

Antioxidační sloučeniny řas

Hana Fojtíková

Bakalářská práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Hana FOJTÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T07060**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Antioxidační sloučeniny řas**

Zásady pro vypracování:

1. Obecná charakteristika antioxidačních sloučenin.
2. Charakteristika antioxidačních sloučenin řas.
3. Možnosti jejich stanovení.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*, OSSIS, Tábor 2002.
- [2] ZUBIA, M., ROBLERO, D., FREILE-PELEGRIN, Y. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Appl Phycol.* 2007, 19, 449--458.
- [3] GENESAN, P., KUMAR, CH. S., BHASKAR, N. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, 2008, 99, 2717--2723
- [4] PAULOVÁ, H., BOCHORÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*, 2004, 98, 174-179.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2010

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2010

Ve Zlíně dne 15. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno:FOJTÍKOVÁ HANA.....

Obor:CMTF.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně26.5.2010.....

.....Fojtíková Hana.....

ABSTRAKT

Cílem bakalářské práce je charakterizace volných radikálů, významných antioxidačních sloučenin a systematika řas. Největší pozornost je věnována popisu antioxidačních sloučenin vyskytujících se u řas a jejich mechanismus antioxidačního působení. V další části jsou popsány zástupci řas s významným obsahem antioxidačních látek a jejich prospěšné účinky při konzumaci na lidský organizmus. V poslední části jsou uvedeny metody stanovení antioxidační aktivity.

Klíčová slova: volné radikály, antioxidanty, polyfenoly, karotenoidy, tetrapyrroly, vitaminy, fykokoloidy, metody stanovení.

ABSTRACT

The characterisation of free radicals, important antioxidant compounds and systematization of algae is the aim of this bachelor thesis. It is focussed mainly on the description of antioxidant compound occurred in algae and their chemical mechanism. There are listed representatives of algae containing significant amount of antioxidants and there are shown their beneficial effects on human body in next part of the work. In the last part shows methods of antioxidant activity assesment.

Keywords: free radicals, antioxidants, polyphenols, carotenoids, tetrapyrrols, vitamins, phycocolloids, methods of assesment.

:

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat paní Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D. za trpělivost, ochotnou a obětavou pomoc při sestavování mé bakalářské práce.

Motto:

„Není umění v dnešní době najít informaci, uměním je správně ji použít.“

Mgr. Martin Jelínek

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem citoval(a). V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden(a) jako spoluautor(ka).

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD	9
1 VOLNÉ RADIKÁLY	11
2 ANTIOXIDANTY	13
2.1 ÚČINEK ANTIOXIDANTŮ.....	14
2.2 VÝSKYT ANTIOXIDANTŮ.....	14
2.3 NETRADIČNÍ ZDROJE ANTIOXIDANTŮ.....	14
3 CHARAKTERISTIKA ŘAS	15
4 SYSTEMATIKA ŘAS	16
4.1 RUDUCHY (RHODOPHYTA)	16
4.2 HNĚDÉ ŘASY (CHROMOPHYTA).....	16
4.3 ZELENÉ ŘASY (CHLOROPHYTA).....	16
5 ANTIOXIDAČNÍ SLOUČENINY	17
5.1 POLYFENOLY	17
5.1.1 Fenolické kyseliny.....	17
5.1.2 Flavonoidy.....	19
5.2 KAROTENOIDY	21
5.2.1 Karoteny	23
5.2.2 Xantofyly.....	24
5.3 TETRAPYRROLY	28
5.3.1 Chlorofyly	28
5.3.2 Fykobiliny	30
5.4 VITAMINY	30
5.4.1 Vitamin E	30
5.4.2 Vitamin C	32
5.5 FYKOKOLOIDY.....	34
5.5.1 Agar.....	34
5.5.2 Karagenan.....	35
5.5.3 Algináty.....	35
6 VÝZNAMNÉ ŘASY S ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU	37
6.1 MOŘSKÉ ČERVENÉ ŘASY	37
6.2 MOŘSKÉ HNĚDÉ ŘASY	38
6.3 MODROZELENÉ ŘASY	41
6.4 MOŘSKÉ ZELENÉ ŘASY	42
6.5 SLADKOVODNÍ ZELENÉ ŘASY.....	42

7	METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	44
7.1	METODY HODNOTÍCÍ SCHOPNOST ELIMINOVAT RADIKÁLY.....	44
7.1.1	Metody hodnotící eliminaci syntetických radikálů	45
7.1.1.1	Metoda používající ABTS ⁺ (metoda TEAC).....	45
7.1.1.2	Metoda používající DPPH	45
7.1.1.3	Metoda používající galvinoxyl	46
7.1.1.4	Vyžití jiných stabilních radikálů	46
7.1.2	Metody hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů	46
7.1.2.1	Metoda ORAC	46
7.1.2.2	Metody založené na vylučování OH-radikálů.....	47
7.1.2.3	Metody založené na vylučování superoxidového anion-radikálu	47
7.1.3	Metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace.....	47
7.2	METODY ZALOŽENÉ NA HODNOCENÍ REDOXNÍCH VLASTNOSTÍ LÁTEK	48
7.2.1	Metody chemické	48
7.2.1.1	Metoda FRAP	48
7.2.2	Elektrochemické metody	49
7.2.2.1	Cyklická voltametrie	49
7.2.2.2	HPLC metoda s elektrochemickou detekcí.....	49
	ZÁVĚR	50
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	51
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	56
	SEZNAM OBRÁZKŮ	58
	SEZNAM TABULEK.....	59

ÚVOD

Cílem práce je seznámení s účinky antioxidantních sloučenin řas, které patří mezi méně známé, ale bohaté zdroje antioxidantů.

Stejně jako rostliny, živočichové i lidský organizmus je vystaven oxidačnímu stresu, kdy dochází k narušení rovnováhy mezi vznikem a odstraňováním reaktivních forem kyslíku nebo inhibicí antioxidantních látek. Příčinou vzniku tohoto stavu je životní styl člověka, který je ovlivňován endogenními vlivy (genetikou) a exogenními vlivy (kouření, UV záření, RTG záření, stres). Důsledkem oxidačního stresu je poškození různých druhů tkání organismu. Nejvíce jsou napadány molekuly DNA a buňky lipidů. Poškození buněk může vyvolat závažné nemoci, vznik nádorů.

Látky, které neutralizují účinek volných radikálů, jsou nazývány antioxidanty. Lidské tělo je schopno některé antioxidanty produkovat (enzymy, koenzymy), fungují jako katalyzátory chemických reakcí. Další antioxidanty je nutné získávat stravou (vitaminy, karotenoidy), které chrání buněčné membrány. U některých antioxidantů se projevuje synergický efekt, kdy celková antioxidantní aktivita všech antioxidantů je větší než součet účinku jednotlivých látek. Výživa s vysokým obsahem antioxidantů ve stravě snižuje riziko vzniku nemocí, rakoviny, procesy stárnutí, celkově se podílí na zlepšení zdravotního stavu člověka.

V posledních letech se do popředí dostává zájem o zdroje antioxidantních látek. Nejznámějšími zdroji antioxidantů jsou ovoce a zelenina. Mezi méně známé zdroje antioxidantů patří mořské a sladkovodní řasy. Řasy jsou bohatým zdrojem základních živin, minerálních látek a antioxidantních sloučenin. Koncentrace antioxidantních sloučenin v řasách je ovlivněna vnějšími faktory jako je lokalita, stupeň ozáření, aj. a vnitřními faktory, mezi něž patří druh řasy, stáří a reprodukční fáze.

V hnědých řasách jsou obsaženy zejména fenolické látky florotaniny, jejichž koncentrace a míra jejich antioxidantní aktivity byla zkoumána v řasách z různých oblastí, především z oblastí Tichého oceánu Severní Ameriky a Austrálie. Za zbarvení a antioxidantní aktivitu zelených řas jsou zodpovědné pigmenty chlorofyly a, b, c a d a jejich příbuzné látky, nazývané chlorofylony. V červených řasách jsou zastoupeny karotenoidy, zejména β -karoten, nebo astaxantin. Antioxidantní aktivita řasových sloučenin je spjata s jejich

strukturou molekuly. Ta je zvyšována přítomností vysokého obsahu dvojných konjugovaných vazeb a hydroxylových skupin v molekule.

Antioxidační aktivitu lze změřit mnoha metodami, jejichž podstatou je hodnocení schopnosti vychytávat volné radikály nebo metody testující schopnost inhibovat nebo zpomalovat lipidovou peroxidaci.

1 VOLNÉ RADIKÁLY

Volný radikál je molekula s nepárovým elektronem [1]. Volné kyslíkové radikály jsou sloučeniny kyslíku nebo dusíku [2]. Jde především o reaktivní kyslíkové radikály (ROS – reactive oxygen species) (Tab.1) a dusíkové radikály (RNS – reactive nitrogen species) [3]. Mezi reaktivní druhy kyslíku patří superoxidový anion (O_2^-), hydroxylový radikál (OH \cdot) a peroxid vodíku (H_2O_2), které jsou fyziologickými metabolity vznikajícími v průběhu aerobního života [4].

Volné radikály jsou částice schopné samostatné existence, které obsahují jeden nebo více nepárových elektronů [5]. Jsou proto velmi nestálé, reaktivní a vyhledávají další elektron, aby vytvořily nový pár. Jejich negativní účinek na lidský organizmus spočívá ve schopnosti vázat se na elektrony tělesných buněk. Na základě vědeckých studií se odhaduje, že každá buňka lidského těla je vystavena až 10 000, „atakům“ volných radikálů denně [1].

Volné kyslíkové radikály vznikají jako vedlejší produkt látkové výměny v buňkách v lidském organizmu, kde plní řadu důležitých fyziologických funkcí [6]. Jejich fyziologická úloha spočívá zejména v mikrobicidních účincích na fagocytované mikroby. Volné kyslíkové radikály také iniciují biochemické reakce a ovlivňují jejich rychlost a směr [7].

Tvoří-li se však v nadměrném množství nebo nejsou-li dostatečně rychle likvidovány, stávají se pro organizmus nebezpečné [6]. Zvýšená tvorba kyslíkových radikálů nastává při některých patologických stavech. Jako primární příčina to může být intoxikace, uvolnění redukováných přechodných kovů do krevního oběhu [8].

Škodlivost volných radikálů objevil v roce 1954 Dr. Denham Harman. Jako první přišel s teorií, že proces stárnutí způsobují volné radikály. Do této doby převládal názor, že volné radikály existují pouze vně těla [1].

Volné kyslíkové radikály vznikají v organizmu při enzymových i neenzymových reakcích. K enzymovým reakcím jsou zařazeny oxidoredukční pochody v mitochondriích, redoxní reakce hemoglobinu, xantinu a další. Nejznámější enzym katalyzující tvorbu superoxidového iontu, který je příčinou poškození myokardu, mozku, ale také ledvin a dalších orgánů, je xantinoxidáza. Dalšími enzymy schopnými produkovat volné kyslíkové radikály jsou cyklooxygenázy a lipoxygenázy [7].

Neenzymovou cestou vznikají volné kyslíkové radikály zejména působením elektromagnetického záření z prostředí. Přijatá energie záření je příčinou rozštěpení kovalentních vazeb v molekule vody ve tkáni za vzniku hydrogenperoxidového radikálu nebo hydroxylového radikálu nebo také haváriemi chemického průmyslu [5].

Volné radikály mohou ničit všechny druhy tkání v těle. Nejčastěji jsou napadány tělesné tuky, které jsou k oxidaci zvláště náchylné. Vědci používají pojem „lipidová peroxidace“. Lipidová peroxidace vyvolává řetězovou reakci, která postihuje veškerý tukový materiál [1]. Jedná se o oxidační poškození buněčných lipidů za současné tvorby peroxidů lipidů. Je důsledkem a významným mechanismem akutního a chronického působení vlivem xenobiotik z pracovního a životního prostředí (benzenu a halogenových derivátů, atd.) [9].

Volné radikály se podílí na rozvoji aterosklerózy (poškození buněčné stěny ukládáním tuků) a tím zvyšují riziko tvorby krevních sraženin, urychlení procesu degradace a stárnutí tělních tkání [2]. Narušují přirozenou obranyschopnost [6]. Pravděpodobně se podílí na kornatění cév, mohou způsobovat cukrovku, revmatické artritidy, ale i Alzheimerovu nemoc (předčasná degradace mozkové kůry) a Parkinsonovu nemoc (klidový třes a porucha svalového napětí v důsledku poškození mozkových center) [2].

Reaktivní formy kyslíku jsou také příčinou snížení kvality potravin. Působení volných radikálů na potraviny vede ke žluknutí potravin a jejich toxicitě [4].

Tabulka 1: Symboly a poločasy rozpadu volných radikálů [4]

Druh	Symbol	Poločas rozpadu při 37 °C
Superoxid	$O_2^{\bullet -}$	1×10^{-6}
Hydroxylový radikál	OH^{\bullet}	1×10^{-9}
Alkoxylový radikál	RO^{\bullet}	1×10^{-6}
Peroxylový radikál	ROO^{\bullet}	1×10^{-2}
Singletový kyslík	O_2	1×10^{-6}
Molekulární kyslík	O_2	$>10^2$

2 ANTIOXIDANTY

Látky neutralizující účinek volných radikálů se nazývají antioxidanty, které svou činností přispívají k ochraně imunitního systému [2].

Jedná se o látky, které brání oxidačnímu procesu nebo ho zpomalují. Antioxidanty v podstatě ochraňují sloučeniny před devastačním účinkem kyslíku [1].

Aby mohli být považovány živiny za antioxidanty, musí potlačovat destrukční činnost volných radikálů tím, že poskytují chybějící elektron. Musí být schopny neutralizovat velké množství volných radikálů, čímž chrání mnoho tělesných buněk [1].

Oxidoredukční stav buňky definuje intenzita oxidační zátěže, kapacita antioxidantních systémů a dostupnost redukčních ekvivalentů. Oxidační rovnováha je považována za parametr homeostázy [8].

Oxidační stres představuje porušení rovnováhy mezi vznikem a odstraňováním reaktivních forem kyslíku. Je vyvolán zvýšenou tvorbou kyslíkových radikálů nebo snížením kapacity antioxidantní ochrany. Se zvyšujícím se věkem tvorba reaktivních forem kyslíku stoupá, zatímco kapacita antioxidantních systémů klesá [8]. Proto je velmi důležité podávání antioxidantů jedincům s oslabeným imunitním systémem, starším nebo nezdravě a jednostranně se stravujícím lidem, protože jejich organismus produkuje těchto látek méně [6].

Podle původu jsou antioxidanty děleny na přírodní a syntetické. Z přírodních antioxidantů jsou jako aditiva povoleny pouze tokoferoly, ale i ty se dnes získávají převážně uměle. Četné další přírodní antioxidanty jsou přítomné v řadě olejů a tuků [10]. Přírodní i syntetické antioxidanty prodlužují trvanlivost potravin, které chrání před oxidací, redukují vzniklé hydroperoxy, váží do komplexů katalyticky působící kovy a eliminují přítomný kyslík [11].

Podle chemické struktury jsou rozeznávány antioxidanty fenolového, endiolového a jiného typu. Mezi fenolové antioxidanty z povolených látek náleží tokoferoly a galláty, ale také řada dalších sloučenin přítomných v potravinách, koření a jiných přírodních materiálech. Endioly z povolených látek zahrnují kyselinu askorbovou, dále její soli a jiné deriváty [10].

2.1 Účinek antioxidantů

Účinek antioxidantů lze shrnout do několika bodů. Antioxidanty převážně interferují s procesem oxidace lipidů a jiných oxylabilních sloučenin tak, že:

1. primární antioxidant reagují s volnými radikály nebo sekundární antioxidanty redukují vzniklé hydroperoxydy,
2. váží do komplexů katalyticky působící kovy,
3. eliminují přítomný kyslík [10].

2.2 Výskyt antioxidantů

Lidské tělo je schopno některé antioxidanty produkovat (endogenní), další antioxidanty je nutné dodávat stravou (exogenní) [1].

Endogenními antioxidanty jsou obvykle enzymy, koenzymy a sloučeniny s obsahem síry. Jsou produkovány tělem a plní specifické úkoly. Enzymy nebo koenzymy fungují jako katalyzátory chemických reakcí v těle. Nejvýznamnějším endogenním antioxidantem je glutation, sloučenina s nízkým obsahem síry. Dalšími důležitými endogenními antioxidanty jsou některé enzymy, jako např. superoxidodismutázy, které neutralizují superoxid anion na peroxid vodíku a také kataláza, která rozkládá peroxid vodíku na vodu.

Exogenní neboli potravinové antioxidanty zahrnují vitaminy, zejména C a E, bioflavonoidy, karotenoidy a několik sloučenin obsahujících síru. Tyto antioxidanty mají v ochranném působení širší záběr. Vitamin E chrání buněčné membrány a lipoproteiny, vitamin C je nejdůležitějším antioxidantem v krvi [1].

V poslední době se dostávají do popředí látky přírodního původu [10].

2.3 Netradiční zdroje antioxidantů

Antioxidanty jsou přítomny v potravinách jako přidávaná aditiva. Mezi přírodní zdroje látek s antioxidantním účinkem je zařazována zelenina a ovoce. V posledních letech se dostávají do popředí také řasy [12]. Řasy jsou považovány za bohatý zdroj antioxidantů. Mezi antioxidantní sloučeniny jsou zařazovány **pigmenty** (fukoxantin, astaxantin, karotenoidy) a **polyfenoly** (fenolové kyseliny, flavonoidy, třísloviny). Tyto sloučeniny jsou značně rozšířeny v rostlinách nebo řasách, kde vykazují vyšší antioxidantní aktivitu [4].

3 CHARAKTERISTIKA ŘAS

Řasy jsou organického původu [13]. Byly prvními organizmy na Zemi, které byly schopny fotosyntézy. Jejich schopnost vytvářet kyslík je velká a více než 50 % kyslíku v atmosféře produkují řasy [14].

Řasy jsou bohatým zdrojem základních živin, velmi důležitým zdrojem minerálních látek, vitaminů, polynenasycených mastných kyselin, především kyseliny linolové [12].

Řasy jsou především bohatým zdrojem antioxidantů. Jedny z neúčinnějších antioxidačních látek jsou fenolické sloučeniny, které jsou obsaženy především v hnědých řasách [15]. Pro jejich antioxidační aktivitu jsou používány pro výrobu různých léčivých přípravků [4].

Jsou oceňovány tisíce let v mnoha kulturách, protože mají regenerační schopnosti. Byly prokázány mnohé zdraví prospěšné účinky řas, jako např. při léčbě hypoglykémie, chronického únavového syndromu, depresí, diabetu, anémie, hepatitidy a žaludečních vředů [13].

Mořské řasy byly využívány už od Starověku v Asii [15]. Už v roce 2004 celková globální produkce řas činila více než 15 milionů tun, z Indického oceánu přibližně 15 – 20 %, což je asi 100 000 tun. Obyvatelé asijských zemí, především Japonska, jsou hlavními konzumenty řas, tato spotřeba činí 1,4 kg na člověka ročně. Jejich používání jako potravy se rozšiřuje i do evropských zemí [16].

Konzumace mořských i sladkovodních řas má spoustu výhod:

- Poskytují velké množství stopových prvků, bílkovin, vitaminů a minerálních látek (zejména vápníku).
- Vzhledem k vysokému obsahu jódu, řasy podporují činnost tvorby hormonů štítné žlázy, které následně urychlují spalování sacharidů a tuků.
- Mají vysokou stravitelnost.
- Při pravidelné konzumaci se podílí na čištění a detoxikaci krve a pročištění střev. Zlepšují kvalitu pokožky, vlasů a nehtů [61].

4 SYSTEMATIKA ŘAS

Řasy patří do tří vývojových větví, které se z obecného hlediska rozlišují podle jejich zbarvení na: červenou, hnědou a zelenou [17].

4.1 Ruduchy (Rhodophyta)

Ruduchy jsou zástupci červené vývojové větve řas. Tyto řasy obsahují ve vodě rozpustná fotosyntetická barviva, zvaná fykobiliny. Jde o červený fykoerytrin a modrý fykokyanin. Dále obsahují chlorofyl a a d, β – karoten a xantofyly. Dle poměru těchto barev mohou mít barvu od jasně červené až po modrozelenou [17].

V červených řasách je možné nalézt největší množství sekundárních metabolitů, obsahují více než 1 240 izolovaných sloučenin, mezi které patří jak fenolické (estery sulfátu kyseliny fenolové), tak karotenové sloučeniny (sulfátové flavonoidy), s výjimkou florotaninů. Většina metabolitů jsou halogenované povahy [18].

Mnoho sekundárních metabolitů plní také funkci obrannou, antimikrobiální [18].

4.2 Hnědé řasy (Chromophyta)

Hnědé řasy jsou výlučně mořské organizmy žijící především v mírných vodách [18]. Z hnědých řas bylo izolováno více než 980 sloučenin. Z významných antioxidačních sloučenin tvořených v plastidech jsou chlorofyly a a c a různé formy karotenoidů, mezi nejdůležitější patří fukoxantin. Produkují také fenolické sloučeniny a florotaniny. Jedná se o různorodou skupinu látek, která vytváří komplexy polymerů odvozené od aromatického prekurzoru floriglucinu [18]. Jejich barevnost je od hnědé po žlutozelenou [17].

4.3 Zelené řasy (Chlorophyta)

Zelené řasy patří mezi nejrozšířenější skupinu řas, vyskytujících se v mírných, studených, ale i tropických vodách [17, 18]. Dodnes bylo izolováno 229 sloučenin, z nichž většina byly terpeny. Obsahují barviva chlorofyl a, b a β – karoten, xantofyly. Zásobním polysacharidem je škrob [17].

5 ANTIOXIDAČNÍ SLOUČENINY

Antioxidační aktivita sloučenin řas je převážně určena jejich strukturou. Řasy tyto sloučeniny produkují z důvodu ochrany proti konkurenčnímu prostředí. Od roku 1975 bylo z řas izolováno a určeno více než 15 000 sloučenin, z nichž mnohé vykazují antioxidační aktivitu [19].

5.1 POLYFENOLY

Polyfenoly jsou nejširší skupinou antioxidantů [11]. Zahrnují skupinu fenolických kyselin a flavonoidů. Doposud bylo zjištěno asi 5 000 polyfenolů, včetně 2 000 flavonoidů [20].

Jejich antioxidační aktivita je závislá na mnoha faktorech, mezi něž patří zejména:

1. prostorová a časová proměnlivost dané lokality, jež je určena různými parametry životního prostředí (obsahem živin, stupeň ozáření, ovlivňování jinými vodními rostlinami),
2. reaktivita polyfenolů je ovlivněna také chemickým prostředím [55].

Stupeň jejich antioxidační aktivity je dán na základě přítomnosti většího počtu fenolových skupin [22].

Mají vysoký redoxní potenciál, který jim umožňuje působit jako redukční činidla, vodíkové donory nebo chelátory kovů [20]. Jsou účinné při odbourávání superoxidového anion-radikálu [23]. Tyto fenolové látky slouží k překonávání oxidačního stresu [22].

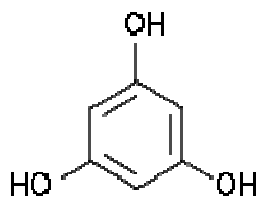
Polyfenoly byly nalezeny především v hnědých mořských řasách.

5.1.1 Fenolické kyseliny

Charakteristika:

Fenolické kyseliny lze strukturně rozdělit na hydroxyderiváty benzoové kyseliny a deriváty kyseliny hydroxyskořicové [24].

Fenoly jsou v mořských řasách zastoupeny jedinou strukturální třídou označovanou jako **florotaniny**, které jsou tvořeny polymerizací floroglucinolu (1, 3, 5 trihydroxybenzen) (Obr. 1), jež je syntetizován z octanu malonátu [21].



Obr. 1 Floroglucinol

Na základě typu vazeb, které jsou výsledkem polymerace a na počtu hydroxylových skupin se fenolické látky dělí na 6 skupin: fukoly, floretoly, fukofloretoly, fuhaloly, izofuhaloly a ekoly.

Jsou schopny také vytvářet komplexy s makromolekulami za vzniku hydrofóbních interakcí, vodíkových vazeb a iontových vazeb.

Hydrofóbní vazby se vyskytují mezi aromatickou centrální oblastí nebo postranním alifatickým nebo aromatickým řetězcem fenolické sloučeniny a proteinem. U tohoto typu florotaninů nezávisí na pH prostředí.

Vodíkové vazby vznikají mezi hydroxyskupinami fenolu a volnou aminoskupinou proteinu nebo karboxylovou skupinou jiného polymeru. Vznikají pouze v kyselém nebo neutrálním pH. Při vyšším pH nad 8,5 nastává autooxidace. Význam makromolekul s iontovými vazbami dosud není znám [21].

Antioxidační aktivita a účinky:

Antioxidační aktivita florotaninů je dána schopností elektronové delokalizace aromatických sloučenin fenolové struktury. Brání oxidaci různými mechanismy. Tyto sloučeniny při reakci s volnými radikály delokalizací elektronů zabraňují pokračování radikálové řetězové reakce a pomocí rezonančního efektu aromatického jádra dochází ke stabilizaci celé molekuly antioxidačních sloučenin [25].

Výskyt:

Florotaniny byly nalezeny téměř ve všech hnědých řasách jako obranný systém proti požeru mořských živočichů [21]. Koncentrace florotaninů v hnědých řasách se mění podle výskytu. V menším měřítku je koncentrace ovlivněna faktory životního prostředí, jako je slanost, dostupnost živin, přítomnost mořských živočichů a sezóně. Steinberg zkoumal vliv sezóny na tempo jejich růstu. Zjistil, že při růstu řas na jaře se hodnoty florotaninů

zvyšovaly, na podzim zůstaly konstantní. Koncentrace florotaninů se mohou také lišit v důsledku velikosti a typu buňky řas [21].

Bylo provedeno mnoho studií na zjištění koncentrace fenolických látek v hnědých řasách. Byla zjišťována koncentrace florotaninů v hnědých řasách a zkoumán rozdíl jejich koncentrací v závislosti na lokalitě – buď z mírných a tropických oblastí Tichého oceánu v oblasti Austrálie a pobřežních vod Tichého oceánu Severní Ameriky. Dále byly zkoumány hodnoty koncentrací florotaninů u řas z Tichého oceánu u pobřeží Guamu v Austrálii a z oblastí Tichého oceánu kolem pobřeží států Washingtonu a Kalifornie [21].

Výsledky studií zabývajících se obsahem a koncentrací fenolických látek v hnědých řasách lze shrnout takto:

1. v hnědých řasách z mírných oblastí byly zjištěny jak vysoké tak nízké koncentrace fenolických látek,
2. obsahy a koncentrace fenolických sloučenin v hnědých řasách z mírných oblastí Tichého oceánu Austrálie jsou v průměru mnohem vyšší než v jiných mírných oblastech na světě,
3. hnědé řasy z tropických vod Tichého oceánu a Indo-Pacifiku vykazují nízkou hodnotu fenolických látek,
4. hnědé řasy z oblasti západního Karibiku také vykazovaly jak s vysokou tak i nízkou koncentrací fenolických látek. [21]

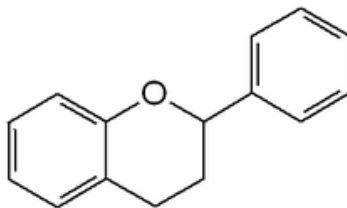
Koncentrace florotaninů v hnědých řasách byla stanovena na úrovni, která nepřevyšovala 2 % jejich suché hmotnosti ve všech oblastech mírných a tropických oblastí Karibského moře a v mírných vodách Tichého oceánu.

V hnědých řasách, které pocházely z tropických vod Indického a Tichého oceánu, byly zjištěny koncentrace florotaninů, které převyšovaly 2 % jejich suché hmotnosti [21].

5.1.2 Flavonoidy

Charakteristika:

Flavonoidy jsou velmi rozsáhlou a různorodou skupinou rostlinných fenolů. Jsou významnou součástí antioxidačního systému, zabraňují peroxidaci lipidů, likvidují volné kyslíkové radikály, inaktivují kovové ionty, především železo a měď [26].



Obr. 2 Flavan

Jsou odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny (2H-chromenu substituovaného v poloze C-2 fenylovou skupinou) nazývaného flavan (Obr. 2), který je tvořen dvěma benzenovými kruhy spojenými heterocyklickým pyranem. Jde o uspořádání $C_6 - C_3 - C_6$ [27]. Tyto tři kruhy bývají substituovány hydroxyskupinami, metoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace [26].

Podle stupně oxidace C3 řetězce se rozeznávají základní struktury flavonoidů:

- katechiny (flavan-3ol)
- leukoanthokyanidin (3, 4-flavandioly)
- flavanony
- flavanonoly
- flavony
- flavonoly
- antokyanidiny[28]

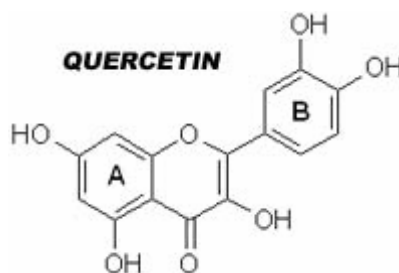
Mohou se nacházet v podobě dimerů, trimerů a polymerů [20].

Antioxidační aktivita:

Z flavonoidních látek vykazují nejvyšší antioxidační aktivitu sloučeniny s dvěma hydroxyskupinami v polohách C-3' a C-4', karbonylovou skupinou v poloze C-4 a volnou hydroxyskupinou v poloze C-3 nebo dvěma hydroxyly v polohách C-3 a C-5. Tyto sloučeniny tvoří s ionty přechodných prvků komplexy, které podporují antioxidační aktivitu [10].

Výskyt:

V řasách jsou nejvíce zastoupeny flavonoly. Hlavní formou přírodních flavonolů jsou O-glykozidy, které mají ve své molekule necukernou součást (aglykon) a cukernou složku [28].



Obr. 3 Kvercetin

Mezi nejvýznamnější flavonoly patří **kvercetin** (Obr. 3). Kvercetin-3- α -L-rhamnopyranozid je důležité žluté barvivo. V potravinářství jsou tato barviva používána se substitucemi hydroxyskupin v různých polohách benzenových jader [10]. Kvercetin je jednou z nejsilnějších protirakovinných látek. Bylo prokázáno, že zabraňuje poškození buněčné DNA, působí protizánětlivě, antibakteriálně, proti houbovým infekcím a virům. Kvercetin působí proti trombóze a pomáhá bránit vzniku krevních sraženin. Je také účinný při zhašení volných kyslíkových radikálů a zabraňuje tuku v oxidaci, neboli peroxidaci lipidů, čímž pomáhá udržovat cévy čisté a průchodné [26]. Mechanismus jeho antioxidačního působení je podobný mechanismu karotenoidů [29].

Rutin je sloučenina odvozená od kvercetinu. Jedná se o kvercetin 3- β -rutinozid. Rutin a některé další glykozidy flavonoidů vykazují antioxidační vlastnosti, které mají vliv na pružnost a permeabilitu krevních kapilár. Zvyšuje hladinu askorbové kyseliny v různých živočišných orgánech. Spolu s kyselinou askorbovou působí synergicky a znásobují tak ochranu před oxidací kyslíkem a před reakcemi s kovy. Rutin je používán ve farmaceutických preparátech a v potravinářských doplňcích [10].

5.2 KAROTENOIDY

Charakteristika:

Karotenoidy jsou přírodní barviva rostlinného původu [16]. Doposud bylo zjištěno přibližně 500 – 600 druhů karotenoidů, které byly izolovány především z rostlin a řas [20]. Jejich produkce se odhaduje na $1 \cdot 10^8$ tun ročně [27]. Jsou zodpovědné především za oranžové a červené barvy rostlin a řas, ale také modré a fialové zbarvení [30]. Karotenoidy jsou syntetizovány z pigmentů fotosyntézy. Jedná se o relativně hydrofóbní molekuly, které jsou typicky spojené s tylakoidními membránami [31]. Prvním krokem při biosyntéze karotenoidů je kondenzace dvou molekul geranylgeranyl pyrofosforečnanu (GGPP) za

katalýzy enzymu fytoensyntázy a tvorby fytoenu. Fytoen je pomocí dalších enzymů převeden na lykopen, který tvoří základní strukturu dalších karotenoidů, které mohou být přeměňovány dle přítomných enzymů [19].

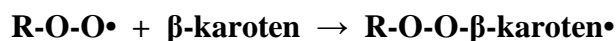
Antioxidační aktivita:

Antioxidační aktivita karotenoidů je spjata se strukturou molekuly. Obsahují rozsáhlé konjugované dvojně vazby. Molekuly s vyšším obsahem konjugovaných vazeb mají vyšší antioxidační aktivitu [20]. Většina karotenoidních sloučenin se řadí mezi tetraaterpeny, skládající se z osmi izoprenových dvojných vazeb a vyskytující se v několika strukturách a jejich kombinacích [27].

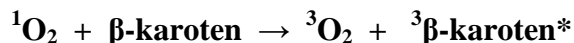
Ve fotosyntetizujících organizmech jsou často nekovalentně vázány na chlorofyl za tvorby vazebných proteinů. Proto mohou sloužit jako příjemci světelné energie, kterou přenášejí do chlorofylu, kde světelná energie je rozptýlena a tím je zachována strukturální integrita pigment-proteinových komplexů [31]. Jejich antioxidační aktivita spočívá ve zhášení peroxylových radikálů a singletového kyslíku [20]. Zpomalují nebo snižují rozsah oxidačního poškození. [16]. Pro svoje antioxidační vlastnosti se karotenoidy uplatňují v prevenci degenerativních procesů a jako antikarcinogenní látky [27], snižují tedy riziko vzniku rakoviny. Tento účinek je dán tím, že karotenoidy jsou pravděpodobně schopny aktivovat enzymy druhé fáze fotosyntézy a detoxikovat chemické látky způsobující rakovinu. Pomáhají reakcím na různých místech, aniž by se stali jejich součástí. Jejich účinek spočívá ve štěpení aktivních karcinogenů v těle dříve, než mohou poškodit DNA buněk. Vzniklé štěpné produkty jsou rozloženy na neškodné netoxické produkty, které jsou použity v jiných procesech nebo eliminovány tělem. Množství detoxikačních enzymů lze zvýšit konzumací zelí, řas, antioxidačních vitaminů, které obsahují chemické látky, jež napomáhají jejich tvorbě [29].

Mechanismus antioxidačního působení karotenoidů se liší od mechanismu působení vitaminu E nebo fenolových antioxidantů.

Hydroperoxylový radikál R-O-O• vznikající při autooxidaci lipidů není redukován na hydroperoxid, ale je zachycen konjugovaným polyenovým systémem a vznikají tak relativně stabilní radikály β-karotenu:



β -karoten je schopen také zhaset singletový kyslík ($^1\text{O}_2$). Účinný je zejména v kombinaci s tokoferoly, které jej chrání před oxidací. Při reakci vzniká kyslík v tripletovém stavu ($^3\text{O}_2$), a β -karoten v excitovaném stavu ($^3\beta$ -karoten*) [10].



Karotenoidy se dělí na dvě hlavní skupiny:

1. Karoteny – chemickým složením uhlovodíky
2. Xantofyly – kyslíkaté sloučeniny (alkoholy, ketony, aj.) odvozené od karotenů [27].

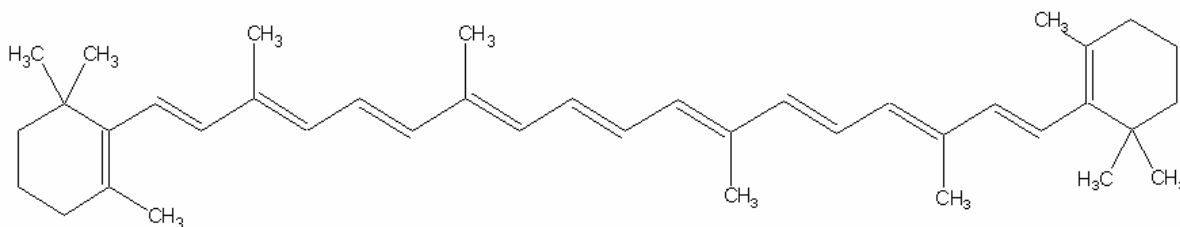
5.2.1 Karoteny

Jejich základní strukturou je acyklický polynenasycený uhlovodík lykopen.

Další karoteny vznikají enzymově katalyzovanou cyklizací z acyklických ψ -karotenů, které tvoří α nebo β -jononové struktury. U řas je nejvíce zastoupena struktura s β -jononovým cyklem ve formě β -karotenu [10].

β -karoten

Charakteristika:



Obr. 4 β -karoten

β -karoten (Obr. 4) je nejznámější terpenoidní karotenové barvivo skládající se ze 40 molekul atomů uhlíku s nenasyceným šesti uhlíkovým kruhem na každém konci řetězce. V přítomnosti dlouhých řad konjugovaných vazeb je molekula schopna absorbovat viditelné světlo. β -karoten z řas je směs několika možných stereoizomerů v molekule, které se podobají látkám v tkáních vyšších rostlin. Obvykle trans-izomer tvoří polovinu jejich celkového obsahu a zbytek existuje ve formě 9-cis izomeru nebo jako jiný izomer. Všechny trans izomery jsou aktivními formami vitamínu A. Další významné funkce různých izomerů jsou špatně zjistitelné, protože jsou nestabilní v roztoku [32].

Výskyt:

β -karoten byl nalezen ve všech řasách, největší množství však bylo zjištěno v zelené řase rodu *Dunaliella salina*. Tento druh je schopen růst ve vysoce slané vodě. Tato řasa může obsahovat β -karoten, který tvoří až 14 % suché hmotnosti řasy. Pro vysoké množství β -karotenu se *Dunaliella salina* používá pro jeho výrobu [32].

5.2.2 Xantofyly

Xantofyly jsou oxygenované karotenoidy, které jsou zodpovědné za fotosyntézu řas [32].

Primárně vznikají jako produkty biochemické oxidace (hydroxylace) karotenů.

Xantofyly jsou deriváty karotenoidů obsahující jeden nebo více kyslíkových atomů v podobě hydroxy-, metoxy-, oxo-, epoxy-, karboxy-, aldehydicke nebo glykozidické funkční skupiny. [31]

V řasách se vyskytují dihydroxysubstituované pigmenty, a to zeaxantin a lutein. Oxidací těchto sloučenin vznikají 5, 6 epoxidy, jako je anteraxantin. Oxidací na obou koncích molekuly vznikají 5, 6, 5', 6' diepoxidy jako je violaxantin nebo neoxantin a fukoxantin. Jedná se o vzácně se vyskytující sloučeniny řas nazývaných alleny, což jsou dieny s kumulovanými dvojnými vazbami [27].

V řasách jsou přítomny také pigmenty lykopen a astaxantin, které jsou účinnější pigmenty při zhášení singletového kyslíku než β -karoten, zeaxantin a lutein, jež vykazují pouze poloviční antioxidační aktivitu [27].

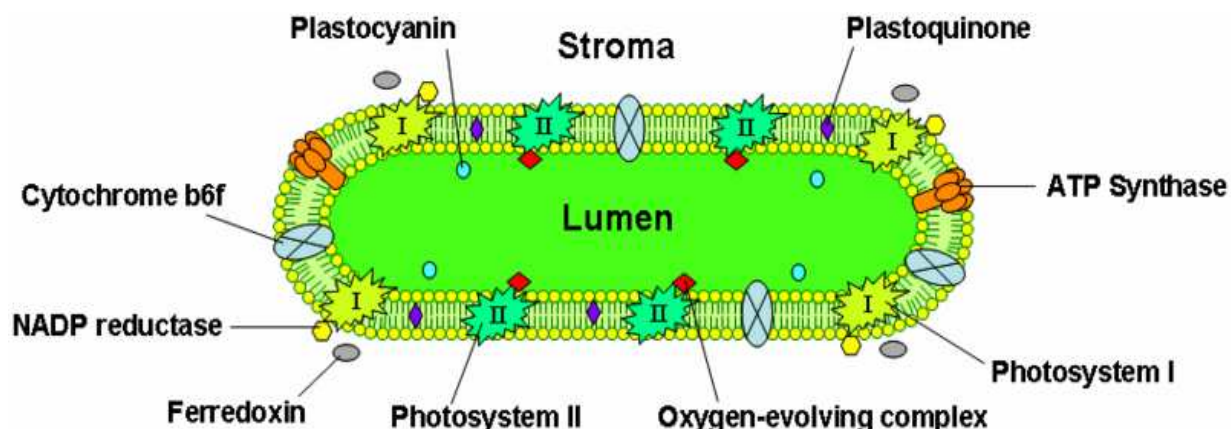
Aerobní fotosyntetizující organizmy vyvinuly řadu strategií k vyloučení nebo minimalizaci škod spojených s tvorbou reaktivních forem kyslíku. Nejdůležitější fotoprotektivní mechanismy se odehrávají v tylakoidní membráně rostlin a řas [33]. Xantofylový cyklus představuje součást ochrany fotosyntetického aparátu (Obr. 5) před fotooxidativním poškozením způsobeným nadměrnou ozářeností [28]. Existují tři různé xantofylové cykly:

1. Violaxantin cyklus (VX – cyklus), který probíhá ve všech rostlinách a zelených řasách
2. Diadinoxantin cyklus (DDX – cyklus), který je typický pouze pro některé řasy
3. Lutein – epoxidový cyklus (LX – cyklus), který byl nalezen pouze u některých druhů rostlin [33].

Ve všech třech cyklech je vysoké světlo indukováno **de-epoxidací** příslušných xantofylů (violaxantinu, diadinoxantinu a lutein-epoxidu) [33].

Nejdůležitější reakcí, která probíhá u řas jsou reakce **VX – cyklu**. Tento xantofylový cyklus byl jako první popsán v literatuře [33], v níž byly stanoveny biochemické vlastnosti VX – cyklu. Podstatou VX-cyklu je reverzibilní převedení violaxantinu (Vx) na zeaxantin (Zx) přes meziprodukt anteraxantinu (Ax). Během těchto reakcí jsou odstraněny dvě epoxidové skupiny. Reakce probíhá za katalýzy enzymu violaxantin de-epoxidáza (VDE) v tylakoidním lumen [33].

Violaxantin de-epoxidáza je kódovaný jaderný DNA protein, který je syntetizován v cytoplasmě [34]. Jeho vznik je regulován hodnotou pH. Tento enzym je aktivován při pH o nižší hodnotě než 6,2 a za přítomnosti kofaktoru kyseliny askorbové [33]. Jeho činnost je optimální při pH 5,2. [35]. Po okyselení tylakoidního lumen dochází k transportu elektronů, čímž se přemění na hydrofóbní částici, která je vázána na membrány, které chrání před poškozením [34].



Obr. 5 Stavba chloroplastu řas

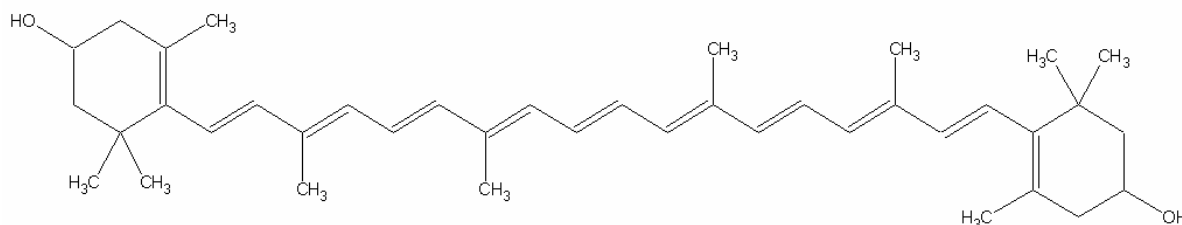
Při nízkém osvětlení dochází ke zpětné reakci = **epoxidaci**, které se účastní xantofyly (zeaxantin, diatoxantin a violaxantin) [33].

Při epoxidaci dochází k zpětné konverzi zeaxantinu přes astaxantin na violaxantin [33]. Epoxidace zeaxantinu na violaxantin je důležitá pro obnovu vysoké účinnosti využití absorbované radiace ve fotochemických reakcích 2. fáze fotosyntézy [28]. Tento přechod je katalyzován enzymem, který je umístěn na opačné straně tylakoidní membrány. Jedná se o

zeaxantin epoxidázu (ZE), která je součástí vnitřního prostoru chloroplastů, označovanou jako stroma (Obr. 5) [33].

Zeaxantin epoxidáza i violaxantin de-epoxidáza patří mezi tzv. **lipokaliny**. Jedná se o malé sekreční proteiny, které jsou charakteristické svou schopností vázat malé hydrofobní molekuly a které se váží na specifické receptory buněčného povrchu a vytvářejí i makromolekulární komplexy [36]. Jejich struktura je velmi složitá, skládají se z β -listů, které jsou skládány do terciálních struktur bílkovin. Tato struktura je spojena s jejich funkcí. Jsou schopny vázat a přenášet malé hydrofobní molekuly [33].

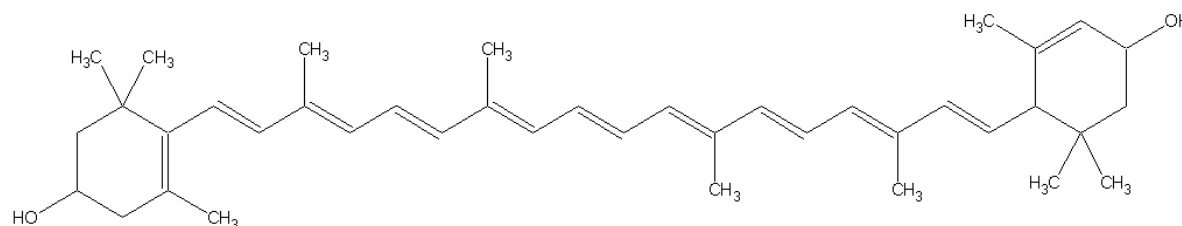
Zeaxantin



Obr. 6 Zeaxantin

Zeaxantin (Obr. 6) zastává důležité funkce při různých fotoprotektivních mechanismech v chloroplastech, přispívá k rozptýlení přebytečné excitační energie ve fotochemických reakcích 2. fáze fotosyntézy a také působí jako antioxidant v lipidové tylakoidní membráně [33].

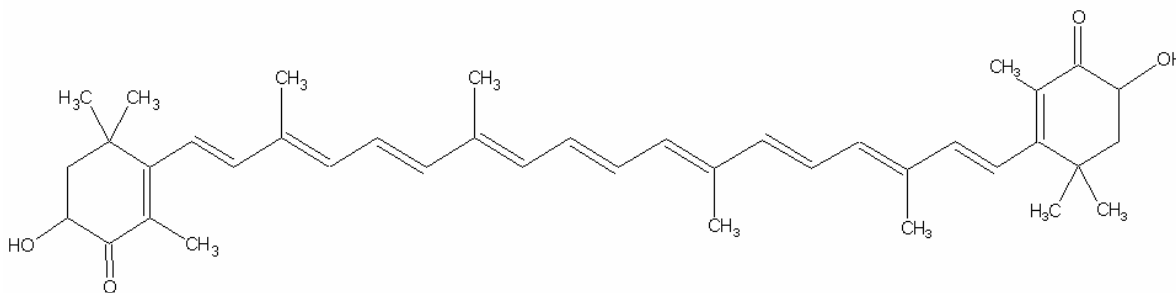
Lutein



Obr. 7 Lutein

Lutein (Obr. 7) se v zelených řasách hromadí při stresu a za rychlé akumulace triacylglycerolu [32].

Astaxantin



Obr. 8 Astaxantin

Astaxantin (Obr. 8) je tmavě červené barvivo [30]. Vyskytuje se jako přirozené barvivo u mořských živočichů, jako jsou lososi, pstruzi a krevety, u kterých plní funkci vitamínu pro růst [37].

Astaxantin je silným antioxidantem, který poskytuje ochranu proti peroxidaci membránových lipidů, proteinů. Nedávné studie prokázaly zvýšenou imunitní reakci a snížení poškození DNA v lidských subjektech po podání astaxantinu. Astaxantin je schopen krevním řečištěm rozšířit antioxidační aktivitu do centrálního nervového systému, který je bohatý na nenasycené mastné kyseliny, které jsou citlivé na oxidační poškození ROS [30]. Astaxantin rovněž zmírňuje zánětlivé procesy a napomáhá prevenci tvorby nádorů, příznivě ovlivňuje hladkost kůže a zpomaluje stárnutí [37].

Jeho silná antioxidační aktivita je dána přítomností hydroxyl- a keto- funkčních skupin v jononovém kruhu. Astaxantin existuje ve třech hlavních formách (enantiomerech), které jsou označovány jako 3S-3, 3R-3S a 3R-3S', v závislosti na prostorové orientaci hydroxylové skupiny (OH na chirálním uhlíku číslo 3). Chiralita molekuly je rozhodující faktor pro jeho biologickou aktivitu [30].

Astaxantin je jedna z nejnověji objevených látek z řasy *Haematococcus pluvialis* [40], která je jeho nejbohatším přirozeným zdrojem, je mnohem silnějším antioxidantem než vitaminy C a E [30]. Je udáváno, že jeho antioxidační aktivita je až 10 krát vyšší než u β -karotenu a 100 krát vyšší než u vitamínu E [37].

Myxoxantofyl

Myxoxantofyl je glykozid xantofylu, který se nachází v sinicích. Jako první byl izolován z řasy *Oscillatoria rubrescens*. Jedná se o smíšený karotenový glykozid, jehož dominantní

složkou je cukr ramnóza, která tvoří až 90 % celkového obsahu a zbytek je tvořen jinými hexózovými cukry. Jeho biosyntéza je dosud neznámá. Vědci se domnívají, že může být syntetizován z γ -karotenu a tato dráha obsahuje několik kroků, včetně hydroxylace γ -karotenu [38].

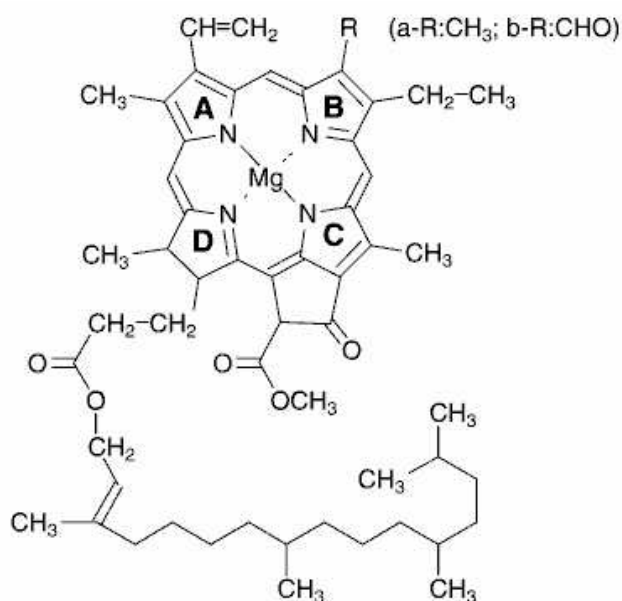
5.3 TETRAPYRROLY

Jedná se o málo početnou, ale velmi rozšířenou skupinu různobarevných pigmentů. Jejich struktura je tvořena čtyřmi pyrrolovými jádry spojenými v porfyrinový kruh pomocí methinových můstků. Jsou rozeznávány dvě základní skupiny barviv:

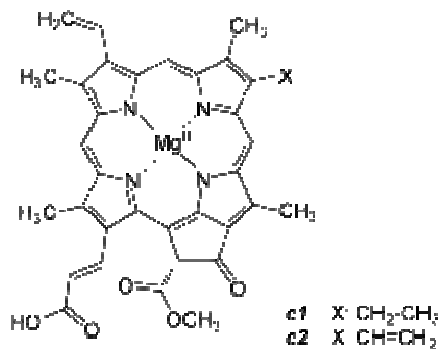
1. Porfyrinová barviva – cyklické porfyriny, do této skupiny barviv patří chlorofylová a hemová barviva.
2. Bilinová barviva – lineární biliny, do této skupiny jsou řazeny fykobiliny a žlučová barviva [27].

5.3.1 Chlorofyly

Jako chlorofyly je označována skupina zelených barviv [35]. Prakticky se jedná o jedinou skupinu přírodních barviv, které se vyskytují v přírodě v neomezeném množství. Celkově je ročně vyprodukováno na Zemi $11,5 \cdot 10^8$ tun, z tohoto množství připadá na suchozemské rostliny $2,9 \cdot 10^8$ tun a na mořské organizmy $8,6 \cdot 10^8$ tun. [27].



Obr. 9 Chlorofyl a, b, d



Obr. 10 Chlorofyl c1, c2

Základ struktury většiny chlorofylů tvoří cyklický tetrapyrrol 17, 18 dihydroporfyryl. Chlorofyly (Obr. 9, 10) obsahují ve své molekule cykly - A, B, C, redukovaný cyklus D a cyklizací zbytku propionové kyseliny v poloze C-13 vzniká cyklus E a jako centrální atom je chelátově vázaný hořečnatý iont [27].

Chlorofyly se nacházejí v pletivech zajišťujících fotosyntézu. Vyskytují se téměř u všech vyšších rostlin, mechtů, řas a v bakteriích. Jsou lokalizovány v chloroplastech (tylakoidní membráně, lipidové dvouvrstvě složené z galaktolipidů a z malého množství fosfolipidů) [27]. V řasách je obsaženo velké množství chlorofylu a příbuzných látek, zvaných **chlorofylony**, které jsou účinnými antioxidanty [29].

Tabulka 2: Výskyt chlorofylů [27]

Název	Organismus
Chlorofyl a	všechny fotosyntetizující organismy, vyšší rostliny, řasy (<i>Cyanophyta</i> , <i>Prochlorophyta</i>), bakterie
Chlorofyl b	vyšší rostliny, řasy (<i>Chlorophyta</i> , <i>Euglenophyta</i> , <i>Prochlorophyta</i> , <i>Cryptophyta</i> , <i>Xanthophyta</i>)
Chlorofyl c	řasy (<i>Phaeophyta</i> , <i>Pyrrophyta</i> , <i>Bacillariophyta</i> , <i>Chrysophyta</i> , <i>Prasinophyta</i> , <i>Cryptophyta</i> , <i>Xanthophyta</i>)
Chlorofyl d	řasy (<i>Rhodophyta</i> , <i>Chrysophyta</i>)

5.3.2 Fykobiliny

Fykobiliny se vyskytují v modrozelených řasách (*Cyanophyta*) a v červených řasách (*Rhodophyta*) [41].

Tyto sloučeniny mají strukturu lineárního tetrapyrrolu s navázanou proteinovou částí (fykobiliproteiny). Vznikají rozkladem hemu. Molekuly se liší strukturou, která jim udává absorpční maxima [41].

Rozdělují se do tří hlavních skupin:

1. červené fykoerytriny zahrnující čtyři skupiny sloučenin: C-, R- a B-fykoerytriny, které byly nalezeny i u z řas řádu *Bangiales* a kryptomonadové erytriny z řas třídy *Cryptophyta*,
2. modré fykokyaniny rozlišující C-, R-, a kryptomonadový fykokyanin,
3. modrý allofykokyanin, který je jediným zástupcem těchto pigmentů [27].

Fykokyanin se skládá z tetrapyrrolových chromoforem, které jsou připojeny k apoproteinu [27]. Je dárce peroxyl- a hydroxyl- radikálů, které inhibují mikrozomální lipidovou peroxidaci. Spolu s metioninem, vitaminem E, manitolem, GSH a linolovou kyselinou brání ukládání šťavelanu vápenatého. Poskytují tedy ochranu ledvinových buněk a stabilizaci volných radikálů. Má antioxidační, protizánětlivý, hepatoprotektivní a neuroprotektivní účinky [41].

5.4 Vitaminy

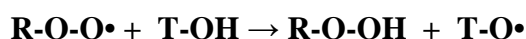
5.4.1 Vitamin E

Charakteristika:

Vitamin E patří mezi lipofilní vitaminy. Aktivitu vitaminu E vykazuje osm základních derivátů chromanu, které jsou odvozeny od tokolu a tokotrienolu [25]. Čtyři formy vitaminu E s nasyceným terpenoidním postranním řetězcem odvozeným od tokolu jsou nazývány tokoferoly. Čtyři formy s nenasyceným postranním řetězcem odvozeným od tokotrienolu se nazývají tokotrienoly [27]. Struktury tokoferolů a tokotrienolů se liší polohami a počty navázaných metylových skupin v chromanovém cyklu. Za nejúčinnější antioxidant je považován α -tokoferol (Obr. 11) [10].

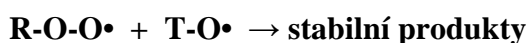
vzniku tokoferylchinonů na tokoferylhydrochinony. Z nich cyklizací vznikají opět tokoferoly [25].

Tokoferoly jsou schopny reagovat s řadou volných radikálů včetně aktivních forem kyslíku. Nejdůležitější jsou reakce s oxidovanými lipidy. Autooxidaci lipidů inhibují tím, že reagují s peroxylovými (hydroperoxylovými) radikály lipidů, kdy vznikají hydroperoxydy a radikály tokoferolů (tokoferoxy-radikály), čímž přeruší řetězovou radikálovou autooxidační reakci uhlovodíkového řetězce lipidů v její propagační reakci (2. fáze řetězové reakce):



(**R-O-O•** je hydroperoxylový radikál lipidu, **T-OH** je tokoferol, **R-O-OH** je hydroperoxid, **T-O•** je tokoferolový radikál)

V terminační fázi autooxidační reakce se tokoferolový radikál stabilizuje nevratnou reakcí s jinými radikály, nejčastěji hydroperoxylovými radikály:



Tokoferolové radikály přítomné v lipidové fázi mohou být redukovány zpět na tokoferoly ve vodě rozpustnou askorbovou kyselinou, která chrání vitamin E před oxidací [27].

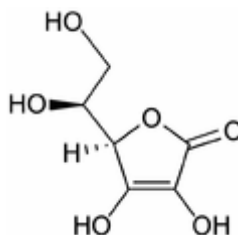
Výskyt:

Tokoferoly jsou schopny produkovat řasy patřící do rodu *Euglena*, *Chlorella* a *Chlamydomonas*. Ve všech řasách byl nalezen především typ α -tokoferolu. U řasy *Euglena gracilis* byla identifikována vysoká koncentrace α -tokoferolu, v menším množství typy β -, γ -, δ - tokoferolu a α -tokoferolguinolu a α -tokoferolguinonu [43].

5.4.2 Vitamin C

Charakteristika:

Základní biologicky aktivní sloučeninou je askorbová kyselina, která se vyskytuje ve čtyřech stereoizomerech, mezi něž patří L-askorbová kyselina (Obr. 12), D-askorbová kyselina a L- a D-izoaskorbová kyselina [10].

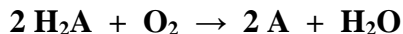


Obr. 12 L-askorbová kyselina

Mechanismus antioxidačního působení:

Askorbovou kyselinu oxiduje vzdušný kyslík a různá chemická oxidační činidla. Nejvýznamnější reakcí askorbové kyseliny je oxidace vzdušným kyslíkem. Probíhá v přítomnosti i nepřítomnosti iontů přechodných kovů. Aktivní jsou ionty trojmocného železa a dvojmocné mědi. Reakce závisí na pH prostředí, kdy v kyselém prostředí probíhá pomalu, rychlejší je v neutrálním a reakce je nejrychlejší v alkalickém prostředí.

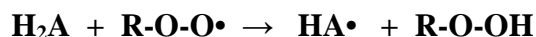
Podstatou mechanismu působení je přenos dvou elektronů z askorbové kyseliny na kyslík prostřednictvím Fe^{3+} . Komplex disociuje za vzniku dehydroaskorbové kyseliny a peroxidu vodíku, který může oxidovat další molekulu askorbové kyseliny, výslednou reakcí je:



(H_2A je kyselina askorbová, A je dehydroaskorbová kyselina)

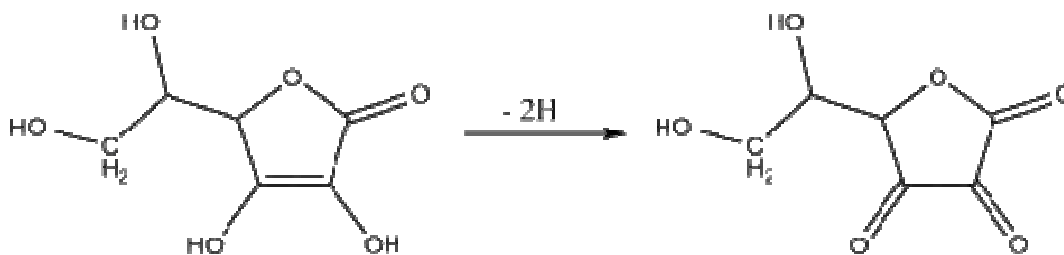
nebo může reagovat s Fe^{2+} ionty za vzniku hydroxylových iontů a hydroxylových radikálů ($\text{OH}\cdot$).

Askorbová kyselina je schopna brzdit řetězovou reakci s volnými radikály, které způsobují oxidaci lipidů:



($\text{R-O-O}\cdot$ je peroxylový radikál mastné kyseliny, $\text{HA}\cdot$ je askorbylradikál, R-O-OH je hydroperoxid mastné kyseliny)

Vzniklý askorbylradikál není schopen vyvolat řetězovou reakci a přeměňuje se na kyselinu askorbovou a dehydroaskorbovou kyselinu (Obr.13).



Obr. 13 Struktura kyseliny askorbové a dehydroaskorbové kyseliny

V kombinaci s tokoferoly je kyselina askorbová účinnějším antioxidantem. Ty přednostně reagují s volnými radikály lipidů. Vzniklé radikály tokoferolů jsou na fázovém rozhraní tuk-voda redukovány zpět na tokoferoly askorbovou kyselinou [10].

5.5 Fykokoloidy

Fykokoloidy jsou polysacharidy mořských řas s vysokou molekulární hmotností složené z polymerů cukerných jednotek.

Vyskytují se jako hlavní součást buněčných stěn řas. Jsou popsány jejich antioxidační, antivirové, protinádorové a antikoagulační účinky. Nejvíce extrahované polysacharidy z mořských řas jsou agar, karagenan a alginát (Obr. 14), díky jejich širokému využití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Široké použití těchto polysacharidů je založeno na jejich želírujících, viskózních a emulgačních vlastnostech [19].

5.5.1 Agar

Agar je sulfátový polysacharid, který obsahuje zbytky $\alpha(1-4)$ -3,6-anhydro-L-galaktózy, $\beta(1-3)$ -D-galaktózy a zbytky navázaného esterifikovaného sulfátu. Transformace cukrů manózy a glukózy, přes meziproducty D- a L-galaktózy do struktury tohoto polysacharidu dosud není přesně známá. Je předpokládáno, že dochází ke střídání zbytků D- a L-galaktopyranozyly vázaného na Golgiho aparát. Sulfátové L-galaktopyranozylové zbytky se vyskytují pouze na začátku biosyntézy agaru [19].

Agar byl extrahován z řas třídy *Rhodophyceae*, zejména z rodu *Gracilaria gracilis* nebo *Gracilaria bursa-pastoris*. Kvalita a obsah agaru v řasách závisí na klimatických podmínkách, ročním období a fázi reprodukčního cyklu řas. Podle kvality je poté používán v různých průmyslových odvětvích. Agar s nízkou kvalitou je používán v potravinářském průmyslu, na výrobu mražených krémů, pěnových cukrovinek nebo jako součást ovocných

šťáv. Agar střední kvality je využíván ve farmaceutickém průmyslu jako plnidlo léků, projímadel a různých tablet. Nejvyšší kvalita agaru je požadována v molekulární biologii [19].

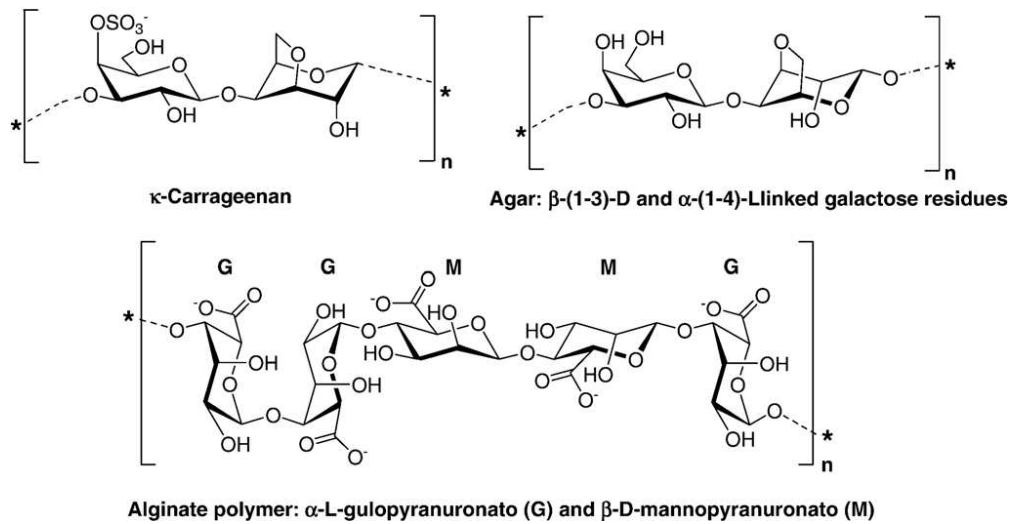
5.5.2 Karagenan

Karagenan je skupina přírodních ve vodě rozpustných sulfátových galaktanů. Jejich základní struktura je tvořena střídáním molekul α (1-4)-3,6-anhydro-D-galaktózy a β (1-3)-D-galaktózy. Přírodní karagenany jsou směsí různých sulfátových polysacharidů a jejich složení je velmi různorodé. Nejdůležitější komerčně vyráběné karagenany jsou λ -, ι -, κ -karagenany. Karagenany jsou více používány jako emulze nebo stabilizátory do mnoha potravin, zejména do mléčných výrobků, zmrzlin, pudinků, džemů a mastných výrobků z důvodu jejich zahuštění [19].

5.5.3 Algináty

Algináty jsou skupinou lineárních polysacharidů, které se skládají ze zbytků 1, 4 β -D-manuronové kyseliny a α -L-glukuronové kyseliny. Jsou používány především v textilním průmyslu pro tvorbu bavlněné příze [19]. Zdrojem alginátových vláken jsou mořské hnědé řasy, chaluhy. Alginát je z nich získáván vyluhováním v alkalickém prostředí. Při vyluhování vzniká rozpustná sodná sůl a vápenatá nerozpustná sůl. Směs sodné a vápenaté soli vede k tvorbě polymeru, který bobtná a vytváří gel. Zvláknění alginátových vláken probíhá ve vodném roztoku alginátu sodného za mokra ve srážecí lázni obsahující vápenaté soli, vlákna jsou současně protahována [46].

Algináty jsou využívány také pro schopnost tvorby viskózních roztoků v potravinářském i farmaceutickém průmyslu [19].



Obr. 14 Molekulární struktury polysacharidů agaru, karagenanu a alginátu [19]

6 VÝZNAMNÉ ŘASY S ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU

Bylo prokázáno, že extrakty mořských řas mají silné antioxidační vlastnosti a ochranné účinky proti poškození jater způsobené tetrachlormetanem, antiproliferativní účinky vůči buňkám, antimikrobiální aktivitu a antivirové vlastnosti [22].

6.1 Mořské červené řasy

Kappaphycus alvarezii

Jedná se o červenou mořskou řasu, která se pěstuje v mnoha tropických zemích. Je bohatým zdrojem kyseliny askorbové a polyfenolů [22].

Kappaphycus alvarezii patří mezi oblíbený druh k pěstování v akváriích. Z řasy je získáván karagenan [22], který je používán nejen jako homogenizátor mléčných výrobků, zubních past a želé, ale i k léčebným účelům [47].

Řasa se vyznačuje vysokou mírou růstu, může zdvojnásobit svoji velikost za 15 – 30 dnů. Roste do hloubky až 17 m, volně připojená ke korálům. Poskytuje útočiště různým bezobratlým živočichům. Je také důležitou potravou pro ryby [47].

Palmaria palmata - DULSE

Palmaria palmata (Obr. 15) je mořská červená řasa typická svou slanou a rybí chutí. Je bohatým zdrojem jódu, železa a vápníku. Z antioxidantů obsahuje fykobiliny zejména fykoerytrin. [48]. Je využívána jako koření k dochucení pokrmů [36].



Obr.15 *Palmaria palmata*

***Porphyra tenera* -NORI**

Nori (Obr. 16) je jedna z nejpoužívanějších červených řas, která se používá především pro přípravu sushi. Obsahuje téměř 50 % bílkovin, má vysoký obsah vitaminů, vápníku, jódu, železa a fosforu. Z antioxidantních sloučenin obsahuje sulfátové galaktany a allofykokyanin [48].



Obr.16 *Porphyra tenera*

6.2 Mořské hnědé řasy***Eisenia bicyclis* - ARAME**

Eisenia bicyclis (Obr. 17) je o mořská řasa rostoucí především v Tichém oceánu [40]. Je jednou z nejchutnějších řas [48] a bohatým zdrojem vápníku, zinku a jódu [49]. Z antioxidantů obsahuje fukoxantin, který je příčinou hnědého zbarvení těchto řas a další xantofyly [48].



Obr.17 *Eisenia bicyclis*

***Fucus vesiculosus* - KELP**

Kelp (Obr. 18) je dohněda zbarvená řasa, která je bohatým zdrojem proteinů, jódu, vápníku, draslíku a vitaminů skupiny B. Z antioxidantních sloučenin obsahuje floroglucinol a oxygenované xantofyly [48]. V potravinářství je řasa běžně používána pro přípravu alginátů, které slouží jako aditiva [36].



Obr.18 *Fucus vesiculosus*

***Hizikia fusiformis* - HIJIKI**

Hizikia fusiformis je hnědě zbarvená řasa obsahující 10 – 20 % bílkovin, vitamínu A, je nejbohatším zdrojem vápníku, železa a fosforu a velkého množství antioxidantů, např. fukoxantin a různé druhy oxygenovaných druhů xantofylů [48]. Obsahuje 14 krát více vápníku než mléko (1400 mg/100 g) [50].



Obr.19 *Hizikia fusiformis*

***Laminaria japonica* - KOMBU**

Hnědá řasa rostoucí ve studených vodách severních moří. Nejvyšší řasa roste ve velkých hloubkách oceánů, kde tvoří 2 - 3 cm široké listy, které dorůstají do několika metrových délek [36]. Řasa má vysoký obsah bílkovin, vitamínu A a vitamínů skupiny B, vápníku, železa a také vysoký obsah sodíku. Z antioxidantních sloučenin obsahuje floroglucinol a xantofyly [48]. Kombu snižuje hladinu cholesterolu a chrání organismus před vstřebáváním těžkých kovů. Je používána k dochucení salátů a polévek [36].



Obr. 20 *Laminaria japonica*

***Undaria pinnatifida* - WAKAME**

Undaria pinnatifida (Obr.21) je dlouhá mořská řasa s temně zelenými listy rostoucí zejména v Tichém oceánu [36]. Řasa má vysoký obsah bílkovin, vitamínu A a vápníku. Bohatá je také na mastné kyseliny, vitamíny B a C [50]. Z antioxidantních sloučenin jsou zastoupeny xantofyly a fukoxanthin. [48]. V Japonsku je používána v léčitelství k čištění krve, pro posílení krevního oběhu a podpoře imunitního systému [36].



Obr.21 *Undaria pinnatifida*

Padina antillarum

Je hnědá řasa, která se vyskytuje v tropických vodách. Používá se jako koření v sušených vločkách a jako sůl pro pacienty s vysokým krevním tlakem. Existují studie, které prokázaly, že obsahuje kyselinu alginovou, což je nejdůležitější polysacharid, který vykazuje vysoké antikoagulační a antivirové vlastnosti. Má vysoký obsah fenolických látek, které napomáhají ke zhášení kyslíkových radikálů a schopnosti redukovat železité ionty a jiné těžké kovy [22].

6.3 Modrozelené řasy

Spirulina platensis

Modrozelená planktonní řasa, je často zařazována mezi sinice, která je z 80 – 85 % tvořena polypeptidy. Tyto polypeptidy jsou nazývány fykobilizomy, jedná se o bílkovinné tělísko složené z fykobilinů, z nichž mezi nejdůležitější patří fykokyanin, allofykokyanin, fykoerytrin. Za antioxidační aktivitu je zodpovědný zejména fykokyanin [51]. Fykobilizomy jsou schopny pohlcovat zbytkové části světla za velmi nízkého osvětlení i ve velké hloubce. Poměr jednotlivých pigmentů se může měnit podle podmínek prostředí [35]. Tato řasa obsahuje mnoho dalších látek, které se mohou podílet na antioxidačních a antiproliferačních účincích [41]. Je bohatým zdrojem bílkovin, esenciálních aminokyselin a esenciálních MK, zvláště γ -linolové kyseliny, enzymů, β -karotenu, minerálů, především zinku a vitaminů skupiny B. Některé studie ukázaly, že řasy posilují imunitu, snižují hladinu cholesterolu, zlepšují funkci jater a při pravidelné konzumaci zvyšují množství prospěšných bakterií v gastrointestinálním traktu [21].

Extrakty řasy *Spirulina platensis* působí proti viru HIV. V zemích jihovýchodní Asie mají nízkou prevalenci AIDS ve srovnání se sousedními zeměmi. Konzumace těchto řas může mít také vliv na snížení kardiovaskulárních a nádorových onemocnění, v některých studiích byly prokázány protektivní účinky před vznikem aterosklerózy nebo tvorbou nádorů [41].

Jejich nutriční a léčivé vlastnosti byly také vyšetřovány experimentálně na samcích potkanů. Výsledky ukázaly, že fykokyanin chrání buňku před poškozením a stabilizaci volných radikálů. Zabraňuje ukládání nerozpustného šťavelanu sodného do ledvin [42].

6.4 Mořské zelené řasy

Caulerpa racemosa

Caulerpa racemosa (Obr. 22) je zelená mořská řasa, která roste především v tropických a v subtropických oblastech [22].

Je bohatá na kyselinu listovou, askorbovou a vitaminy A a B₁ (thiamin). Pro vysoký obsah lipofilních antioxidantů je často používána jako konzervační látka, která zabraňuje peroxidaci lipidů, jež způsobuje znehodnocení potravin [42]. V zemích jihovýchodní Asie se obvykle podává syrová jako salát nebo jedena vařená. Je také používána jako krmivo a v lidovém léčitelství na snížení krevního tlaku a při léčbě revmatizmu [22].



Obr. 22 *Caulerpa racemosa*

6.5 Sladkovodní zelené řasy

Chlorella

Je zelená sladkovodní řasa a patří mezi první mikroorganismy, které se podíleli na vzniku života a atmosféry na naší planetě, jež se po celou dobu přizpůsobovali životním podmínkám.. Díky vývoji po miliardy let si vytvořily řadu obranných látek [54].

Chlorella má vysokou nutriční hodnotou, díky vysokému obsahu bílkovin, zejména esenciálních aminokyselin, enzymů a minerálů. Obsahuje také β -karoten, vitaminy C, E, K, vitaminy komplexu B, cholin [13], chlorofyl (2,5 – 3 % v sušině) a především zdraví prospěšných karotenoidů (0,3 – 0,5 % v sušině), které jsou velmi účinnými antioxidanty. [54].

Používá se k regulaci cholesterolu, zlepšuje střevní funkci a stimuluje zdravý růst bakterií. Má silnou protinádorovou a antivirovou aktivitu, zvyšuje imunitní funkci a přispívá k obnově DNA. *Chlorella* obsahuje růstový faktor (CGF), který má schopnost regenerace poškozených tkání a orgánů. Její složky buněčné stěny mohou mít schopnost absorpce toxických kovů a škodlivin a podpořit normální střevní peristaltiku [13].

7 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY

Vzhledem k tomu, že řasy nepodléhají oxidačnímu účinku při skladování, je zřejmé, že jejich buňky mají obranný antioxidační systém. Řasy obsahují ochranné enzymy (superoxiddismutázu, peroxidázu, glutation peroxidázu, reduktázy, katalázy) a antioxidační sloučeniny (florotaniny, kyselinu askorbovou, tokoferol, karotenoidy, fosfolipidy, chlorofyly, bromofenoly, katechiny, aminokyseliny a polysacharidy) [23].

Je však obtížné vybrat jednotnou metodu pro stanovení antioxidační aktivity různých druhů řas. Tvorba antioxidačních látek a fenolických látek řas je ovlivněna několika vnějšími faktory, jako je lokalita, doba stínu, stupeň ozáření, hloubka vody, slanost a obsah živin ve vodě, popřípadě přítomnost antagonistických vodních rostlin. Mezi vnitřní faktory, které ovlivňují tvorbu antioxidačních sloučenin, patří druh řasy, stáří a reprodukční fáze [23].

Bylo popsáno mnoho metod používaných ke stanovení antioxidační aktivity. Postupy hodnotící míru antioxidačního působení jsou založeny na různých principech. Jedná se o přímou reakci s radikály (zhášení, vychytávání) nebo reakci s přechodnými kovy [52].

Antioxidační aktivitu látek lze měřit chemickými a fyzikálními metodami.

Chemické metody jsou většinou založeny na použití činidel vytvářejících s volnými kyslíkovými radikály barevné produkty. Intenzita zbarvení se měří spektrofotometricky. Fyzikální metody se zabývají změnou fyzikálních vlastností, které tyto procesy doprovází (ESR, stanovení redoxního potenciálu nebo chemiluminiscence) [11].

Metody stanovení mohou být kategorizovány do dvou skupin na metody hodnotící schopnost eliminovat radikály a na metody posuzující redoxní vlastnosti látek [52].

7.1 Metody hodnotící schopnost eliminovat radikály

Metody hodnotící schopnost eliminovat radikály spočívají v hodnocení schopnosti vzorků vychytávat volné radikály. Jde o radikály kyslíku (hydroxyl, peroxy, superoxidový anion-radikál) nebo syntetické stabilní radikály (DPPH, ABTS, galvinoxyl). Zvláštní skupinu tvoří metody testující schopnost inhibovat nebo zpomalovat lipidovou peroxidaci [52].

7.1.1 Metody hodnotící eliminaci syntetických radikálů

7.1.1.1 Metoda používající ABTS^{•+} (metoda TEAC)

Je jednou ze základních a nejpoužívanějších metod pro stanovení celkové antioxidační aktivity TAA. Testuje schopnost vzorku či látek zhaset kation-radikál ABTS^{•+} (2,2 – azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)) [52]. Kationt radikálu je připravován reakcí ABTS diamonné soli s peroxodisíranem nebo s oxidem v poměru 2:1 za vzniku modrozeleného zbarvení roztoku [11]. Zhášení radikálu ABTS^{•+} antioxidanty, které se chovají jako donory vodíku, se sleduje spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra ABTS^{•+}, nejčastěji se měří absorbance při 734 nm [52]. Vlivem antioxidantů dochází k odbarvení modrozelené reakční směsi, přičemž úbytek absorbance je úměrný antioxidační aktivitě [11].

Metoda je označována jako TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), výsledná antiradikálová aktivita vzorku je srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Troloxu (6 hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2- karboxylová kyselina).

Metoda stanovení TAA vzorků pomocí ABTS je jednoduchá, rychlá v provedení a má široké uplatnění, od hodnocení antioxidační aktivity látek různého původu až po směsné vzorky [52].

7.1.1.2 Metoda používající DPPH

Jedna ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. Spočívá v reakci testované látky s radikálem difenylpikrylhydrazylem–DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) [52]. DPPH je stabilní volný radikál, který může být díky své struktuře akceptorem vodíku a přejít do formy stabilní diamagnetické molekuly [11]. Což jsou pohybující se molekuly – elektron (nebo nukleon), které se chovají jako elektromagnet (magnetický dipól), přísluší mu tedy určitý magnetický moment. Látky bez permanentního magnetického momentu, které zeslabují magnetické pole, jsou označovány jako **diamagnetické** [53]. Při reakci dochází k redukci radikálu DPPH za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin) [52]. DPPH v metanolu má intenzivní fialové zbarvení, které se působením antioxidantů snižuje [11]. Reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky. [52]. Pokles absorbance při 517 nm se měří po uplynutí určitého konstantního času. Test lze provádět i na mikrotitračních destičkách. Reakci je

možno sledovat i metodou elektronové spinové rezonance nebo HPLC, při které je hodnocen pík radikálu DPPH.

Tato metoda je výhodná zvláště pro barevné vzorky, kdy se na rozdíl od spektrofotometrie zabarvení vzorku eliminuje. U směsných vzorků se radikálová aktivita někdy vyjadřuje v ekvivalentech askorbové kyseliny nebo v jednotkách standardu Troloxu [52].

7.1.1.3 Metoda používající galvinoxyl

K metodám využívajícím reakci antioxidantu se stabilními radikály patří také test s galvinoxylem (2,6-di-*terc*-butyl-4-[(3,5-di-*terc*-butyl-4-oxocyklohexa-2,5-dien-1 yliden) methyl]fenoxyl) [52].

Princip metody spočívá v redukcí stabilního radikálu galvinoxylu látkami poskytujícími vodík podobně jako při testu DPPH. Reakce se sleduje spektrofotometricky při vlnové délce 428 nm nebo na základě ESR [52].

7.1.1.4 Využití jiných stabilních radikálů

Pro hodnocení schopnosti látek poskytovat vodíkový atom nebo elektron se používá také syntetický volný radikál Fremyho sůl (nitrosodisulfonan draselný), detekce a hodnocení reakce se provádí pomocí ESR [52].

7.1.2 Metody hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů

7.1.2.1 Metoda ORAC

Při použití metody ORAC (oxygen radical absorbance capacity) je hodnocena schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci [52]. Používá se pro určení antioxidační aktivity ve vodě rozpustných antioxidačních látek pomocí fluorescenčních proteinů – β -fykoerytrinu (β -PE) nebo fluoresceinu (FL) [20].

ORAC_{PE} je detekce založená na sledování úbytku fluorescence β -PE po ataku radikály. Pro generaci peroxylových radikálů se používá AAPH (2,2.-azobis(izobutyrimidamid)-dihydrochlorid), při generaci hydroxylových radikálů pak systém $H_2O_2 + Cu^{2+}$ [52]. Metoda má široké využití a poskytuje významné informace o antioxidační kapacitě vzorků různého typu [52].

Uvádí se, že metoda $ORAC_{FL}$, u které je použita fluoresceinová sonda pro stanovení antioxidační aktivity polyfenolů, je exaktnější v důsledku přesného a jednoduchého reakčního mechanismu, který spočívá v klasickém přenosu vodíku [52].

7.1.2.2 Metody založené na vychytávání OH-radikálů

Při těchto metodách jsou OH-radikály generovány různými postupy (Fentonovou reakcí, UV fotolýzou peroxidu vodíku, fotolýzou syntetických derivátů). Detekce je založena na vychytávání radikálů látkami, jejichž reakční produkty lze snadno stanovit. Antioxidanty vychytávající $OH\cdot$ snižují tvorbu těchto produktů [52].

Jedním z možných postupů je vychytávání $OH\cdot$ salicylovou kyselinou. Vznikají hydroxylované produkty salicylové kyseliny, jejichž detekce a kvantifikace se provádí metodou HPLC s UV detekcí. Jiným postupem je použití 2,2-dimethyl-2H-pyrrol-1-oxidu (DMPO) jako lapače $OH\cdot$. Další možností je vychytávání $OH\cdot$ deoxyribózou, jejíž degradační produkty jsou stanovovány reakcí s thiobarbiturovou kyselinou (TBA) [52].

Výhodou tohoto postupu je možnost stanovit jak antioxidační, tak i pro oxidační vlastnosti látek. Vychytávání $OH\cdot$ radikálů lze rovněž sledovat specifickou chemiluminiscenční sondou indoxyl- β -glukuronidem (IBG).

7.1.2.3 Metody založené na vychytávání superoxidového anion-radikálu

K produkci radikálu je užívána např. neenzymová reakce 5-methylfenazinium-methylsulfátu a NADH nebo systém xantin/xantinoxidáza. Vzniklý radikál redukuje nitrotetrazoliovou modř, detekce se provádí spektrofotometricky při 550 – 560 nm. Možná je i detekce metodou ESR na základě reakce superoxidového anion-radikálu s DMPO nebo kombinace HPLC a chemiluminiscence, přičemž je měřena inhibice chemiluminiscence luminolu látkami separovanými při HPLC a jelikož luminol je schopen reagovat s různými reaktivními kyslíkovými radikály, postihuje tato metoda široké spektrum antioxidační aktivity látek [52].

7.1.3 Metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace

Lipidová peroxidace vyvolaná volnými radikály je jedním z nejzávažnějších patologických pochodů v organismu. Proto se řada metod zaměřuje přímo na testování inhibičních účinků na lipidovou peroxidaci (LP). Látky potlačující LP mohou eliminovat jak iniciační

kyslíkové radikály (OH•), tak sekundárně vznikající radikálové meziprodukty (peroxyl, alkoxy radikály) anebo působí jako látky chelatující ionty přechodných kovů. Bylo vyvinuto mnoho metod hodnotících vliv antioxidantů na LP. Častým postupem je využití fosfolipidových liposomů, studium na mikrozomech, sledování LP na tkáňových homogenátech, mitochondriích nebo LDL-částicích [52].

K nejjednodušším testům patří metody založené na detekci produktů peroxidace linolové kyseliny, jejíž produkty jsou sledovány spektrometricky při 234 nm. Nebo postup využívající spřaženou oxidaci β -karotenu a linolové kyseliny vzdušným kyslíkem. Tato metoda je užívána pro hodnocení vzorků TAA, je vhodná i pro screening směsných vzorků. TBA-MDA metoda je jednou z nejužívanějších metod k hodnocení schopnosti látek eliminovat LP. Je založena na stanovení jednoho ze sekundárních produktů LP malondialdehydu (MDA) na základě jeho barevné reakce s kyselinou thiobarbiturovou (TBA), kdy je měřena absorbance při 532 nm. Spektrofotometrické stanovení produktů TBA-MDA je jednoduché a citlivé, avšak nespecifické, zahrnuje stanovení všech látek reagujících s TBA (TBARs produkty). Výhodou je, že test lze realizovat i na mikrotitračních destičkách. Specifičtější vyhodnocením kvantity produktů TBA-MDA je metoda HPLC [52].

7.2 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek

Neenzymové antioxidanty jsou často označovány jako redukční činidla, která reagují s oxidanty, redukuje je a tím je inaktivují. Díky tomu lze antioxidační aktivitu posuzovat na základě redukční schopnosti látky [52].

7.2.1 Metody chemické

7.2.1.1 Metoda FRAP

Je založena na principu redoxní reakce (ferric reducing antioxidant potential). Při této metodě redukuje antioxidant ze vzorku komplex Fe^{3+} -2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin) (Fe^{3+} -TPTZ). Jedná se o redukci téměř bezbarvých komplexů za vzniku fialově zbarvených produktů [11]. Nárůst absorbance při 793 nm odpovídající množství komplexu Fe^{2+} -TPTZ je mírou antioxidační aktivity vzorku. Měření probíhá při nefyziologicky nízké hodnotě pH (3, 6), kdy nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky a tioly.

Metoda FRAP tak odráží pouze schopnost látek redukovat ion Fe^{3+} a s celkovou antioxidační aktivitou vzorku nemusí pozitivně korelovat [52].

7.2.2 Elektrochemické metody

7.2.2.1 *Cyklická voltametrie*

Cyklická voltametrie hodnotí redoxní vlastnosti látek, indikuje schopnost látek odštěpovat elektrony. Při této metodě se na pracovní elektrodu vkládá potenciálový pulz s určitou rychlostí polarizace a současně se sledují proudové odezvy v roztoku studované látky. Získaný záznam zachycuje křivka – tzv. cyklický voltamogram. Poté redukční schopnosti látek se vyhodnocují dvěma parametry, a to z potenciálu anodického oxidačního píku E_A a jeho anodického proudu I_A . Čím je nižší hodnota E_A , tím látka snadněji odevzdává elektrony a může být lepším antioxidantem. Z hodnoty výšky proudu anodického píku I_A je možné určit koncentraci látek. Získané výsledky antioxidační aktivity korelují s hodnotami určenými jinými metodami, např. s lipoperoxidací a DPPH [52].

7.2.2.2 *HPLC metoda s elektrochemickou detekcí*

Elektroaktivní látky je možno velmi přesně a citlivě detegovat použitím amperometrických nebo coulochemických detektorů při analýze HPLC (HPLC-ECD). Při této metodě se na pracovní elektrodu detektoru vkládá určitý kladný potenciál. Pík látky se projeví pouze tehdy, je-li látka při tomto potenciálu oxidována [52]. Umožňuje pouze analyzovat komplexní směsi a identifikovat v nich jednotlivé účinné antioxidační komponenty na základě hodnoty potenciálu aplikovaného na elektrodu [55]. Hodnocení antioxidačních vlastností látek pomocí HPLC-ECD koreluje s různými jinými metodami na testování celkové antioxidační aktivity látek, např. s metodou DPPH [52].

ZÁVĚR

V důsledku nezdravé výživy, přejídáním se, nedostatku pohybu a pracovního vytížení spojeného se stresem dochází ke vzrůstajícímu výskytu civilizačních chorob (infarkt, obezita, cukrovka), zejména ve vyspělých oblastech světa.

V posledních letech jsou hledány potraviny, které by mohli vést ke zlepšení zdravotního stavu člověka a které by mohli zmírnit následky současného životního stylu lidí.

Látky, které napomáhají k ochraně buněk před škodlivými faktory, které ohrožují lidský organizmus se nazývají antioxidanty. Mezi známé zdroje antioxidantů patří především zelenina a ovoce, které jsou výborným zdrojem vlákniny. Jeden z netradičních a méně využívaných zdrojů antioxidantů jsou sladkovodní nebo mořské řasy. Konzumace řas má blahodárné účinky na lidský organizmus. Vyznačují se vysokou nutriční hodnotou, která je dána obsahem bílkovin, vlákniny, minerálních látek, vitaminů a nízkým obsahem lipidů. Snižují nadváhu a podporují trávení. Působí protizánětlivě, proti plísním, bakteriím a infekcím. Působí preventivně proti rakovině a zmírňují záněty a alergie. Vzhledem ke své schopnosti snižovat koncentraci cholesterolu, chrání srdce a cévy.

Řasy doposud v České republice nejsou vyhledávanou surovinou pro svůj charakteristický rybí zápach a intenzivní chuť. Pro přímou konzumaci jsou dostupné většinou v sušené podobě. V České republice jsou využívány hydrokoloidy řas jako surovina pro potravinářský průmysl pro výrobu přídatných látek nebo ve farmaceutickém průmyslu na výrobu léků a potravinových doplňků nebo krmných směsí.

Největší roční spotřebou řas na obyvatele připadá na asijské státy, zejména Japonsko a Thajsko. Jejich spotřeba vzrůstá díky využívání řas k výrobě asijských specialit, jako je sushi nebo k dochucování různých salátů a pokrmů.

V jiných zemích jsou zpracovávány pro výrobu biopaliv. K tomuto účelu jsou využívány řasy rodu *Chlorella*, díky vysokému obsahu bioaktivních látek, rychlému růstu a možnosti snadné kultivace.

Antioxidační sloučeniny, které jsou přítomny v řasách, jsou různého chemického složení. Struktura jejich molekul určuje jejich antioxidační aktivitu. Metody jejich stanovení jsou proto různé. Hodnota antioxidační aktivity je nejčastěji stanovena metodou TEAC, jsou však využívány i jiné metody, mezi něž patří DPPH a ORAC.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PASSWATER, R. A.: *O Antioxidantech*. Přel. Jana Novotná. Pragma. Praha 2002. 94 s, Přel. z: All about antioxidants . ISBN 80-7205-897-5.
- [2] KLAUDYSOVÁ, M.: *Antioxidanty a volné radikály*. [online]. [2009-10-25]. Dostupné z WWW: <<http://vitaminy.doktorka.cz/antioxidanty-volne-radikaly>>
- [3] WILSOVÁ, J.: Mořské řasy a jejich výživová hodnota. [online]. [2010-04-14]. Dostupné z WWW: <<http://www.eufic.org/article/cs/artid/Morske-rasy-a-jejich-vyzivna-hodnota>>
- [4] HEO, S., PARK, E., LEE, K., JEON, Y.: Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource Technology*. 2005, 96, s. 1613–1623.
- [5] ALLEN, V. G., POND, K. R., SAKER, K. E., et al.: Influence of a brown seaweed on antioxidants in forages and livestock—A review. *Journal of animal science*. 2001, 79, s. E21-E22.
- [6] JELÍNEK, M.: Antioxidanty. [online]. [2010-05-15]. Dostupné z WWW: <<http://www.sportsite.cz/vyziva/stravovani/antioxidanty-uvod.html>>
- [7] CABÁLKOVÁ, I.: Antioxidační účinky ovoce a zeleniny. [online]. [2010-05-15]. Dostupné z WWW: <http://is.muni.cz/th/142416/lf_b/AuOZ_nove.txt>
- [8] DIDDEN, W.: Oxidační stres. [online]. [2009-12-13]. Dostupné z WWW: <<http://www.genscan.com/cz/oxidacni-stres>>
- [9] KONDROVÁ, E., OZGOVÁ, Š., GUT, I.: Přirozené fenolické látky jako antioxidanty a proantioxidanty a mechanismy jejich působení. [online]. [2009-12-13]. Dostupné z WWW: <http://www.tigis.cz/prac/CPL_04_06/web/pdf/03_Kondrova_web.pdf>.
- [10] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999, s. 328. ISBN 80-902391-4-5.
- [11] FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ, L., HOLČAPEK, M.: Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. [online]. [2010-02-16]. Dostupné z WWW: <<http://www.vscht.cz/anl/soutez2007/abstrakt-Fidler.pdf>>
- [12] CAMPANELLA, L., MARTINI, E., TOMASSETTI, M.: Antioxidant capacity of the algae using a biosensor method. *Talanta*. 2005, 66, s. 902–911.

- [13] HOFLAND, E., et al.: Astaxanthin. [online]. [cit. 2009-12-14]. Dostupné z WWW: <<http://www.algatech.com/astax.htm>>
- [14] LUKÁŠ, J.: Řasy - naděje i nebezpečí. [online]. [2010-01-15]. Dostupné z WWW: <<http://www.21stoleti.cz/view.php?cislocclanku=2005050628>>
- [15] KUDA, T., TSUNEKAWA, M., GOTO, H., ARAKI, Y.: Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005, 18, s. 625–633.
- [16] GENESAN, P., KUMAR, CH. S., BHASHAR, N.: Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*. 2008, 99, s. 2717–2723.
- [17] KYSILKA, J.: Sinice a řasy. [online]. [2010-02-03]. Dostupné z WWW: <<http://www.biotox.cz/naturstoff/biologie/bi-sinicerasy.html>>
- [18] McCLINTOCK, J. B., BAKER, B. J.: *Marine Chemical ecology*. Boca Raton (Florida), CRC Press LLC, 2001. 610 s. ISBN 0-8493-9064-8.
- [19] CARDOZO, K. H. M., GUARANTINI, T., BARROS, M. P., et al.: Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2007, Part C 146, s. 60–78
- [20] TSAO, R., DENG, Z.: Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*, 2004, 812, s. 85–99.
- [21] TARGETT, N. M., ARNOLD, T. M.: Predicting the effects of brown algal phlorotannins on marine herbivores in tropical and temperate oceans. *J. Phycol.* 1998, 34, s. 195-205.
- [22] CHEW, Y. L., LIM, Y. Y., OMAR, M., KHOO, K. S.: Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT*. 2008, 41, s. 1067–1072.
- [23] ZUBIA, M., ROBLEDO, D., FREILE-PELEGRIN, Y.: Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Appl Phycol*. 2007, 19, s. 449–458
- [24] JIROVSKÝ, D.: Vysokoučinné separační techniky v analýze fyziologicky významných látek. [2010-02-03]. Dostupné z WWW: <<http://ach.upol.cz/cs/laborator-elektroanalytickych-metod.php>>

- [25] TRNA, J., TÁBORSKÁ, E.: Přírodní polyfenolové antioxidanty. [online]. [2010-01-21]. Dostupné z WWW: <www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf>
- [26] HOZA I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II.* skriptum UTB ve Zlíně. UTB ve Zlíně 2006. ISBN 80-7318-395-1.
- [27] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 3.* Tábor: OSSIS, 1999, s. 368. ISBN 80-902391-5-3.
- [28] PÁNÍK, R.: Vliv teploty a aklimatizačních podmínek na kinetiku epoxidace pigmentů xantofylového cyklu. [online]. [2010-03-04]. Dostupné z WWW: <katedry.osu.cz/kch/svoc/ou/abstrakty/panik.doc>
- [29] PANDA, H.: *Aloe Vera Handbook Cultivation, Research Finding, Products, formulations, Extraction & Processing.* Kamla Nagar (Indie), Asia Pacific Business Press Inc. ISBN 81-7833-024-5.
- [30] CICHOKE, A. J.: *The complete book of enzyme therapy.* New York, A very Trade Paperback, 1999. 512 s. ISBN 0-89529-817-1.
- [31] GUIRY, M.: Seaweed – a tasty treat nepoved around the world. [online]. [2010-03-04]. Dostupné z WWW: <oysterfoodandculture.com/.../seaweed-a-tasty-treat-beloved-around-the-world/>
- [32] LEMBI, C. A., WAALAND, J. R.: *Algae and human affairs.* New York, Cambridge University Press, 1998. 590 s. ISBN 0521-321158.
- [33] JAHNS, P., LATOWSKI, D., STRZALKA, K.: Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle: The role of antenna proteins and membrane lipids. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2009, 1787, s. 3–14.
- [34] PANDEY, D. M., KANG, K., YEO, U.: Effects of excessive photon on the photosynthetic pigments and violaxanthin de-epoxidase activity in the xanthophyll cycle of spinach leaf. *Plant Science.* 2005, 168, s. 161–166.
- [35] POULÍČKOVÁ, A.: Sinice. [online]. [2009-05-15]. Dostupné z WWW: <<http://algologie.upol.cz/files/system/Sinice.pdf>>
- [36] ČERVENKA, P.: Řasy. [online]. [2009-05-15]. Dostupné z WWW: <<http://www.japan-eshop.com/index.php?show=produkty&category=898>>
- [37] SUKOVÁ, I.: Potraviny nového typu. [online]. [2009-12-13]. Dostupný z WWW: <http://www.agronavigator.cz/UserFiles/File/Sukov_PNTweb.pdf>

- [38] LAGARDE, D., VERMAAS, W.: The zeaxanthin biosynthesis enzyme β -carotene hydroxylase is involved in myxoxanthophyll synthesis in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Letters*. 1999, 454, s. 247-251.
- [39] DAVIDEK, J. JANÍČEK, G. POKORNÝ, J.: *Chemie potravin*. Praha 1: SNTL, 1983. 629 s. ISBN 04-815-83.
- [40] FOŘT, P.: *Výživa pro dokonalou kondici a zdraví*. Praha 7, Grada Publishing, a.s., 2005. 184 s. ISBN 80-247-1057-9
- [41] VÍTEK, L.: *Bilirubin a interní choroby*. Praha 7, Grada Publishing, a.s., 2009. 128 s. ISBN 978-80-247-2351-8.
- [42] FAROOQ, S. M., ASOKAN, D., SAKTHIVEL, R., KALAISELVI, P., VARALAKSHMI, P.: Salubrious effect of C-phycoyanin against oxalate-mediated renal cell injury. *Clinica Chimica Acta*. 2004, 348, s. 199–205.
- [43] VANDAMME, E. J.: *Biotechnology of vitamins, pigments and growth factors*. Barking, Essex (Anglie), Elsevier Science Publishers LTD, 1989. 439 s. ISBN 1-85-15166-325-8
- [44] LUKÁŠ, K., ŽÁK, A. a kolektiv: *Gastroenterologie a hepatologie*. Praha 7, Grada Publishing, a. s., 2007. 380 s. ISBN 978-80-2471787-6.
- [45] ZADÁK, Z.: *Výživa a intenzivní péče*. Praha 7, Grada Publishing, a. s., 2008. 542 s. ISBN 978-80-247-2844-5.
- [46] MILITKY, J.: Textilní materiály v medicíně [online]. [2010-05-07]. Dostupné z WWW: <<http://www.ft.tul.cz/clutex/data/HOSPIMedica/01Militky.pdf>>
- [47] SMITH, J, *Kappaphycus alvarezzi*. [online]. [2010-05-07]. Dostupné z WWW: <http://www.hawaii.edu/reefalgae/invasive_algae/rhodo/kappaphycus_alvarezzi.htm&ei=kWkIS-jJPJS>
- [48] HAAS, E. M., LEVIN, B.: *Staying Healthy with Nutrition*. California, Celestial Arts, 2006. 944 s. ISBN 978-158761-179-7.
- [49] COLLINS, A.: Arame seaweed. [online]. [2010-02-07]. Dostupné z WWW: <http://www.annecollins.com/diet_foods/arames-seaweed.htm>

- [50] TURU, M.: Mas allá del cocido de cochayuyo. [online]. [2010-05-11]. Dostupné z WWW: <http://thegreenbakery.blogspot.com/2009_05_01_archive.html>
- [51] ESTRADA, J. E. P., BESCÓS, P. B., FRESNO, A. M. V.: Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extrakt. *Il Farmaco*. 2001, 56, s. 497 – 500.
- [52] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H. TÁBORSKÁ, E.: Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chemické listy*. 2004, 98, s. 174 – 179. \
- [53] VLACHOVÁ, M., KÁŽA, J.: Magnetické látky. [online]. [2010-05-15]. Dostupné z WWW:
<http://www.techmania.cz/edutorium/art_exponaty.php?xkat=fyzika&xser=456c656b74f8696e612061206d61676e657469736d7573h&key=444>
- [54] MASOJÍDEK, J.: Mikrořasa Chlorella – unikátní zelená biomasa jako potravní doplněk. Dostupné z WWW: <<http://www.alga.cz/Chlorella.pdf>>
- [54] VLČEK, J., KLEJDUS, B., KUBÁŇ, V.: Stanovení fenolických látek v rostlinném materiálu kapilární elektroforézou a kapalinovou chromatografií. *Chemické listy*. 2002, 96, s. 39 – 44.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ROS	reaktivní kyslíkové radikály
$O_2^{\cdot-}$	superoxid
OH^{\cdot}	hydroxylový radikál
RO^{\cdot}	alkoxylový radikál
ROO^{\cdot}	hydroperoxylový radikál
H_2O_2	hydrogenperoxidový radikál
GSH	glutathion
MK	mastné kyseliny
Obr.	obrázek
VX – cyklus	violaxantinový cyklus
DDX – cyklus	diadinoxantinový cyklus
LX – cyklus	lutein-epoxidový cyklus
Vx	violaxantin
Ax	anteraxantin
Zx	zeaxantin
VDE	violaxantin de-epoxidáza
ZE	zeaxantin epoxidáza
ABTS ⁺	2,2-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6sulfonát)
TAA	celková antioxidační aktivita
DPPH	1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
Troxol	6 hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina
HPLC	kapalinová chromatografie
ESR	elektronová spinová rezonance
β -PE	β -fykoerytrin

AAPH	2,2-azobis(izobutyrimidamid)-dihydrochlorid
UV	ultrafialové záření
DMPO	2,2-dimethyl-2H-pyrrol-1-oxid
LP	lipidová peroxidace
MDA	malondialdehyd
TBA	thiobarbiturová kyselina
LDL	Low-density Lipoprotein
RTG	rentgenové záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Floroglucinol	16
Obr. 2. Flavan	19
Obr. 3. Kvercetin	20
Obr. 4. β -karoten	22
Obr. 5. Stavba chloroplastu řas	24
Obr. 6. Zeaxantin	25
Obr. 5. Lutein	25
Obr. 8. Astaxantin	26
Obr. 9. Chlorofyl a, b, d	27
Obr. 10. Chlorofyl c1, c2	28
Obr. 11. Tokoferol	30
Obr. 12. L-askorbová kyselina	32
Obr. 13. Struktura kyseliny askorbové a dehydroaskorbové kyseliny	33
Obr. 14. Molekulární struktura polysacharidů agaru, karagenan a alginátu	35
Obr. 15. <i>Palmaria palmata</i>	36
Obr. 16. <i>Porphyra tenera</i>	37
Obr. 17. <i>Eisenia bicyclis</i>	37
Obr. 18. <i>Fucus vesiculosus</i>	38
Obr. 19. <i>Hizikia fusiformis</i>	38
Obr. 20. <i>Laminaria japonica</i>	39
Obr. 21. <i>Undaria pinnatifida</i>	39
Obr. 22. <i>Caulerpa racemosa</i>	41

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Symboly a poločasy rozpadu volných radikálů	11
Tabulka 2: Výskyt chlorofylů.....	28