

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Majoritní fenolové sloučeniny v listech jakonu

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Kristina Heřmanová

Obor studia: Výživa a potraviny

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

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

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

V Praze dne 9.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce, věnovaný čas, ochotu a vždy příjemný přístup. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, příteli a ostatním kamarádům za podporu při vypracování mé diplomové práce a během celého studia.

Majoritní fenolové sloučeniny v listech jakonu

Souhrn

Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) [(Poepp. & Endl.) H. Robinson] je vytrvalá bylina pocházející z Jižní Ameriky patřící do čeledi hvězdnicovitých. V oblasti And se používá již od předkolumbovských dob. Díky nízkým kalorickým hodnotám jeho kořenů a funkčním vlastnostem extraktů z jeho listů se však stále více pěstuje po celém světě. Je známo, že listy jakonu obsahují významné množství flavonoidů, fenolových kyselin a seskviterpenových laktonů, díky čemuž jsou významným zdrojem biologicky aktivních látek. Extrakty ze sušených jakonových listů vykazují antioxidační, protizánětlivé, antimikrobiální, protinádorové, antiparazitární, analgetické a kardiotonické vlastnosti. Mají také schopnost zachycovat volné radikály. Díky těmto vlastnostem může pravidelná konzumace jakonových listů pomoci předcházet kardiovaskulárním onemocněním, určitým typům rakoviny, hypoglykémii nebo zažívacím obtížím.

Předmětem experimentální části této diplomové práce bylo stanovit množství celkových polyfenolů a fenolových kyselin v jednotlivých klonech listů jakonu ze sbírky Fakulty tropického zemědělství ČZU v Praze. Dalším záměrem bylo porovnat obsah celkových polyfenolů s obsahem fenolových kyselin v jednotlivých klonech. Na samotnou analýzu bylo použito 25 klonů jakonu původem z Peru, Bolívie a Ekvádoru. K vlastnímu stanovení obsahu celkových polyfenolových sloučenin byla použita spektrofotometrická analytická metoda. Zastoupení fenolových kyselin bylo detekováno vysokoučinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Výsledné hodnoty byly vyhodnoceny v programu Statistica 12.

Bylo zjištěno, že všechny klony jakonu obsahují značné množství polyfenolů i fenolových kyselin, jejichž množství se pohybovalo v širokém rozmezí. Obsah celkových polyfenolů byl stanoven od 7314 do 33092 $\mu\text{g GAE/g}$ sušiny, přičemž největší množství bylo zjištěno u klonu PER 13 a nejnižší u klonu ECU 44. Množství fenolových kyselin se pohybovalo od 172 do 2706 $\mu\text{g/g}$ sušiny. Nejbohatším klonem zde byl ECU 40 a naopak nejchudším BOL 21. Majoritní kyselinou klonů byla chlorogenová kyselina. Statistické vyhodnocení potvrdilo, že se obsah celkových polyfenolů i fenolových kyselin lišil v jednotlivých klonech listů jakonu. Naopak těsnou závislost mezi obsahem celkových polyfenolů a obsahem fenolových kyselin nebylo možné statisticky potvrdit. Mezi obsahy skutečně existovala závislost, konkrétně středně silná. Nicméně z výsledků vyplývá, že celkové polyfenoly tvořilo pouze 18,5 % fenolových kyselin. Zjištěné hodnoty ve většině případů odpovídaly výsledkům deklarovaným v literatuře. Vztah mezi obsahem celkových polyfenolů a fenolových kyselin nebyl však dosud předmětem zájmu mnoha studií.

Nebylo tedy prokázáno, že by fenolové kyseliny tvořily většinu celkových polyfenolů, přesto však díky své silné antioxidační aktivitě významně přispívají k léčivým účinkům jakonu.

Klíčová slova: Folin-Ciocalteuovo činidlo; gallová kyselina; HPLC; polyfenoly; spektrofotometrie

Major phenolic compounds in yacon leaves

Summary

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) [(Poepp. & Endl.) H. Robinson] is a herbaceous perennial plant native to South America belonging to Asteraceae family. It has been used in the Andean region since pre-Columbian times. However, due to the low caloric values of its roots and the functional properties of extractions of its leaves, it is increasingly grown worldwide. Yacon leaves are known to contain significant amounts of flavonoids, phenolic acids and sesquiterpene lactones, making them an important source of bioactive compounds. Extracts of dried yacon leaves present a variety of pharmacological activities, including antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial, in addition to free radical scavenging, antitumor, antiparasitic, analgesic and cardiogenic properties. Thanks to these properties, regular consumption of yacon leaves can help prevent cardiovascular disease, certain types of cancer, hypoglycemia or digestive problems.

The subject of the experimental part of this diploma thesis was to determine the amount of total polyphenols and phenolic acids in individual clones of yacon leaves from the collection of the Faculty of Tropical AgriSciences of the Czech University of Life Sciences in Prague. Another aim was to compare the content of total polyphenols with the content of phenolic acids in individual clones. For the analysis itself, 25 yacon clones native to Peru, Bolivia and Ecuador were used. A spectrophotometric analytical method was used to determine the content of total polyphenolic compounds. The presence of phenolic acids was detected by high performance liquid chromatography (HPLC). The resulting values were evaluated using Statistica 12 software.

All yacon clones were found to contain significant amounts of both polyphenols and phenolic acids, which ranged widely. The content of total polyphenols was determined from 7314 to 33092 GAE/g dry matter, with the highest amount found in clone PER 13 and the lowest in clone ECU 44. The amount of phenolic acids ranged from 172 to 2706 $\mu\text{g/g}$ dry matter. The richest clone here was ECU 40 and, conversely, the poorest was BOL 21. The major acid of the clones was chlorogenic acid. Statistical evaluation confirmed that the content of total polyphenols and phenolic acids varied among the clones of yacon leaves. On the contrary, the close relationship between the content of total polyphenols and the content of phenolic acids could not be statistically confirmed. There was indeed a dependence between the contents, namely a moderate one. However, the results show that total polyphenols accounted for only 18.5 % of the phenolic acids. The values found were in most cases consistent with the results declared in the literature. However, the relationship between total polyphenols and phenolic acids has not been the focus of many studies so far.

Thus, phenolic acids have not been shown to account for the majority of total polyphenols, but nevertheless, due to their strong antioxidant activity, they contribute significantly to the medicinal effects of yacon.

Keywords: Folin-Ciocalteu reagent; gallic acid; HPLC; polyphenols; spectrophotometry

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecké hypotézy a cíle práce	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Jakon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	10
3.1.1 Původ a rozšíření	10
3.1.2 Jakon v České republice	11
3.1.3 Pěstování jakonu v České republice	12
3.1.4 Morfologie a taxonomie	12
3.1.5 Příbuzné rostliny jakonu z čeledi hvězdnicovité	14
3.1.5.1 Stevie sladká (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	14
3.1.5.2 Čekanka obecná (<i>Cichorium intybus</i> L.).....	14
3.1.5.3 Topinambur hlíznatý (<i>Helianthus tuberosus</i> L.).....	15
3.2 Hlízy jakonu.....	16
3.2.1 Morfologie	16
3.2.2 Chemické složení.....	16
3.2.3 Využití a zdravotní přínosy	19
3.3 Listy jakonu	20
3.3.1 Morfologie	20
3.3.2 Využití listů jakonu.....	20
3.4 Chemické složení listů jakonu.....	21
3.4.1 Fenolové sloučeniny	22
3.4.1.1 Fenolové kyseliny.....	23
3.4.1.2 Flavonoidy	25
3.4.2 Seskviterpenové laktony	25
3.4.3 Další chemické sloučeniny listů jakonu	26
3.5 Účinky fenolových sloučenin na lidský organismus.....	26
3.5.1 Antioxidanty	26
3.5.2 Imunita.....	27
3.6 Zdravotní přínosy listů jakonu	28
3.6.1 Kardiovaskulární onemocnění	28
3.6.2 Diabetes	28
3.6.3 Ostatní zdravotní přínosy listů jakonu.....	29
3.7 Stanovení množství fenolových sloučenin v listech jakonu	30
3.7.1 Metoda Folin-Ciocalteu	30
3.7.2 Metoda HPLC-UV/VIS	30
4 Metodika	31

4.1	Popis analyzovaných vzorků	31
4.2	Charakteristika a příprava jednotlivých klonů jakonu	31
4.2.1	Charakteristika klonů jakonu	31
4.2.2	Jednotlivé klony	32
4.2.2.1	Peru	32
4.2.2.2	Bolívie	33
4.2.2.3	Ekvádor.....	33
4.2.2.4	Nový Zéland	33
4.2.2.5	Německo.....	33
4.2.3	Příprava jednotlivých klonů jakonu	34
4.3	Stanovení celkových polyfenolů	35
4.3.1	Použité chemikálie	35
4.3.2	Přístrojové vybavení	36
4.3.3	Příprava vzorků k analýze.....	36
4.3.4	Kvantifikace.....	37
4.4	Stanovení fenolových kyselin	37
4.4.1	Použité chemikálie	37
4.4.2	Přístrojové vybavení	37
4.4.3	Roztoky mobilní fáze.....	38
4.4.4	Příprava vzorků k analýze.....	38
4.4.5	Podmínky chromatografie.....	39
4.4.6	Kvantifikace.....	39
5	Výsledky	40
5.1	Stanovení obsahu celkových polyfenolů.....	40
5.1.1	Naměřené hodnoty	40
5.1.2	Srovnání obsahu celkových polyfenolů u jednotlivých klonů a skupin ...	41
5.2	Stanovení obsahu fenolových kyselin	43
5.2.1	Naměřené hodnoty	44
5.2.2	Srovnání obsahu fenolových kyselin u jednotlivých klonů a skupin.....	47
5.3	Vztah mezi celkovými polyfenoly a fenolovými kyselinami	49
6	Diskuze	51
7	Závěr.....	55
8	Literatura.....	57
9	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Lidský organismus potřebuje pro správné fungování metabolismu kromě základních živin celou řadu nezbytných látek, které získává z potravy. Jedná se o biologicky aktivní látky, které mají na člověka příznivý vliv. Řada lidí se v poslední době snaží hledat přirozený zdroj těchto látek a vrací se k rostlinám a plodinám, které pěstovali a používali již naši předkové a využívali jejich mnohdy blahodárné účinky na naše zdraví. Jednou z těchto rostlin je právě jakon.

Jakon obsahuje látky s protektivním účinkem na lidské zdraví a je vysoce ceněným zdrojem biologicky aktivních látek jako jsou například polyfenoly, které jsou hlavními rostlinnými sloučeninami s antioxidační aktivitou (Moure et al. 2001).

Mezi polyfenolové látky patří také fenolové kyseliny, které vykazují silnou antioxidační aktivitu. V dnešní době již existuje celá řada studií, které se věnují polyfenolům v jakonových listech a jejich antioxidační aktivitě. Vztah mezi celkovými polyfenoly a fenolovými kyselinami však není předmětem velkého zájmu. Prozkoumání této problematiky by mohlo být zajímavým přínosem.

Důležitým zdrojem fenolových sloučenin jsou jakonové listy, které obsahují již zmiňované fenolové kyseliny, které mají kromě antioxidačních vlastností vliv na udržení hladiny glukosy v krvi, mohou se tak podílet na prevenci vzniku diabetu mellitu 2. typu nebo pozitivně ovlivnit průběh nemoci (Kim et al. 2016). Dále obsahují flavonoidy, které též vykazují antioxidační aktivitu, působí jako prevence kardiovaskulárních onemocnění a pozitivně působí na imunitu. Seskviterpenové laktony, které se v listech též nachází, vykazují antioxidační, protizánětlivé a imunomodulační vlastnosti (Peterková et al. 2019).

Všechny zmíněné látky mají velký potenciál pro medicínské využití a vzhledem k tomu, že moderní medicína stále více vyžaduje nové léky přírodního původu, protože hrají důležitou roli v léčbě mnoha nemocí, jakon by se mohl stát předmětem výzkumů na toto téma.

Pro stanovení obsahu látek v jakonových listech existuje několik analytických metod. Pro stanovení fenolových sloučenin se v dnešní době nejčastěji využívá vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), která se pro toto stanovení ukázala jako nejvhodnější (Zhang et al. 2013).

2 Vědecké hypotézy a cíle práce

Cílem diplomové práce bylo stanovit množství celkových polyfenolů a fenolových kyselin v jednotlivých klonech listů jakonu ze sbírky Fakulty tropického zemědělství ČZU v Praze. Dalším cílem bylo porovnat obsah celkových polyfenolů s obsahem fenolových kyselin v jednotlivých klonech.

Hypotézy

- 1) Obsah celkových polyfenolů a fenolových kyselin se liší v listech klonů jakonu.
- 2) Obsah celkových polyfenolů a fenolových kyselin je v těsné závislosti. Celkové polyfenoly listů jakonu jsou tvořeny především fenolovými kyselinami.

3 Literární rešerše

3.1 Jakon (*Smallanthus sonchifolius*)

Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) [(Poepp. & Endl.) H. Robinson] je vytrvalá hlízová rostlina patřící do čeledi *Asteraceae*. Řadí se mezi kořenové plodiny pocházející z oblasti Andských hor, dnes se však pěstuje téměř po celém světě (Cruz et al. 2019). Rostlina může dosahovat výšky až dva a půl metru a výnos hlíz může činit až 67 tun čerstvé hmoty na jeden hektar.

Jakon je oblíbenou plodinou především pro svůj šťavnatý hlízový kořen, tvarově podobný kořenu sladkých brambor, který je bohatý na vodu, fruktooligoacharidy (FOS) a fenolové sloučeniny (Pereira et al. 2016), a také pro své listy bohaté na antioxidanty. Pro své vlastnosti je jakon považován za funkční potravinu (Choque Delgado et al. 2013).

V zemích svého původu je tato rostlina již dlouhou dobu významným hospodářským druhem. V Evropě je v současné době jakon pouze méně významnou plodinou a k dispozici je jen malé množství informací o environmentálních a ekonomických dopadech různých kultivačních systémů (Wagner et al. 2019).

V České republice se jakon teprve začíná dostávat do povědomí, vykazuje však vynikající zemědělské vlastnosti, například se snadno přizpůsobí výšce a různým půdním a povětrnostním podmínkám, ve světě je proto již velmi populární (Pereira et al. 2016).

Jelikož jakon pochází z tropů, je v širokém rozsahu tolerantní k vyšším teplotám, pokud se ovšem teplota dostane pod 0 °C, nadzemní části se poškodí a může dojít až ke zničení. Podzemní části jsou poškozeny pouze tehdy, pronikne-li mráz až k nim.

Rostlina není příliš citlivá na délku světelného dne a není náročná na půdní podmínky. Ideální jsou dostatečně propustné půdy bohaté na humus, nevhodné jsou půdy těžké a příliš vlhké, protože zde často dochází k napadení kořenových systémů bakteriózami a houbovými chorobami (Michl et al. 1995).

3.1.1 Původ a rozšíření

Jakon byl poprvé nalezen v jihoamerických Andách, které zahrnují oblast od Venezuely po severozápadní Argentinu. Začal se pěstovat a konzumovat ještě před tím, než vznikla říše Inků (1438). Původně byl pěstován pouze v Peru, Ekvádoru a Bolívii a sloužil jako potrava či možnost přivýdělku pro místní obyvatele. Jakon se pěstuje ve výšce 900 až 3 500 m n. m. v Peru, 600 až 2 500 m n. m. v Ekvádoru a Bolívii a 600 až 800 m n. m. v Argentině (Choque Delgado et al. 2013).

Rostlina sice pochází z horských tropických oblastí (Manrique et al. 2004), jeho produkce se však rozšířila do různých geografických končin a pěstuje se v zemích jako je například Nový Zéland, Brazílie, Itálie, Japonsko a v neposlední řadě i Česká republika (Wagner et al. 2019). Vyskytuje se ovšem i ve Spojených státech amerických, Jižní Koreji nebo severní Africe (Tjukavin 2008).

Jakon je velice přizpůsobivá rostlina, která se může chlubit velmi dobrými zemědělskými vlastnostmi. Nemá problém se změnou nadmořské výšky, klimatu ani

povětrnostních či půdních podmínek. Právě díky těmto vlastnostem se jakon v posledních letech dostal do téměř všech koutů světa.

První výsadba v Evropě proběhla v roce 1927 v italském městě San Remo. Rostlinu zde představil italský agronom Mario Calvino. Jakon byl v Itálii pěstován a zkoumán po dobu třinácti let, za tu dobu se velmi osvědčil a byl doporučen jako kvalitní zdroj výživy (Calvino 1940; Michl et al. 1995).

Roku 1941 se jakon rozšířil do dalších oblastí jižní Evropy a do Německa (Fernández et al. 2006). Proces rozšiřování byl ovšem přerušena druhou světovou válkou. Po ukončení války se jakon začal šířit téměř po celém světě (například do Nového Zélandu, USA či Japonska). V České republice se jakon poprvé objevil roku 1993 (Valentová et al. 2001) a trvale se zde pěstuje od roku 1994 (Illés et al. 2019).

V Argentíně, Peru a Bolívii se standardně používá název yacón, zatímco v Ekvádoru se plodina nazývá jicama, což je ale mezinárodní název i pro úplně jinou rostlinu (Michl et al. 1995). Španělský název yacón vznikl z kečuánského výrazu yaku, tedy vodnatý (Zardini 1991; Fernández et al. 2010). Existují však oblasti, kde může být jakon znám i pod jmény jako Aricama, Arboloco, Jiquimilla, Jicama / chícama, Yíquima nebo Llacon. V angličtině se může nazývat i „yacon strawberry“ a ve francouzštině jako „poire de terre“. Tyto názvy se však běžně nepoužívají.

Jakon byl nejprve klasifikován jako *Polymnia sonchifolia*, někdy také *Polymnia edulis*, pozdější studie ovšem umístily druhy rostoucí ve Střední a Jižní Americe do rodu *Smallanthus* (Choque Delgado et al. 2013).

Dnes se jakon pěstuje především v severní Argentíně a často se s ním lze setkat i na trzích ekvádorského Latacunga. Ačkoliv se rostlina dostala z Jižní Ameriky i do vzdálených koutů světa, stále existují oblasti, kde se jakon vyskytuje jen zřídka a většinu lidí mimo oblast And je prozatím neznámý (Michl et al. 1995).

3.1.2 Jakon v České republice

První evropskou zemí pěstující jakon byla Itálie, poté Německo a roku 1993 dorazil do České republiky, a to v rámci projektu č. 503/93/2145 (Jandovská 1999). Jakon byl dovezen z Nového Zélandu v podobě oddenkových hlíz. Celý tento proces se uskutečnil díky Grantové agentuře České republiky, která projektu poskytla finanční podporu (Michl et al. 1995).

Česká republika byla tedy jedním z průkopníků v pěstování jakonu v Evropě (Choque Delgado et al. 2013). Trvale se zde pěstuje od roku 1994, a to na experimentálních polích České zemědělské univerzity v Praze a ve Výzkumném ústavu bramborářském v Havlíčkově Brodě (Illés et al. 2019). Zemědělská univerzita vlastní 25 odrůd jakonu původem z Peru, Ekvádoru a Bolívie, které se zde kultivují každým rokem.

Pěstování jakonu je v České republice poměrně úspěšné a rostlinám se daří dobře. Velikost rostlin i jejich výnosy jsou sice menší než v zemích jejich původu, to je ovšem vzhledem k odlišnému klimatu přirozené (Fernández et al. 2010). Během posledních let rovněž stouply teploty a klesly dešťové srážky, není tedy divu, že se průměrná velikost i hmotnost hlíz zmenšila, stejně tak i povrchová biomasa.

3.1.3 Pěstování jakonu v České republice

Principy pěstování jakonu jsou na území České republiky velmi podobné principům pěstování brambor (Choque Delgado et al. 2013). Ve zdejších klimatických podmínkách je nutné jakon vysazovat, k čemuž se využívají oddenkové hlízy, které je potřeba nechat přezimovat v chladném prostředí. Dalším způsobem je využití jednonodých řízků lodyh či rostlinných explantátů (Michl et al. 1995).

Kaudexy (hlízy sloužící k množení) se mohou vysázet rovnou do předpřipravených hrůbků ve sponu 63x80 nebo 75x70 cm, hloubka by měla být 6–9 cm. Rostlina se tak ihned adaptuje na prostředí (Jandovská 1999). Vcházení je u této varianty pomalejší. Další variantou je předpěstování ve vytápěných sklenících. Před samotnou výsadbou je ovšem nutné jakon otužit. Mladé rostliny jsou citlivé na světlo i teplotu, mohlo by tedy dojít k popálení listů (Svobodová 2019).

Kvůli citlivosti rostliny na chlad je nutné provést výsadbu od dubna do května. Vysazuje se do lehké, hlinitopísčité a prohráté půdy, kde je dostatek humusu (Michl et al. 1995). Teplota půdy by se měla pohybovat okolo minimálně 5 °C. Rostliny by se měly pravidelně kypřit, popřípadě i oborávat. Prvních pár týdnů je také dobré porost plít. Rostlina nevyžaduje příliš péče, jelikož je odolná vůči mnohým škůdcům i chorobám. Pro zvýšení kvality hlíz je dobré jakon po celou dobu pěstování zalévat.

Hlízy se sklízí po prvních podzimních mrazících, kdy mají největší objemové přírůstky. Nejprve je však nutno sklídit nadzemní část rostlin (Choque Delgado et al. 2013).

Hlízy se skladují od 5 do 12 °C, pro delší trvanlivost je doporučeno skladování při nízkých teplotách ve tmě (Svobodová 2019). Hlízy určené ke konzumaci by se ideálně měly spotřebovat do jednoho měsíce od sklizně. Kaudexy se skladují ve sklenících. Důležitá je ochrana a péče, není totiž snadné hlízy uchovat do dalšího jara. Důvodem je absence vegetačního klidu v našich podmínkách. Hlízy se pravidelně zalévají a ošetřují proti škůdcům. Hlavními škůdci jsou svilušky a molice. V březnu a dubnu je nutné hlízy dezinfikovat i proti plísním. Každá zelená rostlina, která z kaudexu vyrostе, může samostatně zakořenit. Rostlinky se oddělují nožem a rány se dezinfikují. Tímto způsobem se vytvoří spousta nových sazenic. Ty se následně používají k výsadbě stejně jako oddenkové hlízy (Jandovská 1999).

V České republice ve Výzkumném ústavu bramborářském byly pod vedením inženýra Frčka úspěšně vyšlechtěny 2 odrůdy jakonu. Záměrem bylo vyšlechtění rostlin vhodných pro pěstování v ČR a vysoký výnos hlíz. Obě odrůdy tato kritéria splňují.

První odrůdou je Graciella. Hlízy této odrůdy mají bílou dužinu i slupku a dosahují hmotnosti až 500 g. Rostlina je mohutná, v průměru dorůstá do výšky až 1,2 metru. Tato odrůda je vhodnější k uskladnění kaudexů během zimního období. Druhou vyšlechtěnou odrůdou je Fiorella. Hlízy mají bílou dužinu a fialovou slupku, hmotnost je obdobná jako u první odrůdy, stejně tak produkce hlíz. Rostlina je mohutnější a vyšší, nanejvýš dorůstá do výšky 1,5 metru (Svobodová 2019).

3.1.4 Morfologie a taxonomie

Jakon patří do čeledi *Asteraceae* čili hvězdicovité (viz tabulka 1). Obvykle se řadí mezi vytrvalé byliny, nicméně v podmínkách České republiky je spíše rostlinou jednoletou

(Fernández et al. 2010). Běžně dosahuje výšky až 2,5 metru (Wagner et al. 2019), Fernández et al. (2010) však uvádí, že výška může být v oblasti původu až 3 metry a v ČR obvykle dorůstá pouze do 1,45 metru. Hlavním faktorem jsou klimatické podmínky.

Rostlina je celá pokryta trichomy, obvykle má světle či tmavě zelenou barvu a mnohdy je i nafialovělá. Rozvětvené stonky tvoří čtyřhranné lodyhy porostlé velkým množstvím tmavě zelených listů (Jandovská 1999). Květy se objevují pouze zřídka. Jsou drobné (okolo 3 cm), vyrůstají na vrcholcích lodyh a mají žlutou či oranžovou barvu (Valíček et al. 2012). Plod tvoří nažky a stejně jako květy se v našich podmínkách příliš často nevyskytují. V podzemní části se nalézají dva typy hlízy. Prvním typem jsou hlízy oddenkové (stonkové) sloužící k množení. Druhým typem jsou hlízy kořenové, které slouží jako zásobní orgán rostliny (Jandovská 1999).

Tabulka 1: Taxonomie jakonu (Singh 2012)

Říše	<i>Plantae</i>
Podříše	<i>Embryobionta</i>
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>
Třída	<i>Magnoliopsida</i>
Podtřída	<i>Asteridae</i>
Řád	<i>Asterales</i>
Čeleď	<i>Asteraceae</i>
Podčeleď	<i>Asteroidae</i>
Kmen	<i>Heliantheae</i>
Podkmen	<i>Melampodiinae</i>
Rod	<i>Smallanthus</i> Meckenzie
Druh	<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp. & Endl.) H. Robinson

3.1.5 Příbuzné rostliny jakonu z čeledi hvězdnicovité

3.1.5.1 Stevie sladká (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Stevie je vytrvalý víceletý keř subtropického původu (Fernández et al. 2010). Pochází z Jižní Ameriky a momentálně se kultivuje téměř po celém světě (Williams & Burdock 2009). Stonky rostliny produkují malé eliptické listy zelené barvy, ve kterých se ukládá steviosid, který slouží jako přírodní sladidlo a díky kterému je stévie proslulá (Yadav et al. 2011). Steviosid je 250 až 300krát sladší než sacharóza (Tedone et al. 2019). Jde o diterpenický glykosid dobře rozpustný ve vodě. V malém množství má sladkou chuť, při větší dávce chutná hořce. Listy dále obsahují sladké rebaudiosidy (Fernández et al. 2010).

Glykosidy z listů lze používat nejen jako přírodní, bezkalorické sladidlo (Anton et al. 2010), ale také k léčebným účelům (Goyal et al. 2010). Steviosid a jemu příbuzné sloučeniny mají antihyperglykemické, protizánětlivé, antihypertenzevní, protinádorové, diuretické, protiprůjmové a imunomodulační účinky. Významné jsou i antibakteriální a protivirové účinky (Fernández et al. 2010).

Rostoucí poptávka po přírodních alternativách k umělým sladidlům vyvolala v posledních letech značný zájem o stevii. Ta se tak v budoucnu pravděpodobně stane hlavním zdrojem účinného sladidla pro rostoucí trh s přírodními potravinami. Přestože stevii může využít kdokoliv, existují určité skupiny jedinců, jako jsou třeba pacienti s diabetem, kteří mají větší šanci těžit z tohoto pozoruhodného sladícího potenciálu (Singh et al. 2018). Toto obecně platí i o konzumaci jakonových hlíz.

3.1.5.2 Čekanka obecná (*Cichorium intybus* L.)

Čekanka je zároveň léčivá rostlina i zeleninová plodina. Pochází z oblasti zahrnující středomořskou oblast a střední Asii. Dnes je čekanka kosmopolitní plodina, která je široce pěstována pro mnoho komerčních účelů v Evropě, Severní Americe a části Asie. Rostlina může být použita například jako antioxidant, antidiabetikum nebo pro hojení ran (Langeroodi et al. 2020).

Využívána je také čekanka obecná setá, a to především jako kulturní rostlina. Dále se pěstuje čekanka štěrbáková, ze které se dělají saláty, a čekanka kořenová, z jejíhož kořene se vyrábí náhražka kávy cikorka, která neobsahuje kofein. Z kořenů čekanky a topinamburu se též vyrábí náhražka kávy – melta. Čekanka se dá konzumovat i jako zelenina, nejčastěji v podobě salátů z jejích listů (Roberfroid 2005).

Bylo zjištěno, že všechny fruktany obsažené v čekance jsou dobře fermentovány střevními bifidobakteriemi, což přispívá k jejich antikarcinogenním vlastnostem. Slouží především jako zdroj vlákniny, příznivě tedy působí na trávicí trakt. Nestrávený inulin totiž putuje až do tlustého střeva, kde dochází k jeho fermentaci. Čekanka tak pomáhá k očistě střeva a proti zácpě. Inulin je díky svým vlastnostem schopen se podílet na snižování cholesterolu v krvi, ukládání tukových buněk, snižuje riziko infarktu i vysokého krevního tlaku. Rostlina obsahuje zhruba 10–45 % inulinu v čerstvé hmotě. Dále obsahuje fruktooligosacharidy, které slouží jako sacharidová rezerva. Fruktooligosacharidy jsou, stejně jako inulin, účinnými prebiotiky (Chen et al. 2016).

Produkty vyrobené z čekanky mají pozitivní vliv na trávení a zároveň podporují chuť k jídlu. Pomáhají také vyplavovat těžké kovy z lidského organismu a stimulují činnost mnohých orgánů, jako je žlučník a slinivka břišní. Lze říci, že díky jejím prebiotickým vlastnostem může čekanka posloužit i jako potravinu vhodná pro prevenci rakoviny tlustého střeva, což je vůbec nejrozšířenější typ rakoviny v Česku (Fernández et al. 2010). Česká republika také patří mezi země s nejvyšším výskytem tohoto typu karcinomu v Evropě (Peters et al. 2015; Schwingshackl et al. 2019).

Dalším onemocněním, k jehož léčbě se tato léčivá bylina využívá, je diabetes. Nejvíce k tomu přispívají čekankové listy (Ebrahiminia et al. 2020). Díky mnohým pozitivním vlastnostem lze čekanku zařadit téměř do jakékoliv diety.

3.1.5.3 Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus* L.)

Topinambur hlíznatý je ve spojitosti s jakonem zmiňován nejvíce. Stejně jako jakon ani topinambur není velmi známou plodinou v České republice. Ačkoliv je pěstován po staletí, do povědomí široké veřejnosti se dostává až během posledních několika let.

Topinambur, nebo také jeruzalémský artyčok, byl původně pěstován v Mexiku, konkrétně pochází z území indiánského kmene *Topinambus*, po němž nese název (Kasal et al. 2019). Z Mexika byl do Evropy převezen spolu s bramborami a dalšími plodinami po objevení Ameriky (Fernández et al. 2010).

Hlízy jsou bohatým zdrojem fenolových sloučenin a obsahují spoustu minerálních látek. Díky svému složení je topinambur stejně jako jakon považovaný za funkční potravinu. (Michalska-Ciechanowska et al. 2019). Topinambur je široce využíván v medicíně vzhledem ke svým farmakologickým účinkům. Slouží jako analgetikum, antipyretikum, a také vykazuje protizánětlivé a antispasmodické účinky (Chen et al. 2019).

Topinambur je potravinu vhodná do běžného jídelníčku, pro děti, starší osoby i pro nemocné. Je doporučenou potravinou pro pacienty s diabetem a vysokým krevním tlakem. Díky svým prebiotickým účinkům obnovuje střevní mikrobiom a pomáhá lidskému tělu s trávením například po dobrání antibiotik. Pomáhá vstřebávat vápník, má dobrý vliv na hladinu cholesterolu v těle (Kasal et al. 2019) a při pravidelné konzumaci stimuluje pankreatické buňky k produkci inzulínu. Chrání ledviny a játra, zvyšuje absorpci železa a hořčíku a slouží jako prevence proti osteoporóze. Rostlina též podporuje vylučování toxických látek, posiluje imunitu, zmírňuje stres a zlepšuje koncentraci (Michalska-Ciechanowska et al. 2019). Topinambur neobsahuje škrob ani lepek, hodí se tedy i pro celiaky. Je dobré ho zařadit i do redukční diety, a to díky jeho velmi nízké kalorické hodnotě (Kasal et al. 2019).

Při pravidelné konzumaci a správném dávkování mají všechny výše zmíněné rostliny pozitivní vliv na lidské zdraví. Plodiny jsou vhodné pro celiaky, diabetiky a pacienty s obezitou, vysokým krevním tlakem nebo vysokým cholesterolem. Jejich konzumace chrání střeva před záněty a nádory, pomáhá vstřebávat vitamíny a minerály a posiluje imunitu. Všechny tyto rostliny se dají v dnešní době na území ČR pěstovat. Stevie a čekanka jsou velmi oblíbené a často využívané, zatímco topinambur a jakon se teprve dostávají do povědomí společnosti.

3.2 Hlízy jakonu

3.2.1 Morfologie

Prvním typem jsou krátké oddenkové hlízy (kaudexy) sloužící k dalšímu množení. Před uskladněním sklizených hlíz se kaudexy oddělí a použijí se následující rok k výsadbě nových rostlin. Tento typ hlíz připomíná hlízy topinamburů (Michl et al. 1995; Svobodová 2019). Druhým typem jsou hlízy kořenové. Řepovitě ztloustlých kořenových hlíz vyrostle v jednom svazku 5–20 kusů. Mají nepravidelně větvenovitý až kulovitý tvar připomínající červenou řepu a v průměru dosahují hmotnosti 200–500 gramů, v některých případech až 2 kg (Michl et al. 1995; Jandovská 1999; Svobodová 2019). Průměrný výnos kořenů z jedné rostliny může být až 5 kg. Celkový výnos hlíz může být až 67 tun na jeden hektar. Důležitou roli zde hraje klima (Wagner et al. 2019). Zásobní kořeny se začínají tvořit po 90–120 dnech a liší se svou sladkostí a velikostí (Fernández et al. 2010).

Pokožka hlíz je slabá. Má bílou, šedohnědou nebo fialovou barvu a na vzduchu rychle tmavne (Michl et al. 1995). V případě konzumace je nutno slupku ostrouhat, má totiž projímavé účinky (Svobodová 2019). Barva dužiny se liší podle země původu rostliny, obvykle je bílá či nažloutlá, u některých druhů fialová. Dužina je šťavnatá, křehká a má lehce nasládlou chuť. Při vystavení vzduchu rychle hnědne a zasychá.

Tento typ hlíz je vhodný ke konzumaci. Běžně se konzumují v syrovém stavu jako sladká zelenina, nebo se nakrájené přidávají do salátů, kterým dodají charakteristickou konzistenci a chuť. Může se i tepelně zpracovat (vařením, smažením, pečením či sušením), hlíza si zachová strukturu i po tepelném opracování a nerozvaří se. V oblasti And se z hlíz dělají sirupy. Hlíza se nastrohá a přes kousek látky se nechá odkapat nebo se vymačká sladká šťáva, která se dále zahušťuje do hnědého sirupu nebo se zpracovává do kostek, které se nazývají chaucaca (Michl et al. 1995).

Jakon roste pouze sezónně a uchovávat čerstvé hlízy obnáší určité nepříjemnosti. Těm lze předejít tepelným zpracováním. Během zpracovávání a manipulace s hlízami dochází k rychlému enzymatickému hnědnutí a čerstvé kořeny se rychle kazí. Nejvhodnějším typem skladování pro zachování všech antioxidačních sloučenin je nakrájení na proužky a usušení (Castro et al. 2012).

Továrny na zpracování potravin by se při zpracování jakonu měly vyvarovat tepelnému zpracování za vysokých teplot, vysokého tlaku a kyselých podmínek, aby se zajistila minimální ztráta důležitých oligosacharidů (Wang et al. 2019).

3.2.2 Chemické složení

Hlízy jakonu slouží jako zásobní orgán rostliny. Obsahují 10–18 % sušiny, zbytek tvoří voda. Sušina obsahuje zhruba 85 % sacharidů, 6 % proteinů, 1,3 % tuků, 3,9 % vlákniny a 3,6 % minerálních prvků, jako je fosfor, hořčík, vápník a draslík (Valíček et al. 2012). Nejpodstatnějšími obsahovými látkami hlíz jakonu jsou inulin, fruktooligosacharidy a fenolové kyseliny.

Podobně jako čekanka nebo topinambur, i jakon uchovává sacharidy nejčastěji v podobě fruktanů, zejména pak v podobě fruktooligosacharidů (FOS). Ty tvoří až 70 % sušiny

hlízy. Fruktooligosacharidy jakonu sestávají hlavně z kestózy, nystózy a fruktofuranosylnystózy. Lidský střevní trakt nedokáže FOS strávit, nerozkládají se na monosacharidy a jejich konzumace tak nevede ke zvýšení hladiny glukózy v krvi. Z tohoto důvodu může jakon nahradit cukr a sloužit jako přírodní sladidlo pro diabetiky. Předpokládá se, že rozmach diabetu v příštích desetiletích globálně vzroste. Je tedy pravděpodobné, že se výrazně zvýší poptávka po náhražkách cukru. Nejvhodnější variantou jsou přírodní sladidla, jelikož umělá sladidla jsou spojována s obezitou a kardiovaskulárními chorobami. Díky tomu je jakon zajímavým zdrojem pro potravinářský průmysl a mohl by se do budoucna těšit velké popularitě (Wagner et al. 2019). Kořen jakonu je také zdrojem látek s prebiotickým účinkem, a to již zmiňovaných fruktooligosacharidů a inulinu (Marcon et al. 2019).

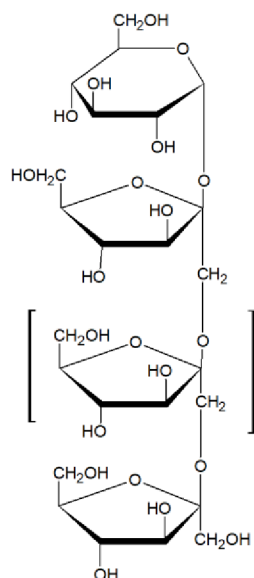
Inulin i FOS patří do společné skupiny, kterou jsou fruktany. Ty jsou složeny z fruktózových jednotek s proměnnou délkou řetězce a kromě jakonu se běžně vyskytují například v cibuli, pšenici nebo banánech. Ve Spojených státech je průměrná denní spotřeba fruktanů inulinového typu 1–4 g, zatímco v Evropě se míra spotřeby odhaduje mezi 3–11 g. Nejvíce zastoupené minerály v jakonu jsou vápník a draslík. Šťáva z jakonu je také bohatá na volné esenciální aminokyseliny (Korczak & Slavin 2018).

Inulin (viz obrázek 1) je polysacharid, který slouží jako zásobní látka rostlin (Roberfroid 2005). Chemickou povahou je to polydisperzní fruktan nacházející se v hlízách, kořenech nebo listech mnoha rostlin a v přírodě je rozšířen podobně jako škrob (Qiu et al. 2019). Sestává z polymerů z fruktózových jednotek s glukózovými koncovými skupinami. Fruktózové jednotky jsou spojeny glykosidickými β -vazbami. Inulin obvykle obsahuje 20 až několik tisíc fruktózových jednotek. Nejmenší molekulou inulinu je fruktooligosacharid, ten obsahuje dvě molekuly fruktózy a jednu molekulu glukózy (Nurdila et al. 2019). V průběhu skladování hlíz se inulin enzymaticky štěpí na glukózu a fruktózu (Svobodová 2019). Z 97 % jej tvoří fruktóza a ze 3 % glukóza (Qiu et al. 2019). Jakonové hlízy také obsahují vysoké koncentrace volných monosacharidů a disacharidů (zhruba 35 % glukózy a asi 58 % sacharózy) a polysacharidy nízkých polymerních stupňů ($n = 3-10$) (Michl et al. 1995).

V těle působí inulin jako rozpustná vláknina, která může selektivně podporovat růst tělu prospěšných mikroorganismů, jako jsou bifidobakterie. Dále inhibuje tvorbu škodlivých mikroorganismů, snižuje absorpci glukózy a sterolu ve střevě a také snižuje obsah cukru, cholesterolu a inulinu v krevních cévách (Castiglia-Delavaud et al. 1998).

Inulin vykazuje vynikající vlastnosti při zpracování potravin, o mnoho lepší než jiné druhy vlákniny. Zadržuje vodu, vytváří gel a má reologické vlastnosti. V poslední době je častým aditivem při výrobě chleba či těstovin (Kou et al. 2019). Lze ho také využít ke zlepšení kvality nízkotučného mléka, nápojů, mouky a masných výrobků (Meyer & Jellema 2006; Morris & Morris 2012).

Fruktany jsou v množství 30–80 gramů spotřebovány organismem bez nároků na inulin, což je důvod, proč se mohou používat k prevenci i léčbě proti diabetu a obezitě (Galindo-Rosales et al. 2020).



Obrázek 1: Strukturní vzorec inulinu (vytvořeno autorem)

Fruktooligosacharidy (FOS) je obecný pojem pro oligosacharidy s $\beta(2\rightarrow1)$ fruktosyl-fruktózovými glykosidickými vazbami. Jejich stupeň polymerizace je 2–10 a obecně se označují jako Fn nebo GFn (G označuje koncovou glukózovou jednotku, F označuje fruktózové jednotky) (Chen et al. 2016). Počet fruktózových jednotek je 2–60 a často končí glukózovou jednotkou (Korczak & Slavin 2018).

V rostlinách se FOS vyskytují v mnoha orgánech a slouží jako sacharidová rezerva. Mohou být získány buď extrakcí z rostlin nebo enzymaticky syntetizovány. FOS jsou jedny z nejvíce komerčně dostupných prebiotik a mají mnoho zdravotních přínosů. Především jde o zlepšení gastrointestinálního stavu, imunitní modulaci, zvýšení absorpce minerálů, ochranu před rakovinou tlustého střeva a snížení rizika poruch souvisejících s obezitou. Díky glykosidickým vazbám jsou FOS odolné vůči hydrolyze lidskými slinami i vůči enzymům v tenkém střevě, proto přicházejí do tlustého střeva se svou původní neobměněnou strukturou. V tlustém střevě jsou selektivně fermentovány střevními bakteriemi. Z tohoto důvodu byly FOS kvalifikovány jako „nestravitelné oligosacharidy“ (Chen et al. 2016).

Jakonová hlíza obsahuje také fenolové sloučeniny, které jsou též prospěšné pro modulaci střevního mikrobiomu a imunitní systém (Marcon et al. 2019). Jsou to přírodní antioxidanty přítomné ve vakuolách rostlinných tkání. Obvykle se podílejí na obraně rostlin proti patogenům nebo ultrafialovému záření. Kromě toho mohou fenolové sloučeniny vykazovat antivirové, protizánětlivé, antiproliferační a protinádorové účinky. Mají také pozitivní účinek na kapilární křehkost a brání shlukování krevních destiček (Del Rio et al. 2013).

Důležitými fenolovými sloučeninami jakonu jsou fenolové kyseliny. Hlavní fenolovou kyselinou hlíz je chlorogenová kyselina, jejíž průměrný obsah v hlízách je 48,5 $\mu\text{g/g}$ (Pereira et al. 2016). Fenolové kyseliny jsou významnými antioxidanty. Zabraňují škodlivému působení volných radikálů v těle a tím inhibují oxidační stres. Za hlavní antioxidant jakonu je považována právě chlorogenová kyselina. Při porovnání všech jakonových orgánů je sice zřejmé, že hlízy obsahují nejméně celkových polyfenolů (Lachman et al. 2003), ovšem i přes

to jsou významným zdrojem antioxidantů a jejich antioxidační aktivita rozhodně není zanedbatelná.

Složení jakonových hlíz může ovlivnit hned několik faktorů. Významný vliv má například hnojení. Hnojení dusíkem ovlivňuje celkovou výtěžnost a zvyšuje obsah fruktooligosacharidů. Nárůst hnojení dusíkem však doprovází i nežádoucí účinky, a to dopad na životní prostředí, například zvýšení dusičnanů v půdě a následné náklady pro zemědělce (Wagner et al. 2019).

3.2.3 Využití a zdravotní přínosy

Jakonové hlízy jsou, díky svým obsahovým látkám, nejen vhodné ke konzumaci, ale především prospěšné lidskému zdraví. Díky velkému množství FOS jsou hlízy ideálním přírodním sladidlem, která se v dnešní době těší velké popularitě (Choque Delgado et al. 2013).

Hlízy se běžně využívají jako surovina k výrobě již zmíněných přírodních sladidel ve formě sirupů, vyrábí se z nich mouka, chipsy nebo sušené plátky, ovocné či zeleninové konzervy, šťávy, pyré, pekařské a cukrářské výrobky nebo nealkoholické nápoje. Konzumují se syrové i tepelně opracované a je možné je dále zpracovávat a přidávat do různých výrobků (Michl et al. 1995; Choque et al. 2013).

Jakon se hodí téměř do každého jídelníčku, látky v něm jsou prospěšné pro diabetiky, celiaky, lidi trpící obezitou i pacienty s vysokým cholesterolem či krevním tlakem. Prebiotika obsažená v jakonu podporují rozvoj a růst bakterií v tlustém střevě, čímž přispívají ke správnému fungování trávicího traktu. Zároveň tak přispívají ke správnému fungování imunitního systému. S nápravou střevní mikrobioty souvisí i snížení krevního tlaku a cukru, cholesterolu, obsahu triglyceridů a mastných kyselin v krvi (Kasal et al. 2019).

Díky obsahu inulinu a fruktooligosacharidů jsou jakonové hlízy vhodnou potravinou pro diabetiky a osoby, které se snaží snížit svou tělesnou hmotnost. Důvodem je fakt, že obě tyto látky jsou imunní vůči trávicím enzymům, nerozštěpí se tak na monosacharidy a nezvyšují jejich hladinu v krvi, trávicím traktem projdou v nezměněném stavu. Díky tomu, že hyperglykémii, což je hlavní projev diabetu, nezhoršují, jsou velmi vhodnou potravinou (Wang et al. 2019). Antidiabetické účinky má i chlorogenová kyselina, která je v hlízách jakonu hojně obsažena (Campos et al. 2012).

Konzumace jakonových hlíz může být dobrou prevencí proti rakovině tlustého střeva, a to díky jejich prebiotickým vlastnostem (Chen et al. 2016). Především inulin a fruktooligosacharidy jakonu působí v těle jako rozpustná vláknina, pomáhají tak vyprázdnit obsah střev. Zároveň jsou snadno využitelné střevními bakteriemi a jsou schopni několikanásobně zvýšit jejich počet, přičemž snižují počet patogenních bakterií. Protinádorově mohou působit i fenolové kyseliny, které hlízy obsahují (Fernández et al. 2010; Del Rio et al. 2013).

Inulin napomáhá snižovat jaterní a sérový cholesterol a obsah triacylglyceridů v krvi (Fernández et al. 2010), tím pádem snižuje riziko ukládání tukových buněk na stěnách cév, čímž snižuje riziko kardiovaskulárních onemocnění, která jsou nejčastější příčinou úmrtí v České republice.

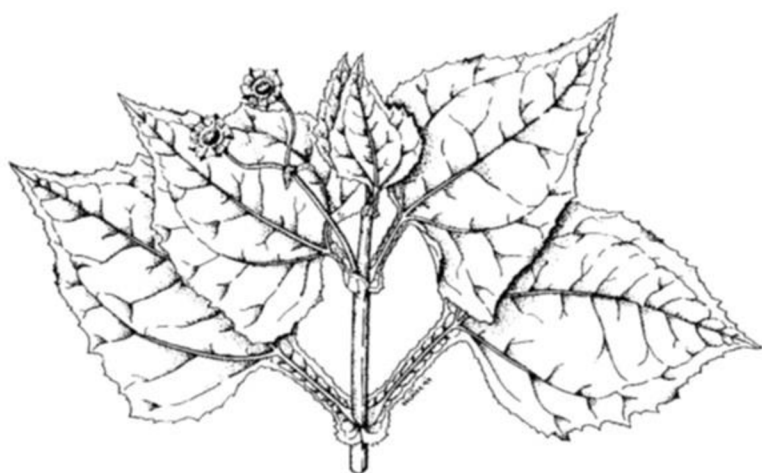
Ačkoli je to vzácné, literatura ukazuje dva případy nežádoucích účinků po konzumaci jakonu. První případ zahrnoval rozvoj anafylaktických reakcí u 55leté ženy v důsledku

konzumace hlíz jakonu a druhá zpráva zahrnovala poškození ledvin u potkanů po dlouhodobé konzumaci extraktů z listů jakonu. Klinické studie jsou tedy stále potřebné ke stanovení bezpečnosti jakonu jako doplňku stravy v konkrétních situacích (Choque Delgado et al. 2013).

3.3 Listy jakonu

3.3.1 Morfologie

Stonky jakonu jsou několikanásobně rozvětveny a tvoří je čtyřhranné lodyhy, které jsou porostlé velkým množstvím tmavě i světle zelených listů, někdy nafialovělých. Čepel listu je široce vejčitá až trojúhelníkovitá, nepravidelně řídce zubatá až laločnatá, řapík je poloobjímavý, křídlatý a na bázi rozšířený (Jandovská 1999). Listy jakonu lze vidět na obrázku 2.



Obrázek 2: Listy jakonu (Valíček et al. 2012)

3.3.2 Využití listů jakonu

Listy i lodyhy mladých rostlin se můžou uvařit a podávat jako zelenina. Nadzemní hmota se také často využívá jako krmivo, protože tvoří bohatou biomasu (zhruba 35 t/ha), která obsahuje 31–38 % sacharidů, 11–17 % bílkovin a 2–7 % tuku v sušině (Michl et al. 1995). Nejčastěji se listy louhují a konzumují v podobě čajů (Ueda et al. 2019).

Tradiční andská populace připisuje suchým jakonovým listům, které se používají při přípravě čajů jako součást nízkokalorických diet, antidiabetické vlastnosti (Choque Delgado et al. 2013). V Indonésii se jakon též využívá jako tradiční lék k léčbě cukrovky. V současné době se pro tento účel listy konzumují jako bylinný lék. Často se podávají samotné listy nebo listy ve směsi s jinými bylinami, a to ve formě kapslí nebo čajových sáčků (Aziz et al. 2020).

Listy jsou pěstovány pro výrobu čajů a doplňků stravy také v Japonsku, kde se jakonový čaj začal používat (Ferreira et al. 2019). Listy a stonky se zde mísí s čajovými lístky. Japonsko je, společně s Brazílií, momentálně největším producentem jakonového čaje (Illés et al. 2019). Velkou tradicí má používání listů i v Peru, kde se již po tisíce let využívá k tradičnímu léčení (Svobodová 2019).

Sušení jakonových listů může probíhat na vzduchu v přirozeném prostředí při nízké relativní vlhkosti. Nelze-li tuto podmínku splnit, je možné k sušení použít trouby. Vhodná teplota pro efektivní sušení je 60 °C. Obsah vody v suchých listech by měl být kolem 5 %. Po sušení následuje mletí, prosévání a balení do filtračních sáčků. Jakon v podobě čaje má nejen antidiabetické vlastnosti, ale je i dobrým zdrojem antioxidantů.

Jakon má dobře zdokumentovanou a jednoznačnou historii bezpečného používání a jeho složení nepředstavuje žádné zjevné obavy z hlediska škodlivých účinků, toxických látek nebo antinutričních látek, což je důležité i při zavážení plodin z mimoevropských zemí na evropský trh (Illés et al. 2019).

3.4 Chemické složení listů jakonu

Listy obsahují zhruba 83,20 % vody v čerstvé hmotě. V sušině obsahují 17,12 až 21,18 % proteinů, 12,52 až 15,98 % popela, 10,04 až 11,63 % vlákniny, okolo 8,58 % sacharidů a 4,20 až 7,40 % lipidů. V sušině listy obsahují především chlorogenovou kyselinu (779 mg.kg⁻¹), kávovou kyselinu (699 mg.kg⁻¹) a 3,5-o-dikaflo-lychinovou kyselinu (9 018 mg.kg⁻¹) (Illés et al. 2019). Obsah látek v listech jakonu lze vidět v tabulce 2.

Hlízovitý kořen jakonu je bohatý na bioaktivní látky, jako jsou fenolové sloučeniny, esterové deriváty, methylestery a glykosidy. Tyto sloučeniny se přirozeně vyskytují jak v kořenech, tak v listech jakonu (Choque Delgado et al. 2013).

Listy, stejně jako hlízy, obsahují mnoho antioxidantních látek, které mají pozitivní vliv na zdraví člověka (Ueda et al. 2019). Nejvýznamnějšími sloučeninami jsou fenoly, katechol, terpeny, fytoalexiny a flavonoidy. Z listů jakonu je také možné získat esenciální oleje (Singh 2012). Hlavní fytochemické složky nacházející se v listech jsou, stejně jako v hlízách, fenolové sloučeniny. Významnými sloučeninami jsou chlorogenová, kávová a ferulová kyselina. Listy dále obsahují gallovou kyselinu, p-kumarovou kyselinu, rutin, myricetin, kvercetin, apigenin, luteolin a charakteristické deriváty kávové kyseliny. Obsah polyfenolů se liší v závislosti na odrůdě, době sklizně a také na zpracování rostlinných materiálů (Ueda et al. 2019).

Tabulka 2: Obsah látek v sušených listech jakonu (Jandovská 1999)

2a

%						
	Voda	Sušina	Tuk	N-látky	Popel	Vláknina
Listy	10,47	89,53	4,2	21,48	12,52	11,63

2b

g.kg ⁻¹		mg.kg ⁻¹			
Ca	P	Cu	Mn	Zn	Fe
18,05	5,43	< 5,00	30,67	62	108,2

3.4.1 Fenolové sloučeniny

Fenolové sloučeniny zahrnují širokou škálu rostlinných látek, které mají společný aromatický kruh nesoucí jeden nebo více hydroxylových substituentů (Harborne 1973). Jedná se o fytochemikálie, které se nacházejí ve většině rostlinných tkání. Patří mezi sekundární metabolity rostlin a mají široký rozsah biologických aktivit. Mezi přírodními fenolovými sloučeninami, z nichž je známo přes tisíc struktur, tvoří největší skupinu flavonoidy. Dále sem patří například fenolové kyseliny, taniny, stilbeny, lignany, kumariny, antokyany a další (de Rosa 2019).

Polyfenoly jsou také důležitou skupinou antioxidantů, které realizují svůj antioxidační účinek prostřednictvím několika mechanismů. Antioxidanty se obecně vyznačují mnoha příznivými vlastnostmi souvisejícími s jejich schopností inhibovat oxidační stres a související molekulární poškození (Tošović et al. 2017).

V listech jakonů se nacházejí především fenolové kyseliny, flavonoidy a taniny (Fernández et al. 2010). Ty, společně s aminokyselinou tryptofanem, vykazují nejen antioxidační ale i protizánětlivé, antiproliferační, antivirové, antimikrobiální a protinádorové účinky (Choque et al. 2013; Pacheco et al. 2019). Mimo to obsahují listy jakonu několik fenolových sloučenin, které umožňují bakteriální růst s velmi specifickými metabolickými vlastnostmi, které inhibují útok patogenů (Choque Delgado et al. 2013).

Metodou HPLC byly stanoveny fenolové sloučeniny v jakonových listech. Mezi hlavní složky patří kyselina rozmarýnová (0,97 %), kvercetin-3-D-glykosid (0,20 %), gallokatechin (1,56 %) a umbelliferon (0,05 %) (Marchyshyn et al. 2017). Fenolové složky se používají jako přírodní antioxidanty nebo jako složky funkčních potravin (Illěš et al. 2019).

Polyfenoly nacházející se v listech jakonu produkují štiplavou a svíravou chuť a také dodávají typickou vůni. Tvoří též substráty pro enzymatické hnědnutí poškozených tkání kořene jakonu, které mu dodávají nazelenalou nebo černou barvu v důsledku kondenzační

reakce polyfenolových sloučenin s aminokyselinami a enzymatické polymerace polyfenolů. Fenolové a flavonoidní sloučeniny však mohou modulovat peroxidaci lipidů účastníci se aterosogeneze, trombózy a karcinogeneze prostřednictvím antioxidační aktivity proti iontům superoxidu O₂ (Choque Delgado et al. 2013).

Obsah fenolových sloučenin v listech jakonu je asi dvakrát vyšší než v hlíznatých kořenech a listy jsou považovány za perspektivní zdroj těchto sloučenin (Singh 2012). Obsah fenolových sloučenin v listech lze vidět v tabulce 3.

Listy jakonu obsahují velké množství polyfenolových látek, přičemž majoritní složkou je právě chlorogenová kyselina (Lachman et al. 2003). Celkové hladiny fenolů v mladých listech jakonu jsou nižší než v listech sbíraných v době sklizně hlíz (Choque Delgado et al. 2013).

Tabulka 3: Obsah fenolových sloučenin v listech jakonu (Marchyshyn et al. 2017)

Fenolová sloučenina	Obsah [%]
Chlorogenová kyselina	0,50
Rozmarýnová kyselina	0,97
Kávová kyselina	0,06
Ferulová kyselina	0,06
Rutin	0,11
Kaempferol	0,07
Kvercetin-3-D-glykosid	0,20
Luteolin	0,02
Kvercetin	0,02
Apigenin	0,01
Gallová kyselina	0,03
Galokatechin	1,56
Epigalokatechin	0,30
Katechin	0,03
Epikatechin	0,17
Epikatechin galát	0,11
Ellagová kyselina	0,02
Kumarin	0,01
Umbeliferon	0,05
Skopoletin	0,01

3.4.1.1 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny jsou jednou z největších tříd rostlinných antioxidantů. Jejich antioxidační vlastnosti jsou výsledkem přítomnosti aromatického kruhu, karboxylové skupiny a jedné nebo více hydroxylových nebo methoxylových skupin v molekule. Jsou to přírodní antioxidanty, které pomáhají zabránit škodlivému působení volných radikálů v těle. Dále jsou

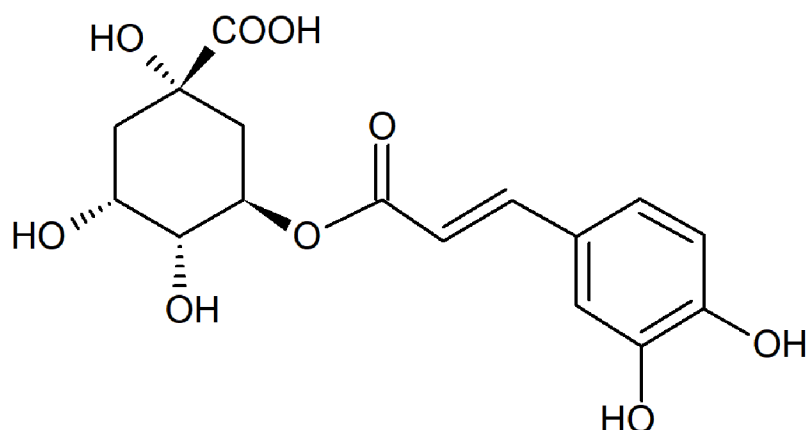
zodpovědné za řadu biologických aktivit jakonu, jako jsou hyperglykemické a cytoprotektivní účinky (Pereira et al. 2016).

Fenolové kyseliny se dělí na ty, které vycházejí z benzoové kyseliny, tedy deriváty hydroxybenzoové kyseliny, pod které patří například gallová kyselina, a na ty, které vycházejí ze skořicové kyseliny, tedy deriváty hydroxyskořicové kyseliny, mezi které patří chlorogenová, p-kumarová, kávová nebo ferulová kyselina (Balasundram et al. 2006).

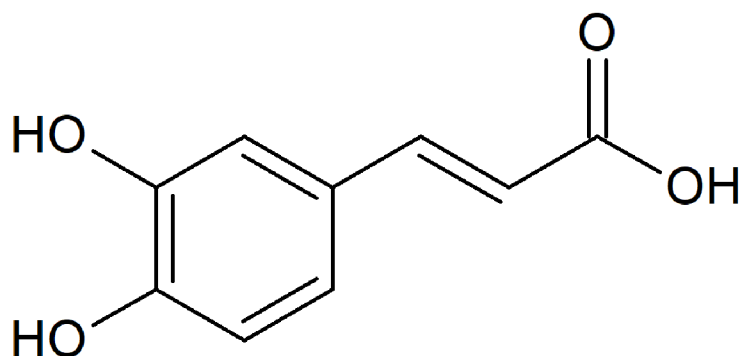
V listech jakonu se nachází 4 důležité kyseliny: chlorogenová, dikafeoylchinová, kávová a ferulová. Chlorogenová (obrázek 3) a kávová kyselina (obrázek 4) jsou známé jako důležité antioxidanty a lapače reaktivních forem kyslíku. Chlorogenová kyselina se běžně vyskytuje nejen v jakonu, ale obecně v rostlinách čeledi hvězdnicovité (Lachman et al. 2003). Je to fenolová sloučenina s antioxidantními účinky, která zároveň slouží jako karcinogenní inhibitor (Makkar et al. 2007) a je vhodná pro diabetiky. Je důležitou složkou mnohých potravin i nápojů.

Další důležité fenolové kyseliny, které se nachází v listech jakonu, jsou deriváty kyseliny kávové, jako je kyselina 1,5-O-di-kafeoylchinová (1,5-CQA), 4,5-O- kyselina di-kafeoylchinová (4,5-CQA) a kyselina 3,5-O-di-kafeoylchinová (3,5-CQA). Uváděné sloučeniny odvozené od kyseliny kávové mají silné antioxidantní vlastnosti schopné snižovat hladinu glukózy v krvi prostřednictvím inhibice enzymu α -glukosidázy (Aziz et al. 2020). Dalšími kyselinami nacházejícími se v listech jsou gallová, gentisová, protokatechová, rozmarýnová kyselina a izomery dikafeoylchinové a chlorogenové kyseliny.

Nadzemní části jakonu, tedy i listy, vykazovaly silnou aktivitu vychytávání volných radikálů a inhibiční účinky na peroxidaci lipidů v mozковém homogenátu a hepatocytech potkana. Struktura hlavní složky ve frakci byla identifikována jako kyselina 2,3,5-trikafeoylaltrarová (TCAA). Antioxidantní aktivita TCAA byla lepší než u přírodních antioxidantů, jako je α -tokoferol, katechin a ellagová kyselina (které se v jakonových listech též vyskytují). V listech byly dále identifikovány metabolické deriváty skořicové kyseliny, které vznikají činností epifytických bakterií *Klebsiella oxytoca* a *Erwina uredovora* a také deriváty benzoové kyseliny (Singh 2012).



Obrázek 3: Strukturní vzorec chlorogenové kyseliny (vytvořeno autorem)



Obrázek 4: Strukturální vzorec kávové kyseliny (vytvořeno autorem)

3.4.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou látky patřící pod polyfenoly. Jsou tvořeny z aromatických kyselin fenyllalaninu, tyrosinu a malonátu. Základem je flavonové jádro, které tvoří 15 atomů uhlíku uspořádaných do tří kruhů. Mezi nejdůležitější třídy flavonoidů patří flavony, flavanony, isoflavony, flavonoly, flavanoly (katechiny), flavanonoly a anthokyanidy.

Flavonoidy se řadí mezi přírodní antioxidanty, a to díky jejich schopnosti snižovat tvorbu volných radikálů a vychytávat volné radikály (Pietta 2000). Mimo to mají ještě antibakteriální, antivirální, protizánětlivé a antifungální účinky. Slouží jako prevence proti kardiovaskulárním onemocněním a určitým typům rakoviny, pozitivně působí na imunitu, permeabilitu krevních kapilár a cévní soustavu a pomáhají při obnově hepatocytů. Jsou také schopny regulovat enzymatickou aktivitu (inhibice lipoxygenasy) (Lachman et al. 2003; Choque et al. 2013; Del Rio et al. 2013).

Flavonoidy jsou hojně obsaženy jak v listech, tak v hlízách jakonu. Listy jakonu obsahují flavonoidní sloučeniny, jako je kvercetin (Singh 2012), rutin (Marchyshyn et al. 2017), myricetin (Lock et al. 2016), katechiny (Illéš et al. 2019) a i neidentifikované flavonoidy (Aziz et al. 2020). Mezi katechiny nacházející se v jakonových listech patří například gallová kyselina, galokatechin, epigalokatechin, katechin, epikatechin, epikatechin galát a ellagová kyselina. Listy jakonu představují slibný zdroj flavonoidů, které lze využít jako přírodní antioxidanty nebo jako složky funkčních potravin (Marchyshyn et al. 2017).

3.4.2 Seskviterpenové laktony

Seskviterpenové laktony jsou sekundární metabolity rostlin odvozené od seskviterpenů. Jsou syntetizovány především rostlinami čeledí *Asteraceae* a *Apiaceae*, objevují se však i u jiných čeledí. Mají ochrannou funkci a vyskytují se téměř ve všech částech rostliny. Seskviterpenové laktony vykazují protizánětlivé, antivirové, antibakteriální, imunomodulační, protinádorové a antioxidantní vlastnosti. Jedná se proto o látky s velkým potenciálem pro medicínské využití (Peterková et al. 2019).

Předchozí fytochemický výzkum listů jakonu ukázal, že obsahují seskviterpenové laktony, jako je sonchifolin, uvedalin, enhydrin, fluctuanin, polymatin B, fluctuadin a polymatin C. Enhydrin byl pozorován při nárůstu β -pankreatických buněk v pankreatických buňkách indukovaných streptozotocinem u myši s diabetem (Aziz et al. 2020).

Šest antibakteriálních seskviterpenových laktonů melampolidového typu (sonchifolin, fluktuanin, uvedalin a enhydrin, methylester 8- β -tigloyloxymelampolid-14-ové kyseliny a methylester 8- β -methakryloyloxymelampolid-14-ová kyselina) bylo izolováno a identifikováno z jakonových listů. Sloučenina methylester 8- β -methakryloyloxymelampolid-14-ové kyseliny vykazovala antimikrobiální aktivitu proti *Bacillus subtilis* a *Pyricularia oryzae*. Mezi těmito šesti sloučeninami vykazoval fluktuanin nejsilnější antibakteriální aktivitu (proti *B. subtilis*), druhý a třetí byly uvedalin a enhydrin. Všechny tyto tři sloučeniny mají acetoxyskupinu v poloze C-9, a proto se očekává, že acetoxyskupina je nezbytná pro silnou antibakteriální aktivitu. U uvedalinu byly zároveň potvrzeny i protizánětlivé vlastnosti.

Celkově bylo v listech jakonu nalezeno 13 melampolidů. Ty, mimo jiné, souvisí i s protiplísňovou aktivitou jakonu, se kterou souvisí také esenciální oleje (silice) (Singh 2012).

Melampolidové sloučeniny, které listy jakonu obsahují, mají antifungální, antimikrobiální a pesticidní vlastnosti, což by mohlo vysvětlit skutečnost, že pesticidy nejsou pro pěstování jakonu nutné (Choque Delgado et al. 2013). Byly studovány fungicidní účinky čtyř známých melampolidů (polymatin B, uvedalin, enhydrin a sonchifolin). Nejvyšší fungicidní aktivitu vykazoval sonchifolin (Singh 2012). Tyto látky jsou obsaženy i v jiných druzích rodu *Smallanthus* (*S. maculatus*, *S. uvedalia* a *S. fruticosus*), stejně jako v druzích rodu *Melampodium* (*Astereaceae*) (Illéš et al. 2019).

3.4.3 Další chemické sloučeniny listů jakonu

V listech jakonu byly identifikovány různé sekundární metabolity, jako jsou terpeny (např. kyselina ent-kaurenová) (Singh 2012) a jejich příbuzné diterpenové sloučeniny (Fernández et al. 2010). Diterpenoidy kaurenového typu (16 epoxid kyseliny 15- α -angeloyoxy ent-kauren-19-ové) byly izolovány z exsudátu glandulárního trichomu a extraktů listů. Tyto a další dvě známé angeloyoxy-kaurenové kyseliny a 15- α -angeloyoxy-entkauren-19-ové kyseliny jsou uváděny jako složky jakonových listů (Illéš et al. 2019).

Vysoký obsah ent-kaurenové kyseliny a jejích derivátů poukazuje na to, že tyto diterpeny mají důležitou fyziologickou roli jako fytoalexiny a podílejí se na obranných mechanismech žlázových trichomů jakonu (Singh 2012; Illéš et al. 2019).

Tři převládající esenciální oleje v listech suchého jakonu jsou β -pinen, karyofylen a γ -kadinen. Relativní obsah byl důležitý pro specifikaci odrůd jakonu (Singh 2012).

3.5 Účinky fenolových sloučenin na lidský organismus

3.5.1 Antioxidanty

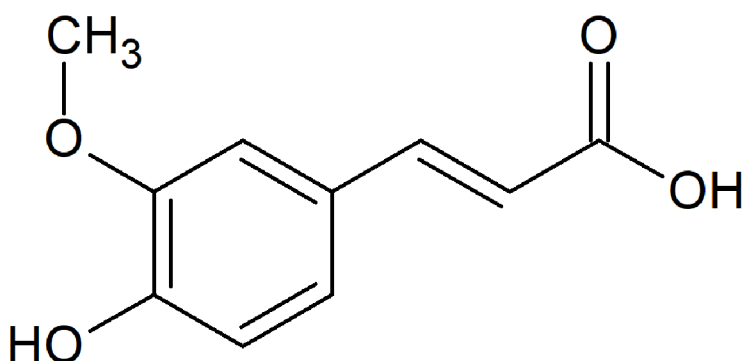
Princip působení antioxidantů spočívá v jejich schopnosti zachycovat volné radikály předtím, než se rozšíří a začnou škodit. Volné radikály mohou napadat a poškozovat biomolekuly jako jsou bílkoviny, lipidy, DNA, nebo jejich biomembránu. Díky jejich zachycení je zabráněno škodě a zároveň šíření oxidačního poškození. Jinak řečeno, antioxidanty zpomalují, anebo úplně zabraňují oxidačním změnám látek v buňkách lidského těla (Pereira et al. 2016; Chavan 2019).

Extrakty sušených jakonových listů mají řadu farmakologických aktivit, včetně antioxidantních vlastností (Ferreira et al. 2019). Jakon je velmi významným a bohatým zdrojem

antioxidantů, a to především polyfenolů. K antioxidačním účinkům jakonu nejvíce přispívají hydroxyskořicové kyseliny. Oxidaci lipidů nejvíce zabraňují kávová, chlorogenová a ferulová (viz obrázek 5) kyselina (Lachman et al. 2003).

Jako přírodní antioxidanty mají polyfenolové sloučeniny velký význam pro lidské zdraví, zejména při ochraně buněčných membrán před poškozením volnými radikály. Kromě toho působí jako prevence chronických onemocnění, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, konkrétně ateroskleróza, nebo jako prevence rakoviny. Antioxidační aktivita byla prokázána jak testy na zvířatech (potkanech), tak pokusy na lidech.

Další látky zodpovědné za antioxidační aktivitu jakonových listů jsou flavonoidy. Jsou hojně obsaženy v listech i hlízách jakonu a mají mnoho dalších pozitivních vlastností pro lidský organismus (viz 3.4.3) (Choque Delgado et al. 2013).



Obrázek 5: Strukturní vzorec ferulové kyseliny (vytvořeno autorem)

3.5.2 Imunita

Imunita je schopnost organismu bránit se proti tělu cizím látkám, a to jak z prostředí vnějšího, tak vnitřního. Imunitu řídí imunitní systém. Imunitní systém chrání tělo před jemu cizími látkami, jako jsou mikroorganismy, a zbavuje tělo odpadu. Reaguje také na řadu léčebných modalit, jako je transplantace buněk nebo celých orgánů nebo léčba biomateriály (Ekdahl et al. 2017).

Správně fungující imunitní systém je základem dobrého fungování celého těla. Má obrovský vliv na naše zdraví a je třeba o něj náležitě pečovat. Látky obsažené v jakonových listech mají na imunitu velmi pozitivní vliv, a to především polyfenolové látky, konkrétně například flavonoidy, které zároveň působí jako antioxidanty, anebo fenolové kyseliny. Polyfenolové látky zároveň modulují střevní mikrobiom, zmírňují stres a podporují vylučování toxických látek. Všechny tyto aktivity též souvisí se správně fungujícím imunitním systémem (Marcon et al. 2019).

3.6 Zdravotní přínosy listů jakonu

3.6.1 Kardiovaskulární onemocnění

Listy jakonu se využívají kvůli jejich fenolovým sloučeninám, které mají antioxidační vlastnosti chránící buněčné membrány před poškozením způsobeným volnými radikály a následně kardiovaskulárním onemocněním a rakovinou. Pravidelné užívání jakonu může prospět pacientům s onemocněním trávicího traktu a ledvin, stejně jako pacientům s cukrovkou a metabolickým syndromem (Choque Delgado et al. 2013). Výzkumy také potvrzují příznivý vliv při hypertenzi (ředí krev a může snížit krevní tlak o 5 až 10 %), a také vliv na snížení hladiny triglyceridů a cholesterolu v krvi, může tak být vhodnou prevencí aterosklerózy. Na experimentálním modelu metabolického syndromu vyvolaného u potkanů byl též prokázán hypotriglyceridemický účinek spojený se snížením obsahu triacylglycerolů v játrech (Illéš et al. 2019).

Z listů jakonu byly izolovány dva seskviterpenové laktony a 11 známých melampolidů. Bylo prokázáno, že tyto sloučeniny inhibují produkci oxidu dusnatého v makrofázích, jehož nadbytek může způsobovat kardiovaskulární obtíže (Choque Delgado et al. 2013).

U polyfenolů obsažených v červeném víně byl v nedávné době prokázán pozitivní vliv na osoby trpící kardiovaskulárním onemocněním. V zemích s vysokou konzumací masa a mléčných výrobků se vyskytuje vysoká mortalita, která je zapříčiněná kardiovaskulárními onemocněními. Pokud je ovšem konzumace těchto produktů doplněna o pravidelnou spotřebu červeného vína, mortalita se snižuje. Jelikož jakon obsahuje podobné množství polyfenolů jako červené víno, usuzuje se, že by též mohl významně přispět k omezení kardiovaskulárních chorob (Illéš et al. 2019).

3.6.2 Diabetes

Použití léčivých rostlin a bylin k léčbě mnoha chronických onemocnění, jako je diabetes, bylo na základě jejich terapeutických vlastností uznáno řadou vědců a lékařů. Navíc jsou na základě doporučení Světové zdravotnické organizace (WHO) antidiabetika získaná z rostlin důležitou alternativou jako koterapie pro léčbu tohoto stavu. Přírodním produktům ve formě doplňkové terapie byla v posledních letech věnována velká pozornost, a to na základě jejich farmakologických vlastností (dos Santos et al. 2018). Jednou z rostlin, která se využívá jako diabetikum, je právě jakon.

Roku 1985 byl jakon dovezen z Nového Zélandu do Japonska a zanedlouho i do Koreje. V Japonsku se rozvinul malý zemědělský průmysl zaměřený na dietetické vlastnosti jakonu. Po prozkoumání léčivých vlastností listů jakonu byla rostlina na začátku 90. let minulého století dopravena do Brazílie, právě kvůli jeho pravděpodobným léčivým účinkům. V současnosti se zde prodávají suché listy pro přípravu léčivého diabetického čaje, který se nazývá „chá de yacón“, tedy čaj z jakonu. Ten je používán především japonskou menšinou k léčbě cukrovky a při vysokých hladinách cholesterolu v krvi.

Jakon poslouží zejména diabetikům a lidem, kteří trpí zažívacími problémy. Systematické pití jakonového čaje pomáhá předcházet hypoglykémii. Rostlině jsou ovšem též prisuzovány léčivé vlastnosti pro léčbu ledvin a pro omlazení pleti (Illěš et al. 2019).

Studie ukázaly, že nadzemní části jakonu, včetně listů, mají silnou antioxidační aktivitu, což může podpořit jeho potenciální použití jako potravinového doplňku k prevenci diabetes mellitus druhého typu. Předpokládá se, že extrakty z listů jakonu by mohly mít také významný vliv na regulaci metabolismu glukózy u člověka a mohly by být použity jako doplněk s antidiabetickými účinky. To znamená, že se svými účinky mohou podobat účinkům hlíz jakonu (Singh 2012).

Další ze studií zjistila hypoglykemickou aktivitu fenolových sloučenin v tekutém extraktu suchých listů jakonu u potkanů s uměle vyvolanou cukrovkou. Výsledky ukázaly, že enhydrin, hlavní seskviterpenový lakton z listů jakonu, kávová kyselina a chlorogenová kyselina souvisí s jeho hypoglykemickým účinkem, protože tyto sloučeniny snižovaly hladinu krevní glukózy u diabetických zvířat (Choque Delgado et al. 2013), stejně tak tři dikafeoylchinové kyseliny 1,5-O-di-kafeoylchinová (1,5-CQA), 4,5-O-di-kafeoylchinová (4,5-CQA) a 3,5-O-di-kafeoylchinová kyselina (3,5-CQA) (Aziz et al. 2020). Vodní extrakty jakonu také zvyšují koncentraci inzulínu v krevní plazmě (Illěš et al. 2019).

Polyfenolové sloučeniny by mohly měnit metabolismus glukózy a anti-hyperglykemickou aktivitu a působit jako antidiabetická činidla. Tento účinek na metabolismus glukózy může být zprostředkován účinkem podobným inzulínu nebo zlepšením antioxidačního stavu. V tomto ohledu byly fenolové extrakty z listů jakonu schopny snížit produkci glukózy v potkaních hepatocytech zvýšením exprese mRNA glukokinázy (Choque Delgado et al. 2013).

Díky léčivým účinkům a příjemné chuti přitahuje rostlina pozornost moderní společnosti, která vyhledává přírodní produkty jako léčebné alternativní prostředky. Pěstování jakonu zaměřené na léčivé účely se tak zdá být atraktivní a životaschopnou alternativou (Illěš et al. 2019).

3.6.3 Ostatní zdravotní přínosy listů jakonu

Listy a stonky mladých rostlin jakonu se využívají jako vařená zelenina (Michl et al. 1995). Energetická hodnota fruktanů, která je 148–224 kJ.kg⁻¹ v sušině, je v zažívacím traktu podobná dietetické vláknině. Ve velké míře jsou fruktany rozkládány v kyselém žaludečním prostředí, nicméně byl také pozorován rozklad a fermentace střevními bakteriemi (Illěš et al. 2019), což znamená, že i jakonové listy mohou působit jako prebiotika, přičemž pomáhají obnovovat a udržovat zdravý střevní mikrobiom. Předchází také zácpám, pomáhá při vředových onemocněních střev, pomáhá vstřebávat výživné látky z potravy, usnadňuje vstřebání vitaminů skupiny B a vápníku (Sing 2012) a bylo též prokázáno, že po měsíci pravidelného užívání čaje jsou viditelné efekty vyvolány lepší činností slinivky břišní.

Vodní extrakty jakonu mají diuretické (močopudné) vlastnosti, odvary z listů se používají při zánětech močového měchýře, ledvin a jater. Odvar podporuje metabolismus, má protizánětlivé účinky a obecně pomáhá při problémech s ledvinami (Illěš et al. 2019).

Látky v listech jakonu mají antioxidační vlastnosti (Choque Delgado et al. 2013), eliminují volné radikály, chrání genetický materiál, zpomalují stárnutí organismu a jakonový čaj je uznávaným prostředkem, který pomáhá předcházet nádorovým onemocněním (Singh

2012) a sklerotickým změnám. Mimo to má léčivé účinky na pleť a zmírňuje stres (Illéš et al. 2019).

3.7 Stanovení množství fenolových sloučenin v listech jakonu

3.7.1 Metoda Folin-Ciocalteu

Množství celkových polyfenolů v listech jakonu lze stanovit metodou Folin-Ciocalteu. Spektrofotometrická zkouška s činidlem Folin-Ciocalteu (FCM) je jednou z nejčastěji používaných metod pro stanovení celkového obsahu fenolových látek (Shahidi & Naczk 2004). Folin-Ciocalteuovo činidlo (směs fosfomolybdenanu a fosfowolframanu), které se při této metodě využívá, reaguje s fenolovými látkami obsaženými ve vzorku. Fenoly redukuje za vzniku modrých produktů, barevný komplex je následně proměřen při vlnové délce 765 nm. Koncentrace fenolů zjištěná spektrofotometrickým měřením je přepočítána na ekvivalentní množství gallové kyseliny, která se používá jako standart. Obsah celkových polyfenolových látek je vyjádřen jako gallová kyselina (Stratil et al. 2008).

3.7.2 Metoda HPLC-UV/VIS

Obsah fenolových sloučenin v biologických vzorcích lze stanovit různými analytickými instrumentálními metodami, vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) se však ukázala jako nejvhodnější vzhledem ke strukturní podobnosti a rozmanitosti fenolových sloučenin. Umožňuje analýzu s dostatečnou přesností, selektivitou a v rozumném čase. HPLC metoda typicky s UV nebo DAD detektory byla nejlepší volbou pro rutinní analýzu fenolových sloučenin ve většině dosud publikovaných studií (Zhang et al. 2013). UV/VIS je fotometrický detektor, který měří absorbanci UV nebo VIS záření na výstupu z kolony. DAD je detektor diodového pole (Singh 2012).

Principem metody je dělení analytu mezi mobilní a stacionární fázi, přičemž jsou analyzovány složky vzorku unášeny chromatografickou kolonou kapalnou mobilní fází (Nováková & Douša 2013).

Metoda HPLC vytváří chromatogram ilustrující celkový obsah a odhad každého vzorku na základě procentuální plochy významných píků. Jedná se o levnou metodu, která se snadno používá a je rychlá při zkoumání vzorků. Splňuje kritéria efektivní analýzy a je schopna zkoumat několik komponent současně, aniž by došlo k poškození vzorků (Aziz et al. 2020).

4 Metodika

Cílem této diplomové práce bylo stanovit množství celkových polyfenolů a fenolových kyselin v jednotlivých klonech listů jakonu ze sbírky Fakulty tropického zemědělství ČZU v Praze a porovnat obsah celkových polyfenolů s obsahem fenolových kyselin v jednotlivých klonech. Množství celkových polyfenolů bylo stanoveno spektrofotometricky metodou Folin-Ciocalteu. Množství jednotlivých kyselin bylo stanoveno HPLC-UV/VIS detekcí. Data byla vyhodnocena graficky v programu Microsoft Excel. Statistická analýza byla provedena v programu Statistica 12.0.

4.1 Popis analyzovaných vzorků

Na samotnou analýzu bylo použito 25 klonů jakonu. Vzorky pocházely z Demonstračního a pokusného pozemku Suchdol a byly použity klony ze sbírky Fakulty tropického zemědělství ČZU v Praze. Odebrání listů k analýze proběhlo 7.10. 2019. Listy byly sušeny po dobu 6 hodin při 45 °C, poté byly namlety, naváženy, vloženy do sáčků, zmrazeny na -18 °C a skladovány.

4.2 Charakteristika a příprava jednotlivých klonů jakonu

4.2.1 Charakteristika klonů jakonu

Jakonové klony nejsou vyšlechtěné, deklarované odrůdy. Veškerý rostlinný materiál pochází z oblasti And, kde se jakon vegetativně množil z jedné andské odrůdy, přesný původ rostliny však nelze dohledat. Na Fakultě tropického zemědělství ČZU v Praze je udržován genetický materiál jakonu z různých zemí. Sběrka klonů čítá 25 položek, které pochází z Peru, Bolívie a Ekvádoru. Jedná se o klony oktoploidní ($2n = 8x = 58$), dodekaploidní ($2n = 12x = 87$) a hexadekaploidní ($2n = 16x = 116$).

Tabulka č. 4 vyobrazuje původní a nové kódování klonů jakonu. Původní kódy ve své bakalářské práci „Hodnocení genetického materiálu pomocí mezinárodních morfologických deskriptorů“ uvedla bývalá studentka ČZU Gabriela Horová, která se věnovala podrobné charakteristice jakonu.

Tabulka 4: Původní a nové kódování klonů jakonu (upraveno podle Horová 2009)

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

4.2.2 Jednotlivé klony

4.2.2.1 Peru

Stonkové hlízy pocházející z Peru byly získány od organizace CICA a do České republiky přivezeny v roce 2005. Klony nově označené jako ‘PER 01’, ‘PER 02’, ‘PER 03’, ‘PER 04’, ‘PER 06’, ‘PER 07’, ‘PER 08’, ‘PER 09’ a ‘PER 10’ jsou oktaploidní klony ($2n = 58$). ‘PER 05’, ‘PER 11’, ‘PER 12’, ‘PER 13’ a ‘PER 14’ jsou dodekaploidní klony ($2n = 87$). Odrůda ‘CUSCO I’, nově ‘PER 15’ byla získána v rámci spolupráce s UNSAAC (Národní univerzita San Antonio Abad del Cuzco) v roce 2008.

Listy mají tmavě zelenou barvu s purpurovou pigmentací na vrcholových listech nebo zelenožlutou barvu bez pigmentace (Horová 2009).

4.2.2.2 Bolívie

Hlízy pocházející z Bolívie byly odebrány na přirozeném stanovišti v oblasti San Pedro na severu kraje Potosí a do ČR byly introdukovány roku 1995. Klon je nově označen jako 'BOL 20' a jde o klon oktoploidní ($2n = 58$). Další 4 krajové odrůdy byly získány roku 2007 ve spolupráci s Národní univerzitou v Siglo XX (Universidad Nacional Siglo XX). Opět se jedná o oktoploidní klony s označením 'BOL 21', 'BOL 22', 'BOL 23', 'BOL 24' (Horová 2009).

Bolivijské rostliny jsou nejvyšší ze všech skupin, jejich průměrná výška je 1,50 m. Listy jsou tmavě zelené s purpurovou pigmentací na vrcholových listech či zelenožluté bez pigmentace. Na stonku se v průměru nachází 7,57 párů listů. Průměrná délka listu je 257 mm a šířka 198 mm (Illés et al. 2019).

4.2.2.3 Ekvádor

Genetický materiál z Ekvádoru byl do ČR přivezen roku 1994. Jedná se o oktoploidní klon označen jako 'ECU 40' (Horová 2009).

Průměrná výška rostlin pocházejících z Ekvádoru je 1,41 m, jsou tak druhou nejvyšší skupinou. Listy jsou tmavozelené s pigmentací nebo zelenožluté bez pigmentace. Průměrná délka a šířka listu se měří v době sklizně u třetího páru listů od vrcholu, u ekvádorských rostlin činí průměrně 237 mm a 189 mm. Na stonku se průměrně nachází 7,99 párů listů (Illés et al. 2019).

4.2.2.4 Nový Zéland

Klony z Nového Zélandu byly vůbec první introdukované rostliny jakonu v České republice. Stonkové hlízy byly zakoupeny v Aucklandu a převezeny do ČR v roce 1993. Jedná se o oktoploidní klony původně označeny 'NZL I' a 'NZL II', nově 'ECU 41' a 'ECU 42'. Z odrůdy 'NZL I' byl experimentálně získán hexadekaploidní klon, a to pomocí indukované polyploidizace *in vitro*. Původní označení 'POLY 3', nové 'ECU 43'. Tyto rostliny jsou původem z Ekvádoru, do Nového Zélandu byly dovezeny v 60. letech 20. století (Horová 2009).

V rámci této skupiny byly pozorovány dva odlišné morfotypy. První skupina 'ECU 41' dosahuje průměrné výšky 1,33 m. Listy jsou světle zelené či nažloutlé bez pigmentace. Průměrná délka a šířka listu činí 216 mm 156 mm. Na hlavním stonku se nachází zhruba 9,36 párů listů. Rostliny druhé skupiny 'ECU 42' dorůstají do výšky 1,35 m. Listy jsou tmavě zelené s pigmentací a na stonku je průměrně 7,69 párů (Illés et al. 2019). U klonu 'ECU 43' byla kromě pigmentace na vrcholových listech pozorována také pigmentace na lících stranách čepele (Horová 2009).

4.2.2.5 Německo

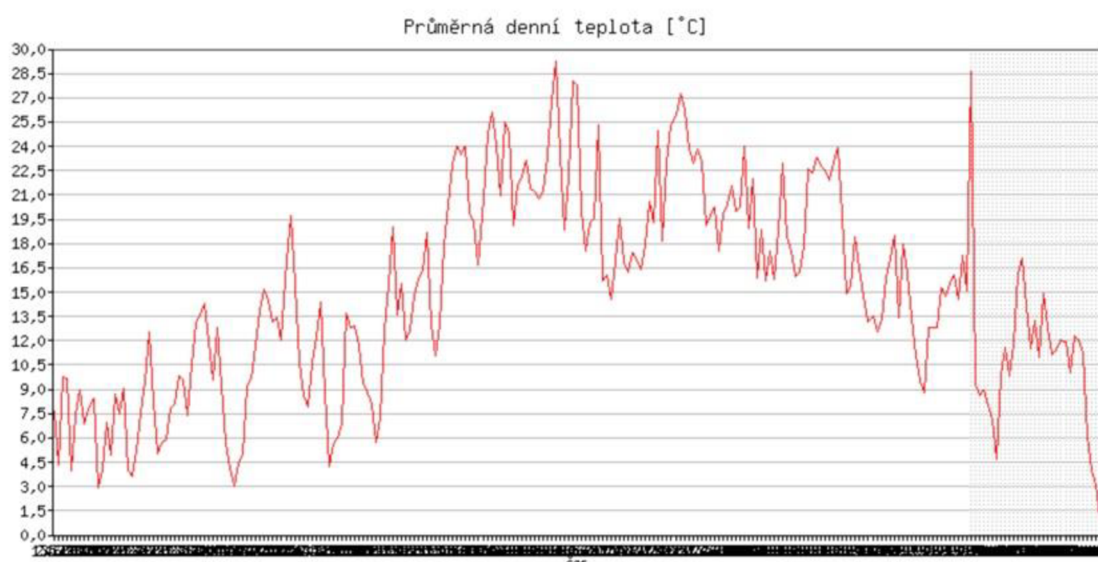
Jakon původem z Německa je v ČR pěstován od roku 1994. Ve formě mladých rostlin byl převezen z botanické zahrady ve Stückborstelu. Jedná se o oktoploidní klon označen jako

‘DEU‘ (Horová 2009). Rostliny byly do Německa introdukovány nejspíše z Taliánska, kam byly dovezeny z Jižní Ameriky.

Rostliny dovezeny z Německa jsou se svou průměrnou výškou 1,05 m nejnižší skupinou ze všech, na druhou stranu mají však největší listy. Průměrná délka listu je 303 mm a šířka 245 mm. Listy jsou světlě zelené až nažloutlé bez pigmentace. Stonek nese v průměru 7,24 párů (Illés et al. 2019).

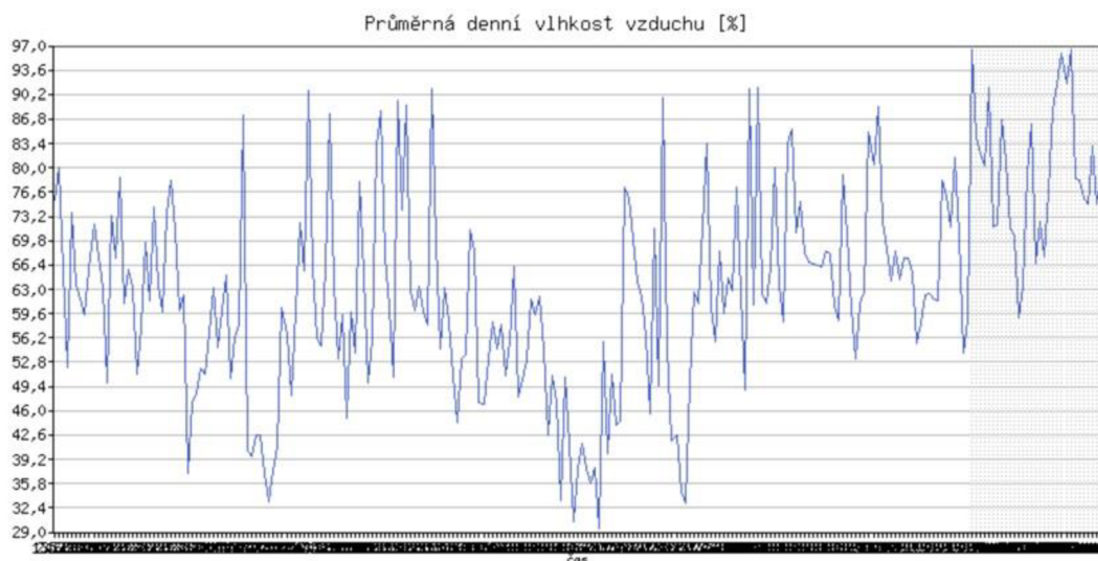
4.2.3 Příprava jednotlivých klonů jakonu

Výsadba klonů jakonu proběhla 24.4.2019 na Demonstračním a pokusném pozemku Suchdol. Sklizeň se konala 7.10.2019. Průměrnou denní teplotu, vlhkost vzduchu a úhrn srážek za toto období lze vidět na obrázcích 6, 7 a 8. Jakonové listy byly následně sušeny po dobu 6 hodin při 45 °C, poté byly namlety, naváženy, vloženy do sáčků, zmrazeny na -18 °C a skladovány.

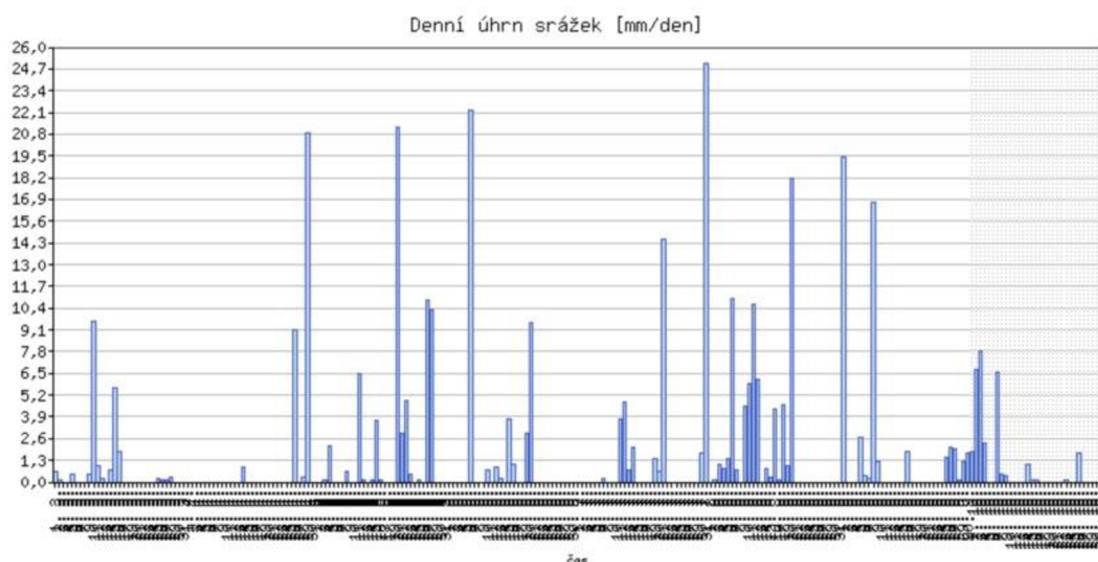


Obrázek 6: Průměrná denní teplota v období od 1.3.2019 do 31.10.2019

(Available from <http://meteostanice.agrobiologie.cz/grafy.php?graf=graf9&tab=&tabulka=>)



Obrázek 7: Průměrná denní vlhkost vzduchu v období od 1.3.2019 do 31.10.2019
(Available from <http://meteostanice.agrobiologie.cz/grafy.php?graf=graf12>)



Obrázek 8: Denní úhrn srážek v období od 1.3.2019 do 31.10.2019
(Available from <http://meteostanice.agrobiologie.cz/grafy.php?graf=graf11>)

4.3 Stanovení celkových polyfenolů

4.3.1 Použité chemikálie

- Destilovaná voda
- Methanol, 100 % (Lach-Ner, Česká republika)
- Folin – Ciocalteu roztok (Penta, Česká republika)
- Uhličitan sodný, 20 % (20 g Na₂CO₃ + 80 g voda) (Lach-Ner, Česká republika)
- Standard – ředící řada gallové kyseliny (50-1000 μg GAE (ekvivalent gallové kyseliny)/50 ml, Fluka)

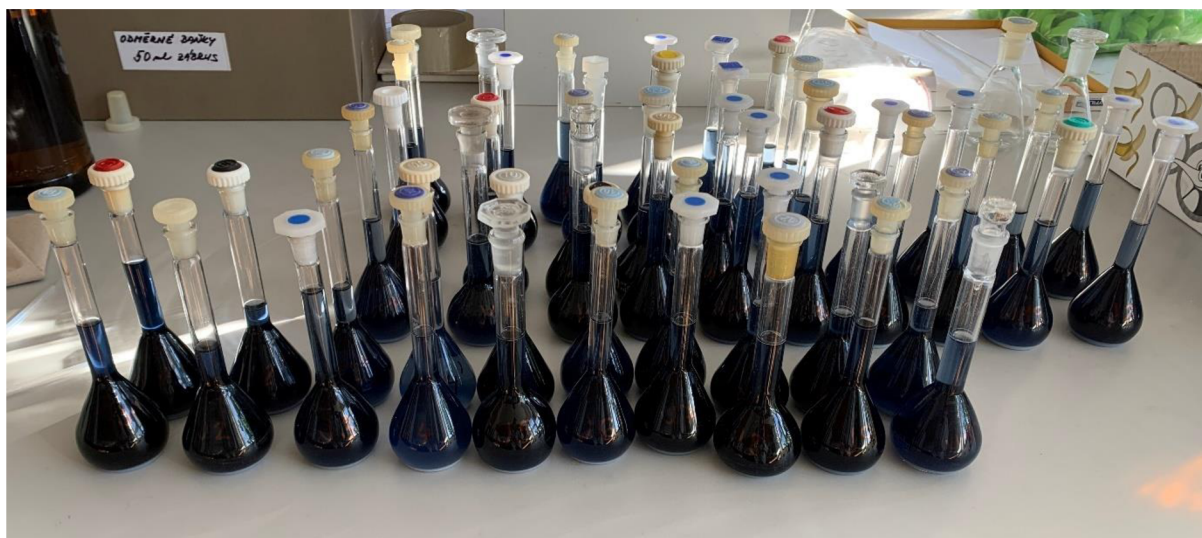
4.3.2 Přístrojové vybavení

- Sušárna (Venticell, Německo)
- Laboratorní mlýnek (A11 basic; IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Německo)
- Analytická laboratorní váha (EW 420-3NM; KERN, Německo)
- Automatická pipeta (1–5 ml)
- Přístroj pro přípravu destilované vody (vodivost cca $1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, Goldman Water, Česká republika)
- Jednopaprskový spektrofotometr (Helios Gamma; Spectronic Unicam, Velká Británie, rozsah vlnové délky 190–1100 nm)

4.3.3 Příprava vzorků k analýze

Vzorky sesbíraných jakonových listů byly nejprve sušeny po dobu 6 hodin při $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Poté došlo k homogenizaci vzorků pomocí laboratorního mlýnku. Namleté vzorky byly vloženy do sáčků a uskladněny. Ze sáčků bylo následně pomocí analytických vah naváženo přibližně po 1 g do 50 ml odměrných baněk vždy ve 2 opakováních. Baňky byly doplněny zhruba do půlky 100 % methanolem, uzavřeny a promíchány. Vzorky byly uloženy v temnu a suchu při pokojové teplotě do následujícího dne. Další den byly doplněny methanolem po rysku (50 ml) a opět promíchány. Ze vzniklých extraktů bylo napipetováno po 1 ml do 50 ml baněk, byla přidána destilovaná voda, 2,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 7,7 ml 20 % uhličitanu sodného. Destilovanou vodou byly baňky doplněny po rysku (50 ml) a opět promíchány. Následně se vzorky nechaly odležet po dobu 2 hodin. Připravené vzorky (viz obrázek 9) byly analyzovány na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm. Kromě vzorků byl připraven i slepý pokus, který místo 1 ml pipetovaného extraktu vzorku obsahoval 1 ml methanolu.

Celkově bylo připraveno 25 vzorků ve 2 opakováních. Spektrofotometrické měření bylo provedeno ve všech analyzovaných vzorcích.

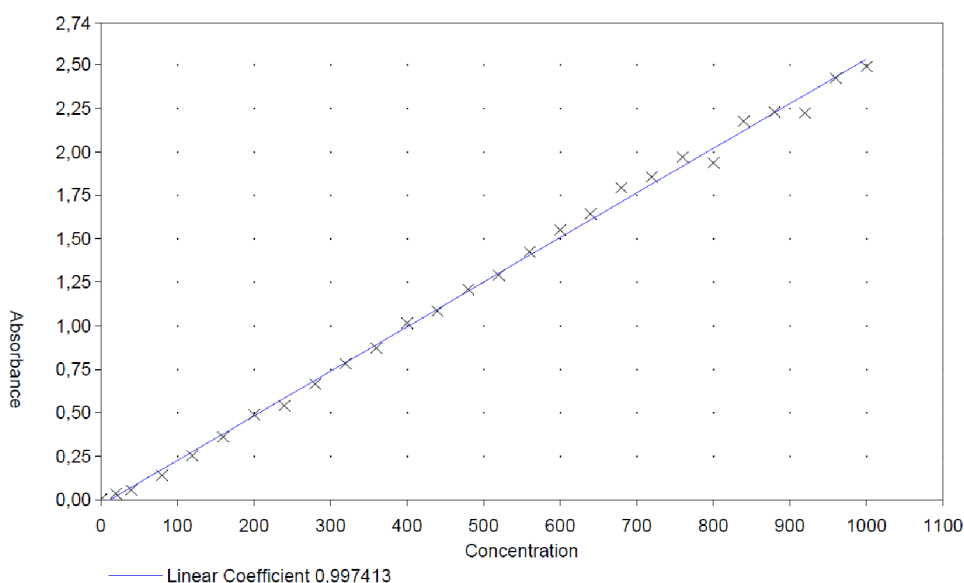


Obrázek 9: Vzorky připravené ke spektrofotometrické analýze

4.3.4 Kvantifikace

Absorbance vzorku byla změřena pomocí spektrofotometru při vlnové délce 765 nm proti slepému vzorku. Celkový obsah polyfenolů byl vyjádřen na základě kalibrační křivky (viz graf 1) jako ekvivalent množství gallové kyseliny v mikrogramech v 50 ml. Následně byl přepočten na množství polyfenolů v mikrogramech v gramu suchého rostlinného vzorku.

Graf 1: Kalibrační křivka obsahu celkových polyfenolů



4.4 Stanovení fenolových kyselin

4.4.1 Použité chemikálie

- Methanol, 100 % (Lach-Ner, Česká republika)
- Methanol, 50 % (Lach-Ner, Česká republika)
- Hexan (Lach-Ner, Česká republika)
- Diethylether (Lach-Ner, Česká republika)
- Destilovaná voda
- Deionizovaná voda
- Octová kyselina, 0,1 % (Sigma-Aldrich, Česká republika)
- Acetonitril (Sigma-Aldrich, Česká republika)

4.4.2 Přístrojové vybavení

- Sušárna (Venticell, Česká republika)
- Laboratorní mlýnek (A11 basic; IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Německo)
- Analytická laboratorní váha (EW 420-3NM; KERN, Německo)
- Automatická pipeta (1-5 ml)
- Filtrační aparatura
- Vakuová odparka (Büchi, Německo)

- Přístroj pro přípravu destilované vody (vodivost cca $1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, Goldman Water, Česká republika)
- Přístroj na přípravu deionizované vody (odpor $18 \text{ M}\Omega$, Millipore, Francie)
- Kapalinový chromatograf Ultimate 3000 HPLC system (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)

4.4.3 Roztoky mobilní fáze

- Rozpouštědlo A: deionizovaná voda, 0,1% kyselina octová
- Rozpouštědlo B: acetonitril, 0,1% kyselina octová

4.4.4 Příprava vzorků k analýze

Bylo váženo 24 vzorků listů jakonu přibližně po 1 g do 50 ml odměrných baněk vždy ve dvou opakováních. Baňky byly doplněny zhruba do půlky 100 % methanolem, uzavřeny a promíchány. Vzorky byly doplněny methanolem po rysku (50 ml) a opět promíchány. Dalším krokem bylo přefiltrování vzorku na filtrační aparatuře přes filtrační papír do falkonek (viz obrázek 10). Ze vzniklých extraktů bylo napipetováno po 5 ml do odpařovacích baněk, obsah byl následně do sucha odpařen na vakuové odparce. Zbýlý obsah baněk byl 2x extrahován směsí hexanu a diethyletheru v poměru 9:1 pro odstranění chlorofylů. Zbytky po extrakci byly rozpuštěny v 50 % methanolu v původním objemu 5 ml. Takto naředěné vzorky byly převedeny injekční stříkačkou přes nylonový mikrofiltr do HPLC vialek, které byly vloženy do chromatografu. Celkem bylo připraveno a analyzováno 24 vzorků ve dvou opakováních.



Obrázek 10: Filtrace vzorků na filtrační aparatuře

4.4.5 Podmínky chromatografie

Chromatografická analýza byla provedena na chromatografu Ultimate 3000 za následujících podmínek:

- Analytická kolona: Omnispher C18 (250 × 4,6 mm; velikost částic 5 µm; Agilent, Inc., Santa Clara, CA, USA)
- Ochranná kolona: Microsorb C18, 300A (4,6 × 10 mm, 5 µm Agilent, Inc., Santa Clara, CA, USA)
- Mobilní fáze A: deionizovaná voda, 0,1% kyselina octová
- Mobilní fáze B: acetonitril, 0,1% kyselina octová
- Eluce: gradientová (schéma uvedeno v tabulce 5)
- Průtok: 0,8 ml/min
- Teplota kolony: 25 °C
- Teplota autosampleru: 10 °C
- Objem nástřiku: 10 µl
- Délka trvání analýzy: 25 minut
- Podmínky detekce: DAD detektor, detekce na dvou vlnových délkách: $\lambda_1 = 280$ nm a $\lambda_2 = 325$ nm (spektrální akvizice: 240-500 nm)

Tabulka 5: Podmínky HPLC gradientové eluce (25 minut)

Čas (min)	Mobilní fáze A (%)	Mobilní fáze B (%)	Průtok ml/min
0	90	10	0,8
5	90	10	0,8
7	80	20	0,8
25	70	30	0,8

Následně došlo k propláchnutí kolony a opětovné ekvilibraci po dobu 11 minut.

4.4.6 Kvantifikace

Vzorky byly zpracovány na chromatografu Ultimate 3000. Jednotlivé fenolové kyseliny byly vyjádřeny v mikrogramech na 50 ml. Následně byly přepočteny na mikrogramy v gramu suchého vzorku.

5 Výsledky

Realizovaný pokus byl zaměřen na stanovení celkového obsahu polyfenolových látek a fenolových kyselin v klonech listů jakonu. Obsah celkových polyfenolů byl analyzován ve 25 vzorcích jakonových listů různého původu. Fenolové kyseliny byly stanoveny ve 24 vzorcích listů. Každý vzorek byl připraven a měřen dvakrát. Výsledné hodnoty jsou vyjádřeny jako průměrné hodnoty dvou opakování v $\mu\text{g/g}$ sušiny.

Data byla zpracována v programu Excel. Následná statistická analýza byla provedena v programu Statistica 12. Zkoumané hypotézy byly provedeny na hladině významnosti alfa 0,05.

5.1 Stanovení obsahu celkových polyfenolů

Ve všech klonech jakonových listů byly pozorovány polyfenolové látky, jejichž rozpětí bylo velmi široké a pohybovalo se od 7314 do 33092 $\mu\text{g GAE/g}$ sušeného vzorku. V průměrném obsahu celkových polyfenolů mezi jednotlivými skupinami podle původu rostlin (viz tabulka 6) jsou patrné rozdíly, nejsou však markantní. Rozdíly mezi jednotlivými klony (viz tabulka 7) jsou již výraznější.

5.1.1 Naměřené hodnoty

Tabulka 6: Průměrný obsah celkových polyfenolů v jednotlivých skupinách listů jakonu [$\mu\text{g GAE/g}$ sušiny]

Jednotlivé skupiny	Průměrný obsah polyfenolů
Skupina PER	17575
Skupina BOL	14884
Skupina ECU	14586

Tabulka 7: Obsah celkových polyfenolů v listech jednotlivých klonů jakonu [μg GAE /g sušiny]

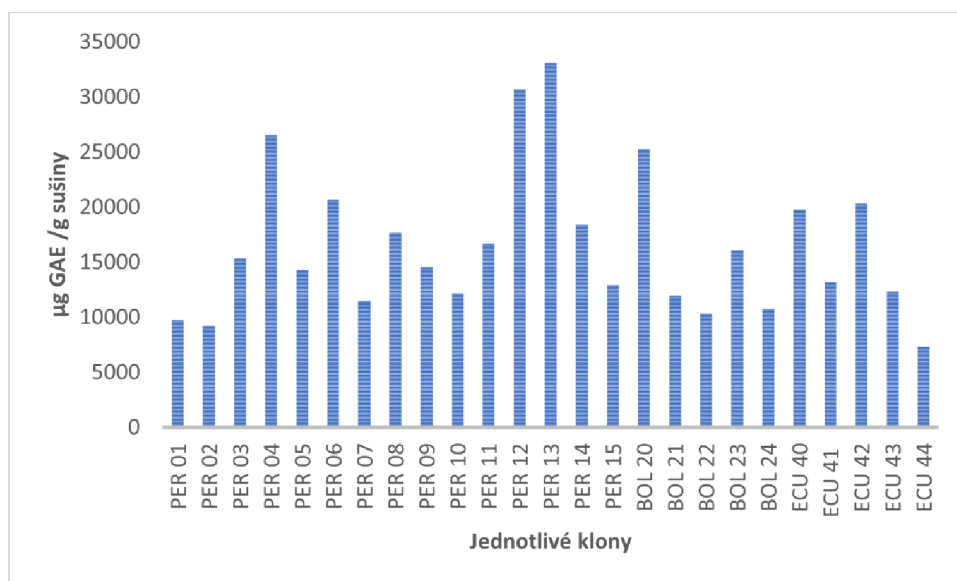
Jednotlivé klony	Obsah celkových polyfenolů
PER 01	9764
PER 02	9211
PER 03	15343
PER 04	26534
PER 05	14321
PER 06	20680
PER 07	11510
PER 08	17686
PER 09	14571
PER 10	12179
PER 11	16692
PER 12	30714
PER 13	33092
PER 14	18399
PER 15	12928
BOL 20	25292
BOL 21	11957
BOL 22	10328
BOL 23	16098
BOL 24	10744
ECU 40	19796
ECU 41	13195
ECU 42	20308
ECU 43	12319
ECU 44	7314

5.1.2 Srovnání obsahu celkových polyfenolů u jednotlivých klonů a skupin

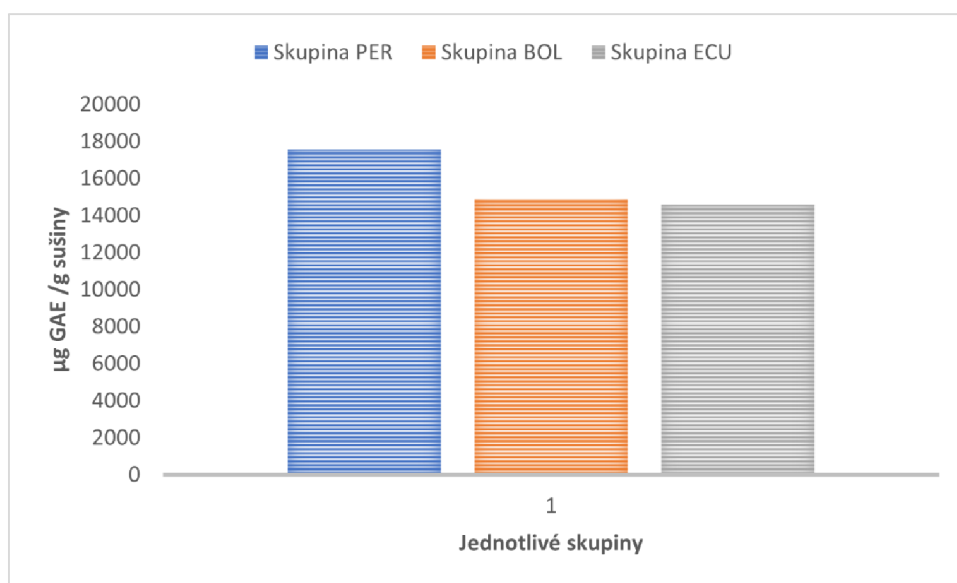
Z výsledků, které lze vidět na grafu 2, je patrné, že nejvyšší obsah fenolových látek je ve vzorku PER 13, vysoké hodnoty vykazuje též PER 12, PER 04 a BOL 20. Nejnižší obsah je ve vzorku ECU 44.

Graf 3 popisuje srovnání průměrného obsahu celkových polyfenolů v jednotlivých skupinách. Nejvyšší obsah celkových polyfenolů je v klonech pocházejících z Peru, na druhém místě je skupina klonů z Bolívie a nejnižší průměr má skupina z Ekvádoru. To, že mezi skupinami neexistuje významný rozdíl, může být vysvětleno tím, že všechny klony pochází z jedné andské odrůdy.

Graf 2: Obsah celkových polyfenolů v listech jednotlivých klonů jaku



Graf 3: Průměrný obsah celkových polyfenolů v jednotlivých skupinách listů jaku



Pro statistické vyhodnocení byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) (viz tabulka 8). Pro detailní vyhodnocení byl použit Tukeyův HSD test, který je uveden v příloze 1 a 2.

Za použití F-testu byl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu celkových polyfenolů mezi jednotlivými klony ($p = 0,0 < \alpha = 0,05$). Pro podrobnější vyhodnocení rozdílů byl tedy použit Tukeyův HSD test, z jehož výsledků je patrné, že klony PER 04, PER 12, PER 13 a BOL 20, které obsahují nejvyšší množství celkových polyfenolů, se statisticky významně liší od klonu ECU 44, který naopak obsahuje nejnižší množství celkových polyfenolů. Pod klony s nejnižšími hodnotami spadají také PER 01 a PER 02. Klony PER 06, PER 08, PER 11,

PER 14, ECU 40 a ECU 42 se statisticky významně neodlišují od ostatních zkoumaných klonů, mezi zbylými klony jsou však patrné rozdíly.

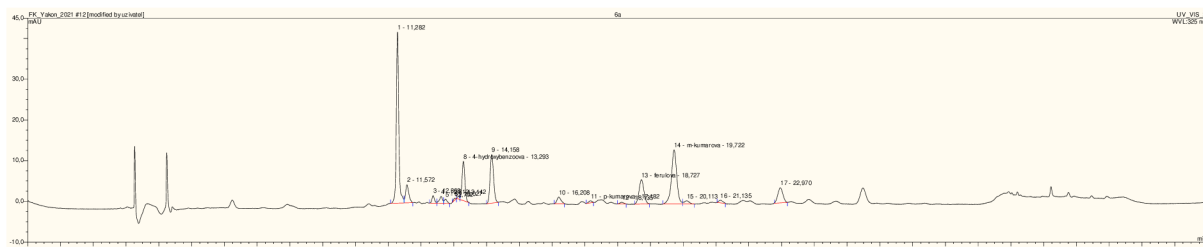
Tabulka 8: F-test pro zhodnocení rozdílů obsahu celkových polyfenolů mezi jednotlivými klony

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Celkový obsah polyfenolů Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	1.379432E+10	1	1.379432E+10	1276.710	0.000000
Klony jakonu	2.464173E+09	24	1.026739E+08	9.503	0.000000
Chyba	2.701145E+08	25	1.080458E+07		

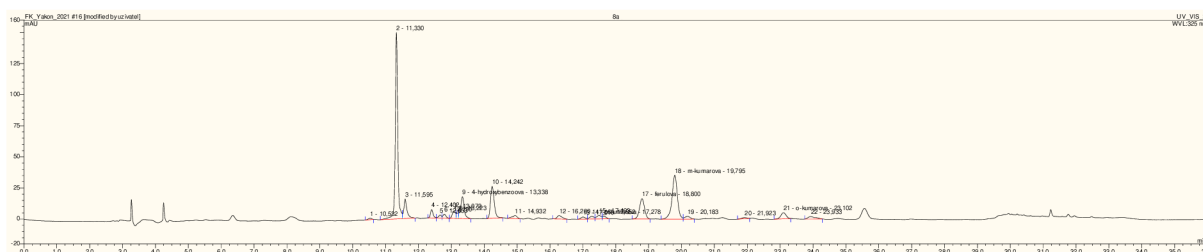
5.2 Stanovení obsahu fenolových kyselin

Ve všech klonech jakonových listů byly pozorovány fenolové kyseliny. U některých klonů byly nalezeny pouze některé, u většiny byly však, alespoň v malém množství, detekovány všechny identifikované kyseliny.

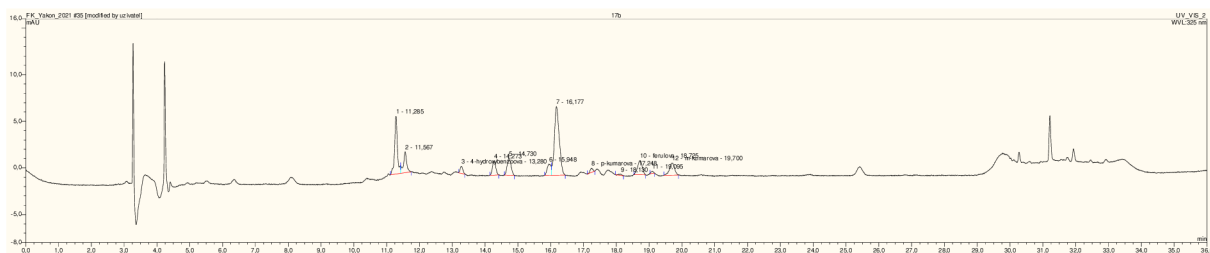
Na chromatogramech lze, kromě zkoumaných fenolových kyselin, vidět i velký počet nespécifických látek. Jedná se o další fenolové kyseliny, flavonoidy, jiné fenolové sloučeniny i látky, které nemusí pod fenolové sloučeniny spadat. Doporučuji tyto neidentifikované látky dále prozkoumat. Příklady vybraných chromatogramů pro jednotlivé klony jakonu jsou uvedené na obrázcích 11–15.



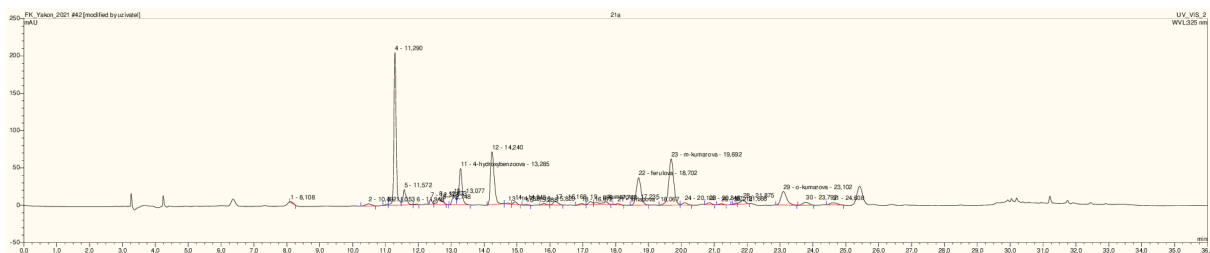
Obrázek 11: Chromatogram vzorku PER 06



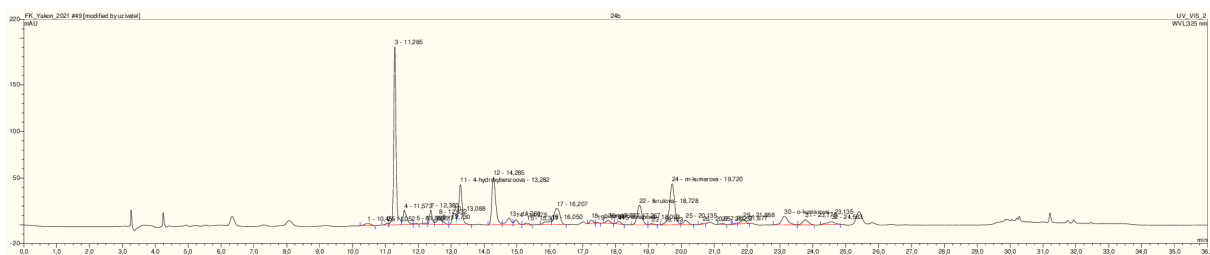
Obrázek 12: Chromatogram vzorku PER 08



Obrázek 13: Chromatogram vzorku BOL 21'



Obrázek 14: Chromatogram vzorku ECU 40

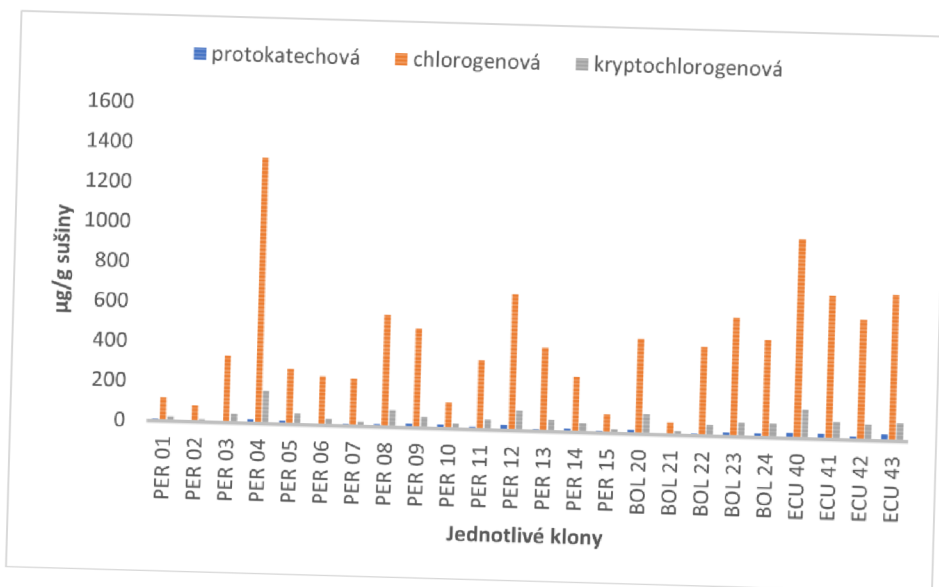


Obrázek 15: Chromatogram vzorku ECU 43'

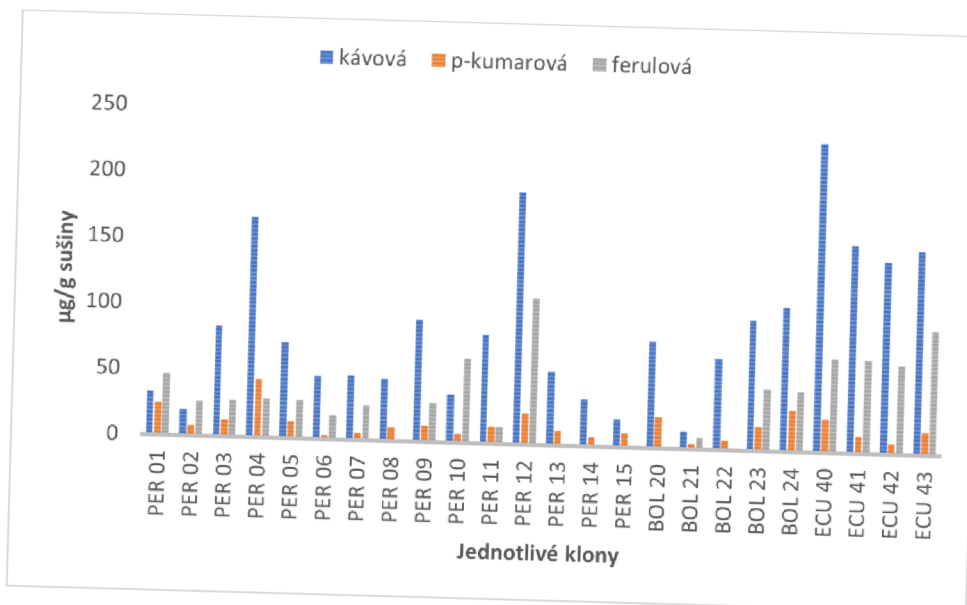
5.2.1 Naměřené hodnoty

Naměřené hodnoty všech detekovaných kyselin jsou uvedené v grafech 4–6. Celkový obsah všech kyselin v jednotlivých klonech je zaznamenán v tabulce 9, obsah jednotlivých kyselin v klonech je uveden v tabulce 10 a průměrný obsah fenolových kyselin v jednotlivých skupinách je k vidění v tabulce 11. Všechny neidentifikované kyseliny jsou odvozeny od hydroxyskořicové kyseliny a kvantifikovány na základě kalibrační křivky ferulové kyseliny.

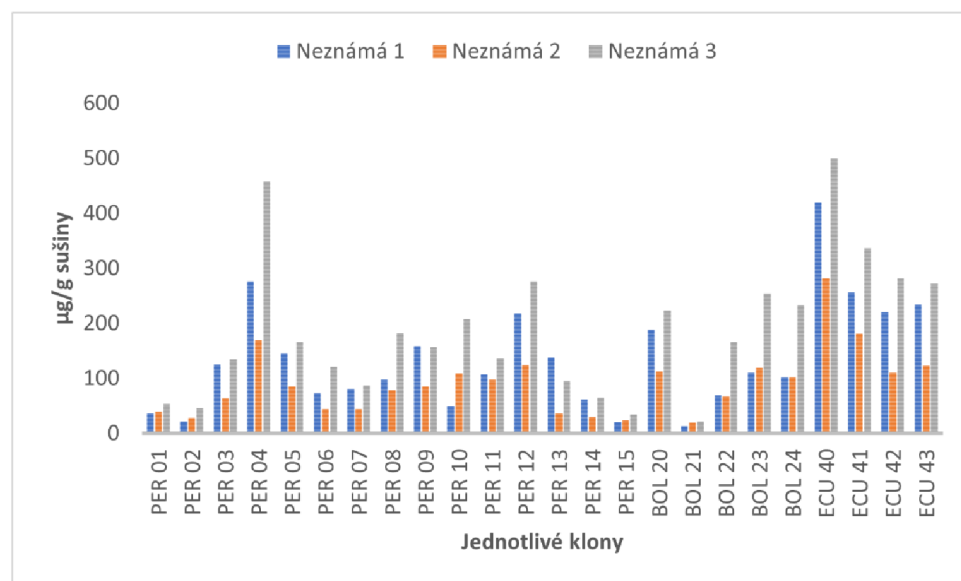
Graf 4: Obsah protokatechové, chlorogenové a kryptochlorogenové kyseliny v jednotlivých klonech



Graf 5: Obsah kávové, p-kumarové a ferulové kyseliny v jednotlivých klonech



Graf 6: Obsah neidentifikovaných kyselin v jednotlivých klonech vyjádřen pomocí ferulové kyseliny



Tabulka 9: Celkový obsah fenolových kyselin v jednotlivých klonech [µg/g sušiny]

Jednotlivé klony	Celkový obsah fenolových kyselin
PER 01	388
PER 02	253
PER 03	841
PER 04	2668
PER 05	869
PER 06	599
PER 07	566
PER 08	1082
PER 09	1113
PER 10	655
PER 11	864
PER 12	1757
PER 13	832
PER 14	545
PER 15	241
BOL 20	1231
BOL 21	172
BOL 22	896
BOL 23	1341
BOL 24	1213
ECU 40	2706
ECU 41	1856
ECU 42	1537
ECU 43	1757

Tabulka 10: Obsah jednotlivých kyselin v klonech [$\mu\text{g/g}$ sušiny]

Název kyseliny	Množství v klonech
Protokatechová	416
Chlorogenová	10835
Kryptochlorogenová	1560
Kávová	2094
P-kumarová	354
Ferulová	825
N1	3219
N2	2177
N3	4507

Tabulka 11: Průměrný obsah fenolových kyselin v jednotlivých skupinách listů jakonu [$\mu\text{g/g}$ sušiny]

Jednotlivé skupiny	Průměrný obsah fenolových kyselin
Skupina PER	1964
Skupina BOL	971
Skupina ECU	885

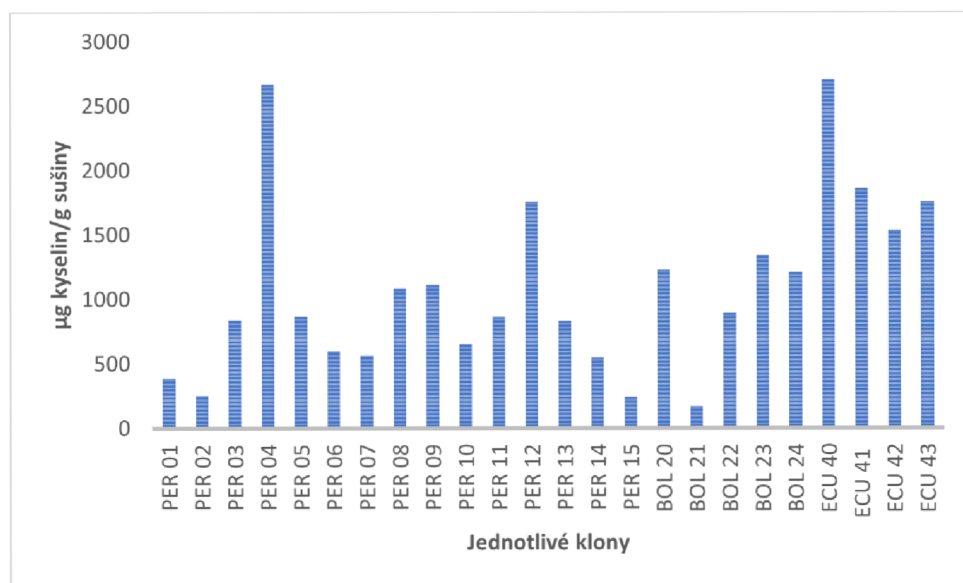
5.2.2 Srovnání obsahu fenolových kyselin u jednotlivých klonů a skupin

Z výsledků je zřejmé, že nejvyšší obsah kyselin byl nalezen ve vzorku ECU 40, velké množství bylo též nalezeno u klonů PER 04, ECU 43, PER 12 a ECU 41. Nejnižší obsah naopak ve vzorku BOL 21. Skupinou s průměrně nejvyššími hodnotami je skupina rostlin z Ekvádoru. Nejnižší hodnoty má skupina rostlin z Peru. Hodnoty jsou vyobrazeny v grafu 7.

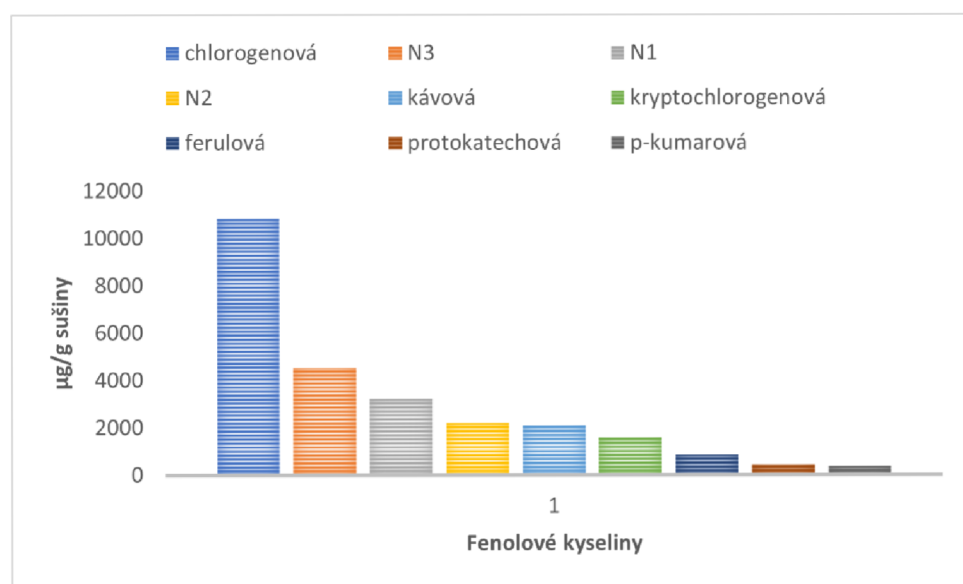
Nejvíce obsaženou kyselinou v listech je jednoznačně chlorogenová kyselina. Nejméně je p-kumarové kyseliny. Hodnoty lze vidět v grafu 8.

Graf 9 popisuje srovnání průměrného obsahu fenolových kyselin v jednotlivých skupinách. Nejvyšší obsah fenolových kyselin je v klonech pocházejících z Peru, na druhém místě je skupina klonů z Bolívie a nejnižší průměr má skupina z Ekvádoru. Výsledky jsou tedy totožné, jako u porovnání průměrného obsahu celkových polyfenolů mezi jednotlivými skupinami.

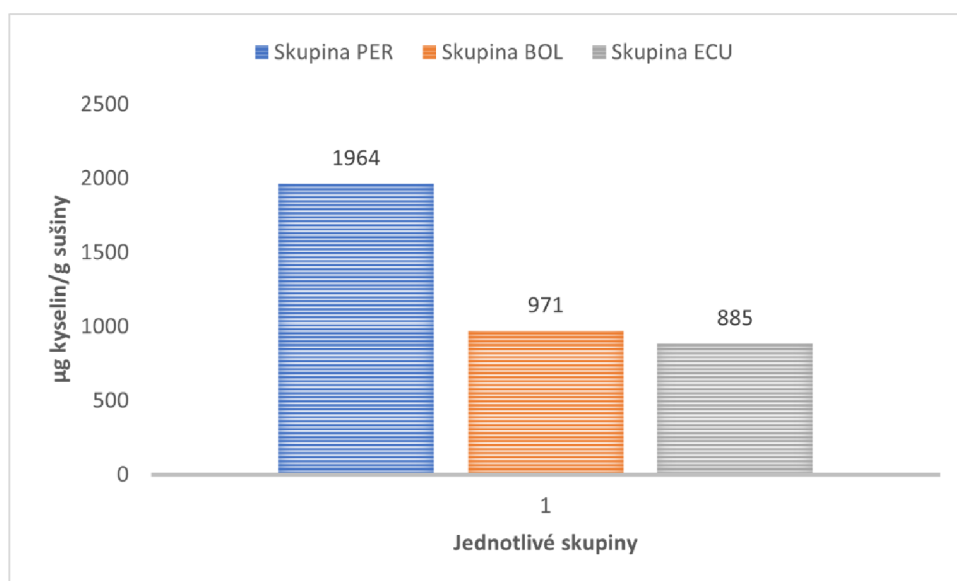
Graf 7: Celkový obsah kyselin klonů jakonu



Graf 8: Obsah jednotlivých kyselin v jakonových klonech



Graf 9: Průměrný obsah fenolových kyselin v jednotlivých skupinách listů jakonu



Pro statistické vyhodnocení byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) (viz tabulka 12). Pro detailní vyhodnocení byl použit Tukeyův HSD test, který se nachází v příloze 3 a 4.

Nejprve byl použit F-test. Statistickým zhodnocením byl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu fenolových kyselin mezi jednotlivými klony ($p = 0,0 < \alpha = 0,05$). Pro podrobnější vyhodnocení rozdílů byl tedy použit Tukeyův HSD test, který potvrdil, že existuje statisticky významný rozdíl mezi skupinou klonů ECU 40, PER 04, ECU 41, ECU 43, PER 12, ECU 42, ve kterých bylo nalezeno největší množství celkových fenolových kyselin, a klonem BOL 21, ve kterém bylo nalezeno nejmenší množství celkových fenolových kyselin. Mezi klony s nejnižšími hodnotami patří také PER 02 a PER 15. Rozdíly mezi zbylými klony jsou patrné.

Tabulka 12: F-test pro zhodnocení rozdílů obsahu fenolových kyselin mezi jednotlivými klony

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Součet fenolových kyselin u jednotlivých klonů Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	56267023	1	56267023	661.4302	0.000000
Jednotlivé klony	21800153	23	947833	11.1420	0.000000
Chyba	2041649	24	85069		

5.3 Vztah mezi celkovými polyfenoly a fenolovými kyselinami

Pro statistické vyhodnocení byla použita vícenásobná regrese (viz tabulka 13). Z výsledků vyplývá, že existuje statisticky významná závislost obsahu fenolových kyselin na obsahu celkových polyfenolů ($p = 0,0 < \alpha = 0,05$) (viz graf 10). Konkrétně se jedná o středně

silnou závislost ($r = 0,429$). Celkové polyfenoly by mělo tvořit zhruba 18,5 % detekovaných fenolových kyselin. Z chromatogramů (viz obrázky 11–15) je patrné, že jakonové listy obsahují značně více fenolových látek, tudíž i více fenolových kyselin, než nalezených 9. Fenolové kyseliny existují ve volné formě nebo vázané jako glykosidy (Jirovský et al. 2003), ty ovšem nejsou touto metodou stanoveny, je tedy možné, že se v extraktech vyskytuje více fenolových kyselin ve vázané formě. Lze tedy předpokládat, že procento kyselin tvořící celkové polyfenoly je reálně vyšší.

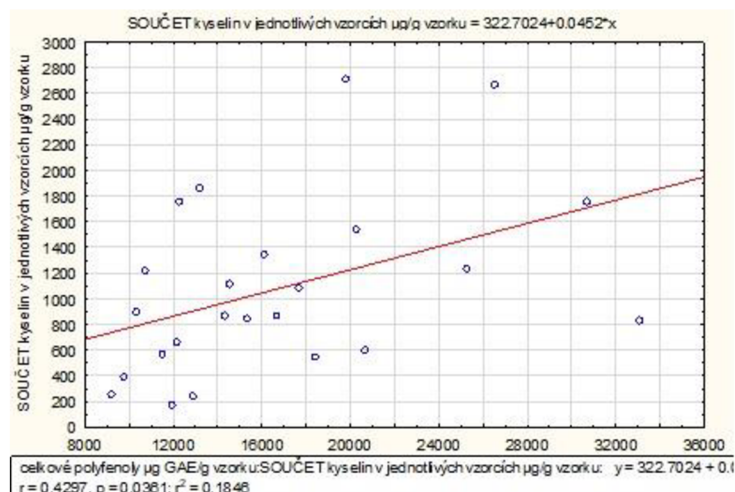
Ke stanovení polyfenolů i fenolových kyselin byly použity nespecifické metody, nelze tedy s jistotou říci, jaké látky celkové polyfenoly zastupují ani zda byly zaznamenány pouze polyfenoly. Není proto možné jednoznačně určit, zda celkové polyfenoly tvoří především fenolové kyseliny či nikoliv. Doporučuji proto další, podrobnější analýzy celkových fenolových látek v jakonových listech.

Tabulka 13: Vícenásobná regrese pro zhodnocení závislosti fenolových kyselin na celkových polyfenolech

N=24	Výsledky regrese se závislou proměnnou : Suma kyselin v jednotlivých vzorcích $\mu\text{g/g}$ vzorku R= .42965984 R2= .18460758 Upravené R2= .14754429 F(1,22)=4.9809 p<.03613 Směrod. chyba odhadu : 635.60				
	b*	Sm.chyba z b*	b	Sm.chyba z b	t(22)
Abs.člen			322.7024	364.3629	0.885662
celkové polyfenoly $\mu\text{g GAE/g}$ vzorku	0.429660	0.192518	0.0452	0.0202	2.231787

N=24	Výsledky regrese se závislou proměnnou : Suma kyselin v jednotlivých vzorcích $\mu\text{g/g}$ vzorku R= .42965984 R2= .18460758 Upravené R2= .14754429 F(1,22)=4.9809 p<.03613 Směrod. chyba odhadu : 635.60	
	p-hodn.	
Abs.člen		0.385378
celkové polyfenoly $\mu\text{g GAE/g}$ vzorku		0.036134

Graf 10: Závislost obsahu fenolových kyselin na obsahu celkových polyfenolů



6 Diskuze

Tato diplomová práce se zabývala stanovením obsahu celkových polyfenolů a fenolových kyselin v jednotlivých klonech listů jakonu ze sbírky Fakulty tropického zemědělství, které pochází z Peru, Bolívie a Ekvádoru (PER 01 – ECU 44). Práce se též zabývala porovnáním obsahu celkových polyfenolů a fenolových kyselin v jednotlivých klonech a zjišťovalo se, zda jsou celkové polyfenoly listů jakonu tvořeny převážně fenolovými kyselinami.

Obsah celkových polyfenolových látek byl stanoven spektrofotometricky metodou Folin-Ciocalteu. Ve všech klonech byla nalezena a kvantifikována přítomnost polyfenolů. Množství těchto látek se pohybovalo od 7314 do 33092 $\mu\text{g GAE /g}$ sušeného vzorku. Podobný výsledek je uveden i ve studii Lachman et al (2007), kde byly též analyzovány klony kultivované na Demonstračním a pokusném pozemku Suchdol. Rostliny pocházely z Bolívie, Ekvádoru, Nového Zélandu a Německa. Jako extrakční postup byla zvolena Soxhletova extrakce. Studie uvádí, že obsah celkových polyfenolů v listech je cca 6900–18400 $\mu\text{g GAE /g}$ sušiny. Ve studii Ferreira et al. (2019) byl zjištěn obsah polyfenolů ve třech rozdílných extraktech. V prvním extraktu (Soxhletova extrakce) bylo detekováno 14 220–27 130 $\mu\text{g GAE /g}$ sušiny, ve druhém (odvar) 13 460–24 650 $\mu\text{g GAE /g}$ a ve třetím (infuze) 5980–13970 $\mu\text{g GAE /g}$ sušiny. Tyto výsledky odpovídají hodnotám uvedeným v této práci. Russo et al. (2014) uvádí obdobný průměrný obsah celkových polyfenolů. Byly zde použity 2 druhy extraktů – ethanolový extrakt a odvar. Výsledné hodnoty prvního extraktu činily průměrně 14000–37400 $\mu\text{g GAE /g}$ sušiny a druhého 17100–43200 $\mu\text{g GAE /g}$. Tato studie rovněž potvrzuje rozdíly mezi jednotlivými klony v obsahu celkových polyfenolů. Ve všech zmíněných studiích byla využita Folin-Ciocalteu metoda.

Obsah celkových polyfenolových látek v jakonových listech může ovlivnit mnoho faktorů. Důležitým faktorem je kvalita rostlinného materiálu, na kterou mají vliv podmínky prostředí při pěstování, jako jsou například klimatické podmínky, dále podmínky sklizně, posklizňová úprava, skladování i zpracování. Důležitý je rovněž typ kultivaru, stáří rostlinného materiálu a velikost částic rostlinného materiálu. Všechny tyto faktory mohou ovlivnit chemické složení listů, tedy i obsah biologicky aktivních látek a jejich výtěžnost. Na výsledky má rovněž vliv extrakční postup, teplota a čas extrakce, extrakční činidlo nebo poměr rozpouštědla. Vliv extrakčního činidla na výslednou hodnotu celkových polyfenolů potvrzuje i studie Cruz et al. (2019), kde došlo k použití superkritické fluidní extrakce (CO_2 + ethanol). Byl zjištěn rozdíl mezi extrakcí ethanolem, methanolem, ethylacetátem a vodou. Co se výše zmíněných studií týče, nejvyšší hodnoty vykazují vzorky, kde byl jako extrakční činidlo použit ethanol. Průměrný obsah celkových polyfenolů uveden v předchozích studiích je víceméně odpovídající hodnotám zjištěných v této práci.

Jednotlivé fenolové kyseliny byly identifikovány a kvantifikovány HPLC-UV/VIS metodou za použití DAD detektoru. Detekována byla protokatechová, chlorogenová, kryptochlorogenová, ferulová, kávová a p-kumarová kyselina. Další 3 nalezené kyseliny byly neznámé. Celkový obsah fenolových kyselin v jednotlivých klonech se pohyboval v rozmezí od 172 do 2706 $\mu\text{g /g}$ sušeného vzorku. Nejvíce obsaženou kyselinou v listech byla jednoznačně chlorogenová kyselina. Ve studii Valentová et al. (2006) byly naměřeny hodnoty chlorogenové,

kávové a protokatechové kyseliny, které se pohybovaly od 37–160 µg/g sušiny, 44–97 µg/g sušiny a 6–110 µg/g sušiny, což odpovídá naměřeným hodnotám v této práci. I v této studii je chlorogenová kyselina převládající, ačkoliv jsou naměřené hodnoty o něco menší než v této práci.

Jirovský et al. (2003) zkoumali fenolové kyseliny ve 3 rozdílných extraktech. Použitými extrakčními postupy byly Soxhletova extrakce (SOX), odvar (DEC) a infuze (INF). Ve všech vzorcích byla nalezena kávová a protokatechová kyselina. Hlavní kyselinou extraktu SOX byla chlorogenová kyselina, které se ovšem ve zbylých dvou vzorcích, ve kterých dominovala kávová kyselina, našlo jen nepatrné množství. V SOX extraktu byly též nalezeny stopy ferulové kyseliny a detekována byla také p-kumarová kyselina. Protokatechová kyselina byla detekována v množství 1600 µg/g v SOX extraktu, 240 µg/g v DEC extraktu a 120 µg/g v INF extraktu. Chlorogenová kyselina v množství 62000 µg/g v SOX extraktu, 240 µg/g v DEC extraktu a 280 µg/g v INF extraktu. Kávová kyselina v množství 8000 µg/g v SOX extraktu, 1800 µg/g v DEC extraktu a 200 µg/g v INF extraktu. Ferulová kyselina v množství 560 µg/g v SOX extraktu. Téměř všechny naměřené hodnoty v SOX extraktu jsou vyšší a hodnoty v DEC a INF extraktu nižší než naměřené hodnoty v této práci. Výjimkou je množství kávové kyseliny v DEC extraktu a ferulové kyseliny v SOX extraktu, tyto dvě hodnoty jsou velice podobné hodnotám v této práci. Z výsledků je patrné, že naměřený obsah fenolových kyselin značně závisí na zvoleném extrakčním postupu. Odlišný čas, teplota extrakce a extrakční činidlo tak mohou vysvětlovat rozdílné výsledky. Spektrum nalezených fenolových kyselin se rovněž liší v závislosti na tom, zda jsou analyzovány vodné nebo nevodné extrakty. Rozdíly naměřených hodnot v této práci a uvedené studii může také vysvětlovat fakt, že ke stanovení byla použita jiná metoda, konkrétně HPLC metoda spojená s elektrochemickou detekcí (HPLCECD) s amperometrickým platinovým trubicovým detektorem. Elektrochemická detekce je velmi účinná, a protože elektrochemická aktivita úzce souvisí s antioxidační aktivitou, ECD se stává velmi výhodnou při určování přírodních antioxidantů, jako jsou fenolové kyseliny.

Studie provedena Marchyshyn et al. (2017) potvrzuje přítomnost chlorogenové (0,5 %), ferulové (0,06 %) a kávové kyseliny (0,06 %). Hlavní fenolovou kyselinou jakonových listů této studie byla rozmarýnová kyselina (0,97 %), která ovšem nebyla při tomto pokusu detekována. Vzhledem k procentuálnímu zastoupení detekovaných fenolových látek v této studii se dá říci, že chlorogenová kyselina byla jednou z majoritních kyselin, stejně jako v této práci. Mnohonásobně vyšší hodnoty byly zjištěny ve studii Valentová et al. (2003), kde byla detekována přítomnost kávové (90–14700 µg/g sušiny), chlorogenové (1700–9900 µg/g sušiny), protokatechové (120–2500 µg/g sušiny) a ferulové kyseliny (stopy). Majoritní kyselinou zde byla kávová kyselina. Russo et al. (2014) zkoumali 5 klonů jakonu za použití HPLC metody s DAD detektorem. Byla rozpoznána kávová, chlorogenová a rozmarýnová kyselina. Analýza odhalila významné rozdíly ve složení extraktů s vodou a ethanolem. Nejvyšší množství bylo nalezeno ve vzorcích, kde byla jako extrakční činidlo použita voda. Jednalo se o kávovou kyselinu, která byla vyhodnocena jako majoritní fenolovou kyselinou. Vodné vzorky však neobsahovaly téměř žádné množství chlorogenové a rozmarýnové kyseliny, které byly detekovány ve vzorcích, kde byl použit ethanol. Tato studie také potvrzuje rozdíly mezi jednotlivými klony v obsahu fenolových kyselin.

Russo et al. (2015) zkoumali 14 klonů jakonu ze sbírky Fakulty tropického zemědělství ČZU v Praze původem z Peru a Ekvádoru a potvrzují nalezení významných rozdílů v obsahu fenolových látek mezi jednotlivými klony jakonových listů. Ty může způsobit různý geografický původ klonů, odlišné morfologické znaky jednotlivých rostlin a podmínky pěstování, sklizně i manipulace po sklizni. Bylo zjištěno, že výběr a množení specifických klonů, podpořené vhodnou extrakcí, by zajistilo vyšší koncentraci aktivních složek a následně i vyšší biologickou aktivitu. V této studii byla, stejně jako v této práci, chlorogenová kyselina shledána nejvíce zastoupenou fenolovou kyselinou v listech jakonu.

Ueda et al. (2019) popsali rozdíl v obsahu fenolových kyselin v tepelně opracovaných a neopracovaných listech, přičemž tepelně opracované listy byly zahřívány na 160 °C po dobu 20 min a na 100 °C po dobu 60 minut. Obsah chlorogenové kyseliny v tepelně upravených listech byl 123–524 µg/g sušiny a neupravených 97–440 µg/g sušiny, což odpovídá hodnotám v této studii. Obsah kávové kyseliny v tepelně upravených listech byl 445–625 µg/g sušiny a neupravených 1330–1620 µg/g sušiny, což jsou hodnoty několikanásobně vyšší. Z této studie vyplývá, že tepelné zpracování může ovlivnit obsah aktivních složek v listech jakonu a zesílit jeho antioxidační kapacitu, jelikož obsah kávové kyseliny byl u tepelně opracovaných listů zhruba 3x vyšší než u listů tepelně neopracovaných. Chlorogenová kyselina je ovšem na tepelnou degradaci citlivá a její obsah byl po tepelné úpravě nižší, je proto zapotřebí dalších studií pro potvrzení této teorie.

Všechny výše zmíněné studie se shodují na tom, že HPLC metoda je jednoduchá, snadno použitelná a dostatečně účinná pro identifikaci a kvantifikaci hlavních fenolových sloučenin v rostlinných extraktech. Rozdíly obsahu fenolových kyselin ve výše uvedených studiích a v této práci mohou způsobit obdobné faktory, jako u celkových polyfenolů. Výsledky stanovení za použití nespecifických metod mohou ukázat mnoho neidentifikovaných látek, což mohou být fenolové kyseliny nebo jiné fenolové látky. Je také možné, že analýza detekuje pouze majoritní fenolové kyseliny, což vysvětluje nízký počet zmíněných kyselin ve většině studií. Organické sloučeniny jsou rozpustnější v organických sloučeninách než ve vodě (Jirovský et al. 2003), což by mohlo vysvětlovat vyšší obsah fenolových kyselin v extraktech obsahujících ethanol. Ve většině studií byly pozorovány obdobné výsledky, jako v této práci.

Mezi množstvím celkových polyfenolů a fenolových kyselin byla potvrzena statisticky významná závislost. Jednalo se o střední závislost ($r = 0,429$). Bylo prokázáno, že celkové polyfenoly tvoří zhruba 18,5 % detekovaných fenolových kyselin. Výsledky ovšem ukázaly i velké množství jiných neidentifikovaných fenolových sloučenin. Lze tedy předpokládat, že procento kyselin tvořící celkové polyfenoly bylo vyšší. Vzhledem k použití nespecifických metod nešlo s jistotou říci, jakými dalšími látkami byly polyfenoly tvořeny, nebylo proto možné jednoznačně určit, zda celkové polyfenoly tvoří především fenolové kyseliny či jiné fenolové látky. Z tohoto důvodu nelze potvrdit hypotézu, která tvrdí, že obsah celkových polyfenolů a fenolových kyselin je v těsné závislosti a celkové polyfenoly listů jakonu jsou tvořeny především fenolovými kyselinami.

Zmíněné studie ukazují, že nalezené fenolové kyseliny v jakonových listech vykazují silnou antioxidační aktivitu a jakonové listy tak mohou sloužit jako potenciální lék v prevenci chronických onemocnění způsobených radikály. Nezmiňují se však o tom, zda fenolové kyseliny tvoří většinu celkových polyfenolů či nikoliv. Z detekovaných fenolových látek je však zřejmé, že ani v těchto studiích nelze danou teorii potvrdit a většinu obsahu netvoří

fenolové kyseliny. Je ovšem potřeba dalších studií, které by se touto problematikou zabývaly. Díky silné antioxidační aktivitě jsou však fenolové kyseliny velmi důležitou složkou jakonových listů a jejich obsah v listech je stěžejní.

7 Závěr

Předmětem zájmu této diplomové práce byly listy klonů jakonu pocházející z Peru, Bolívie a Ekvádoru kultivované v České republice. Cílem práce bylo stanovit množství celkových polyfenolů a fenolových kyselin v jednotlivých klonech listů jakonu ze sbírky Fakulty tropického zemědělství a porovnat obsah celkových polyfenolů s obsahem fenolových kyselin v jednotlivých klonech. Pro účely měření bylo vybráno 25 klonů jakonu.

- Hypotéza č. 1: Ve všech zkoumaných klonech jakonu byly nalezeny polyfenolové látky i jednotlivé fenolové kyseliny, přičemž obsah těchto látek byl v každém jednotlivém klonu odlišný. Statistická analýza rovněž potvrdila statisticky významné rozdíly mezi jakonovými klony jak u obsahu celkových polyfenolů, tak u obsahu jednotlivých fenolových kyselin. Toto tvrzení se shoduje s výsledky deklarovanými v literatuře. Statisticky významně nejnižší množství celkových polyfenolů bylo naměřeno u klonu ECU 44 a statisticky významně nejvyšší u PER 13. Statisticky významně nejnižší množství fenolových kyselin bylo naměřeno u klonu BOL 21. Naopak nejvyšší množství u klonu ECU 40. Z výsledků je zřejmé, že skupinou nejbohatší na celkové polyfenoly jsou rostliny pocházející z Peru, stejně tak v případě obsahu fenolových kyselin. V obou případech následuje skupina rostlin z Bolívie a obecně nejméně polyfenolových látek je obsaženo ve skupině rostlin z Ekvádoru. Hypotéza, že obsah celkových polyfenolů a fenolových kyselin se v listech jakonu liší, byla potvrzena.
- Hypotéza č. 2: Z výsledků skutečně vyplývá, že existuje statisticky významná závislost obsahu fenolových kyselin na obsahu celkových polyfenolů. Jedná se o středně silnou závislost a celkové polyfenoly by mělo tvořit cca 18,5 % fenolových kyselin. Z výsledných chromatogramů je také zřejmé, že klony jakonových listů obsahují mnohem více fenolových látek, kterými mohou být i kyseliny, množství fenolových kyselin tvořících celkové polyfenoly tak může být reálně vyšší a je potřeba dalších výzkumů na toto téma. Hypotéza, že obsah celkových polyfenolů a fenolových kyselin je v těsné závislosti a že jsou celkové polyfenoly listů jakonu tvořeny především fenolovými kyselinami, tak nemůže být potvrzena, což se shoduje s poznatky uvedenými v literární rešerši.

Divergence mezi jednotlivými klony může být způsobena podmínkami prostředí nebo původem rostlin. Genom konkrétních klonů jakonových listů může hrát významnou roli v obsahu celkových polyfenolů, vliv mohou mít ale i klimatické podmínky, způsob sklizení, posklizňové úpravy a skladování. Rozsáhlejší studie, která by důkladně analyzovala složení sekundárních metabolitů jednotlivých klonů jakonu, by byla užitečná k přesnějšímu vyhodnocení prospěšnému pro budoucí šlechtění jakonu.

Jakonové listy jsou významným zdrojem antioxidantů, a to především díky obsahu fenolových sloučenin. Je prokázáno, že jejich konzumace může přispívat k prevenci i léčbě chronických onemocnění, která způsobují volné radikály. Ačkoliv nebylo prokázáno, že fenolové kyseliny tvoří většinu těchto látek, jejich silná antioxidační aktivita významně přispívá

k léčivým účinkům listů jakonu a jsou jejich nepostradatelnou součástí. Vzhledem k nalezení dalších neidentifikovaných polyfenolových látek by však bylo vhodné se této problematice věnovat v dalších výzkumech.

8 Literatura

- Anton SD, Martin CK, Han H, Coulon S, Cefalu WT, Geiselman P, Williamson DA. 2010. Effects of Stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite* **55**:37-43.
- Aziz Z, Yuliana ND, Simanjuntak P, Rafi M, Abdillah S. 2020. FTIR and HPLC-Based Metabolomics of Yacon Leaves Extracts (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp & Endl.] H. Robinson) from Two Locations in Indonesia. *Indonesian Journal of Chemistry* **20**(3):567-578.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* **99**:191-203.
- Calvino M. 1940. Una nuova pianta da foraggio e da alcole: La *Polymnia edulis*. *Industria Saccarifera Italiana* **33**:95-98.
- Campos D, Betalleluz-Pallardel I, Chirinos R, Aguilar-Galvez A, Noratto G, Pedreschi R. 2012. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry* **135**(3):1592-1599.
- Castiglia-Delavaud C, Verdier E, Besle JM, Vernet J, Boirie Y, Beaufrere B, Vermorel M. 1998. Net energy value of non-starch polysaccharide isolates (sugarbeet fibre and commercial inulin) and their impact on nutrient digestive utilization in healthy human subjects. *British Journal of Nutrition* **80**(4):343-352.
- Castro A, Caballero M, Herbas A, Carballo S. 2012. Antioxidants in yacon products and effect of long term storage. *Food Science and Technology* **32**(3):432-435.
- Chavan UD. 2019. Antioxidants. Conference: MTC Training Course. Project: Food Science and Technology Research Projects.
- Chen G, Li C, Chen K. 2016. Fructooligosaccharides. *Studies in Natural Products Chemistry*, 209–229.
- Chen FJ, Long XH, Li EZ. 2019. Evaluation of Antifungal Phenolics from *Helianthus tuberosus* L. Leaves against *Phytophthora capsici* Leonian by Chemometric Analysis. *Molecules* **24**(23):4300.
- Choque Delgado GT, da Silva Cunha Tamashiro WM, Maróstica Junior MR, Pastore GM. 2013. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): A Functional Food. *Plant Foods for Human Nutrition*. **68**(3):222–228.
- Cruz PN, Fetzer DL, do Amaral W, de Andrade EF, Corazza ML, Masson ML. 2019. Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂ + ethanol solvent. *The Journal of Supercritical Fluids* **146**:55-64.
- de la Rosa LA, Moreno-escamilla JO, Rodrigo-garcía J, Alvarez-parrilla E. 2019. Phenolic Compounds. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, 253-271.

- Del Rio D, Rodriguez-Mateos DA, Spencer JPE, Tognolini M, Borges G, Crozier A. 2013. Dietary (Poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid. Redox Signal* **18**:1818-1892.
- dos Santos KC, et al. 2018. Recovery of Cardiac Remodeling and Dysmetabolism by Pancreatic Islet Injury Improvement in Diabetic Rats after Yacon Leaf Extract Treatment. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Available from <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2018/1821359/> (accessed June 2021).
- Ebrahimi M, Esmaeili F, Shabani L. 2020. In vitro differentiation induction of embryonal carcinoma stem cells into insulin-producing cells by *Cichorium intybus* L. leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology* **246**. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874119315685> (accessed December 2021).
- Ekdahl KN, Fromell K, Hilborn J, Nilsson B. 2017. The innate immune response. *Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications*. Elsevier. 85-94. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081002629000045> (accessed January 2022).
- Ferreira BMR, Dagostin JLA, de Andrade EF, Tahashina TA, Ellendersen LdSN, Masson ML. 2019. Relationship Between Parameters of Development and Functional Compounds of Yacon Leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **62**.
- Fernández EC, Viehmannová I, et al. 2010. *Netradiční plodiny pro diabetiky*. 1. vyd. Praha: Grada, Praha.
- Fernández EC, Viehmannová I, Lachman J, Milella L. 2006. Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson]. A new crop in the Central Europe. *Plant Soil Environ.* **52**(12):564-570.
- Galindo-Rosales FJ, Campo-Deaño L, Afonso AM, Alves MA, Pinho FT (Eds.). 2020. *Proceedings of the Iberian Meeting on Rheology (IBEREO 2019)*. Springer Proceedings in Materials.
- Goyal SK, Samsher RK, Goyal RK. 2010. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **61**:1-10.
- Harborne JB. 1973. *Phytochemical Methods*. Springer, Dordrecht, University of Reading, UK.
- Horová G. 2009. *Hodnocení genetického materiálu jakonu pomocí mezinárodních morfologických deskriptorů* (BSc. Thesis). Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Illéš L, Novák J, Fernández Cusimamani E. 2019. Jakon - plodina z říše Inkov. Garmond Nitra, Nitra.
- Jandovská M. 1999. Jakon – alternativní zelenina pro zdravou výživu. *Zahradnictví* **24**:18-19.

- Jirovský D, Horáková D, Kotouček M, Valentová K, Ulrichová J. 2003. Analysis of phenolic acids in plant materials using HPLC with amperometric detection at a platinum tubular electrode. *Journal of Separation Science* **26**(8):739-742.
- Kasal P, Svobodová A, Šimková D, Merunková A. 2019. Pěstování a užití topinamburu a jakonu u malopěstitelů a na zahrádkách. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., Havlíčkův Brod.
- Kim Y, Keogh J, Clifton P. 2016. Polyphenols and Glycemic Control. *Nutrients* **8**:1-27.
- Korczak R, Slavin JL. 2018. Fructooligosaccharides and appetite. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 1.
- Kou X, Luo D, Zhang K, Xu W, Li X, Xu B, Liu J. 2019. Textural and Staling Characteristics of Steamed Bread Prepared from Soft Flour Added with Inulin. *Food Chemistry*, 125272.
- Lachman J, Dudjak J, Fernández EC, Pivec V. 2003. Obsah polyfenolických antioxidantů ve vybraných orgánech jakonu (*Smallanthus sonchifolius* (POEPP. ET ENDL.) H. ROBINSON). Sborník referátů. I. Mezinárodní seminář „Andské plodiny“ v České republice. Praha, ČZU. pages 47-54. ITSZ-ČZU.
- Lachman J, Fernández EC, Viehmannová I, Šulc M, Ěepková P. 2007. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **35**(1):117-123.
- Langeroodi ARS, Osipitan OA, Radicetti E, Mancinelli R. 2020. To what extent arbuscular mycorrhiza can protect chicory (*Cichorium intybus* L.) against drought stress. *Scientia Horticulturae* **263**. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423819309951> (accessed December 2021).
- Lock O, Perez E, Villar M, Flores D, Rojas R. 2016. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. *Natural Product Communications* **11**:315-337.
- Manrique I, Hermann M, Bernet T. 2004. Yacón: Ficha Técnica. Lima: Centro Sumiy Internacional de la Papa (CIP). Available from http://www.cipotato.org/artc/cip_crops/fichatecnicayacon.pdf (accessed January 2022).
- Makkar HPS, Siddhuraju P, Becker K. 2007. Chlorogenic Acid. *Plant Secondary Metabolites*. Humana Press, *Methods in Molecular Biology*TM. Totowa NJ, editor. 89–91. Available from http://link.springer.com/10.1007/978-1-59745-425-4_15 (accessed January 2022).
- Marchyshyn S, Hudz N, Dakhym I, Husak L, Mishcheko L. 2017. Analysis of phenolic compounds from *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl. leaves by HPLC-method. In *The Pharma Innovation Journal* **6**(7):980-983.
- Marcon LDN, De Sousa Moraes LF, Cruz BCdS, et al. 2019. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) – based product increases fecal short-chain fatty acids and enhances regulatory T cells by downregulating ROR γ t in the colon of BALB/c mice. *Journal of Functional Foods* **55**:333-342.

Meteorologická stanice České zemědělské univerzity v Praze. 2019. Available from: <http://meteostanice.agrobiologie.cz/> (accessed December 2021).

Meyer D, Jellema RH. 2006. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. *International Dairy Journal* **16**(9):1098-1103.

Michalska-Ciechanowska A, Wojdyło A, Bogucka B, Dubis B. 2019. Moderation of Inulin and Polyphenolics Contents in Three Cultivars of *Helianthus tuberosus* L. by Potassium Fertilization. *Agronomy* **9**(12):884.

Michl J, Valíček P, Frček J. 1995. Jakon – nová okopanina. *ÚRODA* **43**: 44-45.

Morris C, Morris GA. 2012. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. *Food Chemistry* **133**(2):237-248.

Moure A, Cruz JM, Franco D, Domínguez JM, Sineiro J, Domínguez H, José Núñez M, Parajó JC. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry* **72**(2):145-171.

Nováková L, Douša M, et al. 2013. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. 1. vyd. Lucie Nováková; Michal Douša. Hradec Králové; Klatovy.

Nurdila, Imran, Kadidae LO, Kadir LA, Ramadhan LOAN. 2019. Isolation of inulin oligomer from white yam tuber (*Dioscorea rotundata*) for preparation of curcumin-inulin nanoparticles. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* **382**, 012013.

Pacheco MT, Escribano-Bailón MT, Moreno FJ, Villamiel M, Dueñas M. 2019. Determination by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ of phenolic compounds in Andean tubers grown in Ecuador. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103258.

Pereira JAR, Teixeira MC, Saczk AA, Barcelos M de FP, Oliveira MF de, Abreu WC de. 2016. Total antioxidant activity of yacon tubers cultivated in Brazil. *Ciência e Agrotecnologia*, **40**(5):596-605.

Petera J, Dušek L, Sirák I, Soumarova R, Jarkovsky J. 2015. Cancer in the elderly in the Czech Republic. *European Journal of Cancer Care* **24**(2):163-178.

Peterková L, Rimpelová S, Kmoníčková E, Ruml T. 2019. Seskviterpenové laktony: od plevelu k léčivu. *Chemické listy* **113**(3):149-155.

Pietta PG. 2000. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products* **63**:1035-1042.

Qiu Y, Zhu Y, Zhan Y, Zhang Y, Sha Y, Zhan Y, Xu H. 2019. Systematic unravelling of the inulin hydrolase from *Bacillus amyloliquefaciens* for efficient conversion of inulin to poly-(γ -glutamic acid). *Biotechnology for Biofuels* **12**(1).

Roberfroid MB. 2005. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition* **93**:13–26.

- Russo D, Malafronte N, Frescura D, Imbrenda G, Faraone I, Milella L, Fernández EC, De Tommasi N. 2014. Antioxidant activities and quali-quantitative analysis of different *Smallanthus sonchifolius* [(Poepp. and Endl.) H. Robinson] landrace extracts, Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters **29**(17):1673-1677.
- Russo D, Valentão P, Andrade P, Fernández EC, Milella L. 2015. Evaluation of Antioxidant, Antidiabetic and Anticholinesterase Activities of *Smallanthus sonchifolius* Landraces and Correlation with Their Phytochemical Profiles. International Journal of Molecular Sciences **16**(8):17696-17718.
- Schwingshackl L, Knüppel S, Michels N, Schwedhelm C, Hoffmann G, Iqbal K, Devleeschauwer B. 2019. Intake of 12 food groups and disability-adjusted life years from coronary heart disease, stroke, type 2 diabetes, and colorectal cancer in 16 European countries. European Journal of Epidemiology.
- Shahidi F, Nacz M. 2004. Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press, Florida.
- Singh RJ. 2012. Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement. CRC Press, Boca Raton.
- Singh PK, Singh D, Nainwal RC. 2018. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener. Anusandhaan - Vigyaan Shodh Patrika **6**(1).
- Stratil P, Kubáň V, Fojtová J. 2008. Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. Czech Journal of Food Sciences **26**:242-253.
- Svobodová A. 2019. Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod. Jakon a jeho pěstování v ČR. ÚRODA **67**:24-25.
- Tedone L, Ruta C, De Cillis F, De Mastro G. 2019. Effects of *Septoglomus viscosum* inoculation on biomass yield and steviol glycoside concentration of some *Stevia rebaudiana* chemotypes. Scientia Horticulturae, 109026.
- Tjukavin GB. 2008. Introdukcija jakona (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.). Ovočivnictvo i baštannictvo. **54**. Available from http://archive.nbuv.gov.ua/portal/Chem_Biol/Oib/2008_54/Stattia%2032.htm (accessed January 2022).
- Tošović J, Marković S, Dimitrić Marković JM, Mojović M, Milenković D. 2017. Antioxidative mechanisms in chlorogenic acid. Food Chemistry **237**:390-398.
- Ueda Y, Matsuda Y, Murata T, Hoshi Y, Kabata K, Ono M, Yasuda, S. 2019. Increased phenolic content and antioxidant capacity of the heated leaves of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 1-10.
- Valentová K, Frček J, Ulrichová J. 2001. Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) a maka (*Lepidium meyenii*): tradiční andské plodiny jako nové funkční potraviny na evropském trhu. Chem. Listy **95**:594-601.

- Valentová K, Cvak L, Muck A, Ulrichová J, Simánek V. 2003. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. *European Journal of Nutrition* **42**(1):61-66.
- Valentová K, Lebeda A, Doležalová I, Jirovský I, Simonovská B, Vovk I, Kosina P, Gasmanová N, Dziechciarková M, Ulrichová J. 2006. The Biological and Chemical Variability of Yacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:1347-1352.
- Valíček P, Kokoška L, Holubová K. 2012. Léčivé rostliny třetího tisíciletí. 2., upr. vyd. Benešov: Start.
- Wagner M, Kamp L, Graeff-Hönninger S, Lewandowski I. 2019. Environmental and Economic Performance of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Cultivated for Fructooligosaccharide Production. *Sustainability* **11**(17).
- Wang Y, Zhang WY, Jiang ZJ. 2019. Development of Yacon Polysaccharide Products based on Its Effect on Blood Sugar Control **69**:21-26.
- Williams LD, Burdock GA. 2009. Genotoxicity studies on a high-purity rebaudioside A preparation. *Food Chem. Toxicol* **47**:1831-1836.
- Yadav AK, Singh S, Dhyani D, Ahuja CS. 2011. A review on the improvement of stevia *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Can. J. Plant Sci.* **91**(1):1-27.
- Zardini E. 1991. Ethnobotanical notes on yacon, *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). *Econ Bot* **45**(1):72-85.
- Zhang A, Wan L, Wu C, Fang Y, Han G, Li H, Zhang Z, Wang H. 2013. Simultaneous Determination of 14 Phenolic Compounds in Grape Canes by HPLC-DAD-UV Using Wavelength Switching Detection. *Molecules* **18**(11):14241-14257.

9 Samostatné přílohy

Příloha 1: Tukeyův HSD test pro podrobnější vyhodnocení rozdílů obsahu celkových polyfenolů mezi jednotlivými klony – homogenní skupiny

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Celkový obsah polyfenolů Homogenní skupiny, alfa = .05000 (Neúplné vyhledávání) Chyba: meziskup. PČ = 1080E4, sv = 25.000						
	Klony jakonu	Celkový obsah polyfenolů Průměr	1	2	3	4	5
25	ECU 44	7314.43	****				
2	PER 02	9210.95	****				
1	PER 01	9764.21	****				
18	BOL 22	10328.60	****				
20	BOL 24	10744.56	****				
7	PER 07	11510.22	****				
17	BOL 21	11957.49	****	****			
10	PER 10	12179.13	****	****			
24	ECU 43	12319.73	****	****			
15	PER 15	12927.93	****	****			
22	ECU 41	13195.88	****	****	****		
5	PER 05	14320.50	****	****	****		
9	PER 09	14571.40	****	****	****		
3	PER 03	15342.69	****	****	****		
19	BOL 23	16098.07	****	****	****		
11	PER 11	16692.44	****	****	****		
8	PER 08	17686.43	****	****	****	****	
14	PER 14	18398.49	****	****	****	****	
21	ECU 40	19796.05	****	****	****	****	
23	ECU 42	20308.28	****	****	****	****	
6	PER 06	20679.78	****	****	****	****	
16	BOL 20	25291.91		****	****	****	****
4	PER 04	26533.91			****	****	****
12	PER 12	30714.36				****	****
13	PER 13	37358.22					****

Příloha 2: Tukeyův HSD test pro podrobnější vyhodnocení rozdílů obsahu celkových polyfenolů mezi jednotlivými klony – významné diference

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Celkový obsah polyfenolů Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1080E4, sv = 25.000						
	Klony jakonu	1	2	3	4	5	6
		9764.2	9210.9	15343.	26534.	14320.	20680.
1	PER 01		1.000000	0.984095	0.004981	0.998643	0.225123
2	PER 02	1.000000		0.959328	0.003384	0.994107	0.166454
3	PER 03	0.984095	0.959328		0.194162	1.000000	0.990214
4	PER 04	0.004981	0.003384	0.194162		0.107632	0.973882
5	PER 05	0.998643	0.994107	1.000000	0.107632		0.943676
6	PER 06	0.225123	0.166454	0.990214	0.973882	0.943676	
7	PER 07	1.000000	1.000000	0.999896	0.016971	1.000000	0.500300
8	PER 08	0.737588	0.634166	1.000000	0.562217	0.999988	0.999999
9	PER 09	0.997237	0.989721	1.000000	0.125065	1.000000	0.960738
10	PER 10	1.000000	0.999999	0.999996	0.026882	1.000000	0.629316
11	PER 11	0.888178	0.811725	1.000000	0.379660	1.000000	0.999806

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Celkový obsah polyfenolů Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1080E4, sv = 25.000						
	Klony jakonu	1 9764.2	2 9210.9	3 15343.	4 26534.	5 14320.	6 20680.
12	PER 12	0.000391	0.000322	0.013317	0.999605	0.006493	0.348052
13	PER 13	0.000195	0.000195	0.000279	0.236153	0.000233	0.005316
14	PER 14	0.603480	0.496907	0.999998	0.698692	0.999727	1.000000
15	PER 15	0.999996	0.999936	1.000000	0.044445	1.000000	0.767388
16	BOL 20	0.011941	0.008096	0.361830	1.000000	0.218566	0.998394
17	BOL 21	1.000000	1.000000	0.999987	0.023104	1.000000	0.586435
18	BOL 22	1.000000	1.000000	0.995309	0.007415	0.999803	0.299767
19	BOL 23	0.945601	0.892999	1.000000	0.287633	1.000000	0.998531
20	BOL 24	1.000000	1.000000	0.998458	0.009937	0.999966	0.364121
21	ECU 40	0.348489	0.267068	0.999008	0.909430	0.986987	1.000000
22	ECU 41	0.999983	0.999808	1.000000	0.052990	1.000000	0.811348
23	ECU 42	0.272616	0.204314	0.995838	0.953297	0.967459	1.000000
24	ECU 43	1.000000	0.999997	0.999998	0.029577	1.000000	0.656313
25	ECU 44	1.000000	1.000000	0.718438	0.000964	0.878714	0.052055

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Celkový obsah polyfenolů Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1080E4, sv = 25.000						
	7 11510.	8 17686.	9 14571.	10 12179.	11 16692.	12 30714.	13 37358.
1	1.000000	0.737588	0.997237	1.000000	0.888178	0.000391	0.000195
2	1.000000	0.634166	0.989721	0.999999	0.811725	0.000322	0.000195
3	0.999896	1.000000	1.000000	0.999996	1.000000	0.013317	0.000279
4	0.016971	0.562217	0.125065	0.026882	0.379660	0.999605	0.236153
5	1.000000	0.999988	1.000000	1.000000	1.000000	0.006493	0.000233
6	0.500300	0.999999	0.960738	0.629316	0.999806	0.348052	0.005316
7		0.956547	0.999998	1.000000	0.993033	0.000973	0.000197
8	0.956547		0.999997	0.986143	1.000000	0.064768	0.000737
9	0.999998	0.999997		1.000000	1.000000	0.007747	0.000241
10	1.000000	0.986143	1.000000		0.998808	0.001487	0.000199
11	0.993033	1.000000	1.000000	0.998808		0.033678	0.000445
12	0.000973	0.064768	0.007747	0.001487	0.033678		0.918927
13	0.000197	0.000737	0.000241	0.000199	0.000445	0.918927	
14	0.892866	1.000000	0.999898	0.953723	1.000000	0.101140	0.001131
15	1.000000	0.997577	1.000000	1.000000	0.999922	0.002462	0.000204
16	0.039556	0.791884	0.249179	0.061335	0.610219	0.988310	0.117581
17	1.000000	0.979005	1.000000	1.000000	0.997728	0.001288	0.000198
18	1.000000	0.830593	0.999509	1.000000	0.943326	0.000505	0.000195
19	0.998504	1.000000	1.000000	0.999852	1.000000	0.022481	0.000348
20	1.000000	0.886553	0.999898	1.000000	0.969485	0.000623	0.000196
21	0.670438	1.000000	0.992337	0.790010	0.999997	0.224799	0.002869
22	1.000000	0.998887	1.000000	1.000000	0.999977	0.002957	0.000207
23	0.571770	1.000000	0.978705	0.699857	0.999960	0.291859	0.004094
24	1.000000	0.989586	1.000000	1.000000	0.999232	0.001634	0.000200
25	0.999583	0.296750	0.845258	0.996786	0.461457	0.000225	0.000194

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Celkový obsah polyfenolů Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1080E4, sv = 25.000				
	21 19796.	22 13196.	23 20308.	24 12320.	25 7314.4
22	0.923113		0.865078	1.000000	0.972652
23	1.000000	0.865078		0.725659	0.066196
24	0.812532	1.000000	0.725659		0.995408
25	0.091362	0.972652	0.066196	0.995408	

Příloha 3: Tukeyův HSD test pro podrobnější vyhodnocení rozdílů obsahu fenolových kyselin mezi jednotlivými klony – homogenní skupiny

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Suma fenolových kyselin Homogenní skupiny, alfa = .05000 (Neúplné vyhledávání) Chyba: meziskup. PČ = 85069., sv = 24.000						
	Jednotlivé klony	Suma fenolových kyselin Průměr	1	2	3	4	5
17	BOL 21	172.226	****				
15	PER 15	240.972	****				
2	PER 02	252.735	****				
1	PER 01	387.826	****	****			
14	PER 14	545.091	****	****			
7	PER 07	566.281	****	****			
6	PER 06	599.262	****	****	****		
10	PER 10	655.260	****	****	****		
13	PER 13	831.945	****	****	****	****	
3	PER 03	841.315	****	****	****	****	
11	PER 11	863.705	****	****	****	****	
5	PER 05	869.183	****	****	****	****	
18	BOL 22	896.677	****	****	****	****	
8	PER 08	1082.334	****	****	****	****	
9	PER 09	1112.867	****	****	****	****	
20	BOL 24	1212.723	****	****	****	****	
16	BOL 20	1231.501	****	****	****	****	
19	BOL 23	1341.383	****	****	****	****	
23	ECU 42	1536.711		****	****	****	****
12	PER 12	1757.055			****	****	****
24	ECU 43	1757.416			****	****	****
22	ECU 41	1856.315				****	****
4	PER 04	2667.539					****
21	ECU 40	2706.369					****

Příloha 4: Tukeyův HSD test pro podrobnější vyhodnocení rozdílů obsahu fenolových kyselin mezi jednotlivými klony – významné diference

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Suma fenolových kyselin Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 85069., sv = 24.000					
	Jednotlivé klony	1 387.83	2 252.74	3 841.32	4 2667.5	5 869.18
1	PER 01		1.000000	0.992592	0.000195	0.985712
2	PER 02	1.000000		0.910531	0.000192	0.874466
3	PER 03	0.992592	0.910531		0.000483	1.000000
4	PER 04	0.000195	0.000192	0.000483		0.000561

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Suma fenolových kyselin Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 85069., sv = 24.000				
	20 1212.7	21 2706.4	22 1856.3	23 1536.7	24 1757.4
23	0.999926	0.057485	0.999941		1.000000
24	0.952687	0.244475	1.000000	1.000000	