

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Jakon – zdroj pozitivně působících látek ve stravě

Diplomová práce

Bc. Lenka Vomočilová

Ochrana a využívání přírodních zdrojů

Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Jakon – zdroj pozitivně působících látek ve stravě" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé práce panu Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za jeho čas, ochotu a trpělivost při psaní této práce. Také panu prof. Dr. Ing. Eloy Fernández Cusimamani za jeho cenné rady a informace, které mi poskytl. Dále Bc. Kateřině Buřilové a Bc. Kristině Heřmanové za jejich spolupráci a výpomoc při chemických analýzách. Nemohu také opomenout ani své přátele a rodinu za veškerou morální podporu po celou dobu psaní práce.

Jakon – zdroj pozitivně působících látek ve stravě

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá studiem jakonu, jihoamerické plodiny bohaté na fenolické látky. Polyfenoly jsou látky, které mohou mít potenciální zdravý prospěšný účinek na lidský organismus. Vykazují například antimikrobiální, protizánětlivé, protirakovinné a antialergické účinky. Jejich hlavním pozitivem je antioxidační aktivita. Antioxidant je dostatečně stabilní molekula, která je schopna vycytávat volné radikály, a tím je neutralizovat. Díky tomu dojde k ukončení řetězové reakce dříve, než dojde k poškození životně důležitých molekul.

V teoretické části této práce je popsána stavba, pěstování, chemické složení listů i hlíz jakonu, konzumace a význam pro lidské zdraví. Hlavní složkou hlíz jakonu je voda, zbylou část tvoří sušina. Velmi podstatnou složkou hlíz jakonu jsou také již zmiňované polyfenoly.

V praktické části této práce bylo cílem stanovit obsah polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu a zároveň zjistit, zda se tento obsah u jednotlivých klonů liší. Dalším cílem bylo stanovit antioxidační aktivitu extraktů hlíz klonů jakonu a zjistit, zde se tato aktivita u jednotlivých klonů opět liší. Nakonec bylo potřeba porovnat závislost antioxidační aktivity na obsahu celkových polyfenolů. Pro analýzu bylo použito 25 klonů jakonu vypěstovaných a sklizených na pozemku České zemědělské univerzity v Praze.

Statistická analýza prokázala, že obsah polyfenolů se v závislosti na klonech hlíz liší. Dále také potvrdila, že i antioxidační aktivita je v rámci klonů rozdílná. Nakonec bylo statisticky prokázáno, že existuje statisticky významná závislost mezi obsahem celkových polyfenolů a antioxidační aktivitou.

Přínosem této diplomové práce je ucelený přehled jednotlivých fenolických látek a jejich pozitivní přínos pro člověka. Potom také zjištění, že existuje pozitivní korelace mezi obsahem celkových polyfenolů a antioxidační aktivitou.

Klíčová slova: antioxidační aktivita, DPPH, Folin-Ciocalteuovo činidlo, gallová kyselina, polyfenoly

Yacon – a source of positive substances in the diet

Summary

This diploma thesis is about the study of yacon, a South American crop rich in phenolic compounds. Polyphenols are compounds that can have a potential healthy effect on the human body. They have antimicrobial, antiinflammatory, anticancer and antiallergic effects for example. Their main positive is the antioxidant activity. An antioxidant is a sufficiently stable molecule that is able to scavenge free radicals and thus neutralize them. As a result, the chain reaction is terminated before vital molecules are damaged.

The theoretical part of this work describes the structure, cultivation, chemical composition of the yacon leaves and tubers, consumption and importance for human health. The main component of yacon's tubers is water, the rest is dry matter. The already mentioned polyphenols are also a very important component of yacon tubers.

In the practical part of this work, the aim was to determine the content of polyphenols in the tubers of individual yacon clones and at the same time to find out whether this content differs in individual clones. Another goal was to determine the antioxidant activity of extracts of tubers of yacon clones and to find out whether this activity differs for individual clones again. Finally, it was necessary to compare the dependence of antioxidant activity on the content of total polyphenols. For the analysis, 25 yacon clones were grown and harvested on the land of the Czech University of Life Sciences in Prague.

Statistical analysis showed that the polyphenol content varied depending on the tuber clones. It also confirmed that the antioxidant activity is different within the clones. Finally, it was statistically demonstrated that there was a statistically significant relationship between total polyphenol content and antioxidant activity.

The benefit of this diploma thesis is a comprehensive overview of individual phenolic substances and their positive contribution to humans. Then also the finding that there is a positive correlation between the content of total polyphenols and antioxidant activity.

Keywords: antioxidant activity, DPPH, Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, polyphenols

Obsah

1 Úvod	9
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3 Literární rešerše.....	11
3.1 Popis jakonu	11
3.1.1 Stavba a vzhled jakonu – listy, stonky a hlízy	11
3.1.2 Pěstování jakonu.....	13
3.1.3 Chemické složení hlíz jakonu.....	13
3.1.3.1 Inulin	14
3.1.3.2 Fruktooligosacharidy (FOS).....	15
3.1.4 Chemické složení listů jakonu	16
3.1.4.1 Rutin	16
3.1.4.2 Kvercetin	17
3.1.4.3 Myricetin	17
3.1.4.4 Kaempferol.....	18
3.1.5 Konzumace jakonu	19
3.1.6 Význam pro lidské zdraví.....	20
3.2 Polyfenoly.....	21
3.2.1 Flavonoidy	21
3.2.1.1 Flavony	22
3.2.1.2 Isoflavony	22
3.2.1.3 Flavonoly.....	23
3.2.1.4 Flavanony	23
3.2.1.5 Flavanoly	24
3.2.1.6 Anthokyany	24
3.2.2 Látky neflavonoidní povahy	25
3.2.2.1 Lignany.....	25
3.2.2.2 Taniny.....	26
3.2.2.3 Stilbeny.....	27
3.2.2.4 Fenolické kyseliny	28
3.3 Antioxidační aktivita.....	30
3.3.1 Volné radikály	30
3.3.1.1 Reaktivní formy kyslíku (ROS)	30
3.3.1.2 Reaktivní formy dusíku (RNS).....	31

3.3.2	Antioxidanty	32
3.3.2.1	Syntetické antioxidanty	33
3.3.2.2	Přírodní antioxidanty	34
3.3.3	Oxidační stres a lidská onemocnění	36
3.3.4	Metody stanovení polyfenolů	37
3.3.5	Metody stanovení antioxidační aktivity	37
3.3.5.1	ORAC (<i>Oxygen Radical Absorption Capacity</i>)	38
3.3.5.2	HORAC (<i>Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity</i>)	38
3.3.5.3	TRAP (<i>Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter</i>)	38
3.3.5.4	FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	39
3.3.5.5	TEAC (<i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i>)	39
3.3.5.6	DPPH	39
3.3.5.7	GC (<i>Gas chromatography</i>)	39
3.3.5.8	HPLC (<i>High performance liquid chromatography</i>)	40
4	Metodika	41
4.1	Klony jakonu na ČZU	41
4.1.1	Jednotlivé klony jakonu na ITS – ČZU v Praze	41
4.1.1.1	Peru	41
4.1.1.2	Bolívie	41
4.1.1.3	Ekvádor	41
4.1.1.4	Nový Zéland	41
4.1.1.5	Německo	42
4.1.2	Charakteristika hlíz klonů jakonu na ČZU	42
4.2	Pěstování jakonu na pozemku ČZU	43
4.3	Vlastní stanovení	44
4.3.1	Stanovení obsahu polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu	44
4.3.1.1	Příprava vzorků	44
4.3.1.2	Přístroje a chemikálie	45
4.3.1.3	Vlastní stanovení celkového obsahu polyfenolů	45
4.3.2	Stanovení antioxidační aktivity extraktů hlíz klonů jakonu	46
4.3.2.1	Příprava vzorků	46
4.3.2.2	Přístroje a chemikálie	46
4.3.2.3	Vlastní stanovení antioxidační aktivity	47
5	Výsledky	48
5.1	Obsah polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu	48

5.1.1	Vliv klonu na obsah polyfenolů v hlízách	49
5.2	Antioxidační aktivita extraktů hlíz klonů jakonu	50
5.2.1	Vliv klonů hlíz na antioxidační aktivitu	51
5.3	Porovnání závislosti antioxidační aktivity na obsahu polyfenolů.....	52
6	Diskuze	53
6.1	Obsah polyfenolů.....	53
6.2	Antioxidační aktivita.....	54
6.3	Porovnání závislosti antioxidační aktivity na obsahu polyfenolů.....	54
7	Závěr	56
8	Literatura.....	57
9	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Jakon je léčivá rostlina a okopanina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*), která pochází z Jižní Ameriky. V posledních letech roste o tuto plodinu zájem, především pro její pozitivní vliv při léčbě diabetu. Zdraví prospěšné látky, které jakon obsahuje se nacházejí jak v listech, tak v hlízách. V listech se vyskytuje velké množství polyfenolických antioxidantů, proto jsou vhodné pro přípravu léčivých výluhů a čajů. Hlízy obsahují zásadité fruktooligosacharidy (FOS), které jsou významné díky své nízké energetické hodnotě (Fernández et al. 2010).

Ve světě se můžeme setkat s odlišnými názvy pro jakon. V Bolívii se například používá označení aricama nebo aricom. V Ekvádoru se jakon pojmenovává jako chicama, shicama nebo jicima. Obecně je nejvíce rozšířený španělský termín yacon, který v překladu znamená „vodnatý“. Tento název je odvozen z toho, že hlízy jakonu obsahují v čerstvé hmotnosti až 70 % vody (Caetano et al. 2016). Kromě vody obsahují hlízy také bílkoviny, sacharidy, tuky, vlákninu, popeloviny a minerální látky. Mezi nejvíce zastoupené patří vápník, draslík, fosfor, železo, sodík a hořčík. Listy kromě antioxidantů obsahují ještě terpeny a flavonoidy (Jůzl & Elzner 2014). Díky všem těmto látkám, které jakon obsahuje je považován za multifunkční potravinu (Khajehei et al. 2018).

Konzumace hlíz jakonu je možná buď v čerstvé podobě nebo po zpracování. Velmi populární jsou jakonové sirupy, které je možné využívat jako dietní sladidla. Dále potom šťávy, chipsy nebo sladké pečivo (Lachman et al. 2003).

Polyfenoly, které se v jakonu nacházejí jsou sekundární metabolity vyšších rostlin, které mají významnou roli jak pro samotnou rostlinu, tak mohou mít potenciální zdravý prospěšný účinek na lidský organismus (Daglia 2012). Jedná se totiž o nejhodnější zastoupené antioxidanty ve stravě, které se nacházejí především v ovoci a zelenině (Scalbert et al. 2005). Dělí se na dvě hlavní skupiny. První je skupina flavonoidů (flavony, isoflavony, flavonoly, flavanony, flavanoly a anthokyany). Druhou skupinou jsou potom látky neflavonoidní povahy (lignany, taniny, stilbeny a fenolické kyseliny) (Di Lorenzo et al. 2021).

Volné radikály vznikají v lidském těle, pokud je organismus vystaven různým patologickým stavům. Proto je pro správnou fyziologickou funkci organismu potřeba rovnováha mezi těmito volnými radikály a antioxidanty. Antioxidant je dostatečně stabilní molekula, proto může darovat elektron volnému radikálu a tím jej neutralizovat. Tím dojde ke snížení schopnosti radikálu poškodit buňky. Antioxidanty jsou schopny zachycovat volné radikály, proto mohou ukončit řetězovou reakci dříve, než dojde k poškození životně důležitých molekul (Lobo et al. 2010).

Existují různé metody pro stanovení polyfenolů. Mezi nejběžnější patří: nukleární magnetické rezonance (NMR), infračervená (IR), ultrafialová (UV) nebo hmotnostní spektrofotometrie (MS), které slouží pro identifikaci organických sloučenin, ale nedokážou objasnit celou strukturu. Dále se potom můžeme setkat s micelární elektrokinetickou chromatografií (MEKC), kapilární elektroforézou (CE) nebo plynovou (GC) a kapalinovou (HPLC) chromatografií. V minulosti se jako hlavní separační technika používala tenkovrstvá chromatografie (TLC), papírová elektroforéza a polyamidová chromatografie (Vomočilová 2020). Pro stanovení antioxidační aktivity se potom využívají metody spektrometrické (ORAC, HORAC, TRAP, CUPRAC, FRAP, PFRAP, ABTS, DPPH), elektrochemické (voltametrie, amperometrie, biamperometrie) a chromatografické (GC, HPLC) (Munteanu & Apetrei 2021).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotézy:

- 1.) Obsah polyfenolů se v hlízách jednotlivých klonů jakonu liší.
- 2.) Antioxidační aktivita extraktů z hlíz jakonu se bude u jednotlivých klonů lišit.
- 3.) Existuje pozitivní korelace mezi obsahem celkových polyfenolů a antioxidační aktivitou.

Cíle:

- 1.) Stanovení obsahu polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu (klony byly ze sbírek FTZ).
- 2.) Stanovení antioxidační aktivity extraktů hlíz klonů jakonu.
- 3.) Porovnání závislosti antioxidační aktivity na obsahu celkových polyfenolů.

3 Literární rešerše

3.1 Popis jakonu

Jakon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) je léčivá vytrvalá rostlina, která pochází z And, konkrétně z Peru a Bolívie. V těchto oblastech je již dlouhou dobu součástí jídelníčku pro svou osvěžující a sladkou chuť hlíz. Dnes se pěstování jakonu značně rozšiřuje a pěstuje se v několika zemích po celém světě (de Andrade et al. 2014; Kasal et al. 2019).

Ve světě se můžeme setkat s různými názvy pro jakon. Označení jicama, shicama nebo chicama v Ekvádoru, aricama nebo aricom v Bolívii anebo arboloco v Kolumbii. Obecně je ale nejvíce rozšířené španělské označení yacon. Tento termín v překladu znamená „vodnatý“ a je odvozen z toho, že hlízy jakonu obsahují v čerstvé hmotnosti až 70 % vody (Caetano et al. 2016).

Jedná se o rostlinu z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*), která díky svým funkčním vlastnostem může být používána jako doplněk stravy k prevenci a léčbě chronických onemocnění. Někdy se také jakon používá jako zdroj přírodních sladidel a sirupů pro lidi trpící zažívacími problémy. V nadzemních částech jakonu se nachází významné množství proteinů, proto se tyto části mohou využívat i pro hospodářská zvířata jako krmivo (Vomočilová 2020).

3.1.1 Stavba a vzhled jakonu – listy, stonky a hlízy

Listy jakonu (obr. 1) jsou vstřícně postavené a mohou mít šípovitý nebo trojúhelníkový tvar. Jejich barva má různé odstíny zelené (od světle až po tmavě zelenou) a daný odstín závisí na druhu klonu. Okraje listů mohou být zubaté anebo laločnaté. Na spodní straně listů se nacházejí trichomy (Fernández et al. 2010).

Stonky (obr. 2) mohou mít zelené až fialové zbarvení a jejich tvar je válcovitý. Skládají se z nadzemní a podzemní části. Podzemní část vytváří stonkové hlízy, označované jako „kaudexy“, které slouží k vegetativnímu rozmnožování. Na stonku se také nacházejí trichomy. Hlavní stonk bývá často přerůstán stonky postranními (Fernández et al. 2010).



Obr. 1: Listy jakonu (Cultivariable 2022).



Obr. 2: Stonk jakonu (Health Benefits Times 2021).

Na jakonu se nachází dva typy kořenů – absorpční a zásobní. Absorpční kořeny slouží k příjmu živin a vody z okolní půdy. Zásobní kořeny jsou označovány jako hlízy (obr. 3). Jsou jedlé, dosahují velké hmotnosti a mají sladkou chuť. Dají se konzumovat buď za syrova nebo po tepelné úpravě. Hlízy mohou mít různé tvary (kulovitý, cylindrický nebo vřetenovitý) a jejich vrchní vrstva může být jinak barevná (od tmavě žluté, přes růžovou až po fialovou). Také barva dužiny u tohoto typu kořene může být odlišná (bílá, žlutá nebo fialová). (Vomočilová 2020).

Květenství (obr. 4) jakonu je vrcholičnaté, které je zakončené úborem. Nachází se na něm jazykové a trubkovité květy. Jazykových květů je méně, mají žlutou až oranžovou barvu a nachází se na okraji. Trubkovitých květů je naopak více, nesou pestík a tyčinky a nacházejí se uprostřed. Plodem je hnědá až černá nepukavá nažka (Fernández et al. 2010).



Obr. 3: Hlízy jakonu (Mandala Naturals 2021).



Obr. 4: Květenství jakonu (Health Benefits Times 2021).

Celkový vzhled jakonu je vyobrazen na obr. 5.



Obr. 5: Vzhled jakonu (Foxyliam 2018).

3.1.2 Pěstování jakonu

Jakon se pěstuje především jako trvalka, ale může se pěstovat také jako jednoletka. Nejlépe se mu daří ve vlhkých a na organickou hmotu bohatých půdách. Důležitý je také dostatek slunečního svitu a srážek. Snáší velké rozmezí teplot (od 0 °C až do 30 °C). Může vyrůst do výšky až 2,5 m a na šířku může dosahovat až kolem 1 m. Jakon je náchylný na ranní mrazíky, proto je potřeba dobře odhadnout dobu sklizně (Biggs 2019).

Sklizeň se provádí na podzim po ukončení vegetace. Je důležité zacházet se sklizenými hlízkami velmi opatrně, protože během sklizně obsahují velké množství vody (až 90 %) a tak snadno dochází k jejich poškození. Neporušené hlízkové části se dají uchovávat až několik měsíců na chladném a temném místě s dostatečnou vlhkostí, aby nedocházelo k jejich vysychání (Vomočilová 2020).

Díky nenáročným požadavkům jakonu pro pěstování se rozšířil do dalších oblastí mimo Andy. Pěstuje se v Japonsku, Číně, České republice, Brazílii, Novém Zélandu, Rusku a v dalších zemích světa. U jakonu existuje vysoká molekulární, chemická a morfologická variabilita podle regionu, kde se pěstuje (Rajchl et al. 2018).

3.1.3 Chemické složení hlíz jakonu

Hlavní část kořenových hlíz jakonu tvoří voda (až 70 %), zbylou část tvoří sušina (30 %). Sušina obsahuje převážně sacharidy (70-80 %), konkrétně inulin, fruktooligosacharidy (FOS) a volné sacharidy (glukosu, fruktosu a sacharosu). Bílkoviny se v hlízkách nacházejí jen v malém množství (0,3-3,7 %) (Lachman et al. 2003). Dále se v hlízkách nachází ještě tuky, vláknina, popeloviny a minerální látky. Mezi nejvíce zastoupené minerální látky patří vápník, draslík, fosfor, železo, sodík a hořčík. Sladkou chuť hlíz způsobuje především přítomnost fruktosy, která má o 70 % vyšší sladivost než sacharosa (Jůzl & Elzner 2014). Průměrné složení kořenových hlíz je uvedeno v tab. 1. Průměrný obsah minerálních látek, vitaminů a jejich prekurzorů je uveden v tab. 2.

Hlízkové části jakonu obsahují také velké množství fenolických sloučenin. Mezi nejvíce zastoupené patří chlorogenová kyselina a deriváty kávové kyseliny (Neves & da Silva 2007).

Tab. 1: Chemické složení hlíz jakonu (Jůzl & Elzner 2014).

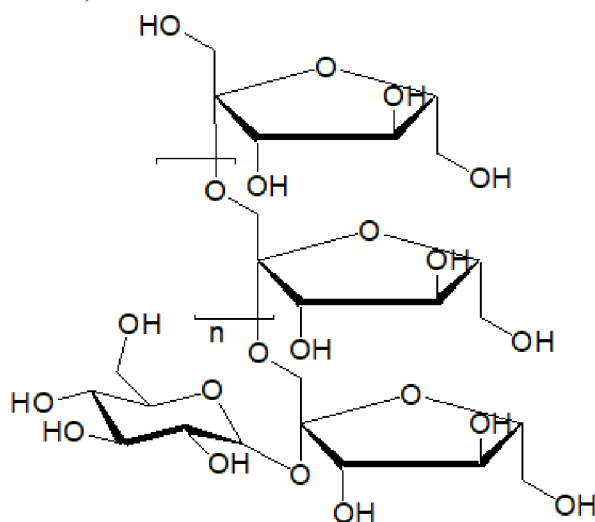
100 g kořenových hlíz jakonu v průměru obsahuje	Hmotnost [g]
voda	81,3
bílkoviny	1,0
sacharidy	13,8
tuky	0,1
popeloviny	1,1
vláknina	0,9

Tab. 2: Obsah minerálních látek a vitaminů (Jůzl & Elzner 2014).

100 g kořenových hlíz jakonu v průměru obsahuje	Hmotnost [mg]
draslík (K)	228
vápník (Ca)	23
fosfor (P)	21
hořčík (Mg)	8,4
sodík (Na)	0,4
železo (Fe)	0,3
kyselina askorbová	13
retinol	10
riboflavin	0,11
β-karoten	0,08
thiamin	0,01

3.1.3.1 Inulin

Inulin (obr. 6) je zásobní látkou kořenových hlíz jakonu. Jedná se o obecný pojem, pod který spadají všechny lineární fruktany s glykosidickou β -(1,2)-vazbou. Odolávají hydrolýze, která probíhá ve střevech trávicího systému. Proto zde pak působí jako nestravitelná součást stravy (Vomočilová 2020).



Obr. 6: Obecný vzorec inulinu (Nacalai Tesque).

Jedná se tedy o nestravitelný sacharid fruktanového typu. Kromě jakonu se nachází ve více než 30 000 rostlinách, například v topinamburu, čekance nebo česneku (obsah inulinu v různých rostlinných materiálech je uveden v tab. 3). Má celou řadu pozitivních funkcí a využití. Umí regulovat hladinu krevního cukru, vykazuje antioxidační a protirakovinnou aktivitu, může se podílet na imunitní reakci. Využívá se ve farmaceutickém průmyslu jako nosič léčiva, stabilizátor nebo pomocné terapeutické činidlo pro různá onemocnění. Dále se může využívat v potravinářském průmyslu jako sladidlo, náhražka tuku nebo zahušňovadlo (Wan et al. 2020).

Tab. 3: Obsah inulinu v různých rostlinných materiálech (upraveno podle Wan et al. 2020).

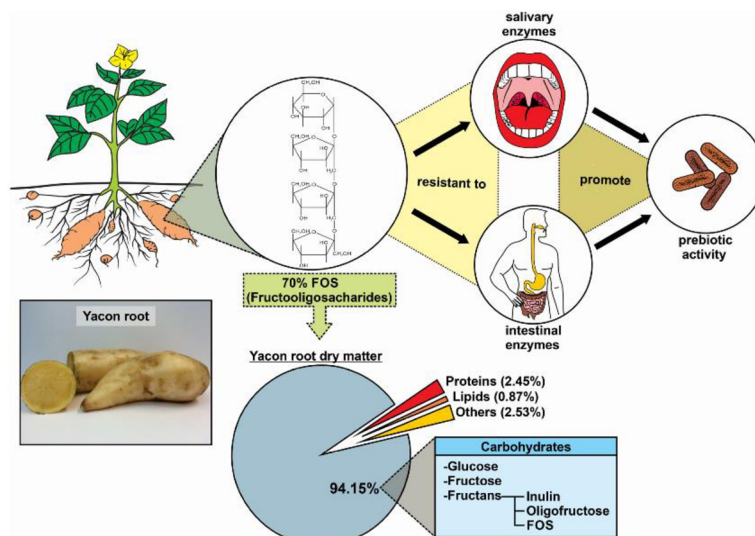
Zdroj	Botanický název	Část	Obsah inulinu [%]
česnek kuchyňský	<i>Allium sativum</i>	hlíza, čerstvá	12,5-23,5
		hlíza, sušená	> 75,0
chřest lékařský	<i>Asparagus officinalis</i>	kořen, čerstvý	2,0-3,0
kozí brada pórolistá	<i>Tragopogon porrifolius</i> L.	kořen, čerstvý	4,0-11,0
slunečnice	<i>Helianthus tuberosus</i> L.	hlízy, čerstvé	8,2-13,5
topinambur			
jířinka zahradní	<i>Dahlia pinnata</i>	hlízy, čerstvé	6,0-9,5
		kořen, sušený	59,0
čekanka obecná	<i>Cichorium intybus</i> L.	kořen, sušený	65,0-79,0
jakon	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	kořen, čerstvý	7,0-8,0
		hlízy, čerstvé	1,1-7,5
cibule kuchyňská	<i>Allium cepa</i> L.	hlízy, sušené	48,0

Tím, že v posledních letech roste zájem o tzv. funkční potraviny, tedy potraviny, které zlepšují celkový zdravotní stav a snižují rizika vzniku různých onemocnění, probíhá celá řada výzkumů. Cílem těchto studií je úprava produktů na zdravější formy díky přidávání funkčních složek, které se považují za zdraví prospěšné. Zkoumají se například změny sensorických a fyzikálně-chemických vlastností masa po přidání právě inulinu. Funkční potraviny na bázi masa s inulinem mohou vést ke zlepšení trávicího systému snížením rizika onemocnění, jako je zácpa, zánětlivé onemocnění střev nebo rakovina tlustého střeva a konečníku. Obecně tedy inulin může sloužit jako tzv. dietní vláknina, může ulevovat od zácpy nebo může snižovat rizika vzniku onemocnění trávicí soustavy (Illipangama et al. 2022).

3.1.3.2 Fruktooligosacharidy (FOS)

Fruktooligosacharidy jsou nestravitelné složité sacharidy, které vykazují nízkou energetickou hodnotu (Jůzl & Elzner 2014). Jedná se o fruktany, které se skládají z lineárních krátkých řetězců molekul fruktosy. Fruktany jsou syntetizovány ze sacharosy v buněčných vakuolách kořenů, stonků a listů rostlin. Kromě jakonu se nacházejí ještě například v chřestu, cibuli, česneku, artyčoku nebo banánu. Fruktooligosacharidy odolávají enzymatickému trávení v horních částech trávicího traktu a neporušené se dostávají do tlustého střeva. Zde podstupují mikrobiální fermentaci. Konečným produktem této fermentace jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které podporují růst přátelských bakterií (*Bifidobacterium* spp. a *Lactobacillus* spp.), které střevo osidlují, a naopak snižují množství patogenních bakterií (*Clostridium* spp. a *Escherichia coli*), které mohou způsobovat průjemy. Fruktooligosacharidy tedy vykazují prebiotické účinky (Caetano et al. 2016). Působení fruktooligosacharidů v trávicím traktu je vyobrazeno na obr. 7.

Lesnický, zemědělský a potravinářský průmysl produkuje velké objemy odpadu. Ten obsahuje především proteiny a komplexní sacharidy, které by mohly být využitelné jako živiny pro růst bakterií nebo produkci enzymů, které mohou produkovat fruktooligosacharidy. Proto se také zkoumá možnost výroby fruktooligosacharidů z agroodpadu a tím zlepšení stavu životního prostředí, které je zatíženo hromaděním těchto odpadů (de la Rosa et al. 2019).



Obr. 7: Působení fruktooligosacharidů v trávicím traktu (Caetano et al. 2016).

3.1.4 Chemické složení listů jakonu

Listy jakonu se skládají z vody (10,47 %), proteinů (21,48 %), tuků (4,2 %), popelovin (12,52 %), vlákniny (11,63 %) a minerálních látek. Mezi nejvíce zastoupené minerální látky patří vápník, fosfor, železo, měď, mangan a zinek. Dále se v listech nacházejí ještě tepreny, flavonoidy a katechol (Valentová et al. 2001). Listy obsahují vysoké množství fenolických sloučenin, které vykazují antioxidační aktivitu a tím chrání buněčné membrány před poškozením kyslíkovými radikály (Delgado et al. 2013).

Ve studii Simonovska et al. (2003) byla v extraktech Soxhletovou metodou za použití methanolu jako rozpouštědla potvrzena přítomnost fenolických kyselin, konkrétně chlorogenové, ferulové a kávové kyseliny. Tyto kyseliny se nacházejí ve velkém množství v listech i v hlízách.

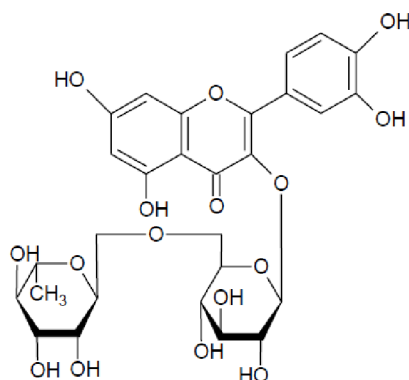
Ve studii de Andrade et al. (2014) bylo stanovováno množství flavonoidů v listech a květech jakonu. Jejich množství v mg na 1 g suché hmotnosti listu nebo květu je uvedeno v tab. 4, kdy INF a DEC jsou vodné extrakty a MTN je methanolvý extrakt. Nejvíce zastoupeny jsou myricetin, kvercetin, kaempferol a rutin. Rutin je nejreprezentovanější flavonoid, který se nachází hlavně v listech.

Tab. 4: Množství flavonoidů v listech a květech jakonu [mg/g] (de Andrade et al. 2014).

Flavonoid	Množství v listech [mg/g]			Množství v květech [mg/g]		
	INF	DEC	MTN	INF	DEC	MTN
rutin	2,81	2,15	0,04	0,90	0,99	0,54
kvercetin	-	-	0,01	-	-	0,15
myricetin	1,34	0,80	0,04	16,09	11,61	-
kaempferol	-	-	0,03	-	-	-

3.1.4.1 Rutin

Rutin (obr. 8), který je také známý jako vitamin P je flavonoid, který se vyznačuje širokou škálou farmakologických účinků. Má antimikrobiální, antidiabetickou, protinádorovou a protizánětlivou aktivitu. Je jedním z nejlepších antioxidantů vyskytujících se v přírodě. Využívá se v potravinářství jako barvivo, stabilizátor a konzervační látka. Dále také v chemickém a kosmetickém průmyslu, krmivech pro zvířata nebo jako aktivní složka multivitaminových a bylinných přípravků (Vomočilová 2020).

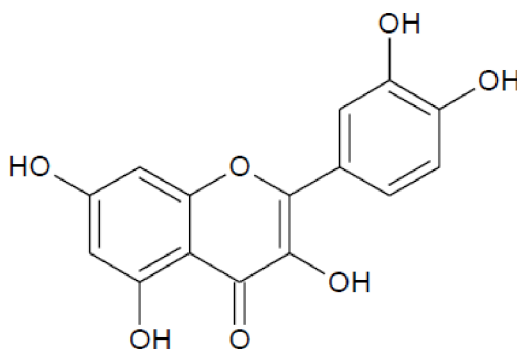


Obr. 8: Vzorec rutinu (vytvořeno autorem).

3.1.4.2 Kvercetin

Kvercetin (obr. 9) je flavonoid, který se nachází v celé řadě potravin, především v zelenině (cibule, rajčata, brokolice) a ovoci (hrozny). Dále také v medu, čaji, ořeších nebo v léčivých rostlinách (*Ginkgo biloba*). Pro své biologické vlastnosti může vykazovat potenciální přínosy pro celkové zdraví a odolnost organismu. Vyznačuje se protizánětlivými, antivirovými, antikarcinogenními a antioxidačními účinky. Může také například inhibovat peroxidaci lipidů. Z chemického hlediska se jedná o aglykon bez připojeného cukru a vyznačuje se citronově žlutým zabarvením. Je nerozpustný nebo jen lehce rozpustný ve vodě, naopak dobře se rozpouští v lipidech a alkoholu (Li et al. 2016). Využívá se jako doplněk stravy a velké přínosy má v prevenci proti různým onemocněním, včetně rakoviny (Zhang et al. 2011).

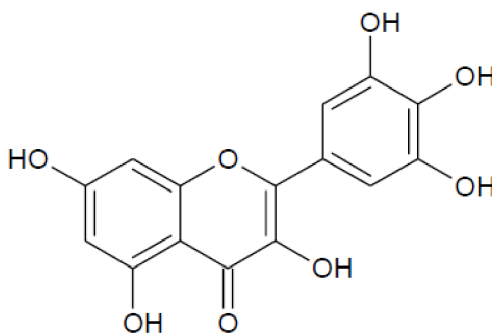
Ve studii Li et al. (2016) bylo zjištěno, že více kvercetinu se nachází u ekologicky pěstovaných rajčat než u rajčat chemicky ošetřovaných.



Obr. 9: Vzorec kvercetinu (vytvořeno autorem).

3.1.4.3 Myricetin

Myricetin (obr. 10) také vykazuje širokou škálu biologických aktivit (protirakovinné, protizánětlivé, antioxidační a antidiabetické účinky). Má pozitivní vliv i na centrální nervový systém a díky tomu může sloužit k prevenci před vznikem Alzheimerovy nebo Parkinsonovy choroby. Myricetin umí chránit lipidy před oxidací, proto se využívá jako konzervační činidlo k prodloužení trvanlivosti potravin obsahujících tuky a oleje. Vyskytuje se v čaji, ovoci a zelenině (Semwal et al. 2016). Jeho antidiabetická aktivita spočívá v tom, že je schopen stimulovat a regulovat transport glukosy a tím dochází ke snižování hodnoty cukru v krvi (Ong & Khoo 2000).



Obr. 10: Vzorec myricetinu (vytvořeno autorem).

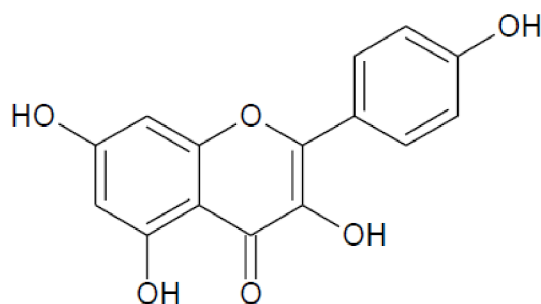
Mnoho studií prokazuje jeho příznivé účinky proti různým typům rakoviny. Myricetin totiž dokáže modifikovat a ovlivňovat aberantní buněčné bujení, signální dráhy, nádorové metastáze nebo apoptózu. Důležité je, že myricetin interaguje s onkoproteiny a tím zeslabuje transformaci rakovinných nádorových buněk (Devi et al. 2015).

Ve studii Song et al. (2021) byl zkoumán pozitivní účinek myricetinu v souvislosti s pandemií COVID-19. Bylo prokázáno, že díky svým vlastnostem (protizánětlivý, antivirový účinek, schopnost snižovat oxidační stres, schopnost regulovat imunitní systém) by mohl být slibnou sloučeninou pro účinnou léčbu proti tomuto onemocnění. K tomu je ale ještě potřeba dalších studií.

3.1.4.4 Kaempferol

Kaempferol (obr. 11) je flavonoid, který se nachází v různých částech (semena, květy, listy) ovoce i zeleniny. Vykazuje antidiabetické, protizánětlivé, neuroprotektivní, antimikrobiální, antioxidační, protinádorové a protirakovinné účinky. Vysoký příjem kempferolu je také spojen se sníženým výskytem různých typů rakoviny (rakovina močového měchýře, vaječníků, žaludku, kůže, jater, tlustého střeva nebo slinivky). Důležité je zjištění studií, že kempferol selektivně inhibuje rakovinné buňky, aniž by ovlivňoval buňky zdravé (Imran et al. 2019).

Konkrétně se kaempferol ve velkém množství nachází v cibuli, papáje, dýni, kvěťáku, mrkvi, černém čaji, brokolici, bílé ředkvi, angreštu, fazolích nebo jahodách. Velký význam má jeho protizánětlivý účinek. Zánět je ochranný mechanismus, který chrání živý organismus před poškozením tkáně. Projevuje se bolestí, zarudnutím a zvýšenou teplotou v místě zánětu. Vzniká jako fyziologická reakce na různá patologická, cévní nebo buněčná poškození, která mohou být způsobena chemickým, mechanickým nebo fyzikálním traumatem (Alam et al. 2020).



Obr. 11: Vzorec kaempferolu (vytvořeno autorem).

3.1.5 Konzumace jakonu

V oblasti And se čerstvé hlízy jakonu konzumují jako ovoce, protože jsou velice sladké, šťavnaté a mají nízkou energetickou hodnotu. V jiných oblastech, například v Brazílii, Japonsku nebo Peru dávají přednost zpracovaným produktům. Nejvíce populární je sušení hlíz vzduchem (obr. 12) nebo výroba sirupů (obr. 13), které mohou sloužit jako dietní sladidla. U skladování a zpracování je ale důležité dávat pozor na enzymatické hnědnutí, které může mít za následek snížení kvality (Neves & da Silva 2007). Dále se může z jakonu vyrábět šťáva, sladké pečivo, chipsy, kvašená zelenina nebo ocet. Proužky jakonu zůstávají i během vaření křupavé, proto se využívají pro přípravu asijských smažených jídel (Lachman et al. 2003).



Obr. 12: Sušené hlízy jakonu (Health Benefits Times 2021). Obr. 13: Sirup z jakonu (Health Benefits Times 2021).

Listy jakonu se zpracovávají především sušením (obr. 14). Z nich se pak vyrábějí léčivé nálevy nebo se smíchávají s čajovými lístky. Tyto vodní extrakty vykazují hypoglykemické a antidiabetické léčivé účinky, protože vyvolávají zvýšení koncentrace inzulínu v krvi (Lachman et al. 2003).



Obr. 14: Sušené listy jakonu (Herbavis.cz 2012).

3.1.6 Význam pro lidské zdraví

Vzájemná souvislost mezi lidskou stravou a chronickými nemocemi je zkoumána již mnoho let. Bylo prokázáno, že některé potraviny mohou být dobrou prevencí právě proti těmto civilizačním chorobám jako je obezita, rakovina, cukrovka nebo onemocnění srdce. Potraviny, které mohou předcházet vzniku těchto chorob se označují jako tzv. funkční potraviny (Pereira et al. 2016).

Jakon má velký potenciál jako funkční potravina díky vysokému obsahu inulinu a fruktooligosacharidů (FOS), které mají prebiotické vlastnosti. Tyto sloučeniny podporují rozvoj střevní mikrobioty, kdy dochází ke zlepšení růstu bifidobakterií, které osidlují tlusté střevo. Zlepšuje se regulace cholesterolu v krvi a vstřebávání minerálních látek. Inulin i fruktooligosacharidy mají pozitivní vliv i na imunitní systém, protože zvyšují odolnost organismu proti alergickým reakcím a infekcím. Pravidelná konzumace jakonu má pozitivní vliv u pacientů s diabetem nebo u pacientů s onemocněním trávicího systému nebo ledvin. Kromě inulinu a fruktooligosacharidů jakon obsahuje ještě tryptofan, flavonoidy a fenolové kyseliny, které vykazují protirakovinné, protizánětlivé a antioxidační účinky. Fenolové sloučeniny chrání biomolekuly (DNA, proteiny a lipidy) před poškozením způsobeným volnými radikály (Delgado et al. 2013).

Ve studii Pereira et al. (2016) byla zkoumána a porovnávána hladina celkových tříslovin, fenolických látek a kyselin s celkovou antioxidační aktivitou v čerstvé formě hlíz a ve zpracované formě (mouka z hlíz jakonu). Bylo prokázáno, že mouky jakonu vykazovaly vyšší koncentrace tříslovin a fenolických látek. Výsledky tedy ukazují, že jakon by mohl být využíván (v podobě mouky) jako alternativní potravina s vysokým zdrojem fenolických látek, které pomáhají předcházet degenerativním onemocněním, které mohou být způsobené oxidačním stresem.

Další zdravotní profit jakonu je, že dokáže regulovat krevní tlak. Obsahuje totiž draslík, který působí jako vazodilatátor, takže umožňuje rozšiřování cév. Tím se snižuje zátěž na kardiovaskulární systém. Díky tomu se zvyšuje průtok krve a snižuje se riziko výskytu infarktu nebo mrtvice. Konzumace jakonu může napomáhat i při hubnutí, protože podporuje pocit sytosti. Některé studie potvrzují i jeho pozitivní vliv na játra. Zabraňuje v nich hromadění tuků, tím je zachovává zdravá a mohou správně vykonávat své funkce. Jakon také může snižovat pravděpodobnost vzniku zlomenin nebo řídnutí kostí. Fruktooligosacharidy, které obsahuje, pomáhají vstřebávání minerálů (hořčík, vápník) z tlustého střeva a zvyšují jejich koncentraci v kostech (Health Benefits Times 2021).

3.2 Polyfenoly

Polyfenoly jsou sekundární metabolity vyšších rostlin, které mají významnou roli jak pro samotnou rostlinu, tak mohou mít potenciální zdravý prospěšný účinek na lidský organismus. Vykazují antimikrobiální, protizánětlivé, protirakovinné nebo antialergické účinky (Daglia 2012). Jedná se o nejhojněji zastoupené antioxidanty ve stravě. Nacházejí se především v ovoci a zelenině, dále také v kávě, čaji nebo červeném víně. Jejich celkový příjem se může pohybovat až kolem 1 g/den, což je mnohem vyšší hodnota než u jiných antioxidantů, jako je například vitamin C (až 10krát více) nebo vitamin E (až 100krát více) (Scalbert et al. 2005).

Dělí se na dvě hlavní skupiny. První je skupina flavonoidů, kam patří flavony, isoflavony, flavonoly, flavanony, flavanoly a anthokyany. Druhou skupinou jsou potom látky neflavonoidní povahy, kam se dále řadí lignany, taniny, stilbeny a fenolické kyseliny (deriváty skořicové a benzoové kyseliny) (Di Lorenzo et al. 2021). Klasifikace polyfenolů a jejich chemické struktury jsou vyobrazeny na obr. 15, který je součástí přílohy této diplomové práce.

3.2.1 Flavonoidy

Flavonoidy představují až 60 % z celkového obsahu fenolických látek přítomných v potravinách a je známo několik tisíc sloučenin. Nejvíce je zkoumána především jejich antioxidační aktivita, která souvisí s jejich schopností redukovat tvorbu volných radikálů nebo odstraňovat volné radikály již vzniklé. Jsou považovány za nepostradatelnou složku farmaceutických, kosmetických a léčivých přípravků. Zkoumané byly i jejich účinky při prevenci rakoviny. Z pokusů bylo zjištěno mnoho mechanismů účinku, a to především jejich schopnost inaktivace karcinogenů, navození diferenciací a apoptózy nebo zastavení buněčného cyklu. Na základě těchto výsledků se dá předpokládat, že flavonoidy mohou být slibnými protirakovinovými látkami (Vomočilová 2020).

Jejich výzkum se zvýšil v 80. letech 20. století, kdy byl ve Francii formulován koncept tzv. francouzského paradoxu, tedy když byla pozorována nižší kardiovaskulární úmrtnost u středomořské populace v souvislosti s konzumací červeného vína a vysokým příjmem nasycených tuků (Singh et al. 2014).

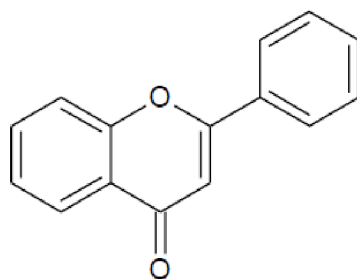
V dnešní době se zkoumá také vliv flavonoidů při virových infekcích. Ve studii Alzaabi et al. (2021) byla zkoumána potenciální inhibiční aktivita proti koronavirům včetně SARS-CoV-2 (známého jako COVID-19). Bylo prokázáno, že konzumace flavonoidů a rostlin na ně bohatých může mít značný význam pro prevenci a léčbu SARS-CoV-2. Bylo zjištěno, že flavonoidy vykazují potenciální inhibiční aktivitu proti kritickým virovým cílům, které jsou nutné k usnadnění jejich vstupu a replikaci. Dále byla prokázána imunomodulační aktivita flavonoidů prostřednictvím inhibice různých prozánětlivých cytokinů a drah zapojených do zánětlivých reakcí. Kromě toho mohou flavonoidy snížit zhoršení průběhu COVID-19 prostřednictvím jejich významného účinku na množství tělesného tuku, protože podporují sytící účinek a metabolismus lipidů. Na základě celosvětové existence rostlin bohatých na flavonoidy lze po dalších klinických studiích doporučit jejich konzumaci jako prevenci proti SARS-CoV-2.

3.2.1.1 Flavony

Flavony je jedna z největších podskupin flavonoidů. Vyznačují se různými biologickými aktivitami v rostlinách, ale mají také nezastupitelný význam v lidské výživě (Martens & Mithöfer 2005). Vykazují protizánětlivé, antialergické, antimikrobiální, protinádorové, cytotoxické a antioxidační účinky. Většina metabolických onemocnění je pravděpodobně způsobena oxidativním stresem, proto má velký význam poznatek, že flavony mají pozitivní vliv na tato onemocnění související právě s oxidativním stresem. Jedná se například o Alzheimerovu chorobu, aterosklerózu, rakovinu nebo diabetes (Singh et al. 2014).

Mezi hlavní zástupce patří apigenin, luteolin, které jsou zastoupeny hlavně v petrželi nebo celeru, dále nobiletin a tangeretin, které se ve velkém množství nacházejí v citrusových plodech (Volf & Andrs 2013).

Základní struktura flavonů je znázorněna na obr. 16.

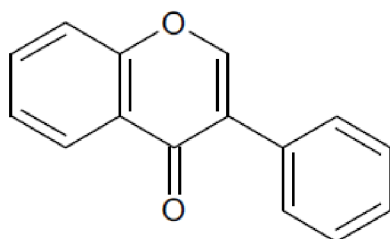


Obr. 16: Základní struktura flavonů (vytvořeno autorem).

3.2.1.2 Isoflavony

Isoflavony se řadí mezi estrogení sloučeniny, které se nacházejí především v luštěninách (sója, cizrna, fazole). Dalšími zdroji je ovoce, zelenina, vojtěška nebo jetel. Jejich konzumace je prospěšná při hormonálních poruchách, kardiovaskulárních nemocech nebo i v boji s některými typy rakovin, konkrétně tlumí růst rakoviny prsu a prostaty. Mezi hlavní zástupce se řadí daidzein, genistein a glycitein (Křížová et al. 2019).

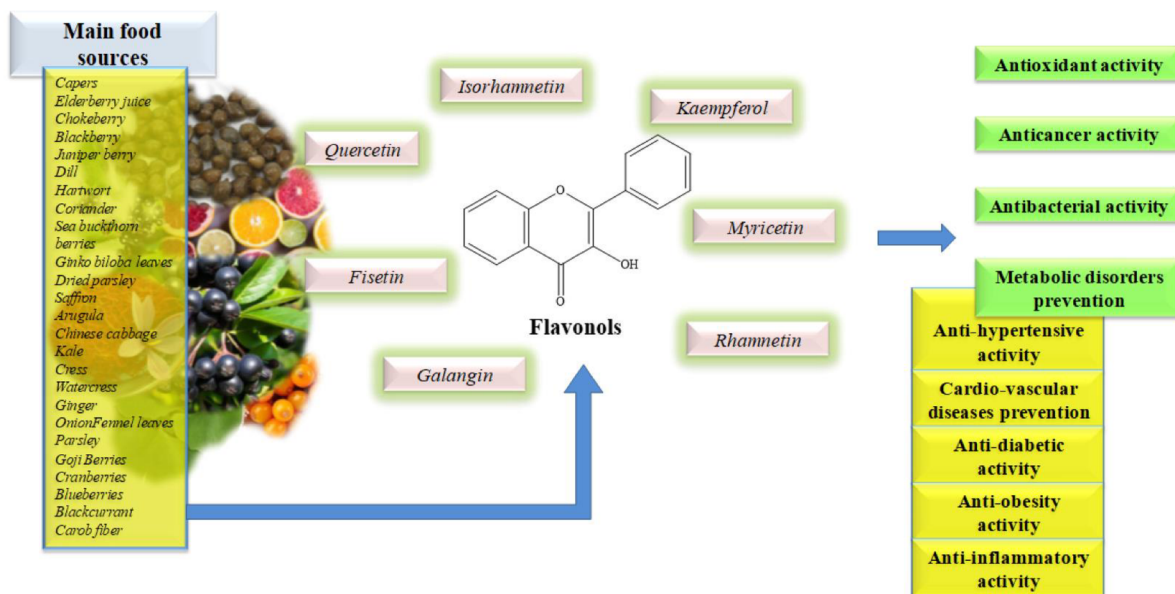
Základní struktura isoflavonů je vyobrazena na obr. 17.



Obr. 17: Základní struktura isoflavonů (vytvořeno autorem).

3.2.1.3 Flavonoly

Flavonoly jsou velkou podskupinou bioaktivních látek, které spadají pod flavonoidy. Mezi hlavní zástupce patří rutin, kvercetin, myricetin, kaempferol, rhamnetin, morin a jejich glykosylové deriváty. Nacházejí se ve velkém množství potravin (například ořechy, kopr, kapusta, zázvor, šafrán nebo brusinky) a vykazují pozitivní zdravotní účinky. Mají antioxidační, protirakovinovou nebo antibakteriální aktivitu, a tím pozitivně působí proti obezitě, diabetu nebo zánětům (Barreca et al. 2021). Hlavní zdroje flavonolů, jejich základní struktura a vlastnosti podporující zdraví jsou uvedeny na obr. 18.

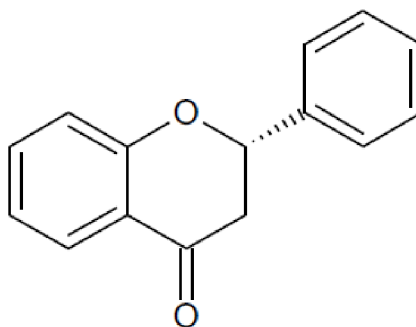


Obr. 18: Hlavní zdroje flavonolů, jejich základní struktura a vlastnosti podporující zdraví (Barreca et al. 2021).

3.2.1.4 Flavanony

Flavanony se vyskytují hlavně v citrusových plodech (limeta, citron, grapefruit). Některé z nich mají velmi intenzivní hořkou chuť, jiné jsou naopak bez chuti. Citrusové šťávy, zejména pomerančová, mají pozitivní vliv při kardiovaskulárních nemocech nebo při léčbě rakoviny. Mezi hlavní zástupce patří: naringin, hesperdin, eriocitrin a eridiktyol (Volf & Andrs 2013).

Základní struktura flavanonů je zobrazeno na obr. 19.

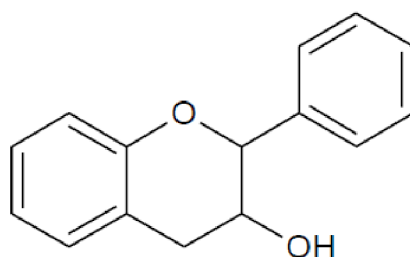


Obr. 19: Základní struktura flavanonů (vytvořeno autorem).

3.2.1.5 Flavanoly

Flavanoly jsou další podtřídou flavonoidů, které se vyskytují v rostlinách. Největší jejich zastoupení je v ořechách, meruňkách, švestkách, jablcích, kakau nebo čaji. Mají velký význam v boji s metabolickými nemocemi. Metabolická onemocnění (například obezita nebo diabetes) jsou považována za nejvíce rozšířená celosvětová onemocnění v důsledku změn životního stylu. Dále mohou zlepšovat funkce střev, protože mohou působit jako prebiotikum (Martín & Ramos 2021). Mezi hlavní zástupce se patří katechin a epikatechin (Volf & Andrs 2013).

Základní struktura flavanolů je uvedena na obr. 20.

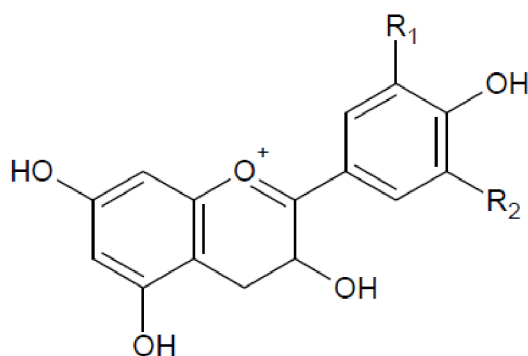


Obr. 20: Základní struktura flavanolů (vytvořeno autorem).

3.2.1.6 Anthokyanany

Jedná se o polyfenolické červeno-oranžové až modro-fialové pigmenty, které jsou zodpovědné za zbarvení rostlinných květů, listů a plodů. Pravidelná konzumace barevného ovoce a zeleniny je důležitou součástí zdravého životního stylu a může poskytnout ochranu před chronickými nemocemi (Wallace & Giusti 2015). Anthokyanany vykazují antioxidační aktivitu a jejich hlavním zdrojem je červené zelí, cibule a ředkev, dále potom fazole, lilek nebo kukuřice. Studie také ukazují jejich význam při ochraně před neurologickým onemocněním, snížení rizika onemocnění srdce, zlepšení funkcí mozku a zraku. Vykazují i protizánětlivý účinek, takže mohou předcházet vzniku diabetu, rakoviny nebo obezity. Je zkoumáno i potenciální využití anthokyanů jako přírodních barviv v potravinářském průmyslu. Mohly by být užívány jako vhodná alternativa k syntetickým barvivům, protože u nich vzrůstají obavy z nepříznivých účinků (Tarone et al. 2020).

Základní struktura anthokyanů je uvedena na obr. 21.

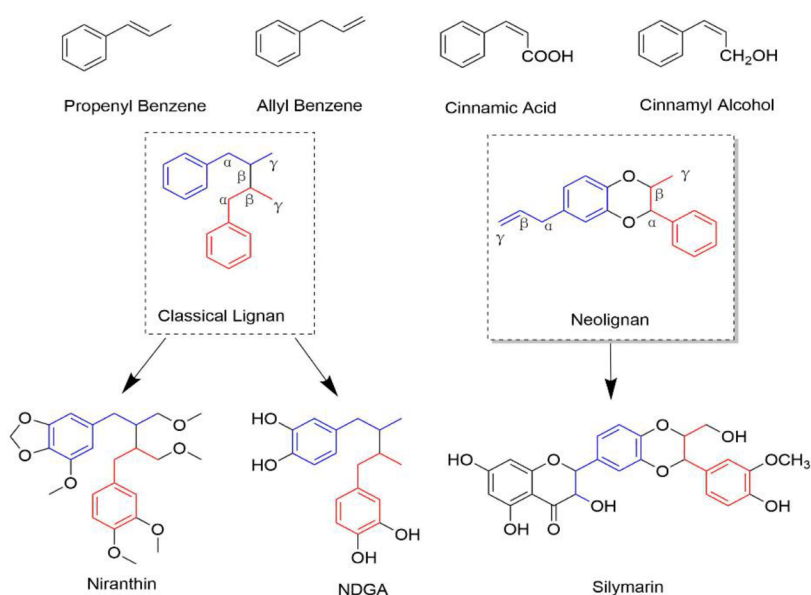


Obr. 21: Základní struktura anthokyanů (vytvořeno autorem).

3.2.2 Látky neflavonoidní povahy

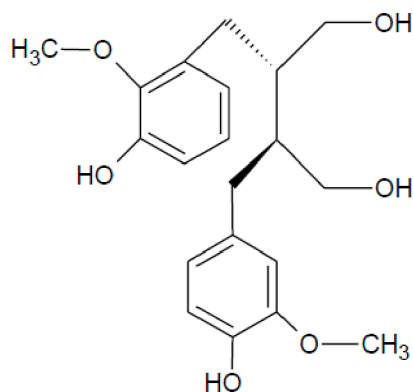
3.2.2.1 Lignany

Lignany jsou přírodní látky, které se vyskytují v celé rostlinné říši a nacházejí se v semenech, květech, listech, stoncích, oddencích, kořenech i pryskyřicích. Jedná se o velkou skupinu sloučenin, které jsou odvozené od meziproductů šikimátové dráhy (tedy od skořicové a p-kumarové kyseliny). Strukturně se jedná o dimery fenylpropanových jednotek, které jsou spojeny centrálními uhlíky. Pokud dojde ke spojení monomerních jednotek v pozici β - β' , tak se tyto sloučeniny označují jako tzv. klasické lignany. Pokud dojde k vazbě jakýmkoliv jiným způsobem, jedná se pak o tzv. neolignany (Cui et al. 2020). Jednotlivé monomerní jednotky a klasifikace lignanů jsou zobrazeny na obr. 22.

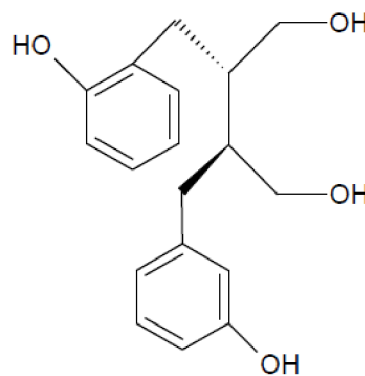


Obr. 22: Monomerní jednotky a klasifikace lignanů (Cui et al. 2020).

Lignany se řadí mezi antioxidanty a nacházejí se především u celozrnných výrobků. Mezi nejdůležitější zdroje patří mouka, zelenina, ovoce, luštěniny nebo lněná semínka. Hlavním zástupcem v rostlinné říši je secoisolariciresinol (obr. 23) a v říši živočišné enterodiol (obr. 24), který se vyskytuje zejména u savců (Touré & Xueming 2010).

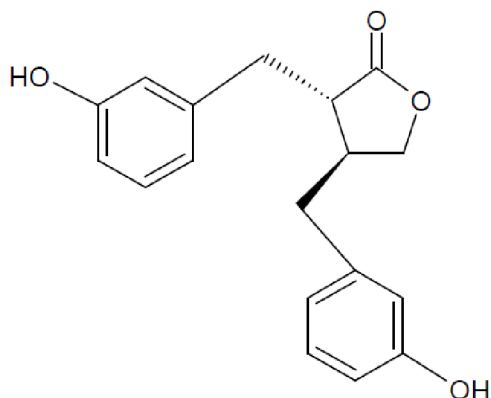


Obr. 23: Secoisolariciresinol (vytvořeno autorem).



Obr. 24: Enterodiol (vytvořeno autorem).

Lignany a neolignany vykazují různé biologické aktivity (antivirová, antioxidační, protinádorová, protizánětlivá, antimikrobiální a antineurodegenerativní). Ve studii Zálešák et al. (2019) byly zkoumány jednotliví zástupci lignanů a neolignanů. Bylo zjištěno, že lignany s laktonovým kruhem mají zajímavou antiprotozoální aktivitu proti parazitickým prvokům, zejména proti původcům malárie a leishmaniosy. Jejich modifikací umělými a přírodními sacharidy by mohlo dojít ke zvýšení jejich biologické dostupnosti a ke změně způsobu účinku. Dále bylo zjištěno, že enterolakton (obr. 25) má důležité ochranné vlastnosti proti rakovině prsu a tlustého střeva.

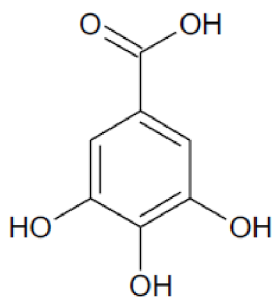


Obr. 25: Enterolakton (vytvořeno autorem).

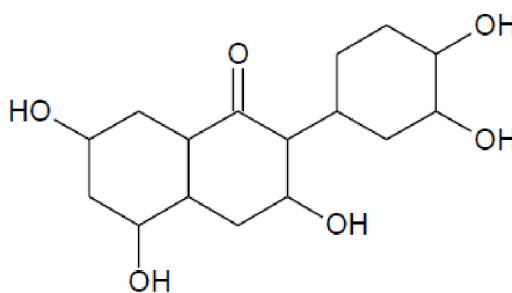
3.2.2.2 Taniny

Taniny neboli třísloviny se ve velkém množství vyskytují v rostlinách, ze kterých se získávají jednoduchými extrakcemi. Hlavním pozitivem taninů je jejich antioxidační aktivita, které se využívá již mnoho let (například zelený čaj). Jsou považovány za látky, které dokáží vytvářet ochrannou vrstvu, která zabraňuje infekci, zastavuje krvácení, chrání proti mechanickému a chemickému podráždění, mikroorganismům a bakteriím. Proto dochází k lepšímu hojení ran, popálenin a vředů. Taniny vykazují také protizánětlivé účinky, které mají své opodstatnění při onemocnění střev nebo žaludku (Shirmohammadli et al. 2018).

Z chemického hlediska se jedná o polyfenolické sloučeniny, které se podle struktury dělí na dvě hlavní skupiny: taniny hydrolyzovatelné (obr. 26) a kondenzované (obr. 27). U hydrolyzovatelných taninů se jedná o estery glukózy s gallovou kyselinou. Vznikají hydrolyzou tříslovin, kdy dochází ke vzniku cukru a gallové a ellagové kyseliny, vyskytují se pouze u dvouděložných rostlin. Naopak kondenzované taniny se vyskytují převážně u cévnatých rostlin a z hlediska struktury jsou podobné flavonoidům (Vomočilová 2020).



Obr. 26: Hydrolyzovatelné taniny (vytvořeno autorem).



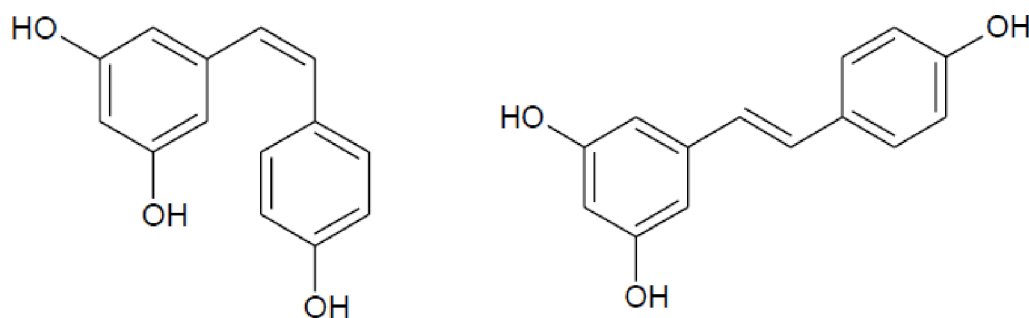
Obr. 27: Kondenzované taniny (vytvořeno autorem).

Vyskytují se v obilovinách (ječmen, proso, čirok), luštěninách (hrách, fazole), ale i ovoci (banány, jablka, maliny, ostružiny, jahody, datle, hrozny). Bylo prokázáno, že mnoho zástupců taninů vykazuje antimutagenní aktivitu. Antikarcinogenní i antimutagenní účinek taninů může souviset s jejich antioxidačními vlastnostmi, které jsou důležité při ochraně buněčného oxidačního poškození, včetně peroxidace lipidů. Tvorba superoxidových radikálů je inhibována právě taniny a sloučeninami jim příbuznými. Dále byl prokázán jejich antimikrobiální účinek, kdy brzdily růst mnoha bakterií, virů, kvasinek a hub. Mezi další fyziologické účinky taninů patří například snížení krevního tlaku, snížení hladiny lipidů nebo vyvolání imunitních reakcí (Chung et al. 2010).

V průmyslu se taniny hojně využívají například při výrobě lepidel nebo činění kůže. Zkoumá se také možnost jejich využití při výrobě prostředků na ochranu dřeva, pěn z biozdrojů, povrchových nátěrů, inhibitorů koroze, epoxidových lepidel nebo pojiv pro teflonové nátěry. Taniny by mohly být vhodnou alternativní surovinou pro zelenou neboli udržitelnou chemii, protože použití taninů jako biozdrojů místo syntetických toxických látek (například chrom, fenol), může vést ke zlepšení životního prostředí (Shirmohammadli et al. 2018).

3.2.2.3 Stilbeny

Stilbeny jsou skupinou fenolických sloučenin, které se přirozeně vyskytují v přírodě. Ve velkém množství se nacházejí v červeném víně a hroznech, ale můžeme je najít také v menších množstvích v hořké čokoládě, arašídách, mandlích, pistáciích, lesních plodech, banánech, broskvích, jablcích nebo mučence. Stilbeny jsou spojeny s odolností rostlin vůči chorobám a jejich syntéza je často reakcí na biotické nebo abiotické stresové situace (například mraz, poranění, působení ozónu nebo ultrafialového záření). Nejběžnějším zástupcem je resveratrol, který se může vyskytovat ve dvou izomerech, konkrétně *cis*-resveratrol (Z) a *trans*-resveratrol (E). Obě tyto formy jsou vyobrazeny na obr. 28. Bylo prokázáno, že stilbeny mají širokou škálu biologických účinků pro lidské zdraví. Jednou z nejnovějších a slibných vlastností stilbenů jsou jejich účinky proti obezitě (Benbouguerra et al. 2021).



Obr. 28: Izomery resveratrolu: *cis*-resveratrol (vlevo) a *trans*-resveratrol (vpravo) (vytvořeno autorem).

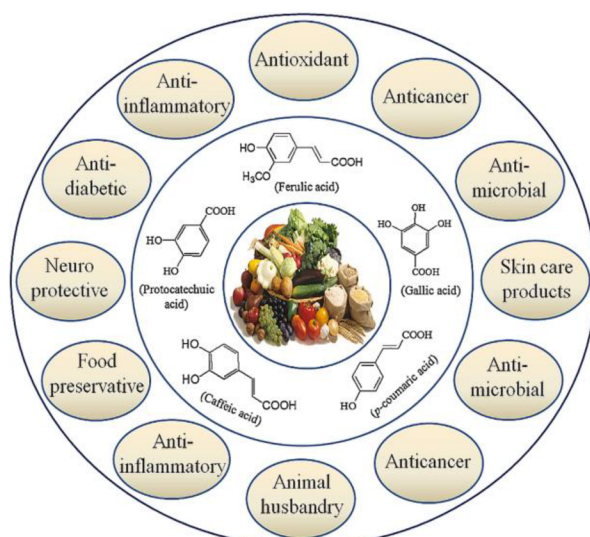
Resveratrol má antioxidační a protizánětlivé účinky, a díky schopnosti inhibovat buněčný růst brání rozvoji rakoviny. Jeho pozitivních schopností se využívá i při prevenci a léčbě některých očních chorob (například glaukom) (Morabito & Serafini 2014).

3.2.2.4 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny jsou sekundární metabolity rostlin a vyskytují se v celé rostlinné říši (zejména v zelenině a ovoci). Dělí se do dvou skupin podle charakteristické uhlíkaté struktury. První z nich je hydroxyskořicová struktura, odvozená od skořicové kyseliny, druhou je pak struktura hydroxybenzoová, která je odvozená od benzoové kyseliny. Základní struktura zůstává stejná, rozdíl je ve stupni hydroxylace aromatického kruhu. Hrají velkou roli v kvalitě a organoleptických vlastnostech potravin (Lafay & Gil-Izquierdo 2007; Stalikas 2007).

Velký význam mají nejen pro samotné rostliny, ale také pro lidské zdraví, proto zájem o jejich studie rychle roste. Pozornost získávají díky své antioxidační a možné antikarcinogenní aktivitě. Fenolické kyseliny mohou fungovat jako lapače volných radikálů, zhášecí tvorby singletového kyslíku nebo jako redukční činidla, proto mohou mít potenciální pozitivní význam v boji proti různým lidským chorobám, jako je mrtvice, rakovina nebo ischemická choroba srdeční (Robbins 2003; Ghasemzadeh & Ghasemzadeh 2011).

Široké spektrum aplikace fenolických kyselin je znázorněno na obr. 29.

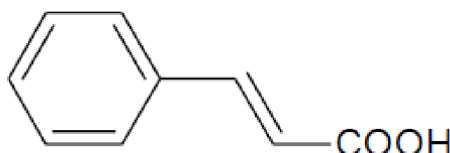


Obr. 29: Spektrum aplikace fenolických kyselin (Kumar & Goel 2019).

Denní příjem fenolických kyselin by se měl pohybovat kolem 200 mg/den. Velké množství se jich nachází například v mangu, švestkách, jablcích, třešních, citrusových plodech nebo cibuli. Mohou se přijímat také jako doplňky stravy (antioxidační doplňky), ale bylo prokázáno, že vyšší zdravotní přínosy má přímá konzumace ovoce a zeleniny. Fenolické kyseliny se snadno vstřebávají přes střevní stěnu a jsou prospěšné pro lidské zdraví právě díky svým potenciálním antioxidačním účinkům (odvracejí poškození buněk v důsledku oxidačních reakcí volných radikálů). Při pravidelném stravování vykazují také protizánětlivé účinky. Stoupá po nich poptávka také v průmyslových odvětvích, protože fungují jako prekurzory dalších významných bioaktivních molekul, které jsou pravidelně využívány pro potravinářský a kosmetický průmysl. Poptávka po fenolických kyselinách roste i s pokusy, jak šetřit životní prostředí, protože jsou metabolizovány pomocí přírodních mikroorganismů (Kumar & Goel 2019).

Deriváty skořicové kyseliny

Tato skupina látek je odvozena od skořicové kyseliny (obr. 30). Jedná se o organickou látku se systematickým vzorcem 3-fenylprop-2-enová kyselina. Vyskytuje se v podobě *trans* a *cis* izomeru (*trans*-izomer je stabilnější). Skořicová kyselina byla v podobě krystalků poprvé izolována v roce 1780. Do této skupiny patří kumarová, kávová, ferulová a sinapová kyselina. Všechny tyto kyseliny vykazují antioxidační a protizánětlivé účinky. Mají také pozitivní vliv při experimentálním testování diabetu a zkoumá se i jejich význam při obezitě. Vyskytují se ve velkém množství v obilovinách, zelenině a ovoci (Vomočilová 2020).

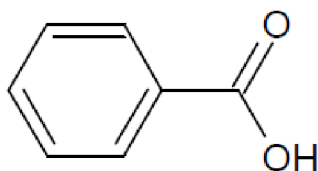


Obr. 30: Vzorec skořicové kyseliny (vytvořeno autorem).

Studie uvádějí, že skořicová kyselina vykazuje protirakovinné, protizánětlivé antioxidační, antimikrobiální, antidiabetické a neuroprotektivní vlastnosti. Ukončuje radikálové řetězové reakce darováním elektronů, které jsou reaktivní za vzniku stabilních produktů. Proto se skořicová kyselina a její deriváty mohou využívat v boji proti infekčním a chronickým nemocem, jako jsou neurologické poruchy, bakteriální infekce, diabetes nebo rakovina (Ruwizhi & Aderibigbe 2020).

Deriváty benzoové kyseliny

Benzoová kyselina (obr. 31) je jednosytná aromatická karboxylová kyselina, která se vyskytuje v přírodních balzámech a pryskyřicích. Využívá se ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu, kde se používá jako jeden z nejpoužívanějších a nejstarších chemických konzervantů (E210) (Informační centrum bezpečnosti potravin). Do této skupiny fenolických kyselin patří gallová, salicylová, vanillová, syringová, protokatechová, veratrová a gentisová kyselina (Vomočilová 2020).



Obr. 31: Vzorec benzoové kyseliny (vytvořeno autorem).

Ve studii Mao et al. (2019) byl zkoumán účinek benzoové kyseliny na funkce střev. Jako modely byly použity vepřové střevní epitelální buňky (na základě podobnosti fyziologie střev mezi prasaty a lidmi). Výsledky ukázaly, že vhodná hladina benzoové kyseliny může zlepšovat střevní funkce, včetně trávení a vstřebávání.

3.3 Antioxidační aktivita

3.3.1 Volné radikály

Volné radikály (reaktivní formy kyslíku – ROS a dusíku – RNS) v lidském těle vznikají různými endogenními systémy nebo pokud je organismus vystaven různým patologickým nebo fyzikálně-chemickým stavům. Proto je pro správnou fyziologickou funkci organismu potřeba rovnováha mezi těmito volnými radikály a antioxidanty. Pokud ale volné radikály začnou blokovat schopnost těla je regulovat, nastává tzv. oxidační stres. Volné radikály tak mohou negativně měnit proteiny, lipidy nebo DNA a tím spouštějí vznik řady lidských onemocnění. Volným radikálem je jakákoliv molekula, která v atomovém orbitalu obsahuje nepárový elektron a je schopna samostatné existence. Díky přítomnosti nepárového elektronu jsou radikály vysoce reaktivní a nestabilní. Mohou elektron buď darovat nebo přijímat z jiných molekul, takže se chovají jako oxidační nebo redukční činidla. Volné radikály napadají důležité makromolekuly, a tím dochází k poškození buněk a narušení rovnováhy. Volné radikály pocházejí buď ze základních metabolických procesů v lidském těle, nebo z vnějších zdrojů (kouření cigaret, vystavování ozonu, rentgenovému záření nebo látkám znečišťujícím ovzduší a průmyslovým chemikáliím). K tvorbě volných radikálů dochází v buňkách neustále jako důsledek jak enzymatických, tak i neenzymatických reakcí. Mezi enzymatické reakce patří ty, které se účastní fagocytózy, dýchacího řetězce, syntézy prostaglandinů a systému cytochromu P-450. Neenzymatickými reakcemi jsou pak reakce kyslíku s organickými sloučeninami nebo reakce iniciované ionizačními reakcemi (Lobo et al. 2010).

3.3.1.1 Reaktivní formy kyslíku (ROS)

Kyslík je prvek nepostradatelný pro život, zároveň ale má za určitých podmínek škodlivé účinky na lidské tělo. Většina potenciálně škodlivých účinků kyslíku je způsobena tvorbou a aktivitou řady chemických sloučenin, které mají tendenci darovat kyslík jiným látkám (Lobo et al. 2010). Reaktivní formy kyslíku lze rozdělit do dvou skupin: volné kyslíkové radikály a neradikálové formy kyslíku (Liou & Storz 2010). Reaktivní formy kyslíku a jejich rozdělení je uvedeno v tab. 5.

Tab. 5: Reaktivní formy kyslíku (ROS) a jejich rozdělení (Liou & Storz 2010).

Volné kyslíkové radikály	Neradikálové formy kyslíku
superoxid O_2^\bullet	peroxid vodíku H_2O_2
hydroxylový radikál HO^\bullet	singletový kyslík O_2
peroxylový radikál ROO^\bullet	ozon O_3
alkoxylový radikál RO^\bullet	chlorná kyselina $HOCl$
sulfonylový radikály (ROS $^\bullet$)	
thiylperoxylový radikály (RSOO $^\bullet$)	

Zvýšení hladiny reaktivních forem kyslíku může vést k nespecifickému poškození makromolekul (proteiny, lipidy, DNA). Většina negativních účinků na DNA je způsobena hydroxylovými ionty, které vznikají tzv. Fentonovou reakcí. Při této reakci volné elektrony přijímají nebo darují přechodné kovy (měď, železo) a tím urychlují tvorbu volných radikálů. Hydroxylové radikály tak rychle napadají DNA, kterou poškozují (vznikají tzv. léze DNA) (Liou & Storz 2010).

3.3.1.2 Reaktivní formy dusíku (RNS)

Reaktivní formy dusíku jsou skupinou sloučenin s různými vlastnostmi a reaktivitou. Některé jsou vysoce reaktivní a jejich interakce s makromolekulami může vést k trvalým modifikacím. Vnímání reaktivních dusíkatých látek jako oxidantů makromolekul vedoucích k oxidativnímu poškození se v poslední době velmi vyvíjí (Adams et al. 2015). Jedná se o různé sloučeniny odvozené od oxidu dusnatého (NO). Oxid dusnatý je všudypřítomný intracelulární posel schopný regulovat fyziologické funkce. Během patologických stavů se však může stát škodlivým díky své vysoké reaktivitě s jinými volnými radikály. Přesto, že oxid dusnatý i kyslík nejsou v nízkých koncentracích ve fyziologickém prostředí toxické, nerovnováha mezi produkcí těchto dvou radikálů může být částečně zodpovědná za změny molekulárních mechanismů regulujících život buněk. Tato nerovnováha je způsobena především sníženou eliminací nebo zvýšenou produkcí kyslíku nebo snížením uvolňování nebo zvýšeným vychytáváním oxidu dusnatého. Zvýšené hladiny reaktivních forem dusíku se podílejí na poškození až smrti buněk. Jejich potenciální buněčné cíle jsou proteiny, lipidy a DNA. Budoucí výzkum by měl pomoci objasnit zapojení reaktivních forem dusíku do terapeutického účinku léků používaných k léčbě kardiovaskulárních, neurodegenerativních, zánětlivých a metabolických onemocnění nebo rakoviny (Martínez & Andriantsitohaina 2009). Reaktivní formy dusíku a jejich rozdělení je uvedeno v tab. 6.

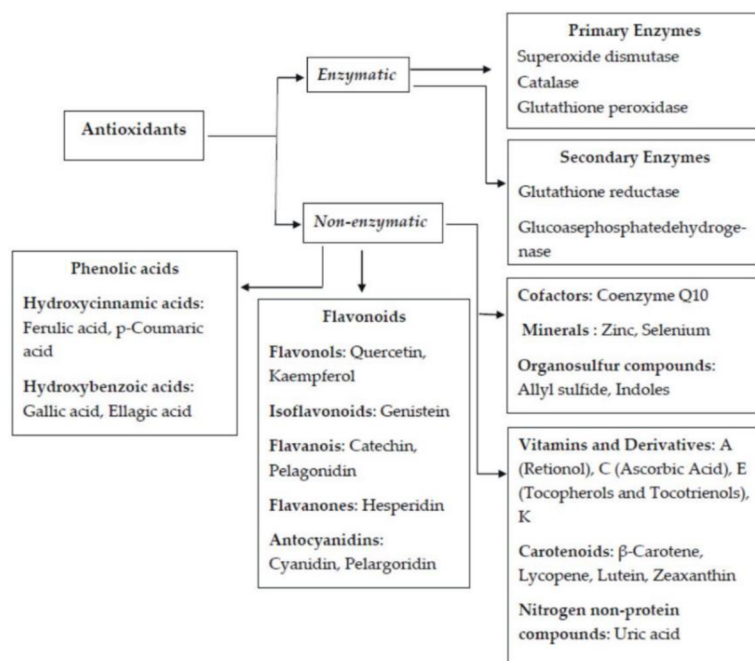
Tab. 6: Reaktivní formy dusíku (RNS) a jejich rozdělení (Martínez & Andriantsitohaina 2009).

Volné dusíkové radikály	Neradikálové formy dusíku
oxid dusnatý NO•	oxid dusitý N ₂ O ₃
oxid dusičitý NO ₂ •	dusitan NO ₂ ⁻
	nitroniový kation NO ₂ ⁺
	nitrosoniový kation NO ⁺
	nitroxyl HNO
	nitrylchlorid Cl-NO ₂
	peroxynitrit ONOO ⁻

3.3.2 Antioxidanty

Antioxidant je molekula dostatečně stabilní, aby darovala elektron volnému radikálu a tím jej neutralizovala, takže dojde ke snížení jeho schopnosti poškozovat. Tyto antioxidanty inhibují nebo zpomalují poškození buněk především díky své schopnosti zachycovat volné radikály, proto mohou ukončit řetězovou reakci dříve, než dojde k poškození životně důležitých molekul. Některé z těchto antioxidantů jsou produkovány během normálního metabolismu v těle, jiné se nacházejí ve stravě. V těle sice existuje několik enzymů, které zachycují volné radikály (například vitamin C, vitamin E, betakaroten), ale tělo si tyto mikroživiny neumí syntetizovat, proto je musí přijímat ve stravě (Lobo et al. 2010).

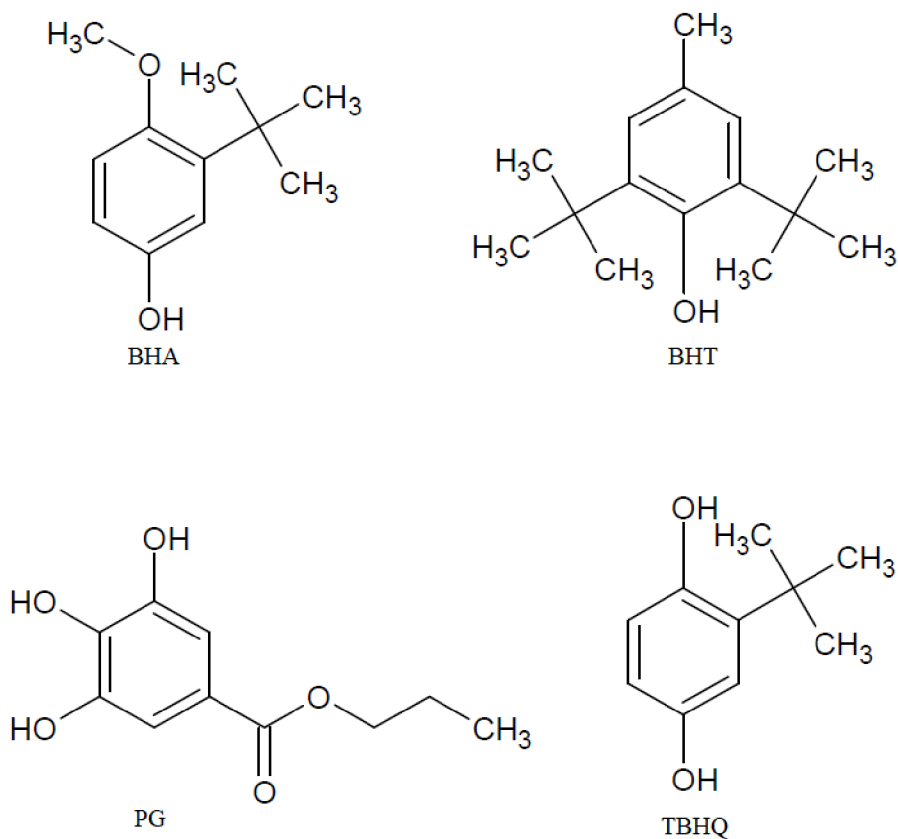
Podle mechanismu působení lze antioxidanty rozdělit na primární a sekundární antioxidanty. Antioxidanty inhibují řetězovou reakci oxidace, působí jako akceptory nebo donory vodíku volných radikálů a tím vytvářejí stabilnější radikály. Tyto sloučeniny interagují řadou mechanismů, včetně zachycování reaktivních forem kyslíku, vázání kovových iontů, přeměny hydroperoxidů na neradikálové částice, deaktivace singletového kyslíku nebo absorpce UV záření. Mezi zástupce syntetických antioxidantů patří: butylhydroxyanizol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT) a propylgalát (PG). Účinnost antioxidantních sloučenin závisí na několika faktorech. Nejdůležitější jsou strukturní vlastnosti, teplota, vlastnosti substrátu náchylného k oxidaci, koncentrace sloučenin a fyzikální stav systému. Chemická struktura antioxidantu určuje jeho vnitřní reaktivitu vůči volným radikálům a tím ovlivňuje antioxidantní aktivitu. Účinnost antioxidantů také závisí na jejich koncentraci a lokalizaci v systému. Dalším faktorem, který hraje důležitou roli v jejich ochranném působení, a to jak v krátkodobém, tak dlouhodobém horizontu, je kinetika reakce. Ta zahrnuje rychlost reakce mezi antioxidantem a odlišným oxidantem, termodynamiku reakce a schopnost antioxidantu reagovat. Všechny tyto parametry je třeba vzít v úvahu při zvažování účinnosti a výběru antioxidantní látky vhodné pro konkrétní použití (Munteanu & Apetrei 2021). Klasifikace antioxidantů je zobrazena na obr. 32.



Obr. 32: Klasifikace antioxidantů (Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.2.1 Syntetické antioxidanty

Syntetické antioxidanty byly vyvinuty kvůli stabilizaci olejů, tuků a obecně potravin bohatých na lipidy. Protože znehodnocení tuků a olejů vlivem oxidace je odpovědné za žluknutí, které se projevuje nepříjemnou chutí a zápachem s následným snížením nutriční kvality a bezpečnosti způsobené tvorbou sekundárních, potenciálně toxických sloučenin. Přidání antioxidantů je nutné pro ochranu před touto oxidací a pro zachování barvy, chuti a pro zabránění zničení vitaminů. Ze syntetických antioxidantů se ke konzervaci potravin nejčastěji používají butylhydroxyanizol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT), propylgalát (PG) a terciální butylhydrochinon (TBHQ). S rostoucím povědomím spotřebitelů o antioxidantech, rostou také obavy ze škodlivých účinků syntetických sloučenin ve stravě. Proto je potřeba brát ohledem na jejich bezpečnost a zvýšit snahu o nahrazení syntetických antioxidantů přírodními alternativami. Nahrazení syntetických antioxidantů přírodními může být přínosné kvůli zdravotním důsledkům a funkčnosti. Některé z nich, jako jsou například bylinky a koření, mají však omezené použití, protože i přes svou vysokou antioxidační aktivitu, ovlivňují chuť potravin (charakteristická bylinková chuť). Přirozeně se vyskytující antioxidační látky také potřebují testování bezpečnosti, protože fakt, že antioxidant pochází z přírodního zdroje, ještě neprokazuje jeho předpokládanou bezpečnost (Moure et al. 2001). Vzorce BHA, BHT, PG a TBHQ jsou uvedeny na obr. 33.



Obr. 33: Vzorce BHA, BHT, PG a TBHQ (vytvořeno autorem).

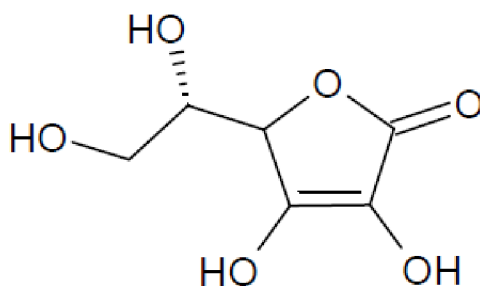
3.3.2.2 Přírodní antioxidanty

Přírodní antioxidanty jsou široce rozšířeny v potravinách a léčivých rostlinách. Tyto přírodní antioxidanty (hlavně polyfenoly a karotenoidy) vykazují širokou škálu biologických účinků, například antibakteriální, antivirové, protirakovinné a protizánětlivé. Efektivní extrakce a správné hodnocení antioxidantů z potravin a léčivých rostlin jsou klíčové pro prozkoumání potenciálních zdrojů antioxidantů a pro podporu aplikace ve funkčních potravinách, léčivech nebo potravinářských přídatných látkách (Xu et al. 2017). Zájem o přírodní antioxidanty roste díky univerzálnosti jejich působení v různých redoxních systémech a následně širokým spektrem možných aplikací, například funkční přísady do doplňků stravy, funkčních potravin, krmiv pro zvířata, léčiv, kosmetiky. Tyto antioxidanty jsou biosyntetizovány jako sekundární metabolity rostlin, které produkují až tisíce zástupců rostlinné říše. Hledání a charakterizace přírodních antioxidantů nejsou jednoduché a zahrnují mnoho analýz, hodnocení a testů, které mohou být časově i finančně náročné a ve většině případů poskytují pouze omezené informace o jejich vlastnostech a zdravotních přínosech (Augustyniak et al. 2010).

Velké množství přírodních antioxidantů se nachází například v ovoci (kiwi, třešně, citrusy, švestky, jahody), zelenině, ale také v bylinách, obilovinách, koření, luštěninách, čaji, kávě a ovocných šťávách nebo olivovém oleji. Mezi hlavní zástupce patří vitamin C, vitamin E, karotenoidy a fenolické látky (Moure et al. 2001).

Vitamin C

Vitamin C (obr. 34), neboli askorbová kyselina, je vitamin rozpustný ve vodě, a slouží jako donor elektronů pro radikály vitaminu E generované v buněčné membráně během oxidačního stresu (Evans 2000).



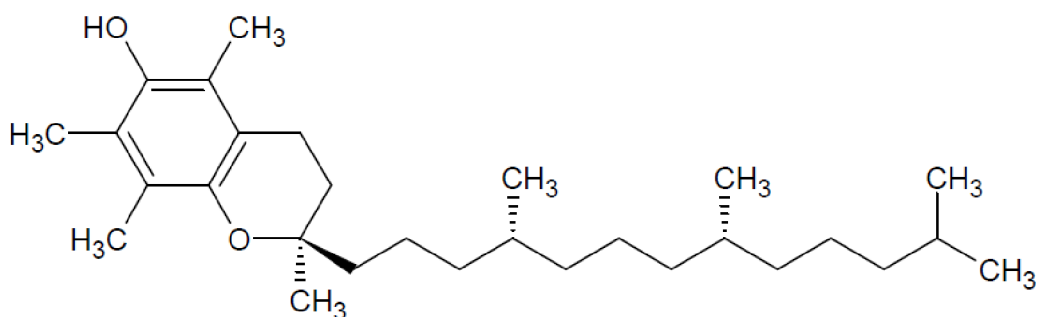
Obr. 34: Vzorec vitaminu C (vytvořeno autorem).

Vitamin C byl objeven na počátku 20. století v souvislosti s kurdějemi. Většina savců si ho umí syntetizovat samo ve svém těle, kromě morčete. Proto je morče vhodný zvířecí model, na kterém lze studovat nedostatek vitaminu C. Hladina vitaminu C se v plazmě zdravých lidí pohybuje kolem hodnoty 70 $\mu\text{mol/l}$, což odpovídá příjmu asi 0,2 g vitaminu C za den. Pokud je příjem vitaminu C nižší než 0,1 g/den, existuje přímý vztah mezi plazmatickou hladinou vitaminu C a dávkou vitaminu. Onemocnění kurděje se potom může objevit, pokud plazmatická koncentrace klesne pod hodnotu 11 $\mu\text{mol/l}$, což odpovídá příjmu nižšímu než 0,01 g vitaminu C za den. Vitamin C je antioxidant, proto jeho účinky mohou být nejvýraznější, pokud dojde ke zvýšení oxidačního stresu. Mnoho infekcí vede k aktivaci fagocytů, které uvolňují reaktivní formy kyslíku (ROS). Ty hrají roli v procesech, které vedou k deaktivaci virů a zničení bakterií.

Mnohé z reaktivních forem kyslíku jsou pro hostitelské buňky škodlivé a v některých případech hrají roli v patogenezi vlivem infekcí. Vitamin C proto může chránit hostitelské buňky před působením reaktivních forem kyslíku uvolňovaných fagocyty. Fagocyty mají specifický transportní systém, kterým je oxidovaná forma vitaminu C (dehydroaskorbová kyselina) importována do buňky, kde je přeměněna na redukovanou formu vitaminu C (askorbová kyselina). Studie naznačují, že podávání vitaminu C může mít léčebný účinek na mnoho pacientů s různými infekcemi (Hemilä 2017).

Vitamin E

Vitamin E (obr. 35), neboli tokoferol, se nachází prakticky ve všech buněčných membránách, ale hlavní zásobárna vitaminu E vázaného na membránu je ve vnitřní mitochondriální membráně (Evans 2000).



Obr. 35: Vzorec vitaminu E (vytvořeno autorem).

Ve studii Evans (2000) byla zkoumána interakce mezi vitamínem E a cvičením u lidí. Údaje naznačují, že doplňování vitaminu E snižuje oxidační stres a rychlost peroxidace lipidů. Požadavky na vitamin E se mohou se cvičením zvyšovat. Peroxidace lipidů se po cvičení zvyšuje, suplementace vitamínem E tuto zvýšenou peroxidaci lipidů zas naopak snižuje.

Lidská strava obsahuje osm různých molekul souvisejících s vitamínem E syntetizovaných rostlinami a všechny tyto molekuly jsou lapače peroxylových radikálů. Lidské tělo ale preferuje variantu α -tokoferol. α -Tokoferol chrání polynenasycené mastné kyseliny v lipoproteinech a membránách. Vitamin E je antioxidant rozpustný v tucích, pro lidské zdraví potřebný. Biologická aktivita vitaminu E je vysoce závislá na regulačních mechanismech, které slouží k zadržení α -tokoferolu a vylučování ne- α -tokoferolových forem (Niki & Traber 2012).

Ve studii Schneider (2005) byl zkoumán nedostatek vitaminu E u laboratorních zvířat. Bylo zjištěno, že nedostatek vitaminu E vede ke svalové dystrofii u kuřat a neurologickým poruchám u potkanů. Když byl dietní nedostatek vitaminu E kombinován s nedostatkem vitaminu C u morčat, byl pozorován zřetelný klinický syndrom. Přibližně jedna třetina zvířat s dvojitým deficitem zemřela během prvních devíti dnů studie, jiná ochrnula na zadní končetiny a během několika hodin vykazovala potíže s dýcháním a rozšíření ochrnutí na všechny končetiny, které vedlo až k eutanazii. Dá se předpokládat, že příčinou syndromu je zvýšení oxidačního poškození v centrálním nervovém systému.

Vitaminy jsou základní živiny potřebné pro lidské zdraví a jejich dlouhodobý nedostatek může způsobovat hypovitaminosu nebo v některých případech až avitaminosu. Nejbezpečnějším doporučením pro veřejné zdraví tedy zůstává navýšení spotřeby rostlinných produktů, protože konzumace těchto potravin, které jsou bohaté na vitaminy, je spojena se sníženým rizikem vzniku chronických onemocnění (Schneider 2005).

3.3.3 Oxidační stres a lidská onemocnění

Dá se předpokládat, že oxidační stres významně přispívá ke vzniku různých lidských nemocí. Může se jednat o kardiovaskulární onemocnění (mrtvice, srdeční choroby), zánětlivá onemocnění (syndrom respiračních onemocnění dospělých, artritida), neurologické poruchy (svalová dystrofie, Alzheimerova nebo Parkinsonova choroba), dále se může jednat o stárnutí, alkoholismus nebo nemoci související s kouřením. Nadbytek oxidačního stresu může vést k oxidaci lipidů a proteinů, což je spojeno se změnami v jejich struktuře a funkcích (Lobo et al. 2010).

Oxidace lipidů může probíhat prostřednictvím autooxidace, tepelné oxidace, fotooxidace a enzymatické oxidace. Autooxidace je spontánní reakce atmosférického kyslíku s lipidy. Jedná se o nejběžnější proces, který má za výsledek oxidační znehodnocení potravin a biologických systémů. Proces lze urychlit při vyšších teplotách (například fritování v hlubokém tuku). Potom se jedná o tzv. tepelnou oxidaci, se zvýšenou tvorbou volných mastných kyselin, polárních látek a pěněním. Fotooxidace zahrnuje excitaci fotosenzibilizátoru a přenos energie do lipidových molekul nebo kyslíku. Enzymy (například lipoxygenázy) také mohou katalyzovat oxidaci mastných kyselin a jsou obvykle inaktivovány tepelným zpracováním potravin. V tomto případě se jedná o enzymatickou oxidaci (Shahidi & Zhong 2015). Oxidace lipidů je proces volných radikálů zahrnující zdroj sekundárních volných radikálů, které dále mohou působit jako druhý posel nebo mohou přímo reagovat s jinou biomolekulou, a tím zvyšují biochemická poškození. K peroxidaci lipidů dochází na polynasycených mastných kyselinách umístěných na buněčných membránách a dále probíhá radikálovou řetězovou reakcí. Řetězová reakce probíhá přes tři fáze iniciace, propagace a ukončení, které vedou k řadě složitých chemických změn. Vlivem peroxidace lipidů vzniká celá řada sloučenin, které se používají jako markery při testech peroxidace lipidů a přítomnost těchto sloučenin byla ověřena u mnoha onemocnění (Lobo et al. 2010; Shahidi & Zhong 2015). Oxidace lipidů je považována za hlavní proces zhoršující jak nutriční, tak i sensorickou kvalitu potravin, především produktů na bázi lipidů. Vyskytuje se při sklizni, zpracování a skladování potravin a způsobuje chemické znehodnocení, které má za následek žluknutí, změnu chuti, barvy, textury a bezpečnosti potravinářských produktů. Oxidace lipidů je také zodpovědná za zhoršení kvality ovoce, zeleniny, mléčných výrobků a masa (Shahidi & Zhong 2015).

Proteiny mohou být oxidačně pozměňovány třemi způsoby: vytvořením proteinové vazby v důsledku reakce s produkty peroxidace lipidů, štěpením peptidu volnými radikály nebo modifikací specifické aminokyseliny. Nejvíce náchylné na oxidaci jsou proteiny, které obsahují aminokyseliny jako je cystein, histidin, arginin nebo methionin. Změna proteinů kvůli působení volných radikálů zvyšuje náchylnost k enzymové proteolýze. Oxidační poškození proteinových produktů může ovlivnit aktivitu receptorů, enzymů nebo i membránový transport. Takto

poškozené proteinové produkty mohou obsahovat velmi reaktivní skupiny, které mohou přispívat k poškození membrány a mnoha dalších buněčných funkcí (Lobo et al. 2010).

3.3.4 Metody stanovení polyfenolů

Protože rostlinné produkty obsahují více látek, které mají různé účinky, je nutné jich definovat a rozpoznat co nejvíce, aby bylo možné zkoumat a pochopit biologickou aktivitu daných rostlin a s tím spojený jejich fyziologický účinek na lidské zdraví. Analýzy jsou ale také důležité například i při odhalování falšování potravin nebo nápojů. Pro detekci a charakterizaci flavonoidů se využívá celá řada analytických metod. V některých případech se používá analýza pomocí nukleární magnetické rezonance (NMR), která je důležitá pro jednoznačnou identifikaci neznámých sloučenin. Jindy se využívá dalších instrumentálních analýz, jako je například infračervená (IR), ultrafialová (UV) nebo hmotnostní spektrofotometrie (MS), které slouží pro identifikaci organických sloučenin, ale nedokážou objasnit celou strukturu. Tyto analýzy se řadí mezi tzv. off-line metody. Pro stanovení fenolických látek v rostlinných extraktech se hojně využívají především metody elektromigrační, konkrétně micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC) nebo kapilární elektroforéza (CE) a metody chromatografické, konkrétně plynová (GC) a kapalinová (HPLC) chromatografie. Jedná se o tzv. on-line metody. GC a HPLC jsou více rozepsány v následující kapitole. Pro studium flavonoidů je velmi důležité mít k dispozici prostředky, které jsou potřebné pro jejich extrakci, separaci, detekci a následnou izolaci. V minulosti se jako hlavní separační technika používala tenkovrstvá chromatografie (TLC), papírová elektroforéza a polyamidová chromatografie. Tenkovrstvá chromatografie se využívá i dnes pro svou jednoduchost, univerzálnost a rychlost. Důležitou vlastností flavonoidů je, že obsahují fenylový kruh, tedy látku, která absorbuje elektromagnetické záření a díky tomu jsou flavonoidy pomocí UV záření snadno detekovatelné (Vomočilová 2020).

3.3.5 Metody stanovení antioxidační aktivity

Přístroje a metody, které se používají pro stanovení antioxidační aktivity zaznamenávají v posledních letech velký rozvoj. K dispozici je velké množství testů pro přímé měření přenosu atomu vodíku nebo přenosu elektronů z antioxidantů na volné radikály. Tyto metody využívají jejich schopnost neutralizovat určité typy radikálových druhů. Údaje o přenosu atomu vodíku získané těmito metodami poskytují důležité informace o jejich vnitřním antioxidačním potenciálu. Tyto testy nevyžadují samotný lipidový substrát, ale běžně používají oxidační substrát, chemický systém obsahující oxidant a zkoumané antioxidanty. Standardizovaná metoda pro stanovení antioxidační aktivity složky potravy by měla splňovat následující požadavky: měla by být jednoduchá, použité chemikálie a nástroje musí být snadno dostupné, měla by umožňovat analýzu lipofilních i hydrofilních antioxidantů, musí být použitelná pro hodnocení kontroly kvality a musí být vhodně reprodukovatelná. Důležité je, že antioxidační aktivita nemůže být testována na základě jediné metody. Pro stanovení antioxidační aktivity pro sledovaný vzorek by mělo být provedeno několik antioxidačních postupů. Různé druhy metod spadají do tří odlišných kategorií, konkrétně spektrometrie (ORAC, HORAC, TRAP, CUPRAC, FRAP, PFRAP, ABTS, DPPH), elektrochemické testy (voltametrie, amperometrie, biamperometrie) a chromatografie (GC, HPLC) (Munteanu

& Apetrei 2021). Rozdělení a seznam metod je uveden na obr. 36, který je součástí přílohy této diplomové práce.

Podle chemických reakcí, které mohou probíhat, jsou tyto testy rozděleny do dvou kategorií: metody založené na přenosu atomu vodíku (HAT) a metody založené na přenosu jednoho elektronu (SET). HAT testy detekují schopnost antioxidantu uhasit volné radikály darováním vodíku, které jsou důležité pro antioxidační kapacitu pro přerušení řetězce. SET testy měří schopnost antioxidantu přenést jeden elektron k redukci cílových nabitých sloučenin, jako jsou kovové ionty nebo radikály. Existují také metody, které kombinují oba mechanismy. Konečný výsledek obou testů je stejný, rozdílný je pouze reakční mechanismus. Chemické testy měřící antioxidační kapacitu jsou rychlé a automatizované a používají se především při prvotním hodnocení nových antioxidačních sloučenin nebo extraktů finálních vedlejších produktů (Xu et al. 2017; Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.5.1 ORAC (*Oxygen Radical Absorption Capacity*)

Jedná se o fluorescenční metodu, která popisuje schopnost antioxidantů poskytnout atom vodíku, proto se jedná o test spadající do HAT mechanismu. ORAC test měří schopnost antioxidantů přerušovat radikálový řetězec sledováním inhibice oxidace indukované peroxylovými radikály. Peroxylový radikál, který je produkovaný generátorem, reaguje s fluorescenční sondou, což má za výsledek ztrátu fluorescence, která je zaznamenávána fluorometrem. Nejpoužívanějším generátorem peroxylových radikálů je azo sloučenina AAPH. Jako referenční sloučenina se používá standardní antioxidant Trolox a hodnoty ORAC hodnocených antioxidantů jsou vyjádřeny jako ekvivalent Troloxu. Platí, že čím méně antioxidantů se nachází ve vzorku, tím více dochází k úbytku fluorescence (Shahidi & Zhong 2015; Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.5.2 HORAC (*Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity*)

HORAC metoda, spadající do HAT mechanismu, hodnotí schopnost ochrany proti tvorbě hydroxylového radikálu pomocí komplexu Co^{II} . Fluorescein se inkubuje se vzorkem k analýze, poté se přidá Fentonova směs, která slouží jako generátor hydroxylových radikálů. Změří se původní fluorescence a poté se měří každou minutu po promíchání. K sestavení kalibrační křivky se používají standardní roztoky gallové kyseliny o různých koncentracích. Tento test poskytuje přímé měření antioxidační kapacity proti hydroxylovým radikálům přerušením radikálové reakce (Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.5.3 TRAP (*Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter*)

TRAP metoda opět spadá do HAT mechanismu. Tento test je založen na schopnosti antioxidantů inhibovat reakci mezi cílovou molekulou a peroxylovými radikály. Cílová molekula představuje spotřebu kyslíku. Doba zpomalení absorpce kyslíku, která se označuje jako tzv. indukční perioda, lze kvantitativně změřit a použít k vyjádření celkové antioxidační kapacity vzorků (Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.5.4 FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

FRAP metoda spadá do SET mechanismu. Tento test měří redukci komplexu železitých iontů Fe^{3+} na železnatý komplex Fe^{2+} (intenzivní modré zbarvení) působením antioxidantů v kyselém prostředí. Antioxidační aktivita je vyjádřena jako mikromolární ekvivalent železnatých iontů. Aby byl zachován přenos elektronů a rozpustnost železa, je nutné test provádět při kyselém pH (pH 3,6) (Shahidi & Zhong 2015). FRAP test je rychlý, jednoduchý a nákladově efektivní, navíc nevyžaduje žádné speciální vybavení. Celosvětově se využívá ve velkém měřítku a používá se pro různé účely (kromě odhadu obsahu antioxidantů v potravinách také například k detekci kontaminace vody). FRAP test se vyznačuje vysokou přesností a citlivostí (Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.5.5 TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) – metoda využívající ABTS

TEAC metoda využívá oba mechanismy, jak HAT, tak SET. Jedná se o jednoduchou metodu, která měří schopnost antioxidantů neutralizovat stabilní radikálový kation ABTS^{•+} neboli 2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát), který má modrozelenou barvu. Stupeň odbarvení závisí na koncentraci vzorku, době trvání reakce a vnitřní antioxidační aktivitě. Samotná neutralizace je sledována spektrofotometricky měřením absorbance při 734 nm (Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.5.6 DPPH

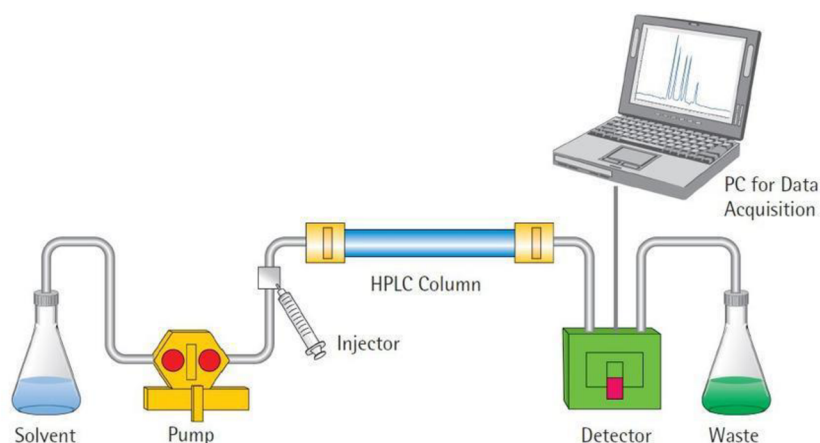
Test DPPH je jednoduchá spektrofotometrická metoda, která využívá DPPH• radikál. Tento radikál je rozpustný v organických rozpouštědlech a nerozpustný ve vodě. Obvykle se dobře rozpouští v methanolu, ethanolu nebo jejich vodných směsích (obsah vody by ale v tomto případě neměl přesáhnout 60 %, aby byl radikál snadněji rozpustný). Neutralizační DPPH test je založen na darování elektronů z antioxidantů za účelem neutralizace DPPH radikálu. Reakce je doprovázena změnou barvy a měří se při 517 nm. Změna barvy působí jako indikátor antioxidační aktivity, která se uvádí jako EC_{50} , tedy vyjadřuje účinnou koncentraci antioxidantu nezbytnou ke snížení počáteční koncentrace DPPH o 50 %. Výhodou této metody je snadné provedení, nízká cena, použitelnost při pokojové teplotě, reprodukovatelnost a také možnosti automatizace (Munteanu & Apetrei 2021).

3.3.5.7 GC (*Gas chromatography*)

GC neboli plynová chromatografie bylo oproti kapalinové chromatografii navržena později a dá se pomocí ní separovat pouze užší spektrum látek. Pomocí této metody se dělí látky plynné nebo látky, které je možné na plyn převést. Přesto má tato metoda mnoho výhod: je spolehlivá a relativně jednoduchá, stačí malé vzorky (obvykle v μl), je velmi přesná, rychlá (obvykle několik minut), efektivní, levná a citlivá. Dokonce je řazena mezi vůbec nejrychlejší metody (Vomočilová 2020).

3.3.5.8 HPLC (*High performance liquid chromatography*)

HPLC neboli vysokoúčinná kapalinová chromatografie je velmi využívaná technika díky své vysoké citlivosti. Aplikuje se pro kvantitativní i kvalitativní analýzu všech známých tříd flavonoidů. Jako rozpouštědlo se nejčastěji používá směs methanolu s vodou nebo acetonitrilu s vodou, ale může se použít například i isopropanol nebo tetrahydrofuran. HPLC metoda se skládá ze zásobníku mobilních fází, čerpadla, dávkovacího zařízení, kolony a detektoru (obr. 37). Svě vysoké účinnosti dosahuje díky vysokotlakým čerpadlům, která jsou nejčastěji vyrobeny z nerezové oceli, keramiky nebo titanu. Kolony musí být odolné chemickému působení obou fází a zároveň musí snášet relativně vysoké tlaky, které během procesu dosahují až 60 MPa (Vomočilová 2020).



Obr. 37: Schéma HPLC (Töppner et al.)

Ve studii Yan et al. (1999) byly extrahovány a identifikovány antioxidanty, nacházející se v kořenech jakonu. Antioxidační aktivita byla stanovována za použití DPPH metody. Antioxidanty byly extrahovány methanolem a izolovány a čištěny za použití gelové permeační chromatografie a HPLC. Jako hlavní přítomné antioxidanty byly izolovány chlorogenová kyselina a tryptofan. Bylo zjištěno, že methanolové extrakty vykazovaly nejvyšší aktivitu při vychytávání DPPH oproti méně polárním rozpouštědlům (aceton, chloroform, ethylacetát). Dále bylo objeveno, že antioxidační mechanismus vůči radikálům je mezi chlorogenovou kyselinou a L-tryptofanem odlišný. L-tryptofan vykazoval velmi slabou aktivitu vychytávání DPPH, oproti tomu aktivita chlorogenové kyseliny byla velice vysoká.

4 Metodika

4.1 Klony jakonu na ČZU

Na České zemědělské univerzitě, konkrétně v Institutu tropů a subtropů (ITS – ČZU) v Praze je udržován genetický materiál jakonu, získaný z různých zemí po celém světě. Jejich společným znakem je andský původ těchto rostlinných materiálů. S velkou pravděpodobností došlo k vegetativnímu rozmnožování klonů z jedné andské odrůdy, nelze ale přesně dohledat původ rostliny. Sběrka obsahuje celkem 25 klonů, které pocházejí z Peru, Bolívie, Ekvádoru, Nového Zélandu a Německa. Nacházejí se zde klony oktoploidní ($2n = 8x = 58$), dodekaploidní ($2n = 12x = 87$) a hexadekaploidní ($2n = 16x = 116$) (Horová 2009). Označení a rozdělení klonů jakonu na ITS – ČZU v Praze je uvedeno v tab. 7.

4.1.1 Jednotlivé klony jakonu na ITS – ČZU v Praze

4.1.1.1 Peru

Klony, které mají označení **‘PER 5‘**, **‘PER 10‘**, **‘PER 15/20‘**, **‘PER 25‘**, **‘PER 40‘**, **‘PER 45‘**, **‘PER 50‘**, **‘PER 55‘**, **‘PER 60‘** pocházejí z Peru. Byly získány od organizace CICA a do České republiky byly přivezeny v roce 2005. Jedná se o oktoploidní klony, kdy $2n = 58$. Klony označené **‘PER 30‘**, **‘PER 65‘**, **‘PER 70‘**, **‘PER 75‘**, **‘PER 90‘** patří mezi dodekaploidní klony, tedy $2n = 87$. Odrůda **‘CUSCO I‘** byla potom získána v rámci spolupráce s UNSACC (Národní univerzita San Antonio Abad del Cuzco) v roce 2008 (Horová 2009).

4.1.1.2 Bolívie

Klony označené **‘BOL‘** byly odebrány přímo na přirozeném stanovišti v San Pedru, který se nachází na severu kraje Potosí. Do České republiky byly dovezeny v roce 1995 a jedná se o oktoploidní klon, kdy $2n = 58$. Klony, které mají označení **‘Yanayo Grande‘**, **‘Locotal-Morado‘**, **‘Locotal-Žlutý‘** a **‘Tuquiza‘** byly získány v rámci spolupráce s Národní univerzitou v Siglo XX v Bolívii (Universidad Nacional Siglo XX) v roce 2007. Také se jedná o oktoploidní klony (Horová 2009).

4.1.1.3 Ekvádor

Klon označovaný **‘ECU‘** byl do České republiky dovezen v roce 1994. Jedná se o oktoploidní klon, kdy $2n = 58$ (Horová 2009).

4.1.1.4 Nový Zéland

Klony označené **‘NZL I‘** a **‘NZL II‘** byly zakoupeny v Aucklandu a do České republiky byly dovezeny v roce 1993. Jedná se opět o oktoploidní klon, tedy $2n = 58$. Klon označený **‘POLY 3‘** byl získán experimentálně indukovanou polyploidizací *in vitro* odrůdy **‘NZL I‘**. Jedná se o hexadekaploidní klon, kdy $2n = 116$ (Horová 2009).

4.1.1.5 Německo

Klon označený 'DEU' byl získán ve formě mladých rostlin z botanické zahrady ve Stückborstelu. V České republice se pěstuje od roku 1994 a jedná se o oktoploidní klon, tedy $2n = 58$ (Horová 2009).

Tab. 7: Označení a rozdělení klonů jakonu na ITS – ČZU v Praze (vytvořeno autorem).

Pořadové číslo	Původní kódování	Platné kódy (dle země původu)
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
26	DEU	ECU 45

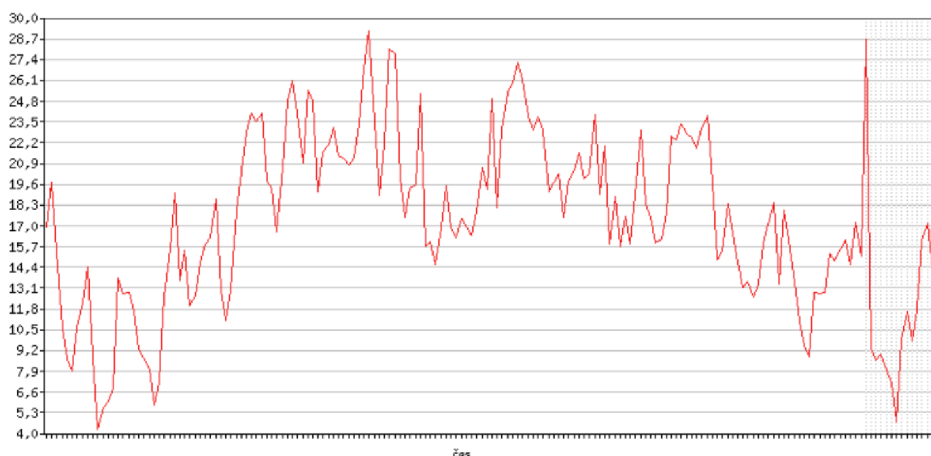
4.1.2 Charakteristika hlíz klonů jakonu na ČZU

Charakteristika všech částí jakonu, pěstovaného na půdě ČZU, byla vytvořena bývalou studentkou Horovou Gabrielou. Tato charakteristika byla sepsána v rámci její bakalářské práce, která nese název „Hodnocení genetického materiálu pomocí mezinárodních morfologických deskriptorů“. K hodnocení rostlinného materiálu, bylo využito deskriptorů navržených organizací PRITA-UNC (Výzkumný projekt andských okopanin na Národní univerzitě v Cajamarce). Barvy byly potom klasifikovány dle stupnic barev (RHS Colour Chart). Z této práce byly použity informace týkající se hlíz jakonu (Horová 2009). Stručná charakteristika hlíz jakonu je uvedena v tab. 8, která je součástí přílohy této diplomové práce.

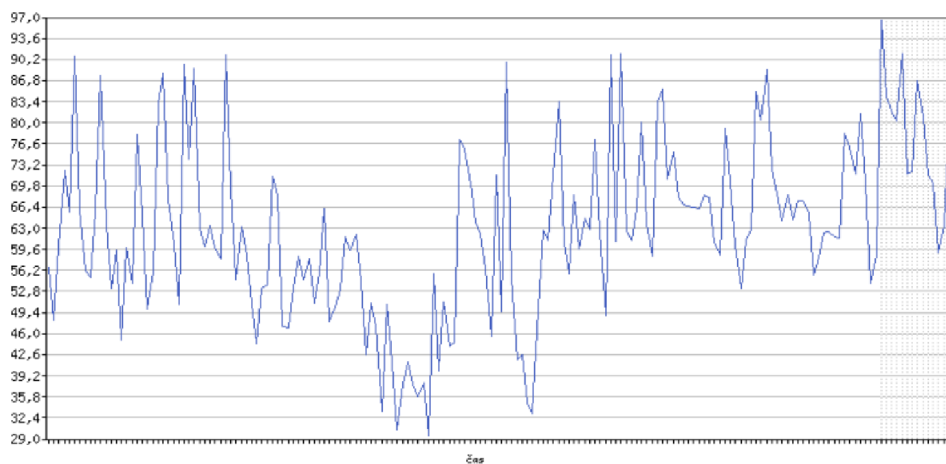
4.2 Pěstování jakonu na pozemku ČZU

Sázení jakonu bylo zahájeno 24. dubna 2019 na pokusném poli Institutu tropů a subtropů (ITS – ČZU) v Praze. Sázení bylo rozvrženo a naplánováno podle počasí, kdy už nehrozily ranní mrazíky. Kaudexy neboli stonkové hlízy byly sázeny do jamek hrůbkovaného pole. Pravidelně docházelo ke kontrole a zavlažování pole. Listy byly sklizeny 7. října 2019 ještě před příchodem mrazů, aby nedošlo ke znehodnocení materiálu. Sklizené listy byly uschovány pro následné analýzy. Ke sklizni hlíz a dokončení celkové sklizně došlo kvůli nepříznivému počasí až o pár dní později, konkrétně 15. října 2019. Hlízy byly také uschovány pro následné analýzy.

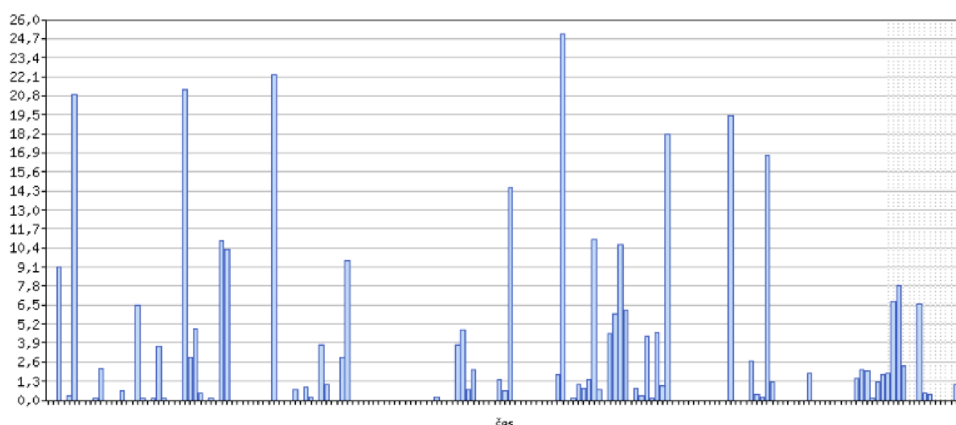
Meteorologické podmínky během pěstování jakonu byly zaznamenávány meteorologickou stanicí České zemědělské univerzity v Praze. Tato stanice se nachází v kampusu univerzity v blízkosti pokusného pole v nadmořské výšce 280 m n. m. Data potřebná pro posouzení klimatických podmínek během pěstování (tedy od 24. dubna do 15. října 2019) byla stažena a použita ze stránek meteorologické stanice. Průměrná denní teplota v tomto období činila 17,22 °C (viz obr. 38), průměrná denní vlhkost vzduchu byla 63,02 % (viz obr. 39) a denní úhrn srážek byl v průměru 1,96 mm/den (viz obr. 40).



Obr. 38: Průměrná denní teplota [°C] v období od 24.4. do 15.10. 2019 (Meteorologická stanice KARP ČZU v Praze).



Obr. 39: Průměrná denní vlhkost vzduchu [%] v období od 24.4. do 15.10. 2019 (Meteorologická stanice KARP ČZU v Praze).



Obr. 40: Denní úhrn srážek [mm/den] v období od 24.4. do 15.10. 2019 (Meteorologická stanice KARP ČZU v Praze).

4.3 Vlastní stanovení

V praktické části této diplomové práce byl stanovován obsah celkových polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu. Množství polyfenolů bylo stanovováno spektrofotometricky po reakci s Folin-Ciocalteuovým činidlem při vlnové délce 765 nm.

Dále byla stanovována antioxidační aktivita extraktů hlíz klonů jakonu. Tato antioxidační aktivita byla stanovována také spektrofotometricky po reakci s radikálem DPPH (difenylpicrylhydrazyl) při vlnové délce 515 nm.

Následně byla porovnána závislost antioxidační aktivity na obsahu celkových polyfenolů. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí programu Statistika 12.

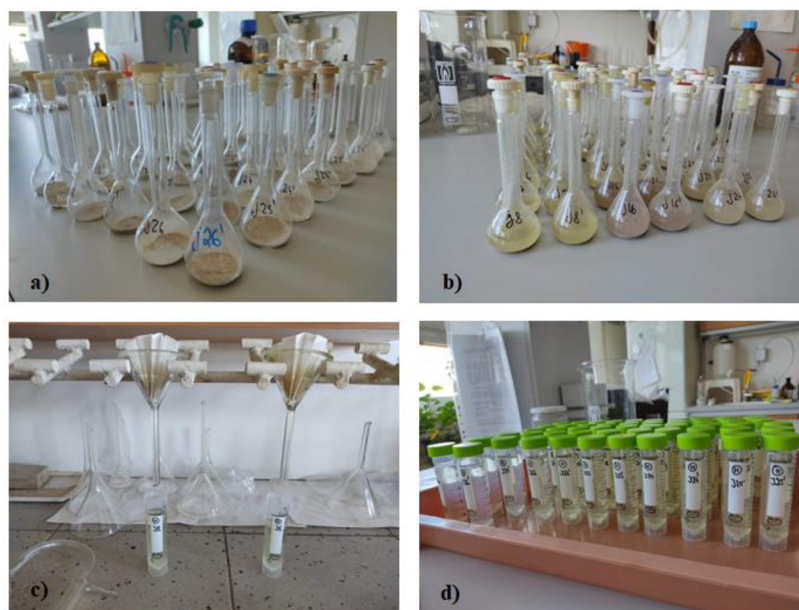
4.3.1 Stanovení obsahu polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu

4.3.1.1 Příprava vzorků

Sesbírané hlízy byly nejprve řádně umyty a usušeny do utěrky. Vhodné hlízy se nakrájely na čtvrtiny a protilehlé čtvrtiny se vkládaly do sáčků. Sáčky byly zváženy, popsány a následně umístěny do lyofilizátoru. Lyofilizované hlízy potom sloužily pro samotné analýzy.

Takto připravené hlízy byly nejdříve rozdrceny a následně rozemlety na jemný prášek za použití mlýnku. Na analytických vahách se potom navážily 2 g vzorku (2×25 vzorků) do 50ml zábrusových baněk. Následně byly vzorky zhruba do poloviny zality 100% methanolem, promíchány a nechaly se při pokojové teplotě a v temnu stát do druhého dne. Druhý den byly vzorky doplněny methanolem po rysku, protřepány a přes skládaný filtrační papír přefiltrovány do plastových falkonů, které byly řádně popsány. Mezi jednotlivými filtracemi byly nálevky proplachovány destilovanou vodou. Takto vzniklé extrakty následně sloužily ke stanovování.

Jednotlivé kroky jsou znázorněny na obr. 41.



Obr. 41: a) jemný prášek hlíz jakonu, b) prášek zalitý methanolem, c) filtrování vzorků, d) výsledné extrakty (vytvořeno autorem).

4.3.1.2 Přístroje a chemikálie

Přístroje:

- lyofilizátor (Lyovac GT 2)
- laboratorní mlýnek
- analytické váhy
- automatická pipeta 1-5 ml
- filtrační aparatura: stojan, nálevka, skládaný filtrační papír
- spektrofotometr Heλios γ (jednopaprskový) pro 190-1100 nm (značka UNICAM)

Chemikálie:

- methanol (100%)
- destilovaná voda
- Folin-Ciocalteu činidlo (výrobce Penta ČR)
- uhličitan sodný (20%), 20 g Na_2CO_3 + 80 g vody
- standard – ředící řada gallové kyseliny (firma Fluka)

4.3.1.3 Vlastní stanovení celkového obsahu polyfenolů

Ke stanovení celkových polyfenolů hlíz jakonu byl nejprve napipetován 2,5 ml extraktu do 50ml baňky. Po zředění destilovanou vodou bylo přidáno 2,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 7,5 ml 20% uhličitanu sodného. Poté byla baňka doplněna po rysku destilovanou vodou. Vzorky byly promíchány a nechaly se 2 hodiny odležet. V tomto stanovení byl každý vzorek jednotlivého klonu připraven dvakrát (dvě řady). Takto připravené vzorky byly použity k vlastní analýze, která probíhala na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm. Připraven byl i tzv. slepý vzorek, který obsahoval místo 1 ml našeho vzorku jenom 1 ml methanolu. Následně byl proměřen stejným způsobem jako všechny ostatní vzorky.

Celkový obsah polyfenolů byl vyjádřen na základě kalibrační křivky jako ekvivalent množství gallové kyseliny (μg). Poté následoval přepočet obsahu polyfenolů z μg GAE/ml na μg GAE/g sušiny a dále byly výsledky převedeny na mg GAE/g sušiny.

Spektrofotometr Helios γ a vzorky připravené k měření jsou zobrazeny na obr. 42.



Obr. 42: Spektrofotometr Helios γ a vzorky připravené k měření (vytvořeno autorem).

4.3.2 Stanovení antioxidační aktivity extraktů hlíz klonů jakonu

4.3.2.1 Příprava vzorků

Příprava vzorků pro antioxidační aktivitu probíhala stejným způsobem, jako příprava vzorků pro stanovení celkového obsahu polyfenolů (viz kapitola 4.3.1.1).

4.3.2.2 Přístroje a chemikálie

Přístroje:

- laboratorní mlýnek
- analytické váhy
- automatická pipeta 1-5 ml
- filtrační aparatura: stojan, nálevka, skládaný filtrační papír
- spektrofotometr Helios γ (jednopaprskový) pro 190-1100 nm (značka UNICAM)
- pipety
- elektromagnetická míchačka
- stopky

Chemikálie:

- methanol (100%)
- DPPH (Sigma Aldrich)
- askorbová kyselina

4.3.2.3 Vlastní stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovována pomocí radikálu DPPH (difenylpicrylhydrazyl). Před samotným měřením na spektrofotometru bylo nutné methanolové extrakty 4× naředit v poměru 3:1 (kromě vzorku ECU 44, který se ředit nemusel). Byly tedy smíchány 3 ml methanolu s 1 ml vzorku.

Poté bylo do 3 kyvet napipetováno po 1 ml připraveného pracovního roztoku DPPH. Z naředěného extraktu bylo pipetou odebráno 100 μ l a přeneseno do kyvety s roztokem DPPH. Následně byl vzorek s DPPH rychle promíchán elektromagnetickou míchačkou a byly spuštěny stopky, které měřily 1 minutu. Přesně po 10 sekundách od přenesení 100 μ l do první kyvety bylo toto samé množství vzorku napipetováno do druhé kyvety, po dalších 10 sekundách do třetí kyvety a vše bylo promícháno. V této chvíli docházelo k interakci mezi potenciálními antioxidanty ve vzorku s DPPH. Během měření 1 minuty byl čas na vložení kyvety se vzorkem do spektrofotometru a poté byl vzorek proměřen při vlnové délce 515 nm. Měření dalších 2 kyvet probíhalo znovu po 10 sekundách za sebou. K samotnému měření byla použita pouze jedna řada vzorků, ale každý vzorek byl měřen ve 3 opakováních a naměřené hodnoty byly zprůměrovány. Výsledná antioxidační aktivita byla vyjádřena pomocí kalibrační křivky standardu na ekvivalentní množství askorbové kyseliny (AAE). Získané výsledky byly přepočítány na μ g AAE/g sušiny.

Vzorec na výpočet celkové antioxidační aktivity je uveden na obr. 43.

$$x = c \cdot d \cdot V / m$$

kde:

x = celková antioxidační aktivita v μ g/g sušiny

c = koncentrace látky v měřeném vzorku v μ g/ml

d = počet ředění methanolických extraktů

V = celkový objem methanolového extraktu v ml

m = hmotnost navážky v g

Obr. 43: Vzorec na výpočet celkové antioxidační aktivity (vytvořeno autorem).

5 Výsledky

Provedený experiment byl zaměřen na stanovení obsahu celkových polyfenolů v hlízách jednotlivých 25 klonů jakonu vypěstovaných a sklizených na pozemku České zemědělské univerzity. Dále byla v rámci pokusu zkoumána antioxidační aktivita extraktů vytvořených z těchto hlíz. Nakonec byla sledována a porovnána závislost antioxidační aktivity na obsahu celkových polyfenolů v hlízách.

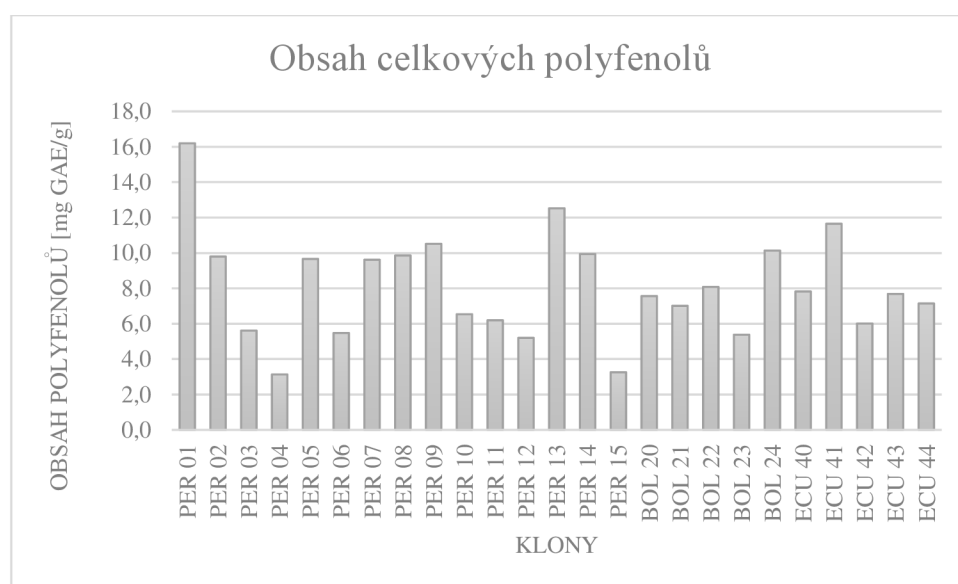
5.1 Obsah polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu

Stanovení bylo provedeno spektrofotometricky po reakci s Folin-Ciocalteuovým činidlem při vlnové délce 765 nm. Každý vzorek jednotlivého klonu byl pro toto měření připraven dvakrát. Množství polyfenolů bylo potom vyjádřeno jako průměrné hodnoty ze dvou řad měření v μg gallové kyseliny (GAE) na g sušiny. Naměřené hodnoty celkového obsahu polyfenolů v hlízách v mg GAE na g sušiny jsou uvedeny v tab. 9 (hodnoty jsou zaokrouhleny na jedno desetinné místo).

Tab. 9: Naměřené hodnoty obsahu celkových polyfenolů u zkoumaných vzorků hlíz jakonu (vytvořeno autorem).

Platné kódy (dle země původu)	Naše kódy	Obsah celkových polyfenolů [mg GAE/g sušiny]
PER 01	J1	16,2
PER 02	J2	9,8
PER 03	J3	5,6
PER 04	J4	3,1
PER 05	J5	9,7
PER 06	J6	5,5
PER 07	J7	9,6
PER 08	J8	9,9
PER 09	J9	10,5
PER 10	J10	6,5
PER 11	J11	6,2
PER 12	J12	5,2
PER 13	J13	12,5
PER 14	J14	9,9
PER 15	J15	3,3
BOL 20	J16	7,6
BOL 21	J17	7,0
BOL 22	J18	8,1
BOL 23	J19	5,4
BOL 24	J20	10,1
ECU 40	J21	7,8
ECU 41	J22	11,6
ECU 42	J23	6,0
ECU 43	J24	7,7
ECU 44	J25	7,1

Na obr. 44 je potom vyobrazeno i grafické znázornění.



Obr. 44: Obsah celkových polyfenolů (vytvořeno autorem).

Z tabulky i grafu je patrné, že nejvyšší hodnoty obsahu celkových polyfenolů byly naměřeny u klonů PER 01 (16,2 mg GAE/g sušiny), PER 13 (12,5 mg GAE/g sušiny) a ECU 41 (11,6 mg GAE/g sušiny). Naopak nejnižší hodnoty obsahu celkových polyfenolů vykazovaly klony PER 04 (3,1 mg GAE/g sušiny), PER 15 (3,3 mg GAE/g sušiny) a PER 12 (5,2 mg GAE/g sušiny). Všechny stanovované vzorky ale vykazovaly přítomnost fenolických sloučenin.

5.1.1 Vliv klonu na obsah polyfenolů v hlízách

Tyto získané hodnoty obsahu polyfenolů v závislosti na daných klonech byly následně vyhodnoceny pomocí programu Statistica 12. Byla použita jednofaktorová ANOVA s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$. Výsledky statistického zhodnocení jsou uvedeny v tab. 10.

Tab. 10: Rozdíly mezi celkovým obsahem polyfenolů a klony u hlíz jakonu.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Polyfenoly (Statistické údaje) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	3,460740E+09	1	3,460740E+09	2382,234	0,000000
Klony	3,770691E+08	24	1,571121E+07	10,815	0,000000
Chyba	3,631822E+07	25	1,452729E+06		

Pro vyhodnocení byla porovnávána p-hodnota s hladinou významnosti α , kdy $p = 0,000 < \alpha = 0,05$. Výsledky analýzy tedy prokázaly, že existuje statisticky významný rozdíl v obsahu celkových polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu. Následně byl pro detailnější statistické vyhodnocení použit Tukeyův Post Hoc HSD test. Výsledky této statistické analýzy

jsou uvedeny v tab. 11, která je součástí přílohy této diplomové práce. Z výsledků vyplývá, že PER 01 a PER 13 se statisticky významně liší skoro od všech ostatních klonů v obsahu celkových polyfenolů.

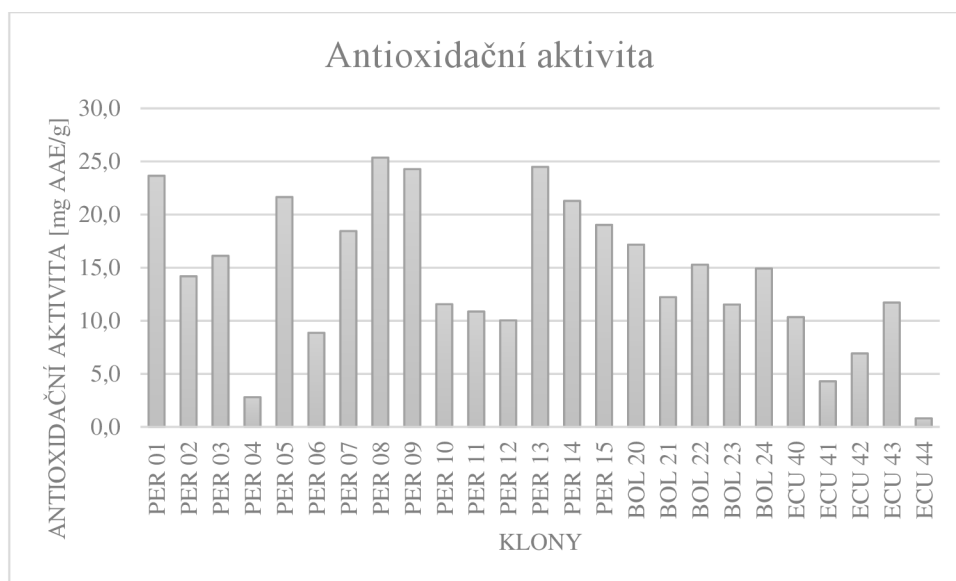
5.2 Antioxidační aktivita extraktů hlíz klonů jakonu

Stanovení bylo provedeno opět spektrofotometricky, tentokrát po reakci s DPPH a při vlnové délce 515 nm. Každý vzorek byl měřen ve 3 opakováních a naměřené hodnoty byly zprůměrovány. Výsledná antioxidační aktivita byla vyjádřena v μg askorbové kyseliny (AAE) na g sušiny. Naměřené hodnoty antioxidační aktivity v hlízách v mg AAE na g sušiny jsou uvedeny v tab. 12 (hodnoty jsou zaokrouhleny na jedno desetinné místo).

Tab. 12: Naměřené hodnoty antioxidační aktivity u zkoumaných vzorků hlíz jakonu (vytvořeno autorem).

Platné kódy (dle země původu)	Naše kódy	Antioxidační aktivita [mg AAE/g sušiny]
PER 01	J1	23,7
PER 02	J2	14,2
PER 03	J3	16,1
PER 04	J4	2,8
PER 05	J5	21,7
PER 06	J6	8,9
PER 07	J7	18,4
PER 08	J8	25,4
PER 09	J9	24,3
PER 10	J10	11,6
PER 11	J11	10,9
PER 12	J12	10,0
PER 13	J13	24,5
PER 14	J14	21,3
PER 15	J15	19,0
BOL 20	J16	17,2
BOL 21	J17	12,2
BOL 22	J18	15,3
BOL 23	J19	11,5
BOL 24	J20	14,9
ECU 40	J21	10,3
ECU 41	J22	4,3
ECU 42	J23	6,9
ECU 43	J24	11,7
ECU 44	J25	0,8

Na obr. 45 je vyjádřeno i grafické znázornění.



Obr. 45: Antioxidační aktivita (vytvořeno autorem).

Z tabulky i grafu vyplývá, že nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena u klonů PER 08 (25,4 mg AAE/g sušiny), PER 13 (24,5 mg AAE/g sušiny) a PER 09 (24,3 mg AAE/g sušiny). Naopak nejnižší antioxidační aktivitu vykazovaly klony ECU 44 (0,8 mg AAE/g sušiny), PER 04 (2,8 mg AAE/g sušiny) a ECU 41 (4,3 mg AAE/g sušiny). Žádný ze vzorků ale nevykazoval nulovou antioxidační aktivitu.

5.2.1 Vliv klonů hlíz na antioxidační aktivitu

Tyto získané hodnoty antioxidační aktivity v závislosti na daných klonech byly následně vyhodnoceny pomocí programu Statistica 12. Byla použita jednofaktorová ANOVA s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$. Výsledky statistického zhodnocení jsou uvedeny v tab. 13.

Tab. 13: Rozdíly mezi antioxidační aktivitou a klony u hlíz jakonu.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Antioxidační aktivitu (Statistické údaje) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	1,543453E+10	1	1,543453E+10	12143,37	0,00
Klony	3,392066E+09	24	1,413361E+08	111,20	0,00
Chyba	6,355123E+07	50	1,271025E+06		

Pro vyhodnocení byla porovnávána p-hodnota s hladinou významnosti α , kdy $p = 0,0 < \alpha = 0,05$. Výsledky analýzy tedy prokázaly, že existuje statisticky významný rozdíl v antioxidační aktivitě u hlíz jednotlivých klonů jakonu.

5.3 Porovnání závislosti antioxidační aktivity na obsahu polyfenolů

Korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů byla opět hodnocena pomocí programu Statistica 12. K analýze byla použita regresní analýza (více násobná regrese). Výsledky statistického zhodnocení jsou uvedeny v tab. 14.

Tab. 14: Výsledky regresní analýzy.

N=25	Výsledky regrese se závislou proměnnou: Korelace (Statistické údaje) R= ,54242419 R2= ,29422400 Upravené R2= ,26353808 F(1,23)=9,5882 p<,00509 Směrod. chyba odhadu: 5,9122					
	b*	Sm.chyba z b*	b	Sm.chyba z b	t(23)	p-hodn.
Abs.člen			4,149730	3,488481	1,189552	0,246358
Polyfenoly mg GAE/g	0,542424	0,175174	1,257809	0,406205	3,096489	0,005090

Pro vyhodnocení byla porovnávána p-hodnota s hladinou významnosti α , kdy $p = 0,005 < \alpha = 0,05$. Z výsledků analýzy tedy vyplývá, že mezi proměnnými (obsahem celkových polyfenolů a antioxidační aktivitou) existuje statisticky významná závislost.

Výsledky korelační analýzy jsou uvedeny v tab. 15.

Tab. 15: Výsledky korelační analýzy.

Statist.	Statistické shrnutí; ZP: Korelace (Statistické údaje)
	Hodnota
Vícenás. R	0,542424185
Vícenás. R2	0,294223997
Upravené R2	0,263538084
F(1,23)	9,58824315
p	0,00508975051
Sm. chyba odhadu	5,91218197

Hodnota korelačního koeficientu, která je vyjádřena jako vícenásobné R ($R = 0,542$), vyjadřuje sílu závislosti. V tomto případě se jedná o středně silnou závislost. Pokud by hodnota R byla v rozmezí 0-0,3 jednalo by se o slabou závislost a naopak, pokud by se hodnota R pohybovala v rozmezí 0,6-1 šlo by potom o silnou závislost.

Hodnota koeficientu determinace, která je vyjádřena jako vícenásobné R2 ($R2 = 0,294$), vyjadřuje z kolika procent je závisle proměnná ovlivněna nezávisle proměnnou. To znamená, že v tomto případě je antioxidační aktivita ovlivněna obsahem celkových polyfenolů z 29,42 %.

6 Diskuze

V rámci pokusu byl pomocí spektrofotometru stanoven obsah polyfenolů u hlíz jednotlivých klonů jakonu. Jednalo se o 25 klonů vypěstovaných a sklizených na pozemku České zemědělské univerzity v Praze. Kromě polyfenolů byla opět pomocí spektrofotometru stanovována i antioxidační aktivita těchto vzorků. Po ukončení měření byla porovnána vzájemná závislost mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů.

Statistické zhodnocení výsledků této práce potvrdilo stanovované hypotézy. Byla potvrzena závislost rozdílného obsahu polyfenolů v závislosti na jednotlivých klonech. Dále byl potvrzen vliv klonu na antioxidační aktivitu a v neposlední řadě i závislost antioxidační aktivity na obsahu polyfenolů.

6.1 Obsah polyfenolů

Obsah celkových polyfenolů u hlíz jakonu se v této práci pohyboval od 3,1 mg GAE/g sušiny do 16,2 mg GAE/g sušiny.

Podle studie Biazon et al. (2016) se v jednotlivých částech jakonu nachází rozdílné množství fenolických látek. Byl zde zkoumán obsah fenolických látek v listech a hlízách pomocí Folin-Ciocalteuova činidla. Výsledek byl vyjádřen pomocí ekvivalentů katechinu v mg na 1 g extraktu. U listů byl obsah celkových fenolických látek stanoven až dvacetkrát vyšší (přibližně 74,0 mg/g) než u hlíz, kde bylo fenolických látek stanoveno daleko méně (přibližně 6,3 mg/g). Hodnota obsahu fenolických látek v hlízách odpovídá hodnotám získaným i v této práci.

Ve studii Lachman et al. (2007) byl také sledován obsah celkových polyfenolů v různých částech jakonu u pěti rozdílných genotypů. Obecně byl nejvyšší obsah celkových polyfenolů zaznamenán v oddencích, poté v listech a nejméně v hlízách (v poměru 3,3:1,4:1). To odpovídá průměrným hodnotám v hlízách v rozmezí 6,1 mg GAE/g sušiny až 12,0 mg GAE/g sušiny. Což odpovídá naměřeným hodnotám i v této diplomové práci.

V další studii Campos et al. (2012) byl zkoumán kromě obsahu fruktooligosacharidů také obsah polyfenolů a antioxidační aktivita u 35 různých klonů jakonu. Nejméně bylo naměřeno $7,9 \pm 0,8$ mg CAE/g sušiny, nejvíce $30,8 \pm 0,1$ mg CAE/g sušiny. Průměrně hlízy jakonu obsahují kolem 38,0 mg CAE/g sušiny, což odpovídá ekvivalentu 3,5-5,7 mg GAE/g sušiny. Proto hodnoty získané touto studií opět odpovídají hodnotám naměřeným v této práci.

Ve studii Sousa et al. (2015) byl zas zkoumán obsah polyfenolů a antioxidační aktivita u sterilované mouky vyrobené z hlíz jakonu. Zde byl průměrný celkový obsah polyfenolů změřen na hodnotu $275,0 \pm 3,0$ mg GAE/100 g DW ($2,8 \pm 3,0$ mg GAE/g sušiny). Tento výsledek je o něco nižší než výsledky v této práci. To může být způsobeno tím, že hlízy byly již nějakým způsobem zpracovány (do podoby mouky).

V jiné studii Pereira et al. (2016) byl opět zjišťován celkový obsah polyfenolů a s tím související celková antioxidační aktivita hlíz jakonu v různých podobách, vypěstovaného v Brazílii. Zde byl hodnocen obsah polyfenolů ve slupce a dužině hlíz jakonu a také obsah v mouce vyrobené z jakonové slupky a jakonové dužiny. Největší obsah polyfenolů byl zaznamenán u slupky jakonu, a to jak v přírodní variantě, tak v podobě mouky vzniklé z jakonové slupky oproti dužině (mouky vzniklé z dužiny hlíz jakonu). Nejvyšší

naměřená hodnota činila 46,1 g GAE/kg sušiny (46,1 mg GAE/g sušiny). Tato hodnota je mnohem vyšší než hodnoty získané v této práci. Rozdílnost může být způsobena odlišnými podmínkami během pěstování.

6.2 Antioxidační aktivita

Výsledky antioxidační aktivity se v této práci pohybovaly od 0,8 mg AAE/g sušiny do 25,4 mg AAE/g sušiny.

V již zmiňované studii Sousa et al. (2015) byla zkoumána antioxidační aktivita sterilované mouky z hlíz jakonu. Zde byla naměřena celková antioxidační aktivita $222,0 \pm 2,0$ mg AAE/100 g DW ($2,2 \pm 2,0$ mg AAE/g sušiny). Tato hodnota odpovídá naměřeným hodnotám i v této diplomové práci, i když se pohybuje spíše u spodní hranice. Opět to může být způsobeno zpracováním hlíz do podoby mouky.

Ve studii Khajehei et al. (2018) byla měřena antioxidační aktivita u sedmi rozdílných klonů jakonu pomocí tří metod (ABTS, DPPH a FRAP). Naměřené hodnoty celkové antioxidační aktivity pomocí metody DPPH se pohybovaly v rozmezí od $1473,9 \pm 16,2$ mg AAE/100 g DW ($14,7$ mg AAE/g sušiny) do $1541,0 \pm 13,8$ mg AAE/100 g DW ($15,4$ mg AAE/g sušiny). Tyto naměřené hodnoty odpovídají hodnotám antioxidační aktivity získané i v této diplomové práci.

6.3 Porovnání závislosti antioxidační aktivity na obsahu polyfenolů

Byla potvrzena vzájemná korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem polyfenolů. Míra antioxidační aktivity závisí na obsahu celkových polyfenolů v hlízách jakonu. Stejně závěry byly prokázány i ve studii Campos et al. (2012). Dá se tedy říci, že za antioxidační aktivitu hlíz jakonu jsou zodpovědné fenolické sloučeniny, které se v nich nacházejí.

Vzájemná závislost antioxidační aktivity na obsahu polyfenolů byla potvrzena i ve studii Gan et al. (2010), kde byla měřena antioxidační aktivita a obsah fenolických sloučenin u 40 různých léčivých rostlin. Antioxidační aktivita byla měřena pomocí metody FRAP a TEAC a celkový obsah fenolických sloučenin pomocí metody využívající Folin-Ciocalteovo činidlo. Z výsledků vyplývá, že antioxidační sloučeniny v těchto rostlinách byly schopny redukovat oxidanty a zachytávat volné radikály. Vysoká míra korelace mezi antioxidační kapacitou a celkovým obsahem fenolů ukázala, že fenolické sloučeniny by mohly být hlavním přispěvatelem antioxidační aktivity těchto rostlin. Některé rostliny, jako například růže čínská (*Rosa chinensis*), křídlatka japonská (*Polygonum cuspidatum*), krkavec toten (*Sanguisorba officinalis*), jerlín japonský (*Sophora japonica*) nebo sapan obecný (*Caesalpinia sappan*) vykazovaly nejvyšší celkový obsah fenolických látek, a i nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity. Díky závěrům této studie se dá konstatovat, že tyto rostliny by mohly být potenciálním bohatým zdrojem přírodních antioxidantů a mohly by být využívány jako funkční potraviny nebo pro výrobu léků pro prevenci a léčbu nemocí způsobených oxidačním stresem. Stejně tak tomu může být právě i u jakonu.

Ke stejným závěrům došli i ve studii Brighente et al. (2007). Zde byla hodnocena antioxidační aktivita pomocí metody fungující na principu vychytávací aktivity stabilního volného radikálu DPPH a obsah fenolických látek opět pomocí Folin-Ciocalteuova činidla. Analýza byla provedena na 6 rostlinných druzích, nacházejících se v brazilském lese. Výsledky naznačují, že za významnou antioxidační aktivitu těchto rostlin je opět zodpovědný obsah fenolických látek (konkrétně flavonoidy, lignany a fenolické kyseliny).

Kromě koncentrace antioxidantů (v tomto případě polyfenolů), které se v dané rostlině nacházejí, mohou antioxidační aktivitu ovlivňovat ještě další faktory. Například to může být přítomnost jiných antioxidantů nebo dalších látek, které mohou ovlivňovat míru antioxidační aktivity. Potom záleží, zda budou tyto látky pracovat antagonicky nebo synergicky ve vztahu k danému antioxidantu. Buď tedy mohou míru antioxidační kapacity potlačovat nebo zvyšovat. Dále se může jednat o podmínky během vegetace. Vliv na míru antioxidační aktivity může mít například teplota, dále také množství živin, minerálních látek nebo vody v půdě. V neposlední řadě mohou mít vliv na antioxidační aktivitu také podmínky během samotné analýzy. Mezi tyto faktory patří například pH, teplota, použité rozpouštědlo nebo přístup kyslíku (Réblová 2011; Figallová 2021).

7 Závěr

Předmětem zájmu této diplomové práce bylo 25 klonů jakonu vypěstovaných a sklizených na pozemku České zemědělské univerzity v Praze. Cílem bylo stanovení obsahu polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů jakonu a prokázat, zda se obsah polyfenolů v hlízách těchto klonů liší. Dalším cílem práce bylo stanovení antioxidační aktivity extraktů hlíz těchto klonů a zjistit, zda bude antioxidační aktivita extraktů u jednotlivých klonů odlišná. Následně posledním cílem bylo porovnání závislosti antioxidační aktivity na obsahu celkových polyfenolů.

Pomocí spektrofotometru byl po reakci s Folin-Ciocalteuovým činidlem při vlnové délce 765 nm stanoven obsah polyfenolů v hlízách jednotlivých klonů. Průměrné hodnoty celkových polyfenolů za použití této metody se pohybovaly v rozmezí od 3,1 mg GAE/g sušiny do 16,2 mg GAE/g sušiny.

Antioxidační aktivita byla poté stanovena také spektrofotometricky, tentokrát ale po reakci s DPPH a při vlnové délce 515 nm. Průměrné hodnoty antioxidační aktivity se pohybovaly v rozsahu od 0,8 mg AAE/g sušiny do 25,4 mg AAE/g sušiny.

Statistické vyhodnocení výsledků potvrdilo všechny tři hypotézy.

- Hypotéza č. 1: Obsah polyfenolů byl u všech zkoumaných hlíz klonů jakonu rozdílný a hypotéza, že obsah polyfenolů se v hlízách jednotlivých klonů jakonu liší, byla tedy potvrzena.
- Hypotéza č. 2: Antioxidační aktivita extraktů hlíz byla u jednotlivých klonů také rozdílná. Proto i zde hypotéza, že antioxidační aktivita extraktů z hlíz jakonu se bude u jednotlivých klonů lišit, byla opět potvrzena.
- Hypotéza č. 3: I zde bylo potvrzeno, že existuje statisticky významná závislost mezi obsahem celkových polyfenolů a antioxidační aktivitou.

Jakon je rostlina bohatá mimo jiné na polyfenoly, které mohou mít potenciální zdravý prospěšný účinek na lidský organismus. Tyto látky často vykazují antioxidační aktivitu a díky tomu by se dalo předcházet vzniku různých lidských nemocí a zvyšovat i obranyschopnost organismu proti stresu. Díky širokému spektru látek, které obsahuje, by se mohl využívat v potravinářském průmyslu, jako potravinářská složka vhodná k výrobě funkčních potravinářských produktů, protože jeho pozitivních vlastností ve vztahu k člověku se dá využívat jak v přírodní (čerstvé), tak i zpracované formě. Pro úplné odhalení jeho pozitivních vlivů na člověka je ale potřeba ještě dalšího zkoumání.

8 Literatura

- Adams L, Franco MC, Estevez AG. 2015. Reactive nitrogen species in cellular signaling. *Experimental Biology and Medicine* **240**:711–717. SAGE Publications.
- Alam W, Khan H, Shah MA, Cauli O, Saso L. 2020. Kaempferol as a Dietary Anti-Inflammatory Agent: Current Therapeutic Standing. *Molecules* **25**:4073. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Alzaabi MM, Hamdy R, Ashmawy NS, Hamoda AM, Alkhayat F, Khademi NN, Al Joud SMA, El-Keblawy AA, Soliman SSM. 2021. Flavonoids are promising safe therapy against COVID-19. *Phytochemistry Reviews*.
- Augustyniak A et al. 2010. Natural and synthetic antioxidants: An updated overview. *Free Radical Research* **44**:1216–1262. Taylor & Francis.
- Barreca D, Trombetta D, Smeriglio A, Mandalari G, Romeo O, Felice MR, Gattuso G, Nabavi SM. 2021. Food flavonols: Nutraceuticals with complex health benefits and functionalities. *Trends in Food Science & Technology* **117**:194–204.
- Benbouguerra N, Hornedo-Ortega R, Garcia F, El Khawand T, Saucier C, Richard T. 2021. Stilbenes in grape berries and wine and their potential role as anti-obesity agents: A review. *Trends in Food Science & Technology* **112**:362–381.
- Biazon ACB, Wendt MMN, Moreira JR, Ghizoni CVC, Soares AA, da Silva Silveira S, de Sá-Nakanishi AB, Amado CAB, Peralta RM, Bracht A, Comar JF. 2016. The *in Vitro* Antioxidant Capacities of Hydroalcoholic Extracts from Roots and Leaves of *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) Do Not Correlate with Their *in Vivo* Antioxidant Action in Diabetic Rats. *Journal of Biosciences and Medicines* **4**:15–27.
- Biggs M. 2019. *Netradiční zelenina a ovoce*. Euromedia Group, a.s., Praha.
- Brighente IMC, Dias M, Verdi LG, Pizzolatti MG. 2007. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species. *Pharmaceutical Biology* **45**:156–161. Taylor & Francis.
- Caetano BFR, de Moura NA, Almeida APS, Dias MC, Sivieri K, Barbisan LF. 2016. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a Food Supplement: Health-Promoting Benefits of Fructooligosaccharides. *Nutrients* **8**:436.
- 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**:1592–1599.
- Cui Q, Du R, Liu M, Rong L. 2020. Lignans and Their Derivatives from Plants as Antivirals. *Molecules* **25**:183. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

- Cultivariable. 2022. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) – The Cultivariable Growing Guide. Available from <https://www.cultivariable.com/instructions/andean-roots-tubers/how-to-grow-yacon/> (accessed January 2022).
- Daglia M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology* **23**:174–181.
- de Andrade EF, de Souza Leone R, Ellendersen LN, Masson ML. 2014. Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products* **62**:499–506.
- de la Rosa O, Flores-Gallegos AC, Muñíz-Marquez D, Nobre C, Contreras-Esquivel JC, Aguilar CN. 2019. Fructooligosaccharides production from agro-wastes as alternative low-cost source. *Trends in Food Science & Technology* **91**:139–146.
- Delgado GTC, Tamashiro WM da SC, Junior MRM, Pastore GM. 2013. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): A Functional Food. *Plant Foods for Human Nutrition* **68**:222–228.
- Devi KP, Rajavel T, Habtemariam S, Nabavi SF, Nabavi SM. 2015. Molecular mechanisms underlying anticancer effects of myricetin. *Life Sciences* **142**:19–25.
- Di Lorenzo C, Colombo F, Biella S, Stockley C, Restani P. 2021. Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients* **13**:273. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Evans WJ. 2000. Vitamin E, vitamin C, and exercise. *The American Journal of Clinical Nutrition* **72**:647S–652S.
- Fernández EC, Viehmannová I, Lachman J, Hamouz K, Pulkrábek J, Brunerová L. 2010. *Netradiční plodiny pro diabetiky*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Figallová L. 2021. *Vliv tepelného zpracování na obsah akrylamidu ve výrobcích z brambor* [MSc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Foxyliam. 2018. Deposit photos. Available from <https://cz.depositphotos.com/232600534/stock-illustration-yacon-smallanthus-sonchifolius-or-peruvian.html> (accessed January 2022).
- Gan R-Y, Xu X-R, Song F-L, Kuang L, Li H-B. 2010. Antioxidant activity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. *Journal of Medicinal Plants Research* **4**:2438–2444. Academic Journals.
- Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N. 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* **5**:6697–6703. Academic Journals.
- Health Benefits Times. 2021. Yacon Facts and Health Benefits. Available from <https://www.healthbenefitstimes.com/yacon/> (accessed January 2022).

- Hemilä H. 2017. Vitamin C and Infections. *Nutrients* **9**:339. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Herbavis.cz. 2012. YACON (Jakon) – Sušená Bylina – Čaj. Peruánské byliny a Přírodní Doplňky Stravy. Available from <https://www.herbavis.cz/produkt/yacon> (accessed February 2022).
- Horová G. 2009. Hodnocení genetického materiálu jakonu pomocí mezinárodních morfologických deskriptorů [BSc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y. 2010. Tannins and Human Health: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **38**:421–464.
- Illipangama AU, Jayasena DD, Jo C, Mudannayake DC. 2022. Inulin as a functional ingredient and their applications in meat products. *Carbohydrate Polymers* **275**:118706.
- Imran M et al. 2019. Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential. *Molecules* **24**:2277. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Informační centrum bezpečnosti potravin. Kyselina benzoová. Ministerstvo zemědělství, Praha. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92545.aspx> (accessed February 2022).
- Jůzl M, Elzner P. 2014. Pěstování okopanin. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Brno.
- 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.
- Khajehei F, Merkt N, Claupein W, Graeff-Hoenninger S. 2018. Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) as a Novel Source of Health Promoting Compounds: Antioxidant Activity, Phytochemicals and Sugar Content in Flesh, Peel, and Whole Tubers of Seven Cultivars. *Molecules* **23**:278.
- Křížová L, Dadáková K, Kašparovská J, Kašparovský T. 2019. Isoflavones. *Molecules* **24**:1076. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Kumar N, Goel N. 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports* **24**:e00370.
- Lafay S, Gil-Izquierdo A. 2007. Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews* **7**:301.
- Lachman J, Fernández EC, Orsák M. 2003. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – A review. *Plant, Soil and Environment* **49**:283–290.

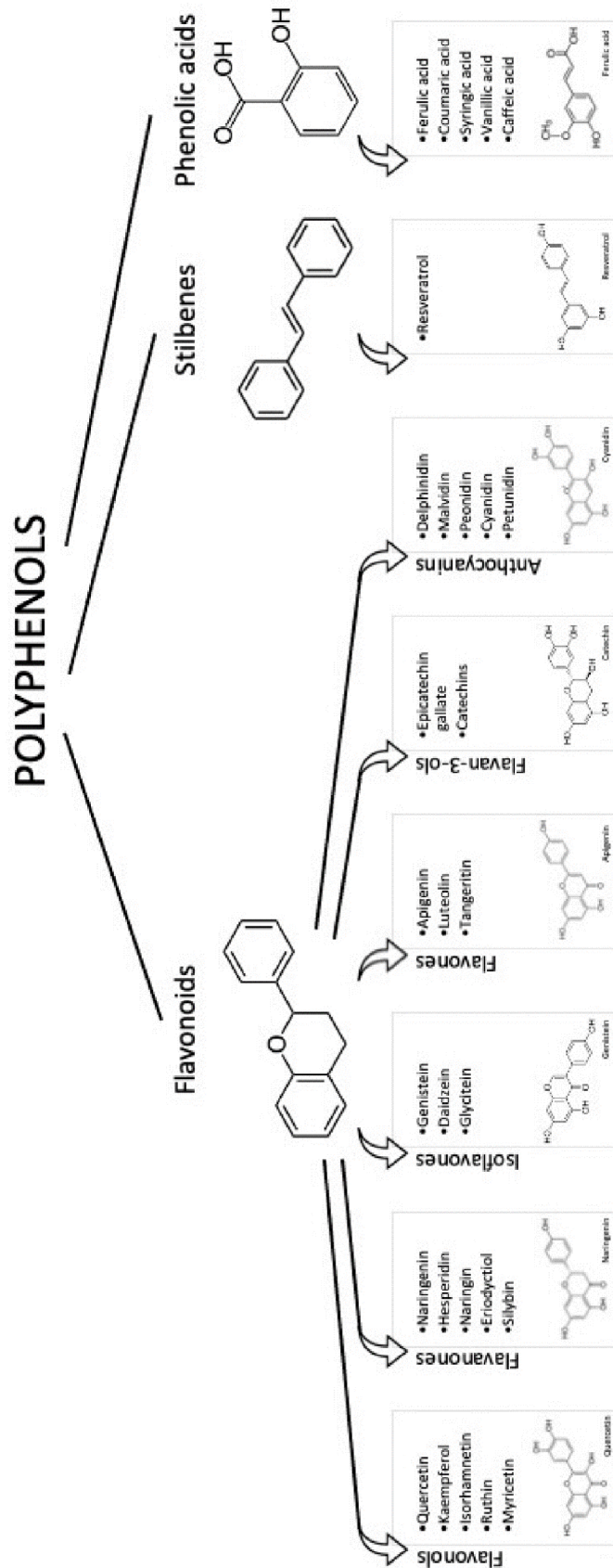
- Lachman J, Fernández EC, Viehmannová I, Šulc M, Čepková P. 2007. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **35**:117–123. Taylor & Francis.
- Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, Liu H, Yin Y. 2016. Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients* **8**:167. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Liou G-Y, Storz P. 2010. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research* **44**:479–496. Taylor & Francis.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews* **4**:118–126.
- Mandala Naturals. 2021. Yacon – Mandala Naturals. Available from <https://www.mandalanaturals.com/ingredient/yacon/> (accessed January 2022).
- Mao X, Yang Q, Chen D, Yu B, He J. 2019. Benzoic Acid Used as Food and Feed Additives Can Regulate Gut Functions. *BioMed Research International* **2019**:e5721585. Hindawi.
- Martens S, Mithöfer A. 2005. Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry* **66**:2399–2407.
- Martín MÁ, Ramos S. 2021. Impact of Dietary Flavanols on Microbiota, Immunity and Inflammation in Metabolic Diseases. *Nutrients* **13**:850. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Martínez MC, Andriantsitohaina R. 2009. Reactive Nitrogen Species: Molecular Mechanisms and Potential Significance in Health and Disease. *Antioxidants & Redox Signaling* **11**:669–702. Mary Ann Liebert, Inc., publishers.
- Meteorologická stanice KARP ČZU v Praze. Available from <https://meteostanice.agrobiologie.cz/> (accessed March 2022).
- Morabito G, Miglio C, Peluso I, Serafini M. 2014. Polyphenols in Prevention and Treatment of Vascular and Cardiac Disease, and Cancer. *Academic Press* **85**:1107–1126.
- 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**:145–171.
- Munteanu IG, Apetrei C. 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* **22**:3380. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Nacalai Tesque. Inulin Analysis – COSMOSIL Application Note. Nacalai Tesque, Kyoto. Available from https://www.nacalai.co.jp/global/cosmosil/inulin_analysis.html (accessed January 2020).

- Neves VA, da Silva MA. 2007. Polyphenol Oxidase from Yacon Roots (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**:2424–2430.
- Niki E, Traber MG. 2012. A History of Vitamin E. *Annals of Nutrition and Metabolism* **61**:207–212. Karger Publishers.
- Ong KC, Khoo HE. 2000. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sciences* **67**:1695–1705.
- 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**:596–605. Editora da Universidade Federal de Lavras.
- Rajchl A, Fernández Cusimamani E, Prchalová J, Ševčík R, Čížková H, Žiarovská J, Hrdličková M. 2018. Characterisation of yacon tuberous roots and leaves by DART-TOF/MS. *International Journal of Mass Spectrometry* **424**:27–34.
- Réblová Z. 2011. Vliv vnějších faktorů na aktivitu antioxidantů. *Chemické listy* **105**:667–673.
- Robbins RJ. 2003. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:2866–2887.
- Ruwizhi N, Aderibigbe BA. 2020. Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. *International Journal of Molecular Sciences* **21**:5712. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition* **81**:215S–217S.
- Semwal DK, Semwal RB, Combrinck S, Viljoen A. 2016. Myricetin: A Dietary Molecule with Diverse Biological Activities. *Nutrients* **8**:90. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Shahidi F, Zhong Y. 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* **18**:757–781.
- Shirmohammadli Y, Efhamisisi D, Pizzi A. 2018. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. *Industrial Crops and Products* **126**:316–332.
- Schneider C. 2005. Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition & Food Research* **49**:7–30.
- Simonovska B, Vovk I, Andrenšek S, Valentová K, Ulrichová J. 2003. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *Journal of Chromatography A* **1016**:89–98.

- Singh M, Kaur M, Silakari O. 2014. Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry* **84**:206–239.
- Song X, Tan L, Wang M, Ren C, Guo C, Yang B, Ren Y, Cao Z, Li Y, Pei J. 2021. Myricetin: A review of the most recent research. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **134**:111017.
- Sousa S, Pinto J, Rodrigues C, Gião M, Pereira C, Tavaría F, Xavier Malcata F, Gomes A, Bertoldo Pacheco MT, Pintado M. 2015. Antioxidant properties of sterilized yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour. *Food Chemistry* **188**:504–509.
- Stalikas CD. 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science* **30**:3268–3295.
- Tarone AG, Cazarin CBB, Marostica Junior MR. 2020. Anthocyanins: New techniques and challenges in microencapsulation. *Food Research International* **133**:109092.
- Touré A, Xueming X. 2010. Flaxseed lignans: Source, biosynthesis, metabolism, antioxidant activity, Bio-active components, and health benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **9**:261–269.
- Töppner K, Hansen D, Herbig E. Ultrapure Water for HPLC Analysis. Bionity.com. Available from <https://www.bionity.com/en/whitepapers/1126683/ultrapure-water-for-hplc-analysis.html> (accessed February 2022).
- Valentová K, Frček J, Ulrichová J. 2001. Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) a maka (*Lepidium meyenii*), tradiční andské plodiny jako nové funkční potraviny na evropském trhu. *Chemické listy* **95**:594–601.
- Volf K, Andrs F. 2013. Flavonoidy a jejich biologické působení. Praha.
- Vomočilová L. 2020. Fenolický komplex jakonu [BSc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Wallace TC, Giusti MM. 2015. Anthocyanins. *Advances in Nutrition* **6**:620–622.
- Wan X, Guo H, Liang Y, Zhou C, Liu Z, Li K, Niu F, Zhai X, Wang L. 2020. The physiological functions and pharmaceutical applications of inulin: A review. *Carbohydrate Polymers* **246**:116589.
- Xu D-P, Li Y, Meng X, Zhou T, Zhou Y, Zheng J, Zhang J-J, Li H-B. 2017. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International Journal of Molecular Sciences* **18**:E96.
- Yan X, Suzuki M, Ohnishi-Kameyama M, Sada Y, Nakanishi T, Nagata T. 1999. Extraction and Identification of Antioxidants in the Roots of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**:4711–4713. American Chemical Society.

- Zálešák F, Bon DJ-YD, Pospíšil J. 2019. Lignans and Neolignans: Plant secondary metabolites as a reservoir of biologically active substances. *Pharmacological Research* **146**:104284.
- Zhang M et al. 2011. Antioxidant Properties of Quercetin. Pages 283–289 in LaManna JC, Puchowicz MA, Xu K, Harrison DK, Bruley DF, editors. *Oxygen Transport to Tissue XXXII*. Springer US, Boston, MA.

9 Samostatné přílohy



Obr. 15: Klasifikace polyfenolů a jejich chemické struktury (Di Lorenzo et al. 2021).

Techniques	Antioxidant Capacity Assay	Principle of the Method	End-Product Determination
Spectrometry	ORAC	Antioxidant reaction with peroxy radicals, induced by 2,2'-azobis-2-amidino-propane (AAPH)	Loss of fluorescence of fluorescein
	HORAC	Antioxidant capacity to quench OH radicals generated by a Co(II) based Fenton-like system	Loss of fluorescence of fluorescein
	TRAP	Antioxidant capacity to scavenge luminol-derived radicals, generated from AAPH decomposition	Chemiluminescence quenching
	CUPRAC	Cu (II) reduction to Cu (I) by antioxidants	Colorimetry
	FRAP	Antioxidant reaction with a Fe(III) complex	Colorimetry
	PFRAP	Potassium ferricyanide reduction by antioxidants and subsequent reaction of potassium ferrocyanide with Fe ³⁺	Colorimetry
	ABTS	Antioxidant reaction with an organic cation radical	Colorimetry
	DPPH	Antioxidant reaction with an organic radical	Colorimetry
	Fluorimetric Analysis	Emission of light by a compound, which has absorbed light or other electromagnetic radiation of a different wavelength	Recording of fluorescence excitation/emission spectra
Electrochemical Techniques	Voltammetry	The reduction or oxidation of a compound at the surface of a working electrode, at the appropriate applied potential, resulting in the mass transport of new material to the electrode surface and in the generation of a current	Measurement of the current of the cathodic/anodic peak
	Amperometry	The potential of the working electrode is set at a fixed value with respect to a reference electrode	Measurement of the current generated by the oxidation/reduction of an electroactive analyte
	Biamperometry	The reaction of the analyte (antioxidant) with the oxidised form of a reversible indicating redox couple	Measurement of the current flowing between two identical working electrodes, at a small potential difference and immersed in a solution containing the analysed sample and a reversible redox couple
Chromatography	Gas chromatography	Separation of the compounds in a mixture is based on the repartition between a liquid stationary phase and a gas mobile phase	Flame ionisation or thermal conductivity detection
	High performance liquid chromatography	Separation of the compounds in a mixture is based on the repartition between a solid stationary phase and a liquid mobile phase with different polarities, at high flow rate and pressure of the mobile phase	UV-Vis (e.g., diode array) detection, fluorimetric detection, mass spectrometry or electrochemical detection

Obr. 36: Rozdělení a seznam metod používaných pro stanovení antioxidantní aktivity (Munteanu & Apetrei 2021).

Platné kódy	Barva pokožky kořenových hlíz	Barva dužniny kořenových hlíz	Podélné rýhy na kořenových hlízách	Barva stonkových hlíz
PER 01	šedavě oranžová	bělavě žlutá	nevyskytují se	bílá
PER 02	šedavě oranžová	bílá	nevyskytují se	bílá
PER 03	purpurově červená	oranžovožlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 04	purpurově šedavá	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 05	purpurově červená	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 06	purpurově šedavá	bílá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 07	šedavě oranžová	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 08	purpurově šedavá	bílá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 09	šedavě oranžová	oranžovožlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 10	bílá	oranžovožlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 11	šedavě oranžová	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 12	purpurově šedavá	bílá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 13	bílá	bílá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 14	šedavě oranžová	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
PER 15	neurčeno	neurčeno	neurčeno	neurčeno
BOL 20	purpurově červená	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
BOL 21	šedavě oranžová	oranžovožlutá	nevyskytují se	bílá
BOL 22	purpurově červená	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
BOL 23	purpurově šedavá	bělavě žlutá s purpurově červenými skvrnami	vyskytují se	purpurově šedavá
BOL 24	šedavě oranžová	žlutá	nevyskytují se	bílá
ECU 40	purpurově červená	bělavě žlutá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
ECU 41	bílá	oranžovožlutá	vyskytují se	purpurově červená s bílou
ECU 42	purpurově šedavá	bílá	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
ECU 43	purpurově šedavá	oranžová	nevyskytují se	purpurově červená s bílou
ECU 44	neurčeno	neurčeno	neurčeno	neurčeno
ECU 45	purpurově šedavá	bělavě žlutá	nevyskytují se	bílá

Tab. 8: Charakteristika hlíz jablem (vyvořeno autorem).

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Polyfenoly (Statistické údaje)													
	Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1453E3, sv = 25,000													
	Klony	1 16196,	2 9798,3	3 5611,6	4 3133,5	5 9659,7	6 5474,5	7 9615,5	8 9857,5	9 10514,	10 6537,5	11 6195,1	12 5199,8	13 12524,
1	PER 01		0,003104	0,000194	0,000194	0,002397	0,000194	0,002204	0,003471	0,012207	0,000196	0,000195	0,000194	0,351094
2	PER 02	0,003104		0,171292	0,001887	1,000000	0,138265	1,000000	1,000000	1,000000	0,553488	0,382173	0,088078	0,819363
3	PER 03	0,000194	0,171292		0,907298	0,210739	1,000000	0,224693	0,156276	0,051919	1,000000	1,000000	1,000000	0,001211
4	PER 04	0,000194	0,001887	0,907298		0,002443	0,941736	0,002652	0,001696	0,000574	0,478992	0,658343	0,982305	0,000198
5	PER 05	0,002397	1,000000	0,210739	0,002443		0,171700	1,000000	1,000000	1,000000	0,626606	0,448589	0,110972	0,757320
6	PER 06	0,000194	0,138265	1,000000	0,941736	0,171700		0,183608	0,125760	0,040583	0,999999	1,000000	1,000000	0,000962
7	PER 07	0,002204	1,000000	0,224693	0,002652	1,000000	0,183608		1,000000	1,000000	0,649794	0,470693	0,119285	0,736053
8	PER 08	0,003471	1,000000	0,156276	0,001696	1,000000	0,125760	1,000000		1,000000	0,522197	0,355526	0,079641	0,843307
9	PER 09	0,012207	1,000000	0,051919	0,000574	1,000000	0,040583	1,000000	1,000000		0,233707	0,139363	0,024474	0,986854
10	PER 10	0,000196	0,553488	1,000000	0,478992	0,626606	0,999999	0,649794	0,522197	0,233707		1,000000	0,999953	0,006815
11	PER 11	0,000195	0,382173	1,000000	0,658343	0,448589	1,000000	0,470693	0,355526	0,139363	1,000000		1,000000	0,003538
12	PER 12	0,000194	0,088078	1,000000	0,982305	0,110972	1,000000	0,119285	0,079641	0,024474	0,999953	1,000000		0,000622
13	PER 13	0,351094	0,819363	0,001211	0,000198	0,757320	0,000962	0,736053	0,843307	0,986854	0,006815	0,003538	0,000622	
14	PER 14	0,004026	1,000000	0,138244	0,001473	1,000000	0,110776	1,000000	1,000000	1,000000	0,482041	0,322167	0,069612	0,872142
15	PER 15	0,001156	1,000000	0,363160	0,005237	1,000000	0,305069	1,000000	1,000000	0,999984	0,821834	0,658272	0,208006	0,550375
16	BOL 20	0,000222	0,961618	0,990476	0,116452	0,979506	0,980136	0,983593	0,951290	0,715376	1,000000	0,999932	0,936650	0,046863
17	BOL 21	0,000200	0,792588	0,999903	0,268460	0,850026	0,999591	0,866374	0,765529	0,429837	1,000000	1,000000	0,996100	0,016858
18	BOL 22	0,000272	0,998016	0,910080	0,047983	0,999387	0,865997	0,999595	0,996925	0,919524	0,999567	0,993671	0,749563	0,113972
19	BOL 23	0,000194	0,118460	1,000000	0,959913	0,147865	1,000000	0,158440	0,107506	0,034055	0,999996	1,000000	1,000000	0,000819
20	BOL 24	0,005919	1,000000	0,099648	0,001038	1,000000	0,079059	1,000000	1,000000	1,000000	0,384088	0,245563	0,048825	0,931327
21	ECU 40	0,000240	0,989207	0,964993	0,075273	0,995402	0,939877	0,996610	0,985074	0,833911	0,999976	0,999041	0,859125	0,074141
22	ECU 41	0,096098	0,994905	0,006171	0,000229	0,988217	0,004742	0,985031	0,996597	0,999997	0,035558	0,018814	0,002817	1,000000
23	ECU 42	0,000195	0,302888	1,000000	0,751048	0,361423	1,000000	0,381394	0,279870	0,103293	1,000000	1,000000	1,000000	0,002503
24	ECU 43	0,000229	0,977347	0,981937	0,095814	0,988983	0,965751	0,991478	0,970210	0,772279	0,999997	0,999750	0,906118	0,057829
25	ECU 44	0,000202	0,847742	0,999608	0,222646	0,895955	0,998659	0,909124	0,824125	0,496269	1,000000	1,000000	0,990931	0,021643

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná Polyfenoly (Statistické údaje)											
	Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1453E3, sv = 25,000											
	14 9935,5	15 9256,8	16 7563,9	17 7011,1	18 8080,0	19 5378,4	20 10137,	21 7824,1	22 11649,	23 6010,6	24 7682,0	25 7143,7
1	0,004026	0,001156	0,000222	0,000200	0,000272	0,000194	0,005919	0,000240	0,096098	0,000195	0,000229	0,000202
2	1,000000	1,000000	0,961618	0,792588	0,998016	0,118460	1,000000	0,989207	0,994905	0,302888	0,977347	0,847742
3	0,138244	0,363160	0,990476	0,999903	0,910080	1,000000	0,099648	0,964993	0,006171	1,000000	0,981937	0,999608
4	0,001473	0,005237	0,116452	0,268460	0,047983	0,959913	0,001038	0,075273	0,000229	0,751048	0,095814	0,222646
5	1,000000	1,000000	0,979506	0,850026	0,999387	0,147865	1,000000	0,995402	0,988217	0,361423	0,988983	0,895955
6	0,110776	0,305069	0,980136	0,999591	0,865997	1,000000	0,079059	0,939877	0,004742	1,000000	0,965751	0,998659
7	1,000000	1,000000	0,983593	0,866374	0,999595	0,158440	1,000000	0,996610	0,985031	0,381394	0,991478	0,909124
8	1,000000	1,000000	0,951290	0,765529	0,996925	0,107506	1,000000	0,985074	0,996597	0,279870	0,970210	0,824125
9	1,000000	0,999984	0,715376	0,429837	0,919524	0,034055	1,000000	0,833911	0,999997	0,103293	0,772279	0,496269
10	0,482041	0,821834	1,000000	1,000000	0,999567	0,999996	0,384088	0,999976	0,035558	1,000000	0,999997	1,000000
11	0,322167	0,658272	0,999932	1,000000	0,993671	1,000000	0,245563	0,999041	0,018814	1,000000	0,999750	1,000000
12	0,069612	0,208006	0,936650	0,996100	0,749563	1,000000	0,048825	0,859125	0,002817	1,000000	0,906118	0,990931
13	0,872142	0,550375	0,046863	0,016858	0,113972	0,000819	0,931327	0,074141	1,000000	0,002503	0,057829	0,021643
14		1,000000	0,934957	0,728064	0,994757	0,094436	1,000000	0,977892	0,998082	0,251318	0,958470	0,790576
15	1,000000		0,998372	0,959771	0,999995	0,268144	1,000000	0,999859	0,929986	0,561145	0,999413	0,977707
16	0,934957	0,998372		1,000000	1,000000	0,968862	0,877489	1,000000	0,199461	0,999520	1,000000	1,000000
17	0,728064	0,959771	1,000000		0,999999	0,999010	0,624891	1,000000	0,082321	1,000000	1,000000	1,000000
18	0,994757	0,999995	1,000000	0,999999		0,829132	0,983162	1,000000	0,398033	0,982025	1,000000	1,000000
19	0,094436	0,268144	0,968862	0,999010	0,829132		0,066945	0,916356	0,003947	1,000000	0,949378	0,997183
20	1,000000	1,000000	0,877489	0,624891	0,983162	0,066945		0,947638	0,999675	0,187786	0,913940	0,693777
21	0,977892	0,999859	1,000000	1,000000	1,000000	0,916356	0,947638		0,288155	0,996038	1,000000	1,000000
22	0,998082	0,929986	0,199461	0,082321	0,398033	0,003947	0,999675	0,288155		0,013258	0,236699	0,102894
23	0,251318	0,561145	0,999520	1,000000	0,982025	1,000000	0,187786	0,996038	0,013258		0,998636	0,999997
24	0,958470	0,999413	1,000000	1,000000	1,000000	0,949378	0,913940	1,000000	0,236699	0,998636		1,000000
25	0,790576	0,977707	1,000000	1,000000	1,000000	0,997183	0,693777	1,000000	0,102894	0,999997	1,000000	