

Význam a použití DPPH v oblasti cereálií

Veronika Jančová

Bakalářská práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Veronika JANČOVÁ
Osobní číslo: T08321
Studijní program: B 2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a technologie potravin

Téma práce: Význam a použití DPPH v oblasti cereálií

Zásady pro vypracování:

1. Charakterizace DPPH a jeho využití pro stanovení antioxidační aktivity .
2. Princip použití metody.
3. Možnosti stanovení antioxidační aktivity v různých vzorcích potravin a cereálií.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin, VŠCHT v Praze, Praha 2004.

[2] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro, Chemické listy, 2004.

[3] PÁNEK, J., Základy výživy, Praha 2002.

[4] CRONIN, R. J. Comparing Antioxidant Values with the ORAC Method, The Biochemistry of Alternative Medicine, 2004.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2011

Příjmení a jméno: JANČOVÁ VERONIKA

Obor: CP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 23.5.2011

..... Jančová

¹¹ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

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

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

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

¹² zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

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

¹³ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

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

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

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

ABSTRAKT

Bakalářská práce obsahuje stručnou charakteristiku cereálií, cereálních výrobků, vymezení pojmu antioxidační aktivity a jednotlivé metody jejího stanovení. Podrobnější popis je zaměřen na význam a využití metody DPPH. Bakalářská práce je podrobněji věnována stanovením antioxidační aktivity metodou DPPH v oblasti cereálií a zároveň jejímu dalšímu využití v oblasti potravinářského průmyslu a biologického výzkumu.

Klíčová slova: cereálie, antioxidační aktivita, DPPH

ABSTRACT

The thesis includes characterization of cereals, cereal products, antioxidant activity and the various methods of its determination. A more detailed description is focused on the importance and use of DPPH methods. Furthermore, the main focused was on antioxidant activity determination by DPPH in cereals, and also its use in the food industry and biological research.

Keywords: cereals, antioxidant activity, DPPH

Chtěla bych poděkovat svojí vedoucí bakalářské práce Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za odborné vedení, rady a čas, které mi věnovala po celou dobu při vypracovávání bakalářské práce. Další poděkování bych věnovala své rodině za podporu během celého studia.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 CEREÁLIE	12
1.1 SLOŽENÍ ZRNA.....	13
1.1.1 Morfologie zrna.....	13
1.1.2 Chemické složení zrna	13
1.2 ENERGETICKÁ BILANCE U CEREÁLÍÍ	15
1.3 CEREÁLNÍ VÝROBKY A JEJICH VLIV NA ZDRAVÍ	16
1.3.1 Kontrola a kvalita cereálií	16
2 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	18
2.1 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	18
2.1.1 Fyzikální metody.....	18
2.1.2 Chemické metody.....	19
2.1.2.1 TEAC (metoda ABTS)	19
2.1.2.2 DPPH	19
2.1.2.3 ORAC	20
2.1.2.4 FRAP	20
2.1.3 Elektrochemické metody.....	20
2.1.3.1 HPLC s coulochemickou detekcí.....	20
2.2 ANTIOXIDANTY V CEREÁLÍÍCH	21
3 VÝZNAM METODY DPPH	23
3.1 DPPH.....	24
3.2 TROLOX.....	24
3.3 BHT	25
4 VYUŽITÍ METODY DPPH V OBLASTI CEREÁLÍÍ.....	27
4.1 VLIV FERMENTACE NA ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITU NĚKTERÝCH OBILOVIN A PSEUDOCEREÁLÍÍ	27
4.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY U VYBRANÝCH DRUHŮ JEČMENE JARNÍHO	28
4.3 POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY CEREÁLNÍ SNÍDANĚ, OVOCE A ZELENINY.	29
4.4 CELKOVÁ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA RÝŽOVÉHO OLEJE	30
4.5 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA ČIROKU	30
4.6 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA SEMEN A KLÍČKŮ AMARANTU A QUINOI.....	31
4.7 DALŠÍ VYUŽITÍ DPPH V OBLASTI CEREÁLNÍCH TECHNOLOGIÍ	32
5 POUŽITÍ METODY DPPH V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU.....	33

5.1	ANALÝZA ANTIOXIDANTŮ V CHMELU A PIVU.....	33
5.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY EXTRAKTŮ PALMOVÝCH LISTŮ (<i>ELAESIS QUINEENSIS</i>)	34
5.3	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA ZELENINOVÝCH A OVOCNÝCH ŠŤÁV	34
5.4	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY V PIVOVARNICTVÍ.....	35
5.5	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA SEMEN LUPINY	36
5.6	STANOVENÍ REDUKČNÍ AKTIVITY CHMELE A PIVA METODOU DPPH.....	37
5.7	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA KYSELINY L-ASKORBOVÉ V NEALKOHOLICKÝCH NÁPOJÍCH.....	38
5.8	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY ČERVENÝCH A FIALOVÝCH ODRŮD BRAMBOR	39
5.9	POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY KAKAA, ČAJE A ČERVENÉHO VÍNA	40
6	POUŽITÍ METODY DPPH V OBLASTI BIOLOGICKÉHO VÝZKUMU.....	41
6.1	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA 50% ETANOLOVÉHO EXTRAKTU Z <i>ACANTHOLIPPIA</i> <i>DESERTICOLA</i>	41
6.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY VE VZORCÍCH BIOLOGICKÉHO PŮVODU.....	42
6.3	IZOLACE ANTIOXIDANTŮ Z <i>ALCHEMILLA XANTHOCHLORA</i>	42
6.4	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA ROSTLINNÉHO MATERIÁLU.....	43
	ZÁVĚR	44
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	45
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK PODLE ABECEDY.....	52
	SEZNAM OBRÁZKŮ	53
	SEZNAM TABULEK.....	54
	SEZNAM PŘÍLOH.....	55

ÚVOD

Obiloviny a výrobky z nich mají v lidské výživě a zemědělském průmyslu klíčové postavení. Jsou bohatým zdrojem sacharidů, vlákniny, vitaminů, minerálů a antioxidačních látek. V ČR jsou nejpěstovanějšími druhy pšenice, ječmen, žito a kukuřice. Pro lidské zdraví jsou zejména prospěšné celozrnné výrobky, což jsou výrobky z tmavé mouky. Konzumace celozrnných výrobků snižuje hladinu krevního cukru, cholesterolu a eliminuje riziko rozvoje rakoviny a srdečních onemocnění. Na příznivých účincích obilovin na náš organismus se podílejí hlavně antioxidační látky, které cereálie obsahují v nemalém množství. Antioxidanty již v malých koncentracích mají schopnost redukovat volné radikály, nestabilní molekuly, které jsou zodpovědné za stárnutí organismu, rozvoje rakoviny, ale také za oxidaci, rychlejší kažení potravin. Antioxidační působení vykazují hlavně vitaminy a polyfenolické látky, z nichž nejvyšší zastoupení v obilném zrně představují fenolové kyseliny, flavonoidy a fytoestrogeny.

Cílem této bakalářské práce bylo pojednat právě o významu cereálií pro lidskou výživu s důrazem na obsah látek, které vykazují antioxidační aktivitu a tento pojem definovat. Dalším cílem bylo popsat metody stanovení antioxidační aktivity a zaměřit se blíže na metodu měření antioxidační aktivity pomocí DPPH ((1,1-difenyyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)-hydrazyl)) se zaměřením na oblast cereálií a cereálních technologií.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CEREÁLIE

Cereálie neboli obiloviny mají mezi zemědělskými potravinami významné postavení. Botanicky je řadíme mezi traviny – latinsky *Graminaceae* a téměř všechny patří do čeledi lipnicovité (*Poaceae*) [1]. Obiloviny představují významnou složku lidské stravy na celém světě, a to buď přímo jako pečivo z mouky, nebo nepřímo jako součást krmiv [2]. Vlivem různých klimatických podmínek se vytvořily značné odlišnosti mezi jednotlivými rody a druhy obilovin. Výjimku tvoří pohanka, kterou řadíme do čeledi rdesnovitých (*Polygonaceae*). Společný botanický původ obilovin řazených do čeledi lipnicovité předurčuje jejich značnou vzájemnou podobnost jak ve struktuře a tvorbě zrna, tak v jeho chemickém složení, tj. např. v uspořádání obalových a podobalových vrstev zrna, nebo v zastoupení mastných kyselin v tukových složkách nebo jednotlivých aminokyselin v obilné bílkovině [1]. Cereálie jsou bohaté na sacharidy, vlákninu, fytochemikálie, antioxidanty, vitaminy (především skupiny B a E) a také minerální látky. Jsou dobře skladovatelné a jako potraviny poměrně levné [3]. K nejvýznamnějším obilovinám pěstovaným v našich podmínkách patří pšenice, žito, ječmen, oves a kukuřice. Mezi méně rozšířené cereálie patří proso, Bér vlašský, čirok nebo tritikale. K cereáliím se přiřazují také pseudocereálie, což jsou rostliny z jiných čeledí než *Poaceae* a můžeme mezi ně zařadit např. pohanku, merlík a amarant [4].



Obrázek 1 Pšenice setá [3]

Výnos a kvalita všech obilovin je silně závislá na dostatečném přísunu živin, kvalitě půdy a vegetačním období. Obiloviny s vyšším obsahem dusíku jsou významným faktorem kvality u ječmene a pšenice. Ve srovnání s mnoha plodinami mají obiloviny relativně

nízkou poptávku po fosfátech a draslíku. Obiloviny jsou náchylné k řadě onemocnění způsobené mikroorganismy, převážně plísněmi a houbami. Způsobují značné ztráty výnosu, mají negativní vliv na kvalitu zrna. Tlumení nákaz je tradičně založeno na zlepšení schopnosti plodiny odolávat infekci nebo na přímém zásahu životního cyklu patogena [5].

1.1 Složení zrna

Morfologická skladba zrn obilovin se zhruba shoduje. Zrna se liší velikostí, tvarem a podílem jednotlivých vrstev. Pro jednotlivé obiloviny je charakteristické to, zda má zrno pluchy či je nahé. I obsah chemických složek je velmi variabilní [1]. Mezi faktory ovlivňující složení obilovin patří odrůdy, podmínky pro růst, nemoci a napadení různými škůdci [6].

1.1.1 Morfologie zrna

Obilné zrno je složeno ze tří hlavních vrstev, a to z otrub (oplodí + osemení), endospermu a klíčku. Nejsvrchnější vrstvu tvoří oplodí, které chrání zrno před mechanickým poškozením, různými škodlivinami a je tvořeno především celulózu. Další vrstva představuje osemení. Osemení obsahuje buňky s barvivem, které určují barevný vzhled zrna. Obalové vrstvy obsahují polysacharidové látky, mající za úkol udržení rovnováhy vlhkosti zrna. Další vrstvu představuje vrstva aleuronová, nacházející se mezi obalovými vrstvami a endospermem. Ta obsahuje velký podíl bílkovin (cca 30 %) a minerálních látek [1]. Endosperm představuje největší část jádra a obsahuje bílkoviny, škrobové sacharidy, malé množství vitaminů a minerálů [7]. Další částí zrna je klíček. Ten bývá před zpracováním odstraňován, protože snadno podléhá oxidačním a enzymatickým změnám, a tím negativně ovlivňuje senzorickou kvalitu potravin. Velký rozdíl v podílu klíčku činí mezi ostatními obilninami a kukuřicí. Z kukuřičných klíčků se lisuje olej, který patří mezi ty nejkvalitnější [1].

1.1.2 Chemické složení zrna

Chemické složení zrn je velmi ovlivňováno druhem a pěstebními podmínkami obilnin [1]. Největší podíl obilky zahrnují sacharidy, které můžeme rozdělit na monosacharidy, z nichž nejvýznamnější jsou pentózy, které jsou základními stavebními částmi podpurných pletiv. Další významné postavení zaujímá glukóza, fruktóza, maltóza a sacharóza, jejichž nejvyšší podíl obsahuje klíček. Mezi koloidně disperzní sacharidy můžeme zařadit celulózu, škrob, dextriny, hemicelulózy a pektinové látky, avšak nejdůležitější zásobní látkou je škrob.

Škrob je uložen ve škrobových zrnech, jejichž velikost a tvar je pro každou obilninu charakteristický. Tento polysacharid je složen z amylozy a amylopektinu. Ve studené vodě je nerozpustný, pouze bobtná [8]. Jeho obsah v obilném zrně činí 50 – 80 %. K dalším obsahovým látkám obilného zrna patří neškrobové polysacharidy, jinak nazývané rostlinné slizy. Slizy jsou součástí buněčných stěn, buněčného obsahu. Jedná se o makromolekuly na bázi xylózy, arabinózy nebo příslušných glykoproteinů. Zvláštní postavení mají obilné bílkoviny, které dělíme podle několika hledisek:

- a) morfologického původu: bílkoviny endospermu, aleuronové vrstvy, bílkoviny klíčku,
- b) biologické funkce: zásobní, metabolicky aktivní,
- c) chemického složení: glykoproteiny, lipoproteiny, nukleoproteiny aj.,
- d) rozpustnosti v různých rozpouštědlech: albuminy, globuliny, prolaminy, gluteliny.

Molekuly proteinů jsou spojeny peptidovou vazbou a jsou tvořeny dvaceti základními aminokyselinami, jejich jednotlivé uspořádání je řízeno geneticky. Výrazné odlišení od ostatních bílkovin mají bílkoviny pšeničné, které po smísení s vodou vytváří pružný gel – lepek. Lepek je složen ze dvou bílkovin, a to gliadinu a glutelinu. Mezi jeho fyzikální vlastnosti patří tažnost, pružnost, bobtnavost a plasticita. Právě tyto hlavní znaky jsou ukazateli jakosti těsta. Lepek obsahuje cukry, škrob, vlákninu, kyselinu fosforečnou a lze ho z těsta izolovat vypíráním proudem studené vody. Menší podíl obilného zrna zaujímají tuky. Tyto nažloutlé olejovité kapaliny obsahují nenasycené mastné kyseliny. Z nenasycených mastných kyselin převládá kyselina linolová, olejová a linolenová. Je nutno dbát na správné skladování mouky, při nevhodné teplotě a vlhkosti může dojít ke žluknutí a zvyšování kyselosti. Mezi látky lipofilní povahy patří karotenoidy, především lutein, jehož vyšší obsah vykazuje pšenice [1, 8]. Obiloviny jsou také zdrojem β -glukanů. Tyto polysacharidy složené z glukózových jednotek jsou součástí buněčné stěny zrna. Jejich schopností je aktivace makrofágů, snižování krevní glukózy, cholesterolu a rizika tvorby rakoviny. Z vitaminů převládají především vitaminy skupiny B, C a E, z minerálních látek je to zinek, železo, měď, mangan, molybden, vápník, hořčík, fosfor, draslík a dusík [9].

Vitamin E patří mezi lipofilní vitaminy. Je to významný antioxidant, který chrání lipidy buněčných membrán před poškozením volnými radikály. Strukturálním základem vykazujícím aktivitu vitaminu E je tokol a tokotrienol obsahující chromanový kruh s nasyceným nebo nenasyceným izoprenoidním postranním řetězcem. Vitamin E pomáhá

chránit před škodlivými účinky volných radikálů, které mohou přispět k rozvoji chronických onemocnění jako je rakovina. Tento vitamin blokuje vznik nitrózaminů, které se tvoří v žaludku z dusitanů obsažených ve stravě a posiluje imunitní systém. Mezi zdroje vitamínu E patří rostlinné oleje, pšeničné klíčky, sója a obiloviny [10, 11].

Vitamin C neboli kyselina askorbová patří mezi ve vodě rozpustné vitaminy. Je důležitý pro růst a obnovu tkání, kolagenu, cév a hojení ran. Stejně tak jako vitamin E blokuje působení přirozeně se vyskytujících volných radikálů. Nedostatek vitamínu se projevuje krvácením z dásní, suchou šupinatou kůží, špatným hojením ran, krvácením z nosu a sníženým imunitním systémem. Těžká forma nedostatku vede ke vzniku kurdějí. Zdroji tohoto vitamínu jsou: citrusové plody, paprika, kiwi, jahody, brokolice, květák aj. [12].

Tabulka 1 Obsah jednotlivých složek v obilovinách v % hmot. při 15% vlhkosti obilí

[8]

Obiloviny, zrniny	minerální látky	bílkoviny	tuk	sacharidy	vláknina
Žito	1,7	9,0	1,7	70,7	1,9
Pšenice durum	1,7	13,2	2,4	65,0	2,5
Ječmen s pluchami	2,5	9,5	2,1	67,0	4,0
Oves s pluchami	3,2	10,3	4,8	56,4	10,3
Kukuřice	1,5	11,0	4,4	67,2	2,2
Proso loupané	1,8	11,5	3,9	68,1	2,3
Rýže Paddy	4,0	6,9	1,6	68,4	8,9

1.2 Energetická bilance u cereálií

Cereálie jsou především zdrojem sacharidů (55 – 78 %), a to převážně škrobu. Právě pro vysoký obsah sacharidů je důležitým ukazatelem pro klasifikaci potravin glykemický index. Glykemický index udává, do jaké míry je potravina schopna zvýšit krevní glukózu. Při vyšším přísunu cukru dochází ke stimulaci slinivky břišní, která následně uvolní hormon inzulin. Konzumace potravin s vysokým glykemickým indexem má za následek rozvoj kardiovaskulárních onemocnění, diabetu a některých forem rakoviny. Mezi další energetickou složku řadíme bílkoviny [3, 13]. Cereální bílkoviny jsou neplnohodnotné, limitující aminokyselinou je lyzin. Pro toto zjištění se používá tzv. biologická hodnota bílkovin, což je stupeň shody aminokyselinového složení bílku s aminokyselinovým složením srovnávacích bílkovin využívaných v lidském organismu [4].

1.3 Cereální výrobky a jejich vliv na zdraví

Jsou to potraviny s vysokým stupněm inovace, velmi preferovány v potravinářském průmyslu. Z výživového hlediska dáváme přednost především výrobkům z tmavé mouky, výrobkům celozrnným. Tyto výrobky obsahují více obalových vrstev zrn. Jejich konzumace v současné době přispívá k řešení zdravotních problémů populace. Rozsáhlé studie prokázaly, že u lidí konzumujících tyto výrobky se snižuje riziko rakoviny, srdečních a zažívacích onemocnění. Mají vliv na hladinu krevní glukózy a cholesterolu. I přesto, mnozí lidé tyto potraviny nemůžou konzumovat z důvodu potravinové přecitlivělosti [3, 4]. Toto alergické onemocnění se nazývá celiakie neboli glutenová enteropatie a jediným opatřením je dodržování diet. Jedná se o chronické onemocnění zažívacího traktu vyvolané nesnášenlivostí lepku. Ale i přesto ne všechny cereálie lepek obsahují. Mezi bezlepkové obilniny patří pohanka, kukuřice, jáhly, rýže a amarant [14].

1.3.1 Kontrola a kvalita cereálií

Při výrobě cereálních výrobků je hlídán každý krok. Protože obilniny jsou určeny k lidské spotřebě, hygiena je při zpracování zrn zásadní. Stroje sloužící ke zpracování jsou vyrobeny z nerezové oceli, kterou lze poměrně snadno čistit a sterilizovat vodní parou. Od začátku procesu výroby až do konce jsou zrna kontrolována na přítomnost cizorodých látek, obsah vitaminů a minerálů. Neustále monitorována je teplota i vlhkost [15]. Pro lepší orientaci kvality a veškerých informací o těchto výrobcích představil Výbor pro celozrnné potraviny WGC (Whole Grains Council) tři známky s označením WGS (Whole Grain Stamp). Jednotlivá známka charakterizuje, zda je potravina dobrý zdroj, vynikající zdroj, či vynikající zdroj 100% celozrnné komponenty. Výrobky, které jsou označeny těmito známkami jsou rozčleněny do několika kategorií např. chléb, krekerky, cereální tyčinky, cereální snídaně, cereální přílohy (např. pekařské směsi, pizza, toasty, sušenky, keksy, oplatky aj.). Seznamy těchto potravin obsahují údaje o obsahu celého zrna v jedné porci a o výrobci každého konkrétního výrobku [3].



Obrázek 2 Znamky pro označování celozrnných cereálií [16]

2 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

Antioxidační aktivita potravinových složek se vyznačuje svými příznivými biologickými účinky potravin na zdraví člověka. V rostlinných zdrojích bylo identifikováno kolem 5 tisíc druhů fytonutrientů, faktorů s mimonutriční aktivitou, které mají vliv na řadu biochemických reakcí. Tyto látky již v malých koncentracích mají schopnost zpomalovat nebo rušit nežádoucí oxidační reakce. Tato aktivita je dána jejich relativně vyšším oxidačně-redukčním potenciálem, schopností rychle odstranit reaktivní formy kyslíku a další volné radikály, schopností chelátově vázat katalyticky aktivní prvky, redukovat meziprodukty řetězových oxidačních změn nebo stimulovat aktivity endogenních antioxidačních enzymů. Většinu antioxidantů přírodního původu přijímáme jako součást složitých směsí, jejichž jednotlivé složky mohou různými mechanismy reagovat s různými radikály. Mezi látky vykazující vysokou antioxidační aktivitu v potravinách patří jednoduché fenoly a furany, složené fenolové látky (např. lignany), flavonoidy včetně katechinů a antokyaninů, stilbeny, alkylsulfidy, indoly a také některé vitaminy a karotenoidy [17, 18].

Volné radikály jsou molekuly, které mají ve své valenční sféře jeden nebo více nepárových elektronů. Taková molekula bývá značně nestabilní a rychle se snaží získat ze svého okolí jiný elektron od páru. Molekula, která ztratila elektron se stává novým radikálem, rychle se oxiduje a ztrácí některé své potřebné vlastnosti. Reakce probíhá velmi rychle. Řetězová reakce probíhá tak dlouho, dokud se volný radikál neseťká s antioxidantem, který reakci zpomalí nebo zastaví. Volných radikálů je mnoho druhů, proto není žádný antioxidant, který by chránil před všemi [19].

2.1 Metody stanovení antioxidační aktivity

Během posledních desetiletí byla vyvinuta řada analytických metod ke stanovení antioxidační aktivity přírodních sloučenin a jejich směsí *in vitro*. Metody můžeme rozdělit na fyzikální, chemické a elektrochemické. Metody vyžadují speciální vybavení a technické dovednosti pro analýzu [20, 21].

2.1.1 Fyzikální metody

Fyzikální metody stanovení antioxidační aktivity nesledují bezprostředně chemickou reakci nebo změny obsahů jednotlivých látek, ale změnu fyzikálních vlastností, které tyto

procesy doprovází. Mezi fyzikální metody můžeme zařadit chemiluminiscenci, elektronovou spinovou rezonanci či stanovení redoxního potenciálu [18].

2.1.2 Chemické metody

Chemické metody spočívají v použití činidel poskytujících s volnými kyslíkovými radikály barevné komplexy, jejichž vzniku ve vzorku brání antioxidační látky. Mezi nejčastěji používané metody sloužící ke stanovení antioxidační aktivity patří metody TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), FRAP (Ferric Reduction Ability of Plasma), HPLC-ECD (High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection) [18, 20].

2.1.2.1 TEAC (metoda ABTS)

Metoda TEAC patří mezi základní a nejpoužívanější metodu pro stanovení celkové antioxidační aktivity. Testuje schopnost vzorku či látek zhaset kation-radikál $ABTS^{\cdot+}$ (2,2-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonátu)) [22]. Výsledná antiradikálová aktivita vzorku je srovnána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Troloxu ((6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylové kyseliny). Zhášení radikálu $ABTS^{\cdot+}$ antioxidanty chovajícími se jako donory vodíku se sleduje spektrofotometricky na základě změn absorpce světla $ABTS^{\cdot+}$. Nejčastěji se měří absorbance při 734 nm. V reakční směsi se kation-radikál $ABTS^{\cdot+}$ generuje oxidací ABTS. Při experimentálním měření se užívají dva postupy. V prvním postupu se antioxidant přidává do směsi, ve které byl vytvořen radikál $ABTS^{\cdot+}$, v druhém případě je antioxidant v reakční směsi přítomen při generování radikálu $ABTS^{\cdot+}$ [20, 23, 24].

2.1.2.2 DPPH

Metoda DPPH patří mezi další nejpoužívanější metody sloužící pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. DPPH 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl je stabilní volný radikál, který může být díky své struktuře akceptorem atomu vodíku. Intenzivní fialové zbarvení měřitelné při absorbanci 520 nm způsobí nepárový elektron na dusíku hydrazylu. Působením antioxidačních látek se intenzita zbarvení snižuje a je měřena v minutových intervalech po dobu 10 minut. Vzhledem k tomu, že je sledován úbytek látky, je možno použít i detekci HPLC, kdy je sledovanou veličinou plocha píku odpovídající DPPH. Metoda je rychlá, jednoduchá, levná

a použitelná pro pevné nebo kapalné vzorky. Není specifická na jakékoli konkrétní antioxidační složky [21, 25, 26].

2.1.2.3 ORAC

Metoda ORAC je založena na schopnosti peroxylového radikálu zhaset fluorescenční barviva. Peroxylové radikály využívané u metody ORAC jsou generovány ve vodném roztoku z hydrochloridu 2,2'-azobis-2-metyl-propanimidamidu. Při absenci inhibitoru radikály snižují fluorescenci barviva fluoresceinu. Smyslem této metody je reakce antioxidantů (vitaminů, fenolických látek) s peroxylovými radikály v přítomnosti fluoresceinu. Antioxidační aktivitu je možno změřit u hydrofilních i lipofilních vzorků [27, 28].

2.1.2.4 FRAP

Metoda FRAP nebo FOX (Ferrous Oxidation Assay) je založena na redukci železitých komplexů jako je TPTZ (2,4,6-tripyridil-S-triazin), ferrikyanid aj., které jsou téměř bezbarvé a po redukci a reakci s dalším činidlem vytváří barevné produkty, jakým může být např. berlínská modř [29]. Nárůst absorpance při 593 nm odpovídající množství komplexu $[\text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ}]$ je mírou antioxidační aktivity vzorku. Limity této metody spočívají v tom, že měření probíhá při nízké hodnotě pH (3,6), nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky a tioly. Metoda FRAP tak odráží pouze schopnost látek redukovat ion Fe^{3+} a s celkovou antioxidační aktivitou vzorku nemusí pozitivně korelovat. Reakce je nespecifická. V polovině reakce, která má nižší redoxní potenciál ji bude řídit železnatý iont [30, 31].

2.1.3 Elektrochemické metody

2.1.3.1 HPLC s coulochemickou detekcí

Elektroaktivní látky je možno velmi přesně a citlivě detekovat pomocí coulochemických nebo amperometrických detektorů při analýze HPLC-ECD. Při HPLC-ECD se na pracovní elektrodu detektoru vkládá určitý potenciál. Pík látky se projeví pouze tehdy, je-li látka při tomto potenciálu oxidována. Látku je tak možno charakterizovat nejen retenčním časem, ale také potenciálem, při kterém se oxiduje. To umožňuje analyzovat komplexní směsi a identifikovat v nich jednotlivé účinné antioxidační komponenty na základě hodnoty potenciálu aplikovaného na elektrodu. Při analýze neruší barvení směsí, ale je nutné

dodržet vysokou čistotu reagensů v mobilní fázi. Hodnocení antioxidačních vlastností látek pomocí HPLC-ECD koreluje s různými jinými metodami na testování celkové antioxidační aktivity látek, např. s metodou DPPH [20, 32, 33].

2.2 Antioxidanty v cereáliích

Významné množství antioxidantů bylo zjištěno v cereáliích a cereálních výrobcích. Obilná zrna obsahují celou řadu chemických látek s antioxidační aktivitou, jsou bohatá na fenolové kyseliny, saponiny, flavonoidy a fytoestrogeny. Značné množství fenolických antioxidantů obsahuje ječmen. Je také známo, že v cereáliích se nachází určité množství antinutričních komponent jako jsou soli kyseliny fytové (myoinozitol, fytáty), které mají pro lidský organizmus omezenou stravitelnost, stejně tak jako hemicelulózy. Mezi další antinutriční látky v obilovinách patří β -glukany a arabinoxylany. Přítomnost antioxidantů v cereáliích má příznivé účinky na zpomalení stárnutí, kardiovaskulární choroby a některé typy rakoviny [34]. V posledním desetiletí se rozšířilo použití amarantu a quinoi nejen v rámci společného stravování, ale také ve stravě lidí s celiakií nebo alergií na typické obiloviny. Tato semena pseudoobilnin mají vysokou nutriční a funkční hodnotu. Hodnoty jsou spojeny s kvalitou a kvantitou jejich bílkovin, ale také tuků. V posledních letech je novým způsobem výživy spotřeba klíčků, které jsou zdrojem aminokyselin, stopových prvků, flavonoidů, fenolických látek, vlákniny, vit. C a E. Klíčky laskavce a quinoi lze použít do salátů, sendvičů a jako další komponenty chleba. Spotřeba semen a klíčků příznivě působí na zachování a zlepšení zdravotního stavu. Klíčky pseudoobilnin mohou být součástí běžné výživy, ale také výživy veganů a vegetariánů [35]. Polyfenolické látky patří mezi nejrozšířenější sloučeniny s antioxidačními účinky v naší stravě. V rostlinách bylo identifikováno až několik tisíc fenolických látek s různou rozmanitostí struktur. Společným znakem je přítomnost jednoho či více aromatických jader substituovaných hydroxylovými skupinami. Tyto sloučeniny se běžně vyskytují v potravinách, ovoci, zelenině a nápojích. Celkový denní příjem byl odhadnut na 1 g, což je vyšší než denní příjem antioxidačních vitaminů. Mezi polyfenolické látky řadíme fenolické kyseliny, flavonoidy, flavanony aj. [36]. Fenolické kyseliny tvoří velkou skupinu přirozeně se vyskytujících organických sloučenin s širokým spektrem farmaceutické činnosti. Vykazují nejen antioxidační, ale také antivirové a antibakteriální účinky. Mají pozitivní účinek na lidský organizmus. Působí proti stárnutí, rozvoji rakoviny a ischemické chorobě srdeční. Můžou nahrazovat syntetické antioxidanty jako je BHT (butylhydroxytoluen) nebo BHA

(butylhydroxyanizol), u nichž existuje podezření na toxické a karcinogenní účinky. Antioxidační působení polyfenolických látek je zvláště důležité, neboť znečištění životního prostředí, radiační a fyzická zátěž vykazují schopnost produkce velkého množství radikálů, které způsobují závažná onemocnění [37].

3 VÝZNAM METODY DPPH

Metoda DPPH patří mezi rychlé, jednoduché a nenákladné metody sloužící ke stanovení antioxidační aktivity. Tato metoda může být použita u pevných nebo kapalných vzorků. Není specifická pro konkrétní antioxidační složky. Zvláštní elektron v DPPH vykazuje silné maximum při 515 nm a zároveň zbarvuje roztok do fialova. Přítomnost antioxidantů ve vzorku fialové zbarvení odbarvuje. Antioxidační aktivita může být vyjádřena různými způsoby včetně procentuálního podílu činidla a oxidační inhibice rychlosti. Jednodušší způsob jak prezentovat antioxidační aktivitu je společný referenční standard Trolox. Mezi další používané standardy patří kyselina askorbová, vitamin E a BHT (butylhydroxytoluen). Ze získané kalibrační křivky se vypočte IC50 což je měřítko udávající polovinu maximální inhibiční koncentrace látky (IC, Inhibitory Concentration). IC50 udává množství antioxidantu, který má schopnost uhasit 50 % radikálu DPPH [21, 38]. Celý postup stanovení je tedy složen ze slepého pokusu na činidlo (A_C), slepého pokusu na vzorek (A_{SL}) a vlastního stanovení (A_{VZ}). Snižování intenzity odbarvování roztoku je obvykle sledováno odečtem absorbancí reakční směsi po minutách. Okamžik smíchání roztoku činidla a vzorku se považuje za začátek reakce. Redukční aktivita RA (Reduction Activity) DPPH je vypočítána ze vztahu:

$$RA_{DPPH} = A_B + A_{SL} - A_{VZ} \quad (1)$$

V praxi bylo zjištěno, že absorbance slepého pokusu na vzorek je zanedbatelná, proto má na výsledek stanovení minimální vliv. Při opakovaných měřeních a dlouhodobých pokusech je nutno připravovat čerstvý roztok DPPH vzhledem k jeho omezené trvanlivosti. Výhodnější vyjadřování redukční aktivity vzorků je míra poklesu absorbance reakčního prostředí po 10 minutách [39].

Další možnosti výpočtu antioxidační aktivity jsou následující:

$$DPPH \text{ aktivita} = [(A_C - A_S) / A_C * 100] * m_{DPPH} / m_{rs}, \quad (2)$$

kde:

A_Cabsorbance reakční směsi s metanolem,

A_Sabsorbance reakční směsi se vzorkem,

m_{DPPH}hmotnost DPPH,

m_{rs}hmotnost extraktu, [40]

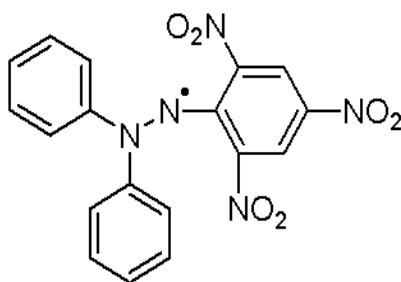
Antioxidační aktivita je také častěji vyhodnocována v %, jako množství inhibovaného radikálu DPPH. Inhibice volného radikálu se vypočte podle vztahu, kde A_{blank} odpovídá absorpanci při slepém pokusu, A_{sample} absorpanci analyzované sloučeniny [41].

$$I\% = A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}} * 100 \quad (3)$$

3.1 DPPH

DPPH je zkratka pro organickou chemickou sloučeninu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl. Jedná se o tmavý, barevný krystalický prášek složený ze stabilních volných radikálových molekul.

Tato chemická látka má několik krystalických forem, které se liší mřížkovou symetrií a bodem tání. DPPH se pro jeho radikální povahu používá jako indikátor chemických reakcí. V přítomnosti antioxidantu se tmavě fialový roztok odbarvuje. Tato vlastnost umožňuje vizuální sledování reakcí. DPPH je možno zakoupit u celosvětově známé společnosti Sigma-Aldrich (Německo). Tato chemikálie se prodává v 85 a 95% čistotě a její cena dosahuje několika tisíců korun. Sumární vzorec DPPH je $C_{18}H_{12}N_5O_6$. Na obale chemické látky kromě uvedeného signálního slova nebezpečí se setkáme s větami o nebezpečnosti, s kódy nebezpečnosti a s pokyny o bezpečném zacházení [42, 43].



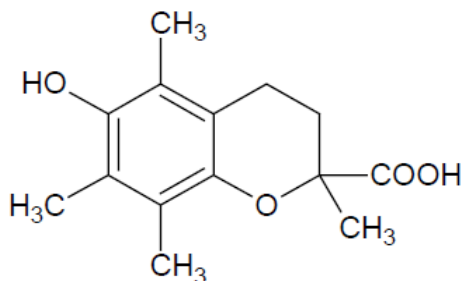
(4)

2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl

3.2 Trolox

Trolox neboli (6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylová kyselina) je látka ve vodě rozpustná. Jedná se o analog α -tokoferolu, známý pro svou vysokou radikálovou aktivitu, běžně používaný jako referenční antioxidant. Tato látka je také významným antioxidantem motorových olejů, ale méně aktivní je v emulzích. Přes množství různých

studií, je jen málo známo o mechanizmech, které ovlivňují efektivitu emulgovaného systému [44].



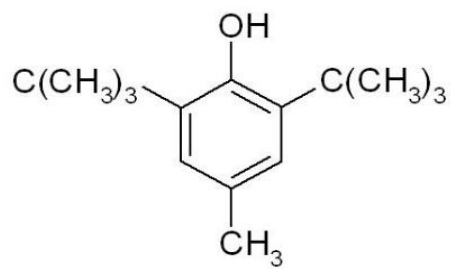
(5)

Trolox

Jeden z prodejců poskytujících tuto látku na trhu je společnost Cayman (USA). Tento prodejce nabízí Trolox v 50, 100, 250 a 500 mg balení ve formě pevné krystalické látky pod formálním názvem 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametyl-2H-1-benzopyran-2-karboxylová kyselina. Molární hmotnost této látky činí $250 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, sumární vzorec je $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$. Data dále informují o čistotě Troloxu, který dosahuje 98 %. Výrobek by měl být skladován při teplotě $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ a jeho doba použitelnosti dosahuje 2 let. V popisu se také dovídáme, že Trolox je účinný jako přídatná terapie při léčbě některých druhů rakoviny. Varování uvádí, že tento výrobek není určen pro humánní a veterinární použití [45].

3.3 BHT

BHT – butylhydroxytoluen, chemicky 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-kresol, je bílá krystalická látka nerozpustná ve vodě, snadno rozpustná v alkoholu, se slabým charakteristickým zápachem. Získává se alkylací *p*-kresolu s izobutanem. BHT je používán jako chemický antioxidant v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Tento derivát fenolu reaguje s volnými radikály, a tím zpomaluje autooxidaci potravin, léčiv a kosmetických výrobků [46]. Tato chemická látka je součástí mnoha obalových materiálů a přidává se přímo do obilovin k prodloužení jejich skladovatelnosti. Sumární vzorec sloučeniny BHT je $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$, molekulová hmotnost $220,35 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Mezi fyzikální vlastnosti BHT patří teplota vznícení, která dosahuje $345 \text{ }^\circ\text{C}$, bod tání, který se pohybuje kolem $70 \text{ }^\circ\text{C}$ a bod varu $265 \text{ }^\circ\text{C}$ [46, 47].



BHT

(6)

4 VYUŽITÍ METODY DPPH V OBLASTI CEREÁLIÍ

4.1 Vliv fermentace na antioxidační aktivitu některých obilovin a pseudocereálií

Cílem studie bylo zjištění vlivu fermentace na antioxidační aktivitu 4 obilovin (pohanky, pšeničných klíčků, ječmene a žita). Fermentace byla řízena dvěma mikroorganismy, a to bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus rhamnosus*) a kvasinkou (*Saccharomyces cerevisie*). Antioxidační aktivita fermentovaných vzorků byla porovnána s antioxidační aktivitou jejich nezkašených forem. Obiloviny a pseudoobiloviny jsou významnými zdroji antioxidantů. Obilné zrno obsahuje fenolové kyseliny, saponiny, fytoestrogeny a flavonoidy, které jsou obsaženy v malém množství. Dalšími obsahovými látkami jsou soli kyseliny fytové, β -D-glukany a arabinoxylany. Biochemické změny, které nastanou během kvašení, vedou k poškození poměru výživových a antinutričních látek, které ovlivňují vlastnosti výrobku, např. biologickou aktivitu a stravitelnost. Vzorky jednotlivých obilovin byly připraveny ve 3 vyhotoveních. 100 g obilného zrna bylo ponecháno 24 h v destilované vodě. Pak byly rozemlety a smíseny se 400 ml destilované vody. Obilná kaše pak byla sterilována v autoklávu po dobu 1 hodiny. Do prvního vzorku každé obiloviny bylo naočkováno 5 ml suspenze bakterií mléčného kvašení, do druhého kvasinka. Třetí vzorek (kontrolní) mikroorganismy neobsahoval. Všechny vzorky byly inkubovány 24 h při teplotě 30 °C. Poté byly extrahovány 700 ml 70% etanolu po dobu 3 h a následně odstředěny (4500 ot.min⁻¹) po dobu 10 min. Vysušené vzorky byly uchovány v hermeticky uzavřených obalech v mrazničce až do následující analýzy. Antioxidační aktivita sušených etanolových extraktů byla měřena na základě činnosti stabilního radikálu DPPH. 1 ml 0,2 mmol.dm⁻³ DPPH bylo smíseno s 3,95 ml metanolu. Po 30 minutách inkubace ve tmě při pokojové teplotě byla měřena absorbance při 517 nm proti slepému vzorku obsahujícímu pouze metanol pomocí spektrofotometru Ultrospec 3300. Hodnota IC₅₀ (koncentrace vzorku zhasějící 50 % volných radikálů) byla vypočtena z regresní rovnice. Jako pozitivní antioxidant byla použita kyselina L-askorbová. Výsledky antioxidační aktivity jsou uvedeny na následujícím obrázku č.3 [34].

Sample name		Inhibition of DPPH radical (%) ^a				
		s. c. ^A 10 µg/ml	s. c. 20 µg/ml	s. c. 50 µg/ml	s. c. 100 µg/ml	s. c. 200 µg/ml
Buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	Native	11.6 ± 0.55 ^a	21.6 ± 0.50 ^a	34.8 ± 0.65 ^a	63.3 ± 0.50 ^a	82.5 ± 0.45 ^a
	Fermented with <i>L. rhamnosus</i>	14.7 ± 0.65 ^a	23.5 ± 0.70 ^a	42.4 ± 0.55 ^b	70.1 ± 0.95 ^b	86.0 ± 0.45 ^b
	Fermented with <i>S. cerevisiae</i>	12.6 ± 0.95 ^a	22.0 ± 0.85 ^a	42.4 ± 0.55 ^b	65.4 ± 0.65 ^a	85.3 ± 0.55 ^a
Barley (<i>Hordeum vulgare</i>)	Native	6.5 ± 0.45 ^a	12.5 ± 0.65 ^a	17.9 ± 0.75 ^a	28.0 ± 0.75 ^a	36.6 ± 0.95 ^a
	Fermented with <i>L. rhamnosus</i>	15.5 ± 0.80 ^b	16.1 ± 0.75 ^a	23.2 ± 0.45 ^b	35.4 ± 0.65 ^b	42.9 ± 0.90 ^b
	Fermented with <i>S. cerevisiae</i>	12.5 ± 0.55 ^b	14.3 ± 0.65 ^a	22.0 ± 0.80 ^a	28.0 ± 0.95 ^a	41.7 ± 0.65 ^a
Wheat (<i>Triticum durum</i>)	Native	6.7 ± 0.55 ^a	12.2 ± 0.60 ^a	15.6 ± 0.55 ^a	23.4 ± 0.50 ^a	31.0 ± 0.65 ^a
	Fermented with <i>L. rhamnosus</i>	10.1 ± 0.60 ^a	15.9 ± 0.85 ^a	18.5 ± 0.65 ^a	28.2 ± 0.55 ^b	35.9 ± 0.55 ^b
	Fermented with <i>S. cerevisiae</i>	8.2 ± 0.70 ^a	13.4 ± 0.60 ^a	16.9 ± 0.65 ^a	27.4 ± 0.55 ^b	34.3 ± 0.45 ^a
Rye (<i>Secale cereale</i>)	Native	10.6 ± 0.65 ^a	18.9 ± 0.65 ^a	25.8 ± 0.55 ^a	32.7 ± 0.60 ^a	45.0 ± 0.80 ^a
	Fermented with <i>L. rhamnosus</i>	15.1 ± 0.65 ^b	24.6 ± 0.50 ^b	31.5 ± 0.55 ^b	39.2 ± 0.65 ^b	50.4 ± 0.65 ^b
	Fermented with <i>S. cerevisiae</i>	13.6 ± 0.65 ^a	22.2 ± 0.65 ^a	30.0 ± 0.95 ^b	35.2 ± 0.55 ^a	48.8 ± 0.65 ^a

Obrázek 3 Inhibice DPPH radikálu účinkem fermentovaných a nefermentovaných vzorků [34]

^A koncentrace vzorku, buckwheat – pohanka, barley – ječmen, wheat – pšenice, rye - žito

Jak je na obrázku č.3 uvedeno, nejnižší inhibici radikálu DPPH, a to pouze 31 %, vykazuje nefermentovaný pšeničný extrakt i s použitím nejvyšší koncentrace vzorku 200 µg.ml⁻¹. Silnější účinky zhašení DPPH radikálu vykazoval ječmen (36,6 %) a žito (45 %). Nejsilnější vliv na zhašení radikálu DPPH měla pohanka. Hodnota procentuální inhibice radikálu činila 82 %. Z údajů v obrázku č.3 můžeme posoudit, že proces fermentace měl vliv na inhibici radikálu DPPH ve všech koncentracích každého obilného vzorku. U pohanky se inhibice DPPH radikálu zvýšila z 82,5 na 86 %. Tato hodnota byla ze všech nejvyšší. Hodnota IC50, pro fermentovaný extrakt pohanky, vypočtena z regresní křivky činila 76,7 µg.ml⁻¹. Tato studie ukázala, že obiloviny obsahují značné množství antioxidantů. Proces fermentace zvýšil hladinu mnoha bioaktivních látek, a tím zlepšil antioxidační vlastnosti obilovin. Na závěr můžeme dodat, že použití startovacích mikrobiálních kultur ke zvýšení antioxidační aktivity je velmi přínosné [34].

4.2 Stanovení antioxidační aktivity u vybraných druhů ječmene jarního

Cílem experimentu bylo stanovení a porovnání antioxidační aktivity vybraných druhů ječmene jarního s kvalitativními parametry sladu. Výchozím materiálem byly vzorky zrna ječmene jarního (*Hordeum vulgare*). V pokusu byl také sledován vliv aplikovaného hnojiva Zinranu ve dvou růstových fázích. Ze šesti vybraných odrůd ječmene (Aksamit, Bojos, Prestige, Jersey, Sebastian, Radegast) bylo odebráno 30 g vzorku. Ten byl rozemlet na velikost částic 0,8 mm a následně homogenizován. 25 g tohoto meliva bylo ve rmutovací nádobě smícháno s 225 ml vody a 15 min při 45 °C rmutováno, poté ponecháno 30 min při pokojové teplotě. Vychladlé vzorky byly hodinu filtrovány

a skladovány v uzavíratelných plastových lahvičkách při teplotě - 20 °C. Před měřením absorbance byly vzorky rozmrazeny a přefiltrovány přes nitrát-celulózový filtr s pórovitostí 0,2 µm. Pro stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda využívající eliminaci syntetických radikálů DPPH. Jako standardní látka byl použit Trolox. Trolox byl rozpuštěn v metanolu a z tohoto zásobního roztoku byla ředěním připravena kalibrační řada v experimentálně zjištěném rozmezí koncentrací 20 – 500 µmol.dm⁻³. Pracovní roztok o koncentraci 100 µmol.dm⁻³ byl připraven ze zásobního roztoku DPPH (0,2 mol.dm⁻³) v metanolu. Mimoto pracovní roztok také obsahoval octanový pufr (pH 4,3) v poměru 1:2 (DPPH:pufr). Do kyvet bylo odebráno 1,9 ml pracovního roztoku a 100 µl vzorku. Úbytek absorbance byl měřen po dobu 10 min při 515 nm na spektrofotometru Life science UV/VIS DU 730 (Beckman Coulter, USA). Působením antioxidantů bylo původní fialové zbarvení roztoku odbarveno. Rozsah schopnosti inhibice fialového zbarvení byla vyjádřena v procentech a pomocí kalibrační křivky přepočtena na ekvivalentní množství Troloxu. Tímto experimentem byl zjištěn rozdíl antioxidačních aktivit zrn mezi jednotlivými genotypy i mezi variantami ošetřenými zinečnatým hnojivem [48].

4.3 Porovnání antioxidační aktivity cereální snídaň, ovoce a zeleniny.

Tento výzkum porovnává antioxidační aktivitu snídaňových cereálií s antioxidační aktivitou ovoce a zeleniny. Z čerstvého ovoce a zeleniny byly analyzovány především jedlé části, brambory a okurky byly zpracovány se slupkou. Snídaňové cereálie byly asi měsíc staré, všechny byly označeny názvem General Mills. Vzorky byly jemně rozemlety a v množství 10 – 100 g byly rozpuštěny v 50% vodném roztoku metanolu s přidavkem 50 ml DPPH o koncentraci 101 µmol, který zbarvuje roztok do tmavě fialova. DPPH reaguje s antioxidanty a tím dochází ke snížení intenzity zbarvení roztoku. Reakční baňka s roztokem byla umístěna do rotujícího inkubátoru při teplotě 100 °C. Po 4 hodinách bylo pomocí spektrofotometru Milton Roy 21D provedeno měření při vlnové délce 515 nm. DPPH reaguje s antioxidanty a tím dochází ke snížení intenzity zbarvení roztoku. Výsledky byly vyjádřeny v µmol Troloxu na 100 g vzorku. Průměrná antioxidační aktivita produktů z obilovin je vyšší než u ovoce a zeleniny. U zeleniny antioxidační aktivita dosahuje nižších hodnot, což je obecně známo. Důkazem toho byla velmi nízká antioxidační aktivita melounu. V porovnání bílého a tmavého pečiva vykazoval vyšší aktivitu celozrnný chléb, který obsahuje otruby, v nichž je soustředěn vyšší obsah antioxidantů. Vyšší hodnoty vykazovaly také cereálie s přidavkem rozinek. Zrna pšenice

a ovesa ve srovnání s rýží a kukuřicí jsou silnějšími antioxidanty. U zeleniny, jako je červené zelí, česnek, řepa, byla naměřena vyšší antioxidační aktivita než u okurků, celere, mrkve, červených fazolek a bílého zelí. Rozdíl mezi červeným a bílým zelím je zarážející. Zdá se, že fialový pigment u červeného zelí přispívá k vysoké úrovni antioxidační aktivity. Také nejvyšší hodnoty byly naměřeny u ovoce s vyšším obsahem pigmentu. U sušeného ovoce je koncentrace mnohem nižší v důsledku jeho zpracování [49].

4.4 Celková antioxidační aktivita rýžového oleje

Rýže je důležitou hospodářskou plodinou. Obilka je složena z otrub, klíčku a zrna. Otruby jsou vyznačovány vysokou výživovou hodnotou. Olej z rýžových klíčků obsahuje 18 – 23 % nenasycených mastných kyselin, z nichž převládá kyselina linoleová a olejová. Rýžový olej vykazuje vysokou antioxidační účinnost. Je také bohatý na ferulové kyseliny, triterpenové alkoholy a esenciální komplex vitamínu E a oryzanol. Tyto sloučeniny hrají důležitou roli při prevenci infarktu, snižování hladiny cholesterolu, a také chrání kůži před UV-zářením. Antioxidační aktivita byla měřena metodami DPPH, FRAP a TEAC. Mikrotitrační destička obsahující 96 jamek byla rozdělena do tří sad. Každá jamka se vzorkem obsahovala 100 ml etanolového vzorku o koncentraci 25 – 400 mg.ml⁻¹ a 100 ml DPPH v roztoku etanolu. Slepý zkušební vzorek obsahoval taktéž 100 ml etanolového vzorku a 100 ml etanolu. Kontrolní vzorek obsahoval 100 ml etanolu a 100 ml DPPH v roztoku etanolu. Jako standard byl použit Trolox. Poté byla mikrotitrační destička inkubována 30 min. při 25 °C. Absorbance byla měřena při vlnové délce 520 nm. Po vypočtení byla zjištěna hodnota 0,0133 mg Troloxu na 1ml vzorku [50].

4.5 Antioxidační aktivita čiroku

Čirok (*Sorghum bicolor* Moench.) je hlavní potravinová plodina v mnoha částech světa, důležitá také jako medicína v Asii a Africe. Tato obilovina obsahuje bohaté množství fytochemikálií jako jsou třísloviny, fenolické kyseliny, antokyany, fytosteroly aj. Nedávné studie odborníků Choi, Jeong a Lee v roce 2006 ukázaly antioxidační i antikarcinogenní účinnost čiroku. Zvýšená spotřeba celozrnných výrobků z čiroku je spojena se snížením rizika chronických chorob. Do stabilizačních směsí, které chrání výrobky proti oxidaci lipidů jsou často přidávány antioxidanty jako je BHA (butylhydroxyanizol), BHT (butylhydroxytoluen) a TBHQ (*terc*-butylhydrochinon). Antioxidační aktivita čiroku byla měřena mnoha metodami, vybrána byla pouze metoda DPPH. Připravené výtažky

z 25 kultivarů pocházely z Jižní Koreje. Semena byla skladována při teplotě 4 °C. 2 g semen od každé odrůdy byly rozemlety a extrahovány 100% metanolem při pokojové teplotě po dobu 24 h. Každá směs byla zfiltrována přes filtrační papír. Pomocí rotační odparky byl extrakt odpařen při teplotě 40 °C. Surové extrakty byly odleženy ve vodě, rozděleny a smíchány s hexanem, etylacetátem, n-butanolem a vodou. Účinek extraktů produktu na radikál DPPH byl studován pomocí modifikované metody Shimady *et al.* 0,15 ml DPPH bylo zředěno se 4 ml metanolu. 1 ml tohoto roztoku byl přidán ke zkušebnímu vzorku. Reakční směs byla protřepána a inkubována 30 min při pokojové teplotě. Absorbance výsledného roztoku byla měřena při 517 nm proti slepému vzorku. Hodnota IC50 (mg.ml⁻¹) byla odečtena z grafu. Výsledky jsou uvedeny na obrázku č.5 [51].

Cultivars	RC ₅₀ ^b (µg/µl)	Cultivars	RC ₅₀ ^b (µg/µl)
Gumeunchalsusu	4.0 ± 0.0	Bitjarususu	23.3 ± 1.1
Ginjangmoksusu	6.6 ± 1.1	Susongsaengi	8.3 ± 0.5
Kkachisusu	129.0 ± 1.7	Sikyungsusu	6.0 ± 0.5
Kkachisusu(daerip)	60.6 ± 1.5	Ilbanchalsusu	6.6 ± 0.5
Kkomadansusu	6.3 ± 0.5	Jangmoksusu	8.6 ± 0.5
Neulsusu	8.0 ± 0.0	Jangsususu	4.6 ± 1.1
Mesusu	7.0 ± 0.0	Jaeraejongsusu	6.3 ± 0.5
Moktaksusu	5.6 ± 0.5	Joburangsusu	6.6 ± 1.1
Mongdangsusu	5.6 ± 0.5	Chalsusu(RDA)	6.0 ± 1.0
Bulkeunsaeksusu	5.6 ± 0.5	Chalsusu(2)	9.6 ± 0.5
Bulkeunjangmoksusu	9.0 ± 1.0	Heuinsusu	7.0 ± 0.0
Bulkeunjangsususu	5.3 ± 0.5	Heuinjangmoksusu	6.3 ± 0.5
Bulkeunchalsusu	6.0 ± 1.0		
α-tocopherol	12.0	BHT ^d	34.0
BHA ^c	14.0	Ascorbic acid	<2

Obrázek 4 Antioxidační působení široku a vybraných antioxidantů na radikál DPPH [51]

4.6 Antioxidační aktivita semen a klíčků amarantu a quinoi

Cílem této studie bylo srovnání antioxidačního potenciálu semen a klíčků vybraných pseudoobilovin. Jako rostlinný materiál byl použit laskavec (*Amarantus cruentus*), a to odrůdy Aztek a Rawa, které byly sklizeny ve východním Polsku. Semena quinoi (*Chenopodium quinoa*) byla dovezena z Bolívie. Semena pseudobilovin byla ponořena po dobu 3 hodin do skleněných nádob s vodou. Klíčky byly pěstovány 5 - 7 dní. Polovina vzorku byla ponechána na denním světle, druhá polovina byla uložena ve tmě. Po 5 - 7 dnech byly výhonky sklizeny a extrahovány. Rozdrcené vzorky semen a klíčků byly extrahovány se 40 ml rozpouštědla skládajícího se z metanolu, 0,16 ml.dm⁻³ HCl a vody smíchané v poměru 8:1:1. Po 2 hodinách byly extrakty odděleny dekantací a zbytky byly extrahovány se 40 ml 70% acetonu. Po odstředění byly vzorky skladovány v mrazničce při

teplotě – 20 °C. Antioxidační aktivita byla měřena metodou DPPH podle způsobu Yen, Chena s modifikací Bartona a Folta. Pro měření vzorků bylo přidáno 0,4 ml metanolového acetátového pufru do kyvet, obsahujících rostoucí objemy vzorků (0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,45, 0,6 ml) a odpovídající množství metanolu na celkový objem 1 ml. Do každé kyvety byl pak napipetován 1 ml roztoku DPPH. Absorbance výsledného roztoku byla měřena pomocí Jasco UV-530 spektrometru při vlnové délce 514 nm. Celková antioxidační aktivita byla přepočtena na ekvivalentní množství Troloxu. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovala semena quinoi, a nejnižší semena amarantu odrůdy Rawa. Hodnoty antioxidační aktivity klíčků quinoi byly výrazně nižší než u klíčků amarantu. Důvodem mohly být pigmenty jako např. antokyany, které způsobily zásah vedoucí k podcenění antioxidační aktivity. Výsledky ukázaly, že semena a klíčky pseudocereálií vykazovaly relativně vysokou antioxidační aktivitu, přičemž quinoa se zdá být lepší náhrada za tradiční obiloviny než amarant, co se týká semen. Významně vyšší antioxidační aktivitu oproti semenům prokázaly klíčky, v důsledku rozdílu v obsahu antokyanů a dalších sloučenin. Tyto alternativní plodiny mohou být použity v tradiční stravě jako prospěšný zdroj potravy s vysokou výživnou hodnotou [35].

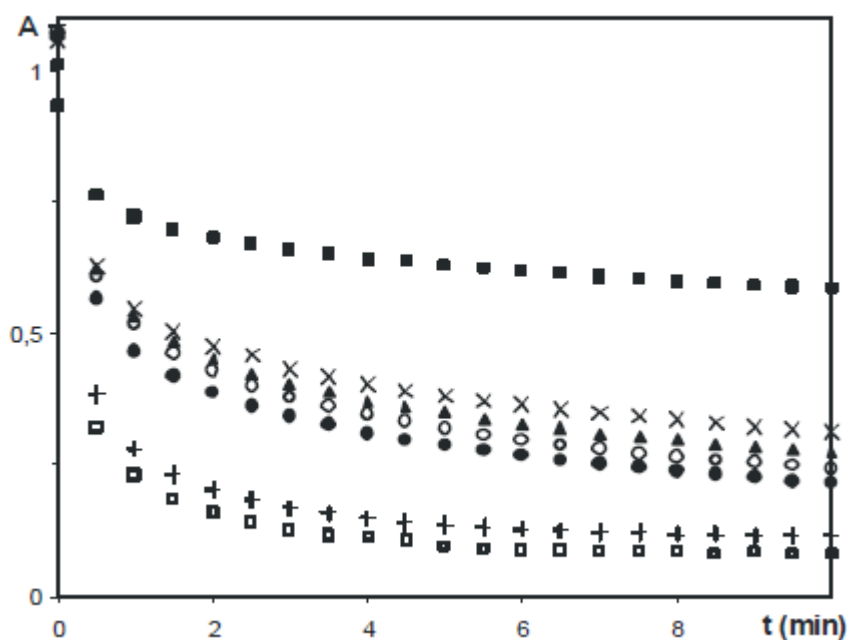
4.7 Další využití DPPH v oblasti cereálních technologií

Metoda DPPH byla využita nejen u mnoha druhů obilovin, pseudoobilovin, ale také u jejich výrobků. Bakalářská práce obsahuje pouze několik z mnoha článků stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH. Mezi další studie patří např. stanovení antioxidační aktivity autory Dvořákové, Dostálka *et al.*, kteří se v roce 2010 zabývali antioxidačním působením ječmene a sladu [52]. Antioxidační působení v rýžových otrubách a výtažků z produktů celého zrna popsali autoři Korycinska, Czelná *et al.* [53]. Hodnocením antioxidačních vlastností a kvality obilných kojeneckých výrobků se zabývali Li, Friel a Beta [54].

5 POUŽITÍ METODY DPPH V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU

5.1 Analýza antioxidantů v chmelu a pivu

Tato práce byla zaměřena na sledování antioxidační aktivity u 20 vybraných vzorků pív. Standardní látka použitá u toho měření je Trolox, který byl rozpuštěn v metanolu a z tohoto zásobního roztoku byla připravena kalibrační řada obsahující 0,01 – 0,08 μmol Troloxu. Ze zásobního roztoku DPPH o koncentraci 0,2 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ v metanolu byl připraven roztok o koncentraci 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Tento roztok obsahoval octanový pufr v poměru 1:2 (DPPH:pufr). K 1,9 ml této směsi bylo přidáno 100 μl vzorku. Úbytek absorbance byl měřen při vlnové délce 515 nm v 30 s intervalech po dobu 10 minut. Původní fialově zbarvený roztok byl působením antioxidantů odbarven na světle fialový. V % byl vyjádřen úbytek absorbance a pomocí kalibrační křivky byl přepočten na ekvivalentní množství Troloxu a konečná hodnota byla vztažena na 1 ml vzorku piva.



Obrázek 5 Průběh reakce radikálu DPPH s vybranými vzorky pív [18]

▲P3 (Velkopopovický kozel-premium), ○P8 (Radegast-premium), ●P12 (Zlatopramen 11°), ×P14 (Klasik), +P16 (Bud Superstrong), □P17 (Staropramen černý), ■P20 (Staropramen nealko)

Z naměřených výsledků vyplynulo, že nealkoholická piva reagují s DPPH velmi pomalu. Pivo speciální a piva černá reagují zpočátku rychle, po cca 3 min se jejich absorbance už prakticky nemění. Touto metodou byly také proměřeny ve vodě nerozpustné chmelové extrakty a granule. Extrakty a granule byly rozpuštěny v metanolu, roztok DPPH odpovídal koncentraci $0,5 \text{ g.dm}^{-3}$. Po měření bylo zjištěno, že nejvyšší antioxidační aktivitu vykazoval chmelový extrakt [18].

5.2 Stanovení antioxidační aktivity extraktů palmových listů (*Elaeis quineensis*)

Palmový olej obsahuje především glyceridy, tokoly, karotenoidy, koenzym Q a fosfolipidy. Studie dokázaly, že tyto látky obsažené v oleji vykazují antioxidační, ale také antikarcinogenní účinek. Jako vzorek byl použit olej a extrakty z listů palmy *Elaeis quineensis*. Nejprve byly listy sušeny při teplotě $60 \text{ }^\circ\text{C}$, odolejovány a ponořeny přes noc do rozpouštědla hexanu. Po filtraci byly podrobeny sérii extrakcí. DPPH radikálový test byl proveden v souladu s metodou Thaipong *et al.* s drobnými úpravami. 24 mg DPPH bylo rozpuštěno ve 100 ml metanolu. Ke 2,85 ml pracovnímu roztoku bylo přidáno 0,15 ml extraktu. Roztok byl ponechán ve tmě 24 h. Absorbance byla měřena pomocí spektrofotometru Thermo Spectronic Helios α UV-Visible při vlnové délce 515 nm. Po zpracování výsledků bylo zjištěno, že sušené extrakty z listů obsahují vyšší antioxidační aktivitu pohybující se od 0,7 do $1,0 \text{ mg.rutinu.g}^{-1}$. Extrakty z čerstvého listí vykazovaly mnohem nižší aktivitu, pohybující se v rozmezí $0,06 - 0,38 \text{ mg.rutinu.g}^{-1}$ [55].

5.3 Antioxidační aktivita zeleninových a ovocných šťáv

Cílem této laboratorní práce bylo hodnocení antioxidační aktivity jednodruhových ovocných a zeleninových šťáv. Mezi antioxidační látky obsažené v ovoci a zelenině patří fenolické látky, flavonoidy, karotenoidy, tokoferoly, organické kyseliny a některé stopové prvky a enzymy. Příkladem použitých surovin je mrkev, červená řepa, celer, červené, bílé zelí, okurky, brokolice, rajčata, jablka a hrušky. Z jednotlivých druhů ovoce a zeleniny byla připravena šťáva, která byla skladována v sáčcích při teplotě $-40 \text{ }^\circ\text{C}$. Následovala příprava vodného a etanolového extraktu, který obsahoval 1 - 3 g šťávy doplněné vodou na 10 ml. U etanolového extraktu byla šťáva doplněna metanolem. Dále byl roztok 10 min. třepán a odstředěn. 4 ml vzorku DPPH a 100 ml vodného nebo metanolového extraktu bylo

ponecháno 2 h při laboratorní teplotě. Měření bylo provedeno při vlnové délce 515 nm. Pokles absorbance byl vyjádřen v μg kyseliny askorbové nebo μg Troloxu v 1 g šťávy, které mají stejnou antioxidační aktivitu jako antioxidanty přítomné v kalibrovaném roztoku (3,2 – 16 μg kyseliny askorbové (AK) ve 100 ml vody nebo 5 - 25 μg Troloxu ve 100 ml metanolu). Touto metodou bylo zjištěno, že šťávy z mrkve, okurky, jablka, hrušky a celeru vykazují antioxidační aktivitu ve vodných extraktech řádově 10 μg AK.g⁻¹, v metanolových extraktech < 1 μmol Troloxu.g⁻¹. Šťávy z červené řepy, brokolice, bílého zelí a rajčete vykazují antioxidační aktivitu ve vodných extraktech řádově 10² μg AK.g⁻¹, v metanolových extraktech < 6 μmol Troloxu.g⁻¹. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny ve šťávě z červeného zelí, kde antioxidační aktivita ve vodných extraktech vykazovala řádově 10³ μg AK.g⁻¹, v metanolových extraktech 9 μmol Troloxu.g⁻¹ [56].

Tabulka 2 Antioxidační aktivita vodných a metanolových extraktů [56]

vzorek	vodný extrakt (μg AK.g ⁻¹)	metanolový extrakt (1 μmol Troloxu.g ⁻¹)
Mrkev	32,3	0,30
Bílé zelí	100,6	1,12
Jablko	68,3	0,71
Hruška	98,6	0,54
Okurka	17,5	0,24
Červená řepa	649,0	4,50
Celer	56,4	0,41
Brokolice	214,3	2,38
Rajče	288,6	1,88
Červené zelí	1465,5	9,18

5.4 Stanovení antioxidační aktivity v pivovarnictví

Nejširší skupinou antioxidantů v pivovarnictví jsou polyfenolické látky. Tyto antioxidanty hrají důležitou roli v bránění procesu oxidačních změn během chmelovaru a skladování. Tento oxidační proces může být důsledkem vzniku celé řady sensoricky negativních látek. Polyfenolické látky v pivu reagují s bílkovinami za vzniku nežádoucích komplexů, které snižují koloidní stabilitu piva. Antioxidační vlastnosti byly stanovovány z výluhů 6 českých a 8 zahraničních chmelů a 2 druhů chmelových výrobků. Pro stanovení této aktivity byla autory, kromě jiných metod, odzkoušena metoda DPPH. Roztok DPPH o koncentraci 1,86 10⁻⁴ mol.dm⁻³ v etanolu byl smíchán s acetátovým tlumivým roztokem

(pH 4,3). Poměr roztoku DPPH v etanolu a acetátovým tlumivým roztokem činil 2:1. Ke 2,8 ml tohoto roztoku byl přidán vzorek v množství 0,2 ml. Při vlnové délce 525 nm byla ihned změřena absorbance. Odbarvování indikátoru bylo měřeno v minutových intervalech po dobu 10 minut. Výsledkem je procentuální vyjádření úbytku DPPH po 10 minutách. Touto metodou bylo zjištěno, že nejvyšších hodnot antioxidační aktivity dosahuje žatecký poloraný červeňák. Některé zahraniční odrůdy mohou také žateckému chmelu konkurovat, zde je však nutno uvést, že tyto chmely obsahují vyšší množství hořkých kyselin, proto se jich při výrobě piva dávkuje méně [26].

5.5 Antioxidační aktivita semen lupiny

Lupina neboli vlčí bob je rostlina pěstovaná v mnoha zemích světa pro krmivo, ale také k lidské spotřebě. Semena jsou bohatým zdrojem bílkovin a vlákniny. Bylo také zjištěno, že jádra díky nízkému glykemickému indexu mají schopnost snižovat krevní glukózu, cholesterol a příznivě působí na činnost střev. V zemích jižní Evropy, Středního východu a Jižní Ameriky se vysoce alkaloidní hořká semena používají jako přísada do potravin. V Západní Austrálii se tato hořká semena využívají minimálně. Účelem této studie bylo zjištění antioxidační aktivity 11 různých druhů lupin, včetně čtyř druhů lupin pěstovaných v Austrálii, a to *Lupinus angustifolius*, *L. luteus*, *L. albus* a *L. mutabilis*. Ze všech druhů lupin byl získán jemný prášek. 1 g prášku byl přes noc extrahován 20 ml 80% metanolu při pokojové teplotě. Vzorek byl odstředěn a rozdělen na 2 vrstvy. Čirý roztok byl filtrován a použit pro antioxidační test. Trolox byl rozpuštěn v etanolu v množství $0,63 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. Po té byl roztok zředěn metanolem na 5 různých koncentrací, tato směs byla zároveň referenčním standardem. 2 ml extraktu z lupiny bylo přidáno ke 3 ml DPPH a 5 ml metanolu. Stejně množství metanolu a DPPH obsahoval slepý vzorek. Pokles absorbance byl měřen při 517 nm. Aktivita lupiny byla vyjádřena v mg ekvivalentního množství Troloxu. 100 g^{-1} , která byla vypočtena pomocí lineární regrese z kalibrační křivky s 5 různými koncentracemi Troloxu. Trolox slouží jako referenční sloučenina k porovnání antioxidační aktivity jiného antioxidantu. Tato metoda je rychlá, jednoduchá a levná. Po zpracování výsledků bylo zjištěno, že nejvyšších hodnot dosahoval *L. luteus*, a to 0,635 mg ekv. Troloxu na 1 g osiva, dále následoval *L. micranthus* 0,513 mg ekv. Troloxu na 1 g osiva. Nejnižší antioxidační aktivita byla naměřena u *L. albus* s hodnotou 0,153 mg ekv. Troloxu na 1 g osiva [57].

Tabulka 3 Antioxidační aktivita 11 druhů lupin [57]

Druhové jméno	Název odrůdy	mg Troloxu Eq.g ⁻¹
<i>L. albus</i>	Etho 66	0,195
<i>L. albus</i>		0,153
<i>L. albus</i>	Andromeda	0,153
<i>L. angostifolius</i>		0,424
<i>L. angostifolius</i>	Belara, 99 WH10	0,210
<i>L. angostifolius</i>	Kalya	0,438
<i>L. angostifolius</i>	Wongan Hills Telerack	0,163
<i>L. atlantieus</i>		0,240
<i>L. consentinii</i>		0,227
<i>L. digitatus</i>		0,362
<i>L. hispanicus</i>		0,277
<i>L. luteus</i>		0,217
<i>L. luteus</i>	Pootalong	0,635
<i>L. micrevthus</i>		0,513
<i>L. mutabilit</i>		0,339
<i>L. mutabilit</i>	P28725	0,394
<i>L. palaestinus</i>		0,238
<i>L. pilous</i>		0,316

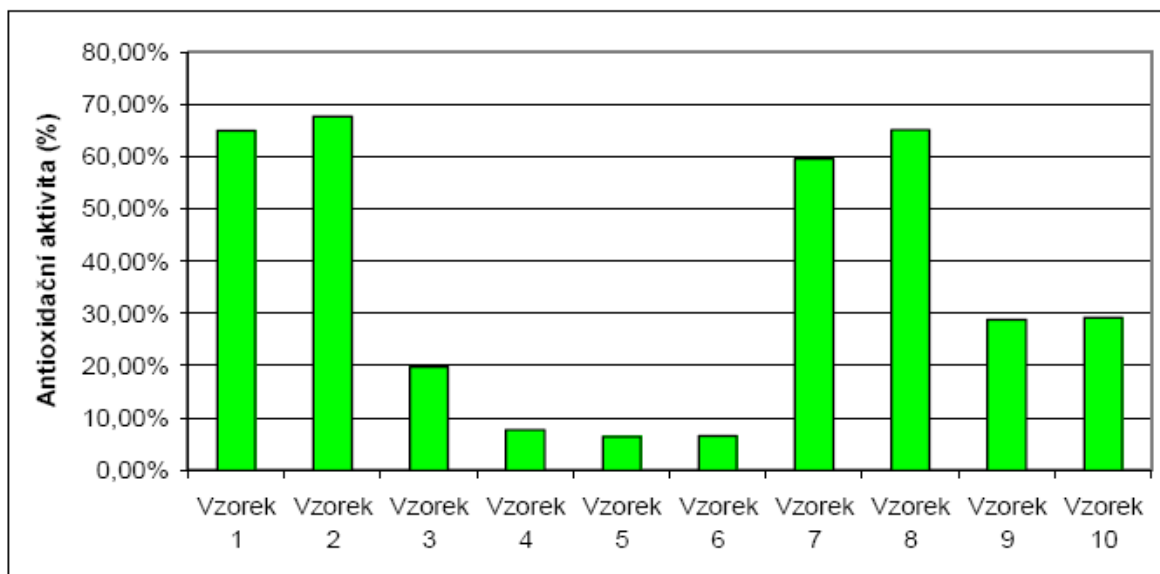
5.6 Stanovení redukční aktivity chmele a piva metodou DPPH

Metoda je založena na reakci barevného radikálu DPPH s antioxidanty obsaženými ve vzorku. Nepárový elektron hydrazylového dusíku je zodpovědný za intenzivní modré zbarvení volného radikálu. Reakce tohoto radikálu s antioxidanty má za následek postupné odbarvování reakční směsi a snižování absorbance roztoku, měřené při 525 nm. Měření kromě spektrofotometrie může být provedeno metodou ESR (Electron Spin Resonance, Elektronová spinová rezonanční spektrometrie). V případě metody ESR jsou volné radikály v reakční směsi generovány termicky. Radikály reagují s přítomnými antioxidanty, je zde měřena časová závislost hodnoty nezreagovaných volných radikálů. Rozdíl absorbance na začátku a po 10 minutách reakce kvantifikuje redukční aktivitu zkoumaného vzorku. Z hlávkového či granulovaného chmele byl připraven výluh. 5 g chmele a 700 g destilované vody bylo přivedeno pod zpětným chladičem k varu. Po ukončení varu byla směs zchlazena a doplněna na objem 1 litru. Poté byla směs zfiltrována přes filtrační papír a nakonec přes membránový filtr. Takto čistý filtrát byl použit pro měření redukční neboli antiradikálové aktivity. Vzorek piva byl před měřením v ultrazvukové lázni zbaven CO₂. Při vlastním stanovení bylo ve zkumavce smícháno 2,8 ml činidla DPPH s 0,2 ml vzorku. Po 10 minutách byla měřena absorbance při

525 nm. Stejným způsobem bylo provedeno měření slepého vzorku, který obsahoval 2,8 ml směsi etanol-acetátového pufru v poměru 2:1 a 0,2 ml vzorku. Při stanovení slepého pokusu, která je potřebná pro výpočet, bylo smícháno 2,8 ml činidla a 0,2 ml destilované vody. Nejvyšší redukční aktivitu více než 70 % rel., vykazovala odrůda Žatecký červeňák, odrůdy Sládek, Premiant a Agnus vykazovaly antiradikálovou aktivitu v rozmezí 45 – 55 % [39].

5.7 Antioxidační aktivita kyseliny L-askorbové v nealkoholických nápojích

Kyselina askorbová patří mezi významné antioxidanty. Chrání buňky před účinkem volných radikálů, které v organismu vznikají např. působením výfukových plynů, kouřením, UV zářením aj. Kyselina askorbová se uplatňuje v metabolismu cholesterolu, účastní se biosyntézy mukopolysacharidů, prostaglandinů, stimuluje transport sodných a chloridových iontů, účastní se absorpce a transportu iontových forem železa. V tomto experimentu bylo analyzováno 10 vzorků nealkoholických nápojů od českých, slovenských a rakouských výrobců. O jaké vzorky se jednalo autoři neudávají. Z chemikálií byl použit etanol, kyselina L-askorbová, kyselina octová, volný radikál DPPH a redestilovaná voda. Pro stanovení antioxidační kapacity byl použit HELIOS Gamma UV-VIS spektrometr. Při stanovení antioxidační kapacity byla nejprve změřena absorbance čerstvě připraveného roztoku DPPH při vlnové délce 517 nm. Koncentrace roztoku DPPH činila $0,025 \text{ g.l}^{-1}$. 5 ml tohoto roztoku bylo smícháno s $200 \mu\text{g}$ $10\times$ zředěného nealkoholického nápoje. Tato směs byla ponechána ve tmě po dobu 5 minut, poté byla změřena absorbance. Zjištěná antioxidační aktivita nesouvisí pouze s obsahem kyseliny askorbové, ale také s obsahem jiných antioxidantů, např. polyfenolů, převažujících u vzorků č. 1 a 2. Právě tyto dva vzorky čajového původu poskytovaly nejvyšší hodnoty inhibice volného radikálu [41].



Obrázek 6 Antioxidační aktivita analyzovaných nealkoholických nápojů [41]

5.8 Stanovení antioxidační aktivity červených a fialových odrůd brambor

Bramborové hlízy s takto zbarvenou dužninou vykazují významnou antioxidační aktivitu, ke které přispívají především antokyany, karotenoidy a kyselina askorbová. Cílem této práce bylo zjištění antioxidační aktivity červených a fialových brambor a její porovnání s antioxidační aktivitou standardně používaných žlutomasých odrůd. Vzorky pocházely z hlíz *Solanum tuberosum*, které byly vypěstovány na území ČR. Vzorky hlíz byly analyzovány jak lyofilizované, tak v čerstvém stavu. Od přípravy vzorku do analýzy nesmělo uplynout více jak 30 minut. Pro měření antioxidační aktivity DPPH testem byla použita metodika Pareja *et al.* Byl připraven roztok DPPH o absorbanci (t_0) $0,200 \pm 0,01$. Absorbance byla měřena při 515 nm. Naměřené a vypočtené hodnoty byly vyjádřeny v mmol kyseliny askorbové na 1 kg čerstvých hlíz brambor. Pomocí softwaru Statistica 7.0 byla provedena statistická analýza. Antioxidační aktivita u lyofilizovaného vzorku se pohybovala v rozmezí 0,67 – 3,46 mmol kyseliny askorbové v 1kg čerstvé hmoty. Je nutno upozornit, že lyofilizací může docházet k degradaci nebo inaktivaci antioxidačních látek. U čerstvé šťávy z brambor dosahovala hodnot 0,34 – 7,69 mmol kyseliny askorbové na 1 kg čerstvé hmoty. Průměrný rozdíl činil asi 31 %. U vzorků šťáv z brambor se nejvíce odlišovaly odrůdy Vittelotte, Violette a Shetland Black. Získané výsledky prokázaly vyšší antioxidační aktivitu u červených a fialových brambor oproti bramborům žlutomasým [58].

5.9 Porovnání antioxidační aktivity kakaa, čaje a červeného vína

Černý, zelený čaj, kakao a červené víno obsahují fenolické látky, zejména teaflaviny. Teaflavin, resveratrol a prokyanidin jsou považovány za silné antioxidanty. Hlavními antioxidanty v zeleném čaji jsou katechininy a resveratrol. Tyto antioxidanty představují menší část černého čaje. Kakao obsahuje mnohem vyšší hladinu celkových fenolických látek, než porce zeleného a černého čaje a červeného vína. Resveratrol a fytoalexin obsažené také v červeném víně jsou hlavními komponentami zodpovědnými za antikarcinogenní aktivitu, ale v tomto vzorku jsou obsaženy na minimální úrovni, která činí $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Proto většinu prospěšných účinků červeného vína lze připsat jiným fytochemikáliím než je resveratrol. Monomerní katechiny jsou považovány za antioxidanty pouze v černém čaji a čokoládě. Antioxidační aktivita těchto vzorků byla měřena metodou ABTS a metodou DPPH. 7,3 g kakaového prášku bylo rozpuštěno ve 200 ml destilované vody při teplotě $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Černý a zelený čaj v množství 2 g byly extrahovány taktéž ve 200 ml destilované vody při teplotě $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Množství vzorku červeného vína činilo 140 ml. Všechny vzorky pak byly odstředěny na odstředivce po dobu 5 minut. Supernatanty pak byly použity jako konečné vzorky. Roztok DPPH byl rozpuštěn v 80% metanolu. Ke 2,9 ml tohoto roztoku bylo přidáno 0,1 ml vzorku. Směs se pak důkladně protřepala a nechala se odležet 30 min. v temnu při teplotě $23 \text{ }^\circ\text{C}$. Pokles absorbance byl měřen při 517 nm pomocí spektrofotometru Hitachi. Kontrolní vzorek obsahoval 0,1 ml 50% vodného metanolu a 2,9 ml DPPH. Naměřené výsledky celkové antioxidační aktivity dokazovaly nejvyšší hladinu antioxidantů v kakau, v červeném víně, v zeleném čaji a nakonec v čaji černém. Celková antioxidační aktivita je asi 4-5 krát silnější než u černého čaje, 2-3 krát silnější než u zeleného čaje a téměř dvakrát silnější než u červeného vína [59].

6 POUŽITÍ METODY DPPH V OBLASTI BIOLOGICKÉHO VÝZKUMU

6.1 Antioxidační aktivita 50% etanolového extraktu z *Acantholippia deserticola*

Acantholippia deserticola obvykle známá také jako rica-rica, je 30 – 60 cm vysoká rostlina rostoucí v severní Čile. Nadzemní části této rostliny se využívají v medicíně k léčbě průjmů, jater, gastrointestinálního nadýmání a nechutenství. Z rostliny se připravuje výluh ve 200 ml vody, který se pije 3 krát denně dokud nemoc neodezní. Cílem této práce bylo zhodnocení antioxidační aktivity 50% etanolového extraktu z nadzemních částí této rostliny. Jako rostlinný materiál byly použity listy *Acantholippia deserticola* nasbírané na Socaire v severním Čile. Usušené listy v množství 1,2 kg byly nasekány a extrahovány etanolovým roztokem v poměru 1:1 (etanol:voda) po dobu jednoho týdne při pokojové teplotě. Extrakt byl pak zfiltrován, odpařen za sníženého tlaku a zmrazen. Výnos lyofizilovaného vodného roztoku činil 145 g. Antiradikálová činnost byla hodnocena spektrofotometricky při vlnové délce 515 nm. Vzorek zásobního roztoku ($1,0 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) byl zředěn na konečné koncentrace 100, 80, 60, 40, 20, 10 a $5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ v etanolu. Roztok DPPH ($0,025 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) v etanolu o objemu 1,5 ml byl přidán ke 2,5 ml vzorku o různých koncentracích. Směs byla důkladně protřepána a ponechána 30 min v klidu při pokojové teplotě. Poté byla měřena absorbance. Smícháním 2,5 ml výluhu a 1,5 ml etanolu byl připraven slepý roztok. Pracovní roztok obsahoval 1,5 ml DPPH ($0,025 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) a 2,5 ml etanolu. Tento roztok byl zároveň použit jako negativní kontrola. Trolox a kvercetin byly použity jako kontrola pozitivní. Všechny experimenty byly použity ve třech vyhotoveních. Využití metody DPPH poskytuje snadný a rychlý způsob, jak zhodnotit koncentraci antioxidantů. DPPH je volný radikál stabilní při pokojové teplotě, který vytváří purpurové zbarvení v roztoku etanolu. Intenzita zbarvení je snížena v přítomnosti antioxidantu. Přítomnost molekul antioxidantu roztok zbarví do žluta nebo zcela odbarví. Koncentrace antioxidantu, který za určitou dobu zhasí 50 % radikálu DPPH byla vypočtena z odpovídající kalibrační křivky a činila $18 \pm 0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ [60].



Obrázek 7 *Acantholippia deserticola* [61]

6.2 Stanovení antioxidační aktivity ve vzorcích biologického původu

Cílem tohoto experimentu byla optimalizace a přesné popsání fotometrických metod použitých ke stanovení antioxidační aktivity v biologických vzorcích. Pro měření byl použit automatický spektrofotometr BS-200, jehož robotické rameno s dávkovací jehlou zabezpečovalo přenos vzorků a reagensů. Obsah kyvet byl vždy promíchán automatickým míchadlem. DPPH test je možno použít pouze u vzorků s nízkými hodnotami antioxidační aktivity vyjádřenými následující koncentrací Troloxu 0,05 - 0,15 mmol.dm⁻³. V koncentracích nad 0,2 mmol.dm⁻³ jsou hodnoty absorbance záporné. Záporné hodnoty značí, že antioxidanty ve vzorku dokázaly zhasit nebo vychytat všechny volné radikály. Pokud chceme touto metodou stanovit vyšší antioxidační aktivitu, musí být vzorky naředěny [62].

6.3 Izolace antioxidantů z *Alchemilla xanthochlora*

Alchemilla xanthochlora nebo-li Kontryhel žlutozelený je rostlina čeledi *Rosaceae*. Běžně se používá pro léčbu kožních onemocnění. Antibakteriální účinek této rostliny je spojen s obsahem tříslovin. Ve studiích v roce 2003 byla *Alchemilla xanthochlora* prezentována jako bylina se silnými antioxidačními účinky. Pro analýzu antioxidantů byly použity různé testy, ale většinou byly použity metody, které zahrnují generaci radikálů. Jakákoli molekula, která může darovat atom vodíku, bude reagovat s DPPH. 1g sušených listů kontryhele byl rozdrcen a extrahován hexanem a destilovanou vodou asi 1 hodinu při teplotě 50 °C. Extrakční směs byla odstředěna. Rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku na rotační vakuové odparce při teplotě 50 °C. Pevný zbytek byl rozložen ve směsi

chloroformu a vody. Vodná fáze s obsahem roztoku NaCl byla extrahována etylacetátem a izopropanolem. Antioxidační aktivita byla měřena metodou DPPH. Jako standard byl použit BHT (butylhydroxytoluen). Bylo smícháno 100 ml metanolového roztoku DPPH a 25 ml vzorku. Tato směs byla aplikována do 96 jamek mikrotitrační destičky a inkubována při laboratorní teplotě po dobu 10 min. Po inkubaci byla měřena absorbance při vlnové délce 517 nm. Specifická antioxidační aktivita činila 535,2 mg DPPH na 1 g vzorku [40].

6.4 Antioxidační aktivita rostlinného materiálu

Cílem této studie bylo porovnání antioxidační aktivity u několika druhů rostlin pocházejících ze Súdánu. *Sclerocarya birrea* subsp. *caffera* je strom patřící do čeledi *Anacardiaceae*. Plody tohoto stromu se používají k výrobě jedlého oleje. Další rostlinou je taktéž strom *Salvadora persica* z čeledi *Salvadoraceae*. Jedná se o stále zelenou rostlinu, jejíž výtažky z větví se používají k ústní hygieně. *Guiera senegalensis* patří do čeledi *Combretaceae*. Tento 3 m vysoký keř je používán k prevenci malomocenství, k léčbě průjmů a úplavice. *Combretum hartmannianum* je 4 m vysoký keř. Jeho listy se používají k potlačení oxidace kyseliny linolové, k léčbě chřipky, revmatizmu, hemoroidů, kašle, anorexie, malárie aj. Listy a kořeny těchto rostlin byly odebrány v západním Súdánu. Po usušení byly rozdrceny na jemný prášek, který byl uložen v lednici. 2 g sušeného rozdrceného materiálu bylo extrahováno 50 ml vodného roztoku metanolu v poměru 60:40 (metanol:voda). Rozpouštědlo bylo odpařeno pomocí rotační odparky. Pro stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda DPPH popsaná podle metody Hatano *et al.* 0,5 ml roztoku DPPH o koncentraci 50 mg.100 ml⁻¹ bylo smícháno s 4,5 ml vodného roztoku metanolu. Směs byla důkladně protřepána a ponechána v temnu po dobu 45 min. Pokles absorbance byl měřen při vlnové délce 515 nm proti slepému vzorku. Hodnoty IC₅₀ se pohybovaly od 0,05 až do 3,4 mg na vzorek. Antioxidační aktivita různých extraktů následovala v pořadí: *Guiera senegalensis* (listy) > *Sclerocarya birrea* (listy) > *Guiera senegalensis* (kořeny) > *Combretum hartmannianum* (listy) > *Salvadora persica* (kůra) > *Salvadora persica* (listy) [38].

ZÁVĚR

První část bakalářské práce obsahuje charakteristiku, chemické složení zrna, energetickou bilanci cereálií, cereální výrobky a jejich vliv na zdraví. Obiloviny a jejich výrobky patří mezi dobře skladovatelné a cenově přístupné. Vyznačují se bohatým zdrojem sacharidů (převážně škrobu) a vlákniny. Přestože výrobky z celých zrn mají příznivé účinky na naše zdraví, výrobky z bílé mouky obsahují vysoký glykemický index. Konzumace potravin s vysokým glykemickým indexem vede k rozvoji řadě onemocnění. Obiloviny jsou řazeny mezi alergizující potraviny díky přítomnosti lepku. Lepek je složen ze dvou bílkovin, gliadinu a glutelinu. U některých jedinců vyvolává nesnášenlivost, která se projevuje křečemi v břiše a průjmami. Ne všechny cereálie ho obsahují. Mezi tzv. bezlepkové obiloviny řadíme např. pohanku, kukuřici, rýži a jáhly.

Druhá část bakalářské práce se zabývá antioxidační aktivitou a metodami jejího stanovení. Hlavní roli zde hrají radikály, které jsou vyznačovány nepříznivým účinkem jak na organismus, tak na stabilitu potravin. Radikálem se stává molekula, která ztratila elektron. Řetězová reakce radikálu probíhá tak dlouho, dokud se neseťká s antioxidantem. Bohatými zdroji antioxidantů jsou právě obiloviny, ovoce a zelenina. Antioxidační aktivitu lze stanovovat mnoha metodami, jejichž principy byly v této práci popsány. Např. hodnota IC₅₀ u pohanky byla 82,5 μg.ml⁻¹, hodnota ječmene 36,6 μg.ml⁻¹ a hodnota pšenice 31,0 μg.ml⁻¹.

Poslední část této práce poukazuje na využití metody DPPH v oblasti cereálií, ale také v potravinářském průmyslu či biologického výzkumu. Touto metodou bylo dokázáno antioxidačního působení cereálií, pseudocereálií, potravin, alkoholických (pivo, červené víno, nealkoholických (čaj, kakao, ovocné a zeleninové šťávy) nápojů a rostlinného materiálu.

Bakalářská práce slouží jako podkladový materiál pro následnou experimentální diplomovou práci, která se bude věnovat antioxidační aktivitě netradičních druhů obilovin, cereálií a cereálních výrobků.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. *Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*, 1. vyd., Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2004, ISBN 80-7080-530-7
- [2] COOBS, J., HALL, K. *The Potential of Cereals As Industrial Raw Materials*, CPL Scientific Limited 43 Kingfisher Court, Newbury RG14 5SJ, United Kingdom
- [3] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům II. část*, Praha, 2006
- [4] PÁNEK, J., POKORNÝ, J., DOSTÁLOVÁ, J., KOHOUT, P. *Základy výživy*, Praha, 2002, ISBN 80-86320-23-5
- [5] EVANS, J. E. *Cereal and flour production*, University of Newcastle, dostupné na: <http://www.woodheadpublishing.com/en/book.aspx?bookID=455>
- [6] MORRIS, P.C., BRYCE, J.C. *Cereal Biotechnology*, Woodhead Publishing, 2002
- [7] Dostupné na: <http://www.eufic.org/article/en/expid/Whole-grain-Fact-Sheet/>
[on-line, 4.10.2010]
- [8] HRABĚ, J., HOZA, I., ROP, O. *Technologie výroby potravin rostlinného původu*, vyd.1, Zlín, 2005, ISBN 8073183722
- [9] DEMIRBAS, A. *β -Glucan and material nutrient content of cereals grown in Turkey*, Department of Chemical Engineering, Selcuk University, 42031 Konya, Turkey, 2004
- [10] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*, OSSIS, Tábor, 1999, ISBN 80-902-3914-5
- [11] WEITBERG, A.B, CORVESE, D. Effect of vitamin E and beta-carotene on DNA strand breakage induced by tobacco-specific nitrosamines and stimulated human phagocytes, *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 16 (1), 11-4, 1997

- [12] Dostupné na: <http://www.umm.edu/altmed/articles/vitamin-c-000339.htm>
[on-line, 7.4.2011]
- [13] PRUGAR, J. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*, 43. publikace
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s, Praha, 2008, ISBN 978-80-86576-28-2
- [14] Dostupné na: <http://www.eufic.org/article/cs/artid/celiakie-nebo-glutenova-intolerance/> [on-line, 7.11.2010]
- [15] Dostupné na: <http://www.answers.com/topic/cereal> [on-line, 8.11.2010]
- [16] Dostupné na:
http://fswb.fcps.edu/fsdweb/FoodServices/Parents/NewsLetters/English/7_March%202011.PDF [on-line, 3.4.2011]
- [17] SUKOVÁ, I. *Antioxidační aktivita potravin*, Čes. a slov. hygiena, 1, 2004
- [18] FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu, *Chem. Listy* 103, 232–235 (2009)
- [19] HOLEČEK, V., MAŠEK, V., HECOVÁ, H., Zicha A., NETOLICKÝ, J. *Volné radikály a antioxidanty ve stomatologii*, Čes. Stomatol. 2008, 108(1), 20-23
- [20] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro, *Chem. Listy* 98, 174-179 (2004)
- [21] PRAKASH, A. Antioxidant activity, Medallion Laboratories, Analytical Progress, 2001
- [22] RICE-EVANS, C., MILLER, N. J., BOLWELL, P.G., BRAMLEZ, P.M., PRIDHAM, J. B. *Free Radical Res.* 22, 375 (1995)
- [23] ARNAO, M.B., CANO, A., ACOSTA, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, *Food Chem.* 73, 239 (2001)
- [24] CANO, A., HEMÁNDEZ-RUIZ, J., GARCIA-CANOVAS, F., ACOSTA, M., AMAO, M.B. *Phytochem. Anal.* 9, 196 (1998)

- [25] BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical
Nature 181, 1199 (1958)
- [26] KARABÍN, M., DOSTÁLEK, P., HOFTA, P. Přehled metod pro stanovení
antioxidační aktivity v pivovarnictví, *Chem. listy* 100, 184-189 (2006)
- [27] CRONIN, R. J. Comparing Antioxidant Values with the Orac Method, The
Biochemistry of Alternative Medicine, Published in Volume 10, Issue 3, 2004
- [28] Dostupné na: http://www.uniurb.it/orac/descrizione_eng.php [on-line, 3.12.2010]
- [29] ZLOCH, Z., ČELAKOVSKÝ, J., AUJEZDSKÁ, A. *Stanovení obsahu polyfenolů
a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu, Závěrečná
zpráva o plnění výzkumného projektu podpořeného finančně Nadačním fondem
Institutu Danone (v r. 2004), Plzeň, 2004*
- [30] OU, B., HUANG, D., HAMPSCH-WOODILL, M., FLANAGAN, J.A., DEEMER,
E.K. J. Agric, *Food Chem.* 50, 1322, (2002)
- [31] MAYNAK, T., THIRUMEIGNANAM, D., RAI, S.N. Ferric Reducing Antioxidant
Power (FRAP) Assay, Dairy, Cattle Nutrition Division, N.D.R.I. Karnal, India, 2008
- [32] RAPTA, P., MIŠÍK, V., STAŠKO, A., VRÁBEL, I., Redox intermediates of
flavonoids and caffeic acid esters from propolis: an EPR spectroscopy and cyclic
voltammetry study, *Free Radical Biol. Med.* 18, 901, 1995
- [33] PEYRAT-MAILLARD, M., BONNELLY, S., BERST, C. Determination of the
antioxidant activity of phenolic compounds by coulometric detection, *Talanta* 2000,
51, 709 - 716
- [34] DORDEVIČ, M.T., ŠILER-MARINKOVIČ, S.S., DIMITRIJEVIČ-BRANKOVIČ,
I.S, Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo
cereals, *Food Chemistry*, Volume 119, Issue 3, Pages 957- 963, 2007

- [35] PASKO, P., BARTON, H., ZAGRODZKI, P., GORINSTEIN, S., FOLTA, M., ZACHWIEJA, Z. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth, *Food Chemistry* 115 (2009) 994–998
- [36] TRNA, J., TÁBORSKÁ, E. Přírodní polyfenolové antioxidanty, dostupné na: www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf [on-line, 11.12.2010]
- [37] RAJENDRAN, N., RAMAKRISHNAN, J. Polyphenol analysis and Antitumor activity of Crude extracts from Tegmen of *Artocarpus heterophyllus*, *The Internet Journal of Alternative Medicine*, Volume 7, Number 2, 2009
- [38] TAHA, E., MARIOD, A., ABOUELHAWA, S., EL-GEDDAWY, M., SOROUR, M., MATTHAUS, B., Antioxidant activity of extracts from six different Sudanese plant materials, *European Journal of Lipid Science and Technology*, Volume 112, Issue 11, pages 1263 – 1269, 2010
- [39] MIKYŠKA, A., KROFTA, K. *Aplikace moderních metod stanovení antioxidantní aktivity k hodnocení kvality chmele a senzoričké stability pív*, Závěrečná zpráva projektu, 2007
- [40] ONDREJOVIČ, M., ONDRIGOVÁ, Z., Isolation of Antioxidants From *Alchemilla xanthochlora*, *Nova Biotechnologica* 9-3 (2009)
- [41] JEŽKOVÁ, K., PAVLÍKOVÁ, P., DOBIÁŠ, P., ADAM, M., VENTURA, K. *Analýza kyseliny L- askorbové v nápojích s využitím techniky MEPS*, Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice
- [42] ALGERR, M.S.M., *Polymer science dictionary*, Springer, 1997, ISBN 0412608707
- [43] Dostupné na:
http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?D7=0&N5=SEARCH_CONC_AT_PNO|BRAND_KEY&N4=43180|FLUKA&N25=0&QS=ON&F=SPEC
[on-line, 20.4.2011]

- [44] OEHLKE, K., HEINS, A., STÖCKMANN, H., SÖNNICHSEN, F., SCHWARZ, K.,
New insights into the antioxidant activity of Trolox in o/w emulsions, *Elsevier Ltd.*,
Volume 124, Issue 3, Pages 781-787, 2010
- [45] Dostupné na:
<http://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/10011659>
[on-line, 28.12.2010]
- [46] Dostupné na: <http://chemicaland21.com/lifescience/foco/bht.htm> [on-line, 20.4.2011]
- [47] Dostupné na:
[http://www.merck-chemicals.com/czech-republic/butylhydroxytoluen/
MDA_CHEM-817074/p_4W.b.s1LXYgAAAEWbuEfVhTl](http://www.merck-chemicals.com/czech-republic/butylhydroxytoluen/MDA_CHEM-817074/p_4W.b.s1LXYgAAAEWbuEfVhTl) [on-line, 21.4.2011]
- [48] MAREČEK, V., CERKAL, R. Antioxidant Activity of Selected Varieties of Malting
Barley, *Department of Crop Science*, Brno, 2010
- [49] MILLER, E. H., RIGELHOF, M., MARQUART, L., PRAKASH, A., KANTER,
M., Antioxidant Content of Whole Grain Breakfast Cereals, Fruits and Vegetables
Journal of the American College of Nutrition, Vol. 19, No. 90003, 312-319 ,2000
- [50] VORARAT, S., MANAGIT, CH., IAMTHANAKUH, L., SOPARAT, W.,
KAMKAEM, N., Examination of antioxidant activity and development of rice bran
oil and gamma-oryzanol, *J Health Res* 2010, 24(2): 67-72
- [51] KIL, Y.H., SEONG, S.E., GHIMIRE, K.B., CHUNG, I.M., KWON S.S., GOH, J.E.,
HEO, K., KIM, J.M., LIM, D.J., LEE, D., YU, Y.CH. Antioxidant and antimicrobial
activities of crude sorghum extract, *Food Chemistry* 115 (2009) 1234–1239
- [52] DVOŘÁKOVÁ, M., DOSTÁLEK, P., SKULILOVÁ, Z., JURKOVÁ, M.,
KELLNER, V., GUIDO, L.F. Polyfenoly ječmene a sladu a jejich antioxidační
vlastnosti, *Kvasný prům.* 56, č.3, 160-163, 2010

- [53] KORYCINSKA, M., CZELNA, K., JAROMIN, A., KOZUBEK, A. Antioxidant activity of rye bran alkylresorcinols and extracts from whole-grain cereal products *Food Chemistry* 116,1013–1018, 2009
- [54] LI, W., FRIEL, J., BETA, T. An evaluation of the antioxidant properties and aroma quality of infant cereals, *Food Chemistry* 121, 1095–1102, 2010
- [55] HAN, M. N., MAY, Y. CH., Determination of Antioxidants in Oil Palm Leaves (*Elaeis guineensis*), *American Journal of Applied Sciences* 7 (9): 1243-1247, 2010, ISSN 1546-9239
- [56] FIEDLEROVÁ, V., HOLASOVÁ, M., GABROVSKÁ, D. *Antioxidační aktivita zeleninových a ovocných šťáv – porovnání metod stanovení*, Výzkumný ústav
- [57] WANG, S., CLEMENTS, J. C. Antioxidant Activities of Lupin Seeds, *International Lupin Conference*, Canterbury, New Zealand, 1, pp. 546-551, 2008
- [58] ŠULC, M., LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSÁK, M., DVOŘÁK, P., HORÁČKOVÁ, V. *Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor*, *Chem. Listy* 101, 584–591 (2007)
- [59] LEE, K., KIM JUN, Y., LEE JOO, H., LEE YONG, CH. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine, *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 7292-7295
- [60] MORALES, G., PAREDES, A., SIERRA, P., LOYOLA, A. L. Antioxidant activity of 50% aqueous - ethanol extract from *Acantholippia deserticola*, *Biol Res* 41: 151-155, 2008
- [61] Dostupné na:
<http://www.altoatacama.com/blog/2009/10/09/miraculous-altiplanic-herb/>
[on-line, 7.4.2011]

- [62] SOCHOR, J., SALAŠ, P., ZEHNÁLEK, J., KRŠKA, B., ADAM, B., HAVEL, L.,
KIZEK, R., Protokol pro fotometrické stanovení antioxidační aktivity v biologickém
vzorku

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK PODLE ABECEDY

ABTS	(2,2-azinobis(3-etyl-2,3- dihydrobenzotiazol-6-sulfonát))
AK	Kyselina askorbová
BHA	Butylhydroxyanizol
BHT	Butylhadroxytoluen
DPPH	1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
ESR	Elektronová spinová rezonanční spektrometrie
FOX	Ferrous Oxidation Assay
FRAP	Ferric Reduction Ability of Plasma
HPLC-ECD	High Performance Liquid Cromatography with Electrochemical Detection
IC	Inhibitory Concentracion
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
RA	Reduction Activity
TBHQ	Terciární butylhydrochinon
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TPTZ	2,4,6-tripyridil-S-triazin
TROLOX	6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylová kyselina
WGC	Whole Grains Council
WGS	Whole Grain Stamp

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Pšenice setá [3].....	12
Obrázek 2 Znamky pro označování celozrnných cereálií [16].....	17
Obrázek 3 Inhibice DPPH radikálu účinkem fermentovaných a nefermentovaných	28
Obrázek 4 Antioxidační působení čiroku a vybraných antioxidantů na radikál DPPH [51]	31
Obrázek 5 Průběh reakce radikálu DPPH s vybranými vzorky piv [18].....	33
Obrázek 6 Antioxidační aktivita analyzovaných nealkoholických nápojů [41].....	39
Obrázek 7 <i>Acantholippia deserticola</i> [61].....	42

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Obsah jednotlivých složek v obilovinách v % hmot. při 15% vlhkosti obilí	15
Tabulka 2 Antioxidační aktivita vodných a metanolových extraktů [56]	35
Tabulka 3 Antioxidační aktivita 11 druhů lupin [57]	37

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI DPPH.....	56
----------------------	----

PŘÍLOHA P I: DPPH

43180 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu

Fluka technické, ≥ 85% (CHN)

☆☆☆☆

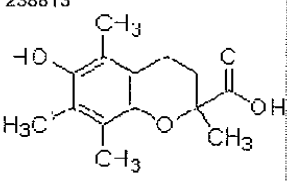
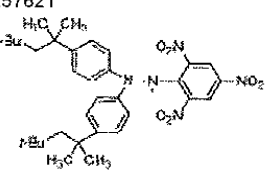
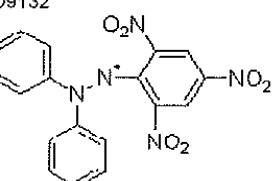
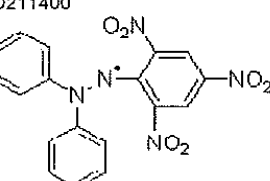
Buďte první napsat recenzi.

Cena a dostupnost

- ① Katalog 43180 byla ukončena .
- Zobrazit náhradní produkt (y) .
 - Prosím kontaktujte Technický servis s otázkami.

Synonymum:	1,1-difenyl-2-pikrylhydrazylu radikální, 2,2-difenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl, DPPH
Číslo CAS:	1898-66-4
Empirické vzorce (Hill notace):	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆
Molekulová hmotnost:	394.32
Beilstein Registrační číslo:	1846081
Číslo ES:	217-591-8
MDL číslo:	MFCD00007231

Zákazníci také viděno

238813  (±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-karboxylová 97%	257621  2,2-Di(4-terc-octylfenyl)-1-pikrylhydrazylu, volných radikálů	D9132  2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu	D211400  2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu 95%
--	---	---	---

Podrobnosti

Související produkty

Odkazy

Recenze

Popis

Další poznámky Stabilní radikální, činidlo pro kvantitativní stanovení alifatických thiolů nepřímým spektrofotometri¹

Vlastnosti

stupeň	Technické
test	≥ 85% (CHN)
Celkem nečistot	<10 ppm benzeru
IGN. reziduí	≤ 5%
mp	~ 135 ° C (prosinec) (rozsvícený.)
skladovací teplota.	2-8 ° C

Bezpečnostní

Symbol	GHS08
Signální slovo	Nebezpečí
Údaje o nebezpečnosti	H317-H334
Pokyny pro bezpečné zacházení	P261-P280-P342 + P311
Kódy nebezpečnosti	Xn
Prohlášení riziko	42/43
Prohlášení o bezpečnosti	22-36/37-45
WGK Německo	1

