

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH  
BUDĚJOVICÍCH ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

## **DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Relativní abundance patatinu ve vztahu  
k antioxidantní kapacitě hlíz vybrané skupiny  
kulturních a planých druhů brambor**

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Agroekologie

Katedra: Agroekosystémů

Vedoucí katedry: prof. Ing. Jan Moudrý, CSc.

Autor: Bc. Petr Mejzlík

Vedoucí práce: Ing. Veronika Bártová, Ph.D.

Konzultant práce: Ing. Adéla Brabcová

České Budějovice, 2015

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta zemědělská

Akademický rok: 2013/2014

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petr MEJZLÍK**  
Osobní číslo: **Z13587**  
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**  
Studijní obor: **Agroekologie**  
Název tématu: **Relativní abundance patatinu ve vztahu k antioxidantní kapacitě hlíz vybrané skupiny kulturních a planých druhů brambor**  
Zadávací katedra: **Katedra rostlinné výroby a agroekologie**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cílem práce je analýza vztahu mezi relativní abundancí majoritního proteinu hlíz bramboru, patatinu a antioxidantní kapacitou hlíz brambor širší druhové a genotypové základny. Vlastní řešení diplomové práce bude spočívat ve vypracování literárního přehledu se vztahem k řešené problematice - student zmapuje poznatky týkající se vlastností patatinu, hlízových proteinů a antioxidantních vlastností různých látek přítomných v hlízách brambor, a to jak z hlediska kulturního druhu (*Solanum tuberosum* L.), tak i u příbuzných kulturních a planých druhů. Vlastní experimentální část bude spočívat ve výběru vhodných genotypů bramboru, zpracování jejich hlízového materiálu a provedení laboratorních analýz těchto hlíz. Laboratorní analýzy budou zahrnovat izolaci a stanovení obsahu čitých hlízových proteinů, izolaci a stanovení relativní abundance patatinových proteinů s využitím čipové elektroforézy a stanovení antioxidantního potenciálu sušiny hlíz a izolovaných bílkovin. Získané výsledky budou statisticky vyhodnoceny a zpracovány výpočetní technikou do podoby fotodokumentace, tabulek a grafů. Součástí řešení práce bude diskuse získaných výsledků s dostupnými informacemi v různých literárních pramenech.

Rozsah grafických prací: 5-10 stran  
Rozsah pracovní zprávy: 40 - 50 stran  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná  
Seznam odborné literatury:

Bárta J., Čurn V. (2004): Potato tuber proteins - classification, characterization, importance. Chem. Listy 98, 373-378.

Bárta, J., Bártová, V. (2008): Patatin, the major protein of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers, and its occurrence as genotype effect: processing versus table potatoes. Czech J. Food Sci. 26, 347-359.

Bárta, J., Bártová, V. (2007): Bílkoviny hlíz bramboru (*Solanum tuberosum* L.). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, ISBN 978-80-7394-036-2, 116 p.


Pots, A.M. (1999): Physico-chemical properties and thermal aggregation of patatin, the major potato tuber protein, PhD. thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, the Netherlands, s. 123

Literatura získaná na základě vlastní práce s databázovými a dalšími informačními systémy


Vedoucí diplomové práce: Ing. Veronika Bártová, Ph.D.  
Katedra rostlinné výroby a agroekologie  
Konzultant diplomové práce: Ing. Adéla Brabcová  
Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Datum zadání diplomové práce: 24. března 2014  
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2015

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
Studentská 13 ④  
370 05 České Budějovice

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.  
děkan

L.S.

  
prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 24. března 2014

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

České Budějovice 30. dubna 2015

.....

Bc. Petr Mejzlík

Mé poděkování patří Ing. Veronice Bártové, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný přístup a cenné rady, které mi poskytla jako vedoucí mé diplomové práce. Děkuji Ing. Adéle Brabcové za rady, připomínky a materiály, které mi poskytla jako konzultantka práce. Dále děkuji VÚB Havlíčkův Brod, konkrétně Ing. Jaroslavě Domkářové, Ph.D., MBA, LL. M a Ing. Renatě Švecové za poskytnutí materiálů k řešené problematice. Děkuji také své rodině za podporu a pomoc po celou dobu mého studia.

## **ABSTRAKT**

Cílem diplomové práce bylo stanovit obsah čistých hlízových bílkovin, relativní abundanci patatinu v hlízových bílkovinách a následně též antioxidantní potenciál. Teoretická část práce se zabývala charakteristikou bramboru hlíznatého, jeho chemickým složením a popisem analyzovaných planých a kulturních druhů brambor. V praktické části byly prezentovány výsledky. Významná genotypová variabilita antioxidantní aktivity byla detekována na úrovni sušiny hlíz v rozsahu od 0,221 (*Solanum berthaultii* 07S0300031) do 0,066 mg kyseliny askorbové/g sušiny (*Solanum tuberosum* odrůda Kuras), tak i při analýze izolovaného proteinu. Nebyl nalezen přímý vztah mezi obsahem bílkovin či relativní abundancí patatinu a antioxidantní aktivitu daného genotypu. Zjištěné skutečnosti byly porovnány s literaturou.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** brambor hlíznatý, patatin, bílkoviny, antioxidanty, SDS-PAGE, BCA analýza

## **ABSTRACT**

The aim of the thesis was to determine the content of pure tuber proteins, patatin relative abundance in total tuber protein, and subsequently its antioxidant potential. The theoretical part dealt with general potato characteristics, potato tuber chemical composition and description of analyzed cultivated and wild potato species. In the practical part results of laboratory analysis were presented. It was determined statistically significant genotype variability of antioxidant activity for potato tuber protein as well as for potato tuber dry matter – here ranging from 0.221 (*Solanum berthaultii* 07S0300031) to 0.0066 mg of ascorbic acid/g dry matter (*Solanum tuberosum* cultivar Kuras). Any direct relationship between potato tuber protein content or patatin relative abundance and antioxidant activity was found. The findings are compared with the literature.

**KEY WORDS:** potato, patatin, proteins, antioxidants, SDS-PAGE, BCA analysis

## OBSAH

1	ÚVOD .....	8
2	BRAMBOR HLÍZNATÝ .....	10
	2.1 Původ brambor .....	10
	2.2 Šlechtění brambor .....	11
3	ODRŮDY BRAMBOR .....	12
	3.1 Plané druhy brambor .....	12
	3.2 Kulturní druhy brambor .....	17
4	CHEMICKÉ SLOŽENÍ BRAMBOROVÉ HLÍZY .....	19
	4.1 Hlízové proteiny brambor .....	20
	4.2 Patatin.....	21
	4.3 Antioxidační látky v bramboru hlíznatém.....	21
5	CÍLE PRÁCE.....	25
6	MATERIÁL A METODY .....	26
	6.1 Obecný popis použitých metod .....	26
	6.2 Příprava materiálu .....	27
	6.3 Přístrojové a materiálové vybavení .....	33
	6.4 Statistické zpracování získaných údajů.....	34
7	VÝSLEDKY A JEJICH ANALÝZA .....	35
8	DISKUZE .....	44
9	ZÁVĚR .....	46
10	SEZNAM LITERATURY .....	48
11	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	52
12	SEZNAM OBRÁZKŮ .....	53
13	SEZNAM TABULEK .....	54

# 1 ÚVOD

Brambor hlíznatý – *Solanum tuberosum*. Pro většinu současníků obyčejná zemědělská rostlina. Málokdo si však uvědomí, že je to rostlina, která ovlivnila dějiny Evropy. Která zachránila před hladomorem statisíce lidí a která nyní patří spolu s pšenicí, rýží a kukuřicí mezi čtyři nejvýznamnější zemědělské plodiny světa.

V České republice představují druhou nejdůležitější potravinu. Nic na tom nemění ani skutečnost, že spotřeba brambor v naší zemi trvale klesá. Za posledních 23 let došlo podle ČSÚ ke snížení spotřeby na jednoho obyvatele o 10 kg. V roce 1990 spotřebovali obyvatelé 77,9 kg a v roce 2013 došlo k poklesu spotřeby na 68 kg. Tento trend lze spojovat s novými možnostmi v oblasti stravování po otevření hranic v roce 1989.

Ve výživě obyvatel plní brambory tři funkce. Jednak objemovou jako dostatečnou zátěž pro trávicí ústrojí, sytící pro svůj obsah sacharidové složky a také ochrannou pro svůj obsah vitamínů, zejména vitamínu C a minerálních látek (Rybáček et al., 1988).

V dnešní moderní společnosti vede hektický způsob života, stres a špatné stravovací návyky ke vzniku civilizačních chorob. Jsou to zejména rakovina, poruchy imunitního systému, nemoci srdce a cév. Spouštěčem těchto nemocí jsou volné radikály, které v lidském organismu startují řetězové reakce poškozující zejména buněčnou membránu nebo DNA. Antioxidanty reagují s volnými radikály a ukončují tuto reakci. Proto jsou ve výživě současného člověka preferovány potraviny s vysokým antioxidačním potenciálem.

Z tohoto úhlu pohledu jsou brambory považovány za výborný potravinový koncentrát. Jsou levným zdrojem energie a nutričně významných látek. Čerpáme z nich asi 14 % pokrmové energie. Zároveň jsou bohaté na minerály, vitamíny, proteiny a jsou téměř bez tuku. Brambory jsou také jedním z nejbohatších zdrojů antioxidantů v lidské výživě (Brambory – zdravá potravina, cit. 30. 3. 2015).

V bramborách zvyšují podíl látek s antioxidační aktivitou zejména barviva. U bělomasých a žlutomasých odrůd jsou to karotenoidy. U odrůd červeně, modře a fialově zbarvených jsou to antokyany.

Z hlediska antioxidačního působení jsou dosud málo prozkoumanou oblastí bramborové bílkoviny. Z nich pak zejména patatinový komplex, který je považován



za hlavní zásobní bílkovinu hlíz. Fyziologická role patatinu není známá, ale předpokládá se jeho účast na obranných reakcích organismu (Vokál et al., 2013).

V této diplomové práci byla u vybrané skupiny planých i kulturních druhů bramboru analyzována antioxidační kapacita sušiny hlíz a izolovaných hlízových bílkovin s podílem patatinu.

## 2 BRAMBOR HLÍZNATÝ

Z botanického pohledu můžeme brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.) zařadit do rodu lilek (*Solanum*) čeleď lilkovité (*Solanaceae*), jež zahrnuje mnoho významných užitkových rostlin a neméně těch, které jsou pro svůj obsah jedovatých látek škodlivé (Jůzl et al., 2000).

Brambor hlíznatý je dvouděložnou samosprašnou rostlinou, jejíž stonek se vyznačuje různou délkou i šířkou. Listy jsou lichozpeřené, světlezelené, tmavozelené až hnědozelené barvy s různou mírou ochlupení. Pětčetné květy se nachází na vrcholu stonku, nejčastěji bílé, růžové až fialové barvy se sytě žlutými až oranžovými prašníky. Plodem jsou bobule světlezelené barvy, které obsahují velké množství semen. Kořenový systém se skládá ze stonkových kořenů a stolonů. Na konci stolonů se vytváří nové hlízy, které jsou nejvýznamnější částí rostliny. Hlízy jsou kulatého až oválného tvaru se světlehnědou pokožkou a světlou dužninou. Jednotlivé odrůdy brambor se vyznačují různou barvou, velikostí i tvarem hlíz (Zimolka et al., 2005).

Rozmnožování bramboru hlíznatého je možné vegetativně a generativně. U nás se využívá především vegetativního rozmnožování hlízami. Generativní rozmnožování ze semen slouží pro šlechtitelské účely (Vokál et al., 2000; Rybáček et al., 1988).

### 2.1 Původ brambor

Původně brambory pěstovali Inkové v Jižní Americe na vysoko položených pláních pohoří And v Peru a Bolívii i na pobřeží Chile. Roku 1565 byly poprvé dovezeny brambory (*Solanum andigenum*) i do Evropy. Na přelomu 16. a 17. století se brambory rozšířily v evropských zemích jako zahradní a léčivá rostlina s okrasnými květy. V roce 1585 se přes Britské ostrovy dostávají do Evropy i bílé kvetoucí brambory (*Solanum tuberosum*) z pobřeží Chile. Na našem území se začínají pěstovat brambory na začátku 17. století. Zmínky o prvních českých odrůdách jsou z 19. století (Jůzl et al., 2000; Lisinska, Leszczyński, 1989).

## 2.2 Šlechtění brambor

Brambory se na přelomu 18. a 19. století využívaly pro výrobu škrobu, lihu a ke krmení. Šlechtitelské stanice se rozvíjely po celém světě. Především šlechtitelé v Anglii, Německu a Americe přicházeli s novými a významnějšími odrůdami. První odrůdy vznikaly samoopylením a až později křížením dvou odrůd. K velkému rozmachu bramborářství dochází v našich zemích po první světové válce, kdy postupně vznikají specializované stanice, jejichž vznik iniciují samotní pěstitelé. V roce 1921 vzniká Státní výzkumná stanice zemědělská ve Valečově. O dva roky později i Státní výzkumné ústavy bramborářské v Německém Brodě a Šlechtitelské stanice v Keřkově. V současné době se šlechtěním nových odrůd brambor v České republice zabývají podniky: Sativa Keřkov, a. s., Selektá Pacov, a. s., Vesa Velhartice, a. s., Vesa Česká Bělá, a. s. a částečně i Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r. o. (Českomoravský svaz šlechtitelů, 2014).

### 3 ODRŮDY BRAMBOR

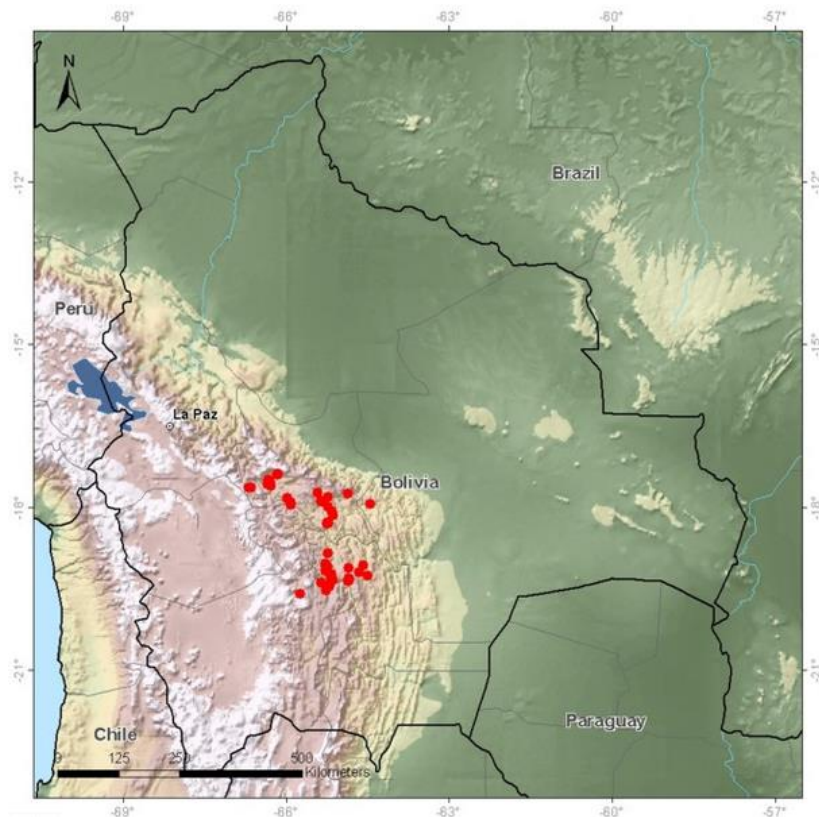
Podobně jako u ostatních plodin je odrůda brambor nejnižší systematickou jednotkou a každá nová odrůda je kvalitativně nová forma morfologicky a biologicky stejnorodých rostlin, která se liší od dosavadních odrůd. Z genetického hlediska jsou brambory jedné odrůdy klony, tj. vegetativně množená potomstva vybraných rostlin. Jednotlivé odrůdy brambor jsou nositelkami řady charakteristických znaků a vlastností, které ovlivňují nejen pěstování v daných klimatických podmínkách, ale i způsob využití spotřebitelem (Jůzl et al., 2000; Rybáček et al., 1988).

Jak uvádí Minx et al. (1994), u odrůd je rozhodující délka vegetační doby, na základě které se rozlišují odrůdy velmi rané, rané, polorané, polopozdní a pozdní. Pro pěstitele při volbě vhodné odrůdy není zanedbatelný ani dostatečný výnos hlíz, odolnost proti chorobám, škůdcům, mechanickému poškození, skladovatelnost a další neméně důležitá kritéria, která zohledňují při svém výběru. Významné je i spotřebitelské hledisko, na základě kterého se odrůdy rozdělují na konzumní, průmyslové či sadbové. Při kuchyňském zpracování je podstatným parametrem i varný typ. Varný typ vyjadřuje využití vařených hlíz odrůdy a označuje se velkými písmeny A, AB, B, BA, BC, C, CB (Čepl et al., 2009; Prugar et al., 2008).

#### 3.1 Plané druhy brambor

##### *Solanum berthaultii*

Odrůda *S. berthaultii* byla popsána poprvé v roce 1944. Jedná se o rostlinu přesahující výšku 1 m s hustým ochlupením. Hlíza je vejčitá až úzce vejčitá, dlouhá 4 – 5 cm, světle hnědé někdy i hnědo – žluté barvy, k tuberizaci (morfogenetický proces přeměny stonku v zásobní hlízu) vyžaduje krátký den. Vyskytuje se v Bolívii a severní Argentině, kde nadmořská výška dosahuje 2000 – 2800 m. Nejčastěji roste v suchých regionech, na křovinatých horských svazích, kde převažuje písčité, jílovité až kamenitá půda. Je rezistentní vůči houbovým i virovým chorobám, mandelince bramborové a mšici broskvoňové. Tato planá odrůda je dlouhodobě uchovávána v genové bance *in vitro* Výzkumného ústavu bramborářského Havlíčkův Brod (VÚB) v šesti genotypěch (Švecová, 2011; Spooner et al., 2007).

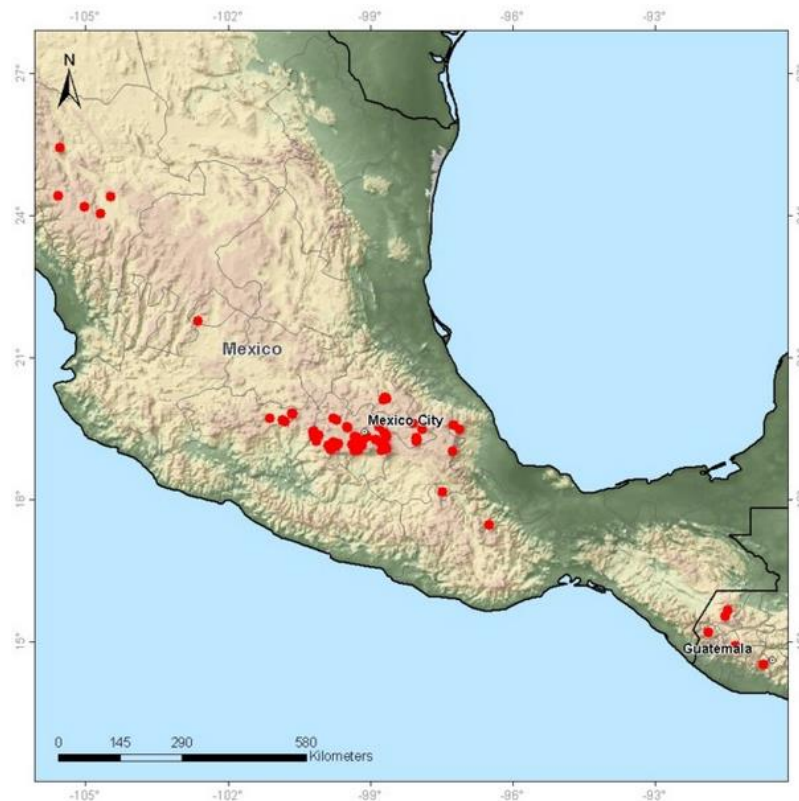


**Obrázek 1 – Oblast rozšíření druhu *S. berthaultii***

Na obrázku 1 je vidět, že se druh *S. berthaultii* vyskytuje v horských oblastech Bolívie (Wild Potato Species Atlas 1, cit 13. 4. 2015).

### ***Solanum demissum***

Tento druh je pěstován především v centrální části Mexika a na západě Guatemaly v nadmořské výšce 2650 – 3800 m. Nejčastěji roste v borovicových a cypřišových lesích. Výjimečná nejsou ani stanoviště mezi keři, poblíž rostlin agáve a v hromadách kamenů, kde je zajištěn podíl organické půdní hmoty. Hojně rozvětvená rostlina dorůstá výšky až 60 cm a její listy jsou šedavě zelené a značně ochlupené. Hlízy jsou většinou malé, různého tvaru, zploštělé a průměrně 6 cm dlouhé s bílou a křehkou dužninou. Květy jasně fialové až nachové barvy kvetou od července do října. Druh je rezistentní proti plísni bramborové, virovým a bakteriálním chorobám. Nezanedbatelná je odolnost proti mandelince bramborové a mrazu. VÚB Havlíčkův Brod uchovává *S. demissum* v genové bance *in vitro* v jedenácti genotypch (Švecová, 2012).



Obrázek 2 – Oblast rozšíření druhu *S. demissum*

Oblasti, kde je pěstován druh *S. demissum* zachycuje obrázek 2. Na mapě jsou červenými body vyznačeny oblasti centrální části Mexika a západní části Guatemaly (Wild Potato Species Atlas 2, cit 14. 4. 2015).

### ***Solanum goniocalyx* (Juz. and Bukasov)**

Hlízy se vyznačují světle hnědou slupkou, žlutou dužninou a oválným tvarem. Je pěstován v severním Peru a střední Bolívii. Literatura uvádí i název *Solanum stenotomum* subs. *goniocalyx*, neboť se od tohoto druhu odloučil (Lisinska, Leszczyński, 1989).

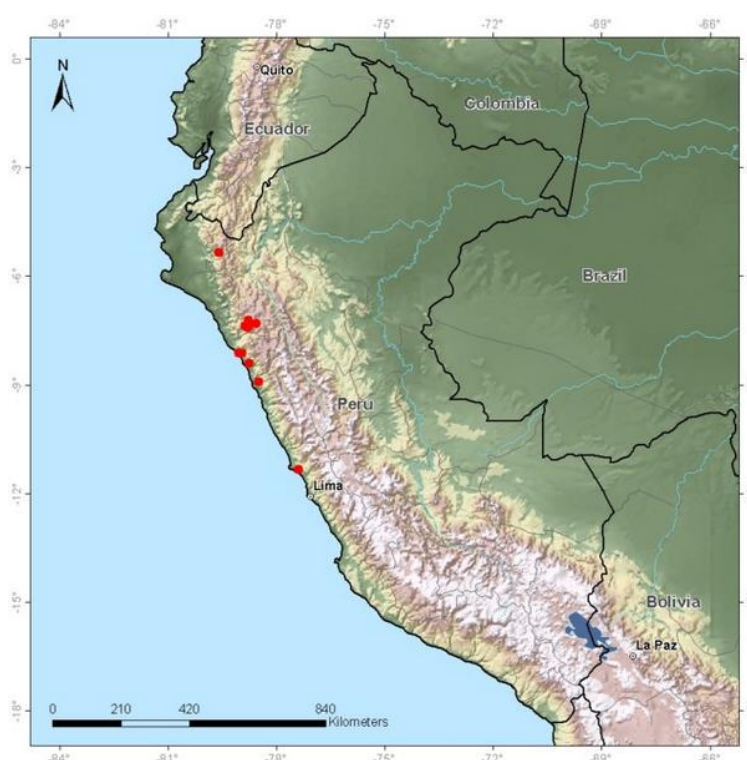
### ***Solanum mochiquense***

Tento druh se vyskytuje trvale v Peru na dvou odlišných místech. Nejčastěji se vyskytuje v severním Peru, a to v kopcích s písčitými půdami v nadmořských výškách mezi 350 – 550 m. Může se vyskytovat i ve skalnatých pobřežních horských oblastech severního Peru, kde rostou převážně kaktusy a akácie, zejména na západních svazích v nadmořských výškách mezi 2400 – 2600 m. U tohoto druhu byly zjištěny rezistence vůči virovým, bakteriálním (*Erwinia carotovora*)

i plísňovým (*Synchytrium endobioticum*) chorobám. Uváděna je i odolnost proti škůdcům (Ochoa, 2004):

- pidikřískům rodu *Empoasca*,
- dřepčíkům rodu *Epitrix*,
- háďátku rodu *Meloidogyne*.

Rozšíření druhu *Solanum mochiquense* ukazuje obrázek 3 s červeně označenými místy výskytu (Wild Potato Species Atlas 3, cit. 15. 4. 2015). Z mapy je patrné, že *S. mochiquense* lze nalézt nejen v oblasti pobřeží, ale i v horských oblastech severního Peru.



Obrázek 3 – Oblast rozšíření druhu *S. mochiquense*

### ***Solanum phureja* (Juz. and Bukasov)**

Světle zelená rostlina *S. phureja* dosahuje výšky 40 – 50 cm a bývá hojně rozvětvená. Vyznačuje se rychlým růstem a fialovými květy. Hlízy jsou oválného až podlouhlého tvaru s typickým výrazným fialovo-červeným vzhledem (pigmentace daná obsahem rostlinného barviva antokyanu) se žlutými oky nepravidelného tvaru. Toto zbarvení není pouze povrchové, ale prostupuje celou hlízu. Nejčastěji roste ve vlhkých lesích a mezi keři na východních úbočích andských hor v nadmořských

výškách 2000 – 3000 m. Pěstuje se v Bolívii, Peru, Ekvádoru, Kolumbii a Venezuele.

Jak uvádí literatura, *S. phureja* sdílí mnoho znaků se třemi volně rostoucími druhy: *S. neovavilovii*, *S. limbaniense* a *S. candolleanum*, které se pravděpodobně podílely na vzniku tohoto druhu.

Zvláštností tohoto druhu je absence dormance. Hlíza po dokončení vývoje nepotřebuje dobu odpočinku a hned může klíčit. Toho je využíváno v oblastech mírného podnebí k opětovnému zasazení. Odrůda je rezistentní proti plísni bramborové (*Phytophthora infestans*), virům (PLVR, PLY) i mokré bakteriální hnilobě brambor (*Erwinia carotovora*) (Ochoa, 1990; Correll, 1962).

### ***Solanum stenotomum* (Juz. and Bukasov)**

Druh *S. stenotomum* se pěstuje ve vysokohorských oblastech střední Bolívie a v severním Peru. Tento druh byl vyšlechtěn z původního diploidního planého druhu *S. leptophyes*, který se běžně vyskytuje ve stejných oblastech. Hlízy se vyznačují hnědou slupkou, žlutou dužninou a oválným tvarem (Lisinska, Leszczyński, 1989).

### ***Solanum incamayoense***

Je popisován jako nově divoce rostoucí druh, který je morfologicky příbuzný s druhem *S. gourlayi*, od kterého se liší tvarem, velikostí, barvou a typem růstu. Tento divoký druh je diploidní. Rostlina je asi 30 cm vysoká, hlíza je kulatá, malá, řádově 2 cm v průměru (Okada, Clausen, 1983).

### ***Solanum chaucha* (Juz. and Bukasov)**

*S. chaucha* je hybrid mezi dvěma vyšlechtěnými druhy pitiquiña a andigena (*Solanum stenotomum* a *Solanum andigenum*). Tento druh je široce rozšířen od Kolumbie až po severozápad Argentiny. Hlíza klíčí velmi brzy a neprobíhá období dormance. Jako triploidní rostlina nevytváří žádná semena a množí se pouze vegetativně. Nové genotypy vznikají pouze zřídka, a to výhradně pomocí přirozené mutace na poli (National Research Council, 1989).



## 3.2 Kulturní druhy brambor

### ***Solanum tuberosum*, odrůda Desirée**

Desirée je žlutomasou odrůdou s červenou slupkou a oválnými hlízkami. Jedná se o polopozdní až pozdní odrůdu varného typu BC. Lze ji využít nejen k přímému konzumu, ale i pro další zpracování na smažené výrobky. Je náchylná ke strupovitosti, virovým chorobám i napadení hádčátkem bramborovým (patotyp Ro 1). Odolná je proti rakovině brambor (patotyp 1). Doporučuje se k pěstování na písčitéch půdách dobře zásobených humusem. V České republice byla registrována v roce 1989, udržovatelem je HZPC Holland B. V., Joure, NL zastoupena v ČR společností MEDIPO AGRAS H. B., spol. s r. o. Havlíčkův Brod. Rodičovská kombinace je Urgenta x Depesche (Katalog brambor, cit. 26. 2. 2015; Čermák, 2009).

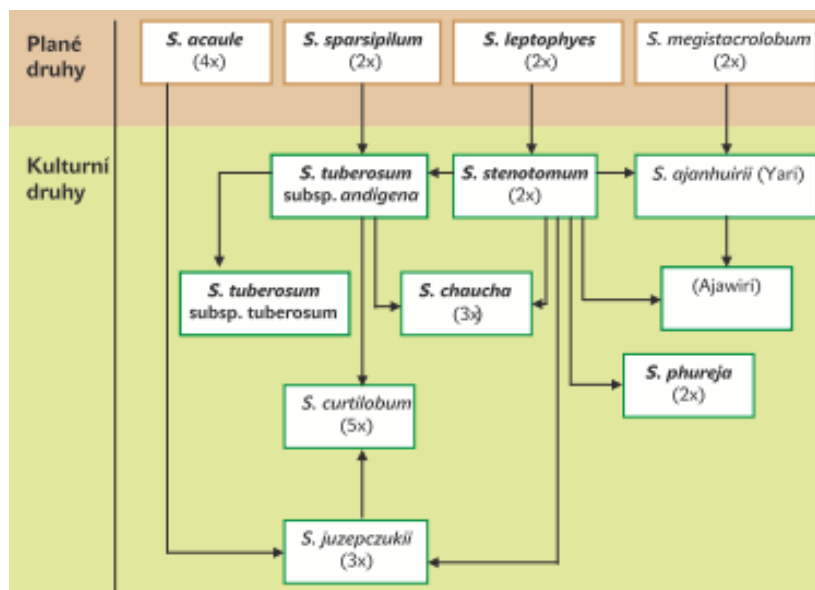
### ***Solanum tuberosum*, odrůda Kuras**

Odrůda Kuras se vyznačuje bílou barvou dužniny, žlutou slupkou a středně velkými kulovitými až oválnými hlízkami. Kuras je polopozdní až pozdní průmyslová odrůda s vysokou škrobnatostí. Je rezistentní vůči hádčátku bramborovému, rakovině, plísni a hnilobám. Náchylná je k mechanickému poškození. V České republice byla registrována v roce 1999, Udržovatel: Agrico B. A., Emmeloord, NL a zástupcem pro ČR je Agrico Bohemia s.r.o., Tábor. Rodičovská kombinace: PG 285 x AV 69-491 (Katalog brambor, cit. 26. 2. 2015).

### ***Solanum tuberosum*, odrůda Superior**

Superior je odrůdou, již charakterizují středně velké hlízy bílé barvy a kulovitého až oválného tvaru s bíložlutou slupkou. Tato raná odrůda pochází ze Spojených států amerických. Je rezistentní vůči vybraným houbovým, virovým i bakteriálním chorobám. Rostlina je střední velikosti s matně zelenými listy a světle růžovými květy. Hlízy jsou citlivé na tlak a není vhodné je skladovat na volně ložených hromadách, jinak dochází k drcení spodních vrstev hlízk (Odrůda Superior, cit. 20. 2. 2015, Superior (*Solanum tuberosum*), cit. 21. 2. 2015).

Vzájemné evoluční vztahy mezi kulturními a planými druhy bramboru hlíznatého znázorňuje obrázek 4 převzatý od Hawkes (1990).



Obrázek 4 – Evoluční vztahy kulturních druhů brambor

Jak je z obrázku patrné, z planého diploidního druhu *Solanum sparsipilum* (2n) vznikl tetraploidní kulturní druh *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* (4n), z něho dále i triploidní kulturní druh *Solanum chaucha* (3n). I z planého diploidního druhu *Solanum leptophyes* (2n) vznikl kulturní druh, a to *Solanum stenotomum* (2n), ze kterého se následně vyvinul diploidní kulturní druh *Solanum phureja* (2n). Zvýrazněné druhy jsou dlouhodobě uchovávány v genové bance *in vitro* VÚB Havlíčkův Brod, s. r. o. (Biologická charakteristika bramboru, cit. 14. 4. 2015).

## 4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ BRAMBOROVÉ HLÍZY

Složení bramborové hlízy je ovlivněno nejen odrůdou, klimatickými, půdními a skladovacími podmínkami, ale i hnojením, použitou agrotechnikou a dalšími nezanedbatelnými faktory (Ošťádalová, Pokorná, 2014). Z chemického pohledu je složení hlízy popisováno jako množství sloučenin a jejich komplexů, které nejsou rozmístěny rovnoměrně (Hruška et al., 1974).

Hlavní složku hlízy tvoří voda, jejíž množství kolísá v rozmezí 70 – 80 i více % čerstvé hmoty a zajišťuje významné metabolické funkce (biosyntézu organických sloučenin, dopravu asimilátů a metabolitů, teplotní regulaci). Voda se v hlíze vyskytuje ve formě volné, vázané a hydratační (Prugar et al., 2008; Hrabě, Komár, 2003).

Druhou nejvýznamnější složkou je sušina, která se pohybuje v rozmezí 16 – 32 % čerstvé hmoty. Sušina je ovlivněna následujícími faktory:

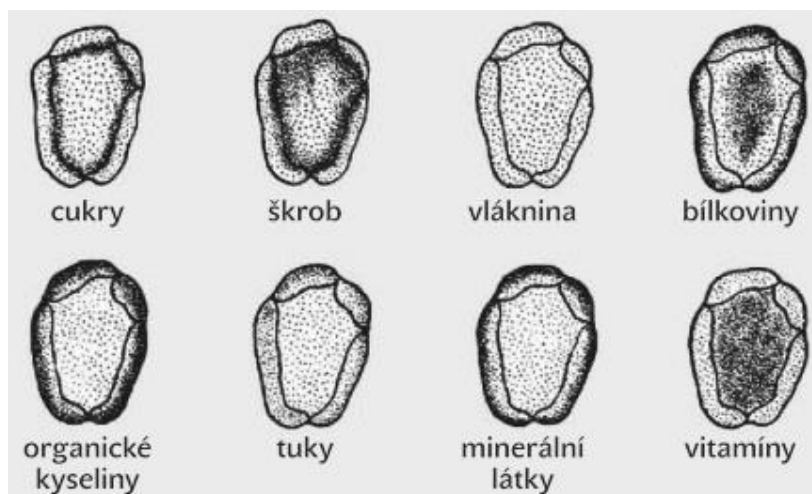
- odrůdou (81,58 %),
- prostředím (10,85 %),
- interakcemi mezi odrůdou a prostředím (7,30 %) (Rybáček et al., 1988).

Následující tabulka 1 uvádí zastoupení jednotlivých složek sušiny (Rybáček et al., 1988; Bárta, 2002).

**Tabulka 1 – Základní složení hlíz bramboru**

<b>Složka (látka)</b>	<b>Obsah v sušině [%]</b>
Škrob	67,2
Dusíkaté látky	9,1
Bílkoviny	4,5
Cukry	2,3
Vláknina	9,1
Ostatní organické látky	2,3
Celkový tuk	0,5
Popeloviny	5,0

Nejlépe rozložení hlavních látek v bramborové hlíze znázorňuje obrázek 5 převzatý od Rybáčka et al. (1988).



Obrázek 5 – Rozložení jednotlivých typů látek v bramborové hlíze

#### 4.1 Hlízové proteiny brambor

Vzhledem k tomu, že bílkovina není v hlíze brambory homogenní složkou, je další způsob klasifikace dílčích bílkovinných složek v literatuře různorodý, a to zejména dle typu analýzy. Starší literatura uvádí klasifikaci složek podle propustnosti, novější již vycházejí z analýz elektroforetických technik (PAGE, SGE, IEF, 2D-PAGE).

Jednou z nejvýznamnějších novějších metod analýzy je metoda SDS-PAGE, elektroforéza na polyakrylamidovém gelu v přítomnosti detergentu dodecylsulfátu sodného. Popis této metody je uveden v podkapitole 6.1.

Pots (1999a), který aplikoval metodu SDS-PAGE a získal rozdílná spektra, určil tři základní skupiny bílkovin:

- patatin (patatinový komplex, patatinové proteiny),
- inhibitory proteáz,
- ostatní proteiny.

## 4.2 Patatin

„Patatin je skupina imunologicky identických glykoproteinů s molekulovou hmotností monomeru v rozmezí 40 – 43 kDa“ (Bárta, Bártová, 2008).

Pots (1999b) rozdělil chromatografickou separací patatin na isoformy, které zařadil do čtyř skupin označených A, B, C, D. Největší podíl tvoří isoforma A (62 %), následuje isoforma B (26 %). V menší míře jsou zastoupeny isoforma C (5 %) a isoforma D (7 %). Doposud tyto isoformy nikdo blíže nezkoumal, a proto je jejich funkce neznámá.

Jak uvádí Prugar et al. (2008) patatinové proteiny obvykle tvoří 20 – 40 % hlízových bílkovin, jež se považují za hlavní zásobní proteiny jednotlivých hlíz. Vykazují však aktivitu více enzymů, zvláště nespecifické lipid-acyl-hydrolasy pro různé substráty.

Za normálních podmínek se patatin ve významném množství vyskytuje pouze v hlízách, kde je lokalizován v centrálních vakuolách parenchymatických buněk. Listy, stonky a kořeny za uvedených podmínek obsahují stopové množství této látky (Shewry, 2003). Tento bílkovinný komplex je zřejmě přítomný ve všech odrůdách brambor, a také pravděpodobně v příbuzných diploidech ze skupiny *Andigena* a *Phureja* (Lee et al., 1983).

Hodnota isoelektrického bodu bílkovin patatinového komplexu se nachází v rozpětí pH 4,6 až 5,2 (Pots, 1999a).

Bílkoviny v hlízách brambor, zejména bílkoviny patatinového komplexu, mohou být díky svým vlastnostem velmi cenné v potravinářském, farmaceutickém či kosmetickém průmyslu. Často průmyslově používaná vlastnost patatinových bílkovin je schopnost tvorby a stabilizace pěn a emulzí (Ratel, Gueguen, 2000; Partsia, Kiosseoglou, 2001; Koningsveld et al., 2002).

Další velmi významnou schopností je enzymová aktivita patatinových bílkovin. Jde zejména o využití lipolitické aktivity (LAH aktivita) patatinu v tvorbě emulzí a pro syntézu monoacylglycerolů (Bárta, Bártová, 2007; Macrae et al., 1998).

## 4.3 Antioxidační látky v bramboru hlíznatém

Termínem antioxidanty jsou označovány látky, jejichž molekuly omezují aktivitu volných radikálů, snižují pravděpodobnost jejich vzniku nebo je převádějí na

méně reaktivní či zcela nereaktivní stavy. Antioxidanty regulují oxidační pochody v organismech nebo směsích, ve kterých se vyskytují (Kopřiva, et al. 2012).

Antioxidanty se podílejí na dalších procesech v lidském těle a v současnosti jsou považovány za jeden z důležitých faktorů z pohledu lidského zdraví. Hlíza brambor představuje zdroj několika významných antioxidantů (Antioxidanty, cit. 29. 3. 2015), které jsou uvedeny v následujících odstavcích.

### **Patatin**

Patatin disponuje významnou antioxidační aktivitou, kterou předčí pouze aktivita kyseliny askorbové (Al-Saikhan et al., 1995).

Antioxidativní funkce patatinu a jeho chemických modifikací se obecně vyvozují ze zbytků cysteinu a tryptofanu v řetězci patatinu, které se podílejí na aktivitě vůči volným radikálům (Bárta, Bártová, 2007).

### **Karotenoidy**

Vyskytují se ve větší koncentraci ve slupce a v menší koncentraci v dužnině u všech odrůd brambor. Odrůdy s bílou dužninou obsahují 50 – 100 µg karotenoidů ve 100 g čerstvé hmoty, naopak odrůdy se sytě žlutou dužninou obsahují až 2000 µg karotenoidů ve 100 g čerstvé hmoty (Prugar et al., 2008; Brown, 2005). Mezi hlavní karotenoidy obsažené v hlízách se řadí: lutein (0,12 - 0,60 mg/kg), zeaxanthin (0,04 mg/kg), violaxanthin (8 – 244 µg/100 g), α-karoten a β-karoten ve stopovém množství. Obsah karotenoidů záleží na odrůdě; skladování snižuje obsah nepatrně (Antioxidanty, cit. 29. 3. 2015; Iwanzik et al., 1983).

### **Fenolové látky**

V bramborových hlízách je z fenolových látek zastoupena kyselina chlorogenová a její deriváty, která tvoří až 90 % celkového obsahu. Dále pak kyselina kávová a aminokyselina tyrosin (Prugar et al., 2008).

### **Vitamíny**

Hlízy jsou zdrojem vitamínu C (kyselina L-askorbová), jehož průměrné množství se pohybuje v rozmezí 10 – 30 mg ve 100 g čerstvé hmoty. To může odpovídat až za 13 % antioxidační kapacity (Brown, 2005). Nezanedbatelný je

i obsah vitamínů řady B: B<sub>1</sub> thiamin (0,1 mg/100 g), B<sub>2</sub> riboflavin (0,03 mg/100 g), B<sub>3</sub> niacin (1,1 mg/100 g), B<sub>5</sub> kyselina pantotenová (0,3 mg/100 g), B<sub>6</sub> pyridoxin (0,2 mg/100 g), B<sub>9</sub> kyselina listová (0,018 mg/100 g). Brambory obsahují i vitamíny rozpustné v tucích: vitamín K (0,0029 mg/100 g), vitamín E (tokoferol) a provitamíny A (Vitamíny, cit. 29. 3. 2015).

### **Minerální látky a stopové prvky**

Minerální látky jsou v bramborové hlíze rozloženy nerovnoměrně a jejich průměrný obsah tvoří 1,1 %. Nejvýznamnější je obsah draslíku, který v průměru představuje 0,45 % čerstvé hmoty. Ve slupce a vaskulárním systému se nachází vápník (10 – 130 mg/100 g sušiny), který se účastní metabolických pochodů nezbytných pro tvorbu a zpevňování podpůrné tkáně. Hořčík (0,5–8 mg/100 g sušiny) je spojen s fotosyntézou, syntézou bílkovin a je jím aktivována DNA–polymeráza. Mezi další minerální látky patří: fosfor (78,0 mg/100 g sušiny), sodík (0 – 330 mg/100 g sušiny) a síra (40 – 400 mg/100 g sušiny).

Obsah stopových prvků v hlízách je relativně nízký, přesto jsou významné pro lidský organismus a jejich nedostatek či nadbytek může vyvolat celou řadu nemocí. Významný je selen (0,5 mg/100 g), který ovlivňuje metabolismus a toxicitu mnoha chemikálií i léků a chrání před oxidativním poškozením tkání a buněk. Bramborová hlíza obsahuje mimo selen i měď (0,1 mg/100 g), železo (0,5 mg/100 g), mangan (0,1 mg/100 g) a zinek (0,5 mg/100 g) (Prugar et al., 2008; Minerální látky, cit. 2. 4. 2015).

### **Antokyany**

Antokyany jsou obsaženy zvláště v červeně, fialově a modře zbarvených slupkách a dužnině hlíz. Jde o přírodní pigmenty rozpustné ve vodě, které se podílí na barvě plodů, květů a kořenů. Bylo prokázáno, že chrání lidský organismus proti oxidantům, volným radikálům a vyšším hladinám LDL cholesterolu. Obsah antokyanů je odhadován na 20 – 400 mg/kg čerstvé hmotnosti hlíz (Lachman et al., 2009; Antioxidanty, cit. 29. 3. 2015).

## **Flavonoidy**

U flavonoidů, které se řadí mezi polyfenolické sloučeniny, bylo zjištěno, že mají schopnost zachycovat volné radikály mastných kyselin i reaktivní formy kyslíku, které mohou svým působením poškodit buňky lidského organismu (Lachman et al., 2005).

Lewis (1998) uvádí, že v 1 kg čerstvé hmoty brambor může být koncentrace až 30 mg flavonoidů. V hlízách se žlutou až oranžovou dužninou může být množství flavonoidů až dvojnásobné. Významný je jejich protizánětlivý i protisklerotický účinek a rovněž snižují riziko vzniku rakoviny.

## **Alfa-lipoová kyselina**

Alfa-lipoová kyselina je známá, jako tzv. „růstový faktor brambor“. Organismus ji přeměňuje v dihydrolipoovou kyselinu, což z ní dělá velmi silný antioxidant. Svým působením v organismu reguluje využití glukózy, odstraňuje toxické kovy a zpomaluje stárnutí. Další významnou vlastností je schopnost regenerovat ostatní antioxidanty včetně vitamínu C, vitamínu E a glutationu (Fořt, 2002; Passwater, 2002).



## 5 CÍLE PRÁCE

1. Výběr a příprava lyofilizovaných vzorků a jejich extrakce.
2. Provedení laboratorních analýz:
  - a. izolace a stanovení obsahu čistých hlízových proteinů
  - b. izolace a stanovení relativního obsahu patatinových proteinů s využitím elektroforetických technik
  - c. stanovení antioxidantního potenciálu sušiny hlíz a izolovaných bílkovin extrahovaných bílkovin
3. Statistické zpracování získaných dat, zpracování výsledků výpočetní technikou do podoby fotodokumentace, tabulek a grafů.

## 6 MATERIÁL A METODY

### 6.1 Obecný popis použitých metod

#### Elektroforetická analýza bílkovin (SDS-PAGE)

Metoda polyakrylamidové elektroforézy v přítomnosti detergentu dodecylsírany sodného (SDS-PAGE) patří mezi nejpoužívanější separační techniky. Pomocí této metody lze analyzovat nukleové kyseliny a proteiny. Jako nosič se využívá gel tvořený polyakrylamidem, který obsahuje složitou síť polymerních molekul s póry, jimiž se pohybují molekuly.

SDS je anionaktivní detergent, který poskytuje poměrně vysoký náboj, a proto ve vazbě na bílkovinu vyrovnává nábojové rozdíly bílkovin. Všechny bílkoviny váží SDS v konstantním poměru cca 1,4 g SDS na 1 g bílkoviny. Vzniklé komplexy pak mají stejnou hodnotu povrchového náboje a relativní molekulová hmotnost bílkoviny odpovídá velikosti jejího komplexu s SDS. Rychlost pohybu molekul je proto přímo závislá na velikosti molekul a energii pro pohyb dodává stejnosměrný elektrický proud.

Pro odhad velikosti molekul se aplikuje do jedné z jamek tzv. velikostní marker (hmotnostní standard) o definované velikosti jednotlivých fragmentů. Po nanesení proteinu do jamky v gelu a umístění gelu do elektrického pole dochází k přesunu proteinu od katody k anodě. Během tohoto pohybu se proteiny separují na principu molekulového síta v polyakrylamidovém gelu. Po odpojení gelu od elektrického pole a obarvení gelu se dá určit molekulová hmotnost, a to srovnáním délky migrace s velikostním markerem. Podle velikosti separovaných proteinů volíme koncentraci akrylamidů v gelu. Pro proteiny vysoké molekulové hmotnosti používáme nízké koncentrovaný akrylamid a pro proteiny o nízké molekulové hmotnosti volíme akrylamid vysoce koncentrovaný (Gelová elektroforéza, cit. 10. 4. 2015; SDS PAGE, cit. 10. 4. 2015).

#### Bicinchoninová analýza (BCA analýza)

Analýza využívá kyseliny bicinchoninové (BCA) ke spektrofotometrickému stanovení celkových proteinů. Je založena na alkalické redukci měďnatého iontu na měďnatý protein a následného stabilizování měďnatého iontu kyselinou bicinchoninovou za vzniku červeného zbarvení. Nejčastěji používaný protein ke

standardizaci je hovězí sérový albumin (BSA – bovine serum albumin) v koncentraci 2 mg na 1 ml. Bílkovinný standard je buď součástí analytického kitu, nebo jej lze připravit přesným odvážením 100 mg BSA (Sigma-Aldrich Corp.) a rozpuštěním navážky v 50 ml destilované vody. Ředěním BSA na požadovanou koncentraci proteinů je získána kalibrační křivka. Pro kalibraci spektrofotometru se používá destilovaná voda. Po naměření absorbancí na spektrofotometru se naměřené hodnoty vkládají do kalibrační křivky a z té je možné získat hodnotu celkového proteinu. Bicinchoninová metoda je velmi citlivá na podmínky provedení, např.: na době a teplotě inkubace, charakteru proteinu použitého k standardizaci, atd. (Bárta et al., 2008; Káš et al., 2006).

### **Metoda ABTS**

Antioxidační kapacitu lze měřit pomocí chemických metod, mezi které řadíme i metodu ABTS, která byla použita v této diplomové práci. Metoda je založena na eliminaci syntetických stabilních radikálů a využívá schopnost antioxidantů zhaset radikálový kationt  $ABTS^{+\bullet}$  (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin)-6-sulfonát). Základem metody je generování radikálového kationtu  $ABTS^{+\bullet}$ , ke kterému se může využít peroxodisíran draselný,  $MnO_2$ , AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan)dichlorid) nebo systém  $H_2O_2$  /peroxidasa (Fidler, Kolářová, 2009).

## **6.2 Příprava materiálu**

### **Příprava lyofilizovaného hlízového materiálu**

Z hlíz analyzovaných genotypů, které byly dodány z genové banky VÚB v Havlíčkově Brodě, byly odděleny tenké plátky. Proces dehydratace těchto plátek byl proveden lyofilizací na přístroji ALPHA 1-4 (Martin Christ, Osterode am Harz, SRN) za teploty  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  a tlaku 40 mBar, po dobu cca 48 hodin. Lyofilizovaná sušina hlíz byla zhomogenizována v laboratorním mlýnu. Hlízová sušina byla následně použita pro analýzu obsahu čistých bílkovin, SDS-PAGE charakterizace hlízových bílkovin a stanovení antioxidační hodnoty.

Tabulka 2 uvádí seznam vybraných odrůd rodu *Solanum* a jejich kódy genotypů dle genové banky Evigez.

**Tabulka 2 – Seznam genotypů analyzovaných v diplomové práci**

<b>Druh a genotyp druhu</b>	<b>Označení genotypu dle Evigez</b>
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Desirée, 07S0100243
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Kuras, 07S0101763
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Superior, 07S0101201
<i>Solanum berthaultii</i> HAWKES	07S0300031
<i>Solanum demissum</i> LINDL.	07S0300301
<i>Solanum goniocalyx</i> JUZ. et BUK.	Garhuas Huayro, 07S0300109
<i>Solanum goniocalyx</i> JUZ. et BUK	07S0300007
<i>Solanum goniocalyx</i> JUZ. et BUK	07S0300306
<i>Solanum phureja</i> JUZ. et BUK.	Griola Negra, 07S03000136
<i>Solanum phureja</i> JUZ. et BUK.	K 10/3, 07S0300182
<i>Solanum stenotomum</i> JUZ. et BUK.	07S0300011
<i>Solanum stenotomum</i> JUZ. et BUK.	K 6-2, 07S0300241
<i>Solanum stenotomum</i> JUZ. et BUK.	AD2-1, 07S0300001
<i>Solanum incamayoense</i> K. A. OKADA et A. M. CLAUSEN	07S0300046
<i>Solanum andigena</i> JUZ. et BUK.	Santanlala, 07S0300073
<i>Solanum andigena</i> JUZ. et BUK.	07S0300067
<i>Solanum andigena</i> JUZ. et BUK.	07S0300102
<i>Solanum x chaucha</i> JUZ. et BUK.	K1-1, 07S0300015
<i>Solanum x chaucha</i> JUZ. et BUK.	K 1/10, 07S0300134
<i>Solanum x chaucha</i> JUZ. et BUK.	K 1/2, 07S0300127
<i>Solanum mochiquense</i> OCHOA	07S0300050

### **Příprava izolátu hlízových proteinů**

Do centrifugační tuby byly naváženy 2 g lyofilizované hlízové mouky, která byla následně promíchána s 20 ml dH<sub>2</sub>O. Extrakce probíhala po dobu 1 hodiny při 4°C. Po centrifugaci (3600 g, 15 min., 4°C) byl získán čirý supernatant s rozpuštěným podílem hlízových proteinů. K vysrážení hlízových proteinů bylo

použito 15,1 g síranu amonného (100% saturace roztoku) – vysrážený podíl hlízových bílkovin byl opakovaně promyt 100% roztokem síranu amonného pro odstranění nebílkovinných složek ve sraženině. Takto připravený koncentrát hlízových proteinů byl odsolen s využitím kolony s náplní SEPHADEX (tm) G – 25 (princip gelové filtrace). Proteinové izoláty jednotlivých genotypů byly následně použity pro analýzu obsahu čistých bílkovin, SDS-PAGE charakterizaci hlízových proteinů, detekci patatinových proteinů a stanovení antioxidační hodnoty.

## **Extrakce proteinů**

### **a) denaturační extrakce proteinů ze sušiny hlíz**

50 mg hlízové mouky bylo naváženo do mikrocentrifugační tuby (1,5 ml) a promícháno s 500  $\mu$ l extrakčního pufru (0,0625 M Tris-HCl, pH 6,8, 5% 2-merkptoethanol, 2% SDS). Proteiny byly extrahovány po dobu 3 hodin při teplotě 4°C. Po centrifugaci (při 14000 g; 3 min.) byl čirý supernatant (100  $\mu$ l) přenesen do nové mikrocentrifugační zkumavky s 20  $\mu$ l nanášecího pufru (5 x NP: 5 ml 1,25 M Tris-HCl, pH 6,8, 2,3 g SDS, 10 ml glycerol, 5 mg Bromophenol Blue; k 500  $\mu$ l pufru se těsně před použitím přidalo 170  $\mu$ l 2-merkptoethanolu). Před nanesením na gel v množství 10  $\mu$ l byly vzorky 3 minuty vařeny ve vodní lázni.

### **b) denaturační extrakce proteinů z izolátu získaného pomocí presíranu amonného**

Celkový objem odsoleného proteinového izolátu byl rozpuštěn v 1 ml dH<sub>2</sub>O, z čehož supernatant o objemu 100  $\mu$ l byl přenesen do nové mikrocentrifugační zkumavky s 20  $\mu$ l nanášecího pufru (5 x NP: 5 ml 1,25 M Tris-HCl, pH 6,8, 2,3 g SDS, 10 ml glycerol, 5 mg Bromophenol Blue; k 500  $\mu$ l pufru se těsně před použitím přidalo 170 $\mu$ l 2-merkptoethanolu). Před nanesením na gel v množství 10  $\mu$ l byly vzorky 3 minuty vařeny ve vodní lázni.

### **Stanovení obsahu čistých proteinů v sušině hlízové mouky a v proteinovém izolátu**

Celkový čistý protein byl extrahován z lyofilizované a homogenizované bramborové mouky pomocí SDS extrakčního pufru (0,0625 M Tris-HCl, pH 6,8; 2%

SDS) bez přítomnosti redukujícího 2-merkptoethanolu. Ke 100 mg lyofilizované bramborové mouky byl přidán 1 ml výše uvedeného SDS extrakčního pufru. Extrakce probíhala 4 hodiny při teplotě 4 °C. Po centrifugaci (9 000 g; 10 min.; 4 °C) bylo odebráno 500 µl supernatantu a vzorky byly pro zastavení enzymové aktivity uvařeny (2 min., 100 °C).

Lyofilizovaný izolát byl rozpuštěn v objemu 1 ml dH<sub>2</sub>O; následně byl čirý supernatant (100 µl) přenesen do nové mikrocentrifugační zkumavky a 100x naředěn dH<sub>2</sub>O. Analýza obsahu čistých bílkovin byla provedena spektrofotometricky (BioMate 5, ThermoElectron, UK) prostřednictvím BCA Protein Assay (analytický kit firmy Pierce, USA) při vlnové délce 405 nm a dle pokynů výrobce (Bárta et al., 2008).

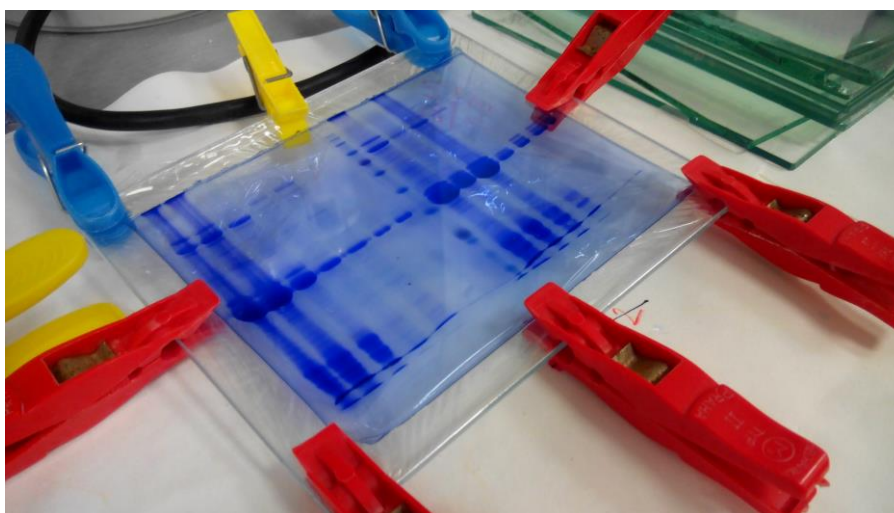
### **Elektroforetická analýza bílkovin (SDS-PAGE)**

Byla použita diskontinuální desková denaturační elektroforéza na polyakrylamidovém gelu (SE 600, Hoefer, USA) - 4% zaostřovací gel (0,125 M Tris-HCl, pH 6,8 + SDS) a 10% separační gel (0,375 M Tris-HCl, pH 8,8 + SDS) v prostředí 0,025 M Tris + 0,192 M glycine (pH 8,3) + SDS (Hames, Rickwood, 1987). Podrobné složení gelových systémů a elektrodového pufru je uvedeno níže v tabulce 3.

Tabulka 3 – Složení roztoků pro diskontinuální SDS-PAGE (denaturační systém)

komponenta	jednotka	separační gel (10 %)	zaostřovací gel (3,75 %)
redestilovaná voda	ml	21	12,15
AC/BIS	ml	13,3	2,5
pufr A	ml	5	-
pufr B	ml	-	5
SDS	μl	400	200
siřičitan sodný	μl	110	50
persíran amonný	μl	200	150
TEMED	μl	20	20
<b>POZNÁMKY:</b>			
AC/BIS:	30 g akrylamid + 0,8 g BIS / 100 ml		
pufr A:	36,3 g Tris (Trizma), 48 ml 1 M HCl, pH 8,8 / 100 ml		
pufr B:	6 g Tris (Trizma), 48 ml 1 M HCl, pH 6,8 / 100 ml		
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> :	nasycený vodný roztok		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> :	15 % roztok		
SDS	10 % roztok		
elektrodotový pufr 1:	14,4 g glycin, 3 g Tris (Trizma), pH 8,3 / 1000 ml		
elektrodotový pufr 2:	144 g glycin, 30,3 g Tris (Trizma), 10 g SDS, pH 8,3 / 1000 ml		
AC/BIS	uchovávat ve tmě a v chladnu, roztok stálý cca 3 týdny		
gelové pufry	uchovávat ve tmě a v chladnu, stálé		
persíran amonný	lze uchovávat ve tmě a v chladnu 1 týden		
SDS	uchovávat ve tmě asi jeden měsíc		
elektrodotový pufr 1	připravovat před použitím		
elektrodotový pufr 2	připravovat jako 10 x koncentrovaný roztok, uchovávat ve tmě a v chladnu		
elektrodotový pufr 1	esterázy, nativní bílkoviny		
elektrodotový pufr 2	SDS-bílkoviny (pro stanovení BPK)		

Separace probíhala při proudu 40 mA na gel, napětí 200 V a při teplotě 4 °C po dobu 4 – 5 hod (1 cm od spodního okraje gelu). Po proběhlé elektroforetické separaci byla provedena detekce proteinů barvením gelů v roztoku Coomassie Brilliant Blue přes noc (směs methanol: ledová kyselina octová: voda v poměru 5:1:4 + 0,1% Coomassie Brilliant Blue R-250). Po detekci bylo odbarveno nespecifické pozadí (použita směs ethanol: kyselina octová: voda v poměru 2,5:1:16,5; s výměnou během odbarvení 2 x – 3 x) a provedena fixace a dehydratace ve směsi 45% ethanolu + 3% glycerolu po dobu 2 – 3 hodin. Následně byly gely sušeny v celofánu na skle při laboratorní teplotě na vzduchu po 2 – 3 dny, což je zdokumentováno na obrázku 6 (Bártová et al., 2009).



Obrázek 6 – Sušení separačního gelu (foto: Petr Mejzlík)

### Stanovení antioxidační aktivity sušiny hlíz a proteinového izolátu

Pro měření antioxidační aktivity byla použita metoda využívající eliminaci syntetického radikálu ABTS. 54,9 mg ABTS bylo rozpuštěno ve 20 ml 0,5 mM fosfátového pufru (pH 7) a aktivováno kationtem radikálu ABTS přidáním 1 g MnO<sub>2</sub> za občasného míchání a doby aktivace 30 min. Následně byl roztok centrifugován (7000 g; 5 min.), zfiltrován přes stříkačkový filtr (PTFE 0,25 μm) a naředěn fosfátovým pufrem na absorbanci (t<sub>0</sub>) 0,800 ± 0,01. Absorbance roztoku byla měřena spektrofotometricky (BioMate 5, ThermoElectron, UK) při vlnové délce  $\lambda = 734$  nm. Antioxidační aktivita byla převedena dle kalibrační křivky standardu (askorbová kyselina, R<sup>2</sup> = -0,9940) (Šulc et al., 2007).



Využití spektrofotometru (BioMate 5) při měření absorbance vybraných vzorků zachycuje následující obrázek 7.



Obrázek 7 – Spektrofotometr BioMate 5 (foto: Petr Mejzlík)

### 6.3 Přístrojové a materiálové vybavení

Pro získání hlízového materiálu a jeho další zpracování v laboratoři byly využity následující přístroje a pomůcky: lyofilizační zařízení, laboratorní mlýnek, spektrofotometr, vertikální elektroforetický přístroj pro dva gely a jeho příslušenství, zdroj stejnosměrného proudu a napětí, ohřívací zařízení, lednice, kývací třepačka, chlazená odstředivka, mraznička, ohřívací zařízení s mícháním, předvážky a analytické váhy, pH metr, pipety, špičky, váženky a dózy, kádinky, odměrné válce, plastové kyvety o objemu 2,5 ml, plastové mikrozkuřavky a tuby.

Dále byly použity následující chemické látky: akrylamid, N,N-methylendiakrylamid (BIS), persíran amonný (amonium persulfát), N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED), tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIZMA), 2-merkaphthoethanol (BME), dodecylsulfát sodný (SDS), glycin, bromfenolová modř (bromphenol blue), glycerol, kyselina octová, kyselina chlorovodíková, coomassie brilliant blue R-250, metanol, etanol, siřičitan sodný, disiřičitan sodný, dodecylsírán sodný, trisma-base, uhličitan sodný, sodná sůl bicinchoninové kyseliny, tartrát sodný, hydrogenuhličitan sodný, hydroxid sodný, síran měďnatý, oxid manganičitý, dihydrogenfosforečnan draselný, hydrogenuhličitan disodný.

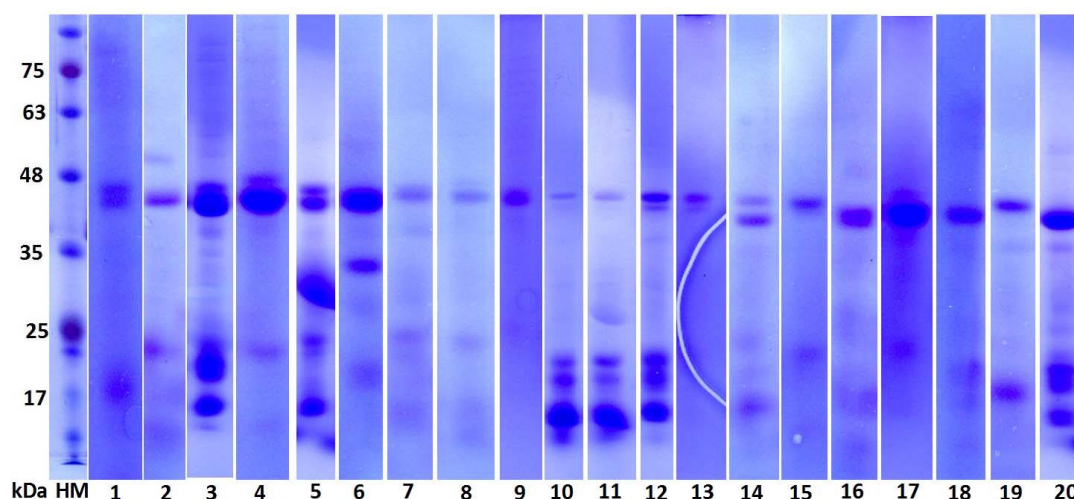
## **6.4 Statistické zpracování získaných údajů**

Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno pomocí softwaru STATISTICA 9 (StatSoft USA, 2009). Byly použity tyto analýzy: test ANOVA (na hladině významnosti  $\alpha = 0,5$ ), Tukey HSD test a analýza korelace. Výsledky z PAGE a SDS-PAGE byly vyhodnoceny v programu GelQuant.NET (BiochemLabSolution.com).

## 7 VÝSLEDKY A JEJICH ANALÝZA

Pomocí statistických metod popsanych v předchozí kapitole byly získány výsledky, které jsou shrnuty v této kapitole.

Byla provedena SDS-PAGE analýza celkového proteinu sušiny hlíz planých a kulturních genotypů brambor. Výsledek je zobrazen na obrázku 8.



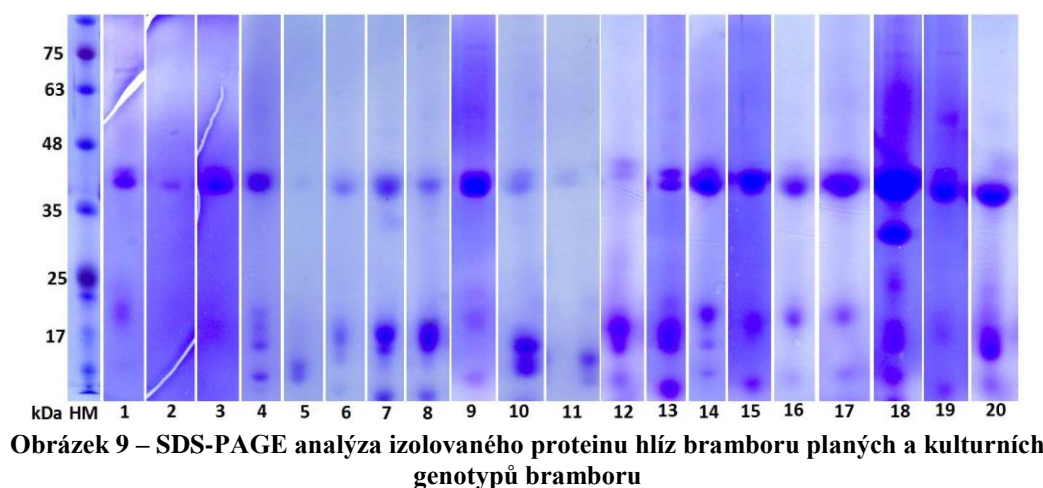
**Obrázek 8 – SDS-PAGE analýza celkového proteinu sušiny hlíz planých a kulturních genotypů bramboru**

HM – hmotnostní marker; 1-*S. tuberosum* Desirée, 2-*S. tuberosum* Kuras, 3-*S. tuberosum* Superior, 4-*S. andigena* 07S0300073, 5-*S. andigena* 07S0300067, 6-*S. andigena* 07S0300102, 7-*S. goniocalyx* 07S0300007, 8-*S. goniocalyx* 07S0300306, 9-*S. goniocalyx* 07S0300109, 10-*Solanum x chaucha* 07S0300134, 11-*Solanum x chaucha* 07S0300127, 12-*Solanum x chaucha* 07S0300015, 13-*S. phureja* 07S03000136, 14-*S. phureja* 07S0300182, 15-*S. stenotomum* 07S0300001, 16-*S. stenotomum* 07S0300241, 17-*S. stenotomum* 07S0300011, 18-*S. demissum* 07S0300301, 19-*S. berthaultii* 07S0300031, 20-*S. incamayoense*, 07S0300046

Obrázek zachycuje srovnání gelů po separaci proteinů z celé sušiny hlíz. Přibližně v oblasti kolem 45 kDa se nachází spektrum patatinových proteinů. Patatinové proteiny mají různou intenzitu (dle množství zachycené frakce). Nejvýraznější patatinovou část má *Solanum andigena* 07S0300073, patrně jsou zde slité dvě skupiny. Nejslabší patatinovou skupinu má *Solanum x chaucha* 07S0300127, kde je viditelná jenom jedna slabá a krátce separovaná skupina. Ze srovnávaných výsledků dále vyplývá, že patatinové bílkoviny mají rozdílný počet isoform. U *Solanum andigena* 07S0300073 jsou viditelné tři skupiny - jedna slabší nahoře a dvě skupiny, které se slily do jedné pod ní. U *Solanum berthaultii* 07S0300031 je jen jedna patatinová isoforma. Dále je možno vypořadovat různou

intenzitu mezi isoformami patatinových bílkovin. Zatímco u *Solanum x chaucha* 07S0300015 je první isoforma silnější a druhá slabší, tak u *Solanum phureja* 07S0300182 je tomu právě naopak. Navíc u tohoto vzorku je možno pozorovat větší vzdálenost mezi patatinovými isoformami. Kvalitu separace vzorků ovlivňuje řada faktorů, ať již příprava vzorků tak i barvení a následné odbarvování.

Obrázek 9 zachycuje analýzu SDS-PAGE izolovaného proteinu hlíz brambor planých a kulturních genotypů



HM – hmotnostní marker; 1-*S. tuberosum* Desirée, 2-*S. tuberosum* Kuras, 3-*S. tuberosum* Superior, 4-*S. andigena* 07S0300073, 5-*S. andigena* 07S0300067, 6-*S. andigena* 07S0300102, 7-*S. goniocalyx* 07S0300007, 8-*S. goniocalyx* 07S0300306, 9-*S. goniocalyx* 07S0300109, 10-*Solanum x chaucha* 07S0300134, 11-*Solanum x chaucha* 07S0300127, 12-*Solanum x chaucha* 07S0300015, 13-*S. phureja* 07S03000136, 14-*S. phureja* 07S0300182, 15-*S. stenotomum* 07S0300001, 16-*S. stenotomum* 07S0300241, 17-*S. stenotomum* 07S0300011, 18-*S. demissum* 07S0300301, 19-*S. berthaultii* 07S0300031, 20-*S. incamayoense*, 07S0300046

Na tomto obrázku jsou zachyceny gely, kde byl separován pouze čistý protein hlíz bramboru. Na snímku je patrné, že přes gel procházelo menší množství vzorku. Skupiny jsou výrazně užší, než na obrázku č. 8, kde byl separován celkový protein. I zde je možné nalézt rozdílnou intenzitu patatinových proteinů – např. u *Solanum tuberosum* Superior silná skupina a u *Solanum x chaucha* 07S0300127 je skupina jen slabě viditelná. Počet detekovaných isoform klesl na hodnotu 1 – 2 a síla patatinových isoform se u některých druhů téměř vyrovnala. Jak je možno vidět na obrázku 8 u *Solanum x chaucha* 07S0300015, první skupina je silnější a druhá slabší, ale u analýzy izolovaného proteinu je u obou skupin stejná.

V tabulce 4 jsou uvedeny plané a kulturní genotypy bramboru se zaznamenaným obsahem proteinů v sušině hlíz a její antioxidační aktivita.

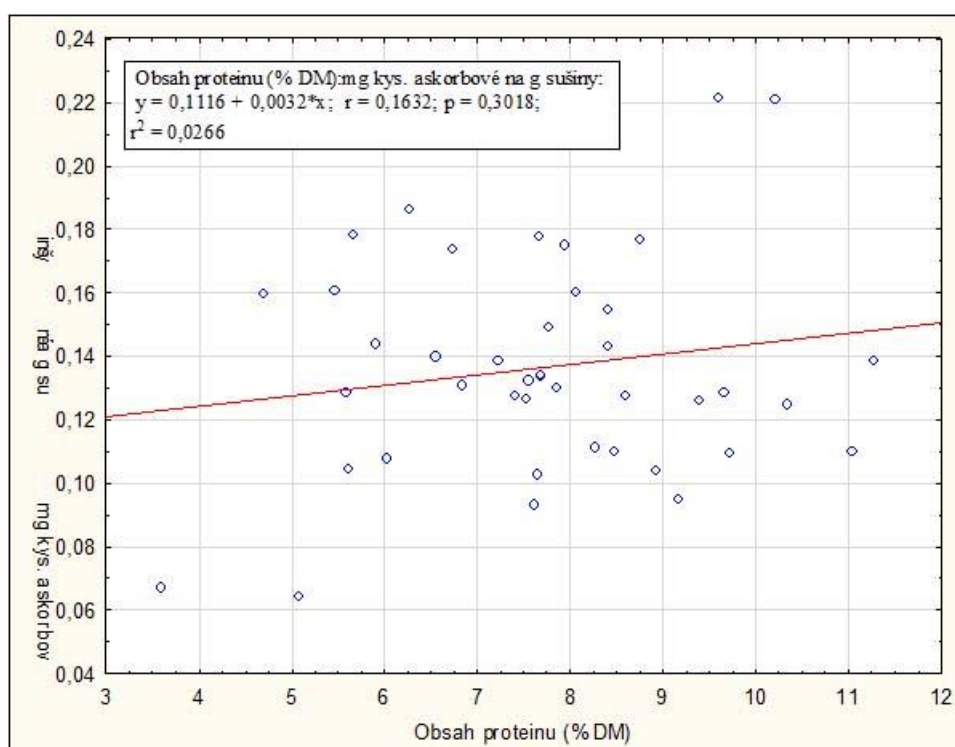
**Tabulka 4 – Obsah čistého proteinu v sušině hlíz planých a kulturních genotypů bramboru a stanovení antioxidační hodnoty sušiny planých a kulturních genotypů bramboru**

Druh /genotyp	Obsah proteinu	Antioxidační aktivita
	(% sušiny)	(mg kyseliny askorbové/g sušiny)
<i>S. tuberosum</i> Desirée	6,65 <sup>abcd</sup>	0,177 <sup>h</sup>
<i>S. tuberosum</i> Kuras	4,33 <sup>a</sup>	0,066 <sup>a</sup>
<i>S. tuberosum</i> Superior	8,39 <sup>cdef</sup>	0,094 <sup>b</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300073	6,21 <sup>abc</sup>	0,129 <sup>de</sup>
<i>S. andigena</i> 07S030067	8,35 <sup>cdef</sup>	0,176 <sup>h</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300102	7,78 <sup>bcdef</sup>	0,131 <sup>de</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300007	8,22 <sup>cdef</sup>	0,157 <sup>g</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300306	7,96 <sup>cdef</sup>	0,133 <sup>de</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300109	5,07 <sup>ab</sup>	0,160 <sup>g</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300134	8,69 <sup>cdef</sup>	0,107 <sup>c</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300127	7,87 <sup>cdef</sup>	0,108 <sup>c</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300015	6,50 <sup>abcd</sup>	0,180 <sup>h</sup>
<i>S. phureja</i> 07S03000136	9,52 <sup>ef</sup>	0,144 <sup>f</sup>
<i>S. phureja</i> 07S0300182	8,94 <sup>cdef</sup>	0,129 <sup>de</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300001	6,63 <sup>abcd</sup>	0,104 <sup>c</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300241	9,66 <sup>ef</sup>	0,111 <sup>c</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300011	9,13 <sup>def</sup>	0,128 <sup>d</sup>
<i>S. demissum</i> 07S0300301	7,44 <sup>bcdef</sup>	0,136 <sup>ef</sup>
<i>S. berthaultii</i> 07S0300031	9,90 <sup>f</sup>	0,221 <sup>i</sup>
<i>S. incamayoense</i> 07S0300046	7,47 <sup>bcdef</sup>	0,127 <sup>d</sup>
<i>S. mochiquense</i> 07S0300050	7,14 <sup>bcde</sup>	0,144 <sup>f</sup>

Statistické hodnocení: ANOVA, Fisher HSD test, odlišná písmena vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

V prvním sloupci tabulky je uvedena výtěžnost proteinu v sušině hlízy. Nejnižší obsah celkového proteinu 4,33 % byl zjištěn u genotypu *S. tuberosum* Kuras, což je odrůda šlechtěna pro nejvyšší možný obsah škrobu. Naopak nejvyšší obsah celkového proteinu měla odrůda *S. berthaultii* 08S0300031, a to 9,90 % proteinu v sušině.

Druhý sloupec znázorňuje antioxidační aktivitu celé sušiny různých genotypů. Z tabulky je zřejmé, že u většiny genotypů nebyl prokázán přímý vztah mezi obsahem proteinu v hlíze a jeho antioxidační aktivitou. Např. *S. goniocalyx* 07S0300109 má nízký obsah proteinu (5,07 %), ale naopak má velkou antioxidační aktivitu (0,160 mg/g). Z toho vyplývá, že antioxidační aktivita není přímo ani nepřímo úměrná obsahu proteinu v hlíze, neboť na antioxidační aktivitě se podílejí i další antioxidanty. Z tabulky je vidět, že některé genotypy mají obě hodnoty vysoké, zatímco jiné mají obě hodnoty nízké.



**Obrázek 10 – Hodnocení korelačního vztahu mezi obsahem bílkovin v sušině hlíz a celkovou antioxidační aktivitou sušiny hlíz hodnocené skupiny planých a kulturních genotypů bramboru**

V následující tabulce 5 je zaznamenáno kolik miligramů proteinu se uvolnilo z navážky původní sušiny do jednoho mililitru vzorku.

V prvním sloupci tabulky je vidět, jaká byla naměřena koncentrace proteinu ve vzorcích, kolik proteinu se uvolnilo ze sušiny do vzorku. Vpravo můžeme pozorovat, kolik se podařilo vytěžit proteinu ze sušiny do proteinového izolátu. U většiny vzorků platí přímá úměra, čím vyšší byla koncentrace proteinu ve vzorku,

tím víc se podařilo proteinu izolovat. V tabulce jsou určité výjimky – např.: genotyp *Solanum andigena* 07S0300067, u kterého je vysoká koncentrace proteinu 32,19 mg/ml, ale výtěžnost je podprůměrná vůči ostatním vzorkům 19,31 %. V další tabulce je přepočítáno, jakou má antioxidační kapacitu izolovaný (čistý protein), proto je zde uvedena výtěžnost.

**Tabulka 5 – Výtěžnost izolace proteinu z hlíz planých a kulturních genotypů bramboru a stanovení antioxidační aktivity tohoto proteinu**

Druh /genotyp	Koncentrace proteinu	Výtěžnost proteinu
	(mg/ml)	(% izolovaného z původně přítomného proteinu v sušině)
<i>S. tuberosum</i> Desirée	17,79 <sup>cd</sup>	13,52 <sup>cde</sup>
<i>S. tuberosum</i> Kuras	3,08 <sup>a</sup>	3,61 <sup>a</sup>
<i>S. tuberosum</i> Superior	8,17 <sup>b</sup>	4,88 <sup>ab</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300073	17,97 <sup>cde</sup>	15,11 <sup>defg</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300067	32,19 <sup>k</sup>	19,31 <sup>ghij</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300102	14,93 <sup>c</sup>	9,59 <sup>c</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300007	30,54 <sup>ijk</sup>	18,57 <sup>fghi</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300306	25,42 <sup>fgh</sup>	16,36 <sup>efgh</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300109	23,58 <sup>efg</sup>	23,25 <sup>j</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300134	27,07 <sup>ghij</sup>	15,56 <sup>defg</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300127	25,50 <sup>fghi</sup>	16,94 <sup>efgh</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300015	26,33 <sup>fghij</sup>	20,23 <sup>hij</sup>
<i>S. phureja</i> 07S03000136	21,27 <sup>def</sup>	11,18 <sup>cd</sup>
<i>S. phureja</i> 07S0300182	30,62 <sup>jk</sup>	17,49 <sup>efgh</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300001	24,27 <sup>fgh</sup>	18,62 <sup>fghi</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300241	17,25 <sup>cd</sup>	9,10 <sup>b<sup>c</sup></sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300011	24,95 <sup>fgh</sup>	13,69 <sup>cde</sup>
<i>S. demissum</i> 07S0300301	31,18 <sup>jk</sup>	20,96 <sup>hij</sup>
<i>S. berthaultii</i> 07S0300031	29,03 <sup>hijk</sup>	14,66 <sup>def</sup>
<i>S. incamayoense</i> , 07S0300046	17,28 <sup>cd</sup>	11,54 <sup>cd</sup>
<i>S. mochiquense</i> 07S0300050	31,11 <sup>jk</sup>	22,43 <sup>ij</sup>

Statistické hodnocení: ANOVA, Fisher HSD test, odlišná písmena vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ ; DM – sušina

Tabulka 6 zobrazuje antioxidační aktivitu jednotlivých druhů a jejich genotypů brambor.

**Tabulka 6 – Stanovení antioxidační aktivity proteinu izolovaného z hlíz planých a kulturních genotypů bramboru**

Druh /genotyp	Antioxidační aktivita proteinu
	(mg kyseliny askorbové/g sušiny proteinu)
<i>S. tuberosum</i> Desirée	n. d.
<i>S. tuberosum</i> Kuras	n. d.
<i>S. tuberosum</i> Superior	n. d.
<i>S. andigena</i> 07S0300073	n. d.
<i>S. andigena</i> 07S0300067	0,3256 <sup>cde</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300102	n. d.
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300007	0,6561 <sup>g</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300306	0,7391 <sup>g</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300109	n. d.
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300134	0,0506 <sup>a</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300127	0,2759 <sup>bc</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300015	0,0105 <sup>a</sup>
<i>S. phureja</i> 07S03000136	n. d.
<i>S. phureja</i> 07S0300182	0,4788 <sup>f</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300001	0,1293 <sup>ab</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300241	0,3400 <sup>cde</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300011	0,2942 <sup>cd</sup>
<i>S. demissum</i> 07S0300301	0,4463 <sup>de</sup>
<i>S. berthaultii</i> 07S0300031	0,3593 <sup>cde</sup>
<i>S. incamayoense</i> 07S0300046	n. d.
<i>S. mochiquense</i> 07S0300050	0,2571 <sup>bc</sup>

Statistické hodnocení: ANOVA, Fisher HSD test, odlišná písmena vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ ; n. d. nebylo detekováno

V tabulce 6 je patrné, jak se čistý protein přímo podílí na antioxidační kapacitě. Jsou zde eliminovány všechny nebílkovinné antioxidanty. Nejvyšší antioxidační kapacita byla naměřena u genotypu *Solanum goniocalyx* 07S0300306, zde byla antioxidační kapacita 0,7391 mg kyseliny askorbové/g sušiny proteinu. Nejnižší hodnoty vykázal genotyp *Solanum x chaucha* 07S0300015, u něhož byla



naměřena antioxidační kapacita 0,0105 mg kyseliny askorbové/g sušiny proteinu. U vzorků v tabulce, kde je uvedeno n. d. (nebylo detekováno) se bohužel nepodařilo stanovit antioxidační aktivitu, pravděpodobně z důvodu nízké koncentrace izolovaného proteinu.

Tabulka 7 uvádí relativní abundance patatinu, jak v proteinu sušiny hlíz, tak v proteinovém izolátu.

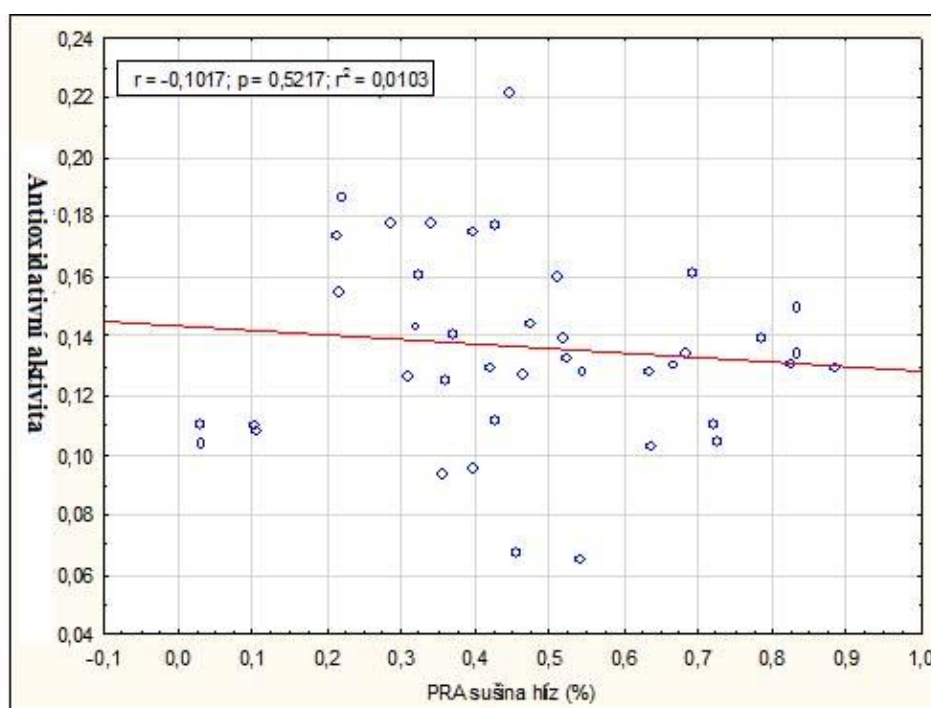
**Tabulka 7 – Stanovení relativní abundance (%) patatinu v proteinu sušiny hlíz a v izolátu hlízových bílkovin**

<b>Druh /genotyp</b>	<b>Relativní abundance patatinu (%) v proteinu sušiny hlíz brambor</b>	<b>Relativní abundance patatinu (%) v proteinovém izolátu</b>
<i>S. tuberosum</i> Desirée	31,3 <sup>cde</sup>	52,4 <sup>g</sup>
<i>S. tuberosum</i> Kuras	49,8 <sup>efghi</sup>	56,9 <sup>ghi</sup>
<i>S. tuberosum</i> Superior	37,5 <sup>cd<sup>efg</sup></sup>	87,5 <sup>k</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300073	85,4 <sup>j</sup>	68,7 <sup>hij</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300067	41,3 <sup>cdefgh</sup>	10,8 <sup>ab</sup>
<i>S. andigena</i> 07S0300102	67,6 <sup>ij</sup>	32,7 <sup>de</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300007	27,1 <sup>bcd</sup>	36,4 <sup>ef</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300306	34,1 <sup>cdef</sup>	17,4 <sup>abc</sup>
<i>S. goniocalyx</i> 07S0300109	60,2 <sup>hi</sup>	75,1 <sup>jk</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300134	3,1 <sup>a</sup>	17,8 <sup>abcd</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300127	10,5 <sup>ab</sup>	10,7 <sup>ab</sup>
<i>Solanum x chaucha</i> 07S0300015	21,8 <sup>abc</sup>	4,5 <sup>a</sup>
<i>S. phureja</i> 07S03000136	67,6 <sup>ij</sup>	24,4 <sup>bcde</sup>
<i>S. phureja</i> 07S0300182	44,2 <sup>d<sup>efgh</sup></sup>	70,9 <sup>ij</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300001	68,1 <sup>ij</sup>	50,3 <sup>fg</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300241	57,5 <sup>ghi</sup>	53,9 <sup>gh</sup>
<i>S. stenotomum</i> 07S0300011	52,7 <sup>ghi</sup>	77,3 <sup>jk</sup>
<i>S. demissum</i> 07S0300301	81,1 <sup>j</sup>	31,9 <sup>cde</sup>
<i>S. berthaultii</i> 07S0300031	35,9 <sup>cdef</sup>	69,8 <sup>ij</sup>
<i>S. incamayoense</i> 07S0300046	50,5 <sup>efghi</sup>	54,4 <sup>gh</sup>
<i>S. mochiquense</i> 07S0300050	39,7 <sup>cdefg</sup>	52,8 <sup>g</sup>

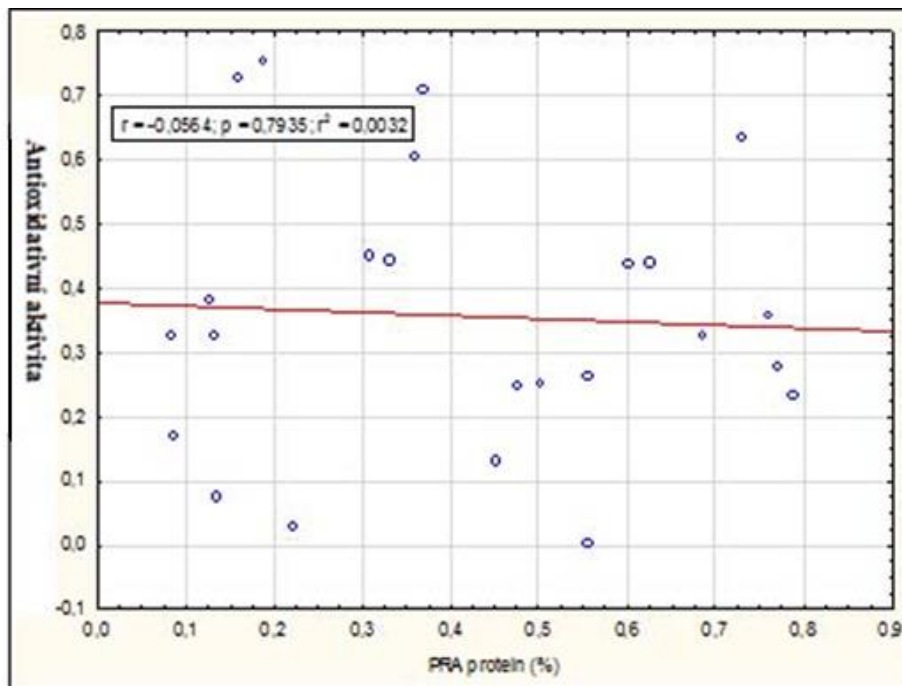
Statistické hodnocení: ANOVA, Fisher HSD test, odlišná písmena vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

V prvním sloupci tabulky je naměřené relativní množství patatinu v proteinu celkové sušiny hlíz a v proteinovém izolátu. Nejvyšší relativní množství (abundance) patatinu v proteinu původní sušiny bylo naměřeno u genotypu *Solanum demissum* 07S0300301, a to 81,1 % a nejnižší *Solanum x chaucha* 07S0300134 3,1 %. Procentuální zastoupení u proteinového izolátu bylo nejvyšší u genotypu *Solanum tuberosum* Superior, a to 87,5 % a nejnižší zastoupení bylo naměřeno u genotypu *Solanum x chaucha* 07S0300015, a to 4,5 %.

Hodnocení korelačního vztahu mezi relativní abundancí patatinu (PRA) a antioxidační aktivitou sušiny hlíz a proteinového izolátu na úrovni hlíz a na úrovni proteinového izolátu je znázorněno na následujících obrázcích (obrázek 11 a obrázek 12).



Obrázek 11 – Závislost antioxidační aktivity na PRA na úrovni sušiny hlíz



Obrázek 12 – Závislost antioxidantní aktivity na PRA na úrovni proteinového izolátu

## 8 DISKUZE

### Obsah čistých hlízových proteinů v sušině hlíz kulturních a planých druhů brambor

Odborná literatura uvádí, že obsah čistých bílkovin v sušině se pohybuje v širokém spektru od 3,5 % do 23 % (Bárta, Bártová, 2007). Naměřený obsah u kulturních druhů se pohyboval od 4,33 % v sušině u *Solanum tuberosum* Kuras až po 8,39 % u *Solanum tuberosum* Superior, což odpovídá hodnotám uvedeným v literatuře. Plané druhy měly celkově vyšší obsah čisté bílkoviny než druhy kulturní. Nejnížší obsah čistých bílkovin byl naměřen u *Solanum goniocalyx* 07S0300109, kde byla hodnota velmi nízká (5,07 %) s ohledem na průměrnou hodnotu u planých druhů (7,96 %). Nejvyšší obsah měl genotyp *Solanum berthaultii* 07S0300031 a to 9,90 %. Tento planý druh by se dal použít jako vhodný genetický zdroj. Je statisticky podloženo, že obsah čistých bílkovin je významně ovlivněn genotypem odrůdy a jen částečně způsobem pěstování, stanovištěm a ročníkem (Maggio et al., 2008; Bárta et al., 2008). Dalším faktorem výrazně ovlivňujícím obsah bílkovin je velikost hlíz. Plané druhy brambor vytváří jen malé hlízy do 3 cm v průměru. Hlízy malé velikosti obsahují větší množství bílkovin (Snyder, Desborough, 1978).

### Relativní obsah patatinových proteinů

K analýze obsahu patatinových bílkovin byla využita gelová elektroforéza. Pots (1999a) uvádí, že patatin se nachází v separačním gelu v oblasti kolem 43 kDa. Při separaci vzorků byl zjištěn rozsah poněkud odlišný. Patatinové isoformy byly pozorovatelné v oblasti od 39 do 45 kDa. Celkové procento zastoupení patatinu v čistých bílkovinách je dle literatury v rozmezí 30-40 % (Andrews, 1988), ale je uváděn i vyšší obsah kolem 60 % (Pots, 1999a). Naměřené výsledky odpovídají, až na výjimky literatuře. Obsah patatinu v proteinu sušiny hlíz bramboru, byl nejvyšší u kulturních druhů u genotypu *Solanum tuberosum* Kuras 49,8 % a nejnížší u *Solanum tuberosum* Desirée 31,3 %. Zajímavé výsledky byly zjištěny u planých druhů, kde se naměřené hodnoty pohybovaly od 85,4 % u *Solanum andigena* 07S0300073 až po 3,1 % u *Solanum x chaucha* 07S0300134. Bárta, Bártová (2008) ve své práci zkoumali vliv počasí na obsah patatinu u kulturních druhů brambor. Jimi naměřené obsahy patatinu v celkovém proteinu byly od velmi nízkých hodnot

(0,33 %) až po 33,85 %. Rozdíly s jinými autory mohly být způsobeny rozdílnou koncentrací gelu, separací programem na vyhodnocování gelů, ale především složením souboru hodnocených genotypů, druhů či odrůd.

### **Antioxidativní potenciál sušiny hlíz a izolátu hlízových proteinů**

Jedním z prvních autorů, který se o patatinu vyjádřil jako o látce disponující silným antioxidačním potenciálem, byl Al-Saikhan. Ve své práci z roku 1995 řadí patatin z hlediska antioxidační aktivity hned za kyselinu askorbovou a doporučil jej k dalšímu prozkoumání. Od té doby nebyl patatin jako antioxidant analyzován. Nejvyšší naměřenou antioxidační aktivitu sušiny vykazoval genotyp *Solanum berthaultii* 07S0300031, a to 0,221 mg kyseliny askorbové/g sušiny a nejnižší *Solanum tuberosum* Kuras – 0,066 mg kyseliny askorbové/g sušiny. Do výsledků této analýzy by se měly promítnout i nebílkovinné antioxidanty. U genotypu s fialovou dužninou *Solanum phureja* 07S0300182 byla naměřena hodnota 0,129 mg kyseliny askorbové/g sušiny. Tato hodnota je velmi nízká, což je v rozporu s Lachmanem (2005), který uvádí, že odrůdy s červenou a fialovou dužninou mají vyšší antioxidační aktivitu než ty, které mají dužninu žlutou. Měření může být ovlivněno také skutečností, že lyofilizací může docházet k potlačení či degradaci látek s antioxidačními účinky. Šulc et al. (2007) uvádí degradaci kyseliny askorbové a dalších antioxidačních enzymů. Proces lyofylizace i proces izolace hlízových bílkovin může významně ovlivnit antioxidační aktivity.

Nejvyšší naměřenou antioxidační hodnotu proteinu izolovaného z hlíz měl genotyp *Solanum goniocalyx* 07S0300306 – 0,7391 mg kyseliny askorbové/g sušiny proteinu a nejnižší *Solanum x chaucha* – 07S0300015 0,0105 mg kyseliny askorbové/g sušiny proteinu. U osmi vzorků se nepodařilo detekovat jejich antioxidační aktivitu z důvodu nízké aktivity či nízké koncentrace izolované bílkoviny.

## 9 ZÁVĚR

V diplomové práci byla analyzována relativní abundance patatinu ve vztahu k antioxidantní kapacitě hlíz vybrané skupiny kulturních a planých druhů brambor. Práce je rozdělena na část teoretickou a praktickou. Teoretická část obsahuje poznatky o bramboru hlíznatém z pohledu botanického, ale i jeho dalšího rozšíření a následného šlechtění. Zahrnuje i související kapitulu o odrůdách brambor zaměřenou na bližší specifikaci jednotlivých kulturních a planých druhů brambor. Samostatnou část tvoří chemické složení bramborové hlízy se zaměřením na patatin a další antioxidantní látky.

Cílem této práce bylo prostřednictvím laboratorních analýz izolovat a stanovit obsah čistých hlízových bílkovin, relativní abundanci patatinu v hlízových bílkovinách a následně též antioxidantní potenciál na úrovni sušiny hlíz i izolovaných hlízových bílkovin. Byla zkoumána i závislost mezi obsahem bílkovin v hlíze a antioxidantní aktivitou.

Byly stanoveny tři hlavní cíle skládající se z dílčích podkategorií. Těchto cílů bylo dosaženo pomocí analýz a statistických výpočtů. První cíl spočíval v izolaci a stanovení obsahu čistých hlízových proteinů. Tato část byla splněna bez výjimky. Zjištěny byly rozdílné hodnoty, které se dají využít pro křížení pro zvýšení obsahu proteinu. Druhý cíl spočíval v izolaci a stanovení obsahu patatinových proteinů. Tento cíl byl komplexně splněn. Třetím cílem bylo stanovení antioxidantního potenciálu hlízových bílkovin. Zde bylo cíle taktéž dosaženo, jen u několika vzorků nebyla antioxidantní kapacita detekována.

Veškeré analýzy měly zajímavé výsledky. Z těchto výsledků by bylo možné vycházet při různých šlechtitelských programech bramboru. Různé genotypy mohou přinést žádoucí efekty: zvýšení obsahu bílkovin, zvýšení obsahu patatinu a zvýšení antioxidantní kapacity u nových odrůd kulturního druhu. Význam obsahu proteinů a patatinu v hlízách bramboru je důležitý z hlediska výživy lidí v rozvojových zemích, kde jsou brambory důležitou složkou potravy. Antioxidanty jsou v poslední době aktuální téma.

Ze zjištěných skutečností vyplývá, že obsah bílkovin v hlíze brambor nijak nedeterminuje antioxidantní aktivitu daného genotypu. Prosté stanovení koncentrace

patatinu jako celku není dostatečně průkazné, či přesné pro stanovení úměrnosti vzhledem k antioxidační aktivitě. Pravděpodobně je patatin v hlízách různě zastoupen v rozdílném složení isoform, které mají rozdílný vliv na antioxidační aktivitu patatinového komplexu.

## 10 SEZNAM LITERATURY

AL-SAIKHAN, M. S., et al. Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.). *J Food Sci.* 1995. vol 60. pp 341-347.

Antioxidanty [on line]. [cit. 2015-03-29]. Dostupný z WWW: <<http://www.vubhb.cz/cs/zahradkari-a-spotrebitele/antioxidantyhttp://www.katalogbrambor.cz/katalog/detail/135>>

BÁRTA, J., BÁRTOVÁ, V. *Bílkoviny hlíz bramboru (Solanum tuberosum L.)*. 1 vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2007. 116 s. ISBN 978-80-7394-036-2.

BÁRTA, J., et al. *Stanovení obsahu bílkovin v sušině hlíz brambor pomocí vybraných kolorimetrických technik: metodika pro praxi*, České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2008, 24 s. ISBN 978-80-7394-099-7.

BÁRTA, J., BÁRTOVÁ, V. Patatin, the major protein of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers, and its occurrence as genotype effect: processing versus table potatoes. *Czech J. Food Sci.* 2008, vol. 26, issue 5, pp 347-359.

Biologická charakteristika bramboru [on line]. [cit. 2015-04-14]. Dostupný z WWW: <[http://www.vubhb.cz/library.ashx?file=18\\_biologicka\\_charakteristika\\_bramboru.pdf](http://www.vubhb.cz/library.ashx?file=18_biologicka_charakteristika_bramboru.pdf)>

Brambory – zdravá potravina [on line]. [cit. 2015-03-30]. Dostupný z WWW: <[http://brambor.info/spotrebitele/zdrava\\_potravina.htm](http://brambor.info/spotrebitele/zdrava_potravina.htm)>

BROWN, C. R. Antioxidants in potato. *American Journal Of Potato Research.* 82, č. 2, 2005. s. 163-172.

CORRELL, D. S. *The Potato and Its Wild relatives*. Texas Research Foundation, Renner, Texas. 1962. 606 p.

ČEPL, J. *Konzumní brambory na poli, zahradě a v kuchyni*, 1 vyd. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský, 2009. 206 s. ISBN 978-80-86940-23-6.

ČERMÁK, V. *Přehled odrůd 2009 Brambor*, 1. vyd. ÚKZÚZ Brno, 2009. 112 s. ISBN 978-80-7401-015-6.

Českomoravský svaz šlechtitelů: 2014, *České odrůdy konzumních brambor 2014*, Brno, 20s. [on line]. [cit. 2015-02-23] Dostupný z WWW: <<http://www.vubhb.cz/cs/knihovna/ostatni-publikace/ceske-odrudy-konzumnich-brambor-2014>>

Gelová elektroforéza [on line]. [cit. 2015-04-10]. Dostupný z WWW: <[http://mmp.vfu.cz/opvk2011/?title=popis\\_metod-gelova\\_elektroforeza&lang=cz](http://mmp.vfu.cz/opvk2011/?title=popis_metod-gelova_elektroforeza&lang=cz)>

FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ, L. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. *Chemické listy*, 2009, roč. 103, s 232-235. ISSN: 0009-2770.



FOŘT, P. *Sport a správná výživa*. 1. vyd., Praha: Euromedia Group, 2002. 352 s. ISBN 80-249-0124-2.

HAMES, B. D., RICKWOOD, D. *Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, 1987.

HRABĚ, J., KOMÁR, A. *Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin*. 1 vyd. Vyškov: VVŠ PV, 2003. 163 s. ISBN 80-7231-107-7.

HRUŠKA, L., et al. *Brambory*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1974. 416 s.

IWANZIK, W., et al. Carotinoidgehalt und-zusammensetzung verschiedener deutscher Kartoffelsorten und deren Bedeutung für die Fleischfarbe der Knolle. *Potato Research*. 26, č. 5, 1983. s. 149-162.

JŮZL, M., et al. *Rostlinná výroba.: (Okopaniny). III*. 1. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2000. 222 s. ISBN 80-7157-446-5.

KÁŠ, J., et al. *Laboratorní techniky biochemie*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2006. 258 s. ISBN 80-7080-586-2.

Katalog brambor [on line]. [cit. 2015-02-26]. Dostupný z WWW: <<http://www.katalogbrambor.cz/katalog/detail/135>>

KONINGSVELD VAN G. A., et al. Effect of protein vomposition and enzymatic aktivity on formation and properties of potato protein stabilized emulsions. *J Agric Food Chem*. 2002. vol. 54. pp 6419-6427.

KOPŘIVA, V., et al. *Vybrané instrumentální metody v biochemických cvičeních – inovované úlohy*. 1 vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012. 47 s. ISBN 978-80-7305-627-8

LACHMAN, J., et al. Cultivar differences of total anthocyanins and anthokyanidins in red and purple - fleshed potatoes and their relation to antioxidant aktivity. *Food Chemistry*. 2009. 114, pp 836-843.

LEE, L., et al. Control of tuber protein synthesis in potato. In: Golberg R. B. (ed). *Plant Molecular Biology*. UNCLA Symp., Alan R. Liss, New York. 1983, pp 355-365.

LEWIS, CH. E., et al. Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes. I: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1998, vol. 77, issue 1, pp. 45-57.

LISINSKA, G., LESZCZYŃSKI, W. *Potato science and technology*. British Library Cataloguing in Publication Data, 1989. 393 p.

MACRAE, A. R., et al. Application of potato lipid acyl hydrolase for the synthesis of monoacylglycerols. *JAOCS*. 1998. vol 75. pp 1489-1494.

- Minerální látky [on line]. [cit. 2015-04-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.vubhb.cz/cs/zahradkari-a-spotrebitele/mineralni-latky>>
- MINX, L. et al. *Rostlinná výroba III (okopaniny)*. 1 vyd. Praha: Agronomická fakulta VŠZ v Praze, 1994. 153 s. ISBN 80-213-0154-6.
- National Research Council. *Lost crops of the Incas: Little-known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation*. Washington: National Academy Press, 1989. 415 p. ISBN 0-309-04264X.
- Odrůda Superior [on line]. [cit. 2015-02-20]. Dostupný z WWW: <[http://www.europotato.org/display\\_description.php?variety\\_name=Superior](http://www.europotato.org/display_description.php?variety_name=Superior)>
- OCHOA, M. C. *The Potatoes of South America: Bolivia*. 1. vyd. Cambridge University Press, 1990. 512 p. ISBN 0-521-38024-3.
- OCHOA, M. C. *The Potatoes of South America: Peru. Part I: The wild species*. Centre international de la pomme de terre, 2004. 1000 p. ISBN 92-90-60-198-1.
- OKADA, K. A., CLAUSEN, A. M. *Solanum incamayoense: A new tuberous species of Argentina*. *American Potato Journal*. 1983, vol. 60, issue 6, pp. 433 – 439.
- OŠŤÁDALOVÁ, M., POKORNÁ, J. *Hygiena a technologie brambor, škrobu, luštěnin, olejnatých semen a tuků*. 1 vyd. Brno: VFU Brno, 2014. 106 s. ISBN 978-80-7305-710-7.
- PARTSIA, Z., KIOSSEOGLU, V. *Foaming properties of potato proteins recovered by complexation with carboxymethylcellulose* *Colloid Surface B: Biointerfaces*. 2001. vol. 21. pp 69-74.
- PASSWATER, R. A. *O Antioxidantech*. Praha: Pragma, 2002. 94 s. ISBN 80-7205-897-5.
- POTS, A. M. *Physico-chemical properties and thermal aggregation of patatin, the major potato tuber protein*. 1999a. Ph. D. thesis. Wageningen Agrivultural University, Wageningen, The Netherlands, 123p.
- POTS, A. M., et al. *Isolation and characterization of patatin isoforms*. *J Agric Food Chem*. 1999b. vol. 47. pp 4587-4592.
- PRUGAR, J., et al. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, 2008. 327 s. ISBN 978-80-86576-28-2
- RATEL, M. - CH., GUEGUEN J. *Fractionation of potato proteins: solubility, thermal coagulation and emulsifying properties*. *Lebens Wiss Technol*. 2000, vol. 33, pp 380-387.
- RYBÁČEK, V. et al. *Brambory*. 1. vyd. Praha: Statní zemědělské nakladatelství, 1988. 360 s.

SDS PAGE [on line]. [cit. 2015-04-10]. Dostupný z WWW: <[http://is.muni.cz/el/1431/podzim2010/C9320/um/Uloha\\_1\\_SDSPAGE.pdf](http://is.muni.cz/el/1431/podzim2010/C9320/um/Uloha_1_SDSPAGE.pdf)>

SHEWRY, P. R. Tuber storage proteins. *Annals of Botany*. 2003, vol. 91, issue 7, pp 755-769.

SPOONER et al. *Species limits of Solanum berthaultii and S. tarijense*, 2007, 987-999p. [on line]. [cit. 2015-02-24]. Dostupný z WWW: <<http://www.vcru.wisc.edu/spoonerlab/pdf/Solanum%20berthaultii%20synonymy.pdf>>

Superior (*Solanum tuberosum*). [on line]. [cit. 2015-02-21]. Dostupný z WWW: <<http://potatoassociation.org/industry/varieties/white-varieties/superior-solanum-tuberosum>>

ŠULC, M. et al. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. *Chemické listy*, 2007, roč. 101, s. 584-591. ISSN: 0009-2770.

ŠVECOVÁ, R. Druh *Solanum berthaultii*. *Bramborářství*, 2011, roč. 19, č. 4, s. 16-17. ISSN: 1211-2429.

ŠVECOVÁ, R. Planý druh *Solanum demissum*. *Bramborářství*, 2012, roč. 20, č. 3, s. 9-10. ISSN 1211-2429.

Vitamíny [on line]. [cit. 2015-03-29]. Dostupný z WWW: <<http://www.vubhb.cz/cs/zahradkari-a-spotrebitele/vitaminyhttp://www.katalogbrambor.cz/katalog/detail/135>>

VOKÁL, B., CVRČEK, M., ČEPL, J. *Brambory*. 1 vyd. Praha: Agrospoj, 2000. 245 s.

Wild Potato Species Atlas 1[on line]. [cit. 2015-04-13]. Dostupný z WWW: <[https://research.cip.cgiar.org/genebankdb/modules/wpsa\\_old/](https://research.cip.cgiar.org/genebankdb/modules/wpsa_old/)>

Wild Potato Species Atlas 2[on line]. [cit. 2015-04-14]. Dostupný z WWW: <[https://research.cip.cgiar.org/genebankdb/modules/wpsa\\_old/](https://research.cip.cgiar.org/genebankdb/modules/wpsa_old/)>

Wild Potato Species Atlas 3[on line]. [cit. 2015-04-15]. Dostupný z WWW: <[https://research.cip.cgiar.org/genebankdb/modules/wpsa\\_old/](https://research.cip.cgiar.org/genebankdb/modules/wpsa_old/)>

ZIMOLKA, J., et al. *Speciální produkce rostlinná - rostlinná výroba (Polní a zahradní plodiny, základy pícninářství)*. 1. vyd. Brno: ES MZLU v Brně, 2005. 245 s. ISBN 80-7157-451-1.

## 11 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAPH	2,2'azobis(2-amidinopropan)dichlorid
ABTS	2,2'azinobis(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfonát)
BCA	Bicinchoninová analýza
BSA	bovine serum albumin
ČSÚ	Český statistický úřad
dH <sub>2</sub> O	destilovaná voda
PAGE	polyakrylamidová gelová elektroforéza
PTFE	polytetrafluorethylen
SDS	dodecylsulfát
SDS - PAGE	elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsíranu sodného
TEMED	Tetramethylethylenediamine
TRIZMA	tris(hydroxymethyl)aminomethane
VÚB	Výzkumný ústav bramborářský

## 12 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Oblast rozšíření druhu <i>S. berthaultii</i> .....	13
Obrázek 2 – Oblast rozšíření druhu <i>S. demissum</i> .....	14
Obrázek 3 – Oblast rozšíření druhu <i>S. mochiquense</i> .....	15
Obrázek 4 – Evoluční vztahy kulturních druhů brambor.....	18
Obrázek 5 – Rozložení jednotlivých typů látek v bramborové hlíze.....	20
Obrázek 6 – Sušení separačního gelu (foto: Petr Mejzlík) .....	32
Obrázek 7 – Spektrofotometr BioMate 5 (foto: Petr Mejzlík).....	33
Obrázek 8 – SDS-PAGE analýza celkového proteinu sušiny hlíz planých a kulturních genotypů bramboru .....	35
Obrázek 9 – SDS-PAGE analýza izolovaného proteinu hlíz bramboru planých a kulturních genotypů bramboru.....	36
Obrázek 10 – Hodnocení korelačního vztahu mezi obsahem bílkovin v sušině hlíz a celkovou antioxidační aktivitou sušiny hlíz hodnocené skupiny planých a kulturních genotypů bramboru .....	38
Obrázek 11 – Závislost antioxidační aktivity na PRA na úrovni sušiny hlíz.....	42
Obrázek 12 – Závislost antioxidační aktivity na PRA na úrovni proteinového izolátu.....	43

### **13 SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 – Základní složení hlíz bramboru.....	19
Tabulka 2 – Seznam genotypů analyzovaných v diplomové práci .....	28
Tabulka 3 – Složení roztoků pro diskontinuální SDS-PAGE (denaturační systém)..	31
Tabulka 4 – Obsah čistého proteinu v sušině hlíz planých a kulturních genotypů bramboru a stanovení antioxidantní hodnoty sušiny planých a kulturních genotypů bramboru .....	37
Tabulka 5 – Výtěžnost izolace proteinu z hlíz planých a kulturních genotypů bramboru a stanovení antioxidantní aktivity tohoto proteinu.....	39
Tabulka 6 – Stanovení antioxidantní aktivity proteinu izolovaného z hlíz planých a kulturních genotypů bramboru .....	40
Tabulka 7 – Stanovení relativní abundance (%) patatinu v proteinu sušiny hlíz a v izolátu hlízových bílkovin.....	41