

Charakteristika rostlin z čeledi růžovité (*Rosaceae*) a analýza jejich antioxidačních vlastností

Nikol Šobáňová

Bakalářská práce
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nikol Šobánová**
Osobní číslo: **T19125**
Studijní program: **B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin**
Specializace: **Technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Charakteristika rostlin z čeledi růžovité (Rosaceae) a analýza jejich antioxidačních vlastností**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Charakteristika rostlin z čeledi růžovité, jejich složení a vlastnosti.

Popis antioxidantů a metod využívaných pro stanovení antioxidačních vlastností.

II. Praktická část

Analýza antioxidačních vlastností (celkový obsah polyfenolů, antioxidační aktivita) rostlin z čeledi růžovité spektrofotometricky.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Danila, A. O., Gatea, F., Radu, G.L. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs. Chem. Nat. Comp. 2011, 47, 1, 22-26. doi.org/10.1007/s10600-011-9822-7
- [2] Velíšek, Jan. Chemie potravin 3. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902-3912-9
- [3] Janča, J., Zentrich, J.A. Herbář léčivých rostlin. Praha: EMINENT, 1994. ISBN 80-85876-02-7
- [4] Muruzović, M.Ž., Mladenović, K.G., Stefanović, O.D., Vasić, S.M., Čomić L.R. Extracts of Agrimonia eupatoria L. as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. J. Food Drug. Anal. 2016, 24, 3, s. 539-547. doi: 10.1016/j.jfda.2016.02.007

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem 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.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá charakteristikou rostlin čeledi růžovité a jejich antioxidačními vlastnostmi. Teoretická část je zaměřena na popis vybraných rostlin (řepík lékařský, kontryhel obecný, jahodník obecný, ostružiník křovitý), antioxidantů a metody stanovení antioxidačního účinku. Cílem experimentální části bylo určit množství polyfenolických látek v extraktech rostlin s pomocí Folin-Ciocalteuova činidla, a antioxidační aktivitu dvěma spektrofotometrickými metodami, s činidly DPPH a ABTS, a zjistit vliv teploty na jejich antioxidační aktivitu.

Klíčová slova: rostliny čeledi růžovité, polyfenoly, antioxidační aktivita, DPPH, ABTS

ABSTRACT

The bachelor thesis deals with the characteristics of *Rosaceae* family plants and their antioxidant properties. The theoretical part focuses on the description of selected plants (agrimony, lady's mantle plant, strawberry and blackberry plants), antioxidants and methods for determining the antioxidant effect. The experimental part is aimed to determine the content of polyphenolic substances in plant extracts using Folin-Ciocalteu reagent, and antioxidant activity by two spectrophotometric methods, with DPPH and ABTS reagents, and to determine the effect of temperature on their antioxidant activity.

Keywords: *Rosaceae* family plants, polyphenols, antioxidant activity, DPPH, ABTS

Děkuji své vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Soni Škrovánkové, Ph.D. za veškerý čas věnovaný poskytnutí pomoci při realizaci experimentální části, a také při vypracování této práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 CHARAKTERISTIKA ČELEDI RŮŽOVITÉ (ROSACEAE)	11
1.1 VÝZNAMNÉ ROSTLINY ČELEDI RŮŽOVITÉ PĚSTOVANÉ V ČR	11
1.1.1 Maliník obecný.....	12
1.1.2 Jabloň domácí.....	12
1.1.3 Jeřáb ptačí.....	12
1.1.4 Švestka domácí.....	12
1.1.5 Hrušeň obecná	13
1.1.6 Mandloň obecná	13
1.1.7 Meruňka obecná	13
2 VYBRANÉ ROSTLINY Z ČELEDI RŮŽOVITÉ	14
2.1 ŘEPÍK LÉKAŘSKÝ	14
2.1.1 Složení a zdravotní účinky	14
2.2 KONTRYHEL OBECNÝ	15
2.2.1 Složení a zdravotní účinky	15
2.3 JAHODNÍK OBECNÝ	16
2.3.1 Složení a zdravotní účinky	16
2.4 OSTRUŽINÍK KŘOVITÝ	17
2.4.1 Složení a zdravotní účinky	17
3 ANTIOXIDANTY	18
3.1 TYPY ANTIOXIDANTŮ	18
3.1.1 Přírodní antioxidanty.....	18
3.1.2 Syntetické antioxidanty	19
3.2 POLYFENOLY.....	19
3.2.1 Flavonoidy.....	19
3.2.2 Fenolové kyseliny a taniny.....	20
4 METODY VYUŽÍVANÉ PRO STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍCH VLASTNOSTÍ	21
4.1 METODY STANOVENÍ OBSAHU POLYFENOLICKÝCH LÁTEK	21
4.1.1 Analýza polyfenolů	21
4.1.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem.....	21
4.2 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	22
4.2.1 DPPH test.....	22
4.2.2 ABTS test.....	23
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	24

5	CÍL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE	25
6	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
6.1	ROSTLINNÝ MATERIÁL	26
6.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	26
6.3	POUŽITÉ LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POMŮCKY	27
7	METODIKA STANOVENÍ.....	28
7.1	PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ ROSTLIN.....	28
7.2	STANOVENÍ OBSAHU POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEUOVA ČINIDLA.....	28
7.2.1	Kalibrační křivka standardu kyseliny gallové.....	29
7.3	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH	30
7.3.1	Kalibrační křivka standardu kyseliny askorbové	31
7.4	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	32
7.4.1	Kalibrační křivka standardu troloxu.....	33
8	VÝSLEDKY	34
8.1	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEUOVA ČINIDLA	34
8.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH ČINIDLEM.....	37
8.3	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S ABTS ČINIDLEM.....	39
8.4	KORELACE MEZI HODNOTAMI CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	41
	ZÁVĚR	44
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	45
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	48
	SEZNAM OBRÁZKŮ	49
	SEZNAM TABULEK.....	50

ÚVOD

Nejvýznamnější přírodní zdroje antioxidantů se nacházejí v rostlinných materiálech. Mezi nejběžnější lze zařadit polyfenoly, třísloviny, které jsou v hojném zastoupení u rostlin z čeledi růžovité, jako jsou maliník, jablonoň, jeřáb, švestka, hrušeň, mandloň, meruňka. K dalším známým zástupcům čeledi *Rosaceae*, se kterými se lze v České republice setkat, s významnými zdravotními účinky, patří řepeček, kontryhel, jahodník, ostružiník, které jsou v této práci zkoumány s ohledem k jejich antioxidačním účinkům.

Rostliny této čeledi zaujímají v květeně České republiky významné postavení, neboť jejich pěstování je velmi rozšířené i vzhledem k bohatému počtu plodících ovocných druhů. Díky jejich druhové rozmanitosti lze v této čeledi najít velké množství účinných biologicky aktivních složek, které se mohou vzájemně doplňovat a poskytovat tak širší spektrum antioxidantů.

Antioxidanty jsou schopny potlačovat oxidaci jiných molekul, kdy následně řetězovými reakcemi dochází k produkci volných radikálů, které mohou v lidském těle poškozovat buňky. Antioxidanty mají schopnost tyto řetězové reakce zpomalit, případně způsobenému poškození zabránit. Mnoho lidských nemocí je negativně ovlivněno působením volných radikálů, a proto příjem antioxidantů z potravy plní důležitou úlohu v ochraně organismu.

V rámci této bakalářské práce jde o studium antioxidačních schopností vybraných rostlin čeledi růžovité (řepeček, kontryhel, jahodník, ostružiník), jenž se jeví jako velmi dobrý zdroj antioxidačních látek. Antioxidanty pomáhají chránit buňky lidského těla před oxidačním stresem tím, že neutralizují volné radikály, čímž příznivě podporují lidské zdraví. Pokud je jejich přísun do lidského těla nedostatečný, může se zvýšit riziko vzniku mnoha onemocnění.

Cílem této práce je i získání přehledu o celkovém množství polyfenolických látek v jednotlivých rostlinách. Existuje mnoho metod, které lze využít ke stanovení antioxidantů, antioxidačního účinku, přičemž k nejčastěji využívaným patří spektrofotometrické metody, jako jsou metody s využitím různých reakčních činidel. K běžným činidlům patří DPPH nebo ABTS, kdy se na základě barevné reakce zjišťuje antioxidační aktivita rostlin. Mezi kvalitativní stanovení lze zařadit chromatografické metody, běžnou metodou je vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC) s využitím různých detektorů, především s UV detekcí.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA ČELEDI RŮŽOVITÉ (ROSACEAE)

Čeď rŮŽOVITÉ zahrnuje desítky rodů a tisíce druhů rostlin. Jejich výskyt je rozšířen na obou polokoulích, avšak pouze v tropických pásech je jejich výskyt omezen a situován do prostředí v horách. Nejčastěji se jedná o jednoleté či vytrvalé byliny, keře i stromy. Rostliny mají vlastnost jednodomou nebo zřídka dvoudomou. Květy jsou buď v květenství (hroznovitá, vrcholičnatá) nebo jednotlivě. Jsou pravidelné, oboupohlavné a obsahují 1-30, až 50 tyčinek. V květu je často přítomna češule, neboli srostlé květní lůžko s tyčinkami a květními obaly. Květ má shodný počet korunních a kališních lístků, nejčastěji pět, některé druhy jich však mohou mít i dvacet (např. růže). Listy jsou u rŮŽOVITÝCH rostlin střídavé, většinou složené, také však mohou být vzácně jednoduché, s opadavými nebo vytrvalými palisty. Plodem rostlin této čeledi jsou převážně nažky, popřípadě může být i souplodí nažek (jahoda) nebo peckoviček (malina, ostružina) [18].

Řadí se mezi významné čeledi se spoustou rozmanitých druhů rostlin. Hospodářsky se jedná o ekonomicky hodnotné rostliny, které jsou z hlediska výživy a zdraví pro člověka velmi prospěšné a mají na lidské tělo pozitivní vliv. Patří sem byliny, plodiny produkující ovoce, dřeviny a v neposlední řadě i okrasné rostliny. Jednou z velmi známých okrasných rostlin čeledi *Rosaceae* je růže. Růži lze v dnešní době nalézt po celém světě a již od počátku civilizace byla oblíbená pro svou okrasnou hodnotu [16].

V rostlinách a převážně v ovoci je obsažena řada důležitých fytochemikálií a antioxidantů, které mají např. schopnost inhibovat rakovinu. Příkladem je kyselina ellagová, ta se hojně vyskytuje u jahod i malin a má antioxidační a protinádorové účinky, neboť omezuje množení buněk a vyvolává apoptózu (buněčnou smrt) nádorových buněk [16].

Systematické zařazení čeledi rŮŽOVITÝCH (*Rosaceae*):

- Říše: rostliny (*Plantae*)
- Oddělení: krytosemenné (*Magnoliophyta*)
- Třída: vyšší dvouděložné (*Rosopsida*)
- Řád: rŮŽOTVARÉ (*Rosales*)

1.1 Významné rostliny čeledi rŮŽOVITÉ pěstované v ČR

Rostliny, z čeledi rŮŽOVITÉ, a převážně druhy s ovocnými plody, jsou hojně pěstovány na území České republiky, z nichž pár nejběžnějších bude popsáno níže.

1.1.1 Maliník obecný

Maliník obecný (*Rubus idaeus*) je rozšířený poléhavý keř jehož plodem jsou šťavnaté chlupaté peckovičky souhrnně nazývané jako malina. Správné dozrání plodů lze rozpoznat velmi jednoduše, neboť se celý plod lehce oddělí od suchého lůžka. Nejčastěji kvete v letních slunečných měsících, od května do srpna. Listy je vhodné sbírat pro zdravotní účinky a obsah antioxidantů, jako jsou např. třísloviny. Maliny se využívají při zpracování v potravinovém průmyslu do sirupů, kompotů. Často je lze konzumovat, po utrnutí, v plné čerstvosti nebo po zpracování ve formě lyofilizovaných kousků [8].

1.1.2 Jabloň domácí

Jabloň domácí (*Malus domestica*) se začleňuje mezi listnaté stromy. Často je díky svým šťavnatým plodům pěstována na českých zahrádkách v několika vyšlechtěných odrůdách. Kulovitá malvice bývá nejčastěji zelené, červené, žluté barvy a sladkokyselé chuti. V plné zralosti jsou jablka sbírána na podzim. Nejúčinnější látky obsažené v jablku lze získat konzumací slupek, a to jak čerstvých, tak i sušených [7].

1.1.3 Jeřáb ptačí

Jeřáb ptačí (*Sorbus aucuparia*), lidově jeřabina, je okrasný strom plodící drogu jeřabinu bohatou na vitamin C. Má dva poddruhy, z nichž jeden je přímo jedlý, díky své sladší chuti. Jedná se o jeřáb ptačí moravský. Konzumovat lze všechny druhy, avšak je vhodné je nejdříve povařit či usušit, tak aby došlo k úspěšné eliminaci látek, které by mohly vyvolat mírnou otravu. Droga plodů je vhodná zejména při léčbě revmatismu. Květy se naopak sbírají převážně pro obsahovou látku podobnou ženským hormonům [7].

1.1.4 Švestka domácí

Švestka domácí (*Prunus domestica*), běžně pěstovaný ovocný strom, je také známa pro své zdravé a aromatické plody. Švestky jsou bohaté na vitamin C, vitaminy skupiny B, kyselinu jablečnou a vzhledem k tomu, že obsahují nízké množství sodíku, tak jsou vhodné při léčbě revmatu a při onemocněních ledvinového a jaterního charakteru. Pevně na Moravě jsou plody sbírány a procesem kvašení zpracovány ve formě destilovaného alkoholického nápoje, slivovice. Dalším využitím je zpracování švestek do kompotů [9].

1.1.5 Hrušeň obecná

Dalším ovocným stromem, rozšířeným na území ČR, je hrušeň obecná (*Pyrus communis*). Existuje mnoho druhů lišící se tvarem, velikostí a barvou. Plodem jsou šťavnaté hrušky, které jsou bohatým zdrojem vitamínu C, tříslovin, flavonoidů a draslíku. Využívány jsou buď k přímé konzumaci nebo ke zpracování v potravinovém průmyslu, ale i domácnosti. Vyrábí se z nich například kompoty, šťávy a přesnídávky. Hrušková šťáva má močopudné účinky, vhodná je při srdečních poruchách i horečkách či zimnicích. Trhány jsou dále i listy hrušně, jež jsou účelné zejména při léčbě revmatismu [7].

1.1.6 Mandloň obecná

Mandloň obecná (*Amygdalus communis*) je strom v naší republice pěstovaný převážně na Moravě. Nevýhodou pěstování v ČR jsou zdejší klimatické podmínky, neboť je, vzhledem k jejich časnému rozkvětu, mohou poškodit jarní mrazy. Plody (mandle) je možné rozdělit na hořké a sladké. V hořkých mandlích je přítomen glykosid amygdalin, který se rozkladem pomocí enzymu mění na kyanovodík, a proto při požití může dojít k otravě. U dětí je nebezpečnou dávkou již deset kusů hořkých mandlí. Sladké mandle, pěstované v sadech, jsou neškodné a riziko otravy při jejich konzumaci nehrozí. Vysoce ceněný je především mandlový olej, který pozitivně ovlivňuje celou trávicí soustavu a pomáhá při zánětu průdušek. Využití nachází i v řadě kosmetických přípravků, neboť regeneruje a zklidňuje pokožku obličeje [8].

1.1.7 Meruňka obecná

Meruňka obecná (*Armeniaca vulgaris*) je pěstovaná převážně pro své plody, které je možné konzumovat v čerstvém stavu nebo sušené, čímž dokonce dochází ke zvýšení obsahu železa. Čerstvé meruňky pomáhají zlepšovat chuť k jídlu, snižují krevní tlak, podporují zdravý zrak, činnost jater a také hydratují pokožku. Při léčbě hemoroidů se meruňkový list používá jako přídavek do koupele. Nedoporučuje se konzumovat semena, neboť, stejně jako mandle, mohou uvolňovat nebezpečný amygdalin. Meruňky mají široké kulinářské uplatnění, lze z nich dělat moučníky, kompoty, džemy, marmelády, ovocné knedlíky [8].

2 VYBRANÉ ROSTLINY Z ČELEDI RŮŽOVITÉ

K nejnámějším zástupcům čeledi *Rosaceae*, s kterými se lze v České republice setkat, patří byliny s bohatými zdravotními účinky jako je řepík, kontryhel nebo tužebník. Významné jsou také rostliny s chutnými ovocnými plody, převážně jahodník, ostružiník, ale i ovocné stromy – jabloň, třešeň, švestka.

Pro tuto bakalářskou práci byly vybrány čtyři zástupci léčivých rostlin z čeledi růžovitých, které budou níže charakterizovány. Jde o řepík lékařský, kontryhel obecný, jahodník obecný a ostružiník křovitý.

2.1 Řepík lékařský

Řepík lékařský (*Agrimonia eupatoria*) se řadí mezi vytrvalé byliny dorůstající do výšky až třičtvrtě metru. Má krátký oddenek a z něj vyrůstající přímou chlupatou lodyhu, olistěnou pouze ve spodní části. Listy jsou přetrhovaně lichožpeřené. Květy řepíku mají jasně žlutou barvu a tvoří tvar klasovitých hroznů. V přírodě je poměrně rozšířený a běžně se vyskytuje na suchých loukách, na mezích oddělující pole nebo v křovinných či houštinných vegetacích. Kvetete od června do srpna a jeho plodem je ostnatá nažka [9].



Obrázek 1 - Řepík lékařský [15]

2.1.1 Složení a zdravotní účinky

Obvykle je pro obsah účinných látek sbírána kvetoucí nať (*Herba agrimoniae*), která je bohatá převážně na třísloviny katechinového typu, ale je zde i větší množství kyseliny křemičité. Mezi další obsahové látky v droze patří kyselina ursolová, silice, minerální látky (železo), kyselina askorbová, cholin, flavonoidy, hořčiny, organické kyseliny, hlavně amid kyseliny nikotinové a malé množství saponinů [9].

Nať řepíku je jednou z nejuniverzálnějších drog. Řepík podporuje správnou činnost žlučníku a jater, neboť pomáhá jejich detoxikaci, čímž zároveň dochází k lepší regulaci metabolismu tuků a cholesterolu v těle. Dále se využívá při tlumení zánětlivých procesů, především při střevních nevolnostech jako jsou průjemy. Vhodný je i při kožních problémech, kdy zlepšuje stav pokožky použitím různých mastí, obkladů či koupelí [9].

2.2 Kontryhel obecný

Kontryhel obecný (*Alchemilla vulgaris*) je léčivá vytrvalá bylina charakteristická drobnými květy žlutozelené barvy tvořící vrcholičnatá květenství. Má přizemní, dlouhý, statný oddenek zakončený růžicí řapíkatých, tuhých a na spodní straně chlupatých listů. Lodyžní listy jsou obdobné, pouze trochu menší velikosti. Květní lodyha je vzpřímená až vystoupaná. Květy mají čtyři kališní lístky, čtyři tyčinky a jeden pestík. Plodem jsou nažky. Kvetou od května do září na loukách, v křoví, kolem potoků a prameništích. V České republice ho lze nalézt po celém území, od nížin až do hor. Vhodná je pro něj především vlhká půda [15].



Obrázek 2 - Kontryhel obecný [15]

2.2.1 Složení a zdravotní účinky

Sbírána je kvetoucí nať (*Herba alchemillae*). Účinnými obsaženými látkami jsou zde třísloviny, hořčiny, silice i malé množství kyseliny salicylové [7,15].

Bylina je známá převážně pro ženy. Lidově je využívána hojně v gynekologii, neboť pomáhá při zánětech pohlavních orgánů, bílých výtocích a tlumí menstruační křeče a krvácení. Rovněž zpevňuje podbřišek, což je žádoucí u žen při sklonech k potratům. Kontryhel působí močopudně, zlepšuje spánek a příznivě ovlivňuje trávicí soustavu. Je vhodný i pro zmírnění krvácení z nosu a hojení hnisavých ran. Nálev pomáhá při průjmech [7,15].

2.3 Jahodník obecný

Jahodník obecný (*Fragaria vesca*) je široce známou a oblíbenou bylinou, planě rostoucí na slunečných a lesnatých stráních. Často je proto rozšířen i pod lidovým názvem – lesní jahoda. Jedná se o trvalku, která dorůstá výšky 10 až 15 cm. Má větvený oddenek a dlouhé řapíkaté, trojčetné listy s pilovitě zubatými okraji. Jeho korunní květy mají bílou barvu, jsou pětičetné, stejně jako kališní lístky. Plodem jahodníku jsou malé nažky [7].

V bylinkářství se využívají i další druhy jahodníku, kromě obecného se nejčastěji vyskytuje jahodník vyšší nebo jahodník chlumní. Jahodníky se ovšem od sebe liší jen minimálně botanickými znaky, a proto se, vzhledem k účinným a léčivým látkám, mezi nimi nedělají rozdíly [7].



Obrázek 3 - Jahodník obecný [15]

2.3.1 Složení a zdravotní účinky

Sbíranou částí jahodníku je list (*Folium fragariae*), který se sbírá ideálně v květnu, případně po celou dobu růstu – od května během celého léta. Účinnými látkami v listu jsou flavonoidy, třísloviny, vitamin C, draslík a silice. Jahody, zralé plody jahodníku, mají na lidské tělo také pozitivní vliv. Obsahují pektiny, organické kyseliny, aromatické látky, antokyan, vitamin C a cukry [7].

Jahodníkové listy jsou silnou drogou, která má močopudný a protizánětlivý účinek, čehož lze využít při léčbě průjmů infekčního původu. Používá se při léčbě močových cest, kde příznivě pomáhá k rozpadu močových kamenů a zlepšuje vylučování kyseliny močové. Samotné plody jahodníku se doporučují pro zmírnění revmatismu [7].

2.4 Ostružiník křovitý

Ostružiník křovitý (*Rubus fruticosus*) je známý popínavý keř, který má v době plné zralosti početné množství tmavě modrých až černých plodů. Ostružina je běžné lesní ovoce, proto lze rostoucí keř nalézt převážně na lesních mýtinách, ale i podél cest nebo u starých zdí. Jeho charakteristickým rysem jsou dřevnaté, ostnaté lodyhy. Listy jsou střídavé, řapíkaté a má pětilístkovou korunu bílé nebo narůžovělé barvy. Plodem je souplodí peckoviček srostlých s květním lůžkem. Ostružiník kvete začátkem června, zhruba po dobu jednoho měsíce, do počátku července. Listy je vhodné sbírat před rozkvetem rostliny, v období května a června. Nadzemní poléhavé výhony bývají běžně dvouleté, ale mohou být i víceleté. Jednoleté jsou neplodné. V České republice roste zhruba stovka dalších druhů a poddruhů ostružiníků, které se vzájemně kříží a je tak velmi problematické jejich botanické zařazení [8].



Obrázek 4 - Ostružiník křovitý [15]

2.4.1 Složení a zdravotní účinky

Množství všech látek v ostružiníku není příliš velké, řadí se mezi drogu s menší účinností. Listy obsahují třísloviny, organické kyseliny, flavonoidy, inositol a pektin. U plodů lze z účinných látek vyjmenovat antokyany, karotenoidy, cukry, pektin, slizy a vitamin C [8].

Listy jsou vhodné především pro léčivé účely, droga působí močopudně, používá se k zastavení krvácení, kašle i průjmů. Pročišťuje trávicí i močové ústrojí. Dále se využívá ke kloktání při bolestech v krku nebo rýmě. Účinná je i pro léčbu zánětlivého onemocnění kůže a zlepšuje projevy ekzému. Plody jsou naopak sbírány primárně pro potravinářské účely, lze je využít na přípravu marmelád nebo ostružinového nápoje, vína [8].

3 ANTIOXIDANTY

Antioxidant je látka, jejíž molekuly jsou schopny určitým způsobem potlačovat oxidaci jiných molekul. Oxidace je chemickou reakcí, při níž dochází k úbytku elektronů, což se projeví zvýšením oxidačního čísla prvku. Oxidační reakce mohou produkovat volné radikály, které následně řetězovými reakcemi poškozují buňky v lidském těle. Antioxidanty mají schopnost tyto řetězové reakce zpomalit, případně způsobenému poškození zabránit. Působí jako redukční činidla, která neutralizují reaktivní druhy kyslíku dříve, než buňky poškodí [11]. Mnoho lidských nemocí je negativně ovlivněno volnými radikály a jelikož přirozená obrana lidského těla není vůči nim vždy dostatečná, tak příjem antioxidantů formou potravy plní důležitou úlohu v ochraně organismu [3].

3.1 Typy antioxidantů

Antioxidanty lze rozdělit do dvou skupin na základě jejich rozpustnosti. Mezi antioxidanty ve vodě rozpustné (hydrofilní) patří například kyselina askorbová, glutathion a kyselina močová. Obecně platí, že ve vodě rozpustné antioxidanty reagují s oxidanty v buněčném cytosolu a krevní plazmě. Karoteny, tokoferoly a ubichinol, forma koenzymu Q10, se řadí mezi zástupce druhé skupiny, antioxidantů rozpustných v tucích (lipofilní). Nachází se např. v buněčných membránách, kde je chrání před peroxidací lipidů. Rozdělení na základě rozpustnosti není jedinou možností, jak lze antioxidanty dělit. Další variantou je klasifikace vzhledem k jejich původu na syntetické a přírodní, nebo primární a sekundární [11].

3.1.1 Přírodní antioxidanty

Přírodní antioxidanty se využívají již po staletí. Jsou vhodné zejména k prodloužení trvanlivosti potravin, konzervaci masa a ryb kořeněním nebo s pomocí bylin. U tukově bohatých výrobků zamezují antioxidanty žluknutí. Vyskytují se především v rostlinách, ovoci, zelenině a bylinách, houbách. Nejvýznamnějšími přírodními antioxidanty jsou tokoferoly (složky vitamínu E), flavonoidy a fenolové kyseliny. Konzumace rostlinné stravy bohaté na látky s antioxidační aktivitou příznivě snižuje riziko kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny a zpomaluje stárnutí [11].

Kyselina askorbová (vitamin C) je považována za jeden z nejsilnějších přírodních antioxidantů. Patří mezi vitamin rozpustný ve vodě a nachází se ve vysokých koncentracích v mnoha rostlinných zdrojích, potravinách. Významnými zdroji kyseliny askorbové jsou

různé druhy ovoce jako citrusové plody, kiwi, třešně, také zelenina jako rajčata, brokolice, zelí, a jiné [5].

3.1.2 Syntetické antioxidanty

Syntetické, uměle vyrobené, antioxidanty jsou především fenolické sloučeniny jako například butylhydroxytoluen (BHT) a butylhydroxyanisol (BHA). Využití nacházejí v průmyslu, převážně v potravinářském, ale i farmakologickém. Zajišťují potravinám požadované aroma, barvu a texturu [11]. BHA a BHT jsou poměrně stabilní na zahřátí a často se používají ke stabilizaci tuků v pečených a smažených výrobcích [5].

BHT a BHA však byly omezeny legislativními pravidly kvůli pochybnostem o jejich možných toxických účincích. Proto roste zájem o přírodní, bezpečnější antioxidanty pro potravinářské využití a roste i trend preferencí spotřebitelů, kteří upřednostňují přírodní formu antioxidantů a mohou získat legislativní schválení snadněji než syntetické aditiva. Skutečnost, že se látka vyskytuje v potravine, však není dostatečnou zárukou, že je zcela netoxická. Syntetické antioxidanty se testují na karcinogenní nebo mutagenní účinky, ale mnoho přírodních potravinářských sloučenin dosud testováno nebylo. Přínosy konzumace antioxidantů však převažují nad možnými riziky [5].

3.2 Polyfenoly

Polyfenoly jsou sloučeninami, které mají na aromatickém jádře navázanou více než jednu fenolickou hydroxylovou skupinu. Charakteristicky se vyskytují převážně u rostlin, nejvíce v její nadzemní části. V rostlinách plní řadu důležitých funkcí, jako je např. ochrana před oxidačním stresem a následným poškozením. V lidském těle mají také význam díky svým biologickým účinkům [21]. Polyfenoly lze obecně dělit na flavonoidy, fenolové kyseliny a hydrolyzovatelné sloučeniny taniny [4].

3.2.1 Flavonoidy

Flavonoidy jsou velmi rozsáhlou skupinou polyfenolů přispívající k podpoře lidského zdraví. Sloučeniny obsahují patnáct atomů uhlíku. Mezi důležitou a nejrozšířenější třídu flavonoidů ve výživě člověka patří flavanoly, jejichž zdroj je převážně v čaji, ovoci a víně. Hlavním flavanolem je katechin, silný přírodní antioxidant. Dále se k flavonoidům řadí antokyany, flavony či flavonony [21].

3.2.2 Fenolové kyseliny a taniny

K této skupině patří především kyselina gallová, která má významné antioxidační účinky. Kyselina gallová patří mezi trihydroxykyseliny. Volnou formu této kyseliny lze nalézt v rostlinných materiálech. Jako primární zdroj kyseliny gallové lze uvést zralé jahodové plody. Často je přítomna jako součást hydrolyzovatelných tříslovin. Její obsah, stejně jako obsah primárních fenolových kyselin, se u různých druhů ovoce značně liší, neboť je ovlivňován samotným zráním rostlinných plodů. Z kyseliny gallové jsou odvozeny hydrolyzovatelné sloučeniny, taniny. Taniny, neboli třísloviny, jsou polyfenoly trpké, hořké chuti, se schopností vázat se na bílkoviny. Přirozeně jsou přítomny v potravinách, v nichž ovlivňují chuťové vlastnosti, jak žádoucí (u čaje, kávy), tak i nežádoucí (nezralé ovoce). Dále do této skupiny patří i další významná antioxidační složka, kyselina hydroxyskořicová [4,20,21].

4 METODY VYUŽÍVANÉ PRO STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍCH VLASTNOSTÍ

Antioxidanty mají významnou roli pro lidské zdraví, neboť vzhledem ke své schopnosti snižovat oxidační stres pomáhají při prevenci i výskytu nemocí. Metody využívané pro stanovení antioxidačních vlastností potravin jsou proto podstatné pro zjištění kvality mnoha surovin a potravin, a také pro zjištění účinnosti potravinářských antioxidantů. Pokud jsou tedy antioxidanty přítomny v potravine či lidském těle, tak již v nízkých koncentracích oddalují, kontrolují a zabraňují oxidačním procesům, které mohou vést ke zhoršení kvality potravin a degenerativním změnám v organismu [12].

Studiem antioxidantů v různých oborech, včetně potravinářství, se zabývá věda již spousty let. Nejdůležitější testy, jež se běžně používají, se dělí do několika skupin. Mezi metody založené na přenosu vodíku patří např. test absorpční kapacity radikálů kyslíku (ORAC) nebo test celkového antioxidačního zachycování peroxidových radikálů (TRAP). K další skupině se řadí Folin-Ciocalteuův test stanovení obsahu polyfenolických látek, který patří mezi metody zakládající se na přenosu jednoho elektronu. Poslední skupinu tvoří smíšené zkoušky, při nichž dochází k přenosu vodíkového atomu i elektronu, zde lze zařadit obě metody (ABTS, DPPH) ke stanovení antioxidační aktivity zahrnuté v této práci [12].

4.1 Metody stanovení obsahu polyfenolických látek

4.1.1 Analýza polyfenolů

Před samotnou analýzou je nutné polyfenoly izolovat pomocí extrakce. V praxi se to běžně provádí vodou nebo organickými rozpouštědly, jako je metanol, aceton a etanol. Po extrakci lze provést samotnou analýzu, a to jak kvantitativní, kdy se zjišťuje obsahové množství, tak i kvalitativní, kde se zjišťuje konkrétní složení daných látek ve vzorku. Mezi kvalitativní stanovení lze zařadit chromatografické metody, běžně se používá vysoce účinná kapalinová chromatografie, případně i tenkovrstvá nebo plynová chromatografie. U extraktu lze zjistit i účinnost polyfenolů, k čemuž se používá metoda s využitím Folin-Ciocalteuova činidla [21].

4.1.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem

Jde o velmi známou metody zaměřenou na stanovení celkového obsahu polyfenolů (TPC). Původně byla tato metoda navržena k analýze bílkovin, ale později byla přijata za účelem

analýzy fenolických složek ve víně, čímž se následně stala běžnou zkouškou využívanou pro hodnocení antioxidantů rostlinných a potravinářských extraktů [12].

Folin-Ciocalteuovo stanovení je založeno na redukcí Folin-Ciocalteuova (FC) reaktantu fenolickými sloučeninami v zásaditém stavu. Chemický charakter FC činidla není zcela jasně definován, ale je předpokládáno, že obsahují komplex kyseliny fosfomolybdenové či fosfowolframové kyseliny. Samotné činidlo, žlutý roztok, nejdříve reaguje s fenolickými sloučeninami a následně je směs redukována na modré chromogeny, které lze zachytit spektrofotometricky. Intenzita barvy je závislá na koncentraci polyfenolů přítomných ve vzorku. Měření probíhá na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm [12].

Běžně používaným referenčním standardem je kyselina gallová a stanovené hodnoty bývají obvykle vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny gallové. Příležitostně se však využívá i vyhodnocení s vyjádřením jako katechiny, kyselina kofeinová nebo kyselina chlorogenová.

Výhodou FC testu je jednoduchost, avšak má i některé nevýhody. Metoda je citlivá na pH, teplotu a reakční čas, a proto je nutné pro spolehlivé výsledky přesně zvolit reakční stav. Další nevýhodou a hlavním problémem je, že použitá činidla mohou reagovat se sloučeninami nefenolického typu. Mezi takové látky patří například redukující cukry nebo aminokyseliny, čímž mohou být výsledky měření TPC nadhodnoceny [12].

4.2 Metody stanovení antioxidační aktivity

Existuje nespočet metod k vyhodnocení antioxidační aktivity. Teoreticky je lze rozdělit do tří kategorií. Rozsáhlou skupinu metod tvoří spektrometrie (ORAC, ABTS, DPPH), dále se využívají elektrochemické testy (voltametrie, amperometrie) a v neposlední řadě chromatografie, kam patří například vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC) s širokou možností detekce (UV-VIS, fluorometrická, elektrochemická nebo hmotností detekce) [12].

4.2.1 DPPH test

Test DPPH se běžně používá pro posouzení antioxidační aktivity rostlinných extraktů. DPPH, neboli 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl, je stabilní volný radikál s modrofialovou barvou. Metoda je založena na darování elektronů antioxidanty k neutralizaci DPPH radikálu. Ten má díky své struktuře možnost atom vodíku přijmout za vzniku stabilní diamagnetické molekuly DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Při reakci dochází ke změně

barvy (odbarvování), což lze považovat jako indikátor antioxidační aktivity. Stanovení je spektrofotometrické s využitím vlnové délky 517 nm [17].

I přesto, že je tato metoda technicky snadná a nevyžaduje speciální úpravu vzorku, mohou být výsledky hodnocení ovlivněny řadou faktorů. Mezi nejčastější patří druh a množství použitého rozpouštědla, přítomnost a koncentrace vodíkových a kovových iontů a v neposlední řadě záleží na čerstvosti připraveného činidla DPPH [17].

Nicméně hlavní nevýhodou je překrývající se spektrum sloučenin, které jsou pohlcovány ve stejném rozsahu vlnových délek jako DPPH. Mezi takové barevné antioxidanty patří např. antokyany. Lze tak raději použít elektronovou paramagnetickou spektroskopii (EPR), která přímo měří koncentraci DPPH radikálu a má výhodu při detekci vysoce zbarvených vzorků, ale i u vzorků, které jsou zakalené ve zvoleném rozpouštědle [17].

4.2.2 ABTS test

Metoda ABTS je další ze základních metod pro stanovení antioxidační aktivity. Její princip je založen na schopnosti zhaset radikálový kationt $ABTS^+$, neboli 2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát), jež je intenzivně zbarven do modrozelené barvy. Pro generaci $ABTS^+$ je nejběžněji využíván oxidant peroxodisíran draselný, ale lze využít i jiné silné oxidační činidla. Měření se provádí pomocí spektrofotometru při vlnové délce 734 nm a dochází ke snižování intenzity zbarvení v přítomnosti antioxidantů. Stupeň zbarvení záleží na délce trvání reakce, vnitřní antioxidační aktivitě a koncentraci vzorku. Hodnoty získané tímto testem se vyjadřují jako ekvivalenty troloxu. Radikál ABTS je rozpustný ve vodě i v organických rozpouštědlech, čehož lze využít při stanovení antioxidační aktivity jak hydrofilních, tak lipofilních sloučenin [12,17].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Cílem bakalářské práce byla charakteristika vybraných rostlin z čeledi růžovité a analýza jejich antioxidačních vlastností spektrofotometricky.

V teoretické části byla práce zaměřena na popis rostlin čeledi růžovité, především vybraných bylin (řepík lékařský, kontryhel obecný, jahodník obecný, ostružiník křovitý), jejich složení a zdravotní vlastnosti. Dále také charakteristika antioxidantů a jednotlivých metod pro stanovení antioxidačních vlastností, které byly v experimentální části využity.

V praktické části v rámci zkoumání antioxidačních vlastností bylo cílem u vybraných bylin stanovení celkového obsahu polyfenolů spektrofotometricky s využitím Folin-Ciocalteuova činidla a také stanovení jejich antioxidační aktivity spektrometrickou metodou s DPPH a ABTS činidlem.

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Rostlinný materiál

Pro realizaci praktické části byly použity následující vzorky čtyř druhů bylin z čeledi růžovité (řepík lékařský, kontryhel obecný, jahodník obecný a ostružiník křovitý), které byly získány z tržní sítě od několika českých výrobců, v celkovém počtu 17 vzorků. Vzorky bylin označené hvězdičkou byly extrahovány při jiné teplotě extrakce než zbývající vzorky.

Tabulka 1 Vzorky bylin

Označení		Druh byliny	Část byliny	Původ bylin
R1	R2	Řepík lékařský	nať	ČR
R3	R4			
R5	R5*			
K1	K2	Kontryhel obecný	nať	
K3	K4			
K5	K6			
K6*				
J1	J2	Jahodník obecný	list	
J3	J3*			
O1	O2	Ostružiník křovitý	list	
O3	O3*			

6.2 Použité chemikálie

- Demineralizovaná voda
- Folin-Ciocalteuovo činidlo, Penta s.r.o. ČR
- Uhličitan sodný 10% (Na_2CO_3), Lukeš, ČR
- Kyselina gallová, Sigma Aldrich, Francie
- DPPH, Sigma Aldrich, Francie
- Acetátový pufr, Lukeš, ČR
- Ethanol p.a., Penta s.r.o. ČR

- Kyselina askorbová, Fluka – Chemika, Švýcarsko
- ABTS, Sigma Aldrich, Francie
- Peroxodisíran draselný ($K_2S_2O_8$), Sigma Aldrich, Francie
- Trolox, Sigma Aldrich, Francie

6.3 Použité laboratorní přístroje a pomůcky

- Analytické váhy Voyager PRO VP214C, Ohaus, USA
- Homogenizátor Vortex CHS, ČR
- Spektrofotometr Libra S6 Biochrom, Velká Británie
- Filtrační papír KA 4, Papírna Perštejn, ČR
- Laboratorní sklo
- Teploměr

7 METODIKA STANOVENÍ

7.1 Příprava extraktů rostlin

Při přípravě extraktů rostlin byl v prvním kroku navážen 1 g vzorku sušených rostlin z čeledi růžovité s přesností na 0,0001 g. Byly to čtyři byliny, a to řepík lékařský, kontryhel obecný, jahodník obecný a ostružiník křovitý. Po navážení byl vzorek extrahován s 50 ml demineralizované vody o teplotě 100 °C (nebo demineralizovanou vodou o teplotě 70 °C), s občasným promícháním se louhoval 10 min. Po uplynutí této doby byl roztok zfiltrován a doplněn demineralizovanou vodou do 100 ml odměrné baňky. U bylin bylo před samotným měřením nutné ředění.

Připravené extrakty z rostlin byly využity pro stanovení obsahu polyfenolů i ke stanovení antioxidační aktivity, a to metodou DPPH i ABTS.

7.2 Stanovení obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Pro stanovení obsahu polyfenolů vybranou metodou [23] pomocí Folin-Ciocalteuova činidla, kterou jsme dle našich potřeb modifikovali, byla pipetována, do zkumavek pro přípravu vzorků daných bylin a slepého vzorku, reakční směs následujícího složení:

Vzorek:

- 2 ml 10 % roztoku Folin-Ciocalteuova činidla
- 0,2 ml extraktu byliny

Slepý vzorek:

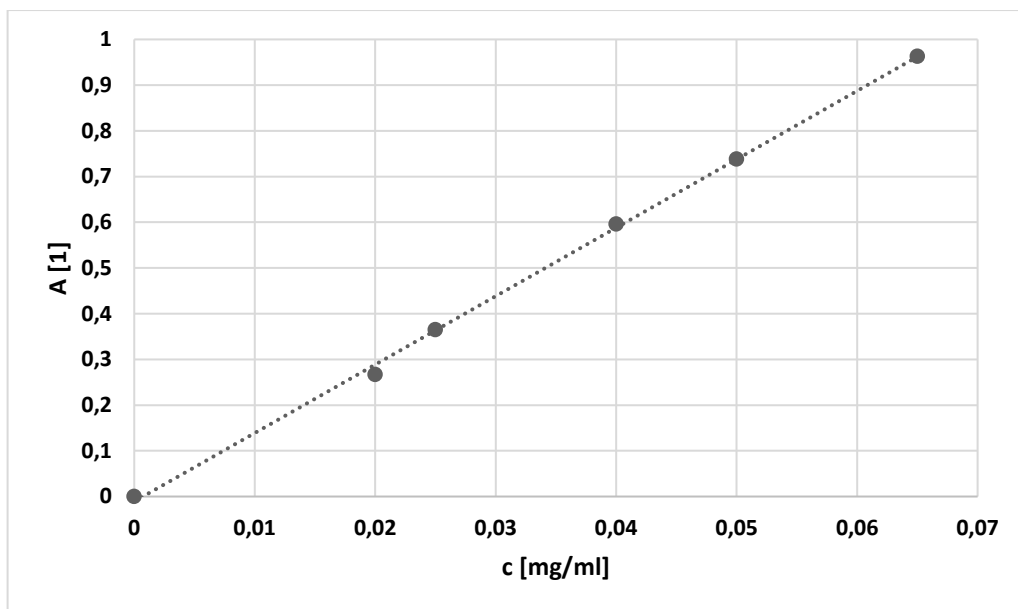
- 2 ml 10 % roztoku Folin-Ciocalteuova činidla
- 0,2 ml demineralizované vody

Tímto způsobem byly jednotlivé vzorky připravené ve zkumavkách, uzavřeny zátkou a důkladně promíchány na vortexu. Následně byly vloženy do tmy, kde byly ponechány při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Po uplynutí reakční doby byl do všech vzorků přidán 10%-ní roztok uhličitanu sodného v množství 2 ml. Opět byly všechny zkumavky řádně promíchány a ponechány ve tmě při laboratorní teplotě, po dobu 15 min. V průběhu probíhající reakce byly zkumavky se vzorky promíchány. Po uplynutí požadované doby reakce byla u všech vzorků změřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm.

Následně, ze zjištěných hodnot absorbance, byl celkový obsah polyfenolů ve vzorcích bylin přepočítán z rovnice kalibrační křivky pro standard kyseliny gallové a po převedení na původní hmotnost vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v miligramech na gram vzorku.

7.2.1 Kalibrační křivka standardu kyseliny gallové

Pro sestavení kalibrační křivky kyseliny gallové byla použita kalibrační řada roztoků o známých koncentracích – 0,02; 0,025; 0,04; 0,05; 0,065 mg/ml. Pro každou koncentraci byla změřena absorbance odpovídající těmto roztokům. Měření bylo provedeno na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm. Získané hodnoty byly poté vyneseny do grafu a byla sestavena kalibrační křivka jako závislost změřené absorbance na koncentraci kalibračního roztoku kyseliny gallové.



Obrázek 5 - Kalibrační křivka kyseliny gallové

Rovnice lineární regrese kalibrační křivky kyseliny gallové:

$$y = 14,969x - 0,0108$$

y – absorbance A [1]

x – koncentrace standardu kyseliny gallové c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9989$

7.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Pro stanovení antioxidační aktivity spektrometrickou metodou s DPPH činidlem [23], kterou jsme dle našich potřeb modifikovali, byla do zkumavek pro přípravu vzorků daných bylin, slepého vzorku a kontrolního vzorku, pipetována reakční směs následujícího složení:

Vzorek:

- 3,8 ml etanolového roztoku DPPH
- 2 ml acetátového pufru o pH = 5,5
- 0,2 ml extraktu byliny

Slepý vzorek:

- 3,8 ml etanolu
- 2 ml acetátového pufru o pH = 5,5
- 0,2 ml extraktu byliny

Kontrolní vzorek:

- 3,8 ml etanolového roztoku DPPH
- 2 ml acetátového pufru o pH = 5,5
- 0,2 ml demineralizované vody

Tímto způsobem byly připravené roztoky ve zkumavkách uzavřeny zátkou a důkladně promíchány na vortexu. Následně vloženy do tmy, kde byly ponechány při laboratorní teplotě po dobu 1 h. V průběhu probíhající reakce byly zkumavky promíchány. Po uplynutí dané doby reakce byla u všech roztoků změřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 517 nm.

Následně, ze zjištěných hodnot absorbance vzorku s extraktem byliny a kontrolního vzorku, byla vypočtena hodnota inaktivace.

Hodnota inaktivace I (%) byla vypočtena dle vztahu (1):

$$I = \frac{K - A}{K} \cdot 100 \quad (1)$$

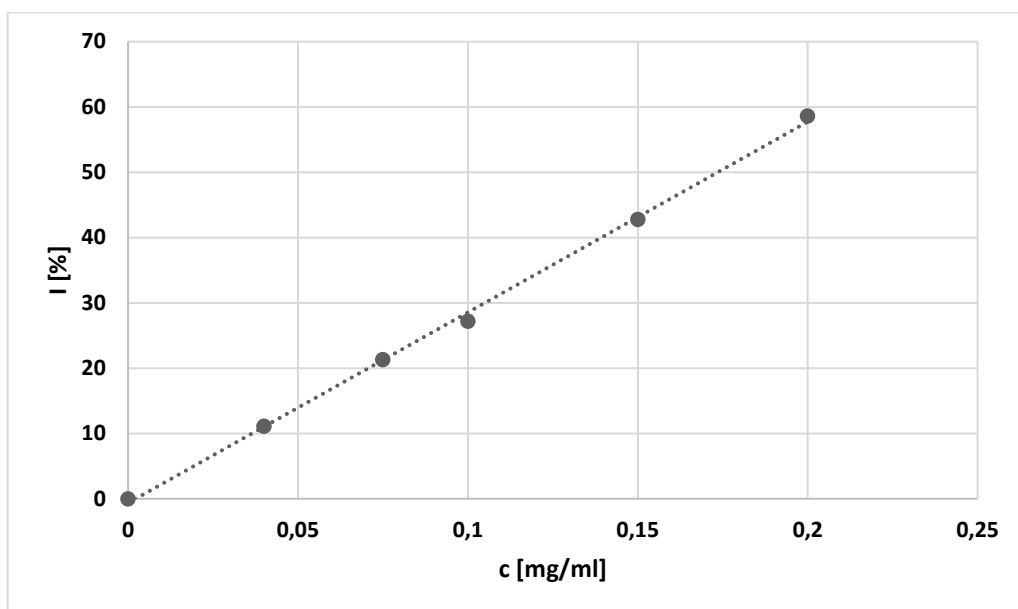
K – absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 517 nm

A – absorbance vzorku s extraktem byliny při vlnové délce 517 nm

Z vypočtených hodnot inaktivace byla stanovená antioxidační aktivita ve vzorcích bylin přepočítána z rovnice kalibrační křivky pro standard kyseliny askorbové a po přepočtu na původní hmotnost vyjádřena jako ekvivalent kyseliny askorbové v miligramech na gram vzorku.

7.3.1 Kalibrační křivka standardu kyseliny askorbové

Pro sestavení kalibrační křivky kyseliny askorbové byla použita kalibrační řada roztoků o koncentracích – 0,04; 0,075; 0,1; 0,15; 0,2 mg/ml. Pro každou koncentraci byla změřena absorbance odpovídající těmto roztokům. Měření bylo provedeno na spektrofotometru při vlnové délce 517 nm. Získané hodnoty byly poté přepočítány na procenta inaktivace a vyneseny do grafu. Kalibrační křivka byla sestavena jako závislost vypočtených hodnot inaktivace na koncentraci kalibračního roztoku kyseliny askorbové.



Obrázek 6 - Kalibrační křivka kyseliny askorbové

Rovnice lineární regrese kalibrační křivky kyseliny askorbové:

$$y = 291,87x - 0,6512$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – koncentrace standardu kyseliny askorbové c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9986$

7.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Pro stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS činidlem [23], která byla dle potřeb modifikována, byly ve zkumavkách přichystány roztoky bylin, slepého vzorku a kontrolního vzorku, které měly následující složení:

Vzorek byliny:

- 8 ml reakční směsi
- 100 μ l extraktu byliny

Slepý vzorek:

- Octanový pufr o pH = 4,3

Reakční směs (kontrolní vzorek):

- Roztok ABTS o koncentraci 3,5 mM a roztok peroxodisíranu draselného o koncentraci 60 mM v poměru 50:1. Takto připravený roztok byl vložen do tmy, kde byl ponechán při laboratorní teplotě po dobu 16 hodin.
- Octanový pufr o pH = 4,3, který byl po uplynutí požadované doby reakce smíchán s roztokem vygenerovaného radikálu ABTS v poměru 39:1.

Tímto způsobem byly připravené jednotlivé roztoky ve zkumavkách, uzavřeny zátkou a důkladně promíchány na vortexu. Následně byly vloženy do tmy, kde byly ponechány při laboratorní teplotě po dobu 30 min. V průběhu probíhající reakce byly zkumavky promíchány. Po uplynutí požadované doby reakce byla u všech roztoků změřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 734 nm.

Ze zjištěných hodnot absorbance vzorku s extraktem byliny a kontrolního vzorku byla vypočtena hodnota inaktivace.

Hodnota inaktivace I (%) byla vypočtena dle vztahu (2):

$$I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (2)$$

A_0 – absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 734 nm

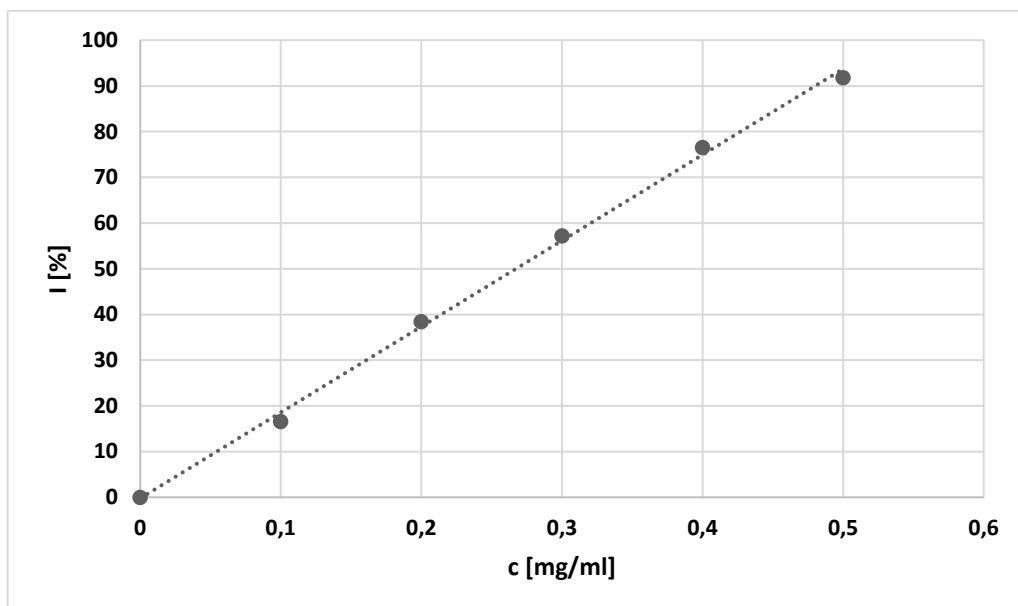
A_1 – absorbance vzorku s extraktem byliny při vlnové délce 734 nm

Ze získaných hodnot inaktivace byla dále vypočtena antioxidační aktivita (AA) ve vzorcích bylin. Výpočet byl proveden z rovnice kalibrační křivky pro standard troloxu a po přepočtu

na původní hmotnost byla AA vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

7.4.1 Kalibrační křivka standardu troloxu

Pro sestavení kalibrační křivky troloxu byla použita kalibrační řada roztoků o zvolených koncentracích – 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 mg/ml. Pro každou koncentraci byla změřena absorbance odpovídající těmto roztokům. Měření bylo provedeno na spektrofotometru při vlnové délce 734 nm. Naměřené hodnoty absorbance byly poté přepočteny na procenta inaktivace a vyneseny do grafu. Kalibrační křivka byla sestavena jako závislost vypočtených hodnot inaktivace na koncentraci kalibračního roztoku troloxu.



Obrázek 7 - Kalibrační křivka troloxu

Rovnice lineární regrese kalibrační křivky troloxu:

$$y = 187,86x - 0,2143$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – koncentrace standardu troloxu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,998$

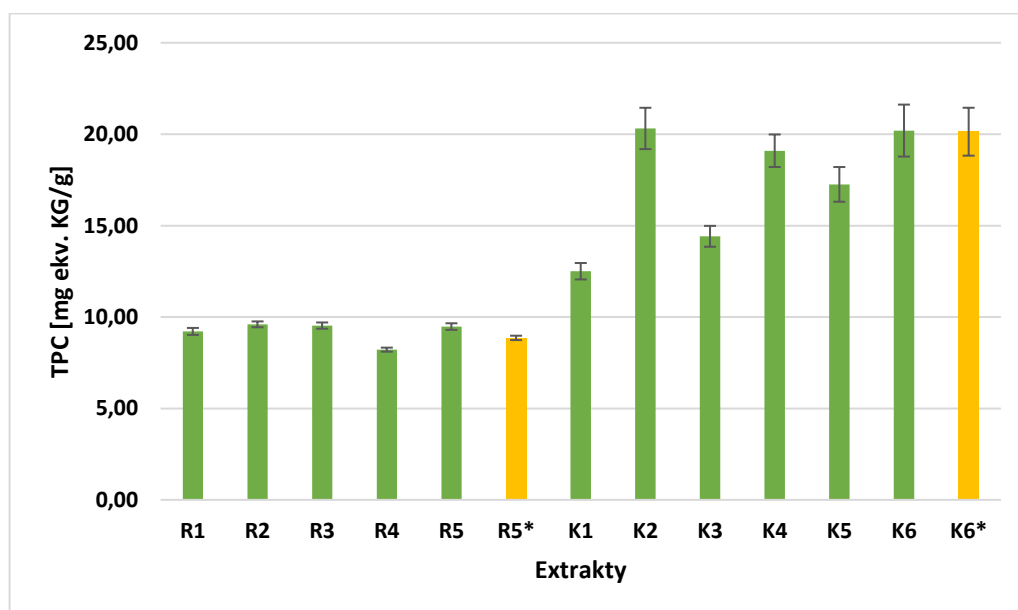
8 VÝSLEDKY

V práci byly hodnoceny čtyři druhy sušených bylin čeledi *Rosaceae* (řepík lékařský, kontryhel obecný, jahodník obecný, ostružiník křovitý) od šesti výrobců, v celkovém počtu 17 vzorků, ze kterých bylo připraveno 17 extraktů při teplotě 100 °C a 4 extrakty při teplotě 70 °C. Následně byly u získaných extraktů provedeny analýzy jejich antioxidačních vlastností, konkrétně stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH a ABTS, a také stanovení množství polyfenolů metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem.

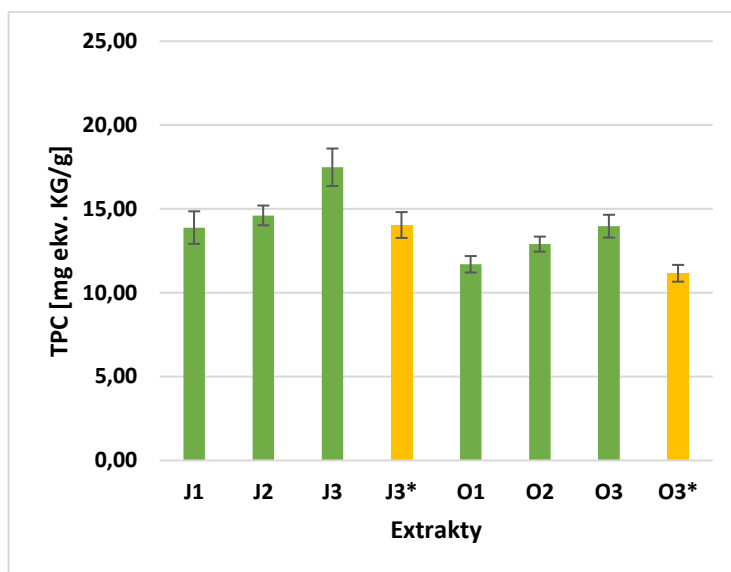
8.1 Stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Celkové množství polyfenolických látek (TPC) ve vzorcích bylin bylo stanoveno spektrofotometrickou metodou s využitím Folin-Ciocalteuova reaktantu. Kompletní postup provedení metody je uveden v kapitole 7.2. Měření bylo postupně provedeno pro každou rostlinu, a to řepík lékařský (R1-R5), kontryhel obecný (K1-K6), jahodník obecný (J1-J3) a ostružiník křovitý (O1-O3). Od každé byliny byl vzorek s nejvyšší hodnotou extrahován také při nižší teplotě (R5*, K6*, J3*, O3*).

Výsledné hodnoty stanovení celkového obsahu polyfenolů (TPC) jsou zobrazeny na obrázku 8 pro řepík lékařský a kontryhel obecný, a na obrázku 9 pro jahodník obecný, ostružiník křovitý.



Obrázek 8 - Hodnoty TPC u rostlin čeledi růžovité (řepík lékařský, kontryhel obecný)



Obrázek 9 - Hodnoty TPC u rostlin čeledi růžovité (jahodník obecný, ostružiník křovitý)

Z výsledků uvedených na obrázku 8 a 9 je patrné, že nejnižší koncentrace polyfenolických látek u daných vzorků byla naměřena u řepíku, kde se pohybovala v rozmezí 8,2-9,6 mg ekv. KG/g, v průměru 9,2 mg ekvivalentu kyseliny gallové (KG)/g. Následovaly obsahově vzorky ostružiníku a jahodníku s průměry hodnot 12,9 mg ekv. KG/g pro *Rubus fruticosus* a 15,3 mg ekv. KG/g pro *Fragaria vesca*. Rozsah hodnot TPC pro tyto byliny byl 11,7-14,0 a 13,9-17,5 mg ekv. KG/g. Nejvyšší obsah celkových polyfenolů byl u vzorků kontryhelu, průměrně 17,3 mg ekv. KG/g, kde jednotlivé vzorky koncentračně kolísaly v rozmezí 12,5-20,3 mg ekv. KG/g, s nejvyšší hodnotou u poloviny těchto vzorků kolem 20 mg ekv. KG/g. Pro porovnání byly vždy pro vzorky s nejvyššími hodnotami TPC u každé byliny hodnoceny i vzorky připravené po extrakci při nižší teplotě, konkrétně při 70 °C, v grafu jsou vidět jako sloupce žluté barvy. U řepíku a kontryhelu byly změny minimální, pokles hodnot byl u jahodníku a ostružiníku, kdy se hodnota TPC s teplotou snižuje průměrně o 20 %.

Muruzović a kol. [13] zkoumali celkový obsah fenolů metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem v *A. eupatoria* čtyřmi různými extrakčními metodami. Nejvyšší obsah stanovili v acetonovém extraktu připraveném z kvetoucí nati, kde množství fenolů bylo 220,3 mg ekv. KG/g extraktu. Nejnižší obsah byl stanoven v dietyléterovém roztoku, což bylo 19,6 mg ekv. KG/g extraktu. V etanolovém a vodném roztoku byl obsah stanoven na 123,9 a 118,5 mg ekv. KG/g extraktu, přibližně polovina oproti nejvyššímu množství. Tyto hodnoty jsou o dost vyšší, než jsou zjištěné hodnoty řepíku v téhle práci. Je to nejspíše dáno rozdílnými extrakčními metodami a použitými rozpouštědly.

Kubínová a kol. [10] porovnávali několik bylin rodu *Agrimonia* s výsledkem, že nejvyšší obsahové množství polyfenolů, ze zkoumaných druhů, bylo zjištěno ve vodním extraktu *Agrimonia procera*, 104,8 mg ekv. KG/g, což je o 31 % více než u *Agrimonia eupatoria*. *Agrimonia eupatoria* má z pěti zvolených druhů druhý nejnižší obsah celkových polyfenolů ve vodném roztoku, a to 72,4 mg ekv. KG/g. Hodnota TPC zjištěná těmito vědci je vyšší než v námi stanovovaných vodných roztocích řepíku.

Kvantitativní analýzu celkových polyfenolů provedli Benedec a kol. [1], jež pro své měření využili tři vzorky *Alchemilla vulgaris* od rumunských společností ve formě léčivých čajů. Jejich zjištěním byla nejvyšší koncentrace polyfenolů v jednom vzorku 77,8 mg ekv. KG/g, zatímco další dva vzorky vykazovaly koncentraci nižší.

Celkový obsah polyfenolů *A. vulgaris* stanovili Vlasisavljević a kol. [22] modifikovanou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem. S pomocí několika testů *in vitro* stanovili celkové množství u vodného roztoku na 6,9 mg ekv. KG/g. Nejvyšší obsahová koncentrace sloučenin polyfenolů byla zjištěna v etylacetátovém extraktu, a to konkrétně 9,7 mg ekv. KG/g.

Ivanov a kol. [6] si připravili pro porovnání obsahu polyfenolů dva vodné extrakty byliny *Fragaria vesca* (infúzní a dekokční). Po provedení všech měření zjistili, že dekokční extrakt měl vyšší obsah polyfenolů, a to 39-46 mg ekv. KG/g, zatímco v infuzním extraktu se množství pohybovalo v rozmezí 28-37 mg ekv. KG/g sušiny.

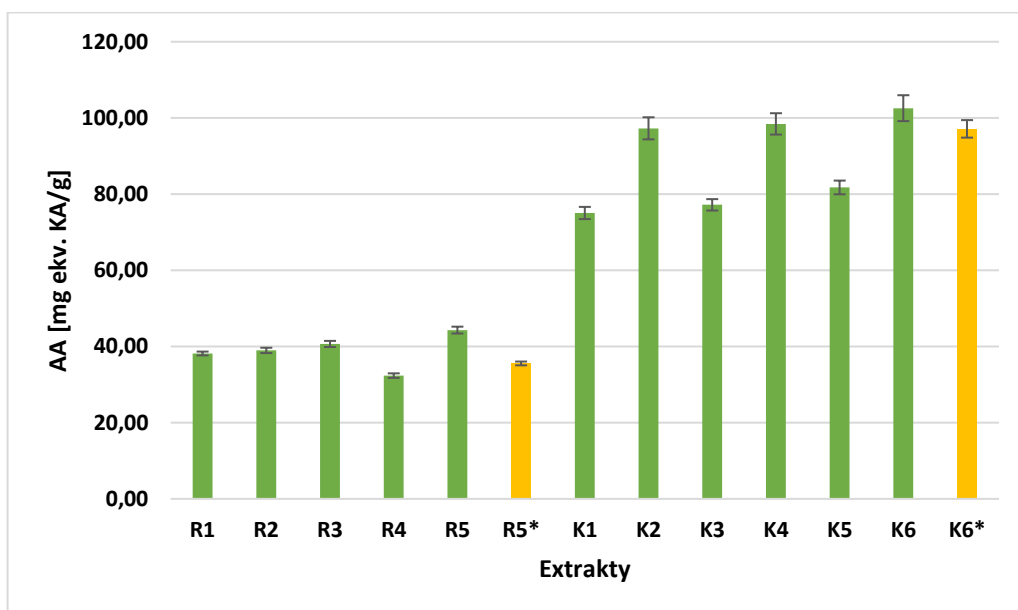
Buricova a kol. [Bur] měřením s využitím Folin-Ciocalteuova činidla ve vodních extraktech z listů rostliny *Fragaria vesca* čeledi *Rosaceae*, stanovili vyšší obsah polyfenolů, 62,4 mg ekv. KG/g. Obsah polyfenolů pro listové výtažky z *Rubus fruticosus* byl stanoven na vyšší hodnotu, 75,4 mg ekv. KG/g. Oproti výsledným hodnotám v této práci jsou jejich hodnoty vyšší, což lze připsat odlišným extrakčním metodám.

Pavlović a kol. [14] zkoumali množství celkových fenolických látek v listových výtažcích *Rubus fruticosus* za použití Folin-Ciocalteuova reaktantu. Listy byliny pěstované v Srbsku, se vyznačovaly vysokým obsahem polyfenolů, výsledná hodnota byla 132,9 mg ekv. KG/g sušiny. Vyšší výsledek je nejspíše dán použitou modifikovanou metodou, odlišnou přípravou extraktů nebo zkoumaným kultivarem.

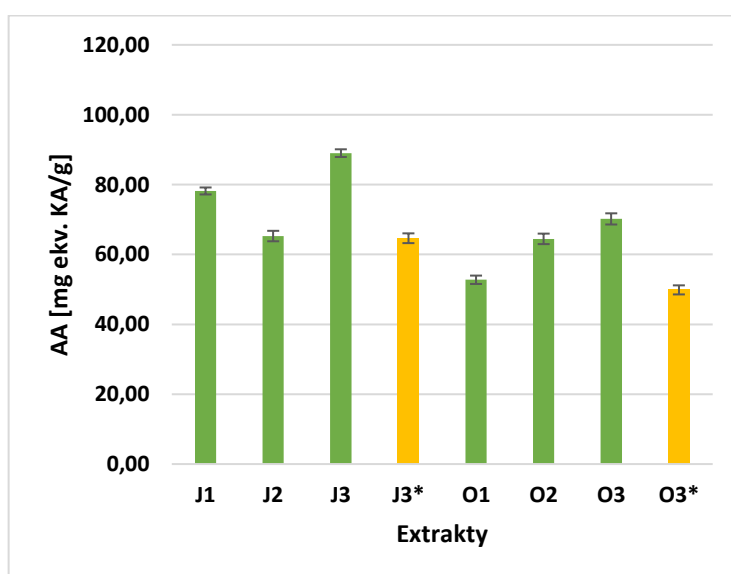
8.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH činidlem

První vyhodnocení antioxidační aktivity (AA) bylo provedeno metodou s využitím DPPH činidla. Postup přípravy jednotlivých vzorků a následného měření AA je uveden v kapitole 7.3. Měření bylo provedeno pro 21 extraktů připravených ze čtyř vybraných rostlin.

Výsledné hodnoty antioxidační aktivity (AA) stanovené metodou DPPH jsou zobrazeny na obrázku 10 (řepík lékařský a kontryhel obecný) a 11 (jahodník obecný, ostružiník křovitý).



Obrázek 10 - Hodnoty AA (metoda DPPH) u rostlin čeledi růžovité (řepík lékařský, kontryhel obecný)



Obrázek 11 - Hodnoty AA (metoda DPPH) u rostlin čeledi růžovité (jahodník obecný, ostružiník křovitý)

Porovnáním hodnot AA (DPPH) na obrázcích 10 a 11 je vidět, že nejnižší zjištěná hodnota antioxidační aktivity byla opět u extraktu řepíku, kde dosahovala v průměru pouhých 38,8 mg ekvivalentu kyseliny askorbové (KA)/g, a pohybovala se v rozmezí od 32,3 do 44,3 mg ekv. KA/g. Vyšších průměrných hodnot AA dosahovaly extrakty z ostružiníkových a jahodníkových listů, konkrétně s průměry u ostružiníku 62,5 a jahodníku 77,5 mg ekv. KA/g. Rozsah naměřených hodnot byl u obou bylin v uvedeném pořadí v intervalu 52,7-70,2 a 65,3-89,0 mg ekv. KA/g. Nejvíce kolísaly zjištěné hodnoty u jednotlivých vzorků kontryhelu, kde byly v rozmezí od 75,1 až do 102,6 mg ekv. KA/g. U tří kontryhelových vzorků se vypočtená hodnota pohybovala okolo 100 mg ekv. KA/g a výsledná průměrná hodnota zde byla, ze všech vybraných bylin, nejvyšší, a to 88,7 mg ekv. KA/g.

I zde bylo ke srovnání provedeno měření při nižší teplotě (70 °C) pro vzorky s nejsilnější AA u každé byliny. U kontryhelu byl pokles AA s teplotou slabší, 5 %. U řepíku byl rozdíl teplot při extrakci již znatelnější, neboť dosahoval 20 %. Nejvyšší rozdíl byl opět viditelný u jahodníku a ostružiníku, kde bylo prokázáno, že stejně jako u TPC, tak i hodnota antioxidační aktivity se s teplotou snižuje, a to v průměru o 28 %. Sloupce hodnot s nižší teplotou byly odlišeny žlutou barvou.

Autoři Muruzović a kol. [13] testovali extrakty *A. eupatoria* v rozmezí různých koncentrací od 7,8 µg/ml do 250 µg/ml. Antioxidační aktivita byla nejvyšší u extraktu z acetonu a pohybovala se v rozmezí od 97,1 % do 27,7 %. Významná byla i AA u extraktů z vody a etanolu. Extrakt z dietyléteru měl AA suverénně nejnižší, od 53,1 % do 14,3 %. Výsledky dále porovnali s vitamínem C, čímž dospěli k názoru, že vyšší koncentrace extraktu z acetonu a vitamínu C fungují podobným způsobem.

Benedec a kol. [1] provedli pro vyhodnocení AA tří extraktů *A. vulgaris* test DPPH. Zjištěním bylo, že celkový obsah polyfenolů souvisí s antioxidační aktivitou, takže extrakt s nejvyšším obsahem polyfenolů (kap. 8.1) vykazoval i nejvyšší AA – 57,6 %. Dva zbylé extrakty měly nižší hodnoty, což může být způsobeno faktory před sklizní (genotyp, doba sklizně), a také po sklizni (sušení, skladování, způsob extrakce).

Vlaisavljević a kol. [22] ve své studii provedli několik testů antioxidační aktivity u byliny *Alchemilla vulgaris* a stejně jako Benedec a kol. [BE] potvrdili, že celkový obsah fenolových látek silně koreluje s AA. Etylacetátový extrakt by tudíž i zde měl být zdůrazněn, neboť vykazoval nejvyšší antioxidační aktivitu.

Cílem práce Buricova a kol. [3] bylo srovnání českých léčivých rostlin s ohledem na jejich antioxidační aktivitu. AA byla zjišťována ve vodních a etanolových extraktech byliny *Fragaria vesca* pomocí testu s využitím DPPH činidla, obvykle používaného v tomto typu screeningové studie. Stanovená hodnota AA byla u vodného roztoku 121,6 mg ekv. KA/g a u etanolového roztoku 33,6 mg ekv. KA/g. Stanovené AA byly na závěr srovnány s AA zeleného čaje, který je známý jako jeden z nejbohatších zdrojů přírodních antioxidantů. Ve vodních extraktech zeleného čaje byla zjištěna vyšší AA, než byla zjištěná z rostlin použitých v této analýze.

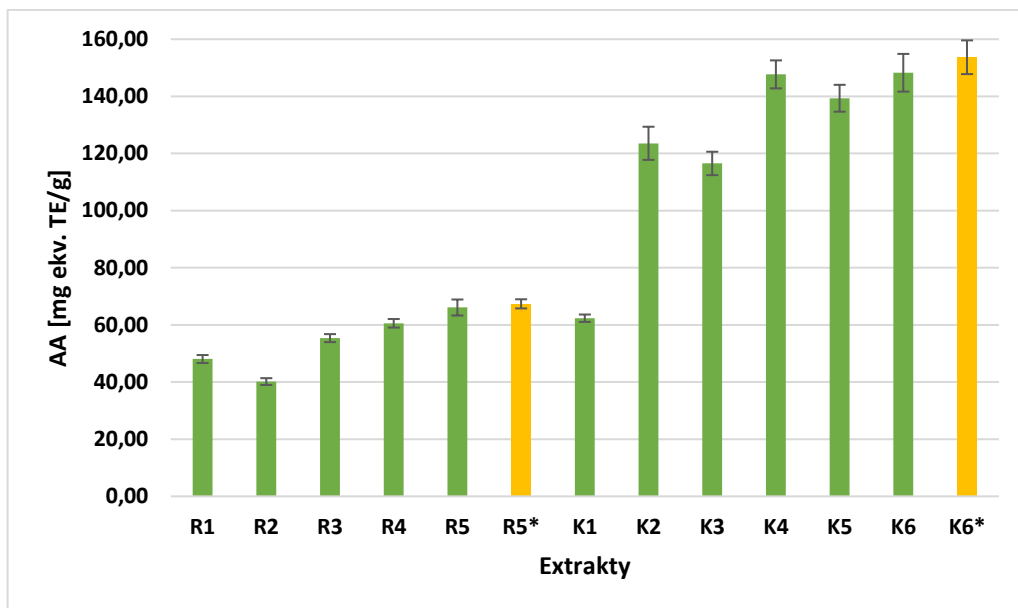
Buricova a kol. [3] dále stanovili i antioxidační aktivitu u vodného výtažku z ostružiníkových listů, konkrétní hodnota byla 114,8 mg ekv. KA/g a u etanolového extraktu z listů *Rubus Fruticosus* 30,1 mg ekv. KA/g.

Celková antioxidační aktivita byla měřena metodou DPPH autory Buricova a kol. [2]. Ve vodním výtažku z jahodových listů byla AA stanovena na 110,1 mg ekv. KA/g. V rámci práce bylo stanovení provedeno i ve vodním extraktu z listů rostliny *Rubus fruticosus*, kde byla zjištěná hodnota vyšší – 125,2 mg ekv. KA/g. Hodnota u ostružiníku je v průměru až o 50 % vyšší než v případě průměrné hodnoty našeho stanovení. AA obecně závisí na použité metodě a ani výsledky získané stejnou metodou nemusí být podobné, neboť záleží na použitých rozpouštědlech, standardech kalibrace atd. Je ale zřejmé, že jahodové i ostružinové listy vykazují velmi dobrou antioxidační aktivitu.

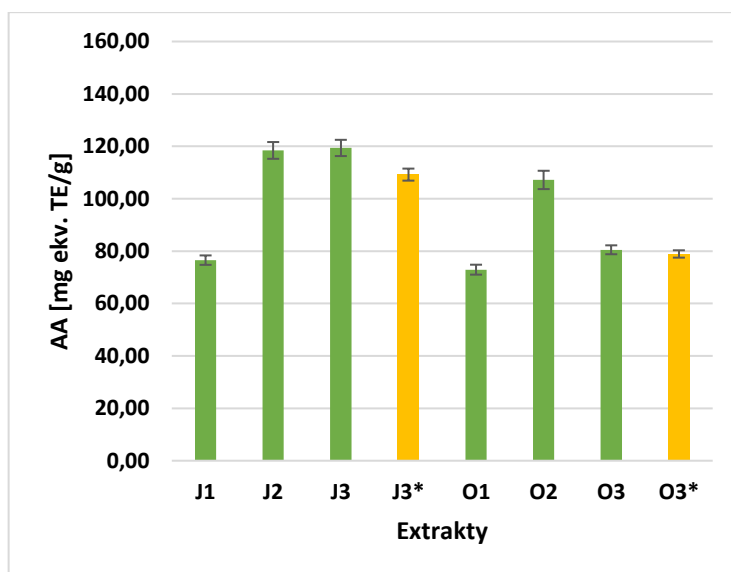
8.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS činidlem

Pro porovnání zjištěné AA (metodou DPPH) byla využita další spektrofotometrická metoda vhodná ke stanovení antioxidační aktivity, s ABTS činidlem. Způsob provedení práce a jednotlivé kroky charakteristické pro tuto metodu byly popsány v kapitole 7.4. I zde byly využity vzorky čtyř bylin, celkem 21 vzorků.

Naměřené hodnoty antioxidační aktivity, stanovené metodou ABTS, jsou zobrazeny na obrázku 12 (řepík lékařský a kontryhel obecný) a na obrázku 13 (jahodník obecný, ostružiník křovitý).



Obrázek 12 - Hodnoty AA (metoda ABTS) u rostlin čeledi růžovité (řepík lékařský, kontryhel obecný)



Obrázek 13 - Hodnoty AA (metoda ABTS) u rostlin čeledi růžovité (jahodník obecný, ostružiník křovitý)

Na obrázku 12 a 13 je zobrazena antioxidační aktivita (AA) jednotlivých rostlin, měřená spektrometrickou metodou s ABTS činidlem. I v tomto případě bylo u kontryhelu zjištěno, že z námi vybraných bylin má nejsilnější antioxidační vlastnosti. Konkrétně zde dosahovala průměrná hodnota AA *Alchemilla vulgaris* 123,0 mg ekvivalentu troloxu (TE)/g. Významných průměrných hodnot dosahovaly i jahodník a ostružiník. Nejslabší antioxidační aktivitu měl opět řepík lékařský, jehož výsledný průměr AA zde byl 54,0 mg ekv. TE/g, což

je o 56 % slabší antioxidační aktivita, zjištěná metodou ABTS, než měl nejsilnější kontryhel obecný.

Při měření AA touto metodou je patrný vliv extrakce s nižší teplotou pouze u jahodníku obecného, kde došlo s nižší teplotou k poklesu AA o 8,5 %. Mírný pokles byl zjištěn i u ostružiníku křovitého, ale o pouhé 2 %. U řepíku a kontryhelu došlo k minimální změně.

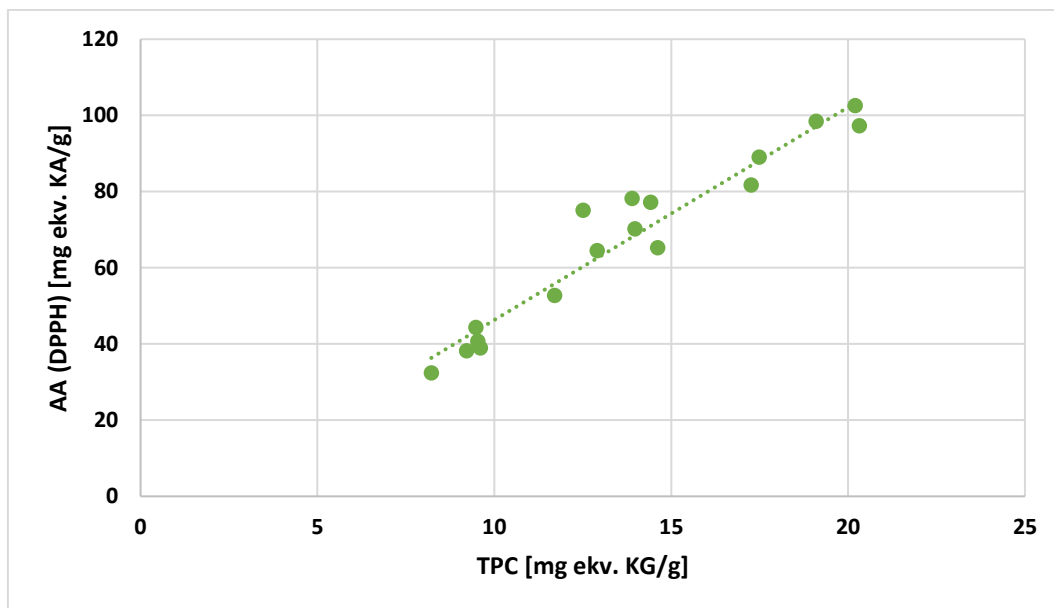
Tusevski a kol. [19] zkoumali AA různých makedonských rostlin, z nichž jedna byla z čeledi růžovité, řepík, *Agrimonia eupatoria*. U rostlinného extraktu byla antioxidační aktivita zkoumána několika metodami, i metodou ABTS. Metodou ABTS byla AA stanovena na hodnotu 504,7 $\mu\text{mol TE/g}$.

Vlaisavljević a kol. [22] provedli test s využitím ABTS u čtyř různých extraktů kontryhelu, *Alchemilla vulgaris*. Zjistili, že nejvyšší antioxidační aktivity dosahuje etylacetátový extrakt s hodnotou 174,0 mg ekv. TE/g. Následoval metanolový a etanolový extrakt s hodnotami 143,5 a 119,6 mg ekv. TE/g. Extrakt s vodou vykazoval, ve srovnání s ostatními, velmi nízkou AA, v průměru až o 74 %.

8.4 Korelace mezi hodnotami celkového obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity

Abychom mohli porovnat vzájemný vliv obou zkoumaných antioxidačních vlastností, byla provedena korelační analýza.

Korelace vytvořena pro antioxidační aktivitu zjištěnou metodou DPPH a celkovým obsahem polyfenolů je uvedena na obrázku 14. V druhém grafu (obrázek 15) je zobrazena korelace mezi antioxidační aktivitou zjištěnou metodou ABTS a celkovým obsahem polyfenolů. Obě získané závislosti byly sestaveny pro vzorky extrahované teplotou 100 °C.



Obrázek 14 - Korelační závislost hodnot AA (DPPH) a TPC

Rovnice korelační závislosti hodnot AA (DPPH) a TPC:

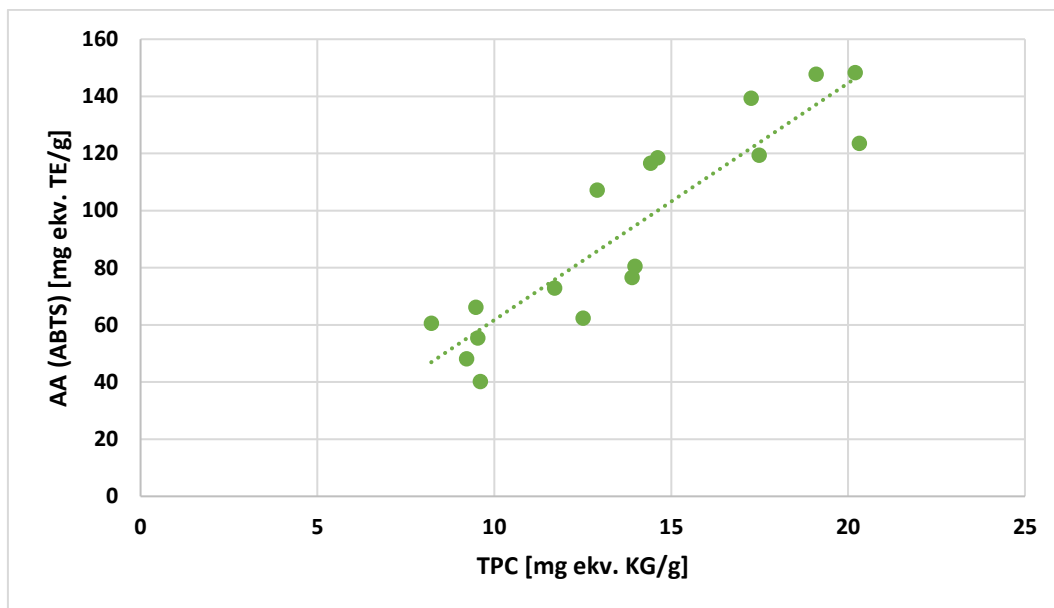
$$y = 5,5851x - 9,5599$$

y – antioxidační aktivita AA [mg ekv. KA/g]

x – celkový obsah polyfenolů TPC [mg ekv. KG/g]

Korelační koeficient: 0,9661

Jelikož míru korelace určuje korelační koeficient, lze z dané hodnoty říci, že se jedná o významnou kladnou lineární korelaci, tedy množství polyfenolických látek přítomných v extraktu byliny ovlivňuje jejich antioxidační aktivitu, kdy s rostoucím množstvím polyfenolů se u daných extraktů zvyšuje i antioxidační aktivita.



Obrázek 15 - Korelační závislost hodnot AA (ABTS) a TPC

Rovnice korelační závislosti hodnot AA (ABTS) a TPC:

$$y = 8,2908x - 21,193$$

y – antioxidační aktivita AA [mg ekv. TE/g]

x – celkový obsah polyfenolů TPC [mg ekv. KG/g]

Korelační koeficient: 0,9076

V případě druhé závislosti, AA (ABTS) s TPC, je sice korelační koeficient nižší než v případě vztahu AA (DPPH) s TPC, i přes to se zde také jedná o významnou kladnou lineární korelaci, a i v tomto hodnocení se hodnoty navzájem ovlivňují, kdy se zvyšujícím množstvím polyfenolů u daných extraktů se zvyšuje i antioxidační aktivita.

ZÁVĚR

Byliny od nepaměti patří k vyhledávaným zdrojům léčivých látek, jejichž výhodou je snadná dostupnost z přírody. Čeleď *Rosaceae* nabízí velké množství léčivých rostlin, bylin, ale i ovocné dřeviny nebo keře a jejich plody, nať i listy, které jsou často zdraví prospěšné. Asi sto druhů této čeledi je běžně pěstováno na území České republiky. K známým a důležitým zástupcům této čeledi patří maliník, jabloň, jeřáb, švestka, hrušeň, mandloň, meruňka. Vybrané rostliny pro tuto práci (řepík, kontryhel, jahodník, ostružiník) patří k významným i kvůli jejich zdravotním účinkům. Řepík podporuje správnou činnost žlučníku a jater, pomáhá v regulaci metabolismu tuků a cholesterolu v těle, má protizánětlivé účinky. Kontryhel díky obsahu přírodních hormonů pomáhá při různých ženských obtížích. Jahodníkové listy jsou silnou drogou s močopudnými a protizánětlivými účinky. Ostružiník působí močopudně, používá se při problémech s kašlem, i proti průjmům.

Cílem této práce bylo určit množství polyfenolických látek (TPC) metodou s využitím Folin-Ciocalteuova činidla a antioxidační aktivitu (AA) metodou s DPPH a ABTS činidly ve vodných extraktech čtyř vybraných bylin (řepík lékařský, kontryhel obecný, jahodník obecný, ostružiník křovitý), s celkovým počtem 21 extraktů sušených rostlin od několika producentů z České republiky.

Z výsledků je patrné, že zvolená teplota extrakce má vliv na TPC i AA, kdy jejím snížením dochází k slabší extrakci polyfenolických látek, což se projeví i nižšími hodnotami antioxidační aktivity. To bylo v největší míře pozorováno u jahodníku a ostružiníku, se snížením hodnot až o 20 %.

Kontryhel obecný měl nejvyšší obsahové zastoupení TPC i AA. Mírně nižší hodnoty byly stanoveny u jahodníku a ostružiníku, a nejnižší hodnoty měl řepík lékařský, u něj byly výsledné hodnoty TPC a AA sníženy až o 45 %, při porovnání s kontryhelem. Vliv na konečné hodnoty má řada faktorů, zejména při pěstování mohou hrát podstatnou roli klimatické a půdní podmínky, doba sklizně, použitá část byliny nebo i samotné skladování.

Provedením korelační závislosti mezi hodnotami TPC a AA byly zjištěny významné kladné lineární korelace, kdy množství polyfenolických látek přítomných v extraktu byliny ovlivňuje jejich antioxidační aktivitu, a s rostoucím množstvím polyfenolů se u daných extraktů zvyšuje i antioxidační aktivita. Proto lze konstatovat, že polyfenolické látky mají velký podíl na celkové antioxidační aktivitě.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BENEDEC, Daniela, Daniela HANGANU, Diana Elena OŞAN, Iliora ONIGA. Preliminary Research On Some *Alchemilla vulgaris* L. Medicinal Teas. *Hop and Medicinal Plants*. 2021, **29**(1-2), 245-257. ISSN 2360-0187.
- [2] BURICOVA, Lucie, Mirjana ANDJELKOVIC, Anna CERMAKOVA, Zuzana REBLOVA, Ondrej JURCEK, Erkki KOLEHMAINEN, Roland VERHE a Frantisek KVASNICKA. Antioxidant capacities and antioxidants of strawberry, blackberry and raspberry leaves. *Czech Journal of Food Sciences*. 2011, **29**(2), 181-189.
- [3] BURICOVA, Lucie a Zuzana REBLOVA. Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech Journal of Food Sciences*. 2008, **26**, 132-138.
- [4] CROZIER, Alan, Michael N. CLIFFORD, Hiroshi ASHIHARA, 2006: *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- [5] Gülçin, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*. 2012, **86**, 345–391. doi:10.1007/s00204-011-0774-2
- [6] IVANOV, Ivan a Nadezhda PETKOVA. Polyphenols content and antioxidant activities in infusion and decoction extracts obtained from *Fragaria vesca* L. leaves. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*. 2015, **19**, 145-148. ISSN 2285-1372.
- [7] JANČA, Jiří a Josef A. ZENTRICH. *Herbář léčivých rostlin 2*. Praha: Eminent, 1995. ISBN 978-80-7281-368-1.
- [8] JANČA, Jiří a Josef A. ZENTRICH. *Herbář léčivých rostlin 3*. Praha: Eminent, 1995. ISBN 978-80-7281-377-3.
- [9] JANČA, Jiří a Josef A. ZENTRICH. *Herbář léčivých rostlin 4*. Praha: Eminent, 1996. ISBN 978-80-7281-378-0.
- [10] KUBÍNOVÁ, Renata, Dagmar JANKOVSKÁ a Veronika BAUEROVÁ. Antioxidant and α -glucosidase inhibition activities and polyphenol content of five species of *Agrimonia* genus. *Acta fytotechnica et zootechnica*. 2012, **2**, 38-41.
- [11] MISHRA, Rojita a Satpal Singh BISHT, 2011. Antioxidants and their charecterization. *Journal of Pharmacy Research*. **4**(8), 2744-2746. ISSN 0974-6943.

- [12] MUNTEANU, Irina Georgiana a Constantin APETREI, 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. **22**(7), 3380. doi:10.3390/ijms22073380
- [13] MURUZOVIĆ, Mirjana Ž., Katarina G. MLADENOVIĆ, Olgica D. STEFANOVIĆ, Sava M. VASIĆ a Ljiljana R. ČOMIĆ, 2016. Extracts of Agrimonia eupatoria L. as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. *Journal of Food and Drug Analysis*. **24**(3), 539-547. ISSN 10219498. doi:10.1016/j.jfda.2016.02.007
- [14] PAVLOVIĆ, Aleksandra V., Adele PAPETTI, Dragana Č. Dabić ZAGORAC, Uroš M. GAŠIĆ, Danijela M. MIŠIĆ, Živoslav Lj. TEŠIĆ a Maja M. NATIĆ. Phenolics composition of leaf extracts of raspberry and blackberry cultivars grown in Serbia. *Industrial Crops and Products*. 2016,**87**, 304-314. ISSN 09266690. doi:10.1016/j.indcrop.2016.04.052
- [15] PILÁT, Albert. *Atlas rostlin*. 6. vyd. Ilustroval Otto UŠÁK. Praha: SPN, 1988.
- [16] SOUNDARARAJAN, Prabhakaran, So Youn WON a Jung Sun KIM. Insight on Rosaceae Family with Genome Sequencing and Functional Genomics Perspective. *BioMed Research International*. 2019, **2019**, 1-12. ISSN 2314-6133. doi:10.1155/2019/7519687
- [17] Shahidi, Fereidoon a Ying ZHONG. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 2015, **18**, 757-781. doi:10.1016/j.jff.2015.01.047
- [18] SLAVÍK, Bohumil. *Květena České republiky 4*. Praha: Academia, 1995. ISBN 80-200-0384-3.
- [19] TUSEVSKI Oliver, Aneta KOSTOVSKA, Ana ILOSKA, Ljubica TRAJKOVSKA a Sonja SIMIC. Phenolic production and antioxidant properties of some Macedonian medical plants. *Open Life Sciences*. 2014, **9**(9) 888-900. doi:10.2478/s11535-014-0322-1
- [20] VELÍŠEK, Jan, 1999. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS. ISBN 80-902391-2-9.
- [21] VERMERRIS, Wilfred a Ralph NICHOLSON. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Science & Business Media B.V., 2006. ISBN 978-1-4020-5163-0.
- [22] VLAISAVLJEVIĆ, Sanja, Sanja JELAČA, Gökhan ZENGİN, Neda MIMICA-DUKIĆ, Sanja BEREŽNI, Milorad MILJIĆ a Zora Dajić STEVANOVIĆ. *Alchemilla vulgaris* agg. (Lady's mantle) from central Balkan: antioxidant, anticancer and enzyme inhibition properties. *RSC Advances*. 2019, **9**(64), 37474-37483. ISSN 2046-2069. doi:10.1039/C9RA08231J

[23] ZEMÁNKOVÁ, Denisa. *Změny obsahu polyfenolických látek a antioxidační aktivity v extraktech máty*. Zlín, 2017. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	Antioxidační aktivita
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)
BHA	Butylhydroxyanisol
BHT	Butylhydroxytoluen
DPPH	1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
DPPH-H	Difenylpikrylhydrazin
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie
KA	Kyselina askorbová
KG	Kyselina gallová
ORAC	Test absorpční kapacity radikálů kyslíku
TPC	Celkový obsah polyfenolů
TRAP	Test celkového antioxidačního zachycování peroxidových radikálů
TE	Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina)
UV-VIS	UV/VIS detektor

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Řepík lékařský [15].....	14
Obrázek 2 - Kontryhel obecný [15]	15
Obrázek 3 - Jahodník obecný [15].....	16
Obrázek 4 - Ostružiník křovitý [15]	17
Obrázek 5 - Kalibrační křivka kyseliny gallové	29
Obrázek 6 - Kalibrační křivka kyseliny askorbové	31
Obrázek 7 - Kalibrační křivka troloxu	33
Obrázek 8 - Hodnoty TPC u rostlin čeledi růžovité (řepík lékařský, kontryhel obecný)	34
Obrázek 9 - Hodnoty TPC u rostlin čeledi růžovité (jahodník obecný, ostružiník křovitý)	35
Obrázek 10 - Hodnoty AA (metoda DPPH) u rostlin čeledi růžovité (řepík lékařský, kontryhel obecný)	37
Obrázek 11 - Hodnoty AA (metoda DPPH) u rostlin čeledi růžovité (jahodník obecný, ostružiník křovitý).....	37
Obrázek 12 - Hodnoty AA (metoda ABTS) u rostlin čeledi růžovité (řepík lékařský, kontryhel obecný)	40
Obrázek 13 - Hodnoty AA (metoda ABTS) u rostlin čeledi růžovité (jahodník obecný, ostružiník křovitý).....	40
Obrázek 14 - Korelační závislost hodnot AA (DPPH) a TPC	42
Obrázek 15 - Korelační závislost hodnot AA (ABTS) a TPC	43

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Vzorby bylin	26
------------------------------	----