

Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů**

Katedra genetiky a šlechtění



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

Antioxidanty u brambor

Bakalářská práce

Lucie Babováková

Výživa a potraviny

Ing. Vladimíra Sedláková, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Antioxidanty u brambor" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10.04.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé práce Ing. Vladimíře Sedlákové, Ph.D. za vstřícný přístup a za poskytnutí užitečných rad a připomínek během zpracování této práce.

Antioxidanty u brambor

Souhrn

Jak už samotný název práce napovídá, tato literární rešerše se věnuje bramborám, a to především přítomnosti antioxidantů v jejich složení. První část práce se zaměřuje na brambory jako takové, přičemž je zde kladen důraz na složení hlíz s ohledem na lidské zdraví. Následuje část práce, která je věnována volným radikálům (VR). Tato kapitola je důležitá k pochopení významu antioxidantů. Dále je v této části specifikován pojem volný radikál, je zde popsán vznik volných radikálů v organismu a také je zde pozornost věnována nejvýznamnějším VR, které se vyskytují v lidském organismu, a mají tak největší dopad na zdraví jedince. Na konci této části je zmíněn i pojem oxidační stres, tedy narušení rovnováhy mezi množstvím volných radikálů a antioxidační ochranou, které může vést k narušení funkce různých tkání. Poslední a největší část práce je věnována antioxidantům v hlízách brambor, přičemž důraz je kladen především na biochemickou, a tím pádem, genetickou podstatu vzniku těchto látek. Konkrétně je v této práci pozornost věnována vzniku antokyanů, na kterém se podílí celá řada genů a transkripčních faktorů, jako například gen *DFR* a *F3'5'H* a transkripční faktory *StAN2* *StAN11* a *MYB47415*. Dále pak vzniku karotenoidů, kde podle doposud provedených studií, mají největší význam geny *CHY2* a *ZEP*. V neposlední řadě je rozebrán vznik vitamínu C se zaměřením na gen *GLDH*, u něhož mnoho studií nedošlo k jasnému závěru, zda je nezbytný pro syntézu askorbátu v hlízách brambor či nikoliv. Poslední část této kapitoly, a tudíž i celé práce, je věnována ostatním fenolovým sloučeninám, a to především kyselině chlorogenové, která tvoří až 90 % všech fenolových sloučenin v hlízách.

Klíčová slova: *Solanum tuberosum*; antioxidanty; metabolismus; DNA; RNA

Antioxidants in potatoes

Summary

This literature review focuses on potatoes, especially on the presence of antioxidants. The first part of the thesis deals with potatoes as such, with emphasis on their composition with respect to human health. The following part of the work is devoted to Free Radicals (FR). This part is important to understand the importance of antioxidants. Moreover, this section specifies the term free radical, describes the formation of free radicals in the body and also pays attention to the most important FR, which occur in the human body and thus have the greatest impact on the health of the individual. At the end of this section, the term oxidative stress is mentioned, meaning the imbalance between the amount of free radicals and antioxidant protection, which can lead to impaired function of various tissues. The last and largest part of the thesis is devoted to antioxidants in potato tubers, with emphasis on the biochemical, and therefore, genetic nature of the formation of these substances. Specifically, this thesis pays attention to the formation of anthocyanins, in which a number of genes and transcription factors are involved, such as the *DFR* and *F3'5'H* genes and the transcription factors *StAN2*, *StAN11* and *MYB47415*. Furthermore, the formation of carotenoids, where, according to conducted studies, the *CHY2* and *ZEP* genes are of the greatest importance. Last but not least, the development of vitamin C with a focus on the *GLDH* gene is discussed, for which many studies have not clearly concluded whether it is necessary for the synthesis of ascorbate in potato tubers or not. The last part of this chapter, as well as the whole thesis, is devoted to other phenolic compounds, especially chlorogenic acid, which makes up 90 % of all phenolic compounds in tubers.

Keywords: *Solanum tuberosum*; antioxidants; metabolism; DNA; RNA

Obsah

1	ÚVOD	7
2	CÍL PRÁCE	8
3	LITERÁRNÍ REŠERŠE	9
3.1	BRAMBORY	9
3.1.1	<i>Složení brambor a lidské zdraví</i>	10
3.1.2	<i>Sacharidy</i>	11
3.1.3	<i>Bílkoviny</i>	12
3.1.4	<i>Tuky</i>	13
3.1.5	<i>Minerální látky a vitaminy</i>	13
3.1.6	<i>Rizikové látky</i>	14
3.2	VOLNÉ RADIKÁLY	16
3.2.1	<i>Vznik volných radikálů</i>	17
3.2.2	<i>Nejvýznamnější volné radikály</i>	18
3.2.3	<i>Významné neradikály</i>	20
3.2.4	<i>Oxidační stres</i>	22
3.3	ANTIOXIDANTY U BRAMBOR.....	23
3.3.1	<i>Antokyany</i>	23
3.3.2	<i>Karotenoidy</i>	28
3.3.3	<i>Vitamin C</i>	33
3.3.4	<i>Další fenolické sloučeniny</i>	37
4	ZÁVĚR	42
5	LITERATURA	43
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	52

1 Úvod

Čeďed' lilkovitě, je velmi obsáhlá čeďed' rostlin, kam se mimo jiné řadí i několik zeměďed'sky významných plodin, jako je lilek rajče, lilek vejcoplodý a lilek brambor, kterému je věnována tato práce.

Solanum tuberosum L., neboli brambor obecný či lilek brambor, je čtvrtá nejpěstovanější plodina na světě, která má původ v horském pásmu And. Do Evropy se brambory dostaly díky Španělům v 60. letech 16. století, přičemž do Čech se dostaly pravděpodobně zásluhou Františkánů v roce 1632. Co se týče současnosti, tak dnes na světě existuje kolem 5000 odrůďed' brambor a roční spotřeba v České republice se pohybuje mezi 65-70 kg na osobu a rok.

Brambory patří v řadě zemí k základním potravinám a tím pádem jejich role v lidské výživě není zanedbatelná. Hlíza bramboru obsahuje přibližně 80 % vody a 20 % sušiny, jejíž hlavní složkou jsou sacharidy, dále sušina obsahuje dusíkaté látky, vitamíny, minerály, antioxidanty a minimální množství tuku. Brambory mohou stejně jako jiné rostliny, také obsahovat antinutriční látky, které mohou mít negativní vliv na zdraví konzumentů. Přirozeně se v hlízách nacházejí glykoalkaloidy a kalysteginy, zatímco ostatní antinutriční látky jsou cizorodé (například těžké kovy, rezidua pesticidů...) anebo v hlízách vznikají tepelnou úpravou jako například akrylamid.

Antioxidanty jsou molekuly, které jsou schopné stabilizovat nebo deaktivovat volné radikály předtím, než napadnou buňky a tím chrání organismus před oxidačním stresem, který je považován za jednu z hlavních příčin vzniku několika onemocnění jako například: Alzheimerova choroba, Parkinsonova nemoc, ischemická choroba srdeční, ateroskleróza, astma, obezita, diabetes mellitus, rakovina plic, šedý zákal.

Bramborové hlízy jsou, vzhledem ke konzumovanému množství, jedním z nejbohatších zdrojů antioxidantů v lidské výživě. Z antioxidantů jsou hlízy bramboru obecného nejbohatší na polyfenoly ($1226-4405 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), L-askorbovou kyselinu ($170-990 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a karotenoidy (až $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Modře a červeně zbarvené odrůďed' brambor, které jsou na našem trhu spíše raritou dosahují, díky velkému množství antokyanů, vyšší antioxidační aktivity. Na biosyntéze antokyanů v hlízách se podílí celá řada genů, z nichž doposud nejvíce prozkoumané jsou geny *DFR* a *F3'5'H*. Je také známo, že existují tři třídy transkripčních regulátorů, které jsou zapojeny do biosyntézy antokyanů. Jedná se o proteiny *R2R3-MYB*, basic helix-loop-helix (*bHLH*) a WF40-repeat (*WDR*). Na vzniku karotenoidů v hlízách brambor se nejvíce podílí gen pro β -karoten hydroxylázu 2 (*CHY2*), který je důležitý zejména pro vznik žlutých pigmentů a gen pro zeaxantin epoxidázu (*ZEP*), který je zodpovědný za oranžovou barvu dužiny hlíz. Co se týče genetické podstaty vzniku vitamínu C v hlízách brambor, tak dosud bylo provedeno několik studií zaměřených na gen *GLDH*, avšak většina z nich nedošla k jasnému závěru, zda je tento gen pro syntézu askorbátu nezbytný či nikoliv. Každopádně je důležité vzít v potaz, že množství vitamínu C v rostlinách, není dáno pouze vlastní syntézou, ale také vnějším stresem, který může zvýšit množství ROS, což následně ovlivňuje míru využití a recyklace kyseliny askorbové.

2 Cíl práce

Cílem práce je shromáždit, prostudovat a posoudit současné literárně prezentované poznatky o antioxidantech obsažených v hlízách bramboru (*Solanum tuberosum* L.) a jejich metabolismu. Jedním z dílčích cílů práce je zaměřit se zejména na aktuální trendy výzkumu této problematiky s využitím moderních molekulárních metod analýzy nukleových kyselin.

3 Literární rešerše

3.1 Brambory

Brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.) nebo také lilek brambor či brambor obecný (Slavík et al. 2000), je zlepšující plodina v osevních postupech, základní potravina, důležitá surovina pro potravinářský a škrobárenský průmysl, ale i nevšední květina našich polí (Vokál et al. 2013). Brambor hlíznatý, dále jen brambor, je čtvrtou nejvýznamnější plodinou na světě hned po pšenici, rýži a kukuřici (Zaheer & Akhtar 2016).

Brambor patří do větve asteridů vyšších dvouděložných rostlin, čeledi lilkovité (*Solanaceae*) kam jsou zařazeny i další hospodářsky významné plodiny jako rajče, lilek, paprika a tabák. Brambor je mezi těmito rostlinami vyjimečný tvorbou hlíz, které vznikají tloušťnutím podzemních stonků (stolonů) (Vokál et al. 2013).

Původ má brambor v horském pásmu And v Jižní Americe. Na celém světě existuje asi 5000 odrůd brambor. Tři tisíce z nich se nachází pouze v pohoří And – zejména v Peru, Bolívii, Ekvádoru, Kolumbii a Chile (Hijmans & Spooner 2001). Rozlišujeme dva hlavní poddruhy brambor, a to *Solanum tuberosum subspecies andigena*, typický pro tropické pásmo And a *Solanum tuberosum subspecies tuberosum*, který se hojně vyskytuje v centrálním Chile. Rozdíly mezi jednotlivými druhy mohou být veliké, jak v barvě, velikosti hlíz, chuti, tak třeba také v obsahu škrobu, což je velmi důležitý ukazatel kvality u brambor určených pro škrobárenský průmysl (Zaheer & Akhtar 2016). Do Evropy přivezli brambory jako první Španělé z Peru pravděpodobně v 60. letech 16. století. O něco později – nejspíš v 80. letech 16. století se brambory zásluhou anglických mořeplavců dostaly i na britské ostrovy, v tomto případě se jednalo o poddruh dovezený z Chile (Vokál et al. 2013). Po jejich dovezení do Evropy trvalo přes 200 let, než se začaly rozšiřovat jako lidská potrava. Ze začátku byly považovány spíše za okrasnou rostlinu případně za krmivo pro hospodářská zvířata. K jejich rozšíření přispěly války, hlad a neúroda obilí. Větší pozornost se začala bramborám věnovat až v druhé polovině 18. století, kdy sloužily jako potrava, kterou se daly levně nakrmit vojáci (Čepl et al. 2012).

Do Čech se brambory dostaly pravděpodobně zásluhou řádu františkánů, díky kterým se objevily roku 1632 na stole Viléma Slatavy z Chlumu, pána z Jindřichova Hradce. Z téhož století pochází i první hospodářské instrukce k zahradnímu pěstování brambor, z nichž vyplývá, že brambory byly původně považovány za choulostivou rostlinu (Vokál et al. 2013).

Dle ČSÚ (2020) současná výměra brambor činí 23 877 ha. Významný dlouhodobý pokles výměry brambor, který byl spojen s poklesem jejich produkce, souvisí do značné míry se změnou využití. V důsledku změny technologie krmení hospodářských zvířat, prasat a drůbeže, se postupně přestaly pěstovat krmné brambory, které byly nahrazeny kukuřicí a sójou. Tento trend je patrný v celé vyspělé Evropě. Díky zlepšení agrotechnologických postupů došlo ke zvyšování hektarových výnosů, což také vedlo ke snižování výměry. Dalším důvodem menší výměry je snížená spotřeba konzumních brambor, díky změně stravovacích návyků českých spotřebitelů. Ještě v 50. letech se v dnešní ČR průměrná roční spotřeba

pohybovala kolem 130 kg na osobu (ČSÚ 2014). V současnosti spotřeba brambor kolísá v rozmezí 65-70 kg na osobu za rok, přičemž roční spotřeba za rok 2019 byla 69,5 kg brambor na jednoho obyvatele ČR (Žižka 2020).

Pro lepší orientaci kupujících bylo zavedeno značení konzumních hlíz podle varných typů – salátové, přílohové a pro výrobu kaší a knedlíků (Čepl et al. 2012). Salátové odrůdy neboli varný typ A, AB, mají pevnou, nerozvářivou a lojovitou dužinu a jsou vhodné zejména pro přípravu salátu a jako příloha. Přílohové odrůdy, varný typ B, BC, se středně pevnou a slabě až středně moučnatou dužinou, jsou vhodné zejména jako příloha a také pro přípravu těst. Poslední skupinou jsou brambory varného typu C, které se vyznačují kyprou silně moučnatou dužinou a hodí se zejména pro výrobu kaší, knedlíků a těst (Vokál et al. 2013).

3.1.1 Složení brambor a lidské zdraví

Ve výživě člověka plní brambory tři funkce, a to objemovou, sytící a ochranou. Objemovou tím, že zajišťují dostatečný objem stravy pro zátěž trávicího ústrojí, sytící vhodným obsahem energetických složek a ochranou obsahem vitamínů, minerálních látek a jiných bioaktivních pozitivně působících látek (Vokál et al. 2013). Brambor je na celém světě přijímán jako základní potravina, přesto mnoho spotřebitelů neví o jeho kladném dopadu na zdraví a část z nich věří že, brambory mají vysoký obsah kalorií a tuků ve srovnání s jinými zdroji sacharidů, jako je rýže nebo těstoviny; tento předpoklad je ovšem nesprávný, protože brambory obsahují minimální množství tuku a množství energie je srovnatelné s luštěninami (Priestley 2006).

Hlízy jsou jediným využitelným orgánem bramborového trsu. Proto je jejich kvalita – jak vnitřní, tak vnější, rozhodujícím faktorem pro všechny užitkové směry (Vokál et al. 2003). Hlíza bramboru obsahuje přibližně 80 % vody a 20 % sušiny, jejíž hlavní složkou jsou sacharidy (11-18 %), dále sušina obsahuje dusíkaté látky, vitamíny, minerály a minimální množství tuku (0,1 %) (Čepl et al. 2012). Obsah sušiny v hlízách je závislý zejména na odrůdě, fázi vývoje hlízy, průběhu povětrnostních podmínek při pěstování a pěstitelské technologii. Výše obsahu sušiny ovlivňuje kvalitu produktu a rentabilitu zpracování. Z hlediska kvality potravinářských výrobků ovlivňuje obsah sušiny především texturu výrobku (Vokál et al. 2013). Základní chemické složení hlíz bramboru je uvedeno v následující tabulce (Tab. 1).

Tabulka 1: Základní chemické složení hlíz bramboru (Bárta et al. 2008; Bradshaw & Ramsay 2009)

Složení (látka)	Vyjádření v čerstvé hmotě (%)	Vyjádření v sušině (%)
Voda	68-83	-
Sušina	17-32	100
Škrob	11-26	60-80
Celkový cukr (glukóza, fruktóza, sacharóza)	0,5	2,1
Vláknina	1-2	4-10
Dusíkaté látky (N x 6,25)	1-3	6-15
Bílkoviny (koagulovatelné)	0,5-2	3-8
Volné aminokyseliny (Asn, Gln, Pro)	0,1-1	0,5-4
Lipidy (tuk)	0,1	0,4
Popeloviny	1,1	4,6

3.1.2 Sacharidy

Podstatnou část sušiny bramborových hlíz tvoří škrob. Jeho obsah v čerstvé hmotě u brambor určených pro konzumní účely je 11-18 %. Škrob je polysacharid, který v rostlinném těle slouží jako hlavní zásobní látka. V buňkách hlíz brambor je uložen v podobě micel, zvaných škrobová zrna (Čepl et al. 2009). Bramborový škrob se skládá ze dvou polymerních podjednotek – amylosy a amylopektinu v poměru přibližně 1:3 (Camire et al. 2009). Obě složky jsou tvořeny monosacharidem D-glukózou, přičemž jejich vzájemná odlišnost a velikost je dána uspořádáním řetězce D-glukózy (Čepl et al. 2009). Malou část bramborového škrobu tvoří rezistentní škrob, který je odolný vůči enzymatickým procesům v tenkém střevě a dostává se téměř v neporušené podobě do tlustého střeva. V tlustém střevě je tento škrob fermentován střevní mikroflórou za vzniku mastných kyselin s krátkým řetězcem, u nichž bylo prokázáno, že snižují hladinu pH v tlustém střevě a tím vytváří příznivější prostředí pro růst prospěšné mikrobioty (Higgins 2004). Zvýšená konzumace rezistentního škrobu může sloužit také jako prevence rakoviny tlustého střeva a zánětlivých onemocnění střev (Birt et al. 2013).

Dalšími polysacharidy, které se vyskytují v bramborových hlízách jsou celulóza, hemicelulóza, pentozany a pektin, tyto polysacharidy vytváří buněčné stěny a mezibuněčné složky. Dohromady tyto sacharidy označujeme jako vlákninu potravy (Čepl et al. 2009). Kromě polysacharidů nalezneme v hlízách i jednodušší cukry – sacharózu, což je nejvíce zastoupený disacharid a glukózu s fruktózou, které patří mezi hlavní monosacharidy (Camire et al. 2009).

3.1.3 Bílkoviny

Obsah bílkovin v hlízách bramboru je nízký, tvoří kolem 2 % čerstvé hmoty hlíz (Buckenhüskes 2005). Ve srovnání s ostatními hlavními plodinami mají brambory nejnižší koncentraci bílkovin, kdy 100 g brambor pečených ve slupce poskytuje organismu 2,1 g bílkovin. Pro srovnání 100 g kukuřičné mouky má obsah 8,7 g bílkovin, 100 g pšeničných těstovin obsahuje průměrně 5,8 g bílkovin a stejné množství rýže pak 2,4 g. Kvalita bramborového proteinu, která odráží jeho stravitelnost a zastoupení jednotlivých aminokyselin, je však velmi dobrá (King & Slavin 2013). Brambory jsou zejména ceněny pro vysoké zastoupení aminokyseliny lyzinu, což je u rostlinných bílkovin velmi ojedinělé. Za limitující aminokyseliny (tedy takové esenciální aminokyseliny, které se v potravíně nachází v nejnižším množství vzhledem k potřebě lidského organismu, jedná se o AMK, které tedy určují výživovou hodnotu dané potraviny) jsou u brambor označovány methionin, cystein a v některých případech také izoleucin (Čepl et al. 2009). Biologická hodnota, což je množství dusíku v gramech, které lze v těle obnovit nebo vytvořit ze 100 g dusíku získaného z potravy, je u brambor vysoká. Jako standard pro porovnání hodnot se používá celé slepičí vejce s biologickou hodnotou rovnou 100 (Vreugdenhil & Bradshaw 2007). Porovnání biologické hodnoty brambor a jiných potravinových zdrojů je uvedeno v tabulce 2. V převážné míře jsou bílkoviny v hlízách bramboru vodorozpustné a dělí se na rodinu patatinových bílkovin, skupinu inhibitorů proteáz a ostatní bílkoviny (Vokál et al. 2013).

Tabulka 2: biologická hodnota různých zdrojů bílkovin (Haverkort & Struik 2005; Kasper 2004)

Zdroj	Biologická hodnota
Celé vejce a brambory (35 %/ 65 %)	137
Celé vejce a mléko (71 %/ 29 %)	122
Celé slepičí vejce	100
Brambory	90-100
Kravné mléko	84-88
Hovězí maso	83-92
Sýr eidam	85
Sójové boby	84
Rýže	83
Ryba	83
Kukuřice	72-76
Fazole	73
Žitná mouka	76-83
Pšeničná mouka	59

3.1.4 Tuky

Tuky jsou obsaženy v bramborách ve velmi nízké koncentraci, přibližně 0,1 % čerstvé hmoty, největší část z nich se nachází ve slupce (Čepl et al. 2009). Takového množství tuku je příliš nízké na to, aby mělo z hlediska nutriční hodnoty nějaký větší význam, nicméně přispívá k chutnosti brambor, zvyšuje odolnost vůči otlakům a pomáhá snižovat enzymatické ztmavnutí hlíz (Woolfe & Poats 1987). Největší část mastných kyselin (90 %) v bramborách tvoří kyselina palmitová, linolová a linolenová (Galliard 1973).

3.1.5 Minerální látky a vitaminy

Kromě energie, kvalitních bílkovin a vlákniny poskytují brambory organismu také značné množství několika druhů minerálů a vitaminů (King & Slavin 2013).

Minerální látky mají velký význam a jsou v hlízách zastoupeny v průměru kolem 1,1 % čerstvé hmoty (Vokál et al. 2013). Obsah minerálních látek se může u jednotlivých kultivarů velmi lišit, v závislosti na genetice a prostředí, ve kterém byly brambory pěstovány (White et al. 2009). Podobně jako ostatní látky jsou i látky minerální rozloženy v hlíze nerovnoměrně. Některé minerální látky jsou esenciálními katalyzátory metabolismu v rostlině, jiné jsou v hlízách přítomny jen proto, že se nacházejí v půdním roztoku spolu s esenciálními prvky (Čepl 2009). Největší zastoupení a význam ze všech minerálních látek obsažených v hlízách má draslík, který představuje 30-50 % těchto látek (Vokál et al. 2013). Draslík je z hlediska fyziologie člověka významný prvek, je důležitý pro správnou funkci srdce, ledvin, kostí, nervové a svalové tkáně (Weaver 2013) a také z brambor vytváří zásaditou stravu a tím vyvažuje kyselé složky potravy, jako jsou tuky, maso atd. (Čepl 2009). Kromě brambor jsou dobrým zdrojem draslíku také banány, sušené meruňky, černý čaj či káva (Brdíčková 2020). Brambory jsou také zdrojem mnoha dalších, pro člověka životně důležitých, minerálních látek, jako mědi (Cu), jódu (I), železa (Fe), Fosforu (P), manganu (Mn), Hořčíku (Mg), zinku (Zn) a vápníku (Ca) (Kärenlampi & White 2009). V závislosti na půdních a pěstebních podmínkách mohou být brambory také zdrojem stopových prvků, jako je selen (Se) (Furrer et al. 2018), který působí společně s vitamínem E v buněčném antioxidačním obranném systému tak, že zastavuje reakce volných radikálů (Čepl et al. 2009). Selen jakožto jeden z antioxidantů bude více probrán v následujících kapitolách práce.

Brambory jsou také významným zdrojem vitaminů, zejména vitamínu C a vitaminů skupiny B (Vokál et al. 2013). Převládajícím vitamínem v hlízách je vitamin C (kyselina askorbová), jehož obsah se pohybuje mezi 84 až 145 mg na 100 g sušiny v závislosti na kultivaru, pěstebních a skladovacích podmínkách (Augustin 1975). Vitamin C je zcela nezbytný pro správnou funkci imunitního systému, cév, svalů, šlach, kostí a pro vstřebávání železa z rostlinných zdrojů. Je to také významný antioxidant, který chrání buňky před poškozením volnými radikály. Jeho doporučená denní dávka je 80-100 mg pro dospělé osoby a jeho potřeba stoupá například u kuřáků, v těhotenství anebo při bojích s infekcemi

(Horáková 2020). Ovoce a zelenina jsou obecně dobrým zdrojem vitamínu C a zhruba 90 % denního příjmu v běžné populaci pochází z těchto zdrojů. Obsah se mezi druhy liší, ale obecně kromě brambor jsou dobrým zdrojem citrusové plody, kiwi, mango, brokolice, rajčata, papriky. Při odhadu denního příjmu musíme brát v potaz, že při zahřívání a dlouhodobém skladování dochází k degradaci kyseliny askorbové. Vitamin C se také používá jako konzervační látka do potravin (Lykkesfeldt et al. 2014). Střední porce vařených brambor (180 g) obsahuje množství vitaminů B1, B6 a kyseliny listové, představující více než jednu šestinu doporučené denní dávky pro dospělé osoby. Skupina vitaminů B má v těle mnoho funkcí včetně účasti na metabolismu sacharidů pro získání energie, udržování zdravé pokožky a nervového systému. Kyselina listová se podílí na podpoře vývoje a růstu buněk, proto je nezbytný její adekvátní příjem v těhotenství (Vokál et al. 2013). Obsah vitaminů a minerálů v bramborách a jejich podíl na denní spotřebě je uveden v následující tabulce 3.

Tabulka 3: Obsah vitaminů a minerálů v bramborách a jejich podíl na denní spotřebě (Čepl 2008.)

Vitamin / minerální látka	Obsah mg.100 g ⁻¹	% denní potřeby
Vitamin C	20,0	33
B1 thiamin	0,1	5
B2 riboflavin	0,03	2
B3 niacin	1,1	6
B6 pyridoxin	0,2	9
Kyselina listová	0,018	5
Kyselina pantotenová	0,3	3
Vitamin K	0,0029	4
Vápník	10,0	1
Měď	0,1	7
Železo	0,5	4
Hořčík	22,0	5
Mangan	0,1	7
Fosfor	78,0	6
Draslík	450,0	15
Selen	0,5	1
Zinek	0,5	2

3.1.6 Rizikové látky

V bramborách se nacházejí také látky, které mohou negativně ovlivnit zdraví konzumentů, jedná se o takzvané antinutriční látky. Přirozeně se v hlízách nacházejí glykoalkaloidy a kalysteginy, zatímco ostatní antinutriční látky jsou cizorodé (například těžké

kovy, rezidua pesticidů...). Nebo se v hlízách nacházejí látky vznikající tepelnou úpravou jako je například akrylamid (Čepl et al. 2009).

V dubnu roku 2002 Švédský Národní úřad pro potraviny upozornil na výskyt akrylamidu v potravinách, což je látka, u níž je podezření, že je karcinogenní. Do roku 2002 byl akrylamid znám pouze jako syntetická látka, která se komerčně používá k výrobě polyakrylamidu nebo jako látka vyskytující se v tabákovém kouři (Haverkort & Struik 2005). Akrylamid je chemická látka, která se přirozeně tvoří ve škrobových potravinách při užívání vysokých teplot (smažení, pečení, pražení...). Hlavní chemický proces, který způsobuje vznik akrylamidu se nazývá Maillardova reakce, která kromě vzniku akrylamidu způsobuje i „zhnědnutí“ potravin a změnu chuti (EFSA 2015). Při Maillardově reakci dochází k chemické reakci mezi sacharidy a volnou aminokyselinou asparaginem (Vokál 2013). Akrylamid vzniká především při zahřívání potravin s obsahem fruktózy či glukózy a asparaginu nad 120 °C, přičemž daleko větší množství vzniká při teplotách nad 180 °C. Ve smažených bramborových lupíncích byl také v malém množství nalezen glycidamid, který je rakovinotvorný a nebezpečnější, než akrylamid (Čepl et al. 2009). Akrylamid je přítomen v celé řadě potravin, které konzumujeme na denní bázi, jedná se například o hranolky, bramborové lupínky, chléb, kávu či sušenky (EFSA 2015). Přičemž za jedny z hlavních potravinových zdrojů jsou považovány právě výrobky z brambor – lupínky a hranolky, a to zejména v západních zemích, kde se tyto potraviny konzumují pravidelně jako součást jídla (Pedreschi & Zuniga 2009). Používání nižších teplot a kratší doby tepelného opracování a genetická šlechtitelská tvorba hlíz s nízkým obsahem asparaginu prokazatelně snižují obsah akrylamidu v bramborových výrobcích. Obsah volného asparaginu lze také ovlivnit hnojením dusíkatými hnojivy (Čepl et al. 2009).

Primárními glykoalkaloidy v bramborách jsou α -solanin a α -chaconin. Poměr těchto sloučenin se mění a jejich nejvyšší koncentrace v hlíze je ve slupce a těsně pod slupkou. Kvůli obavám z dopadu na lidské zdraví, jsou nové odrůdy brambor testovány na celkový obsah glykoalkaloidů (Camire et al. 2009). Hlízy brambor obsahují i další glykoalkaloidy – β -solaniny, β -chaconiny, β -solamarin, γ -solanin, γ -chaconin, avšak α -solanin a α -chaconin tvoří až 95 % všech glykoalkaloidů. Z pohledu chemické struktury se jedná o látky složené ze dvou částí – z cukerné a necukerné složky. Necukerná složka (aglykon) je u většiny bramborových glykoalkaloidů tvořená solanidinem, cukerná složka je rozdílná (Vokál et al. 2013). V hlízách brambor se obsah glykoalkaloidů pohybuje v rozmezí 2-10 mg na 100 g čerstvé hmoty. Koncentrace glykoalkaloidů se zvyšuje, pokud jsou hlízy vystaveny světlu, takže u raných odrůd lze najít vyšší koncentrace díky menším hlízám, resp. raným stádiím zralosti. Glykoalkaloidy jsou termostabilní, při teplotách nad 180 °C se však částečně rozkládají (Čepl et al. 2009). Německý spolkový úřad pro hodnocení rizik (BfR = Bundesinstitut für Risikobewertung) stanovil hodnotu NOAEL (= No Observed Adverse Effect Level = nejvyšší dávka, při které nejsou pozorovány vedlejší účinky na lidské zdraví) na 0,5 mg/kg tělesné hmotnosti a den. Při lehčích otravách se u člověka objevuje nevolnost, bolest žaludku, zvracení a průjem, někdy jsou tyto příznaky otravy také doprovázeny horečkou. Při těžkých otravách může dojít k poruchám či ztrátě vědomí, také může dojít k poruchám dýchání (BfR 2018).

3.2 Volné radikály

Elektrony zaujímají v atomech či molekulách prostory, které jsou známé jako orbitály. Každý orbital může pojmout pouze dva elektrony a ty musí mít opačný spin. Volný radikál, lze jednoduše definovat, jako jakýkoliv atom nebo molekulu, který obsahuje jeden nebo více nepárových elektronů, což jsou elektrony, které se v orbitalu nachází samostatně (jedná se tedy o nepárové elektrony). Většina biologických molekul jsou neradikály, které obsahují ve svých orbitalech pouze párové elektrony. Spárované elektrony jsou více stabilní, proto jsou volné radikály reaktivnější než neradikály (Halliwell 1989). Radikály mohou být neutrální částice nebo záporně či kladně nabitě ionty. To záleží na tom, zda počet protonů v atomových jádrech odpovídá počtu elektronů v orbitalech (neutralita) či nikoli (ion). Ve vzorcích radikály označujeme tečkou, indikující nepárový elektron (Štípek et al. 2000).

ak je všem známo, kyslík je pro život nezbytný prvek. Všechny aerobní organismy využívají molekulární kyslík k výrobě ATP (= adenosintrifosfát), který slouží jako zásobárna energie v buňce. Díky několika vlastnostem, jako je dostupnost z atmosféry, snadná difúze přes biologické membrány a také to, že kyslík je schopný vázat se na hemoglobin, se z kyslíku stal prvek potřebný pro vývoj mnohobuněčných organismů, který zahrnoval příjem, transport a tkáňovou distribuci kyslíku. Přesto může být kyslík toxickým prvkem pro organismus, díky vzniku ROS (= reactive oxygen species, reaktivní formy kyslíku) (Buonocore et al. 2010). V posledních desetiletích výzkumy ukázaly, že v živých organismech vzniká při biochemických reakcích celá řada reaktivních kyslíkových a dusíkových radikálů a malých reaktivních molekul, ze kterých mohou radikály snadno vzniknout. Je pro ně používán také širší termín a to, již zmíněné, reaktivní formy kyslíku (ROS) a reaktivní formy dusíku (NOS = reactive nitrogen species). Protože i NOS obsahují kyslík, používá se často pro oba typy označení ROS (Stratil & Kubáň 2018). Jedná se o látky, které rychle reagují s různými biologickými strukturami – mastnými kyselinami a lipidy, aminokyselinami a proteiny, mononukleotidy a polynukleotidy (RNA a DNA) i s řadou nízkomolekulárních metabolitů, koenzymů a jiných součástí živé hmoty. Jsou to látky, které jsou důležitými faktory imunologických reakcí, buněčné regulace a dalších fyziologických pochodů. Za určitých okolností však působí patologicky a mohou organismus poškodit či usmrtit (Štípek et al. 2000). Negativní vliv ROS bude probrán v další části práce. Tabulka 4 představuje přehled nejdůležitějších reaktivních forem kyslíku a dusíku, některé z nich budou dále blíže specifikovány.

Tabulka 4: Reaktivní formy kyslíku a dusíku (Štípek et al. 2000)

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU	
Volné radikály	Látky, které nejsou volnými radikály
Superoxid, O ₂ [·]	Peroxid vodíku, H ₂ O ₂
Hydroxylový radikál, OH [·]	Kyselina chlorná, HOCl
Peroxyl, ROO [·]	Ozon, O ₃
Alkoxyl, RO [·]	Singletový kyslík, ¹ O ₂
REAKTIVNÍ FORMY DUSÍKU	
Volné radikály	Látky, které nejsou volnými radikály
Oxid dusnatý, NO [·]	Kyselina dusitá, HNO ₂
Oxid dusičitý, NO ₂ [·]	Peroxynitrit, ONOO

3.2.1 Vznik volných radikálů

Radikály mohou vznikat několika způsoby:

- Homolytickým štěpením dvouelektronové vazby mezi dvěma atomy. U každé ze vzniklých částic zůstane jeden elektron ze společné dvouelektronové vazby. Tímto způsobem vzniknou dva volné radikály, které mohou být více či méně reaktivní (Stratil & Kubáň 2018). K homolytickému štěpení je třeba hodně energie, například vysoká teplota, ultrafialové nebo ionizační záření (Štípek et al. 2000).
- Radikál může také vzniknout odebráním elektronu za vytvoření kationtového radikálu – oxidace, $X - e - \rightarrow X \cdot^+$.
- Nebo také mohou vzniknout opačnou situací = adicí elektronu za vytvoření anionového radikálu – redukce, $X + e - \rightarrow X \cdot^-$ (Stratil & Kubáň 2018).
- Vznik radikálu může být iniciací celého dalšího řetězce. Pokud radikál reaguje s neradikálovou sloučeninou tak ji změní na radikál a radikálová reakce se tím propaguje do okolí. Teprve reakcí dvou radikálů se nepárové elektrony spojí ve dvojici a dochází k ukončení řetězové reakce, tzv. terminaci (Štípek et al. 2000).

Volné radikály a ROS vznikají v těle během základních metabolických procesů v mitochondriích, fagocytech, peroxysomech atd. Množství VR v našem těle také zvyšují některé faktory vnějšího prostředí jako je například cigaretový kouř, ozon, UV záření, pesticidy, průmyslová rozpouštědla nebo některé druhy drog (Bagchi & Puri 1998).

3.2.2 Nejvýznamnější volné radikály

a) Hydroxylový radikál

Hydroxylový radikál je pravděpodobně nejreaktivnější radikál s poločasem doby života okolo 10^{-9} sekundy. Díky vysoké reaktivitě dochází k reakci s jinou molekulou téměř okamžitě v místě jeho vzniku (Buonocore et al. 2010). Hydroxylový radikál reaguje s každým druhem biomolekul včetně nukleových kyselin. Pokud dojde k napadení DNA hydroxylovým radikálem, tak dochází k propagaci řetězcové reakce, která může vést ke změně bazí v řetězci DNA (což může vést k mutacím) nebo může dojít k přetržení řetězce. Pokud nedojde k reparaci těchto změn, tak může dojít ke karcinogenezi, která může vést k rozvoji rakoviny. Paradoxem je, že vytváření OH-radikálu je hlavní mechanismus díky kterému při radioterapii dochází k usmrcování zhoubných buněk (Halliwell 1989). Hydroxylový radikál je produkován téměř ve všech aerobních buňkách mnoha reakcemi. Mezi hlavní zdroje patří: dýchací řetězec, homolytické štěpení H_2O_2 indukované UV zářením, homolytické štěpení vody ($H_2O \rightarrow OH\cdot + H\cdot$) způsobené ionizující radiací (γ – paprsky, například při radioterapii nebo radiodiagnostice), reakce iontů přechodných kovů s H_2O_2 (= Fentonova reakce) (Stratil & Kubáň 2018).

b) Superoxidový radikál

Superoxidový radikál vzniká jedoelektronovou redukcí z molekuly kyslíku. Je mnohem méně reaktivní než výše zmíněný hydroxylový radikál a neprostupuje biologickými membránami. Jeho škodlivost spočívá v tom, že v kyselém prostředí dismutuje na H_2O_2 , který s přechodnými kovy vytváří hydroxylový radikál (Stratil & Kubáň 2018). V savčích buňkách je pro tvorbu superoxidu využit pouze malý zlomek z celkově přijatého kyslíku. Nejvíce superoxidu vzniká v organismu v mitochondriálním dýchacím řetězci (Buonocore et al. 2010). Kromě toho k tvorbě $O_2\cdot$ přispívá také několik enzymů. U živočichů to je například: xantinoxidasa, peroxidasy, katalasa, syntasa NO, tryptofandioxygenasa atd. Superoxidový radikál může být také produkován autooxidací molekul glyceraldehdu, adrenalinu, noradrenalinu, dopaminu, hemoglobinu a dalších molekul. V mitochondriích je spotřebováno okolo 90 % tělního kyslíku. Často je uváděno, že 1-3 % kyslíku metabolizovaného mitochondriemi je přeměněno na několika místech v respiračním řetězci na superoxid. Tyto hodnoty byly získány z experimentu s mitochondriemi exponovanými pokojové koncentraci kyslíku, který je pro ně silně hyperoxický. Skutečná fyziologická produkce $O_2\cdot$ je významně nižší a může činit okolo 0,1-0,2 % (Stratil & Kubáň 2018). Superoxid má oxidační i redukční vlastnosti. Podléhá dizmutaci, při které jedna jeho molekula poskytuje elektron druhé, takže superoxid se zároveň redukuje i oxiduje, produkty reakce jsou kyslík a peroxid vodíku. Při studiu biologického významu superoxidu byl velkým mezníkem objev superoxidismutázy (EC 1.15.1.1., SOD). SOD se nachází v každé buňce. Spontánní dizmutace superoxidu na kyslík a peroxid vodíku je při pH 7 velmi rychlá, přesto došlo v organismech ke vzniku SOD, která

reakci urychlí o další čtyři řády (výsledná rychlostní konstanta je $2 \cdot 10^9 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Rozlišujeme dvě skupiny SOD – SOD1 a SOD2.

Cu, Zn-SOD (SOD 1) se skládá ze dvou identických podjednotek, z nichž každá má molekulovou hmotnost 16 000 a v každé je jeden atom mědi a jeden atom zinku. Jedná se o velmi stabilní enzym, katalyzuje při pH 4,5-9,5. Vyskytuje se v cytosolu a mezimembránovém prostoru mitochondrií. Přenos elektronu z jedné molekuly peroxidu na druhou obstarává atom mědi, která se redukuje z Cu (II) na Cu (I) a pak zase oxiduje. Zinek (II) má stabilizační funkci. Gen pro tuto SOD se u člověka nachází na 21. chromozomu. Mn-SOD (SOD2) je enzymem mitochondriální matrix. Podjednotky enzymu mají molekulovou hmotnost kolem 20 000 a nejsou tak stabilní jako SOD1 (Štípek et al. 2000).

c) Peroxylový a alkaxylový radikál

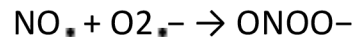
Peroxylové i alkaxylové radikály většinou bývají dobrými oxidačními činidly. Peroxylové radikály ($\text{ROO}\cdot$) jsou považovány za hlavní zdroj oxidačního stresu v živočišných tkáních. Nejčastěji vznikají autooxidací volných nebo vázaných nenasycených mastných kyselin v lipidech. Alkaxylový radikál ($\text{RO}\cdot$) vzniká nejčastěji reakcí organické molekuly a vysoce reaktivního hydroxylového radikálu. Obecně peroxylové a alkaxylové radikály mohou reagovat a následně poškozovat velké množství metabolicky významných molekul – jako jsou lipidy, sacharidy, bílkoviny. Mohou také generovat reaktivní superoxidový radikál, který následně může vytvořit reaktivnější hydroxylový radikál (Stratil & Kubáň 2018).

d) Radikál oxidu dusnatého

Radikál oxidu dusnatého neboli nitrosilový radikál má významnou úlohu v buněčných redoxních reakcích. Jedná se o bezbarvý plyn, který má jeden nepárový elektron v π^*2p antivazebném orbitalu. Je-li jeho elektron odstraněn jednoelektronovou oxidací vzniká nitrosylový kation (NO^+) a jednoelektronovou redukcí vzniká nitrosylový anion (NO^-) Nitrosylový radikál je syntetizovaný z L-argininu indukovatelným enzymem nitrosylsyntasou (NOS), který váže železo. Při poškození NOS se syntetizuje méně oxidu dusnatého a začíná se produkovat superoxid. (Stratil & Kubáň 2018). Oxid dusnatý je hojně se vyskytující reaktivní radikál, který působí jako důležitá signalizační molekula v celé řadě fyziologických procesů, včetně obranných mechanismů, regulace krevního tlaku, relaxace hladkého svalstva, neurotransmise atd. Ve vodném prostředí má nitrosilový radikál rychlý poločas rozpadu. Větší stabilitu vykazuje v prostředí s nižším obsahem kyslíku (poločas > 15 s). $\text{NO}\cdot$ snadno difunduje přes cytoplazmatickou membránu, protože je rozpustný jak ve vodném, tak lipidovém prostředí. V extracelulárním prostředí reaguje s kyslíkem a vodou za vzniku dusičnanových a dusitanových aniontů (Valko et al. 2007).

Buňky imunitního systému produkují jak superoxidový anion, tak oxid dusnatý během zánětlivých procesů a mohou spolu reagovat za vzniku, mnohem reaktivnější molekuly,

peroxynitrylového aniontu (ONOO⁻), což je silné oxidační činidlo, které může způsobit fragmentaci DNA a oxidaci lipidů.



Nadprodukce reaktivních druhů dusíku se nazývá nitrosativní stres. K tomu může dojít, když tvorba reaktivních druhů dusíku v systému překročí schopnost systému je neutralizovat a eliminovat. Nitrosativní stres může vést k nitrosylačním reakcím, které mohou změnit strukturu proteinů, a tak inhibovat jejich normální funkci (Valko et al 2007).

3.2.3 Významné neradikály

a) Peroxid vodíku

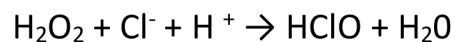
Peroxid vodíku není volným radikálem, ale významně se podílí na jejich vzniku. Reakce samotného peroxidu vodíku s biomolekulami jsou poměrně pomalé, ale v přítomnosti tranzitních kovů – dvojmocného železa Fe²⁺ nebo jednomocné mědi Cu⁺ se peroxid vodíku rychle redukuje.



Touto železem katalyzovanou Fentonovou reakcí vzniká vysoce toxický, již výše zmíněný, hydroxylový radikál, který ihned reaguje s ostatními biomolekulami. Tranzitní kovy se účastní vzniku reaktivních forem kyslíku, jen pokud nejsou bezpečně vázané v deponitních formách, jako je železo ve ferritinu a transferinu a měď v ceruloplazminu (Štípek et al. 2000).

b) Chlorná kyselina

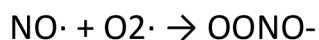
Kyselina chlorná vzniká v neutrofilních granulocytech a eozinofilech účinkem enzymu myeloperoxidasy (Štípek et al. 2000).



Chlorná kyselina je slabá kyselina, která je disociována při fyziologickém pH 7,4 asi z 50 %. Je uvolňována do extracelulárního prostoru a je fyziologicky využívána jako silná antibakteriální látka. Kyselina chlorná je vysoce reaktivní a je schopna poškozovat biomolekuly přímo nebo rozkladem na chlór. Reakcí s methioninem může také inaktivovat trombomodulin, což je glykoprotein v membránách endotelových buněk, který reguluje koagulaci krve modifikací účinku trombinu. HClO též může oxidovat thioly, askorbát, NADH, NADPH a chlorovat báze v DNA a tyrosylové zbytky v proteinech (Stratil & Kubáň 2018).

c) Peroxynitrit

Peroxynitrit neboli peroxydusitan vzniká při reakci oxidu dusnatého se superoxidem.



Fyziologické podmínky nejsou pro vznik peroxynitritu výhodné vzhledem k nízké koncentraci $\text{NO}\cdot$ a zejména superoxidu, ale při zvýšené syntéze těchto dvou látek může koncentrace peroxynitritu dosáhnout významných hladin (Štípek et al. 2000). I mírné zvýšení současné produkce superoxidu a NO bude značně stimulovat tvorbu peroxydusitanu; 10násobné zvýšení produkce superoxidu a NO zvýší tvorbu peroxydusitanu 100násobně, což vede k dysfunkci důležitých buněčných procesů, narušení buněčných signálních drah a indukci buněčné smrti prostřednictvím apoptózy a nekrózy. Přestože je peroxydusitan silným oxidačním činidlem, s většinou biologických molekul reaguje relativně pomalu. Za fyziologických podmínek je produkce peroxynitritu nízká a oxidační poškození minimalizováno endogenní antioxidační obranou. Přestože se v přírodě nejedná o volný radikál, je peroxydusitan mnohem reaktivnější než jeho "mateřské" molekuly $\text{NO}\cdot$ a $\text{O}_2\cdot$. Poločas rozpadu peroxydusitanu je krátký (~10–20 ms), ale je to čas dostatečný k průchodu přes buněčné membrány (Pacher et al. 2007).

d) Singletový kyslík

Singletový kyslík neboli molekulový kyslík, je neradikálová forma kyslíku, schopná oxidovat mnoho biomolekul, včetně nukleových kyselin, lipidů a proteinů. Singletový kyslík vzniká nejčastěji fotosenzibilní reakcí, kdy působením určitého záření je molekula excitována do singletové stavu. V přírodě k senzibilním sloučeninám patří vitamin B2 – riboflavin a jeho deriváty, chlorofyly A a B, bilirubin a různé porfyriny. Singletový kyslík také může vznikat chemickými a enzymovými reakcemi, rozkladem hydroperoxidů, reakcí chlorné kyseliny s peroxidem nebo například při fagocytóze. Některé léky, jako například antidepresiva, antimalaria, nesteroidní protizánětlivé léky nebo některá antibiotika, také mohou přispět k jeho tvorbě. Molekulový kyslík je přibližně 1500 x reaktivnější než tripletový kyslík. Mezi inaktivátory singletového kyslíku patří například karoteny a vitaminy E a C (Stratil & Kubáň 2018).

e) Ozon

Ozon je tříatomový plyn, který je špatně rozpustný ve vodě. Má typický zápach a dráždí plíce a oči. V atmosféře je tvořen disociací kyslíku UV-C světlem na atom kyslíku, který následně reaguje s molekulou kyslíku. Ozon je silné oxidační činidlo, které se snadno váže na dvojnou vazbu mastných kyselin a vytváří ozonidy, které se mohou rozkládat na toxické aldehydy a další produkty, včetně $\text{OH}\cdot$. Ozon také rychle oxiduje glutathion, askorbát

a proteiny, napadá – SH skupinu aminokyselin tyrosinu, tryptofanu, histidinu a methioninu v bílkovinách. Nutno podotknout, že O₃ je pro život na planetě nezbytný, neboť jeho obsah v horní atmosféře chrání proti většímu pronikání UV záření na zemský povrch. Ozon je také silně baktericidní (Stratil & Kubáň 2018).

3.2.4 Oxidační stres

Oxidační stres je definován jako narušení rovnováhy mezi množstvím volných radikálů a antioxidační ochranou, které může vést k narušení funkce různých tkání. Jak bylo zmíněno výše volné radikály se nevyhnutelně tvoří jako vedlejší produkty při mnohých biochemických reakcích a také při zvýšené expozici cigaretovému kouři, ozonu, UV záření atd. (Betteridge 2000). Oxidativní stres je zmiňován v souvislosti s mnoha onemocněními jako je například: Alzheimerova choroba, Parkinsonova nemoc, ischemická choroba srdeční, ateroskleróza, astma, obezita, diabetes mellitus, rakovina plic, šedý zákal (Rahman et al. 2012).

3.3 Antioxidanty u brambor

Antioxidant je termín, který se používá pro jakékoli molekuly, které jsou schopné stabilizovat nebo deaktivovat volné radikály předtím, než napadnou buňky. U lidí existují vysoce komplexní antioxidační systémy, které fungují synergicky a ve vzájemné kombinaci tak, aby chránili buňky a orgány těla před poškozením volnými radikály (Rahman 2007).

Antioxidanty můžeme rozdělit na endogenní, ty vznikají v organismu, a exogenní, které získáváme zejména ze stravy či potravinových doplňků. Některé sloučeniny vyskytující se ve stravě, které sami o sobě neneutralizují volné radikály, ale pomáhají zvyšovat endogenní aktivitu, mohou být také označovány jako antioxidanty (Rahman 2007).

Bramborové hlízy jsou jedním z nejbohatších zdrojů antioxidantů v lidské výživě. Vzhledem ke konzumovanému množství zajišťují brambory denní příjem asi 64 mg polyfenolů v USA, díky čemuž zauímají druhé místo v přísunu antioxidantů za rajčaty. Z antioxidantů jsou nejbohatší na polyfenoly ($1226-4405 \text{ mg.kg}^{-1}$) a L-askorbovou kyselinu ($170-990 \text{ mg.kg}^{-1}$). Z ostatních látek typu antioxidantů jsou v bramborách zastoupeny karotenoidy (až 4 mg.kg^{-1}), α -tokoferol ($0,5-2,8 \text{ mg.kg}^{-1}$) a v menší míře selen ($0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$) a α -lipoová kyselina (Lachman et al. 2005).

3.3.1 Antokyany

Ve fialových a červených odrůdách brambor nalézáme ve značné míře pigmenty nazývané antokyany. Jedná se o podskupinu flavonoidů, která se dle kultivaru může nalézat jak v dužině, tak ve slupce hlíz (Ezekiel et al. 2013). Antokyany jsou ve vodě rozpustné pigmenty vakuol odpovědné za fialové, modré, červené a růžové zbarvení stonků, listů, květů, plodů a kořenů u naprosté většiny vyšších rostlin (Lewis et al. 2008). Dle Kim et al. (2012) bylo doposud identifikováno 23 antokyanidinů (aglykonů) z nichž se v rostlinách nejběžněji vyskytuje: pelargonidin, kyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin a malvidin. V přírodě bylo identifikováno tisíce sloučenin, jejichž struktury se liší typem a počtem přítomných cukrů, organických a fenolových kyselin. Antokyanidiny, tedy volné aglykony se vyskytují zřídka pouze ve stopovém množství. Při navázání antokyanidinů na sacharid vznikají antokyany, přičemž cukerná složka je tvořena pouze šesti různými monosacharidy, jedná se o: D-glukosu, L-rhamnosu, D-xylosu, D-galaktosu, L-arabinosu a D-fruktosu. Cukry jsou vždy vázány na C3, někdy i jako další na C5 a výjimečně na C7. Často bývají cukry acylovány fenolovými kyselinami – kávovou, p-kumarovou, ferulovou, sinapovou, méně často pak hydroxybenzoovou, malonovou a octovou. Příkladem acylovaného glykosidu může být například petanin, což je glykosid petunidinu, který se vyskytuje ve slupkách červených odrůd brambor (Stratil & Kubáň 2018).

Odrůdy s modrou a červenou dužinou, které jsou na našem trhu spíše raritou, obsahují až třikrát více antokyanů než u nás běžně dostupné žluté případně bílé odrůdy (Liu et al. 2015). Co se týče rozdílů mezi červeně a modře zbarvenými hlízami, tak červeně zbarvené hlízy obsahují zejména glykosidy pelargonidinu jako například 3-O-(p-kumaroylrutinosid)-5-O-glukosid ($200-2000 \text{ mg.kg}^{-1}$ čerstvé hmoty), v menší míře pak glykosidy peonidinu jako

například 3-O-(p-kumaroylrutinosid)-5-O-glukosid (20-200 mg kg⁻¹ čerstvé hmoty). Modře zbarvené hlízy obsahují oproti červeným mnohem více 3-O-(p-kumaroylrutinosid)-5-O-glukosidu malvidinu (2000-5000 mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty) (Lachman et al. 2005). Co se týká množství antokyanů v klasických žlutomasých a bělomasých odrůdách bramboru, vyskytují se četné rozdíly mezi odrůdami, přičemž jejich celkový obsah se pohybuje v rozsahu od 5,5 do 35 mg / 100 g čerstvé hmoty (Brown 2008).

Pro zdraví člověka představují antokyany důležité antioxidanty, jejichž denní příjem je odhadován na 180 mg. Antioxidační aktivita antokyanů je kromě jiných vlastností určována počtem volných fenolických hydroxylových skupin v molekule, takže například petunidin má vyšší antioxidační aktivitu než malvidin, peonidin či pelargonidin. Acylace antokyanů brambor skořicovými kyselinami posunuje jejich zbarvení do modrého odstínu a z velké části zvyšuje jejich celkovou antioxidační účinnost. Naopak glykosylace v poloze 5 snižuje antioxidační aktivitu a rovněž tak i substituce v poloze 3. Antioxidační vlastnosti přírodních extraktů jsou mnohem vyšší ve srovnání s čistými individuálními látkami; tento jev potvrzuje jejich synergické působení ve směsích antokyanů obsažených v bramborových hlízách. Přičemž zbarvené brambory vykazují dvakrát až třikrát vyšší antioxidační potenciál ve srovnání s bramborami s bílou dužinou (Lachman et al. 2005).

Bylo prokázáno, že antokyany mají pozitivní účinky při léčbě diabetické retinopatie, nádorových onemocnění, aterosklerózy, dále mají příznivý účinek na zrak, cévy a játra (Stratil & Kubáň 2018).

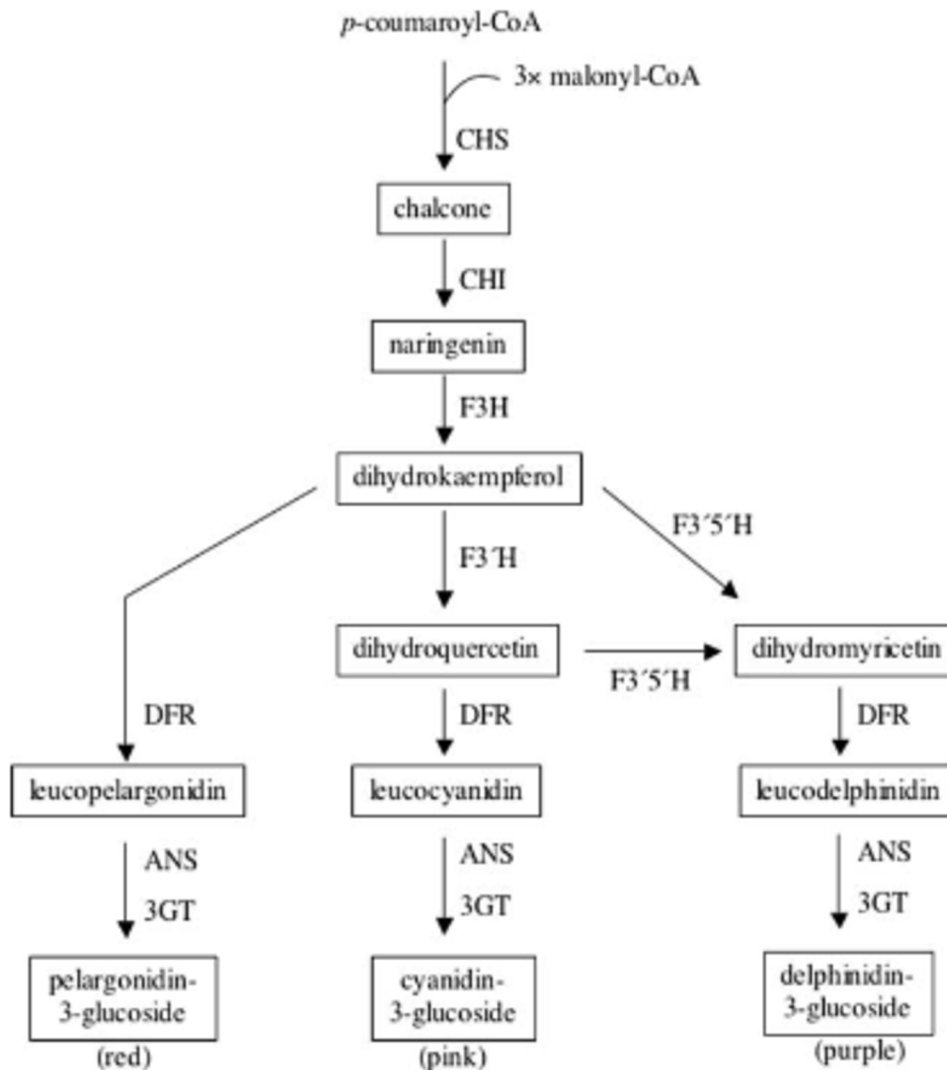
Vzhledem ke skutečnosti, že antioxidační kapacita červeně nebo modře zbarvených brambor je 2-3× vyšší ve srovnání s bramborami s bílou/žlutou dužinou mohly by tyto odrůdy brambor významně zvýšit příjem antioxidantů v lidské výživě. Kromě červeně či modře zbarvených odrůd brambor jsou zdrojem antokyanů v lidské výživě také třešně, borůvky, rybíz, ostružiny, červené zelí, švestky, jablka a další červeně či modře zbarvené ovoce a zelenina (Stratil & Kubáň 2018).

3.3.1.1 Biochemická a genetická podstata vzniku

Prekurzory syntézy flavonoidů, kam patří i antokyany, jsou malonyl-CoA a p-kumaroyl-CoA, enzym chalkonsyntáza (CHS) postupně katalyzuje kondenzaci tří acetátových jednotek malonyl-CoA s p-kumaroyl-CoA za vzniku tetrahydroxichalkonu. Poté chalkonizomeráza (CHI) katalyzuje izomeraci žlutě zbarveného tetrahydroxichalkonu na bezbarvý naringenin. Naringenin je poté přeměněn na dihydrokaemferol (DHK) pomocí flavanon 3-hydroxylázy (F3H). DHK může být následně hydroxylován flavonoid 3'-hydroxylázou (F3'H) na dihydrokvercetin (DHQ) nebo pomocí flavonoid 3',5'-hydroxylázy (F3'5'H) na dihydromyricetin (DHM). Flavonoid 3',5'-hydroxyláza může také převést dihydrokvercetin na dihydromyricetin. K přeměně bezbarvých dihydroflavonolů (DHK, DHQ, DHM) na antokyany jsou zapotřebí alespoň tři enzymy. První enzymatickou přeměnou je redukce dihydroflavonolů na flavan-3,4-cis-dioly (leukoantokyanidiny) pomocí dihydroflavonol 4-reduktázy (DFR). Následujícím krokem je buď oxidace, dehydratace nebo glykosidace různých leukoantokyanů, tyto reakce produkují cihlově červený pelargonidon, červený kyanidin

a modrý delphinidin (Holton & Cornish 1995). Na obrázku 1 je znázorněno schéma biosyntetické dráhy antokyanů.

Obrázek 1: Schéma biosyntetické dráhy antokyanů (Jung et al. 2009, upraveno podle Holton & Cornish 1995).



Salaman (1910) ve své studii poprvé identifikoval u tetraploidní odrůdy bramboru tři lokusy, které jsou zodpovědné za barvu slupky bramborové hlízy. Jedná se o D lokus (u diploidních odrůd znám jako I lokus), který je nezbytný pro syntézu červených a fialových antokyanových pigmentů ve slupce hlíz a který se nachází na chromozomu 10 (Jung et al. 2009). Další dva lokusy popsané Salamanem (1910) jsou lokus R, který je nezbytný pro syntézu červených antokyanů a najdeme ho na chromozomu 2 a lokus P, který se vyskytuje na chromozomu 11 a je důležitý pro vznik fialových pigmentů. Bylo prokázáno, že R a P kódují dva důležité enzymy antokyanové dráhy: dihydroflavonol 4-reduktázu (DFR) a flavonoid 3',5'-hydroxylázu (F3'5'H) (De Jong et al. 2003).

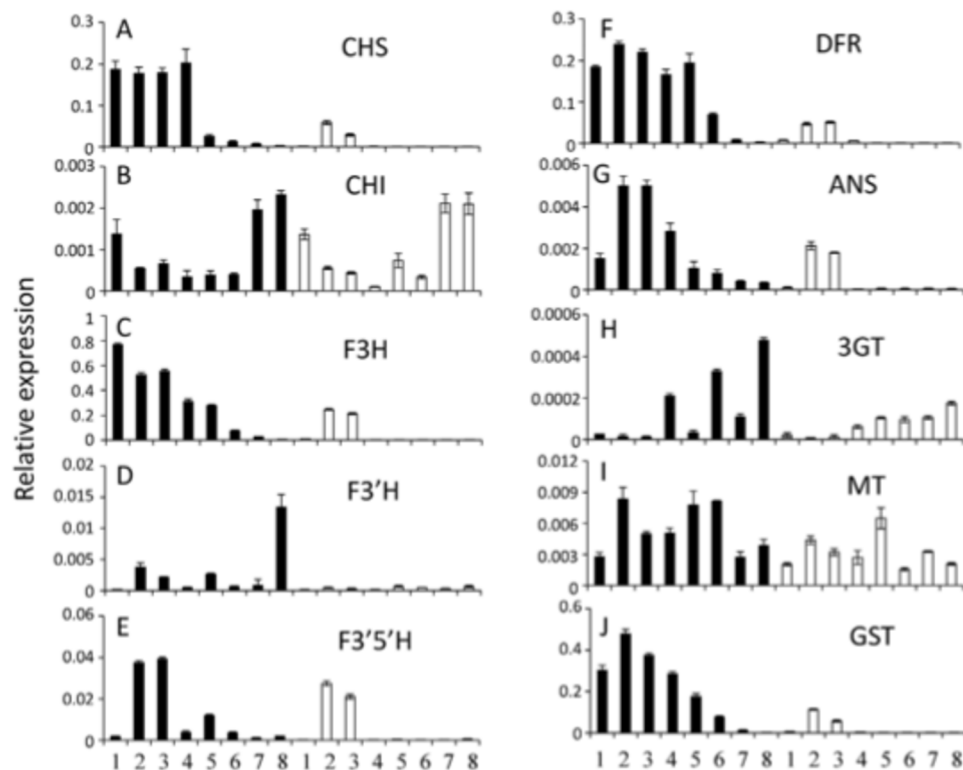
Variace barvy bramborových hlíz je dána tkáňově specifickými rozdíly v akumulaci antokyanových pigmentů. Je známo, že existují tři třídy transkripčních regulátorů, které jsou zapojeny do biosyntézy antokyanů. Jedná se o proteiny *R2R3-MYB*, basic helix-loop-helix (*bHLH*) a *WF40-repeat (WDR)* (Grotewold 2006). D lokus je místo kódující *R2R3-MYB* gen, který je také známý jako *StAN2*, který aktivuje *DFR* a *F3'5'H* promotory (sekvence DNA, na kterou se váže RNA polymeráza) (Liu et al. 2016). Jung et al. (2009) ve svém výzkumu zkoumali expresi tří strukturních genů antokyanů – *F3H*, *DFR* a *F3'5'H* ve slupce hlíz u potomstva diploidní odrůdy W5281.2, která má fialovou slupku a je heterozygotní v D lokusu (Dd) a diploidní odrůdy 07506-01 s bílou slupkou, která je recesivně homozygotní v D lokusu (dd). Potomstvo segregovalo v poměru 1:1 na přítomnost / nepřítomnost antokyanů ve slupce. Bylo zjištěno, že všechny tři strukturní geny jsou exprimovány u W5281.2 a u všech barevných potomků, zatímco u 07506-01 a bílého potomstva nedošlo k žádné expresi *DFR* a *F3'5'H*, exprese *F3H* byla velmi nízká. V rámci výzkumu také vnesli gen *StAN2* do odrůdy Désirée, která je relativně snadno transformovatelná a jejíž barva hlíz, dokazuje, že má funkční alelu na R lokusu, díky červenému zbarvení slupky. Transformovaná Désirée byla prokazatelně pigmentovanější než netransformovaná. Chromatografie na tenké vrstvě následně ukázala, že i přesto že transformované hlízy obsahovaly kvantitativně více antokyanů, tak kvalitativní srovnání (složení jednotlivých antokyanů) neprokázalo žádné rozdíly mezi transformovanou a netransformovanou Désirée. Tyto výsledky dokazují, že gen *StAN2* reguluje antokyanovou syntézu a že tkáňově nespecifická nadměrná exprese vede ke zvýšené akumulaci antokyanů v mnoha rostlinných tkáních (Jung et al. 2009).

Na syntéze antokyanů v rostlinných tkáních se podílí kromě *StAN2* celá další řada genů a transkripčních faktorů. Li et al. 2014 objevili transkripční faktor pro *WDR – StAN11*. Ve svém výzkumu klonovali tento transkripční faktor z kultivaru Chieftain a následně ho vnesli opět do odrůdy Désirée. Při porovnání transgenní rostliny s neupraveným kultivarem zjistili, že transgenně upravená Désirée akumulovala více antokyanů a vykazovala tmavší zbarvení. Další dva *MYB* geny, které se nachází v bramborových hlízách jsou *StMYBA1* a *StMYB113*, které mohou podle výzkumu podporovat syntézu antokyanů v tabákových listech, ale úloha těchto genů v bramborových hlízách je zatím nejasná, neboť exprese těchto genů byla vyšší ve slupce bílého kultivaru a u kultivaru fialového nedošlo téměř k žádné expresi (Liu et al. 2016). Proteiny *MYB* mohou také podporovat syntézu antokyanů pomocí interakce s *bHLH* proteiny. Zhang et al. (2017) ve své studii na 8 genotypch zkoumali deset genů pro nejdůležitější enzymy antokyanové dráhy – *CHS*, *CHI*, *F3H*, *F3'H*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS*, *3GT*, *MT* a *GST*. Výsledky kromě jiného ukázaly, že exprese těchto deseti genů byla vyšší ve slupce hlíz nežli uvnitř hlíz. *CHS*, *F3H*, *DFR*, *GST*, *F3'5'H* a *ANS* měly vyšší expresi ve dvou nebo více barevných kultivarech, ale nedošlo k expresi u bílých a žlutých odrůd. Z toho vyplývá, že těchto šest genů hraje důležitou roli při syntéze antokyanů v barevných odrůdách, zejména pak u fialových kultivarů, kde geny pro tyto enzymy byly nejvíce exprimovány. Naopak exprese *CHI*, *F3'H*, *3GT* a *MT* nevykazovala žádné větší rozdíly mezi barevnými a bílými nebo žlutými odrůdami, díky čemuž role těchto čtyř genů v syntéze antokyanů zůstává nejasná. Při výzkumu také objevili dalších 5 nových transkripčních faktorů – *bHLH31926*, *MYB11207*, *MYB47415*, *MYB68481* a

MYB79714, u nichž zkoumali, jakým způsobem se podílí na vzniku antokyanů. Expres RNA těchto nových genů byla značně odlišná u jednotlivých fenotypů. Expres *bHLH31926* a *MYB47415* prokazatelně korelovala s expresí *CHS*, *F3H*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS* a *GST*. Expres *MYB11207* a *MYB79714* korelovala s většinou enzymů, naopak nově objevený *MYB68481* nevykazoval žádnou spojitost se vznikem enzymů důležitých pro antokyanovou dráhu. Na obrázku 2 jsou znázorněny hladiny transkriptů genů pro enzymy zapojené v antokyanové dráze. Na obrázku 3 je poté znázorněna expres transkripčních faktorů zapojených v antokyanové dráze.

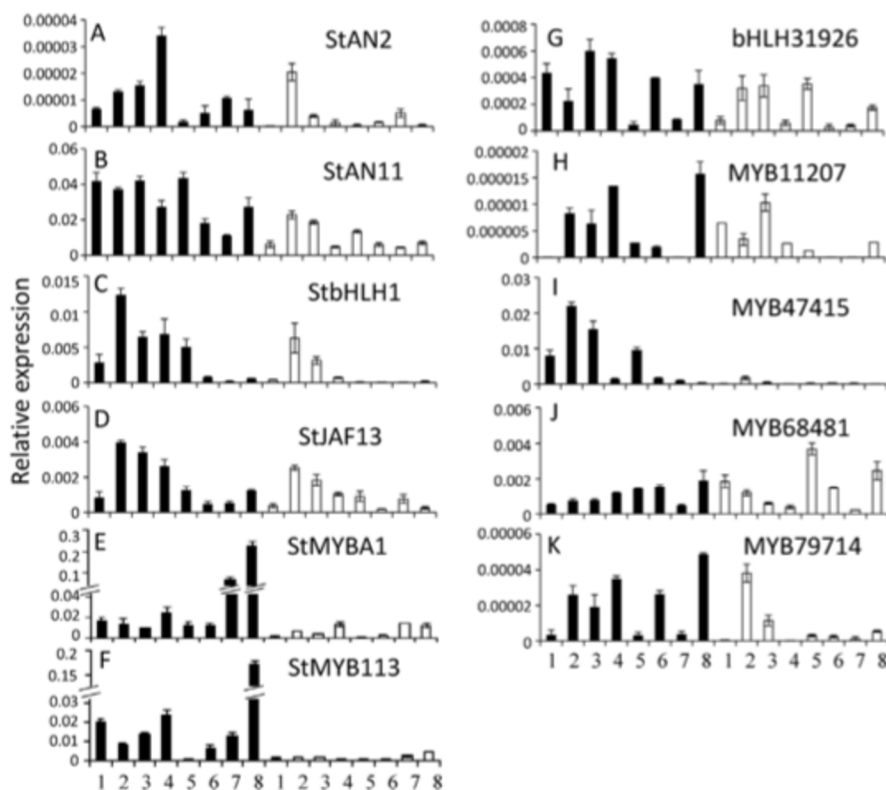
Expres genů zapojených do biosyntézy antokyanů je také indukována UVB a bílým světlem (Kim et al. 2003). Lu & Yang (2006) pomocí RT-PCR analyzovali vliv světla na botanický druh *Solanum pinnatisectum* (divoká odrůda) ve dni 0, 3, 10 a 20 dnů. U *CHS* transkriptů v 0. den nebyla detekovatelná hladina, přičemž došlo k velkému zvýšení ve 3. dnu a maximální hladiny se dosáhlo v 10. den, na konci experimentu, tedy 20. den došlo k mírnému snížení. Transkripty *F3H* a *DFR* genů se postupně zvyšovaly se zvyšující se dobou expozice a maximálních hodnot dosáhly na konci měření. Expres *3GT* zůstala do 10. dne na stejně nízké úrovni jako při založení pokusu a pouze k mírnému nárůstu došlo 20. den pokusu. Akumulace antokyanů z hodnoty 0,027/povrchová plocha, která byla měřená v 0. den, se zvýšila až na hodnotu 2,483/měřená plocha v poslední (20.) den pokusu.

Obrázek 2: Hladiny exprese jednotlivých antokyanových enzymů (Zhang et al. 2017).



Číslo 1-8 představují odrůdy: 1 - Adirindack (celofialová), 2 - MacIntosh black (celofialová), 3 - Congo (celofialová), 4 - PA99P20-2 (celočervená), 5 - Redsen (červená slupka a bílá dužina), 6 - Huashu No.1 (červená slupka a bílá dužina), 7 - Huaen No.1 (žlutá slupka a bílá dužina) a 8 - 393160-4 (žlutá slupka a bílá dužina), černé sloupce vyjadřují expresi ve slupce, bílé expresi ve zbytku hlízy.

Obrázek 3: Hladiny exprese jednotlivých transkripčních faktorů, které regulují biosyntézu antokyanů (Zhang et al. 2017).



Čísla 1-8 představují odrůdy: 1 - Adirindack (celofialová), 2 - MacIntosh black (celofialová), 3 - Congo (celofialová), 4 - PA99P20-2 (celočervená), 5 - Redsen (červená slupka a bílá dužina), 6 - Huashu No.1 (červená slupka a bílá dužina), 7 - Huaen No.1 (žlutá slupka a bílá dužina) a 8 - 393160-4 (žlutá slupka a bílá dužina), černé sloupce vyjadřují expresi ve slupce, bílé expresi ve zbytku hlízy.

3.3.2 Karotenoidy

Karotenoidy jsou důležité přírodní organické pigmenty syntetizované z rostlin, které se přirozeně vyskytují v chloroplastech a chromoplastech fotosyntetizujících organismů, jako jsou rostliny, řasy a některé houby a bakterie (Valcarcel et al. 2015). Jsou to tetraterpeny, obecně tvořené molekulou ze 40 atomů uhlíku s dlouhým uhlíkovým řetězcem s rozsáhlým systémem konjugovaných dvojných vazeb. Karotenoidy můžeme rozdělit na karoteny a xantofyly, což jsou oxidované formy karotenů (Stratil & Kubáň 2018). Karotenoidy mají v řasách a rostlinách dvě klíčové role – absorbují světelnou energii, která se poté použije při fotosyntéze a chrání chlorofyl před poškozením světlem (Lachman et al. 2016).

Nejvýznamnějšími karotenoidy, které se vyskytují v potravinách jsou α a β karoten a lykopen, ze xantofylů se jedná o lutein, zeaxanthin, α a β kryptoxanthin, astaxanthin, kapsanthin, kapsorubin, eraxanthin, anteraxanthin a také violaxanthin (Stratil & Kubáň 2018).

Co se týče výskytu v bramborových hlízách, tak zde převládají xantofyly, přičemž lutein, zeaxanthin, violaxanthin a neoxanthin jsou nejvíce se vyskytující. Naopak β karoten, který je dle mého názoru nejvíce znám široké veřejnosti, se v bramborových hlízách vyskytuje pouze v malém množství a mnohem lepším zdrojem je například mrkev či batáty (Ezekiel et al. 2011).

Množství karotenoidů v dužině bílých kultivarů *Solanum* a u nás na trhu dostupnějších žlutých kultivarů se pohybuje mezi 50 až 350 μg na 100 g, ale například u Papa Amarilla, což je žlutá odrůda pěstovaná v Andách je obsah karotenoidů mnohonásobně vyšší: 800-2000 μg na 100 g. Přičemž experimentální křížení poskytlo potomstvo, které dosahovalo hodnoty až 2600 μg na 100 g (Brown 2008). Kromě brambor, batátů, rajčat a mrkve jsou dobrým zdrojem karotenoidů také některé potraviny živočišného původu, jako losos, humr, karas zlatý (Stratil & Kubáň 2018).

U člověka se karotenoidy kumulují zejména v tukové tkáni a v játrech. Největší koncentrace je ve žlutém tělísku vaječníků a v nadledvinkách, také ve žluté skvrně, v místě dopadu světla na sítnici (Stratil & Kubáň 2018). Bylo identifikováno přes 700 různých karotenoidů, přičemž většina z nich jsou významnými zhášeči singletového kyslíku a dalších ROS. Antioxidační aktivita a také barva je velmi ovlivňována modifikací hlavního C40 uhlovodíkového řetězce. Mezi zdraví prospěšné vlastnosti karotenoidů patří protizánětlivá aktivita, stimulace imunitního systému a snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny, cukrovky, antidepressivní aktivita (Hellmann et al. 2021). Karotenoidy jsou také významné pro zdraví lidského oka. Dva polární karotenoidy, lutein a zeaxanthin, které se vyskytují hojně v bramborových hlízách, se kumulují v makulární oblasti v centru retiny a tvoří makulární pigment. Makulární oblast retiny je vysoce náchylná na degeneraci s postupujícím věkem, což může být způsobeno peroxidativním poškozením vysoce nenasycených tuků v této tkáni. Ukazuje se, že potrava bohatá na lutein a zeaxanthin působí protektivně proti vývoji této degenerace (Stratil & Kubáň 2018).

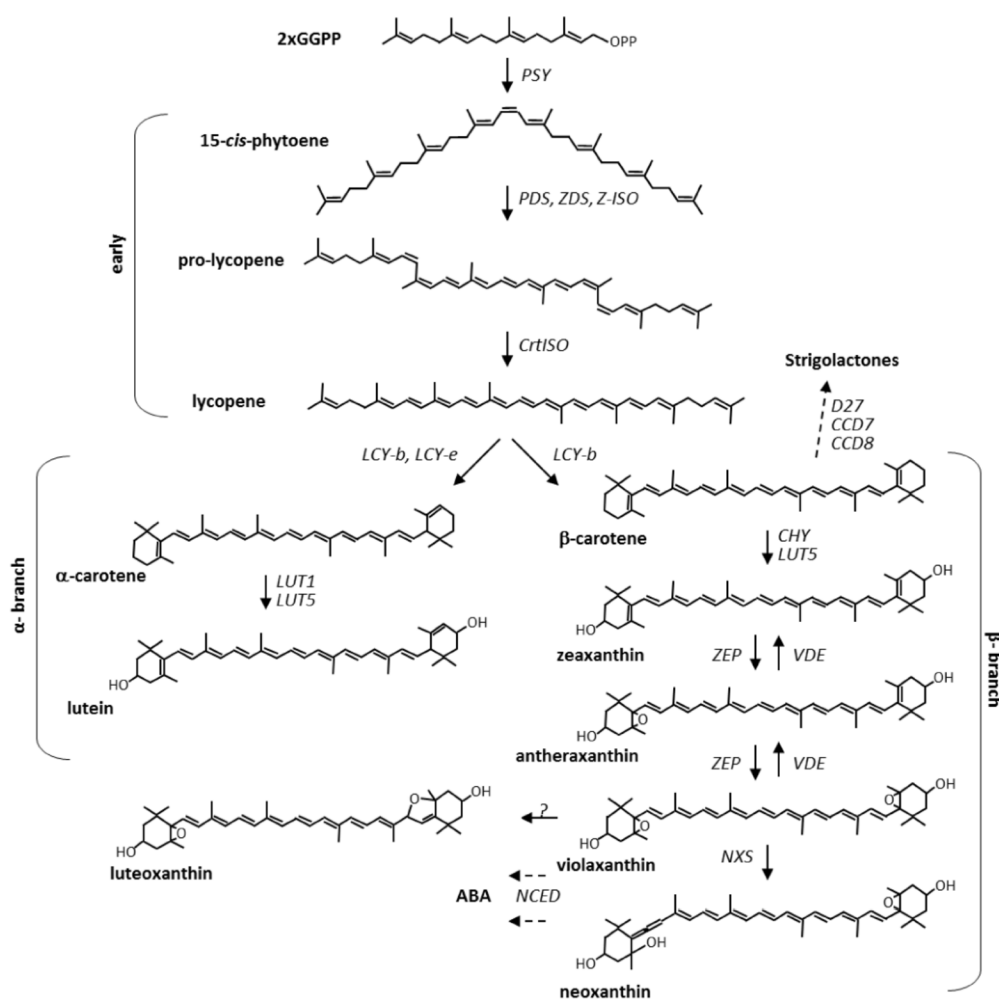
3.3.2.1 Biochemická a genetická podstata vzniku

Biosyntetické dráhy podílející se na tvorbě karotenoidů byly objasněny v 50. a 60. letech 20. století. Poté došlo na začátku 70. let ke vzniku in vitro systémů, které umožňovaly studium enzymů podílejících se na vzniku karotenoidů v organismech (Bramley 1985). Vznik molekulárně genetických metod následně usnadnil genovou izolaci a umožnil vznik studií, které prohloubily naše znalosti o biosyntéze karotenoidů, jejich regulaci a enzymech zapojených do procesu (Fraser & Bramley 2004).

Bezprostředním prekurzorem karotenoidů je geranylgeranyl pyrofosfát (GGPP). Jedná se o dvacetí uhlíkatou sloučeninu odvozenou od čtyř C5 izoprenových jednotek (Fraser & Bramley 2004). Spojením dvou molekul GGPP vznikne pre-fytoenpyrofosfát. Následnou eliminací difosfátové skupiny dojde ke vzniku fytoenu, což je bezbarvý uhlovodík obsahující tři konjugované dvojně vazby, jehož C40 kostra tvoří základ, od kterého jsou odvozeny všechny karotenoidy. Enzymy, které se podílejí na vzniku fytoenu jsou GGPP syntáza a také fytoen syntáza (PSY) (Than et al. 1971). Následnými čtyřmi desaturacemi se postupně tvoří

fytofluen, ζ -karoten, neurosporen a nakonec lykopen. Enzym, který je zodpovědný za desaturaci fytoenu na ζ -karoten se nazývá fytoen desaturáza (PSD), za desaturaci ζ -karotenu na lykopen je poté zodpovědná ζ -karoten desaturáza (Hugueney et al. 1992). Při cyklizaci karotenoidů dochází ke tvorbě šestičlenného kruhu na jednom nebo obou koncích acyklického prekurzoru, kterým je většinou lykopen. Vyskytují se dva typy cyklických koncových skupin: α - a β -ionový kruh. Tyto koncové skupiny se liší pouze polohou dvojnás vazby v cyklohexanovém kruhu a jejich vznik je závislý na povaze enzymu cyklázy (Beyer et al. 1991). Izolace z *E. coli* odhalila existenci dvou hlavních cyklázových enzymů ve vyšších rostlinách. Jedná se o lykopen- β -cyklázu (LCY-b), která vytváří β kruhy a lykopen- ϵ -cyklázu (LCY-e). Zajímavé je, že LCY-b může katalyzovat zavedení dvou β -kruhů za vzniku β -karotenu skrz δ -karoten, ale LCY-e je schopna zavést pouze jeden ϵ kruh za vzniku δ -karotenu. Na vytvoření α -karotenu se podílí jak LCY-b tak LCY-e. Vědci se domnívají, že neschopnost ϵ -cyklázy připojit více jak jeden kruh, slouží jako mechanismus kontrolující tvorbu cyklických karotenoidů (Pecker et al. 1996). Xantofyly vznikají u vyšších rostlin enzymaticky jako produkty oxidace α - a β -karotenu. Hydroxylace C-3 a C-3' pozice α - a β -karotenu vede ke tvorbě luteinu a zeaxanthinu skrz α -kryptoxanthin a β -kryptoxanthin. Zavedení hydroxylových skupin do β -kruhu je katalyzováno pomocí β -karoten hydroxyláz (CHY) (Lange & Ghassemian 2003). Ze zeaxanthinu se zavedením 5,6-epoxyskupin do 3-hydroxy- β -kruhu vytvoří violaxanthin. Tato reakce probíhá přes monoepoxidovaný meziprodukt antheraxanthin. Je to reverzní reakce a depoxidací se může violaxanthin přeměnit zpět na zeaxanthin (Fraser & Bramley 2004). Na následujícím obrázku je znázorněno schéma syntézy karotenoidů.

Obrázek 4: Schématické znázornění syntézy karotenoidů (Sulli et al. 2017).



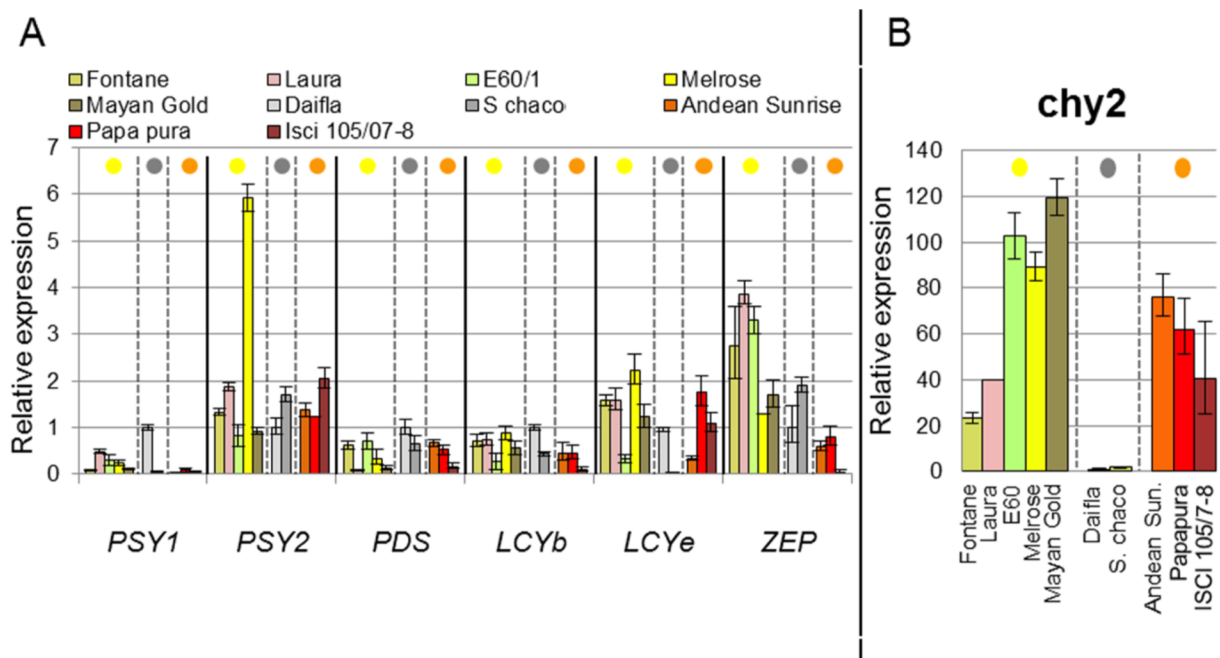
Co se týká genetické podstaty vzniku karotenoidů, tak největší vliv mají *CHY2* gen (gen pro β -karoten hydroxylázu 2) a *ZEP* gen (gen pro zeaxanthin epoxidázu). Žlutá barva dužiny hlíz závisí především na přítomnosti dominantní alely na lokusu Y (Wolters et al 2010), na tomto lokusu se nachází gen pro β -karoten hydroxylázu – *CHY2* gen (Hellmann et al. 2021). Bonierbale et al. (1988) tento lokus u bramboru poprvé zmapovali na chromozomu 3. Wolters et al. (2010) při svém výzkumu pozorovali korelaci mezi přítomností jediného haplotypu – alely 3 a žlutou barvou hlíz u velkého množství diploidních odrůd. Přičemž došli k závěru, že heterozygotnost, tedy přítomnost jedné dominantní a jedné recesivní alely genu *CHY2* je dostatečná pro žluté zbarvení, což naznačuje, že se jedná o úplnou dominanci. Toto jejich pozorování potvrzuje výsledky genetické analýzy *CHY2* genu, kterou prováděl Brown et al. (2006). Wolters et al. (2010) ve svém výzkumu také zkoumali, zda i jiné alely než alela 3 mají alespoň malý význam na barvu hlíz u tetraploidních odrůd, protože ačkoli existuje jasná korelace mezi přítomností *CHY2* alely 3 u žlutě zbarvených hlíz, tak intenzita žlutého zbarvení vykazuje značné rozdíly mezi jednotlivými odrůdami. Toto bylo také vypořádáno Brownem et al. (2006). Vypořádali čtyři hlavní alely, které se vyskytovaly s největší frekvencí a to: alela 5 (35 %), alela 3 (26 %), alela 1 (20 %) a alela 2 (13 %). Dále vypořádali čtyři minoritní alely,

kteře se vyskytovaly s velmi malou frekvencí: alela 6 (4 %), alela 10 (2 %), alela 8 (0,8 %) a alela 9 (0,3 %) a došli k závěru, že žádná z vypořovaných alel, kromě alely 3, nesouvisí se žlutou barvou hlíz a že intenzitu žlutého zbarvení ovlivňují další geny, které jsou pravděpodobně zapojeny do biosyntézy karotenoidů. Sulli et al. (2017) sledovali úroveň transkriptů několika genů, které jsou zapojené do karotenogeneze a jejich vliv na konečné zbarvení hlíz. Jednalo se o gen pro fytoenovou syntázu (*PSY1*, *PSY2*), fytoenovou desaturázu (*PDS*), β -lykopen cyklázu (*LCY-b*), ϵ -lykopen cyklázu (*LCY-e*). Výsledky ukázaly, že hladiny *PSY2* transkriptů byly vyšší než hladiny transkriptů *PSY1*, což je v souladu se zjištěními Morris et al. (2004). *PSY2* exprese byla srovnatelná u žlutých, bílých i oranžových genotypů s výjimkou odrůdy Melrose, což je odrůda se žlutou hlízou, která vykazovala výrazně vyšší množství *PSY2* transkriptů, avšak bez vlivu na celkový obsah karotenoidů. Podobně ani hladiny transkripce *PDS*, *LCY-b* a *LCY-e* neprokázaly významný vztah k akumulaci karotenoidů. Naopak jejich studie potvrzuje, že přítomnost dominantní *CHY2* alely je spojena s výrazným zvýšením exprese β -karoten hydroxylázy 2, jejíž nadměrná exprese umožňuje zvýšenou akumulaci antheraxanthinu, luteinu a violaxanthinu, tedy hlavních xantofylů, které jsou akumulovány v hlízách se žlutou dužinou, což je v souladu se skutečností, že *CHY2* působí jak v β -xantofylových (anther- a viola) drahách tak i v luteinové dráze (Sulli et al. 2017).

Za oranžovou barvu dužiny hlíz je nejvíce zodpovědný zeaxanthin, jehož množství je závislé na hladině transkriptu genu pro zeaxanthin epoxidázu (Hellmann et al. 2021). Nižší úroveň exprese genu pro zeaxanthin epoxidázu má za následek akumulaci zeaxanthinu a oranžovou barvu hlíz, na úkor antheraxanthinu, violaxanthinu a neoxanthinu, které zapřičiňují žluté zbarvení (Tanaka et al. 2008). Wolters et al. (2010) zkoumali na pěti diploidních genotypěch, které nebyly mezi sebou úzce příbuzné a které měly oranžovou barvu, složení alel genu *ZEP*. Všechny pět genotypů bylo homozygotních pro *ZEP* alelu 1, což naznačovalo, že *ZEP* alela 1 je důležitá pro oranžový fenotyp. Genetický důkaz byl získán z kosegregace v diploidní populaci, která byla analyzována jak pro alelické složení genu *ZEP*, tak i pro alelické složení genu *CHY2*. První rodič měl alely 2 a 6 pro gen *CHY2* a alely 1 a 2 pro *ZEP*. Druhý z rodičů měl stejné alelické složení pro gen *ZEP*, ale složení alel pro gen *CHY2* bylo 3 a 5. U potomstva byla získaná kombinace alel u genu *CHY2*: 2+3, 2+5, 6+3 a 6+5. U genu *ZEP* byla kombinace alel: 1+1, 1+2 a 2+2, v očekávaném poměru 1:2:1. Pouze potomstvo rostlin obsahující *CHY2* dominantní alelu (alelu 2) a které bylo recesivně homozygotní pro alelu 1 genu *ZEP*, vykazovalo oranžový fenotyp. Alelu 1 genu *ZEP* od alely 2 odlišují dva specifické rysy. Za první inzerce v pozici 4102 bp u retrotranspozonu a za druhé 49 bp delece na čtvrtém intronu. Na základě PCR testu, který se zaměřuje na identifikaci přítomnosti delece na čtvrtém intronu, objevili Sulli et al. (2017) homozygotnost pro *ZEP* alelu 1 u kultivarů s oranžovou dužinou, což se očekávalo, ale také u odrůdy Mayan Gold, která má žlutou dužinu a vykazuje nízké hladiny zeaxanthinu. K vyřešení této nesrovnalosti byly použity další dva PCR testy a výsledky ukázaly, že odrůda Mayan Gold měla pouze jednu kopii recesivní alely 1, spolu s kopií jiné alely, která vykazovala stejnou deleci 49 bp ve čtvrtém intronu, ale postrádala inzerce retrotranspozonu a díky tomu se chovala jako dominantní alela, která ve skutečnosti určovala akumulaci antheraxanthinu a luteinu a následně žlutou barvu hlíz. Römer et al. (2002)

dosáhli pomocí genetického inženýrství zvýšení hladiny zeaxanthinu v hlízách brambor, spotřebitelská akceptace GMO kultivarů je však stále velmi nízká. Použití kultivarů obsahujících ZEP alelu 1, umožňuje klasické šlechtění odrůd s oranžovou dužinou. ZEP alela 1 se ale pravděpodobně nachází pouze u *Solanum phujera*, u *Solanum tuberosum* je přítomna pouze u malého množství tetraploidních genotypů, které mají mezi svými předky právě *Solanum phujera*. Z toho vyplývá, že šlechtění tetraploidních kultivarů brambor s oranžovou dužinou a vysokým obsahem zeaxanthinu je pro šlechtitele velmi náročný úkol (Sulli et al. 2017). Na obrázku 5, je znázorněna úroveň transkriptů jednotlivých genů karotenogeneze ve zralých hlízách odrůd brambor, měřená pomocí real time PCR.

Obrázek 5: Úroveň transkriptů karotenoidních genů ve zralých hlízách měřená pomocí real time PCR (Sulli et al. 2017).



Barevné označení na vrcholu jednotlivých sloupců označuje barvu dužiny hlíz (žlutá, bílá, oranžová).

3.3.3 Vitamin C

Vitamin C neboli askorbová kyselina je jedním z velmi důležitých vitamínů rozpustných ve vodě. Většina rostlin a živočichů umí pro svoji potřebu syntetizovat vitamin C, avšak člověk spolu s primáty, morčaty a některými jinými živočichy, tuto schopnost nemá, kvůli nedostatku enzymu L-gulonolaktonperoxidasy (GLO), a proto vitamin C musí přijímat potravou případně pomocí doplňků stravy, jako esenciální látku, jejíž denní příjem by měl činit 100-120 mg. Kyselina L-askorbová (C₆H₈O₆) je trivální název vitamínu C, přičemž chemický název je 2-oxo-L-threo-hexono-1,4-lakton-2,3-endiol. Kyselina L-askorbová a kyselina dehydroaskorbová jsou hlavními dietními formami vitamínu C. V potravinových doplňcích je často používán askorbyl palmitát (vzniká esterifikací z kyseliny askorbové a kyseliny palmitové). Kyselina L-askorbová a její estery mastných kyselin se používají jako potravinářské přísady, antioxidanty, inhibitory

hnědnutí, redukční činidla, stabilizátory chuti, modifikátory těsta a stabilizátory barev (Naidu 2003).

Na trhu sice najdeme mnoho jiných potravin obsahujících více vitamínu C než brambory, avšak vzhledem k cenové dostupnosti a konzumovanému množství patří brambory mezi nejdůležitější zdroje vitamínu C v potravě (Čepl et al. 2012). Co se týká obsahu vitamínu C v bramborách, existují velké rozdíly mezi jednotlivými odrůdami a obsah se pohybuje v rozsahu 22 až 122 mg na 1 g sušiny (Burgos 2009). To zvyšuje genetický potenciál pro šlechtění odrůd brambor s vysokým obsahem askorbové kyseliny. Bylo provedeno několik pokusů zvýšit obsah vitamínu C pomocí genetického inženýrství (Hellmann 2021). Zaměření na biosyntetické cesty je nejpřímější přístup, který vede ke zvýšení obsahu vitamínu C. Například konstitutivní nadměrná exprese GDP-L-galaktosa fosforylázy u transgenních rostlin odrůdy Ranger Russet vedla ke dvou až trojnásobnému zvýšení vitamínu C v hlíze ve srovnání s kontrolními netransformovanými hlízami téže odrůdy označovanými jako WT („wild type“). Zajímavé a pro pěstitele jistě výhodné je i to, že transgenní rostliny vykazovaly větší odolnost vůči abiotickým stresovým podmínkám, vyvolanými solí, osmotickým tlakem anebo ROS (Bulley 2012).

3.3.3.1 Biochemická a genetická podstata vzniku

Biosyntéza askorbátu u savců je známá od 50. let 20. století, kdy UDP-D-glukóza, která je odvozená od glykogenu, je považována za hlavní substrát pro syntézu askorbátu de novo a jejími produkty jsou D-glukoronát, L-glukoronát a L-gulono-1,4-lakton. Tato dráha probíhá v cytosolu s výjimkou konečných kroků, ke kterým dochází v mikrozomech (ul-Hassan & Lehninger 1956).

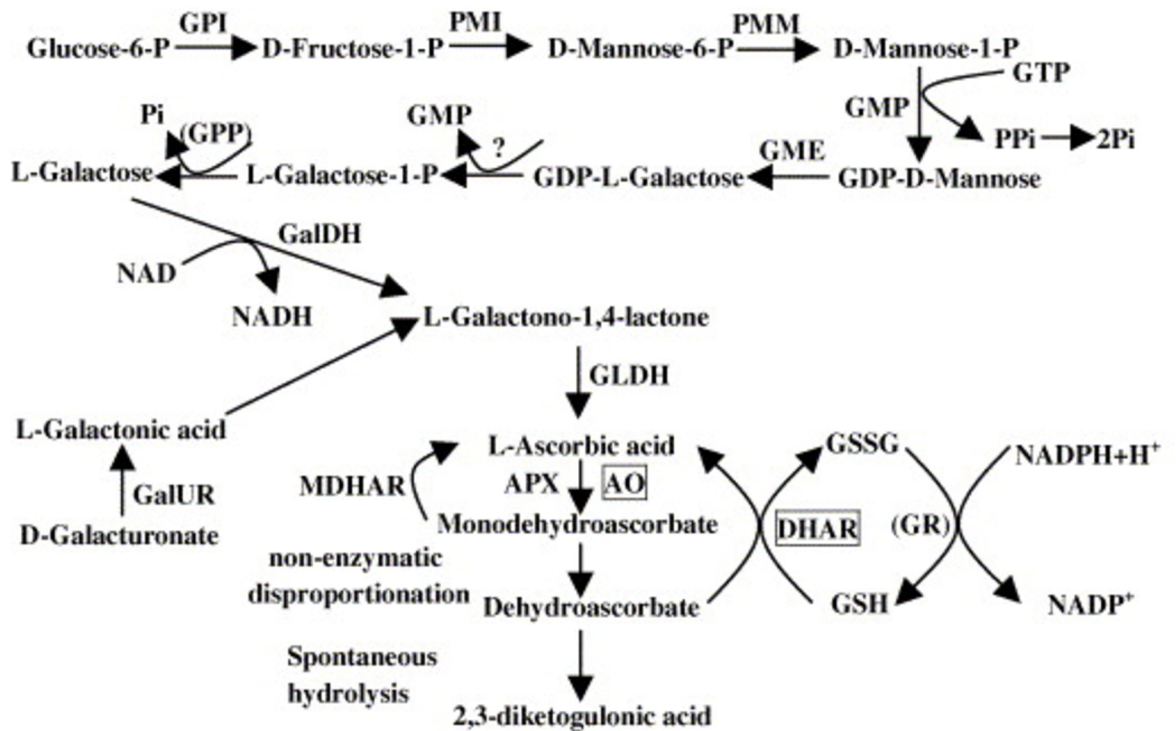
Biosyntetická dráha askorbátu v rostlinách je však odlišná. Askorbát je v rostlinách syntetizovaný pomocí oxidace L-galaktózy (L-Gal), ta vzniká z GDP-D-manózy (GDP-D-Man) přes GDP-L-galaktózu (GDP-L-Gal). Fosfomanóza isomeráza (PMI) katalyzuje první krok, ve kterém dochází k přeměně fruktóza-1-fosfátu na D-manózu-6 fosfát. Následně dochází ke konverzi D-manózy-6-fosfátu na D-manóza-1-fosfát pomocí fosfomanóza mutázy (PMM), tento fosforylovaný monosacharid je poté důležitý spolu s GTP (guanosintrifosfát) pro vznik GDP-D-manózy, což je děj katalyzovaný GDP-D-manóza pyrofosforylázou (GMP). GDP-D-manóza je následně konvertována dvojnou epimerizací na GDP-L-galaktózu, díky působení GDP-D – manóza-3,5-epimerázy (GME) (Ishikawa et al. 2006). Následně specifická L-galaktóza-1-fosfát-fosfátaza katalyzuje přeměnu GDP-L-galaktózy na L-galaktózu ta je následně oxidována na L-galakto-1,4-lakton pomocí L-galaktózo-dehydrogenázy (GalDH). Posledním krokem při biosyntéze askorbátu je následná oxidace L-galakto-1,4, laktonu na askorbovou kyselinu, což je způsobeno enzymem L-galakto-1,4-lakton dehydrogenázou (GLDH).

Další možnou cestou vzniku askorbátu v rostlinách je konverze kyseliny D-galakturonové na kyselinu L-galaktonovou pomocí reduktázy kyseliny D-galakturonové (GalUR). Kyselina L-galaktonová je poté přeměněna na L-galakto-1,4-lakton (Zou et al. 2006).

Oxidací kyseliny askorbové vzniká monodehydroaskorbát (MDHA), který je pomocí MDHA reduktázy (MDHAR) přeměněn zpět na askorbát. Pokud nedorazí rychle k redukcii

monodehydroaskorbátu na askorbát, tak se MDHA neenzymaticky disproportionuje na askorbovou kyselinu a dehydroaskorbát (DHA). DHA poté může podlehnout nevratné hydrolýze za vzniku kyseliny 2,3- diketogulonové nebo je recyklován na askorbovou kyselinu pomocí dehydroaskorbát reduktázy (DHAR), přičemž jako redukční činidlo je využíván glutathion (GSH) (Asada 1992). Vše je znázorněno na obrázku biosyntézy askorbové kyseliny v rostlinách (obrázek 6).

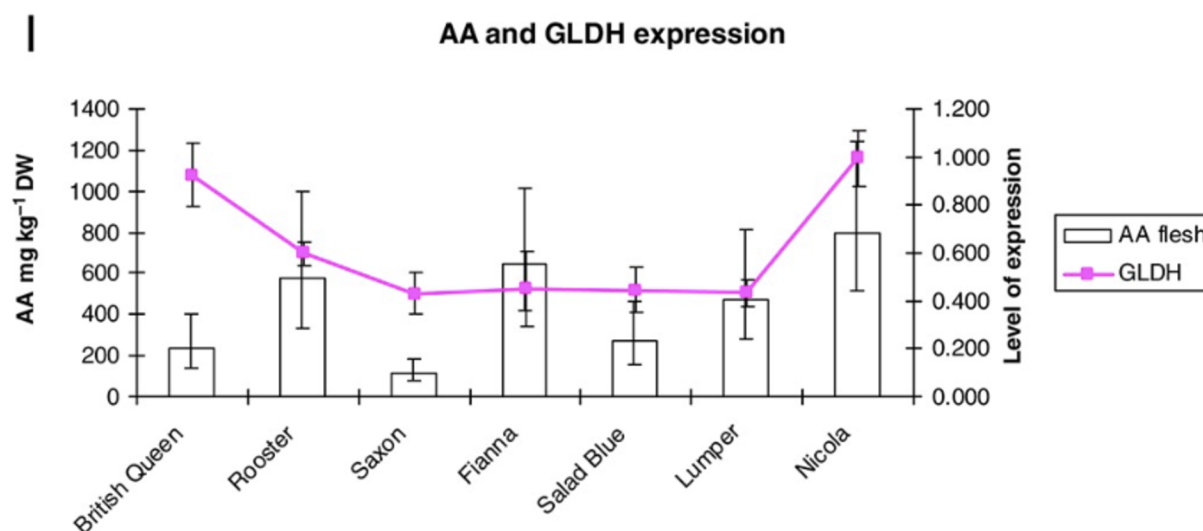
Obrázek 6: Biosyntéza a oxidace kyseliny L-askorbové (Zou et al. 2006).



Co se týče genetické podstaty vzniku v rostlinách, tak bylo doposud zkoumáno několik genů z biosyntetické dráhy askorbátu. Jedním z nejvíce prozkoumaných genů je *GLDH*, což je gen kódující konečný enzym biosyntetické dráhy L-galacto-1,4-lakton dehydrogenázu. Valcarcel et al. (2015) ve svém výzkumu zkoumali na sedmi různých odrůdách brambor korelace mezi množstvím transkriptů *GLDH* a množstvím kyseliny askorbové v dužině hlíz, přičemž množství kyseliny askorbové se pohybovalo v rozmezí 117 mg.kg⁻¹ – 798 mg.kg⁻¹. Největší expresi *GLDH* vykazoval kultivar Nicola, u kterého byly nalezeny i nejvyšší hladiny vitamínu C, podobnou expresi *GLDH* vykazoval i kultivar British Queen, avšak zajímavé je, že u tohoto kultivaru byly zjištěny mnohem nižší hladiny vitamínu C. Expresie *GLDH* během této studie obecně vykazovaly malé rozdíly mezi jednotlivými kultivary, které se však velmi lišily v množství vitamínu C, jak je znázorněno na obrázku 7. Z toho vyplývá, že mezi expresí genů *GLDH* a množstvím vitamínu C v hlízách nebyla nalezena významná korelace. K podobnému zjištění došel i Tudela et al. (2003), kteří ve svém výzkumu zkoumali korelaci mezi *GLDH* a askorbátem u čerstvých a neporušených hlíz a pak u hlíz, které byly nakrájené za čerstvého

stavu. U neporušených hlíz nenalezli korelaci, která by mohla charakterizovat vztah mezi expresí *GLDH* a množstvím metabolitu. U čerstvě nařezaných hlíz došlo po nakrájení k nárůstu *GLDH*, přičemž nejvyšší nárůst nastal 4. den skladování, kdy se v hlízách nacházelo i nejvyšší množství vitamínu C, naopak 6. den došlo k poklesu aktivity L-galakto-1,4-lakton dehydrogenázy a také ke snížení množství vitamínu C, což naznačuje, že množství vitamínu C v nakrájených hlízách, se dá alespoň částečně vysvětlit množstvím transkriptů *GLDH*.

Obrázek 7: Expresse *GLDH* a množství askorbové kyseliny (Reilly et al. 2015).



Každopádně je důležité vzít v potaz, že množství vitamínu C v rostlinách, není dáno pouze vlastní syntézou, ale také vnějším stresem, který může zvýšit množství ROS, což následně ovlivňuje míru využití a recyklace kyseliny askorbové, jakožto důležitého antioxidantu (Valcarcel et al. 2015). S recyklací kyseliny askorbové úzce souvisí enzym *DHAR* (dehydroaskorbát reduktáza). Qin et al. (2011) ve své studii zkoumali nadměrnou expresi dvou izoform *DHAR*, které se uplatňují při regulaci kyseliny askorbové v hlízách. První izoforma se nachází v cytosolu a nese označení *StDHAR1*. Druhá izoforma se nachází v chloroplastech a nese označení *StDHAR2*. Úroveň transkriptu *StDHAR1* byla nejvyšší v hlízách a nejnižší v stoncích, v listech s věkem klesala. *StDHAR2* se nachází převážně v zelených orgánech a úroveň exprese byla nejvyšší u zralých listů, zatímco u hlíz, které postrádají chloroplasty, byla velmi nízká. Aktivita *DHAR* byla následně měřena ve čtyřech transgenních liniích odvozených z odrůdy Favorite a jako kontrola byla použita netransformovaná původní odrůda označená WT („wild type“). U transgenních linií *StDHAR1* v porovnání s divokou odrůdou došlo k průměrnému zvýšení aktivity *DHAR* o 86 % ve zralých listech a o 61 % v hlízách, u transgenních linií *StDHAR2* se zvýšila aktivita *DHAR* v listech v průměru o 46 %, v hlízách nebyla pozorována žádná významnější změna. Spolu se zvýšením aktivity *DHAR* se u transgenních linií *StDHAR1* oproti WT také významně zvýšil obsah kyseliny askorbové, a to v průměru o 63 % v listech a o 26 % v hlízách. U transgenních linií *StDHAR2* se obsah oproti WT zvýšil v průměru o 46 % v listech, přičemž v hlízách nedošlo k výrazným změnám. Následující výsledky naznačují, že cytosolická exprese *DHAR* může hrát důležitou roli při regulaci obsahu

kyseliny askorbové v hlízách bramboru a že její nadměrná exprese by mohla vést ke zlepšení výživové hodnoty brambor (Qin et al. 2011).

3.3.4 Další fenolické sloučeniny

Mezi fenolické sloučeniny patří celá řada látek, včetně antokyanů, kterým je věnována vlastní kapitola (viz. 3.3.1 Antokyany). Dalšími významnými fenolickými látkami v hlízách brambor jsou fenolové kyseliny – zejména kyselina chlorogenová (CGA), které se budu v této kapitole nejvíce věnovat.

Fenoly se vyznačují tím, že mají alespoň jeden aromatický kruh a obsahují jednu nebo více hydroxylových skupin. Bylo hlášeno více než 8 000 fenolických struktur, které se nachází téměř v celé rostlinné říši, přičemž mnoho z nich se vyskytuje v potravinách. Fenoly jsou často klasifikovány podle počtu a uspořádání atomů uhlíku a běžně se vyskytují konjugované s cukry nebo organickými kyselinami. Fenoly lze rozdělit do dvou skupin, a to na flavonoidy (flavanoly, antokyanany...) a neflavonoidy (fenolové kyseliny, stilbeny...) (Crozier et al. 2009).

Flavonoidy jsou početnou skupinou sloučenin, které se nacházejí u všech cévnatých rostlin. Jsou to polyfenolové sloučeniny s obecnou strukturou C6-C3-C6, které jsou odvozeny od benzo- γ -pyranu. Flavonoidy se vyskytují jako sulfátové a metylové deriváty, konjugované s mono- a disacharidy a tvořící komplexy s oligosacharidy, lipidy, aminy, karboxylovými a organickými kyselinami (Stratil & Kubáň 2018). Hlavními podtřídami dietních flavonoidů jsou flavonoly, flavony, flavan-3-oly, antokyanidiny, flavanony, isoflavony, méně ve stravě se potom také vyskytují dihydroflavonoly, flavan-3,4-dioly, kumariny, chalkony, dihydrochalkony a aurony (Crozier et al. 2009).

Nejvýznamnější z neflavonoidů jsou fenolové kyseliny, zejména pak kyselina gallová, která je biosyntetickým prekurzorem hydrolyzovatelných taninů, hydroxycinamátů a jejich konjugovaných derivátů a stilbenů. Hlavními zdroji kyseliny gallové v lidské stravě jsou hrozny, víno, mango, zelený a černý čaj. Nejběžnějšími hydroxycinamáty jsou kyseliny p-kumarová, kávová, ferulová a sinapová. Tyto kyseliny se často vyskytují jako konjugáty, například s kyselinou chinovou, které se obecně označují jako kyselina chlorogenová (Crozier et al. 2009). Kyselina chlorogenová má mnoho cenných účinků zahrnující protizánětlivé a antioxidační účinky a mohla by také hrát důležitou roli při ovlivňování mechanismu glukózy a lipidů u geneticky podmíněných metabolických poruch (Naveed et al. 2018).

V hlízách brambor je přítomno více druhů fenolů, přičemž kyseliny kafeoylchinové, které jsou běžně známé jako kyselina chlorogenová jsou nejvíce zastoupené a tvoří až 90 % všech fenolových sloučenin v hlízách. Mezi běžné CGA v bramborách patří 5-O-kafeoylchinová (5-CQA) a její izomery 3- a 4-CQA, známé jako neochlorogenní a kryptochlorogenní kyselina (Furrer et al. 2018). Mezi další významné zdroje CGA v potravě patří čaj, bobulové ovoce, kakao, citrusové plody, jablka, hrušky a také káva (Naveed et al. 2018).

3.3.4.1 Biochemická a genetická podstata vzniku

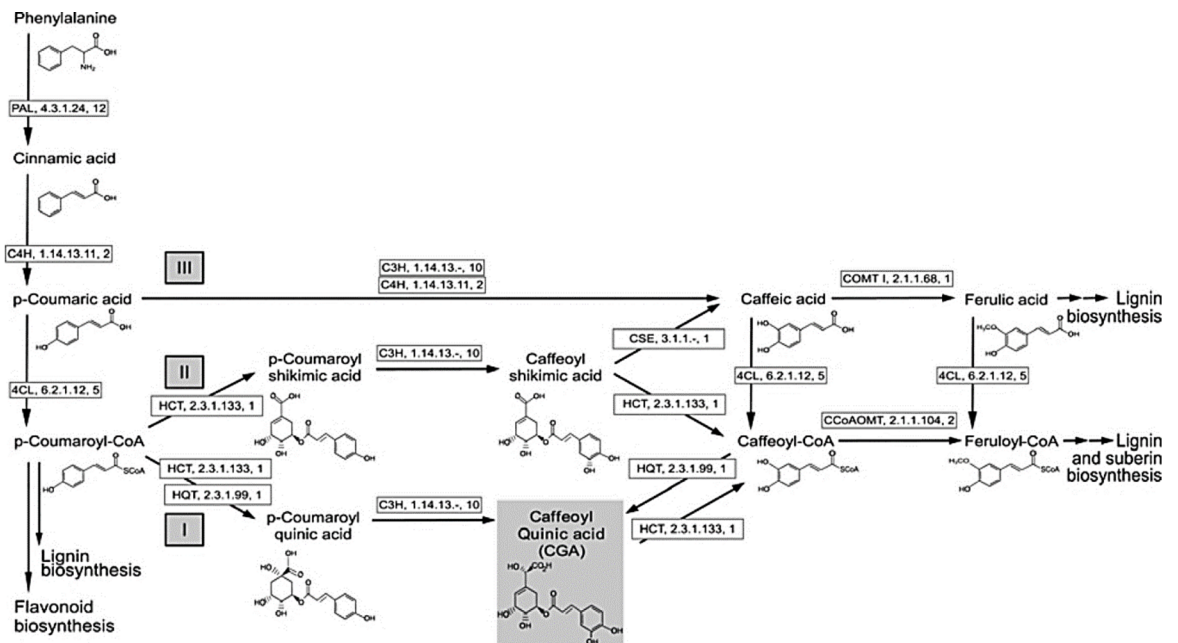
Kyselina chlorogenová a další fenolické kyseliny, jako je například kyselina kávová (CA) jsou odvozeny ze syntézy fenyylpropanoidů, mluvíme o tzv. „hlavní fenyylpropanoidové dráze“. Na začátku této dráhy dochází díky působení fenyalanin-amonia-lyázy (PAL), k přeměně fenyalaninu na skořicovou kyselinu, ta je následným působením cinamát-4-hydroxylázy (C4H) přeměněna na p-kumarovou kyselinu (CouA), která je přeměněna na p-kumaroyl-CoA působením 4-kumarát-CoA lyázy (4CL). p-Kumaroyl-CoA je obecným prekurzorem metabolismu flavonoidů, ligninu a také je to výchozí bod pro dva způsoby produkce CGA.

Při prvním způsobu (cestě I.) dochází k esterifikaci kyseliny chinonové s p-kumaroyl-CoA a následně k hydroxylaci kyseliny p-kumaroylchinové za vzniku CGA. Tato cesta vyžaduje působení buď hydroxycinnamoyl-CoA chinát transferázy (HQT) nebo hydroxycinnamoyl-CoA šikimát/chinát hydroxycinnamoyl transferázy (HCT) (Niggeweg et al. 2004).

Druhý způsob (cesta II.) vyžaduje čtyři po sobě jdoucí kroky: první krok je esterifikace kyseliny šikimové s p-kumaroyl-CoA, následuje hydroxylace p-kumaroyl šikimátu za vzniku kafeoyl-šikimové kyseliny, poté dojde k deesterifikaci za vzniku kafeoyl-CoA, ten se v posledním kroku reesterifikuje kyselinou chinovou za vzniku CGA. Také se předpokládalo, že prostřednictvím kyseliny kávové, což je druhý nejhojnější fenol v bramborách, lze také kafeoyl-CoA (a následně tedy CGA) syntetizovat z p-kumarové kyseliny. K tomu je potřeba účast p-kumarát-3-hydroxylázy (C3H) a cinamát-4-hydroxylázy (C4H), které přeměňují CouA na CA (Matsuda et al. 2005).

Na rostlinách huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) bylo také objeveno zapojení kafeoyl-šikimát-esterázy (CSE) do syntézy CA přes 4CL, čímž dochází k vynechání druhé reakce HCT, při které z kafeoyl-šikimové kyseliny vzniká kafeoyl-CoA z kterého v dalším kroku vzniká CGA. Na obrázku 6 je znázorněna biosyntéza chlorogenové kyseliny v rostlinách.

Obrázek 6: Biosyntéza chlorogenové kyseliny (Valinas et al. 2015).

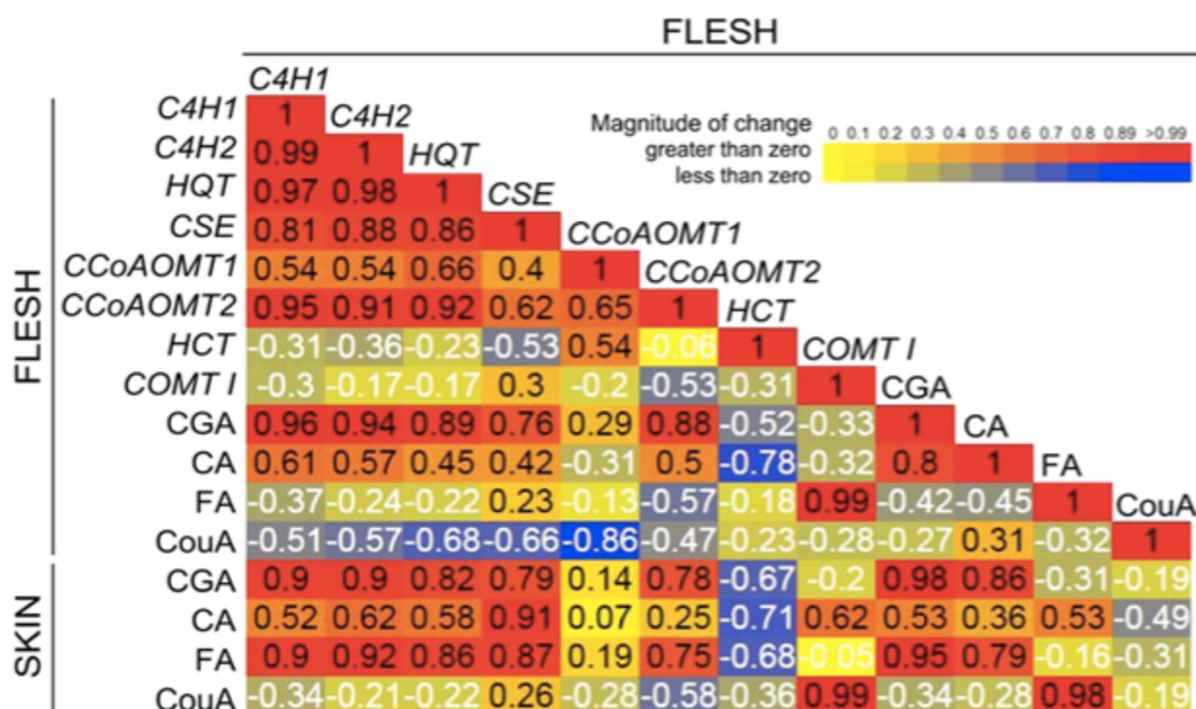


Označení I, II a III představují možné cesty, které vedou ke vzniku CGA.

Syntéza CGA je v hlízách bramboru regulována na transkripční úrovni, přičemž několik studií, které se zabývaly akumulací CGA u rostlin rodů *Solanaceae*, *Asteraceae* a *Rubiaceae* dokázalo, že úrovně transkripce následně odrážejí množství metabolitů (Jöet et al. 2010). André et al. (2009) ve svém výzkumu studovali expresi různých fenylpropanoidních genů při normálních a stresových podmínkách, které byly způsobeny suchem. Jak za normálních, tak stresových podmínek odpovídala exprese *PAL*, *HCT* a *C3H* genů množství polyfenolů, což potvrzuje, že dochází k regulaci na transkripční úrovni. Zajímavé je, že tato korelace nebyla až tak zřejmá u genu *C4H* a *HQT*, což může být způsobeno tím, že proteiny, které jsou kódovány těmito geny, mohou být kontrolovány posttranskripčně nebo posttranslačně nebo jsou do produkce polyfenolů v hlízách zapojeny i jiné geny, kromě výše zkoumaných. Valinas et al. (2015) zkoumali pomocí qRT-PCR transkripty klíčových enzymů, které jsou zapojené do syntézy CGA. U cinamát-4-hydroxylázy našli dva téměř identické geny (98 % shoda) *C4H1* a *C4H2*, přičemž *C4H2* se jevil jako pseudogen. Sekvence genomu *Solanum phujera* ukázala, že *C4H2* má jednonukleotidovou delecii, což vede k posunutí čtecího rámce. SNP (single nucleotide polymorphism = jednonukleotidový polymorfismus) analýza veřejně dostupných dat EST (expresses sequence tag), ale nemohla jednoznačně prokázat, že *C4H2* je pseudogen ve všech odrůdách *Solanum tuberosum*, což je v souladu se studií Valinas et al. (2015), ve které jimi sekvenované odrůdy také nevykazovaly zmíněnou jednonukleotidovou delecii. Těsná blízkost těchto dvou genů v *Solanum phujera* a také jejich vysoká sekvenční identita naznačují, že by tyto geny mohly procházet koordinovanou evolucí (Nei & Rooney 2005). Valinas et al. (2015) také zjistili, že úrovně transkripce genů *C4H1*, *C4H2*, *HQT* navzájem vykazují vysoké pozitivní korelace, které zároveň vysoce pozitivně korelují s hodnotami CGA v hlízách ve všech studovaných odrůdách, kromě odrůdy Voyager, která vykazovala nejvyšší úrovně transkriptů

C4H2 a *HQT*, ale pouze střední úroveň *C4H1* a *CGA*. Naopak úroveň transkripce genu *HCT* vykazuje negativní korelace téměř se všemi dalšími transkripty a metabolity. Dále také při výzkumu zjistili, že hladiny metabolitů jsou vyšší ve slupce než v dužině hlíz, což je v souladu s hladinami transkriptů, nicméně také našli korelaci mezi hladinou transkriptů v dužině a hladinou metabolitů ve slupce hlíz, což naznačuje, že může docházet k transportu metabolitů z dužiny směrem k povrchu. V souladu s touto domněnkou, pozorovali vysoké korelace mezi úrovní transkripce genů *C4H1*, *C4H2* a *HQT* v dužině a mezi hladinou *CGA* ve slupce (obrázek 7).

Obrázek 7: Korelační analýza úrovně transkriptů a metabolitů v dužině (flesh) a slupce (skin) (Valinas et al. 2015).



Pearsonovy korelační analýzy hladin transkriptů a metabolitů u čtyř z pěti původně vybraných odrůd. Údaje odrůdy Voyager nebyly zahrnuty, protože tento kultivar vykazuje odlišné chování, které by mohlo zabránit detekci jiných trendů.

Zajímavé je, že Valinas et al. (2017) došli ve své další studii k závěru, že *HQT* pozitivně nekoreluje s hladinami *CGA*, jak tomu obvykle bývá a jak tomu bylo i v jeho předcházející studii. Ani v kultivaru Santa Maria, kde byly nalezeny vysoké hladiny *CGA* a *HCT* a nízké hladiny *HQT*. André et al. (2009) také ve své studii našli lepší korelaci mezi *CGA* a úrovní transkriptu *HCT* než *HQT*. To by mohlo být vysvětleno například tím, že *HQT* vykazuje duální katalytickou aktivitu, která byla nalezena u rajčat (Moglietta et al. 2014). Bylo prokázáno, že při nízkém pH a vysoké koncentraci *CGA*, což jsou podmínky, které se vyskytují v rostlinných vakuolách, *HQT* syntetizuje dichlorogenát (*diCGA*). V souladu s tím se ukázalo, že *HQT* se nachází u rostlin jak ve vakuolách, tak v cytoplazmě, což podporuje myšlenku, že tento enzym katalyzuje různé reakce ve dvou buněčných oddílech. Není známo, zda *CGA* a *diCGA* jsou syntetizovány pomocí

HQT současně nebo jestli dojde nejdříve k syntéze CGA a poté diCGA (Valinas et al. 2017). Navarre et al. (2013) ve své studii zjistili, že hladiny CGA během vývoje hlíz klesají, ale hladiny diCGA rostou. Tento jejich výsledek může naznačovat, že syntézy CGA a diCGA probíhají současně, což by vysvětlovalo, proč hladiny *HQT* neodráží množství CGA (Navarre et al. 2013).

4 Závěr

Antioxidanty jsou látky, které chrání buňky před působením volných radikálů a které se vyskytují v celé řadě potravin převážně rostlinného původu. Shromážděním dostatečného množství vědeckých článků, vznikla tato rešerše, která byla věnovaná antioxidantům v hlízách bramboru, tedy v potravině, která tvoří značnou část jídelníčku lidí po celém světě.

U brambor patří mezi nejvýznamější antioxidanty zejména polyfenoly, antokyany, karotenoidy a vitamin C. V menší míře se dále v hlízách nalézá α -tokoferol, selen a α -lipoová kyselina. Klíčové pro vznik antioxidantů a dalších významných látek v hlízách jako je třeba škrob či bílkoviny je především genetické pozadí.

Vzhledem ke zvyšujícímu se výskytu onemocnění, které souvisí mimo jiné se špatným životním stylem, který může vést ke vzniku volných radikálů, byla v posledních několika letech věnována velká pozornost vzniku antioxidantů v zemědělských plodinách. Tato pozornost byla zejména směřována na genetické pozadí vzniku a na možnosti využití těchto poznatků při šlechtění odrůd s vyšším obsahem antioxidantů za využití transgenoz. Nutno ovšem podotknout, že GMO potraviny nejsou širokou veřejností vnímány kladně a že do budoucna by bylo vhodné spotřebitelům více vysvětlit, co genetická modifikace organismů obnáší a zda hrozí konzumentům těchto potravin zdravotní rizika či nikoliv.

V posledních několika letech došlo k velkému pokroku při výzkumu genetického pozadí vzniku antioxidantů i jiných významných látek v mnoha rostlinách včetně brambor. Avšak stále zde zůstává mnoho otázek, kterými by se budoucí studie této problematiky měly zabývat. Zároveň by bylo vhodné dostat do jídelníčku obyvatelstva větší množství modře a červeně zbarvených odrůd brambor, které ve studiích dosahovaly až 3x vyšší antioxidační kapacity než bělomasé či žlutomasé odrůdy.

5 Literatura

André CM, Schafleitner R, Legay S, Lefevre I, Aliaga CAA, Nomberto G, Hoffmann L, Hausman JF, Larondelle Y, Evers D. 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry* **70**: 1107-1116.

Arteni AA, Fradot M, Galzerano D, Mendes-Pinto MM, Sahek JAPicaud S, Robert B, Pascal 2015. Structure and Conformation of the Carotenoids in Human Retinal Macular Pigment. *PLoS ONE* **10**: e0135779.

Asada K. 1992. Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum* **85**: 235-241.

Augustin J. 1975. Variations in the nutritional composition of fresh potatoes. *Journal of Food Science* **40**: 1295-1299.

Betteridge DJ. 2000. What is oxidative stress? *Metabolism* **49**: 3-8.

Beyer P, Kröncke U, Nievelstein V. 1991. On the mechanism of the lycopene isomerase/cyclase reaction in *Narcissus pseudonarcissus* L. chromoplasts. *Journal of biological chemistry* **266**: 17072-17078.

BfR. 2018. Solanine in potatoes: Green and strongly germinating potato tubers should be sorted out. BfR. Available from <https://www.bfr.bund.de/en/press-information/2018/15/solanine-in-potatoes-green-and-strongly-germinating-potato-tubers-should-be-sorted-out-204286.html> (accessed August 2021).

Birt DF, et al. 2013. Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *Advances in Nutrition* **4**: 587–601. <https://doi.org/10.3945/an.113.004325>.

Bonierbale MW, Plaisted RL, Tanksley SD. 1988. RFLP maps based on a common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics* **120**: 1095-1103.

Bramley PM. 1985. The in Vitro Biosynthesis of Carotenoids. *Advances in Lipid Research* **21**: 243-279.

Brdíčková V. 2020. Draslík: Pro správnou funkci nervů, svalů a srdce. *Lékarna.cz*. Available from <https://www.lekarna.cz/clanek/draslik/> (accessed August 2021).

Brown CR, Kim TS, Ganga Z, Haynes K, De Jong D, Jahn M, Paran I, De Jong W. 2006. Segregation of total carotenoid in high level potato germplasm and its relationship to beta-carotene hydroxylase polymorphism. *American Journal of Potato Research* **83**: 365-372.

Brown CR. 2008. Breeding for Phytonutrient Enhancement of Potato. *American Journal of Potato Research* **85**: 298-307.

Buckenhüskes HJ. 2005. Nutritionally relevant aspects of potato constituents. Pages 17-45 in Haverkort AJ, Struik PC, editors. *Potato in progress: Science Meets Practice*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.

Bulley S, Wright M, Rommens C, Yan H, Rassam M, Lin-Wang K, Andre C, Brewster D, Karunaitnam S, Allan AC. 2012. Enhancing ascorbate in fruits and tubers through over-expression of the l-galactose pathway gene GDP-l-galactose phosphorylase. *Plant Biotechnology* **10**:390-397.

Buonocore G, Perrone S, Tataranno ML. 2010. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Seminars in fetal and neonatal medicine* **15**: 186-119.

Burgos G, Auqui S, Amoros W, Salas E, Bonierbale M. 2009. Ascorbic acid concentration of native Andean potato varieties as affected by environment, cooking and storage. *Journal of Food Composition and Analysis* **22**:533-538.

Camire ME, Kubow S, Donnelly DJ. 2009. Potatoes and Human Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **49**: 823-840.

Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability, and effects on health. *Natural Product Reports* **26**: 1001-1043.

Čepl J. 2008. *Brambory – zdravá potravina*. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., Havlíčkův Brod.

Čepl J. 2009. *Konzumní brambory na poli, zahradě a v kuchyni*: Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., Havlíčkův Brod.

Čepl J, Červínová E, Čížek M, Domkářová J, Exnarová J, Greplová M, Hausvater E, Krpálková A, Vokál B, Záškodová J. 2012. *Máme rádi brambory: proč jsou brambory zdravé, jak je správně nakupovat i pěstovat, úspěšné projekty PRV a několik osvědčených receptů*. Ministerstvo zemědělství České republiky, Praha.

ČSÚ (Český statistický úřad).2014. Stanou se brambory „citlivou komoditou“?. ČSÚ. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/51004871e8> (accessed June 2021).

ČSÚ (Český statistický úřad).2020. Osevní plochy zemědělských plodin k 31.5.ČSÚ. Available from <https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02A&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM02A&evo=v539 ! ZEM02A-2020 1> (accessed June 2021).

D'amelia V, Aversano R, Batelli G, Caruso L, Castellano Moreno M, Castro-Santz AB, Chiaiese P, Fasano C, Palomba F, Carputo D. 2014. High AN1 variability and interaction with basic helix-loop-helix co-factors related to anthocyanin biosynthesis in potato leaves. *Plant Journal* **80**: 527-540.

De Jong WS, De Jong DM, De JH, Kalazich J, Bodis M.2003. An allele of dihydroflavonol 4-reductase asociated with the ability to produce red anthocyanin pigments in potato (*Solanum Tuberosum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **107**: 1375-1383.

EFSA. 2015. Acrylamide in food is a public health concern. EFSA. Available from <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/150604> (accessed August 2021).

Ezekiel R, Singh N, Sharma S, Kaur A.2011. Beneficial phytochemicals in potato- a review. *Food Research international* **50**:487-496.

Fraser PD, Bramley PM.2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in lipid Research* **43**: 228-265.

Furrer AN, Chegeni M, Ferruzzi MG. 2018. Impact of potato processing on nutrients, phytochemicals, and human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **58**: 146-168.

Galliard T. 1973. Lipids of potato tubers. 1. Lipid and fatty acid composition of tubers from different varieties of potato. Pages 617–622 in Furrer AN, Chegeni M, Ferruzzi MG. 2018. Impact of potato processing on nutrients, phytochemicals, and human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **58**: 146-168. DOI: 10.1080/10408398.2016.1139542.

Grotewold E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 761-780.

Halliwell B. 1989. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *The British journal of experimental pathology* **70**: 737-757.

Holton T, Cornish EC.1995. Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. *The Plant Cell* **7**: 1071-1083.

Ul-Hassan M, Lehninger AL. 1956. Enzymatic formation of ascorbic acid in rat liver extracts. *Journal of Biological Chemistry* **223**: 123-138.

Haverkort AJ, Struik PC. 2005. *Potato in progress: Science meets practice*. Wageningen Academic Publisher, Wageningen.

Hellmann H, Goyer A,Navarre DA.2021. Antioxidants in Potatoes: A Functional View on One of the Major Food Crops Worldwide.*Molecules* **26**: 2446.

Hijmans RJ, Spooner DM. 2001. Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany* **88**:2101–2112. in Zaheer K, Akhtar MH. 2016. Potato Production, Usage, and Nutrition—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**: 711-721. DOI: 10.1080/10408398.2012.724479 .

Higgins JA. 2004. Resistant Starch: Metabolic Effect and Potential Health Benefits. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **87**: 761-768.

Horáková P. 2020. Vitamín C: Proč se bez něj neobejdeme. *Lékarna.cz*. Available from <https://www.lekarna.cz/clanek/vitamin-c/> (accessed August 2021).

Hugueney P, Römer S, Kuntz M, Camara B. 1992. Characterization and molecular cloning of a flavoprotein catalyzing the synthesis of phytofluene and ζ-carotene. in *Capsicum* chromoplasts. *European Journal of biochemistry* **209**:399-407.

Ishikawa T, Dowdle J, Smirnoff N. 2006. Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants. *Physiologia Plantarum* **126**: 343-355.

Jöet T, Salmona J, Laffargue A, Descroix F, Dussert F.2010. Use of the growing environment as a source of variation to identify the quantitative trait transcripts and modules of co-expressed genes that determine chlorogenic acid accumulation. *Plant,Cell & Environment* **33**: 1220-1233.

Jung CS, Griffiths HM, Jong DMD, Cheng S, Bodis M, Kim TS, De Jong WS.2009. The potato developer (D) locus encodes an R2R3 MYB transcription factor that regulates expression of multiple anthocyanin structural genes in tuber skin. *Theoretical and Applied Genetics* **120**: 45-57.

Kärenlampi SO, White PJ. 2009. Chapter 5- Potato proteins, lipids, and minerals. Pages 99-125 in Singh J, Kaur L. Editors. *Advances in Potato Chemistry and Technology*. Academic Press, San Diego.

Kasper H. 2004. *Ernährungsmedizin und Diätetik (Nutritional medicine and dietetics)*. Elsevier, Mnichov.

Kim SH, Lee JR, Hong ST, Yoo YK, An G, Kim SR. 2003. Molecular cloning and analysis of anthocyanin biosynthesis genes preferentially expressed in apple skin. *Plant Science* **165**: 403-413.

King CJ, Slavin JL. 2013. White Potatoes, Human Health, and Dietary Guidance. *Advances in Nutrition* **4**: 393–401. <https://doi.org/10.3945/an.112.003525>

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

Lachman J, Hamouz K, Orsák M, Kotíková Z. 2016. Carotenoids in potato-short overview. *Plant, soil and environment* **62**: 474-481.

Lange MB, Ghassemian M. 2003. Genome organization in *Arabidopsis thaliana*: a survey for genes involved in isoprenoid and chlorophyll metabolism. *Plant molecular biology* **51**: 925-948.

Lewis CE, Walker JRL, Lancaster JE, Sutton KH. Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes. I: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L. 1998. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **77**: 45-57.

Li W, Wang B, Wang M, Chen M, Yin JM, Murtaza Kaleri G, Zhang RJ, Zuo TN, You X, Yang Q. 2014. Cloning and characterization of a potato StAN11 gene involved in anthocyanin biosynthesis regulation. *Journal of Integrative Plant Biology* **56**: 364-372.

Liu Y, Lin-Wang K, Deng C, Warran B, Wang B, Yu B, Yang H, Wang J, Espley RE, Zhang J, Wang D, Allan AC. 2015. Comparative Transcriptome Analysis of White and Purple Potato to Identify Genes Involved in Anthocyanin Biosynthesis. *PLoS ONE* **10** (e0129148) DOI: 10.1371/journal.pone.0129148.

Liu Y, Lin-Wang K, Espley RV, Wang L, Yang H, Yu B, Dare A, Varkonyi-Gasic E, Wang J, Zhang J, Wang D, Allan AC. 2016. Functional diversification of the potato R2R3 MYB anthocyanin activators AN1, MYBA1, and MYB113 and their interaction with basic helix-loop-helix cofactors. *Journal of Experimental Botany* **67**: 2159-2176.

Lu QN, Yang Q.2006. cDNA cloning and expression of anthocyanin biosynthetic genes in wild potato (*Solanum pinnatisectum*). *African Journal of Biotechnology* **5**: 811-818.

Lykkesfeldt J, Michels AJ, Frei B. 2014. Vitamin C. *Advances in Nutrition* **5**: 16-18.

Matsuda F, Morino K, Ano R, Kuzawa M, Wakasa K, Miyagawa H. 2005. Metabolic flux analysis of the phenylpropanoid pathway in elicitor-treated potato tuber tissue. *Plant and Cell Physiology* **46**: 454-466.

Morris W, Ducreux L, Griffiths D, Stewart D, Davies H, Taylor M.2004. Carotenogenesis during tuber development and storage in potato. *Journal of experimental botany* **55**: 975-982.

Naidu KA.2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal* **2**:2-7.

Navarre DA, Payyavula RS, Shakya R, Knowles NR, Pillay SS. 2013. Changes in potato phenylpropanoid metabolism during tuber development. *Plant Physiology and Biochemistry* **65**: 89-101.

Naveed M, Hejazi V, Abbas M, Kamboh AA, Khan GJ, Shumzaid M, Ahmad F, Babazadeh D, FangFang X, Modarresi-Ghazani F, WenHua L, XiaoHui Z. 2018. Chlorogenic acid (CGA) : A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **97**: 67-74.

Nei M, Rooney APOD.2005. Concerted and birth-and-death evolution of multigene families. *Annual Review of Genetics* **39**: 121-152.

Niggeweg R, Michael AJ, Martin C.2004. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nature Biotechnology* **22**: 746-754.

Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. 2007. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological reviews* **87**: 315-424.

Pecker I, Gabbay R, Cunningham FX, Hirschberg J.1996. Cloning and characterization of the cDNA for lycopene β -cyclase from tomato reveals decrease in its expression during fruit ripening. *Plant molecular biology* **30**: 807-819.

Pedreschi F, Zuniga R. 2009. Acrylamide and oil reduction in fried potatoes: A review. *Food* **3**: 82-92.

Priestley H. 2006. How to think like consumers...and win! Pages 189–198 in Haase NU, Haverkort AJ. editors. Potato developments in a changing Europe. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.

Qin A, Shi Q, Xianchang Y. 2011. Ascorbic acid contents in transgenic potato plants overexpressing two dehydroascorbate reductase genes. *Molecular Biology Reports* **38**: 1557-1566.

Rahman K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging* **2**: 219-236.

Rahman T, Hosen I, Islam MMT, Shekhar HU. 2012. Oxidative stress and human health. *Advances in bioscience and biotechnology* **3**: 23.

Römer S, Lübeck J, Kauder F, Steiger S, Adomat C, Sandmann G. 2002. Genetic Engineering of a Zeaxanthin-rich Potato by Antisense Inactivation and Co-suppression of Carotenoid Epoxidation. *Metabolic engineering* **4**: 263-272.

Salaman RN. 1910. The inheritance of colour and other characters in potato. *Journal of genetics* **1**: 7-46.

Slavík B, et al. 2000. Květena České republiky 6. Academia, Praha.

Stratil P, Kubáň V. 2018. Reaktivní kyslíkové radikály, přírodní antioxidanty a jejich zdravotní účinky. 2 Theta, Český Těšín.

Štípek S, et al. 2000. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada, Praha.

Sulli M, Mandolino G, Sturaro M, Onofri C, Diretto G, Parisi B, Giuliano G. 2017. Molecular and biochemical characterization of a potato collection with contrasting tuber carotenoid content. *PLoS ONE* **12**: e0184143.

Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant Journal* **54**: 733-749.

Than A, Bramley PM, Davies BH, Rees AF. 1971. Stereochemistry of phytoene. *Phytochemistry* **11**: 3187-3192.

Tudela JA, Hernández JA, Gil MI, Espín JC. 2003. *l*-Galactono- γ -lactone dehydrogenase activity and vitamin C content in fresh-cut potatoes stored under controlled atmospheres. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 4296-4302.

Valcarcel J, Reilly K, Gaffney M, O'Brien N. 2015. Total Carotenoids and L-ascorbic acid in 60 varieties of potato (*Solanum tuberosum* L.) grown in Ireland. *Potato Research* **58**:29-41

Valinas MA, Lanteri ML, ten Have A, Andreu AB. 2015. Chlorogenic Acid Biosynthesis Appears Linked with Suberin Production in Potato Tuber (*Solanum tuberosum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**: 4902-4913.

Valcarcel J, Reilly K, Gaffney M, O'Brien N. Levels of potential bioactive compounds including carotenoids, vitamin C and phenolic compounds, and expression of their cognate biosynthetic genes vary significantly in different varieties of potato (*Solanum tuberosum* L.) grown under uniform cultural conditions. *Journal of the Science of food and Agriculture* **96**: 1018-1026.

Valinas MA, Lanteri ML, ten Have A, Andreu AB. 2017. Chlorogenic acid, anthocyanin and flavan-3-ol biosynthesis in flesh and skin of Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* subsp. *Andigena*). *Food Chemistry* **229**: 837-846.

Valko M, Liebfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology* **39**: 44-84.

Vokál B, Čepel J, Hausvater E, Rasocha V. 2003. *Pěstujeme brambory*. Grada, Praha.

Vokál B, et al. 2013. *Brambory: šlechtění, pěstování, užití, ekonomika*. Profi Press, Praha.

Vreugdenhil D, Bradshaw J. 2007. *Potato biology and biotechnology: advances and perspectives*. Elsevier, San Diego.

Weaver CM. 2013. Potassium and Health. *Advances in Nutrition* **4**: 368-377.

White PL, Bradshaw JE, Finlay M, Dále B, Ramsay G, Hammond JP, Broadley MR. 2009. Relationships Between Yield and Mineral Concentration in Potato Tubers. *HortScience* **44**: 6-11.

Wolters AM, Uitdewilligen JGAML, Kloosterman BA, Hutten RCB, Visser RGF, van Eck HJ. 2010. Identification of alleles of carotenoid pathway genes important for zeaxanthin accumulation in potato tubers. *Plant Molecular Biology* **73**: 659-671.

Woolfe J, Poats SV. 1987. *The Potato in the Human Diet*. Cambridge University Press, Cambridge.

Zaheer K, Akhtar MH. 2016. Potato Production, Usage, and Nutrition—A Review. *Food Science and Nutrition* **56**: 711-721.

Zhang H, Yang B, Liu J, Guo D, Hou J, Chen S, Song B, Xie C. 2017. Analysis of structural genes and key transcription factors related to anthocyanin biosynthesis in potato tubers. *Scientia Horticulturae* **225**: 310-316.

Zou L, Li H, Ouyang B, Zhang J, Ye Z. 2006. Cloning and mapping of genes involved in tomato ascorbic acid biosynthesis and metabolism. *Plant Science* **170**: 120-127.

Žižka J. 2020. Situační a výhledová zpráva brambory. Ministerstvo zemědělství, Praha.

6 Seznam použitých zkratek

3GT	antokyanidin-3-O-glukosyltransferáza
4CL	4-kumarát-CoA-lyáza
AMK	aminokyselina
ANS	antokyanidin-syntáza
bHLH	basic helix-loop-helix
C3H	p-kumarát-3-hydroxyláza
C4H	cinamát-4-hydroxyláza
CA	kyselina kávová
CGA	kyselina chlorogenová
CHI	chalkonizomeráza
CHS	chalkonsyntáza
CHY	β -karoten-hydroxyláza
CHY2	β -karoten-hydroxyláza 2
CouA	p-kumarová kyselina
CSE	kafeoyl-šikimát-esteráza
ČSÚ	Český statistický úřad
DHA	dehydroaskorbát
DFR	dihydroflavonol-4-reduktáza
DHK	dihydrokaemferol
DHM	dihydromyricetin
DHQ	dihydrokvercertin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
F3H	flavanon-3-hydroxyláza
F3'H	flavonoid-3'-hydroxyláza
F3'5'H	flavonoid-3',5'-hydroxyláza
GalDH	L-galaktózo-dehydrogenáza
GDP-D-Man	GDP-D-Man
GDP-L-Gal	GDP-L-galaktóza
GGPP	geranylgeranyl-pyrofosfát
GLDH	L-galakto-1,4-lakton-dehydrogenáza
GLO	L-gulonolaktonperoxidáza
GME	GDP-D-manóza-3,5-epimeráza
GMO	geneticky modifikovaný organismus
GMP	GDP-D-manóza-pyrofosforyláza
GSH	glutathion
GST	glutathion-S-transferáza
GTP	guanosintrifosfát
HCT	hydroxycinnamoyl-CoA-šikimát/chinát-hydroxycinnamoyl -transferáza
HQT	hydroxycinnamoyl-CoA-chinát-transferáza

LCY-b	lykopen- β -cykláza
LCY-e	lykopen- ϵ -cykláza
L-Gal	L-galaktóza
MT	methyltransferáza
MDHA	monodehydroaskorbát
MDHAR	monodehydroaskorbát-reduktáza
NOAEL	no observed adverse effect level
NOS	reactive nitrogen species
PAL	fenylalanin-amoniá-lyáza
PCR	polymerázová řetězcová reakce
PMI	fosfomanóza-isomeráza
PMM	fosfomanóza-mutáza
PSD	fytoen-desaturáza
PSY	fytoen-syntáza
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	reactive oxygen species
SOD	superoxid dismutáza
UV	ultrafialové záření
WDR	WF40-repeat
WT	„wild type“
ZEP	zeaxanthin-epoxidáza

