

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Zahradnická fakulta v Lednici

Ústav posklizňové technologie zahradnických produktů

**Hodnocení antioxidační kapacity vybraných potravin
rostlinného původu.**

Bakalářská práce

doc. Ing. Josef Balík, Ph.D

vedoucí bakalářské práce

Jana Pazderková

řešitelka bakalářské práce

Lednice 2010



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Autorka práce: Jana Pazderková
Studijní program: Zahradnictví
Obor: Jakost rostlinných potravinových zdrojů

Název tématu: **Hodnocení antioxidační kapacity vybraných potravin
rostlinného původu.**

Rozsah práce: **20-30 stran textu, 5-8 tabulek, případně grafů**

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu pojednávající o zadané problematice.
2. Pojedejte o významu antioxidačních vlastností vybraných látkových složek potravin rostlinného původu.
3. Charakterizujte metody stanovení antioxidační kapacity v potravinách.
4. Srovnajte hodnoty antioxidační kapacity vybraných potravin rostlinného původu.

Seznam odborné literatury:

1. KYZLINK, V. Základy konzervace potravin. Praha: SNTL -- Nakladatelství technické literatury, 1980. 516 s.
2. ŠTÍPEK, S. a kol. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. 1. vyd. Praha: Grada, 2000. 314 s. ISBN 80-7169-704-4.
3. VELÍŠEK, Z.: Chemie potravin. Tábor: Osis, 1999
4. aktuální a tématicky zaměřené seriálové a monografické publikace

Datum zadání bakalářské práce: listopad 2008

Termín odevzdání bakalářské práce: červenec 2010

Jana Pazderková
řešitelka bakalářské práce

Ing. Josef Balík, Ph.D.
vedoucí bakalářské práce

Ing. Josef Balík, Ph.D.
vedoucí ústavu

doc. Ing. Petr Kučera, Ph.D.
děkan ZF MZLU v Brně

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucímu své bakalářské práce, panu doc. Ing. Josefu Balíkovi, Ph.D. za poskytnuté materiály a cenné informace, které přispěly ke zpracování mé bakalářské práce. Mé poděkování patří i kolektivu knihovny v Lednici v čele s paní Galbavou, za ochotu při vyhledávání odborných článků a publikací.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „**Hodnocení antioxidační kapacity vybraných potravin rostlinného původu.**“ vypracovala samostatně a čerpala jsem pouze ze zdrojů, které jsem uvedla v závěru své práce.

Současně souhlasím s tím, aby byla tato práce uložena v knihovně Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Brně a byla přístupná ke studijním účelům.

V Lednici dne.....

Podpis zpracovatele.....

Seznam tabulek a obrázků

Tabulka 1. Změny obsahu vitamínu C při zpracování ovoce na kompoty

Tabulka 2. Zástupci flavonoidů. (Štípek et al. 2000)

Tabulka 3. Reaktivní formy kyslíku a dusíku. (ŠTÍPEK et al., 2000)

Tabulka 4. Obsah Flavonoidů v sóji (SUKOVÁ, 2009)

Tabulka 5. Zastoupení hlavních polyfenolických sloučenin v cibuli (PRONĚK et al., 2003)

Tabulka 6. Obsah fenolových látek v jahodách (VELÍŠEK 2002)

Tabulka 7 Antioxidanty povolené při výrobě potravin (Vyhláška č. 4/2008 Sb.)

Tabulka 8 Obsah železa a zinku ve významných potravinových surovinách (VELÍŠEK 2002)

Tabulka 9 Obsah zinku v některých cereálních výrobcích a jeho poměr k fytové kyselině. (VELÍŠEK 2002)

Tabulka 10 Obsah látek ve čtyřech odrůdách jablek během dozrávání [mg / 100 g čerstvého ovoce]. (HUI et. al., 2006)

Tabulka 11 Obsah fenolů v různých typech vín (FOGLIANO et al., 1999)

Tabulka 12 Koncentrace kyselin v různých vzorcích vín (MAKRIS et al., 2003)

Tabulka 13 Hodnoty celkové antioxidační kapacity zjištěné různými metodami [mg kyseliny galové/100g] (ZLOCH, 2004) (WANG et al., 1996)

Tabulka 14 Hodnoty celkové antioxidační kapacity zjištěné různými metodami [mg kyseliny galové/100g] (ZLOCH, 2004)

Obrázek 1. Schéma Fentonovy reakce (ŠTÍPEK et al., 2000)

Obrázek 2 Příklady karotenoidů (CLAUDE, 2009)

Obrázek 3 Obsah polyfenolů v esenciálním oleji česneku. (MISHARINA et al., 2008)

Seznam použitých zkratek

ABTS	2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát)
BHA	butylhydroxyanizol
BHT	butylhydroxytoluén
CoQ	koenzymy Q
DNA	deoxyribonukleonová kyselina
DPPH	vysokoučinná kapalinová chromatografie, high performance liquid chromatography
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
FRAP	Ferric reduction ability of plazma
H ₂ O ₂	peroxid vodíku
HClO	kyselina chlorná
HPCL	vysoko účinná kapalinová chromatografie, high performance liquid chromatography
LPX	lipidová peroxidace
ORAC	oxygen radical absorbance capacity
Q ₁₀	koenzym Q ₁₀
TAA	celková antioxidační aktivita
TAC	celková antioxidační kapacita
TBHQ	terciální butyl hydrochinon
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
TOSC	Total oxyradical scavenging capacity
TPTZ	2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazinu)
UV	ultraviditelné spektrum záření

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	CÍL	9
3	POZNATKY K ŘEŠENÉ PROBLEMATICE.....	10
3.1	Základní pojmy	10
3.1.1	Antioxidanty.....	10
3.1.2	Volné radikály a oxidační stres	10
3.1.3	Antioxidanty a jejich zákonné omezení v potravinách	11
3.2	Rozdělení antioxidantů.....	13
3.2.1	Vitamíny.....	14
3.2.2	Stopové prvky	20
3.3	ZÁKLADNÍ METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	24
3.3.1	Metody založené na eliminaci volných syntetických radikálů.....	25
3.3.2	Metody hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů.....	26
3.3.3	Metody založené na vylučování OH- radikálů.....	26
3.3.4	Metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace.....	26
3.3.5	Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek.....	27
3.3.6	Elektrochemické metody.....	27
3.3.7	Metody založené na detekci oxidačního poškození organismu.	28
3.3.8	Zpracování vzorků.....	28
3.4	Antioxidanty ve vybraných druzích ovoce a zeleniny	29
3.4.1	Sójové boby.....	29
3.4.2	Cibule	29
3.4.3	Česnek	30
3.4.4	Jahody.....	31
3.4.5	Jablka.....	31
3.4.6	Víno.....	32
4	VLASTNÍ KOMENTÁŘ	34
5	ZÁVĚR.....	36
6	SOUHRN	37
7	RESUME.....	38
8	POUŽITÁ LITERATURA.....	39
9	PŘÍLOHY.....	43

ÚVOD

Antioxidační kapacita a antioxidanty jsou v dnešní době velmi populárními a často skloňovanými pojmy. Můžeme se s nimi setkat nejen v potravinářství a výživě člověka, ale i v kosmetickém průmyslu a mnoha dalších oblastech. S antioxidační kapacitou úzce souvisí i pojem volné radikály, oxidační stres a další.

K tomu, abychom dosáhli co nejlepšího využití potravy v lidském organismu, doporučuje se konzumovat co možná nejširší spektrum potravin ať už rostlinného nebo živočišného původu. Za rozhodující přínos ovoce a zeleniny byl dosud pokládán komplex vitaminů. Dnes se pokládá obsah bioaktivních (chemoprotektivních) složek (fytochemikálií) přinejmenším za rovnocenné (KOPEC, 2008). Zvýšená konzumace potravin rostlinného původu, chrání naše tělo před nežádoucími oxidačními procesy, civilizačními chorobami nebo biologickým stárnutím. Dříve se vědci zaměřovali na studium tradičních látek v potravinách, jako jsou tuky, cukry, kyseliny, bílkoviny a jejich výživové hodnoty. V posledních letech se obrátila pozornost vědců na další biologické faktory, které nemají zásadní vliv na fyziologii člověka, ale mají nenahraditelnou funkci v lidském organismu. Až schéma dokazující tzv. oxidační stres, což je nerovnováha mezi oxidačními podněty a přirozenou antioxidační kapacitou lidského organismu, vedla ke zvýšenému zájmu o látky rostlinného původu, které vykazují oxidační aktivitu. Je potřeba vzít také do úvahy přidávky aditiv do potravin, jejich zákonná omezení a dodržování předepsaných limitů, protože i nejpozitivnější věc konzumovaná v přemíře může být pro náš organismus škodlivá. Právě látky rostlinného původu jsou jedny z nejvýznamnějších zdrojů antioxidantů.

2 CÍL

Cílem práce bylo pojednat o významu antioxidačních vlastností vybraných látkových složek potravin rostlinného původu. Charakterizovat metody stanovení antioxidační kapacity v potravinách a srovnat antioxidační kapacitu vybraných potravin rostlinného původu.

3 POZNATKY K ŘEŠENÉ PROBLEMATICE

3.1 Základní pojmy

3.1.1 Antioxidanty

Termínem antioxidanty jsou označovány sloučeniny, které přerušují nebo zabraňují radikálovým reakcím způsobené oxidací. (ANONYM, 2009)

Patrně největší zájem o flavonoidy v lidské výživě, vyvolala jejich potencionální role v prevenci rakoviny. Spektrum známých přírodních antioxidantů, obsažených především v potravinách rostlinného původu, se v posledních letech podstatně rozšířilo o skupiny tzv. sekundárních fyziologických metabolitů rostlin. Dosud jich bylo izolováno, identifikováno a testováno více než 5 tisíc. (ZLOCH, 2005)

Potraviny jsou nositeli nejen „klasických“ antioxidantů esenciální povahy (vitaminy C a E, karotenoidy, folát, selen a některé přechodné prvky), ale také několika tisíc druhů přírodních látek, které v modelových systémech a po aplikaci živým objektům vykazují srovnatelné, v mnoha případech dokonce intenzivnější antioxidační účinky. Tyto látky se mohou vyskytovat ve fyziologickém prostředí ve své redukované i oxidované formě a v závislosti na svém redukčním potenciálu a oxido-redukčních parametrech prostředí se mohou tyto formy - v interakci s jinými látkami - vzájemně přeměňovat. Oxidačně-redukční interakce mezi biomolekulami (lidskému organismu vlastními) nebo exogenními oxidanty na jedné straně a těmito látkami na straně druhé mohou mít různý charakter, obvykle vzájemné výměny elektronů, vodíkových atomů nebo atomů resp. molekul kyslíku. Je dlouhou dobu známo, že analogické oxidačně-redukční reakce probíhají také v potravinách (žluknutí tuků a jeho blokování antioxidanty, enzymatické hnědnutí rostlinného materiálu) a také při jejich technologickém zpracování a skladování, ale rovněž v trávicím ústrojí savců. (ZLOCH, 2004)

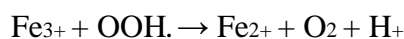
3.1.2 Volné radikály a oxidační stres

Pokud atom nebo molekula obsahuje alespoň jeden orbital s jediným, tedy nepárovým elektronem, částice se nazývá volný radikál. V neutrálním atomu či molekule je počet protonů a elektronů vyrovnaný. Pokud v atomu či molekule není stejný počet protonů a elektronů, částice se nazývá ion. Záporný anion má více elektronů a protonů, v kladném kationtu je naopak více protonů.

Volný radikál vzniká trojím způsobem, buď homolytickým štěpením kovalentní vazby, ztrátou elektronu, což je oxidace, nebo přidáním jednoho elektronu redukcí. Vznik radikálu může být iniciací celého řetězce dalších reakcí. Obecně jsou radikály vysoce reaktivní částice, které jsou schopné rychle se navázat na jinou strukturu nebo předat elektron jiné molekule nebo jí ho odejmout. Příklady volných radikálů kyslíku a dusíku zobrazuje tabulka 3. (ŠTIPEK et. al., 2000)

Fentonova reakce byla objevená už koncem 19. století H.J.H. Fentonem, spočívá v reakci peroxidu vodíku s dvojmocným železem v kyselém prostředí (tzv. Fentonovo činidlo):
$$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}.$$

Vzniklé ionty Fe^{3+} mohou dále reagovat s H_2O_2 a hydroperoxylovým radikálem, čímž dochází k regeneraci Fe^{2+} : Schéma této reakce zobrazuje obrázek číslo 1



Peroxid vodíku je v organismu zneškodňován hlavně glutathionperoxidázou, méně katalázou. Ovšem při nedostatku těchto enzymů a v přítomnosti kovů jako Fe, Ni, Co, Cd, Cu vznikají z peroxidu vodíku 2 volné hydroxylové radikály, které teprve s dalším elektronem dají molekulu vody (Obrázek 1) (HOLEČEK, 2005).

Porušení rovnováhy mezi vznikem a odstraňováním reaktivních forem kyslíku a dusíku se nazývá oxidační stres.

Oxidační stres je důsledek nežádoucích oxidačních procesů v buňce, vyvolávaných reaktivními kyslíkovými částicemi. Ty vznikají různými neřízenými reakcemi molekulového kyslíku v aerobních buňkách a mají tendenci odtrhnout elektron od dalších molekul. Nejčastějšími „oběťmi útoku“ jsou nenasycené mastné kyseliny a postranní řetězce některých aminokyselin jako tryptofan a methionin. Touto reakcí se sice reaktivní kyslíková částice může stabilizovat, ale z cílové molekuly vzniká opět reaktivní radikál. Organismy mají schopnost se proti oxidačnímu stresu bránit. (KODÍČEK, 2007)

3.1.3 Antioxidanty a jejich zákonné omezení v potravinách

Antioxidanty mají velkou úlohu při zpracování surovin a výrobě potravin. Mají za úkol udržování chutě, barvy potravin a prodlužování doby trvanlivosti. Jejich použití je velmi významné pro předcházení oxidace u tuků a výrobků s obsahem tuku. Další význam je takový, že některé vitamíny a aminokyseliny se lehce destrukují působením vzdušného kyslíku a antioxidanty této destrukci brání. Pomáhají zpomalovat hnědnutí světlé dužniny plodů a ovlivňují další barevné změny potravin. (ANONYM, 2004)

Přídavek antioxidantů do potravin je regulován Vyhláškou č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin. Tato vyhláška zpracovává příslušné předpisy Evropských společenství a zároveň navazuje na přímo použitelné předpisy Evropských společenství. Upravuje množství a druhy přídatných látek, požadavky na jejich čistotu a podmínky jejich použití do potravin. (Vyhláška č. 4/2008 Sb.)

Přídatné látky se smějí použít jen při výrobě potravin, pro které jsou povoleny. Pro potraviny jsou stanoveny limitní hodnoty, to znamená nejvyšší povolené množství. Potraviny, které se ještě dále zpracovávají, smějí obsahovat přídatné látky pouze v případě, že jsou přídatné látky povolené i v potravinách, které se z nich vyrábí. Pro některé přídatné látky není stanoveno nejvyšší povolené množství konkrétní číselnou hodnotou. Při výrobě potravin se v takovém případě použije pouze nezbytně nutné množství. Použití látky přitom nesmí vést ke klamání spotřebitele. (BUREŠOVÁ, 2008)

Antioxidanty přidávané do potravin jsou zpravidla dvojího druhu - přírodní a syntetické. Antioxidační aktivita přírodních látek je zpravidla nižší než aktivita syntetických antioxidantů, a proto se jich musí přidávat větší množství. Větší přídavky antioxidantů již mohou mít vliv na senzoričnou jakost, a to na barvu, vůni a chuť. Hlavním důvodem této změny je, že účinné látky tvoří jen část z hmoty, která se přidává do potraviny.

Když srovnáme strukturu přírodních a syntetických antioxidantů, přírodní antioxidanty jsou, až na malé výjimky, ortho-substituované sloučeniny, kdežto syntetické deriváty jsou skoro výhradně para-substituované deriváty. Důvodem je menší toxicita para-derivátů ve srovnání s ortho-deriváty. Zatímco se toxicita syntetických derivátů zkoumá dlouholetými přísnými zkouškami, přírodní materiály se nezkoumají téměř vůbec, pokud jsou běžnou součástí pokrmů. (POKORNÝ, 2001)

Antioxidanty povolené při výrobě potravin, potraviny a skupiny potravin, v nichž se mohou vyskytovat, a podmínky použití antioxidantů stanoví příloha k vyhlášce č. 4/2008 Sb. Tabulka 7 obsahuje všechny povolené antioxidanty podle přílohy k výše uvedené vyhlášce.

Jako antioxidanty lze při výrobě potravin v nezbytném množství použít i přídatné látky E 304 a E 306 až E 309. Což jsou E 304 estery mastných kyselin s kyselinou askorbovou, E 306 extrakt s vysokým obsahem tokoferolů a E 309 Delta-tokoferol. (Vyhláška č. 4/2008 Sb.)

Mezi nejčastěji přidávaný přírodní antioxidant patří vitamín C. Jeho sloučeniny se přidávají do nealkoholických nápojů, džemů, kondenzovaného mléka a salámů na ochranu

před oxidací. Kód, kterým se označuje vitamín C a jeho sloučeniny je v rozmezí E 300 – E 302. (Tabulka 7) Dalšími přírodními antioxidanty jsou tokoferoly E 306 – E 309 (Tabulka 7) patřící do skupiny vitamínu E. Tokoferoly se vyskytují ve slunečnicových semenech, sójových a kukuřičných klíčcích a používají se na ochranu rostlinných olejů, margarínů a kakaových výrobků. (ANONYM, 2004)

V použití syntetických a přírodních antioxidantů není žádný rozdíl. Nejvýznamnější patří do skupiny galátů. Galáty se označují kódem E 310 – E 312. (Tabulka 7) Přidávají se hlavně do rostlinných olejů a margarínů, aby se předcházelo ztuchlosti a uchovala se jejich chuť. (ANONYM, 2004)

Pokud jsou galáty, TBHQ, BHA a BHT použity v kombinaci, musí být jejich jednotlivá množství úměrně snížena. (Vyhláška č. 4/2008 Sb)

BHA (butylhydroxyanisol, E 320) a BHT (butylhydroxytoluén, E 321) jsou fenolické sloučeniny přidávané do potravin hlavně k udržení tuků.

BHA je bílá nebo nažloutlá látka se slabým charakteristickým zápachem, kdežto BHT je bílý prášek.

BHA je nejvíce používaná k udržení tuků před žluknutím. Můžeme ji najít v másle, masu, cereáliích, žvýkačkách, bramborových lupíncích, ale i pivu a kosmetických přípravcích. BHT je také preventivní látkou proti kažení tuků, přidává se k udržení vůně chuti a barvy. Hodně balících materiálů obsahuje BHT. (HELMENSTINE, 2010)

3.2 Rozdělení antioxidantů

Antioxidanty můžeme rozdělit do pěti skupin: primární antioxidanty mezi ně patří fenolické sloučeniny – tokoferoly, butylhydroxyanisol, butylhydroxytoluén a další, sloučeniny reagující s kyslíkem přímo jako kyselina askorbová, sekundární antioxidanty, rozkládající hydroperoxydy ve stabilní produkty těmi jsou například dilaurylthiopropionáty, enzymatické antioxidanty a chelatající a maskující činidla zástupci jsou například kyselina citronová, aminokyseliny, EDTA. Podle struktury se rozeznáváme antioxidanty: fenolové jako jsou tokoferoly a endioly, například kyselina askorbová. (ANONYM, 2009)

3.2.1 Vitamíny

Vitamíny jsou látky, které spolu s bílkovinami, tuky, sacharidy a minerály patří k základním složkám lidské potravy. Vitamíny byly objeveny ve 20. století polským biochemikem Kazimírem Funkem, ale o jejich existenci lidé věděli už dříve. (ANONYM, 2008) Vitamíny jsou jakostním znakem ovoce a zeleniny. Lidský organismus se bez nich neobejde a neumí si je sám syntetizovat. Hlavním zdrojem dvou z nich, vitamínu C a provitamínu A je ovoce a zelenina. (KOPEC, 2008)

Vitamín C

Jeho hlavní podíl tvoří kyselina L-askorbová. V menší míře je v čerstvých plodinách přítomna kyselina dehydroaskorbová a vázaná forma askorbigen s podobnými účinky. Průměrný obsah vitamínu C v zelenině je 209 mg.kg⁻¹ v ovoci 165 mg.kg⁻¹. (KOPEC, 2008) Minimální denní dávka kyseliny L-askorbové je 10 mg. Doporučená denní dávka se pohybuje v rozmezí 60-200 mg. Veškerá potřeba vitamínu je kryta z potravy, hlavně bramborami a to z 20-30 %, zeleninou asi z 30-40 % a ovocem asi z 30-35 %. Mléko pokrývá potřebu vitamínu C asi z 10 %. Nejznámějším syndromem akutní avitaminosy jsou kurděže neboli skorbut. (VELÍŠEK 2002) Obsah vitamínů se může při zpracování ovoce a zeleniny výrazně změnit, zvláště pokud jde o tepelné zákroky. Sterilizační zákrok je relativně šetrný k biologickým hodnotám potravin v tabulce 1. jsou uvedeny charakteristické údaje o stupni zachování vitamínu C při výrobě ovocných kompotů. Zachování vitamínu C závisí na druhu ovoce, obecně se pohybuje kolem 6 %. (KYZLINK, 1980)

Antioxidační účinek askorbátu spočívá v tom, že redukuje anorganické a organické radikály, jako O₂^{•-}, HO₂[•], HO[•] hydrofilní RO₂[•], NO₂[•] a reaguje s O₂ a HClO. (ŠTIPEK et al., 2000) Mezi antioxidanty pozorujeme značný synergismus. Vitamin C např. pomáhá regenerovat oxidovaný vitamin E (tokoferol) zpět do redukovaného (antioxidačního) stavu. Oxidovaný vitamin C se může naopak sám regenerovat prostřednictvím glutathionu, přičemž se jako kofaktor uplatňuje selen. (LANGER, 2005)

Kyselina L-askorbová má díky svým vlastnostem široké použití jako potravinářské aditivum především v konzervářské a kvasné technologii a v technologii masa, tuků a v cereální technologii. Jako antioxidant se používá také ve vodě. Askorbová kyselina se přidává k ovocným džusům, konzervovanému a mrazírensky skladovanému ovoci jako prevence nežádoucích změn aroma vyvolaných oxidací při skladování a zpracování. Při loupání, krájení a sušení ovoce a zeleniny a brambor se používá jako inhibitor reakcí enzymového hnědnutí. Je dobrou prevencí tvorby chladových a oxidačních zákalů piva a

změn v důsledku oxidace, ke které dochází při pasteraci a skladování. Použití při výrobě vína umožňuje snížit množství použitého oxidu siřičitého k síření. Velký význam má při výrobě šunky, kdy spolu s dusitany zkvalitňuje a zrychluje výrobu. Charakteristický pigment syrového masa ošetřeného dusitany se tvoří třikrát rychleji, zkracuje dobu uzení a stabilizuje barvu hotových výrobků. Při výrobě pečiva přídavek kyseliny askorbové zlepšuje pekařské vlastnosti mouky. (VELÍŠEK, 2002)

Alfa – tokoferol a vitamín E

Vitamín E je nejvýznamnějším lipofilním antioxidantem uplatňujícím se u eukaryotických buněk jako ochrana nenasycených lipidů před poškozením volnými radikály. Spolu s β -karotenem a koenzymy Q chrání strukturu a integritu biomembrán, jako jsou buněčné, cytoplasmové membrány a hlavně membrán vnitrobuněčných organel. Uplatňuje se také při ochraně lipoproteinů přítomných v plasmě. V krevním řečišti je transportován asociovaný s lipidovou fází lipoproteinových částic LDL. Každá částice LDL lipoproteinů obsahuje 6 molekul vitamínu E. (VELÍŠEK, 2002)

Je nezbytný pro dělení buněk, pro správnou funkci nervů a svalů. Je nepostradatelný pro normální činnost mozku, ledvin, jater a pohlavních orgánů. Podle nejnovějších výzkumů zpomaluje stárnutí. (KOPEC, 2008) Potřeba vitamínu není dosud přesně známa a závisí do značné míry na příjmu polyenových mastných kyselin. Vitamin E se nachází především v potravinách rostlinného původu, v menším množství v potravinách živočišného původu a v některých kvasinkách a houbách. V potravinách se vyskytuje všech osm biologicky aktivních tokoferolů. V živočišných tkáních je obsah vitamínu E ovlivňován hlavně složením krmiva, obsah vitamínu také kolísá podle roční doby. Živočišné tuky obsahují mnohem méně vitamínu E než rostlinné oleje. Celkový obsah vitamínu E v másle bývá do 50 mg/kg, ve vepřovém sádle je od 6 do 30 mg/kg. Na rozdíl od jiných lipofilních vitaminů se vitamin E nevyskytuje ve větším množství v rybích tucích. Rostlinné oleje mají poněkud nižší obsah vitamínu než oleje z obilných klíčků, více vitamínu obsahují panenské oleje, méně pak oleje rafinované. Obsah vitamínu v surovém řepkovém oleji 360-1000 mg/kg, v rafinovaném je 140-850 mg/kg. Obsah vitamínu E v ovoci a zelenině zpravidla nepřesahuje 10 mg/kg. V mrkvi je asi 2,5 mg/kg, zelený salát obsahuje asi 3,2 mg/kg a brambory obsahují jen velmi málo vitamínu E. (VELÍŠEK, 2002) Velké množství vitamínu E může být ztraceno během zpracování, nebo skladování potravin. Vitamin E také pomáhá chránit před škodlivými účinky volných radikálů, které mohou přispět k rozvoji chronických onemocnění jako je rakovina. Vitamín E také blokuje vznik nitrosaminů, které se tvoří v žaludku z dusitanů ze spotřebované

potravy a mohou být karcinogenní. Chrání před genetickou dispozicí rakoviny prsu a pomáhá při rakovině prostaty. Studie prokázaly vliv vitamínu E na Alzheimerovu chorobu. V současnosti se studuje vliv vitamínu E na šeroslepost. (ANONYM 2002)

Ubichinon (koenzym Q10)

Koenzym Q₁₀ (CoQ), jinak také ubichinon se vyskytuje v mnoha potravinách rostlinného a živočišného původu. Koenzymy jsou doprovázeny mnoha lipofilními sloučeninami jako jsou vitamín E a vitamín K. (VELÍŠEK 2002) Byl identifikován v roce 1940 Moorem a o 25 roků později byl poprvé použita Yamamurou při perorální terapii kardiovaskulárního onemocnění. CoQ je klasifikován jako v tuku rozpustný chinon a má strukturu, která se podobá struktuře vitamínu K. V postranním řetězci má izoprenové jednotky, jejichž počet se různí u jednotlivých živočišných druhů. U člověka má 10 izoprenových jednotek, odtud jeho číselné označení.

U člověka je relativně vysoká koncentrace CoQ v játrech, ledvinách a v pankreatu a ve vnitřní membráně mitochondrií asi 40 až 50% a v jádře 25 až 30%.

Účinná forma CoQ je pravděpodobně vázána na minimálně tři třídy proteinů: Qps sukcinát-ubichinon reductázy (YU, 1987) konvertuje sukcinát na sukcinyl-CoQ reductázu, Qpc se účastní na přenosu elektronu v cytochromovém komplexu, Qpn je součástí NADH-Q reductázy. (STEJSKAL, 2007) CoQ₁₀ hraje klíčovou roli při výrobě energie v mitochondriích, Část buněk je odpovědných za produkci energie ve formě ATP. (VELÍŠEK, 2002) Koenzym Q₁₀ je přirozeně se vyskytující látka, která působí zejména preventivně vůči buněčnému poškození během myokardiální ischemie. (STEJSKAL, 2007) Předběžný výzkum zjistil, že zvyšující se CoQ₁₀ mohou zvýšit hladiny neurotransmiteru dopaminu, který je snížen u osob s Parkinsonovou nemocí. Bylo také zjištěno, že CoQ₁₀ mohou chránit mozkové buňky před poškozením volnými radikály. Ovlivňuje glykémii při cukrovce a zlepšuje onemocnění dásní. (WONG, 2008)

Karotenoidy, β – karoten a vitamín A

Za výzkum karotenoidů a vitamínů A získali Paul Karrer (roku 1937) a Richard Kuhn (roku 1938) Nobelovu cenu. Karotenoidy jsou žluté a červené vysoce nenasycené alifatické a alicyklické uhlovodíky, patří většinou mezi tetraterpeny se 40 uhlíkovou kostrou. Řadí se mezi izoprenoidové sloučeniny. Karotenoidy se podílejí na přenosech energie při fotosyntéze; mají též ochranný účinek proti působení UV záření. Živočichové si je neumí syntetizovat a musí je přijímat z rostlinné potravy (KODÍČEK, 2007)

Vykazují silnou absorpci světla a často jsou jasně barevné. Vyskytují se jako pigmenty v bakteriích, řasách a vyšších rostlinách. Karotenoidy plní tři hlavní funkce v rostlinách, provázejí pigmenty pro snazší sklizeň, jsou prevence fotooxidativního poškození a tvoří pigment pro přilákání hmyzu. Uhlovodíkové karotenoidy jsou známé jako karoteny, zatímco okysličené deriváty těchto uhlovodíků, jsou známé jako xantofyly. Karotenoidy jsou důležitou součástí procesu dozrávání v rostlinách, rozšiřují absorpční spektrum při fotosyntéze. Za hlavní karotenoidy v této souvislosti považujeme lutein, violaxanthin a neoxanthin. Kromě těchto vlastností existuje mnoho důkazů o fotoprotektivních vlastnostech xantofylů, například zabraňují poškození při pohlcování nadměrného světla. U savců, karotenoidy provází imunomodulační reakce, které pravděpodobně souvisejí s jejich antikarcinogeními účinky. Při studiu β -karotenu, byl prokázán pokles případů rakoviny prostaty, spojený s konzumací rajčat, zeleniny bohaté na lykopen. (CLAUDE, 2010) Zájem o lykopen se zvyšuje v důsledku rostoucích důkazů o jeho antioxidační aktivitě a preventivních vlastnostech při mnoha nemocech. In vitro, in vivo a ex vivo studie prokázaly, že potraviny bohaté na lykopen jsou nepřímo spojeny s nemocemi jako je rakovina, kardiovaskulární choroby, diabetes a další. (KONG KW et al., 2010) Karotenoidy vykazují úměrně koncentraci antioxidační účinky v systémech obsahujících lipidy.

Ze zastoupených molekul (Obrázek 2), je pravděpodobně nejvíce důležitý β -karoten jako prekurzor vitamínu A. β -karoten obsahuje asi 40% lidské potřeby vitamínu A a jeho ekvivalentů. Většina karotenoidů, je vyráběno chemicky, ale v současné době se používá i mikrobiální produkce. Jeden z nejlepších plísňových kmenů využíván pro výrobu β -karotenu je trispora *Blakeslea*, využívají se i mořské řasy. (CLAUDE, 2010)

Esenciálním kofaktorem enzymů regulujících metabolismus vitamínu A je zinek. Doporučená denní dávka je 0,8-1,2 mg. Absorpce jednotlivých provitaminů však není vždy kvantitativní. Velmi závisí na složení potravy a způsobu přípravy pokrmů, zejména na přítomnosti tuků. V potravinách rostlinného původu a také v mnoha mikroorganismech a vyšších houbách se přímo vitamin A nevyskytuje, ale jsou přítomny provitaminy, tedy karoteny nebo xantofily. Listové zeleniny jako je špenát a zelí jsou velmi bohatým zdrojem provitaminů A, obsahují 10-30 mg/kg ekvivalentů retinolu, převážně ve formě β -karotenu. Klasickým zdrojem β -karotenu je mrkev, obsahuje asi 20 mg/kg. Dobrým zdrojem provitaminů A je také ovoce jako meruňky nebo mango. U živočišných potravin jsou nejlepšími zdroji játra, jaterní rybí tuky, tresčí tuk, jaterní tuky sladkovodních ryb a mléčné

výrobky s vyšším obsahem tuku. Často se margaríny fortifikují syntetickým retinyl-acetátem nebo palmovým olejem, tak aby byl obsah vitamínu stejný jako v másle. (VELÍŠEK, 2002)

Flavonoidy

První flavonoidy byly objeveny v roce 1936 Albertem Szent-Grörgyiem, který získal Nobelovu cenu za objev vitamínu C. Patrně největší zájem o flavonoidy v lidské výživě, vyvolala jejich potencionální role v prevenci rakoviny. (LACHMAN, 2000)

Flavonoidy jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů, díky svým odlišným vlastnostem se uvádí jako samostatná skupina rostlinných barviv. Počet všech flavonoidních látek není přesně znám, udává se 4000 - 6000 látek a stále se nacházejí v různých rostlinných zdrojích nové sloučeniny. Další rostlinné fenoly jsou uvedeny jako chinoidní barviva, jako přírodní antioxidanty, přírodní toxické látky nebo sensoricky aktivní látky. (VELÍŠEK, 2002, b)

Flavonoidy jsou odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny flavanu, tvořeného dvěma benzenovými kruhy spojenými heterocyklickým pyranem. Běžně bývají všechny tři kruhy substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace. Rozeznáváme následující základní struktury flavonoidů: katechiny, leukoanthokyanidiny, flavanony, flavononoly, flavony, flavonoly a anthokyanidiny, chalkony a dihydrochalkony a auryony. Přírodní flavonoidy se nejčastěji vyskytují ve formě O-glykosidů, obsahují tedy ve své molekule necukernou součást (aglykon) a cukernou složku. (DADAKOVÁ, 2000) Flavonoidy patří mezi sekundární rostlinné metabolity a ukázaly se být velmi dobrým doplňkem při různých druzích diet Jsou zastoupeny v mnoha potravinách jako jsou různé druhy ovoce, zeleniny, rostlinné oleje, čaj, červené víno. Údaje týkající se konkrétních potravin a zastoupení flavonoidů ukazuje tabulka 2. (ŠTIPEK et. al. 2000) Pouze některé jsou důležité jako přírodní rostlinná barviva, jiné jsou významné svojí chutí a to trpkou nebo hořkou, příklad můžeme nalézt třeba v hořkosti grapefruitů. V minulosti se všechny flavonoidy dělily podle barvy. Katechiny a leukoanthokyanidiny jsou bezbarvé sloučeniny, ale hnědé pigmenty, které z nich vznikají v reakcích enzymového hnědnutí, jsou barvivy řady potravin. Z bezbarvých leukoanthokyanů také mohou při zpracování ovoce a zeleniny vznikat v kyselém prostředí příslušné barevné anthokyanidiny. Oligomery těchto sloučenin s trpkou chutí se řadí mezi kondenzované trísloviny čili tanniny. Flavonony a flavonoly jsou bezbarvé nebo světle žluté sloučeniny, zejména anthokyany převážně červené, fialové a modré pigmenty. Další žluté pigmenty jsou isoflavony, chalkony, dihydrochalkony a auryony. (VELÍŠEK, 2002, b)

Flavonoidy mají řadu chemických vlastností, díky nimž mohou na různých úrovních zasahovat do dějů v lidském organismu. Mezi jiné patří antioxidační vlastnosti. Mnohé flavonoidy jsou účinné lapače radikálů. Kromě toho jsou schopny vázat ionty přechodných kovů do komplexů a tak měnit jejich dostupnost jako katalyzátorů redukčně-oxidačních reakcí. Antioxidačně působící látky chrání před poškozením výstelky cév. Někteří autoři právě výrazným rozdílem obsahu antioxidačně působících látek v národní stravě vysvětlují skutečnost, že Francouzi trpí kardiovaskulárními chorobami méně, než je v zemích s tak vysokou životní úrovní obvyklé. Významným zdrojem antioxidantů má být pro Francouze podle těchto hypotéz jejich záliba v častém pití červeného vína. Antioxidanty různé chemické struktury snižují také mutagenitu a kancerogenitu řady cizorodých látek. Mnohá xenobiotika, jejichž příkladem může být benzo-a-pyren obsažený v kamenouhelném, ale i cigaretovém dehtu, musí být v živočišném organismu aktivována dříve, než se projeví jako mutageny. Podstatou metabolické aktivace cizorodých látek je jejich oxidace. Některé flavonoidy jsou účinnými inhibitory určitých enzymů. Jevy pozorované na buněčné či tkáňové úrovni jsou pak způsobeny kombinací jednotlivých účinků na úrovni enzymové. Důležitou vlastností je interakce s hormonálními receptory. Již delší dobu je známo, že mnohé přírodní látky rostlinného původu jsou schopny vazby na estrogenové receptory. Tyto látky byly nazvány fytoestrogeny. Mezi fytoestrogeny patří i některé izoflavonoidy. Biologické účinky vyvolané vazbou odlišné látky jsou většinou jiné než účinky pravého hormonu. Izoflavonoidy působí podle okolností, záleží na živočišném druhu a tkáni, někdy ve stejném smyslu jako přirozené estrogény, jindy účinky přirozených hormonů ruší. (HAMPL, 1996)

Z lékařského hlediska můžeme flavonoidy definovat jako skupinu látek obsažených v ovoci a zelenině, jež je nezbytná pro utilizaci vitamínu C a optimální funkci kapilární stěny. V běžně konzumovaném ovoci, zelenině a dalších rostlinných produktech jako jsou citrusové plody, cibule, papája, brokolice, vinné hrozny, listová zelenina, čaj, čokoláda, sója, obilniny se vyskytují především flavonoly, a to zejména kvercetin a kemferol. (JEBAS, 2003) Řada aromatických sloučenin tvoří s ionty přechodných prvků komplexy, u kterých dva sousední uhlíkové atomy aromatického jádra nesou hydroxylové skupiny nebo hydronylovou a karbonylovou skupinu. Tento strukturní motiv je společný velkému množství rostlinných fenolových látek. Reakce s kovovými ionty souvisí s antioxidační aktivitou fenolů. (VELÍŠEK, 2002)

3.2.2 Stopové prvky

Stopové prvky jsou stejně jako minerální látky anorganické látky, které v těle hrají velmi důležitou roli. Zvláště se uplatňují jako součást mnoha hormonů a enzymů. Tělo si nedokáže stopové prvky syntetizovat, a proto se musí všechny přijímat v potravě. Mezi stopové prvky řadíme: železo, zinek, jod, selen, fluor, měď, chrom, mangan, molybden, kobalt. Někdy se do této skupiny počítají i další prvky jako jsou nikl, cín a jiné. V těle jsou stopové prvky obsaženy v podstatně menších množstvích než minerální látky, toto množství se řádově pohybuje od desetin miligramů po gramy. (ANONYM, 2010) Minerální látky v potravinách jsou významnými jakostními znaky nutriční hodnoty. Lidský organismus je potřebuje jednak jako stavební složky jednak jako složky enzymatických systémů regulujících různé životní funkce. Každý prvek má v těle svoji úlohu, kterou plní společně nebo v protikladu s jinými účinnými složkami. (KOPEC, 2008)

Železo

Je často nedostatkovým prvkem v naší potravě. Je nepostradatelné pro tvorbu hemoglobinu a oxidáz, denní spotřeba železa je 10 mg, z čehož téměř čtvrtinu poskytuje zelenina a ovoce. Železo ovoce a zeleniny je v důsledku působení vitamínu C v těle využíváno poměrně dobře. (KOPEC, 2008)

Železo a měď patří mezi přechodné tranzitní prvky, neboť předposlední elektronovou slupku nemají zcela zaplněnou elektrony. Proto mají kovové vlastnosti, chemicky vyhovují definici radikálů. Předpokládá se, že ionty Fe^{2+} s peroxidem vodíku tvoří velmi reaktivní meziprodukty, například feryl $Fe(OH)^{3+}$, který se rozpadá na Fe^{3+} a hydroxylový radikál. Druhý kyslíkový atom peroxidu dává hydroxidový ion (disociovanou vodu). Tato reakce se nazývá Fentonova. (Obrázek 1)

Lidské tělo disponuje asi 4g železa, Z toho nepatrná část je funkční v aktivních centrech enzymů, kde je reaktivita železa usměrněna ve prospěch životních dějů, aniž by reaktivní komplexy železa mohly poškodit buněčné struktury a porušit buněčné regulace. (ŠTIPEK et al. 2000) Nejvyšší koncentrace železa se nacházejí v krvi což je hemoglobin, játrech a slezině - ferritin a homosiderin, nižší koncentrace jsou v ledvinách, srdci a kosterním svalstvu - myoglobin. Koncentrace železa v pankreatu a mozku je asi dvakrát až desetkrát nižší, než obsah v játrech a slezině.(VELÍŠEK, 2002) Pokud se hemoglobin či myoglobin uvolní z buněk, stanou se nebezpečnými prooxidačními faktory. (ŠTIPEK et al., 2000)

Resorbce železa v gastrointestinálním traktu je ovlivňován biologickými a chemickými faktory. Některé sloučeniny zvyšují biologickou využitelnost železa. Mechanismus tohoto účinku pravděpodobně spočívá v tvorbě komplexů těchto látek s železem. Vznik komplexních sloučenin zabraňuje tvorbě nerozpustných forem železa v alkalickém prostředí tenkého střeva. Nejdůležitější látky, které zvyšují resorpci železa ze stravy, jsou kyselina L-askorbová, která působí jako redukční i chelatační činidlo, organické kyseliny, jako je kyselina citronová mléčná, jablečná, jantarová, vinná, aminokyseliny, zvláště histidin, lysin a cystein a peptidy bílkoviny složené z těchto aminokyselin. Sacharidy taky příznivě ovlivňují retenci železa a to ve snižujícím se pořadí laktosa, sacharosa, glukosa, škrob. Látky, které snižují resorbci železa, jsou látky, které tvoří se železem nerozpustné sloučeniny nebo stabilní rozpustné sloučeniny, že z nich železo nemůže být uvolněno pro vazebné bílkoviny. Resorbci železa snižují především třísloviny, fenolové látky, fytová kyselina, vyšší dávky fosforu, vápníku a stopových prvků.

Mezi potraviny bohaté na železo patří vnitřnosti, maso, vejce, luštěniny, čaj a kakao, nižší obsah železa mají ryby, drůbež, cereálie a špenát, petržel a ořechy. Obsah železa a zinku v některých potravinách je uveden v tabulce číslo 8. V živočišných tkáních převažují hemové formy železa, ve vaječném bílku je železo vázáno v koalbuminu, ve žloutku je vázáno na fosfoprotein fosvitin. V mléce je obsaženo v metaloproteinu laktoferrinu a část železa je vázána na kasein. V rostlinách bývá železo vázáno v různých komplexech, zvláště alifatickými hydroxykyselinami, aminokyselinami, thioley, fenolovými látkami, nukleotidy peptidy a bílkovinami. (VELÍŠEK, 2002)

Měď

Měď je esenciálním stopovým prvkem pro člověka i ostatní živočichy. Měďnaté ionty jsou součástí aktivních center řady enzymů. Jsou to například cytochrom-c-oxidasa, superoxiddismutasa, různé aminoxidas, hydroxylasy, lakkasa a jiné oxidoreduktasy. Enzym superoxiddismutasa je důležitý pro ochranu před poškozením oxidačními reakcemi, respektive volnými radikály. Monoaminoxidas obsahující měď pravděpodobně ovlivňují pigmentaci kůže a vlasů a lisyloxidasa je nezbytná pro integritu pojivové tkáně a pro biosyntézu některých fyziologicky významných sloučenin. (VELÍŠEK, 2002)

Měď je potřebná pro tvorbu krve a enzymů buněčného dýchání v množství 2 až 3mg denně. Jejím zdrojem jsou převážně potraviny živočišného původu. Nejvíce mědi obsahují játra až 23mg/kg. V ovoci a zelenině se její obsah pohybuje kolem 1 mg/kg. (KOPEC, 2008)

Organismus obsahuje asi 100 mg mědi. Z trávicího ústrojí člověk denně vstřebá asi 1mg tohoto prvku a stejné množství vyloučí žlučí. Absorbovaná měď se naváže v plazmě na albumin a přenesení se do jater. (ŠTIPEK et al. 2000) V jaterních buňkách je většina mědi vázána v molekulách enzymu superoxidodismutasy. V mozkové tkáni je obsažen metaloprotein cerebroprelin. V erythrocytech je měď obsažena v dalším proteinu erythroprelinu a enzymu superoxidodismutase. (VELÍŠEK, 2002)

Měď je třeba posuzovat jednak jako tranzitní prvek, který se ve své oxidoredukčně aktivní formě účastní Fentonovy reakce, stejně jako železo. Stimuluje peroxidaci lipidů a oxidační poškození jiných biomolekul. Zároveň hraje důležitou úlohu v udržování homeostázy železa. (ŠTIPEK et al., 2000)

Selen

V roce 1957 bylo objeveno, že selen zabraňuje nekróze u krysích jater, jednou z odpovědí na různá onemocnění u různých druhů zvířat byl právě selen. Zvláště ohromující bylo zjištění, že selen je esenciální prvek pro všechny druhy. (MORRIS 1970) V roce 1973 byl zjištěn první enzym obsahující selen, glutathionperoxidasa. Selen jako součást glutathionperoxidasy umocňuje biologické účinky vitamínu E. Glutathionperoxidasa katalyzuje redukci peroxidu vodíku a hydroperoxidů mastných kyselin glutathionem. Tyto reakce probíhají například v erythrocytech a zajišťují odstraňování hydroperoxidů lipidů z poškozených biologických membrán. Nedávno byly objeveny další selenoenzymy, jodthyronin-5'-dejdasa, existují 2 typy této dejdasy, typ I se nachází v játrech, ledvinách, svalech a štítné žláze, typ II je přítomen v mozku, hypofýze a nadledvinkách. Jodthyronin-5'-dejdasa katalyzuje dejdaci hormonu štítné žlázy thyroxinu na metabolicky aktivnější trijodthyronin, tento enzym vstupuje do metabolismu jodu a hormonů štítné žlázy. V biologických materiálech byla objevena řada dalších selenoproteinů, jejichž funkce nebyla dosud objasněna. (VELÍŠEK, 2002)

Glutathionperoxidasy jsou jednou z nejúčinnějších složek antioxidantní a antiradikálové ochrany organismu. Přebytek volných radikálů, ať již z vnitřních biochemických reakcí či ionizujícího záření vede k vážným zdravotním rizikům z poškození buněk a tkání. Nebezpečná je i dlouhodobá výživa bez selenu, která vede ke zdravotním komplikacím a bez včasného přídatku selenu může nastat i smrt pacienta. Ohroženi jsou i fenylketonurici, kteří mají dietu s nízkým obsahem selenu. Byl prokázán vliv selenu na fyzické a duševní zdraví. Chrání organismus před „oxidativními onemocněními“, jako jsou

malignity, kardiovaskulární onemocnění, chronická zánětlivá onemocnění, neurologické nemoci a dokonce zpomalují i průběh senility. Pokles selenu v organismu je úzce svázán se stářím, pravděpodobně je spojen i se změnou stravovacích návyků u seniorů. Snížení ochranných a regulačních funkcí selenoproteinů, spojené se sníženým příjmem Se, se projevuje jako rizikový faktor zejména u seniorů. Stav selenu v organismu je nejčastěji určován analýzou koncentrace selenu v séru nebo krevní plazmě. Optimální rozmezí pro člověka jsou hodnoty mezi 90 a 150 μg Se. Jako kritické byly publikovány hodnoty okolo 20 μg Se, pod nimi nelze pro všechny jedince garantovat základní životní funkce selenoenzymů. Další hodnotou je kritický bod 45 μg Se, koncentrace pod touto hladinou je označována jako riziková pro kardiovaskulární choroby včetně infarktu a mozkové mrtvice. (KVÍČALA 2009) Při vysokých dávkách selenu může dojít i k otravě, příznaky otravy se mohou objevit již při dávkách, které jsou dvacetinásobkem doporučené denní dávky.

U potravin rostlinného původu je pro obsah selenu obvykle rozhodující obsah selenu v půdě nebo použitých hnojivech a jeho využitelnost pro rostlinu. (VELÍŠEK, 2002) V rostlinách selen ovlivňuje enzymovou aktivitu, např. zvyšuje aktivitu enzymu nitrátreduktázy a biosyntézu aminokyselin. (NEDOMA et al., 1994)

Zinek

Zinek je jednou z nejdůležitějších látek pro lidský organismus, pomáhá při tvorbě asi 100 enzymů. Doporučená denní dávka je 11 mg na den. (ANONYM, 2005) Zinek ovlivňuje energetický metabolismus, účastní se fotochemických procesů vidění a tvorby inzulínu. Ve vyšších koncentracích může být toxický. Jeho potřeba závisí na množství bílkovin a fosforu v potravě. (KOPEC, 2008) Takže můžeme předpokládat, že většina potravin bohatých na zinek obsahuje i velké množství zinku. Nejlepší mezi nejlepšími zdroje zinku patří hovězí, jehněčí, vepřové maso, ale i krůtí a kuřecí maso a masa ryb jako je krabí maso, humr, škeble a losos. Dobrymi zdroji zinku jsou i mléčné výrobky mléko, sýry, droždí, arašidy, fazole, celozrnné obiloviny, neloupaná rýže, brambory a jogurt. V rostlinné potravě je největší obsah zinku v dýňových semenech. Obsah zinku v jednotlivých potravinách je uveden v tabulce 8. (ANONYM, 2005)

Zinek se podílí na katalýze reakcí v mnoha metabolických drahách. Zinek tvoří komplexy s peptidovým hormonem pankreatu inzulinem. Přítomnost zinku je nezbytná také v mnoha molekulách metaloenzymů, kde zajišťuje jejich katalytickou funkci. Jsou to například alkoholdehydrogenasa, laktátdehydrogenáza, karbonátanhydratasa, aldolasa, RNA-

polymerasa, DNA-polymerasa, reversní transkriptasa a jiné. Resorpce zinku v trávicím ústrojí probíhá v celém tenkém střevě. Účinnost resorpce je za normálních podmínek asi 30% a je regulována buňkami střevní sliznice. Resorpce zinku je vyšší u jedinců s nižší tělesnou hmotností a v případě nižší nasycení organismu zinkem. Zinek je z organismu vylučován stolicí a do střevního obsahu se dostává ve vylučované žluči a pankreatické šťávě. Míra resorpce je závislá na složení stravy. Vysoký obsah bílkovin a aminokyselin zvyšuje účinnost vstřebávání. Opačný efekt má fytová kyselina a vláknina. Bylo zjištěno, že poměr kyseliny fytové a zinku má závislost na biologické využitelnosti zinku z různých potravin. Obsah zinku a jeho poměr ke kyselině fytové je uveden v tabulce číslo 9. Nejvíce zinku v cereálních potravinách bylo zjištěno v otrubách a nejméně kukuřičných vločkách. Problém s příjmem zinku mají hlavně vegetariáni a lidé, kteří mají omezený příjem živočišných bílkovin. Dlouhodobý příjem stravy s poměrem fytát a zinek větším než 20:1 vede k deficitu zinku. (VELÍŠEK, 2008)

3.3 ZÁKLADNÍ METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY

K vyjádření antioxidační aktivity potravin a těchto vlastností se také používá označení antioxidační kapacita nebo potenciál. Mechanismem účinku antioxidantů je jejich relativně vyšší oxidačně – redukční potenciál, schopnost rychle odstranit faktory oxidace, jako jsou reaktivní formy kyslíku nebo volné radikály, chelátově vázat katalyticky aktivní prvky, redukovat meziproducty řetězových změn nebo stimulovat aktivity endogenních antioxidačních enzymů.

Při určitém zjednodušení lze mezi antioxidačně nejaktivnější látky v potravinách rostlinného původu zařadit jednoduché fenoly a furany včetně fenolových kyselin, složené fenolové látky, flavonoidy včetně katechinů a antokyanů, stilbeny (polyfenoly), alkylsulfidy, indoly aj. a také některé vitaminy a karotenoidy. V řadě experimentů byla opakovaně zjišťována jejich schopnost ovlivňovat řadu biochemických pochodů. Jako rozhodující se jeví schopnost rušit nežádoucí oxidační přeměny různých biomolekul a tím bránit vzniku nebo rozvoji patologických stavů. (ZLOCH, 2004. Posuzování biologické hodnoty potravin)

Antioxidační aktivita potravin se často testuje paralelně několika různými metodami, což umožňuje její spolehlivější určení a dovoluje její detailnější a specifitější charakterizování. Je nezbytné připustit, že tyto přístupy mají řadu nedostatků. Nepostihují se

vlastnosti metabolitů antioxidantů vznikajících při trávení a látkové přeměně v organismu, musíme brát v úvahu odchylku naměřených hodnoty, protože nezohledňují skutečné využití látek během trávení. (ZLOCH, 2004)

Jedním z pohledů na výzkumu přírodních antioxidantů je testování reaktivity jednotlivých látek vůči volným radikálům. To slouží k odvození vztahů mezi strukturou a reaktivitou příslušných sloučenin. Většinu antioxidantů však zkoumáme jako součást složitých směsí, jejichž složky mohou reagovat s různými radikály různými mechanismy, mohou na sebe působit synergicky i inhibičně. Proto máme snahu charakterizovat antioxidační aktivitu jako celek. (PAULOVÁ et al., 2003) Metodické postupy v tomto oboru se nepřetržitě vyvíjejí a směřují k zavádění metod přesnějších, standardních, jednoduchých, levných a instrumentálně nenáročných.

3.3.1 Metody založené na eliminaci volných syntetických radikálů

Metoda TEAC

Metoda TEAC je jednou ze základních metod pro stanovení TAA celkové antioxidační aktivity. Označení je zkratkou Trolox equivalent antioxidant activity, synonymum TOSC - Total oxyradical scavenging capacity nebo TAC - Total antioxidant capacity. Využívá se činidel, která iniciačním účinkem jiné látky přecházejí ve svou radikálovou formu, která je barevná a stabilní. V přítomnosti antioxidačně aktivních složek extrahovaných ze vzorku potravin se redukuje a tím se odbarvuje. Míra odbarvení je závislá na aktivitě vzorku. Standardem je Trolox, někdy kyselina askorbová, ve vodě rozpustná forma vitamínu E, gallát epikatechin nebo jiný antioxidant, na jehož redukční kapacitu se aktivita testovaného vzorku přepočítává. (ZLOCH, 2004)

Metoda používající ABTS

Tato metoda úzce souvisí s metodou TEAC. Metoda ABTS je založená na inhibici vzniku radikálového kationtu $ABTS^{\bullet+}$ 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazol-6-sulfonát. Tento radikál vzniká interakcí s metmyoglobinem, což je v podstatě železo. (ŠTÍPEK, 2000) ABTS spektrofotometricky určuje absorpční spektrum $ABTS^{\bullet+}$. Absorbanci nejčastěji můžeme měřit při 734nm. Prekurzorem radikálu $ABTS^{\bullet+}$ je ABTS. Metoda stanovení vzorků pomocí ABTS je snadná, rychlá a provedení a rozmanité uplatnění. (PAULOVÁ et al., 2004)

Metoda používající DPPH

Metodu DPPH shrnul a představil Marsden Bois asi před 50 lety. Poskytuje stručné a jasné vysvětlení.

Základem je reakce testované látky se stabilním radikálem DPPH difenylkabajilem. (MOLYNEUX, 2003) Při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku difenylpikrylhydrazinu. Reakci nejčastěji sledujeme spektrofotometricky nebo HPCL, při které hodnotíme pík radikálu, toho využíváme hlavně u barevných roztoků, protože eliminujeme zbarvení roztoku.

3.3.2 Metody hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů

Metoda ORAC

Při použití metody ORAC Oxygen radical absorbance capacity se v testované soustavě generují kyslíkové radikály a vyhodnocuje se schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. (PAULOVÁ et al., 2004) Peroxidový radikál se kvantitativně určuje fluorimetricky. Antioxidační kapacita se vztahuje k ekvivalentnímu účinku Troloxu. (ZLOCH, 2004)

3.3.3 Metody založené na vychytávání OH- radikálů

Při použití těchto metod můžeme generovat radikály několika různými postupy, například Fenotovou reakcí, UV fotolýzou peroxidu vodíku nebo fotolýzou syntetických derivátů.

Detekce je založena na vychytávání radikálů látkami, které jde relativně snadno stanovit. Antioxidanty vychytávající volné radikály snižují tvorbu těchto produktů. Tuto vlastnost má kyselina salicylová, touto reakcí vznikají hydroxylované produkty, jejichž detekce a kvantifikace se provádí metodou HPLC s UV detekcí. Jinou možností je použít k zachytávání OH radikálů 2,2-dimethyl-2pyrrol-1-oxid nebo deoxiribosu.

Výhodou tohoto stanovení je možnost určit jak antioxidační, tak i prooxidační vlastnosti látek. (PAULOVÁ et al., 2004)

3.3.4 Metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace

Metoda LPX

Lipidová peroxidace je jedním z nejvýznamnějších patologických pochodů v organismu vyvolaným volnými radikály. Při studiu látek s antiradikálovými účinky se řada metod soustřeďuje na testování inhibičních účinků na lipidovou peroxidaci. Látky potlačující

lipidovou peroxidaci mohou eliminovat jak iniciační kyslíkové radikály, tak sekundárně vznikající radikálové meziprodukty. (PAULOVÁ et al., 2004)

Eliminaci lipidové peroxidace můžeme hodnotit *in vivo* od jednoduchých systémů prováděných s jednoduchými lipidy a po složitější, které využívají biologické membrány jako matrici.

Při způsobu *in vitro* se stanovení provádí v pufrových modelových systémech obsahující nenasycené mastné kyseliny a testovaný vzorek, často se přidává homogenát živočišné tkáně jater nebo mozku.

3.3.5 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek

Metoda FRAP

FRAP Ferric reduction ability of plazma, je založena na principu redoxní reakce. Měří se rychlost redukce železitého komplexu TPTZ 2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazinu) nárůst absorbance při vlnové délce 593 nm odpovídá množství komplexu Fe^{2+} a je mírou antioxidační aktivity vzorku. TPTZ je bezbarvý, ale po redukci a eventuální reakci s dalším činidlem vytváří barevné produkty, jakým je například berlínská modř. (PAULOVÁ et. al., 2004)

3.3.6 Elektrochemické metody

Cyklická voltametrie

Redoxní vlastnosti látek můžeme také vyhodnotit cyklickou voltametrií, která indukuje schopnost látek odštěpovat elektrony. Cyklická voltametrie je metoda odvozená od polarografie, při které prochází zkoumanou soustavou elektrický proud. Zkoumaný roztok je podroben potenciálu vloženému na elektrody. Odezvy zaznamenává křivka tzv. cyklický voltamogram. Redukční schopnost se vyhodnocuje z naměřeného potenciálu E_A a anodického proudu I_A . Čím je hodnota E_A nižší, tím látka snadněji odevzdává elektrony a může být lepším antioxidantem. Z hodnoty výšky píku anodického proudu I_A je možné určit koncentraci látek.

Tato metoda je vhodná pro získání informace, jak moc látka odevzdává elektrony a kterou metodu vybereme pro další výzkum. (ANONYM, 2001)

HPLC metoda s elektrochemickou detekcí

Elektro aktivní látky můžeme detekovat použitím amperometrických nebo coulochemických detektorů za použití analýzy HPLC. Na pracovní elektrodu se vloží určitý kladný potenciál. Pík látky se projeví jen tehdy, je-li látka při tomto potenciálu oxidována. Látku tak můžeme určit retenčním časem, ale i potenciálem, při kterém se oxiduje. To umožňuje charakterizovat složení směsi a identifikovat jednotlivé složky tvořené antioxidanty, na základě hodnoty potenciálu. (PAULOVÁ et al.,2003)

3.3.7 Metody založené na detekci oxidačního poškození organismu.

Metody založené na detekci oxidačního poškození organismu patří mezi časově a finančně nejnáročnější. Při tomto stanovení se využívá pokusných zvířat a dobrovolníků. U pokusných zvířat se experimentálně vyvolá oxidační stres a současně nebo následně po tom se v různých dávkách podává testovaný vzorek potravin. Kritérii míry oxidačního poškození jsou například oxidační poškození DNA a množství 8-hydroxy-2'-deoxyquanosinu vyloučené močí, karbonylované proteiny v krvi nebo etan a pentan ve vydechaném vzduchu.

Velmi cenné výsledky se získávají při srovnávání antioxidační kapacity vzorků zjištěných laboratorní cestou, obvykle různými metodami, a antioxidačním efektem téže potravin prokázaným epidemiologickými studiemi a v pokusech se zvířaty a lidskými dobrovolníky. Tímto způsobem bylo získáno mnoho důkazů, že antioxidační kapacita potravin patří k nejvýznamnějším stránkám jejich hodnoty. (ZLOCH, 2004, b)

3.3.8 Zpracování vzorků

Při přípravě vzorků rostlinného původu musíme brát ohled na jeho biologické vlastnosti a tomu uzpůsobit šetrnost a rychlost přípravy, použité materiály a především metody zpracování vzorku.

Běžný pracovní postup při přípravě vzorků potravin k laboratornímu testování by měl umožnit úplné a šetrné uvolnění aktivních látek z potravní matrice. V první fázi dojde k očištění a omytí vzorku, téměř u všech vzorků se provádí homogenizace. Většinou se použije extrakční činidlo a to organické rozpouštědlo nebo voda nebo některé další. Pokud jsou homogenáty hrubé je potřeba je zfiltrovat nebo odstředit. Dalším krokem bývá zahušťování, pokud si to povaha vzorku vyžaduje, a uchování chlazením nebo mrazením. (ZLOCH, 2004, b)

V úvahu musíme brát také samotnou povahu rostlinného materiálu, na základě toho použijeme různá extrakční činidla. Například tukové a olejové složky použijeme pro extrakci

papriky, kakaa, rozmarýnu. Organické rozpouštědla použijeme pro vzorky čočky nebo arašídů. (POKORNY 2001)

Příprava některých vzorků je velmi jednoduchá například příprava čaje nebo vzorků vína, které se často používají bez předchozích úprav. Mezi nejpracnější patří úprava obilí nebo kakaových výrobků. (ZLOCH, 2004, b)

3.4 Antioxidanty ve vybraných druzích ovoce a zeleniny

3.4.1 Sójové boby

Sója patří mezi luskoviny. Pochází z Asie a současným největším producentem je USA.

Celá sójová zrna mají, díky vysokému obsahu tuku (15-20 %), nejvyšší energetickou hodnotu ze všech luštěnin. Tuk má vysoký obsah nenasycených mastných kyselin, esenciální kyselina linolová představuje asi 50 %. Sója má také velmi vysoký obsah dusíkatých látek mezi 35-40 %. Bílkoviny mají vysokou biologickou hodnotu, mají vysoký obsah esenciálních aminokyselin, ze všech luštěnin obsahují nejvíc lyzinu. Proto se také využívají pro výrobu strukturální bílkoviny, kterou lze splétat do podoby sójového masa.

Sója obsahuje také některé antinutriční látky. Patří k nim antigenní bílkoviny, které mohou vyvolávat potravní alergie a inhibitory trypsinu, které blokují trávicí enzymy, a tím zhoršují využitelnost jejích bílkovin. Inhibitory trypsinu jsou termolabilní, proto se sója tepelně upravuje toastováním nebo extruzí. (TICHÁ, 2006) Sójové boby obsahují 50-300 mg flavonoidů na 100g suchých bobů. Při využití flavonoidů v lidském organismu hraje důležitou roli střevní mikorflóra. Z moči sledovaných konzumentů bylo zjištěno, že sója obsahuje daidzein a genistein a jejich další deriváty. (HAMPL, 1996) Genistein a daidzein ze sóji jsou v přirozené formě vázané na glykosidy a tak estrogení aktivitu získávají až po štěpení střevní flórou. Také biochanin A a formononetin se působením střevních bakterií přeměňují na genistein a daidzein, jejich obsah v sóji udává tabulka 4. (SUKOVÁ, 2009)

3.4.2 Cibule

Cibule kuchyňská, pochází ze západní asie patří do čeledi liliotvarých, společně s pažitkou pobřežní, pórem zahradním, česnekem kuchyňským a cibulí šalotkou. (ANONYM, 2007)

Cibule je bohatá na éterické oleje, dále obsahuje kyselinu listovou, vitaminy skupiny B, vitamin C a E, karoteny, důležité prvky jako je železo, zinek, síra, fosfor, hořčík, draslík, vápník, sodík, měď a jód. Nejvýznamnější látkou z hlediska léčebného, kterou cibule obsahuje je allicin, což je silné přírodní antibiotikum, které ničí jak viry, tak bakterie.

Jak vyplývá z tabulky 5, obsahuje cibule 7 – 8 % polyfenolických sloučenin, které mohou být zastoupeny 33 látkami jak ve formě volné, tak i vázané. Nejvíce je zastoupeno ovšem 5 látek a to především spiraeosid (4'-*O*- β -*D*-glukosid kvercetin) a 3,4'-*O*- β -*D*-diglukosid kvercetin. Z fenolkarboxylových kyselin jsou nejvíce zastoupeny protokatechová kyselina a aminokyselina tyrosin. Cibule mají velkou variaci v obsahu flavonoidů. Bílé cibule neobsahují prakticky žádné detekovatelné flavonoly, zatímco kultivary žlutých a červených cibulí obsahují 60 - 1000 mg.kg⁻¹. (PRONĚK et al., 2003)

3.4.3 Česnek

Česnek se řadí mezi plodiny, které mají jeden z nejvyšších obsahů antioxidantů. Hlavními perkurzory aróma česneku, ale i cibule, póru a dalších zelenin z rodu *Allium* jsou sirné aminokyseliny. K tvorbě typického aróma dochází anzymovým rozkladem těchto látek lyasou alliinase. V neporušeném pletivu jsou tyto sirné aminokyseliny lokalizovány v cytoplazmě, zatímco alliinasa ve vakuolách. Při krájení či jiném poškození rostliny dochází k rychlému rozkladu těchto aminokyselin za troby puryvátu, amoniaku a alk-(en)ylsulfenové kyseliny. Tyto látky jsou nositeli aróma čerstvě krájených a zpracovávaných cibulovin, přičemž vykazují výrazné antimikrobní vlastnosti. Jsou to ovšem látky nestálé a při delším stání se rychle rozkládají v závislosti na teplotě a polaritě prostředí. Obsah těchto látek kolísá v závislosti na mnoha faktorech, jako je odrůda, obsah síry v půdě, hnojení klimatické podmínky, napadení škůdci a podobně, obvykle se pohybuje kolem 0,1-0,8 %.

Nejdůležitější aminokyselinou česneku je S-allyl-cysteinsulfoxid, triviálně zvaný alliin. V menší míře je zastoupen S-methylcysteinsulfoxid, methiin nebo isoalliin. Enzymovou hydrolýzou alliiinu vzniká allicin. Při dalším zpracování vzniká z těchto termolabilních sloučenin celá řada degradačních produktů. (VELÍŠEK 2002)

Esenciální oleje z mnoha aromatických rostlin mají všeobecně vysokou antiradikálovou a antioxidační kapacitu, chrání proti infekci a parazitům, mají silné charakteristické aroma a jsou biologicky aktivní. Jsou složeny z několika organických složek s různými funkčními skupinami. hlavní skupinou jsou terpenoidy. Složení esenciálních olejů určují jejich organoleptické vlastnosti a biologickou aktivitu včetně antioxidační aktivity. Studium

jednotlivých složek několika různých olejů ukazuje, že mnoho terpenů má antiradikálovou a antioxidační aktivitu porovnatelnou s aktivitou fenolů a α -tokoferolů. Esenciální olej česneku vykazuje velmi vysokou antioxidační aktivitu až 90 %, tato změna je jen slabě závislá na koncentraci. Tento olej je složen z polysulfidů s methylovými a allylovými substituenty. Obrázek 2 ukazuje změnu v obsahu polysulfidů během dvou měsíčního skladování. Můžeme říci, že obsah polysulfidů roste, ale tri- a tetrasulfidů klesá. (MISHARINA et al., 2009)

3.4.4 Jahody

Souplodí jahodníku čili jahoda je soborem nažek na zdužnatělém květním lůžku. Jahody vykazují velké množství pozitivních účinků na lidský organismus, tyto vlastnosti způsobuje velké množství fytochemikálií a látek s biologickou aktivitou. Jahody obsahují nejen velké množství fenolů, ale i relativně velké množství vitamínu C, 583 μ g na gram čerstvé hmoty a 83 μ g glutationu na gram čerstvého ovoce. V tabulce 6. najdeme srovnání hodnot fenolů podle různých autorů. (KVASNIČKOVÁ, 2004) Antokyany v jahodách zajišťují nejen červenou barvu, ale jsou také dobrým zdrojem antioxidantů, které se pomáhají chránit buněčné struktury v těle. Protizánětlivé vlastnosti jahod, jsou přisuzovány právě fenolům, které v tomto ovoci zmírňují aktivitu enzymu cyklo-oxygenasa. (MATELJAN, 2006)

Kyselina ellagová a kvercetin blokuje iniciaci karcinogeneze a potlačování progresu a proliferace nádorů, napomáhají snižovat onemocnění srdce tím, že inhibují oxidaci LDL-cholesterolu a peroxidaci lipidů. Kvercetin, kamferol, katechin a antokyan inhibují shlukování krevních destiček, čímž snižují riziko tvorby trombu a infarktu, i když kyselina ellagová podporuje koagulaci krve, musíme brát do úvahy celkový účinek látek obsažených v jahodách. (KVASNIČKOVÁ, 2004)

3.4.5 Jablka

Jablka patří u konzumentů k nejoblíbenějším druhům ovoce. Polyfenolický komplex jablek zahrnuje glykosidy flavonů kempferolu, kvercetinu, isokvercetinu, avikularin, rutin a mnoho dalších. Dalším typem jsou flavanoly, především narigin. Mezi další polyfenoly patří chlorogenová kyselina.

Obsah flavonoidů i askorbové kyseliny v jablkách záleží na několika faktorech, jako je například stupeň zralosti, odrůda, klimatické podmínky, ročník, ale i podmínky skladování a technologického zpracování. (LACHMAN, 2000)

Ze studie antioxidační aktivity 12 druhů ovoce a 5 vzorků komerčních šťáv, pomocí metody ORAC měření absorbanční kapacity radikálového kyslíku. Jsou jablka velmi bohatá na antioxidanty jak u hmoty, kde byla získána řada jahody, švestky, pomeranče, červené hrozny, kiwi, červené grapefruity, bílé hrozny, banány, jablka, rajčata tak i na základě sušiny, kde byla získána řada jahody, švestky, pomeranče, červené grapefruity, rajčata, kiwi, červené hrozny, bílé hrozny, jablka, cukrové melouny. Podstatně větší podíl antioxidační aktivity zůstává ve šťávě, tj. více jak 90 % celkové aktivity. Z hlediska hodnocení ovocných šťáv byla získána řada hroznová šťáva, grapefruitová šťáva, rajská šťáva, pomerančová šťáva, jablečná šťáva. (WANG et al., 1996)

Eberhardt (2000) ve své studii zjistil, že 100g čerstvého jablka má oxidační kapacitu jako 1, 500 mg vitamínu C. V extraktu z čerstvých jablek bylo zjištěno 219-290 mg fenolů a 97-142 mg flavonoidů na 100 g loupaných jablek. Více fenolů je v jablečné slupce a glykosidy jako quercetin byl nalezen jen ve slupce. Celková antioxidační kapacita byla měřená pomocí metody TOSC total oxyradikal scavening capacity a došlo se k závěru, že jablko se slupkou má větší antioxidační kapacitu. Průměrné množství vitamínu C v jablkách se slupkou je 5,7 mg na 100 g ovoce. Téměř všechna antioxidační aktivita v jablkách je ve fytochemikáliích. Fytochemikálie v jablkách jsou významné pro zvyšování antioxidačních vlastností a antioxidační kapacity a inhibují poliferaci nádorových buněk.

Změny různých skupin fenolů obsažených v jablkách po dobu zrání nalezneme v tabulce 10. Epikatechin, procyanidin a chlorogenová kyselina jsou hlavními složkami rostlinných polyfenolů v jablkách. Obsah epikatechinu v odrůdě Guovuang byl větší než u ostatních odrůd, kromě nejnižšího bodu. Obsah v Golden Delicious a Fuji byl na střední úrovni, ale zvyšoval se v srpnu, poté klesal až do sklizně. Chlorogenová kyselina v odrůdě Jonagold, Golden Delicious a Guoguang kolísá až v červenci dosahuje maxima s dozráváním se snižuje. Pro Fuji hodnota kolísá. U odrůdy Guoguang byl obsah kyseliny chlorogenové vyšší než u ostatních odrůd. Vrchol obsahu polyfenolů nastává v červenci. (HUI et. al., 2006)

3.4.6 Víno

Organoleptické vlastnosti a kvalitu vína ovlivňuje mnoho různých faktorů, kvalita vůně a chuti závisí na vyváženosti dílčích vůní a chutí. Jednotlivá vína se vzájemně liší v závislosti na odrůdě, zralosti hroznů, případným napadením mikroorganismy, podmínkami během kvašení moštu a dalších faktorech. Vína jsou ve srovnání s jinými nápoji připravenými kvašením velmi kyselá, hlavním nositelem kyselé chuti je kyselina vinná. Obsah jednotlivých kyselin i jejich celkový obsah zobrazuje tabulka 12. (VELÍŠEK, 2002) Víno je dobrým

zdrojem různých tříd polyfenolů, včetně flavonoidů, a antokyanů. Velká snaha byla vynaložena při analýze polyfenolů a vztah mezi polyfenoly a antioxidační kapacitou. Charakter antioxidantů červených vín byl dán do souvislosti s obsahem flavan-3-olu, antokyanů a taninů, antioxidační vlastnosti červených vín souvisí s celkovou koncentrací polyfenolů. (MAKRIS et. al., 2003) V tabulce 11 můžeme vidět srovnání obsahu fenolů červených a bílých vín je patrné, že červená vína mají významně vyšší obsah fenolů v rozmezí 700-2300 ppm, bílá vína mají jen 110-150 ppm. (FOGLIANO et al, 1999)

Cílem studia a výzkumu látek s přírodní antioxidační kapacitou ve víně je nejen jejich zdravotní efekt, ale i zkoordinovat tyto poznatky po stránce technologické a stanovit jejich obsah ve víně a moštu. Zavádět technologické postupy, aby byly tyto látky chráněny a ošetřeny tak, abychom je mohli využít a uchránit a snížit tím přídavek syntetických antioxidantů, zvláště oxidu siřičitého, přidávaných do vína, protože tyto látky bývají často nepříjemnými alergeny. Mimo to, má ochrana nápoje proti okysličování, zásadní vliv na činnost celé řady mikroorganismů způsobující nestabilitu vína. V první fázi se stanoví skutečný obsah přírodních antioxidantů již u hroznů a pak kritické body, kdy dochází k úbytku těchto látek, případně k navýšení při vstupu látek nových, jako je aromatizování vína přírodním kořením. Dále pak řešíme i otázku vhodné časové kombinace a doplňování antioxidačních účinků přírodních látek, látkami syntetickými. Kritické body, kdy dochází k narušení přírodních antioxidantů je po sklizni hroznů, v období fermentace, v období stáčení a dalších technologických manipulací. Je to významné zvláště u vín s nižším obsahem alkoholu. Zatím lze konstatovat, že u vín tichých obsah SO_2 může být nižší až o 20-30 % a u vín fortifikovaných až o 50 %. (FIC, 2005)

4 VLASTNÍ KOMENTÁŘ

V této kapitole bych chtěla srovnat jednotlivá měření podle různých autorů. Ráda bych poukázala na to, že metody, kterými se antioxidační kapacita stanovuje, jsou rozdílné a i výsledky měření často dosahují velkých rozdílů a statisticky významných chyb, které je důležité vzít do úvahy.

V dnešní době bychom mohli seřadit jednotlivá měření a sestavit pomyslný žebříček potravin s nejnižším a nejvyšším obsahem antioxidantů, ale ani tu není jednoznačný výsledek. Kromě toho, že se výsledky jednotlivých metod vzájemně liší, musíme respektovat i okolnosti s tím související. Jak již bylo řečeno a na některých případech uvedeno v minulých kapitolách, antioxidační kapacita se mění v souvislosti s délkou, způsobem skladování, zrání a uchovávání potravin a jejich surovin, což ukazuje graf 1 a tabulka 9 na příkladu dozrávání různých kultivarů jablek a graf 1 na skladování olejové esence česneku. Nemůžeme jednoznačně říci, jestli tyto hodnoty klesají nebo rostou, protože jsou značně proměnlivé, ať už co se týče doby nebo konkrétního obsahu zjišťované látky. Obsah většiny antioxidantů jako jsou vitaminy, stopové prvky, taky nemůžeme jednoznačně ovlivnit, protože záleží na obsahu těchto látek v půdě, na použití ochranných přípravků při pěstování plodin, na množství škůdců, na vybrané odrůdě, klimatických podmínkách a některých dalších faktorech. Pokud bychom dokázali všechny tyto faktory ovlivnit, ještě by to nestačilo. Překážkou k jednoznačnému srovnání by byl nepochybně organismus, který přijímá všechny antioxidanty, vitaminy a stopové prvky a vstřebává je jako celek. Oxidačně redukční podmínky v extraktech potravin a antioxidační potenciál jednotlivých přírodních látek v těchto extraktech nejsou shodné s antioxidační aktivitou jejich metabolitů v organismu, v trávicím ústrojí, v krvi nebo cílových tkáních. Do krevního oběhu člověka se dostává z potravy jen část požitých přírodních látek (ZLOCH, 2005). Do úvahy také musíme brát fyzikálně-chemické vlastnosti látek a jejich vzájemné interakce a to i při působení v organismu. V laboratorních podmínkách nejsme zatím schopni vytvořit prostředí identické nebo alespoň věrné lidskému organismu a jeho imunitnímu systému a prozkoumat tak všechny pochody a důsledky působení antioxidantů.

V současné době víme, že tyto látky napomáhají a mají pozitivní účinky při léčení mnoha chorob. Jednou z nejvýznamnějších je rakovina, alzheimerova choroba, infarkt myokardu, shlukování krevních destiček nebo zpomalování nevyhnutelného procesu stárnutí.

Ze srovnání jednotlivých metod uvedených v tabulce 13 můžeme vidět, že některé metody se u jednotlivých vzorků ovoce liší až jeden řád a to například u grepfruitu, jablka a citronu. Relativně nejvyšší hodnoty TAC nám dala metoda DMPD, nejnižší hodnoty naopak metoda LPX. (ZLOCH, 2004 b) Pokud přidáme k tomuto srovnání metodu ORAC jiného autora, liší se výsledky v několika případech o řád, například u pomeranče, hrušky a některých dalších. Touto studií bylo mimo jiné zjištěno, že největší antioxidační aktivitu mají jahody a švestky. (WANG et al., 1996) Pokud budeme porovnávat zeleninu dojdeme k téměř stejným výsledkům tabulka 14.

5 ZÁVĚR

Antioxidanty jsou sloučeniny, které zabraňují nebo přerušují radikálové reakce, způsobené oxidací. Zájem o jejich studium vzrostl, hlavně díky pozitivním účinkům, při léčbě rakoviny, alzheimerovy choroby, rakoviny prostaty. Porušení rovnováhy mezi vznikem a odstraňováním reaktivních forem kyslíku a dusíku je proces, který nazýváme oxidační stres. Oxidační stres je důsledek nežádoucích oxidačních procesů v buňce. Antioxidanty udržují chuť, barvu a prodlužují dobu trvanlivosti, velmi výrazně předchází oxidaci tuků. Přídavky antioxidantů do potravin jsou regulovány vyhláškou. Antioxidanty rozdělujeme do několika skupin podle jejich struktury a vlastností. Bylo vybráno několik zástupců z řad vitaminů a stopových prvků a popsány jejich vlastnosti a způsob působení na lidský organismus. Vitaminy a stopové prvky jsou pro lidský organismus nepostradatelné a musíme si je syntetizovat, jsou součástí mnoha hormonů a enzymů. Bylo dokázáno, že antioxidanty ovlivňují řadu biochemických pochodů v organismu.

Ke stanovení oxidační aktivity se používá velké množství metod, často se testuje paralelně několika metodami, což umožňuje její spolehlivější a přesnější určení oxidační kapacity. Metody, kterými se antioxidantní kapacita stanovuje, jsou rozdílné a výsledky měření často dosahují velkých rozdílů a statisticky významné chyby. Při přípravě vzorků rostlinného původu musíme brát ohled na jejich biologické vlastnosti a tomu přizpůsobit šetrnost a rychlost přípravy vzorků a především výběr metody. Antioxidantní kapacita se mění v souvislosti s délkou, způsobem skladování, zrání a uchování potravin a surovin. Překážkou při jednoznačném stanovení a srovnání je lidský organismus, který přijímá a vstřebává všechny antioxidanty, vitaminy a stopové prvky jako celek. Oxidačně redukční podmínky v extraktech potravin a antioxidantní potenciál není shodný s antioxidantní aktivitou jejich metabolitů v organismu. Při srovnání antioxidantní kapacity jednotlivých vzorků můžeme vidět, že se výsledky měření jednotlivých vzorků ovoce liší až o jeden řád. Relativně nejvyšší hodnoty měření nám dala metoda DMPD, nejnižší hodnoty naopak metoda LPX.

6 SOUHRN

Bakalářskou práci jsem zpracovala na Mendlově univerzitě, Zahradnické fakultě, Ústavu posklizňové technologie zahradnických produktů v letech 2008/2010. Bakalářská práce je zaměřena na význam antioxidačních vlastností vybraných látkových složek potravin rostlinného původu. Vysvětluje pojmy, jako antioxidační aktivita, tvorba volných radikálů a oxidační stres. Charakterizuje jednotlivé zástupce antioxidantů a přibližuje jejich vztahy k lidskému organismu a jejich interakce. Popisuje základní metody, které se používají při stanovení antioxidační kapacity potravin, jejich výhody nevýhody, možnosti použití pro jednotlivá stanovení a standardy pro interpretaci výsledků. Práce srovnává vybrané druhy potravin, disponujících obsahem antioxidačních látek, jako jsou cibuloviny, česnek a cibule, jablka, sójové boby, jahody a víno. Práce se věnuje i zákonným omezením a z toho vyplívajícím požadavkům na potraviny po stránce obsahu antioxidantů, jejich přidávání do potravin a stanovení limitů pro přidávání antioxidačních látek do potravin.

7 RESUME

I wrote the thesis on the Mendel University, Faculty of Horticulture, Department of Post-Harvest Technology of Horticultural Products in 2008/2010. My bachelor thesis focuses on the significance of antioxidant properties of selected substances in food of plant origin. It explains terms such as the antioxidant activity, the formation of free radicals and the oxidation stress. It characterizes individual representatives of antioxidants and their relation to the human organism and their interactions. It describes basic methods being used to ascertain antioxidant capacity of food, their advantages and disadvantages, possibilities of their use for individual measurements and standards for interpretation of results thus acquired. The work compares selected eatables with content of antioxidant substances such as the crop plants of Alliaceae family, garlic and onion, apples, soy beans, strawberries and grapes. The work also deals with legal restrictions and resulting demands on antioxidant content in food, addition and ascertaining limits for addition of antioxidants in food.

8 POUŽITÁ LITERATURA

- EBERHARDT, M., YONG LEE, CH., HAI LIU, R. Antioxidant activity of fresh apples. NATURE, 405, 2000, 903-904.
- FIC, V., JAŠKOVÁ, D., MASARYK, A. Přírodní antioxidační látky ve víně. Bioklimatologie současnosti a budoucnosti ve víně, 2005.
- FOGLIANO, V., VERDE, V., RANDAZZO, G., RITIENI, A. Method for Measuring Antioxidant and Its Applikation to Monitoring the Antioxidant Capacity of Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 1999, 1035-1040.
- HAMPL, L., LAPČÍK, O. Jíte rádi flavonoidy?. Vesmír, 75(3), 1996, 125-129.
- HUI, J., JI, B., JIANGFEN, L., FENG, Z., ZHIWEI, Y., GUIZHI, Z., Changes of contents and antioxidant activities of polyphenols during fruit development of four apple cultivars. European Food Research and Technology, 223, 2006, 743-748
- KOPEC, K.; BALÍK, J. Kvalitologie zahradnických produktů. 1.vyd. Brno: Ediční středisko, 2008. 182s. ISBN 978-80-7375-198-2
- KYZLINK, V. Základy konzervace potravin. Praha: SNTL Nakladatelství technické literatury, 1958. 536 s.
- KVÍČALA, J., Význam selenu, stav a příjem selenu u jednotlivce i populace - způsoby určování, výhody, chyby. DMEV, 12 (1), 2009, 29-36.
- MARKIS,D.P., PSARRA, E., KALLITHRAKA, S., KEFALS, P. The effect of polyphenolic composition as related to antioxidant capacity in white wines. Food Research International, 36, 2003, 805-814.
- MISHARINA, T.A., TERENINA, M.B., KRIKUNOVA, N.I. Antioxidant Properties of Essential Oils. Applied biochemistry and mikrobiology, 45 (6), 2009, 710-716.
- NEDOMA et al. J. Anorganická a analytická chemie. 1. vyd. Brno. Ediční středisko VŠZ v Brně, 1994. 236s. ISBN 80-7157-133-4
- PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. Chemické Listy, 98, 2004, 174-179.
- POKORNY, J., Antioxidants in food: Practical applications. CRC Press, 2001. 288s. ISBN: 9780849312229
- ŠTIPEK, S, et al. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2000. 320s. ISBN 80-7169-704-4
- VELÍŠEK, J. Chemie potravin 2. 2 vyd. Tábor: Osis, 2002. 320s. ISBN 80-86659-01-1

- VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 3. 2 vyd. Tábor: Osis, 2002. 368s. ISBN 80-86659-02-X
- WANG, H. Total Antioxidant Capacity of Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1996, 701-705.
- YU, L., MCCURLEY, J., YU, CHANG-AN. An antimycin-insensitive succinate-cytochrome *c* reductase activity in pure reconstitutively active succinate dehydrogenase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 893 (1), 1987, 75-82.
- ZLOCH, Z., ČELAKOVSKÝ, J., TŮMOVÁ, O. Celková antioxidační kapacita vybrané skupiny našich potravin. *Výživa a potraviny*, 60 (5), 2005, 128-130.
- ZLOCH, Z., ČELAKOVSKÝ, J., AUJEZDSKÁ, A. Posuzování biologické hodnoty potravin na základě jejich antioxidační aktivity. *Česká a Slovenská Hygiena*, 1 (3), 2004, 82-87.
- ZLOCH, Z., ČELAKOVSKÝ, J., AUJEZDSKÁ, A., b. Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu. , *Závěrečná zpráva o plnění výzkumného projektu Danone* (2004).

Elektronické zdroje

- ANONYM, 2010. O stopových prvcích ve výživě a jejich funkci v těle. [cit. 2010-05-24]. Dostupné z: http://www.viscojis.cz/1/index.php?option=com_content&view=article&id=103:94&catid=47&Itemid=79
- ANONYM, 2009. Definice a rozdělení antioxidantů [cit.2009-04-01]. Dostupné z: http://hplc1.sweb.cz/ANTIOXIDANT/def_antiox.htm
- ANONYM, 2009, b. Dr. V. K.: Český herbář [cit. 2009-10-24]. Dostupné z: <http://botanika.wendys.cz/cherbar/heslo.php?86>
- ANONYM, 2008. Vitaminy [cit. 2010-06-24]. Dostupné z: <http://www.i-vitaminy.info/>
- ANONYM, 2007. Cibule [cit. 2009-10-24]. Dostupné z: <http://www.herb.cz/cibule-i-375/>
- ANONYM, 2005. What are Good Zinc Food Sources? [cit. 2010-06-18]. Dostupné z: <http://www.nutritional-supplements-health-guide.com/zinc-food-sources.html>
- ANONYM, 2004. Jedlo by malo tiež dobre vyzerat' – prečo sú antioxidanty také dôležité? [cit. 2009-12-12]. Dostupné z: <http://www.eufic.org/article/sk/1/8/artid/antioxidanty-dolezite/>
- ANONYM, 2002. Vitamin E [cit. 2010-06-20]. Dostupné z: <http://www.healingdaily.com/detoxification-diet/vitamin-e.htm>

- ANONYM, 2001. Cyklická voltametrie [cit. 2009-05-20].
Dostupné z: http://fch.upol.cz/skripta/pok1/Cyklicka_voltametrie.pdf
- BUREŠOVÁ, 2008. Přídavné látky (aditiva) [cit. 2009-12-15].
Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?prn=1&baf=0&nid=11324&doctype=ART&docid=1005724&chnum=1&inqResults=11357>
- CLAUDE, 2010. Carotenoids . [cit. 2010-06-22].
Dostupné z: <http://www.cyberlipid.org/simple/simp0002.htm>
- DADAKOVA, 2000. Flavonoidy [cit. 2009-10-23].
Dostupné z: <http://home.zf.jcu.cz/~dadakova/texty/flavon.htm>
- HELMENSTINE, 2010. Chemistry of BHA and BHT Food Preservatives [cit. 2010-06-15]. Dostupné z: <http://chemistry.about.com/od/foodcookingchemistry/a/bha-bht-preservatives.htm>
- HOLEČEK, 2005 V. Volné radikály a antioxidanty [cit.2009-04-21].
Dostupné z: <http://www.celostnimediceina.cz/volne-radikaly-a-antioxidanty-mudr-vaclav-holecek-csc.htm>
- JEBAS, 2003. Flavonoidy . [cit. 2010-06-22].
Dostupné z: <http://medicina.ronnie.cz/c-330-Flavonoidy.html>
- KODÍČEK, 2007. Biochemické pojmy. [cit.2009-04-27]
Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=stres_oxidacni
- KONG KW et al., 2010. Revealing the power of the natural red pigment lycopene . [cit. 2010-06-22]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20335956>
- KVASNIČKOVÁ, 2004. Vliv jahod na lidské zdraví. [cit. 2009-10-23].
Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=3&val=12&ids=419>
- LACHMAN, 2000. Antioxidační komplex bioflavonoidů a askorbové kyseliny v jablkách (*Malus pumila* Mill.). [cit. 2010-06-15].
Dostupné z: <http://www.agris.cz/etc/filereader.php?iId=126&PHPSESSID...>
- LANGER, 2005. Vyrůstající role vitaminů jako antioxidantů . [cit. 2010-06-14].
Dostupné z: <http://www.celostnimediceina.cz/vzrustajici-role-vitaminu-jako-antioxidantu-mudr-ladislav-langer.htm>
- MATELJAN, 2006. The World's Healthiest Foods. [cit. 2010-06-15].
Dostupné z: <http://www.whfoods.com/>
- MOLYNEUX, 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl

(DPPH) for estimating antioxidant activity. [cit. 2010-06-17].

Dostupné z: <http://www.sjst.psu.ac.th/journal/26-2.pdf/07-DPPH.pdf>

POKORNÝ, J., SHMIDT, Š., 2003. Trendy použití přírodních antioxidantů pro stabilizaci tuků a olejů proti oxidačnímu žluknutí [cit. 2010-06-15].

Dostupné z: www.vitamins.cz/archiv/2003/doc/1/L_31.doc

PRONĚK et al., 2003. Polyfenolické antioxidanty v různých odrůdách cibule (*Allium cepa* L.) [cit. 2010-04-20]. Dostupné z: www.vitamins.cz/archiv/2003/doc/p/P_29AC.doc

STEJSKAL, 2007. Koenzym Q10 a jeho využití v lékařské praxi . [cit. 2010-06-23].

Dostupné z: <http://www.celostnimedicina.cz/koenzym-q10-a-jeho-vyuziti-v-lekarske-praxi-doc-mudr-pavel-stejskal-csc.htm>

SUKOVÁ, 2009. Fytoestrogeny – selektivní modulátory receptorů estrogenů. [cit. 2010-06-15]. Dostupné z:

<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=97108&ids=150>

TICHÁ, M., VYZÍNOVÁ, P., 2006. Sója. Polní plodiny - Field crops. [cit. 2010-5-23].

Dostupné z: <http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/soja.htm>

WONG , 2008. What is CoQ10? [cit. 2010-6-24].

Dostupné z: <http://altmedicine.about.com/cs/supplements/a/CoenzymeQ10.htm>

Právní předpisy

Vyhláška č. 4/2008 Sb. Kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin.

9 PŘÍLOHY