

# **Biologicky aktivní látky v bylinách pro kulinární využití**

Bc. Gabriela Volková

---

Diplomová práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Gabriela VOLKOVÁ**  
Osobní číslo: **T100010**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Biologicky aktivní látky v bylinách pro kulinární využití**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika vybraných bylin a antioxidantů.
2. Chemické složení, vlastnosti a zdravotní působení vybraných bylin a antioxidantů.
3. Přehled analytických metod využívaných pro stanovení antioxidační aktivity, fenolů a flavonoidů.

### II. Praktická část

1. Stanovení antioxidační aktivity vybraných bylin v čerstvé, sušené a mražené formě metodou DPPH.
2. Stanovení množství celkových fenolů a celkových flavonoidů u vybraných bylin v čerstvé, sušené a mražené formě.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. Chemie potravin II. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. 644 s. ISBN 978-80-86659-16-9.

[2] VŠCHT. Vysokoučinné analytické separace biologicky aktivních látek. Praha: VŠCHT, 2006. 112 s.

[3] HINNEBURG, I., DORMAN, D.H.J., HILTUNEN, R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry, 2006, 97, 122-129.

[4] DRAGLAND, S., SENOO, H., et al. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. Journal of Nutrition, 2003, 133, 1286-1290.

[5] ZHENG, W., WANG, S.Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49, 5165-5170.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**16. ledna 2013**

Termín odevzdání diplomové práce:

**2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
děkan



  
doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
ředitel ústavu



Příjmení a jméno: GABRIELA VOLKOVÁ

Obor: THEVP

## 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 <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> 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 29.4.2013

Gabriele Volková

---

<sup>1)</sup> 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.

<sup>2)</sup> 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).

<sup>3)</sup> 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**

Teoretická část diplomové práce je zaměřena na charakteristiku bylin pro kulinární využití (kopr, libeček, celer, pažitka, petržel), dále na antioxidanty jako biologicky aktivní látky a popis metod pro stanovení antioxidační aktivity, celkových polyfenolů a flavonoidů. Experimentální část se zabývá stanovením antioxidační aktivity aromatických bylin metodou s DPPH, stanovením celkových polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem a stanovením celkových flavonoidů.

Klíčová slova: aromatické byliny, antioxidační aktivita, polyfenoly, flavonoidy

## **ABSTRACT**

Theoretical part of the thesis is aimed at the characteristics of herbs for culinary use (dill, lovage, celeriac, chives, parsley), characterization of antioxidants as biologically active compounds, and description of methods for the antioxidant activity, total polyphenols and flavonoids determination. Experimental part deals with the determination of aromatic plants antioxidant activity by DPPH method, determination of total polyphenols with Folin-Ciocalteu agent and total flavonoids assessment.

Keywords: aromatic plants, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids

## Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí diplomové práce Ing. Soni Škrovánkové, PhD. za pomoc, rady a čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Martě Severové za pomoc při zpracování praktické části diplomové práce.

Také bych ráda poděkovala rodině za její podporu po celou dobu mého studia.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 BYLINY PRO KULINÁRNÍ VYUŽITÍ</b> .....	<b>12</b>
1.1 KONZERVACE BYLIN .....	14
1.2 KOPR VONNÝ.....	15
1.3 LIBEČEK LÉKAŘSKÝ .....	16
1.4 CELER BULVOVÝ .....	18
1.5 PAŽITKA PRAVÁ .....	19
1.6 PETRŽEL KADEŘAVÁ .....	20
1.7 PETRŽEL KOŘENOVÁ .....	22
<b>2 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY</b> .....	<b>24</b>
2.1 KLASIFIKACE ANTIOXIDANTŮ .....	25
2.1.1 Přírodní antioxidanty.....	26
2.1.1.1 Kyselina askorbová.....	27
2.1.1.2 Fenolové sloučeniny .....	28
2.1.1.3 Tokoferoly .....	30
2.1.1.4 Flavonoidy .....	31
<b>3 METODY STANOVENÍ BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK</b> .....	<b>34</b>
3.1 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	34
3.1.1 Metoda používající DPPH.....	34
3.1.2 Metoda TEAC .....	35
3.1.3 Metoda FRAP.....	35
3.1.4 Metoda ORAC .....	35
3.1.5 Lipidově peroxidační metody .....	35
3.1.6 Metody založené na detekci oxidačního poškození organismu .....	36
3.1.7 Novější speciální metody .....	36
3.2 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ.....	36
3.2.1 Stanovení polyfenolů chromatograficky, zvláště metodou HPLC.....	37
3.2.2 Stanovení polyfenolů pomocí reakce s Folin-Ciocalteuovým činidlem .....	37
3.3 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU FLAVONOIDŮ.....	37
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>38</b>
<b>4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE</b> .....	<b>39</b>
<b>5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE</b> .....	<b>40</b>
5.1 VZORKY AROMATICKÝCH BYLIN .....	40
5.2 POUŽITÉ POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	40
5.3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	40
<b>6 METODIKA STANOVENÍ</b> .....	<b>42</b>
6.1 PŘÍPRAVA VÝLUHŮ AROMATICKÝCH ROSTLIN.....	42
6.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	42
6.2.1 Stanovení antioxidační aktivity aromatických rostlin.....	42
6.2.2 Stanovení hodnoty IC <sub>50</sub> .....	43



6.3	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ S FOLIN – CIOCALTEUOVÝM ČINIDLEM .....	43
6.3.1	Příprava výluhů aromatických rostlin .....	43
6.3.2	Stanovení celkového obsahu polyfenolů aromatických rostlin.....	44
6.3.3	Příprava kalibrační křivky kyseliny gallové .....	44
6.4	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU FLAVONOIDŮ .....	44
6.4.1	Příprava výluhů aromatických rostlin .....	44
6.4.2	Stanovení celkového obsahu flavonoidů aromatických rostlin.....	44
6.4.3	Kalibrační křivka rutinu .....	45
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>46</b>
7.1	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY AROMATICKÝCH ROSTLIN.....	46
7.1.1	Antioxidační aktivita čerstvých aromatických bylin.....	46
7.1.2	Antioxidační aktivita mrazených aromatických bylin .....	53
7.1.3	Antioxidační aktivita sušených aromatických bylin .....	58
7.2	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ .....	64
7.2.1	Stanovení kalibrační křivky kyseliny gallové pro určení obsahu celkových polyfenolů .....	64
7.2.2	Celkový obsah polyfenolů čerstvých aromatických bylin .....	66
7.2.3	Celkový obsah polyfenolů zmrazených aromatických bylin .....	68
7.2.4	Celkový obsah polyfenolů sušených aromatických bylin.....	69
7.3	CELKOVÝ OBSAH FLAVONOIDŮ .....	70
7.3.1	Stanovení kalibrační křivky rutinu pro určení obsahu flavonoidů .....	70
7.3.2	Celkový obsah flavonoidů aromatických bylin.....	71
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>74</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>76</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>81</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>82</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>83</b>

## ÚVOD

Byliny, aromatické rostliny jsou důležité nejen pro svoji chuť a vůni, ale podporují trávicí činnost a zlepšují stravitelnost syrové zeleniny. Jde zejména o kmín, anýz, semena fenyklu, výhonky kopru a máty. Byliny obsahují silice, které vytváří jejich aroma. Vzhledem ke své silné kořenící schopnosti, byliny pomáhají i snižovat množství soli v pokrmech. Za nejchutnější se považují byliny v čerstvém stavu, kdy je také obsah vitaminů v nich nejvyšší.

Mnoho bylin a koření se odedávna používá k ochucování pokrmů. Tyto aromatické rostliny jsou vynikajícím zdrojem fenolických sloučenin, které jsou známé antioxidační aktivitou. Antioxidační efekt fenolických sloučenin je umožněn jejich redoxními vlastnostmi a je výsledkem různých mechanismů. Fenolické sloučeniny hrají důležitou roli při stabilizaci oxidace lipidů a inhibují různé typy oxidačních enzymů.

Antioxidanty jsou významné biologicky aktivní látky, které prodlužují údržnost potravin tím, že je chrání před znehodnocením způsobené oxidací, jejímž projevem je žluknutí tuků a dalších snadno se oxidujících složek potravin. Oxidace lipidů vyvolává další chemické změny v potravinách, které negativně ovlivňují jejich výživovou, hygienicko-toxikologickou a sensorickou hodnotu (vůni, chuť, barvu).

Ke stanovení antioxidační aktivity se v současnosti používá řada metod. Jsou to metody DPPH, TAEC, FRAP, ORAC, lipidově peroxidační metody a metody založené na detekci oxidačního poškození organismu.

Ke stanovení obsahu celkových polyfenolů se používá chromatografie, zejména metoda HPLC, která umožňuje analýzu většiny známých látek. Dále se používá spektrofotometrická metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem.

Pro stanovení celkových flavonoidů se používá spektrofotometrická metoda s hlinitou solí a dusitanem.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 BYLINY PRO KULINÁRNÍ VYUŽITÍ

Byliny jsou nejčastěji definovány jako část rostliny, která se používá k ochucování potravy, kvůli obsahu aromatických látek [1].

Rané vědomosti o rostlinách byly předávány slovně. Tak jak se rozrůstala populace i objem jejich znalostí, bylo stále důležitější zachycovat přesně nahromaděné informace o bylinách pro jejich bezpečnou identifikaci a dávkování. Mnoho dávných děl pojednává o bylinách, rostlinách důležitých při obřadech, kouzlech a v medicíně. Babylonské hliněné tabulky z doby před 3000 let př. n. l. ilustrují léčebné postupy a zachycují i význam bylin. Během dalšího tisíciletí souběžné kultury v Číně, Asýrii, Egyptě a v Indii byly zpracovány písemné záznamy hlavně o léčivých bylinách. Čínské dílo *Kánon o bylinách* je připisováno legendárnímu císaři Šen-nungovi, který zemřel r. 2698 př. n. l. (přestože jeho texty byly sestaveny mnohem později). Tento císař, „Božský farmář“, sám na sobě vyzkoušel – ve prospěch všeho čínského lidu – které rostliny jsou jedovaté. Jeho „kánon“ obsahuje 252 popisů rostlin a poznámky o jejich účincích na lidské tělo, o místech sběru, konzervaci a uchovávání; tím vlastně stanovili jakousi normu pro budoucí lékopisy. Číňané se již od raných dob snažili vyloučit pověry a kladli důraz více na praktické znalosti. Rostliny byly často užívány jako symboly duchovního pokroku, jako stromy vědění a jablka ze zahrady Eden a mnoho kultur mělo představu o ráji jako o zahradě plné krásných a užitečných rostlin, schopných ovlivňovat všechny stránky jejich života [2].

S Římany a později s křesťanskými misionáři se na sever od Alp dostalo mnoho odnoží a semen rostlin středozevní vegetace, které obohatily tehdejší středoevropský sortiment. Později se sem s vracejícími se křižáky dostaly i četné blízkovýchodní a orientální druhy a odrůdy. V období Karla Velikého shromažďovali ve svých klášterních zahradách jako nedocenitelný poklad rostliny a znalosti o nich především příslušníci různých řádů. Získané vědomosti byly dále po dlouhý čas udržovány v tradičních venkovských zahrádkách [3].

První pokus západní civilizace klasifikovat rostliny byl proveden už ve 4. století řeckým filozofem Theophrastem, který rozdělil rostlinný svět na stromy, keře a byliny hlavně podle velikosti: kategorie bylin zahrnovala tu skupinu rostlin, která dnes odpovídá náplni botanického termínu bylina [2].

Znalosti o kuchyňských a léčivých bylinách jsou téměř stejně staré jako lidstvo samo. Pěstování bylinek je v současnosti velmi oblíbenou činností. V šestnáctém století, před založením města Jamestown (USA), začala výměna bylin mezi Evropou a Amerikou. Během

prvních sto let osidlování (zvláště Nové Anglie a Virginie) bylo dovezeno mnoho rostlin, které byly pěstovány a používány v Evropě. Byly to byliny, ovocné stromy, zelenina a cibulnaté a hlíznaté rostliny. Kolonisté z Anglie přivezli také semena a kořeny rostlin, které byly běžně používány v jejich domácnostech. Zároveň zkoumali rostliny, které byly objeveny v Novém světě. Většinu toho, co známe o bylinkách, které se v té době pěstovaly v Americe, pochází z různých dobových poznámek a studií, uchovaných do dnešní doby. [4].

Ke zhoršení kvality potravin dochází během jejich zpracování a skladování a může být způsobena oxidačními reakcemi. Oxidační reakce v potravinách degradují lipidy, sacharidy a bílkoviny. Ke zpomalení těchto procesů se obvykle používají syntetické antioxidanty. Tyto látky jsou však problematické, protože jsou nestálé a při vysokých teplotách se snadno rozkládají. Navíc, je stále nejasné, zda jejich chronická konzumace nemůže vést k zdravotním rizikům. Mnoho bylin a koření se obvykle používá k ochucování pokrmů. Tyto byliny a koření jsou vynikajícím zdrojem fenolických sloučenin, které jsou známé antioxidační aktivitou. Antioxidační efekt fenolických sloučenin je umožněn jejich redoxními vlastnostmi a je výsledkem různých mechanismů. Fenolické sloučeniny hrají také důležitou roli při stabilizaci oxidace lipidů a inhibují různé typy oxidačních enzymů. [5,6].

Silice, nebo též éterické oleje, jsou intenzivně vonící těkavé olejovité látky, které jsou obsažené v různých částech rostlin. Silice jsou pestrou směsí sloučenin, ve kterých převládají terpenické uhlovodíky. Mají terapeutické vlastnosti a jsou hojně užívány v kosmetice, parfumerii, ochucovadlech a v aromaterapii – systému léčení těla masážemi, inhalacemi či koupelemi ve směsích silic. Ačkoli se jim říká oleje, jsou to spíše vody, tekutiny, které se dobře odpařují. Silice se nacházejí v malých žlázkách nebo kanálcích v jedné či více částech aromatických rostlin: v listech (bazalka), květech (růže), plodech (citron, koriandr), dřevě (santalové dřevo), pryskyřici (kadidlovník), kůře (skořice) a kořenech a oddencích (petržel a puškovec). Teplo způsobuje, že se silice odpařují a kolem rostliny tak vytvářejí ochranné ovzduší. Toto ochranné ovzduší chrání rostlinu před bakteriemi, plísněmi a škodlivým hmyzem [2].

Extrakce silic je vysoce složitý a nákladný proces. Většina se jich získává vodní párou nebo adsorpcí vhodných látek do vazelíny. Obě metody jsou časově náročné, vyžadují intenzivní práci a odborné užití složitých zařízení a špičkových materiálů. K získání malých množství oleje destilací je potřeba obrovského množství suroviny (asi ze 115 kg růžových lístků se získá přibližně 25 ml silice) [2].

## 1.1 Konzervace bylin

Byliny je nejlépe používat čerstvé. Většina bylin vadne brzy po uříznutí. Jedním, ze způsobů konzervace bylin je sušení. Mnoho bylin si sušením zachová svou chuť. Jakmile je oddělen list či květ od rostliny, začíná docházet k metabolickým změnám. Jednotlivé buňky začínají odumírat, protože došlo k přerušení jejich zásobování vodou a živinami. Enzymy, které dříve pomáhaly vytvářet aktivní složky, nyní začínají tyto látky štěpit. Tímto rozkladem dochází ke snižování léčivé hodnoty byliny. Čím dříve a rychleji dojde k sušení, tím lepší kvalitu a barvu bude sušená bylina mít. Rychlost sušení je však omezená, protože vlhkost musí být z rostliny odstraňována postupně. Sušení listů v troubě není vhodné, protože voda je odpařována příliš rychle a dochází k vyprchání silic. Mikrovlnné trouby sice proces sušení urychlí, aniž poškodí chuť bylin, může však dojít k poškození léčebných vlastností bylin. K uchování sušených bylin jsou nejvhodnější sklenice nebo uzavíratelné krabice. Usušené byliny je třeba chránit před světlem, proto se používají sklenice barevné [2,7].

Dalším způsobem konzervace bylin je jejich zmrazení. Zmrazením se zachová barva a chuť, stejně jako většina nutričních hodnot čerstvých mladých listů. Dnes je zmrazení nejoblíbenějším způsobem uchování kuchyňských bylin, protože tento způsob konzervace je rychlý a pohodlný. Zmrazení je vhodný způsob k uchování bylin, jako jsou fenykl, toten, kerblík, petržel, bazalka, kozalec, čechřice a pažitka [2].

Dalším způsobem konzervace bylin, je jejich nakládání do octů nebo do olejů. Takto konzervované byliny si uchovávají svoji chuť. Tato metoda je vhodná pro kuchyňské byliny s výraznou chutí (např. majoránka, bazalka, estragon, rozmarýna, saturejka, tymián) a výsledná tekutina vytváří zajímavý dodatek salátových zálivek, sterilizačních nálevů a marinád [4].

V následujícím přehledu je uveden popis 6 vybraných aromatických rostlin pro kulinární využití, které byly hodnoceny v praktické části diplomové práce. Jsou to následující aromatické rostliny: kopr vonný, libeček lékařský, nat' celeru bulvového, pažitka pravá, petržel kadeřavá a nat' petržele kořenové.



## 1.2 Kopr vonný

*Anethum graveolens* L. neboli kopr vonný (Obr. 1) je rostlina, která je nezaměnitelná díky svému vzhledu a aromatu. Patří do čeledi miříkovitých (*Apiaceae*).

Kopr je vzpřímená, jednoletá bylina, která je 20 – 40 cm vysoká a 10 – 20 cm široká, má sytě žluté květy. Kopr se pěstuje především jako rostlina kořeninová na zeleninových zahrádkách. Velmi často u nás zplaňuje na rumišťích, ale nezdомácňuje. V Jižní Americe je úporným polním plevelem. Nažky mohou být šířeny větrem i vodou [3,8,9,10].



Obr. 1. Kopr vonný [11,12]

Kopr se vysévá od dubna přímo na záhon, nejlépe opakovaně, každé 2 – 3 týdny, aby bylo k dispozici dostatek čerstvých bylin. Kopr je totiž nejaromatičtější za květu. Pokud je třeba přednostně sklízet listy, vysévá se kopr hustě do řádek. Pokud se nechávají dozrát semena, musí se kopr vysévat na vzdálenost asi 20 cm, neboť rostliny, vzhledem ke svým dlouhým kúlovým kořenům, se obtížně přesazují. Kopr lze vysévat společně se zeleninou, obzvláště s mrkví nebo okurkami se snáší velmi dobře. Půdu je nutné udržovat stále kyprou, aby nedošlo k jejímu zamokření [3].

Kopr potřebuje výsluní a teplo a vzhledem ke své jemné stavbě by měl být chráněn před větrem. Na takovém místě nejlépe rozvine své příjemné aroma. Listy je možné stříhat po celé léto a používat čerstvé. Po slunečném dni mají nejlepší aroma. Dají se také sušit nebo zmrazovat, ztrácejí však přitom částečně svou vůni. Semena kopru jsou sklizňově zralá, pokud se zbarví do hněda. Celé okolíky se odstříhují i se stonky a suší se zavěšené „vzhůru nohama“. Suchá semena (dvounažky) vypadají sama na rozprostřený šátek [3,8].

Ve 100 g jedlého podílu kopru se nachází asi 88,2 g vody. Sušinu kopru tvoří přibližně 2,6 g bílkovin, 0,3 g lipidů a 7,1 g sacharidů. Kopr je dobrým zdrojem vitamínu C, provitaminu A a také minerálních látek. Obsah vitamínu C ve 100 g kopru je 70 mg [13].

Staří Egypťané považovali kopr za hojivou drogu a Řekové věděli, že „kopr utiší škytavku“. Během středověku to byla jedna z bylin svatojánské noci, která byla ceněna jako ochrana před očarováním. Kouzelníci používali kopr při svých čarech, zatímco obyčejní smrtelníci jej přidávali do vína, aby zvýšili vášeň. První usedlíci v Severní Americe užívali kopr pod názvem „semínko pro shromáždění“, jelikož kopr byl podáván dětem k žvýkání během dlouhých církevních obřadů [2].

Kopr stimuluje zažívání, pomáhá při plynatosti, při bolestech břicha u kojenců, působí močopudně a stimuluje tvorbu mléka u kojících žen. Kvůli této příjemné vůni se někdy kopr rozvěšoval po domech nebo sypal na podlahy. Čerstvý list je báječný na dochucování pokrmů z ryb nebo vajec a také do omáček nebo salátů [14].

### 1.3 Libeček lékařský

Libeček lékařský (*Levisticum officinale*) (Obr. 2) je všeobecně známé a oblíbené koření. Libeček patří do čeledi miříkovitých (*Apiaceae*).

Často se mu také říká přírodní Maggi, kvůli obsahu mnoha silic, ze kterých se vyrábí proslulé polévkové koření. Je to také bylina, která má léčivé účinky a je využívána i v kosmetice. Pochází z území dávné Persie, ale o jeho užitečných vlastnostech věděli už staří Řekové a Římané. České pojmenování vzniklo zřejmě z německého názvu Liebstockel zkomolením latinského názvu nebo z některých středověkých názvů, kdy v nařízení francouzského krále Karla Velikého *Capitulare de villis* z 8. – 9. století bylo doporučováno k pěstování libesticum [15,16].

Libeček lékařský je vytrvalá bylina, která může být až 2 m vysoká, se silným, bohatě rozvětveným kořenovým systémem. Vytváří hranatou dutou lodyhu, v horní části větvenou. Zpeřené listy jsou značně velké. V létě libečku korunují silné, žlutozelené okolíky květů. Roste jak na slunci, tak v polostínu, ale všude potřebuje dostatek místa. Libeček může při dobré péči vydržet na stanovišti až několik let. Výsev zralých nažek je nutné provádět koncem léta. Pro soukromou potřebu stačí jedna až dvě rostliny. Více rostlin se dá pěstovat

jako dekorace zahrady. Sazenice se zalévají na podzim i na jaře. Je důležité, aby mladé rostliny nepřeschly [3,4].

Libeček obsahuje rozpustnou i nerozpustnou vlákninu, minerální látky, vitaminy, zejména vitamin C [4,17].

Plody libečku mají stejnou chuť jako listy, jen jsou o něco sladší. Používají se při přípravě likérů a slouží jako základní surovina ve voňavkářském průmyslu. Listy se používají k ochucení polévek a omáček. Listy libečku si zachovávají své aroma i vařením. Zralá semínka se sklízí těsně před samovolným opadáním. Květná hlavička se uřízne a zavěsí na suché vzdušné místo do doby, než semena opadají. Rozdrcená usušená semínka se přidávají do chlebového těsta a do rýže [4,17].



Obr. 2. Libeček lékařský [18,19]

Libeček působí močopudně, podporuje trávení a působí proti nadýmání. Pomáhá při nadýmání a při pálení žáhy. Bývá využíván při nemocech močových cest a je také doporučován na vykašlávání při onemocnění horních cest dýchacích. Občas byl žvýkán, podobně jako nať petrželky proto, aby zamaskoval pach česneku. Měly by se mu vyhýbat těhotné a kojící ženy, stejně tak není vhodný pro ty ženy, které mají problém s příliš silnou menstruací, protože ji může ještě zesílit – drobné přidání do polévky neuškodí, jde spíše o pravidelné užívání větších množství byliny. Zevně se užívá nálev z libečku na omývání ran. Libeček se také přidává do posilujících koupelí. Poutníci používaly libeček jako dezinfekční prostředek a dezodorant pro mokvající rány [3,4,15,16,20].

## 1.4 Celer bulvový

Celer bulvový (*Apium graveolens*) (Obr. 3) patří do čeledi miříkovitých (*Apiaceae*).

V našich zemích se pěstuje zhruba od 19. století, kdy se k nám dostal z jižní Evropy. Znali ho už obyvatelé starého Egypta, kteří používali jeho listy při pohřebních obřadech. Divoký, planý celer byl používán ke korunovaci vítězů řeckých Nemeanských her, které byly pořádány na počest boha Dia. Syn krále Nemeana byl zabit hadem, který byl skryt v divokém celeru, a proto bylo celerových listů použito i na jeho pohřební věnec. Řekové rovněž tuto bylinu užívali k léčení a Římané uznávali její kulinářské vlastnosti. Lodyhy a řapíky se pasírovaly spolu s pepřem, libečkem, oreganem, cibulí a vínem. Listy celeru se používaly s datlemi a piniovými ořechy (semena borovice pinie) jako nádivka do salat. Mnohem později, v 19. století, začal pěstovat Američan Shakers divoký celer jako univerzální lék i jako zdroj jednotlivých léčivých látek [2,18].

Celer je dvouletá rostlina, která je vysoká 30 - 90 cm. Celer vyžaduje živnou vlhkou půdu a slunné stanoviště chráněné před silným větrem. Semena se vysévají buď brzy na jaře pod sklo, nebo koncem jara přímo do volné půdy. Semena je třeba vysévat mělce. Celer není vhodný pro pěstování v místnosti [9].



Obr. 3. Celer bulvový [9,18]

List celeru je bohatý na  $\beta$ -karoten, minerální látky a vitamin C. 100 g jedlého podílu celeru obsahuje přibližně 100 mg vitaminu C [16].

Listy celeru se sbírají podle potřeby, semena po dozrání. Listy je možné sušit, zmrazit nebo naložit do octa. Semena se mohou také sušit. Celerové listy mají výrazné aroma, koření se jimi v balkánské, americké, italské, francouzské i anglické kuchyni. Celerová nať i semeno

(sušené a mleté) bývají součástí kořeninových směsí pro grilování, do polévek a omáček. Často je používána sušená mletá nať se solí k dosolování a aromatizaci pokrmů. Čerstvá nať se používá k ochucování polévek, omáček, dušených mas se zeleninou, mletých mas, pomazánek a nádivek [9,16].

Nálev z listů pomáhá léčit poruchy trávení a koliku, příznivě působí i na nervový systém. Je vhodný pro revmatiky a diabetiky. Odvar ze semen se používá proti nespavosti. Šťáva z listů a stonků podporuje tvorbu moči [9,16].

## 1.5 Pažitka pravá

*Allium schoenoprasum* neboli pažitka pravá (Obr. 4) je středoevropská domácí bylina, kterou lze nalézt jak v Himaláji, tak v Rocky Mountains (USA).

Pažitka patří do čeledi liliovitých (*Liliaceae*). Tato aromatická bylina plná vitaminů se pěstuje již od středověku. Pažitky byly známy již před 4000 lety v Číně. Čínské pažitky mají chuť česneku a Číňané je pěstují hned v několika podobách: jednu pro její listy, druhou pro poupata na dlouhých stvolech a třetí jsou vybělovány pod hliněnými hrnci nebo slaměnými přístřešky: vyrostou pak žlutobílé, sladce a kořeně chutnající. Tyto „vybělené“ pažitky jsou typické pro populární lidová jídla, která jsou prodávána ve vlcích a v pouličních stáncích v Číně. Kousky pažitky jsou podávány s rýží a kousky vepřového masa, často již v předem zabalených miskách spolu s jídelními hůlkami [2].

Listy pažitky jsou tenké, duté válečky, které rostou do travnatého trsu. Jsou až 20 - 30 cm vysoké a mají 2 – 3 mm v průměru. Rostou jednotlivě, jako travnaté listy. Pažitka má fialově zbarvené květy, které jsou jedlé a svým tvarem a zbarvením jsou velice podobné květu jetele [3,17,21].

Pažitka se rozmnožuje dělením cibulí nebo přesazováním trsů jednou za tři roky na jaře. Pažitka může být vypěstována také ze semen. Přestože se pažitce daří téměř ve všech zahradách, potřebuje ke svému růstu dobře vyhnojenou půdou a pravidelnou vydatnou závlahu během celé sezóny. Pažitka musí být vysazena na slunném místě s částečným stínem. Rozkvetlé květy musí být pravidelně sbírány, aby si pažitka udržela svoji chuť. Pažitka zatahuje nať v zimě. Pažitku je třeba přikrýt suchým listím, aby brzy na jaře vyrostla čerstvá nať [4].





Obr. 4. Pažitka pravá [22,23]

Jako zelené koření využíváme mladé listy pažitky, které je třeba stále seřezávat. Pažitka se používá čerstvá, popřípadě zmrazená. Při zmrazování nebo sušení ztrácí mnoho ze svého obsahu vitaminů [16].

Ve 100 g jedlého podílu pažitky se nachází přibližně 90,7 g vody. Sušinu tvoří asi 2,4 g bílkovin, 0,7 g lipidů a 5,1 g sacharidů. Pažitka je dobrým zdrojem vitamínu C. Ve 100 g bývá obsaženo až 100 mg vitamínu C. Dále pažitka obsahuje  $\beta$ -karoten, fytoncidy, minerální látky (vápník, draslík) a silici s organicky vázanou sírou [13,16].

Pažitka se využívá nejen jako koření, ale také jako léčivá bylina. Pažitka podporuje chuť k jídlu a tvorbu trávicích šťáv. Mírně snižuje krevní tlak a působí proti střevním parazitům. Má příznivé účinky na ledviny. Pažitka se také užívá jako mírné projímadlo [2,3,16,21].

## 1.6 Petržel kadeřavá

Petržel kadeřavá (*Petroselinum crispum*) (Obr. 5) patří do čeledi miříkovitých (*Apiacea*). Petržel měli ve velké vážnosti Řekové a používali ji ke korunování vítězů při isthmických hrách a k výzdobě náhrobků – byla spojována s Archemorem, poslem smrti. Řekové také vysazovali petržel a routu vonnou podél záhonů s květinami. Byl to symbolický úkon, který provedl ten, kdo se pouštěl do nějakého podnikání. Z toho vzniklo úsloví „být na petrželi a na routě“, což znamenalo „start do podnikání“. Ačkoliv Řekové používali petržel jako lék a Homér zaznamenal, že bojovníci krmili petrželí koně, zdá se, že to byli až Římané, kteří uvedli petržel jako kuchyňskou bylinu. Spotřebovávali ji ve velkém množství a vázali z ní girlandy pro potěšení hostů na banketech – a pro přehlušení silných pachů.



Pochází z jižní Evropy, ale do severních oblastí, za Alpy, se dostala již velmi dávno. Kadeřavá petržel má tmavě zelené, jemně nebo silně zkadeřené listy a pro svůj zdobný vzhled se často používá na ozdobu různých jídel a studených mís [2,3,8].

Petržel je dvouletá okoličnatá rostlina, která se na severu pěstuje jako jednoletá. Petržel je třeba vysévat od jara do konce léta na záhon s bylinami nebo i na květinový záhon. Semena klíčí pomalu, šest až osm týdnů. Sazenice je nutné postupně prothávat a sjednotit na vzdálenost 30 cm. Petržel potřebuje mnoho slunce nebo polostín. Z petržele je zapotřebí odstraňovat květy, aby si rostlina zachovala silnou chuť a vůni. Petržel nesmí zmrznout, protože pak její listy ztrácí chuť a nehodí se ani na zdobení [4,17].

100 g jedlého podílu petržele kadeřavé obsahuje asi 83,2 g vody. Sušinu tvoří přibližně 4,3 g bílkovin, 0,42 g lipidů a 10,3 g sacharidů. Kadeřavá petržel obsahuje ze všech zahradních natí největší množství vitamínu C. Obsah vitamínu C je 100 – 300 mg ve 100 g jedlého podílu. Dále obsahuje minerální látky a  $\beta$ -karoten [13,16].

Hlavní účinnou látkou petržele jsou silice, které působí zejména jako diuretikum. Tyto silice mají také silný dezinfekční účinek. Petržel se proto často používá jako složka diuretických a urologických čajů k léčbě zánětů močového ústrojí. Mimo močopudného působení je významný i vliv na zažívání a podporu chuti k jídlu. Dále také petržel pomáhá při čištění krve a podporuje její tvorbu [3,24].

Koncentrovaná petrželová silice ve větším množství ale může poškodit játra a ledviny, a protože vyvolává kontrakce dělohy, nesmí se podávat těhotným ženám [3].



Obr. 5. Petržel kadeřavá [25,26]

## 1.7 Petržel kořenová

Petržel kořenová (*Petroselinum crispum convar. radicosum*) (Obr. 6) patří vedle mrkve k u nás nejdůležitějším druhům kořenové zeleniny. Petržel patří mezi miříkovité (*Apiaceae*).

Petržel je dvouletá bylina. Pochází zřejmě ze Středozeří, odkud se rozšířila až k nám. První zmínky o ní pocházejí už z 3. století. Už tehdy byla uznávaná jako velice účinná droga. Sám Karel Veliký se pak údajně zasadil o její rozšíření po celé Evropě [9,18,27].



Obr. 6. Petržel kořenová [18,27]

Půda, určená pro pěstování petržele, musí být hluboce zpracovaná, nejlépe zrytá a důkladně zkeypřená. Kamenité půdy nejsou pro pěstování vhodné, kořen se vlivem překážek v nich rozvětví a nemá správný tvar. Záhony pro kořenovou petržel se nehnojí chlévským hnojem. Vysoký obsah dusíku způsobuje špatnou skladovatelnost [18].

Pro svou chuť, vůni a barvu patří petržel mezi velmi oblíbenou naťovou zeleninu. S bobkovým listem, tymiánem a česnekem tvoří „bouquet garni“. Zvýrazňuje chuť a vůni vařených pokrmů, ale i jiných bylinek. K dosažení silnějšího účinky je možné použít větší množství nasekané natě i stonků, které jsou aromatictější. Petrželová nať se přidává do dietních jídel, ale vždy až na konec vaření. Je vhodná do salátů, polévek, omáček, majonézy, vaječných pokrmů a na sendviče [2].

Nať petržele se využívá především pro zdobení již hotových pokrmů. Díky své lehce pikantní chuti může ale příjemně ochutit také čerstvé saláty. Hodí se ale například při přípravě rybího masa, které lehce ovoní. Je také nezbytnou součástí různých jarních nádivek. Dobrá je ale také k raným bramborám, kterým dodá aroma [27].

Kořen petržele je využitelný na mnoho způsobů. Nastrouhaný se přidává do salátů. Hodí se také k pečenému nebo dušenému masu. Nepostradatelný je při přípravě tradiční české svíčkové omáčky. Nejčastější využití je ale jako u ostatní kořenové zeleniny pro přípravu polévek [27].

Účinnou látkou obsaženou v petrželi je zejména silice, která je v nati obsažena v množství přes 7 %. Silice podporuje činnost ledvin, snižují krevní tlak a zlepšují funkci celého trávicího traktu. Kořeny petržele obsahují vitaminy B, C, E a řadu minerálních prvků, jako je draslík, fosfor, hořčík, sodík, vápník a železo. Kyselina listová, obsažená v nadzemních částech rostliny, podporuje správnou tvorbu tkání a dělení buněk. Silice působí močopudně, a proto se využívá při léčbě otoků. Petržel zvyšuje napětí hladkých svalů dělohy a střev. Působí na zrak (šeroslepost). Z listů a kořene lze připravit nálev, který se zevně užívá na rány a zpevňuje dásně při paradontóze. Petržel léčivě působí na chudokrevnost, dnu a revma [9,18,20,27,28].

## 2 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY

K významným biologicky aktivním látkám patří antioxidanty. Antioxidantům jako biologicky aktivním látkám v potravě se v současnosti věnuje velká pozornost, a to z hlediska jejich biologické účinnosti i z hlediska jejich výskytu v různých druzích potravin [29].

Antioxidanty, jsou látky, které prodlužují údržnost potravin tak, že je chrání před znehodnocením způsobené oxidací, jejímž projevem je žluknutí přítomných tuků a dalších, snadno se oxidujících složek potravin (např. vonných látek). Oxidace lipidů vyvolává další chemické změny v potravinách, které negativně ovlivňují jejich výživovou, hygienicko-toxikologickou senzoričnou hodnotu (vůni, chuť, barvu). Oxidací esenciálních mastných kyselin však také vzniká žádoucí aroma některých potravin (ovoce, zeleniny a hub) [29].

Autooxidace mastných kyselin je nejběžnějším typem oxidace za podmínek, které přicházejí v úvahu při zpracování nebo skladování potravin. Při běžných teplotách se vzdušným kyslíkem oxidují jen nenasycené mastné kyseliny. Za vyšších teplot odpovídajících teplotám pečení, smažení a pražení dochází také k autooxidaci nasycených mastných kyselin. [30].

Primárními produkty autooxidace jsou hydroperoxydy mastných kyselin. Hydroperoxydy, zvláště dienových a trienových kyselin, jsou velmi nestálé a odštěpují buď vodíkový, nebo hydroxylový radikál. V prvním případě vznikne peroxylový radikál, ve druhém případě alkoxylový radikál. Oba tyto volné radikály mohou iniciovat řetězovou reakci mastných kyselin. Na počátku je reakce nejčastěji iniciována teplem nebo zářením, takže je iniciační rychlost malá. Postupně se v systému hromadí hydroperoxydy, které vyvolávají tvorbu dalších radikálů a tak se rychlost iniciační reakce zvyšuje s rostoucí koncentrací peroxidů. Pokud je k dispozici dostatek kyslíku, reakční rychlost prudce vzrůstá, až dosáhne svého maxima. Postupně totiž ubývá reaktivních skupin v reakčním prostředí a reakce se zpomaluje. Při zpomalování tvorby dalších hydroperoxidů nabývá na významu rozklad hydroperoxidů výše uvedeným mechanismem. Rozklad totiž nezávisí na přítomnosti kyslíku ani na přítomnosti nezreagovaných lipidů. Od určitého okamžiku převyší rychlost rozkladu hydroperoxidů rychlost jejich tvorby. Potom postupně množství hydroperoxidů v systému klesá [30].

Lidské tělo neustále vytváří volné radikály. Mnoho lidských chorob je způsobeno nebo negativně ovlivněno právě volnými radikály. Přirozená obrana lidského organismu proti působení volných radikálů není vždy dostačující, především díky významné expozici vol-

ných radikálů z externích zdrojů v moderním světě. Dostatečný přísun antioxidantů potravou, hraje důležitou roli při ochraně lidského organismu proti působení volných radikálů [31,32].

Mnoho klinických a epidemiologických studií poukazuje na spojení mezi antioxidační aktivitou látek přítomných v potravinách a prevencí nemocí, jako jsou např. kardiovaskulární choroby [31].

Kromě ovoce a zeleniny, které jsou v současné době doporučovány jako optimální zdroj antioxidantů, je vhodné doplnit stravu o aromatické byliny, které obsahují velké množství antioxidantů schopných deaktivovat volné radikály [33].

Příjem dostatečného množství těchto potravinářských komodit není vždy uspokojivý. Z tohoto důvodu, se v posledních letech více studuje možnost nových zdrojů antioxidantů. Nové zdroje antioxidantů by mohly být použity k přímé spotřebě nebo pro výrobu potravinových doplňků, které by mohly být použity k obohacení potravin, s cílem zvýšit jejich nutriční hodnotu. Léčivé byliny používané v tradiční medicíně jsou jedním z těchto zdrojů antioxidantů [31].

Bylinné produkty zahrnují širokou škálu vlastních předepsaných přípravků rostlinného původu, které mohou být obecně zařazeny do kategorií potravin, potravinových doplňků, kosmetických a bylinných léčivých přípravků [34].

## 2.1 Klasifikace antioxidantů

Antioxidanty se klasifikují do 3 skupin.

### *A) Dle jejich funkce*

- reagující s volnými radikály (antioxidanty primární) nebo redukují vzniklé hydroperoxydy (sekundární antioxidanty)
- vážící do komplexů katalyticky působící kovy
- eliminující přítomný kyslík [29,35].

K primárním antioxidantům náleží všechny povolené látky (askorbová a erythorbová kyselina a jejich deriváty, tokoferoly, fenolové antioxidanty, galláty). K sekundárním antioxidantům se řadí např. cystein, peptidy obsahující cystein (např. glutathion), methionin, lipo-

ová kyselina a další přirozeně se vyskytující sloučeniny, které se však jako antioxidanty nepoužívají [29,35].

*B) Dle původu na přírodní a syntetické antioxidanty*

K přírodním antioxidantům se řadí kyselina askorbová, fenolové sloučeniny a tokoferoly. K syntetickým antioxidantům náleží BHA (butylhydroxyanisol), BHT (butylhydroxytoluen), TBHQ (2-*terc*-butylhydrochinon) a galláty [29,35].

*C) Dle struktury na fenolové, endioly a jiné látky*

- fenoly - tokoferoly, fenolové antioxidanty, galláty a řada dalších sloučenin přítomných v potravinách, koření a v jiných přírodních materiálech.
- endioly - zahrnují askorbovou a erythorbovou kyselinu a jejich soli [29,35].

### **2.1.1 Přírodní antioxidanty**

Přírodní antioxidanty jsou různorodé látky přírodní povahy. Mají schopnost eliminovat negativní účinky volných radikálů, které se spojují se stárnutím a vznikem kardiovaskulárních a nádorových onemocnění [35].

Antioxidační vlastnosti vykazuje řada rostlinných potravinářských materiálů. Některé druhy koření, ovoce, zeleniny, obilovin, čajů a vín jsou přírodními zdroji antioxidantů [29].

Přehled přírodních antioxidantů:

- jednoduché fenoly (hydrochinon, guajakol, isoeugenol a salicylaldehyd)
- fenolové kyseliny a jejich deriváty (kyselina benzoová a její deriváty, kyselina skořicová a její deriváty, kyselina kávová)
- lignany
- kurkuminoidy
- diterpeny a chinony
- triterpeny a steroly
- flavonoidy [29,35].

Po staletí se k prodloužení údržnosti potravin používají převážně různé byliny a koření. Zvláště účinné jsou rozmarýna a šalvěj, ale i další, např. oregano, tymián, hřebíček, kur-



kuma a také ovesná mouka. Přírodní antioxidanty mají často omezené použití, neboť mohou vykazovat vůni po použitých rostlinách nebo hořkou chuť [29,35,36].

### 2.1.1.1 *Kyselina askorbová*

Kyselina askorbová má díky svým vlastnostem (vitamin, antioxidant a chelatační činidlo) široké použití jako potravinářské aditivum. Kyselina askorbová se používá především v konzervářské a kvasné technologii a v technologii masa, tuků a také v cereální technologii. Jako antioxidant se používá také ve vodě rozpustná sůl kyseliny askorbové, natrium-askorbát a lipofilní sloučenina 6-palmitoyl-L-askorbová kyselina, která současně inhibuje tvorbu nitrosaminů a nakládáním masa a masných výrobků [37].

Natrium-askorbát i některé významné estery kyseliny askorbové, jako jsou askorbyl-6-palmitát a askorbyl-2-fosfát, jsou plně aktivní. Askorbyl-2-sulfát je však zcela neaktivní formou vitamínu. Fosfát i sulfát jsou ale asi dvacetkrát stabilnější vůči oxidaci, než volná kyselina [37].

Kyselina askorbová snadno podléhá oxidaci, a to přímé nebo nepřímé. Přímá oxidace bývá katalyzována enzymem L-askorbázou nebo ionty mědi, kdy vzniká jako meziprodukt peroxid vodíku, který může přednostně reagovat s některými jinými složkami potravin (antokyany, tuky) a kyselina askorbová se tak stává prooxidačním činidlem. Při nepřímé oxidaci se jako katalyzátor uplatňují difenoly spolu s enzymem o-difenoloxidasou, popřípadě s trojmocným železem. Dehydroaskorbová kyselina vzniklá oxidací se oxiduje dále nevratně na antiskorbuticky již neúčinné zplodiny, 2,3- diketogulonovou kyselinu a ta dále na šťavelovou a threonovou kyselinu. Za nepřítomnosti kyslíku je kyselina askorbová poměrně stálá i při vyšších teplotách [38].

Velmi důležitými reakcemi souvisejícími s antioxidačními vlastnostmi vitamínu C jsou reakce s aktivními formami kyslíku, resp. s volnými radikály, a reakce s oxidovanými formami vitamínu E, které zabezpečují ochranu vitamínu E a lipidů membrán před oxidací. Ochrannou funkci má i pro labilní formy listové kyseliny [37].

V potravinách rostlinného původu se zpravidla vyskytuje 90 – 95 % vitamínu přítomného ve formě kyseliny askorbové, zbytek tvoří kyselina dehydroaskorbová. Nejbohatším zdrojem vitamínu C je ovoce a zelenina v čerstvé formě. Bohaté zdroje vitamínu C však zpravidla nebývají významné pro krytí potřeby vitamínu (šípky, černý rybíz, kadeřavá petržel), protože se konzumují jen příležitostně a v malém množství. [37,39,40].

Dnes se doporučená denní dávka vitamínu C pohybuje v rozmezí 60 – 200 mg. Veškerá potřeba vitamínu C je kryta vitaminem z potravy, hlavně bramborami, zeleninou a ovocem [37].

Deficience vitamínu C či hypovitaminosa se projevuje řadou nespecifických příznaků, nejčastěji tzv. jarní únavou. Nejznámějším syndromem akutní avitaminosy jsou kurděje (skorbut) [37].

### **2.1.1.2 Fenolové sloučeniny**

Rostliny jsou dlouhodobě považovány za velmi cenný zdroj látek prospěšných člověku. K příznivě působícím látkám s antioxidačními, ale také antibakteriálními, antimutagenními a protizánětlivými účinky patří fenolové sloučeniny nacházející se zejména v ovoci, zelenině a bylinách. Jejich rozsáhlý ochranný efekt je představován celou řadou vzájemně se doplňujících účinků přispívajících k vytvoření homeostázy. Dnes je známo, že narušení této rovnováhy, např. působením volných radikálů, může vést ke vzniku a rozvoji četných onemocnění a chorobných stavů, např. aterosklerózy, diabetu, zánětlivých stavů, neurologických onemocnění, očních chorob, onemocnění trávicího traktu a dalších [41].

K fenolovým antioxidantům se řadí různorodé látky s aromatickým jádrem, případně s heterocyklickou strukturou a navázanými hydroxylovými skupinami a jinými substituenty. Jde o látky, které jsou schopné působit jako efektivní vazače oxidujících molekul. Mohou vázat nejen volné radikály, ale i přechodné kovy za vzniku chelátů a inhibovat enzymy katalyzující vznik volných radikálů. Na druhé straně bylo však zjištěno, že některé fenolové sloučeniny mohou za jistých okolností (např. v přítomnosti měďnatých iontů) vykazovat i prooxidační účinky a indukovat tak poškození DNA nebo peroxidaci lipidů. Uvádí se, že tato prooxidační aktivita může sehrát roli i v karcinogenezi [41].

Fenolové sloučeniny se dělí na:

- jednoduché fenoly
- fenolové kyseliny
- estery
- glykosidy
- amidy [35].

- Jednoduché fenoly

Jednoduché fenoly mají antioxidační účinky, působí proti růstu bakterií a protizánětlivě. Do této skupiny látek patří hydrochinon, guajakol a salicylaldehyd. Tyto látky jsou součástí kouře, který se odedávna používá k uzení potravin. Dalším významným fenolem je thymol, který se nachází v tymiánu. Dalším je karvakrol [35].

- Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny zejména se strukturou C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (benzoová kyselina a její deriváty) a se strukturou C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (skořicová kyselina a její deriváty) jsou běžnými složkami všech rostlinných materiálů. Fenolové kyseliny mají účinky primárních antioxidantů. Jejich aktivita závisí na počtu hydroxylových skupin v molekule. Aktivnějšími antioxidanty jsou skořicové kyseliny a *o*-difenoly. Významným zástupcem je kyselina gallová, která se vyskytuje např. v pivu, vínu, ovoci a zelenině. [35].

- Estery

Podstatným antioxidantem majoránky je vedle mnoha diterpenů kyselina rosmarinová, která je esterem kávové a 2-hydroxy-3-propionové kyseliny. Nejobvyklejšími estery fenolových kyselin jsou depsidy. Zástupcem 3-depsidů odvozených od kyseliny chinové je hodně rozšířená kyselina chlorogenová, která se vyskytuje ve velkém množství v kávě a bramborech. Zástupcem 3-depsidů odvozených od kyseliny šikimové je daktyliforová kyselina, která se vyskytuje v datlích. Obě kyseliny a jiné příbuzné depsidy se uplatňují jako substráty oxidoreduktas v reakcích enzymového hnědnutí. V zelené a pražené kávě se vyskytuje přes 30 esterů hydroxyskořicových kyselin. Převahu mají 3-depsidy chinové s kávovou kyselinou nebo šikimové s kávovou kyselinou. Souhrnným názvem kyselina chlorogenová se označují všechny přírodní estery kyseliny chinové. Jsou nejdůležitějšími kyselinami v zelené kávě, ve které se vyskytují v množství 7-10 % sušiny. V čerstvých bramborech se množství kyseliny chlorogenové pohybuje asi od 100 do 200 mg.kg<sup>-1</sup>. Vařené brambory obsahují pouze 35 % tohoto množství, v pečených bramborech se kyselina chlorogenová nevyskytuje vůbec. Kyselina chlorogenová přispívá ke snížení ukládání cholesterolu do cév, tedy ochraně kardiovaskulárního systému [35].

- Glykosidy

Glykosidem s antioxidačními účinky je např. (*E*)-1-*O*-sinapoyl-β-D-glukopyranosa, která se vyskytuje v klíčících semenech brukvovitých rostlin, kde vzniká ze sinapinu. V oreganu

se vyskytuje glykosid, který je odvozený od kyseliny protokatechuové. Působivým antioxidantem oliv a divizny je verbaskosid, což je glykosid, který je odvozený od 3,4-dihydroxyfenylethanolu. Ester cholinu s kyselinou sinapovou se označuje jako sinapin. Vyskytují se oba isomery kyseliny sinapové, ale převažuje (*E*)-isomer. Označení sinapiny se využívá pro estery cholinu s fenolovými kyselinami. Sinapiny se nacházejí v semenech brukvovitých rostlin. V listech se sinapiny nevyskytují. Kolem 85 % fenolových kyselin je vázáno v sinapinech, zbytek jsou volné kyseliny nebo jejich glykosidy. Sinapiny jsou charakteristické hořkou a svíravou chutí. Intenzita hořké chuti je stejná jako hořká chuť kofeinu. Sinapiny mají nižší antioxidantní aktivitu než fenolové kyseliny, nemají také antimikrobiální účinky. Sinapin ve větším množství způsobuje zarudnutí kůže a bodavé bolesti až zánět kůže [35].

- Amidy

Vysoce účinnými antioxidanty jsou amidy fenolových kyselin. V ovsu setém se nachází asi 40 cinnamoylanthranilových kyselin. Zhruba 6 % antioxidantů ovsa představují anthramidy, které jsou odvozeny od kávové kyseliny. V černém pepři se vyskytuje amid s antioxidantními účinky, jehož prekurzorem je kyselina ferulová a tyramin. Účinný jako antioxidant je také amid, který je odvozený od alkaloidu pepře piperinu otevřením 1,3-dioxolového kruhu. Příbuznými amidy jsou vanillylamidy, zejména kapsaicin a dihydrokapsaicin, což jsou pálivé látky papriky a jsou řazeny mezi alkaloidy. Stejnou sloučeninou je kapsaicinol, který se nachází v paprikách chilli. Nemá pálivou chuť, ale je účinný jako antioxidant. Kapsaicin může způsobit dýchací potíže a křeče [35].

### 2.1.1.3 *Tokoferoly*

Vitamin E, zvláště  $\alpha$ -tokoferol, je nejvýznamnější lipofilním antioxidantem, který se uplatňuje u eukaryotických buněk jako ochrana nenasycených lipidů před poškozením volnými radikály. Spolu s  $\beta$ -karotenem a koenzymy Q chrání strukturu a integritu biomembrán, tzn. buněčné (cytoplasmové) membrány (plasmolemy) a hlavně membrán vnitrobuněčných organel (buněčné jádro, mitochondrie, lysosomy, endoplasmové retikulum). Uplatňuje se také při ochraně lipoproteinů přítomných v plasmě. V krevním řečišti je transportován asociovaný s lipidovou fází lipoproteinových částic LDL (angl. *Low Density Lipoproteins*). Každá částice LDL lipoproteinů obsahuje 6 molekul vitamínu E [37].

Adekvátní příjem vitamínu E se považuje za prevenci oxidace lipidů biomembrám. Vitamin E je proto faktorem zpomalující proces stárnutí organismu a uplatňuje se v prevenci kardiovaskulárních chorob a vzniku rakoviny [37].

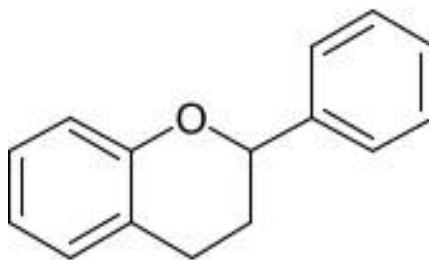
Potřeba vitamínu E není dosud přesně známa. Závisí značně na příjmu polyenových mastných kyselin potravou. Pro osoby s průměrným denním příjmem těchto mastných kyselin 14 -19 g se doporučuje denní příjem 15 mg. U těhotných žen se doporučuje denní příjem vyšší o 2 mg a u kojících žen o 5 mg [37,38].

Hlavní formou vitamínu v zelených částech rostlin je  $\alpha$ -tokoferol lokalizovaný v plastidech,  $\gamma$ -tokoferol je hlavní formou vitamínu v pletivech, kde neprobíhá fotosyntéza (např. v semenech). Velké množství vitamínu E obsahují zejména oleje z obilných klíčků. Obsah vitamínu E v ovoci a zelenině zpravidla nepřesahuje  $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Hlavní složkou bývá  $\alpha$ -tokoferol. [37,39].

Mechanismus oxidačního účinku vitamínu E je podobný jako účinek ostatních lipofilních antioxidantů. Tokoferoly reagují s volnými radikály včetně aktivních forem kyslíku. Autooxidaci lipidů inhibují tak, že reagují s peroxylovými radikály za vzniku hydroperoxidů a radikálů tokoferolů. Nastane přerušení radikálového řetězce v propagační fázi. Radikál tokoferolu se stabilizuje nevratnou reakcí s jinými radikály v terminační fázi, nejčastěji s druhým hydroperoxylovým radikálem [39].

#### **2.1.1.4 Flavonoidy**

Flavonoidní látky neboli flavonoidy jsou velmi rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů, které obsahují v molekule 2 benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Jedná se o uspořádání  $C_6-C_3-C_6$ . Svými vlastnostmi se velmi liší od jiných fenolových pigmentů, a proto jsou uváděny jako samostatná skupina rostlinných barviv. U většiny flavonoidů je  $C_3$  řetězec součástí heterocyklického (pyranového) kruhu. Flavonoidy jsou tedy odvozené od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny 2H-chromenu, substituovaného v poloze C-2 fenylovou skupinou, který se nazývá flavan [35].



Obr. 7. Flavan [42]

Flavanový skelet se skládá ze dvou benzenových kruhů a kruhu odvozeného od 2H-pyranu. Běžně bývají všechny 3 kruhy substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace. Vyskytují se jako volné látky nebo častěji jako glykosidy [35].

Podle stupně oxidace C<sub>3</sub> řetězce se rozeznávají následující základní struktury flavonoidů:

- katechiny (3-flavanoly)
- leukoanthokyanidiny (3,4-flavandioly)
- flavanony
- flavanonoly
- flavony
- flavonoly
- anthokyanidiny [35].

Katechiny je skupina fenolických látek. Katechiny obsahují dvě a více hydroxylových skupin. Většinou jsou vázány na kyselinu gallovou. Řadí se k tříslovinám. Jsou přítomny v kůře a dřevě řady stromů. Používají se také jako barvivo [43].

Leukoanthokyanidiny jsou bezbarvé látky, které se vyskytují hlavně jako volné aglykony, vzácně i jako glykosidy. Jsou složkami tříslovin a prekurzory anthokyanidinů [43].

Flavanony jsou bezbarvé až světle žluté látky, které se vyskytují v malém množství jako glykosidy. Flavanony jsou silně hořké látky, které se nachází ve slupkách citrusového ovoce. Flavanonoly a flavony jsou látky světle žluté až žluté barvy. Vyskytují se hlavně jako glykosidy. Flavonoly jsou žluté látky, vyskytující se hlavně jako glykosidy. Jsou to významná rostlinná barviva (kvercetin, myricetin, rutin) [43].

Anthokyany neboli anthokyanidiny jsou přírodní pigmenty zbarvené červeně až modře. Chemicky jsou reaktivní a tudíž nestálé, snadno u nich nastává nežádoucí zhoršení a změny. Anthokyany jsou ve vodě rozpustné, zvláště v teplé, takže máčením a blanširováním se vyluhují. Jako potravinářská barviva se anthokyany izolované z přírodních zdrojů používají více než 100 let, ve formě koncentrátů šťáv různých plodů mnohem déle. Nevýhodou však je, že intenzivní barvu mají v prostředí o  $\text{pH} < 3,5$ , takže jsou vhodné jen pro kyselé potraviny. Jejich význam jako potravinářských barviv roste v souvislosti se stoupajícím zájmem spotřebitelů o přírodní látky. Potenciální zdroje těchto barviv jsou omezeny dostupností rostlinného materiálu a celkovými ekonomickými podmínkami jejich výroby, takže pouze několik rostlinných druhů je průmyslově využíváno. Nejčastěji se k barvení potravin používají anthokyanová barviva získávaná z hroznů révy vinné (slupek nebo sedimentů šťávy), jejichž obsah anthokyanů je  $0,3 - 7,5 \text{ g.kg}^{-1}$ . Bohatým zdrojem jsou také plody bezu černého ( $2 - 10 \text{ g.kg}^{-1}$ ) nebo plody aronie (*Aronia melanocarpa*) [35,38].

Ze strukturně příbuzných sloučenin (vesměs produktů biosyntézy a katabolismu flavonoidů), u kterých jsou benzenové kruhy spojeny alifatickým  $\text{C}_3$  řetězcem nebo řetězcem, který je částečně součástí furanového cyklu, se dále rozeznávají:

- chalkony a dihydrochalkony
- aurony [35].

Chalkony a dihydrochalkony jsou žluté až oranžové látky. Vyskytují se zejména jako glykosidy. Některé dihydrochalkony se mohou používat jako náhradní sladidla. Aurony jsou zlatožluté látky, vyskytující se hlavně jako glykosidy [43].

Flavonoidy se v aromatických bylinách vyskytují zejména v listech, květech a jsou také obsaženy v pylích rostlin [44].

### 3 METODY STANOVENÍ BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK

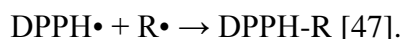
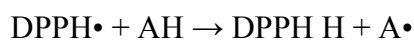
#### 3.1 Stanovení antioxidační aktivity

V posledních desetiletích se zvyšuje množství poznatků a úroveň znalostí o úloze volných radikálů při oxidačním stresu živých organismů. Volným radikálům, které vznikají *in vivo* a mají řadu fyziologických funkcí (např. účast v protizánětlivých reakcích, v procesu fagocytosy), se v současnosti věnuje velká pozornost a sleduje se jejich negativní působení na organismus při řadě onemocnění. Jde především o reaktivní kyslíkové radikály (ROS – reactive oxygen species) a dusíkové radikály (RNS – reactive nitrogen species). Tyto radikály působí na biologicky významné sloučeniny, především lipidy, bílkoviny a nukleové kyseliny. Pozměňují jejich strukturu a tím modifikují jejich funkci. Kaskáda reakcí iniciovaná radikály vede k následným změnám ve struktuře buněk, k poškození celých tkání, orgánů a důležitých funkcí organismu. Reparativní procesy v organismu nemohou samy plně eliminovat poškození biomolekul, významnou roli při ochraně před volnými radikály hraje prevence, tj. redukce příčin jejich vzniku [45,46].

##### 3.1.1 Metoda používající DPPH

Tato metoda je považována za jednu ze základních metodik k posouzení antiradikálové aktivity směsných vzorků i čistých látek.

Principem metody DPPH je schopnost stabilního volného radikálu 2,2'-difenyl-1-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku. DPPH• vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. Při této metodě se po redukcí antioxidantem (AH) nebo radikálem (R•) roztok odbarví dle následující reakce:



DPPH v methanolu má intenzivně fialové zbarvení, které je měřitelné při 515 nm. Působením antioxidantů se intenzita jeho zbarvení snižuje. Rychlost a míra odbarvení jsou úměrné antioxidační aktivitě vzorku. Jako standard může být použita např. kyselina gallová, kyselina askorbová, kyselina izoaskorbová, epikatechin nebo Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina). Na ekvivalentní množství Troloxu se antioxidační aktivita přepočítává nejčastěji [48].



Reakci je také možno sledovat metodou elektronové spinové rezonance nebo HPLC. Použití metody HPLC, při které je hodnocen pík radikálu DPPH, je vhodné zejména u barevných vzorků, kdy se na rozdíl od spektrofotometrie zabarvení vzorku eliminuje [45].

### 3.1.2 Metoda TEAC

Metoda TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) využívá činidel, která iniciační akcí jiné látky přecházejí ve svou radikálovou formu, která je barevná a relativně stabilní. V přítomnosti antioxidačně aktivních složek extrahovaných ze vzorku potraviny se redukuje, a tím odbarvuje. Rychlost a míra odbarvení jsou úměrné antioxidační aktivitě vzorku. Aby vyjádření této kvality vzorku bylo standardní, stanovuje se shodným postupem TEAC v přítomnosti pouhého askorbátu, Troloxu, gallátu, epikatechinu nebo jiných klasických antioxidantů [49].

Nejčastěji používaným prekursorem radikálu je tzv. ABTS, tj. 2,2'-azinobis(3-ethylbenzotiazolin)-6-sulfonát, iniciátorem, který ji přeměňuje na modrozelený radikál ABTS<sup>+</sup>, je látka AAHP, tj. 2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid, ale také peroxid vodíku, ferrokyanid, persíran nebo peroxidasa z křenu ve směsi s peroxidem vodíku aj. [49].

### 3.1.3 Metoda FRAP

Metoda FRAP (Ferric reduction ability of plasma) nebo FOX (Ferrous oxidation assay) je založena na redukcí železitých komplexů jako je TPTZ (2,4,6-tripyridyl-S-triazin), ferrikyanid aj., které jsou téměř bezbarvé a po redukcí a eventuální reakci s dalším činidlem vytváří barevné produkty, jakým může být např. berlínská modř [49].

### 3.1.4 Metoda ORAC

Metoda ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) spočívá ve vytvoření peroxylového radikálu fykoeritrinu, a to jeho oxidačním činidlem ABAP (2,2'-azobis-2-methylpropionamidin). Radikál se určuje kvantitativně fluorimetricky a hodnotí se rychlost úbytku signálu po přidání testovaného vzorku [49].

### 3.1.5 Lipidově peroxidační metody

Lipidově peroxidační metody se provádějí v pufrovaných modelových systémech, které obsahují nenasycené mastné kyseliny a testovaný vzorek. Často se přidává homogenát živočišné tkáně, např. jater nebo mozku, a lipidová peroxidace se v ní iniciuje tetrachlorme-

tanem nebo peroxidem. Je možné použít separovaných mikrosomů a iniciace lipoperoxi-dačních alternací směsí NADPH a železnatými soli nebo jinými systémy [49].

### 3.1.6 Metody založené na detekci oxidačního poškození organismu

Metody založené na detekci oxidačního poškození organismu jsou nákladné a časově náročné. U pokusných zvířat se vyvolává experimentální oxidační stres a současně nebo následně se v různých dávkách podává testovaný vzorek potravin. Kritérii oxidačního poškození jsou např. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosin v moči, karbonylované proteiny v krvi, tzv. TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) v krvi, hydroperoxydy a konjugované dieny v krvi, F2-isoprostany a ethan + penthan ve vydechoveném vzduchu [49].

### 3.1.7 Novější speciální metody

Briggs-Rauscherova metoda využívá peroxylový radikál malonátu, jehož tvorba v umělém systému je moderována aplikovaným vzorkem. Kvantitativní hodnocení radikálu je oscilometrické, metoda je výjimečně citlivá.

Jiná 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, která se vytvořila potravními antioxidanty [49].

## 3.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Polyfenoly jsou nízkomolekulární sekundární produkty rostlinného metabolismu, které se nacházejí v mnoha aromatických rostlinách. Polyfenoly pomáhají chránit rostlinu před ultrafialovým zářením, patogeny a rostlinnými viry [50].

Biologická aktivita těchto přírodních látek byla opakovaně potvrzena zejména v oblasti indukce biotransformačních enzymů, inhibice přeměny prekarcinogenů na karcinogeny *in vivo*, antioxidační aktivity aj. Středem pozornosti vědeckého výzkumu zůstávají i nadále skupiny flavonoidů, rostlinných fenolů a fenolických kyselin, rostlinných polyfenolů s polymerovanou nebo polykondenzovanou strukturou a také některých fytochemických faktorů nefenolové povahy [51].

Ke stanovení celkových polyfenolů v potravinách, jsou využívány dvě metody:

### 3.2.1 Stanovení polyfenolů chromatograficky, zvláště metodou HPLC

Předem definované složky se stanoví chromatograficky. Při použití této metody, mohou některé polyfenoly uniknout stanovení, což je nevýhoda této metody. Většinou jsou to polyfenoly s neznámou strukturou nebo špatně dělitelné směsi. Metoda HPLC reprezentuje rozsáhlou skupinu technik, umožňující analýzu většiny známých látek.

### 3.2.2 Stanovení polyfenolů pomocí reakce s Folin-Ciocalteuovým činidlem

Metoda stanovení polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem byla vymyšlena v 50. letech 20. století a existuje mnoho jejích modifikací.

Tato metoda je založena na principu oxidace nebo redukce fenolových látek při reakci s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Toto činidlo se skládá z wolframu sodného, kyseliny orthofosforečné, kyseliny chlorovodíkové, molybdenanu sodného, síranu lithného a bromu.

Nevýhodou této metody je, že Folin-Ciocalteuovo činidlo bývá redukováno i ostatními látkami, než pouze polyfenoly (např. kyselinou askorbovou). Díky tomu bývají výsledky při použití metody HPLC nižší než při použití Folin-Ciocalteuova činidla [49,52,53].

Ke stanovení celkových polyfenolů v této diplomové práci byla použita standardní spektrofotometrická metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem podle Dorman, Bachmayer, Kosar a Hiltuen(54). Ke stanovení celkových polyfenolů se připraví reakční směs, kde dojde k oxidaci fenolických látek v alkalickém prostředí a ze žlutého zbarvení fosfowolframové heteropolykyseliny a kolorimetrickým měřením výsledného komplexu vzniká modré zbarvení. Reakční směs se měří pomocí spektrofotometru při 760 nm po uplynutí 60 min. K reakční směsi se přidává uhličitan sodný. Jako standard byla použita kyselina gallová [49,52,53].

### 3.3 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Stanovení celkového obsahu flavonoidů se provádí pomocí málo specifické spektrofotometrické metody s hlinitou solí a dusitanem. Jako standard se používá katechin, kvercetin nebo rutin [49].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovit a porovnat antioxidační aktivitu, stanovit celkový obsah polyfenolů a flavonoidů ve vybraných aromatických bylinách – kopr vonný, libeček lékařský, celer bulvový, pažitka pobřežní, petržel kadeřavá a petržel kořenová.

1. Formou literární rešerše charakterizovat vybrané aromatické byliny, dále popsat působení antioxidantů a jejich zdroje. Popsat také metody využívané ke stanovení antioxidační aktivity, polyfenolických látek a flavonoidů.
2. Stanovit ve vybraných vzorcích aromatických bylin jejich antioxidační aktivitu pomocí DPPH. Stanovit celkový obsah polyfenolických látek spektrofotometrickou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Stanovit celkový obsah flavonoidů spektrofotometrickou metodou s  $\text{NaNO}_2$  a  $\text{AlCl}_3$ .

## 5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

### 5.1 Vzorky aromatických bylin

V diplomové práci bylo analyzováno 16 vzorků 6 různých druhů aromatických bylin používaných pro kulinární zpracování - kopr vonný, libeček lékařský, nať celeru bulvového, pažitka pravá, petržel kadeřavá a nať petržele kořenové.

K analýze byly použity čerstvé vzorky aromatických bylin (kopr vonný, nať celeru bulvového, pažitka pravá, petržel kadeřavá a nať petržele kořenové), které byly získány z domácí pěstitelství. Dále byly použity mražené vzorky vybraných bylin (kopr vonný, libeček lékařský, nať celeru bulvového, pažitka pobřežní, petržel kadeřavá a nať petržele kořenové). A také byly použity sušené vzorky aromatických bylin (kopr vonný, libeček lékařský, pažitka pobřežní, petržel kadeřavá a nať petržele kořenové), které byly zakoupeny v tržní síti. Čerstvé vzorky aromatických bylin byly po provedené analýze následně zmrazeny a po zmrazení (1 týden) analyzovány. V Tab. 1. je uveden přehled vzorků aromatických bylin.

### 5.2 Použité pomůcky a přístroje

- laboratorní sklo a pomůcky
- analytické váhy (EP 214, Ohaus, Švýcarsko)
- spektrofotometr (Libra S6 Biochrom, Velká Británie)
- spektrofotometr (Spekol 11, Česká republika)

### 5.3 Použité chemikálie

- DPPH (Aldrich, USA)
- etanol
- kyselina gallová p.a. (Sigma, Německo)
- Folin - Ciocalteuovo činidlo (Penta, ČR)
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Rutin trihydrát (P-LAB, ČR)
- NaNO<sub>2</sub>

- $\text{AlCl}_3$
- NaOH (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- destilovaná voda

*Tab. 1. Seznam aromatických bylin použitých k analýze*

Č.	Vzorek	Forma	Výrobce
1	Kopr vonný	čerstvý	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
2		mražený	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
3		sušený	VITANA, a.s., Byšice, ČR
4	Libeček lékařský	mražený	Zakoupeno v tržní síti, ČR
5		sušený	VITANA, a.s., Byšice, ČR
6	Nať celeru bulvového	čerstvý	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
7		mražený	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
8	Pažitka pravá	čerstvá	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
9		mražená	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
10		sušená	VITANA, a.s., Byšice, ČR
11	Nať petržele kadeřavá	čerstvá	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
12		mražená	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
13		sušená	VITANA, a.s., Byšice, ČR
14	Nať petržele kořenové	čerstvá	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
15		mražená	Loštice - domácí pěstitelství, ČR
16		sušená	VITANA, a.s., Byšice, ČR



## 6 METODIKA STANOVENÍ

### 6.1 Příprava výluhů aromatických rostlin

Pro všechna stanovení byla extrakce vzorků provedena stejným způsobem. Pro přípravu vodních výluhů z čerstvých a mražených bylin, bylo na analytických vahách naváženo 5 g aromatické rostliny s přesností na tři desetinná místa. Pro přípravu vodních výluhů ze sušených bylin, byl na analytických vahách navážen 1 g aromatické rostliny s přesností na tři desetinná místa. Navážený vzorek byl dvakrát extrahován 50 ml teplé destilované vody (70 °C). Každá extrakce probíhala 10 minut při teplotě 70 °C za občasného míchání v termostatu. Poté byla provedena filtrace. Takto připravený výluh aromatické rostliny byl podle potřeby ředěn a použit k analýze.

### 6.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Ke stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda DPPH a ze závislosti inaktivace na koncentraci pak byla vypočtena hodnota  $IC_{50}$ . Použitá spektrofotometrická metoda spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem difenylpikrylhydrazylem – DPPH. Při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin), doprovázené poklesem absorbance.

#### 6.2.1 Stanovení antioxidační aktivity aromatických rostlin

Pro měření antioxidační aktivity byly použity extrakty vzorků, které byly připraveny způsobem uvedeným v předchozí kapitole. Ke stanovení antioxidační aktivity byl využit roztok DPPH o koncentraci 1 mM v etanolu. Na základě provedených analýz pro optimalizaci postupu stanovení byla reakční směs pro stanovení antioxidační aktivity připravena smícháním 1 ml extraktu vzorku a 250  $\mu$ l roztoku DPPH. Takto připravená směs byla důkladně promíchána a ponechána 30 minut ve tmě, při pokojové teplotě. Po 30-ti minutách byla proměřena absorbance spektrofotometrem při vlnové délce 517 nm. Absorbance reakční směsi se vzorkem byla měřena proti slepému pokusu. Slepý pokus byl připraven ve stejném složení jako vzorek, ale místo DPPH bylo použito 250  $\mu$ l etanolu.

Pro výpočet inaktivace bylo nutné proměřit absorbanci kontrolního vzorku. Kontrolní vzorek byl připraven postupem jako reakční směs, ale bez použití extraktu vzorku. Místo extraktu vzorku byl použit 1 ml destilované vody. Rozdíl mezi absorbancí kontrolního vzor-

ku a absorbancí vzorku s extraktem sloužil k výpočtu inaktivace, která byla vypočítána podle vzorce:

$$I[\%] = \frac{K - A}{K} \cdot 100$$

kde: K ... absorbance kontrolního vzorku

A ... absorbance vzorku s extraktem

Antioxidační aktivita vybraných aromatických rostlin stanovená metodou DPPH byla vyjádřena jako procenta inaktivace.

### 6.2.2 Stanovení hodnoty IC<sub>50</sub>

Pro výpočet hodnoty IC<sub>50</sub> byla vytvořena kalibrační řada z vodních výluhů aromatických rostlin. Z vodních výluhů bylo připraveno ředěním s destilovanou vodou vždy 5 kalibračních roztoků o různých koncentracích. Z takto připravených kalibračních roztoků vzorků byly připraveny reakční směsi a byla vypočítána inaktivace stejným způsobem, jaký je uveden v kapitole 6.2.1. Každý vzorek byl třikrát proměřen.

Z naměřených hodnot byla sestrojena křivka jako závislost inaktivace na koncentraci výluhu. Ze získané křivky byla pomocí lineární regrese vypočtena hodnota IC<sub>50</sub>. Hodnota IC<sub>50</sub> udává hodnotu koncentrace vzorku, která má schopnost odbourat 50 % radikálu DPPH. Čím je hodnota IC<sub>50</sub> nižší, tím je antioxidační aktivita vyšší.

## 6.3 Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin – Ciocalteuovým činidlem

Ke stanovení celkového obsahu polyfenolů byla použita spektrofotometrická metoda s Folin - Ciocalteuovým činidlem a jejich obsah byl vyjádřen na standard kyseliny gallové (KG).

### 6.3.1 Příprava výluhů aromatických rostlin

Výluhy aromatických rostlin byly připraveny stejným způsobem, který je uvedený v kapitole 6.1.

### 6.3.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů aromatických rostlin

Reakční směs pro stanovení byla připravena smícháním 100  $\mu\text{l}$  extraktu s 0,5 ml neředěného Folin – Ciocalteuova činidla. Po jedné minutě bylo přidáno 1,5 ml 20 % roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a objem byl doplněn destilovanou vodou do 10 ml. Směs byla důkladně promíchána a byla ponechána 1 hodinu ve tmě při pokojové teplotě. Po jedné hodině byla měřena absorbance proti slepému pokusu při vlnové délce 760 nm [54].

Slepý pokus byl připraven stejně jako reakční směs, ale místo 100  $\mu\text{l}$  extraktu bylo použito 100  $\mu\text{l}$  destilované vody.

### 6.3.3 Příprava kalibrační křivky kyseliny gallové

Byl připraven zásobní roztok standardu kyseliny gallové o koncentraci 1  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Ze zásobního roztoku byla připravena kalibrační řada o 8 koncentracích 0,1; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06 a 0,08  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  ředěním s destilovanou vodou. Reakční směs kalibračních roztoků byla připravena stejným způsobem jako v kapitole 6.3.2. Ze získaných hodnot byla sestrojena kalibrační křivka jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků standardu kyseliny gallové. Ze sestrojené kalibrační křivky byla pomocí lineární regrese vypočtena odpovídající koncentrace kyseliny gallové v  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  u analyzovaných vzorků.

## 6.4 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Ke stanovení celkového obsahu flavonoidů byla použita spektrofotometrická metoda s  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$  a standardem rutinou.

### 6.4.1 Příprava výluhů aromatických rostlin

Výluhy aromatických rostlin byly připraveny stejným způsobem, který je uvedený v kapitole 6.1.

### 6.4.2 Stanovení celkového obsahu flavonoidů aromatických rostlin

Reakční směs pro stanovení byla připravena smícháním 500  $\mu\text{l}$  vzorku, 1500  $\mu\text{l}$  destilované vody a 200  $\mu\text{l}$  5 % roztoku  $\text{NaNO}_2$ . Směs byla důkladně promíchána a po pěti minutách bylo přidáno 200  $\mu\text{l}$  10 % roztoku  $\text{AlCl}_3$ . Směs byla opět důkladně promíchána a po dalších pěti minutách bylo přidáno 5 ml 1M roztoku  $\text{NaOH}$  a 1 ml destilované vody. Reakční

směs byla ponechána 15 minut při pokojové teplotě. Po 15-ti minutách byla proti slepému pokusu měřena absorbance při vlnové délce 510 nm.

Slepý pokus byl připraven stejným způsobem jako reakční směs, ale místo 500  $\mu\text{l}$  vzorku bylo použito 500  $\mu\text{l}$  destilované vody.

### 6.4.3 Kalibrační křivka rutinu

Ze standardu rutinu o koncentraci  $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  byla připravena kalibrační řada o 9 koncentracích 1; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 a 0,8  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  ředěním s destilovanou vodou. Reakční směs s kalibračními roztoky byla připravena stejným způsobem jako v kapitole 6.4.2.

Z naměřených hodnot absorbance byla sestrojena kalibrační křivka jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků standardu rutinu. Ze sestrojené kalibrační křivky byla pomocí lineární regrese vypočtena odpovídající koncentrace rutinu v  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  u analyzovaných vzorků s pozitivní reakcí.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 7.1 Stanovení antioxidační aktivity aromatických rostlin

Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno spektrofotometrickou metodou s použitím roztoku DPPH. Stanovení a výpočet inaktivace je uveden v kapitole 6.2.1. Výsledek antioxidační aktivity byl vyjádřen jako hodnota  $IC_{50}$ . Způsob vypočtení hodnoty  $IC_{50}$  je uveden v kapitole 6.2.2. Hodnota  $IC_{50}$  udává hodnotu koncentrace vzorku, která má schopnost odbourat 50 % radikálu DPPH. Čím je hodnota  $IC_{50}$  nižší, tím je antioxidační aktivita vyšší. Stanovení bylo provedeno u šesti druhů aromatických bylin v čerstvém, zmrazeném a sušeném stavu.

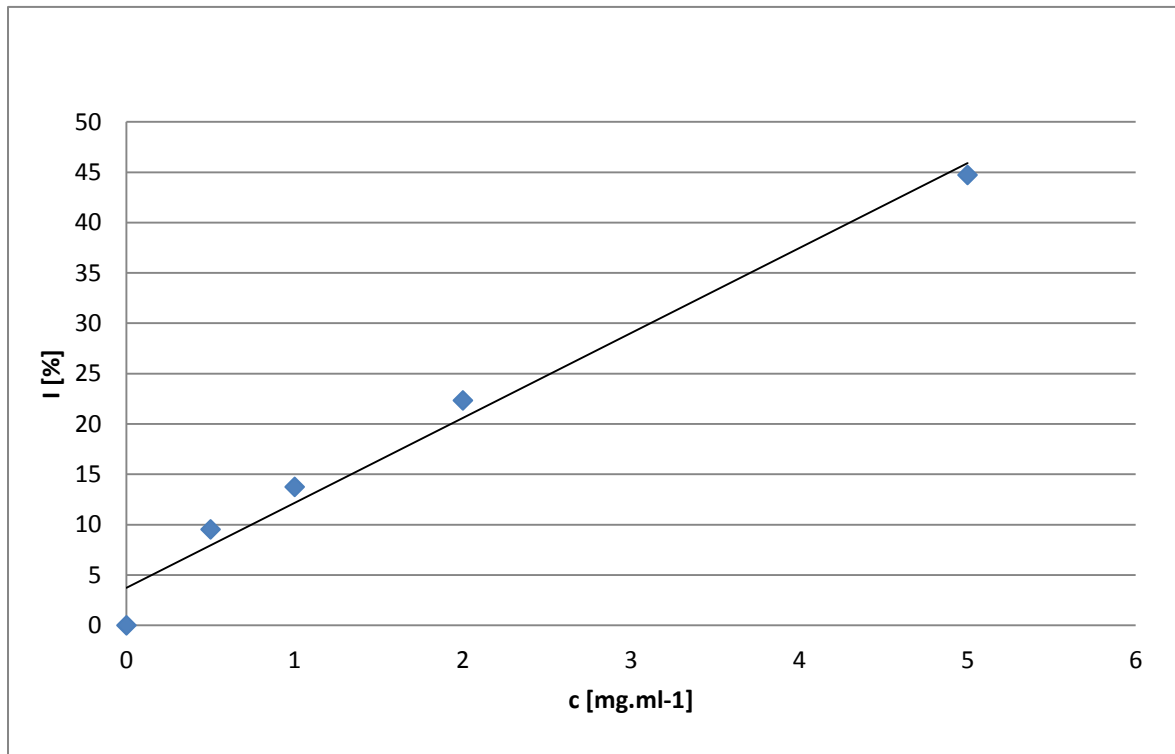
#### 7.1.1 Antioxidační aktivita čerstvých aromatických bylin

Pro vyhodnocení hodnot  $IC_{50}$  byly proměřeny závislosti inaktivace na koncentraci extraktů pro kopr vonný (obr. 8), pažitku pravou (obr. 9), nať petržele kadeřavé (obr. 10), nať petržele kořenové (obr. 11) a nať celeru bulvového (obr. 12).

V tabulce 2. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu kopru vonného.

*Tab. 2. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu kopru vonného*

Koncentrace [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Inaktivace [%]
5	50,66
2,5	44,73
1	22,34
0,5	13,75
0,25	9,73



Obr. 8. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu kopru vonného

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 8,4335x + 3,733$

kde:  $y$  ... inaktivace  $I$

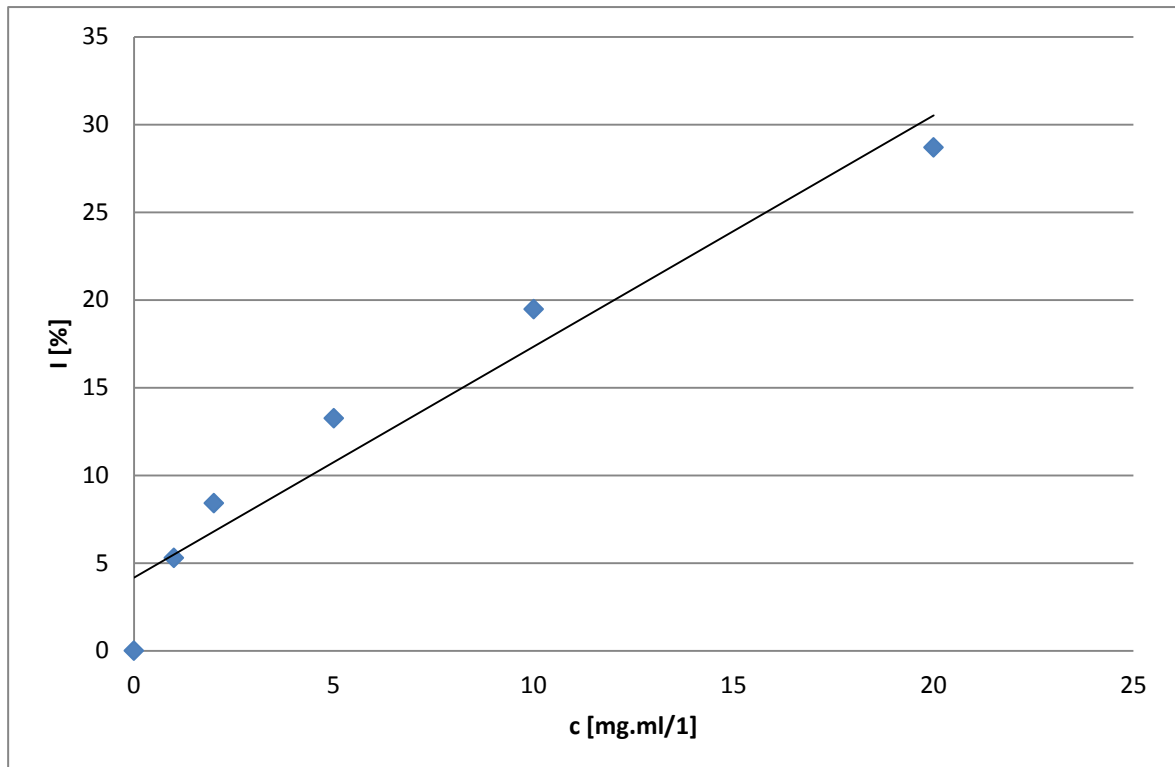
$x$  ... koncentrace extraktu kopru vonného (mg.ml<sup>-1</sup>)

Korelační koeficient:  $R = 0,9797$

V tabulce 3. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu pažitky pravé.

Tab. 3. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu pažitky pravé

Koncentrace [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Inaktivace [%]
5	28,69
2,5	19,47
1	13,25
0,5	8,41
0,25	5,29



Obr. 9. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu pažitky pravé

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 1,3174x + 4,1749$

kde: y ... inaktivace I

x ... koncentrace extraktu pažitky pravé ( $\text{mg.ml}^{-1}$ )

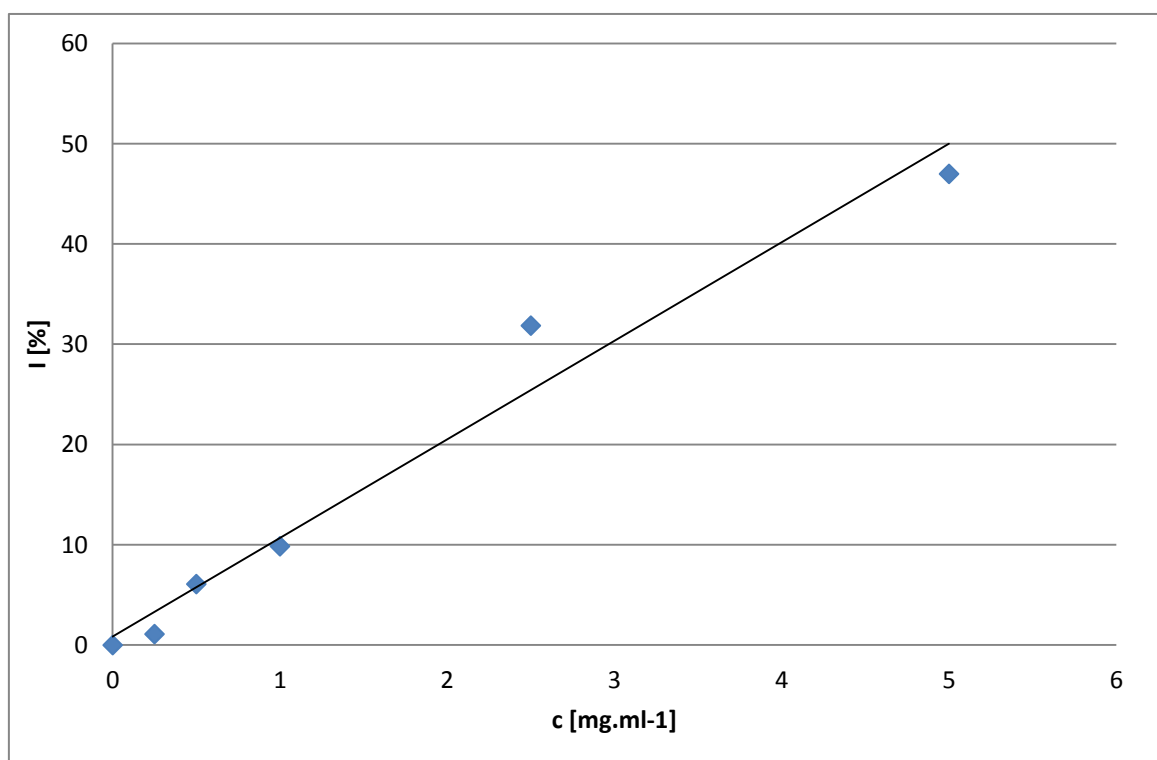
Korelační koeficient:  $R = 0,9364$

V tabulce 4. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu petržele kadeřavé.



Tab. 4. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petržele kadeřavé

Koncentrace [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Inaktivace [%]
5	52,72
2,5	47,30
1	41,77
0,5	32,75
0,25	23,38



Obr. 10. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kadeřavé

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 9,8357x + 0,825$

kde: y ... inaktivace I

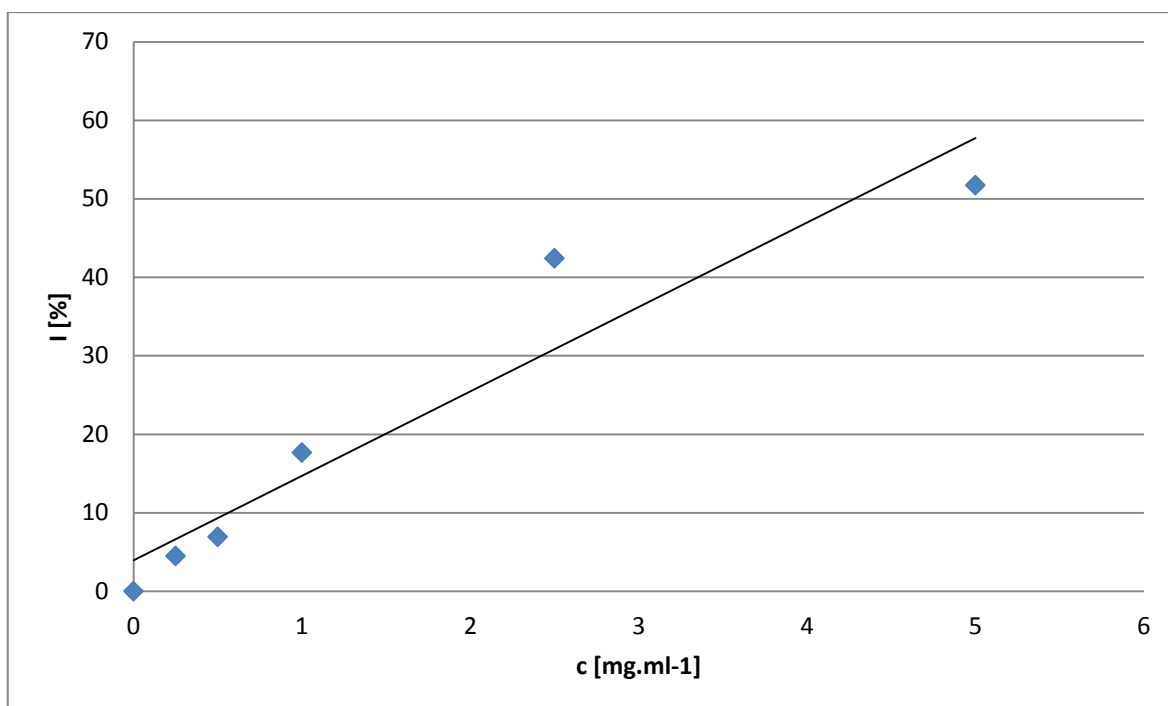
x ... koncentrace extraktu natě petržele kadeřavé (mg.ml<sup>-1</sup>)

Korelační koeficient: R = 0,9689

V tabulce 5. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petržele kořenové.

Tab. 5. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petržele kořenové

Koncentrace [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Inaktivace [%]
5	51,73
2,5	42,42
1	17,67
0,5	6,93
0,25	4,49



Obr. 11. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kořenové

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 10,762x + 3,949$

kde: y ... inaktivace I

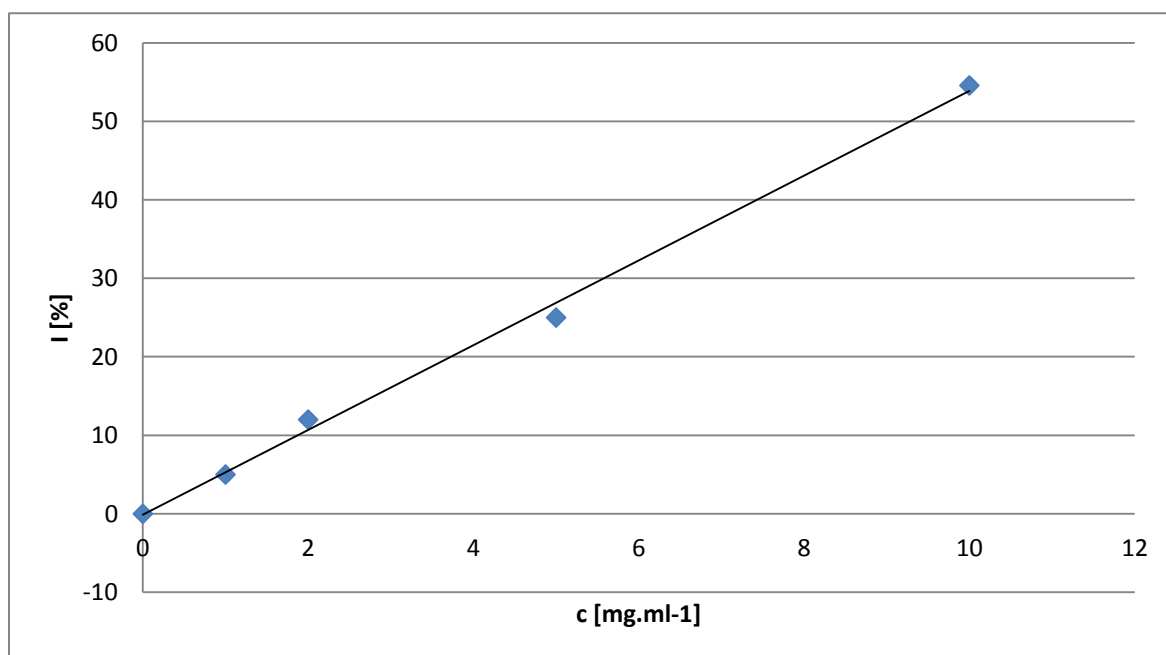
x ... koncentrace extraktu natě petržele kořenové (mg.ml<sup>-1</sup>)

Korelační koeficient:  $R = 0,9119$

V tabulce 6. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě celeru bulvového.

Tab. 6. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě celeru bulvového

Koncentrace [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Inaktivace [%]
5	54,72
2,5	25,32
1	12,89
0,5	7,51
0,25	3,54



Obr. 12. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě celeru bulvového

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 5,3995x + 0,1242$

kde: y ... inaktivace I

x ... koncentrace extraktu natě celeru bulvového (mg.ml<sup>-1</sup>)

Korelační koeficient:  $R = 0,9969$

Z regresních rovnic proměřených závislostí byla vypočtena hodnota  $IC_{50}$ . V tabulce 7. jsou uvedeny vypočtené hodnoty  $IC_{50}$  pro vzorky čerstvých aromatických bylin.

*Tab. 7. Hodnoty  $IC_{50}$  [ $mg \cdot ml^{-1}$ ] pro vzorky čerstvých aromatických bylin*

<b>Vzorek</b>	<b><math>IC_{50}</math> [<math>mg \cdot ml^{-1}</math>]</b>
Nať petržele kořenové	2,93
Nať petržele kadeřavé	4,99
Kopr vonný	5,49
Nať celeru bulvového	8,88
Pažitka pravá	34,78

Z tab. 7. vyplývá, že hodnota  $IC_{50}$  u čerstvých vzorků aromatických bylin se pohybovala v rozmezí 2,93 – 34,78  $mg \cdot ml^{-1}$ . Nejvyšší hodnotu  $IC_{50}$  měla pažitka pravá (34,78  $mg \cdot ml^{-1}$ ) a to více než desetinásobně oproti nati petržele kořenové, což znamená, že z analyzovaných vzorků měla nejmenší antioxidační účinek. Oproti tomu nejnižší hodnotu  $IC_{50}$  měla nať petržele kořenové (2,93  $mg \cdot ml^{-1}$ ), a tedy z analyzovaných vzorků čerstvých aromatických bylin měla nať petržele kořenové největší antioxidační účinek.

Nať petržele kořenové a petržele kadeřavé se používají především v čerstvém stavu pro kulinární účely, např. do polévek, náplní a pomazánek. Ze získaných výsledků je zřejmé, že z hlediska antioxidačního účinku mají vyšší účinek než pažitka, která je rovněž používána pro tyto účely. Nízká hodnota  $IC_{50}$  byla rovněž stanovena u kopru vonného (5,49  $mg \cdot ml^{-1}$ ), který má také rozsáhlé použití při přípravě pokrmů.

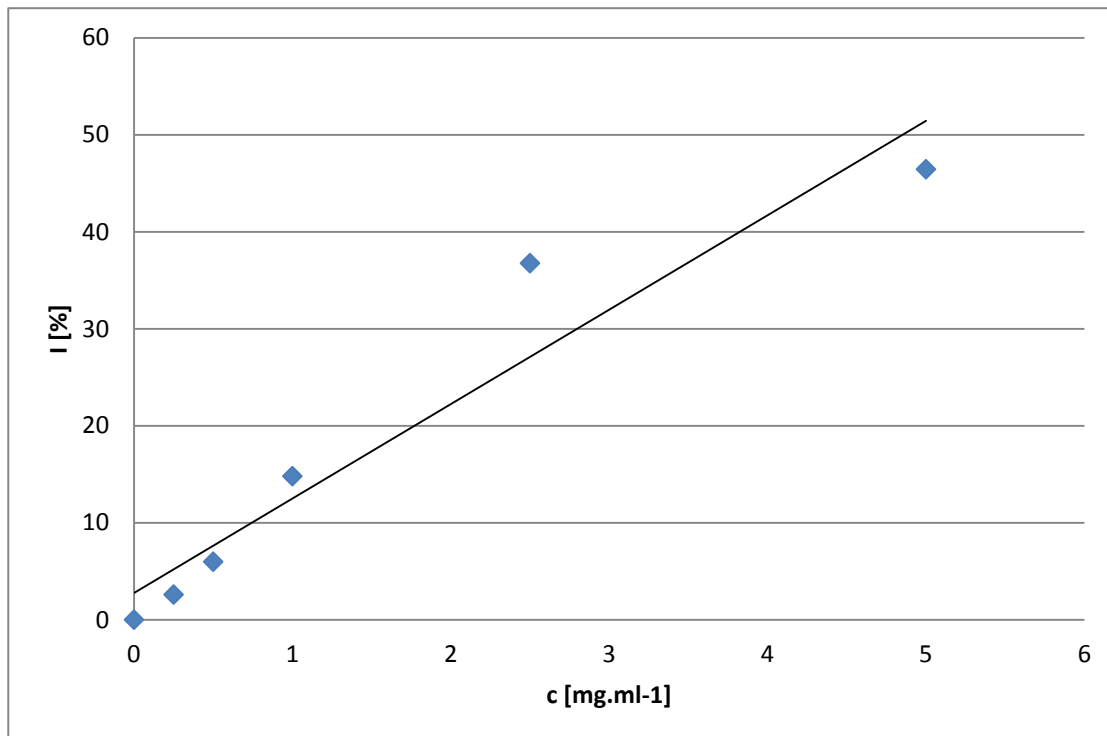
### 7.1.2 Antioxidační aktivita mrazených aromatických bylin

Vyhodnocení  $IC_{50}$  extraktů aromatických rostlin pro kopr vonný, libeček lékařský, pažitku pravou a nať celeru bulvového jsou uvedeny na obr. 13-16.

V tabulce 8. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu kopru vonného.

Tab. 8. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace kopru vonného

Koncentrace [ $mg.ml^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
5	46,45
2,5	36,76
1	14,80
0,5	5,98
0,25	2,59



Obr. 13. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu kopru vonného

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 9,7408x + 2,7463$

kde:  $y$  ... inaktivace  $I$

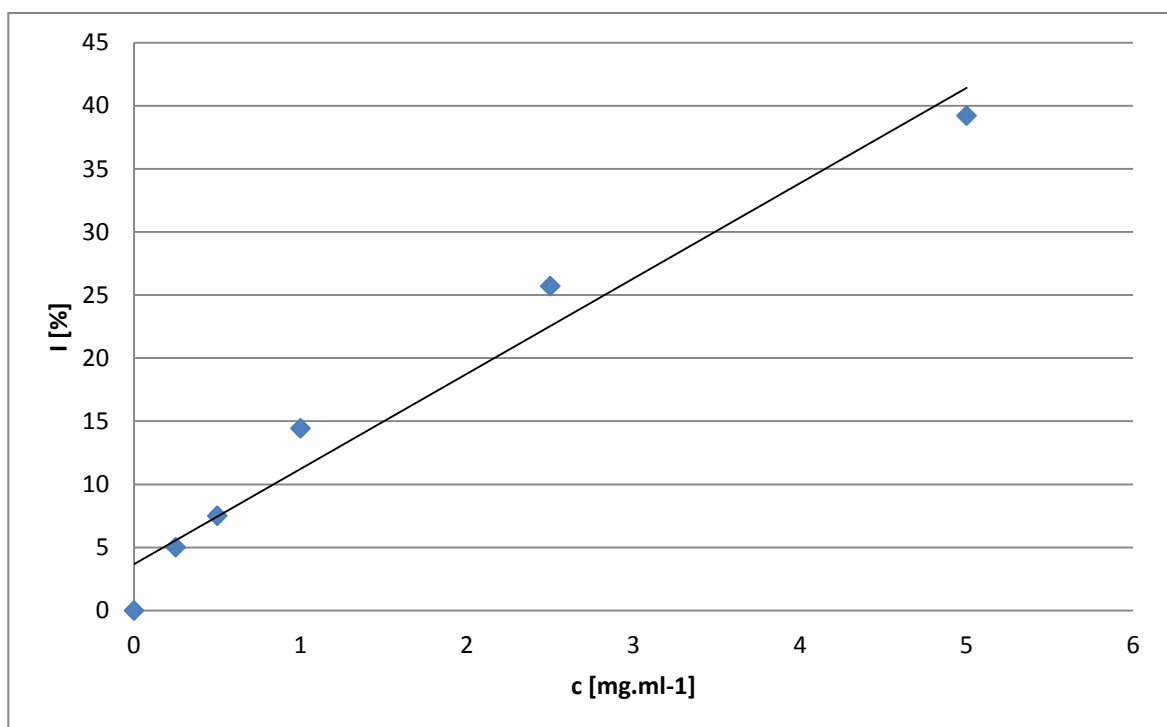
$x$  ... koncentrace extraktu kopru vonného ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9251$

V tabulce 9. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu libečku lékařského.

*Tab. 9. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace libečku lékařského*

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
5	39,21
2,5	25,71
1	14,44
0,5	7,51
0,25	5,02



*Obr. 14. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu libečku lékařského*

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 7,5462x + 3,6813$

kde:  $y$  ... inaktivace  $I$

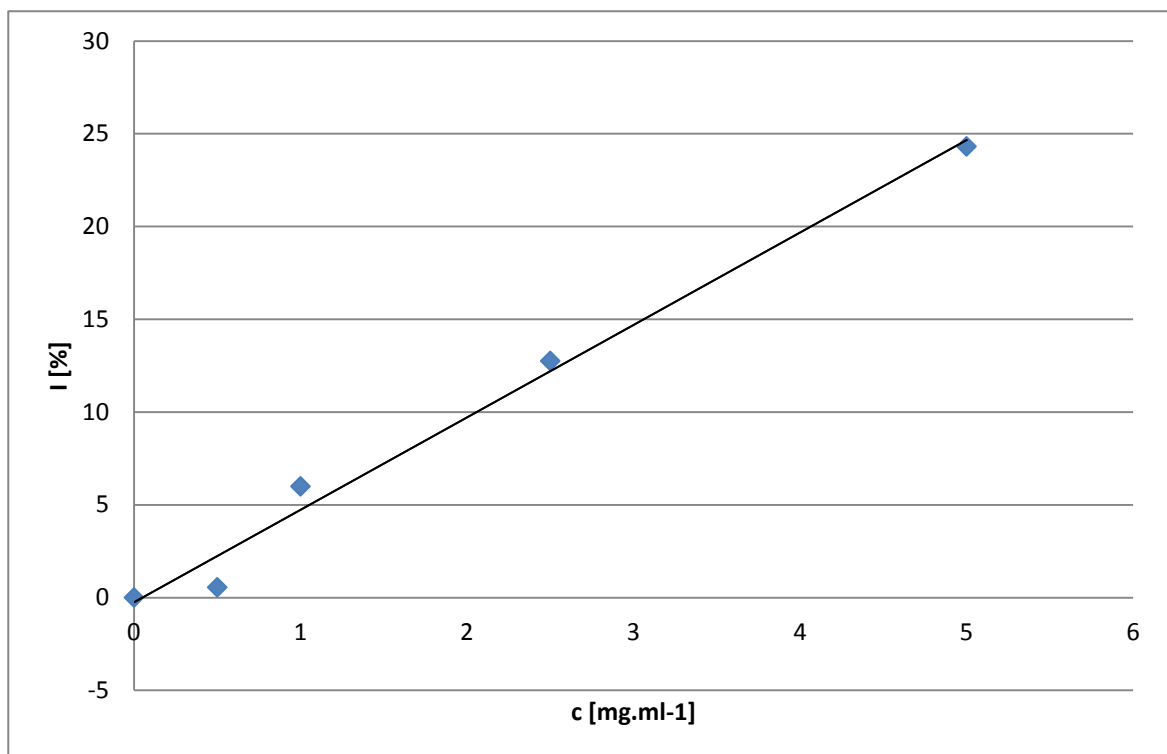
$x$  ... koncentrace extraktu libečku lékařského ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9639$

V tabulce 10. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu pažitky pravé.

*Tab. 10. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace pažitky pravé*

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
5	24,31
2,5	12,75
1	5,99
0,5	0,55



*Obr. 15. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu pažitky pravé*

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 4,9822x - 0,248$

kde:  $y$  ... inaktivace I

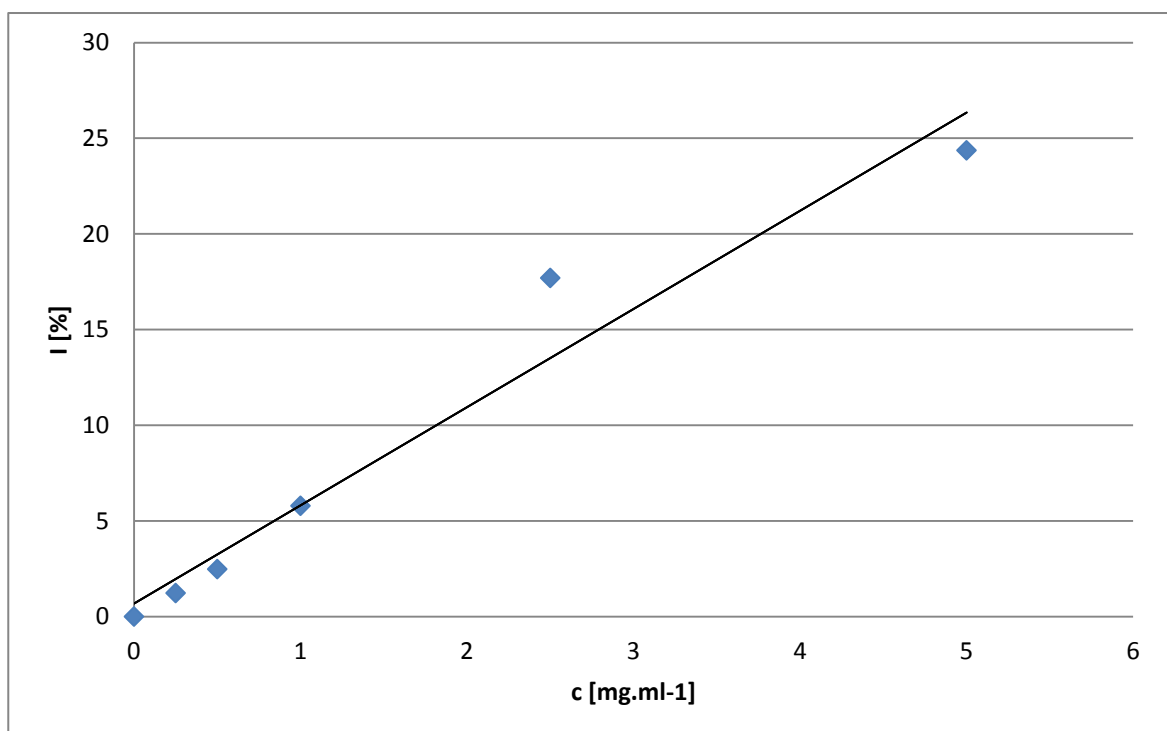
$x$  ... koncentrace extraktu pažitky pravé ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9880$

V tabulce 11 jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě celeru bulvového.

*Tab. 11. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace natě celeru bulvového*

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
5	24,37
2,5	17,70
1	5,79
0,5	2,48
0,25	1,23



*Obr. 16. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě celeru bulvového*



Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 5,1324x + 0,6825$

kde:  $y$  ... inaktivace I

$x$  ... koncentrace extraktu natě celeru bulvového ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9544$

Z regresních rovnic byly vyhodnoceny hodnoty  $\text{IC}_{50}$ , které uvádí tabulka 12.

*Tab. 12. Hodnoty  $\text{IC}_{50}$  [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ] pro  
vzorky zmrazených aromatických bylin*

<b>Vzorek</b>	<b><math>\text{IC}_{50}</math> [<math>\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}</math>]</b>
Kopr vonný	3,29
Libeček lékařský	6,14
Pažitka pravá	9,39
Nať celeru bulvového	9,61

Hodnota  $\text{IC}_{50}$  u zmrazených vzorků aromatických bylin se pohybovala v rozmezí 3,29 – 9,61  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Nejvyšší hodnotu  $\text{IC}_{50}$  měly nať celeru bulvového (9,61  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) a pažitka pravá (9,39  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), což znamená, že z analyzovaných vzorků měly nejmenší antioxidační účinek. Naopak nejnižší hodnotu  $\text{IC}_{50}$  vykazoval kopr vonný (3,29  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) a tedy z analyzovaných vzorků mrazených aromatických bylin měl kopr vonný největší antioxidační účinek. Zmrazený kopr se využívá např. k přípravě omáček.

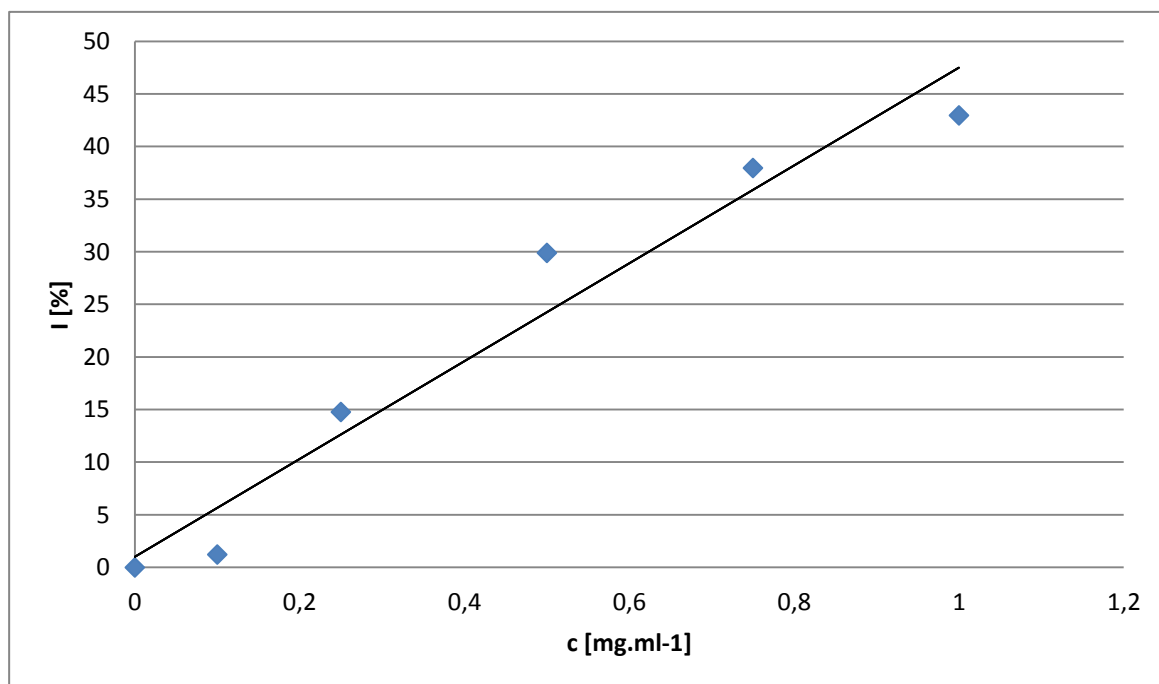
### 7.1.3 Antioxidační aktivita sušených aromatických bylin

Byla provedena analýza pěti vzorků sušených aromatických bylin, které byly získány z tržní sítě. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu byla proměřena u kopru vonného (obr. 19), libečku lékařského (obr. 20), pažitky pravé (obr. 21), natě petržele kořenové (obr. 22) a natě petržele kadeřavé (obr. 23).

V tabulce 13 jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu kopru vonného.

Tab. 13. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace kopru vonného

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
1	42,97
0,75	37,97
0,5	29,51
0,25	14,78
0,1	1,23



Obr. 17. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu kopru vonného

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 46,48x + 1,0004$

kde:  $y$  ... inaktivace  $I$

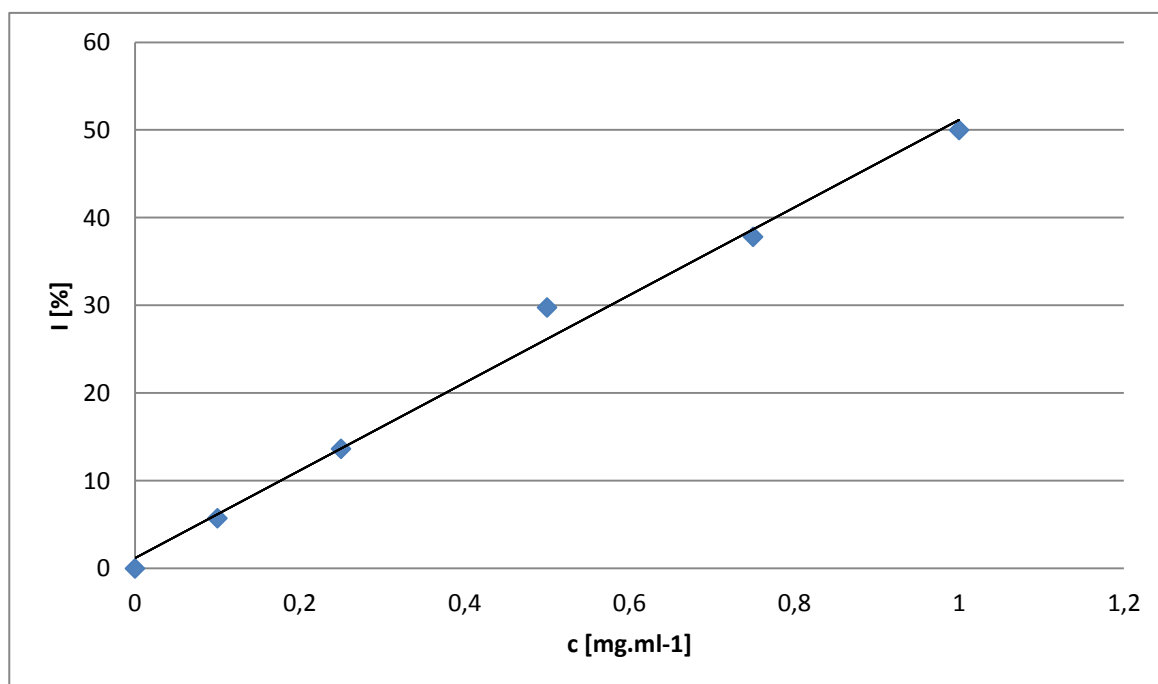
$x$  ... koncentrace extraktu kopru vonného ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9523$

V tabulce 14. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu libečku lékařského.

*Tab. 14. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace libečku lékařského*

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
1	50,01
0,75	37,83
0,5	29,77
0,25	13,65
0,1	5,71



*Obr. 18. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu libečku lékařského*

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 49,966x + 1,1799$

kde:  $y$  ... inaktivace I

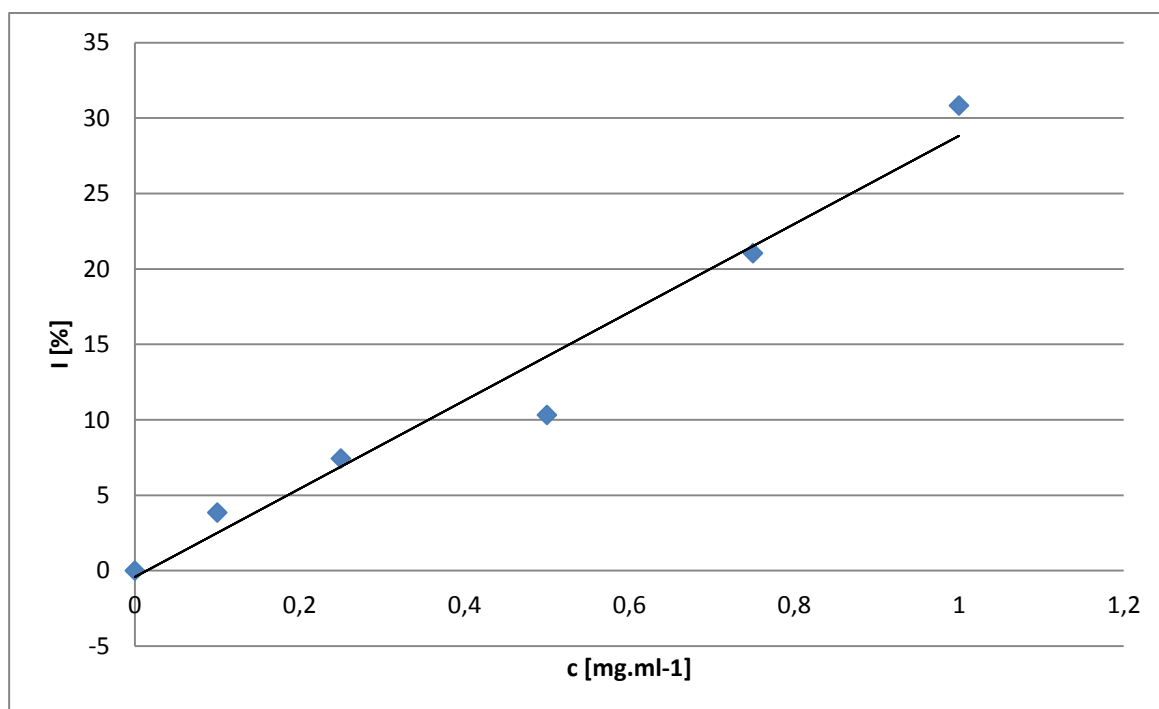
$x$  ... koncentrace extraktu libečku lékařského ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9913$

V tabulce 15. jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu pažitky pravé.

*Tab. 15. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace pažitky pravé*

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
1	30,83
0,75	21,04
0,5	10,32
0,25	7,43
0,1	3,85



*Obr. 19. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu pažitky pravé*

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 29,242x - 0,4267$

kde:  $y$  ... inaktivace I

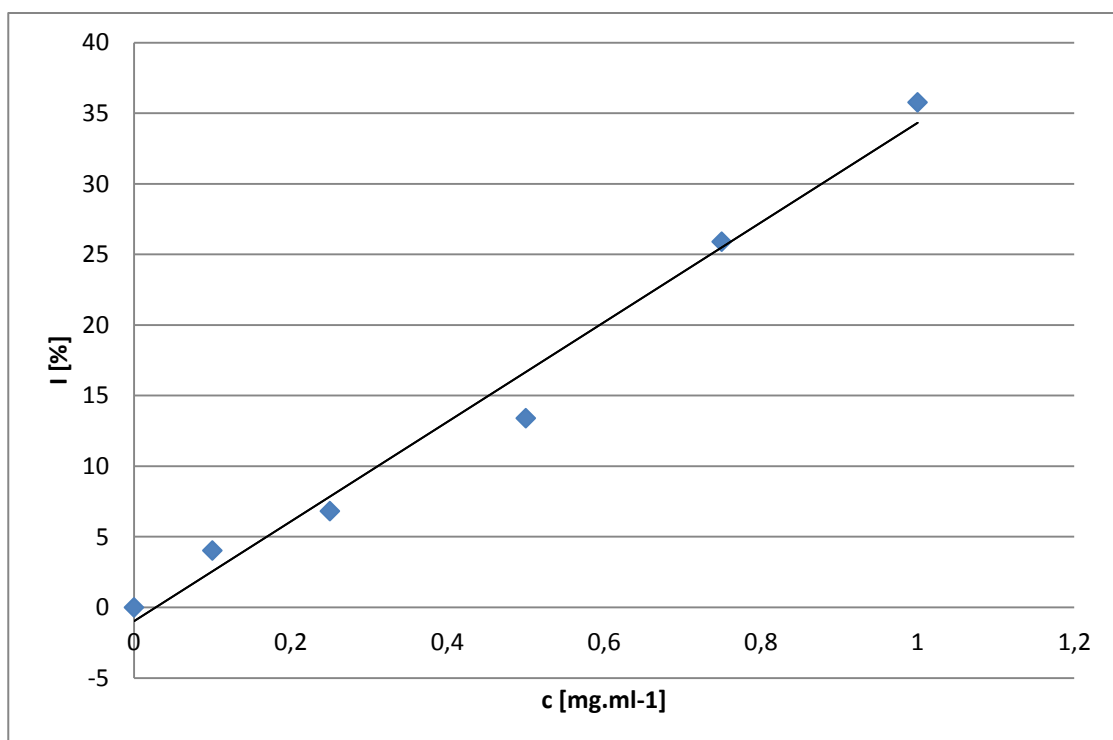
$x$  ... koncentrace extraktu pažitky pravé ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9678$

V tabulce 16 jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petržele kořenové.

*Tab. 16. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace natě petržele kořenové*

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
1	35,77
0,75	25,90
0,5	13,40
0,25	6,82
0,1	4,03



*Obr. 20. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kořenové*

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 35,302x - 0,9777$

kde:  $y$  ... inaktivace I

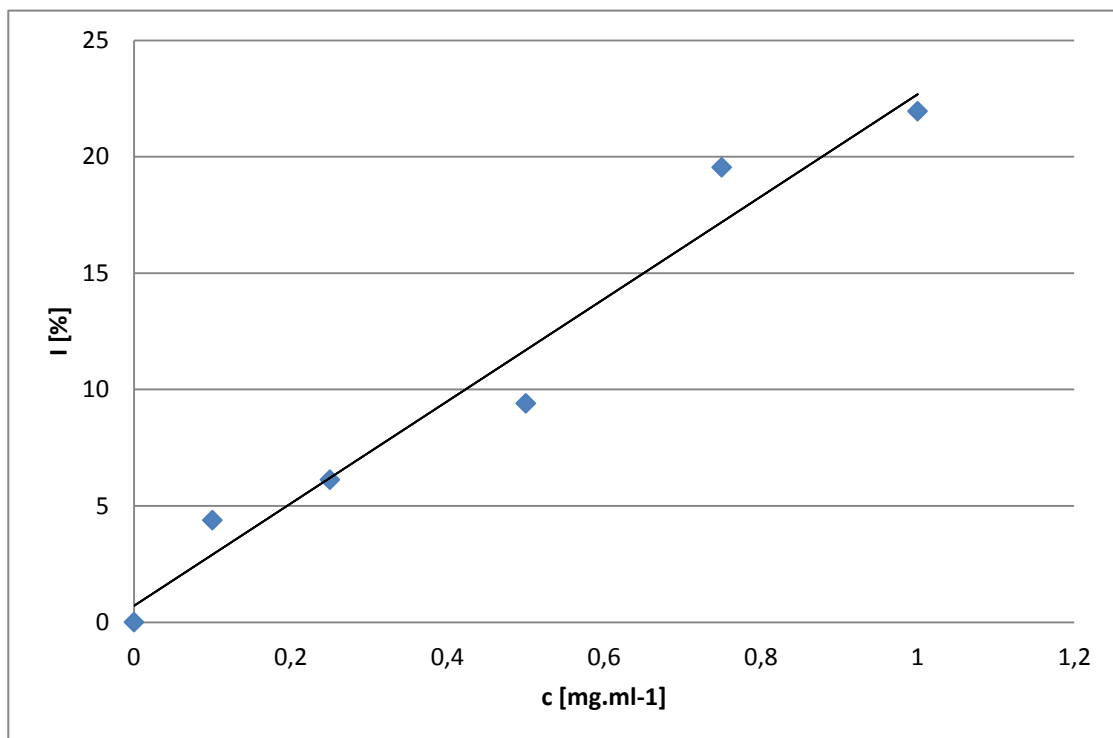
$x$  ... koncentrace extraktu natě petržele kořenové ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9822$

V tabulce 17 jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu petržele kadeřavé.

*Tab. 17. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace natě petržele kadeřavé*

Koncentrace [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Inaktivace [%]
1	21,95
0,75	19,54
0,5	9,40
0,25	6,12
0,1	4,38



*Obr. 21. Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kadeřavé*

Sestrojená křivka má rovnici regrese:  $y = 21,983x + 0,7056$

kde:  $y$  ... inaktivace I

$x$  ... koncentrace extraktu natě petržele kadeřavé ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9632$

Z nalezených regresních rovnic byly vyhodnoceny hodnoty  $\text{IC}_{50}$  uvedené v tabulce 18.

*Tab. 18. Hodnoty  $\text{IC}_{50}$  [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ] pro  
vzorky sušených aromatických bylin*

<b>Vzorek</b>	<b><math>\text{IC}_{50}</math> [<math>\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}</math>]</b>
Kopr vonný	0,87
Libeček lékařský	0,99
Nať petržele kořenové	1,44
Pažitka pravá	1,77
Nať petržele kadeřavé	2,24

Hodnoty  $\text{IC}_{50}$  u sušených vzorků aromatických bylin se pohybovaly v rozmezí 0,87 – 2,24  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Nejvyšší hodnotu  $\text{IC}_{50}$  měla sušená petržel kadeřavá (2,24  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) z čehož vyplývá, že z analyzovaných vzorků měla nejmenší antioxidační účinek. Vysokou hodnotu  $\text{IC}_{50}$  měla také sušená pažitka pravá (1,77  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Oproti tomu nejnižší hodnotu  $\text{IC}_{50}$  měly sušený kopr vonný (0,87  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) a sušený libeček lékařský (0,99  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). To znamená, že z analyzovaných vzorků sušených aromatických bylin měly kopr vonný a libeček lékařský největší antioxidační účinek.

Hinneburg a kol. [5] ve své studii hodnotili antioxidační aktivitu 9 vybraných kulinárních bylin a koření (bazalka, petržel kadeřavá, vavřín, jalovec, kardamom, zázvor, anýz, fenýkl a kmín) pomocí metody DPPH. Hodnoty  $\text{IC}_{50}$  se pohybovaly v rozmezí 0,49 – 12  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Pro sušený vzorek petržele kadeřavé autoři uvádí hodnotu  $IC_{50}$  12  $mg \cdot ml^{-1}$ , což je hodnota vyšší v porovnání s našimi výsledky. Ke stanovení však použili etanolický extrakt, čímž zřejmě dosáhli lepší účinnosti extrakce antioxidačních složek.

## 7.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Celkový obsah polyfenolů (CP) u čerstvých, mražených a sušených vzorků aromatických bylin byl stanoven pomocí spektrofotometrické metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Postup stanovení a výpočet CP je popsán v kapitole 6.3.2. Dosazením naměřených hodnot absorbance vzorků aromatických bylin do rovnice regrese kalibrační křivky GA a přepočtem původní koncentrace aromatické byliny ve výluhu použitým ve stanovení, byl zjištěn a vyjádřen CP jako mg ekvivalentu kyseliny gallové na gram vzorku.

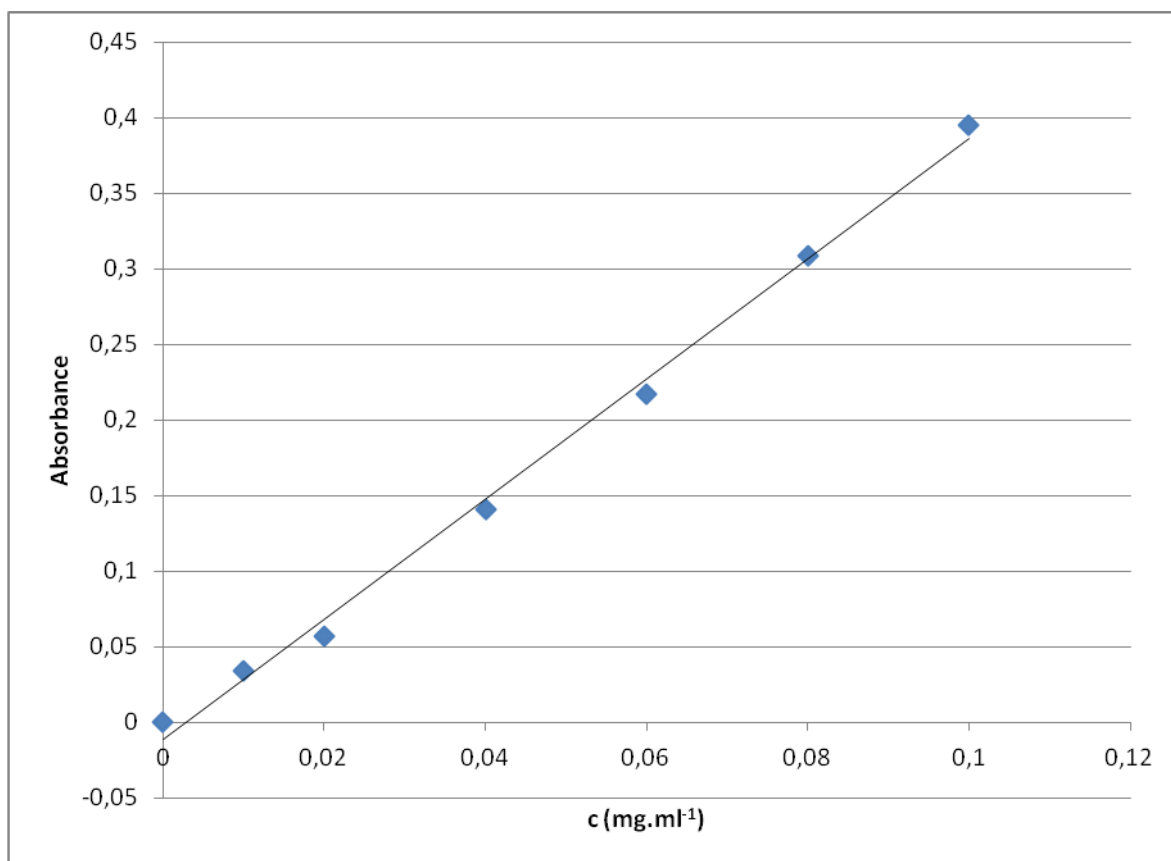
### 7.2.1 Stanovení kalibrační křivky kyseliny gallové pro určení obsahu celkových polyfenolů

Pro sestavení kalibrační křivky byl použit standard kyseliny gallové (GA). Ze standardu GA byl vytvořen zásobní roztok o koncentraci 1  $mg \cdot ml^{-1}$ . Ze zásobního roztoku bylo vytvořeno 8 kalibračních roztoků o koncentracích 0,01 – 0,1  $mg \cdot ml^{-1}$  ředěním zásobního roztoku destilovanou vodou. Příprava zásobního roztoku GA a kalibrační křivky je popsána v kapitole 6.3.3. Byla měřena absorbance 8 kalibračních roztoků. Kalibrační křivka GA pro stanovení celkových polyfenolů metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem byla sestavena jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků GA. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 19.



Tab. 19. Hodnoty absorpance pro jednotlivé  
koncentrace kyseliny gallové

Koncentrace GA [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Průměrná absorpance	Směrodatná odchylka
0,01	0,034	0,019
0,02	0,057	0,019
0,03	0,080	0,011
0,04	0,131	0,009
0,05	0,154	0,007
0,06	0,201	0,013
0,08	0,302	0,008
0,10	0,413	0,031



Obr. 22. Kalibrační křivka pro stanovení polyfenolů na kyselinu gallovou

Sestrojená kalibrační křivka má rovnici regrese:  $y = 3,9776x - 0,0114$

kde:  $y$  ... absorbance  $A$

$x$  ... koncentrace kyseliny gallové ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Korelační koeficient:  $R = 0,9961$

### 7.2.2 Celkový obsah polyfenolů čerstvých aromatických bylin

Celkový obsah polyfenolů byl stanoven u pěti vzorků čerstvých aromatických bylin. Výsledky stanovení uvádí tabulka 20.

Tab. 20. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů čerstvých aromatických bylin

Vzorek	Odpovídající koncentrace GA [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Směrodatná odchylka	Obsah polyfenolů [ $\text{mg ekv.GA}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku]
Pažitka pravá	0,0334	0,005	6,68
Nať petržele kořenové	0,0709	0,009	14,18
Nať petržele kadeřavé	0,0847	0,012	16,94
Kopr vonný	0,1102	0,018	22,04
Nať celeru bulvového	0,1347	0,014	26,94

Celkový obsah polyfenolů u čerstvých vzorků aromatických rostlin se pohyboval v rozmezí 6,68 – 26,94  $\text{mg ekv.GA}\cdot\text{g}^{-1}$ . Z výsledků měření vyplývá, že mezi aromatické rostliny, které měly nejvyšší obsah celkových polyfenolů, patří nať celeru bulvového (26,94  $\text{mg ekv.GA}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a kopr vonný (22,04  $\text{mg ekv.GA}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Oproti tomu nejnižší hodnotu celkových polyfenolů vykazovala pažitka pravá (6,68  $\text{mg ekv.GA}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a nať petržele kořenové (14,18  $\text{mg ekv.GA}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

Shan a kol. [6] zjišťovali obsah celkových polyfenolů rostlin z 12 botanických čeledí. Analýza měření obsahu celkových polyfenolů byla prováděna kalorimetrickou metodou s použitím Folin-Ciocalteuova činidla. Ve své práci uvádí, že celkový obsah polyfenolů ve vzorku čerstvé petržele kadeřavé byl  $9,7 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$  a hlavními fenolovými sloučeninami jsou kyselina kávová a složky silic. Porovnáním s našimi výsledky bylo zjištěno, že náš vzorek čerstvé petržele kadeřavé obsahoval o  $73,5 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$  více celkových polyfenolů.

Vábková a kol. [55] sledovali obsah celkových polyfenolů v různých druzích kopru a zjistili, že obsah polyfenolů výrazně závisí na pěstované odrůdě. Spektrofotometrickou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem stanovili obsah celkových polyfenolů ve vzorku čerstvého kopru vonného  $5,4 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ . Porovnáním s našimi výsledky bylo zjištěno, že námi analyzovaný vzorek obsahoval o  $16,64 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$  více celkových polyfenolů.

Číž a kol. [56] stanovovali ve své práci obsah celkových polyfenolů u 22 vybraných aromatických bylin. Použitím spektrofotometrické metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem zjistili, že obsah celkových polyfenolů ve vzorku čerstvé natě celeru bulvového je  $6,05 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ . V našem vzorku čerstvé natě celeru bulvového byl zjištěn celkový obsah polyfenolů o  $20,89 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$  vyšší.

### 7.2.3 Celkový obsah polyfenolů zmrazených aromatických bylin

Celkový obsah polyfenolů byl stanoven u šesti vzorků aromatických bylin ve zmrazeném stavu. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 21.

Tab. 21. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů zmrazených aromatických bylin

Vzorek	Odpovídající koncentrace GA [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Směrodatná odchylka	Obsah polyfenolů [mg ekv.GA.g <sup>-1</sup> vzorku]
Nať petržele kadeřavé	0,0407	0,003	8,14
Kopr vonný	0,0576	0,002	11,52
Pažitka pravá	0,0675	0,007	13,5
Nať celeru bulvového	0,0970	0,004	19,4
Nať petržele kořenové	0,1071	0,005	21,42
Libeček lékařský	0,1691	0,011	33,82

Celkový obsah polyfenolů se u zmrazených vzorků aromatických rostlin pohyboval v rozmezí 8,14 – 33,82 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>. Z uvedených výsledků měření je zřejmé, že mezi aromatické rostliny, které měly nejvyšší obsah celkových polyfenolů, patří libeček lékařský (33,82 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>) a nať petržele kořenové (21,42 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>). Nejnižší hodnotu celkových polyfenolů vykazovaly petržel kadeřavá (8,14 mg ekv. GA.g<sup>-1</sup>) a kopr vonný (11,52 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>)

Zheng a Wang [57] zkoumali antioxidační aktivitu a obsah celkových polyfenolů ve 39 různých mrazených bylinách. Ke stanovení obsahu celkových polyfenolů použili spektrofotometrickou metodu s Folin-Ciocalteuovým činidlem a standardem kyseliny gallové. Jejich stanovením bylo zjištěno, že největší obsah celkových polyfenolů má libeček lékařský (2,63 mg ekv.GA. g<sup>-1</sup>), dále nať petržele kadeřavé (1,12 mg ekv.GA. g<sup>-1</sup>). Nejmenší

obsah celkových polyfenolů byl zjištěn u pažitky pobřežní (1,05 mg ekv.GA. g<sup>-1</sup>). Po porovnání s našimi výsledky bylo zjištěno, že naše vzorky zmrazených bylin obsahovaly větší množství celkových polyfenolů, než udává literární zdroj.

#### 7.2.4 Celkový obsah polyfenolů sušených aromatických bylin

Celkový obsah polyfenolů byl analyzován u pěti vzorků sušených aromatických bylin, které byly získány z tržní sítě. Výsledky stanovení uvádí tabulka 22.

Tab. 22. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů sušených aromatických bylin

Vzorek	Odpovídající koncentrace GA [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Směrodatná odchylka	Obsah polyfenolů [mg ekv.GA.g <sup>-1</sup> vzorku]
Libeček lékařský	0,0286	0,006	28,6
Kopr vonný	0,0514	0,004	51,4
Nať petržele kořenové	0,0703	0,002	70,3
Nať petržele kadeřavé	0,0832	0,004	83,2
Pažitka pravá	0,1112	0,009	111,2

Celkový obsah polyfenolů u sušených vzorků aromatických rostlin se pohyboval v rozmezí 28,6 – 111,2 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>. Výsledky měření udávají, že mezi aromatické rostliny s nejvyšším obsahem celkových polyfenolů patří pažitka pravá (111,2 mg ekv.GA. g<sup>-1</sup>), petržel kadeřavá (83,2 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>) a petržel kořenová (70,3 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>). Oproti tomu nejnížší obsah celkových polyfenolů vykazoval libeček lékařský (28,6 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>).

Hinneburg *a kol.* [5] ve své studii stanovovali, metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem, celkový obsah polyfenolů ve vzorcích petržele kadeřavé. Vzorek sušené petržele kadeřavé obsahoval 29,2 mg ekv.GA.g<sup>-1</sup>. Po porovnání s našimi výsledky bylo zjištěno, že v našem vzorku sušené petržele kadeřavé byl obsah celkových polyfenolů o 54 mg ekv. GA.g<sup>-1</sup> větší, než byl obsah celkových polyfenolů uvedený v literárním zdroji.

### 7.3 Celkový obsah flavonoidů

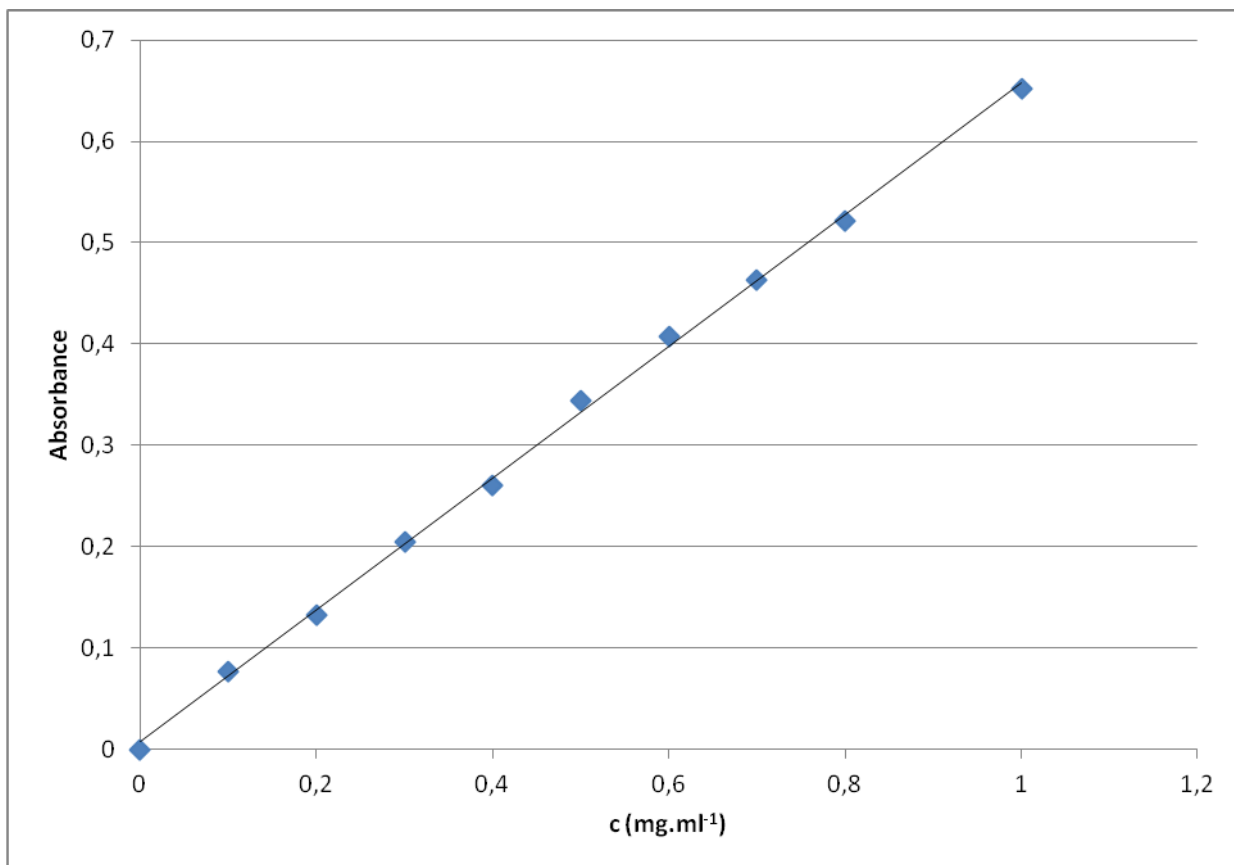
Celkový obsah flavonoidů u čerstvých, mražených a sušených vzorků aromatických bylin byl stanoven pomocí spektrofotometrické metody a standardu rutinu. Postup stanovení a výpočet flavonoidů je popsán v kapitole 6.4.2. Dosazením naměřených hodnot absorbance vzorků aromatických bylin do rovnice regrese kalibrační křivky rutinu a přepočtem původní koncentrace aromatické byliny ve výluhu použitém ve stanovení, byl zjištěn celkový obsah flavonoidů.

#### 7.3.1 Stanovení kalibrační křivky rutinu pro určení obsahu flavonoidů

Pro sestavení kalibrační křivky byl použit standard rutinu. Ze standardu rutinu byl vytvořen zásobní roztok o koncentraci  $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Ze zásobního roztoku bylo vytvořeno 9 kalibračních roztoků o koncentracích  $0,1 - 1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  ředěním zásobního roztoku destilovanou vodou. Příprava zásobního roztoku rutinu a kalibrační křivky je popsána v kapitole 6.4.3. Kalibrační křivka rutinu pro určení obsahu flavonoidů byla sestavena jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků rutinu. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 23.

Tab. 23. Hodnoty absorbance pro jednotlivé koncentrace rutinu

Koncentrace GA [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Průměrná absorbance	Směrodatná odchylka
0,1	0,077	0,004
0,2	0,132	0,003
0,3	0,205	0,002
0,4	0,261	0,004
0,5	0,344	0,008
0,6	0,408	0,021
0,7	0,463	0,011
0,8	0,521	0,003
1,0	0,652	0,009



Obr. 23. Kalibrační křivka pro stanovení flavonoidů na rutin

Sestrojená kalibrační křivka má rovnici regrese:  $y = 0,6501x + 0,0072$

kde:  $y$  ... absorbance  $A$

$x$  ... koncentrace rutinu (mg.ml<sup>-1</sup>)

Korelační koeficient závislosti koncentrace rutinu na absorbanci:  $R = 0,9988$

### 7.3.2 Celkový obsah flavonoidů aromatických bylin

Stanovení celkových flavonoidů bylo provedeno u všech vzorků čerstvých aromatických bylin, avšak pozitivní reakci za daných podmínek extrakce jevíly v čerstvém stavu pouze pažitka pravá, nať celeru bulvového a kopr vonný. Výsledky stanovení uvádí tabulka 24.

Tab. 24. Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů čerstvých aromatických bylin

Vzorek	Odpovídající koncentrace rutinu [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Směrodatná odchylka	Obsah flavonoidů [mg ekv.rutinu.g <sup>-1</sup> vzorku]
Pažitka pravá	0,0748	0,013	3,74
Nať celeru bulvového	0,2827	0,014	14,14
Kopr vonný	0,4043	0,012	20,22

Z tab. 24. vyplývá, že obsah flavonoidů u čerstvých vzorků aromatických rostlin se pohyboval v rozmezí 3,74 – 20,22 mg ekv.rutinu.g<sup>-1</sup>. Z výsledků měření je zřejmé, že největší množství flavonoidů obsahuje kopr vonný (20,22 mg ekv. rutinu.g<sup>-1</sup>), nejnižší hodnotu flavonoidů vykazovala pažitka pravá (3,74 mg ekv.rutinu.g<sup>-1</sup>).

Stanovení celkových flavonoidů bylo provedeno u všech vzorků zmrazených bylin. Pozitivní reakci vykazaly pouze byliny libeček lékařský a kopr vonný. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 25.

Tab. 25. Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů zmrazených aromatických bylin

Vzorek	Odpovídající koncentrace rutinu [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Směrodatná odchylka	Obsah flavonoidů [mg ekv.rutinu.g <sup>-1</sup> vzorku]
Libeček lékařský	0,3185	0,021	15,93
Kopr vonný	0,4278	0,002	21,39

Obsah flavonoidů u vzorků zmrazených aromatických rostlin se pohyboval v rozmezí 15,93 – 21,39 mg ekv.rutinu. g<sup>-1</sup>. Vyšší obsah flavonoidů měl kopr vonný než libeček lékařský.



Celkový obsah flavonoidů byl testován i u všech sušených bylin. Pozitivní reakcí se však za daných podmínek extrakce a stanovení projevíly pouze kopr vonný a libeček lékařský. Výsledky stanovení uvádí tabulka 26.

Tab. 26. Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů sušených aromatických bylin

Vzorek	Odpovídající koncentrace rutinu [ $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Směrodatná odchylka	Obsah flavonoidů [ $\text{mg ekv.rutinu}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku]
Kopr vonný	0,8247	0,006	41,24
Libeček lékařský	0,8688	0,006	43,44

Z výsledků měření vyplývá, že vyšší obsah flavonoidů měl libeček lékařský, jen mírně nižší množství flavonoidů měl kopr vonný.

Chen a kol. [58] se ve své práci zabývali stanovením antioxidační aktivity a celkových flavonoidů vodních extraktů vybraných bylin. Flavonoidy byly stanoveny spektrofotometrickou metodou s 5 %  $\text{NaNO}_2$  a 10 %  $\text{AlCl}_3$ . Absorbance byla měřena při 510 nm. Zjištěný obsah celkových flavonoidů se pohyboval v rozmezí 12,92 – 141,2  $\text{mg ekv.katechin}\cdot\text{g}^{-1}$ .

## ZÁVĚR

Byliny jsou části rostlin, které se používají k ochucování potravin a jídel díky obsahu aromatických látek a jsou zpracovávány potravinářským průmyslem. Díky obsahu biologicky aktivních látek, jako jsou fenolické sloučeniny známé svou antioxidační aktivitou, jsou byliny důležité i pro farmaceutické využití. Antioxidantům se v současnosti věnuje velká pozornost, a to kvůli jejich biologické účinnosti i z hlediska jejich výskytu v různých druzích potravin.

Cílem diplomové práce bylo stanovit antioxidační aktivitu, obsah celkových polyfenolů a obsah celkových flavonoidů u vybraných druhů aromatických bylin.

Byla provedena analýza 16 vzorků 6 různých druhů aromatických bylin (kopr vonný, libeček lékařský, celer bulvový, pažitka pravá, petržel kadeřavá a petržel kořenová) v čerstvé, mražené a sušené formě.

Ke stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda DPPH a byla vypočtena hodnota  $IC_{50}$ . Nejvyšší antioxidační aktivita a tedy nejnižší hodnoty  $IC_{50}$  byly zjištěny u vzorku čerstvé natě petržele kořenové ( $2,93 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), vzorku čerstvé natě petržele kadeřavé ( $4,99 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), zmrazeného kopru vonného ( $3,29 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), mrazeného libečku lékařského ( $6,14 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), sušeného kopru vonného ( $0,87 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) a sušeného libečku lékařského ( $0,99 \text{ mg.ml}^{-1}$ ). Naopak nejnižší antioxidační aktivita a tedy nejvyšší hodnoty  $IC_{50}$  byly zjištěny u vzorku čerstvé pažitky pravé ( $34,78 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), čerstvé natě celeru bulvového ( $8,88 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), zmrazené natě celeru bulvového ( $9,61 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) a sušené petržele kadeřavé ( $2,24 \text{ mg.ml}^{-1}$ ).

Celkový obsah polyfenolů (CP) vzorků aromatických bylin byl stanoven pomocí spektrofotometrické metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Nejvyšší obsah polyfenolů byl zjištěn u čerstvého vzorku celeru bulvového ( $26,94 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ), kopru vonného ( $22,04 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ), mrazeného vzorku libečku lékařského ( $33,82 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ) a sušené pažitky pravé ( $111,2 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ) a sušené petržele kadeřavé ( $83,2 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ). Naopak nejnižší obsah celkových polyfenolů byl zjištěn u čerstvého vzorku pažitky pravé ( $6,68 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ), mrazených vzorků petržele kadeřavé ( $8,14 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ), kopru vonného ( $11,52 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ) a sušeného libečku lékařského ( $28,6 \text{ mg ekv.GA.g}^{-1}$ ).

Celkový obsah flavonoidů vzorků aromatických bylin byl stanoven pomocí spektrofotometrické metody s  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$  a standardem rutinu. Nejvyšší obsah flavonoidů byl zjištěn u čerstvého vzorku kopru vonného ( $20,22 \text{ mg ekv. rutinu.g}^{-1}$ ), mrazeného kopru vonného ( $21,39 \text{ mg ekv. rutinu.g}^{-1}$ ) a sušeného libečku lékařského ( $43,44 \text{ mg ekv. rutinu.g}^{-1}$ ). Naopak nejnižší obsah flavonoidů byl zjištěn u čerstvé pažitky pravé ( $3,74 \text{ mg ekv. rutinu.g}^{-1}$ ).

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] DRAGLAND, S., SENOO, H., WAKE, K., HOLTE, K., BLOMHOFF, R. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *Human nutrition and metabolism*. 2003, č. 133, s. 1286-1290.
- [2] BREMNESOVÁ, L. *Bylinář: zdraví, krása, radost*. Praha: FORTUNA PRINT, 2006. 286 s. ISBN 80-85873-00-1.
- [3] RAUSCH, A., LOTZ, B. *Bylinky: lexikon*. 3. vyd. Praha: REBO, 2008. 302 s. ISBN 978-80-7234-776-6.
- [4] SANECKIOVÁ, K. N. *Bylinky: jak sázet, pěstovat, sklízet a zpracovávat vlastní úrodu bylinek*. Praha: SVOJTKA & Co, 1998. 124 s. ISBN 80-7237-078-2.
- [5] HINNEBURG, I., DORMAN, D. H. J., HILTUNEN, R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*. 2006, s. 122-129.
- [6] SHAN, B., Z. CAI, Y., SUN, M., CORKE, H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 2005, roč. 53, č. 20, s. 7749-7759.
- [7] TREBEN, M. *Zdraví z boží lékárny: léčivé byliny, rady a zkušenosti*. 43 vyd. České Budějovice: DONA, 1991. 88 s. ISBN 80-900080-6-2.
- [8] LEHARI, G. *Bylinky*. Praha: GRADA, 2006. 64 s. ISBN 80-247-1430-2
- [9] *Kopr vonný*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://kvetiny.atlasrostlin.cz/kopr-vonny>>
- [10] BRAUNOVÁ-BERNHARTOVÁ, U. *Bylinky a koření*. 1. vyd. Praha: VAŠUT, 2005. 138 s. ISBN 80-7236-398-0.
- [11] *Obrázek kopr vonný*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://janabubu.webnode.cz/bylinky/paleni-zahy/>>
- [12] *Obrázek kopr vonný*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://conovehonakopci-zelenina.blog.cz/1003/kopr-vonny>>
- [13] *Centrum databáze složení potravin*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://www.czfcdb.cz/potraviny/?id=59>>
- [14] *Kopr vonný*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <[http://www.tvezdravi.cz/lecivarostlina\\_kopr-vonny\\_42.html](http://www.tvezdravi.cz/lecivarostlina_kopr-vonny_42.html)>

- [15] *Libeček lékařský*. [online]. [cit. 2013-20-04]. Dostupné z WWW: <<http://www.prostezdravi.cz/libecek-lekarsky-koreni-lek/>>
- [16] LÁNSKÁ, D. *Zelené koření*. 1. Vyd. Praha: BRÁZDA, 1991. 48 s. ISBN 80-209-0197-3.
- [17] VERMEULEN, N. *Encyklopedie: byliny a koření*. 3. vyd. Praha: REBO, 2008. 319 s. ISBN 978-80-7234-664-6.
- [18] *Obrázek libeček lékařský*. [online]. [cit. 2013-04-20]. Dostupné z WWW: <<http://abecedazahrady.dama.cz/clanek/libecek-lekarsky-jak-ho-pestovat>>
- [19] *Obrázek libeček lékařský*. [online]. [cit. 2013-04-20]. Dostupné z WWW: <<http://www.spektrumzdravi.cz/libecek-lekarsky-levisticum-officinale>>
- [20] PAUKERTOVÁ, I., *Přírodou za léčivými rostlinami*. 1. vyd. Praha: BRIO, 2000. 95 s. ISBN 80-86113-26-4.
- [21] *Pazitka pobřežní*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://www.chemievjidle.cz/prakticke-informace/pazitka-neboli-snytlík-clanek>>
- [22] *Obrázek pažitka pobřežní*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://jobe.cz/byliny/bylinar/pazitka/pazitkaindex.htm>>
- [23] *Obrázek pažitka pobřežní*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://www.etescoma.cz/pestovani-bylinek-sense/souprava-pro-pestovani-bylinek-sense-pazitka-p-232627.html?cPath=211481>>
- [24] *Petržel kadeřavá*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://www.zdrava-vyziva-bylinky.cz/Ovoce-a-zelenina/Informace/Petrzel-kaderava.html>>
- [25] *Obrázek petržel kadeřavá*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://herbar.webnode.cz/products/petrzel-kaderava/>>
- [26] *Obrázek petržel kadeřavá*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <[http://www.celysvet.cz/images.php?fotka=petrzel-kaderava\\_2&dd=2144](http://www.celysvet.cz/images.php?fotka=petrzel-kaderava_2&dd=2144)>
- [27] *Petržel kořenová*. [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <<http://www.ekofarma-redhost.cz/sortiment/petrzel-korenova-s-nati>>
- [28] TREBEN, M. *Zdravý život s bylinkami: prevence, poznání, léčení*. České Budějovice: DONA, 2001. 90 s. ISBN 80-86136-94-9.

- [29] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 2009. 644 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [30] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS, 1999. 331 s. ISBN 80-902391-3-7.
- [31] BUŘIČOVÁ, L., RÉBLOVÁ, Z. Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech J. Food Sci.* 2008, roč. 26, č. 2, s. 132-138.
- [32] VÁBKOVÁ, J., NEUGEBAUEROVÁ, J. Determination of total phenolic content, total flavonoid content and FRAP in culinary herbs in relation to harvest time. *Acta univ. Agric. et silvic. Mendel. Brun.* 2012, č. 2, s. 167-172.
- [33] CAPECKA, E., MARECZEK, A., LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry*. 2005, roč. 93, s. 223-226.
- [34] ATANASSOVA, M., GEORGIEVA, S., IVANCHEVA, K. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 2011, roč. 46, č. 1, s. 81-88.
- [35] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999. 368 s. ISBN 80-902391-5-3.
- [36] KULISIC, T., RADONIC, A., KATALINIC, V., MILOS, M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*. 2004, roč. 85, s. 633-640.
- [37] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS, 2009. 620 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [38] ROP, O., VALÁŠEK, P., HOZA, I. *Teoretické principy konzervace potravin 1: hlavní konzervářenské suroviny*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. 129 s. ISBN 978-80-7318-339-4.
- [39] HRABĚ, J., ROP, O., HOZA, I. *Technologie výroby potravin rostlinného původu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. 179 s. ISBN 978-80-7318-372-1.
- [40] KNOBLOCH, E. *Fyzikálně chemické metody stanovení vitamínů*. Praha: Československá akademie věd, 1956. 458 s.
- [41] RYBKOVÁ, Z., MALACHOVÁ, K. Využití plasmidu pBluescript pro detekci antioxidační aktivity rostlinných fenolových látek. *Chemické listy*. 2011, roč. 105, s. 129-132.

- [42] *Obrázek flavan.* [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupné z WWW: <[http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/antioxsys.vlu/Page/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/sek\\_pfl\\_inhaltsstoffe.vscml.html](http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/antioxsys.vlu/Page/vsc/de/ch/16/im/antioxsys/sek_pfl_inhaltsstoffe.vscml.html)>
- [43] DAVÍDEK, J., HAJŠLOVÁ, J., POKORNÝ, J., VELÍŠEK, J. *Chemie potravin.* Praha: VŠCHT, 1991. 142 s. ISBN 80-7080-097-6.
- [44] ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry.* 1999, roč. 64, s. 555-559.
- [45] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro.* *Chemické listy.* 2004, roč. 98, s. 174-179.
- [46] SCALZO, L. R. Organic acid influence on DPPH• scavenging by ascorbic acid. *Food Chemistry.* 2008, s. 40-43.
- [47] DOBEŠ, J., SOCHOR, J., RUTTKAY-NEDECKÝ, B., ADAM, V., KIZEK, R., KLEJDUS, B. *Stanovení antioxidační aktivity přírodních antioxidantů pomocí automatického robota a spektrofotometru.* [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupný z WWW: <[http://mnet.mendelu.cz/mendelnet2012/articles/39\\_dobes\\_669.pdf](http://mnet.mendelu.cz/mendelnet2012/articles/39_dobes_669.pdf)>
- [48] FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ, L., HOLČAPEK, M. *Analýza antioxidantů v chmelu a pivu.* [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupný z WWW: <<http://www.vscht.cz/anl/soutez2007/abstrakt-Fidler.pdf>>
- [49] ZLOCH, Z., ČELAKOVSKÝ, J., AUJEZDSKÁ, A. *Stanovení polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu.* Plzeň: Ústav hygieny Lékařské fakulty UK. 2004, 37 s.
- [50] HOSSAIN, A. M., SALEHUDDIN, M. S., RAHMAN, A. Flavonoid contents and antioxidative effect of tea samples. *As. J. Food Ag-Ind.* 2009, roč. 2, s. 421-432.
- [51] ZLOCH, Z. Zdravotní efekt polyfenolů z hlediska jejich příjmu a využitelnosti. *Vojenské zdravotnické listy.* 2003, roč. 72, č. 5, s. 226-229.
- [52] SCALBERT, A., WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *The Journal of Nutrition.* 2000, roč. 130, č. 8, s. 2073-2085.
- [53] PRAŽSKÉ ANALYTICKÉ CENTRUM INOVACÍ. *Vysokoúčinné analytické separace biologicky aktivních látek.* Praha: VŠCHT, 2006. ISBN 978-80-86238-13-5.

- [54] DORMAN, D. J.H., BACHMAYER, O., KOSAR, M., HILTUEN, R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected *Lamiaceae* species grown in Turkey. *J. Agric. Food Chem.* 2004, roč. 52, s. 762-770.
- [55] VÁBKOVÁ, J., Neugebauerová, J. *Vliv způsobu pěstování na obsah antioxidantních látek Anethum Graveolens L.* [online]. [cit. 2013-04-22]. Dostupný z WWW: <[http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/553/dzi/www/data/6\\_vliv\\_zp.pdf](http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/553/dzi/www/data/6_vliv_zp.pdf)>
- [56] ČÍŽ, M., ČÍŽOVÁ, H., DENEV, P., KRATCHANOVA, M., SLAVOV, A., LOJEK, A. Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables. *Food Control.* 2010, roč. 21, s. 518-523.
- [57] ZHENG, W., WANG, Y. S. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 2001, roč. 49, s. 5165-5170.
- [58] CHEN, Y. H., LIN, C. Y., HSIEH, L. C. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Food Chemistry.* 2007, roč. 104, s. 1418-1424.



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
FRAP	ferric reduction ability of plasma
ORAC	oxygen radical absorbance capacity
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
DPPH	difenylpikrylhydrazyl

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 - Kopr vonný .....	15
Obrázek 2 - Libeček lékařský .....	17
Obrázek 3 - Celer bulvový .....	18
Obrázek 4 - Pažitka pravá .....	20
Obrázek 5 - Petržel kadeřavá .....	21
Obrázek 6 - Petržel kořenová .....	22
Obrázek 7 - Flavan .....	32
Obrázek 8 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu kopru vonného.....	47
Obrázek 9 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu pažitky pravé.....	48
Obrázek 10 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kadeřavé .....	49
Obrázek 11 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kořenové.....	50
Obrázek 12 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě celeru bulvového .....	51
Obrázek 13 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu kopru vonného.....	53
Obrázek 14 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu libečku lékařského.....	54
Obrázek 15 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu pažitky pravé.....	55
Obrázek 16 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě celeru bulvového.....	56
Obrázek 17 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu kopru vonného.....	58
Obrázek 18 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu libečku lékařského.....	59
Obrázek 19 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu pažitky pravé .....	60
Obrázek 20 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kořenové.....	61
Obrázek 21 - Závislost inaktivace na koncentraci extraktu natě petržele kadeřavé .....	62
Obrázek 22 - Kalibrační křivka pro stanovení polyfenolů na kyselinu gallovou .....	65
Obrázek 23 - Kalibrační křivka pro stanovení flavonoidů na rutin .....	71

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 - Seznam aromatických bylin použitých k analýze .....	41
Tabulka 2 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu kopru vonného.....	46
Tabulka 3 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu pažitky pravé.....	47
Tabulka 4 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petržele kadeřavé.....	49
Tabulka 5 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petržele kořenové.....	50
Tabulka 6 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě celeru bulvového.....	51
Tabulka 7 - Hodnoty $IC_{50}$ [ $mg \cdot ml^{-1}$ ] pro vzorky čerstvých aromatických bylin.....	52
Tabulka 8 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu kopru vonného.....	53
Tabulka 9 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu libečku lékařského.....	54
Tabulka 10 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu pažitky pravé .....	55
Tabulka 11 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě celeru bulvového .....	56
Tabulka 12 - Hodnoty $IC_{50}$ [ $mg \cdot ml^{-1}$ ] pro vzorky zmrazených aromatických bylin .....	57
Tabulka 13 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu kopru vonného.....	58
Tabulka 14 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu libečku lékařského.....	59
Tabulka 15 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu pažitky pravé .....	60

Tabulka 16 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petr- žele kořenové.....	61
Tabulka 17 - Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace extraktu natě petr- žele kadeřavé .....	62
Tabulka 18 - Hodnoty $IC_{50}$ [ $mg \cdot ml^{-1}$ ] pro vzorky sušených aromatických bylin .....	63
Tabulka 19 - Hodnoty absorpance pro jednotlivé koncentrace kyseliny gallové .....	65
Tabulka 20 - Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů čerstvých aromatických bylin .....	66
Tabulka 21 - Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů zmrazených aromatických bylin .....	68
Tabulka 22 - Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů sušených aromatických bylin .....	69
Tabulka 23 - Hodnoty absorpance pro jednotlivé koncentrace rutinu .....	70
Tabulka 24 - Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů čerstvých aromatických bylin .....	72
Tabulka 25 - Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů zmrazených aromatických bylin .....	72
Tabulka 26 - Výsledky stanovení celkového obsahu flavonoidů sušených aromatických bylin .....	73

