

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Obsahové látky listů jakonu

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Kateřina Buřilová

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

Vedoucí práce: Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Obsahové látky listů jakonu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu diplomové práce, panu Ing. Matyáši Orsakovi, Ph.D., za jeho čas, který mi pokaždé s ochotou věnoval, trpělivost a rady, které mi pomohly při psaní této práce. Dále bych ráda poděkovala panu prof. Dr. Ing. Eloy Fernández Cusimamani za ochotu a poskytování informací o samotné plodině jakonu. Poděkování také patří mé rodině a přátelům, kteří mi byli podporou po celou dobu studia.

Obsahové látky listů jakonu

Souhrn

Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) je vytrvalá rostlina pocházející z Jižní Ameriky, která se díky biologicky aktivním látkám obsažených v kořenových hlízách i listech a stejně tak díky příznivému nutričnímu složení kořenových hlíz řadí mezi funkční potraviny.

V teoretické části diplomové práce je uvedena obecná charakteristika jakonu, zdravotní benefity i jeho využití. Dále se zde zabývá popisem klonů udržovaných na Fakultě tropického zemědělství ČZU, hlavně co se týká listů. Listy jakonu se vyznačují vyšším obsahem biologicky aktivních látek s antioxidačními účinky. Mezi tyto látky patří fenolické kyseliny a flavonoidy, spadající do skupiny polyfenolů. V další části je nastíněna problematika působení antioxidantů vůči volným radikálům, které se nachází v organismech.

Pro analýzu listů bylo vypěstováno 25 různých klonů jakonu pocházejících z Peru, Bolívie, Ekvádoru a Nového Zélandu. Spektrofotometricky, za použití Folin-Ciocalteuova činidla, se stanovoval celkový obsah polyfenolů v těchto listech. Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 7,31 mg GAE/g do 33,09 mg GAE/g suché hmoty a mezi klony byl potvrzen statisticky významný rozdíl. Nejvyšší obsah polyfenolů byl naměřen u listů klonů PER 13, PER 12, PER 04 a BOL 20. Dále došlo k měření antioxidační aktivity extraktů listů za použití radikálu DPPH. Nejvyšší antioxidační aktivitu (68,36 mg AAE/g suché hmoty) vykazoval klon PER 12, nejnižší antioxidační aktivitu (12,11 mg AAE/g suché hmoty) klon ECU 44. Mezi klony byl také nalezen statisticky významný rozdíl. Byla potvrzena středně silná závislost ($r = 0,57$) mezi celkovým obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou. Ze statistické analýzy bylo také zjištěno, že polyfenoly mají z 32,8 % zásluhu za antioxidační aktivitu listů. Zjištěné rozdíly v obsahu polyfenolů i antioxidační aktivitě mezi listy jakonu mohou být užitečné k dalšímu šlechtění a pěstování.

Klíčová slova: antioxidanty; DPPH; Folin-Ciocalteuovo činidlo; gallová kyselina; klon

Substances contained in the leaves of yacon

Summary

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is a perennial plant native to the Andean regions of South America. Yacon can be considered a novel functional food because of the bioactive compounds contained in tuberous roots and leaves as well as the great nutritional composition of its tuberous roots.

The theoretical part of the thesis presents the general description of yacon, health benefits and its use. It also deals with the description of clones maintained at the Faculty of Tropical Agriculture under the Czech University of Life Sciences in Prague. It is especially focused on yacon leaves. Yacon leaves are characterized by a higher content of biologically active compounds with an antioxidant effects. These substances include phenolic acids and flavonoids, which belong to the group of polyphenols. The next section contains a detailed analysis of how antioxidants work against free radicals found in organisms.

25 different yacon clones and its leaves originating from Peru, Bolivia, Ecuador and New Zealand were grown and analysed. The total polyphenol content of leaves was determined spectrophotometrically using the Folin-Ciocalteu reagent. The measured values ranged from 7.31 mg GAE/g to 33.09 mg GAE/g of dry matter and a significant difference was confirmed between the clones. The highest content of polyphenols was measured in leaves of clones PER 13, PER 12, PER 04 and BOL 20. Furthermore, the antioxidant activity of leaf extracts was measured using the DPPH radical method. Clone PER 12 showed the highest antioxidant activity (68.36 mg AAE/g dry matter), and clone ECU 44 had the lowest antioxidant activity (12.11 mg AAE/g dry matter). A statistically significant difference was also found between the clones. The statistical analysis found the positive correlation ($r = 0.57$; $r^2 = 32,8\%$) between polyphenols and antioxidant activity in yacon leaves. The observed differences between polyphenol content and antioxidant activity could be useful for further breeding and cultivation.

Keywords: antioxidants; DPPH; Folin-Ciocalteu reagent; gallic acid; clone

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Charakteristika jakonu	10
3.1.1	Morfologie listů a květů.....	11
3.1.2	Morfologie hlíz.....	12
3.1.3	Chemické složení listů.....	13
3.1.4	Chemické složení hlíz	15
3.1.5	Využití jakonu	17
3.1.5.1	Tradiční využití v Jižní Americe	18
3.1.5.2	Využití v ostatních zemích světa.....	18
3.1.5.3	Význam ve výživě zvířat	19
3.1.6	Zdravotní benefity	19
3.1.6.1	Účinky fruktooligosacharidů a inulinu na zdraví člověka.....	19
3.1.6.2	Účinky fenolických sloučenin na zdraví člověka	20
3.2	Jakon na ČZU	22
3.2.1	Rostlinný materiál.....	22
3.2.2	Klony udržované na FTZ ČZU V Praze	23
3.2.3	Stručná charakteristika listů klonů jakonu z ČZU	24
3.3	Antioxidační aktivita	26
3.3.1	Volné radikály	26
3.3.1.1	Negativní působení volných radikálů.....	27
3.3.2	Antioxidanty.....	28
3.3.3	Antioxidační aktivita	30
3.3.3.1	Metoda stanovení antioxidační aktivity – DPPH.....	30
3.3.3.2	Metoda stanovení celkových polyfenolů – Folin-Ciocalteu.....	31
4	Metodika.....	32
4.1	Pěstování jakonu	32
4.2	Zjišťování celkového obsahu polyfenolů v listech jakonu	33
4.2.1	Příprava vzorků	33
4.2.2	Přístrojové vybavení a použité chemikálie	33
4.2.3	Stanovení celkového obsahu polyfenolů.....	34
4.3	Zjišťování antioxidační aktivity listů jakonu	35
4.3.1	Příprava vzorků	35

4.3.2	Použité chemikálie a přístrojové vybavení	35
4.3.3	Stanovení antioxidační aktivity	36
5	Výsledky a statistické zpracování	37
5.1	Stanovení celkového obsahu polyfenolů v listech jakonu	37
5.2	Stanovení antioxidační aktivity listů jakonu	40
5.3	Závislost mezi antioxidační aktivitou a celkovým množstvím polyfenolů	42
6	Diskuze	44
7	Závěr	47
8	Literatura.....	48
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	55
10	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Po desetiletí se rostlinám věnuje pozornost jako důležitému zdroji biologicky aktivních látek, kde mezi nejvýznamnější patří polyfenoly s prokázanými antioxidantními účinky (Cory et al. 2018).

Využití přírodních antioxidantů v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu může být významnou alternativou syntetickým antioxidantům díky jejich nižší ceně, přirozenému výskytu i bezpečnému působení na lidský organismus (Russo et al. 2015a).

Smallanthus sonchifolius [(Poepp. a Endl.) H. Robinson], známý jako jakon, je původní andský rostlinný druh patřící do čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*), který obsahuje tyto látky jak v hlízách, tak listech (Russo et al. 2015a).

Listy jakonu se využívají k přípravě tradičního léčivého čaje, který může být užitečný proti různým chronickým onemocněním, jako je cukrovka či různé poruchy ledvin. Z tohoto důvodu si listy jakonu v poslední době získaly vysokou pozornost (Khajehei et al. 2017).

Fenolické kyseliny a flavonoidy jsou hlavními skupinami tvořící polyfenoly. Existuje stále více studií, které potvrzují jejich zdravotně prospěšné účinky na organismus. Jsou významné z hlediska antioxidantních účinků, kdy jejich hlavním úkol je zhaset volné radikály. Mezi známé a nejčastěji diskutované volné radikály i látky neradikálové povahy patří tzv. reaktivní formy kyslíku a dusíku (ROS, RNS), které mohou organismus ovlivňovat v negativním slova smyslu. Příjem antioxidantů v potravě je tedy důležitý, protože v některých případech organismus pomocí svých vlastních mechanismů nedokáže odolávat množství volných radikálů (Dalle-Donne et al. 2006; Pham-Huy et al. 2008).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotézy

- 1) Různé klony jakonu vykazují odlišné množství antioxidantně působících látek.
- 2) Antioxidační aktivita extraktů z listů jakonu se liší.
- 3) Obsah celkových polyfenolů se v extraktech z listů jakonu liší.
- 4) Existuje závislost mezi celkovým množstvím polyfenolů a antioxidační aktivitou.

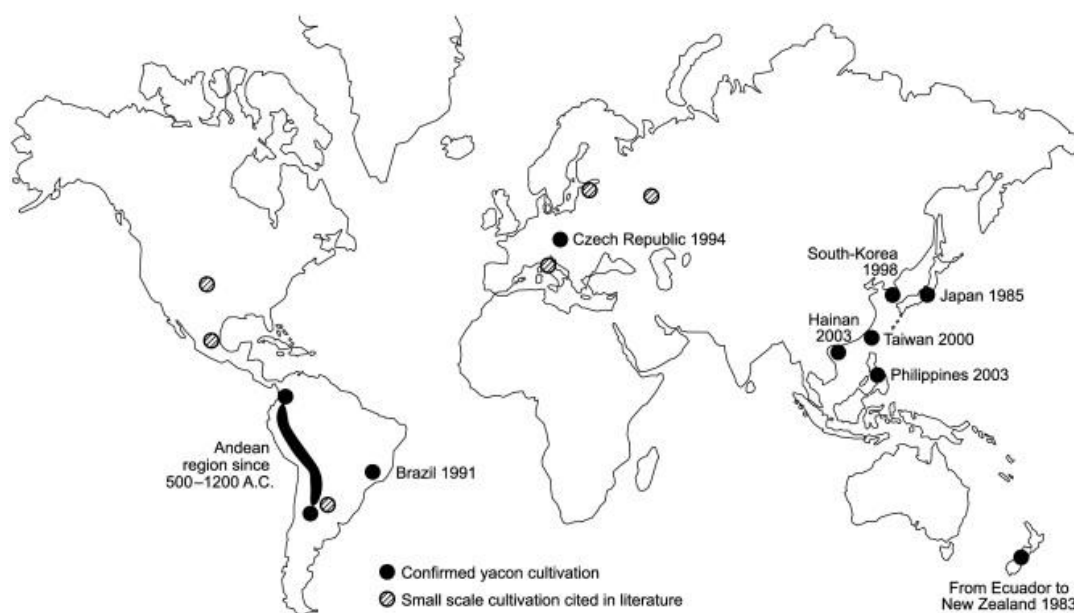
Cíle práce

- 1) Charakteristika a porovnání jednotlivých klonů jakonu na základě literární rešerše.
- 2) Stanovení antioxidační aktivity u extraktů z listů jakonu.
- 3) Porovnání obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity u extraktů z listů různých klonů jakonu.

3 Literární rešerše

3.1 Charakteristika jakonu

Jakon lat. *Smallanthus sonchifolius*, z čeledi hvězdnicovité (*Asteraceae*, *Heliantheae*), patří mezi tradiční okopaninu pocházející z Jižní Ameriky, konkrétně z pohoří And, kde se stále považuje za základní potravinu pro místní spotřebu. V dnešní době se jakon kromě zemí Jižní Ameriky pěstuje také ve Spojených státech amerických, Číně, Korei, Tchaj-wanu, Novém Zélandu, Japonsku a taktéž v některých státech Evropy včetně České republiky (viz Obr. 1) (Cruz et al. 2020; Wagner et al. 2019).

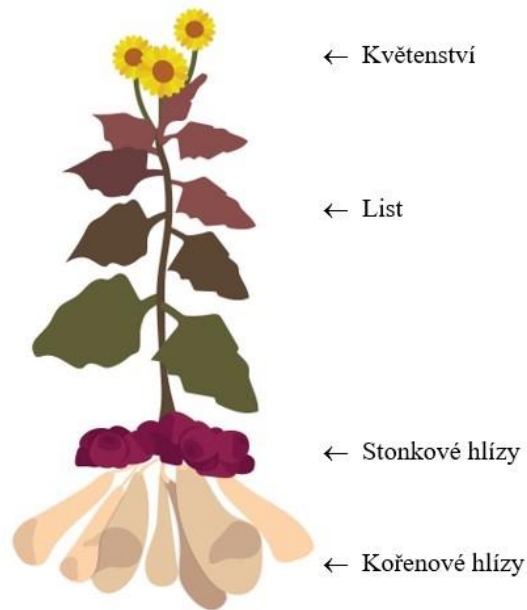


Obr. 1 - Pěstování jakonu v různých částech světa (Ojansivu et al. 2011)

Jakon patří mezi vytrvalé byliny, jehož výška může dosahovat až 3 metrů v andských podmínkách (díky příznivému horskému klimatu), v Evropě dorůstá většinou do výšky 1,5 metru. Rostlina se skládá z nadzemních a podzemních stonků, kde svrchní stonky jsou bohatě rozvinuté, nejčastěji v počtu tří až pěti stonků na jednu rostlinu a nesou vstříčně postavené listy. Úlohou podzemních stonků je tvorba dvou typů hlíz (viz Obr. 2), kde jeden typ slouží k rozmnožování rostliny, druhý je zásobním orgánem a sklízí se právě ke konzumaci (Fernández et al. 2010).

Jakon je vysoce adaptabilní na různá podnebí s teplotními podmínkami v rozmezí od 0 °C do 24 °C. K nejlepšímu růstu a vývoji hlíz dochází v nadmořských výškách mezi 800 až 2000 metry nad mořem a striktně nevyžaduje konkrétní typ půdy pro jeho růst, avšak preferuje hlinitopísčitou půdu bohatou na humus (Contreras-Puentes & Alvíz-Amador 2020). V evropských podmínkách se musí vhodně odhadnout doba sklizně, protože jakon je velmi náchylný na ranní mrazíky, které mohou způsobovat poškození nadzemních stonků i praskání

podzemních hlíz. Důležitým faktorem růstu biomasy i kořenových hlíz je pravidelný přísun vody (Jůzl & Elzner 2014).



Obr. 2 – Jednotlivé části jakonu (Whitson 2014)

3.1.1 Morfologie listů a květů

Ze stonků jakonu vyrůstají vstřícně postavené tmavozeleně až purpurově zbarvené listy (viz Obr. 3). Jsou průměrně 17 cm dlouhé a až 13 cm široké ve střední části čepele. Jejich tvar je vejčitý až mírně kopinatý, na vrcholu špičatý, se zubatými okraji. Na dolní části listů se nacházejí boční křídla, která tvoří ouška na bázi listu. Listy jsou na spodní i svrchní pokožce hustě poseté fialově zbarvenými trichomy. Podílejí se na syntéze různých chemických sloučenin, které jsou velmi důležité v případě interakcí rostliny (Honoré et al. 2015).



Obr. 3 - Listy jakonu (Peirce 2021)

Nápaditým, žlutě až světle oranžově zbarveným květenstvím je úbor, který je tvořen dvěma typy květů. 16 jazykovitých samičích květů se nachází na okraji květenství, vyznačují se převážně dvěma nebo třemi zuby a dorůstají cca do 12 mm. Naopak 80 až 90 samčích kotoučovitých květů se nachází uprostřed květenství, jsou asi 7 mm dlouhé a obsahují pět tyčinek s volnými nitkami (viz Obr. 4) (Dostert et al. 2009; Illés et al. 2019).

Plodem jsou tmavě hnědé nažky elipsoidního tvaru s hladkou pokožkou, asi 2 mm velké (Dostert et al. 2009).



Obr. 4 - Květenství jakonu (Whitson 2014)

3.1.2 Morfologie hlíz

Jakon je schopen vytvářet z podzemních stonků dva typy hlíz – tzv. stonkové a kořenové hlízy (viz Obr. 5).

Stonkové hlízy neboli kaudexy, jsou významné z důvodu vegetativního rozmnožování rostliny. Jedná se o užší, menší hlízky, které vytvářejí speciální očka na pokožce, ze kterých jsou nové rostliny schopné vyklíčit (Valentová & Ulrichová 2003).

Dále jakon vytváří trsy s pěti až dvaceti velkými zásobními kořenovými hlízami o hmotnosti většinou 100 až 500 g. Mohou dosahovat délky 25 cm a 10 cm do šířky. Tyto hlízy jsou velmi podobné hlízám jiřin. Jejich tvar, velikost i barva závisí na konkrétním klonu, ale ve většině případů jsou hlízy nepravidelně vřetenovitého tvaru, někdy téměř kulovitého tvaru (Valentová & Ulrichová 2003). Kořenové hlízy různých odrůd lze odlišit především barvou pokožky, barvou dužiny a úrovní sladkosti. Zbarvení pokožky může být od bílé po fialovou, ale nejčastěji se setkáme s barvou hnědočervenou (tzv. tříslovou). Pod pokožkou se nachází korová vrstva s pryskyřičnými kanálky. Barva dužiny je obvykle běložlutá, ale nachází se i hlízy se světle oranžovými až fialovými dužinami. Dužina má tu vlastnost, že po vystavení na vzduch rychle tmavne. Chuť hlíz se pohybuje od téměř nevýrazné (přibližně jako celer po sklizni)

až po relativně velmi sladkou, zde ale záleží i na době skladování (Valentová & Ulrichová 2003; Whitson 2014)



Obr. 5 – Kořenové hlízy (Ruben 2016)

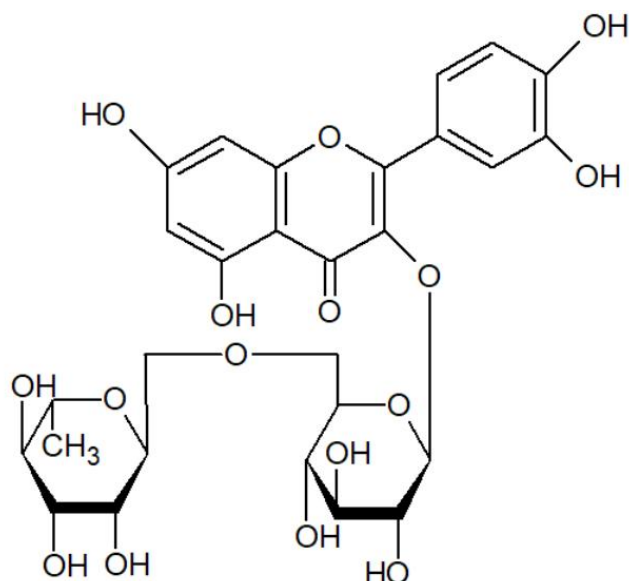
3.1.3 Chemické složení listů

Čerstvé listy jakonu obsahují okolo 60 % vody, 17 % proteinů, 5 % lipidů, 3 % vlákniny a 2 % sacharidů (Contreras-Puentes & Alvíz-Amador 2020). Najdeme zde i nepatrné množství vápníku, fosforu, železa a dalších minerálních látek. Kromě těchto látek také listy obsahují řadu významných biologicky aktivních látek, mezi které patří například fenolické kyseliny, flavonoidy, katechiny, terpeny a seskviterpenové laktony (Valentová et al. 2001).

Mezi nejhojněji vyskytující se **fenolické kyseliny** v listech (viz Obr. 7) patří jednoznačně chlorogenová kyselina a kávová kyselina s jejími deriváty, dále také gallová, protokatechová a ferulová kyselina (de Almeida Paula et al. 2015; Lock et al. 2016). Ve studii Valentové & Ulrichová (2003) se stanovovala přítomnost těchto kyselin v extraktu z listů jakonu a zjistilo se, že obsah chlorogenové kyseliny byl $9,9 \pm 1,7$ mg/g, kávové kyseliny $14,7 \pm 0,09$ mg/g, protokatechové kyseliny $2,5 \pm 0,12$ mg/g a ferulové kyseliny jen stopové množství. Tyto sloučeniny jsou studovány hlavně z hlediska jejich působení proti oxidačnímu poškození, které může vést k onemocněním, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, různé záněty či rakovina. V posledních letech význam antioxidační aktivity těchto sloučenin značně vzrostl. Ve zpracovaných potravinách mohou být používány jako přírodní sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi, proto jejich potenciální použití dosahuje nové úrovně. Bylo tedy rozpoznáno, že jejich biologické působení souvisí s antioxidační aktivitou (Saxena et al. 2012).

Ve studii de Andrade et al. (2014) byla prokázána přítomnost jednotlivých **flavonoidů** v extraktech z listů i květů jakonu. V těchto extraktech byly identifikovány převážně žluté flavonoidy rutin, myricetin, kaemferol a kvercetin, přičemž rutin (viz Obr. 6) se zde nacházel v nejvyšším množství. Flavonoidy jsou spojeny se širokým spektrem zdraví prospěšných účinků a jsou nepostradatelnou složkou využívající se v mnoha lékařských odvětvích. Jsou typické svými antioxidačními, protizánětlivými, antimutagenními a antikarcinogenními vlastnostmi,

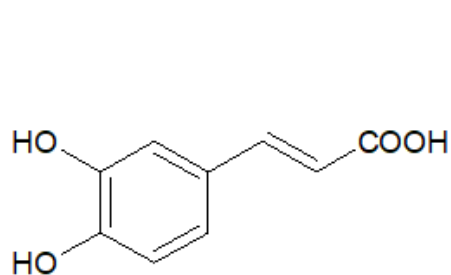
kteře jsou spojené se schopností modulovat klíčové funkce buněčných enzymů (Panche et al. 2016).



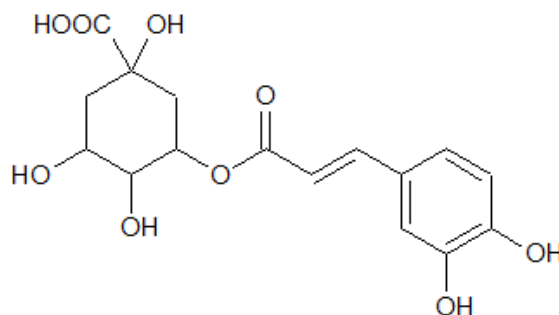
Obr. 6 – Struktura rutinu (vytvořeno autorem)

Další kyselinou, nacházející se v listech jakonu, je (E) – kaurenová kyselina společně i s jejími deriváty 18-angeloyloxy-ent-kaurenovou a 15-angeloyloxy-ent-kauren-19-ovou kyselinou. Vyznačují se jako obranné látky proti působení patogenů i vnějšího prostředí a díky těmto látkám nemusí být jakon speciálně ošetřován herbicidy (Valentová et al. 2001).

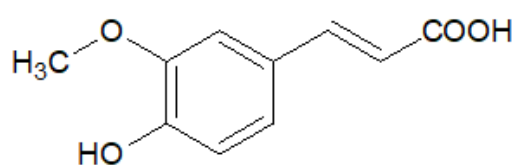
Dalšími látkami s antimikrobiálními účinky jsou **seskviterpenové laktony** melampolidového typu, tzv. sonchifolin, polymatin B, uvedalin, enhydin a fluktuanin (de Almeida Paula et al. 2015). Hlavním laktonem listů jakonu je enhydin, který vykazuje antidiabetické vlastnosti (Nagalievská et al. 2020). Zjistilo se, že sonchifolin vykazuje vysokou fungicidní aktivitu proti plísni *Pyricularia oryzae*, která osidluje rýžová pole (de Almeida Paula et al. 2015). Fluktuanin, uvedalin a enhydrin významně působí proti *Bacillus subtilis* a vykazují rovněž protizánětlivou aktivitu (Genta et al. 2010). V listech jakonu byly taktéž nalezeny silice, mezi které patří například beta – pinen, beta – karyofylen a gama – kadinen (Ferraz et al. 2020).



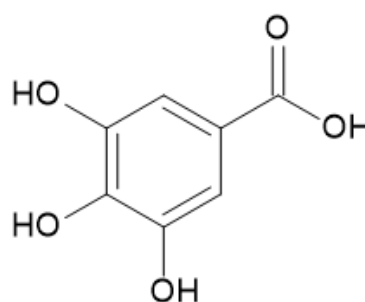
Kávová kyselina



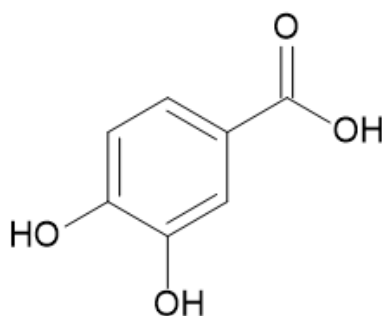
Chlorogenová kyselina



Ferulová kyselina



Gallová kyselina



Protokatechová kyselina

Obr. 7 – Nejvýznamnější fenolické kyseliny listů jakonu (vytvořeno autorem)

3.1.4 Chemické složení hlíz

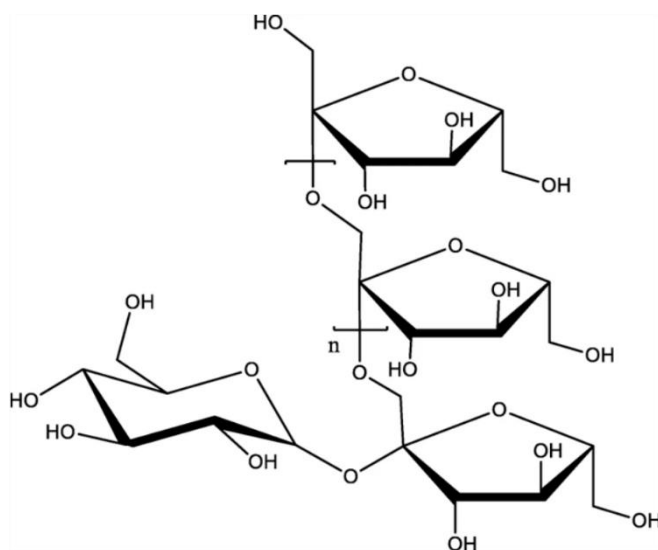
Hlízy jakonu mají velký nutriční potenciál díky své sladké chuti a nižší energetické hodnotě (619-937 kJ/kg čerstvé hmoty), což zajišťuje především vysoký podíl vody kolem 70 % (Nagalievska et al. 2020).

Zbýlých 30 % tvoří sušina, kde největší zastoupení mají sacharidy (70-80 %). Na druhou stranu proteiny jsou zastoupeny jen v malém množství a to pouze 0,4 až 2 %, lipidy 1 % a popeloviny 1-2 % (Lachman et al. 2003). Mikroživiny, jako jsou vápník, fosfor a železo, se v hlízách nachází v menším množství. Vitamíny jsou také důležitou složkou, nejvíce je obsaženo askorbové kyseliny a retinolu (de Almeida Paula et al. 2015). Složení je znázorněno v tabulce (Tab. 1) vytvořené podle Contreras-Puentes & Alvíz-Amador (2020).

Tab. 1 - Složení hlíz a listů jakonu (Contreras-Puentes & Alvíz-Amador 2020)

Složka	Množství v čerstvé hlíze [%]	Množství v listech [%]
voda	> 70	> 60
proteiny	0,3 - 3	17
sacharidy	> 10	< 2
tuky	0,3 - 1	< 5
Vláknina	0,5 - 7	< 3
Minerální látky a další mikronutrienty	< 1	< 1

Sacharidy tvoří 70 až 80 % sušiny jakonu, z nichž nejvíce jsou zastoupeny fruktooligosacharidy (FOS), inulin (viz Obr. 8) a volné sacharidy. Hlízy tedy ukládají sacharidy ve formě fruktanů, na rozdíl od většiny rostlinných hlíz v lidské stravě, které ukládají sacharidy ve formě škrobu. Fruktany s krátkým řetězcem jsou známy jako FOS (stupeň polymerace <9) a lineární fruktany s dlouhým řetězcem jako inuliny (stupeň polymerizace až 60). Obě sloučeniny jsou složeny z β -D-fruktofuranosy spojené β -(1,2) vazbou (Yan et al. 2019). Hlízy jakonu také významně obsahují volné sacharidy, mezi které náleží fruktóza (3 - 22 % sušiny), glukóza (2-5 % sušiny) a sacharóza (Lachman et al. 2004).

**Obr. 8** - Struktura inulinu (vytvořeno autorem)

Podíl monosacharidů a fruktooligosacharidů kolísá během růstového cyklu a po sklizni (Simonovska et al. 2003). Polymerizované sacharidy mají tendenci depolymerizovat pomocí hydrolytických enzymů fruktanhydroláz na mono- a disacharidy, tedy fruktózu, glukózu a sacharózu. Po týdnu skladování při pokojové teplotě 25 °C se až 40 % fruktooligosacharidů přeměňují na jednodušší sacharidy. K minimalizaci těchto změn ve složení přispívá skladování přibližně při teplotě 4-10 °C (de Almeida Paula et al. 2015).

Kromě sacharidů jsou hlízy také bohaté na bioaktivní sloučeniny - fenolické sloučeniny s antioxidačními účinky, esterové deriváty, methylestery a glykosidy. Tyto sloučeniny se však vyskytují i v listech jakonu (Khajehei et al. 2018).

Fenolické sloučeniny jsou dominantní skupinou sekundárních metabolitů rostlin, které obsahují hydroxylové skupiny vázané na aromatické uhlovodíky. Na rozdíl od hlíz a kořenů dalších druhů rostlin, obsahují hlízy jakonu okolo 200 mg fenolických sloučenin na 100 g jedlé čerstvé hmoty (2 mg/1 g). Mezi dominantní fenolické sloučeniny patří chlorogenová kyselina, dále však může být obsažena ferulová kyselina, kumarová kyselina a kávová kyselina s jejími deriváty. Mezi hojně zastoupenými látkami můžeme nalézt i aminokyselinu tryptofan ($14,6 \pm 7,1 \mu\text{g/g}$), která se považuje společně s chlorogenovou kyselinou ($48,5 \pm 12,9 \mu\text{g/g}$) za hlavní antioxidant jakonu (Valentová et al. 2001; Yan et al. 2019).

Vyšší obsah bioaktivních sloučenin je obsažen ve svrchní slupce hlíz, jako je to také u jiných druhů ovoce a zeleniny, např. u banánů nebo brambor. Tyto sloučeniny totiž vykazují antimikrobiální i antioxidační vlastnosti, proto se ukládají ve slupkách ve větším množství a chrání tak plody před potenciálními patogeny i před nepříznivým vnějším prostředím. Obsah fenolických sloučenin a antioxidantů se však může lišit v závislosti na kultivaru, podmínkách prostředí během kultivace, po sklizni a podmínkách zpracování (Khajehei et al. 2018).

3.1.5 Využití jakonu

V Evropě se už po delší dobu soustředí na identifikaci nových funkčních potravin kvůli prevenci různých onemocnění. V tomto případě se Jižní Amerika jeví jako skutečná pokladnice, která je zdrojem široké škály rostlin, které jsou zjevně nedostatečně západními zeměmi využívány. Mezi tyto rostliny jednoznačně patří jakon (Ojansivu et al. 2011).

Jakon se pěstuje především kvůli svým hlízám, které jsou v zemích svého původu považovány za základní potravinu a jsou zde konzumovány jako čerstvé šťavnaté ovoce. V Evropské unii hlízy jakonu či produkty z nich, ale i produkty z dalších částí rostliny, jen tak běžně nenajdeme, jsou zde považovány za novinku. V Jižní Americe má jakon velmi dlouhou historii bezpečného používání, je považován za plodinu se zdraví prospěšnými vlastnostmi včetně prebiotických, antidiabetických, antioxidačních a antimikrobiálních účinků. Vzhledem k nízkému využití jakonu v Evropě musel být podle nařízení ES č. 258/97, nařízení o nových potravinách, před uvedením na trh posouzen z hlediska bezpečnosti. Podle Ojansivu et al. (2011) má jakon dobře zdokumentovanou historii bezpečného používání a jeho složení nezahrnuje žádné zjevné obavy z hlediska škodlivých účinků a obsahu toxických látek. Při konzumaci většího množství hlíz bylo hlášeno pouze nadýmání a plynatost, které lze přičíst nestravitelným fruktooligosacharidům přítomným ve vyšším množství. V jednom případě také došlo k anafylaxickému šoku po požití jakonu.

3.1.5.1 Tradiční využití v Jižní Americe

Historie jakonu sahá daleko do období Inků. V archeologickém nalezišti Nazca byl nazelen jakon vyobrazený na textilu a keramice z let 500-1200 n.l. První psaná zmínka o rostlině pochází z roku 1615, kdy byl jakon nalezen na seznamu 55 původních plodin pěstovaných v andském pohoří (Ojansivu et al. 2011).

Jakon se pěstuje na mnoha lokalitách po celých Andách, od Kolumbie po severozápadní Argentinu (Aybar et al. 2001). Obvykle je ho možné najít na soukromých zahrádkách pro vlastní spotřebu. Uvádí se, že jako plodina je poměrně běžná a pro někoho dokonce nezbytná pro obživu. Kromě domácího použití se pěstuje jako tržní plodina pro prodej na místní úrovni (Ojansivu et al. 2011). Četné zdroje identifikují hlízy jakonu jako tradiční potravinu konzumovanou jako ovoce. Obvykle se loupe a je přidáván do ovocných salátů. Mladé natě mohou být využity podobně jako natě u petržele (Valentová & Ulrichová 2003). Obvyklou úpravou hlíz je také sušení na slunci po několik dní, aby se zvýraznila sladkost hlíz. Hlízy se mohou uvařit, upéct nebo mohou být využity k přípravě osvěžujícího nápoje. Jakon je využíván i jako symbol při náboženských obřadech (Ojansivu et al. 2011).

Kromě konzumace čerstvých hlíz může být zpracováván a prodáván ve formě sirupu, džusu a marmelády. Listy jakonu se suší a jsou využity k přípravě léčivého čaje. I když převažuje malosériová výroba, produkty z jakonu se vyvážejí do Japonska, USA i Evropské unie (Ojansivu et al. 2011). Nižší poptávka po jakonu je vysvětlována jeho kratší skladovatelností a nedostatečným povědomím o této plodině (Hermann et al. 1997). Pro snazší vyžití vypracovalo Mezinárodní bramborářské centrum v Peru (CIP) návod na výrobu šťávy a sirupu.

Kromě konzumace hlíz či využívání dalších jeho částí se jakon uznává také jako léčivá rostlina. V Bolívii a dalších zemích Jižní Ameriky se běžně konzumuje lidmi trpícími cukrovkou či zažívacími a ledvinovými potížemi (Aybar et al. 2001).

Peru má oficiální technické normy týkající se jakonu a jeho produktů. Pro hlízy, listy a sirup jakonu platí jiné normy. Musí splňovat určité požadavky, aby mohly být prodávány pro přímou spotřebu nebo jako surovina pro průmysl (Ojansivu et al. 2011).

Průmyslové využití jakonu je poměrně široké. Kořenové hlízy jsou využívány jako zdroj inulin a fruktózy. Slouží také k výrobě čerstvých nápojů a alkoholu, sušených lupínků, marmelád, zavařenin, sladkého pečiva, sirupů a dalších dochucovadel. Listy jsou využívány k výrobě tradičního čaje s antioxidačními účinky (Lebeda et al. 2008).

3.1.5.2 Využití v ostatních zemích světa

Obecně platí, že mimo Jižní Ameriku se hlízy jakonu považují spíše za zeleninu. V USA se jakon pěstuje, ale ne na významné komerční úrovni. Na Novém Zélandu může být k dostání v supemarketech v sekci speciální zelenina. V Japonsku se taktéž s oblibou využívá, nejčastěji jako doplněk stravy pro lidi s diabetem 2. typu. Pěstování v Itálii je datováno už od roku 1927. V České republice se pěstuje a analyzuje od roku 1994 (Ojansivu et al. 2011).

Jakon je taktéž potenciálně novým zdrojem prebiotik. Celosvětová tržní hodnota prebiotik je v současné době vysoká, proto se jakon začíná využívat jako potravina i v ostatních

koutech světa. Denní příjem 20 g fruktooligosacharidů se obecně považuje za bezpečný. Fruktooligosacharidy získaly status GRAS (všeobecně považovaný za bezpečný) uznaný FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv). Úřady pro bezpečnost potravin v Austrálii, na Novém Zélandu a v Evropě schválily prodej produktů z jakonu na svých trzích (Yan et al. 2019).

3.1.5.3 Význam ve výživě zvířat

Nadzemní části jakonu mohou významně sloužit jako netradiční objemová krmiva pro výživu hospodářských zvířat. Biomasa je dobře metabolizovatelná přežvýkavcema, využívá se jak v čerstvém stavu, tak ve fomě siláže. Taktéž hlízy mohou být využity jako krmivo pro hovězí dobytek, ovce i další hospodářská zvířata. Seskviterpenové laktony však mohou mít vliv na chuť krmiva a omezovat tak jeho využití. Fruktooligosacharidy v hlízách jsou výbornou alternativou k doplňování krmných dávek. Jedná se tedy o dobře stravitelné krmivo, které navíc vykazuje vysokou antioxidační aktivitu (Illés et al. 2019).

3.1.6 Zdravotní benefity

V dnešní době je vysoká poptávka po tzv. funkčních potravinách. Termín „funkční potravina“ byl zaveden v Japonsku v polovině 80. let s použitím zkratky FOSHU (Food for Specific Health Use), což je zkratka pro potraviny určené ke specifickému zdravotnímu použití. Konkrétně se jedná o všechny potraviny, které kromě nutričních hodnot (pokud jsou konzumovány jako součást běžné stravy) mohou příznivě přispívat k fyzickému a duševnímu zdraví s potenciálem snížit riziko chronických onemocnění (de Almeida Paula et al. 2015).

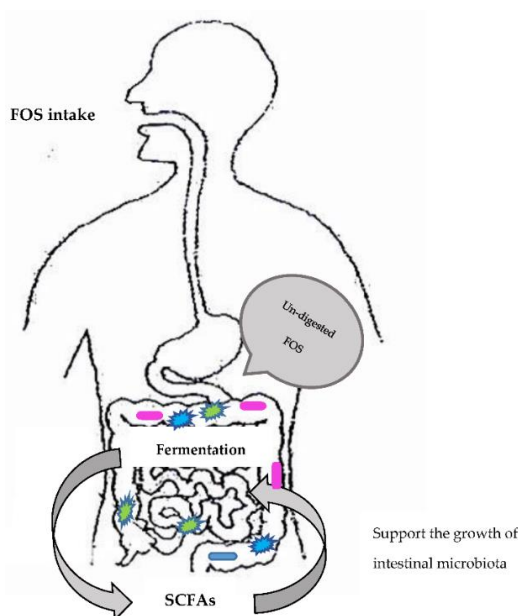
I když je jakon na globálním trhu relativně nový, je považován za funkční potravinu s mnoha fyziologickými vlastnostmi souvisejícími s bioaktivními sloučeninami obsaženými jak v hlízách, tak listech. Tyto sloučeniny mají protirakovinné, antioxidační, antimikrobiální, antidiabetické vlastnosti a mohou napomáhat regulovat hmotnost. Tyto vlastnosti lze téměř jistě připsat fruktooligosacharidům a inulinu obsaženým v hlízách a fenolickým látkám, obsaženým ve větší míře v listech (Yan et al. 2019).

3.1.6.1 Účinky fruktooligosacharidů a inulinu na zdraví člověka

Jakon přitahuje pozornost kvůli vysokému obsahu nestravitelných fruktooligosacharidů a inulinu nacházejících se v jeho hlízách. Mohou působit jako prebiotikum pro mikroorganismy, konkrétně lactobacily a bifidobakterie, vyskytujících se v tlustém střevě (Bibas Bonet et al. 2010). Bifidobakterie inhibují růst hnilobných baterií v tlustém střevě a podporují vstřebávání Ca^{2+} a PO_4 iontů a také syntézu vitaminů skupiny B (Choque Delgado et al. 2013). Konzumace hlíz vede tyto bakterie k produkci vyššího množství mastných kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem (viz Obr. 9), které mohou chránit proti rakovině tlustého střeva (de Moura et al. 2012). Z tohoto důvodu jsou také hlízy zpracovávány do podoby přírodních sirupů a sladidel a jsou využívány při trávicích potížích pro vyvážení střevní mikrobioty. Fruktany tím pádem mohou napomáhat ke zvýšení účinnosti imunitního systému.

Bylo prokázáno, že pravidelná konzumace těchto látek zvyšuje odolnost vůči intracelulárním patogenům (Choque Delgado et al. 2013).

Dále se využívá nízkého množství glukózy u hlíz pro pacienty trpící cukrovkou. V tomto případě bylo prokázáno, že jakon snižuje hladinu glukózy v normálním stavu i u laboratorních krys, které vykazovaly hyperglykémii (Aybar et al. 2001). Autor Habib et al. (2011) uvádí, že pravidelný příjem jakonové mouky má hypolipidemické účinky prostřednictvím aktivace enzymu lipoproteinové lipázy a může způsobovat mírné zvýšení inzulínu nalačno. Valentová et al. (2006) uvádí, že zvýšené množství fruktooligosacharidů by mohlo modulovat metabolický syndrom u diabetu 2. typu a dyslipidémie, což jsou rizikové faktory aterosklerózy.



Obr. 9 – Působení FOS v gastrointestinálním traktu (Yan et al. 2019)

3.1.6.2 Účinky fenolických sloučenin na zdraví člověka

Fenolické sloučeniny jsou dominantní třídou sekundárních metabolitů v rostlinách, které obsahují hydroxylové skupiny vázané na aromatické uhlovodíky a pohybují se od jednoduchých až po vysoce polymerní sloučeniny (Lin et al. 2016). V poslední době jsou fenolické sloučeniny stále více předmětem zájmů zdravotníků i potravinářského průmyslu pro jejich zejména antioxidační vlastnosti. Tato schopnost souvisí s jejich strukturou, konkrétně s hydroxylovými skupinami a konjugovanými dvojnými vazbami na benzenovém kruhu (Yan et al. 2019). Jejich účelem je zhaset volné radikály, které mohou mít vliv na vznik chronických onemocnění, jako je diabetes 2. typu, kardiovaskulární onemocnění i rakovina (Pandey & Rizvi 2009).

Hlízy jakonu obsahují vcelku vysoké množství fenolických kyselin, cca 200 mg na 100 g čerstvé jedlé hmoty, avšak ve studiích de Almeida Paula et al. (2015) a Biazona et al. (2016)

bylo potvrzeno, že listy jakonu vykazují ještě vyšší antioxidační aktivitu, což může být spojeno právě s obsahem fenolických sloučenin.

Listy jakonu (ve formě čaje) se v Andách tradičně využívaly k léčbě lidí trpících diabetem 2. typu a zažívacími problémy. Mimo jiné prý mají zásluhu v omlazování a udržování zdravé pleti. Obyvatelé Kajamarky konzumují jakon před spaním právě kvůli zpomalení stárnutí pleti (de Almeida Paula 2015).

Ve studiích Dos Santos et al. (2017) se prováděly experimenty, které byly založené na testování účinků hydroethanolového extraktu z listů jakonu na glykémii vyvolanou streptozocinem u potkanů Wistar po dobu 30 dnů. Výsledkem bylo snížení obsahu glukózy, zvýšení koncentrace inzulínu a snížení koncentrace triacylglycerolů v séru potkanů. Tyto výsledky jsou v souladu s Aybar et al. (2001) a Genta et al. (2010) studiemi, kde byly zkoumány různé preparáty extraktů a dávky jakonu. Fenolické sloučeniny by tedy mohly měnit metabolismus glukózy a glykemickou aktivitu a působit tak jako antidiabetika (Ferraz et al. 2020; Nagalievska et al. 2020). Kromě toho mají velkou zásluhu při ochraně buněčných membrán před poškozením různými druhy radikálů (více viz kapitola 3.3) (Choque Delgado et al. 2013).

3.2 Jakon na ČZU

3.2.1 Rostlinný materiál

Na Fakultě tropického zemědělství České zemědělské univerzity v Praze je udržován genetický materiál jakonu (od roku 1993), který byl získán z různých zemí světa. Jediným společným znakem tohoto rostlinného materiálu je jejich andský původ. Pravděpodobně došlo k vegetativnímu množení klonů z jedné andské odrůdy, nelze však ale přesně dohledat původ rostliny. Sběrka klonů obsahuje 25 položek (viz Tab. 2), které pocházejí z Bolívie, Peru, Ekvádoru a Nového Zélandu (původem z Ekvádoru). Najdeme zde klony oktoploidní ($2n = 8x = 58$), dodekaploidní ($2n = 12x = 87$) a hexadekaploidní ($2n = 16x = 116$) (Horová 2009).

Tab. 2 - Rostlinný materiál a kódování (Horová 2009)

Původní kódování	Platné kódy	Pracovní kódování listů
PER 5	PER 01	Lj 1
PER 10	PER 02	Lj 2
PER 15/20	PER 03	Lj 3
PER 25	PER 04	Lj 4
PER 30	PER 05	Lj 5
PER 40	PER 06	Lj 6
PER 45	PER 07	Lj 7
PER 50	PER 08	Lj 8
PER 55	PER 09	Lj 9
PER 60	PER 10	Lj 10
PER 65	PER 11	Lj 11
PER 70	PER 12	Lj 12
PER 75	PER 13	Lj 13
PER 90	PER 14	Lj 14
CUSCO I	PER 15	Lj 15
BOL	BOL 20	Lj 16
YANAYO GRANDE	BOL 21	Lj 17
TUQUIZA	BOL 22	Lj 18
LOCOTAL Morado	BOL 23	Lj 19
LOCOTAL Žlutý	BOL 24	Lj 20
ECU	ECU 40	Lj 21
NZL I	ECU 41	Lj 22
NZL II	ECU 42	Lj 23
POLY 3	ECU 43	Lj 24
POLY 4	ECU 44	Lj 25

3.2.2 Klony udržované na FTZ ČZU V Praze

Peru

Klony označené **'PER 5'**, **'PER 10'**, **'PER 15/20'**, **'PER 25'**, **'PER 40'**, **'PER 45'**, **'PER 50'**, **'PER 55'**, **'PER 60'** pocházejí z Peru, spadají mezi oktoploidní klony ($2n = 58$) a téměř všechny jejich hlízy byly získány od Národní univerzity San Antonio Abad del Cusco ze sbírky prof. Gregoria Mezy. Do České republiky byly přivezeny v roce 2005 a od té doby tvoří větší část sbírky klonů ČZU (Horová 2009).

Klony označené **'PER 30'**, **'PER 65'**, **'PER 70'**, **'PER 75'**, **'PER 90'** spadají mezi dodekaploidní klony ($2n = 87$) (Horová 2009).

Odrůda **'CUSCO I'** byla získána v roce 2008 v rámci spolupráce s UNSACC (Národní univerzita San Antonio Abad del Cuzco) přímo z místa nacházejícího se blízko Machu Picchu (Horová 2009).

Výška rostlin této skupiny je v rozmezí od 1 m do 1,4 m. Jedná se o velmi různorodou skupinu, kde se rostliny odlišují většinou buď žlutozelenými či tmavozelenými listy. Zbarvení pokožky hlíz je od bílé po purpurově červenou, dužina je většinou světlá (od bílé po slabě oranžovožluté) (Illěš et al. 2019).

Bolívie

Označení **'BOL'** získaly klony, které byly odebrány přímo z oblasti San Pedro, kraje Potosí. Do České republiky byly dovezeny v roce 1995. Jedná se o oktoploidní klon ($2n = 58$).

Klony, které získaly označení **'Yanayo Grande'**, **'Locotal-Morado'**, **'Locotal-Žlutý'**, **'Tuquiza'** jsou krajové odrůdy v rámci spolupráce s Národní univerzitou v Siglo XX v Bolívii a v České republice se objevují od roku 2007. Taktéž se jedná o oktoploidní klony (Horová 2009).

Rostliny pocházející z Bolívie jsou nejvyšší ze všech sledovaných skupin, dosahují průměrné výšky 1,5 m. Jsou celé poseté trichomy, od ostatních se odlišují fialočervenou pigmentací na převážně zelenožlutých stoncích. Listy jsou především tmavozelené trojúhelníkovitého tvaru s mírně zubatými okraji. Stonkové a kořenové hlízy mají purpurově zbarvenou pokožku s tmavočervenými tečkami, dužina je bílá až žlutá (Illěš et al. 2019).

Ekvádor

Genetický materiál označený jako **'ECU'** je pěstován v České republice od roku 1994 a jedná se o oktoploidní klon (Horová 2009).

Tyto rostliny dorůstají do průměrné výšky 1,41 m. Stonky jsou purpurově červené, listy tmavozelené. Stonkové hlízy jsou zbarvené do purpurově červené, kořenové hlízy mají purpurovou pokožku s bílou dužinou uvnitř (Illěš et al. 2019).

Nový Zéland

Označené klony **'NZL I'** a **'NZL II'** byly zakoupeny v Aucklandu, ale původně pocházely z Ekvádoru. V České republice působí od roku 1993. Jedná se o oktoploidní klon.

Označené klony 'POLY 3 a POLY 4' byly získány indukovanou polyploidizací *in vitro* odrůdy NZL I (Horová 2009).

Tyto dva morfotypy se odlišují barvou stonků i listů, výškou, tvarem kořenových hlíz, a především barvou dužiny kořenových hlíz (Horová 2009).

NZL I, oranžový morfotyp, dosahuje průměrné výšky 1,33 m. Listy jsou zelenožluté barvy, trojúhelníkovitého tvaru se zubatolaločnatými okraji. Stonkové hlízy jsou purpurově červené, kořenové hlízy jsou většinou krémové barvy, dužina je oranžová (Illéš et al. 2019).

NZL II, bílý morfotyp, má zaznamenanou průměrnou výšku 1,35 m. Purpurově červené stonky nesou tmavězelené listy trojúhelníkovitého tvaru. Stonkové hlízy jsou purpurově červené barvy, kořenové hlízy mají na povrchu purpurovou pokožku, ale dužina je typicky krystalicky bílá (Illéš et al. 2019).

3.2.3 Stručná charakteristika listů klonů jakonu z ČZU

Podrobná charakteristika jakonu (všech jeho částí), který je pěstován na půdě ČZU, byla vytvořena bývalou studentkou Gabrielou Horovou a byla sepsána v její bakalářské práci s názvem „Hodnocení genetického materiálu pomocí mezinárodních morfologických deskriptorů“. Hodnocení rostlinného materiálu proběhlo 168. den po výsadbě a bylo k tomu využito deskriptorů navržených organizací PRTA-UNC (Výzkumný projekt andských okopanin na Národní univerzitě v Cajamarca) a barvy byly klasifikovány dle stupnic barev RHS Colour Chart. Z této práce byly vyňaty informace vztahující se pouze k nadzemním částem jakonu, konkrétně k listům. V Tab. 3 jsou tyto informace zjednodušeně shrnuty. Na popisu klonů udržovaných na ČZU také pracoval Illéš et al. (2019). Tyto informace jsou užitečné z pohledu určení korelace mezi zbarvením listů a obsahem antioxidantně působících látek.

Bylo zjištěno, že 52 % listů vykazovalo zelenožlutou barvu listů bez purpurové pigmentace na vrcholových listech. 48 % listů bylo tmavozeleně zbarvených s přítomnou pigmentací na vrcholových listech, u klonu ECU 43 se navíc objevovala pigmentace i na lících stranách listů (Horová 2009).

Tab. 3 – Popis listů jednotlivých klonů (vytvořeno autorem)

Platné kódy	Charakteristika listů
PER 01	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
PER 02	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
PER 03	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
PER 04	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
PER 05	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
PER 06	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
PER 07	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
PER 08	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
PER 09	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
PER 10	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
PER 11	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
PER 12	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
PER 13	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
PER 14	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
PER 15	neurčeno
BOL 20	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
BOL 21	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
BOL 22	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
BOL 23	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
BOL 24	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
ECU 40	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
ECU 41	zelenožluté listy bez purpurové pigmentace na vrcholových listech
ECU 42	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech
ECU 43	tmavozelené listy s purpurovou pigmentací na vrcholových listech i na lících stranách čepele
ECU 44	neurčeno

3.3 Antioxidační aktivita

Oxidační procesy, ke kterým dochází v lidském metabolismu, jsou jedním z faktorů ovlivňující vznik mnoha onemocnění. Během posledních dvou dekad přibývají důkazy o implikaci procesů zprostředkovaných volnými radikály i dalšími reaktivními sloučeninami neradikálové povahy, nazývané též oxidanty, ze kterých mohou radikály lehce vznikat (Jamshidi-kia et al. 2020).

3.3.1 Volné radikály

Volný radikál může být definován jako jakákoliv molekula schopná samostatné existence i přes to, že obsahuje jeden nepárový elektron v atomovém orbitalu. Přítomnost nepárového elektronu má za následek určité vlastnosti, které sdílí většina radikálů (Lobo et al. 2010). Jejich reaktivita závisí na velikosti a na struktuře atomu nebo molekuly (Stratil & Kubáň 2018). Mnoho radikálů je nestabilních a vysoce reaktivních. Mohou buď darovat elektron nebo přijmout elektron od jiných molekul, a proto se chovají jako oxidanty i redukční činidla (Lobo et al. 2010). Vždy usilují o to se dostat do rovnovážného stavu a stát se stabilní molekulou. Při této reakci předávají roli volného radikálu jiné molekule. Mezi nejvýznamnější radikály patří tzv. reaktivní formy kyslíku a dusíku (viz. Tab. 4) (Stratil & Kubáň 2018). Jedná se o vysoce reaktivní druhy se schopností poškozovat biologické makromolekuly jako je DNA, proteiny, sacharidy a lipidy (Lobo et al. 2010).

Volné radikály a další ROS mohou vznikat buď při klasických metabolických procesech v lidském těle, nebo vlivem působení vnějších zdrojů na organismus, jako je vystavení různým typům záření, látkám znečišťujícím ovzduší atd. V buňkách dochází k jejich nepřetržité tvorbě v důsledku enzymatických reakcí (v dýchacím řetězci, při fagocytóze, syntéze prostaglandinů, v systému cytochromu P-450) i neenzymatických reakcí (reakce kyslíku a organických sloučenin, ionizační reakce) (Lobo et al. 2010).

Interně generované zdroje:

- V mitochondriích
- V peroxizomech
- Při zánětech
- Fagocytóze
- Ischemickém poškození
- Cvičení

Externě generované zdroje:

- Cigaretový kouř
- Látky znečišťující životní prostředí
- Záření
- Některé léky, pesticidy

- Průmyslová rozpouštědla
- Ozón

Tab. 4 - ROS a RNS (Štípek et al. 2000)

Reaktivní formy kyslíku	
Volné radikály	Látky neradikálové povahy
superoxid O_2^\bullet	peroxid vodíku H_2O_2
hydroxylový radikál HO^\bullet	kyselina chlorná $HOCl$
peroxyl ROO^\bullet	ozón O_3
alkoxyl RO^\bullet	singletový kyslík O_2
hydroperoxylový radikál HO_2^\bullet	
Reaktivní formy dusíku	
Volné radikály	Látky neradikálové povahy
oxid dusnatý NO^\bullet	nitrosyl NO^+
oxid dusičitý NO_2^\bullet	nitroxid NO
	kyselina dusitá HNO_2
	oxid dusitý N_2O_3
	oxid dusičitý N_2O_4
	peroxynitrit $ONOO$
	alkylperoxynitrit $ROONO$

Volné radikály nemusí na organismus působit pouze v negativním slova smyslu, při nižších koncentracích mohou mít pozitivní vliv na buněčný metabolismus a imunitní funkci. Hrají důležitou roli jako regulační molekuly při obraně organismu proti infekcím či různým zánětům. Volné radikály jsou uvolňovány jako součást obranného mechanismu těla pro úspěšné odstranění patogenních organismů (Dröge 2002). Ve skutečnosti fagocytující buňky syntetizují a ukládají volné radikály, aby je mohly uvolnit při zneškodnění patogenů. Volné radikály se také účastní řady buněčných signálních drah. Pravděpodobně nejznámějším volným radikálem působícím jako signální molekula je oxid dusnatý (NO^\bullet). Je důležitým poslem mezi buňkami a je nezbytný pro správné řízení průtoku krve. Účastní se procesů srážení krve a je důležitý i pro nervovou aktivitu (Pizzino et al. 2017).

3.3.1.1 Negativní působení volných radikálů

Pokud se volné radikály a oxidanty nachází v organismus v přebytku, mohou způsobovat v organismu tzv. oxidační stres. Jedná se o škodlivý proces, který negativně ovlivňuje buněčné struktury, lipidy, proteiny, DNA i lipoproteiny. Oxidační stres vzniká, pokud existuje

nerovnováha mezi tvorbou či příjmem volných radikálů. Schopností organismu je volné radikály zneškodnit (antioxidační obrana organismu) (Pizzino et al. 2017).

Například nadbytek hydroxylového radikálu a peroxynitritu může způsobovat řetězové reakce, tzv. **peroxidaci lipidů** za vzniku hydroperoxidů, a tím poškozovat buněčné membrány a lipoproteiny (Pizzino et al. 2017). Může také docházet k inaktivaci receptorů nebo enzymů a tím pádem narušovat normální buněčnou funkci a zvyšovat propustnost membrán. Kromě toho může peroxidace přispět k poškození buněk v důsledku tvorby oxidovaných produktů, z nichž jsou některé reaktivní. Vytváří se zejména reaktivní aldehydy, jako je malondialdehyd, akrolein a isoprostany. Na rozdíl od volných radikálů jsou aldehydy relativně stabilní, mohou se pohybovat uvnitř buňky nebo dokonce uniknout z buňky a napadat buňky daleko od místa vzniku. Ukázalo se, že některé z těchto aldehydů vykazují reaktivitu s různými biomolekulami (DNA, bílkoviny) a vytvářejí se stabilní produkty přispívající ke vzniku a vývoji mnoha chorob (Dalle-Donne et al. 2006).

Proteiny bývají hlavními cíli ROS a RNS, protože se hojně nachází v biologických systémech a jsou primárně odpovědné za většinu funkčních procesů v buňkách. Odhaduje se, že proteiny mohou zachytit většinu (50-75 %) vzniklých reaktivních forem (Dalle-Donne et al. 2006). Může docházet k přímému i nepřímému poškození po vzájemném působení, což vede k peroxidaci, změnám v jejich struktuře, degradaci, zesílení (cross-link) a štěpení řetězců. Poškození se často nedá napravit a oxidační změny struktury mohou způsobit snížení enzymatických a vazebných aktivit, zvýšení nebo snížení vychytávání proteinů buňkami a snížení schopnosti navodit tvorbu protilátek (Kunwar & Priyadarsini 2011). Jedním z důsledků působení reaktivních forem může být stárnutí. Neaktivní proteiny jsou degradovány, tvoří se agregáty a hromadí se v uzavřených kompartmentech uvnitř buněk. Akumulací zvyšujícího se počtu agregátů může dojít až k samotné apoptóze a nekróze buněk (Dalle-Donne 2006).

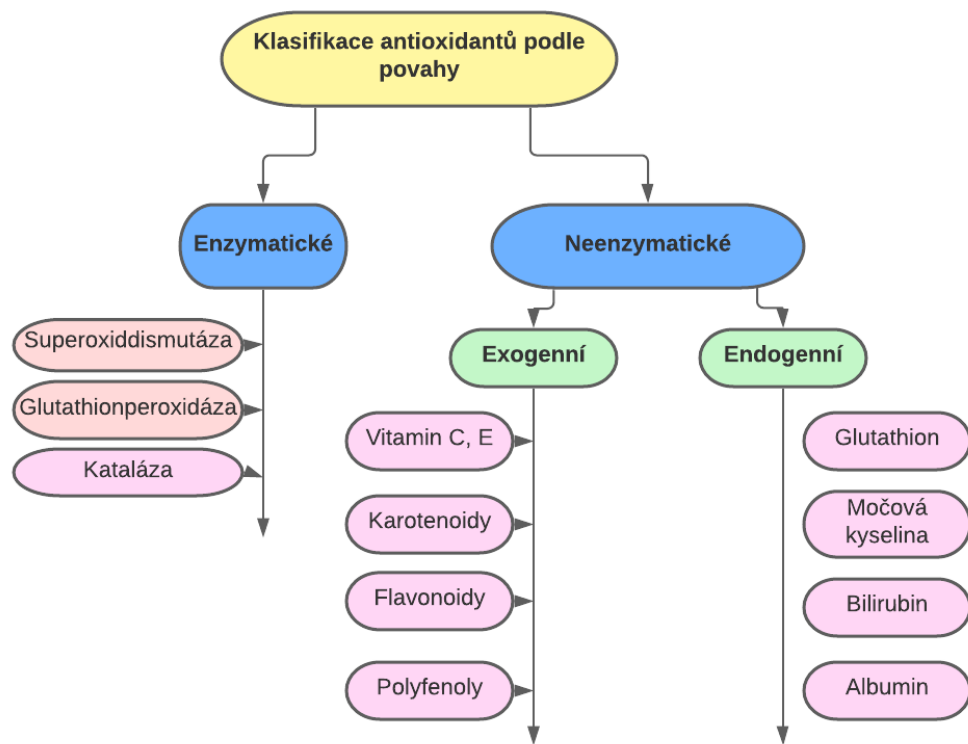
I když jsou molekuly DNA dobře chráněné, ROS a RNS jsou stejně schopné na ně působit. Jejich vystavením může docházet ke změnám jejich struktury, ztrátě purinů, ke změnám bází i k poškození mechanismů oprav DNA. Těmito procesy může docházet až ke změnám genetické informace, k mutagenezi i karcinogenezi (Kunwar & Priyadarsini 2011).

3.3.2 Antioxidanty

Antioxidanty se považují za látky, které jsou přítomny v nižších koncentracích v organismu a významně zpožďují nebo zabraňují oxidaci makromolekulárních látek (DNA, proteinům, lipidům) tím, že mají schopnost zachytávat volné radikály. Antioxidanty jsou účinné z důvodu možnosti darovat své vlastní elektrony, a tím neutralizovat nepříznivé účinky reaktivních druhů - volných radikálů a oxidantů (Shahidi & Zhong 2010; Kunwar & Priyadarsin 2011).

K ochraně buněk a orgánových systémů před volnými radikály organismus využívá vlastního komplexního obranného antioxidačního systému, který omezuje jejich tvorbu a šíření v organismu. Antioxidanty působí jako lapači radikálů, donoři elektronů, rozkladači peroxidů, zhášeci singletového kyslíku, inhibitoři enzymů i jako chelatační činidla. Tato obrana

I lze rozdělit do dvou kategorií – na enzymatickou a neenzymatickou a existují v intracelulárním i extracelulárním prostředí (viz Obr. 10) (Lobo et al. 2010).



Obr. 10 - Klasifikace antioxidantů podle povahy (Jamshidi-kia et al. 2020)

Mezi první enzymatickou obranu (tzv. první linii) je řazeno působení superoxiddismutázy (SOD), která katalyzuje rozklad superoxidového aniontu na kyslík a peroxid vodíku. Dalším enzymem je kataláza, která navazuje na předešlou reakci tím, že je schopná katalyzovat rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík. Peroxid vodíku je škodlivý vedlejší produkt mnoha metabolických procesů, a proto je kataláza často využívána buňkami k jeho zneškodnění. Třetím důležitým enzymem je glutathionperoxidáza obsahující čtyři kofaktory selenu, které katalyzují rozklad peroxidu vodíku a organických hydroperoxidů. Tato první obranná linie potlačuje tvorbu volných radikálů. Dále do této linie patří i proteiny vázající kovové ionty (vysokomolekulární antioxidanty), jako je transferin, feritin, laktoferin a ceruloplazmin. Tyto látky poutají železo a měď a v důsledku toho brání tvorbě volných radikálů (Lobo et al. 2010; Ighodaro & Akinloye 2018).

Druhou linií obrany jsou antioxidanty, které vychytávají aktivní radikály, aby potlačily vznikající řetězové reakce. Jsou známy různé endogenní antioxidanty pohlcující radikály, některé jsou hydrofilní a jiné lipofilní. Hydrofilní skupinu zastupuje vitamin C, močová kyselina, bilirubin, albumin, glutathion, mezi lipofilní se řadí vitamin E a ubichinon (Lobo et al. 2010).

Poslední, a to třetí obrannou linií, jsou tzv. opravné a *de novo* antioxidanty. Jedná se o proteolytické enzymy (proteínázy, proteázy, peptidázy) přítomné v cytosolu a v mitochondriích savců, které rozpoznávají, degradují a odstraňují poškozené proteiny

a zabraňují akumulaci těchto proteinů. Dále existují polymerázy, glykosilázy a nukleázy opravující narušenou DNA (Lobo et al. 2010; Ighodaro & Akinloye 2018).

3.3.3 Antioxidační aktivita

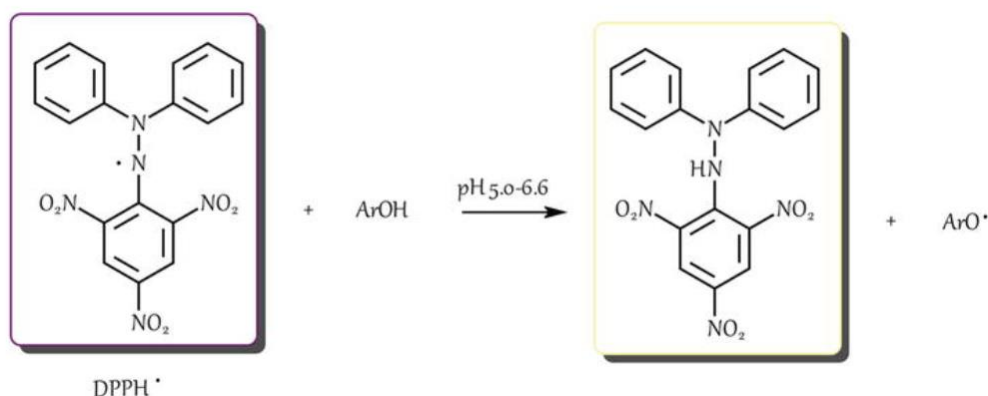
Při zkoumání biologicky aktivních sloučenin je důležité rozlišovat dva pojmy - antioxidační aktivitu a antioxidační kapacitu, i když se často navzájem zaměňují. Antioxidační aktivita se týká spíše rychlostní konstanty reakce mezi antioxidanty a volnými radikály či oxidanty. Antioxidační kapacita je vysvětlována jako míra množství určitého volného radikálu, který je zachycen vzorkem antioxidantu. Proto je třeba brát v úvahu při výběru metody parametr odezvy, který může být funkcí koncentrace substrátu nebo koncentrace a času potřebného k inhibici definované koncentrace ROS a RNS (Santos-Sánchez et al. 2019).

3.3.3.1 Metoda stanovení antioxidační aktivity – DPPH

Metoda používající DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) je jedna z nejrozšířenějších a nejjednodušších spektrofotometrických metod pro zjišťování antioxidační aktivity jednotlivých sloučenin a jejich směsí.

Metoda je založena na měření změn koncentrace DPPH v důsledku reakce DPPH s antioxidantem. Množství zbývajících DPPH ve zkoumaném systému je měřítkem antioxidační aktivity sloučenin. Dochází k měření poklesu absorbance DPPH při jeho absorbačním maximem 515-520 nm. DPPH představuje stabilní radikál, který má tmavě fialovou barvu. Aby se vytvořila stabilnější molekula, radikál DPPH musí přijmout elektron nebo vodík od antioxidantu, tedy DPPH je redukován antioxidanty na odpovídající světle žlutý hydrazin (viz Obr. 11). To znamená, že čím více bude docházet k zachytávání radikálu DPPH antioxidanty, tím bude vzorek světlejší.

Antioxidační aktivita se obvykle vyjadřuje pomocí účinné koncentrace EC₅₀, což představuje množství přidaného antioxidantu, které je nezbytné ke snížení počáteční koncentrace DPPH o 50 %. Avšak je možné ji vyjadřovat i pomocí ekvivalentu askorbové kyseliny (Hernández-Rodríguez et al. 2019; Santos-Sánchez et al. 2019).



Obr. 11 – Reakce antioxidantu s DPPH; ArOH představuje antioxidant, který má schopnost darovat atomy vodíku, čímž dojde k vytvoření stabilní molekuly radikálu a zastavení případné

řetězové reakce. Nově vzniklý radikál ArO^\bullet může dále reagovat s jiným radikálem za vzniku stabilních molekul (DPPH-OAr, ArO-OAr) (Santos-Sánchez et al. 2019).

3.3.3.2 Metoda stanovení celkových polyfenolů – Folin-Ciocalteu

Metoda Folin-Ciocalteu (F-C) je používána v klinických studiích k měření celkového obsahu polyfenolů v potravinách rostlinného původu i biologických vzorcích. Principem stanovení celkových polyfenolů v rostlinných extraktech je reakce polyfenolů se specifickými redoxními činidly za vzniku modrého komplexu, který lze kvantifikovat spektrofotometrií v UV-VIS oblasti při vlnové délce 756 nm. F-C činidlo je směs fosfowolfamové a fosfomolybdenové kyseliny, která je schopná reagovat s fenoly i nefenolickými redukčními sloučeninami za vzniku chromogenů. Konkrétně reakcí vzniká modrý chromofor tvořený fosfowolframovým - fosfomolybdenovým komplexem, kde maximální absorpce chromoforů závisí na alkalickém roztoku a koncentraci fenolických sloučenin. Tato metoda je velmi citlivá a přesná. Koncentrace fenolů je přepočítávána na ekvivalentní množství gallové kyseliny (GAE). Výsledky této metody dobře korelují s výsledky z jiných antioxidačních testů jako jsou metody ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) a DPPH (Singleton et al. 1999; Blainski et al. 2013; Hudz et al. 2019).

4 Metodika

V praktické části diplomové práce se spektrofotometricky stanovoval celkový obsah polyfenolů v listech pomocí metody Folin – Ciocalteu.

Dále byla stanovována antioxidační aktivita listů 25 klonů jakonu pocházejících z Bolívie, Peru, Ekvádoru a Nového Zélandu pomocí metody používající radikál DPPH. Vzorek se proměřoval spektrofotometricky při vlnové délce 515 nm.

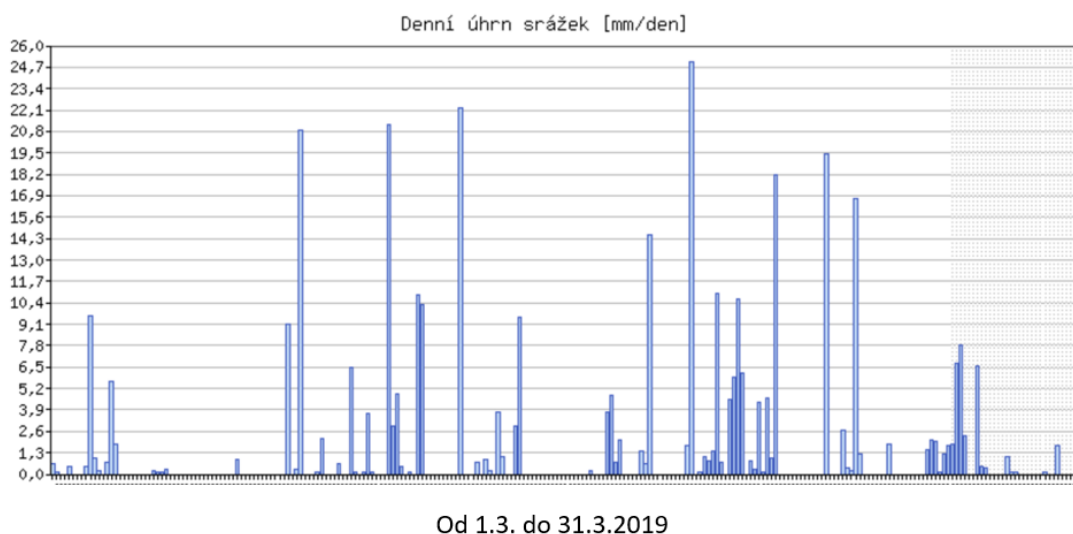
Genetický materiál je udržován už po několik let na Fakultě tropického zemědělství ČZU v Praze, klony jsou původem z And v Jižní Americe, kde došlo pravděpodobně k vegetativnímu množení klonů z jedné odrůdy.

Veškeré informace ohledně původu a charakteristiky rostlinného materiálu byly popsány v kapitole 3.2.

4.1 Pěstování jakonu

Uchované stonkové hlízy (kaudexy) byly vysázeny na pokusném poli Fakulty tropického zemědělství (FTZ) ČZU v Praze dne 24.4.2019. Pokusné pole FTZ ČZU se nachází v řepařsko-ječném výrobním typu s nadmořskou výškou 286 m n. m., na 50° 04' severní šířky a 14° 26' východní délky. Klima je považováno za mírně teplé a mírně suché. Délka vegetační doby byla v rozmezí 167-175 dní. Průměrná teplota v období vegetace činila 17,44 °C, celkový úhrn srážek je zobrazen na Obr. 12 (průměrně 2 mm/den) a průměrná vlhkost vzduchu byla 62,46 %.

Stonkové hlízy byly vysázeny koncem dubna do hrůbků, v průběhu vegetace docházelo k průběžnému rovnoměrnému zavlažování. Sklizení listů proběhlo před příchodem prvních mrazíků 7.10.2019, konečná sklizeň včetně hlíz se uskutečnila až 15.10.2019 kvůli nepříznivému počasí. Vypěstované stonkové hlízy byly přes zimu skladovány v rašelině ve skleníku se zimními teplotami pod 10 °C.



Obr. 12 – Úhrn srážek v období od 1.3. 2019 do 31.3.2019

4.2 Zjišťování celkového obsahu polyfenolů v listech jakonu

4.2.1 Příprava vzorků

Sesbírané listy jakonu byly před samotou extrakcí vysušeny v sušárně pod 45 °C po dobu 6 hodin. Dále došlo k homogenizaci listů rozdrčením v mlýnku až na jemný prášek. Rozemletím listů na jemný prášek umožnilo lepší přístupnost rozpouštědla k rostlinným pletivům, a tím k dosažení přesnějších výsledků. Pomocí analytických vah se následně navážilo 25 vzorků (ve dvou opakováních) po 1 g (s přesností $\pm 0,001$ g) do 50ml odměrných baněk, které byly následně doplněny cca do půlky 100% methanolem a promíchány. Takto byly vzorky uloženy v temnu při pokojové teplotě. Druhý den došlo k doplnění baněk se vzorkem methanolem až po rysku a vzniklé extrakty byly dále využity ke stanovení (viz Obr. 13).



Obr. 13 – Methanolvé extrakty připravené pro analýzu

4.2.2 Přístrojové vybavení a použité chemikálie

Přístrojové vybavení:

- Sušárna Venticell (Německo)
- Laboratorní mlýnek (A11 basic; IKA Werke GmbH & Co. KG. Staufen, Německo)
- Analytické váhy (EW 420-3NM; KERN, Německo)
- Pipeta automatická (1-5 ml)
- Jednopaprskový spektrofotometr (Helios γ pro 190–1100 nm, UNICAM, Velká Británie)

Chemikálie použité ke stanovení:

- Destilovaná voda
- 100% methanol (Lach-Ner, ČR)
- Folin – Ciocalteuovo činidlo (Penta, ČR)
- 20% uhlíčan sodný - 20 g Na_2CO_3 + 80 g destilované vody (Lach-Ner, ČR)

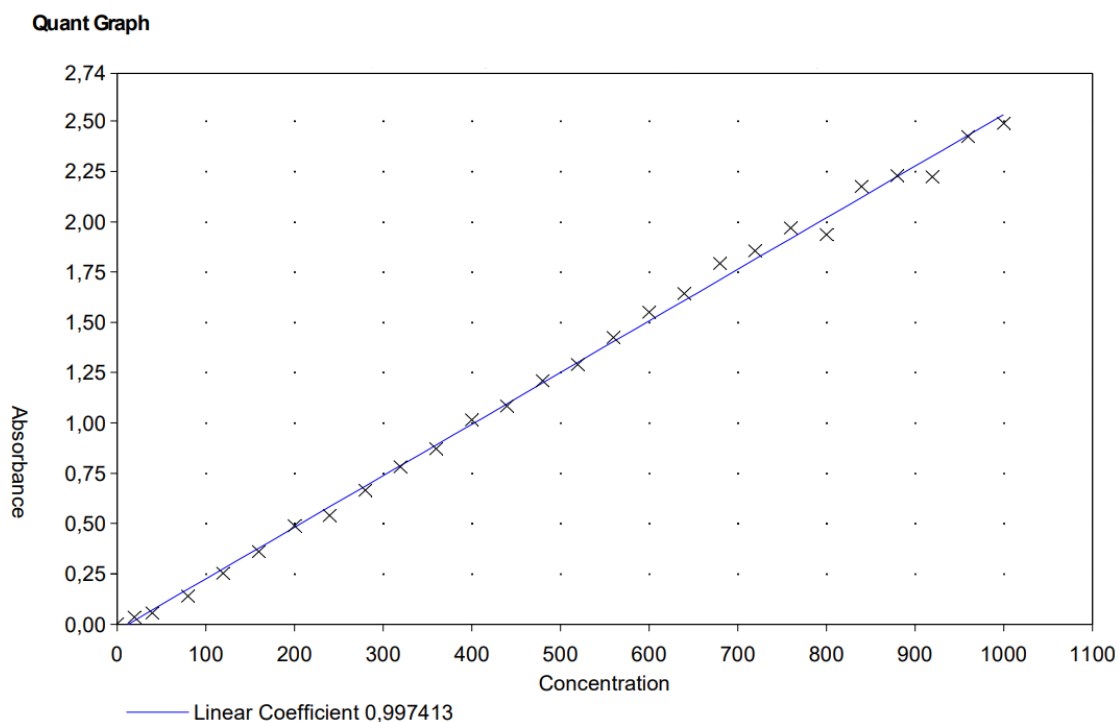
- Standard – ředící řada gallové kyseliny obsahující 50-1000 µg GAE v 50 ml (Fluka)

4.2.3 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Ke stanovení celkového obsahu polyfenolů v extraktech z listů jakonu bylo potřeba napipetovat do 50ml baňky 1 ml našeho připraveného extraktu (listy + methanol). Po zředění destilovanou vodou bylo přidáno 2,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a poté ještě 7,5 ml 20% uhličitanu sodného. Následně se doplnila baňka destilovanou vodou po rysku (do 50 ml). Po promíchání se vzorky nechaly odležet 2 hodiny a takto připravený vzorek byl podroben samotnému měření na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm. Byl připraven i tzv. slepý vzorek, který obsahoval místo 1 ml našeho vzorku pouze 1 ml methanolu. Následně byl proměřen stejným způsobem jako naše vzorky.

Bylo celkově připraveno 25 vzorků ve dvou opakováních. Spektrofotometrické měření bylo provedeno ve všech vzorcích.

Celkový obsah polyfenolů byl vyhodnocen na základě kalibrační křivky (viz Graf 1) jako ekvivalent gallové kyseliny v mg/g suché hmoty.



Graf 1 – Kalibrační řada

4.3 Zjišťování antioxidační aktivity listů jakonu

4.3.1 Příprava vzorků

Vzorky pro měření antioxidační aktivity byly připravovány stejným způsobem jako při přípravě vzorků ke stanovení celkových polyfenolů. Stejným způsobem byly vzorky smíseny s methanolem a promíchány. Nechaly se odpočinout při pokojové teplotě, druhý den došlo k doplnění baněk methanolem po rysku a k filtraci. Takto připravené vzorky byly využity k samotnému měření (viz Obr. 14).



Obr. 14 - Vzorky připravené ke stanovení antioxidační aktivity

4.3.2 Použité chemikálie a přístrojové vybavení

Přístrojové vybavení:

- Laboratorní mlýnek (A11 basic; IKA Werke GmbH & Co. KG. Staufen, Německo)
- Analytické váhy (EW 420-3NM; KERN, Německo)
- Automatické pipety
- Elektromagnetická míchačka
- Stopky
- Jednopaprskový spektrofotometr (Helios γ pro 190–1100 nm, UNICAM, Velká Británie)

Chemikálie použité ke stanovení:

- 100% methanol (Lach-Ner, ČR)
- DPPH (Sigma Aldrich, ČR)
- Askorbová kyselina

4.3.3 Stanovení antioxidační aktivity

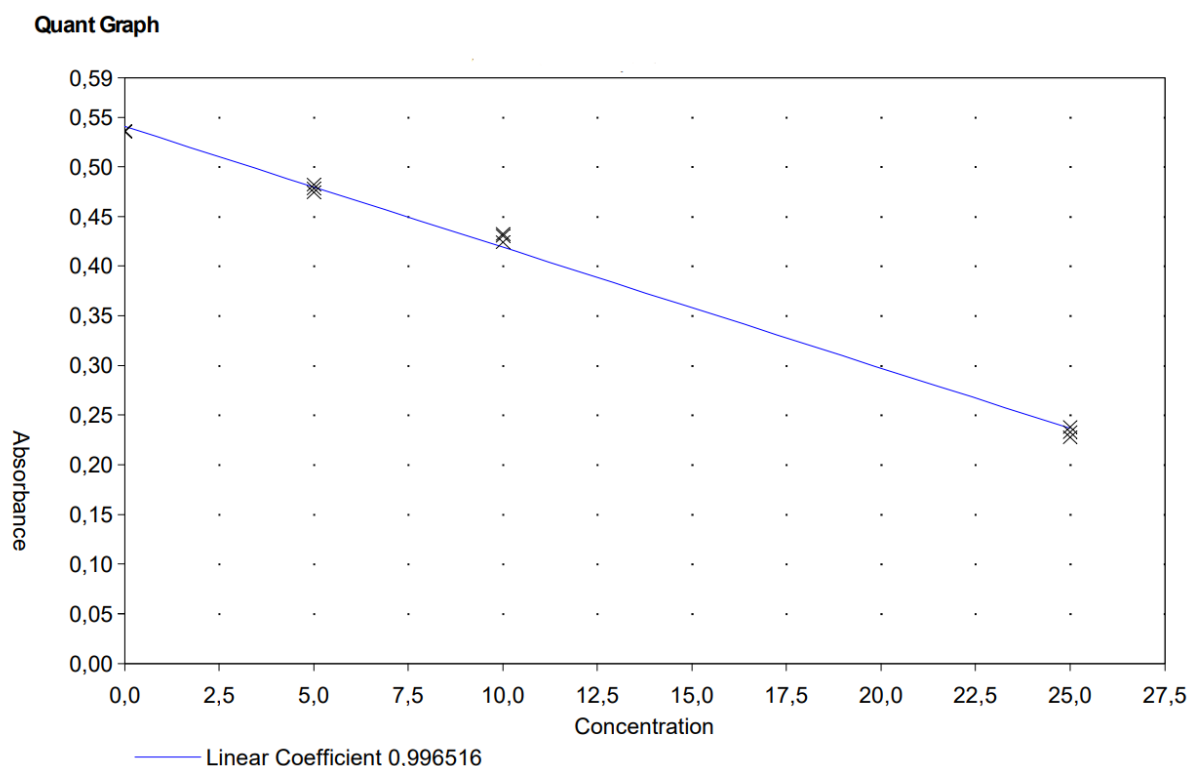
Antioxidační aktivita byla stanovována pomocí metody používající radikál DPPH, jejíž princip byl popsán v kapitole 3.3.3.1.

Před samotným měřením na spektrofotometru bylo nutností připravené methanolicke extrakty 5x naředit.

Nejdříve bylo napipetováno do tří kyvet po 1 ml připraveného pracovního roztoku DPPH. Z naředěného extraktu bylo pipetou odebráno 100 μ l a přeneseno do kyvety s roztokem DPPH. V zápětí se vzorek s DPPH promíchal elektromagnetickou míchačkou a byly spuštěny stopky měřící 1 minutu. Přesně po 10 sekundách od přenesení 100 μ l vzorku do první kyvety se toto samé množství vzorku napipetovalo do druhé kyvety, po dalších 10 sekundách do třetí kyvety a promíchalo stejným způsobem. V tomto momentu docházelo k interakci mezi potenciálními antioxidanty ve vzorku s radikály DPPH. Během měřené 1 minuty byl čas na vložení kyvety se vzorkem do spektrofotometru a poté byl vzorek proměřen při vlnové délce 515 nm. Měření dalších 2 kyvet probíhalo vždy po 10 sekundách za sebou, aby došlo k naměření co nejpřesnějších výsledků.

Toto spektrofotometrické měření bylo provedeno ve všech analyzovaných vzorcích ve třech opakováních (3 kyvety).

Výsledná antioxidační aktivita byla vyhodnocena na základě kalibrační křivky (viz Graf 2) jako ekvivalentní množství askorbové kyseliny (AAE) v mg/g suché hmoty.



Graf 2 - Kalibrační řada

5 Výsledky a statistické zpracování

V praktické části této diplomové práce bylo provedeno stanovení celkového obsahu polyfenolů v listech 25 klonů jakonu, získaných v průběhu několika let z různých oblastí světa. K tomu bylo nejdříve potřeba si jednotlivé klony jakonu vysázet na pokusném poli ČZU, která tyto klony každým rokem uchovává. Následovala sklizeň listů, příprava vzorků a samotná analýza. V tomto stanovení byl každý vzorek jednotlivého klonu připraven dvakrát a výsledné hodnoty byly vyjádřeny jako průměrné hodnoty z těchto dvou opakování v mg gallové kyseliny (GAE) na g sušiny.

Dále byla u vzorků měřena antioxidační aktivita za použití radikálu DPPH. Listy byly získány a připraveny k analýze stejným způsobem jako při stanovení celkového obsahu polyfenolů. K samotnému měření však byla použita pouze jedna řada vzorků. Každý vzorek byl měřen ve 3 opakováních a naměřené hodnoty byly zprůměrovány. Výsledky jsou vyjádřeny v mg ekvivalentu askorbové kyseliny (AAE) na g sušiny.

5.1 Stanovení celkového obsahu polyfenolů v listech jakonu

Všechny vzorky v tomto stanovení vykazovaly přítomnost fenolických sloučenin. Výsledné průměrné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 5. Celkový obsah polyfenolů se v listech pohyboval v poměrně širokém rozmezí, konkrétně od 7,31 mg GAE/g sušiny do 33,09 mg GAE/g sušiny. Z tabulky je také patrné, že nejvyšší obsah polyfenolů se nacházel u klonů PER 13, PER 12, PER 04 a BOL 20. Nejnižší hodnoty byly zaznamenány u ECU 44, PER 01 a PER 02.

Výsledky byly dále zpracovány programem Statistica 12. Byla vybrána jednofaktorová ANOVA s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$. Hypotéza byla stanovena tak, že celkový obsah polyfenolů se v extraktech z listů jakonu liší. Jinak řečeno, mezi jednotlivými listy klonů jakonu a jejich výslednými hodnotami celkových polyfenolů existuje statisticky významný rozdíl. Pro vyhodnocení testu se porovnávala získaná p-hodnota s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$.

Nejdříve došlo k použití F-testu, díky kterému byl potvrzen statisticky významný rozdíl v celkovém obsahu polyfenolů v listech jednotlivých klonů ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$) (viz Tab. 6). Z podrobnějšího vyhodnocení pomocí Tukeyova HSD testu (viz příloha I, Tukeyův test pro hodnocení rozdílů celkových obsahů polyfenolů) bylo také potvrzeno, že klon ECU 44, u kterého bylo nalezeno nejmenší množství celkových polyfenolů, se statisticky významně liší od klonů BOL 20, PER 04, PER 12 a PER 13, které naopak vynikají od všech zkoumaných klonů vysokými obsahy celkových polyfenolů. PER 01 a PER 02 také patří mezi klony s nižšími hodnotami polyfenolů. Skupina klonů PER 11, PER 08, PER 14, ECU 40, ECU 42 a PER 06 se statisticky významně neliší od všech zkoumaných klonů, avšak rozdíly mezi klony jsou patrné.

Tab. 5 – Celkový obsah polyfenolů v listech u jednotlivých klonů jakonu

Platné kódy	Naše kódy	Celkový obsah polyfenolů (mg GAE/g)
PER 01	Lj 1	9,76
PER 02	Lj 2	9,21
PER 03	Lj 3	15,34
PER 04	Lj 4	26,53
PER 05	Lj 5	14,32
PER 06	Lj 6	20,68
PER 07	Lj 7	11,51
PER 08	Lj 8	17,69
PER 09	Lj 9	14,57
PER 10	Lj 10	12,18
PER 11	Lj 11	16,69
PER 12	Lj 12	30,71
PER 13	Lj 13	33,09
PER 14	Lj 14	18,40
PER 15	Lj 15	12,93
BOL 20	Lj 16	25,29
BOL 21	Lj 17	11,96
BOL 22	Lj 18	10,33
BOL 23	Lj 19	16,10
BOL 24	Lj 20	10,75
ECU 40	Lj 21	19,80
ECU 41	Lj 22	13,20
ECU 42	Lj 23	20,31
ECU 43	Lj 24	12,32
ECU 44	Lj 25	7,31

Tab. 6 – F-test pro zjištění rozdílu mezi celkovým obsahem polyfenolů v listech jakonu

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Obsah celkových polyfenolů (mg GAE/g) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	13512,32	1	13512,32	833,2136	0,000000
Klony jakonu	2145,04	24	89,38	5,5113	0,000034
Chyba	405,43	25	16,22		

Dále se stejným způsobem provedlo porovnání celkových obsahů polyfenolů mezi skupinami vytvořených podle místa původu klonů (PER, BOL, ECU, NZL). Závěrem bylo, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi obsahem polyfenolů a místem původu klonů (viz Tab. 7). Tento výsledek mohl vyjít z důvodu vegetativního množení těchto klonů z jedné andské odrůdy a tím pádem nemusí být mezi skupinami v celkovém obsahu polyfenolů tak markantní statistický rozdíl. Průměrná hodnota stanovených polyfenolů u skupiny PER vyšla 17,86 mg GAE/g sušiny, u BOL byla hodnota 14,88 mg GAE/g sušiny, u skupiny ECU 19,80 mg GAE/g sušiny (jeden klon) a u skupiny NZL 13,29 mg GAE/g sušiny.

Tab. 7 – F-test pro rozlišení skupin na základě zjištěného celkového množství polyfenolů

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Obsah polyfenolů Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	5713,604	1	5713,604	103,1133	0,000000
místo původu	185,384	3	61,795	1,1152	0,352666
Chyba	2548,904	46	55,411		

V této diplomové práci byl také zkoumán vliv celkového množství polyfenolů na zbarvení listů (tmavozelené listy s purpurovou pigmentací a zelenožluté listy bez pigmentace) (viz kapitola 3.2.3). Myšlenkou tohoto jevu byl fakt, že polyfenoly i další přírodní látky jsou velmi často charakterizovány určitou barvou, tudíž by u listů s naměřenými vyššími hodnotami polyfenolů mohl být rozdíl v jejich zbarvení či pigmentaci od listů s nižšími naměřenými hodnotami.

Pomocí statistického vyhodnocení (jednofaktorová ANOVA; $\alpha = 0,05$, F-test) však nebyl nalezen rozdíl mezi zelenožlutými a tmavozelenými listy, co se týká obsahu polyfenolů (viz Tab. 8). Tím pádem by obsah polyfenolů neměl mít takový vliv na zbarvení listů. Principem metody Folin-Ciocalteu je reakce OH skupin látek (pravděpodobně fenolických sloučenin) s redoxními činidly za vzniku modrého komplexu. Konkrétně se však neví, zda byly zaznamenány pouze polyfenoly, tedy hlavně fenolické sloučeniny a flavonoidy.

Tab. 8 – F-test pro zjištění vlivu celkového množství polyfenolů na zbarvení listů

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Obsah polyfenolů Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	1,345887E+10	1	1,345887E+10	241,5490	0,000000
Zbarvení listů	6,763834E+07	1	6,763834E+07	1,2139	0,276548
Chyba	2,451637E+09	44	5,571902E+07		

5.2 Stanovení antioxidační aktivity listů jakonu

Rozdíly antioxidační aktivity jednotlivých klonů listů jakonu, i korelace mezi antioxidační aktivitou a celkovým množstvím polyfenolů listů, byly taktéž statisticky vyhodnoceny pomocí programu Statistica 12.

Výsledky z měření antioxidační aktivity pomocí metody DPPH jsou znázorněny v Tab. 9. Celková antioxidační aktivita listů 25 klonů jakonu byla vyjádřena v mg ekvivalentu askorbové kyseliny na 1 g sušiny. Antioxidační aktivita se pohybovala v rozmezí od 12,11 mg AAE/g do 68,36 mg AAE/g sušiny. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazoval vzorek PER 12, vyšší hodnota se vyskytovala i u klonu ECU 40, BOL 23, ECU 43, ECU 42 a PER 04 a to kolem 55 mg AAE/g sušiny. Nejnižší antioxidační aktivita byla naměřena u klonu ECU 44 a PER 02 a to kolem 12 mg AAE/g sušiny.

Tab. 9 – Antioxidační aktivita listů jakonu

Platné kódy	Naše kódy	Antioxidační aktivita (mg AAE/g sušiny)
PER 01	Lj 1	20,31
PER 02	Lj 2	12,73
PER 03	Lj 3	30,60
PER 04	Lj 4	54,47
PER 05	Lj 5	27,00
PER 06	Lj 6	28,63
PER 07	Lj 7	22,46
PER 08	Lj 8	38,49
PER 09	Lj 9	39,80
PER 10	Lj 10	32,59
PER 11	Lj 11	21,02
PER 12	Lj 12	68,36
PER 13	Lj 13	38,25
PER 14	Lj 14	30,06
PER 15	Lj 15	19,70
BOL 20	Lj 16	47,18
BOL 21	Lj 17	22,36
BOL 22	Lj 18	35,01
BOL 23	Lj 19	58,35
BOL 24	Lj 20	41,91
ECU 40	Lj 21	64,58
ECU 41	Lj 22	44,38
ECU 42	Lj 23	55,93
ECU 43	Lj 24	56,78
ECU 44	Lj 25	12,11

V programu Statistica 12 bylo dále zjišťováno, zdali existují rozdíly antioxidačních aktivit mezi jednotlivými připravenými extrakty listů. V Tab. 10 je zobrazen výsledek provedené jednofaktorové ANOVY s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$. Hypotéza byla vyjádřena tak, že existuje statisticky významný rozdíl u antioxidačních aktivit jednotlivých klonů listů jakonu. p - hodnota byla porovnána s hladinou významnosti α ($p = 0,00 < \alpha = 0,05$). Z tohoto vztahu vyplynulo, že existuje statisticky významný rozdíl mezi antioxidačními aktivitami listů. Dle podrobnější analýzy, Tukeyova testu (viz příloha II, Tukeyův test pro hodnocení rozdílů antioxidačních aktivit klonů), skupina s klony PER 12 a ECU 40 (nejvyšší naměřená antioxidační aktivita) a skupina s klony ECU 44 a PER 02 (nejnižší naměřená antioxidační aktivita) se statisticky významně liší od všech ostatních zkoumaných klonů. Výsledné hodnoty jsou homogenně rozptýleny mezi klony.

Tab. 10 – F-test pro zjištění rozdílu mezi antioxidační aktivitou listů různých klonů jakonu

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro mg/g Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	102239,9	1	102239,9	68325,00	0,00
klony jakonu	18594,7	24	774,8	517,77	0,00
Chyba	74,8	50	1,5		

5.3 Závislost mezi antioxidační aktivitou a celkovým množstvím polyfenolů

Závislost mezi antioxidační aktivitou a celkovým množstvím polyfenolů se hodnotila pomocí programu Statistica 12. V tomto programu se vybrala analýza vícenásobné regrese.

Hypotéza byla vyjádřena tak, že existuje závislost mezi celkovým obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou listů klonů jakonu, tedy, že mezi proměnnými existuje statisticky významná závislost. V Tab. 11 najdeme p-hodnotu, která byla porovnána s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$ ($p = 0,0028 < \alpha = 0,05$). V Grafu 3 a 4 je znázorněna závislost mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou. V tomto případě vyšla statisticky významná závislost mezi celkovým množstvím polyfenolů a antioxidační aktivitou. Hodnota korelačního koeficientu je zaznamenána v Tab. 12 jako vícenásobné R. Tato hodnota vyjadřuje sílu závislosti, v tomto případě se korelační koeficient rovná 0,57. Tato hodnota vyjadřuje středně silnou závislost.

Tab. 11 - Regresní analýza

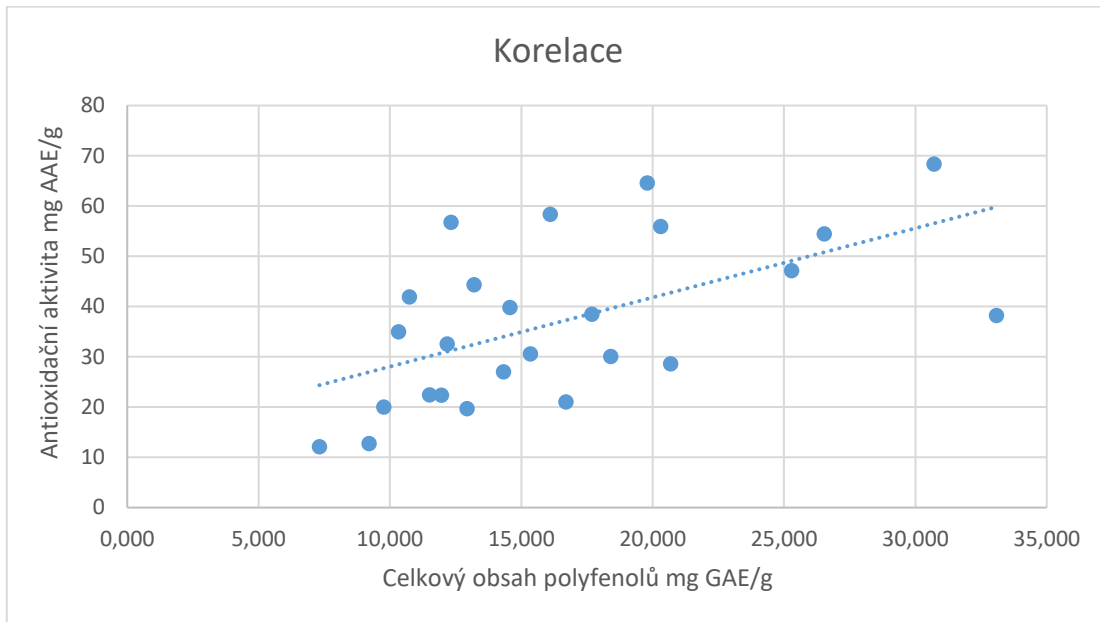
N=25	Výsledky regrese se závislou proměnnou: antioxidační aktivita mg AAE/g R= 0,57224959 R2= 0,32746960 Upravené R2= 0,29822915 F (1,23) = 11,199 p < 0,00280 Směrod. chyba odhadu: 13,472				
	b*	Sm. chyba z b*	b	Sm. chyba z b	t (23)
Abs.člen			14,27916	7,279706	1,961502
Celkové polyfenoly mg GAE/g	0,572250	0,170998	1,37668	0,411377	3,346520

N=25	
	p-hodn.
Abs.člen	0,062036
Celkové polyfenoly mg GAE/g	0,002798

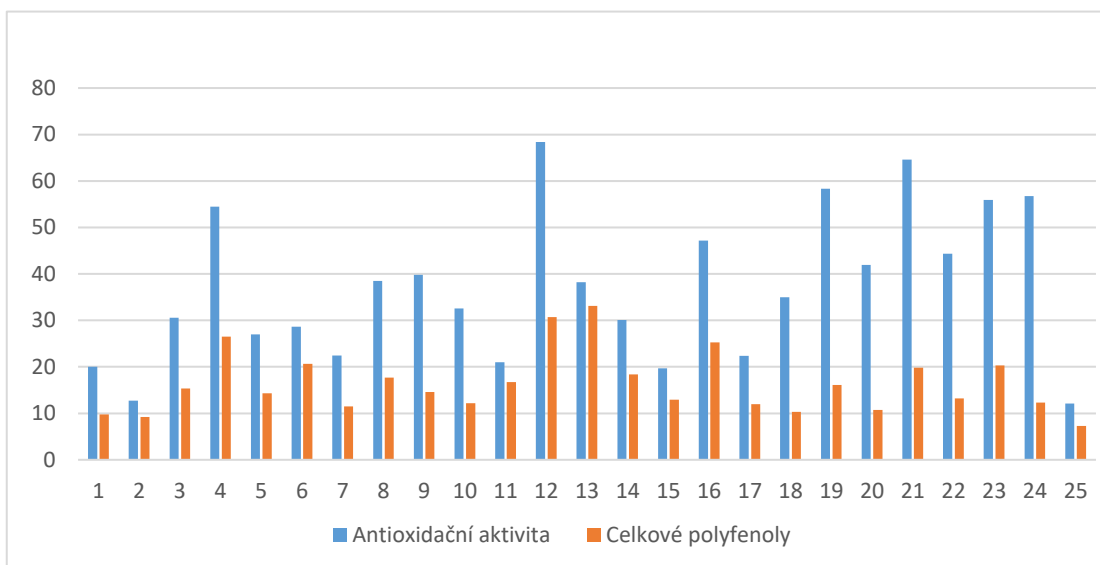
Tab. 12 – Korelační analýza

Statist.	Statistické shrnutí; ZP: antioxidační aktivita mg AAE/g
	Hodnota
Vícenás. R	0,572249594
Vícenás. R2	0,327469598
Upravené R2	0,298229146
F (1,23)	11,1991975
p	0,00279808417
Sm. chyba odhadu	13,4723172

Hodnota koeficientu determinace, vyjadřující, z kolika procent je závisle proměnná ovlivněna nezávisle proměnnou, je v Tab. 12 zaznamenána jako vícenásobné R². Tato hodnota říká, že antioxidační aktivita je z 32,8 % zastoupena množstvím polyfenolů. Můžeme tedy konstatovat, že vyšší antioxidační aktivita listů jakonu je z 32,8 % vysvětlována obsahem polyfenolů. I zde nelze konkrétně určit, jaké látky za antioxidační aktivitou stojí. Bylo by také vhodné použít další metody stanovení antioxidační aktivity těchto listů. Těmito metodami jsou např. metoda FRAP, ORAC, TEAC a bylo by vhodné tyto metody a jejich výsledky mezi sebou porovnat.



Graf 3 – Grafické znázornění závislosti mezi antioxidační aktivitou a množstvím polyfenolů



Graf 4 – Grafické znázornění průměrných hodnot antioxidačních aktivit a polyfenolů

6 Diskuze

Ve studiích de Almeida Paula et al. (2015) a Biazona et al. (2016) bylo potvrzeno, že listy jakonu vykazují vyšší množství antioxidantně působících látek než v hlízách jakonu. V této diplomové práci se zabývalo právě listy jakonu, zjišťovalo se celkové průměrné množství těchto látek u jednotlivých listů klonů, antioxidantní aktivita listů a závislost mezi celkovým množstvím polyfenolů a antioxidantní aktivitou.

Pomocí metody spektrofotometrie byla v listech různých klonů jakonu (PER 01 – PER 15, BOL 20 – BOL 24, ECU 40 – ECU 44) pocházejících z Peru, Bolívie, Ekvádoru a Nového Zélandu nalezena a kvantifikována přítomnost fenolických sloučenin. Byla k tomu využita metoda Folin – Ciocalteu.

Stanovené celkové množství polyfenolů v listech se pohybovalo v rozmezí od 7,31 mg GAE/g sušiny do 33,09 mg GAE/g sušiny. Ve studii de Andrade et al. (2014) se zabývali měřením množství fenolických sloučenin v listech jakonu pomocí Folin – Ciocalteuova činidla, kde jedním z rozpouštědel byl použit methanol. Výsledná průměrná hodnota činila $3,60 \pm 0,40$ mg/g sušiny, což je o dost nižší výsledek, než vyšel v této diplomové práci. Ve studii Lachman et al. (2007) využívali k měření celkového obsahu polyfenolů skupiny klonů ECU, BOL, NZL a DEU, které se také zkoumaly v této práci (kromě DEU). Průměrné hodnoty skupin se pohybovaly od 6,90 mg GAE/g sušiny do 18,14 mg GAE/g sušiny, což odpovídá naměřeným hodnotám v této práci. Podobně naměřené hodnoty polyfenolů v listech jakonu jsou zaznamenány v diplomové práci Zajíčková (2012), která také využila vzorků listů z České zemědělské univerzity, avšak jiných klonů než v této práci.

Rozdíly v obsahu polyfenolů uváděné v předchozích studiích a v této práci by mohly být způsobeny kombinací různých faktorů. Kvalita rostlinného materiálu je důležitým faktorem, který může ovlivnit výtěžnost těžby i množství biologicky aktivních sloučenin. Kvalitu rostlinného materiálu může ovlivnit typ kultivarů, stáří listů, podmínky prostředí při pěstování, podmínky při sklizni i zpracování rostlinného materiálu po sklizni. Dále záleží na použitém extrakčním činidle, poměru rozpouštědla k rostlinnému materiálu, velikosti nadrcených částic rostlinného materiálu a na času a teplotě extrakce. U studií de Andrade et al. (2014), Sugahara et al. (2015) a Cruz et al. (2019) bylo potvrzeno, že na výslednou hodnotu polyfenolů může mít vliv použité extrakční činidlo. V jejich studiích byl zjištěn významný rozdíl mezi extrakcí vodou, methanolem, ethanolem, ethylacetátem či při použití superkritické fluidní extrakce (SFE) (CO_2 :ethanol). V obou případech (voda, SFE) vyšly vyšší hodnoty celkových polyfenolů než v případě použití methanolu jako extrakčního činidla. Ve studiích Ueda et al. (2019a;2019b) bylo potvrzeno, že i teplota extrakčního rozpouštědla má vliv na celkový obsah polyfenolů. Listy, které byly podrobeny tepelnému ošetření, vykazovaly 3,06 až 4,25krát vyšší obsah polyfenolů než listy, které zahřívání nebyly.

Dále byly klony rozděleny do skupin podle místa jejich původu (PER, ECU, BOL, NZL) a v případě porovnání průměrných hodnot polyfenolů těchto skupin nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Důvodem by mohlo být vegetativní rozmnožování jakonu, ale i fakt, že všechny analyzované vzorky vykazovaly obecně nižší genetickou variabilitu (Svobodová et al.

2013). Ve studii Lachman et al. (2007) provádějící stanovení polyfenolů u skupin podle místa původu (BOL, ECU, NZL I, NZL II, DEU) byly potvrzeny statistické rozdíly mezi skupinami. V tomto případě záleží na morfologických znacích rostlinného materiálu, na počtu klonů v jednotlivé skupině a v neposlední řadě na podmínkách pěstování a zpracování.

Zjištěné rozdíly mezi jednotlivými klony v případě obsahu polyfenolů mohou být v budoucnu užitečné pro další šlechtění a pěstování.

Ve studii Ferreira et al. (2019) byla zjištěna lineární korelace mezi celkovým množstvím polyfenolů v listech a jejich zbarvením. Konkrétně bylo potvrzeno, že množství fenolických sloučenin má vliv na odstín zelené barvy listů. V našem případě však tato hypotéza potvrzena nebyla, u vzorků listů lišících se barvou (tmavozelená s pigmentací a zelenožlutá bez pigmentace) nebyl nalezen statistický rozdíl v množství polyfenolů. V tomto případě může záležet na době provedení sklizně během vegetace i na místě odběru listů na rostlině, protože se stárnutím a zvětšováním listů dochází ke zesvětlování odstínů zelené. Závisí také na konkrétním složení polyfenolů, protože ne všechny polyfenoly jsou barevné. Dále může mít vliv zvolený kultivar i podmínky pěstování. Dalším vysvětlením může být to, že stanovení polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla patří mezi nespécifické metody. To znamená, že není známo, jaké látky polyfenoly v listech zastupují (tedy jaké látky byly měřeny). Znalost parametrů zralosti listů by mohla pomoci zvýšit potenciál listů jakou jako zdroje antioxidantně působících látek, proto je potřeba více studií na toto téma.

Pro stanovení antioxidantní aktivity jednotlivých listů (PER 01 – PER 15, BOL 20 – BOL 24, ECU 40 – ECU 44) se v tomto případě vybrala rychlá metoda (reakce 1 min) používající radikál DPPH, jejíž výhodou je rychlost provedení a relativně vysoká citlivost. V tomto případě se sledovaly rychlé antioxidanty reagující s radikálem DPPH jako první. Reakce antioxidantů jsou rozdílné, každý antioxidant působí za určitých podmínek a v různém čase jinak, a i v případě této metody nemohly zregovat všechny antioxidantně působící látky vzhledem ke krátkému časovému úseku reakce. Hodnoty antioxidantní aktivity listů vyšly po zprůměrování v rozmezí od 12,11 mg AAE/g sušiny do 68,36 mg AAE/g sušiny s tím, že mezi jednotlivými vzorky vyšel statisticky významný rozdíl. Jiná studie, zabývající se přesně těmito klony z hlediska antioxidantní aktivity, provedena nebyla.

Ve studii Khajehei et al. (2017) byly naměřeny hodnoty antioxidantní aktivity listů jakou ještě vyšší. Jednalo se o hodnoty od 93,18 až do 121,28 mg AAE/g sušiny listů. V tomto případě mohly být rozdíly způsobené jak typem kultivaru, použitým extrakčním činidlem, tak podmínkami při zpracování vzorků. Russo et al. (2015a) zkoumali antioxidantní aktivitu hned pomocí dvou různých metod ve dvou různých extrakčních činidlech. Jednalo se o metodu používající DPPH a metodu FRAP. V tomto případě výsledky metody DPPH, kde vzorky byly louhovány v horké vodě, odpovídaly výsledkům předchozí studie. Výsledné hodnoty ze vzorku připraveného extrakcí v etanolu však vyšly až 6x nižší. Výsledky získané pomocí metody FRAP odpovídaly výsledkům metody DPPH.

Pro stanovení antioxidantní aktivity u rostlinného materiálu neexistuje jedna univerzální metoda, díky které by bylo možné rostlinný materiál bezproblému porovnávat mezi sebou. Jednotlivé metody se provádí za různých podmínek, s různými chemikáliemi, reakční směsí

reagují s antioxidanty různými mechanismy a výsledky se vyjadřují v odlišných jednotkách. K zajištění objektivnosti výsledků by bylo vhodné aplikovat současně více metod pro sledování antioxidační aktivity a tyto metody porovnávat.

Mezi antioxidační aktivitou a celkovým obsahem polyfenolů listů jakonu byla potvrzena statisticky významná závislost. Konkrétně se jednalo o středně silnou závislost ($r = 0,57$) na pomezí se silnou závislostí. Tato korelace byla potvrzena i ve studii Russo et al. (2015b) a Khajehei et al. (2017), kde Pearsonův korelační koeficient vyjadřoval také středně silnou závislost ($r = 0,58$; $r = 0,55$). Silná závislost pak byla potvrzena ve studiích de Andrade et al. (2014), Russo et al. (2015a) i Ueda et al. (2019a). V tomto případě, i vzhledem k předchozím studiím, může být potvrzena hypotéza, že mezi antioxidační aktivitou a celkovým obsahem polyfenolů existuje závislost, tedy že polyfenoly jsou odpovědné za antioxidační aktivitu listů. Na druhou stranu polyfenoly nejsou jedinou skupinou látek, které za antioxidační aktivitu stojí. V této práci byla podle statistiky antioxidační aktivita z 32,8 % vysvětlována přítomností polyfenolů. Z hlediska dalšího pěstování jakonu pro těžbu listů by bylo vhodné vybrat konkrétně klony PER 04, PER 12, PER 13, BOL 20, BOL 23, ECU 40, ECU 42 a ECU 43.

Listy jakonu se nejčastěji využívají hlavně pro přípravu tradičních léčivých čajů právě díky relativně vysokému obsahu polyfenolů a jejich antioxidační aktivitě. U listů jakonu bylo naměřeno množství polyfenolů od 7,31 mg GAE/g sušiny do 33,09 mg GAE/g sušiny. Pro porovnání celkového množství polyfenolů byly vybrány tradiční byliny jako je šalvěj lékařská ($8,25 \pm 0,09$ mg GAE/g), meduňka lékařská ($13,20 \pm 0,13$ mg GAE/g), pelyněk černobýl ($3,83 \pm 0,43$ mg GAE/g) a řebříček obecný ($9,55 \pm 0,11$ mg GAE/g), ze kterých se také připravují bylinné čaje (Wojdyło et al. 2007). Hodnoty celkových polyfenolů bylin této studie odpovídají naměřeným hodnotám listů jakonu, některé listy jakonu obsahovaly však i vyšší množství těchto látek.

Ve studii Chrpová et al. (2010) byla zjišťována antioxidační aktivita bylin z čeledi hluchavkovité metodou DPPH a celkový obsah polyfenolů metodou Folin-Ciocalteu. Pro příklad byla vybrána antioxidační aktivita meduňky lékařské, která činila 171,50 mg AAE/g a obsah polyfenolů, který byl 85 mg GAE/g. Šalvěj lékařská vykazovala nižší aktivitu okolo 60,60 mg AAE/g a obsah polyfenolů 24,30 mg GAE/g. Antioxidační aktivita máty peprné činila 174,5 mg AAE/g a obsah polyfenolů 63 mg GAE/g. Tři odrůdy zeleného čaje pak vykazovaly antioxidační aktivitu až kolem 200 mg AAE/g s celkovým obsahem polyfenolů kolem 100 mg GAE/g sušiny. Byla také potvrzena silná korelace mezi antioxidační aktivitou a celkovými polyfenoly. V tomto případě naopak listy jakonu zkoumané v této práci vykazovaly nižší hodnoty u obou stanovení.

Porovnávání výsledků antioxidačních aktivit i celkového obsahu polyfenolů publikovaných v mnoha člancích je obtížné, protože naměřená data jsou výrazně ovlivňována zvolenou metodou extrakce i použitou analytickou metodou. V případě listů jakonu zkoumaných v této práci je potřeba provést více analýz, co se týká jejich antioxidační aktivity i celkovému obsahu polyfenolů, hlavně kvůli dalšímu šlechtění a pěstování.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo na základě literární rešerše charakterizovat a porovnat jednotlivé klony jakonu (PER 01 – PER 15, BOL 20 – BOL 24, ECU 40 – ECU 44) pěstované na pokusném poli Fakulty tropického zemědělství České zemědělské univerzity. Dále se v praktické části stanovoval celkový obsah polyfenolů a antioxidační aktivita listů jednotlivých klonů pomocí spektrofotometru. Výsledné hodnoty byly porovnávány mezi jednotlivými klony a mimo jiné se zjišťovala závislost mezi antioxidační aktivitou a celkovým obsahem polyfenolů.

Byly také shrnuty dosavadní zjištěné informace o jakonu a jeho nejvíce využívaných částech. Díky slibnému složení jeho kořenových hlíz a listů je tato plodina považována za funkční potravinu.

- Hypotéza č. 1 a 2: „Různé klony jakonu vykazují odlišné množství antioxidačně působících látek. Antioxidační aktivita extraktů z listů jakonu se liší.“ Tyto hypotézy byly potvrzeny na základě statistického zpracování. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovaly extrakty z listů klonů PER 13 a PER 12, nejnižší klonů ECU 44 a PER 02.
- Hypotéza č. 3 „Obsah celkových polyfenolů se v extraktech z listů jakonu liší“ byla potvrzena. Nejvyšší celkové množství polyfenolů bylo naměřeno u klonu PER 12 a ECU 40, nejnižší hodnoty pak u ECU 44 a PER 02.
- Hypotéza č. 4 „Existuje závislost mezi celkovým množstvím polyfenolů a antioxidační aktivitou“ byla potvrzena. Bylo zjištěno, že za vykazující antioxidační aktivitu odpovídá přítomnost polyfenolů a to z 32,8 %.

Z provedených analýz bylo zjištěno, že jakon obsahuje antioxidačně působící látky v relativně vysokém množství, srovnatelné s tradičními bylinami, které se také využívají pro přípravu léčivých čajů. Jakon je rostlina bohatá na zdraví prospěšné látky a z tohoto důvodu si zaslouží být i nadále předmětem zkoumání.

8 Literatura

- Aybar MJ, Sánchez Riera AN, Grau A, Sánchez SS. 2001. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* **74**:125–132.
- Biazon A et al. 2016. The in Vitro Antioxidant Capacities of Hydroalcoholic Extracts from Roots and Leaves of *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) Do Not Correlate with Their in Vivo Antioxidant Action in Diabetic Rats. *Journal of Biosciences and Medicines* **04**:15–27.
- Bibas Bonet ME, Meson O, de Moreno de LeBlanc A, Dogi CA, Chaves S, Kortsarz A, Grau A, Perdigón G. 2010. Prebiotic effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on intestinal mucosa using a mouse model. *Food and Agricultural Immunology* **21**:175–189. Taylor & Francis.
- Blainski A, Lopes GC, De Mello JCP. 2013. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules* **18**:6852–6865. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Contreras-Puentes N, Alvíz-Amador A. 2020. Hypoglycaemic Property of Yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Hendl.) H. Robinson): A Review. *Pharmacognosy Reviews* **14**:37–44.
- Choque Delgado GT, da Silva Cunha Tamashiro WM, Maróstica Junior MR, Pastore GM. 2013. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): A Functional Food. *Plant Foods for Human Nutrition* **68**:222–228.
- Chrpová D, Kouřimská L, Gordon MH, Heřmanová V, Roubíčková I, Pánek J. 2010. Antioxidant Activity of Selected Phenols and Herbs Used in Diets for Medical Conditions. *Czech J. Food Sci.* **28**:9.
- Cory H, Passarelli S, Szeto J, Tamez M, Mattei J. 2018. The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Frontiers in Nutrition* **5**:87.
- Cruz PN, Fetzer DL, do Amaral W, de Andrade EF, Corazza ML, Masson ML. 2019. Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂ + ethanol solvent. *The Journal of Supercritical Fluids* **146**:55–64.
- Cruz PN, Lima Reis PMC, Ferreira SRS, Masson ML, Corazza ML. 2020. Encapsulation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaf extract by supercritical fluid extraction of emulsions. *The Journal of Supercritical Fluids* **160**:104815.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry* **52**:601–623.

- de Almeida Paula HA, Abranches MV, de Luces Fortes Ferreira CL. 2015. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): A Food with Multiple Functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **55**:32–40. Taylor & Francis.
- de Andrade EF, Leone R de S, Ellendersen LN, Masson ML. 2014. Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products* **62**:499–506.
- de Moura NA, Caetano BFR, Sivieri K, Urbano LH, Cabello C, Rodrigues MAM, Barbisan LF. 2012. Protective effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) intake on experimental colon carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology* **50**:2902–2910.
- Dos Santos KC et al. 2017. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Leaf Extract Attenuates Hyperglycemia and Skeletal Muscle Oxidative Stress and Inflammation in Diabetic Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM* **2017**:6418048.
- Dostert N, Roque J, Cano A, La Torre MI, Weigend M. 2009. Factsheet – Botanical Data: Yacón – *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. Project Perúbiodiverso – PBD 1-15.
- Dröge W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews* **82**:47–95. American Physiological Society.
- Fernández EC, Viehmannová I, Lachman J, Hamouz K, Pulkrábek J, Brunerová L. 2010. *Netradiční plodiny pro diabetiky*. Grada Publishing, Praha.
- Ferraz AP, Garcia J, Costa M, Silva CC, Gregolin C, Rizzi P, Hasimoto F, Ronchi C, Carolo dos Santos K, Correa C. 2020. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) use as an antioxidant in diabetes. Page 379.
- Ferreira BMR, Dagostin JLA, Andrade EF de, Takashina TA, Ellendersen L de SN, Masson ML. 2019. Relationship Between Parameters of Development and Functional Compounds of Yacon Leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **62**. Instituto de Tecnologia do Paraná - Tecpar.
- Genta SB, Cabrera WM, Mercado MI, Grau A, Catalán CA, Sánchez SS. 2010. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions. *Chemico-Biological Interactions* **185**:143–152.
- William Whitson. 2014. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Cultivariable*. Available from <https://www.cultivariable.com/instructions/andean-roots-tubers/how-to-grow-yacon/> (accessed November 24, 2021).

- Habib NC, Honoré SM, Genta SB, Sánchez SS. 2011. Hypolipidemic effect of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots on diabetic rats: biochemical approach. *Chemico-Biological Interactions* **194**:31–39.
- Hermann M, Heller J. 1997. Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon. IPK, Gatersleben/IPGRI, Rome, Italy.
- Hernández-Rodríguez P, Baquero LP, Larrota HR. 2019. Chapter 14 - Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. Pages 265–288 in Campos MRS, editor. *Bioactive Compounds*. Woodhead Publishing.
- Honoré S, Genta S, Sanchez S. 2015. *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) leaves: an emerging source of compounds for diabetes management. *Journal of Research in Biology* **5**:21–42.
- Horová G. 2009. Hodnocení genetického materiálu jakonu pomocí mezinárodních morfologických deskriptorů. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Hudz N, Yezerska O, Shanaida M, Sedláčková VH, Wiczorek PP. 2019. Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of *Salvia sclarea* extracts. *Pharmacia* **66**:209–215. Bulgarian Pharmaceutical Scientific Society.
- Ighodaro OM, Akinloye OA. 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* **54**:287–293.
- Illés L, Novak J, Fernández E. 2019. Jakon – plodina z říše Inkov. Garmond Nitra, Nitra.
- Jamshidi-kia F, Wibowo JP, Elachouri M, Masumi R, Salehifard-Jouneghani A, Abolhasanzadeh Z, Lorigooini Z. 2020. Battle between plants as antioxidants with free radicals in human body. *Journal of Herbmed Pharmacology* **9**:191–199. Shahrekord University of Medical Sciences.
- Jůzl M, Elzner P. 2014. Pěstování okopanin. Mendelova univerzita v Brně, Brno.
- Khajehei F, Merkt N, Claupein W, Graeff-Hoenninger S. 2018. Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) as a Novel Source of Health Promoting Compounds: Antioxidant Activity, Phytochemicals and Sugar Content in Flesh, Peel, and Whole Tubers of Seven Cultivars. *Molecules (Basel, Switzerland)* **23**:E278.
- Khajehei F, Niakousari M, Seidi Damyeh M, Merkt N, Claupein W, Graeff-Hoenninger S. 2017. Impact of Ohmic-Assisted Decoction on Bioactive Components Extracted from Yacon

- (*Smallanthus sonchifolius* Poepp.) Leaves: Comparison with Conventional Decoction. *Molecules* **22**:2043. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Kunwar A, Priyadarsini I. 2011. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J. Med. Allied Sci.* **1**:53–60.
- Lachman J, Fernández E, Dudjak J. 2004. Saccharides of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson) tubers and rhizomes and factors affecting their content. *Plant, Soil and Environment* **50**.
- Lachman J, Fernández E, Orsák M. 2003. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use - A review. *Plant, Soil and Environment* **49**.
- Lachman J, Fernández EC, Viehmannová I, Šulc M, ěepková P. 2007. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **35**:117–123. Taylor & Francis.
- Lebeda A, Ivana D, Valentová K, Gasmanova N, Dziechciarkova M, Ulrichova J. 2008. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) - A traditional crop of Andean Indians as a challenge for the future - The news about biological variation and chemical substances content. *Acta Horticulturae* **765**:127–136.
- Lin D et al. 2016. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules* **21**:1374. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews* **4**:118–126.
- Lock O, Perez E, Villar M, Flores D, Rojas R. 2016. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. *Natural Product Communications* **11**:315-337.
- Nagalievska M, Sabadashka M, Sybirna N. 2020. Red Wine and Yacon as a Source of Bioactive Compounds with Antidiabetic and Antioxidant Potential. *Alternative Medicine-Update*. IntechOpen.
- Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S. 2011. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology* **22**:40–46.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. *Flavonoids: an overview*. *Journal of Nutritional Science* **5**. Cambridge University Press.

- Pandey KB, Rizvi SI. 2009. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2**:270–278. Hindawi.
- Peirce P. 2021. Crisp yacon tastes like jicama and you can grow it right now in the Bay Area. Available from <https://www.sfchronicle.com/food/article/Crisp-yacon-tastes-like-jicama-and-you-can-grow-15874401.php> (accessed November 27, 2021).
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science* **4**:89-96.
- Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2017**:e8416763. Hindawi.
- Ruben. 2016. Yacón (*Smallanthus sonchifolius*): Descripción y cultivo. Flor de Planta. Available from <https://www.flordeplanta.com.ar/huerta/yacon-smallanthus-sonchifolius-descripcion-y-cultivo/> (accessed November 27, 2021).
- Russo D, Malafronte N, Frescura D, Imbrenda G, Faraone I, Milella L, Fernandez E, De Tommasi N. 2015a. Antioxidant activities and quali-quantitative analysis of different *Smallanthus sonchifolius* [(Poepp. and Endl.) H. Robinson] landrace extracts. *Natural Product Research* **29**:1673–1677. Taylor & Francis.
- Russo D, Valentão P, Andrade PB, Fernandez EC, Milella L. 2015b. Evaluation of Antioxidant, Antidiabetic and Anticholinesterase Activities of *Smallanthus sonchifolius* Landraces and Correlation with Their Phytochemical Profiles. *International Journal of Molecular Sciences* **16**:17696–17718. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Santos-Sánchez NF, Salas-Coronado R, Villanueva-Cañongo C, Hernández-Carlos B. 2019. Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. *Antioxidants*. IntechOpen.
- Saxena M, Saxena DJ, Pradhan DA. 2012. Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **16**:130-134.
- Shahidi F, Zhong Y. 2010. Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology* **112**:930–940.
- Simonovska B, Vovk I, Andresek S, Valentová K, Ulrichová J. 2003. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *Journal of Chromatography. A* **1016**:89–98.

- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós R. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.
- Stratil P, Kubáň V. 2018. Reaktivní kyslíkové radikály, přírodní antioxidanty a jejich zdravotní účinky. 2 THETA. Český Těšín.
- Sugahara S et al. 2015. Antioxidant Effects of Herbal Tea Leaves from Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on Multiple Free Radical and Reducing Power Assays, Especially on Different Superoxide Anion Radical Generation Systems. *Journal of Food Science* **80**:C2420–C2429.
- Svobodová E, Dvořáková Z, Čepková PH, Viehmannová I, Havlíčková L, Cusimamani EF, Russo D, Meza Zela G. 2013. Genetic diversity of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) and its wild relatives as revealed by ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology* **50**:383–389.
- Štípek S et al. 2000. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci. Grada Publishing, Praha.
- Ueda Y, Apiphuwasukcharoen N, Tsutsumi S, Matsuda Y, Areekul V, Yasuda S. 2019a. Optimization of Hot-water Extraction of Dried Yacon Herbal Tea Leaves: Enhanced Antioxidant Activities and Total Phenolic Content by Response Surface Methodology. *Food Science and Technology Research* **25**:131–139. Japanese Society for Food Science and Technology.
- Ueda Y, Matsuda Y, Murata T, Hoshi Y, Kabata K, Ono M, Kinoshita H, Igoshi K, Yasuda S. 2019b. Increased phenolic content and antioxidant capacity of the heated leaves of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **83**:2288–2297.
- Valentova K, Frcek J, Ulrichova J. 2001. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and Maca (*Lepidium meyenii*), Traditional Andean Crops as New Functional Foods on the European Market. *Chemické listy* **95**.
- Valentová K, Lebeda A, Doležalová I, Jirovský D, Simonovska B, Vovk I, Kosina P, Gasmanová N, Dziechciarková M, Ulrichová J. 2006. The Biological and Chemical Variability of Yacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:1347–1352. American Chemical Society.
- Valentová K, Ulrichová J. 2003. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* - prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomedical Papers* **147**:119–130.
- Wagner M, Kamp L, Graeff-Hönninger S, Lewandowski I. 2019. Environmental and Economic Performance of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Cultivated for Fructooligosaccharide Production. *Sustainability* **11**:4581. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Wojdyło A, Oszmiański J, Czemerys R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* **105**:940–949.

Yan MR, Welch R, Rush EC, Xiang X, Wang X. 2019. A Sustainable Wholesome Foodstuff; Health Effects and Potential Dietotherapy Applications of Yacon. *Nutrients* **11**:2632. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Zajíčková K. 2012. Antioxidační a antimikrobiální účinky listů jakonu. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Zlín.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

AAE	Askorbová kyselina
ANOVA	Analýza rozptylu (Analysis of variance)
CIP	Mezinárodní bramborářské centrum
ČZU	Česká zemědělská univerzita
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EC50	Účinná koncentrace
ES	Evropská společenství
F-C činidlo	Foli-Ciocalteuovo činidlo
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
FOS	Fruktooligosacharidy
FOSHU	Potraviny určené ke specifickému zdravotnímu použití (Foods for Specified Health Uses)
FRAP	Ferric Reducting Antioxidant Power
GAE	Gallová kyselina
GRAS	Všeobecně považovaný za bezpečný (Generally Recognized as Safe)
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PRTA-UNC	Výzkumný projekt andských okopanin na Národní univerzitě v Cajamarce
RNS	Reaktivní formy dusíku
ROS	Reaktivní formy kyslíku
RHS Colour Chart	Royal Horticultural Society Colour Charts
SFE	Superkritická fluidní extrakce (Solid Phase Extraction)
TAEC	Trolox equivalent antioxidant capacity
UNSACC	Národní univerzita San Antonio Abad del Cuzco
USA	Spojené státy americké (United States of America)

10 Samostatné přílohy

Příloha I - Tukeyův test pro hodnocení rozdílů mezi celkovými obsahy polyfenolů

Klony jakonu	Obsah celkových polyfenolů (mg GAE/g) - průměr	Rozdíly
ECU 44	7,31	a
PER 02	9,21	a b
PER 01	9,76	a b
BOL 22	10,33	a b c
BOL 24	10,75	a b c
PER 07	11,51	a b c
BOL 21	11,96	a b c
PER 10	12,18	a b c
ECU 43	12,32	a b c
PER 15	12,93	a b c
ECU 41	13,20	a b c
PER 05	14,32	a b c d
PER 09	14,57	a b c d
PER 03	15,34	a b c d
BOL 23	16,10	a b c d
PER 11	16,69	a b c d e
PER 08	17,69	a b c d e
PER 14	18,40	a b c d e
ECU 40	19,80	a b c d e
ECU 42	20,31	a b c d e
PER 06	20,68	a b c d e
BOL 20	25,29	b c d e
PER 04	26,53	c d e
PER 12	30,71	d e
PER 13	33,09	e

Vysvětlivky k tabulce: Různá písmena ve sloupci „Rozdíly“ znázorňují statisticky významné rozdíly mezi obsahy celkových polyfenolů (při $p < 0,05$). Klony, které jsou označeny stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší.

Příloha II – Tukeyův test pro hodnocení rozdílů antioxidačních aktivit listů

Klony jakonu	Antioxidační aktivita (mg/g) - průměrné hodnoty	Rozdíly
ECU 44	12,11	a
PER 02	12,73	a
PER 15	19,70	b
PER 01	20,31	b
PER 11	21,02	b
BOL 21	22,36	b
PER 07	22,46	b
PER 05	27,00	c
PER 06	28,63	c
PER 14	30,06	c d
PER 03	30,60	c d
PER 10	32,59	d e
BOL 22	35,01	e f
PER 13	38,25	f g
PER 08	38,49	f g
PER 09	39,80	g
BOL 24	41,91	g h
ECU 41	44,38	h i
BOL 20	47,18	i
PER 04	54,47	j
ECU 42	55,93	j k
ECU 43	56,78	j k
BOL 23	58,35	k
ECU 40	64,58	l
PER 12	68,36	l

Vysvětlivky k tabulce: Různá písmena ve sloupci „Rozdíly“ znázorňují statisticky významné rozdíly mezi naměřenou antioxidační aktivitou listů jednotlivých klonů (při $p < 0,05$). Klony, které jsou označeny stejnými písmeny se od sebe statiscky významně neliší.