

Antioxidační aktivita u vybraných druhů volně rostoucích jedlých hub

Bc. Marcela Hádrová

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav analýzy a chemie potravin
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Marcela Hádrová**
Osobní číslo: **T11717**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Antioxidační aktivita u vybraných druhů volně
rostoucích jedlých hub**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- 1. Popište vybrané druhy hub**
- 2. Charakterizujte chemické složení vybraných druhů hub**
- 3. Prostudujte analytické metody stanovení antioxidantů**

II. Praktická část

- 1. Stanovte antioxidační aktivitu a množství polyfenolů u vybraných druhů hub**
- 2. Výsledky statisticky analyzujte a proveďte diskuzi s odbornou literaturou**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. **VELÍŠEK, J.,** Chemie potravin 2, OSSIS, Tábor 1999
2. **GORDON, M.,** Antioxidants and food stability, Antioxidants in Food – Practical Applications, Cambridge: Woodhead Publishing, 2001
3. **BREENE, W. M.,** Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms, Journal of Food Protection, 53(10): p. 883–894, 1990
4. **RACEK, J.,** Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění, nakl. Galén, 2003

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavel Hanuštiak
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

11. února 2013

Termín odevzdání diplomové práce:

17. května 2013

Ve Zlíně dne 11. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Hádrová Marcela, Bc.

Obor: Technologie, hygiena a ekonomika
výroby potravin

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 Zlíně

13.5.2013 Hádrová

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ 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, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

U volně rostoucích jedlých hub pocházejících ze dvou lokalit – Dubné v jižních Čechách a Ivanovice na Hané na jižní Moravě, byla stanovena antioxidační aktivita metodou zhášecího potenciálu volných radikálů činidla DPPH v rozsahu 1,32 až 17,80 mg ekvivalentu kyseliny askorbové na 1 g sušiny vzorku a celkový obsah fenolů za použití činidla Folin-Ciocalteu v rozmezí 0,62 až 11,12 mg ekvivalentu kyseliny gallové na 1 g sušiny. Bylo provedeno statistické vyhodnocení naměřených hodnot. Byla potvrzena střední míra korelace 0,65 celkového obsahu fenolů a antioxidační aktivity vzorků. Byl zjištěn variabilní obsah těchto látek v jednotlivých druzích hub, i ve stejných druzích hub sbíraných na různých lokalitách.

Klíčová slova: antioxidační aktivita, polyfenoly, houby, DPPH, Folin-Ciocalteu

ABSTRACT

Wild edible mushrooms – they were collected in Dubné in southern Bohemia and in Ivanovice na Hané in southern Moravia, were analyzed for antioxidant scavenging capacity DPPH ranges from 1.32 to 17.80 mg ascorbic acid in 1g dw, for total phenols by Folin-Ciocalteu reagent ranged from 0.62 to 11.12 mg gallic acid equivalent in 1g dw. The results were statistically analyzed. There was found middle correlation 0.65 between antioxidant capacity and total phenols. There was found variability in contents of analyzed compounds between species of mushrooms and between the some species mushrooms collected in different localities.

Keywords: Antioxidant Activities, Polyphenols, Mushrooms, DPPH, Folin-Ciocalteu

Poděkování

Chtěla bych poděkovat ing. Pavlu Hanuštiakovi za zajištění podmínek pro zpracování vzorků, za cenné rady, připomínky a čas věnovaný odborným konzultacím při zpracování této diplomové práce.

Chtěla bych také poděkovat mojí sestře Blance za pomoc při sběru hub, manželovi a dětem za podporu, pochopení a porozumění po dobu mého studia na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	12
I TEORETICKÁ ČÁST	14
1 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	15
1.1 VOLNÉ RADIKÁLY	15
1.2 VZNIK VOLNÝCH RADIKÁLŮ	15
1.3 ÚČINKY VOLNÝCH RADIKÁLŮ	16
1.4 MECHANISMY OCHRANY PŘED ÚČINKY VR.....	16
1.5 ROZDĚLENÍ ANTIOXIDANTŮ	17
1.5.1 Praktický způsob dělení antioxidantů	18
1.6 FENOLICKÉ ANTIOXIDANTY	18
1.7 ANTIOXIDANTY V POTRAVINÁCH	19
1.7.1 Antioxidanty a stabilita potravin	19
1.8 ANTIOXIDANTY V HOUBÁCH	21
2 POPIS VYBRANÝCH DRUHŮ HUB	22
2.1 SEZNAM ANALYZOVANÝCH HUB	22
2.2 POPIS VYBRANÝCH DRUHŮ HUB	23
3 CHARAKTERISTIKA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ HUB	41
3.1 HOUBY V LIDSKÉ VÝŽIVĚ	41
3.2 ZDRAVOTNÍ VÝZNAM HUB.....	42
3.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ.....	43
3.3.1 Výživová hodnota	43
3.3.2 Vlhkost:	43
3.3.3 Proteiny:	43
3.3.4 Tuky:	44
3.3.5 Sacharidy a vláknina:	44
3.3.6 Minerální látky:	44
3.3.7 Vitamíny:.....	44
3.3.8 Další látky:	45
3.3.9 Příklady složení jednotlivých druhů hub.....	45
4 ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ ANTIOXIDANTŮ	47
4.1 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	47
4.1.1 Metody založené na eliminaci radikálů.....	47
4.1.1.1 Syntetických radikálů	47
4.1.1.2 kyslíkových radikálů	47
4.1.1.3 Eliminaci lipidové peroxidace	48
4.1.2 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek.....	48
4.1.2.1 Metody chemické.....	48
4.1.2.2 Metody elektrochemické.....	48
4.1.3 Metody měření aktuálního stavu tuku nebo vzorku potravin.....	49
4.1.3.1 Senzorická analýza	49
4.1.3.2 Instrumentální analýza.....	49
4.1.4 Metody monitorující změny při oxidaci.....	49
4.1.5 Prediktivní metody	49

4.1.6	Novější speciální metody	50
4.2	VÝBĚR EXTRAKČNÍHO ČINIDLA	50
II	PRAKTICKÁ ČÁST	51
5	CÍL PRÁCE	52
6	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY A MNOŽSTVÍ POLYFENOLŮ U VYBRANÝCH DRUHŮ HUB	53
6.1	SBĚR VZORKŮ	53
6.1.1	Charakteristika lokalit	53
6.2	STANOVENÍ SUŠINY VZORKŮ	55
6.3	PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ	55
6.4	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	57
6.4.1	Princip	57
6.4.2	Vlastní stanovení	57
6.4.2.1	Příprava pracovního ředění činidla	57
6.4.2.2	Příprava vzorků	57
6.4.2.3	Měření	57
6.4.2.4	Kalibrace	58
6.4.2.5	Výpočet	58
6.5	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ	60
6.5.1	Princip metody	60
6.5.1.1	Folin-Ciocalteuovo činidlo	60
6.5.1.2	Bezvodý uhličitan sodný,	60
6.5.1	Příprava vzorků	60
6.5.1.1	Měření	61
6.5.1.2	Kalibrace	61
6.5.1.3	Výpočet	61
7	STATISTICKÁ ANALÝZA VÝSLEDKŮ	63
7.1	VZTAH MEZI OBSAHEM POLYFENOLŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU	63
7.2	OBSAH POLYFENOLŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA V HOUBÁCH POCHÁZEJÍCÍCH Z OBOU LOKALIT	65
7.3	OBSAH POLYFENOLŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA V JEDNOTLIVÝCH DRUZÍCH HUB POCHÁZEJÍCÍCH Z OBOU LOKALIT	66
8	POROVNÁNÍ S ÚDAJI ZJIŠTĚNÝMI V LITERATUŘE	68
8.1	ZJIŠTĚNÉ ROZMEZÍ HODNOT	68
8.2	POROVNÁNÍ HODNOT	68
8.2.1	Antioxidační aktivita rodu <i>Agaricus</i>	68
8.2.2	Složení a antioxidační kapacita volně rostoucích hub	68
8.2.1	Chemické složení jednotlivých frakcí hub	69
8.3	VZTAH MEZI OBSAHEM POLYFENOLŮ A ANTIOXIDAČNÍ KAPACITOU	69
8.3.1	U pěstovaných hub	69
8.3.2	U volně rostoucích hub	71
8.3.3	Míra korelace u volně rostoucích hub	71
8.3.4	Vzájemný vztah mezi obsahem fenolických látek a antioxidační aktivitou u vybraných druhů ovoce, zeleniny a zrnin	71
8.3.5	Korelace mezi fenoly a antioxidační aktivitou u plodů Aronie	72

9	DISKUSE	73
	ZÁVĚR	75
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	76
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	80
	SEZNAM OBRÁZKŮ	81
	SEZNAM TABULEK	83
	SEZNAM GRAFŮ	84
	SEZNAM PŘÍLOH	85

ÚVOD

Na světě existují tisíce známých druhů hub, z nichž přibližně dva tisíce druhů je možno považovat za jedlé. Pro komerční účely je kultivováno asi dvacet druhů a jen čtyři až pět druhů je průmyslově produkováno.

Jednou z nejčastějších hub gastronomicky využívaných je Žampion dvouvýtrusý (*Agaricus bisporus*), má také nejvyšší podíl v objemu komerčně pěstovaných hub. Mladé plodnice žampionů dvouvýtrusých (*Agaricus bisporus*) představují něco málo přes polovinu celkové světové produkce hub, stoupá však také popularita speciálních hub, jako shiitake – houževnatec jedlý (*Lentinula edodes*), kukmák sklepní (*Volvariella volvacea*), hlíva ústřičná (*Pleurotus spp.*) a Penízovka sametová (*Flammulina velutipes*). Tyto druhy obsahují přiměřené množství proteinů dobré kvality a jsou dobrým zdrojem dietetické vlákniny, vitamínu C, vitamínů skupiny B a minerálních látek. Obsah lipidů je nízký, ale nenasycené a nasycené mastné kyseliny jsou v příznivém poměru 2,5 až 4,5 : 1.

Některé druhy hub (například shiitake) mohou akumulovat kadmium, selen a další těžké kovy, některé mohou obsahovat toxické substance, jako termolabilní kardiotoxický protein volvatoxin u hlívy, a flammutoxin u penízovky. Je třeba věnovat pozornost určení druhu, způsobu uchování a správné přípravě pokrmů z hub.

V oblasti Japonska a Číny byly houby užívány také v tradiční medicíně a jejich léčebné účinky jsou předmětem farmaceutických výzkumů. Jedná se především o houby dnes komerčně pěstované - Penízovka sametonohá (*Flammulina velutipes*) Houževnatec jedlý (*Lentinula edodes*) a Hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*). Rozvoj klinických studií, především v Japonsku, ukázal, že mnohé druhy mají zdravotní a léčebnou hodnotu po injekčním nebo orálním podání spočívající v prevenci nebo léčbě nádorů, virových onemocnění (chřipka, obrna), snížení obsahu cholesterolu, prevence tvorby krevních sraženin, při vysokém krevním tlaku.

Je zřejmé, že houby obsahují určité unikátní a zajímavé chemické složky, které byly zjištěny při zajištěných a kontrolovaných klinických studiích na prestižních výzkumných institucích, a které mohou být účinné při léčbě nemocí odpovědných za hlavní příčiny úmrtí ve vyspělých zemích světa. Doufá se, že tento směr vývoje bude pokračovat a houby v lidské výživě, stejně jako rozvoj a zachování života pomocí medikamentů na této bázi, se stanou skutečností.

Byly izolovány a identifikovány mnohé aktivní substance, k nimž patří polysacharidy (například beta-glukany), deriváty nukleových kyselin a tuky, peptidy, proteiny a glykoproteiny. Některé mechanismy účinku byly objasněny, například antivirová aktivita způsobená stimulací produkce interferonu u hostitele. Další léčebné účinky si zaslouží být lépe zdokumentovány, mají význam a zaslouží si být potvrzeny příštími studii.

Experimentálními studii bylo prokázáno, že antioxidační aktivita mnoha fenolických látek rostlinného původu je vyšší, než účinek antioxidačních vitaminů, také celkový denní příjem polyfenolů byl odhadnut na 1 g, což je více, než příjem vitaminů s antioxidačním účinkem. Houby mohou být užívány také jako funkční potravina nebo jako výživové doplňky k posílení imunity.

Výzkumy týkající se volně rostoucích hub pocházejí především z Portugalska, kde jejich sběr a použití má dlouholetou tradici.

V naší zemi má sběr volně rostoucích hub a jejich kuchyňská příprava kořeny v minulosti. I když houby nejsou hlavní složkou výživy, slouží k aromatizaci, dochucení a i k vzhledovému ozvláštňení pokrmů. Jejich využití je známo také z tradic a folklóru.

Předkládaná práce si klade za cíl stanovení antioxidačních vlastností volně rostoucích jedlých hub sbíraných na dvou různých lokalitách v České republice.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

Mnoho druhů potravin rostlinného původu je zkoumáno z hlediska jejich antioxidační aktivity - jejich schopnosti chránit buňky před oxidačním poškozením [1].

1.1 Volné radikály

Jsou to ionty, atomy nebo molekuly, které se vyznačují samostatnou existencí a v elektronovém obalu mají jeden nebo více nepárových elektronů. Vznikají ztrátou nebo příjmem elektronu, mohou vznikat i štěpením, ale tento proces je energeticky náročný, nebývá obvyklý. Vyznačují se malou stabilitou a vysokou reaktivitou. Působením volných radikálů (VR) dochází k oxidačním účinkům, tato reakce bývá často řetězová. Nejběžnějším je superoxidový radikál $O_2^{\cdot-}$, nejnebezpečnější je hydroxylový radikál $\cdot OH$ [2].

S metabolismem kyslíkových radikálů souvisí také další látky, které neobsahují nepárový elektron jako peroxid vodíku, kyselina chlorná a další.

Rozeznáváme ROS – reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species) a RNS – reaktivní formy dusíku (reactive nitrogen species) [2].

1.2 Vznik volných radikálů

Volné radikály se do organismu dostávají z vnějšího prostředí nebo vznikají přímo v organismu během metabolických procesů.

- Exogenní zdroje

Volné radikály mohou vznikat působením ionizujícího záření (gama-paprsky, X-paprsky), vlivem UV záření, k jejich vzniku dochází během tepelné úpravy potravin, vlivem škodlivin - intoxikace, kouření a podobně.

- Endogenní zdroje

V těle vznikají volné radikály působením kyseliny močové (úrazy, nekrózy), v průběhu rozpadu fagocytů a makrofágů (záněty, sepse), při vzniku methemoglobinu, během syntézy prostaglandinu, důsledkem zvýšeného metabolismu estrogenů, autooxidací thiolů, vlivem hyperglykémie, v průběhu refuze po ischemii (výkon na kyslíkový dluh) [2], [3].

1.3 Účinky volných radikálů

Mohou napadat fosfolipidy, buněčné membrány, nukleové kyseliny (vznik mutageneze), bílkoviny (dochází k inaktivaci enzymů), nejčastěji však lipidy, kdy dochází k lipoperoxidaci (ukazatelem lipoperoxidace je stanovení biologicky aktivních látek izoprostanů).

1.4 Mechanismy ochrany před účinky VR

Zabránění tvorbě volných radikálů

- Vazbou iontů přechodných kovů – chelatační činidla
- Inhibice enzymů, katalyzujících tvorbu VR jako např. xantinoxidázy
- Odstranění peroxidu vodíku např. katalázy, peroxidáza

Odstranění již vzniklých VR

- enzym superoxiddismutáza
- látky s redukčním účinkem

Reparační systémy, které odstraňují molekuly poškozené VR

- poškozenou DNA upravují reparační endonukleázy
- u poškozených proteinů probíhá proteolytická degradace a eliminace
- poškozené mastné kyseliny jsou odštěpovány pomocí fosfolipáz
- glutationperoxidáza štěpí peroxid vodíku, lipidové hydroperoxydy a brání vzniku aldehydů

Často dochází ke kombinaci těchto mechanismů, například polyfenolické flavonoidy kromě redukčních účinků také váží kovy.

Je také nutné připomenout, že VR mají v organismu uplatnění například při procesu fagocytózy, v dýchacím řetězci a slouží také v organismu jako signální molekuly. Důležitá je rovnováha mezi VR a AO (antioxidanty). Při převaze VR dochází k oxidačnímu stresu a onemocnění z volných radikálů. Paradoxně i převaha AO může vést k nadměrné oxidaci.

Mezi nemoci, při nichž hrají významnou úlohu VR, patří arteroskleróza, diabetes mellitus, syndrom ischemie – refuze, zánětlivé stavy, zhoubné novotvary a další [2].

I přes mnohé zdroje volných radikálů vyskytujících se v prostředí, díky dostatečné přítomnosti antioxidantů ve výživě i uvnitř těla je zajištěno, že lidské buňky zůstanou zdravé [3].

1.5 Rozdělení antioxidantů

Je možné dle různých hledisek:

Tab. 1 Možnosti rozdělení antioxidantů

Kritérium	Skupina AO
Ovlivnění tvorby VR	primární – brání vzniku VR, např. chelatační látky
	sekundární – likvidují vzniklé VR např. enzym superoxiddismutáza
	terciální – upravují poškozené molekuly
Původ a způsob vstupu do organismu	endogenní – tvoří se v organismu
	exogenní – vstupují do organismu z prostředí – přirozené, nebo umělé
Rozpusťnost	hydrofilní – vstupují do organismu rychle
	lipofilní – vstupují pomaleji, působí v lipoproteinech a membránách, nazývané membránové AO
	amfofilní – spojují vlastnosti obou skupin
Lokalizace ve tkáních	extracelulární – mimo buňku
	intracelulární – působí uvnitř buňky, mají rozhodující význam
Velikost molekul	vysokomolekulární – představují je bílkoviny, enzymy
	nízkomolekulární
Mechanismus účinku	katalyzátory
	chelatační látky
	inhibitory enzymů
	ostatní
Typu VR (nebo ROS), na který působí	superoxid – superoxiddismutáza
	hydroxylový radikál – albumin

V praxi je těžké AO rozdělit dle jediného kritéria, protože ta se často překrývají a kombinují.

1.5.1 Praktický způsob dělení antioxidantů

Je jistým zjednodušením, i když i zde se mohou vyskytovat určité nepřesnosti, které jsou však akceptovatelné [2].

Tab. 2 Praktický způsob dělení antioxidantů

přirozené	hydrofilní	intracelulární	enzymové – superoxiddismutáza, peroxidázy a další
			neenzymové – glutation
		extracelulární	vysokomolekulární – bílkovinné povahy např. albumin
			nízkomolekulární – kys. Askorbová, polyfenoly, flavonoidy
	lipofilní	– vitamín E, vitamín A, karotenoidy	
amfofilní	– melatonin, bioflavonoidy		
umělé	– používané jako léky (lze sem zařadit i chemicky upravené přirozené látky)		

1.6 Fenolické antioxidanty

Fenolické antioxidanty tvoří Významnou skupinu AO, jedná se o látky obsahující aromatické jádro (nebo aromatická jádra). Jsou obsaženy v rostlinné stravě a patří mezi ně fenolické kyseliny, flavonoidy, bioflavonoidy, antioxidačně nejúčinnější jsou antokyany, z nich kvercetin [2].

Řada aromatických sloučenin, u nichž dva sousední atomy aromatického jádra nesou buď hydroxylové skupiny, nebo hydroxylovou a karbonylovou skupinu, tvoří komplexy s ionty přechodných prvků, což je společné pro množství rostlinných fenolových látek. Právě tato reakce s kovovými ionty je v souvislosti s jejich antioxidační aktivitou [4].

Podle nynějšího stavu poznání lze přírodní látky potravinářsky významných rostlin mající významnou oxidačně-redukční aktivitu roztrždit do několika skupin:

- jednoduché fenoly a fenolové kyseliny (odvozené od hydroxyskořicové kyseliny)
- jednoduché a kondenzované nebo polymerisované polyfenoly, stilbeny, terpeny, thioly a dithioly [5]

Mechanismy účinku

- s volnými radikály tvoří stabilní fenolické radikály
- váží peroxylové, hydroxylové a superoxidové radikály
- podílí se na regeneraci vitamín E a vitamínu C
- váží přechodné kovy v pevné cheláty
- inhibují enzymy katalyzující vznik VR

Vysoký obsah polyfenolických AO je především v tmavých druzích ovoce, zeleném čaji, červeném víně [2].

1.7 Antioxidanty v potravinách

U některých potravin rostlinného původu kromě nutriční hodnoty vystupuje do popředí jejich význam jako zdroj přírodních antioxidantů [6].

1.7.1 Antioxidanty a stabilita potravin

Jednou z příčin kažení potravin je oxidativní žluknutí tuků.

Je to spontánní reakce atmosférického kyslíku s tuky, známá jako autooxidace, nejběžnější proces vedoucí k oxidativní degradaci. Za přítomnosti světla a dalších citlivých látek, jako např. chlorofylu dochází k aktivaci kyslíku na oxygenový singlet, který může hrát iniciační úlohu v oxidativní degradaci. Při iniciaci tohoto procesu mohou hrát roli také přítomnost kovů včetně železa a mědi a přítomnost enzymu lipoxygenázy. (Lipoxygenáza je obsažena v rostlinných buňkách a hraje významnou úlohu při formování pozitivní chuti a vůně při žvýkání zeleniny) [3].

Kromě rozvoje žluklého zápachu, oxidativní kažení tuků může zapříčinit ztrátu barvy potravin reakcí s pigmenty, speciálně karotenoidy, vzájemnou reakcí s reaktivními mezičlánky, nazývanými volné radikály, vznikajícími v průběhu oxidace tuků [3].

Volné radikály mohou také vést ke snížení nutriční kvality potraviny reakcí s vitamíny, obzvláště vitamínem E, který se v potravinách ztrácí během tohoto procesu jako antioxidant. Produkty oxidace tuků také mohou reagovat s proteiny nebo nukleovými kyselinami v potravinách. Deriváty karbonylových sloučenin, pocházející z oxidace fosfolipidů mohou reagovat s proteiny, tímto způsobem vzniká aroma obsažené v pečeném mase [3].

Antioxidanty v potravinách jsou definovány jako látky, které jsou schopny vyrušit, zpomalit, nebo zabránit rozvoji žluknutí potravin nebo jiným oxidačním změnám. Prodlužují indukční dobu potravin.

Jsou schopny zastavit nebo zpomalit oxidaci dvěma způsoby: inaktivací volných radikálů – popisovány jako primární antioxidanty, nebo mechanismy, které neinaktivují přímo volné radikály – sekundární antioxidanty.

- Primární antioxidanty zahrnují fenolické sloučeniny, vitamin E, jsou často využity během indukčního období.
- Sekundární antioxidanty působí různými mechanismy včetně zabudování kovových iontů, inaktivace kyslíku, přeměna hydroxyperoxidů neradikálovým způsobem, absorbcí UV záření nebo deaktivací oxygenového singletu. Běžné sekundární antioxidanty prokazují antioxidační aktivitu pouze v přítomnosti dalších látek. To můžeme pozorovat v případě kyseliny citronové, která je aktivní pouze při přítomnosti kovových iontů, a také u redukčních činidel jako kyselina askorbová, která je aktivní v přítomnosti tokoferolu nebo jiného primárního antioxidantu [3].

Tab. 3 Mechanismus antioxidační aktivity

Antioxidační třída	Mechanismus AO	Příklady antioxidantů
Vlastní antioxidanty	Inaktivují volné radikály tuků	Fenolické sloučeniny
Stabilizátory hydroperoxidů	Prevence rozkladu hydroperoxidů na volné radikály	Fenolické sloučeniny
Synergisté	Podporují aktivitu vlastních antioxidantů	Kyselina citronová, kyselina askorbová
Chelátory kovů	Vážou kovy do inaktivních sloučenin	Kyselina fosforečná, Maillardovy sloučeniny, kyselina citronová
Zhášeče oxygenových singletů	Transformují oxygenové singlety na oxygenové triplet	Karoteny
Substance redukující hydroperoxydy	Redukují hydroperoxydy neradikálovým způsobem	Proteiny, aminokyseliny

Aktivita AO závisí nejen na jejich chemické struktuře, ale také na chemické reaktivitě vůči peroxylovým a dalším aktivním sloučeninám, a také na řadě dalších faktorů jako jsou koncentrace, teplota, světlo, typ sloučeniny, fyzikální vlastnosti systému, a také na mnohých mikrokomponentech působících jako prooxidační synergisté [3].

Většina přírodních antioxidantů je součástí složitých směsí, jejichž jednotlivé složky mohou - ve vztahu k antioxidační aktivitě – na sebe vzájemně působit různým způsobem, např. synergicky, nebo až inhibičně [6].

1.8 Antioxidanty v houbách

Houby jsou bohatým zdrojem antioxidantů, především fenolických sloučenin, flavonoidů, kyseliny askorbové, betakarotenů [7].

Z fenolických sloučenin v houbách se metodou kapalinové chromatografie nejčastěji stanovuje kyselina protokatechinová, hydroxybenzoová, kumarová, cinnamová [8].

Antioxidační vlastnosti sloučenin jsou v korelaci s jejich fenolickými složkami, extrakt z hub chrání DNA, extrakty mohou vylučovat volné radikály. Bylo pozorováno, že triterpenoidy jsou hlavní chemickou sloučeninou pro antioxidační vlastnosti [9].

Antioxidační aktivita a obsah fenolických látek se lišil i u jednotlivých subfrakcí vodných a metanolových extraktů i u různých druhů zkoumaných vzorků hub (*L. edodes*, *V. volvacea*), ethyl acetátová subtrakce *V. volvacea* by mohla být potenciálním zdrojem antioxidantů [10].

Kromě plodnic hub je možné využívat i antioxidačních vlastností podhoubí - tři druhy podhoubí volně dostupné v Thajsku: Trsnatec lupenitý (*Grifola frondosa*), Smrž obecný (*Morchella exculenta*) a Termitová houba (*Termitomyces albuminosus*). Byla zjištěna vysoká antioxidační aktivita, byly u nich stanoveny složky s antioxidačním účinkem – kyselina askorbová, betakaroten, tokoferoly a celkové fenoly. Obsah celkových fenolů může vysvětlovat vysoké antioxidační vlastnosti vzorků [11].

2 POPIS VYBRANÝCH DRUHŮ HUB

Houby byly sbírány ve dvou lokalitách v okolí Dubné v jižních Čechách a v okolí Ivanovic na Hané na jižní Moravě, vzorek pěstovaných žampionů byl zakoupen v tržní síti.

2.1 Seznam analyzovaných hub

Český a latinský název vybraných druhů hub je uveden v tabulce 4 v abecední pořadí českého názvu [12], [13], [14].

Tab. 4 Vybrané druhy hub

Název český	Název latinský
Bedla vysoká	<i>Lepiota procera</i>
Bedla zardělá	<i>Leucoagaricus leucothites</i>
Holubinka olivová	<i>Russula olivacea</i>
Hřib borový	<i>Boletus pinophilus</i>
Hřib dubový	<i>Boletus aestivalis</i>
Hřib smrkový	<i>Boletus edulis</i>
Hřib strakoš	<i>Boletus variegatus</i>
Hřib žlutomasý	<i>Boletus chrysenteron</i>
Klouzek modřínový	<i>Suillus grevillei</i>
Klouzek žíhaný	<i>Suillus collinitus</i>
Kozák březový	<i>Leccinum scabrum</i>
Lakovka ametystová	<i>Laccaria amethystea</i>
Liška obecná	<i>Cantharellus cibarius</i>
Muchomůrka růžovka	<i>Amanita rubescens</i>
Pýchavka obecná	<i>Lycoperdon perlatum</i>
Ryzec peprný	<i>Lactarius piperatus</i>
Ryzec smrkový	<i>Lactarius deterrimus</i>
Sluka svraskalá	<i>Rozites caperata</i>
Suchohřib hnědý	<i>Xerocomus badius</i>
Šafránka červenožlutá	<i>Tricholomopsis rutilans</i>
Václavka obecná	<i>Armillaria mellea</i>
Žampion ovčí	<i>Agaricus arvensis</i>
Žampion dvouvýtrusý	<i>Agaricus bisporus</i>

2.2 Popis vybraných druhů hub

Určení druhu bylo provedeno na základě morfologických znaků v porovnání s odbornou literaturou, z literatury byly také čerpány poznatky ohledně kulinářského využití.

Bedla vysoká



Obr. 1 Bedla vysoká (A)



Obr. 2 Bedla vysoká (B)

Má hnědý, zpočátku palicovitý, později kuželovitý klobouk s hrbolem uprostřed, pokrývají ho hnědé šupiny. Bílý blanitý plstnatý závoj, bílý mohutný, kožovitý prsten s dvojitým ostřím. Lupeny jsou bílé, husté, třeň válcovitý, dole hlízovitě rozšířený. Roste hojně v prosvětlených lesích, nebo na vyhřátých okrajích lesů.

Jedlá, dobrá, není příliš vhodná k sušení, nejčastěji se klobouky obalují a smaží jako řízky [12], [13], [14].

Bedla zardělá*Obr. 3 Bedla zardělá*

Klobouk je bělavý, plochý, lysý. Závoj bělavý, prsten vytrvalý. Lupeny volné, v mládí bílé, pak narůžovělé, třeň bělavý, lysý. Roste hojně na travnatých místech.

V kuchyni se používá do směsí, omáček, k obalování a smažení [12], [13], [14].

Holubinka olivová*Obr. 4 Holubinka olivová (A)**Obr. 5 Holubinka olivová (B)*

Klobouk je fialový, vínový, olivově zelený, okrový nebo nachový, často s bělavými skvrnami, suchý. Lupeny jsou husté a křehké, světle, později až okrově žluté. Třeň je bílý, nebo částečně purpurově červený, válcovitý, mohutný. Roste hojně, zvláště na okrajích lesů.

Je jedlá, dobrá, vůně není výrazná, chuť má lahodnou, v kuchyni má všestranné využití [12], [13], [14].

Hřib borový



Obr. 6 Hřib borový (A)



Obr. 7 Hřib borový (B)

Klobouk má kaštanový, nebo nachově hnědý, hrbolatý, sametový. Rourky jsou v mládí bělavé, později až olivově žluté. Třeň je světle hnědý s načervenalým odstínem a nenápadnou síťkou, krátký, silný, kyjovitý. Roste zejména v písčítých borových lesích.

Výborný, jedlý, všestranně použitelný, oblíbený pro svou masitost [12], [13], [14].

Hřib dubový*Obr. 8 Hřib dubový (A)**Obr. 9 Hřib dubový (B)*

Klobouk je šedavě okrový nebo hnědý, kožovitý. Rourky jsou v mládí bílé, později žlutozelené. Třeň okrově šedohnědý se zřetelnou síťkou, válcovitý. Roste hojně ve smíšených nebo listnatých lesích, zejména pod duby a buky.

Má výraznou chuť i vůni, velmi chutný, všestranně použitelný [12], [13], [14].

Hřib smrkový*Obr. 10 Hřib smrkový (A)**Obr. 11 Hřib smrkový (B)*

Klobouk je světle až kaštanově hnědý, v mládí i čistě bílý, matný, ojiněný. Rourky jsou bílé, později až žlutozelené, otláčením nemění barvu.

Je výtečný, použití všestranné, patří k našim nejvíce ceněným houbám [12], [13], [14].

Hřib strakoš*Obr. 12 Hřib strakoš (A)*



Obr. 13 Hřib strakoš (B)

Klobouk je špinavě žlutý, olivově žlutý nebo žlutohnědý, polštářkovitý, plstnatý, šupinkatý, za vlhka je slizký. Rourky jsou hlínově až olivově hnědé, modrají na řezu. Třeň je žlutavý až žlutohnědý, válcovitý. Dužina se na řezu barví modrozeleně. Roste velmi hojně ve smíšených či jehličnatých lesích, zvláště borech.

Chuť je mírná, vůně pestřcová, řadí se k houbám střední jakosti, vhodný pro všechny způsoby konzervace [12], [13], [14].

Hřib žlutomasý



Obr. 14 Hřib žlutomasý

Klobouk je olivově až tmavě hnědý, sametový, později políčkovitě rozpukaný, mezery vínově červené. Rourky jsou žluté až žlutozelené, na řezu modrozelenaví. Třeň je nahoře žlutý, dole a uprostřed karmínově červený, válcovitý, často prohnutý. Dužina je měkká, žlutavá.

V kuchyni je považován za podřadnější houbu chuť je mírná, vůně nevýrazná, starší plodnice jsou měkké, náchylné k plesnivění, často červivé, vhodné jsou především mladé plodničky do polévek, omáček [12], [13], [14].

Klouzek modřínový (sličný)



Obr. 15 Klouzek modřínový

Klobouk je zlatožlutý, až oranžový, za vlhkého počasí lepkavý až slizký, pokožka jde snadno sloupnout. Rourky jsou žluté až olivově žlutohnědé. Třeň je žlutý, pokrytý rezavě červenými vločkami, nese bělavý prsten. Dužina je žlutá v celé plodnici, měkká a šťavnatá. Roste ve všech typech lesů pod modřínou.

Má příjemnou chuť i vůni, je to jeden z nejchutnějších klouzků [12], [13], [14].

Klouzek žíhaný



Obr. 16 Klouzek žíhaný (A)



Obr. 17 Klouzek žíhaný (B)

Klobouk je žlutohnědý až hnědorezavý, typicky výrazně tmavě paprscitě vláknitý. Třeň je hnědavě žlutý, na bázi s růžovou plstí, nemá prsten. Rourky jsou žlutohnědavé, později s olivovým nádechem. Roste pod borovicemi.

Má výraznou specifickou chuť i vůni, vhodný pro všechny druhy úprav [12], [13], [14].

Kozák březový



Obr. 18 Kozák březový

Klobouk je žlutohnědý, šedohnědý až červenohnědý, okraj tupý, jemně plstnatý. Rourky jsou bělavé, potom našedlé, otláčením nemění barvu. Třeň je šedohnědý, pokrytý hnědočernými šupinkami. Dužina je bělavá, později našedlá, ve stáří měkne. Roste pod břízami, tvoří s nimi mykorhizu.

Vhodný ke kuchyňské úpravě i k sušení [12], [13], [14].

Lakovka ametystová

Obr. 19 Lakovka ametystová

Typický je klobouk svou fialovou barvou, za sucha a ve stáří může být vybledlý až do krémová, na okraji jemně rýhovaný. Lupeny jsou fialové, prořídle, často zvlňené, třeň světle fialový, válcovitý, dužina vodnatá, nafialovělá. Roste pod listnatými stromy.

Je jedlá, používá se jen klobouk, třeň je dřevnatá, použití v kuchyni všestranné, chuť a vůně jsou nenápadné [12], [13], [14].

Liška obecná

Obr. 20 Liška obecná (A)



Obr. 21 Liška obecná (B)

Klobouk je žloutkově žlutý, vybledající, v mládí sklenutý, pak nálevkovitý se zprohýbaným okrajem. Nepravé lupeny – lišty jsou žluté, vidličnatě větvené, třeň je žlutý hladký a plný. Dužina je nažloutlá, masitá až tuhá. Roste zejména v jehličnatých lesích.

Jedna z nejznámějších hub, vůně příjemná, chuť mírně štiplavá, příjemně kořeněná. všestranně použitelná, dlouho vydrží čerstvá, pro svou tuhost těžce stravitelná [12], [13], [14].

Muchomůrka růžovka



Obr. 22 Muchomůrka růžovka (A)



Obr. 23 Muchomůrka růžovka (B)

Klobouk je bělorůžový, později masově červený, posetý bělavými útržky, v mládí kulovitý, pak sklenutý až plochý. Lupeny jsou bílé, husté, červeně skvrnité. Třeň je bělavý, dole načervenalý, rourkovitě dutý, prsten mohutný, závoj je bílý, blanitý. Dužina je bílá, stářím nebo porušením růžová. Roste hojně ve všech typech lesů.

Má nasládlou, velmi jemnou chuť, nevýraznou vůni. Často se pokládá za nejchutnější houbu, použití je mnohostranné, klobouky se často obalují jako řízek, nehodí se k sušení [12], [13], [14].

Pýchavka obecná



Obr. 24 Pýchavka obecná

Plodnice jsou v mládí bělavé, pak okrově hnědé, po zaschnutí papírovité, mají hruškovitý tvar, na vrcholku zaoblené, nebo s hrbolkem, jsou hustě pokryté bělavými ostny. Vnitřek plodnice je v mládí bílý a tuhý, později až olivově hnědý prach. Roste v lesích, parcích i na pastvinách.

Mladé plodnice mají lahodnou chuť a příjemnou vůni, velmi výživné a dobře stravitelné, špatně se suší. Starší houby jsou již nepoživatelné [12], [13], [14].

Ryzec peprný*Obr. 25 Ryzec peprný (A)**Obr. 26 Ryzec peprný (B)*

Klobouk je bílý až krémový, hladký matný, zprvu klenutý, brzy až nálevkovitý, s podvinutým okrajem., Lupeny jsou bílé až nažloutlé, tenké a velmi husté, třeň válcovitý, plný, tuhý. Mléko je bílé, neměnné, palčivé. Roste v lesích všech typů, hojně.

Má příjemnou vůni a ostře palčivou chuť. Používá se ve speciální úpravě, často se nakládá do octového nálevu [12], [13], [14].

Ryzec smrkový*Obr. 27 Ryzec smrkový*

Klobouk je červenooranžový, stářím a poraněním výrazně zelenající, v mládí mírně sklenutý, později vmáčknutý, okraj podvinutý. Lupeny jsou okrově oranžové, třeh je válcovitý, v různých odstínech oranžové barvy, mléko je oranžové, červené až špinavě zelené. Roste hojně v trávě na okrajích smrkových lesů.

Dužina je tvrdá a křehká, má ovocnou vůni a nahořklou svíravou chuť. Upravují se rychlým opečením na tuku, nebo se nakládají do sladkokyselého nálevu [12], [13], [14].

Sluka svraskalá*Obr. 28 Sluka svraskalá (A)*



Obr. 29 Sluka svraskalá (B)

Klobouk je kožovitě až žemlově žlutý, šedofialový až stříbřitý povlak, v mládí polokulovitý, později široce zvoncovitý, plochý až vmáčknutý. Za sucha na okrajích rozpraskává. Lupeny jsou hlínově žluté, rezavé, husté, přirostlé ke třeni. Třeň je bělavý až okrový, s nažloutlým prstenem. Roste na vlhčích podhorských smrčínách a bučinách.

Má příjemnou vůni i chuť, vhodná ke kuchyňské úpravě, k nakládání do sladkokyselého nálevu nebo do soli [12], [13], [14].

Suchohřib hnědý



Obr. 30 Suchohřib hnědý (A)



Obr. 31 Suchohřib hnědý (B)

Klobouk je hnědočervený až tmavohnědý, polokulovitý později plochý, matný, za mokra lepkavý. Rourky jsou nažloutlé až olivově zelené, po otlačení modrající. Třeň je krémově žlutý, vláknitý, soudkovitě ztloustlý. Roste v jehličnatých a smíšených lesích, ve vyšších polohách.

Dužina je na řezu modrající, tvrdá, u starších hub měkčí, má houbovou chuť i vůni. Výborná houba vhodná ke všem druhům kuchyňské úpravy včetně sušení [12], [13], [14].

Šafránka červenožlutá



Obr. 32 Šafránka červenožlutá (A)



Obr. 33 Šafránka červenožlutá (B)

Klobouk má žlutou barvu pokožky, drobné vínové nebo červenofialové šupinky, polokulovitý, později vyklenutý s podvinutým okrajem. Lupeny jsou zlatožluté, husté, třeh žlatožlutý červeně sametový, válcovitý, plný. Roste na pařezech či kořenech stromů, zejména borovic.

I přes horší kvalitu je houba oblíbená. Dužina je pevná, šťavnatá sytě žlutá, slabě nakyslé chuti. Plodnice mají méně příjemnou zatuchlou vůni, která se při kuchyňské úpravě ztrácí, použití všestranné [12], [13], [14].

Václavka obecná



Obr. 34 Václavka obecná

Klobouk je medově žlutý, okrový, žlutozelený, rezavohnědý až hnědý, pokrytý tmavšími šupinkami, Klobouk je polokulovitý a podehnutý, později rozprostřený s malým hrbolkem. Lupeny jsou husté v barvě bílé až hnědé. Třeň je žlutý až hnědý, válcovitý, dole rozšířený, s bílým nebo žlutavým prstenem. Roste koncem léta na kmenech nebo pařezech, často ve velkých trsech.

Pro kuchyňské použití sbíráme mladé kloboučky. Je nutná řádná tepelná úprava 20 – 25 minut, jinak může houba vyvolat zažívací obtíže až mírnou otravu. Používá se do polévek, na guláše, chutná je i v octovém nálevu [12], [13], [14].

Žampion ovčí



Obr. 35 Žampion ovčí

Klobouk je bělavý až krémovitý, kuželovitý až plochy, otláčením žlutne. Lupeny jsou tmavnoucí, bledé až černohnědé, husté. Třeň je bílý, válcovitý, v dospělosti dutý. Roste v lesích, na loukách i zahradách.

Je jednou z nejchutnějších hub, vhodný ke všem druhům kuchyňské úpravy i ke konzervování. V poslední době se hovoří o možných škodlivých účincích tohoto druhu [12], [13], [14].

Žampion dvouvýtrusý (Pečárka dvouvýtrusá)

Obr. 36 Žampion dvouvýtrusý

Je nejčastější pěstovanou jedlou houbou.

Volně rostoucí pečárka má hnědý klobouk jemně šupinatý, přimknutý ke třeni, později půlkruhový, třeně je nahnědlý, ve tvaru hrušky, v mládí zavalitý. Lupeny jsou masovité barvy, později tmavě hnědé.

Pěstované houby mají obvykle bílou barvu, byly však již vypěstovány i kmeny s hnědým zbarvením [12], [15].

3 CHARAKTERISTIKA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ HUB

Houby nejsou hlavní složkou výživy lidí, pokrmy především dochucují a vzhledově obohacují. Kromě základních živin se v houbách vyskytují i specifické látky, které činí některé druhy nejedlé, nebo dokonce jedovaté. V jiných druzích se ale vyskytují látky zdraví prospěšné, je tedy velmi důležité určení jednotlivých druhů.

Některé druhy se používaly i v lidovém léčitelství. Moderní výzkumy ukazují i jejich medicínské vlastnosti [16].

3.1 Houby v lidské výživě

Z několika tisíc druhů hub známých ve světě je něco kolem 2000 považováno za jedlé a z nich asi 20 je kultivováno pro komerční účely. Jen u čtyř až pěti druhů probíhá průmyslová produkce. [9]

U čtyř jedlých volně rostoucích hub ceněných v gastronomii – Václavka obecná (*Armillaria mellea*), Čirůvka májovka (*Calocybe gambosa*), Strmělka anýzka (*Clitocybe odora*), Hnojník obecný (*Coprinus comatus*) – bylo popsáno chemické složení (fenolické sloučeniny, vlhkost, proteiny, tuky, uhlovodíky, popeloviny, cukry, mastné kyseliny, tokoferoly a kyselina askorbová). Byly porovnávány jednak etanolické, tak i vodné roztoky. Nejvyšší koncentrace živin vykazoval Hnojník obecný, etanolický roztok prokazoval i nejvyšší anti-oxidační aktivitu. Všechny studované druhy hub mohou být považovány za vhodnou potravinu, využitelnou ve vyvážené stravě, díky jejich vysokému obsahu proteinů a karbohydrátů a nízkému obsahu tuku. Mohou být i zdrojem bioaktivních látek, vysokomolekulárních (polysacharidy) i nízkomolekulárních (fenolické látky, tokoferoly, kyselina askorbová) [9], [17].

Jedlé houby by mohly být významné pro nízkokalorickou dietu, jako nízkotučná funkční potravina [18].

Houby se dají využívat k přímé spotřebě, nebo i pro zpracovatelský průmysl - plodnice několika druhů houby hlívy ústříčné byly charakterizovány jako zdroj polysacharidů. Bylo zjištěno, že stopka, která je nevhodná jako potravina, obsahuje více nerozpustné vlákniny, než jedlá část ve všech případech a více beta-glukanů ve většině případů. Stává se tak dobrým zdrojem těchto doplňků stravy [19].

3.2 Zdravotní význam hub

Spojuje se tu folklór a tradiční medicína společně s léčebnými vlastnostmi prokázanými výzkumy. Je zajímavé, že běžně pěstované druhy hub prokazují obsah látek, které působí preventivně proti vývoji nádorových onemocnění, onemocnění srdce a onemocněním zapříčiněným virovými infekcemi [16].

Protirakovinný a protinádorový efekt - látky s protinádorovým efektem jsou ve své chemické podstatě variabilní, včetně polysacharidů, proteinů, glykoproteinů, nukleových kyselin a lipidů. Zatím není známo, které druhy prokazují léčebné účinky proti nejstrašnější lidské nemoci, ale výzkumy ukazují jistý potenciál. Ukazuje se, že začlenění pěstovaných hub, částečně shiitake a anokitake, do výživy by mohlo napomoci ochraně proti některým příznakům nemoci [16].

Antivirový účinek - například glykoproteinový extrakt z houby shiitake – sulfátovaný beta-glukan z shiitake byl testovaný jako účinný proti viru AIDS a testování dále probíhá. Peptidomannan – nazývaný KS-2 – extrahovaný z houževnatce jedlého (*L. edodes*) prokazoval antivirovou aktivitu proti viru chřipky. Mechanismus účinku probíhá prostřednictvím indukce aktivity interferonu [16].

U některých druhů hub (například kuřátka žlutá – *Ramaria flava*) byly prokázány i bakteriostatické účinky [20].

Snížení krevního cholesterolu - schopnost některých druhů hub snižovat cholesterol v krevním séru stejně jako další jiné účinky byly známy prostřednictvím folklóru. Byly prováděny výzkumy s látkou erigadenin, jehož hypocholesteromická aktivita probíhá prostřednictvím zvýšení vylučování cholesterolu ve stolici. Potvrzen byl také účinek NDF (neutrální rozpustná vláknina) aktivní prostřednictvím vazby solí kyseliny cholové [16].

Antithrombotický účinek - bylo objeveno, že nízkomolekulární sloučeniny extrahované z druhů houževnatce jedlého (*L. edodes*) a ucha Jídášova (*Auricularia*) a žampionu dvouvýtrusého (*A. bisporus*) byly schopny pozastavit srážení krevních destiček. Jako aktivní sloučeniny byly zjištěny nukleosidy a jiné deriváty nukleových kyselin [16].

Reiši, Leskokorka lesklá (*Ganoderma*) je další tradiční houbou, která není využívána v kuchyni, ale k lékařským účelům. Pokusy na myších bylo zjištěno, že vodní roztoky působí spíše na centrální nervový systém, zatímco jiné roztoky působí v játrech [16].

3.3 Chemické složení

Houby obecně obsahují hodnotné bílkoviny, nízký obsah tuků a škrobu a další bioaktivní látky [9], [16], [17].

Analýza 12 volně rostoucích hub pocházejících ze severního Portugalska dokazuje, že chemické složení hub různých druhů se může výrazně lišit [8].

Je také problematické potvrzení údajů publikovaných jinými výzkumnými pracemi, i přesto, že se jedná o stejný druh, protože složení i jednotlivých daných druhů může být velmi variabilní. Závisí na substrátu, ve kterém rostou, na klimatických podmínkách stanoviště, stáří, velikosti a dalších faktorech [16].

3.3.1 Výživová hodnota

Energetickou hodnotu je možné stanovit na základě chemického složení výpočtem dle vzorce: $\text{Energie (kcal)} = 4 \times (\text{g bílkovin} + \text{g sacharidů}) + 9 \times (\text{g lipidů})$ [17].

Chemické složení hub však nemůžeme přímo převádět do výživové hodnoty, protože jsou zde mnohé rozdíly ve stravitelnosti jednotlivých komponent [16].

3.3.2 Vlhkost:

Čerstvé houby obecně obsahují 85 – 95 % vlhkosti, sušené obsahují 5 – 20 % vlhkosti v závislosti na podmínkách sušení a skladování.

Vlhkost hub v čerstvém stavu může být velmi variabilní. Závisí na druhu, stáří a velikosti plodnic, na klimatických podmínkách stanoviště a okolnostech sběru. Data uváděná ve složení hub jsou proto často vyjádřena v sušině [16].

3.3.3 Proteiny:

Houby představují dobrý zdroj proteinů. Mezi jednotlivými druhy je značná variabilita v obsahu a složení proteinů. Na základě studií stravitelnosti byl upraven přepočítávací koeficient pro obsah proteinů v houbách ze zjištěného obsahu dusíku na $N \times 4,38$. Limitujícími aminokyselinami jsou nejčastěji metionin a cystin – sírné aminokyseliny. Houby také obsahují část aminokyselin ve volné formě, jedlé houby jsou často brány v úvahu pro jejich chuť a vůni [16].

3.3.4 Tuky:

Hrubý tuk v houbách obsahuje všechny druhy lipidů včetně volných mastných kyselin, mono-, di- a triglyceridy, steroly, sterol estery a fosfolipidy, představují však méně než 1 % hmotnosti. V průměru 2 – 8 % sušiny.

Vzhledem k minoritnímu obsahu má tuková frakce i minoritní nutriční význam, s výjimkou ergosterolu – provitamínu D. Dobrou zprávou je kvalitativní stránka tuku – mastné kyseliny jsou převážně nenasycené [16].

Ve vzorcích hub bylo detekováno 22 mastných kyselin, především kyselina olejová, palmitová a linolenová [17].

3.3.5 Sacharidy a vláknina:

Čerstvé houby obsahují 3 – 28 % sacharidů a 3 – 32 % vlákniny v sušině. Stavebním prvkem buněčných stěn je chitin a polymer N-acetylgukosaminu [16].

3.3.6 Minerální látky:

Houby obsahují všechny minerální látky obsažené v substrátě, v němž rostly. Celkový obsah popelovin byl 7,6 – 10,4 % sušiny. Hlavní zastoupení mají K, P, Na, Ca, Mg a prvky jako Cu, Zn, Fe, Mo, Cd. Minerální složení úzce souvisí s druhem, stářím a průměrem plodnic. Obsah minerálních látek ve volně rostoucích houbách bývá vyšší, než u pěstovaných. Jedna třetina železa v houbách je v dostupné formě [9].

Jako zdroj minerálních látek mají houby dobrou i špatnou stránku. Špatnou stránkou je akumulace kadmia a dalších těžkých kovů [16].

Analýzou volně rostoucích hub byl stanoven obsah kovů: obsah Fe byl vyšší než jiných kovů ve všech druzích hub, obsah Cu v některých druzích byl vysoký až 107 µg v 1g, obsah Cr a Ni se značně lišil dle jednotlivých druhů. Obsah Cd, Pb, Zn Mn v houbách nepřekročil standard FAO/WHO (1976) [21].

3.3.7 Vitamíny:

Houby obecně představují dobrý zdroj thiaminu (B₁), riboflavinu (B₂), niacinu, biotinu a kyseliny askorbové (vitamín C), existují však velké mezidruhové rozdíly [16].

Volně rostoucí houby jsou zdrojem vitamínů B, obsahují mnohem více vitamínu D₂, než houby pěstované ve tmě. V malém množství je obsažen i vitamín C, houby jsou chudé na vitamín A, D a E [9].

3.3.8 Další látky:

U žampionu dvouvýtrusého (*Agaricus bisporus*) byl zjištěn obsah phenylhydrazinu a derivátu kyseliny glutamové – zvaného agaritin, zařazeného mezi karcinogeny.

V čerstvých houbách shiitake jsou obsaženy sírné látky, dávající houbám vůni, jejich nutriční význam zatím není znám.

V hlívě ústříčné (*V. volvacea*) byl nalezen kardiotoxický volvatoxin A, v penízovce (*R. velutipes*) flamulotoxin. Toxicita a biologická aktivita byla eliminována vařením 20 minut při 100 °C [16].

3.3.9 Příklady složení jednotlivých druhů hub

Bylo porovnáváno složení nejběžnějších hub, zařazených podle rodů, výzkum byl prováděn v severním Mexiku. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.

Tab.5 Složení nejběžnějších druhů hub

	Macrolepiota (bedla)	Boletus (hřib)	Agaricus (žampion) Volně rostoucí	Agaricus (žampion) Kom. pěstovaný
Vlhkost (%)	86,08	84,2	77,57	90,63
Popeloviny (%)	0,50	0,22	1,17	0,96
Tuky (%)	0,76	0,62	1,31	0,29
Proteiny (%)	1,80	2,62	4,42	3,16
Celkový obsah uhlovodíků (%)	10,86	12,34	15,52	4,96
Energie (Kcal/100 g FW)	57,5	65,4	91,6	35,0

Vlhkost – průměr 77,57 – 91,13 %

Obsah tuků je dle očekávání nízký, 0,29 – 1,13 % .

Obsah proteinů 1,8 – 4,42 % .

Celkový obsah uhlovodíků – 4,96 – 15,2 % [18]

4 ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ ANTIOXIDANTŮ

Výběr metody použité ke stanovení AO závisí na druhu potravin, v níž má být stanoven antioxidační účinek, je třeba zvolit způsob urychlení oxidačního procesu a způsob monitorování oxidačního procesu.

4.1 Metody stanovení antioxidační aktivity

4.1.1 Metody založené na eliminaci radikálů

Jsou metody založené na eliminaci radikálů, které jsou v reakční směsi generovány nebo do ní přidávány. Jedná se o radikály kyslíkové (hydroxyl, peroxy, superoxidový anion-radikál) nebo syntetické stabilní radikály (DPPH, ABTS⁺, galvinoxyl). Tyto metody testují schopnost inhibice nebo zpomalení lipidové peroxidace

4.1.1.1 Syntetických radikálů

- Využívá schopnost zhaset kation-radikál **ABTS⁺** (2,2.-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)) označována jako TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Častěji se užívá uspořádání, při němž se antioxidant přidává k radikálu ABTS⁺ již vyprodukovanému, sériově na mikrotitračních destičkách, nebo v kombinaci s HPLC.
- Metoda používající **DPPH** (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), vyhodnocovaná spektrofotometricky při 517 nm, je možné i sledování reakce metodou elektronové spinové rezonance (ESR) nebo HPLC. Radikálová aktivita se vyjadřuje v ekvivalentech askorbové kyseliny nebo v jednotkách standardu Troloxu.
- test s **galvinoxylem** (2,6-di-terc-butyl-4-[(3,5-di-terc-butyl-4-oxocyklohexa-2,5-dien-1-yliden)methyl]fenoxyl) redukce stabilního radikálu galvinoxylu látkami poskytujícími vodík, sleduje se spektrofotometricky při vlnové délce 428 nm nebo na základě ESR.
- Stabilní radikály, např. syntetický volný radikál **Fremyho sůl** (nitrosodisulfonan draselný), detekce se provádí pomocí ESR [3], [6].

4.1.1.2 kyslíkových radikálů

- Jedná se o metody **ORAC** (oxygen radical absorbance capacity) v testovaném systému generují kyslíkové radikály a hodnotí se schopnost testované látky zpomalit

nebo zastavit radikálovou reakci. Jako sondu používá β -PE (ORACPE), metoda je jen omezeně použitelná u polyfenolů. Další možností je fluorescenční sonda, fluoresceinu (FL), metodika (ORACFL) je přesnější.

- metody založené na vychytávání OH-radikálů, kde OH-radikály jsou generovány různými postupy (Fentonovou reakcí, UV fotolýzou peroxidu vodíku, fotolýzou syntetických derivátů). Vychytávání radikálu je prováděno látkami, jejichž reakční produkty lze snadno stanovit, jako Salicylovou kyselinou, deoxyribosou.

4.1.1.3 *Eliminaci lipidové peroxidace*

Metody simulují situaci *in vivo*, provádějí se v pufovaných modelových systémech, které obsahují nenasycené mastné kyseliny a testovaný vzorek, využívají biologické membrány, mikroorganismy, tkáňové homogenity. Testy detekce produktů peroxidace linolové kyseliny, nejběžněji používaná metoda TBA-MDA stanovující malondialdehyd (MDA) [5], [6].

4.1.2 **Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek**

Posuzují antioxidační aktivitu na základě redukční schopnosti.

4.1.2.1 *Metody chemické*

Metoda **FRAP** (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). S tímto komplexem však pomalu reagují polyfenolické látky a thioly [6].

4.1.2.2 *Metody elektrochemické*

Cyklická volumetrie - redukční schopnost látek je vyhodnocována dvěma parametry, a to potenciál anodického oxidačního píku *EA* a jeho anodický proud *IA*.

HPLC metoda s elektrochemickou detekcí – užití amperometrických nebo coulochemických detektorů při analýze HPLC (HPLC-ECD), charakterizované retenčním časem a potenciálem [6].

4.1.3 Metody měření aktuálního stavu tuku nebo vzorku potravin

4.1.3.1 *Senzorická analýza*

Hodnocení nepříjemného zápachu vznikajícího během oxidace tuků smysly.

4.1.3.2 *Instrumentální analýza*

Instrumentální stanovení těkavých látek, které jsou hlavní složkou aroma.

- Statická analýza – plynová chromatografie
- Dynamická analýza – která zahrnuje vymytí vzorku dusíkem nebo heliem
- Přímá injekční metoda – pro potraviny s větším rozsahem těkavosti
- Peroxidové číslo je stále nejběžnější chemickou metodou měření oxidačních změn tuků, provádí se titrací tuku jodidem draselným.
- Konjugované dieny vznikají při hydroperoxidaci, absorbují UV záření při 233 – 234 nm, jednoduchá, rychlá a méně specifická metoda.
- Para-anisidinová hodnota – reaguje s aldehydy, detekují se absorbcí.
- Hodnota kyseliny tiobarbiturické (TBA) – tvořící chromogen s malonaldehyd pomocí absorpce.
- Octanová hodnota – octanoát vzniká rozkladem kyseliny linoleové
- Konjugovatelné oxidační produkty - redukováné borhydridem sodným.
- Infračervenou spektroskopií, která je schopna analyzovat hydroperoxydy v tucích [6].

4.1.4 Metody monitorující změny při oxidaci

- Úbytek polynenasycených mastných kyselin
- Změny hmotnosti

4.1.5 Prediktivní metody

Průběžně monitorují proces urychlené oxidace

- Diferenční scanové kalorimetry – monitorují exotermické a endotermické změny

- Index stability tuku – měří elektrickou vodivost, která se mění obsahem vody v tuku
- Přístrojové měření – oxipres, oxidograph [3]

4.1.6 Novější speciální metody

- Briggs-Rauscherova metoda využívající peroxylový radikál malonátu, jehož tvorba v umělém systému je moderována aplikovaným vzorkem. Kvantitativní hodnocení radikálu je oscilometrické, metoda je výjimečně citlivá.
- Další metoda spočívá ve vytvoření superoxidového anionu a jeho zhášení vzorkem, koncentrace tohoto radikálu se měří pomocí specifického biosenzoru.
- Osvědčují se rovněž metody neuvěřitelně jednoduché, např. směs měďnaté soli a činidla na sůl měďnou (bathocuproin), určuje se množství redukované formy vytvořené potravními antioxidanty [5].

4.2 Výběr extrakčního činidla

Byly prováděny pokusy s různými extrakčními činidly, petrolether a ethylacetát se ukázaly jako nevhodné extrakční činidlo, mnohem více látek přecházelo do vodných a nejvíce do metanolových a extraktů [10].

Volně rostoucí houby v Portugalsku byly podrobeny analýze chemického složení ve fenolické fázi (fenolické kyseliny - Protocatechinová, para-hydroxybenzoová, para-kumarová, cinamová), v polysacharidické frakci (různé druhy cukrů) a v lipidické fázi (kyselina lino-lová, stearová, tokoferoly).

Druhy s nejvyšším obsahem celkových fenolů (stanoveno 12,62 – 36,28 mg kyseliny gal-lové/g extraktu) vykazovaly i nejvyšší antioxidační vlastnosti [22].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo popsat vybrané druhy hub, shromáždit literární údaje týkající se chemického složení vybraných druhů hub a analytických metod stanovení antioxidantů. U vybraných druhů hub stanovit antioxidační aktivitu metodou s použitím stabilního volného radikálu – DPPH a množství polyfenolů pomocí činidla Folin-Ciocalteu, výsledky statisticky vyhodnotit a provést diskuzi s odbornou literaturou.

6 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY A MNOŽSTVÍ POLYFENOLŮ U VYBRANÝCH DRUHŮ HUB

Stanovení bylo provedeno u 30 vybraných vzorků hub.

6.1 Sběr vzorků

Vzorky byly sbírány ve dvou lokalitách

6.1.1 Charakteristika lokalit

Obec Dubné

Nachází se 7 km západně od Českých Budějovic mezi rybníky pod úpatím prvních kopců Blanského lesa. Houby jsem sbírala u Podvrážského rybníka, což je asi 2,5 km od obce Dubné, směrem na západ, nadmořská výška asi 440 m.n.m [23].

Geologické podloží oblasti tvoří metamorfní jednotky moldanubika České lesa. Jedná se o leukokratní ruly paleo až proterozoického stáří [24].

Průměrná teplota pro Jihočeský kraj za rok 2011 byla 8°C, roční úhrn srážek 641 mm [25], [26].

Ivanovice na Hané

Ivanovice na Hané jsou malé hanácké město a najdeme jej východním směrem od Vyškova a pod severními vrcholky Orlovické vrchoviny [27].

Geologické podloží tvoří naváté segmenty (spraš, sprašová hlína) v karpatském paleogénu. Geologický region: kvartér Českého masivu a Karpat, čtvrtohorní usazené horniny - hlíny, spraše, šterky, písky. Nadmořská výška je asi 214 m.n.m [28], [29].

Průměrná roční teplota 8 - 9 °C, roční úhrn srážek 501 mm [30], [31].

Jednotlivé druhy nasbírané v daných lokalitách jsou uvedeny v tabulce 6.

Tab. 6 Houby nasbírané v jednotlivých lokalitách

Lokalita	Nasbírané houby
Ivanovice na Hané	Bedla vysoká
	Bedla zardělá
	Holubinka olivová
	Hřib dubový
	Hřib žlutomasý
	Klouzek žíhaný
	Liška obecná
	Muchomůrka růžovka
	Pýchavka obecná
	Suchohřib hnědý
	Václavka obecná
	Žampion ovčí
	Dubné
Holubinka olivová	
Hřib borový	
Hřib dubový	
Hřib smrkový	
Hřib strakoš	
Klouzek modřínový	
Kozák březový	
Lakovka ametystová	
Liška obecná	
Muchomůrka růžovka	
Pýchavka obecná	
Ryzec peprný	
Ryzec smrkový	
Sluka svraskavá	
Suchohřib hnědý	
Šafránka červenožlutá	
Komerčně pěstované	Žampion dvouvýtrusý

Vzorek zakoupených komerčně pěstovaných žampionů – Žampiony čerstvé – *Agaricus bisporus* – datum sběru 19.10.2012, Spotřebujte do: 24.10.2012, Hmotnost: 400 g, SPOREA s.r.o. Prštné 78, 760 01 Zlín, Země původu: Polsko, Skladujte při 0 až 6 °C.

Nasbírané houby byly vyfoceny, označeny a zamrazeny při -18°C.

6.2 Stanovení sušiny vzorků

Kalíšek s pískem a skleněnou tyčinkou byl vysušen, zvážen, přidáno asi 3 g vzorku a znovu přesně zvážen. Kalíšky se vzorky byly vysušeny do konstantní hmotnosti a přesně zváženy. Na základě výpočtu byl stanoven obsah sušiny ve vzorcích, výpočet je uveden v příloze 1. Obsah sušiny je uveden v tabulce č. 7.

Tab. 7 Obsah sušiny v jednotlivých vzorcích hub

číslo	Vzorek	% obsah sušiny
7	Bedla vysoká (I)	11,74
12	Bedla zardělá (I)	16,13
5	Holubinka olivová (I)	13,66
8	Hřib dubový (I)	10,95
11	Hřib žlutomasý (I)	12,56
6	Klouzek žíhaný (I)	9,69
4	Muchomůrka růžovka (I)	6,66
3	Pýchavka obecná (I)	16,15
1	Suchohřib hnědý (I)	7,41
13	Václavka obecná	13,18
9	Žampion ovčí (I)	12,98
2	Liška obecná (I)	14,27
10	Žampion -pěstovaný	7,52
15	Bedla vysoká (D)	13,91
14	Holubinka olivová (D)	16,55
20	Hřib smrkový (D)	10,78
22	Hřib dubový (D)	12,45
21	Hřib borový (D)	12,85
28	Hřib strakoš (D)	8,57
27	Klouzek modřínový (D)	6,28
26	Kozák březový (D)	11,13
18	Lakovka ametystová (D)	14,43
17	Liška obecná (D)	14,27
30	Muchomůrka růžovka (D)	12,17
19	Pýchavka obecná (D)	13,63
29	Ryzec peprný (D)	12,95
16	Ryzec smrkový (D)	14,13
25	Sluka svraskavá (D)	10,86
23	Suchohřib hnědý (D)	11,05
24	Šafránka červenožlutá (D)	11,04

6.3 Příprava extraktů

Z každého vzorku byly připraveny 2 extrakty. Bylo přesně naváženo asi 5 vzorku, rozetřeno s čištěným mořským pískem a kvantitativně převedeno do 50 ml metanolu. Po 24 hodi-

nách při 25 °C byl extrakt zfiltrován a použit k dalším stanovení. Navážky při přípravě jednotlivých extraktů jsou uvedeny v tabulce 8.

Tab. 8 Navážky při přípravě extraktů

číslo	Vzorek	Navážka extrakt 1	Navážka extrakt 2
7	Bedla vysoká (I)	5,0012	5,0112
12	Bedla zardělá(I)	5,0390	4,9986
5	Holubinka olivová (I)	5,0003	5,0094
8	Hřib dubový (I)	5,0024	4,9962
11	Hřib žlutomasý (I)	5,0234	5,0159
6	Klouzek žíhaný (I)	4,9999	5,0083
4	Muchomůrka růžovka (I)	5,0098	5,0086
3	Pýchavka obecná (I)	5,0067	5,0085
1	Suchohřib hnědý (I)	5,0067	5,0085
13	Václavka obecná (I)	5,0216	5,0025
9	Žampion ovčí (I)	4,9946	5,0003
2	Liška obecná (I)	3,0052	*
10	Žampion -pěstovaný	5,0291	5,0012
15	Bedla vysoká (D)	5,0064	5,0080
14	Holubinka olivová (D)	4,9970	5,0224
20	Hřib smrkový (D)	5,0021	4,9994
22	Hřib dubový (D)	4,9950	4,9997
21	Hřib borový (D)	4,9936	5,0089
28	Hřib strakoš (D)	5,0080	5,0089
27	Klouzek modřínový (D)	5,0002	4,9990
26	Kozák březový (D)	5,0084	5,0005
18	Lakovka ametystová (D)	2,9963	*
17	Liška obecná (D)	5,0089	5,0078
30	Muchomůrka růžovka (D)	4,9967	5,0044
19	Pýchavka obecná (D)	5,0064	5,0056
29	Ryzec peprný (D)	5,0085	5,0049
16	Ryzec smrkový (D)	5,0002	5,0102
25	Sluka svraskavá (D)	4,9977	5,0099
23	Suchohřib hnědý (D)	5,0010	5,0003
24	Šafránka červenožlutá (D)	5,0063	5,0073

* Protože vzorku bylo malé množství, byl připraven pouze jeden extrakt asi 3 g vzorku do 30 ml metanolu.

6.4 Stanovení antioxidační aktivity

Stanovení zhášecí aktivity vzorku pomocí stabilního volného radikálu – DPPH.

6.4.1 Princip

Reakce testované látky se stabilním volným radikálem (defenylpikrylhydrazyl) **DPPH** (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) který je v etanolovém roztoku v barevné radikálové formě, během reakce dochází ke zhášení a redukci tohoto volného radikálu a vzniká DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Vyhodnocení se provádí spektrofotometricky při 515 nm, měříme procentuální pokles absorbance vzhledem k slepému vzorku. Vyjádření zhášecí radikálové aktivity vyjadřujeme v ekvivalentech askorbové kyseliny [5], [6], [10].

Výpočet obsahu antioxidantů:

Po dosazení do rovnice přímky získáme antioxidační aktivitu látek v extraktu vyjádřených jako ekvivalent standardu – kyseliny askorbové. Pro výpočet antioxidační aktivity látek ve vzorku násobíme 10 (5 g vzorku do 50 ml metanolu) [5].

6.4.2 Vlastní stanovení

6.4.2.1 Příprava pracovního ředění činidla

DPPH zásobní: navážíme 0,024 g činidla DPPH, rozpustíme ve 100 ml metanolu

DPPH pracovní: 10 ml zásobního roztoku + 45 ml metanolu

6.4.2.2 Příprava vzorků

Do 10 ml odměrné baňky postupně přidáváme:

450 μ l extraktu

8,55 ml pracovního roztoku činidla DPPH

Uložíme na temné místo na 60 minut.

6.4.2.3 Měření

Měření bylo provedeno přístrojem Spektrofotometr UV MINI 1240, při 515 nm

A_0 – absorbance pracovního roztoku

A_1 - absorbance měřeného vzorku

Z každého extraktu byl připraven vzorek, který byl měřen 2 x.

6.4.2.4 Kalibrace

Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno na základě kalibrační přímky kyseliny askorbové v ředění 40 – 800 mg/l.

Rovnice kalibrační přímky pro antioxidanty: $y = 0,487x + 2,715$

x = koncentrace kyseliny askorbové v mg/l,

y = úbytek absorbance v %

6.4.2.5 Výpočet

Výpočet antioxidační aktivity: $(A_0 - A_1)/A_0 * 100$ [v procentech]

Na základě rovnice kalibrační přímky standardu – kyseliny askorbové – byla stanovena antioxidační aktivita vzorků. Naměřené hodnoty a výpočet jsou uvedeny v příloze 2. Antioxidační aktivita metodou DPPH, vyjádřená v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na kg vzorku je uvedena v tabulce 9.

Tab. 9 Antioxidační aktivita metodou DPPH, vyjádřená v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na kg vzorku.

Vzorek		Ve vzorku		V sušině	
1	Suchohřib hnědý (I)	768,57 ±	66,23	10372,48 ±	893,88
2	Liška obecná (I)	1674,04 ±	2,20	11729,42 ±	15,40
3	Pýchavka obecná (I)	759,68 ±	370,81	4702,62 ±	2295,37
4	Muchomůrka růžovka (I)	351,87 ±	13,93	5285,52 ±	209,24
5	Holubinka olivová (I)	180,30 ±	26,34	1320,29 ±	192,87
6	Klouzek žiháný	1065,15 ±	161,81	10986,72 ±	1669,04
7	Bedla vysoká (I)	459,70 ±	65,06	3914,62 ±	554,06
8	Hřib dubový (I)	617,16 ±	170,82	5634,58 ±	1559,55
9	Žampion ovčí (I)	530,25 ±	9,12	4085,60 ±	70,23
10	Žampion -pěstovaný	371,01 ±	66,17	4930,93 ±	879,48
11	Hřib žlutomasý (I)	867,99 ±	131,48	6910,81 ±	1046,80
12	Bedla zardělá (I)	342,94 ±	32,56	2125,66 ±	201,80
13	Václavka obecná (I)	396,82 ±	66,85	3010,55 ±	507,19
14	Holubinka olivová (D)	314,54 ±	3,19	1900,87 ±	19,27
15	Bedla vysoká (D)	1408,77 ±	21,09	10129,70 ±	151,64
16	Ryzec smrkový (D)	832,27 ±	6,32	5888,84 ±	44,72
17	Liška obecná (D)	1069,07 ±	11,80	7490,61 ±	82,65
18	Lakovka ametystová (D)	922,70 ±	65,98	6394,61 ±	457,28
19	Pýchavka obecná (D)	1669,48 ±	18,80	12248,03 ±	137,93
20	Hřib smrkový (D)	1554,50 ±	26,57	14421,25 ±	246,47
21	Hřib borový (D)	1371,68 ±	81,69	10673,42 ±	635,69
22	Hřib dubový (D)	1107,11 ±	164,25	8893,66 ±	1319,46
23	Suchohřib hnědý (D)	1167,56 ±	12,47	10566,57 ±	112,85
24	Šafránka červenožlutá (D)	1221,17 ±	7,20	11061,22 ±	65,25
25	Sluka svraskavá (D)	799,22 ±	5,67	7360,29 ±	52,22
26	Kozák březový (D)	1150,95 ±	62,26	10343,02 ±	559,49
27	Klouzek modřínový (D)	1045,68 ±	10,10	16662,85 ±	161,01
28	Hřib strakoš (D)	1525,73 ±	35,84	17799,84 ±	349,06
29	Ryzec peprný (D)	841,20 ±	25,55	6494,26 ±	197,26
30	Muchomůrka růžovka (D)	1738,28 ±	7,91	14287,42 ±	65,02

6.5 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Stanovení pomocí činidla FOLIN-CIOCALTEU.

6.5.1 Princip metody

Veškeré fenolové sloučeniny obsažené ve vzorku se oxidují Folin-Ciocalteuovým činidlem. Toto činidlo se připravuje ze směsi kyseliny fosforečno-wolframové ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) a kyseliny fosforečno-molybdenové ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), činidlo po oxidaci fenolů redukuje na směs modrých oxidů wolframu (W_8O_{23}) a molybdenu (Mo_8O_{23}), reakce probíhá v zásaditém prostředí po přidání 20 % roztoku uhličitanu sodného.

Vzniklé modré zbarvení má absorpční maximum v oblasti 765 nm a je úměrné celkovému množství původně přítomných fenolových sloučenin [32].

6.5.1.1 Folin-Ciocalteuovo činidlo

Toto činidlo je k dostání v obchodní síti ve formě připravené k použití. Je možné ho připravit tímto způsobem: rozpustíte 100 g wolframanu sodného ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 25 g molybdenanu sodného ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) v 700 ml destilované vody. Přidejte 50 ml 85 % kyseliny fosforečné ($r_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$) a 100 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové ($r_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$). Uveďte do varu a vařte po dobu 10 hodin pod zpětným chladičem. Pak přidejte 150 g síranu lithného ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) a několik kapek bromu a vařte ještě jednou po dobu 15 minut. Ponechte zchladnout a doplňte destilovanou vodou na jeden litr [32].

6.5.1.2 Bezvodý uhličitan sodný,

Na_2CO_3 , doplněný na 20 % (hmotnost/objem) roztok vodou [32].

6.5.1 Příprava vzorků

Do 10 ml odměrné baňky přidáváme

0,1 ml extraktu

0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla

1,5 ml 20 % Na_2CO_3

Do 10 ml doplnit vodou

6.5.1.1 Měření

Měří se absorbance v absorpčním maximu při 765 nm - Spektrofotometr UV MINI 1240 oproti slepému vzorku. Slepý vzorek je připraven bez extraktu.

Z každého extraktu byl připraven vzorek, který byl měřen 2 x.

6.5.1.2 Kalibrace

Jako standard pro vyjádření obsahu polyfenolů byla použita kyselina gallová v ředění 50 – 4000 mg/l.

Rovnice kalibrační přímky pro polyfenoly: $y = 0,0009x + 0,0016$

x=koncentrace kyseliny Gallové v mg/l

y=naměř. absorbance

6.5.1.3 Výpočet

Po dosazení do rovnice přímky získáme koncentraci fenolických látek v extraktu vyjádřených jako ekvivalent standardu – kyseliny gallové. Pro výpočet obsahu fenolických látek ve vzorku násobíme 10 (5 g vzorku do 50 ml metanolu).

Získali jsme 4 výsledky pro každý vzorek, z nich byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Naměřené hodnoty a výpočty jsou uvedeny v příloze č. 3. Celkový obsah polyfenolů metodou Folin-Ciocalteu, vyjádřený v mg kyseliny gallové na kg vzorku je uveden v tabulce 10.

Tab. 10 Celkový obsah polyfenolů metodou Folin-Ciocalteu, vyjádřený v mg kyseliny gallové na kg vzorku

Vzorek		ve vzorku		v sušině	
1	Suchohřib hnědý (I)	397,35	± 36,27	5362,48	± 489,52
2	Liška obecná (I)	307,69	± 3,14	2155,87	± 21,98
3	Pýchavka obecná (I)	253,66	± 59,72	1570,22	± 369,69
4	Muchomůrka růžovka (I)	294,37	± 200,49	4421,82	± 3011,66
5	Holubinka olivová (I)	460,77	± 80,64	3374,17	± 590,54
6	Klouzek žiháný	192,44	± 92,97	1984,97	± 958,95
7	Bedla vysoká (I)	241,91	± 113,48	2060,02	± 966,36
8	Hřib dubový (I)	214,42	± 101,66	1957,60	± 928,11
9	Žampion ovčí (I)	177,18	± 35,45	1365,20	± 273,11
10	Žampion -pěstovaný	164,47	± 149,41	2185,94	± 1985,73
11	Hřib žlutomasý (I)	269,97	± 45,53	2149,46	± 362,47
12	Bedla zardělá (I)	280,07	± 35,21	1735,96	± 218,27
13	Václavka obecná (I)	81,42	± 34,76	617,69	± 263,72
14	Holubinka olivová (D)	607,76	± 200,25	3672,94	± 1210,22
15	Bedla vysoká (D)	1081,68	± 118,02	7777,79	± 848,64
16	Ryzec smrkový (D)	436,34	± 47,73	3087,39	± 337,75
17	Liška obecná (D)	1252,52	± 18,80	8775,95	± 131,76
18	Lakovka ametystová (D)	1075,94	± 44,41	7456,60	± 307,78
19	Pýchavka obecná (D)	684,64	± 183,01	5022,77	± 1342,61
20	Hřib smrkový (D)	672,60	± 139,43	6239,76	± 1293,52
21	Hřib borový (D)	956,78	± 282,69	7444,95	± 2199,72
22	Hřib dubový (D)	1173,78	± 156,33	9429,22	± 1255,81
23	Suchohřib hnědý (D)	869,79	± 166,61	7871,69	± 1507,87
24	Šafránka červenožlutá (D)	758,84	± 180,75	6873,48	± 1637,24
25	Sluka svraskavá (D)	717,17	± 43,90	6604,60	± 404,30
26	Kozák březový (D)	798,69	± 98,30	7177,44	± 883,41
27	Klouzek modřínový (D)	700,80	± 209,01	11167,25	± 3330,59
28	Hřib strakoš (D)	675,68	± 156,92	7882,75	± 1830,71
29	Ryzec peprný (D)	861,54	± 78,18	6651,26	± 603,59
30	Muchomůrka růžovka (D)	992,51	± 71,02	8157,70	± 583,70

7 STATISTICKÁ ANALÝZA VÝSLEDKŮ

Výsledky získané měřením jsem statisticky zpracovala.

Hledala jsem odpovědi na následující otázky:

- Pomocí regresní analýzy zjistit, jaký je vztah mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou
- Porovnat obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu v houbách sbíraných na různých stanovištích
- Porovnat obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu ve stejných druzích hub sbíraných na různých stanovištích

7.1 Vztah mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou

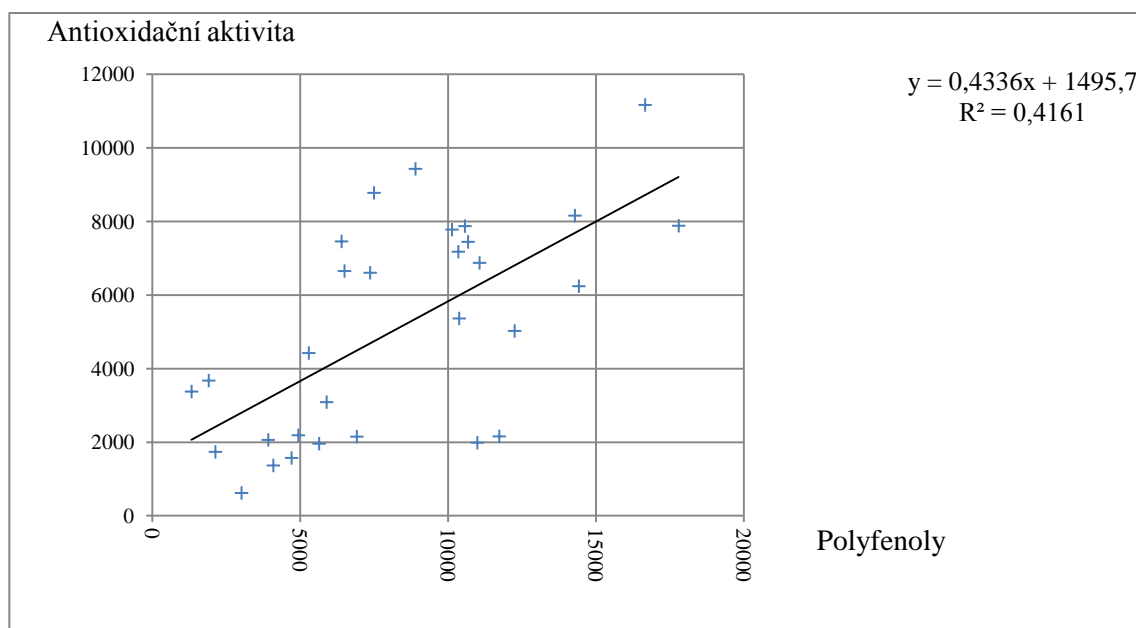
V tabulce je uveden obsah antioxidantů (v mg kys. askorbové na 1 kg sušiny) a celkový obsah polyfenolů (v mg kys. gallové na 1 kg sušiny).

Tab. 11 Obsah antioxidantů a celkový obsah polyfenolů

	Vzorek	Obsah antioxidantů	Obsah polyfenolů
1	Suchohřib hnědý (I)	10372,48	5362,48
2	Liška obecná (I)	11729,42	2155,87
3	Pýchavka obecná (I)	4702,62	1570,22
4	Muchomůrka růžovka (I)	5285,52	4421,82
5	Holubinka olivová (I)	1320,29	3374,17
6	Klouzek žíhaný	10986,72	1984,97
7	Bedla vysoká (I)	3914,62	2060,02
8	Hřib dubový (I)	5634,58	1957,60
9	Žampion ovčí (I)	4085,60	1365,20
10	Žampion -pěstovaný	4930,93	2185,94
11	Hřib žlutomasý (I)	6910,81	2149,46
12	Bedla zardělá (I)	2125,66	1735,96
13	Václavka obecná (I)	3010,55	617,69
14	Holubinka olivová (D)	1900,87	3672,94
15	Bedla vysoká (D)	10129,70	7777,79
16	Ryzec smrkový (D)	5888,84	3087,39
17	Liška obecná (D)	7490,61	8775,95
18	Lakovka amethystová (D)	6394,61	7456,60
19	Pýchavka obecná (D)	12248,03	5022,77
20	Hřib smrkový (D)	14421,25	6239,76

	Vzorek	Obsah antioxidantů	Obsah polyfenolů
21	Hřib borový (D)	10673,42	7444,95
22	Hřib dubový (D)	8893,66	9429,22
23	Suchohřib hnědý (D)	10566,57	7871,69
24	Šafránka červenožlutá (D)	11061,22	6873,48
25	Sluka svraskavá (D)	7360,29	6604,60
26	Kozák březový (D)	10343,02	7177,44
27	Klouzek modřínový (D)	16662,85	11167,25
28	Hřib strakoš (D)	17799,84	7882,75
29	Ryzec peprný (D)	6494,26	6651,26
30	Muchomůrka růžovka (D)	14287,42	8157,70
	průměr	8254,21	5074,50
	směr.odch.	4346,96	2921,84

Graf 1 Vztah mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou



Korelační koeficient: 0,645

Rovnice: $y = 0,4336x + 1495,7$

Interval spolehlivosti: $R^2 = 0,4161$

Byla potvrzena střední, přímá závislost

7.2 Obsah polyfenolů a antioxidační aktivita v houbách pocházejících z obou lokalit

V tabulce je uveden obsah antioxidantů (v mg kys. askorbové na 1 kg sušiny) a celkový obsah polyfenolů (v mg kys. gallové na 1 kg sušiny),

Tab. 12 Obsah polyfenolů a antioxidační aktivita v houbách pocházejících z obou lokalit

Antioxidační aktivita		Obsah polyfenolů	
Ivanovice	Dubné	Ivanovice	Dubné
3914,62	10129,70	2060,02	7777,79
2125,66	1900,87	1735,96	3672,94
1320,29	10673,42	3374,17	7444,95
5634,58	8893,66	1957,60	9429,22
6910,81	14421,25	2149,46	6239,76
10986,72	17799,84	1984,97	7882,75
11729,42	16662,85	2155,87	11167,25
5285,52	10343,02	4421,82	7177,44
4702,62	6394,61	1570,22	7456,60
10372,48	7490,61	5362,48	8775,95
3010,55	14287,42	617,69	8157,70
4085,60	12248,03	1365,20	5022,77
	6494,26		6651,26
	5888,84		3087,39
	7360,29		6604,60
	10566,57		7871,69
	11061,22		6873,48

Průměr	5839,91	10153,91	2396,29	7134,92
Směrodatná odchylka	3484,02	4000,90	1341,50	1897,26

F-test	0,58	0,21
t-test	0,01	0,00

Průměry obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity hub sbíraných na různých stanovištích se významně liší na hladině pravděpodobnosti 0,05.

Rozptyly obou hodnot se statisticky významně neliší.

7.3 Obsah polyfenolů a antioxidační aktivita v jednotlivých druzích hub pocházejících z obou lokalit

V tabulce 13 je uveden obsah antioxidantů (v mg kys. askorbové na 1 kg sušiny) a celkový obsah polyfenolů (v mg kys. gallové na 1 kg sušiny).

Tab. 13 Obsah polyfenolů a antioxidační aktivita v jednotlivých druzích hub pocházejících z obou lokalit

Druh	Antioxidační aktivita		Obsah polyfenolů	
	Ivanovice	Dubné	Ivanovice	Dubné
Bedla vysoká	3914,62	10129,70	2060,02	7777,79
Holubinka olivová	1320,29	1900,87	3374,17	3672,94
Hřib dubový	5634,58	8893,66	1957,60	9429,22
Liška obecná	11729,42	7490,61	2155,87	8775,95
Muchomůrka růžovka	5285,52	14287,42	4421,82	8157,70
Pýchavka obecná	4702,62	12248,03	1570,22	5022,77
Suchohřib hnědý	10372,48	10566,57	5362,48	7871,69

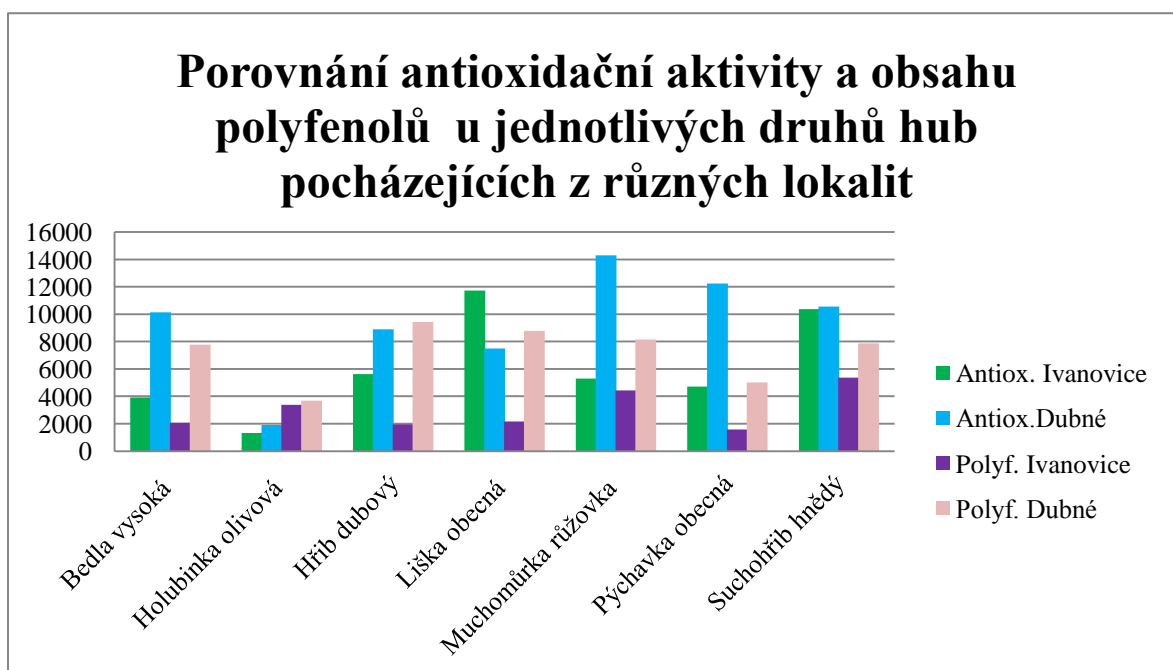
průměr	6137,07	9359,55	2986,02	7244,01
Směrodatná odchylka	3660,35	3958,52	1441,56	2094,52
F-test	0,8540628			0,385126
t-test	0,1199795			0,004127

Průměr obsahu polyfenolů hub sbíraných na různých stanovištích se liší na hladině významnosti 0,05.

Průměr antioxidační aktivity hub sbíraných na různých stanovištích se neliší na hladině významnosti 0,05.

Rozptyly obou hodnot se statisticky významně neliší.

Graf 2 Antioxidační aktivita a obsah polyfenolů v jednotlivých druzích hub pocházejících z různých lokalit



8 POROVNÁNÍ S ÚDAJI ZJIŠTĚNÝMI V LITERATUŘE

Ne vždy bylo možné výsledky přímo porovnat, často byly vybrány jiné druhy hub, byl zvolen jiný způsob stanovení, odlišný způsob úpravy vzorků nebo byly výsledky vztaženy k jinému standardu.

8.1 Zjištěné rozmezí hodnot

Byla stanovena antioxidační aktivita metodou zhášecího potenciálu volných radikálů činidla DPPH v rozsahu 1,32 až 17,80 mg ekvivalentu kyseliny askorbové na 1 g sušiny vzorku a celkový obsah fenolů za použití činidla Folin-Ciocalteu v rozmezí 0,62 až 11,12 mg ekvivalentu kyseliny gallové na 1 g sušiny

8.2 Porovnání hodnot

Hodnoty získané měřením a zjištěné z odborné literatury se řádově shodují.

8.2.1 Antioxidační aktivita rodu *Agaricus*

Byla stanovena chemickými, biochemickými a elektrochemickými metodami

Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH byly zjištěny hodnoty odpovídající 5,27 – 15,85 mg kys. askorbové v 1 g sušiny vzorku. Praktickými pokusy jsem určila 4,09 a 4,93 mg ekvivalentu kys. askorbové na 1 g sušiny v houbách rodu *Agaricus*.

Stanovení celkového obsahu fenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla byly zjištěny hodnoty odpovídající 2,72 – 8,95 mg kys. gallové na 1 g sušiny. Praktickými pokusy jsem určila 1,36 a 2,19 mg ekvivalentu kys. gallové na 1 g sušiny v houbách rodu *Agaricus* [7].

8.2.2 Složení a antioxidační kapacita volně rostoucích hub

Stanovení celkového obsahu polyfenolů, kyseliny askorbové, betakarotenů a lykopenu v houbách.

V *Agaricus arvensis* – pečárka ovčí – bylo stanoveno 2,83 mg kyseliny gallové na 1 g. Praktickými pokusy jsem u tohoto druhu určila 1,37 a 2,19 mg na g sušiny.

Antioxidační aktivita byla stanovena více způsoby – redukční potenciál, aktivita zhášení radikálů (DPPH metoda, žampion dosáhl hodnoty 68,3 %), inaktivace volných peroxidových radikálů, model s použitím betakarotenů a kyseliny linolové.

Bylo zjištěno, že obsah kyseliny askorbové, betakarotenů a lykopenů bylo v extraktu z hub velmi malé množství, což ukazuje na to, že polyfenoly mohou hrát významnou úlohu v antioxidační aktivitě hub [33].

8.2.1 Chemické složení jednotlivých frakcí hub

Volně rostoucí houby v Portugalsku byly podrobeny analýze chemického složení ve fenolické fázi (fenolické kyseliny - Protokatechinová, para-hydroxybenzoová, para-kumarová, skořicová), v polysacharidické frakci (různé druhy cukrů) a v lipidické fázi (kyselina linolová, stearová, tokoferoly).

Druhy s nejvyšším obsahem celkových fenolů (stanoveno 12,62 – 36,28 mg kyseliny gallové na g extraktu) vykazovaly i nejvyšší antioxidační vlastnosti [22].

8.3 Vztah mezi obsahem polyfenolů a antioxidační kapacitou

8.3.1 U pěstovaných hub

U vzorků – Žampion dvouvýtrusý (*Agaricus bisporus*), Houževnatec jedlý (*Lentinula edodes*), Hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*) a Trsnatec lupenitý (*Grifola frondosa*) – byla stanovena antioxidační kapacita (metodami ORAC, HORAC, SORAC a NORAC) celkové množství polyfenolů (metodou Folin-Ciocalteu) a obsah ergothioninu.

Byla zjištěna korelace mezi obsahem polyfenolů a antioxidační kapacitou ($R^2 = 0,87$) [34].

Zjištěný obsah fenolických látek a antioxidantů v metanolovém extraktu - obsah se vztahuje k sušině hub [10] je uveden v tabulce 14.

Tab. 14 Obsah fenolických látek a antioxidantů v houbách

Stanovený obsah	<i>Lentinus edodes</i> (houževnatec jedlý) - Shiitake	<i>Volvattriella volvacea</i> (hlíva ústříčná) straw mushroom
Celkový obsah fenolů (mg kys. gallové/g)	4,79	15,0
Zhášecí aktivita (%) DPPH roztoku 1,5 mg/ml	3,39	17,8

Studie se týká 4 druhů komerčně dostupných hub na Thajvanu – Hadovka smrdutá (*Dictyophora indusiata*), Trstnatec lupenitý (*Grifola frondosa*), Korálovec ježatý (*Hericium erinaceus*), Čirůvka obrovská (*Tricholoma giganteum*). Zhášecí efekt volných radikálů metodou DPPH byl stanoven při různých koncentracích metanolových roztoků. Antioxidační účinek byl stanoven i dalšími metodami, byl stanoven i obsah hlavních antioxidantů (celkové polyfenoly v rozmezí 7,61 až 16,28 mg kyseliny gallové na 1 g sušiny vzorku, kyselina askorbová, betakarotény, tokoferoly). Celkový obsah polyfenolů byl hlavním skutečně významným antioxidačním činitelem [35].

Komerční houby - penízovka sametonohá (*Flammulina velutipes*), houževnatec jedlý (*Lentinula edodes*), hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*) byla zjišťována antioxidační kapacita (zhášecí efekt DPPH 42,9 – 81,8 % v 6,4 mg/ml) a celkový obsah fenolů (metodou Folin-Ciocalteu v rozmezí 6,27 až 15,7 mg/g). Celkové fenoly byly hlavní skutečně významnou antioxidační složkou, která byla zjištěna [36].

Antioxidační aktivita – vzorky z Mexika

Pro stanovení antioxidační aktivity byla jako standard použita kyselina kávová, jako hlavní fenolická složka komerčních i volně rostoucích hub. Antioxidační aktivita byla stanovena metodou FRAP (ferric reducing/antioxidant power), výsledky prezentovány jako mM Fe²⁺ ve 100 g čerstvé hmoty, v rozmezí 0,94 až 4,49.

Tab. 15 Celkový obsah fenolů ve vzorcích z Mexika

Vzorek	Obsah fenolů vyjádřen jako mg CAE (ekvivalent kyseliny kávové) na 100 g čerstvé hmoty
Komerční žampion	45,6
Volně rostoucí žampion	308,3
Hřib	169,6

Korelace mezi hodnotami celkových fenolů a antioxidační aktivitou vykazuje dobrou korelaci $R^2=0,972$, což ukazuje, že polyfenoly mohou být hlavní antioxidační složkou obsaženou v houbách [18].

8.3.2 U volně rostoucích hub

Byly analyzovány houby pocházející ze severní části Portugalska, jedlé, nejedlé i jedovaté houby - muchomůrka (*Amanita*), slizák (*Chroogomphus*), sluka (*Cortinarius*), ryzec (*Lactarius*), holubinka (*Russula*), klouzek (*Suillus*), čirůvka (*Tricholoma*). Byla zjišťována antioxidační aktivita (metodou DPPH, redukční potenciál – pomocí železitých iontů a inhibice odbarvení betakarotenů). Z chemického složení byly stanoveny fenolické sloučeniny metodou kapalinové chromatografie (kyselina protokatechinová, hydroxybenzoová, kumarová, cinnamová), tokoferoly, kyselina askorbová, cukry a mastné kyseliny [8].

Navíc bylo možné dojít k závěru, že na antioxidační aktivitě studovaných hub se podílejí i jiné než analyzované antioxidační složky [8].

8.3.3 Míra korelace u volně rostoucích hub

V 16 volně rostoucích druzích hub byly stanoveny fenolické složky

Byly stanoveny zejména kyselina protokatechinová, hydroxybenzoová, kumarová a vanilová, z nefenolických sloučenin především kyselina cinnamová. Kyselina hydroxybenzoová byla nalezena ve většině vzorků.

Byla zjištěna nízká míra korelace mezi celkovým obsahem fenolů (ještě nižší u fenolických kyselin) a antioxidační aktivitou zjištěnou metodou DPPH. Jsou však doporučovány další studie, neboť je známo, že úroveň fenolických sloučenin závisí na mnoha faktorech, jako jsou kultivační technika, druh, kultivar, růstové podmínky, proces zrání, sklizňové a skladovací podmínky, stejně jako stresové faktory, jako jsou UV záření, infekce, patogeny a paraziti, poranění a znečištění a vystavení extrémním teplotám [37].

8.3.4 Vzájemný vztah mezi obsahem fenolických látek a antioxidační aktivitou u vybraných druhů ovoce, zeleniny a zrnin

Celkový obsah fenolů (Folin-Ciocalteu metoda) 169 – 10548 mg/100 g sušiny produktů.

Korelační koeficient mezi antioxidanty a fenoly je statisticky významný.

Vzájemný vztah mezi obsahem fenolických látek a antioxidační aktivitou u všech rostlin – pozitivní, vysoce významný,

U lněného semínka – $R^2 = 0,963$, u cereálních produktů $R^2 = 0,905$

U materiálů bohatých na anthokyany a rostlin s medicínskými účinky byl nevýznamný, což indikuje další faktory, jiné než fenolické povahy, které hrají hlavní roli u antioxidační aktivity rostlinných surovin [38].

8.3.5 Korelace mezi fenoly a antioxidační aktivitou u plodů Aronie

Příprava vzorků 10 g do 100 ml metanolu 24 hodin při 25 °C dále extrakce.

Celkové fenoly byly stanoveny metodou Folin-Ciocalteu – vyjádřeno jako ekvivalent g kyseliny gallové /kg čerstvé hmoty.

Antioxidační kapacita stanovena metodou DPPH – absorbance 515 nm, vyjádřeno v ekvivalentu kyseliny askorbové AAE/kg

Byl pozorován velmi vysoký obsah polyfenolů – 7,78 až 12,85 g kys.gallové/kg čerstvé hmoty. Antioxidační kapacita DPPH 15,96 g AAE/kg čerstvé hmoty

Vysoká hodnota korelačního koeficientu (antiox x phenol) $R^2 = 0,948$ $y = 1,2194x - 2,9191$ [39]

9 DISKUSE

Už během přípravy extraktů bylo možné pozorovat značné rozdíly v jednotlivých vzorcích, některé z nich měly výrazné houbové aroma jako např. hřib dubový, aroma jiných bylo méně výrazné. Ještě větší rozdíly bylo možné pozorovat v oblasti zbarvení – výluh z lišky obecné měl výrazně žlutou barvu, z hříbu borového byl červený, z muchomůrky růžovky bělavý. Už tehdy bylo možné usuzovat na značné mezidruhové rozdíly ve složení.

Později během měření se ukázalo, že ani dva extrakty připravené z jednoho druhu nejsou zcela homogenní. Zatímco mezi dvěma měřeními z jednoho extraktu byly minimální rozdíly, výsledky dvou extraktů připravených ze stejného vzorku hub se lišily podstatně více.

Autoři některých studií vádí, že napřed provedli lyofilizaci vzorků hub a teprve z tohoto jemného prášku prováděli vlastní stanovení [8].

I odborná literatura uvádí, že složení různých částí plodnic hub se může značně lišit.

- Předmětem studie byly jedlé volně rostoucí houby ze severního Portugalska - Ryzec pravý (*Lactarius deliciosus*) a Čirůvka havelka (*Tricholoma portentosum*), odděleně klobouky a třeně těchto hub, v kloboucích bylo prokázáno rozdílné množství celkových fenolických sloučenin a různá antioxidační aktivita než ve třeni [40].

I odbornou literaturou byly popsány různé faktory působící na chemické složení a obsah fenolů v houbách.

- je známo, že úroveň fenolických sloučenin závisí na mnoha faktorech, jako jsou kultivační technika, druh, kultivar, růstové podmínky, proces zrání, sklizňové a skladovací podmínky, stejně jako stresové faktory, jako jsou UV záření, infekce, patogeny a paraziti, poranění a znečištění a vystavení extrémním teplotám [37].

V oddíle – porovnání výsledků s odbornou literaturou je také zřejmé, že zatímco studie, porovnávající obsah polyfenolů a antioxidační kapacitu hub u komerčně pěstovaných vzorků vykazaly vyšší míru korelace, u volně rostoucích hub a u větší druhové variability byla zjištěna nižší míra korelace. Zde se projevuje velká mezidruhová variabilita ve složení. Je třeba si také uvědomit, že na antioxidační aktivitě vzorků se podílí kromě obsahu polyfenolů i další složky, jak uvádí závěry následující práce [8].

- Z chemického složení byly stanoveny fenolické sloučeniny metodou kapalinové chromatografie (kyselina protokatechinová, hydroxybenzoová, kumarová, skořicová), tokoferoly, kyselina askorbová, cukry a mastné kyseliny. Navíc bylo možné dojít k závěru, že na antioxidační aktivitě studovaných hub se podílejí i jiné než analyzované antioxidační složky [8].

Laboratorní stanovení a statistické vyhodnocení také prokázaly poměrně velkou závislost chemického složení hub na půdních a klimatických podmínkách prostředí.

ZÁVĚR

Byla stanovena antioxidační aktivita metodou zhášecího potenciálu volných radikálů činidla DPPH v rozsahu 1,32 až 17,80 mg ekvivalentu kyseliny askorbové na 1 g sušiny vzorku a celkový obsah fenolů za použití činidla Folin-Ciocalteu v rozmezí 0,62 až 11,12 mg ekvivalentu kyseliny gallové na 1 g sušiny, získané výsledky se řádově shodovaly s hodnotami uváděnými v literatuře.

Byla prokázána střední korelace 0,65 mezi těmito hodnotami.

Byla zjištěna značná variabilita složení jednotlivých druhů hub, i vzorků hub jednoho druhu pocházejících z různých lokalit.

V případě další podobné studie by byla vhodná homogenizace většího množství vzorku pro jednotlivá stanovení, čímž by se snížila variabilita připravovaných extraktů a získané výsledky by byly více reprezentativní.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Akata, I., Ergönül, B., Kalyoncu, F., *Chemical Compositions and Antioxidant Activities of 16 Wild Eddible Mushroom Species Grown in Anatolia*, Int. J. Pharmacol, 8 (2): p. 134 – 138, 2012
- [2] RACEK, J., 2003, *Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění*, Praha: Nakladatelství Galen, ISBN 80-7262-231-5
- [3] POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. (2001). *Antioxidants in Food - Practical Applications*, Cambridge: Woodhead Publishing, 2001. Dostupný z: http://www.knovel.com.proxy.k.utb.cz/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=545&VerticalID=0 z 6.2.2013
- [4] VELÍŠEK, J., *Chemie potravin 2*, OSSIS Tábor 1999, ISBN 80-902391
- [5] ZLOCH Z., ČELAKOVSKÝ, J., AUJEZDSKÁ, A., *Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu*, Ústav hygieny Lékařské fakulty UK Plzeň, Závěrečná zpráva o plnění výzkumného projektu podpořeného finančně Nadačním fondem Institutu Danone (v r. 2004), Plzeň, listopad 2004
- [6] PAULOVÁ H., BOCHOŘÁKOVÁ H., TÁBORSKÁ E., *Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro*, Chem. Listy, 98, 174 – 179, 2004
- [7] BARROS, L., FALCAO, S., BAPISTA, P., FREIRE, C., at al., *Antioxidant Activity of Agaricus spl, Mushrooms by Chemical, Biochemical and Electrochemical Assays*, Food Chemistry, 111 (2008), p. 61-66
- [8] REIS, FILIPA S.; HELENO, SANDRINA A.; BARROS, LILLIAN; et al., *Toward the Antioxidant and Chemical Characterization of Mycorrhizal Mushrooms from Northeast Portugal*, JOURNAL OF FOOD SCIENCE, 76 (6), 2011, p. C824-C830
- [9] WANI B. A., BODHA R. H., WANI A. H., *Nutritional and medicinal importance of mushrooms*, Journal of Medicinal Plants Research, 4(24): p.2598 - 2604, 2010
- [10] CHEUNG L. M., CHEUNG PETER C.K., *Mushroom Extracts with Antioxidant Activity against Lipid Peroxidation*, Food Chemistry 89, p. 403 – 409, 2005

- [11] MAU, J.L., CHANG C.N., HUANG S.J., at all, *Antioxidant Properties of Methanolic Extracts from Grifola frondosa, Morchella exculenta and Termitomyces albidinosus mycelia*, Food Chemistry, 87 (2004), p. 111 – 118
- [12] SMOTLACHA, M., ERHART, J., ERHARTOVÁ, M., 2004, *Houbařský atlas s osvědčenými kuchařskými recepty*, Vydání 2., Praha: Ottovo nakladatelství, ISBN 80-7181-863-1
- [13] ŠKUBALA, P., 2003, *Nový atlas hub do kapsy*, vydání 2., Bratislava: Vydavateľstvo Príroda, ISBN 80-07-01214-1
- [14] JANITOR, A., KABÁT, V., MAGÁL, J., ŠKUBALA, P., 2006, *Příručka houbaře*, Bratislava: Vydavateľstvo príroda, ISBN 80-07-01438-1
- [15] http://cs.wikipedia.org/wiki/Pečárka_dvouvýtrusá, staženo 17.3.2013
- [16] BREENE, W. M., Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms, Journal of Food Protection, 53(10): p.883-894, 1990
- [17] VAZ, JOSIANA A.; BARROS, LILLIAN; MARTINS, ANABELA; et al., *Chemical Composition of Wild Edible Mushrooms and Antioxidant Properties of their Water Soluble Polysaccharidic and Ethanolic Fractions*, FOOD CHEMISTRY, 126 (2), p. 610-616, 2011
- [18] PARRILA-ALVAREZ, E., de la ROSA, L. A., MARTÍNEZ, N. R., GONZÁLEZ AGUILAR, G.A., *Total Phenols and Antioxidant Activity of Commercial and Wild Mushrooms from Chihuahua, Mexico*, Cienc.Tecnol.Aliment, 5 (5), page 329-334, 2007
- [19] SYNYTSYA A., MÍČKOVÁ K., JABLONSKÝ I., SLUKOVÁ M., ČOPÍKOVÁ J. *Mushrooms of Genus Pleurotus as a Source fo Dietary Fibres and Glucans for Food Supplements*, Czech J. Food Sci., 26: p.441 – 446
- [20] GEZER, K., DURU M.E., KIVRAK, I, at all, *Free-radical Scvenging Capacity and Antimicrobial Activity of Wild Edible Mushroom from Turkey*, African Journal of Biotechnology, 5 (20), p. 1924-1928, 2006
- [21] ISILDAK, O., TURKEKUL, I., ELMASTAS, M., TUZEN, M., *Analysis of Heavy Metals in Some Wild-grown Edible Mushrooms from the Middle Black Sea Region, Turkey*, FOOD CHEMISTRY, 86 (2004), p. 547-552
- [22] HELENO SANDRINA A., BARROS, L., MARTINS, A. at al., *Phenolic, Polysaccharidic, and Lipidic Fractions of Mushrooms from Northeastern Portugal*, Chemi-

- cal Compounds with Antioxidant Properties, J. Agric. Food Chem., 2012, 60, p. 4634-4640
- [23] Dostupné z <http://www.dubne.cz/obec-dubne/zakladni-informace/>, 15.11.2012
- [24] Dostupné z http://www.geology.cz/app/ciselniky/lokalizace/show_map.php?mapa=g50&y=764100&x=1164800&s=1, 15.11.2012
- [25] Dostupné z <http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/meteo/ok/images/t11.gif> 15.11.2012
- [26] Dostupné z <http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/meteo/ok/images/>, 15.11.2012
- [27] Dostupné z <http://www.turistik.cz/cz/kraje/jihomoravsky-kraj/okres-vyskov/ivanovice-na-hane/>, 21.3.2013
- [28] Dostupné z http://www.geology.cz/app/ciselniky/lokalizace/show_map.php?mapa=g50zj&y=568900&x=1154600&r=7500&s=1&legselect=0 21.3.2013
- [29] Dostupné z http://cs.wikipedia.org/wiki/Ivanovice_na_Han%C3%A9, 21.3.2013
- [30] Dostupné z <http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/meteo/ok/images/t11.gif>, 21.3.2013
- [31] Dostupné z [http://portal.chmi.cz/portal/dt?action=content&provider=JSPTab Container&menu=JSPTabContainer/P4_Historicka_data/P4_1_Pocasi/P4_1_5_Uzemni_srazky&nc=1&portal_lang=cs#PP_Uzemni_srazky](http://portal.chmi.cz/portal/dt?action=content&provider=JSPTabContainer&menu=JSPTabContainer/P4_Historicka_data/P4_1_Pocasi/P4_1_5_Uzemni_srazky&nc=1&portal_lang=cs#PP_Uzemni_srazky), 21.3.2013
- [32] NAŘÍZENÍ KOMISE (EHS) č. 2676/90 ze dne 17. září 1990, *kterým se stanoví metody Společenství používané pro rozbor vín*, 370 CS Úřední věstník Evropské unie 03/sv. 10
- [33] BARROS, LILLIAN; FERREIRA, MARIA-JOAO; QUEIROS, BRUNO; et al., *Total Phenols, Ascorbic Acid, Beta-carotene and Lycopene in Portuguese Wild Edible Mushrooms and Their Antioxidant Activities*, FOOD CHEMISTRY, 103 (2), p. 413-419, 2007
- [34] DUBOST, N. JOY; OU, BOXIN; BEELMAN, ROBERT B., *Quantification of Polyphenols and Ergothioneine in Cultivated Mushrooms and Correlation to Total Antioxidant Capacity*, FOOD CHEMISTRY, 105 (2) p. 727-735, 2007
- [35] MAU JENG-LEUN, LIN HSIU-CHING, SONG SI-FU, *Antioxidant Properties of Several Specialty Mushrooms*, Food Research International, 34 (2002), p. 519-526

- [36] YANG, JH; LIN, HC; MAU, JL, *Antioxidant Properties of Several Commercial Mushrooms*, FOOD CHEMISTRY, 77 (2), p. 229-235, 2002
- [37] BARROS., L., DUENAS, M., TERREIRA ISABEL C.F.R., at all, *Phenolic Acids Determination by HPLC-DAD-ESI/MS in Sixteen Different Portuguese Wild Mushrooms Species*, Food an Chemical Toxicology, 47 (2009), p. 1076 – 1079
- [38] VELIOGLU Y. S., MAZZA G., GAO L., OOMAH B. D., *Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products*, J. Agric. Food Chem., 46, p.4113-4117, 1998
- [39] ROP, O., MLCEK, J., JURIKOVA, TUNDE at al., *Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (Aronia melanocarpa(Michx.) Elliot) cultivars*, JOURNAL OF MEDICINAL PLANTS RESEARCH, 4 (22) p. 2431 – 2437, 2010
- [40] FERRERA, ISABEL C.F.R., BAPTISTA, P., VILAS-BOAS, M., BARROS, L., *Free-radical Scavenging Capacity and Reducing Power of Wild Edible Mushrooms from North Portugal: Individual Cap and Stipe Activity*, Food Chemistry, 100 (2007), p. 1511 – 1516

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ROS Reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)

RNS Reaktivní formy dusíku (reactive nitrogen species)

VR Volné radikály

AO Antioxidanty

DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Bedla vysoká (A)	23
Obr. 2 Bedla vysoká (B)	23
Obr. 3 Bedla zardělá	24
Obr. 4 Holubinka olivová (A).....	24
Obr. 5 Holubinka olivová (B).....	24
Obr. 6 Hřib borový (A).....	25
Obr. 7 Hřib borový (B)	25
Obr. 8 Hřib dubový (A)	26
Obr. 9 Hřib dubový (B).....	26
Obr. 10 Hřib smrkový (A)	27
Obr. 11 Hřib smrkový (B).....	27
Obr. 12 Hřib strakoš (A).....	27
Obr. 13 Hřib strakoš (B)	28
Obr. 14 Hřib žlutomasý	28
Obr. 15 Klouzek modřínový	29
Obr. 16 Klouzek žíhaný (A)	29
Obr. 17 Klouzek žíhaný (B).....	30
Obr. 18 Kozák březový.....	30
Obr. 19 Lakovka ametystová.....	31
Obr. 20 Liška obecná (A)	31
Obr. 21 Liška obecná (B).....	32
Obr. 22 Muchomůrka růžovka (A)	32
Obr. 23 Muchomůrka růžovka (B)	32
Obr. 24 Pýchavka obecná	33
Obr. 25 Ryzec peprný (A).....	34
Obr. 26 Ryzec peprný (B).....	34
Obr. 27 Ryzec smrkový	35
Obr. 28 Sluka svraskalá (A).....	35
Obr. 29 Sluka svraskalá (B).....	36
Obr. 30 Suchohřib hnědý (A)	36
Obr. 31 Suchohřib hnědý (B).....	37
Obr. 32 Šafránka červenožlutá (A).....	37

Obr. 33 Šafránka červenožlutá (B)	38
Obr. 34 Václavka obecná.....	38
Obr. 35 Žampion ovčí.....	39
Obr. 36 Žampion dvouvýtrusý.....	40

SEZNAM TABULEK

Tab. 1	Možnosti rozdělení antioxidantů	17
Tab. 2	Praktický způsob dělení antioxidantů.....	18
Tab. 3	Mechanismus antioxidační aktivity	20
Tab. 4	Vybrané druhy hub	22
Tab.5	Složení nejběžnějších druhů hub	45
Tab. 6	Houby nasbírané v jednotlivých lokalitách	54
Tab. 7	Obsah sušiny v jednotlivých vzorcích hub	55
Tab. 8	Navážky při přípravě extraktů	56
Tab. 9	Antioxidační aktivita metodou DPPH, vyjádřená v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na kg vzorku.	59
Tab.10	Celkový obsah polyfenolů metodou Folin-Ciocalteu, vyjádřený v mg kyseliny gallové na kg vzorku	62
Tab. 11	Obsah antioxidantů a celkový obsah polyfenolů	63
Tab. 12	Obsah polyfenolů a antioxidační aktivita v houbách pocházejících z obou lokalit	65
Tab. 13	Obsah polyfenolů a antioxidační aktivita v jednotlivých druzích hub pocházejících z obou lokalit	66
Tab. 14	Obsah fenolických látek a antioxidantů v houbách	69
Tab. 15	Celkový obsah fenolů ve vzorcích z Mexika.....	70

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1	Vztah mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou.....	64
Graf 2	Antioxidační aktivita a obsah polyfenolů v jednotlivých druzích hub pocházejících z různých lokalit	67

SEZNAM PŘÍLOH

- P 1 Výpočet sušiny
- P 2 Výpočet antioxidační aktivity metodou DPPH
- P 3 Výpočet obsahu polyfenolů

PŘÍLOHA P 1: VÝPOČET SUŠINY

číslo	Vzorek	číslo váženky	hmotnost vzorku	Váženka bez vzorku	Váženka se vzorkem	po vysušení	úbytek hmotnosti	Vlhkost	% obsah sušiny	Index sušiny
7	Bedla vysoká (I)	132	3,0154	26,2529	29,2683	26,6070	2,6613	88,2569	11,74	0,1174
12	Bedla zardělá	119	3,0465	29,8034	32,8499	30,2949	2,5550	83,8667	16,13	0,1613
5	Holubinka olivová (I)	128	2,9958	37,5685	40,5643	37,9776	2,5867	86,3442	13,66	0,1366
8	Hřib dubový (I)	136	3,0311	29,6374	32,6685	29,9694	2,6991	89,0469	10,95	0,1095
11	Hřib žlutomasý	38	3,1346	35,8665	39,0011	36,2602	2,7409	87,4402	12,56	0,1256
6	Klouzek žiháný	134	3,0810	28,5328	31,6138	28,8315	2,7823	90,3051	9,69	0,0969
4	Muchomůrka růžovka (I)	127	3,0884	23,0645	26,1529	23,2701	2,8828	93,3428	6,66	0,0666
3	Pýchavka obecná (I)	26	2,3851	38,9743	41,3594	39,3596	1,9998	83,8455	16,15	0,1615
1	Suchohřib hnědý (I)	123	3,0190	40,2306	43,2496	40,4543	2,7953	92,5903	7,41	0,0741
13	Václavka obecná	109	3,0036	34,3551	37,3587	34,7510	2,6077	86,8192	13,18	0,1318
9	Žampion ovčí	117	3,0088	30,8969	33,9057	31,2874	2,6183	87,0214	12,98	0,1298
2	Liška obecná (I)	malé množství vzorku, stačilo jen na výluh, pro další výpočty použita sušina stejného druhu.								
10	Žampion -pěstovaný	118	3,0236	30,4230	33,4466	30,6505	2,7961	92,4759	7,52	0,0752
15	Bedla vysoká (D)	121	3,0351	58,4976	61,5327	58,9197	2,6130	86,0927	13,91	0,1391
14	Holubinka olivová (D)	22	3,0779	31,4312	34,5091	31,9405	2,5686	83,4530	16,55	0,1655
20	Hřib smrkový	3	3,1505	37,0591	40,2096	37,3987	2,8109	89,2208	10,78	0,1078
22	Hřib dubový (D)	125	3,0968	49,1867	52,2835	49,5722	2,7113	87,5517	12,45	0,1245
21	Hřib borový	10	3,0277	44,0174	47,0451	44,4065	2,6386	87,1487	12,85	0,1285
28	Hřib strakoš	135	3,0776	49,1842	52,2618	49,4480	2,8138	91,4284	8,57	0,0857
27	Klouzek modřínový	34	3,0643	43,0293	46,0936	43,2216	2,8720	93,7245	6,28	0,0628
26	Kozák březový	119	3,0024	36,5907	39,5931	36,9248	2,6683	88,8722	11,13	0,1113
18	Lakovka ametystová	124	2,0292	48,7818	50,8110	49,0746	1,7364	85,5707	14,43	0,1443
17	Liška obecná (D)	137	2,9512	29,6822	32,6334	30,1034	2,5300	85,7278	14,27	0,1427
30	Muchomůrka růžovka (D)	21	2,9951	39,1924	42,1875	39,5568	2,6307	87,8335	12,17	0,1217
19	Pýchavka obecná (D)	40	3,0116	31,8557	34,8673	32,2662	2,6011	86,3694	13,63	0,1363
29	Ryzec peprný	117	3,0603	44,1573	47,2176	44,5537	2,6639	87,0470	12,95	0,1295
16	Ryzec smrkový	133	3,0135	31,9960	35,0095	32,4219	2,5876	85,8669	14,13	0,1413
25	Sluka svraskavá	26	3,2426	46,0546	49,2972	46,4067	2,8905	89,1414	10,86	0,1086
23	Suchohřib hnědý (D)	128	2,9956	45,7319	48,7275	46,0629	2,6646	88,9505	11,05	0,1105
24	Šafránka červenožlutá	24	3,0525	42,7471	45,7996	43,0841	2,7155	88,9599	11,04	0,1104

PŘÍLOHA P 2: VÝPOČET ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU

DPPH

A₀ pro vzorky 1 až 14 je 1,319

A₀ pro vzorky 15 až 30 je 1,341

vz.	absorbance		rozdíl absorb. v %		AO ve zorku		koef. navážky	AO v extraktu		průměr	sm. odch.	AO v hobách	
			1	2								průměr	sm. odch.
1/1	0,755	0,749	42,760	43,215	822,272	831,613	1,001	821,172	830,500	825,84	6,60	768,57	66,23
1/2	0,826	0,825	37,377	37,453	711,741	713,298	1,002	710,533	712,088	711,31	1,10		
2/1	0,207	0,205	84,306	84,458	1675,386	1678,499	1,002	1672,487	1675,595	1674,04	2,20	1674,04	2,20
3/1	0,589	0,587	55,345	55,497	1080,697	1083,811	1,001	1079,251	1082,360	1080,81	2,20	759,68	370,81
3/2	1,000	1,002	24,185	24,033	440,862	437,749	1,002	440,114	437,006	438,56	2,20		
4/1	1,048	1,050	20,546	20,394	366,137	363,023	1,002	365,421	362,313	363,87	2,20	351,87	13,93
4/2	1,064	1,065	19,333	19,257	341,228	339,672	1,002	340,643	339,088	339,87	1,10		
5/1	1,181	1,183	10,462	10,311	159,086	155,972	1,000	159,076	155,963	157,52	2,20	180,30	26,34
5/2	1,153	1,152	12,585	12,661	202,675	204,232	1,002	202,295	203,849	203,07	1,10		
6/1	0,511	0,507	61,259	61,562	1202,126	1208,353	1,000	1202,150	1208,377	1205,26	4,40	1065,15	161,81
6/2	0,689	0,687	47,763	47,915	925,020	928,133	1,002	923,487	926,595	925,04	2,20		
7/1	1,026	1,022	22,214	22,517	400,386	406,613	1,000	400,290	406,516	403,40	4,40	459,70	65,06
7/2	0,952	0,950	27,824	27,976	515,587	518,701	1,002	514,435	517,542	515,99	2,20		
8/1	0,793	0,790	39,879	40,106	763,115	767,785	1,000	762,749	767,417	765,08	3,30	617,16	170,82
8/2	0,983	0,981	25,474	25,625	467,327	470,441	0,999	467,683	470,799	469,24	2,20		
9/1	0,948	0,948	28,127	28,127	521,815	521,815	0,999	522,379	522,379	522,38	0,00	530,25	9,12
9/2	0,938	0,937	28,886	28,961	537,382	538,939	1,000	537,350	538,907	538,13	1,10		
10/1	1,080	1,081	18,120	18,044	316,320	314,763	1,006	314,490	312,942	313,72	1,09	371,01	66,17
10/2	1,009	1,007	23,503	23,654	426,851	429,965	1,000	426,749	429,862	428,31	2,20		
11/1	0,798	0,795	39,500	39,727	755,331	760,001	1,005	751,813	756,461	754,14	3,29	867,99	131,48
11/2	0,650	0,651	50,720	50,644	985,734	984,177	1,003	982,609	981,057	981,83	1,10		
12/1	1,042	1,044	21,001	20,849	375,478	372,364	1,008	372,572	369,482	371,03	2,18	342,94	32,56
12/2	1,079	1,083	18,196	17,892	317,877	311,650	1,000	317,966	311,737	314,85	4,40		
13/1	1,063	1,066	19,409	19,181	342,785	338,115	1,004	341,311	336,661	338,99	3,29	396,82	66,85
13/2	0,993	0,989	24,716	25,019	451,760	457,987	1,001	451,534	457,758	454,65	4,40		
14/1	1,081	1,084	18,044	17,817	314,763	310,093	0,999	314,952	310,279	312,62	3,30	314,54	3,19
14/2	1,078	1,080	18,271	18,120	319,434	316,320	1,004	318,009	314,909	316,46	2,19		
15/1	0,373	0,370	72,185	72,409	1426,487	1431,081	1,001	1424,664	1429,252	1426,96	3,24	1408,77	21,09
15/2	0,395	0,395	70,544	70,544	1392,800	1392,800	1,002	1390,575	1390,575	1390,58	0,00		
16/1	0,757	0,758	43,550	43,475	838,493	836,961	1,000	838,459	836,928	837,69	1,08	832,27	6,32
16/2	0,763	0,764	43,102	43,028	829,305	827,774	1,002	827,617	826,089	826,85	1,08		
17/1	0,599	0,598	55,332	55,406	1080,428	1081,959	1,002	1078,508	1080,037	1079,27	1,08	1069,07	11,80
17/2	0,612	0,612	54,362	54,362	1060,522	1060,522	1,002	1058,870	1058,870	1058,87	0,00		
18/1	0,739	0,741	44,892	44,743	866,055	862,992	0,999	867,124	864,058	865,59	2,17	922,70	65,98
18/2	0,667	0,664	50,261	50,485	976,304	980,898	0,999	977,509	982,109	979,81	3,25		
19/1	0,225	0,222	83,221	83,445	1653,110	1657,704	1,001	1650,997	1655,585	1653,29	3,24	1669,48	18,80
19/2	0,203	0,202	84,862	84,937	1686,798	1688,329	1,001	1684,911	1686,440	1685,68	1,08		
20/1	0,304	0,304	77,330	77,330	1532,143	1532,143	1,000	1531,499	1531,499	1531,50	0,00	1554,50	26,57
20/2	0,274	0,275	79,567	79,493	1578,080	1576,549	1,000	1578,269	1576,738	1577,50	1,08		
21/1	0,456	0,456	65,996	65,996	1299,395	1299,395	0,999	1301,060	1301,060	1301,06	0,00	1371,68	81,69
21/2	0,357	0,365	73,378	72,782	1450,987	1438,737	1,002	1448,409	1436,181	1442,29	8,65		
22/1	0,489	0,490	63,535	63,460	1248,864	1247,333	0,999	1250,114	1248,581	1249,35	1,08	1107,11	164,25
22/2	0,673	0,676	49,814	49,590	967,116	962,523	1,000	967,174	962,581	964,88	3,25		
23/1	0,549	0,549	59,060	59,060	1156,990	1156,990	1,000	1156,758	1156,758	1156,76	0,00	1167,56	12,47
23/2	0,535	0,535	60,104	60,104	1178,427	1178,427	1,000	1178,356	1178,356	1178,36	0,00		
24/1	0,502	0,502	62,565	62,565	1228,958	1228,958	1,001	1227,411	1227,411	1227,41	0,00	1221,17	7,20
24/2	0,510	0,510	61,969	61,969	1216,708	1216,708	1,001	1214,934	1214,934	1214,93	0,00		
25/1	0,778	0,787	41,984	41,312	806,337	792,556	1,000	806,708	792,920	799,81	9,75	799,22	5,67
25/2	0,782	0,782	41,685	41,685	800,212	800,212	1,002	798,630	798,630	798,63	0,00		
26/1	0,513	0,520	61,745	61,223	1212,114	1201,396	1,002	1210,081	1199,381	1204,73	7,57	1150,95	62,26
26/2	0,588	0,588	56,152	56,152	1097,272	1097,272	1,000	1097,162	1097,162	1097,16	0,00		
27/1	0,625	0,624	53,393	53,468	1040,616	1042,147	1,000	1040,574	1042,105	1041,34	1,08	1045,68	10,104
27/2	0,626	0,612	53,318	54,362	1039,085	1060,522	1,000	1039,292	1060,734	1050,01	15,16		
28/1	0,319	0,326	76,212	75,690	1509,174	1498,456	1,002	1506,763	1496,062	1501,41	7,57	1525,73	29,92
28/2	0,298	0,283	77,778	78,896	1541,330	1564,299	1,002	1538,591	1561,519	1550,06	16,21		
29/1	0,765	0,767	42,953	42,804	826,243	823,180	1,002	824,840	821,783	823,31	2,16	841,20	25,55
29/2	0,755	0,731	43,699	45,488	841,555	878,305	1,001	840,731	877,445	859,09	25,96		
30/1	0,176	0,167	86,875	87,547	1728,141	1741,922	0,999	1729,282	1743,073	1736,18	9,75	1738,28	7,91
30/2	0,171	0,163	87,248	87,845	1735,797	1748,047	1,001	1734,271	1746,510	1740,39	8,65		

PŘÍLOHA P 3: VÝPOČET OBSAHU POLYFENOLŮ

vzorek	Absorbance		obsah polyfenolů		koef. navážky	Upraveno podle navážky výluhu			Ve vzorku		
						výsledky uprav.	Průměr	Sm.odch.	průměr	sm.odch.	
1/1	0,396	0,378	438,222	418,222	1,0013	437,64	417,66	427,65	14,12	397,35	36,27
1/2	0,338	0,327	373,778	361,556	1,0017	373,14	360,94	367,04	8,63		
2/1	0,277	0,281	306,000	310,444	1,0017	305,47	309,91	307,69	3,14	307,69	3,14
3/1	0,186	0,182	204,889	200,444	1,0013	204,61	200,18	202,40	3,14	253,66	59,72
3/2	0,285	0,268	314,889	296,000	1,0017	314,35	295,50	304,93	13,33		
4/1	0,112	0,109	122,667	119,333	1,0020	122,43	119,10	120,76	2,35	294,37	200,49
4/2	0,427	0,420	472,667	464,889	1,0017	471,86	464,09	467,97	5,49		
5/1	0,357	0,353	394,889	390,444	1,0001	394,87	390,42	392,64	3,14	460,77	80,64
5/2	0,498	0,459	551,556	508,222	1,0019	550,52	507,27	528,89	30,58		
6/1	0,100	0,105	109,333	114,889	1,0000	109,34	114,89	112,11	3,93	192,44	92,97
6/2	0,254	0,241	280,444	266,000	1,0017	279,98	265,56	272,77	10,20		
7/1	0,317	0,298	350,444	329,333	1,0002	350,36	329,25	339,81	14,92	241,91	113,48
7/2	0,137	0,126	150,444	138,222	1,0022	150,11	137,91	144,01	8,62		
8/1	0,117	0,114	128,222	124,889	1,0005	128,16	124,83	126,49	2,36	214,42	101,66
8/2	0,279	0,268	308,222	296,000	0,9992	308,46	296,23	302,34	8,65		
9/1	0,135	0,132	148,222	144,889	0,9989	148,38	145,05	146,71	2,36	177,18	35,45
9/2	0,193	0,184	212,667	202,667	1,0001	212,65	202,65	207,65	7,07		
10/1	0,035	0,032	37,111	33,778	1,0058	36,90	33,58	35,24	2,34	164,47	149,41
10/2	0,274	0,258	302,667	284,889	1,0002	302,59	284,82	293,71	12,57		
11/1	0,218	0,203	240,444	223,778	1,0047	239,32	222,74	231,03	11,73	269,97	45,53
11/2	0,278	0,283	307,111	312,667	1,0032	306,14	311,68	308,91	3,92		
12/1	0,236	0,221	260,444	243,778	1,0078	258,43	241,89	250,16	11,69	280,07	35,21
12/2	0,282	0,279	311,556	308,222	0,9997	311,64	308,31	309,98	2,36		
13/1	0,049	0,047	52,667	50,444	1,0043	52,44	50,23	51,33	1,56	81,417	34,76
13/2	0,101	0,103	110,444	112,667	1,0005	110,39	112,61	111,50	1,57		
14/1	0,712	0,696	789,333	771,556	0,9994	789,81	772,02	780,91	12,58	607,76	200,25
14/2	0,385	0,404	426,000	447,111	1,0045	424,10	445,12	434,61	14,86		
15/1	1,017	1,108	1128,222	1229,333	1,0013	1126,78	1227,76	1177,27	71,40	1081,7	118,02
15/2	0,883	0,898	979,333	996,000	1,0016	977,77	994,41	986,09	11,77		
16/1	0,353	0,371	390,444	410,444	1,0000	390,43	410,43	400,43	14,14	436,34	47,73
16/2	0,403	0,452	446,000	500,444	1,0020	445,09	499,43	472,26	38,42		
17/1	1,147	1,144	1272,667	1269,333	1,0018	1270,41	1267,08	1268,74	2,35	1252,5	18,80
17/2	1,117	1,115	1239,333	1237,111	1,0016	1237,40	1235,18	1236,29	1,57		
18/1	0,951	0,922	1054,889	1022,667	0,9988	1056,19	1023,93	1040,06	22,81	1075,9	44,41
18/2	1,011	0,991	1121,556	1099,333	0,9988	1122,94	1100,69	1111,82	15,73		
19/1	0,483	0,469	534,889	519,333	1,0013	534,21	518,67	526,44	10,99	684,64	183,01
19/2	0,771	0,751	854,889	832,667	1,0011	853,93	831,74	842,83	15,70		
20/1	0,502	0,495	556,000	548,222	1,0004	555,77	547,99	551,88	5,50	672,6	139,43
20/2	0,716	0,715	793,778	792,667	0,9999	793,87	792,76	793,32	0,79		
21/1	0,632	0,652	700,444	722,667	0,9987	701,34	723,59	712,47	15,73	956,78	282,69
21/2	1,102	1,067	1222,667	1183,778	1,0018	1220,49	1181,67	1201,08	27,45		
22/1	0,958	0,915	1062,667	1014,889	0,9990	1063,73	1015,90	1039,82	33,82	1173,8	156,33
22/2	1,191	1,166	1321,556	1293,778	0,9999	1321,63	1293,86	1307,75	19,64		
23/1	0,653	0,658	723,778	729,333	1,0002	723,63	729,19	726,41	3,93	869,79	166,61
23/2	0,934	0,893	1036,000	990,444	1,0001	1035,94	990,39	1013,16	32,21		
24/1	0,564	0,526	624,889	582,667	1,0013	624,10	581,93	603,02	29,82	758,84	180,75
24/2	0,827	0,825	917,111	914,889	1,0015	915,77	913,56	914,66	1,57		
25/1	0,693	0,665	768,222	737,111	0,9995	768,58	737,45	753,01	22,01	717,17	43,90
25/2	0,624	0,608	691,556	673,778	1,0020	690,19	672,45	681,32	12,55		
26/1	0,668	0,625	740,444	692,667	1,0017	739,20	691,50	715,35	33,73	798,69	98,30
26/2	0,801	0,790	888,222	876,000	1,0001	888,13	875,91	882,02	8,64		
27/1	0,465	0,474	514,889	524,889	1,0000	514,87	524,87	519,87	7,07	700,8	209,01
27/2	0,800	0,790	887,111	876,000	0,9998	887,29	876,18	881,73	7,86		
28/1	0,496	0,481	549,333	532,667	1,0016	548,46	531,82	540,14	11,77	675,68	156,92
28/2	0,743	0,723	823,778	801,556	1,0018	822,31	800,13	811,22	15,69		
29/1	0,725	0,710	803,778	787,111	1,0017	802,41	785,78	794,09	11,77	861,54	78,18
29/2	0,840	0,837	931,556	928,222	1,0010	930,64	927,31	928,98	2,35		
30/1	0,840	0,838	931,556	929,333	0,9993	932,17	929,95	931,06	1,57	992,51	71,02
30/2	0,954	0,948	1058,222	1051,556	1,0009	1057,29	1050,63	1053,96	4,71		