5 *Iris sibirica* 'Harpwell Haze'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,5-1 m,
- půda – humózní, propustná s větší koncentrací vápna,
- stanoviště – slunná (KAŠŠÁK, 2015).

'Cambridge'

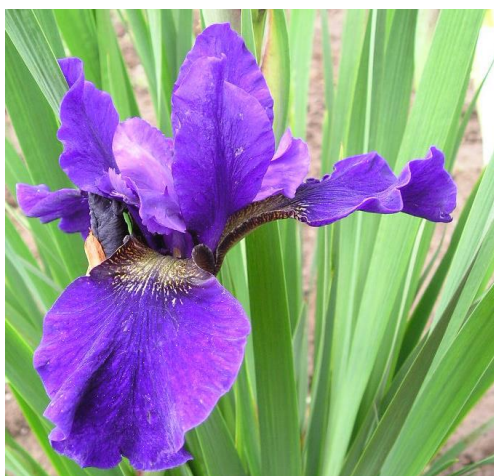


Obr. 6 *Iris sibirica* 'Cambridge'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,6-0,9 m,
- stonek nese 5-6 bezvousých květů,
- listy jsou úzké (KAŠŠÁK, 2015).

'Blue Ribbon'



Obr. 7 *Iris sibirica* 'Blue Ribbon'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,4-0,8 m,
- listy jsou široké, kopinaté, trávovitého vzhledu,
- květy pravidelné, trojčetné, okvětní lístky jsou srostlé ve spodní části v trubce (KAŠŠÁK, 2015).

'Blue Mere'



Obr. 8 *Iris sibirica* 'Blue Mere'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,6-0,9 m,
- stanoviště slunná až polostíny,
- půdy vlhké, ne přemokřené, méně kyselé (Gardenia).

'Ann Dasch'



Obr. 9 *Iris sibirica* 'Ann Dasch'

Zdroj (KAŠŠÁK, 2015)

- výška – 0,9–1,2 m,
- půdy vlhčí, snese i suché, ale ne přemokřené, spíše kyslejší,
- humózní, hlinité půdy (KAŠŠÁK, 2015).

3.1.4 Podrod *Barbata* (bradaté kosatce)

Název je odvozen od chlupatého „kartáčku“ - „brady“, který je na vnějších sklopených okvětních plátcích (HERTLE, 2010). Cílem tohoto útvaru je přilákat včely. Jedná se o nejoblíbenější skupinu kosatců pro pěstování na zahradě. Ve volné přírodě je možné je zaznamenat od Středozemního moře až po jihovýchodní Asii, z Arabského poloostrova po sever Ruska (AUSTIN, 2005). Děleny bývají podle výšky na odrůdy *Iris barbata elatior* (výška se pohybuje od 0,7 m), *Iris barbata media* (výška v rozmezí 0,4–0,7 m) a *Iris barbata nana* (výška nepřesáhne 0,4 m) (HERTLE, 2010).

Květ se skládá ze tří vnitřních lístků rostoucích vzpřímeně a tří vnějších lístků, ty rostou převisle. Častým znakem jsou jinak barevné okvětní lístky (AUSTIN, 2005). Po odkvětu se rostliny zatahují a v září znovu naraší. Skupina kosatců s kartáčky: velkokvěté vysoké – neznámější odrůdy Kristýnka (bílý), April in Paris (pastelově růžový), Blue Aristocrat (modrá), Fort Apache (červenohnědý), Tempting (bílovínový); velkokvěté střední – kvetou v květnu a mezi známé druhy patří – Apricot Frosty (bílo-meruňkový), Peach Ice Cream (bílo-broskvový); zakrslé kosatce dorůstají - Blue Line (bílý s modrými kartáčky), Chanted (broskově růžový s modrými kartáčky), Hot Jazz (sytě růžová s oranžovými kartáčky); miniaturní kosatce dosahují výšky 0,1 m a kvetou už na počátku dubna – *Iris Pumila* (HERTLE, 2010).

Charakteristika druhu *Iris barbata*

Zahradní kartáčkáté kosatce (*Iris barbata*) jsou velice variabilní v barvě i tvaru květu. Zahradnický jsou velice oblíbené, to dokazuje i složitá historie množení a šlechtění kultivarů, kterých existuje několik tisíc. Oddenky jsou ztloustlé až dřevnatějící, větvené, na jejichž koncích vyrůstají listy mečovitého tvaru. Stonek, jenž je vzpřímený, nese několik květů, které mají kontrastně zbarvené kartáčky i samotné okvětní plátky. Kvetení probíhá od konce dubna do června.

Bradaté kosatce vyžadují dobře propustnou kvalitní půdu, spíše zásaditějšího charakteru (s vyšším obsahem vápníku). Aby bylo možné se vyhnout rhizomové hnilobě, je nutné nepřehušťovat výsadbu a nepřelévat. Zamokření obecně vede k častějšímu výskytu hnilob či jiných chorob. Na záhonech je doporučeno odstraňovat staré opadané květy.

Výška rostlin se pohybuje od 0,4 do 0,7 m, některé hybridy mohou dosáhnout i vyššího vzrůstu. Stanoviště výsadby by mělo být slunné. Trsy by se měly každé 3 až 4 roky zmlazovat, např. rozdělením, nejlépe po odkvětu, dosáhne se větší výnosnosti. Bradaté kosatce jsou vhodné do trvalkových záhonů, kde se využívá jejich široké barevné škály, používají se i k řezu.

3.1.5 Vybrané kultivary *Iris barbata*

Stručný popis vybraných kultivarů druhu *Iris barbata*:

'Royal Trumpeter'



Obr. 10 *Iris barbata* 'Royal trumpeter'

Zdroj (*Pinterest*)

- výška 0,6–1,2 m,
- barva listů šedozelená,
- 3 okvětní plátky vztyčené a 3 sklopené (nesou kartáčky),
- květy sametové, fialovokaštanovo hnědé (HAGEN, 2009).

'Firebreather'



Obr. 11 *Iris barbata* 'Firebreather'

Zdroj (*Pinterest*)

- výška 90-120 cm,
- listy šedo-zelené,
- květy oranžové,
- vrchní plátky jsou stočeny dovnitř, spodí jsou převyslé, vlnité,
- půda – humózní, propustná s větší koncentrací vápna,
- stanoviště – slunná (Genetic Resources of *Iris barbata*, group *Elatior*, 2011).

'Conjuration'



Obr. 12 *Iris barbata* 'Conjuration'

Zdroj (<http://www.trajnice.com>)

- výška 90–120 cm,
- barva květu – bílé květy, na okrajích modré až fialové,
- okvětní plátky zvlňené s oranžovo - žlutými kartáčky,
- půda – humózní, vzdušná,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

‘Irenka’



Obr. 13 *Iris barbata* ‘Irenka’

Zdroj (<http://www.trajnice.com>)

- výška 70 cm,
- barva květu – bílá,
- pH okolo 7–7,5,
- půda – vápenitá, humózní,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

'Dusky Challenger'



Obr. 14 *Iris barbata* 'Dusky Challenger'

Zdroj (Pinterest)

- výška 80 cm,
- barva květu – sametová, tmavě fialová,
- pH půdy okolo 7–7,5,
- okvětní plátky silně zvlňené, 3 stojaté ostatní povislé s kartáčky,
- půda – vápenitá, humózní,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

'Dauntless'



Obr. 15 *Iris barbata* 'Dauntless'

Zdroj (Pinterest)

- výška 70 cm,
- barva květu – sametová, červená s lehce fialovými a modrými podtóny,
- okvětní plátky zvlňené,
- půda – humózní, vzdušná,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

‘Mary Frances’



Obr. 16 *Iris barbata* ‘Mary Frances’

Zdroj (Pinterest)

- výška 90–120 cm,
- barva květu – modré orchideové květy, na okrajích matně bílé,
- okvětní plátky zvlňené,
- půda – humózní, vzdušná,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

'Cable Car'



Obr. 17 *Iris barbata* 'Cable Car'

Zdroj (Pinterest)

- výška 70-90 cm,
- barva květu – oranžová až hnědá s nafialovělými středy,
- okvětní plátky mírně zvlňené,
- půda – humózní, vzdušná, sušší,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

‘Mystique’



Obr. 18 *Iris barbata* ‘Mystique’

Zdroj (Pinterest)

- výška 70–90 cm,
- barva květu – bílá s lososovými zvlněnými okraji,
- půda – humózní, vzdušná, sušší,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

‘Ambroise’



Obr. 19 *Iris barbata* ‘Mystique’

Zdroj (Pinterest)

- výška 60–80 cm,
- barva květu – fialovo-modrá, kartáčky dohněda,

- půda – humózní, vzdušná, sušší,
- stanoviště – slunečné (KÖHLEIN, 1987).

Další 3 skupiny (kromě bradatých, bezbradých a cibulnatých kosatců) popsali KŘESADLOVÁ, VILÍM (2004). První skupina Juno (jako u AUSTINA) roste v Malé Asii, na Kavkaze, Iránu, severní Africe a Iráku. Výšky dosahuje od 0,45 do 0,6 m. Typické pro ně jsou masité kořeny, které vyrůstají z hladce válcovité cibule a dvě řady mečovitých listů. Na stonku kvete 3–7 květů. Do této skupiny patří *Iris magnifica* a *Iris aucheri*.

Druhou skupinou je Reticulata, patří sem nízké raně kvetoucí druhy jako *Iris danfordiae* a *Iris reticulata*. Třetí skupina má název Xiphium a to podle *Iris xiphioides*, jenž roste na vlhkých loukách v Pyrenejích. Výška může dosáhnout až 0,6 m, kvetení probíhá v červnu, květy jsou modrofialové (KŘESADLOVÁ, 2009).

3.1.6 Kosatce ve fytoterapii

Fytoterapie, nazývaná též rostlinná léčba, bylinkářství nebo zelená medicína je jednou z nejstarších léčebných metod. Jde o přímé léčení rostlinami, respektive jednoduchými lékovými formami připravenými přímo z vegetabilních drog. Švýcarský vědec prof. A. Tschich formuloval definici drogy jako sušenou či jinak upravenou rostlinu nebo její část určenou k přípravě léků. Ve fytoterapii jsou využívány léčivé byliny ve formě nálevů, odvarů, koupelí či obkladů. Stále více rostlinných léčebných preparátů je vyráběno průmyslově a proudí na trh. Působení rostlinných léčiv je mírnější a většinou bez nežádoucích vedlejších účinků (KŘÍŽOVÁ, 2004), (VALÍČEK, 2014).

V 17. století autoři knih o rostlinné medicíně Nicolas Culpeper a John Gerard popsali způsoby použití kořenů. Odvar z kořene se používal k léčbě křečí, vodnatosti, čistil tělo od hlenů, léčil jaterní dysfunkci, měl zklidňující účinky a působil také proti hadímu uštknutí. Pro zmírnění nepříjemné chuti se do odvaru přidávalo pivo či víno. Nakrájen na tenké plátky byl podáván dětem při prořezávání zubů.

V Evropě a Severní Americe byly kosatce po staletí používány v medicíně. Ve středověku se používal kořen *Iris florentina* ve směsi s jinými látkami, například s medem, a sloužil k léčbě žaludečních potíží a kožních onemocnění.

Obklad z kořenů ve směsi s měděnkou, zelenou látkou na povrchu mědi, a medem byl používán při odstraňování třísky z rány. Oddenky označované jako „falešný puškvorec“ se také používaly při léčbě otevřených ran nebo krvácení. Dříve se také používaly pro zmírnění špatného dechu či zamaskování tabákového pachu (VONÁŠEK, a další, 1987). Dnes je esenciální olej z kosatce používán v parfémovém průmyslu samostatně nebo slouží jako fixační látka pro jiné vůně. Bývá obsažen v potpourri a vonných sáčcích. Oddenek *I. florentina* se používá jako droga v zubním lékařství (MAREČEK, 1997).

Oddenek se sbírá z pěstovaných rostlin ve třetím až čtvrtém roce v měsíci srpnu. Je třeba jej omýt a oloupat. Sušení by mělo probíhat při teplotě nepřevyšující 40 °C. Při sušení vydává příjemné aroma, a proto je nazýván jako „fialkový kořen“. Chuť drogy je poněkud škrábavá (KORBELÁŘ, a další, 1981).

Rod obsahuje především glykosid iridin, 0,1-2,0 % silice s hlavní složkou kyselinou myristovou a látkou fialkové vůně, ironem, dále sliz, škrob a mnoho organických látek. *Iris L.* je rostlina fytoncidní (fytoncidy - rostlinná antibiotika jsou přirozené součástí rostlinných buněk. *Iris versicolor* a *Iris pseudacorus* produkují iridin a irisin. Ve Spojených státech byl *Iris versicolor* známý jako lék proti syfilidě, infekci kůže a edému. Druhy *Iris ensata*, *foetidissima*, *germanica*, *missouriensis*, *nepalensis* a *versicolor* se taktéž využívají v léčitelství (VONÁŠEK, a další, 1987).

Mají antimikrobiální účinky, podobné účinkům antibiotik. Patří sem látky nejrozličnější chemické povahy). Obsahuje značné množství slizů, proto snižuje místní dráždivost a napomáhá expektoračnímu (expektorace – vykašlávání) účinku. Šťáva z listů však může vyvolat při požití většího množství zvracení až mdloby (KORBELÁŘ, a další, 1981).

V současné době je stále komerčně pěstován v jižní Evropě a Maroku a používán jako složka zubní pasty či k očištění jater (AUSTIN, 2005).

3.2 Obsahové látky

Dle funkce můžeme sloučeniny, které rostliny tvoří rozdělit na primární a sekundární metabolity. Mezi primární metabolity se řadí látky, které souvisí se základními funkcemi organismu, sacharidy, bílkoviny, lipidy a nukleové kyseliny. Všechny tyto sloučeniny se účastní při stavbě buňky. Sekundární metabolity nevykazují základní stavební funkce, nejsou tedy bezprostředně důležité pro okamžité zajištění života organismu. Jejich účinnost spočívá v zachování biologického druhu. Jestliže u rostlin dojde ke stresu vlivem prostředí (změna intenzity světelného spektra, teplotní výkyvy, ohrožení patogeny a herbivory), začnou rostliny syntetizovat sekundární metabolity jako odpověď na nastalou situaci. Sekundární metabolity rovněž hrají důležitou roli při regulaci růstu a expresi genů, mají tedy zásadní ovlivňovací schopnost při reprodukci. Mezi sekundární metabolity patří alkaloidy, fenolické látky, polyamidy a terpenické látky (BERHOW M. A., 1999).

3.2.1 Primární metabolity

Jejich výskyt je zaznamenáván všude a to z důvodu nepostradatelnosti v životaschopnosti rostliny. Dělí se na bílkoviny, lipidy, sacharidy a slizy (VALÍČEK, 2005). V kosatečích jsou obsaženy z primárních metabolitů pouze slizy, jež hrají roli ve fytoterapii.

Slizy mají sacharidovou povahu. Uplatnění najdou díky svým fyzikálním vlastnostem, s vodou bobtnají a jsou viskózní. Vytváří ochranný film na kůži, pozitivně ovlivňují podráždění, bolest, svědění a zánětlivé procesy. Napomáhají při snížení produkce žaludečních kyselin a při odkašlávání. Působí i na činnost střev, zvyšují rychlost postupu obsahu ve střevech, dokáží i zpevnit vodnatou stolicí. Váží na sebe vodu a toxické látky. Je možné je využít při hojení vnitřních ran (zánět žaludku, žaludeční vředy), při chrapotu a suchém kašli. Odvarem z oddenků se omývají suché ekzémy nebo kožní záněty (BÜHRING, 2010).

3.2.2 Sekundární metabolity

Sekundární metabolity vznikají z metabolitů primárních. Jejich odlišnost je v nízkomolekulární stavbě, z tohoto důvodu nejsou bezpodmínečně vyžadovány pro životaschopnost rostliny.

Za množství těchto metabolitů zodpovídá genetický základ rostliny a podmínky pěstebního prostředí. Vytváří chuť a barvu. Funkce sekundárních metabolitů bývá většinou ekologické povahy. Slouží jako ochrana proti predátorům, parazitům, nemocem a pro větší úspěšnost rozmnožování (např. pigmenty, atraktivní vůně) (INDERJIT, 1999).

Flavonoidy

Také se jim říká flavonoidní látky, jedná se o širokou skupinu rostlinných fenolů. Počet je odhadován na 5000 a více. Vyskytují ve formě glykosidů, acylovaných glykosidů, polymerů nebo volných látek. V molekule jsou obsaženy dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkatým řetězcem C3, bývá většinou součástí heterocyklického kruhu odvozeného od 2H-pyranu. Flavonoidy jsou odvozeny od kyslíkaté sloučeniny 2H-chromanu, jež se v poloze C-2 substituuje fenylovou skupinou a vzniká tak flavan. Flavonoidní látky lze dělit dle stupně oxidace C3 řetězce a jeho substituce na - antokyanidiny, flavanony, flavanonoly, flavony, flavonoly, katechiny, leukoantokyanidiny (VELÍŠEK, 2009).

Nejznámějšími flavonoidními látkami jsou - kvercetin, kemferol, rutin, apigenin, myricetin, luteonin, pelargonidin, katechin, epikatechin, tricetin, kyanidin, delfinidin, genistein, daidzein, peonidin, malvidin, petunidin, kvercitrin, chrysin a další (PRUGAR, 2008).

Působí proti volným radikálům, které poškozují buňky, proto se jedná o fyziologicky důležitou součást výživy. Slouží jako prevence proti vzniku rakoviny. Užívají se vnitřně a nebyly zaznamenány žádné vedlejší účinky (BÜHRING, 2010). Výši obsahu flavonoidů v rostlinách ovlivňuje mnoho faktorů, hlavně odrůda, druh, stanoviště, vnější podmínky a sluneční záření. Obecně by se dalo definovat, že rostliny pěstované ve sklenících neobsahují tolik flavonoidů, jako rostliny pěstované pod širým nebem (PRUGAR, 2008).

Silice

Jedná se o směs těkavých látek obsažených v rostlinných materiálech, ve všech částech rostliny. Mezi nejčastější způsoby získání silic patří destilace vodní parou a následné oddělení silice z destilátu (VELÍŠEK, 2009).

Silice jsou těkavé s vodní parou, avšak ve vodě se nerozpustí. Skládají se z monoterpenů, seskviterpenů a sloučenin fenyylpropanu (SCHÖNFELDER, 2010). Vstřebávají se do těla přes pokožku, sliznici, stěnu žaludku nebo střeva až do krve. Užívat se mohou formou čaje, obkladu, popř. se jako mast vtírají do kůže (BÜHRING, 2010). Účinek se řídí obsahem převládající silice. Působení bývá v kombinaci primárně na trávicí a současně močové ústrojí nebo v opačném pořadí. Desinfekčně působí zevnitř i zevně. Tlumí křeče hladkého svalstva, popř. dýchacího ústrojí. Mezi další účinky patří uvolnění hlenu v průduškách, protinadýmající působení. Vždy je potřeba určit správné množství k užívání, jak při užití zevně, tak i vnitřně. Jestliže by dávka k užití byla příliš vysoká, mohlo by dojít k dráždivé reakci nebo až k přiotrávení (JAROŠ, 1992).

Saponiny

Jedná se o různorodou skupinu heteroglykosidů. Hydrofobní aglykoly saponinů, odvozené od C30 triterpenoidů a C27 steroidů, se nazývají sapogenoly. Dle počtu navázaných cukerných zbytků na aglykon se rozlišují monodesmosidy, bisdesmosidy a tridesmosidy. Obsah saponinů v rostlině ovlivňuje druh rostliny a klimatické podmínky při pěstování. Jejich největší koncentrace je v kořenech, kůře a dalších rychle rostoucích částech. Některé druhy saponinů se v koncentrované formě využívají jako emulgátory, pěnotvorné látky či antioxidanty (VELÍŠEK, 2009). V případě saponinů je dráždivý účinek podstatou léčivého účinku (JAROŠ, 1992). Rozpouští hleny, usnadňují vykašlávání, působí močopudně a pomáhají při látkové výměně. Jedná se o stimulační látky pro přirozenou imunitu, posilující látky pro organismus. Pokud dojde k „předávkování“, tak se saponiny vstřebají do krve, což vede k nevolnosti, zvracení či rozpadu červených krvinek. Z tohoto důvodu je mnoho saponinových rostlin jedovatých jako například Vraní oko čtyřlisté (BÜHRING, 2010).

Třísloviny

Třísloviny jsou bezdusíkaté rostlinné látky, které mají schopnost se vázat k bílkovinám, a jejichž sloučeniny jsou nerozpustné. Díky této charakteristice může na kůži nebo sliznici vznikat ochranná vrstva, jež brání pronikání vody či škodlivých organismů (IBURG, 2004).

Z chemického hlediska se třísloviny dělí na hydrolyzované třísloviny, jež jsou tvořeny zejména estery kyseliny gallusové a kyseliny ellagové, třísloviny katechinové což jsou kondenzované proanthokyanidiny. Do těchto skupin také patří látky příbuzné flavonoidům jako katechin a leukoanthokyanidin (SCHÖNFELDER, 2010). Třísloviny se nacházejí v rostlině ve šťávě buněk, v kořenech, oddencích, v listech i v prodech. Ve většině případů se jedná o konečné produkty látkové výměny rostlin, někdy však zastávají i transportní funkci, z toho může plynout nízká koncentrace v předpokládané části rostliny. Jejich funkce je v některých případech ochranná i rezervní (JAROŠ, 1992). Zmírňují záněty, pozitivní účinek mají při hojení, krvácení působí totiž jako adstringes (stahující účinek), při stáhnutí kůže dojde ke snížení prokrvení. Mezi další účinky se řadí desinfekční vlastnosti, zpomalení růstu choroboplodných zárodků. Při otravě alkaloidy či těžkými kovy je naváží do svých komplexů, solí a jsou následně vyloučeny ven z těla (BÜHRING, 2010).

Hořčiny

Hořčiny jsou odvozeny od monoterpenů a seskviterpenů, jen výjimečně od diterpenů či triterpenů. Flavanové glykosidy se řadí k neterpenoidním hořčinům. Hořká chuť vyvolává nutkání k většímu vylučování slin a žaludečních šťáv. Zvýšenou sekreci šťáv slinivky, zrychlení pohybu žaludku a střev má za následek gastrin. Působí stimulačně na chuť k jídlu a trávení (SCHÖNFELDER, 2010). Díky hořčinům se zpomalují hnilobné a kvasné procesy, dochází k lepšímu vstřebávání živin, vitamínů a minerálů, vyrovnává se pH v těle. Zvyšují příjem železa a vitamínu B12, prokrvují věčité cévy srdce, což vede k lepšímu prokrvení organismu. Pozitivní účinek mají i na energii a samotnou náladu člověka. Rostliny, které obsahují hořčiny, se mohou konzumovat přímo, jako potraviny ve formě čajů a alkoholových výtažků (BÜHRING, 2010).

Glykosidy

Reakcí poloacetalové skupiny cukru s hydroxysloučeninami vznikají glykosidy. Jestliže je hydroxysloučeninou cukr, vzniká monoglykosid, z glukosy vzniká glukosid a z mannosy vzniká mannosid. Naopak heteroglykosid obsahuje aglykon, což je necukerná složka.

Těmi bývají fenoly, alicyklické triterpenové alkoholy, steroidy a hydroxysloučeniny (VELÍŠEK, 2009). Štěpit je mohou enzymy nebo voda. Pomáhají vstřebávat potravu, regulují činnost srdce, zklidňují dýchání (IBURG, 2004).

Alkaloidy

Jedná se o bazické dusíkaté sloučeniny, které vznikají jako sekundární metabolity. Vykazují různé biologické účinky a to dle zkonsumovaného množství. Do této skupiny spadá více než 10 000 sloučenin v mnoha strukturách (VELÍŠEK, 2009). V rostlinách jsou alkaloidy obsažené jako voděrozpustné soli organických kyselin. Alkaloidní rostliny mohou být však i jedovaté, protože alkaloidy působí na nervový systém. Naváží se na neurotransmitery a přes ně působí na centrální nebo vegetativní nervový systém. Jejich užití je jako fytofarmak, ty však mají i silné vedlejší účinky. Ve většině případů jsou k dostání na předpis, samoléčba jimi není doporučena (BÜHRING, 2010).

3.2.3 Sekundární metabolity obsažené v čeledi *Iridaceae*

Výzkumy sekundárních metabolitů bývají zaměřeny na rozšíření, výskyt a ekologickou funkci. U rostlin zkoumají jejich význam pro biologii opylování (anthokyany), obranu proti býložravcům (alkaloidy) nebo obranu vůči mikrobiálním infekcím (HARBORNE, a další, 2011).

Květ

V květech *Iridaceae* mají anthokyany význam hlavně z hlediska barevného spektra květů kosatců, tedy k nalákání různých opylovačů od včel až po motýly či brouky.

Podle Hornova výzkumu z roku 1963 je dominantní anthokyanové zbarvení květů u *Iridaceae* geneticky vázané na jeden, u některých druhů na dva geny.

List

Význam či účel sekundárních metabolitů v listech *Iridaceae* je méně zřejmý a to z důvodu nedostatku uskutečněných experimentů. Alkaloidy tomuto rodu s největší pravděpodobností chybí, ale ve dvou jihoafrických rodech kosatce (*Homeria* Vent. a *Moraea* Miller) byly nalezeny velmi toxické složky.

Jde o třídu rostlinných toxinů přítomných také v ropuším jedu známých jako bufadienolidy (HARBORNE, a další, 2011). Jednou z dalších chemických tříd odstrašujících savce přítomnou v *Iridaceae* jsou proanthokyanidiny, které byly detekovány ve 45 z 255 zkoumaných druhů a vyskytují se v 18 rodech, včetně *Dietes*, *Iris*, *Nivenia*, *Ventia*, *Patersonia* (HARBORNE, a další, 2011). Jde se o podskupinu taninů, známou také jako kondenzované taniny, typickou svým flavonoidním původem (WINK, 2010). Na počátku 30. let minulého se kyselina L-askorbová extrahovala z listů kosatců. Účinnost tríslovin odrazujících zvěř závisí do značné míry na jejich koncentraci v listech. Kvantitativní analýzy potvrdily, že jsou důležitým ochranným faktorem čeledi. Ekologická role v sekundárních metabolitech listů je ochrana proti mikrobiální invazi. Fenolické složky se hojně vyskytují v listech *Iridaceae* a často působí jako antimikrobiální látky (HARBORNE, 2000).

Oddenky

O isoflavonech irigeninu a tectorigeninu obsažených v oddencích kosatců je známo, že jsou to účinná antimykotika, stejně jako mnoho flavanonů nedávno detekovaných v rostlinných pletivech kosatců.

Jediný experimentální důkaz, že jsou isoflavonoidy kosatců antimykotické, byl získán ze studia *Iris pseudacorus*. Ošetření listů roztokem chloridu měďnatého vedlo v listech k výrobě 10 isoflavonů a dalších látek popsanych jako stresové metabolity. Některé z nich působily proti plísním. Konkrétně sloučenina 5, 7, 2 - trihydroxyisoflavon, nově zaznamenaná u těchto druhů kosatců byla fungitoxická proti *Cladosporium herbarum* (HARBORNE, a další, 2011).

3.3 Antioxidanty

Během několika posledních desítek let byly potvrzeny pozitivní účinky antioxidačních látek na lidské tělo, a proto se zvýšil i zájem o výzkum těchto látek. Při nahromadění reaktivních forem kyslíku, které není tělo schopno likvidovat samo, dochází k oxidačnímu stresu, ten poškozuje buňky (buněčné membrány a proteiny), enzymy, genetický materiál, přispívá ke vzniku cukrovky, nádorových a degenerativních onemocnění. Antioxidační látky mohou ve vhodné koncentraci zabránit oxidaci substrátu, která vede k nežádoucím změnám.

Reaktivních forem kyslíku je známo mnoho druhů, organismus proto využívá různých druhů, popř. směsí antioxidantů. Hydrofilní antioxidanty (rozpustné ve vodě) účinkují převážně v extracelulární tekutině (vitamin C, kyselina močová, selen aj.), kdežto lipofilní antioxidanty (rozpustné v tucích) jsou účinné především v membránách uvnitř buněk (vitamin E, β -karoten, ubiquinon Q10 a další). Některé flavonoidy a polyfenoly inhibují enzymy zodpovědné za produkci superoxidového anion – radikálu. Mnoho polyfenolů je snadno oxidovatelná, proveditelnost je závislá na redoxním potenciálu. Látky s nízkým redoxním potenciálem ($< 0,75$ V) mohou redukovat některé z volných radikálů s oxidačními účinky (superoxidový, peroxylový, alkoxylový, hydroxylový), při reakci poskytnou vodík a samy se přemění na fenoxylový radikál nebo neradikálovou chinonodní strukturu. Díky této reakci jsou radikály eliminovány dříve, než reagují s dalšími komponenty. Některé antioxidanty mají schopnost reakce bez další generace jiných radikálů. Ochranu pro tělo před oxidačním poškozením tvoří jak antioxidanty syntetizované v těle, tak i ty přijaté potravou (VELÍŠEK, 2009).

Získat antioxidační látky je možné z ovoce, zeleniny, obilovin, cereálií, luštěnin, brambor, čaje, piva nebo červeného vína. Mezi nejvýznamější přírodní antioxidanty patří tokoferoly (vitamin E), kyselina askorbová (vitamin C), fenolové látky (flavonoidy, fenolové kyseliny, jednoduché fenoly, stilbeny) a karotenoidy. Mezi nejvíce zastoupené patří flavonoidy a fenolové kyseliny. Denní konzumace ovoce a zeleniny by měla dosahovat 400 g, aby byl zajištěn dostatečný příjem fenolických látek 100 mg. Hodnotu potravin zvyšují fenolické látky a jsou dokonce nositeli jejich kvality. Přirozený obsah antioxidantů v potravinách lze zvýšit jejich přidavkem, který by měl zabránit nežádoucí vůni či chuti, zvýšit nutriční hodnotu a prodloužit dobu trvanlivosti.

Tyto dodané antioxidanty by měly být zdravotně nezávadné, účinné v nízkých koncentracích, bez aroma a chuti, snadno aplikovatelné, důležité je také zvažování prooxidačního působení. Fenolické látky je možné rozdělit do tří skupin: fenolické kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany (YOUNGSON, 1995).

Antioxidanty můžeme rozdělit na primární, sekundární a synergické.

3.3.1 Primární antioxidanty

Primární antioxidanty umí ukončit řetězovou reakci a to tak, že darují vodík popř. elektron a převedou je na stabilnější produkt. Jejich účinnost je možná i v nízkých koncentracích. Dělí se na fenoly (galláty, hydrochinon, trihydroxy butyrofenon), obranné fenoly (BHA – butylhydroxyanisol, BHT – butylhydroxytoluen, TBHQ – terciální butylhydrochinon, tokoferoly, guma guaiac) a další antioxidanty (např. ethoxyquin, anoxomer, Trolox-C) (GOULD, 2009).

3.3.2 Sekundární a synergické antioxidanty

Jejich mechanismy fungují několika způsoby, např. mohou darovat vodík fenoxyl radikálu a tím regenerovat primární antioxidant. Se synergem jsou účinné i při nižších koncentracích. Preventivní neboli sekundární antioxidanty převádí lipidové peroxidy na stabilní konečné produkty.

Známé dělení je na lapače kyslíku (kyselina askorbová, kyselina erythrobová, askorbylalpalmitan, siřičitany), chelatační činidla (kyselina ethylendiamintetraoctová – EDTA, polyfosfáty, kyselina vinná, kyselina fytová, kyselina citrónová, lecitin), sekundární antioxidanty (dilauryl thiodipropionát, kyselina thiodipropionová) a další antioxidanty (selen, zinek, flavonoidy, čaje, koření, aminokyseliny, dusitan, vitamin A, β -karoten) (MADHAVI, 1996).

3.3.3 Účinky antioxidantů

Spektrum účinků antioxidantů je velice široké. Zpomalují stárnutí, snižují hladinu cholesterolu, snižují riziko vzniku nádoru, omezují riziko aterosklerózy, chrání proti infarktu a mozkové příhodě.

Chrání před plicními chorobami jako je astma, chronická bronchitida, rozedma plic, zrak před degenerativními pochody, zpomalují průběh Alzheimerovy choroby, potlačují růst zhoubných nádoru. Nápomocné jsou při detoxikaci protirakovinných léků, při znečištění vzduchu prachem, kouřem, pyly, tlumí následky kouření (ŠTÍPEK, 2000).

Jeden z autorů stanovuje antioxidační aktivitu spektrofotometricky, metodou lipofilní substituce β -karotenu v hydrolyze slunečnicového oleje. Absorbance se měřila při vlnové délce 517 nm. Výsledky byly porovnány se standardem BHA. Na základě výsledků se pro každý vzorek vypočítaly hodnoty titra zředění T50. Hodnota titra zředění vyjadřuje zředění vzorků schopných působit 50 % inhibici oxidace vychytáváním DPPH volných radikálů. Za účinné antioxidanty jsou považovány ty vzorky, u kterých hodnota titra zředění přesáhne nad 10. Kosatec německý, který byl pokusu podroben vykazoval hodnotu přes 50 (DLUGOŠOVÁ, 2004).

Antioxidační kapacita se dá měřit několika způsoby: metodou TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), metodou FRAP (Ferric reduction ability of plasma), metodou ORAC (Oxygen radical absorbance capacity), lipidově peroxidačními metodami, metodami založenými na detekci oxidačního poškození organismu, Briggs-Rauscherova metodou (ZLOCH, 2004).

Níže je podrobněji popsána metoda použitá v experimentální části.

Stanovení celkového obsahu antioxidační kapacity

Pro stanovení celkové antioxidační kapacity TAC (Total antioxidant capacity) byla použita metoda DPPH. Při této metodě se využívá odbarvovací schopnosti vodíkového radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu (DPPH) s vodíkovými donory, včetně fenolových látek. Radikál DPPH je redukován antioxidanty, což se projeví odbarvením zkoumaného roztoku z původní fialové barvy až do žlutého tónu.

Reakční roztok: 100 $\mu\text{M.l}^{-1}$ roztoku DPPH

Zásobní roztok: do 50 ml odměrné baňky se naváží 0,07866 g DPPH a baňka se doplní po rysku vodou. 2,5 ml zásobního roztoku DPPH se napipetuje do 100 ml odměrné baňky a doplní se po rysku vodou. Výsledná koncentrace DPPH (reakčního roztoku) je $100 \mu\text{M.l}^{-1}$

Pracovní postup: k 3,8 ml reakčního roztoku se do zkumavky napipetuje 200 μl vhodně zředěného vzorku (u květů – 50 μl vzorku + 150 μl 75 % methanolu, u oddenků 200 μl vzorku). Vzorky se následně nechají 30 minut odstát. Absorbance se měří od začátku reakce při vlnové délce 515 nm. Jako standard je používán Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8- tetrametylchroman-2-karboxylová kyselina). Výsledná celková antioxidační kapacita je vyjádřena v mM ekvivalentu Troloxu na 100 g ($\text{mM Troloxu} \cdot 100\text{g}^{-1}$).

Při absorpčním měření se pro nastavenou vlnovou délku porovnává tok záření prošlý kyvetou obsahující měřený vzorek s tokem záření prošlým kyvetou se slepým vzorkem. Slepý vzorek se připravuje stejně jako měřené roztoky, ale neobsahuje vzorek měřené látky (ZLOCH, 2004).

3.3.4 Fenolické látky

Fenolické látky bývají označovány jako fenoly a jsou součástí v podstatě skoro všech potravin. Jedná se o velice heterogenní skupinu sloučenin. Jejich charakteristickým znakem je nejméně jedno aromatické jádro s jednou či více hydroxidovými skupinami (VELÍŠEK, 2009).

Fenolické látky jsou rozsáhlou a různorodou skupinou sekundárních metabolitů, které jsou syntetizovány v cyklu kyseliny šikimové (REIGOSA ROGER, 2006). Fenolické látky rostlinného původu vznikají malým počtem několika základních biogenetických drah, které vedou k omezenému počtu dvou či tří klíčových meziproductů. Z těch pak dále vznikají jednoduchými enzymatickými transformacemi stovky až tisíce tzv. periferních derivátů. Klíčovým a zároveň základním meziproductem biosyntézy je kyselina skořicová nebo její biogenetické ekvivalenty, tj. hydroxy (i methoxy) deriváty: kyselina kumarová, kávová, ferulová a sinapová. Z těchto klíčových látek pak vznikají další meziproducty druhého stupně, které se dále diverzifikují specifickými hydroxylacemi, dehydrogenacemi, metoxylacemi, fenoloxidacemi, esterifikacemi, glykosilacemi, radikálovými oligomeracemi apod.

V případě jen jediné skupiny fenylypropanových derivátů tak narůstá jejich počet do stovek (v případě ligninů) nebo až do tisíců (např. u flavonoidů).

Jejich význam spočívá především v hormonálním, antimikrobiálním, enioxidačním, antikarcinogenním efektu. Mnoho z fenolických látek jsou prostředníky při biosyntéze živočišných pigmentů (melaniny), jedná se také o strukturní složky rostlinných buněk (lignin, suberin aj.). Uplatnění nacházejí jako vonné látky (kumariny), chuťové látky (trísloviny), přírodní barviva (chinony, anthokyany, lignany, flavonoidy, stilbeny, xantiny apod.) (VELÍŠEK, 2008).

Ve středoškolské práci, kterou provedli studenti Purkyňova gymnázia ve Strážnici společně s Ing. Pavolem Kaššákem v roce 2014 proběhlo stanovení flavonoidů kapkovou metodou v květech, listech či kořenech těchto rostlin (*Iris setosa*, *Iris pseudacorus*, *Iris sibirica* 'Supernatural', *Iris sibirica* 'Whisley White', *Iris pseudacorus* 'Roy Davidson', *Iris orientalis*, *Iris ensata*, *Iris spuria*, *Iris versicolor*, *Iris sibirica* 'Zweikers Hundred', *Iris crocea*). Kapkové testy byly provedeny pomocí metanolového výluhu (24 hodin odstátý, filtrovaný, 2 g materiálu, 50 ml metanolu, 75 %). U těchto pokusů je ukazatelem přítomnosti dané látky barevná skvrna. Přítomnost fenolů indikuje modré či zelené zbarvení. Největší výskyt fenolů byl zaznamenán v kořenech *Iris crocea*, *Iris spuria* a květech *Iris sibirica*. Nejméně jich obsahovaly květy *Iris setosa* a *Iris pseudacorus* (ZEZULOVÁ, 2014).

Stanovení fenolů je možné několika metodami: kapkovou metodou, FCM Folin-Ciocalteuova metoda, bromometrická titrace, plynová chromatografie, vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC), enzymatické průtokové injekční analýzy (FIA) (HORÁKOVÁ, 1986).

Uvedený postup stanovení fenolů byl využit v experimentální části.

Stanovení celkového obsahu fenolů

Stanovení celkového obsahu fenolů se provádělo standardní, všeobecně doporučovanou a používanou fotometrickou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Standardem byla kyselina gallová rozpuštěná v dest. vodě jako 0.6 M roztok.

Činidla: Folin-Ciocalteuovo činidlo: 10 ml činidla + 90 ml vody, nasycený roztok uhličitanu sodného - přibližně 7.5 g sody + 95 ml vody, míchat, standardní roztok kyseliny gallové - 10 mg gallátu + 20 ml vody, slepý vzorek: jen Fol.Ciocalt.č. + voda.

Pracovní postup: Do zkumavek pipetovat: 1 ml methanolového výluhu, 1 ml zřed. Fol.-Ciocalt. Činidla 1 ml vody, promíchat, nechat odstát 5 minut.

Ke všem zkumavkám se přidalo 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného, doplní se po rysku destilovanou vodou. Promíchat a nechat stát 90 minut. Fotometruje se při 750 nm. Každý vzorek byl měřen třikrát (ZLOCH, 2004).

Flavonoidní látky

Flavonoidní látky jsou vývojově velmi starou skupinou sloučenin. V současnosti je na ně zaměřeno mnoho studií. Z této velké skupiny je nejvíce pozornosti věnováno především kvercetin a rutin. To je dáno jejich snadnou dostupností a velmi významnou biologickou aktivitou. Patří sem anthokyany, flavony, flavanoly, flavanony, flavanonoly, chalkony, isoflavony. Více bude tato práce charakterizovat pouze flavonoidy a anthokyany.

Flavonoidy

Poprvé byly objeveny Robertem Boylem roku 1664 (ASHIHARA, 2011). Až do počátku 60. let minulého století se na ně pohlíželo jako na odpadní látky uskladněné ve vakuolách (ANDERSEN, 2006) zodpovědné za barvu ovoce, zeleniny a květů (LIM, 2013).

Flavonoidy patří mezi sekundární rostlinné metabolity, také patří mezi významné antioxidanty. Jedná se o chemické sloučeniny, jež patří do rozsáhlé skupiny rostlinných fenolů, jde převážně o barviva, která jsou rozpustná ve vodě. Mezi funkce flavonoidů patří interakce mezi rostlinou-živočichem, rostlinou-hmyzem či rostlinou-bakterií. Z lékařské stránky se dají flavonoidy definovat jako „skupina látek obsažených v ovoci a zelenině, která je nezbytná pro využití vitamínu C a pro optimální funkci kapilární stěny.“ Zvířata nejsou schopna syntetizovat aromatické sloučeniny s benzenovým kruhem z alifatických prekurzorů. Z tohoto důvodu zvířata a lidé musí tyto organické antioxidanty přijímat v potravě (HÄSSIG, 1999).

V širokém spektru se flavonoidy vyskytují u krytosemenných rostlin, obzvláště v listech, květech a pylu, méně často v kořenech, semenech, kůře a plodech. Flavony, které udávají barvu květu, náleží mezi anthokyany (pelargonidiny - červené, oranžové a růžové, kyanidiny - karmínové a fialovorůžové, delphinidiny - modré, nachové a lila. Rostliny vytvářejí flavonoidy k ochraně proti houbovým parazitům, býložravcům a patogenům (proanthokyanidiny), UV-B záření, determinují pevnost a odolnost dřeva. Flavonoidy se účastní redoxních procesů a obranných reakcí rostlin (KOLESNIKOV, a další, 2001).

Nejvíce flavonoidů se nachází v nadzemních částech rostlin, v částech pod povrchem půdy byla nalezena pouze stopová množství (HERTOG, a další, 1992). V cévnatých rostlinách bylo nalezeno více než 10 000 druhů flavonoidních sloučenin, které se liší typem a množstvím. Toto je způsobeno odlišností podmínek, ve kterých rostliny vyrůstají a také stupněm zralosti rostlin.

Mezi první zkoumané zástupce patřily ty, které byly nápadní svým žlutým zbarvením (z latinského flavus = žlutý, odtud odvozen název celé skupiny). Základním kamenem je flavan, který se skládá ze dvou benzenových jader spojených pyranem. Přírodní flavonoidy mají podobu O-glykosidů, jejich molekula se dá rozdělit na cukernou a necukernou část (aglykon). Mezi flavonoidy patří flavony, flavonoly, aurony, chalkony, flavonony, isoflavonoidy, leukoanthokyanidiny, katechiny a anthokyany. Pro člověka je dominantním flavonoidem flavanol kvercetin. Významně se podílejí na prevenci onemocněních souvisejících s oxidačním poškozením biomembrán. Zahrnuto je hlavně kardiovaskulární onemocnění, nádorová onemocnění a záněty. Při terapii a prevenci uvedených onemocnění je konzumace potravin obsahujících flavonoidy vhodnější než podávání samotných antioxidantů, jako je vitamin C a E (DAVÍDEK, 1991).

O isoflavonech irigeninu a tectorigeninu obsažených v oddencích kosatců je známo, že jsou účinná antimykotika. Jediný experimentální důkaz, že jsou isoflavonoidy kosatců antimykotické, byl získán ze studia *Iris pseudacorus*. Ošetření listů roztokem chloridu měďnatého vedlo v listech k výrobě 10 isoflavonů a dalších látek popsanych jako stresové metabolity. Některé z nich působily proti plísním. Konkrétně, sloučenina 5, 7, 2 - trihydroxyisoflavon, jedná se o fungitoxickou látku proti *Cladosporium herbarum* (HARBORNE, 2000).

Ve středoškolské práci, kterou provedli studenti Purkyňova gymnázia ve Strážnici společně s Ing. Pavolem Kaššákem v roce 2014 proběhlo stanovení flavonoidů kapkovou metodou v květech, listech či kořenech těchto rostlin (*Iris setosa*, *Iris pseudacorus*, *Iris sibirica* 'Supernatural', *Iris sibirica* 'Whisley White', *Iris pseudacorus* 'Roy Davidson', *Iris orientalis*, *Iris ensata*, *Iris spuria*, *Iris versicolor*, *Iris sibirica* 'Zweikers Hundred', *Iris crocea*). Kapkové testy byly provedeny pomocí metanolového výluhu (24 hodin odstátý, filtrovaný, 2 g materiálu, 50 ml metanolu, 75 %). U těchto pokusů je ukazatelem přítomnosti dané látky barevná skvrna. Flavonoidy byly prokázány ve všech vzorcích použitých kultivarů s výjimkou *Iris sibirica* 'Zweikers Hundred', *Iris sibirica* 'Supernatural', *Iris sibirica* 'Whisley White', *Iris spuria* (ZEZULOVÁ, 2014).

Flavonoidy je možné stanovovat následujícími metodami: chromatograficky na tenké vrstvě (TLC – Thin Layer Chromatography) případně na kolonách, chromatografie plynová a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (GC – Gas Chromatography, HPLC – High Performance Liquid Chromatography), elektromigrační metody – kapilární elektroforéza (CE – Capillary Electrophoresis) a spektrofotometricky v UV/VIS oblasti (KLEJDUS, 1999).

Stanovení celkového obsahu flavonoidů (metoda užitá v experimentální části)

Stanovení obsahu celkových flavonoidů bylo provedeno spektrofotometrickou metodou za použití chloridu hlinitého a dusitanu sodného. Jako standard byl použit katechin (M 290,28).

Činidla: 5 % roztok dusitanu sodného - 5 g Na NO₂ + 95 ml vody, 10 % rozt. chloridu hlinitého – 10 g + 90 ml vody, 1 M rozt. hydroxidu sodného – 10 g NaOH a minimální množství vody (cca 5 ml), po rozpuštění doplnit na 250 ml, 1 mM standardní roztok katechinu - 10 mg katechinu a 30 ml vody (nebo 30 mg + 100 ml), slepý vzorek - 2 ml vody.

Pracovní postup: Do zkumavek bylo napipetováno 0,5 ml vzorku a 1,5 ml vody, do všech zkumavek bylo přidáno 0,2 ml 5 % roztoku NaNO₂, promíchat. Nechat 5 minut stát. Po uplynutí času do zkumavek opět napipetovat 0,2 ml 10 % roztoku AlCl₃, promíchat. Po dalších 5 minutách bylo přidáno 1,5 ml 1M roztoku NaOH a 1 ml destilované vody. Vzorek byl proztřepán. Po 15 minutách byla měřena absorbance při vlnové délce 510 nm na spektrofometru. Výsledný obsah celkových flavonoidů byl stanoven v mg katechinu.100g⁻¹.

Anthokyany

Anthokyany se také nazývají anthokyaniny, jedná se o velice rozsáhlou skupinu rostlinných barviv. Na rozdíl od karotenoidů jsou rozpustné ve vodě. Vyskytují se ve vakuolách, v povrchových částech ovoce a zeleniny, ve slupkách a okrajových vrstvách dužniny. Jedná se o fenolové sloučeniny, patřící mezi flavonoidy a jsou zodpovědné za zbarvení mnoha druhů ovoce, zeleniny, květin a dalších rostlinných materiálů. Celá skupina čítá okolo 500 diferencovaných látek. Název byl odvozen od řeckého slova anthos (květina) a kynos (modrý). Všechny anthokyany jsou odvozeny od struktury flavyliového kationtu (2-fenylbenzopyryliový kation). Barevná škála se pohybuje od oranžové, červené přes fialovou až po modrou. V potravinách má význam převážně šest anthokyanů (kyanidin, pelargonidin, peonidin, delphinidin, petunidin a malvinidin (VELÍŠEK, 2009).

Anthokyany patří mezi látky velmi citlivé na vlivy z okolí, především na pH, teplotu, enzymy, kyslík aj. Největším ovlivňovatelem je pH prostředí. To působí na jejich konformaci, barvu a její intenzitu. Nejintenzivnější zbarvení mají anthokyany v prostředí s pH < 3-5 (TESORIERE, 2002).

Mezi hlavní zdroje příjmu anthokyanů patří ovoce čeledi *Vitaceae* (révovité - hrozný révy vinné) a *Rosaceae* (růžovité - třešně, švestky, maliny, jahody, ostružiny, jablka, hrušky, aj.), v menší míře *Solanaceae* (lilkovité - lilek, odrůdy brambor s červenou slupkou), *Saxifragaceae* (lomikamenovité - černý a červený rybíz, červené odrůdy angreštu), *Ericaceae* (vřesovcovité - borůvky, brusinky), čeledi *Oleaceae* (olivy) a *Brassicaceae* (brukvovité - červené zelí, ředkvičky, červené odrůdy další brukvovité zeleniny) (KONCZAK, 2004).

Jako přírodní barviva jsou anthokyaniny využívány již více jak 100 let. Před 25 lety vzrostl zájem spotřebitelů o přírodní potravinářská barviva a do popředí se dostaly i anthokyaniny. Na obalech potravin je možné je najít pod označením E 163. Barvené jsou jimi mléčné výrobky, limonády, alkoholické nápoje i některé sladkosti. Dle chemických rozborů se jedná o zdravotně nezávadné látky. Na našem území není dovoleno anthokyaniny užívat v dětských výživách. Ani farmaceutický a kosmetický průmysl se bez těchto látek neobejde. Matoliny, tedy zbytkové produkty po lisování vína jsou nejčastěji využívaný produkt k získání barviva, obsahují $0,3-7,5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ anthokyaninů. Dalšími zdroji barviva jsou plody černého bezu, u kterých se obsah anthokyaninů pohybuje mezi $2-10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ popřípadě plody aronie ($10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) (HIGDON, 2007).

V kultivarech 'Suiten-issshoku', 'Hekikai' a 'Yakonotama' (druh *Iris ensata*) byly nalezeny malvidin, petunidin (YABUYA, 1997).

V kultivarech *Iris sibirica* ('Cambridge', 'Coobalah', 'Dahlem', 'Dance Ballerina Dance', 'Dark desire', 'Dreaming Spire', 'Dreaming Yellow', 'Elfelde', 'Fouford white', 'Friendly Welcome', 'Gerald Darby', 'Grand Junction', 'Harpsvel Haze', 'Harpsvel Velvet', 'Marantha', 'Marcus Perry', 'Marie Franz', 'Mrs Rove', 'Navy Brass', 'New Hybrids', 'Orvil Fay', 'Ottava', 'Pansy Purple', 'Phil Edinger', 'Prince Prairie', 'Roy Davidson', 'Sarah', 'Tifeney', 'Sea Shadow', 'Snow Crest', 'Snow Princess', 'Snow Queen', 'Soft Blue', 'Still Waters', 'Strandperle', 'Supernatural', 'Tropic Night', 'Tycoon', 'Vintage Wine', 'Whisley White', 'White Horse', 'White Swirl', 'Wiltraud Giesel', 'Zweiters Hundred') byly monitorovány tyto anthokyaniny -. cyanidin-3-glukozidu, peonidin-3-glukozidu, pelargonidin-3-glukozidu, malvidin-3-glukozidu, a delphinidin-3-glukozidu. Zvolená metoda stanovení byla HPLC–DAD (520 nm). Shoda se standardy proběhla pouze u anthokyaninů - malvidin-3-glikozid a delphinidin-3-glukozid, které byly zjištěné v kultivaru 'Elfelde'. V případě 7 kultivarů *Iris sibirica* - 'Dreaming Yellow', 'Roy Davidson', 'Snow Princess', 'Snow Queen', 'Whisley White', 'White Horse' a 'White Swirl', nebyla zjištěna přítomnost žádných anthokyaninových pigmentů, zřejmě z důvodu jejich bílé až žluté barvy květů. Ostatní kultivary vykazaly přítomnost anthokyaninů (Screening přítomnosti vybraných anthokyaninových pigmentů V květech nejpestovanejších kultivarů *Iris sibirica*, 2012).

Anthokyaniny je možné stanovovat následujícími metodami, níže popsané stanovení bylo užito v pokusné části. Metoda podle Lapornika et al., (2005), založená na závislosti absorpance anthokyanů na pH roztoku, pH diferenciální metoda, vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC), papírová chromatografie (PC) a tenkovrstvá chromatografie (TLC), kapalinová chromatografie (CLC), nebo kapilární zónová elektroforéza (CZE) (BALÍK, 2010).

Stanovení celkového obsahu anthokyanů (pH diferenciální metoda)

Anthokyaniny reverzibilně mění barvu se změnou pH, což omezuje jejich efektivní využití jako potravinářských barviv pro řadu aplikací, ale také lze snadno měřit celkovou koncentraci pigmentu. Reverzibilní změna barvy se projevuje nápadně odlišnou absorpací. Vzorky se ředí vhodnými pufrů o pH 1 a o pH 4,5. Při pH 1 převládá barevná oxoniová forma a při pH 4,5 bezbarvá hemiketalová forma. Rozdíl absorpance mezi oběma tlumivými roztoky představuje celkový obsah monomerních anthokyanů. Polymerní anthokyaniny a pigmenty neenzymového hnědnutí nevykazují reverzibilní chování a proto nemají rušivý vliv na výpočet monomerních anthokyanů. Při výpočtu se využívá molekulová hmotnost a molární extenční koeficient hlavního anthokyanu v matrici. Počet anthokyanů, pro které byly stanoveny molekulové extenční koeficienty je však omezený.

Chemikálie

Methylalkohol 99,8 % p.a., kyselina chlorovodíková 35% p.a., chlorid sodný 99,9 % p.a., octan sodný trihydrát 99% p.a., destilovaná voda

Přístroje

Analytické váhy KERN 770, pH metr Inolab WTW, pH elektroda WTW Sentix 41, Spektrofotometr Analytik Jena SPEKORD 50PLUS, průtoková kyveta 1 cm, Centrifuga HETTICH EBA 12

Příprava roztoků

Příprava NaCl pufru; $0,025 \text{ mol.l}^{-1}$ roztok chloridu sodného o pH 1

Na analytických váhách bylo naváženo přibližně 0,9300 g NaCl. Navážka byla kvantitativně převedena do kádinky a rozpuštěna v 490 ml destilované vody. Na pH metru bylo změřeno pH a jeho hodnota byla upravena pomocí koncentrované HCl na požadované pH 1,0. Poté byl tento roztok převeden do 500 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku.

Příprava acetátového pufru; $0,4 \text{ mol.l}^{-1}$ roztok octanu sodného o pH 4,5

Na analytických váhách bylo naváženo přibližně 27,2150 g trihydrátu octanu sodného. Navážka byla kvantitativně převedena do kádinky a rozpuštěna v 480 ml destilované vody. Po změření pH byla jeho hodnota upravena na požadované pH 4,5 pomocí koncentrované HCl. Poté byl roztok převeden do 500 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku.

Příprava vzorku

Na analytických váhách bylo naváženo 1 g usušených květů jednotlivých kultivarů. Navážka byla spláchnuta methanolem okyseleným kyselinou chlorovodíkovou $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ do 25 ml odměrné baňky. A ponechána 24 hodin v ledničce. Poté byl obsah odměrné baňky centrifugován na laboratorní centrifuze při rychlosti asi 5 000 otáček/min po dobu 1 minuty a vzniklý supernatant byl dále filtrován přes stříkačkový filtr o porozitě 0,45 μm .

Vlastní stanovení

Do šesti zkumavek bylo napipetováno 0,2 ml vzorku extraktu. Poté bylo do prvních třech zkumavek přidáno 2,8 ml NaCl pufru o pH 1 a do zbylých třech zkumavek 2,8 ml acetátového pufru o pH 4,5. Obsah každé zkumavky byl proměřen na spektrofotometru při vlnových délkách 510 a 700 nm. Jako blank byla použita destilovaná voda.

Výpočty

Výpočet absorbance zředěného vzorku:

$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4,5}$, kde A je absorbance zředěného vzorku při dané vlnové délce a pH roztoku.

Výpočet koncentrace monomerního anthokyanového pigmentu:

$c_{\text{MP}} = A \cdot \text{MW} \cdot \text{DF} \cdot 1000 / \epsilon \cdot l$, kde MP c [mg.l⁻¹] je koncentrace monomerního pigmentu, A je absorbance zředěného vzorku, MW je molekulová hmotnost kyanidin 3-glukosidu [MW = 449,2 g.mol⁻¹], DF je faktor ředění, ϵ je molární absorpční koeficient pro kyanidin-3-glukosid [$\epsilon = 26\,900 \text{ cm} \cdot \text{mol}^{-1}$], l je délka optické dráhy [1 cm].

Přepočet koncentrace monomerního pigmentu na 100 g usušených květů:

$c = c_{\text{MP}} \cdot V \cdot 0,1/m$, kde c [mg.100 g⁻¹] je obsah monomerního anthokyanu ve 100 g květů, MP c je koncentrace monomerního pigmentu [mg.l⁻¹], V je objem roztoku z květů [25 ml] a m je hmotnost navážky květů [g].

3.4 Barvení pomocí květů kosatce

3.4.1 Historie barvení

Počátky v barvení jsou zaznamenány již ve starověku, tuto skutečnost nám odhalují archeologické nálezy z francouzských a španělských jeskyní. Dřívější obyvatelé těchto jeskyní barvili přírodními, jak organickými, tak i anorganickými barvivy (HLADÍK, 1982). Mezi nejstarší rostlinná barviva patří indigo, o jehož užívání se zasloužili v Číně. Následně urazilo cestu z Číny do Indie, přes Persii, Turkmenistán, Malou Asii až do Egypta (BALFOUR-PAUL, 2011). Čína v té době zavedla výhradní monopol na užívání daných barev pro přesně definované skupiny. Například žlutá (barva země), modrá (barva nebe) byly barvami vládnoucí dynastie (ZAHRADNÍK, 1986). Ani Egypt ve své vyspělosti oboru barvířství nijak nezaostával, tento fakt napovídají zachovalá roucha v odkrytých egyptských hrobech a staré papyry z Théb, jež o barvení pojednávají. V Římě pro barvení užívali šafrán, lotos a skořápky od ořechů (TREPKA, 1960). Díky tropickým rostlinám, které byly přivezeny společně se zámořskými objevy, se ve středověku rozšířil i sortiment barvířských rostlin. Modrá byla získávána z borytu barvířského (*Isatis tinctoria*), červená z mořeny barvířské (*Rubia tinctorum*), šarlatová z kermesu (*Cosmos ilicis* L.), žlutá ze škumpy (*Rhus typhina* L.) (MOUDRÝ, 2005).

V Benátkách byla v roce 1492 vydána první sbírka předpisů barvířských - „*Mariegola del' Arte dei Tintori*“, pojednává o postupech barvení, rostlinách barvířských a materiálech vhodných k barvení (FRANĚK, 1926). Období novověku přináší v roce 1869 další syntetické barvivo (alizarin), díky tomuto objevu docházelo k postupné likvidaci nejužívanější barvířky a to mořeny barvířské. První syntetické barvivo bylo vytvořeno již v roce 1855, tímto rokem započal i konec využívání přírodních barviv (BECHTOLD, 2009). Na našem území se barvíři dělili dle odstínů, kterými barvili, na černobarvíře (černá, modrá, hnědá) a krasnobarvíře (žlutá, červená, zelená). Barvila se vlněná příze a lněné tkaniny pomocí borytu, mořeny a šafránu. Do práce barvířů zasahovali velkou měrou i mandlíři, kteří měli na starosti taktéž barvení, ale hlavně bělení. Indigo na naše území doputovalo v 17. století. U našich sousedů na Slovensku se vyrábělo plátno, které podmiňovalo vývoj barvení. I zde vznikaly barvířské cechy, první vznikl v Levoči (JANOTKA, 1984).

3.4.2 Mořidla užívaná ke stabilizaci barev

Jedná se o látky, které se do barvicích lázní přidávají pro získání požadovaných barevných odstínů a docílení maximální stálosti, souhrně jsou označovány jako mořidla. Patří sem soli kovů nebo čisté kovy. Ne vždy je nutné jako ustalovač užit chemickou látku, přiklonit se můžeme k přírodním látkám jako je odvar z rebarbory, jablečný ocet, moč či tanin z duběnek. Mořidla je možné užit několika způsoby: použít mořidla před barvením (materiál k barvení se nejprve moří až následně barví), možné je přidat mořidla přímo do vaření tzv. „vše v jednom“ popř. až na závěr, kdy po se materiál namáčí do mořidla až po obarvení (BIDLOVÁ, 2004).

Mezi často používaná mořidla patří:

- **kamenec** (síran hlinitodraselný) – spolu s vinným kamenem je užíván k ustalování žlutých barev,
- **chlorid cínatý** – toto mořidlo je cenově mnohem více náročné než ostatní, používá se k projasnění a ustálení žlutých barev,
- **zelená skalice** (síran železnatý) – zintenzivňuje zelené zbarvení,
- **modrá skalice** (síran měďnatý) – zjemňuje výsledný odstín barev, ustaluje zelenou,
- **vinný kámen** (kyselina vinná) – projasňuje a napomáhá proniknutí barev do materiálu,
- **soda** (hydrogenuhličitan sodný) – používá se před barvením ve chvíli, kdy se materiál pere, také je přidáván do červené barvicí lázně ze světlice barvířské,
- **ocet** – užíván jako ustalovač při barvení plody, také se účastní přípravy barvicí lázně ze světlice barvířské,
- **thiosíran sodný** – pokud je připravována modrá barvicí lázeň tato látka nesmí chybět,
- **čpavková voda** – užívána je stejně jako thiosíran sodný (BIDLOVÁ, 2004), (BREMNESS, 2003).

V experimentální části diplomové práce byla užitá modrá skalice (síran měďnatý) a to z důvodu snadné dostupnosti této látky.

3.4.3 Charakteristika textilního materiálu

Pro barvení jsou důležitá nejen barviva, ale i zvolené materiály určené k barvení. Vlákno je v textílii složeno z řetězových makromolekul organizovaných jednotným způsobem. Čím více micel je orientovaných ve směru vlákna, tím je vlákno pevnější. U přírodních vláken není možné změnit obsah micel. Přírodní materiál lze od syntetického rozpoznat dle jejich chování ve vodě. Díky hydrofilní podstatě přírodních materiálů jsou schopny namáčením vzdálit stavební řetězce vláken a tím zlepšit proces barvení (ZAHRADNÍK, 1986).

Všechny druhy materiálů nepřijímají barviva stejnou měrou. Nejsytějších odstínů lze dosáhnout použitím vlny, hedvábí, méně syté bývají barvy při užití lněných textilií či bavlny (KRYŠTŮFEK, 2011).

Aby bylo dosaženo lepší nasákavosti barviva do látky je dobré před samotným barvením textilní materiál vyprat. Vypráním a vymácháním se materiál zbaví nečistot a mastnoty (BIDLOVÁ, 2004). Pro barvení byla užitá stejná 100 % bavlněná látka jako v bakalářské práci (HEJLOVÁ, 2015). Látka byla nastříhána na čtverce o rozměru 0,1 x 0,1 m. Váha jednoho vzorku odpovídala 2 g.

3.4.4 Metody barvení

Pro barvení bavlněných vzorků jsme použili metodiku dle GRIMMICOVÁ (2012). Dle autorky je metoda vhodná pro barvení přírodních materiálů přírodními barvivy, a to jak za studena, tak za varu. Metoda se skládá z přípravy barvené textilie a přípravy barvicí lázně. Pro pokus byly použity oba dva způsoby barvení, za studena i za varu, pro ověření zda teplota lázně ovlivní získané barvy látek. Oproti pokusům učiněným v bakalářské práci (HEJLOVÁ, 2015) bude každý vzorek (kromě vzorku kontrolního), mořen v roztoku č.1 dle a následně mořen ještě v roztoku č. 2 dle Tab. 6. Výsledky budou porovnány s výsledky, kterých bylo dosaženo v bakalářské práci (HEJLOVÁ, 2015).

3.4.5 Příprava barvené textilie

Textilní čtverce byly před samotným barvením vyprány a následně namočený v roztocích vybraných chemikálií. Následně byly namočený v roztoku modré skalice. Tento postup by měl zlepšit barevnost, propustnost látky a stabilitu barev (CANNON, 2003).

Pro úpravu před barvením byl použit roztok Sava, sody, octa, kuchyňské soli (dále jen soli), modré skalice a to následovně.

Pro přípravu roztoku:

- **sody** bylo použito 50 g sody na 160 ml vody,
- **octa** bylo užito 100 ml octa a 160 ml vody,
- **soli** bylo použito 50 g soli a 160 ml vody,
- **Sava** bylo smícháno 100 ml sava a 160 ml vody,
- **modré skalice** bylo smícháno ½ čajové lžičky modré skalice, 160 ml vody a 5 ml 5 % octa.

Při přípravě všech pokusných variant, roztoků i barvicích lázní byla používána destilovaná voda. Jestliže by byla užita voda z vodovodní sítě, mohlo by dojít ovlivnění jejím chemismem.

Všechny roztoky byly důkladně promíchány, aby došlo k úplnému rozpuštění všech složek. Každým typem máčecího roztoku č. 1 bylo ošetřeno 8 kusů, máčecím roztokem č. 2 byly ošetřeny 4 vzorky látky. Vzorky látky byly v každém z roztoků ponořeny po dobu 5 minut. Následně byly vyždímány a propláchnuty čistou destilovanou vodou. Do 5 vzorků barvicí lázně za studena a 5 vzorků barvicí lázně varem byly přidány látky užité při máčení (soda, ocet, sůl, Savo) a modrá skalice. Přidány byly z důvodu ovlivnění pH lázně, stability barev a tím i výsledné barvy.

U soli a skalice byla předpokládána konzervace a tudíž stabilita barev, soda svou zásaditostí měla změnit modré zbarvení na zelené, Savo a ocet měly způsobit barvenou změnu od modré k červené nebo až žluté. Objem přídatných složek, byl odvozen od množství doporučeného při barvení umělými barvivy (GRIMMICOVÁ, 2012).

Čas určený k barvení byl určen poměrově k množství barveného materiálu a množství rostlinného materiálu (HŘEBÍČKOVÁ, 2006). Modrá skalice užita jako mořidlo měla způsobit stabilitu barvených látek (BIDLOVÁ, 2004).

3.4.6 Příprava filtrátu k barvení

Ke směsi usušených květů kultivarů *Iris sibirica* o hmotnosti 200 g byly přidány 4 l destilované vody, vše bylo promícháno a vařeno 30 minut. Po převaření byla směs ponechána na vychladnutí. Požadovaná teplota byla okolo 20-25 °C. Roztok o požadované teplotě byl přefiltrován přes hrubé síto, následně přes filtrační papír pro odstranění všech zbytků rostlinného materiálu. Pro samotné barvení byl užit pouze filtrát.

3.4.7 Barvení za studena (louhování)

Vzorky byly nejprve ponořeny do máčecího roztoku 1 po dobu 5 minut, následně v máčecím roztoku 2 taktéž po dobu 5 minut. Po namočení byly vzorky umístěny do přefiltrovaných roztoků (Tab. 6), po 2 kusech, jeden byl ponechán v lázni 30 a druhý 60 minut.

3.4.8 Barvení za varu

Vzorky byly předpřipraveny jako v případě barvení za studena (máčení v roztoku 1 a 2), následně byly umístěny do vroucích barvicích lázní (Tab. 6). Počet vzorků byl opět 2, jeden barven 30 a druhý 60 minut.

3.4.9 Hodnocení získaných barev

Všechny vzorky byly po obarvení vyjmuty z barvicích lázní a vyždímány. Vzorky byly sušeny při pokojové teplotě (20–25 °C) 24 hodin. Po 24 hodinách byly určeny barevné odstíny dle RHS škály barev a pořízena fotodokumentace pro následné porovnání (Tab. 14). Označené vzorky byly uskladněny v papírových sáčcích v temnu a v suchu při pokojové teplotě. Následná měření proběhla ve dvou termínech, po 60 dnech (Tab. 15) a 180 dnech (Tab. 16).

Zvolená barevná škála RHS (Royal Horticulture Society) byla užitá i v bakalářské práci (HEJLOVÁ, 2015). Danou unifikovanou barevnou škálou se řídí zahradníci i zahradní architekti při definici odstínu barvy květů a listů či při popisu nové odrůdy. Většina zahradnických profesí, ať už realizátorů nebo dovozců, se tímto vzorníkem řídí a není tedy možné, aby došlo k záměně barev. Použitý barevný vzorník obsahuje 884 barev, které jsou rozděleny do 23 skupin (Society, 2014).

3.4.10 Výsledky barvení bakalářské práce, HEJLOVÁ, 2015

V níže uvedených tabulkách jsou uvedeny výsledky z hodnocení barevnosti 36 obarvených vzorků v rozmezí 24 hodin (Tab. 1), 60 dní (Tab. 2) a 180 dní (Tab. 3). Získané barvy vzorků byly měřeny 19. 6. 2014, druhé měření po 60 dnech (19. 8. 2014) a třetí po 180 dnech (19. 12. 2014). Tyto hodnoty budou použity ke srovnání s výsledky při užití mořidel.

Tab. 1: Výsledky hodnocení po 24 hodinách

Vzorek (30 minut)	RHS po 24 h	Vzorek (60 minut)	RHS po 24 h
K/3	100 D light violet blue	K 6	97 C light violet blue
1/3	145 C light green	1/6	142 C light green
2/3	97 C light violet blue	2/6	97 C light violet blue
3/3	115 D grey blue	3/6	97 B light violet blue
4/3	123 D light blue green	4/6	121 D light green blue
5/3	142 A green	5/6	134 A dark green
6/3	97C light violet blue	6/6	101 D light blue
7/3	91 C light violet blue	7/6	85 C light blue violet
8/3	4 D light yellow	8/6	4 D light yellow
9/3	123 D light blue green	9/6	124 D light blue green
10/3	4 D light yellow	10/6	150 D yellow green
11/3	112 D light green blue	11/6	123 D light blue green
12/3	97 D light violet blue	12/6	97 C light violet blue
13/3	142 D light green	13/6	138 D light green
14/3	163 C light yellow brown	14/6	163 A yellow brown
15/3	130 D blue green	15/6	129 C blue green
16/3	91 D light violet blue	16/6	97 D light violet blue
17/3	155 D white	17/6	158 C light yellow brown

Zdroj: BP - Využití okrasných rostlin jako rostlin barvířských, Hejlová, 2015

Tab. 2: Výsledky hodnocení po 60 dnech

Vzorek (30 minut)	RHS po 60 dnech	Vzorek (60 minut)	RHS po 60 dnech
K/3	155 B white	K 6	155 A white
1/3	24 D orange	1/6	24 C orange
2/3	16 D light yellow	2/6	15 D light yellow
3/3	4 D light yellow	3/6	5 D light yellow
4/3	27 B orange pink	4/6	27 A orange pink
5/3	29 C orange pink	5/6	28 D orange
6/3	163 D light yellow brown	6/6	164 D light yellow brown
7/3	50 D light red pink	7/6	51 D red pink
8/3	155 A white	8/6	155 B white
9/3	157 B grey	9/6	157 A grey
10/3	27 B orange pink	10/6	33D orange pink
11/3	NN 155 D white	11/6	156 B grey
12/3	27 D orange pink	12/6	27 B orange pink
13/3	157 D white	13/6	157 B grey
14/3	167 D yellow brown	14/6	167 B yellow brown
15/3	159 B light yellow brown	15/6	158 A light yellow brown
16/3	49 D red pink	16/6	49 C red pink
17/3	158 D light yellow brown	17/6	161 A light yellow brown

Zdroj: BP - Využití okrasných rostlin jako rostlin barviřských, Hejlová, 2015

Tab. 3: Výsledky hodnocení po 180 dnech

Vzorek (30 minut)	RHS po 180 dnech	Vzorek (60 minut)	RHS po 180 dnech
K/3	155 B white	K 6	155 C white
1/3	24 D orange	1/6	24 C orange
2/3	16 D light yellow	2/6	15 D light yellow
3/3	4 D light yellow	3/6	5 D light yellow
4/3	27 B orange pink	4/6	27 A orange pink
5/3	29 C orange pink	5/6	28 D orange
6/3	163 D light yellow brown	6/6	164 D light yellow brown
7/3	50 D light red pink	7/6	51 D red pink
8/3	155 A white	8/6	155 B white
9/3	157 B grey	9/6	157 A grey
10/3	27 B orange pink	10/6	33D orange pink
11/3	NN155 D white	11/6	156 B grey
12/3	27 D orange pink	12/6	27 C orange pink
13/3	157 D white	13/6	157 B grey
14/3	167 D yellow brown	14/6	167 B yellow brown
15/3	159 C light yellow brown	15/6	158 A light yellow brown
16/3	49 D red pink	16/6	49 C red pink
17/3	158 D light yellow brown	17/6	161 A light yellow brown

Zdroj: BP - Využití okrasných rostlin jako rostlin barviřských, Hejlová, 2015

4. MATERIÁL A METODY

4.1 Materiál

4.1.1 Charakteristika místa sběru pokusného materiálu

Pozemek, na kterém je pěstován druh *Iris sibirica* a *Iris barbata*, leží v areálu Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici na jižní Moravě. Nadmořská výška pěstební oblasti je 176 m, průměrné roční teploty se pohybují v hodnotě 9,1 °C a roční srážky dosahují 534 mm. Útvar se skládá ze čtvrtohorních sedimentů, hlavně štěrků, písků a spraší, nejvíce rozšířený půdní typ je černozem na spraši, který se týká i stanoviště kosatců. Tento fakt dokazuje i půdněekologická jednotka 00100 (půdy středně těžké, písčitohlinité, bez skeletu, velmi hluboké a příznivým vodním režimem). Spodní voda se nachází v hloubce okolo 0,8–1,2 m pod povrchem. Pozemek je rovinatý s mírným sklonem. Jde o teplou makrooblast se zavlažením v rozemní 100–150 mm (ROŽNOVSKÝ, a další)

4.1.2 Použitý rostlinný materiál

Pro experimentální část diplomové práce byly použity kultivary rodu *Iris sibirica* a *Iris barbata*. Ke stanovení celkového obsahu flavonoidů, fenolů, antioxidační kapacity a anthokyanů byly užity jak květy, tak i oddenky, konkrétně těchto kultivarů:

- *Iris barbata* ('Royal trumpeter', 'Firebreather', 'Conjuration', 'Irenka', 'Dusky challenger', 'Dauntless', 'Mary frances', 'Cable car', 'Mystique', 'Ambroise'),
- *Iris sibirica* ('Still Waters', 'Soft Blue').

Květy pro barvení byly užité ve stejné směsi jako v bakalářské práci, aby bylo možné výsledky porovnat. Konkrétně byly sesbírány tyto kultivary:

- *Iris sibirica* ('Still Waters', 'Soft Blue', 'Orville Fay', 'Navy Brass', 'Harpowell Haze', 'Cambridge', 'Blue Ribbon', 'Blue Mere' a 'Ann Dasch').

Sběr rostlinného materiálu proběhl v období květen až červen 2016 (v termínech 25. 5. 2016, 1. 6. 2016 a 8. 6. 2016). Barvení se uskutečnilo opět pomocí sušeného materiálu (sesychací poměr dle WESTLAND (1998) je 6-8:1) tentokrát v domácích podmínkách (Brno, Těsnohládkova 10). Při sběru bylo dbáno na správnou dobu sklizně, aby tento faktor neovlivňoval kvalitu sušených květů, bylo nutné dosáhnout požadovaného vzhledu, barvy i kvality.

Sklizeň probíhala vždy za sucha, protože mokré rostliny se hůře suší a zvyšuje se možnost napadení houbovými chorobami. Květy pro barvení byly sušeny přirozeně v optimálním rozptylu teplot 20–25 °C až do úplného vysušení a následně skladovány v teple, suchu a temnotě při pokojové teplotě. Před samotným použitím byla suchá hmota pro přípravu barvicí lázně namleta na laboratorním mlýnku IKA MF10 basic, síto velikost 2 mm, otáčky 500. Po namletí bylo získáno 200 g sušiny, která byla v další fázi experimentu použita při přípravě barvicí lázně.

Rostliny určené ke stanovení obsahových látek byly sbírány ve stejném období jako ty určené k barvení. Od každého kultivaru se sbíral jak květ, tak i oddenek. V tomto případě byl další postup s materiálem rozdílný. Po sesbírání vzorků byly živé květy a oddenky rozděleny na alobalové misky dle kultivarů. Každý ze vzorků byl označen, květy (č. 1-12), oddenky (č. I-XII).

Květy		Oddenky
<i>Iris barbata</i> 'Royal trumpeter '	1	I
<i>Iris barbata</i> 'Firebreather '	2	II
<i>Iris barbata</i> 'Conjuration '	3	III
<i>Iris barbata</i> 'Irenka '	4	IV
<i>Iris barbata</i> 'Dusky challenger '	5	V
<i>Iris barbata</i> 'Dauntless '	6	VI
<i>Iris sibirica</i> 'Still Waters',	7	VII
<i>Iris barbata</i> 'Mary frances'	8	VIII
<i>Iris sibirica</i> 'Soft Blue'	9	IX
<i>Iris barbata</i> 'Cable car'	10	X
<i>Iris barbata</i> 'Mystique '	11	XI
<i>Iris barbata</i> 'Ambroise '	12	XII

Z květů i oddenků bylo odebráno od každého 3 g čerstvého materiálu pro přípravu menthanolového výluhu. Další 2 g od každého vzorky byly odebrány ke stanovení sušiny (Tab. 4 a 5), zváženy v čerstvém stavu a následně v sušárně vysušeny při teplotě 105°C 240 minut. Zbylý materiál byl taktéž vysušen (při 50°C) pro přípravu dalšího methanolového výluhu ke stanovení celkových anthokyanů.

4.2 Metody

4.2.1 Stanovení sušiny

Principem stanovení sušiny je odstranění vody ze vzorků, zastavení enzymatických procesů a možnost následné homogenizace vzorků. Po 2 g z každého vzorku květů (1-12) a oddenků (I-XII) byly v čerstvém stavu naváženy a každý zvlášť umístěn do misky a i s miskou zváženy. Pro následný výpočet sušiny byly zváženy i misky samostatně. V sušárně se vzorky sušily při teplotě 105 °C 240 minut. Následný výpočet byl proveden dle vzorce $M (\%) = \left(\frac{m_2 \cdot 100}{m_1} \right) - 100$, přičemž $m_1 = m \text{ celková} - m \text{ miska}$, $m_2 = m \text{ celková} - m \text{ po vysušení}$ (Tab. 4 a 5) (ZBÍRAL, 2005).

Tab. 4 Stanovení výsledné sušiny v květech (%)

druh	označení květu	m miska (květy) (g)	m celková (miska + květy) (g)	m po vysušení květ (g)	sušina (%)
<i>Iris barbata</i> 'Royal Trumpeter'	1	23,7091	25,4050	23,8415	7,8071
<i>Iris barbata</i> 'Firebreather'	2	24,7822	27,1196	24,9106	5,4933
<i>Iris barbata</i> 'Conjuration'	3	24,2559	26,8824	24,4064	5,7301
<i>Iris barbata</i> 'Irenka'	4	24,3708	26,2503	24,4878	6,2251
<i>Iris barbata</i> 'Dusky Challenger'	5	24,2251	26,1165	24,3439	6,2811
<i>Iris barbata</i> 'Dauntless'	6	24,9203	26,9902	25,0430	5,9278
<i>Iris sibirica</i> 'Still Waters',	7	24,4744	26,1427	24,6782	12,2160
<i>Iris barbata</i> 'Mary Frances'	8	24,1136	26,6125	24,2859	6,8950
<i>Iris sibirica</i> 'Soft Blue'	9	24,2968	26,0331	24,4941	11,3632
<i>Iris barbata</i> 'Cable Car'	10	24,4846	26,1416	24,5801	5,7634
<i>Iris barbata</i> 'Mystique'	11	23,4114	25,2243	23,5215	6,0731
<i>Iris barbata</i> 'Ambroise'	12	23,8487	25,4748	23,9455	5,9529

Tab. 5 Stanovení výsledné sušiny v oddencích (%)

druh	označení oddenku	m miska (oddenek) (g)	m celková (miska + oddenek) (g)	m po vysušení oddenek (g)	sušina (%)
<i>Iris barbata</i> 'Royal Trumpeter'	I	24,1301	26,2146	24,5313	19,2468
<i>Iris barbata</i> 'Firebreather'	II	23,5767	25,6727	23,9321	16,9561
<i>Iris barbata</i> 'Conjuration'	III	23,7626	25,2171	23,9721	14,4036
<i>Iris barbata</i> 'Irenka'	IV	23,9498	25,5375	24,2734	20,3817
<i>Iris barbata</i> 'Dusky Challenger'	V	24,8423	26,2206	25,0739	16,8033
<i>Iris barbata</i> 'Dauntless'	VI	23,4607	25,1824	23,8000	19,7073
<i>Iris sibirica</i> 'Still Waters'	VII	23,7809	25,9306	24,3543	26,6735
<i>Iris barbata</i> 'Mary Frances'	VIII	24,3516	25,9106	24,7026	22,5144
<i>Iris sibirica</i> 'Soft Blue'	IX	24,9463	26,1407	25,2347	24,1460
<i>Iris barbata</i> 'Cable Car'	X	23,8565	26,6676	24,1734	11,2732
<i>Iris barbata</i> 'Mystique'	XI	24,7953	26,4391	25,1690	22,7339
<i>Iris barbata</i> 'Ambroise'	XII	23,3867	25,3867	23,6883	15,0800

Z vypočítaných hodnot je obecně zřejmé, že více sušiny obsahovaly oddenky a to z důvodu menšího obsahu vody a většího podílu rostlinné složky.

4.2.2 Methanolvý vyluh pro stanovení flavonoidů, fenolů, antioxidační kap.

Na přípravu methanolvého vyluhu byly naváženy 3 g čerstvého rostlinného materiálu, jak květů, tak i oddenků. Ke každému vzorku bylo přidáno 20 ml methanolu. Směs byla rozmixována, po rozmixování převedena oplachováním zpět do kádinky, přefiltrována a filtrát byl doplněn na objem 50 ml (ZBÍRAL, 2005). Všechny vzorky byly až do samotného pokusu uchovány v lednici.

4.2.3 Methanolvý vyluh pro stanovení anthokyanů

Na analytických váhách bylo naváženo 1 g usušených květů jednotlivých kultivarů. Navážka byla spláchnuta methanolem okyseleným kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol.l⁻¹ do 25 ml odměrné baňky a ponechána 24 hodin v ledničce. Poté byl obsah odměrné baňky centrifugován na laboratorní centrifuze při rychlosti asi 5 000 otáček/min po dobu 1 minuty a vzniklý supernatant byl dále filtrován přes stříkačkový filtr o porozitě 0,45 um (ZBÍRAL, 2005).

4.2.4 Stanovení celkového obsahu fenolů

Do zkumavek bylo napipetován 1 ml methanolového výluhu, 1 ml zřed. Fol.-Ciocalt. Činidla, 1 ml vody, vše se promíchalo a nechalo stát 5 minut. Ke všem zkumavkám se přidalo 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného, doplnilo po rysku destilovanou vodou. Po promíchání bylo nutné nechat stát 90 minut. Měření proběhlo při vlnové délce 750 nm. Každý vzorek byl měřen třikrát.

4.2.5 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Do zkumavek bylo napipetováno 0,5 ml vzorku a 1,5 ml vody, přidáno 0,2 ml 5 % roztoku NaNO_2 , promícháno. Interval odstátí 5 minut. Po uplynutí času do zkumavek napipetováno 0,2 ml 10 % roztoku AlCl_3 , opět promícháno. Po dalších 5 minutách bylo přidáno 1,5 ml 1M roztoku NaOH a 1 ml destilované vody. Vzorek byl protřepán. Po 15 minutách byla měřena absorbance při vlnové délce 510 nm na spektrofometru. Výsledný obsah celkových flavonoidů byl stanoven v mg katechinu. 100g^{-1} .

4.2.6 Stanovení celkového obsahu antioxidační kapacity

K 3,8 ml reakčního roztoku bylo do zkumavky napipetováno 200 μl zředěného vzorku u květů – 50 μl vzorku + 150 μl 75 % methanolu, u oddenků 200 μl vzorku. Vzorky se následně nechaly 30 minut odstát. Absorbance se měřila od začátku reakce při vlnové délce 515 nm. Jako standard byl užit Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8- tetrametylchroman-2-karboxylová kyselina). Výsledná celková antioxidační kapacita je vyjádřena v mM ekvivalentu Troloxu na 100 g ($\text{mM Troloxu} \cdot 100\text{g}^{-1}$).

4.2.7 Stanovení celkového obsahu anthokyanů (pH diferenciální metoda)

Na analytických váhách byl navážen 1 g usušených květů jednotlivých kultivarů. Navážka byla spláchnuta methanolem okyseleným kyselinou chlorovodíkovou 0,1 $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ do 25 ml odměrné baňky. A ponechána 24 hodin v ledničce. Poté byl obsah odměrné baňky centrifugován na laboratorní centrifuze při rychlosti 5 000 otáček/min po dobu 1 minuty a vzniklý supernatant byl dále filtrován přes stříkačkový filtr o porozitě 0,45 μm . Do šesti zkumavek bylo napipetováno 0,2 ml vzorku extraktu. Poté do prvních třech zkumavek bylo přidáno 2,8 ml NaCl pufru o pH 1 a do zbylých třech zkumavek 2,8 ml acetátového pufru o pH 4,5.

Obsah každé zkumavky byl proměřen na spektrofotometru při vlnových délkách 510 a 700 nm. Jako blank byla použita destilovaná voda.

4.2.8 Barvení

Každý vzorek látky byl označen zlomkem, který udává číslo vzorku a dobu barvení, pro následné usnadnění popisu.

Tabulka 6 udává stručný přehled o počtu barvených vzorků, doby barvení, typu lázně, označení jednotlivých látek, o složení máčecích roztoků a o postupu, kterým každý vzorek prošel. Například vzorek 1/3, byl ponořen v máčecím roztoku 1 (160 ml vody + 50 g sody) 5 minut, následně byl opláchnut v destilované vodě a na 5 minut ponořen do mášečího roztoku číslo 2 (160 ml vody + 1 lžičky modré skalice + 5 ml 5 % octa), následně byl barven za studena po dobu 30 minut v barvicí lázni bez přídavných látek. Dle tohoto klíče se dá určit, do kterých roztoků byla látka namočena, po jakou dobu a jakým typem barvicí lázně prošla. Barvení proběhlo 15. 10. 2016 v Brně v domácích podmínkách. Následné hodnocení barevnosti proběhlo v termínech 16. 10. 2016 (po 24 hodin), 16. 12. 2016 (po 60 dnech) a 16. 4. 2017 (po 180 dnech).

Tab. 6 Označení jednotlivých vzorků látek

	Barvení za studena 30 min	Barvení za studena 60 min	Barvení za varu 30 min	Barvení za varu 60 min	Množství barvicí lázně	Máčecí roztok 1	Máčecí roztok 2	Přidaná látka do barvicího roztoku
Kontrola	LS/3	LS/6	LV/3	LV/6	200 ml	x	x	x
Označení vzorků látek	1/3	1/6	11/3	11/6	200 ml	160 ml vody + 50 g sody	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	x
	2/3	2/6	12/3	12/6	200 ml	160 ml vody + 100 ml octa	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	x
	3/3	3/6	13/3	13/6	200 ml	160 ml vody + 50 g soli	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	x
	4/3	4/6	14/3	14/6	200 ml	160 ml vody + 100 ml Sava	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	x
	5/3	5/6	15/3	15/6	200 ml	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	x
	6/3	6/6	16/3	16/6	200 ml	160 ml vody + 50 g sody	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	12 g sody
	7/3	7/6	17/3	17/6	200 ml	160 ml vody + 100 ml octa	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	23 ml octa
	8/3	8/6	18/3	18/6	200 ml	160 ml vody + 50 g soli	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	12 g soli
	9/3	9/6	19/3	19/6	200 ml	160 ml vody + 100 ml Sava	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	23 ml Sava
	10/3	10/6	20/3	20/6	200 ml	160 ml vody + 1/2 lžičky modré skalice + 5 ml 5% octa	x	12 g modré skalice

5 VÝSLEDKY A VYHODNOCENÍ

Všechny výsledky pokusů byly rozděleny a zaneseny do tabulek v počítačovém programu Excel 2010 (Microsoft). Před každou tabulkou se nachází popis výpočtů a hodnocení naměřených hodnot.

5.1 Výsledky stanovení celkového obsahu fenolů

Stanovení proběhlo fotometrickou metodou při vlnové délce 750 nm a standardem byla kyselina gallová. Absorbance kyseliny gallové byla změřena a dle ní nastavena kalibrační křivka. Měření probíhalo proti slepému vzorku. Následné výpočty byly provedeny z průměru měření 1-3 (Tab. 7). Průměr byl přepočten z mg.l^{-1} na jednotky mg.kg^{-1} . Poslední dva sloupce se týkají přepočtu na hodnoty jak v suchém, tak i v čerstvém stavu v jednotkách mg kyseliny gallové (KG) na 100 g vzorku. Množství celkových fenolických látek bylo vypočteno pomocí kalibrační křivky kyseliny gallové. Z výpočtů vyplývá, že obsah fenolů ve 100 g čerstvého materiálu, se pohybuje v rozmezí $217,99 \text{ mg KG.100 g}^{-1}$ – $617,93 \text{ mg KG.100 g}^{-1}$ a v sušeném materiálu $2533,06 \text{ mg KG.100 g}^{-1}$ – $7915,05 \text{ mg KG.100 g}^{-1}$. Nejvyšší množství fenolových látek je obsaženo v květech *Iris barbata* 'Royal Trumpeter' a to jak v suchém materiálu, tak i v čerstvém. Nejnižší obsah v čerstvých květech byl naměřen u *Iris barbata* 'Conjuration' a v sušených květech u *Iris sibirica* 'Still Waters'.

Tab. 7 Výsledky stanovení celkového obsahu fenolů v květech rodu *Iris*

Celkový obsah fenolů mg.l-1 v květech	1. měření	2. měření	3. měření	Průměr ze všech měření	Přepočet průměru na mg.kg-1	Přepočet průměru v čerstvém na mg.100 g-1	Přepočet průměru v suchém na mg.100 g- 1
'Royal Trumpeter' 1	370,68	370,91	370,69	370,76	6179,33	617,93	7915,05
'Firebreather' 2	152,20	151,76	151,74	151,90	2531,67	253,17	4608,66
'Conjuration' 3	130,77	130,79	130,83	130,80	2179,94	217,99	3804,40
'Irenka' 4	169,83	169,99	169,99	169,94	2832,28	283,23	4549,80
'Dusky Challenger' 5	243,11	243,40	243,43	243,31	4055,22	405,52	6456,27
'Dauntless' 6	147,25	147,13	147,12	147,17	2452,78	245,28	4137,74
'Still Waters' 7	185,58	185,68	185,73	185,66	3094,39	309,44	2533,06
'Mary Frances' 8	177,84	177,78	177,91	177,84	2964,06	296,41	4298,83
'Soft Blue' 9	296,39	297,63	297,78	297,27	4954,44	495,44	4360,06
'Cable Car' 10	152,58	151,83	151,83	152,08	2534,67	253,47	4397,85
'Mystique' 11	146,69	146,71	146,63	146,68	2444,61	244,46	4025,28
'Ambroise' 12	170,19	170,26	170,30	170,25	2837,50	283,75	4766,59

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

Stanovení oddenků proběhlo stejnou metodou jako v případě květů. Z níže uvedené tabulky (Tab. 8) vyplývá, že obsah fenolů ve 100 g čerstvého materiálu, se pohybuje v rozmezí 105,73 mg KG.100 g⁻¹– 420,72 mg KG.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 652,01 mg KG.100 g⁻¹– 2492,82 mg KG.100 g⁻¹. Nejvyšší množství fenolových látek je obsaženo v čerstvých oddencích kultivaru *Iris barbata* 'Royal Trumpeter', v suchém materiálu u *Iris barbata* 'Ambroise'. Nejnižší obsah v čerstvých oddencích byl naměřen u *Iris barbata* 'Conjuration', v sušených oddencích *Iris barbata* 'Firebreather'.

Tab. 8 Výsledky stanovení celkového obsahu fenolů v oddencích rodu *Iris*

Celkový obsah fenolů mg.l-1 v oddencích	1. měření	2. měření	3. měření	Průměr ze všech měření	Přepočet průměru na mg.kg-1	Přepočet průměru v čerstvém na mg.100 g-1	Přepočet průměru v suchém na mg.100 g-1
'Royal Trumpeter' I	252,31	252,32	252,67	252,43	4207,22	420,72	2185,93
'Firebreather' II	66,59	66,25	66,16	66,33	1105,56	110,56	652,01
'Conjuration' III	63,46	63,39	63,47	63,44	1057,33	105,73	734,08
'Irenka' IV	114,00	114,32	114,29	114,20	1903,39	190,34	933,87
'Dusky Challenger' V	199,99	200,08	200,16	200,08	3334,61	333,46	1984,50
'Dauntless' VI	201,28	201,26	201,36	201,30	3355,00	335,50	1702,42
'Still Waters' VII	144,35	144,32	144,35	144,34	2405,67	240,57	901,89
'Mary Frances' VIII	149,99	150,13	150,16	150,09	2501,56	250,16	1111,09
'Soft Blue' IX	157,36	157,29	157,44	157,36	2622,72	262,27	1086,19
'Cable Car' X	140,18	140,14	140,23	140,18	2336,39	233,64	2072,52
'Mystique' XI	194,28	194,46	194,50	194,41	3240,22	324,02	1425,28
'Ambroise' XII	225,50	225,53	225,62	225,55	3759,17	375,92	2492,82

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

Shoda v kultivarech u květů a oddenků proběhla pouze u hodnoty nejvyššího obsahu fenolů a to v čerstvém materiálu *Iris barbata* 'Royal Trumpeter'. Hodnoty celkových fenolů jsou u oddenků některých kultivarů mnohonásobně nižší než u květů.

5.2 Výsledky stanovení celkové obsahu flavonoidů

Měření proběhlo (u květů i oddenků) fotometrickou metodou při vlnové délce 510 nm, standardem byl katechin (molekulová hmotnost 290,28). Absorbance katechinu byla změřena a dle ní nastavena kalibrační křivka. Měření probíhalo proti slepému vzorku. Následné výpočty byly provedeny z průměru měření 1-3. Průměr byl přepočten z mg.l^{-1} na jednotky mg.kg^{-1} . Přepočet na hodnoty jak v suchém, tak i v čerstvém stavu je uváděn v jednotkách mg katechinu na 100 g vzorku. Celkový obsah flavonoidů ve 100 g čerstvého materiálu se pohybuje v rozmezí 33,87–303,18 mg katechinu.100 g^{-1} a v sušeném materiálu 568,90–2668,09 mg katechinu.100 g^{-1} . Nejvyšší množství flavonoidů je obsaženo v květech *Iris sibirica* 'Soft Blue' a to jak v suchém materiálu, tak i v čerstvém. Nejnižší obsah flavonoidů byl naměřen u *Iris barbata* 'Ambroise'.

Tab. 9 Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů v květech rodu *Iris*

Celkový obsah flavonoidů mmol.l-1 v květech	1. měření	2. měření	3. měření	Průměr ze všech měření	Přepočet průměru na mmol.kg-1	Přepočet průměru v čerstvém na mg.100 g-1	Přepočet průměru v suchém na mg.100 g-1
'Royal Trumpeter' 1	0,21	0,21	0,50	0,31	5,11	148,37	1900,40
'Firebreather' 2	0,08	0,08	0,08	0,08	1,33	38,70	704,57
'Conjuration' 3	0,07	0,08	0,07	0,07	1,22	35,48	619,17
'Irenka' 4	0,08	0,08	0,08	0,08	1,33	38,70	621,75
'Dusky Challenger' 5	0,16	0,16	0,16	0,16	2,67	77,41	1232,40
'Dauntless' 6	0,13	0,13	0,13	0,13	2,17	62,89	1061,00
'Still Waters' 7	0,17	0,17	0,17	0,17	2,83	82,25	673,26
'Mary Frances' 8	0,13	0,12	0,12	0,12	2,06	59,67	865,39
'Soft Blue' 9	0,62	0,63	0,63	0,63	10,44	303,18	2668,09
'Cable Car' 10	0,08	0,08	0,08	0,08	1,33	38,70	671,54
'Mystique' 11	0,08	0,07	0,08	0,08	1,28	37,09	610,74
'Ambroise' 12	0,07	0,07	0,07	0,07	1,17	33,87	568,90

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

Celkový obsah flavonoidů ve 100 g čerstvého materiálu u oddenků se pohybuje v rozmezí 29,03 mg katechinu.100 g⁻¹ – 167,72 mg katechinu.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 171,19 mg katechinu.100 g⁻¹ – 694,60 mg. katechinu.100 g⁻¹. Nejvyšší množství flavonoidů je obsaženo v oddencích *Iris sibirica* 'Soft Blue' a to jak v suchém materiálu, tak i v čerstvém. Nejnižší obsah v čerstvých oddencích byl naměřen u *Iris barbata* 'Firebreather', jak v čerstvém, tak i sušeném materiálu.

Tab. 10 Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů v oddencích rodu *Iris*

Celkový obsah flavonoidů mmol.l-1 v oddencích	1. měření	2. měření	3. měření	Průměr ze všech měření	Přepočet průměru na mmol.kg-1	Přepočet průměru v čerstvém na mg.100 g-1	Přepočet průměru v suchém na mg.100 g-1
'Royal Trumpeter' I	0,15	0,16	0,16	0,1567	2,6111	75,80	393,81
'Firebreather' II	0,06	0,06	0,06	0,0600	1,0000	29,03	171,19
'Conjuration' III	0,07	0,07	0,07	0,0700	1,1667	33,87	235,12
'Irenka' IV	0,18	0,18	0,18	0,1800	3,0000	87,08	427,27
'Dusky Challenger' V	0,16	0,16	0,16	0,1600	2,6667	77,41	460,67
'Dauntless' VI	0,15	0,15	0,15	0,1500	2,5000	72,57	368,24
'Still Waters' VII	0,19	0,19	0,18	0,1867	3,1111	90,31	338,57
'Mary Frances' VIII	0,30	0,32	0,31	0,3100	5,1667	149,98	666,14
'Soft Blue' IX	0,35	0,35	0,34	0,3467	5,7778	167,72	694,60
'Cable Car' X	0,12	0,12	0,12	0,1200	2,0000	58,06	514,99
'Mystique' XI	0,10	0,10	0,09	0,0967	1,6111	46,77	205,72
'Ambroise' XII	0,11	0,11	0,11	0,1100	1,8333	53,22	352,90

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

U obsahu flavonoidů byla zaznamenána shoda u nejvyšší hodnoty čerstvého a sušeného materiálu, jak u květů, tak i u oddenků. V případě flavonoidů se shodují nejvyšší množství u sušeného i u čerstvého vzorku. To stejné platí i pro nejnižší hodnoty. U květů s vyšším obsahem anthokyanů bývá zaznamenávána korelace tohoto údaje s množstvím celkových flavonoidů. V suchém materiálu byl největší obsah anthokyanů naměřen u kultivaru č. 1 (*Iris barbata* 'Royal Trumpeter') a nejnižší u č. 4 (*Iris barbata* 'Irenka'). V případě čerstvého materiálu nejvyšší hodnota anthokyanů připadá na *Iris barbata* 'Soft Blue' a nejnižší opět na *Iris barbata* 'Irenka'. Shoda se objevuje při nejvyšší hodnotě (flavonoidů i anthokyanů) v čerstvém materiálu a to u *Iris barbata* 'Soft Blue', v dalších případech není zaznamenána, díky čemuž není možné zcela potvrdit teorii o korelaci.

5.3 Výsledky stanovení celkové antioxidační kapacity

Měření proběhlo (jak u květů, tak i u oddenků) metodou DPPH. Jako standard byl užit trolox (molekulová hmotnost 250,29). Při této metodě se využilo odbarvovací schopnosti vodíkového radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu, který byl redukován antioxidanty a to se projevilo odbarvením zkoumaného roztoku z původní fialové až do žluté barvy. Míra odbarvení byla měřena spektrofotometricky při vlnové délce 515 nm. Z naměřených hodnot je možné vypočítat antioxidační kapacitu. Při měření se porovnával daný vzorek se slepým vzorkem. Výsledné hodnoty jsou udány v hodnotách ET (ekvivalent troloxu) na 100 g hmoty (sušené či čerstvé). Výpočty byly provedeny z průměru měření 1-3. Průměr byl přepočten z mg.l^{-1} na jednotky mg.kg^{-1} . Přepočet na hodnoty jak v suchém, tak i v čerstvém stavu je uváděn v jednotkách mg ET na 100 g vzorku. Celkový obsah antioxidantů ve 100 g čerstvého materiálu se pohybuje v rozmezí $200,23 \text{ mg ET.100 g}^{-1}$ – $617,38 \text{ mg ET.100 g}^{-1}$ a v sušeném materiálu $2322,05 \text{ mg ET.100 g}^{-1}$ – $9297,95 \text{ mg ET.100 g}^{-1}$. Nejvyšší celková antioxidační kapacita byla zaznamenána v čerstvém stavu u *Iris barbata* 'Royal Trumpeter' a v suchém stavu *Iris barbata* 'Dusky Challenger'. Nejnižší obsah v čerstvých květech byl naměřen u *Iris barbata* 'Conjuration' a v sušených květech u *Iris sibirica* 'Still Waters'.

Tab. 11 Výsledky stanovení celkové antioxidační kapacity v květech rodu *Iris*

Celkový obsah antioxidační kapacity mmol.l^{-1} v květech	1. měření	2. měření	3. měření	Průměr ze všech měření	Přepočet průměru na mmol.kg^{-1}	Přepočet průměru v čerstvém na mg.100 g^{-1}	Přepočet průměru v suchém na mg.100 g^{-1}
'Royal Trumpeter' 1	1,48	1,48	1,48	1,48	24,67	617,38	7907,99
'Firebreather' 2	0,68	0,68	0,68	0,68	11,33	283,66	5163,80
'Conjuration' 3	0,48	0,48	0,48	0,48	8,00	200,23	3494,41
'Trenka' 4	1,80	0,78	0,78	1,12	18,67	467,21	7505,28
'Dusky Challenger' 5	1,40	1,40	1,40	1,40	23,33	584,01	9297,95
'Dauntless' 6	0,68	0,68	0,68	0,68	11,33	283,66	4785,26
'Still Waters' 7	0,68	0,68	0,68	0,68	11,33	283,66	2322,05
'Mary Frances' 8	0,72	0,72	0,72	0,72	12,00	300,35	4356,00
'Soft Blue' 9	1,40	1,40	1,40	1,40	23,33	584,01	5139,47
'Cable Car' 10	0,58	0,58	0,58	0,58	9,67	241,95	4197,97
'Mystique' 11	0,62	0,62	0,58	0,61	10,11	253,07	4167,05
'Ambroise' 12	0,76	0,74	0,74	0,75	12,44	311,47	5232,28

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

Celkový obsah antioxidantů v oddencích ve 100 g čerstvého materiálu se pohybuje v rozmezí 16,69 mg ET.100 g⁻¹– 162,69 mg ET.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 74,11 mg ET.100 g⁻¹– 621,94 mg ET.100 g⁻¹. Nejvyšší koncentrace antioxidantních látek byla zaznamenána v čerstvých oddencích u *Iris sibirica* 'Still Waters' v suchém materiálu u *Iris sibirica* 'Soft Blue'. Nejnižší obsah v oddencích byl naměřen u *Iris barbata* 'Mary Frances' a to v suchém i čerstvém materiálu.

Tab. 12 Výsledky stanovení celkové antioxidační kapacity v oddencích rodu *Iris*

Celkový obsah antioxidační kapacity mmol.l-1 v oddencích	1. měření	2. měření	3. měření	Průměr ze všech měření	Přepočet průměru na mmol.kg-1	Přepočet průměru v čerstvém na mg.100 g-1	Přepočet průměru v suchém na mg.100 g-1
'Royal Trumpeter' I	0,25	0,25	0,25	0,2500	4,17	104,29	541,84
'Firebreather' II	0,11	0,11	0,11	0,1100	1,83	45,89	270,62
'Conjuration' III	0,05	0,05	0,05	0,0500	0,83	20,86	144,81
'Irenka' IV	0,14	0,14	0,14	0,1400	2,33	58,40	286,54
'Dusky Challenger' V	0,09	0,08	0,07	0,0800	1,33	33,37	198,60
'Dauntless' VI	0,14	0,14	0,13	0,1367	2,28	57,01	289,29
'Still Waters' VII	0,39	0,39	0,39	0,3900	6,50	162,69	609,93
'Mary Frances' VIII	0,04	0,04	0,04	0,0400	0,67	16,69	74,11
'Soft Blue' IX	0,36	0,36	0,36	0,3600	6,00	150,17	621,94
'Cable Car' X	0,12	0,11	0,11	0,1133	1,89	47,28	419,38
'Mystique' XI	0,15	0,15	0,14	0,1467	2,44	61,18	269,12
'Ambroise' XII	0,08	0,08	0,08	0,0800	1,33	33,37	221,30

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

V případě antioxidační kapacity nalezneme 1 kultivar, který se objevuje, jak u květů, tak i u oddenků a to *Iris sibirica* 'Still Waters'. Co je však zajímavé, je skutečnost, že u oddenků má nejvyšší koncentraci a u květů tu nejnižší.

5.4 Výsledky stanovení celkového obsahu anthokyanů

Vzhledem k tomu, že anthokyany se podílí na zbarvení, bylo měření provedeno pouze na květech. Ke stanovení bylo zapotřebí připravit okyselený methanolvý výluh, tentokrát ze suchého materiálu. Jako blank byla použita destilovaná voda. Anthokyany reverzibilně mění barvu se změnou pH, díky čemuž lze snadno měřit celkovou koncentraci pigmentu. Reverzibilní změna barvy se projevuje nápadně odlišnou absorbancí. Následně ze všech naměřených hodnot byl stanoven výpočet A, ze kterého byl proveden přepočít na jednotky mg.l^{-1} . Z tohoto výsledku pak byly vypočítány anthokyany v suchém a čerstvém stavu v mg cyanidin 3-glukosidu na 100 g.

Celkový obsah anthokyanů ve 100 g čerstvého materiálu se pohybuje v rozmezí 1,45 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g^{-1}] – 389,90 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g^{-1}] a v sušeném materiálu 23,35 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g^{-1}] – 954,70 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g^{-1}]. Nejvyšší koncentrace anthokyanových pigmentů byla zaznamenána v čerstvém i suchém materiálu u *Iris barbata* 'Royal Trumpeter'. Nejnižší obsah byl naměřen u *Iris barbata* 'Irenka' a to v suchém i čerstvém materiálu.

Tab. 13 Výsledky stanovení celkového obsahu anthokyanů v květech rodu *Iris*

A - absorbance							
Vzorek květu	Měření 1	Měření 2	Měření 3	Průměr ze všech měření	Přepočít průměru mg.l^{-1}	Anthokyany mg.100 g^{-1} v suchém květu	Anthokyany mg.100 g^{-1} v čerstvém květu
'Royal Trumpeter' 1	1,07	1,12	1,12	1,10	275,56	954,70	74,53
'Firebreather' 2	0,13	0,11	0,11	0,12	29,09	72,60	3,99
'Conjuration' 3	0,10	0,08	0,10	0,09	23,18	55,82	3,20
'Irenka' 4	0,04	0,03	0,04	0,04	9,44	23,35	1,45
'Dusky Challenger' 5	0,18	0,19	0,21	0,20	49,05	204,93	12,87
'Dauntless' 6	0,15	0,16	0,14	0,15	37,46	87,28	5,17
'Still Waters' 7	0,53	0,54	0,53	0,54	134,22	327,52	40,01
'Mary Frances' 8	0,09	0,07	0,06	0,07	18,39	43,32	2,99
'Soft Blue' 9	0,55	0,54	0,55	0,54	136,33	343,12	389,90
'Cable Car' 10	0,13	0,11	0,11	0,12	29,33	69,66	4,02
'Mystique' 11	0,31	0,25	0,27	0,28	69,41	172,25	10,46
'Ambroise' 12	0,55	0,53	0,49	0,52	131,02	330,02	19,65

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

Dle teorie poskytují anthokyany rostlinám především modré a červené zbarvení. Proto není překvapením, že největší koncentrace byla naměřena u kultivaru *Iris barbata* 'Royal Trumpeter'. Je překvapující, že druhou nejvyšší hodnotu nemá *Iris barbata* 'Dusky Challenger', jak by se dle jeho barvy mohlo zdát, ale *Iris sibirica* 'Soft Blue', který je ovšem světlejší než *Iris sibirica* 'Still Waters'. Co však teorii o anthokyanech podporuje, je nejnižší hodnota naměřené u *Iris barbata* 'Irenka' (barva tohoto kultivaru je bílá), tato hodnota je přibližně 74x nižší než nejvyšší naměřená v čerstvých květech.

5.5 Výsledky barvení

V uvedených tabulkách se nalézají výsledky hodnocení barevnosti vzorků v rozmezí 24 hodin, 60 dní a 180 dní. Hodnoceno bylo pomocí RHS škály z roku 2006. Hodnocení probíhalo na přirozeném světle, ne však za přímého slunečního svitu. Hodnotitelem byla vždy ta samá osoba. Co se hodnocené barevné škály týká, výsledné barvy neodpovídaly barvám získaným v BP. Tato skutečnost může mít několik faktorů, od klimatických podmínek, kterým květy byly vystaveny, přes delší dobu uskladnění materiálu pro barvení, až po užití mořidla (modré skalice).

Barvy v bakalářské práci zahrnovaly škálu od světle žluté, přes oranžovou, modrou, fialovou až po zelenou, navíc se jejich odstín výrazně lišil dle doby působení v barvicí lázni. Při nynějším experimentu zahrnovaly výsledné barvy převážně zelenou (v různých odstínech), šedou, hnědou a žluto zelenou.

Avšak na rozdíl od bakalářské práce, kde všechny vzorky vybledly na stejný odstín, v tomto případě si vzorky v průběhu času ponechaly svoji barevnost. Ne všem vzorkům zůstala sytost zcela zachována, ale ve většině případů neklesla více jak o 3 odstíny.

Z důvodu vysokého počtu fotodokumentace je tato uvedena v příloze.

Dle hodnocených barev (Tab. 14) bylo zjištěno, že časová dotace neměla tak velkou účinnost na dobu barvení, jak by se dalo dle literatury předpokládat. Rozdíly odstínů se pohybovaly kolem 1-2 stupňů v barvené škále. Některé vzorky dokonce vykazovaly naprosto stejnou barevnost, např. LS/3 a LS/6, 1/3 a 1/6, LV/ a LV/6 a 16/3 a 16/6.

Větší rozdíl sytosti byl zaznamenán mezi barvením za studena a za varu. Největší výkyvy od převládající zelené barevnosti byly pozorovány u 9/3 (192 B green grey), 9/6 (19 D light yellow orange), 16/3 a 16/6 (N144 B light green). Právě 9/3 a 9/6 se řadí mezi nejsvětější odstíny, mezi nejtmavší patří např. LV/3 (199 A grey brown), 14/6 (N137 A dark green) a 20/6 (137 A dark green), u kterých byla odečtena barevnost okolo hnědých až tmavě zelených odstínů.

Tab. 14 Výsledky hodnocení barvení po 24 h

Vzorek 30 minut	RHS po 24 h	Vzorek 60 minut	RHS po 24 h
LS/3	139 C brown green	LS/6	139 C brown green
1/3	143 C dark green	1/6	143 B dark green
2/3	194 A brown green	2/6	148 B brown green
3/3	137 D brown green	3/6	138 B brown green
4/3	148 C brown green	4/6	147 B brown green
5/3	148 D brown green	5/6	148 A brown green
6/3	N144 A light green	6/6	N144 B light green
7/3	N144 C light green	7/6	143 C dark green
8/3	144 B light green	8/6	146 C brown green
9/3	192 B green grey	9/6	19 D light yellow orange
10/3	194 A brown green	10/6	148 A brown green
LV/3	199 A grey brown	LV/6	199 A grey brown
11/3	143 B dark green	11/6	141 C dark green
12/3	148 C brown green	12/6	N138 A dark green
13/3	137 D brown green	13/6	139 B brown green
14/3	139 C brown green	14/6	N137 A dark green
15/3	148 A brown green	15/6	148 B brown green
16/3	N144 B light green	16/6	N144 B light green
17/3	143 C dark green	17/6	141 D light green
18/3	152 B green brown	18/6	143 B dark green
19/3	197 C grey	19/6	148 B brown green
20/3	197 A grey	20/6	137 A dark green

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

Vzorky byly skladovány v temnu a suchu v papírových sáčcích. Po 60 dnech byly vyjmuty a opět bylo provedeno měření výsledné barevnosti (Tab. 15). Sytost a rozpoznatelnost jednotlivých barev byla nad očekávání dobrá dokonce i u kontrolního vzorku, který nebyl mořen žádnou látkou. U dvou vzorků byl dokonce vyhodnocen stejný odstín jako při měření po 24 hodinách a to u 5/6 (148 A brown green) barven za studena 60 minut, máčen v roztoku č. 1 (160 ml vody + ½ lžičky modré skalice + 5 ml 5 % octa) a č. 2 (160 ml vody + ½ lžičky modré skalice + 5 ml 5 % octa) a 16/3 (N144 B light green) barven za varu 30 minut, máčen v roztoku č. 1 (160 ml vody + 50 g sody) a č. 2 (160 ml vody + ½ lžičky modré skalice + 5 ml 5 % octa).

Nejsvětlejší odstíny vykazovaly vzorky 9/3 (145 D light green), 9/6 (150 D yellow green), 15/6 (139 D light green), 19/3 (194 D grey), 19/6 (149 D light green) tyto se jevily skoro až šedé. Tento výsledek byl zřejmě dán složením máčecího roztoku č. 1, který obsahoval kyselou složku, v případě vzorků 9/3, 9/6, 19/3 a 19/6 obsahoval roztok 160 ml vody + 100 ml Sava a v případě vzorku 15/6 160 ml vody + 100 ml octa.

Nejtmavší odstíny se vyskytovaly na vzorcích 6/6 (N144 A light green), 8/6 (146 D brown green), 10/6 (148 B brown green), 11/3 (145 A light green), 16/3 (N144 B light green). Stálost sytosti byla s největší pravděpodobností způsobena zásaditými přídatnými látkami ať už v máčecím roztoku č. 1 či v barvicí lázni. Máčecí roztok č. 1 u vzorků 6/6, 11/3 a 16/3 obsahoval 160 ml vody + 50 g sody, u vzorku 8/6 byl obsah 160 ml + 50 g soli a u vzorku 10/6 šlo o 160 ml vody + ½ lžičky modré skalice + 5 ml 5 % octa.

Tab. 15 Výsledky hodnocení barvení po 60 dnech

Vzorek 30 minut	RHS po 60 dnech	Vzorek 60 minut	RHS po 60 dnech
LS/3	142 D light green	LS/6	143 D light green
1/3	142 B light green	1/6	143 C dark green
2/3	143 D light green	2/6	147 C brown green
3/3	138 B brown green	3/6	147 B brown green
4/3	148 D brown green	4/6	147 C brown green
5/3	148 C brown green	5/6	148 A brown green
6/3	149 A yellow green	6/6	N144 A light green
7/3	142 A green	7/6	146 C brown green
8/3	144 C light green	8/6	146 D brown green
9/3	145 D light green	9/6	150 D yellow green
10/3	148 D brown green	10/6	148 B brown green
LV/3	199 D grey brown	LV/6	199 D grey brown
11/3	145 A light green	11/6	135 D light green
12/3	142 D light green	12/6	136 D light green
13/3	143 D light green	13/6	138 C light green
14/3	148 D brown green	14/6	138 B brown green
15/3	148 C brown green	15/6	139 D light green
16/3	N144 B light green	16/6	150 A yellow green
17/3	145 B light green	17/6	145 B light green
18/3	152 D green brown	18/6	145 A light green
19/3	194 D grey	19/6	149 D light green
20/3	195 A grey	20/6	147 C brown green

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

Po hodnocení (Tab. 15) byly vzorky opět uchovány v papírových pytlících za temna a sucha. Poslední určení barevnosti proběhlo celkově po 180 dnech od prvního odečtu. Barva v některých případech klesla o 1-2 škály, u třech vzorků byla vyhodnocená barva shodná s barvou v Tab. 15. Konkrétně se jednalo o vzorky 1/3 (142 B light green), 16/3 (N144 B light green) a 17/3 (145 B light green). U vzorků 1/3 a 16/3 byla v máčecím roztoku č. 1 obsažena soda naproti tomu vzorek 17/3 byl máčen v roztoku s obsahem octa. U většiny vzorků zůstala zachována rozeznatelná původní barevnost. Nejsytější odstín byl hodnocen u 6/6 (N144 B light green), 11/3 (N144 D light green), 16/3 (N144 B light green), 16/6 (150 C yellow green).

Vzorky 6/6, 11/3, 16/3 a 16/3 byly máčeny v roztoku č. 1 o stejném obsahu (160 ml vody + 50 g sody), jediný rozdíl mezi barvením těchto látek byl v tom, že u vzorku 11/3 nebyla do barvicí lázně přimíchána přídavná látka sody (12 g). Nejsvětější odstíny se shodují s těmi při hodnocení po 60 dnech.

Tab. 16 Výsledky hodnocení barvení po 180 dnech

Vzorek 30 minut	RHS po 180 dnech	Vzorek 60 minut	RHS po 180 dnech
LS/3	145 C light green	LS/6	145 C light green
1/3	142 B light green	1/6	142 A green
2/3	129 D blue green	2/6	143 D light green
3/3	134 D light green	3/6	143 D light green
4/3	130 D blue green	4/6	138 B brown green
5/3	192 C green grey	5/6	147 C brown green
6/3	144 C light green	6/6	N144 B light green
7/3	142 D light green	7/6	145 A light green
8/3	145 A light green	8/6	195 B grey
9/3	193 D green grey	9/6	195 C grey
10/3	191 D green grey	10/6	195 A grey
LV/3	195 A grey	LV/6	195 B grey
11/3	N144 D light green	11/6	193 B brown green
12/3	193 C green grey	12/6	190 A green grey
13/3	138 C light green	13/6	189 C green grey
14/3	192 C green grey	14/6	190 B green grey
15/3	195 B grey	15/6	193 C green grey
16/3	N144 B light green	16/6	150 C yellow green
17/3	145 B light green	17/6	192 D green grey
18/3	153 D green brown	18/6	142 C light green
19/3	196 D grey	19/6	195 C grey
20/3	195 B grey	20/6	194 B brown green

Zdroj: Barbora Valešová 2017, vlastní výzkum

6 DISKUZE

Z odborné literatury, která byla k tématu diplomové práce nastudována, vyplynulo, že žádný z nalezených autorů nepoužil ke svému výzkumu kultivary druhu *Iris barbata*. Většina autorů stanovuje obsahové látky za pomoci druhů *Iris* L. či kultivarů *Iris sibirica* aj. Výsledky diplomové práce tedy nemohou být porovnány (možné srovnání by bylo možné pouze u 2 použitých kultivarů *Iris sibirica* 'Still Waters' a 'Soft Blue'), protože nebyl proveden výzkum ve stejném rozsahu. Někteří autoři navíc využívají ke stanovení zcela odlišnou metodu, než byla v práci zvolena, popř. pouze detekují přítomnost dané obsahové látky, ale ne její hodnotu.

Stanovení fenolů

Naměřený obsah fenolů ve 100 g čerstvého materiálu květů, se pohyboval v rozmezí 217,99 mg KG.100 g⁻¹ – 617,93 mg KG.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 2533,06 mg KG.100 g⁻¹ – 7915,05 mg KG.100 g⁻¹ (Tab. 7). Nejvyšší množství fenolových látek je obsaženo v květech *Iris barbata* 'Royal Trumpeter' a to jak v suchém materiálu, tak i v čerstvém. Nejnižší obsah v čerstvých květech byl naměřen u *Iris barbata* 'Conjuration' a v sušených květech u *Iris sibirica* 'Still Waters'.

Obsah fenolů ve 100 g čerstvého materiálu oddenků, se pohybuje v rozmezí 105,73 mg KG.100 g⁻¹– 420,72 mg KG.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 652,01 mg KG.100 g⁻¹– 2492,82 mg KG.100 g⁻¹ (Tab. 8). Nejvyšší množství fenolových látek je obsaženo v čerstvých oddencích kultivaru *Iris barbata* 'Royal Trumpeter', v suchém materiálu u *Iris barbata* 'Ambroise'. Nejnižší obsah v čerstvých oddencích byl naměřen u *Iris barbata* 'Conjuration', v sušených oddencích *Iris barbata* 'Firebreather'.

Žádný z dostupných autorů nehodnotil stejné kultivary, avšak přítomnost fenolů prokázali tito autoři (KOLESNIKOV, a další, 2001) (ZEZULOVÁ, 2014).

Stanovení flavonoidů

Flavonoidy byly dle (ZEZULOVÁ, 2014) obsaženy v *Iris setosa*, *Iris pseudacorus*, *Iris pseudacorus* 'Roy Davidson', *Iris orientalis*, *Iris ensata*, *Iris versicolor*, *Iris crocea*. Opět tedy není možné srovnat žádná konkrétní data, jen je zřejmé, že se flavonoidy v kosatečích vyskytují.

Celkový obsah flavonoidů ve 100 g čerstvého materiálu květu se pohybuje v rozmezí 33,87–303,18 mg katechinu.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 568,90–2668,09 mg katechinu.100 g⁻¹ (Tab. 9). Nejvyšší množství flavonoidů je obsaženo v květech *Iris sibirica* 'Soft Blue' a to jak v suchém materiálu, tak i v čerstvém. Nejnižší obsah flavonoidů byl naměřen u *Iris barbata* 'Ambroise'.

Celkový obsah flavonoidů ve 100 g čerstvého materiálu u oddenků se pohybuje v rozmezí 29,03 mg katechinu.100 g⁻¹ – 167,72 mg katechinu.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 171,19 mg katechinu.100 g⁻¹ – 694,60 mg. katechinu.100 g⁻¹ (Tab. 10). Nejvyšší množství flavonoidů je obsaženo v oddencích *Iris sibirica* 'Soft Blue' a to jak v suchém materiálu, tak i v čerstvém. Nejnižší obsah v čerstvých oddencích byl naměřen u *Iris barbata* 'Firebreather', jak v čerstvém, tak i sušeném materiálu.

Stanovení antioxidační kapacity

(DLUGOŠOVÁ, 2004) stanovuje antioxidační aktivitu spektrofotometricky, metodou lipofilní substituce β-karotenu v hydrolýze slunečnicového oleje v *Iris germanica*, kde je hodnota naměřena přes 50. Vzhledem k rozdílné metodě a druhu *Iris* nelze srovnání provést.

Celkový obsah antioxidantů ve 100 g čerstvého materiálu květu se pohybuje v rozmezí 200,23 mg ET.100 g⁻¹ – 617,38 mg ET.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 2322,05 mg ET.100 g⁻¹ – 9297,95 mg ET.100 g⁻¹ (Tab. 11). Nejvyšší celková antioxidační kapacita byla zaznamenána v čerstvém stavu u *Iris barbata* 'Royal Trumpeter' a v suchém stavu *Iris barbata* 'Dusky Challenger'. Nejnižší obsah v čerstvých květech byl naměřen u *Iris barbata* 'Conjuration' a v sušených květech u *Iris sibirica* 'Still Waters'.

Celkový obsah antioxidantů v oddencích ve 100 g čerstvého materiálu se pohybuje v rozmezí 16,69 mg ET.100 g⁻¹– 162,69 mg ET.100 g⁻¹ a v sušeném materiálu 74,11 mg ET.100 g⁻¹– 621,94 mg ET.100 g⁻¹ (Tab. 12). Nejvyšší koncentrace antioxidačních látek byla zaznamenána v čerstvých oddencích u *Iris sibirica* 'Still Waters' v suchém materiálu u *Iris sibirica* 'Soft Blue'. Nejnižší obsah v oddencích byl naměřen u *Iris barbata* 'Mary Frances' a to v suchém i čerstvém materiálu.

Stanovení anthokyanů

Celkový obsah anthokyanů ve 100 g čerstvého materiálu květu se pohybuje v rozmezí 1,45 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g⁻¹] – 389,90 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g⁻¹] a v sušeném materiálu 23,35 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g⁻¹] – 954,70 mg [cyanidin-3-glukosid.100 g⁻¹]. Nejvyšší koncentrace anthokyanových pigmentů byla zaznamenána v čerstvém i suchém materiálu u *Iris barbata* 'Royal Trumpeter'. Nejnižší obsah byl naměřen u *Iris barbata* 'Irenka' a to v suchém i čerstvém materiálu.

(Screening přítomnosti vybraných antokyanových farbív V kvetoch najpestovanejších kultivarov *Iris sibirica*, 2012) nám odhaluje konkrétní naměřené hodnoty u kultivarů *Iris sibirica* dva z těchto kultivarů jsou shodné s těmi, které byly použity v této diplomové práci (*Iris sibirica* 'Still Waters' a *Iris sibirica* 'Soft Blue'). Avšak metoda ke stanovení byla opět rozdílná (HPLC DAD), kdy je měřen retenční čas a plocha peaku. Ani v tomto případě nebylo tedy možné srovnání.

Dostupná literatura (BIDLOVÁ, 2005, HŘEBÍČKOVÁ, 2006) pojednává o velkém počtu barvířských rostlin, s nimiž se barvilo dříve a barví se i dnes. Ovšem pouze malý okruh autorů se zabývá konkrétně barvením pomocí květu kosatce. Barvivo, které se objevuje ve většině děl o barvení, poskytuje *Crocos sativus* L. z čeledi *Iridaceae* (zlatožluté barvivo) (ATTOKARAN, 2011). Další literatura uvádí *Iris pseudacorus* L. tedy jeho oddenek jako zdroj černé barvy (BECHTOLD, 2009). Z historie jsou známy čtyři pigmenty, které bylo možné získat z rostliny kosatce – zelený pigment (Catasol), kosatcová modrá (*Iris Blue*), kosatcová zeleň (*Iris Green*), kosatcová žlutá (Magniferin). Zelený pigment se připravuje z nadrcených listů kosatce, kosatcová modrá z květů modrých a fialových odrůd, kterým se odstraní tyčinky s pylem, kosatcová zeleň z květů modrých a fialových odrůd, jenž je nutné smíchat s kamencem a poslední kosatcová žlutá, kde základem je xanton mangiferin, 2-D-glucosidyl-1,3,6,7-tetrahydroxy-9 Hxanthen 9-one, jde o barvicí substanci odvozenou z listů *Iris germanica* (EASTAUGH, 2008).

V našem případě se ze 44 vzorků na zeleno obarvilo 18 vzorků na zeleno (LS/3, LS/6, 1/3, 1/6, 3/3, 3/6, 7/3, 8/3, 11/3, 11/6, 12/3, 12/6, 13/3, 13/6, 17/3, 17/6, 18/6), 4 vzorky v sobě měly vysokou příměs žluté (6/3, 6/6, 16/3, 16/6), 5 vzorků vykazalo barvu v odstínech hnědé (LV/3, LV6, 8/6, 9/6, 18/3) a 17 přecházelo od světle zelené až do šedé (2/3, 2/6, 4/3, 4/6, 5/3, 5/6, 9/3, 10/3, 10/6, 14/3, 14/6, 15/3, 15/6, 19/3, 19/6).

KAMEL a kol. (2009) prokázali, že kvalitnějších barevných výsledků a stabilnějších barev je možné dosáhnout při užití mořidel kovových solí, což bylo laboratorně ověřeno. K přípravě barvicích lázní je známo velké množství metod, které uvádí například CANNON, 2003, BIDLOVÁ, 2004, KRYŠTŮFEK, 2011. Základní rozdíl v metodikách je především v teplotě, kterou má použita barvicí lázeň.

O barvení za studena píše BIDLOVÁ, 2005, HŘEBÍČKOVÁ, 2006, KRYŠTŮFEK, 2011, barvení za tepla preferují ZAHRADNÍK, GRIMMICOVÁ, 2012. Každý z autorů taktéž udává jinou dobu po kterou by měla být látka barvena, okolo 60 minut (KRYŠTŮFEK, 2011), popř. 120 minut (BIDLOVÁ, 2004). Teplota barevná není taktéž jednotná, například dle (MOUDRÝ, 2005) je nutné barvit při 100 °C naopak (BIDLOVÁ, 2004) píše, že ideální teplota lázně je v rozmezí 40-50 °C a neměla by přesáhnout 80 °C. V našem pokusném ověření byly zvoleny 2 typy barvení (za studena za varu), 2 teploty (cca 25 °C, 100 °C) a 2 časy (30 a 60 minut). Jak se může zdát, s většinou autorů je postup v rozporu, avšak i přes tyto jinak zvolené hodnoty bylo dosaženo jasných a sytých barev. Dle hodnocené barvené škály, která nevykazovala zásadní rozdíly při barvení 30 a 60 minut lze předpokládat, že doba či teplota lázně není klíčovým ukazatelem výsledné sytosti či stability.

Protože k barvení byly užity květy pouze modrých kosatců, byla barevná škála očekávána od modré k zelené, jak uvádí literatura. Působením máčecích roztoků 1 a 2 bylo změněno pH barvicích lázní a došlo tak k barevným změnám i když ne tak markantním jako v bakalářské práci. BIDLOVÁ (2004) mluví o změně barvy barvicí lázně při přidání sody, z modré na zelenou což potvrdilo i pokusné ověření. Mořidla jsou propagována jako podmínka získání jasných a stálých barev (HLADÍK, 1982). Obě tyto podmínky pokus potvrdil.

Díky splnění několika požadavků na přírodní barviva, která jsou: nízká náročnost na agrotechnické ošetření a sklizeň rostlinného materiálu, lehké zacházení a péče o sklizený materiál, snadná extrakce barviva za pomoci vody, jednoduchý, ale efektivní barvicí proces, jednoduchá příprava rostlinného materiálu před barvením, barvení v jedné lázni, biodegradabilní barvivo nemající větší nárok na úpravu v čističkách odpadních vod, netoxicity, bezalergenní barvivo a srovnatelné či nižší nároky na vodu, chemikálie a energie v porovnání s komerčně užívanými syntetickými barvivy, se kosatce mohou zařadit na seznam rostlin vhodných k barvení (BECHTOLD, 2009).

Z výše uvedených skutečností tedy vyplývá, že květy kosatců jsou perspektivní barvířskou „rostlinou“ a při užití správného mořidla může být dosaženo i barevné stálosti, což bylo potvrzeno experimentem v této práci.

7 ZÁVĚR

Cílem práce bylo popsat vybrané rostlinné druhy, obsahové látky (fenoly, flavonoidy, anthokyany, antioxidační kapacitu) nacházející se v rostlinném materiálu, techniky barvení a vše experimentálně ověřit. Z technických a finančních důvodů nebylo možné provést stanovení jednotlivých flavonoidů, proto proběhlo stanovení celkového obsahu flavonodů. Na základě sepsaných teoretických informací byly vybrány metody stanovení jednotlivých obsahových látek, postupy barvení a druhy (vybrané kultivary) rodu *Iris*, na kterých bylo provedeno laboratorní ověření. Ze zvolených kultivarů *Iris sibirica* a *Iris barbata* byl sběrem získán materiál, ze kterého byly připraveny 2 typy methanolového výluhu (z čerstvého materiálu a sušeného materiálu) a vypočtena sušina. První typ byl použit ke stanovení celkového obsahu fenolů, flavonoidů a antioxidační kapacity, jak v květech, tak i oddencích. Z druhého typu výluhu ze sušeného materiálu byl v květech stanoven celkový obsah anthokyanů.

Celkem bylo připraveno 24 výluhů (1-12 květy a I-XII oddenky) z čerstvého materiálu. Výluhů ze sušeného materiálu bylo připraveno 12 (1-12 květy). Každé měření bylo třikrát opakováno pro co největší přesnost, u stanovení anthokyanů se navíc měřilo při 2 typech vlnových délek a 2 různých pH v kombinaci (tedy 4 typy). Celkově bylo tedy provedeno 360 měření. Ke stanovení obsahových látek bylo užito metod dle (ZLOCH, 2004). Anthokyany byly stanoveny pH diferenciální metodou, u fenolů byla použita kyselina gallová jako standard, u flavonoidů katechin a u antioxidační kapacity Trolox (metoda DPPH). Naměřené hodnoty obsahových látek byly následně vyhodnoceny a porovnány s již provedenými ostatními laboratorními zkouškami jiných autorů (pokud byly provedeny). Laboratorní měření ukázala, že rozpětí výsledných hodnot v rámci daného typu obsahové látky je široké. Tento výsledek je dán rozdílností vybraných kultivarů, např. jejich barevností, což bylo patrné ve výsledcích naměřených anthokyanů.

Pro barvení byla zvolena směs z kultivarů *Iris sibirica*, stejně jako v bakalářské práci, s jejímiž výsledky byly nově získané porovnávány. Byly zvoleny dva postupy barvení – za studena, varem. Barvení za studena probíhalo při 22 °C v časech 30 a 60 minut, barvení varem probíhalo při 100 °C ve stejných časech. Celkem bylo obarveno 44 kusů

bavlněných čtverců o rozměru 0,1 x 0,1 m. Bylo připraveno 6 druhů máčecích lázní a 22 barvicích lázní. Kontrolní vzorky nebyly v ničem máčeny ani barvicí lázně neobsahovala žádnou přídavnou látku.

Získané barvy byly hodnoceny ve třech časových úsecích (po 24 hodinách, 60 dnech, 180 dnech) pomocí barevné RHS škály. Hodnocení po 24 hodinách ukázalo, že barvená škála se pohybuje převážně kolem odstínů, zelené, hnědé až žluto zelené. Po hodnocení barvené škály po 60 dnech vyšlo najevo, že stabilita barev byla (s největší pravděpodobností díky modré skalici) více či méně zachována v rámci jednoho až dvou odstínů barvy určené při prvním měření. Poslední měření učiněné po 180 dnech od prvního hodnocení vykazovalo pozitivní stav a to u větší části vzorků velmi malou ztrátu barevného odstínu popř. systosti, některým vzorků dokonce zůstala barevnost zachována jako při sledování po 60 dnech.

Z naměřených hodnot obsahových látek a uvedených fytotherapeutických účinků je patrné, že kosatce se mohou stát vhodnými donory látek důležitých pro léčbu lidského organismu. U kultivarů užitých v pokusné části by však bylo nutné ještě mnoha výzkumů, které by tuto hypotézu potvrdily.

Z výsledků měření vyplývá, že květ kosatce poskytuje různé odstíny škály barev a s přidavkem mořidla je možné docílit i jejich většinové stálosti.

8 SOUHRN

Práce se zabývá problematikou stanovení obsahových látek v oddencích a květech vybraného sortimentu rodu *Iris* L. a možnostmi použití kosatce jako rostliny barvířské. Literární část diplomové práce se věnuje charakteristice vybraného druhu a jeho kultivarů sortimentu rodu *Iris* L., popisu druhů, významných ve fytoterapii. Dále se uvádí popis fenolických látek, flavonoidních látek, anthokyanů, antioxidační kapacity a metod stanovení těchto obsahových látek.

V praktické části jsou aplikovány popsané metody, porovnány výsledky a vyhodnoceny pomocí statistických údajů. V květech kosatců byly stanoveny fenoly, flavonoidy, antioxidační kapacita a anthokyany. V oddencích se stanovovaly fenoly, flavonoidy a antioxidační kapacita. Diplomová práce také částečně navazuje na práci bakalářskou, s níž srovnává výsledky barevné škály u jednotlivých vzorků látek. V diplomové práci bylo užito ke stabilizaci mořidlo charakteru kovových solí (tyto soli v BP nebyly užity).

Při stanovení fenolů byla jako standard užita kyselina gallová, flavonoidů byl standardem katechin, antioxidační kapacity se užil Trolox. U anthokyanů byl pro přepočítání využit cyanidin 3-glukosid. Všechny výsledky naměřených hodnot byly přepočítány na sušený a čerstvý materiál v jednotkách $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (KG, katechinu, ET, cyanidin 3-glukosid).

Při barvení bylo použito několik variant barvicí lázně. Filtrátem výluhu z květů v kombinaci s octem, Savem, solí, jedlou sodou a modrou skalicí byly barveny vzorky látky za studena a varem oba způsoby po dobu 30 a 60 minut. Vzorky byly namáčeny v máčecím roztoku č. 1, který zahrnoval 5 různých látek (soda, Savo, sůl, ocet a modrá skalice) a č. 2 (modrá skalice, ocet a voda). Jako kontrola byly použity vzorky, které prošly pouze barevnou lázní bez přídavných látek či předmoření.

Klíčová slova:

Iris L., flavonoidy, fenoly, DPPH, anthokyany, antioxidační kapacita, mořidla, barvení, Trolox, katechin, pH diferenciální metoda

9 RESUME

The thesis deals with the determination of the content of substances in the rhizomes and flowers of the selected variety of the genus *Iris* L. and the possibilities of using the iris as a dyeing plant. The literary part of the diploma thesis deals with the characteristics of the selected species and its cultivars of the genus *Iris* L., a description of species important in phytotherapy. Furthermore, the description of phenolic substances, flavonoids, anthocyanins, antioxidant capacities and methods of determination of these substances are described.

In the practical part, the described methods are applied, the results are compared and statistical data evaluated. In the flowers of the iris, phenols, flavonoids, antioxidant capacity and anthocyanins were determined. The rhizomes determined phenols, flavonoids and antioxidant capacity. The diploma thesis also partially follows the bachelor's thesis, which compares the results of the color scale for individual samples of substances. In the diploma thesis we used to stabilize the character of metal salts (these salts in BP were not used).

In the determination of phenols, gallic acid was used as a standard, flavonoids were the catechin standard, the antioxidant capacity was used by Trolox. Cyanidin 3-glucoside was used for the conversion of anthocyanins. All results of the named values were recalculated to dry and fresh material in units of $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (KG, catechin, ET, cyanidin 3-glucoside).

Several variants of the dyeing bath were used for dyeing. The filter extract of flowers in combination with vinegar, Salt, salt, edible soda, and blue rock were sampled by cold and boiling in both ways for 30 and 60 minutes. The samples were soaked in Soil Solution No. 1, which included 5 different substances (Soda, Savo, Salt, Vinegar, and Blue Scalp) and No. 2 (Blue Scalp, Vinegar and Water). As a control, samples were used that passed only the color bath without additives or pre-soaking.

Keywords:

Iris L., flavonoids, phenols, DPPH, anthocyanins, antioxidant capacity, mordants, staining, Trolox, catechin, pH differential method

10 POUŽITÁ LITERATURA

1. **AICHELE, D. 1996.** *Co tu kvete?: kvetoucí rostliny střední Evropy ve volné přírodě*. 1. vyd. Ilustrace Marianne Golte-Bechtle. Praha : Ikaz, 1996. ISBN 80-85944-97-9.
2. **ANDERSEN, Ø. M, MARKHAM, K. R. 2006.** *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. Boca Raton : FL: CRC, Taylor & Francis, 2006. ISBN 0849320216.
3. **ASHIHARA, H., CROZIER, A., KOMAMINE, A. (eds.). 2011.** *Plant metabolism and biotechnology*. Chichester : Wiley, 2011. ISBN 978-0-470-74703-2.
4. **ATTOKARAN, M. 2011.** *Natural food flavors and colorants*. Hoboken : Wiley-Blackwell, 2011. 081382110X.
5. **AUSTIN, C. 2005.** *Iris: a gardeners encyclopedia*. Portland : Timber press, 2005. ISBN 0881927309.
6. **BALFOUR-PAUL, J. 2011.** *Indigo: Egyptian Mummies to Blue Jeans*. London : British Museum Press, 2011.
7. **BALÍK, J. 2010.** *Anthokyaninová barviva v hroznech a vínech*. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2010. 978-80-7375-412-9.
8. **BALÍK, Josef. 2010.** *Anthokyaninová barviva v hroznech a vínech*. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2010. 978-80-7375-412-9.
9. **BARANEC, T., POLÁČIKOVÁ, M. a KOŠŤÁL, J. 1998.** *Systematická botanika*. Bratislava : Universum, 1998. 80-967-1112-1.
10. **BATOUŠEK, P., ŠTĚPÁNKOVÁ, J., CHRTEK, J., KAPLAN, Z.(eds.). 2010.** *Květena České republiky: [Flora of the Czech Republic]*. 1.vyd. Praha : Academia, 2010. ISBN 978-80-200-1824-3.
11. **BECHTOLD, T., MUSSAK, R. 2009.** *Handbook of natural colorants*. Chichester : Wiley, 2009. 0470511990.
12. **BERHOW M. A., VAUGHN S. F. 1999.** *Higher plant flavonoids: Biosynthesis and chemical ecology. Principles and Practises of Plant Ekology*. Illinois : CrC Press, 1999.
13. **BIDLOVÁ, V. 2004.** *Barvení pomocí rostlin*. České Budějovice : Rosa, 2004. 80-239-2965-8.
14. **BREMNESS, L. 2003.** *Bylinář: zdraví, krása a radost*. Praha : Fortuna Print, 2003. 80-7321-074-6.

15. **BRICKELL, Ch. (ed.). 2008.** *A-Z encyklopedie zahradních rostlin.* [překl.] Bidlová Věra a kolektiv autorů. Vyd. 1. Praha : Knižní klub v Praze, 2008. ISBN 978-80-242-2069-7.
16. **BÜHRING, U. 2010.** *Léčivé rostliny: obsahové látky, zpracování, základní recepty.* Praha : Knižní klub, 2010. 9788024224749.
17. **CANNON, J. F. M., Margaret, J., CANNON, G. 2003.** *Dye plants and dyeing.* Portland : Timber Press, 2003. 0881925721.
18. **DAVÍDEK, J. 1991.** *Chemie potravin: určeno pro posl. fak. potravinářské a biochemické technologie.* Praha : vysoká škola chemicko-technologická, 1991. 80-7080-097-6.
19. **DLUGOŠOVÁ, K., PŠENÁKOVÁ, I. 2004.** ANTIOXIDAČNÉ ÚČINKY VYBRANÝCH. *Nova Biotechnologica* . 2004.
20. **DYKES, W. R. 1974.** *The genus Iris.* New York : Dover Publications, 1974. ISBN 0486230376.
21. **EASTAUGH, N. 2008.** *Pigment compendium: a dictionary and optical microscopy of historical pigments.* Oxford : Butterworth-Heinemann, 2008. 978-0-7506-8980-9.
22. **EDITED BY FOUAD DAAYF, Vincenzo Lattanzio. 2008.** *Recent advances in polyphenol research.* Oxford : Wiley-Blackwell, 2008. ISBN 9781405158374.
23. **FRANĚK, J. 1926.** *Běličství, barvířství, tiskařství a úprava látek.* Praha : Československá, 1926.
24. *Genetic Resources of Iris barbata, group Elatior.* **BLAŽEK, M. a BLAŽKOVÁ, U. 2011.** Moscow, 2011. Proceedings of the II Moscow International Symposium on the genus Iris" Iris L.
25. **GOLDBLATT, P. a MANNING, J. C., 2008.** *The Iris family: Natural History and Classification.* Portland : Timber Press, 2008. 08-819-2897-6.
26. **GOLDBLATT, P. 2000.** Phylogeny and classification of the Iridaceae and the relationships of Iris. *Annali Di Botanica.* 2000, 58.
27. **GOLOVKIN, B. N. a KLIKOVÁ, G. 1990.** *Rozkvetlá zahrada.* Praha : Lidové nakladatelství, 1990. 80-7022-052-X.
28. **GOULD, K., DAVIES, K. M., WINEFIELD, Ch. 2009.** *Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications.* New York : Springer, 2009. ISBN 9780387773346.

- 29. GRIMMICOVÁ, A. I. 2012.** *Šibori batika*. Praha : Grada, 2012. 978-80-247-4182-6.
- 30. HAGEN, T., BORSTELL, U. 2009.** *Jakou rostlinu kam zasadit: nejlepší druhy pro vaši zahradu*. Praha : Grada, 2009. 978-80-247-2726-4.
- 31. HARBORNE, J. B. a WILLIAMS C. A. 2000.** The phytochemical richness of the Iridaceae and its systematic significance. *Annali Di Botanica*. 2000, 58.
- 32. HARBORNE, J. B. a WILLIAMS, C. A. 2011.** The phytochemical richness of the Iridaceae and its systematic significance. *Annali di Botanica*. 2011.
- 33. HARMATHA, J. 2002.** *Chemie a biochemie přírodních látek*. Praha : Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, 2002. ISBN 80-86241-17-3.
- 34. HÄSSIG, A., et al. 1999.** Flavonoids and tannins: plant-based antioxidants with vitamin character. *Medical hypotheses*. 1999, stránky 479-481.
- 35. HEJLOVÁ, B. 2015.** *Využití okrasných rostlin jako rostlin barvířských*. Lednice : Mendelova univerzita, 2015.
- 36. HERTLE, B., KIERMEIER P., NICKIG, M. 2010.** *Kvetoucí zahrada*. Praha : Svojtka & Co., 2010. 978-80-256-0121-1.
- 37. HERTOĞ, M. GL, HOLLMAN, P. CH. a VENEMA, D. P. 1992.** Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1992, stránky 1591-1598.
- 38. HIGDON, J. 2007.** *An evidence-based approach to dietary phytochemicals*. New York : Thieme Medical Publishers, 2007. 978-1-58890-408-9.
- 39. HLADÍK, V. 1982.** *Textilní barvířství*. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1982.
- 40. HORÁKOVÁ, M., LISCHKE, P., GRÜNWARD, A. 1986.** *Chemické a fyzikální metody analýzy vod: celostátní vysokoškolská příručka pro stud. VŠCHT stud. oboru technologie vody*. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1986.
- 41. HROUDA, L. 2013.** *Rostliny luk a pastvin*. Vyd. 1. Praha : Academia, Atlas (Academia), 2013. ISBN 978-80-200-2259-2.
- 42. HŘEBÍČKOVÁ, B. A. 2006.** *Recepty starých mistrů, aneb, Malířské postupy středověku*. Brno : Computer Press, 2006. 80-251-1025-7.

43. HUML, V. 1986. *Kosatce*. 1. Vyd. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1986.
44. IBURG, A. 2004. *Lexikon přírodní medicíny: obsahové látky, léčebné účinky, užití*. Čestlice : Rebo Productions CZ, 2004. 8072343785.
45. INDERJIT, K DAKSHINI, FOY, Ch. L. 1999. *Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions*. Boca Raton : FL: CRC Pres, 1999. 0849394694.
46. JACKSON, B. P., SNOWDON, D. W. 1992. *Atlas of microscopy of medicinal plants, culinary herbs and spices*. New Delhi : CBS Publishers, 1992. 81-239-0025-2.
47. JANOTKA, M., LINHART, K. 1984. *Zapomenutá řemesla: vyprávění o lidech a věcech*. Praha : Svoboda, 1984.
48. JAROŠ, Z. 1992. *Léčivé látky z rostlin*. České Budějovice : Dona, 1992.
49. JORDÁN, V., HEMZALOVÁ, M. 2001. *Antioxidanty: zázračné zbraně : vitaminy, minerály, stopové prvky, aminokyseliny a jejich využití pro zdravý život*. Brno : Jota, 2001. 80-7217-156-9.
50. KAŠŠÁK, P. 2015. *Hodnocení kosatců podrodu *Limniris* v klimatických podmínkách středoevropského termofytika*. Lednice : autor neznámý, 2015.
51. KELLER, R. B. 2009. *Flavonoids: biosynthesis, biological effects and dietary sources*. New York : Nova Science Publishers, 2009. ISBN 16-074-1622-0.
52. KLEJDUS, B., KUBÁŇ, V. 1999. Rostlinné fenoly v allelopatii. *Chemické listy*. 1999, 93, stránky 243 – 248.
53. KÖHLEIN, F. 1987. *Iris*. Portland : Timber Press, 1987. 9780881920499.
54. KOLESNIKOV, M. P. a GINS, V. K. 2001. Phenolic substances in medicinal plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2001, stránky 392-399.
55. KONCZAK, I., ZHANG, W. 2004. Anthocyanins—More Than Nature's Colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2004, 5, stránky 239–240.
56. KORBELÁŘ, J. a ENDRIS, Z. 1981. *Naše rostliny v lékařství*. 7. Vyd. Praha : Avicenum zdravotnické nakladatelství, 1981. ISBN 80-201-009-1.
57. KRYŠTŮFEK, J., WIENER, J., MACHAŇOVÁ, D. 2011. *Barvení textilií II*. Liberec : Technická univerzita v Liberci, 2011. 978-80-7372-796-3.
58. KŘESADLOVÁ, L., VILÍM, S. 2009. *Encyklopedie tulipánů, hyacintů, begonií a dalších cibulnatých a hlíznatých rostlin*. Vyd. 1. Brno : Computer Press, 2009. ISBN 978-80-251-2830-5.

- 59. KŘÍŽOVÁ, E. 2004.** *Alternativní medicína jako problém.* Vyd. 1. Praha : Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0754-9.
- 60. LAPORNIK B., PROŠEK M., WONDRA A.G. 2005.** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.* 2005, 71, stránky 214-222.
- 61. LEPŠÍ, P., BOUBLÍK, K. 2013.** *Červená kniha květeny jižní části Čech.* České Budějovice : Jihočeské muzeum, 2013. str. Vyd. 1. ISBN 978-80-87311-35-6.
- 62. LIM, T.K. 2013.** *Edible medicinal and non-medicinal plants.* Dordrecht : Springer, 2013. ISBN 9789400756281.
- 63. MADHAVI, D. L., S. S. DESHPANDE a D. K. SALUNKHE. 1996.** *Food antioxidants: technological, toxicological, and health perspectives.* New York : Marcel Dekker, 1996. 082479351x.
- 64. MALÝ, M. 2012.** *Květinářství I.* 1.vyd. Mělník : Vyšší odborná škola zahradnická a Střední zahradnická škola ve spolupráci s nakl. Rebo, 2012. ISBN 978-80-904782-7-5.
- 65. MAREČEK, F. (ed.). 1997.** *Zahradnický slovník naučný.* Vyd. 1. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1997. ISBN 80-85120-62-3.
- 66. MAREČEK, F. 2001.** *Zahradnický slovník naučný.* Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2001. 80-85120-62-3.
- 67. MÁRTONFI, P. 2003.** *Systematika cievnatých rastlín.* Košice : Univerzita P.J. Šafárika, 2003. 80-7097-508-3.
- 68. PRUGAR, J. 2008.** *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí.* Praha : Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, 2008. 9788086576282.
- 69. RANDUŠKA, D., HÁBEROVÁ, I., ŠOMŠÁK, L. 1983.** *Barevný atlas rostlin.* Bratislava : Obzor, 1983.
- 70. REIGOSA ROGER, M. J., PEDROL, N., GONZÁLEZ, L. 2006.** *Allelopathy: a physiological process with ecological implications.* Dordrecht : Springer, 2006. 9781402042799.
- 71. Screening přítomnosti vybraných antokyanových farbív V kvetoch najpestovanejších kultivarov *Iris sibirica*.** KAŠŠÁK, P., BABULA, P., ŠMEJKAL, K. 2012. místo neznámé : SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE, 2012. Zahradníctvo. stránky 51-56. 978-80-552-0820-6.

- 72. SCHAUER, T. 2008.** *Svět rostlin: 1150 květin, trav, travin, stromů a keřů střední Evropy.* [překl.] Miroslav VOLF. Čestlice : Rebo, 2008. 978-80-7234-998-2.
- 73. SCHÖNFELDER, I., SCHÖNFELDER, P. 2010.** *Léčivé rostliny.* [překl.] Jana JINDROVÁ. Praha : Ottovo nakladatelství, 2010. 9788073605889.
- 74. SIMPSON, M. 2010.** *Plant systematics.* 2nd ed. Burlington : Academic Press, 2010. ISBN 9780123743800.
- 75. SINGH, G. 2010.** *Plant systematics: an integrated approach.* Enfield : Science Publishers, 2010. 978-157-8086-689.
- 76. SLANINA, J., TÁBORSKÁ, E. 2004.** PŘÍJEM, BIOLOGICKÁ DOSTUPNOST A METABOLISMUS ROSTLINNÝCH POLYFENOLŮ U ČLOVĚKA. *Chem. Listy.* 2004, Chamické listy 98, stránky 239-245.
- 77. SPEICHERT, C. Greg. a Sue. SPEICHERT. 2004.** *Encyclopedia of water garden plants.* Portland : Timber Press, 2004. 08-819-2625-6.
- 78. ŠTĚPÁNKOVÁ, J., SLAVÍK, B. a ed. 2011.** *Květena České republiky 8.* Praha : Academia, 2011. 978-80-200-1824-3.
- 79. ŠTÍPEK, S. 2000.** *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci.* Praha : Grada, 2000. 80-7169-704-4.
- 80. ŠTURSA, J. 1997.** *Cibulové a hlíznaté rostliny.* Praha : Aventinum, 1997. 80-852-7778-6.
- 81. TAKHTADZHĪAN, A. L. 2009.** *Flowering plants.* New York : Springer, 2009. 14-020-9608-9.
- 82. TESORIERE, L., BUTERA, D., ARPA, D., et al. 2002.** Increased Resistance to Oxidation of Betalain-enriched Human Low Density Lipoproteins. *Free Radical Research.* 2002, 37, stránky 689–696.
- 83. TIMMERMANN, A. 2005.** *Zahradní rostliny: 500 nejkrásnějších druhů.* [překl.] Václav Větvicka. Čestlice : Rebo, 2005. 80-723-4416-1.
- 84. TREPKA, E. 1960.** *Historia kolorystyki.* Warszawa : Państwowe Wydawnictwo Naukowe, 1960.
- 85. VALÍČEK, P. 2005.** *Koření a jeho léčivé účinky.* Benešov : Start, 2005. 8086231348.
- 86. 2014.** *Rostliny pro zdravý život. 2., upr. vyd.* Benešov : Start, 2014. ISBN 978-80-86231-60-0.

- 87. VANĚK, V. a kol. 1968.** *Mečiky a ostatní hlíznaté rostliny*. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1968. ISBN 0702668.
- 88. VELÍŠEK, J., CEJPEK, K. 2008.** *Biosynthesis of food components*. Tábor : OSSIS, 2008. 978-80-86659-12-1.
- 89. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. 2009.** *Chemie potravin*. 3. Tábor : OSSIS, 2009. 978-80-86659-17-6.
- 90. VONÁŠEK, F., TREPKOVÁ, E. a NOVOTNÝ, L. 1987.** *Látky vonné a chuťové*. 1. vyd. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1987.
- 91. WADDICK, J. W., ZHAO, Y. 1992.** *Iris of China. Portland*. Or : Timber Press, 1992. 0-88192-207-2.
- 92. WILSON, C. A. 2006.** Patterns of evolution in characters that define Iris subgenera and sections. *Aliso*. 2006, 22.
- 93. WINK, M. 2010.** *Biochemistry of plant secondary metabolism*. Ames, Iowa : Wiley-Blackwell, 2010. Sv. Annual plant reviews. ISBN 1405183977.
- 94. YABUYA, T., NAKAMURA, M., IWASHINA, T. et al. 1997.** Anthocyanin-flavone copigmentation in bluish purple flowers of Japanese garden iris (*Iris ensata* Thunb.). *Euphytica*. 1997, Sv. 3, 98, str. 163.
- 95. YOUNGSON, R. 1995.** *Antioxidanty - cesta ke zdraví: jak odstranit vliv volných radikálů*. Brno : Jota, 1995. 80-85617-56-0.
- 96. ZAHRADNÍK, M. 1986.** *Barviva používaná v technické praxi*. Praha : SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1986.
- 97. ZBÍRAL, J. 2005.** *Analýza rostlinného materiálu: jednotné pracovní postupy*. Brno : Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, 2005. 80-86548-73-2.
- 98. ZEZULOVÁ, T., ŠTÁBL, J. 2014.** *Screening vybraných obsahových látek v rostlinných vzorcích kosatců*. Strážnice : Purkyňovo gymnázium, 2014.
- 99. ZLOCH, Z., ČELAKOVSKÝ J., AUJEZDSKÁ A. 2004.** Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu. *Chemické listy*. 2004, 98.

Internetové zdroje

- 1. Garden, Missouri Botanical.** [Online] [Citace: 5. Březen 2017.] <http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=270447&isprofile=0&>.
- 2. Gardenia.** Gardenia. [Online] [Citace: 14. duben 2017.] <https://www.gardenia.net/plant/iris-sibirica-silver-edge-siberian-iris>.
http://www.trajnice.com. [Online] [Citace: 2. Duben 2017.] <http://www.trajnice.com/stranrastline/i0070.htm>.
- 3. MOUDRÝ, J., KALINOVÁ, J. 2005.** Pěstování speciálních plodin. [Online] Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 12. Únor 2005. [Citace: 20. Únor 2017.] http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/skripta/3/barvirske_rostliny.html.
- 4. Pinterest.** Pinterest. [Online] [Citace: 4. Duben 2017.] <https://cz.pinterest.com/aussiels/irises/>.
- 5. ROŽNOVSKÝ, J. a LITSCHMANN, T.** Klimatické poměry Lednice na Moravě. [Online] [Citace: 2. Únor 2017.] <http://www.amet.cz/klima/>.
- 6. Society, Royal Horticulture. 2014.** Royal Horticultural Society Colour Charts Edition V. [Online] 2014. [Citace: 5. březen 2017.] www.rhscf.orgfree.com.
- 7. Society, The Royal Horticultural. RHS.** [Online] [Citace: 23. březen 2017.] [https://www.rhs.org.uk/Plants/318187/Iris-Soft-Blue-\(Sib\)/Details](https://www.rhs.org.uk/Plants/318187/Iris-Soft-Blue-(Sib)/Details).
- 8. UPOV. 2006.** INTERNATIONAL UNION FOR THE PROTECTION OF NEW VARIETIES OF PLANTS. *Color names*. [Online] 9. Prosinec 2006. [Citace: 5. Březen 2017.] www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/two_48/two_48_19_add.pdf.
- 9. WROLSTAD, R.E. 2001.** Linus Pauling Institute. [Online] 2001. [Citace: 13. Březen 2016.] <http://lpi.oregonstate.edu/research-newsletter>.
- 10. www.society.org. 2011.** The American Iris society. [Online] 2011. [Citace: 19. duben 2015.] http://irises.org/About_Irises/Cultural%20Information/Grow_Bearded.html

11 PŘÍLOHY