

# Antioxidační aktivita česneku

Bc. Barbora Kodovská

---

Diplomová práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin  
akademický rok: 2012/2013

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Barbora Kodovská**  
Osobní číslo: **T11111**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Antioxidační aktivita česneku**

Zásady pro vypracování:

## I. Teoretická část

1. Fyziologický popis česneku
2. Stručný popis chemického složení česneku s důrazem na jeho antioxidační složky
3. Shrnutí principů antioxidačních metod použitých v diplomové práci

## II. Experimentální část

1. Vypracování a navržení vhodného extrakčního postupu s použitím metanolu pro stanovení antioxidační aktivity vybraných obchodních druhů a odrůd česneku
2. Vypracování a navržení metodiky pro stanovení antioxidační aktivity čerstvého česneku metodami DPPH a ABTS
3. Diskuze a formulace závěru

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Tábor:1999. OSSIS, ISBN 80-902-3914-5

[2] PAULOVÁ, Hana. BOCHAŘOVÁ, Hana. TÁBORSKÁ, Eva. *Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro*. *Chemické listy* [online]. 2004, 98 [cit. 2013-10-01]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004\\_04\\_03.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf)

[3] KAHKONEM, M., P., *Antioxidant activity of plant extractes containing phenolic compounds*. *J Agric Food Chem.* [online]. 1999, 47 [cit. 2013-10-01]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10552749>

[4] BACHMAN, Janet. *Organic garlic production. Appropriate Technology Transfer for Rural Areas* [online]. 2001, 6 [cit. 2013-10-01]. ISSN 800-346-9140. Dostupné z: [http://www.organicagcentre.ca/Docs/ATTRA/garlic\\_production.pdf](http://www.organicagcentre.ca/Docs/ATTRA/garlic_production.pdf)

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

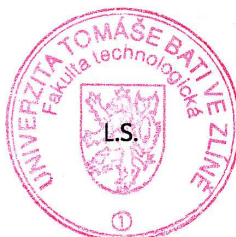
**16. ledna 2013**

Termín odevzdání diplomové práce:

**2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013

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



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

Příjmení a jméno: KODOVSKÁ BARBOZA

Obor: THEVP

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 26. 4. 2013

KODOVSKÁ

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

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

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

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

<sup>2)</sup> *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:*

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

<sup>3)</sup> *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:*

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). 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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce je zaměřena na antioxidační aktivitu česneku. Je zde přehled chemických látek s důrazem na látky působící antioxidačně – sírné sloučeniny (S-allylmerkaptocystein, ajoen, S-allylcystein), fenolické sloučeniny (flavonoidy), vitamin C a selen. Dále jsou popsány jiné biologicky aktivní látky – sloučeniny fytoncidního charakteru (allicin, alliin, metiin), enzymy (především *alliináza*), aminokyseliny, další minerální látky či vitaminy. V experimentální části byla spektrofotometricky stanovena antioxidační aktivita čerstvého a lyofilizovaného česneku pomocí metod ABTS a DPPH.

Klíčová slova: česnek, antioxidační aktivita, spektrofotometrie, DPPH, ABTS

## **ABSTRACT**

The thesis is focused on the antioxidant activity of garlic. There is a survey of chemical substances with emphasis on the active antioxidant substances – sulfur compounds (S-allylmercaptocystein, ajoene, S-allylcystein), phenolic compounds (flavonoids), vitamin C and selenium. The following describes the other biologically active agents – a phytoncides compound (allicin, alliin, metiin), enzymes (particularly *alliináza*), amino acids, and the other minerals or vitamins. In the experimental part the antioxidant activity of fresh garlic and freeze-dried using ABTS and DPPH methods was spectrophotometrically established.

Keywords: garlic, antioxidant activity, ABTS, DPPH

## Poděkování

Děkuji vedoucí diplomové práce Ing. Daniele Sumczynski, PhD, za odborné vedení, rady a věcné připomínky, kterých se mi dostávalo v průběhu práce. Dále chci poděkovat svým rodičům, prarodičům, blízkým a kamarádům za nezměrnou podporu v průběhu mého celého studia

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem citoval(a). V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden(a) jako spoluautor(ka).

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

# OBSAH

ÚVOD.....	11
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>12</b>
<b>1 FYZIOLOGICKÝ POPIS ČESNEKU .....</b>	<b>13</b>
1.1 ODRŮDY ČESNEKU .....	14
1.1.1 České odrůdy.....	14
1.1.1.1 Lukan .....	14
1.1.1.2 Jovan .....	15
1.1.1.3 Vekan .....	15
1.1.1.4 Blanin.....	15
1.1.1.5 Anin .....	15
1.1.1.6 Anton .....	16
1.1.1.7 Benátčan.....	16
1.1.1.8 Bjetín.....	16
1.1.1.9 Džambul.....	16
1.1.1.10 Havran .....	17
1.1.1.11 Slavin .....	17
1.1.1.12 Matin .....	17
1.1.1.13 Stanik .....	17
1.1.1.14 Mirka.....	17
1.1.1.15 JapoII.....	17
1.1.1.16 Tantal, Tristan .....	18
1.1.1.17 Dukát.....	18
1.1.1.18 Další české odrůdy .....	18
1.1.2 Slovenské odrůdy .....	20
1.1.2.1 Japo .....	20
1.1.2.2 Záhorský.....	20
1.1.3 Polské odrůdy.....	20
1.1.3.1 Harnaš .....	20
<b>2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ČESNEKU .....</b>	<b>21</b>
2.1 LÁTKY S ANTIOXIDAČNÍMI ÚČINKY .....	22
2.1.1 Organosírné sloučeniny.....	22
2.1.1.1 S-allylcystein (SAC) .....	22
2.1.1.2 S-allylmerkaptocystein (SAMC).....	23
2.1.1.3 Ajoen.....	24
2.1.2 Fenolické sloučeniny .....	24
2.1.2.1 Flavonoidy .....	24
2.1.3 Vitaminy.....	25
2.1.3.1 Vitamin C.....	25
2.2 DALŠÍ BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY ČESNEKU .....	26
2.2.1 Fytoncidní látky.....	26
2.2.1.1 Alliin .....	26
2.2.1.2 Allicin .....	27
2.2.1.3 Metiin.....	28
2.2.2 Minerální látky .....	28



2.2.3	Aminokyseliny .....	29
2.2.4	Vitaminy.....	29
2.2.5	Enzymy.....	30
2.2.5.1	Alliináza.....	30
<b>3</b>	<b>ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA .....</b>	<b>31</b>
3.1	ANTIOXIDANTY .....	31
3.2	VOLNÝ RADIKÁL .....	31
3.2.1	ROS (Reactive Oxygen Species).....	31
3.2.2	RNS (Reactive Nitrogen Species).....	33
3.3	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA.....	34
<b>4</b>	<b>METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....</b>	<b>35</b>
4.1	SPEKTROFOTOMETRIE.....	35
4.2	FYZIKÁLNÍ METODY.....	36
4.2.1	Elektronová spinová rezonance.....	36
4.2.2	Stanovení redoxního potenciálu .....	36
4.2.3	Chemiluminiscence .....	36
4.3	CHEMICKÉ METODY .....	37
4.3.1	ABTS.....	37
4.3.2	DPPH.....	38
4.3.3	FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power).....	39
4.3.4	ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) .....	39
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>40</b>
<b>5</b>	<b>CÍL PRÁCE .....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>METODIKA PRÁCE.....</b>	<b>42</b>
6.1	PŘÍSTROJE A ZAŘÍZENÍ.....	42
6.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE .....	42
6.3	POUŽITÉ VZORKY .....	43
6.3.1	Příprava vzorků česneku pro analýzu.....	43
6.4	METODA ABTS.....	44
6.4.1	Příprava radikálu ABTS <sup>•+</sup> .....	44
6.4.2	Příprava reakční směsi pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS.....	44
6.4.3	Měření antioxidační aktivity extraktů vzorků metodou ABTS.....	44
6.4.4	Kalibrační křivka pro metodu ABTS .....	44
6.5	METODA DPPH.....	45
6.5.1	Příprava zásobního a pracovního roztoku DPPH.....	45
6.5.2	Měření antioxidační aktivity extraktů vzorků metodou DPPH.....	45
6.5.3	Kalibrační křivka pro metodu DPPH .....	45
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>46</b>
7.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	46
7.1.1	Kalibrační křivka.....	46

7.1.2	24 hodinová extrakce metanolem u čerstvého česneku.....	48
7.1.3	24 hodinová extrakce metanolem u lyofilizovaného česneku.....	50
7.1.4	Hodinová ultrazvuková extrakce čerstvého česneku v metanolu.....	52
7.1.5	Hodinová ultrazvuková extrakce lyofilizovaného česneku v metanolu.....	54
7.1.6	Srovnání extrakcí u čerstvého česneku pro metodu ABTS.....	56
7.1.7	Srovnání extrakcí u lyofilizovaného česneku pro metodu ABTS.....	57
7.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	57
7.2.1	Kalibrační křivka.....	58
7.2.2	24 hodinová extrakce metanolem u čerstvého česneku.....	59
7.2.3	24 hodinová extrakce metanolem u lyofilizovaného česneku.....	62
7.2.4	Hodinová extrakce čerstvého česneku v metanolu.....	63
7.2.5	Hodinová extrakce lyofilizovaného česneku v metanolu.....	66
7.2.6	Srovnání extrakcí u čerstvého česneku pro metodu DPPH.....	67
7.2.7	Srovnání extrakcí u lyofilizovaného česneku pro metodu DPPH.....	68
<b>ZÁVĚR .....</b>		<b>69</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>		<b>70</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>		<b>77</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>		<b>78</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>		<b>79</b>
<b>SEZNAM GRAFŮ .....</b>		<b>80</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>		<b>81</b>

## ÚVOD

Během 70 let života se v těle vytvoří přibližně jedenáct tun volných radikálů, které poškozují kromě DNA i buněčné membrány a jejich stavební komponenty [1]. Čerstvý česnek obsahuje antioxidační fytochemikálie, které oxidačnímu poškození zabraňují. Vykazují tzv. antioxidační aktivitu, tedy schopnost inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin. V krevním séru bioaktivní látky česneku eliminují hydroxylové radikály a také zvyšují aktivitu některých enzymů s antioxidačními účinky. Mezi látky s touto schopností patří především flavonoidy a organosírné sloučeniny rozpustné ve vodě (S-allylcystein (SAC) a S-allylmerkaptocystein (SAMC)) i v tucích (allicin a jeho rozkladné produkty), dále sem řadíme alixin a selen (ve formě selenocysteinu). Obsah účinných látek v česneku však silně kolísá. Závisí na faktorech jako je původ, půdní podmínky, odrůda, počasí, lokalita či hnojení, ošetřování apod. Například obsah síry kolísá u jednotlivých odrůd v rozmezí více než 10 % [2].

Existuje spousta metod, kterými lze stanovit celkovou antioxidační aktivitu (Total Antioxidant Activity, TAA). Tyto metody se dají jednoduše rozdělit na fyzikální: elektronová spinová rezonance, stanovení redoxního potenciálu aj. a chemické, kam řadíme např. ABTS (založena na neutralizaci radikalkationtu 2,2-azinobis-3-etylbenzotiazolin-6-sulfonátu), DPPH (založen na schopnosti stabilního volného radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, dochází zde k redukci železitých iontů), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity, metoda měření antioxidační kapacity na principu zhášení fluorescence) aj. [1,3].

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 FYZIOLOGICKÝ POPIS ČESNEKU

Starší taxonomické systémy čeleď *Alliaceae* neuznávaly, řadily ji do řádu Liliotvaré (*Liliales*), do čeledi Liliovité (*Liliaceae*). Jiné systémy řadili čeleď *Alliaceae* do řádů, např. *Amaryllidales* nebo *Liliales*. Podle taxonomického systému APG II (Angiosperm Phylogeny Group), je čeleď jednoděložných *Alliaceae* řazená do řádu chřestotvaré (*Asparagales*) [4,5].

Tabulka 1 – Taxonomické zařazení *Allium sativum*

Říše	rostliny	<i>Plantae</i>
Podříše	cévnaté rostliny	<i>Tracheobionta</i>
Oddělení	krytosemenné	<i>Magnoliophyta</i>
Třída	jednoděložné	<i>Liliopsida</i>
Řád	chřestotvaré	<i>Asparagales</i>
Čeleď	česnekovité	<i>Alliaceae</i>
Rod	česnek	<i>Allium</i>
Druh	česnek setý	<i>Allium sativum</i>

Zpravidla se jedná o vytrvalé pozemní byliny s jednoduchými či složenými cibulemi, kdy se česneková cibule skládá obvykle z 6 – 11 stroužků, pomocí kterých se mohou vegetativně rozmnožovat. Tyto stroužky jsou pokryty společným obalem bílé až purpurové barvy. Stonek je bezlistý. Listy jsou přízemní, jednoduché, přisedlé, řapíkaté nebo střídavé, uspořádané nejčastěji dvouřadě nebo spirálně, jsou ploché, žlábkovité či oblé nebo hranaté, s listovými pochvami. Čepele listů jsou celokrajné, čárkovité nebo kopinaté, vzácněji až vejčité se souběžnou žilnatinou. Květenství je okolíkovaté a je nejčastěji tvořeno šroubelem nebo vijanem, podepřené někdy dvěma srůstajícími listeny, velmi zřídka jsou květy jen jednotlivé. Květenství je do rozkvětu kryto obalem z listenů, které jsou buď volné nebo více či méně srostlé, většinou opadavé a není rozlišeno na kalich a korunu. Jsou to rostliny jednodomé s oboupohlavními květy, v květenství mohou být přítomny pacibulky, které jsou mnohdy mylně považovány za semena. Tvorba pacibulek má různé příčiny. Většinou jsou genetického charakteru a slouží k vegetativnímu rozmnožování. Konečně mohou být vyvolány též virózy. Okvětí je jednoduché, věnčité, z 6 volných lístků, nebo více či méně

ně srostlých v dolní části v trubku. Tyčinek je zpravidla 6, u některých rodů 3 z nich chybí nebo mají zakrnělé patyčinky (staminodia). Semeník je svrchní, trojpouzdrý s mnoha vajíčky. Plodem je tobolka, otvírající se podélně v segmenty a nesoucí většinou 6 semen. Semena jsou hranatá, černá. Celé rostliny mají charakteristické aroma, které způsobují těkavé látky na bázi sulfidů. Česnek vyrůstá do výšky asi 30 – 50 cm [4,5,6].



Obrázek 1 - *Allium sativum* (celá rostlina, cibule a květenství) [5]

## 1.1 Odrůdy česneku

### 1.1.1 České odrůdy

#### 1.1.1.1 *Lukan*

Ozimý širokolistý nepaličák. Cibule střední až velké, ze strany ploše kulovité, základní barva obalových suknic je šedobílá, fialová skvrnitost závisí na pěstitelské lokalitě. Stroužky v cibuli jsou uspořádány nepravidelně, středně velké, v počtu 8 – 17. Listy vzpřímené, krátké až střední. Od roku povolení (1994) je tato odrůda výrazně nejvýnosnější odrůdou v celém sortimentu česneku. Může se pěstovat i v zamokřených půdách. Hmotnost cibule je střední až vysoká, skladovatelnost je vysoká. Je to poloraná odrůda, sklízí se do 10. července. Chuť je příjemná, mnohdy ostrá [7].

#### **1.1.1.2 Jovan**

Ozimý širokolistý paličák. Cibule jsou střední až velké, kulovité, základní barva obalových suknic je bílá, skvrnitost výrazná, fialová, uspořádání stroužků v cibuli je pravidelné, velikost stroužků střední až velká, počet stroužků střední (6), bez vnitřních stroužků. Listy vzpřímené, střední až velké. Výnosná odrůda, hmotnost cibule je střední až velká, skladovatelnost je vysoká. Je to polopozdní odrůda, sklizeň bývá kolem 25. července. Chuť je velmi ostrá [7].

#### **1.1.1.3 Vekan**

Ozimý paličák. Cibule středně velké, barva vnějších suknic je bílá s výraznými fialovými skvrnami, uspořádání stroužků v cibuli nepravidelné, stroužky středně velké v počtu 8 – 12. Listy vzpřímené, modrozelené. Vysoká odolnost proti hospodářsky významným virům je dána geneticky. Je to výnosná odrůda, hmotnost cibule je střední, skladovatelnost je dobrá do dubna až května. Patří mezi polorané odrůdy, sklizeň kolem 10. července. Chuť příjemná, někdy ostrá [7].

#### **1.1.1.4 Blanin**

Ozimý paličák. Cibule jsou středně velké, barva vnějších suknic je šedobílá s nevýraznými fialovými skvrnami, uspořádání stroužků v cibuli je nepravidelné, stroužky středně velké, v počtu 6 – 12. Listy jsou krátké, polovzpřímené, tmavě zelené. Odrůda dává střední výnosy, hmotnost cibule střední, skladovatelnost je velmi vysoká. Chuť je jemná a ušlechtilá. Na jaře pozdě vzchází, je nejméně napadán houbomilkou česnekovou. Je to polopozdní odrůda, sklízí se kolem 25. července. Chuť je příjemná, jemně ostrá. Zpravidla nevadí osobám s nemocným žlučníkem [7].

#### **1.1.1.5 Anin**

Ozimý širokolistý paličák. Cibule střední až velké, zploštělé, barva vnějších suknic smetanová s fialovými skvrnami, uspořádání stroužků v cibuli je nepravidelné, stroužky středně velké až velké, v počtu 9 – 15. Listy střední délky, polovzpřímené, slabě převislé, tmavě zelené. Velmi výnosná odrůda, skladovatelnost vysoká. Jedná se o poloranou odrůdu, se sklízí kolem 15. července. Chuť je příjemná, ovšem mnohdy ostrá [7].

#### **1.1.1.6 Anton**

Ozimý širokolistý nepaličák. Někdy tvoří krátký stvol s pacibulkami, v závislosti na ročníku a lokalitě může být frekvence takových rostlin až 50%. Není to považováno za závadu. Cibule jsou středně velké, barva vnějších suknic šedobílá s výraznými fialovými skvrnami, uspořádání stroužků v cibuli je nepravidelné. Stroužky jsou středně velké, v počtu 8 – 12. Listy má střední až dlouhé, vzpřímené, tmavě zelené. Jeho vysoká odolnost vůči hospodářsky významným virům je dána geneticky. Jedná se o výnosnou odrůdu, hmotnost cibulí je střední, jejich skladovatelnost dobrá. Je to raná odrůda, sklizeň bývá počátkem července. Chuť příjemná, ostrá [7].

#### **1.1.1.7 Benátčan**

Nepaličák pro podzimní i jarní výsadbu. Cibule jsou ploše kulovité, velké, nepravidelného tvaru, čistě bílé. Stroužky jsou uspořádány nepravidelně, jsou velké, v počtu 12 – 17. Listy jsou středně dlouhé, vzpřímené, sytě zelené, rostliny jsou mohutné. Je to velmi výnosná odrůda s dlouhou skladovatelností, až 24 měsíců. Jedná se o pozdní odrůdu, sklízí se začátkem srpna, při opoždění sklizně se nerozpadá. Chuť je velmi příjemná, často ostrá [7].

#### **1.1.1.8 Bjetín**

Ozimý širokolistý paličák. Cibule jsou ploše kulovité, barva vnějších suknic je smetanová, mírně nařívovělá, stroužky jsou velké, nepravidelně uspořádané, v počtu kolem 8. Rostlina je vysoká, listy dlouhé, vzpřímené, sytě zelené. Jde o velmi výnosnou a dobře skladovatelnou odrůdu, ale bez odhlávkování dává neuspokojivý výnos. Jedná se o nejranější odrůdu paličáku, sklizeň bývá v prvních dnech července. Chuť je příjemně ostrá. Nevadí osobám s nemocným žlučníkem [7].

#### **1.1.1.9 Džambul**

Ozimý širokolistý paličák. Cibule jsou kulovité, pravidelného tvaru, fialově zbarvené, velmi atraktivního vzhledu, tvoří je 10 – 12 stroužků. Listy jsou vzpřímené, sytě tmavozelené, rostlina je vysoká. Je to výnosná odrůda, s vynikajícím tříděním tržního zboží. Jedná se o poloranou odrůdu, sklizeň běžně kolem 15. července [7].



#### ***1.1.1.10 Havran***

Ozimý širokolistý paličák. Cibule má střední až velké, kulovité, základní barva obalových suknic je bílá, skvrnitost výrazná, fialová, uspořádání stroužků v cibuli je pravidelné. Stroužky jsou velké, jejich počet je kolem 6. Listy jsou vzpřímené, velké. Je to výnosná odrůda, hmotnost cibule je střední až vysoká, skladovatelnost je dlouhá. Jedná se o polopozdní odrůdu, sklizeň bývá kolem 20. července [7].

#### ***1.1.1.11 Slavin***

Na trhu je od roku 2005. Ozimý paličák atraktivního vzhledu, cibule jsou pravidelného tvaru, jemně fialové, tvoří 10 – 15 stroužků, sklizeň bývá kolem 20. července [7].

#### ***1.1.1.12 Matin***

Jarní úzkolistý nepaličák ušlechtilé chuti, bílé barvy, tvoří 8 – 13 stroužků, dává dobrý výnos i v suchých letech, je velmi dobře skladovatelný. Při podzimní výsadbě dává o něco vyšší výnos, je však napadán houbomilkou česnekovou. Sklizeň bývá na přelomu července a srpna [7].

#### ***1.1.1.13 Stanik***

Ozimý širokolistý paličák. Cibule jsou kulovité, pravidelného tvaru, s fialovou kresbou, tvoří kolem 10 stroužků. Listy jsou vzpřímené, tmavozelené, bez patrných příznaků viróz. Je to velmi výnosná odrůda se skladovatelností až do května. Odrůda je to polopozdní, sklizeň bývá kolem 25. července. Chuť příjemná, mnohdy ostrá [7].

#### ***1.1.1.14 Mirka***

Širokolistý ozimý paličák s možností jarní výsadby. Cibule jsou ploše kulovité, nepravidelné, tvoří kolem 10 stroužků. Výnosná odrůda s mimořádnou skladovatelností i přes 12 měsíců. Jde o polopozdní odrůdu, sklizeň je kolem 25. července [7].

#### ***1.1.1.15 JapoII***

Jarní úzkolistý nepaličák, který má nahradit starší odrůdu Japo. Cibule jsou kulovité, velké, pravidelného tvaru, bílé. Stroužky jsou uspořádány nepravidelně, jsou velké, v počtu 8 – 13. Listy jsou středně dlouhé, vzpřímené, sytě zelené, rostliny jsou mohutné. Je to velmi vý-

nosná odrůda s velmi vysokou skladovatelností, konkrétně je to pozdní odrůda se sklizní začátkem srpna, při opoždění sklizně se nerozpadá. Chuť je velmi příjemná, ostrá [7].

#### ***1.1.1.16 Tantal, Tristan***

Modrý paličák, sází se na podzim, vegetační doba je 260 dní, sklízí se proto v červenci. Tantal má 6 – 7 stroužků ostré chuti. Má poměrně dobrou skladovatelnost (200 dní) a zvýšenou odolnost proti houbovým chorobám. Tato odrůda je vhodnější do vyšších poloh. Odrůdu česneku Tantal i Tristan vyšlechtila firma Tagro, Červený Dvůr [7,8].

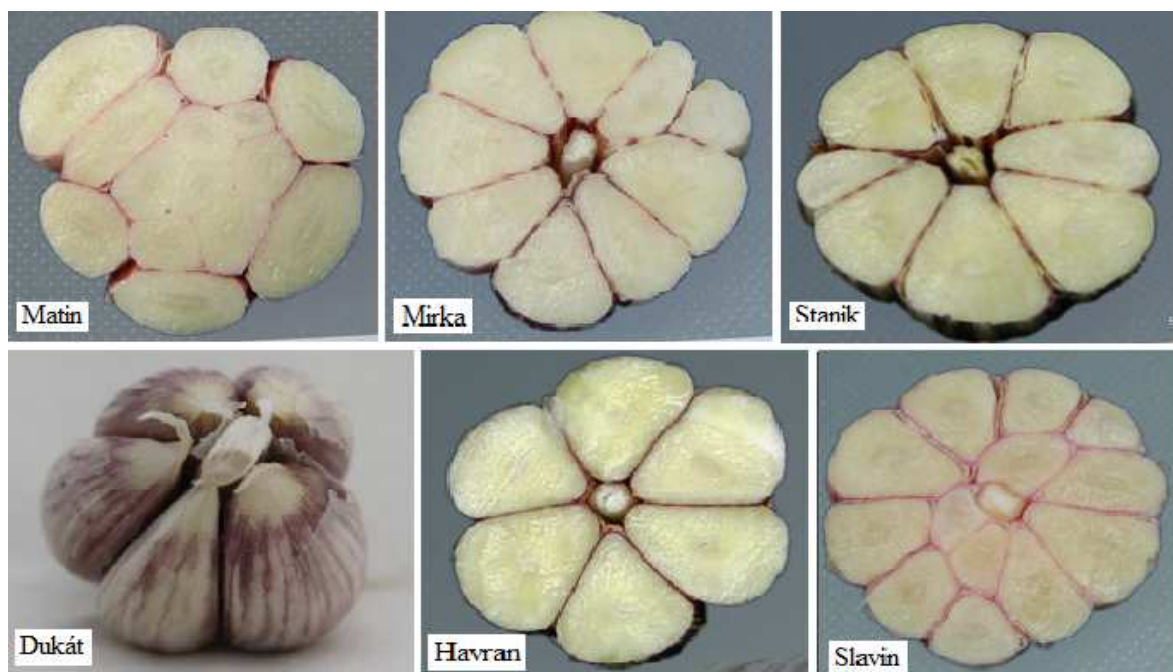
#### ***1.1.1.17 Dukát***

Poloraná odrůda ozimého paličáku pro podzimní výsadby. Cibule jsou velké o hmotnosti 75 – 90 g. Přezimování je velmi dobré. Základní barva vnějších suknic je bílá. Počet stroužků v cibuli je 5 – 7. Stroužky jsou velké, s vysokým obsahem silic. Odrůda je vysoce odolná proti virózám. Skladovatelnost je vynikající, při vhodných podmínkách vydrží až do nové sklizně [8].

#### ***1.1.1.18 Další české odrůdy***

Unikát – fialovo-šedý paličák se sází také na podzim a sklízí v létě. Jedná se o ranou odrůdu. Počet stroužků se pochybuje mezi 8 a 13. Cibule jsou velké.

Lumír – bělavý paličák se sází na jaře, sklízí se v létě. Je možné jej sázet i na podzim, bez problémů přezimuje, je ranější a dosahuje vyššího výnosu. Rostliny rostou do střední výšky. Listy má tato odrůda tmavé, úzké. Cibule jsou drobnější, s průměrným počtem stroužků 11 – 15 (o hmotnosti jen 20 – 25 g). Má dobrou skladovatelnost. Rostliny tohoto česneku jsou středně vysoké a mají úzké tmavé listy. Na trh se tato odrůda dostala v roce 2006 [7,8].



Obrázek 2 – Vybrané druhy českého česneku [7]



Obrázek 3 – Vybrané odrůdy českého česneku [7,9]

### 1.1.2 Slovenské odrůdy

Řadíme sem odrůdy Japo, Záhorský nepaličák, Valko, Alan, Novozámocký, Radoš a Ropal.

#### 1.1.2.1 Japo

Bílý jarní nepaličák se středně velkými cibulemi. Odrůda je registrovaná na Slovensku. V současnosti již nemá svého udržovatele. Jejím pokračovatelem by měla být odrůda Japo II [8].

#### 1.1.2.2 Záhorský

Nepaličák, sází se na podzim. Je poměrně výnosný. Slovenská odrůda česneku, v současnosti nemá udržovatele [8].

### 1.1.3 Polské odrůdy

Oficiální polské odrůdy česneku jsou: Arkus, Ceves, Harnaś, Huzar, Jankiel, Jarus, Mega, Ornak.

#### 1.1.3.1 Harnaś

Cibule velikosti asi 60 – 70 g s 8 – 13 stroužky (obvykle 9). Listy pokrývající cibuli jsou tmavé, těsně přiléhající ke stroužkům. Tato odrůda je vhodná pro přímou spotřebu [10].



Obrázek 4 – Harnaś [10]

## 2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ČESNEKU

Česnek obsahuje až 62 – 68 % vody. Ve zbylých procentech se vyskytují významné látky s léčebnými a nutričně prospěšnými vlastnostmi. Jsou to sloučeniny obsahující síru, kterých je přibližně 33 (allicin, alliin, metiin, propiin, izoalliin, di- a polysulfidy, ajoen aj.), jejichž prekurzorem je derivát cysteinu. Jsou původcem typického zápachu a zesilují účinek vitaminů obsažených v česneku. Patří sem vitaminy B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, C a vitamin E. Česnek obsahuje také enzymy – *myrozinázu*, *peroxidázu*, *deoxyribonukleázu*, *invertázu*, *fosfomonoesterázu* a *tyrozinázu* a nejvýznamnější enzym *alliinázu*, hormonální látky – gibereliny, glycidy – sinistrin (rostlinný inulin), minerální a stopové prvky jako je např. Se, Ge, I, přičemž v souvislosti se selenem, který v přírodě doprovází síru, se mluví o jeho antikarcinogenních účincích. Z dalších obsahových látek je to řada aminokyselin (cystein, jeho dimer cystin, metionin, dezoxiyaliin), cysteinsulfoxidy doprovázející adenosin, který působí antiagregačně (má krev-ředící vlastnosti). Dále bezsirná antibiotika orlicin a allistatin, flavonoidy (př. kvercetin), které jsou často v rostlinách označovány jako fytoalexiny, které slouží jako aktivní obranná látka rostlin. V česneku můžeme také najít steroidy a fytosteriny, které se spolu se saponiny podílí na toxických účincích česneku při jeho vyšší konzumaci a mnoho dalších látek [5,12].

Obsah jednotlivých látek v česneku silně kolísá v závislosti na odrůdě, původu, půdě, počasí, hnojení, ošetřování apod. Zejména to platí o obsahu síry, který kolísá u jednotlivých odrůd v rozmezí více než 10 %. K obsahu síry je úměrná antibiotická a jiná léčebná účinnost [5,11,12].

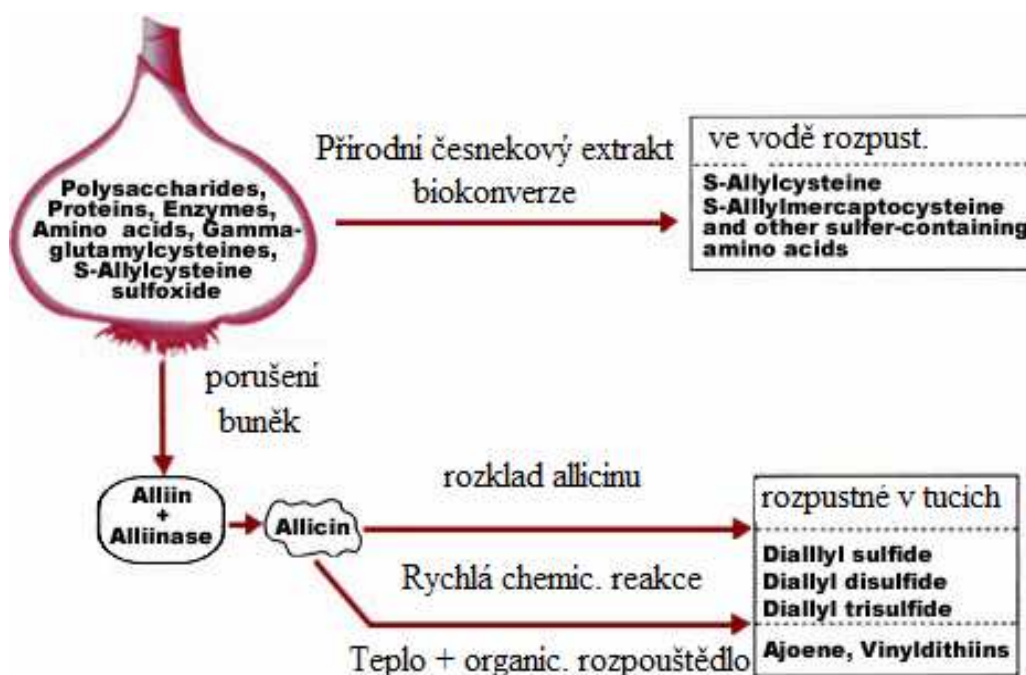
Tabulka 2 – Průměrné nutriční hodnoty syrového česneku [5]

složka	množství v %
voda	62,00 – 68,00
sacharidy	16,00 – 33,00
bílkoviny	3,00 – 6,40
lipidy	0,16 – 0,40
vláknina	1,00
vitamin C	0,03

## 2.1 Látky s antioxidačními účinky

Antioxidační účinek látek vyplývá z jejich specifické struktury. U látek fenolového typu (flavonoidy), které jsou schopné přerušit řetězovou radikálovou reakci, závisí antioxidační schopnost na počtu a poloze hydroxylových skupin i typu dalších substituentů. Tyto strukturální faktory podmiňují snadnost odštěpení vodíku z molekuly antioxidantu, čímž se inaktivují radikály vzniklé oxidací lipidů nebo metabolickými pochody. Dále ovlivňují míru stabilizace vzniklého radikálu antioxidantu, snadnost reakce s jiným radikálem či schopnost chelatovat kovy katalyzující oxidaci. Funkční skupiny v molekule antioxidantu určují též polaritu a hydrofobně-lipofilní vlastnosti molekuly, což má vliv na její rozmístění v systému. Kromě struktury ovlivňuje antioxidační aktivitu antioxidantů i pH systému a stabilita sloučenin během zpracování suroviny (teplota, fermentace). Důležitá je též přítomnost dalších látek v systému, které mohou působit synergicky, nebo jako antagonisté [13,14].

### 2.1.1 Organosírné sloučeniny

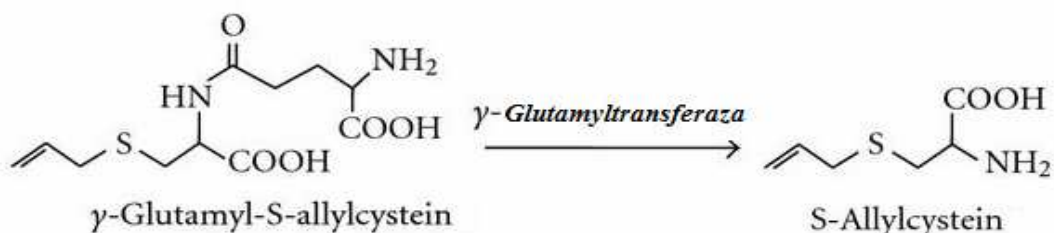


Obrázek 5 –Transformace sírných sloučenin v česneku [15]

#### 2.1.1.1 *S-allylcystein* (SAC)

SAC je nehygroskopický bílý krystalický prášek s charakteristickou vůní, je rozpustný ve vodě a stabilní. Jeho teplota tání je 223,5 °C. Studie na zvířatech dokazují, že SAC

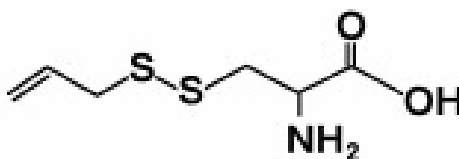
má velmi malou toxicitu. Menší než allicin a jeho rozkladné produkty (př. diallyldisulfid). Vzniká katabolizmem  $\gamma$ -glutamyl-S-allylcysteinu a v těle se metabolizuje pomocí *N*-acetyltransferázy na *N*-acetyl-SAC. SAC je jeden z nejvýznamnějších antioxidantů česneku. Antioxidační účinnost je přisuzována tiolové skupině, která je v molekule obsažena. Tento strukturní faktor podmiňuje snadnost odštěpení vodíku z molekuly antioxidantu, čímž se inaktivuje radikál vzniklý např. oxidací lipidů nebo metabolickými pochody. Radikál je tak zneškodněn nebo se stane méně reaktivním. SAC může likvidovat superoxidový anion ( $O_2^{\cdot-}$ ), hydroxylový radikál ( $OH\cdot$ ) z peroxidu vodíku, peroxyinitritový radikál ( $ONOO\cdot$ ) vznikající z *L*-argininu, peroxylový radikál ( $ROO\cdot$ ) vznikající v nervových buňkách a singletový kyslík ( $^1O_2$ ) vyrobený v mikroglialních buňkách. Navíc, SAC také vykazuje chelatační vlastnosti na  $Fe^{2+}$  a  $Cu^{2+}$  ionty, čímž se zamezí Fentonově reakci (vzniku hydroxylového radikálu reakcí peroxidu vodíku s iontem kovu nižšího mocenství) [16,17]. Nicméně, je stále zapotřebí přesně objasnit ochranné mechanismy, jimiž tento antioxidant působí. Jsou také zapotřebí další studie pro podporu klinického využití SAC jako léku proti oxidačnímu poškození pozorovaného při chronických degenerativních onemocněních [17].



Obrázek 6 – Vznik SAC [5]

### 2.1.1.2 *S*-allylmercaptocystein (SAMC)

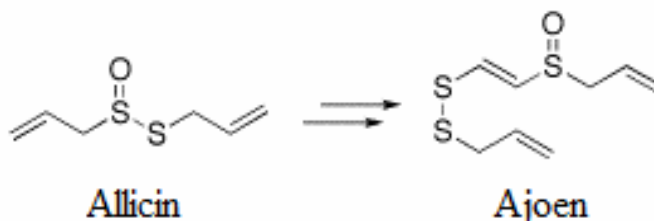
Jedná se o stabilní, ve vodě rozpustný, sirný derivát cysteinu odvozený od diallyl trisulfidu s hustotou  $1,263 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  a bodem varu  $302,658 \text{ }^\circ\text{C}$ . Mimo jiné je tato látka inhibítozem buněčné proliferace, tudíž má antikarcinogenní vlastnosti [18,19].



SAMC

### 2.1.1.3 Ajoen

Tato látka je rozkladným produktem allicinu. Byla nalezena Blockem v roce 1984. Má dvě formy – E a Z. V čerstvém česneku dosud nebyl nalezen, ale má se za to, že vzniká samokondenzací allicinu. Klinicky bylo zjištěno, že ruší agregaci trombocytů a má antioxidační účinky. Ajoen vzniká při kontaktu allicinu nejčastěji s olejem (při smažení a pečení) nebo alkoholem [5].

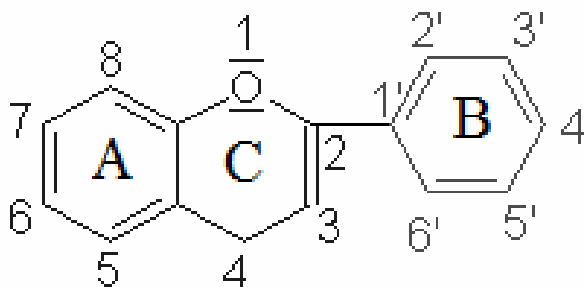


Obrázek 7 – Předpokládaný vznik ajoenu [21]

## 2.1.2 Fenolické sloučeniny

### 2.1.2.1 Flavonoidy

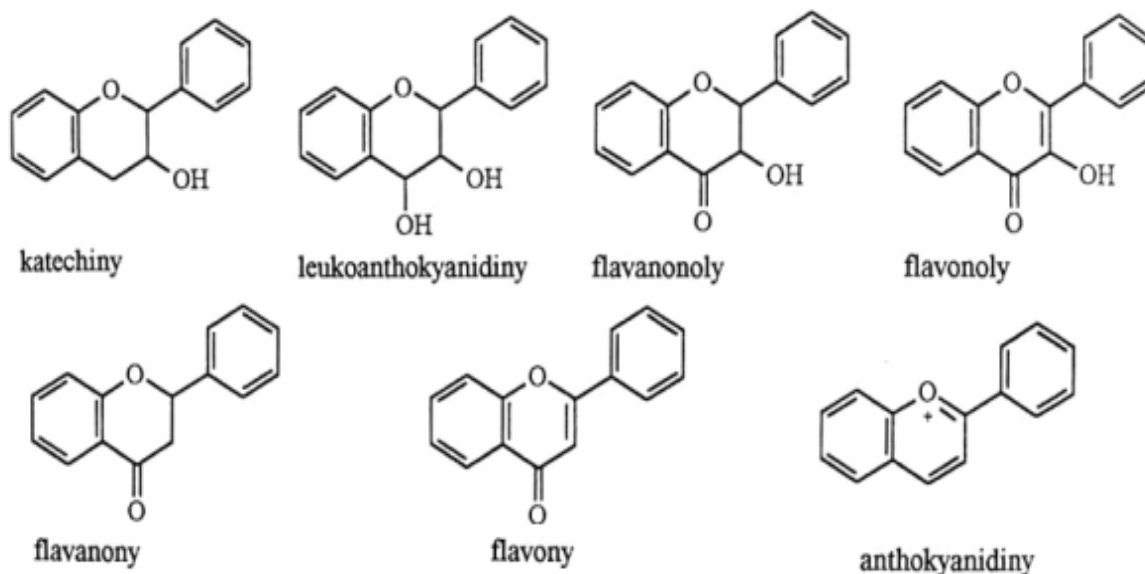
Základem struktury flavonoidů je flavanový cyklický skelet skládající se ze dvou substituovaných benzenových kruhů (A a B) a pyranového kruhu C, napojeného na kruh A v poloze C-2. Všechny 3 kruhy bývají běžně substituovány hydroxyskupinami nebo metoxyskupinami. Nejběžnějším cukerným substituentem je glukóza, ramnóza, galaktóza nebo arabinóza. Podle stupně oxidace kyslíkového heterocyklu (kruh C) rozeznáváme šest podtříd flavonoidů: flavony (např. apigenin, luteolin), flavonoly (např. kvercetin, myricetin, kaempferol, rutin), flavanony (např. naringenin, hesperidin), izoflavanony (např. genistein, daidezin), antokyany (např. kyanidin, pelargonidin) a katechiny (např. epikatechin) [22].



Obrázek 8 – Flavanový skelet



Flavonoidy a jednoduché fenoly v rostlinách představují přirozený ochranný faktor proti plísním a jsou označovány jako fytoalexiny, pomáhají rostlinám reagovat na změny podmínek životního prostředí. Tyto bioaktivní látky zvyšují dvacetinásobně využitelnost vit. C, posilují obranyschopnost, působí jako antioxidanty a mají prokázané protinádorové účinky. V čerstvém česneku jsou flavonoidy obsaženy v množství až  $1,2 \text{ g.kg}^{-1}$  čerstvé hmotnosti [5,23].



Obrázek 9 – Obecná struktura flavonoidních látek [22]

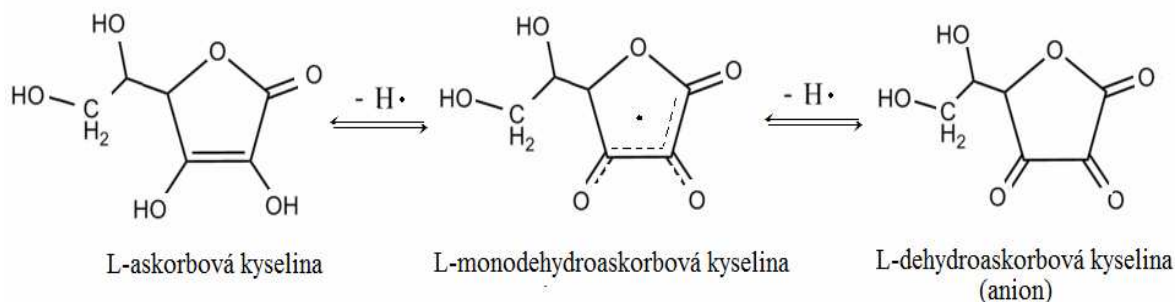
### 2.1.3 Vitaminy

Obsah jednotlivých vitaminů ve stroužku je různý a závislý na mnoha faktorech, jako odrůdě, skladování, technologické úpravě, pěstování aj. Všeobecně je česnek bohatý na vitamin C, B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub> a B<sub>6</sub>.

#### 2.1.3.1 Vitamin C

Má silný redukční potenciál, ale nižší než peroxylové radikály či tokoferol, díky čemuž může působit přímo v reakci s peroxylovými radikály nebo nepřímo regenerací oxidovaných forem tokoferolů, kdy je schopen dodatečně obnovit jeho antioxidační vlastnosti. Interakce kyseliny askorbové s volnými radikály má za následek vytvoření četných formací oxidačních produktů. Další výhodou kyseliny askorbové jako antioxidantu spočívá ve stabilitě a nízké reaktivitě askorbylového radikálu, který vzniká při ničení kyslíkových a dusíkatých radikálů. Vitamin C je nejvýznamnější součástí propracovaného antioxidačního sys-

tému, kde spolupůsobí mimo již zmiňovaný vitamin E i ubichinony, deriváty selenu a proteiny obsahující síru. Antioxidační účinek askorbátu spočívá v redukci anorganických i organických radikálů jako  $O_2^{\bullet-}$ ,  $HO_2^{\bullet-}$ ,  $HO^{\bullet-}$ ,  $NO_2^{\bullet}$ ,  $RO_2^{\bullet}$ . Reaguje také s  $^1O_2$  a  $HClO$  [1,3].



Obrázek 10 – Oxidace kyseliny askorbové

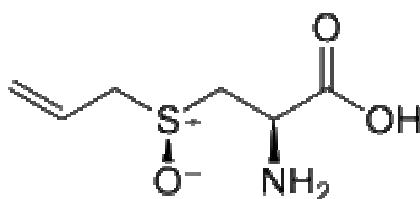
## 2.2 Další biologicky aktivní látky česneku

### 2.2.1 Fytoncidní látky

#### 2.2.1.1 *Alliin*

Alliin je tepelně stabilní sloučenina, a proto při sušení česneku je zachovávána jeho biologická aktivita. Jeho obsah v čerstvém česneku je 0,2 – 2 % [5].

Česnek používá alliin v obranném mechanismu proti napadení škůdci. Mnoho studií ukázalo, že alliin a enzym *alliináza* jsou umístěny odděleně. V přítomnosti enzymu *alliináza* se stabilní, ale neúčinný alliin mění na účinný allicin. K této interakci dochází při mechanickém rozrušení membrány enzymu. Vzniklé reaktivní molekuly allicinu mají velmi krátký poločas rozpadu. Tento velmi efektivní obranný mechanismus zajišťuje, že se aktivuje pouze velmi malé místo a na krátkou dobu, zatímco zbytek alliiinu a *alliináza* reagují pouze v případě následného mikrobiálního útoku. Tímto způsobem se minimalizují případné škody na samotné rostlině, protože vyšší dávky allicinu by mohly být pro rostlinu toxické [5,24].

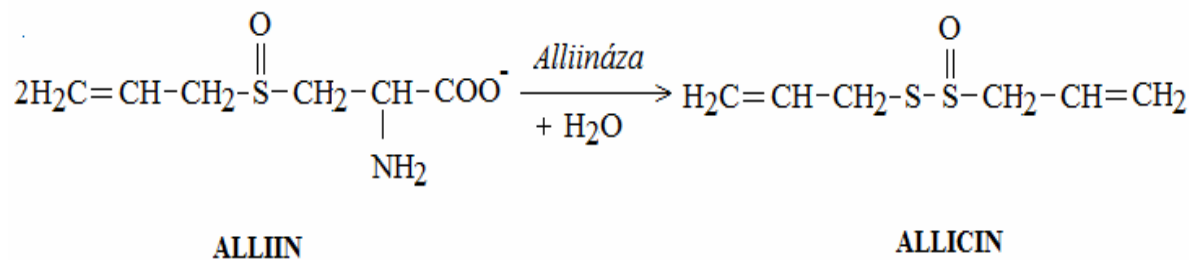


Alliin

### 2.2.1.2 Allicin

Vzniká až působením *alliinázy* na alliin při mechanickém rozrušení buněk v česneku, kdy se *alliináza* dostane do přímého kontaktu s alliinem. Tento proces, až do vzniku allicinu, trvá 0,2 – 0,5 min. Při delším kuchyňském zpracování se tato termolabilní sloučenina degraduje na další produkty. V polárním prostředí se allicin disproportionuje za tvorby diallyltiosulfonátu (pseudoallicinu) a diallyldisulfidu, který dále poskytuje diallylsulfid a diallyltrisulfid. V nepolárním prostředí (např. při smažení) se z allicinu tvoří tzv. ajoeny a vinilditiiny. Ty vykazují významné biologické účinky jako je snižování krevního tlaku a hladiny cholesterolu a cukru v krvi, antikarcinogenní či antimutagenní aktivitu [5].

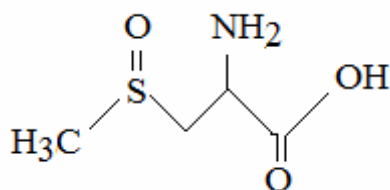
Allicin je hlavním nositelem antibiotických a dalších účinných vlastností česneku. Jeho antibiotická účinnost závisí na přítomnosti kyslíku. Redukcí se značně inaktivuje. Varem se rychle rozkládá zejména za alkalického pH. Studie na zvířatech ukazují, že allicin snižuje riziko aterosklerózy a ukládání tuků. Do jisté míry funguje jako antioxidant, ale v krvi naopak působí jako oxidant. Jestliže je allicin smíchán s krví, během pár minut dochází k jeho vymizení, neboť allicin se váže na proteiny červených krvinek. Předpokládá se, že pokud je allicin požit ústy, okamžitě se váže na lumen (duté prostory uvnitř orgánů či organel) [5].



Obrázek 11 – Syntéza allicinu [5]

### 2.2.1.3 Metiin

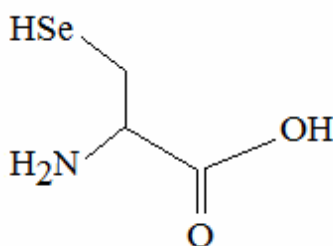
Prekurzorem metiinu, chemicky zvaného S-metylcysteinsulfoxid, je alliin. Metiin se v česneku nachází v množství 0,8 – 2,4 g.kg<sup>-1</sup>. Jeho obsah je však ovlivněn druhem česneku a environmentálními podmínkami. Vyskytuje se i v jiných rostlinách, např. v zelí, cibuli, fazolích nebo v řepce olejce z jara. Stejně jako se štěpí alliin a izoalliin, analogicky se štěpí i metiin, za účasti enzymu *alliináza* při porušení pletiva česneku na dimetyldisulfid a dimetyltrisulfid. Tyto sulfidy se částečně podílí na aroma česneku [5,25].



Metiin

### 2.2.2 Minerální látky

Pozornost budí především vysoký obsah selenu a germania, který souvisí s řadou farmaceutických vlastností. Česnek dovede selen hromadit a jeho koncentrace někdy dosahuje stonásobku přirozeného stavu. Selen v přírodě doprovází síru a jeho léčivé účinky mají neobvyčejný význam při léčbě rakoviny. V potravinách je obsažen především ve formě selenových aminokyselin, které jsou součástí molekul proteinů. V česneku patří mezi hlavní složky selenocystein a organické selenidy [6].



Selenocystein

V česneku je také vysoký obsah draslíku, mědi a molybdenu. Litium je obsaženo ve větší míře než u cibule kuchyňské. Konečně i jód se v česneku vyskytuje v relativně značném množství a rostlina ho dokáže velmi dobře kumulovat [6].

### 2.2.3 Aminokyseliny

Česnek obsahuje všechny esenciální aminokyseliny. Obsah jednotlivých aminokyselin v česneku je však velmi proměnlivý a závisí na environmentálních podmínkách nebo na samotné odrůdě. Podle Parthasarathiho (tabulka 3) je v česneku obsaženo nejvíce argininu. V menším množství se vyskytuje nejvýznamnější aminokyselina česneku – cystein, na kterou se váže selen nebo síra za vzniku sloučenin tvořící podstatu antioxidantního a jinak biologicky účinného působení česneku.

Tabulka 3 – Aminokyseliny v česneku (Podle Parthasarathi, K.) [6]

Aminokyselina	Množství v sušině (mg.g <sup>-1</sup> )
Alanin	0,66 – 1,37
Arginin	4,50 – 5,95
Kys. asparagová	1,31 – 2,36
Cystein	0,00 – 0,32
Kys. glutamová	1,63 – 2,70
Glycin	0,96 – 1,09
Histidin	0,61 – 8,30
Izoleucin	0,24 – 0,93
Leucin	0,47 – 1,44
Lyzin	1,05 – 2,27
Metionin	1,77 – 2,30
Fenylalanin	0,29 – 0,86
Prolin	1,05 – 1,18
Serin	0,83 – 1,18
Treonin	1,53 – 10,01
Tryptofan	0,61 – 1,20
Tyrozín	0,80 – 1,47
Valin	0,54 – 2,43

### 2.2.4 Vitaminy

Česnek je dobrým zdrojem důležitých vitaminů. Ačkoliv množství konzumovaného česneku není takové, aby pokryl vitaminovou potřebu pro organizmus, sirné látky obsažené v česneku, dovedou účinky vitaminů zesilovat. Vitamin B<sub>1</sub> (tiamin) se v kombinaci s allici-

nem a allitiaminem snadno vstřebává ve střevech. Česnek obsahuje vitaminy skupiny B (B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>), vit. C, E, biotin aj. Obsahy jednotlivých vitaminů ve stroužku je různý a závislý na mnoha faktorech – odrůda, skladování, úprava, pěstování aj. [5,26].

### 2.2.5 Enzymy

Nejvýznamnějším zástupcem této skupiny v česneku je enzym *alliináza*. Česnek ale obsahuje i řadu jiných enzymů jako *fenylalaninamoniumlyázu* (PAL), která se účastní na tvorbě aromatických látek, *adenozintrifosfatázu* (ATP-áza) vázanou na lýkovou část česneku, *polyfenoloxidázu*, *peroxidázu*, která se účastní na změně barvy a ztrátě účinnosti sušeného česneku. V česneku se dále nachází *alkoholdehydrogenáza*, *superoxiddismutáza*, *esteráza*, *fosfoglukozizomeráza*. Při stavbě a štěpení sacharidů v česneku působí řada specifických enzymů – *polyfruktozidáza* a *invertáza* (štěpí sacharózu a rafinózu), *transfruktozidáza* a *pektinesteráza*, odpovědná za viskozitu pektinů v čerstvé šťávě. *Inulináza* štěpí inulin, sacharózu a rafinózu. Enzymy *inulináza* a *invertáza* působí v klíčcích česneku, později nabývá převahu *inulináza*. V česneku též najdeme *hexokinázu*, která fosforyluje D-glukózu, D-fruktózu, D-manózu a D-glukózamin. Enzym *argináza* odbourává arginin. *Lipáza* se účastní na snížení obsahu lipidů a cholesterolu v krvi. Česnek obsahuje dva druhy *lipáz*, kyselou a neutrální. Dalšími přítomnými enzymy jsou *glutamylpeptidáza* a *γ-L-glutamyl-transpeptidáza*, která se účastní na tvorbě *γ*-glutamyl-peptidů, *deoxyribonukleáza* (štěpí nukleové kyseliny), *lysozym* rozkládající stěny zejména Gram<sup>+</sup> bakterií a *guanylátcykláza* vykazující brzdící aktivitu proti tumorům [5].

#### 2.2.5.1 *Alliináza*

Též zvaný jako *alliinlyáza*. *Alliináza* je klíčovým enzymem, který transformuje cystein sulfoxidy na tiosulfináty. Čistý enzym pracuje za optimálního pH 6,5. *Alliináza* je však velmi citlivá na zahřátí, to je také důvodem pro údajně podstatně nižší ochranné účinky tepelně zpracovávaného česneku. Tento enzym také velmi špatně odolává kyselému prostředí, které je typické pro žaludek. Proto také již nedochází k tvorbě allicinu v zažívacím traktu. *Alliináza* se nachází jak ve vakuolách stroužků česneku, tak v cibuli [5,27].

## 3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

### 3.1 Antioxidanty

Jedná se o látky, které již v malých koncentracích zabraňují oxidaci substrátu vedoucí k nežádoucím změnám. Mezi endogenní antioxidanty se řadí třeba enzymy a koenzymy fungující jako katalyzátory chemických reakcí v těle. Dále např. glutation a některé enzymy, jako *superoxiddismutázy*, které neutralizují superoxid vznikem peroxidu vodíku nebo *kataláza*, která rozkládá peroxid vodíku na vodu. Mezi antioxidanty exogenní patří např. flavonoidy, některé organosírné sloučeniny nebo vitaminy [28,29].

Oxidační stres představuje porušení rovnováhy mezi vznikem a odstraňováním reaktivních forem kyslíku. Je vyvolán zvýšenou tvorbou kyslíkových radikálů nebo snížením kapacity antioxidační ochrany [30].

### 3.2 Volný radikál

V biologických systémech vznikají radikály odejmutím či přijetím elektronu. Zpravidla se jedná o vysoce reaktivní částice, které mohou iniciovat řadu dalších reakcí, protože se snaží doplnit si párový elektron odejmutím elektronu či jeho předáním jiným molekulám. Tato molekula se pak sama mění na radikál a dochází tak k propagaci reakce. K terminaci dochází po reakci dvou radikálů a spojením nepárových elektronů [31].

Produkce reaktivních forem kyslíku i dusíku je velice přísně regulována. Pokud však dojde k selhání regulačních mechanismů, může dojít až k patologické reakci způsobené oxidačním poškozením [31,32].

#### 3.2.1 ROS (Reactive Oxygen Species)

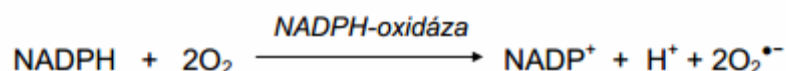
Reaktivní formy kyslíku (ROS – Reactive Oxygen Species) jsou volné radikály a neradikálové oxidanty. Volné radikály nesou vždy nepárový elektron a jsou velmi nestabilní, tedy reaktivní. Neradikálové oxidanty jsou sloučeniny kyslíku, které nemají charakter radikálů, mohou z nich vznikat [2].

Tabulka 4 – Reaktivní formy kyslíku [33]

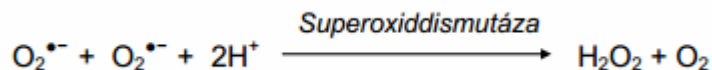
Volné radikály	Neradikálové oxidanty
Superoxid $O_2^\bullet$	Peroxid vodíku $H_2O_2$
Hydroxylový radikál $HO^\bullet$	Kys. chlorná $HClO$
Peroxyyl $ROO^\bullet$	Ozon $O_3$
Alkoxyyl $RO^\bullet$	Singletový kyslík $^1O_2$
Hydroperoxyyl $HO_2^\bullet$	

Superoxidový anion vzniká redukcí molekulárního kyslíku. Slouží jako substrát pro tvorbu dalších vysoce reaktivních, krátce žijících kyslíkových produktů. Peroxid vodíku se účastní vzniku radikálů. V přítomnosti kovů ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^+$ ) se redukuje Fentonovou reakcí za vzniku  $HO^\bullet$ . Hydroxylový radikál je extrémně reaktivní, poškozuje biomolekuly blízko místa svého vzniku. Kyselina chlorná je silný baktericidní oxidant. Singletový kyslík je excitovaná forma vysoce reaktivního kyslíku a peroxylový radikál vzniká při peroxidaci lipidů působením hydroxylového radikálu [31,33,34].

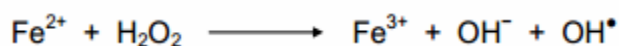
Příklad mechanismu vzniku superoxidu působením *NADPH-oxidázy* při respiračním vzplanutí fagocytujících buněk:



Vznikající superoxidový anion se záhy mění působením *superoxiddismutázy* na peroxid vodíku:

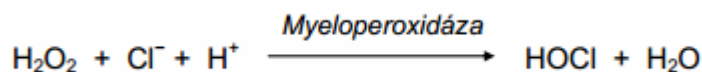


Ve fagozomu je kyselé prostředí, které podporuje uvolnění iontů železa (Fentonova reakce). Vzniká  $HO^\bullet$ , který je schopen rozkládat všechny biologicky významné makromolekuly. Poločas jeho aktivity je však velmi krátký ( $10^{-9}$  s) a způsobuje proto oxidativní poškození jen v místě svého vzniku.





*Myeloperoxidáza*, obsažená v neutrofilech a bílých krvinkách se podílí na likvidaci fagocytovaného materiálu:



Z  $\text{H}_2\text{O}_2$  vzniká působením *myeloperoxidázy* také tzv. singletový kyslík, excitovaná forma molekulového kyslíku [31,33].

Exogenním zdrojem ROS může být např. tabákový kouř se širokým spektrem oxidizujícího záření, které generuje volné radikály v exponovaných tkáních, zejména vysoce reaktivní  $\text{HO}\cdot$ ; UV záření, které produkuje singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ) a  $\text{HO}\cdot$ ; znečištěný vzduch obsahující ozon ( $\text{O}_3$ ) a oxidy dusíku; průmyslové jedy, jako např. oxidy chloru; léky, jako je fenobarbital, jenž podporuje růst nádorů v játrech nebo třeba grilování potravin, při kterém se tvoří celá řada karcinogenů, zejména benzo(a)pyren [2].

### 3.2.2 RNS (Reactive Nitrogen Species)

Tabulka 5 – Reaktivní formy dusíku [31]

Volné radikály	Neradikálové látky
Oxid dusnatý $\text{NO}\cdot$	Nitrosyl $\text{NO}^+$
Oxid dusičitý $\text{NO}_2\cdot$	Nitroxid $\text{NO}$
	Peroxyinitrit $\text{ONOO}$
	Alkylperoxyinitrit $\text{ROONO}$

Oxid dusnatý je velmi jednoduchá molekula, která je však v těle syntetizována poměrně složitým enzymovým mechanismem. Lidský organismus produkuje oxid dusnatý z aminokyseliny L-argininu pomocí enzymu nazývaného *NO-syntáza (NOS)*. *NO-syntázy* se nachází v mnoha buňkách těla a její lokalizace odráží funkci, jakou v těle zastává. Např.  $\text{NO}$  syntetizovaný v nervových buňkách zajišťuje přenos informace.  $\text{NO}$  může podléhat velkému množství reakcí, které většinou vedou nejprve ke vzniku dalších reaktivních forem dusíku, a následně stabilnějších metabolitů jako jsou dusičnany [31,35].

Peroxydusitan ( $\text{ONOO}^-$ ) vzniká rychlou reakcí radikálů  $\text{NO}\cdot$  a superoxidu. Tvorba peroxyinitritu v endoteliálních buňkách vede ke snížení koncentrace oxidu dusnatého a omezení jeho fyziologických vlastností [31,35,36].

### 3.3 Antioxidační aktivita

V rostlinných zdrojích bylo identifikováno kolem 5 tisíc druhů látek, které 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. Většina antioxidantů přírodního původu, které přijímáme, mohou různými mechanismy reagovat s různými radikály. Antioxidační aktivita je definována jako schopnost antioxidantu inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin (např. zabraňovat peroxidaci lipidů). Je vhodné rozlišovat dva pojmy, a to antioxidační kapacita a reaktivita. Antioxidační kapacita poskytuje informaci o délce trvání antioxidačního účinku, reaktivita antioxidantu. V oblasti chemické analýzy a biologického hodnocení jakosti rostlinných produktů byly v posledních letech vypracovány četné metody, které umožňují stanovit tzv. celkovou antioxidační aktivitu vzorku (TAC, Total Antioxidant Capacity) [37,38].

## 4 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY

Pro stanovení antioxidační aktivity existuje řada analytických metod. V oblasti chemických analýz a biologického hodnocení antioxidačních charakteristik byly v posledních letech vypracovány četné metody umožňující stanovení antioxidační aktivity. Jsou principiálně odlišné a postupně se vyvíjí jejich modifikace. Většina používaných metod je založena na eliminaci radikálů – například metoda DPPH (2,2-difenyl-1-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), ABTS, ORAC nebo na hodnocení redoxních vlastností, např. FRAP. Při hodnocení antioxidační aktivity je posuzováno působení látek různé chemické povahy s odlišnými reakčními mechanismy. K charakterizaci potravinového materiálu z hlediska antioxidačních vlastností je proto vhodné použít více metod [39].

### 4.1 Spektrofotometrie

Absorpční spektrofotometrie je optická analytická metoda založená na stanovení látek absorbujících elektromagnetické záření, především z oblasti ultrafialové (od 200 nm, tj. blízká UV), viditelné oblasti (400 – 750 nm) a částečně i infračervené oblasti (do 1  $\mu\text{m}$ ). Množství absorbovaného záření závisí na koncentraci absorbujících částic, které interagují se svazkem paprsků, a tedy také na tloušťce absorbujícího prostředí, kterým záření prochází. Zavádíme bezrozměrnou veličinu – absorbanci, kterou můžeme definovat Lambert-Beerovým zákonem:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c,$$

$\varepsilon$  je molární absorpční koeficient ( $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ),  $l$  je tloušťka vrstvy v cm a  $c$  je koncentrace ( $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ).

Další veličinou je transmitance, která uvádí množství světla, které vzorkem prošlo. Je definována vztahem:

$$T = \frac{I}{I_0},$$

kde  $I$  je intenzita prošlého světla a  $I_0$  intenzita světla vstupujícího [40].

Molekuly existují v určitých kvantových stavech lišících se energií, a proto mohou absorbovat elektromagnetické záření jen o určitých vlnových délkách. Po absorpci elektromagnetického záření molekulami dochází k excitaci valenčních elektronů. Molekula tedy pře-

jde z nižšího energetického stavu na vyšší energetický stav a energetický rozdíl těchto stavů je roven frekvenci absorbovaného záření [40,41].

Přístroje zaznamenávající absorpci záření se nazývají absorpční spektrofotometry. Principem je detekce záření, které vychází ze zdroje přes vzorek k detektoru. Část záření je ale absorbována vzorkem, a tak na detektoru dochází k záznamu [41].

## 4.2 Fyzikální metody

### 4.2.1 Elektronová spinová rezonance

ESR je založena na štěpení energetických hladin elektronů v magnetickém poli. Toto štěpení probíhá důsledkem interakce magnetického momentu elektronu s vloženým magnetickým polem. Vzniká elektromagnetické záření, jehož absorpci můžeme měřit. Množství absorbované energie je úměrné počtu nepárových elektronů. Převážná většina spektrometrů ESR pracuje při frekvenci kolem 9,5 GHz, což odpovídá vlnové délce kolem 3 cm. Spektrem ERS rozumíme závislost absorpce vysokofrekvenční energie na intenzitě vnějšího magnetického pole [42].

### 4.2.2 Stanovení redoxního potenciálu

Metoda, při které se stanovuje rH (redoxní potenciál vztažený ke standardní vodíkové elektrodě). Metoda se používá pro stanovení tří skupin látek, které rozhodující měrou ovlivňují hodnotu redoxního potenciálu. Jedná se o rozpuštěný kyslík (hodnota rH je lineárně závislá na jeho koncentraci), těžké kovy a jejich komplexy (zejména železo a měď) a látky povahy reduktonů [3].

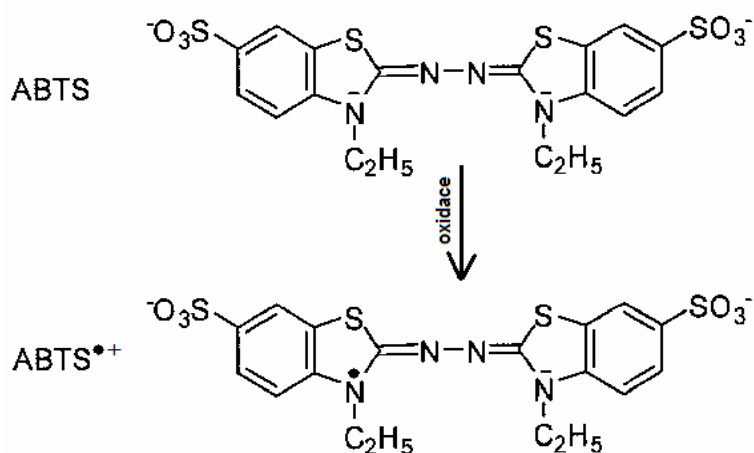
### 4.2.3 Chemiluminiscence

Metoda, při které se uvolněná chemická energie převádí atomy nebo molekuly do tzv. excitovaného stavu, tj. energeticky bohatšího a tato energie je následně uvolňována ve formě světelných kvant [43].

### 4.3 Chemické metody

#### 4.3.1 ABTS

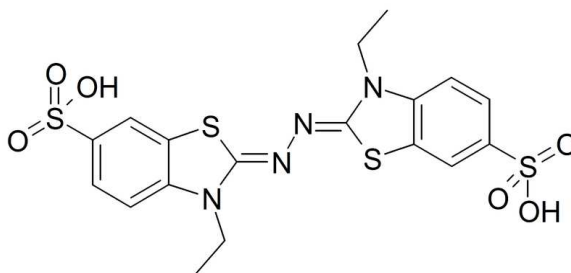
2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina) neboli ABTS je chemická sloučenina, sloužící pro stanovení celkové antioxidační aktivity. Oxidací jednoho elektronu je bezbarvá molekula ABTS je převáděna na modro-zelený radikál  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydro-benzotiazol-6-sulfonát)) [37].



Obrázek 12 – Oxidace jednoho elektronu ABTS [37]

Metoda ABTS je principiálně podobná jako metoda DPPH ovšem s tím rozdílem, že u ABTS se radikálová forma musí tvořit na začátku každé zkoušky, kdežto u DPPH se v této formě komerčně prodává. Oxidace ABTS je obvykle dosaženo reakcí s metmyoglobinem a peroxidem vodíku, peroxidisíranem draselným nebo oxidem manganitým [37].

Tato metoda testuje schopnost látek nebo vzorku zhasět kation-radikál  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonát)). Zhasení radikálu  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  antioxidanty, které se chovají jako donory vodíku, se sleduje spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . Absorbance se nejčastěji měří při 734 nm [37,44,45].

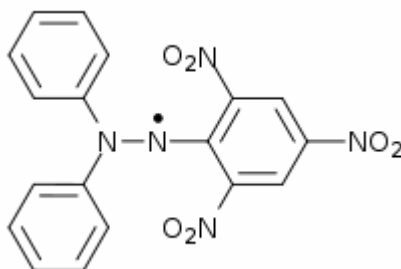


ABTS

### 4.3.2 DPPH

DPPH je organická chemická sloučenina, celým názvem 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl. Jde o tmavý, barevný krystalický prášek složený ze stabilních volných radikálových molekul. Tato sloučenina má několik krystalických forem, které se liší mřížkovou symetrií a bodem tání. DPPH má radikální povahu, díky které se používá jako indikátor chemických reakcí. Intenzivní fialové zbarvení měřitelné při absorpenci 520 nm (silné maximum při 515 nm) způsobuje nepárový elektron na dusíku hydrazylu. Působením antioxidantních látek se intenzita zbarvení snižuje a je měřena v minutových intervalech po dobu 10 minut [38].

Metoda DPPH tedy slouží ke stanovení antioxidantní aktivity jak u pevných, tak kapalných vzorků. Je jednoduchá, rychlá, nenákladná a není specifická pro konkrétní antioxidantní složky. Antioxidantní aktivita může být vyjádřena různými způsoby včetně procentuálního podílu činidla a oxidační inhibice rychlosti. Jednodušší způsob jak prezentovat antioxidantní aktivitu je společný referenční standard Trolox. Jedná se o analog  $\alpha$ -tokoferolu, známý pro svou vysokou radikálovou aktivitu, běžně používaný jako referenční antioxidant [38,46].



DPPH □ 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl

### 4.3.3 FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power)

Je založena na principu redoxní reakce. Při této metodě redukuje antioxidant ze vzorku komplex  $\text{Fe}^{3+}$ -2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin) ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ). Mírou antioxidační aktivity vzorku je nárůst absorpance při 593 nm odpovídající množství komplexu  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ. Metoda má své limity spočívající v tom, že měření probíhá při pH 3,6, nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky a tioly, navíc vznikající  $\text{Fe}^{2+}$  je *in vivo* jedním z reaktantů Fentonovy reakce. Metoda FRAP tak odráží pouze schopnost látek redukovat ion  $\text{Fe}^{3+}$  a s celkovou antioxidační aktivitou vzorku nemusí pozitivně korelovat [44].

### 4.3.4 ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity – Metoda měření antioxidační kapacity na principu zhášení fluorescence) je metoda, při které se hodnotí schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Detekce je založena na úbytku fluorescence  $\beta$ -fykoeritrinu po reakci s hydroxylovými radikály [47].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



## 5 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo stanovit celkovou antioxidační aktivitu čerstvého a lyofilizovaného česneku a porovnat výsledky mezi jednotlivými vzorky a typy extrakcí (1 hodinová a 24 hodinová, ultrazvuk, třepačka). Antioxidační aktivita byla měřena spektrofotometricky, pomocí dvou metod, které jsou založeny na eliminaci radikálů □ DPPH a ABTS. Jako standard byl použit trolox. Výpočtem z kalibrační křivky byla zjištěna antioxidační schopnost česneku vyjádřená jako ekvivalentní množství troloxu, které je úměrné redukční účinnosti testovaných vzorků česneku. Data byla následně statisticky vyhodnocena a porovnávána.

## 6 METODIKA PRÁCE

### 6.1 Přístroje a zařízení

digitální váhy Schoeller AFA-2102C

ultrazvuková lázeň

lyofilizátor

spektrofotometr Libra S6

ponorný mixér

běžné laboratorní sklo a pomůcky

### 6.2 Použité chemikálie

- Pro metodu ABTS:

metanol

trolox

ABTS (2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina)

peroxodisíran draselný

destilovaná voda

99% kyselina octová

sodná sůl kyseliny octové

octanový pufr o pH 4,3

- Pro metodu DPPH:

metanol

trolox

DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl)

destilovaná voda

### 6.3 Použité vzorky

Konzumní česnek neznámých odrůd původem ze Španělska, Polska, Číny a Slovenska byl zakoupen na venkovním tržišti ve Zlíně. Odrůdové česneky původem z České republiky (oblast Uherského Hradiště) – Dukát a Bjetin byly zakoupen ve slušovickém obchodě se zeleninou. Odrůdový česnek původem z Polska – Harnaš byl zakoupen na farmářském trhu ve Slušovicích. Tato, původem polská odrůda, byla vypěstována v Uherském Hradišti. Medvědí česnek původem z České republiky pocházel z domácí produkce ze Zlínské oblasti. Konzumní česnek byl zakoupen vždy v množství 9 cibulí. Vzorky byly skladovány v lednici při 8 °C po dobu nejdéle 14 dnů, potom v klimatizované laboratoři při 20 °C po dobu jejich zpracování k chemické analýze. Vzorky byly skladovány vždy za nepřístupu světla.

#### 6.3.1 Příprava vzorků česneku pro analýzu

- Čerstvý česnek

Před vlastní analýzou byly jednotlivé stroužky česneku od sebe odděleny, oloupany a nastrouhány a poté rozmixovány. Takto tomu bylo vždy před vlastní analýzou pro obě metody, jak DPPH tak ABTS. Z každého homogenátu bylo vždy naváženo po 5 g česnekové hmoty s přesností na 0,1 mg. Tento byl následně extrahován 24 hodin ve 20 ml metanolu nebo 1 hodinu ve 25 ml metanolu při použití ultrazvukové lázně. Takto připravený extrakt byl odstředěn a následně zfiltrován a využit pro stanovení antioxidační aktivity metodu DPPH nebo ABTS. Pro analýzu byly použity vzorky českého česneku – Bjetin a Dukát, neoddrůdové vzorky česneku původem z Polska, Španělska, Číny a Slovenska a odrůdový česnek z Polska Harnaš.

- Lyofilizovaný česnek

Česnekové stroužky byly od sebe nejprve odděleny, oloupany a nastrouhány a podrobeny procesu lyofilizace. Vzorky byly hluboce zmrazeny při teplotě -80 °C po dobu 48 hodin a poté byly umístěny na 24 hodin do lyofilizátoru. Poté bylo naváženo 2 g lyofilizovaného česneku s přesností na 0,1 mg na analytických vahách. Navážený česnek byl následně extrahován 24 hodin nebo 1 hodinu při použití ultrazvukové lázně v 10 ml metanolu. Připravený extrakt byl odstředěn a následně zfiltrován a využit pro stanovení antioxidační aktivi-

ty metodu DPPH nebo ABTS. Pro analýzu lyofilizovaného česneku byly použity vzorky konzumního neodrudového česneku z Polska, Španělska a Číny a česká odrůda Bjetin.

## 6.4 Metoda ABTS

### 6.4.1 Příprava radikálu ABTS<sup>•+</sup>

Nejprve byl připraven radikál kationtu ABTS reakcí ABTS s peroxidisíranem draselným. Do odměrné baňky o objemu 10 ml bylo naváženo 0,018 g ABTS a doplněno destilovanou vodou po rysku. K takto připravenému roztoku ABTS bylo přidáno 0,2 ml roztoku peroxidisíranu draselného o koncentraci  $0,06 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Ten byl připraven rozpuštěním 0,162 g  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  v 10 ml destilované vody. Vzniklý roztok byl ponechán reagovat 16 hodin bez přístupu světla při pokojové teplotě.

### 6.4.2 Příprava reakční směsi pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Po vytvoření radikálu byl roztok ABTS<sup>•+</sup> smíchán s čerstvě připraveným octanovým pufrům o pH 4,3 v poměru 1:39 – to odpovídá 2,5 ml roztoku ABTS smíchaného s 97,5 ml pufru. Pufr byl připraven smícháním  $136,5 \text{ ml } 0,2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ CH}_3\text{COOH}$  a  $63,5 \text{ ml } 0,2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ CH}_3\text{COONa}$ . Připravená reakční směs byla spektrofotometricky proměřena při vlnové délce 734 nm. Jako blank byl použit octanový pufr o pH 4,3. Absorbance reakční směsi měla hodnotu menší než 1.

### 6.4.3 Měření antioxidační aktivity extraktů vzorků metodou ABTS

Pro samotné analyzování vzorku bylo napipetováno 12 ml výše připravené reakční směsi a 150  $\mu\text{l}$  vzorku. Směs se nechala reagovat po dobu 30 minut v temnu a poté byla změřena na spektrofotometru absorbance při vlnové délce 734 nm. Úbytek absorbance vyjádřený v procentech byl pomocí rovnice regrese vyjádřené z kalibrační přímky přepočten na ekvivalentní množství troloxu na 1 kg vzorku.

### 6.4.4 Kalibrační křivka pro metodu ABTS

Jako standard byl použit trolox, který byl rozpuštěn v metanolu na koncentraci  $0,04 \mu\text{mol}\cdot 25 \mu\text{l}^{-1}$  (zásobní roztok). Ředěním zásobního roztoku byla připravena kalibrační řada o koncentracích 0,01, 0,02, 0,03 a  $0,04 \mu\text{mol}\cdot 25 \mu\text{l}^{-1}$  (1,6, 1,2, 0,8, 0,4, 0,2  $\text{nmol}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ ).

Jednotlivé koncentrace byly přidávány ke 12 ml reakční směsi v množství 150  $\mu\text{l}$  a po 30 minutách ponechané směsi ve tmě byly proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 734 nm. Jako blank byl použit octanový pufr o pH 4,3. Na základě změřených absorbancí byla sestavena kalibrační křivka v závislosti absorbance na koncentraci troloxu [ $\text{nmol}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ ]. Následně byla zjištěna rovnice regrese, pomocí které byla vypočítána celková antioxidační aktivita vzorku.

## 6.5 Metoda DPPH

### 6.5.1 Příprava zásobního a pracovního roztoku DPPH

Nejprve byl připraven zásobní roztok DPPH rozpuštěním 24 mg DPPH ve 100 ml metanolu. Z takto připraveného zásobního roztoku DPPH byl připraven roztok pracovní a to smícháním 10 ml zásobního roztoku a 45 ml metanolu. Poté byla spektrofotometricky proměřena absorbance tohoto pracovního roztoku proti metanolu při vlnové délce 515 nm.

### 6.5.2 Měření antioxidační aktivity extraktů vzorků metodou DPPH

Při analyzování vzorků bylo pipetováno do kádinky vždy 450  $\mu\text{l}$  vzorku extraktu a 8,55 ml pracovního roztoku DPPH. Úbytek absorbance se měřil po 60 minutách, během kterých byl vzorek uchováván v temnu při laboratorní teplotě. Absorbance byla měřena při vlnové délce 515 nm. Úbytek absorbance byl pomocí regresní rovnice kalibrační křivky přepočten na ekvivalentní množství troloxu na 1 kg vzorku.

### 6.5.3 Kalibrační křivka pro metodu DPPH

Jako standard byl použit trolox, který byl rozpuštěn v metanolu na koncentraci 800  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (zásobní roztok). Dále proběhlo ředění, tak aby vznikla kalibrační řada o koncentracích 40, 50, 60, 70, 80, 100, 120, 140, 150 a 160  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (což odpovídá 0,08, 0,16, 0,20, 0,24, 0,28, 0,32, 0,40, 0,48, 0,56, 0,60, 0,64  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Jednotlivé koncentrace byly přidávány k 8,55 ml pracovního roztoku v množství 450  $\mu\text{l}$  a po 60 minutách ponechání směsi ve tmě byly proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 515 nm. Jako blank byl použit metanol. Na základě změřených absorbancí byla sestavena kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci troloxu v  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Následně byla zjištěna rovnice regrese, pomocí které byla vypočítána celková antioxidační aktivita vzorku.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Celková antioxidační aktivita byla měřena u vzorků čerstvého a lyofilizovaného česneku při použití extrakce metanolem. Byly použity metody ABTS a DPPH, měření antioxidační aktivity probíhalo spektrofotometricky na přístroji Libra L6. Antioxidační aktivita byla vyjádřena jako ekvivalent redukční účinnosti troloxu.

### 7.1 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Radikálová reakční směs (příprava viz kapitola 6.6) byla smíchána s extraktem vzorku a po 30 minutách byla spektrofotometricky proměřena při vlnové délce 734 nm. Zhášení radikálu se projevilo změnou absorpčního spektra. Jako blank byl použit pufr o pH 4,3. Z naměřených hodnot absorbancí ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ) byly vypočteny úbytky absorbancí podle

vzorce:  $A = \frac{A_0 - A_n}{A_0} \cdot 100$ , kde  $A_0$  je absorbance samotné reakční směsi ABTS

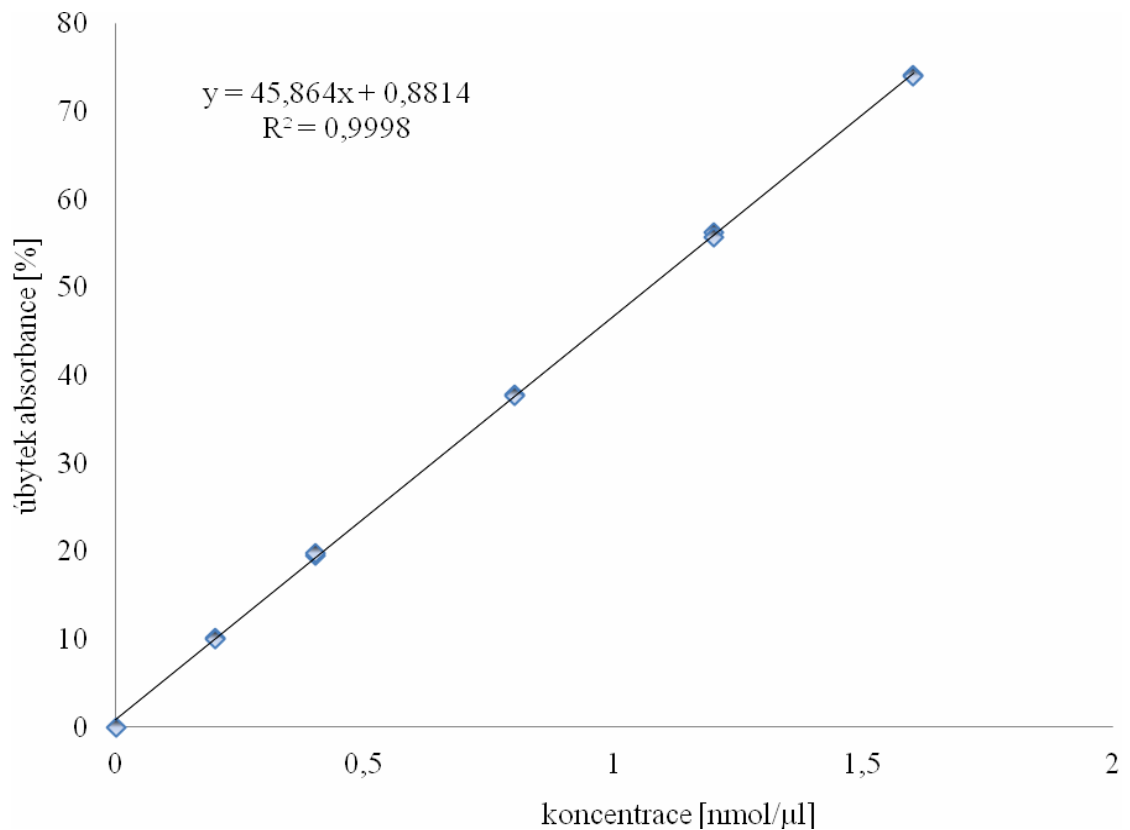
bez vzorku. Z těchto tří výpočtů byla vypočítána směrodatná odchylka, která byla dále použita pro statistické vyhodnocení. Hodnota úbytků absorbancí byla použita pro výpočet celkové antioxidační aktivity. Úbytek absorbance vyjádřený v procentech byl pomocí rovnice regrese vyjádřen z kalibrační přímky (viz obr. 13) přepočten na ekvivalentní množství troloxu na 1 kg vzorku.

#### 7.1.1 Kalibrační křivka

Ze zásobního roztoku o koncentraci  $0,04 \mu\text{mol} \cdot 25 \mu\text{l}^{-1}$  byla ředěním připravena kalibrační řada o koncentracích 0,01, 0,02, 0,03 a  $0,04 \mu\text{mol} \cdot 25 \mu\text{l}^{-1}$  (1,6, 1,2, 0,8, 0,4, 0,2  $\text{nmol} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ ). Jednotlivé koncentrace byly přidávány ke 12 ml reakční směsi v množství 150  $\mu\text{l}$  a po 30 minutách ponechané směsi ve tmě byly proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 734 nm. Jako blank byl použit pufr o pH 4,3. Koncentrace byly kvůli snadnější manipulaci převedeny na jednotky  $\text{nmol} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ .

Tabulka 6 – Hodnoty pro kalibrační křivku ABTS

Trolox [ $\mu\text{mol} \cdot 25 \mu\text{l}^{-1}$ ]	Trolox [ $\text{nmol} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ ]	A0	A1	A2	A3	$\bar{\Delta} A$	$\bar{\Delta}$ úbytek A [%]
0	<b>0</b>	0,740	0	0	0	0	<b>0</b>
0,04	<b>1,6</b>	0,740	0,193	0,191	0,191	0,192	<b>74,099</b>
0,04	<b>1,6</b>	0,740	0,194	0,193	0,190	0,192	<b>74,009</b>
0,03	<b>1,2</b>	0,740	0,324	0,326	0,321	0,324	<b>56,261</b>
0,03	<b>1,2</b>	0,740	0,329	0,329	0,327	0,328	<b>55,631</b>
0,02	<b>0,8</b>	0,740	0,460	0,460	0,461	0,460	<b>37,793</b>
0,02	<b>0,8</b>	0,740	0,462	0,460	0,462	0,461	<b>37,658</b>
0,01	<b>0,4</b>	0,740	0,596	0,591	0,599	0,595	<b>19,550</b>
0,01	<b>0,4</b>	0,740	0,592	0,594	0,595	0,594	<b>19,775</b>
0,005	<b>0,2</b>	0,740	0,665	0,666	0,664	0,665	<b>10,135</b>
0,005	<b>0,2</b>	0,740	0,667	0,669	0,661	0,666	<b>10,045</b>



Graf 1 – Závislost úbytku absorbance na koncentraci troloxu

### 7.1.2 24 hodinová extrakce metanolem u čerstvého česneku

Vzorek česneku byl extrahován metanolem po dobu 24 hodin v laboratorních podmínkách na tmavém místě na třepačce při teplotě přibližně 24 °C. Navážka čerstvého česneku byla extrahována ve 20 ml metanolu. Výsledky jsou vyjádřeny jako antioxidační aktivita troloxu v  $\text{mmol.kg}^{-1}$  (TAA – Trolox Antioxidant Activity).

Tabulka 7 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku

	<b>m [g]</b>	<b>A0</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
<b>Bjetin 1</b>	5,0468	0,657	0,554	0,552	0,550
<b>Bjetin 2</b>	5,2086	0,657	0,548	0,544	0,547
<b>Čínský 1</b>	4,9614	0,864	0,621	0,621	0,620
<b>Čínský2</b>	4,5902	0,864	0,639	0,639	0,639
<b>Dukát 1</b>	5,0299	0,864	0,657	0,655	0,652
<b>Dukát 2</b>	5,0207	0,864	0,654	0,652	0,657
<b>Harnaš 1</b>	5,1381	0,657	0,518	0,516	0,519
<b>Harnaš 2</b>	4,9659	0,657	0,523	0,522	0,521
<b>Medvědí 1</b>	5,0800	0,781	0,626	0,625	0,629
<b>Medvědí 2</b>	5,0043	0,781	0,631	0,631	0,627
<b>Polský 1</b>	4,9974	0,781	0,643	0,646	0,641
<b>Polský 2</b>	5,0273	0,781	0,641	0,641	0,645
<b>Slovenský 1</b>	4,9153	0,657	0,487	0,491	0,488
<b>Slovenský 2</b>	5,2425	0,657	0,479	0,481	0,481
<b>Španělský 1</b>	5,1092	0,657	0,491	0,495	0,495
<b>Španělský 2</b>	5,1414	0,657	0,489	0,493	0,49



Tabulka 8 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u čerstvého česneku

	Úbytek A1 [%]	Úbytek A2 [%]	Úbytek A3 [%]	Ø úbytek A [%]
<b>Bjetin 1</b>	15,68	15,98	16,29	15,98
<b>Bjetin 2</b>	16,59	17,20	16,74	16,84
<b>Čínský 1</b>	28,13	28,13	28,24	28,16
<b>Čínský2</b>	26,04	26,04	26,04	26,04
<b>Dukát 1</b>	23,96	24,19	24,54	24,23
<b>Dukát 2</b>	24,31	24,54	23,96	24,27
<b>Harnaš 1</b>	21,16	21,46	21,00	21,21
<b>Harnaš 2</b>	20,40	20,55	20,70	20,55
<b>Medvědí 1</b>	19,85	19,97	19,46	19,76
<b>Medvědí 2</b>	19,21	19,21	19,72	19,38
<b>Polský 1</b>	17,67	17,29	17,93	17,63
<b>Polský 2</b>	17,93	17,93	17,41	17,76
<b>Slovenský 1</b>	25,88	25,27	25,72	25,62
<b>Slovenský 2</b>	27,09	26,79	26,79	26,89
<b>Španělský 1</b>	25,27	24,66	24,66	24,86
<b>Španělský 2</b>	25,57	24,96	25,42	25,32

Tabulka 9 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky

	TAA 1 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 2 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 3 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	Ø TAA [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	S.D.
<b>Bjetin 1</b>	12,78	13,05	13,31	13,21	0,27
<b>Bjetin 2</b>	13,15	13,66	13,28		
<b>Čínský 1</b>	23,95	23,95	24,05	23,94	0,05
<b>Čínský2</b>	23,90	23,90	23,90		
<b>Dukát 1</b>	20,01	20,21	20,51	20,28	0,21
<b>Dukát 2</b>	20,35	20,55	20,04		
<b>Harnaš 1</b>	17,21	17,47	17,08	17,26	0,14
<b>Harnaš 2</b>	17,14	17,27	17,40		
<b>Medvědí 1</b>	16,28	16,39	15,95	16,16	0,20
<b>Medvědí 2</b>	15,97	15,97	16,41		
<b>Polský 1</b>	14,65	14,31	14,87	14,62	0,22
<b>Polský 2</b>	14,78	14,78	14,34		
<b>Slovenský 1</b>	22,17	21,63	22,04	21,79	0,24
<b>Slovenský 2</b>	21,8	21,55	21,55		
<b>Španělský 1</b>	20,81	20,29	20,29	20,59	0,27
<b>Španělský 2</b>	20,94	20,42	20,81		

Metodou ABTS 24 hodinovou extrakcí metanolem byla u čerstvého česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita u konzumního čínského česneku s průměrnou hodnotou  $23,94 \pm 0,05 \text{ mmol.kg}^{-1}$ . Naopak nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje česká odrůda Bjetin s průměrnou hodnotou  $13,21 \pm 0,27 \text{ mmol.kg}^{-1}$ . Ve srovnání s literaturou jsou výsledky velmi podobné. Podle S. Gorinstein, et. al. je hodnota celkové antioxidační aktivity čerstvého česneku metodou ABTS např.  $25,5 \pm 2,5 \text{ mmol.kg}^{-1}$ . Hodnoty celkové antioxidační aktivity se ovšem v literatuře velmi různí v závislosti na typu a délce extrakce, koncentraci radikálu, typu rozpouštědla, kterým byl vzorek extrahován, postupu při stanovení, některé metody používají jiný typ standardu, jinou iniciační chemikálii k vytvoření radikálu ABTS $\cdot$ + aj.

Bylo provedeno také statistické vyhodnocení výsledků jednotlivých druhů vzorků pomocí analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů) podle nichž jsou patrné rozdíly v antioxidační aktivitě mezi jednotlivými druhy a odrůdami. Z 95% pravděpodobností lze tvrdit, že mezi vzorky českého Dukátu a španělského česneku a mezi stejnými vzorky měřenými dvakrát vedle sebe neexistuje statisticky významný rozdíl. Mezi ostatními vzorky na hladině významnosti 0,05 tento rozdíl existuje (příloha II).

### 7.1.3 24 hodinová extrakce metanolem u lyofilizovaného česneku

Navážka lyofilizovaného česneku byla extrahována v 10 ml metanolu.

Tabulka 10 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku

	<b>m [g]</b>	<b>A0</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
<b>Bjetin 1</b>	2,0030	0,757	0,313	0,313	0,313
<b>Bjetin 2</b>	2,0458	0,757	0,307	0,305	0,306
<b>Čínský 1</b>	2,0013	0,757	0,408	0,405	0,401
<b>Čínský 2</b>	2,0064	0,757	0,408	0,404	0,407
<b>Polský 1</b>	2,0818	0,757	0,369	0,362	0,363
<b>Polský 2</b>	2,0704	0,757	0,367	0,360	0,362
<b>Španělský 1</b>	2,0523	0,757	0,315	0,309	0,307
<b>Španělský 2</b>	2,0528	0,757	0,311	0,311	0,305

Tabulka 11 – Vypočtené hodnoty úbytku absorbancí u lyofilizovaného česneku

	Úbytek A1 [%]	Úbytek A2 [%]	Úbytek A3 [%]	Ø úbytek A [%]
<b>Bjetin 1</b>	46,10	46,50	47,03	46,54
<b>Bjetin 2</b>	46,10	46,63	46,24	46,32
<b>Čínský 1</b>	58,65	58,65	58,65	58,65
<b>Čínský 2</b>	59,45	59,71	59,58	59,58
<b>Polský 1</b>	51,25	52,18	52,05	51,83
<b>Polský 2</b>	51,52	52,44	52,18	52,05
<b>Španělský 1</b>	58,39	59,18	59,45	59,00
<b>Španělský 2</b>	58,92	58,92	59,71	59,18

Tabulka 12 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky

	TAA 1 [mmol/kg]	TAA 2 [mmol/kg]	TAA 3 [mmol/kg]	Ø TAA [mmol/kg]	S.D.
<b>Bjetin 1</b>	49,27	49,70	50,28	49,57	0,39
<b>Bjetin 2</b>	49,14	49,72	49,29		
<b>Čínský 1</b>	62,89	62,89	62,89	62,72	0,18
<b>Čínský 2</b>	62,42	62,70	62,56		
<b>Polský 1</b>	52,76	53,73	53,59	53,62	0,49
<b>Polský 2</b>	53,33	54,3	54,02		
<b>Španělský 1</b>	61,10	61,94	62,22	61,84	0,45
<b>Španělský 2</b>	61,64	61,64	62,48		

Metodou ABTS 24 hodinovou extrakcí metanolem byla u lyofilizovaného česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita u konzumního čínského česneku s průměrnou hodnotou  $62,72 \pm 0,18 \text{ mmol.kg}^{-1}$ . Naopak nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje česká odrůda Bjetin s průměrnou hodnotou  $49,57 \pm 0,39 \text{ mmol.kg}^{-1}$ . Výsledky jsou vyšší než u čerstvého česneku, protože v navázce čerstvého česneku je pouze 32 – 38 % sušiny. Hodnoty celkové antioxidační aktivity v literaturách se ovšem velmi různí v závislosti na typu a délce extrakce, koncentraci radikálu, postupu při stanovení aj.

Bylo provedeno také statistické vyhodnocení výsledků jednotlivých druhů vzorků pomocí analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů) podle nichž neexistuje statisticky významný rozdíl mezi stejnými vzorky měřenými dvakrát

vedle sebe. Mezi ostatními vzorky na hladině významnosti 0,05 tento rozdíl existuje (příloha II).

#### 7.1.4 Hodinová ultrazvuková extrakce čerstvého česneku v metanolu

Vzorek česneku byl extrahován metanolem po dobu jedné hodiny v ultrazvukové lázni při teplotě přibližně 40 °C. Navážka čerstvého česneku byla extrahována ve 25 ml metanolu.

Tabulka 13 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku

	<b>m [g]</b>	<b>A0</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
<b>Bjetin 1</b>	5,0288	0,816	0,700	0,700	0,700
<b>Bjetin 2</b>	5,0301	0,816	0,694	0,697	0,699
<b>Čínský 1</b>	5,0231	0,816	0,653	0,649	0,650
<b>Čínský 2</b>	5,0388	0,816	0,647	0,640	0,645
<b>Dukát 1</b>	5,0116	0,816	0,673	0,674	0,672
<b>Dukát 2</b>	5,0528	0,816	0,674	0,670	0,679
<b>Harnaš 1</b>	5,0644	0,816	0,665	0,669	0,668
<b>Harnaš 2</b>	5,0094	0,816	0,673	0,675	0,675
<b>Medvědí 1</b>	4,7303	0,816	0,618	0,615	0,617
<b>Medvědí 2</b>	4,7003	0,816	0,620	0,620	0,620
<b>Polský 1</b>	4,9998	0,816	0,680	0,681	0,681
<b>Polský 2</b>	5,0099	0,816	0,673	0,675	0,679
<b>Slovenský 1</b>	4,9691	0,816	0,690	0,692	0,689
<b>Slovenský 2</b>	5,0023	0,816	0,690	0,691	0,691
<b>Španělský 1</b>	5,0994	0,816	0,664	0,665	0,669
<b>Španělský 2</b>	4,9980	0,816	0,667	0,669	0,670

Tabulka 14 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u čerstvého česneku

	Úbytek A1 [%]	Úbytek A2 [%]	Úbytek A3 [%]	Ø úbytek A [%]
<b>Bjetin 1</b>	14,22	14,22	14,22	14,22
<b>Bjetin 2</b>	14,95	14,58	14,34	14,62
<b>Čínský 1</b>	19,98	20,47	20,34	20,26
<b>Čínský 2</b>	20,71	21,57	20,96	21,08
<b>Dukát 1</b>	17,52	17,40	17,65	17,52
<b>Dukát 2</b>	17,40	17,89	16,79	17,36
<b>Harnaš 1</b>	18,50	18,01	18,14	18,22
<b>Harnaš 2</b>	17,52	17,28	17,28	17,36
<b>Medvědí 1</b>	24,26	24,63	24,39	24,43
<b>Medvědí 2</b>	24,02	24,02	24,02	24,02
<b>Polský 1</b>	16,67	16,54	16,54	16,58
<b>Polský 2</b>	17,52	17,28	16,79	17,20
<b>Slovenský 1</b>	15,44	15,20	15,56	15,40
<b>Slovenský 2</b>	15,44	15,32	15,32	15,36
<b>Španělský 1</b>	18,63	18,50	18,01	18,38
<b>Španělský 2</b>	18,26	18,01	17,89	18,06

Tabulka 15 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky

	TAA 1 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 2 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 3 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	Ø TAA [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	S.D.
<b>Bjetin 1</b>	14,45	14,45	14,45	14,67	0,29
<b>Bjetin 2</b>	15,25	14,85	14,58		
<b>Čínský 1</b>	20,72	21,25	21,12	21,44	0,52
<b>Čínský 2</b>	21,45	22,38	21,72		
<b>Dukát 1</b>	18,1	17,97	18,24	17,94	0,39
<b>Dukát 2</b>	17,82	18,35	17,16		
<b>Harnaš 1</b>	18,97	18,44	18,57	18,30	0,41
<b>Harnaš 2</b>	18,11	17,84	17,84		
<b>Medvědí 1</b>	26,95	27,37	27,09	26,98	0,20
<b>Medvědí 2</b>	26,83	26,83	26,83		
<b>Polský 1</b>	17,21	17,08	17,08	17,44	0,40
<b>Polský 2</b>	18,11	17,84	17,31		
<b>Slovenský 1</b>	15,97	15,7	16,11	15,85	0,15
<b>Slovenský 2</b>	15,87	15,73	15,73		
<b>Španělský 1</b>	18,97	18,84	18,31	18,72	0,23
<b>Španělský 2</b>	18,95	18,69	18,55		

Metodou ABTS hodinovou extrakcí metanolem byla u čerstvého česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita u česneku medvědího ( $26,98 \pm 0,20 \text{ mmol.kg}^{-1}$ ). Konzumní čínský česnek s průměrnou hodnotou  $21,44 \pm 0,52 \text{ mmol.kg}^{-1}$  měl z uvedených vzorků až druhou nejvyšší antioxidační aktivitu na rozdíl od 24 hodinové extrakce, kdy měl medvědí česnek podle výsledků 3. nejnižší antioxidační aktivitu. Tento rozdíl by mohl být způsoben nedostatečným rozmělněním medvědího česneku v případě 24 hodinové extrakce. Jednotlivé cibulky téhož druhu však také mohou navzájem vykazovat rozdílnou antioxidační aktivitu v důsledku naklíčení některé z cibulek. Naopak nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje český Bjetin s průměrnými hodnotami  $14,67 \pm 0,29 \text{ mmol.kg}^{-1}$ . Ve srovnání s literaturou jsou výsledky velmi podobné. Podle S. Gorinstein, et. al. je hodnota celkové antioxidační aktivity čerstvého česneku metodou ABTS např.  $25,5 \pm 2,5 \text{ mmol.kg}^{-1}$  [50]. Hodnoty celkové antioxidační aktivity se ovšem velmi různí v závislosti na použité metodě – typ a délka extrakce, koncentrace radikálu ABTS, postup při stanovení aj. i v závislosti na jednotlivých druzích a odrůdách česneku a podmínkách jeho pěstování.

Bylo také provedeno statistické vyhodnocení výsledků jednotlivých druhů vzorků pomocí analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů), kde lze s 95% pravděpodobností tvrdit, že mezi vzorky polského Harnašu a vzorky španělského česneku a mezi stejnými vzorky měřenými dvakrát vedle sebe neexistuje statisticky významný rozdíl. Tabulka se statistickým vyhodnocením se nachází v příloze II.

### 7.1.5 Hodinová ultrazvuková extrakce lyofilizovaného česneku v metanolu

Navážka česneku byla extrahována v 10 ml metanolu.

Tabulka 16 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku

	<b>m [g]</b>	<b>A0</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
<b>Bjetin 1</b>	1,9933	0,809	0,441	0,442	0,440
<b>Bjetin 2</b>	2,0282	0,809	0,434	0,432	0,438
<b>Čínský 1</b>	2,0035	0,809	0,393	0,397	0,398
<b>Čínský 2</b>	2,0168	0,809	0,395	0,395	0,394
<b>Polský 1</b>	2,0484	0,809	0,378	0,379	0,380
<b>Polský 2</b>	2,0215	0,809	0,388	0,385	0,386
<b>Španělský 1</b>	2,003	0,809	0,379	0,372	0,378
<b>Španělský 2</b>	2,0133	0,809	0,372	0,368	0,369

Tabulka 17 – Hodnoty úbytků absorbancí u lyofilizovaného česneku

	Úbytek A1 [%]	Úbytek A2 [%]	Úbytek A3 [%]	Ø úbytek A [%]
<b>Bjetin 1</b>	45,49	45,36	45,61	45,49
<b>Bjetin 2</b>	46,35	46,60	45,86	46,27
<b>Čínský 1</b>	51,42	50,93	50,80	51,05
<b>Čínský 2</b>	51,17	51,17	51,30	51,22
<b>Polský 1</b>	53,28	53,15	53,03	53,15
<b>Polský 2</b>	52,04	52,41	52,29	52,25
<b>Španělský 1</b>	53,15	54,02	53,28	53,48
<b>Španělský 2</b>	54,02	54,51	54,39	54,31

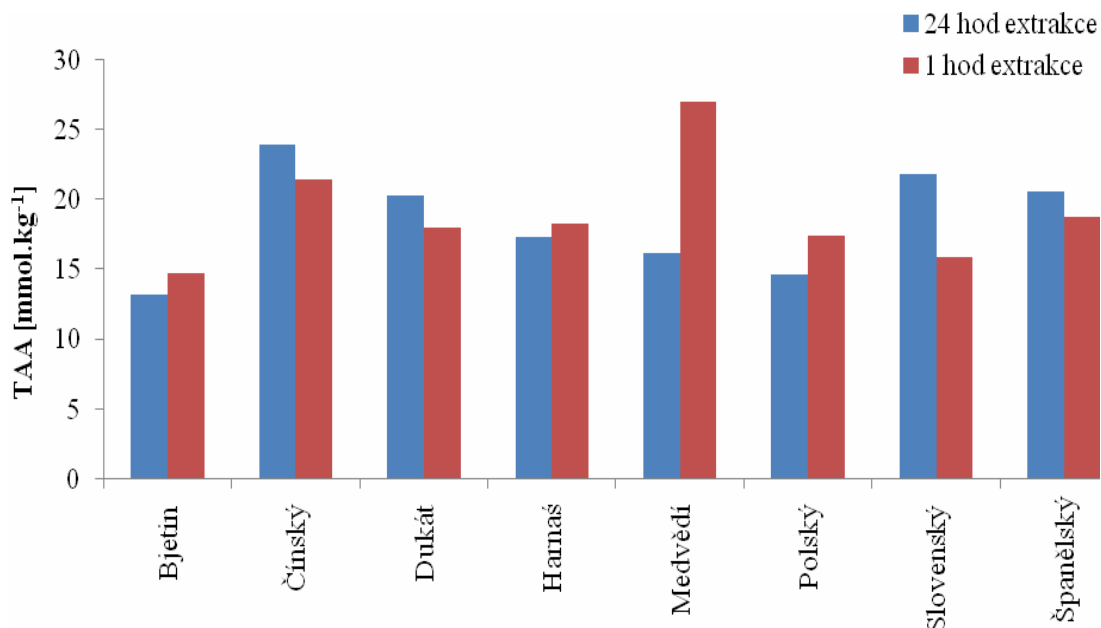
Tabulka 18 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky ABTS

	TAA 1 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 2 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 3 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	Ø TAA [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	S.D.
<b>Bjetin 1</b>	48,79	48,66	48,93	48,79	0,25
<b>Bjetin 2</b>	48,88	49,15	48,35		
<b>Čínský 1</b>	55,00	54,46	54,33	54,51	0,23
<b>Čínský 2</b>	54,37	54,37	54,51		
<b>Polský 1</b>	55,77	55,64	55,51	55,52	0,18
<b>Polský 2</b>	55,18	55,58	55,45		
<b>Španělský 1</b>	56,90	57,84	57,03	57,56	0,45
<b>Španělský 2</b>	57,55	58,08	57,95		

Hodinovou extrakcí metanolem pomocí metody ABTS byla u lyofilizovaného česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita u konzumního španělského česneku s průměrnou hodnotou  $57,56 \pm 0,45$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Hodnoty konzumního česneků polského a čínského byly v celku podobné. Naopak nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje stejně jako u 24 hodinové extrakce téže metody česká odrůda Bjetin s průměrnou hodnotou  $48,79 \pm 0,25$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Lyofilizovaný česnek má výsledné hodnoty TAA vyšší než čerstvý, což souvisí s množstvím sušiny v navážce. Ve srovnání s literaturou se výsledky mnohdy liší, protože jsou použity jiné postupy stanovení, extrakce i chemikálie. Např. Wiwat Wangcharoen [52] použil jako standard kyselinu askorbovou, extrakci prováděl ve vodě při teplotě 70 °C a více a ABTS bylo rozpouštěno v etanolu a destilované vodě 1:1. Výsledná hodnota TAA pak byla  $3,41 + 0,35$  mg standardu na gram sušiny česneku.

Bylo provedeno také statistické vyhodnocení výsledků jednotlivých druhů vzorků pomocí analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů) podle nichž lze s 95% pravděpodobností tvrdit, že mezi stejnými vzorky měřené dvakrát vedle sebe. Tabulka se statistickými daty je k nalezení v příloze II.

### 7.1.6 Srovnání extrakcí u čerstvého česneku pro metodu ABTS

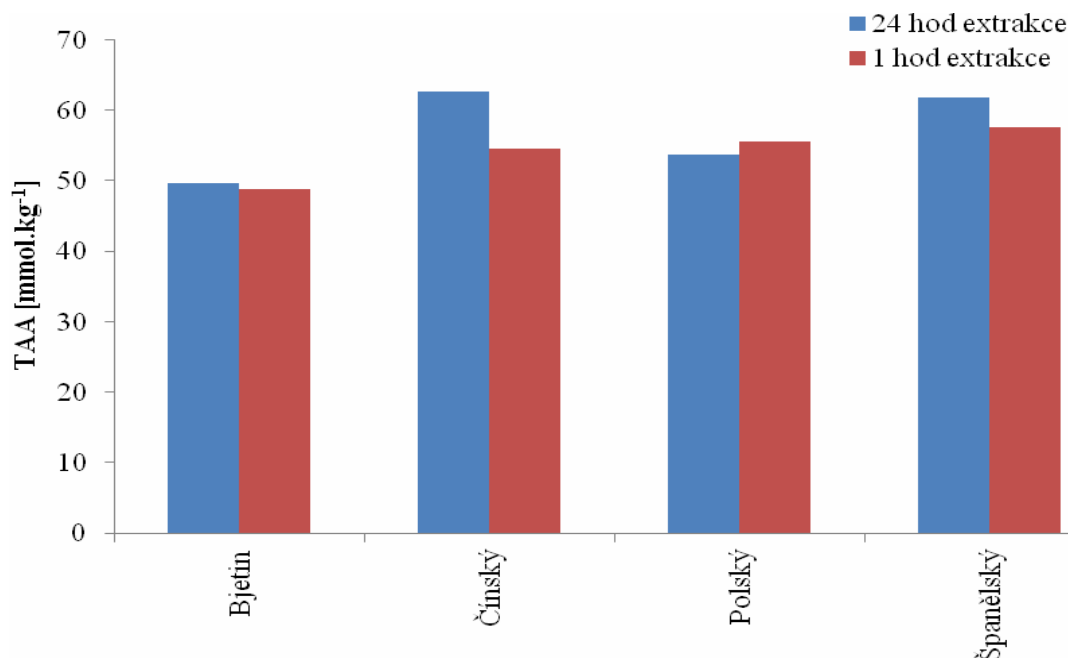


Graf 2 – Extrakce čerstvého česneku pro metodu ABTS

Z grafu lze vyčíst, že 24 hodinová extrakce byla efektivnější u vzorků čínského česneku, českého Dukátu, španělského a slovenského česneku, naopak hodinová ultrazvuková extrakce je efektivnější u vzorků českého Bjetinu, polského Harnaše, medvědího česneku a polského česneku. Celkově byla tedy výhodnější hodinová ultrazvuková extrakce.



### 7.1.7 Srovnání extrakcí u lyofilizovaného česneku pro metodu ABTS



Graf 3 – Extrakce čerstvého česneku pro metodu ABTS

Podle grafu extrakcí lyofilizovaného česneku pro metodu ABTS je efektivnější 24 hodinová extrakce metanolem, protože u všech použitých vzorků kromě polského česneku neznámé odrůdy bylo dosaženo vyšších hodnot TAA právě touto extrakcí.

## 7.2 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Pro analyzování vzorku bylo pipetováno do kádinky 450  $\mu\text{l}$  vzorku a 8,55 ml pracovního roztoku. Úbytek absorbance se měřil po 60 minutách, kdy byla směs vzorku a pracovního roztoku ponechána ve tmě. Zhášení radikálu se projevilo stejně jako u metody ABTS změnou absorpčního spektra. Absorbance byla měřena při vlnové délce 515 nm. Jako blank byl použit metanol. Z naměřených hodnot absorbancí ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ) byly vypočteny úbytky absorbancí podle vzorce:  $A = \frac{A_0 - A_n}{A_0} \cdot 100$ , kde  $A_0$  je absorbance samotné reakční směsi

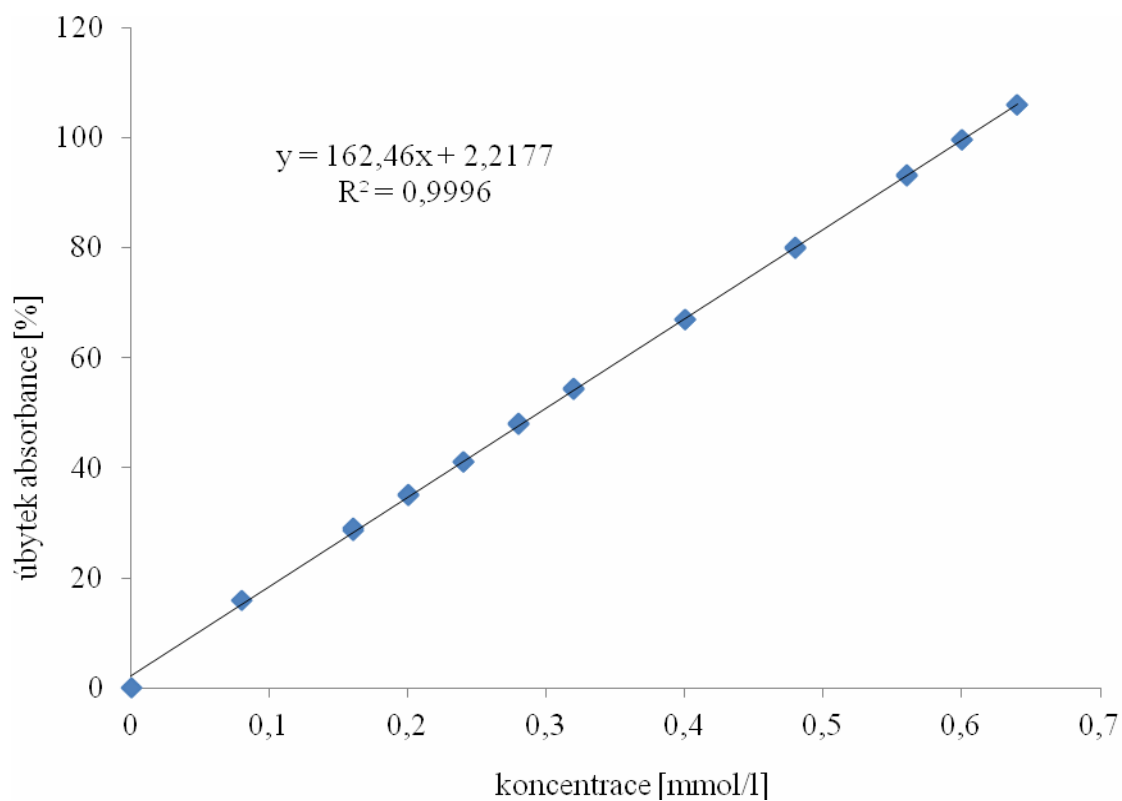
bez vzorku. Z těchto tří výpočtů byla vypočítána směrodatná odchylka, která byla dále použita pro statistické vyhodnocení. Hodnota úbytků absorbancí byla použita pro výpočet celkové antioxidační aktivity. Úbytek absorbance byl poté pomocí regresní rovnice kalibrační křivky přepočten na ekvivalentní množství troloxu na 1 kg vzorku.

### 7.2.1 Kalibrační křivka

Ze zásobního roztoku o koncentraci  $800 \text{ mg.l}^{-1}$  bylo provedeno ředění, tak aby vznikla kalibrační řada o koncentracích 40, 50, 60, 70, 80, 100, 120, 140, 150 a  $160 \text{ mg.l}^{-1}$  (což odpovídá 0,08, 0,16, 0,20, 0,24, 0,28, 0,32, 0,40, 0,48, 0,56, 0,60, 0,64  $\text{mmol.l}^{-1}$ ). Jednotlivé koncentrace byly přidávány k 8,55 ml pracovního roztoku v množství 450  $\mu\text{l}$  a po 60 minutách ponechané směsi ve tmě byly proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 515 nm. Jako blank byl použit metanol.

Tabulka 19 – Hodnoty pro kalibrační křivku troloxu při metodě DPPH

Trolox [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	Trolox [ $\text{mmol.l}^{-1}$ ]	A0	A1	A2	A3	Ø A	úbytek A [%]
0	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
20	<b>0,08</b>	1,158	1,156	1,157	1,154	1,156	<b>16,00</b>
40	<b>0,16</b>	1,158	1,010	1,011	1,008	1,010	<b>28,61</b>
40	<b>0,16</b>	1,158	1,009	1,007	0,999	1,005	<b>29,01</b>
50	<b>0,20</b>	1,158	0,935	0,933	0,931	0,933	<b>35,23</b>
50	<b>0,20</b>	1,158	0,939	0,938	0,931	0,936	<b>34,97</b>
60	<b>0,24</b>	1,158	0,864	0,865	0,867	0,865	<b>41,07</b>
60	<b>0,24</b>	1,158	0,869	0,868	0,861	0,866	<b>41,02</b>
70	<b>0,28</b>	1,158	0,789	0,787	0,782	0,786	<b>47,92</b>
70	<b>0,28</b>	1,158	0,783	0,786	0,784	0,784	<b>48,07</b>
80	<b>0,32</b>	1,158	0,710	0,711	0,713	0,711	<b>54,37</b>
80	<b>0,32</b>	1,158	0,709	0,710	0,710	0,710	<b>54,52</b>
100	<b>0,40</b>	1,158	0,563	0,567	0,566	0,565	<b>66,98</b>
100	<b>0,40</b>	1,158	0,567	0,567	0,563	0,566	<b>66,95</b>
120	<b>0,48</b>	1,158	0,411	0,411	0,419	0,414	<b>80,08</b>
120	<b>0,48</b>	1,158	0,416	0,415	0,415	0,415	<b>79,93</b>
140	<b>0,56</b>	1,158	0,262	0,263	0,262	0,262	<b>93,15</b>
140	<b>0,56</b>	1,158	0,261	0,261	0,260	0,261	<b>93,29</b>
150	<b>0,60</b>	1,158	0,189	0,184	0,188	0,187	<b>99,65</b>
150	<b>0,60</b>	1,158	0,183	0,189	0,187	0,186	<b>99,71</b>
160	<b>0,64</b>	1,158	0,112	0,114	0,112	0,113	<b>106,07</b>
160	<b>0,64</b>	1,158	0,117	0,114	0,114	0,115	<b>105,87</b>



Graf 4 – Závislost úbytku absorbance na koncentraci troloxu

### 7.2.2 24 hodinová extrakce metanolem u čerstvého česneku

Vzorek česneku byl extrahován metanolem po dobu 24 hodin v laboratorních podmínkách na tmavém místě při teplotě přibližně 24 °C. Navážka čerstvého česneku byla extrahována 20 ml metanolu.

Tabulka 20 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku

	m [g]	A0	A1	A2	A3
<b>Bjetin 1</b>	5,1381	1,105	0,893	0,896	0,894
<b>Bjetin 2</b>	4,9659	1,105	0,897	0,895	0,900
<b>Čínský 1</b>	4,9153	1,105	0,650	0,646	0,645
<b>Čínský 2</b>	5,0125	1,215	0,729	0,730	0,729
<b>Dukát 1</b>	5,0177	1,215	0,860	0,866	0,866
<b>Dukát 2</b>	5,0791	1,215	0,853	0,857	0,851
<b>Harnaš 1</b>	5,0468	1,105	0,856	0,851	0,858
<b>Harnaš 2</b>	5,2086	1,105	0,872	0,872	0,876
<b>Medvědí 1</b>	5,0800	1,105	0,813	0,814	0,811
<b>Medvědí 2</b>	5,0043	1,105	0,815	0,815	0,813
<b>Polský 1</b>	4,9974	1,105	0,841	0,846	0,840
<b>Polský 2</b>	5,0273	1,105	0,848	0,847	0,847
<b>Slovenský 1</b>	5,1028	1,215	0,737	0,740	0,739
<b>Slovenský 2</b>	5,2425	1,105	0,666	0,668	0,665
<b>Španělský 1</b>	5,1092	1,105	0,710	0,709	0,708
<b>Španělský 2</b>	5,1414	1,105	0,719	0,713	0,713

Tabulka 21 – Výpočty úbytků absorbancí u čerstvého česneku

	Úbytek A1 [%]	Úbytek A2 [%]	Úbytek A3 [%]	Ø úbytek A [%]
<b>Bjetin 1</b>	19,19	18,91	19,10	19,06
<b>Bjetin 2</b>	18,82	19,00	18,55	18,79
<b>Čínský 1</b>	41,18	41,54	41,63	41,45
<b>Čínský 2</b>	40,00	39,92	40,00	39,97
<b>Dukát 1</b>	29,22	28,72	28,72	28,89
<b>Dukát 2</b>	29,79	29,47	29,96	29,74
<b>Harnaš 1</b>	22,53	22,99	22,35	22,62
<b>Harnaš 2</b>	21,09	21,09	20,72	20,97
<b>Medvědí 1</b>	26,43	26,33	26,61	26,46
<b>Medvědí 2</b>	26,24	26,24	26,43	26,30
<b>Polský 1</b>	23,89	23,44	23,98	23,77
<b>Polský 2</b>	23,26	23,35	23,35	23,32
<b>Slovenský 1</b>	39,34	39,09	39,18	39,20
<b>Slovenský 2</b>	39,73	39,55	39,82	39,70
<b>Španělský 1</b>	35,75	35,84	35,93	35,84
<b>Španělský 2</b>	34,93	35,48	35,48	35,29

Tabulka 22 – Výpočet TAA z rovnice regrese kalibrační křivky

	TAA 1 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 2 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 3 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	Ø TAA [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	S.D.
<b>Bjetin 1</b>	0,41	0,40	0,40	0,41	0,01
<b>Bjetin 2</b>	0,41	0,42	0,40		
<b>Čínský 1</b>	0,98	0,99	0,99	0,96	0,03
<b>Čínský 2</b>	0,93	0,93	0,93		
<b>Dukát 1</b>	0,66	0,65	0,65	0,66	0,01
<b>Dukát 2</b>	0,67	0,66	0,67		
<b>Harnaš 1</b>	0,49	0,51	0,49	0,47	0,03
<b>Harnaš 2</b>	0,45	0,45	0,44		
<b>Medvědí 1</b>	0,59	0,58	0,59	0,59	0,01
<b>Medvědí 2</b>	0,59	0,59	0,60		
<b>Polský 1</b>	0,53	0,52	0,54	0,52	0,01
<b>Polský 2</b>	0,51	0,52	0,52		
<b>Slovenský 1</b>	0,90	0,89	0,89	0,89	0,01
<b>Slovenský 2</b>	0,88	0,88	0,88		
<b>Španělský 1</b>	0,81	0,81	0,81	0,80	0,01
<b>Španělský 2</b>	0,78	0,80	0,80		

24 hodinovou extrakcí metanolem pomocí metody DPPH byla u čerstvého česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita u konzumního čínského česneku s průměrnými hodnotami  $0,96 \pm 0,03$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje stejně jako u metody ABTS česká odrůda Bjetin s průměrnými hodnotami  $0,41 \pm 0,01$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Ve srovnání s literaturou jsou výsledky podobné. Y.S. Queiroz et al. uvádí úbytek absorbance u čerstvého česneku např.  $21.69 \pm 3.22$  [51] a Wiwat Wangcharoen uvádí  $0.57 \pm 0.08$  mg troloxu na g sušiny. Hodnoty celkové antioxidační aktivity v literaturách se ovšem velmi různí v závislosti na typu a délce extrakce, koncentraci radikálu, postupu při stanovení aj.

Bylo provedeno také statistické vyhodnocení výsledků jednotlivých druhů vzorků pomocí analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů). Podle těchto dat lze s 95% pravděpodobností tvrdit, že existuje statistický rozdíl mezi vzorky Bjetin – čínský česnek – Dukát, Bjetin – medvědí česnek, Bjetin – slovenský česnek, Bjetin – španělský česnek, dále mezi vzorky Harnaš – čínský česnek, Dukát – polský česnek, Dukát – španělský česnek, Harnaš – slovenský česnek, Harnaš – španělský česnek,

medvědí česnek – španělský česnek, medvědí česnek – slovenský česnek, polský česnek – slovenský česnek a polský česnek – španělský česnek. Tabulka s celým statistickým vyhodnocením se nachází v příloze II.

### 7.2.3 24 hodinová extrakce metanolem u lyofilizovaného česneku

Navážka lyofilizovaného česneku byla extrahována v 10 ml metanolu.

Tabulka 23 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku

	<b>m [g]</b>	<b>A0</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
<b>Bjetin 1</b>	2,0030	1,115	0,701	0,707	0,709
<b>Bjetin 2</b>	2,0458	1,115	0,701	0,702	0,700
<b>Čínský 1</b>	2,0013	1,115	0,602	0,609	0,603
<b>Čínský 2</b>	2,0064	1,115	0,608	0,608	0,607
<b>Polský 1</b>	2,0818	1,115	0,609	0,601	0,602
<b>Polský 2</b>	2,0704	1,115	0,607	0,606	0,602
<b>Španělský 1</b>	2,0523	1,115	0,615	0,613	0,613
<b>Španělský 2</b>	2,0528	1,115	0,617	0,611	0,605

Tabulka 24 – Výpočty úbytků absorbancí u lyofilizovaného česneku

	<b>Úbytek A1 [%]</b>	<b>Úbytek A2 [%]</b>	<b>Úbytek A3 [%]</b>	<b>Ø úbytek A [%]</b>
<b>Bjetin 1</b>	37,13	36,59	36,41	36,71
<b>Bjetin 2</b>	37,13	37,04	37,22	37,13
<b>Čínský 1</b>	46,01	45,38	45,92	45,77
<b>Čínský 2</b>	45,47	45,47	45,56	45,50
<b>Polský 1</b>	45,38	46,10	46,01	45,83
<b>Polský 2</b>	45,56	45,65	46,01	45,74
<b>Španělský 1</b>	44,84	45,02	45,02	44,96
<b>Španělský 2</b>	44,66	45,20	45,74	45,20

Tabulka 25 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky

	TAA 1 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 2 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 3 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	Ø TAA [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	S.D.
<b>Bjetin 1</b>	2,15	2,11	2,10	2,11	0,02
<b>Bjetin 2</b>	2,10	2,10	2,11		
<b>Čínský 1</b>	2,69	2,66	2,69	2,67	0,02
<b>Čínský 2</b>	2,65	2,65	2,66		
<b>Polský 1</b>	2,55	2,60	2,59	2,58	0,02
<b>Polský 2</b>	2,58	2,58	2,60		
<b>Španělský 1</b>	2,56	2,57	2,57	2,57	0,02
<b>Španělský 2</b>	2,55	2,58	2,61		

24 hodinovou extrakcí metanolem pomocí metody DPPH byla u lyofilizovaného česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita opět u konzumního čínského česneku s průměrnými hodnotami  $2,67 \pm 0,02$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje česká odrůda Bjetin s průměrnými hodnotami  $2,11 \pm 0,02$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Výsledné hodnoty jsou o poznání vyšší, než u čerstvého česneku, což je způsobeno množstvím sušiny v navázce.

Bylo provedeno také statistické vyhodnocení výsledků jednotlivých druhů vzorků pomocí analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů) podle nichž lze s 95% pravděpodobností tvrdit, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi vzorky česneku, které pochází z dovozu. To samé tvrzení platí pro stejné vzorky měřené dvakrát vedle sebe (příloha II).

#### 7.2.4 Hodinová extrakce čerstvého česneku v metanolu

Vzorek čerstvého i lyofilizovaného česneku byl extrahován metanolem po dobu jedné hodiny v ultrazvukové lázni při teplotě přibližně 40 °C. Navázka česneku byla extrahována ve 25 ml metanolu.

Tabulka 26 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku

	m [g]	A0	A1	A2	A3
<b>Bjetin 1</b>	4,7303	1,215	0,992	0,999	0,990
<b>Bjetin 2</b>	4,7003	1,215	0,999	0,998	0,999
<b>Čínský 1</b>	4,9561	1,195	0,777	0,770	0,773
<b>Čínský 2</b>	5,1117	1,195	0,784	0,786	0,786
<b>Dukát 1</b>	5,0116	1,215	0,891	0,893	0,893
<b>Dukát 2</b>	5,0528	1,215	0,907	0,912	0,910
<b>Harnaš 1</b>	5,0644	1,215	0,886	0,889	0,887
<b>Harnaš 2</b>	5,0094	1,215	0,894	0,894	0,899
<b>Medvědí 1</b>	5,0994	1,215	0,959	0,961	0,959
<b>Medvědí 2</b>	4,9980	1,215	0,961	0,963	0,963
<b>Polský 1</b>	5,0054	1,063	0,730	0,733	0,729
<b>Polský 2</b>	5,0373	1,063	0,728	0,725	0,729
<b>Slovenský 1</b>	5,0541	1,063	0,723	0,720	0,725
<b>Slovenský 2</b>	5,0799	1,063	0,720	0,719	0,719
<b>Španělský 1</b>	5,0626	1,063	0,735	0,738	0,739
<b>Španělský 2</b>	5,0449	1,063	0,729	0,725	0,726

Tabulka 27 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u čerstvého česneku

	Úbytek A1 [%]	Úbytek A2 [%]	Úbytek A3 [%]	Ø úbytek A [%]
<b>Bjetin 1</b>	18,35	17,78	18,52	18,22
<b>Bjetin 2</b>	17,78	17,86	17,78	17,81
<b>Čínský 1</b>	34,98	35,56	35,31	35,29
<b>Čínský 2</b>	34,39	34,23	34,23	34,28
<b>Dukát 1</b>	26,67	26,50	26,50	26,56
<b>Dukát 2</b>	25,35	24,94	25,10	25,13
<b>Harnaš 1</b>	27,08	26,83	27,00	26,97
<b>Harnaš 2</b>	26,42	26,42	26,01	26,28
<b>Medvědí 1</b>	21,07	20,91	21,07	21,02
<b>Medvědí 2</b>	20,91	20,74	20,74	20,80
<b>Polský 1</b>	31,33	31,04	31,42	31,26
<b>Polský 2</b>	31,51	31,80	31,42	31,58
<b>Slovenský 1</b>	31,98	32,27	31,80	32,02
<b>Slovenský 2</b>	32,27	32,36	32,36	32,33
<b>Španělský 1</b>	30,86	30,57	30,48	30,64
<b>Španělský 2</b>	31,42	31,80	31,70	31,64



Tabulka 28 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky

	TAA 1 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 2 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 3 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	Ø TAA [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	S.D.
<b>Bjetin 1</b>	0,42	0,40	0,42	0,41	0,01
<b>Bjetin 2</b>	0,41	0,41	0,41		
<b>Čínský 1</b>	0,81	0,83	0,82	0,80	0,03
<b>Čínský 2</b>	0,77	0,77	0,77		
<b>Dukát 1</b>	0,60	0,60	0,60	0,58	0,02
<b>Dukát 2</b>	0,56	0,55	0,56		
<b>Harnaš 1</b>	0,60	0,60	0,60	0,59	0,01
<b>Harnaš 2</b>	0,59	0,59	0,58		
<b>Medvědí 1</b>	0,45	0,45	0,45	0,46	0,01
<b>Medvědí 2</b>	0,46	0,46	0,46		
<b>Polský 1</b>	0,72	0,71	0,72	0,72	0,00
<b>Polský 2</b>	0,72	0,72	0,71		
<b>Slovenský 1</b>	0,73	0,73	0,72	0,73	0,00
<b>Slovenský 2</b>	0,73	0,73	0,73		
<b>Španělský 1</b>	0,70	0,69	0,69	0,71	0,01
<b>Španělský 2</b>	0,71	0,72	0,72		

Pomocí metody DPPH a hodinovou extrakcí vzorků česneku s metanolem byla u čerstvého česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita u konzumního čínského česneku s průměrnými hodnotami  $0,80 \pm 0,03$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje český Bjetin s průměrnými hodnotami  $0,41 \pm 0,01$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Medvědí česnek má druhou nejnižší celkovou antioxidační aktivitu s průměrnými hodnotami  $0,46 \pm 0,01$  mmol.kg<sup>-1</sup>. Nízká hodnota TAA u medvědího česneku podle výsledků této práce je ojedinělá a může být způsobena nedostatečným vyextrahováním vzorku v důsledku špatného rozmělnění.

Bylo provedeno také statistické vyhodnocení výsledků jednotlivých druhů vzorků pomocí analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů) podle nichž lze tvrdit, že s 95% pravděpodobností existují statisticky významné rozdíly mezi vzorky Bjetin – čínský česnek - Harnaš, Bjetin – polský česnek, Bjetin – slovenský česnek, Bjetin – španělský česnek, čínský česnek – Dukát a čínský česnek – medvědí česnek – Harnaš. Všechny údaje statistického vyhodnocení jsou v příloze II.

## 7.2.5 Hodinová extrakce lyofilizovaného česneku v metanolu

Tabulka 29 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku

	m [g]	A0	A1	A2	A3
Bjetin 1	2,0846	1,117	0,427	0,423	0,423
Bjetin 2	2,0236	1,117	0,423	0,429	0,426
Čínský 1	1,9966	1,117	0,408	0,407	0,409
Čínský 2	2,0174	1,117	0,409	0,406	0,407
Polský 1	2,0136	1,117	0,433	0,427	0,433
Polský 2	2,0551	1,117	0,442	0,445	0,443
Španělský 1	2,0052	1,117	0,440	0,443	0,439
Španělský 2	2,0370	1,117	0,436	0,436	0,432

Tabulka 30 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u lyofilizovaného česneku

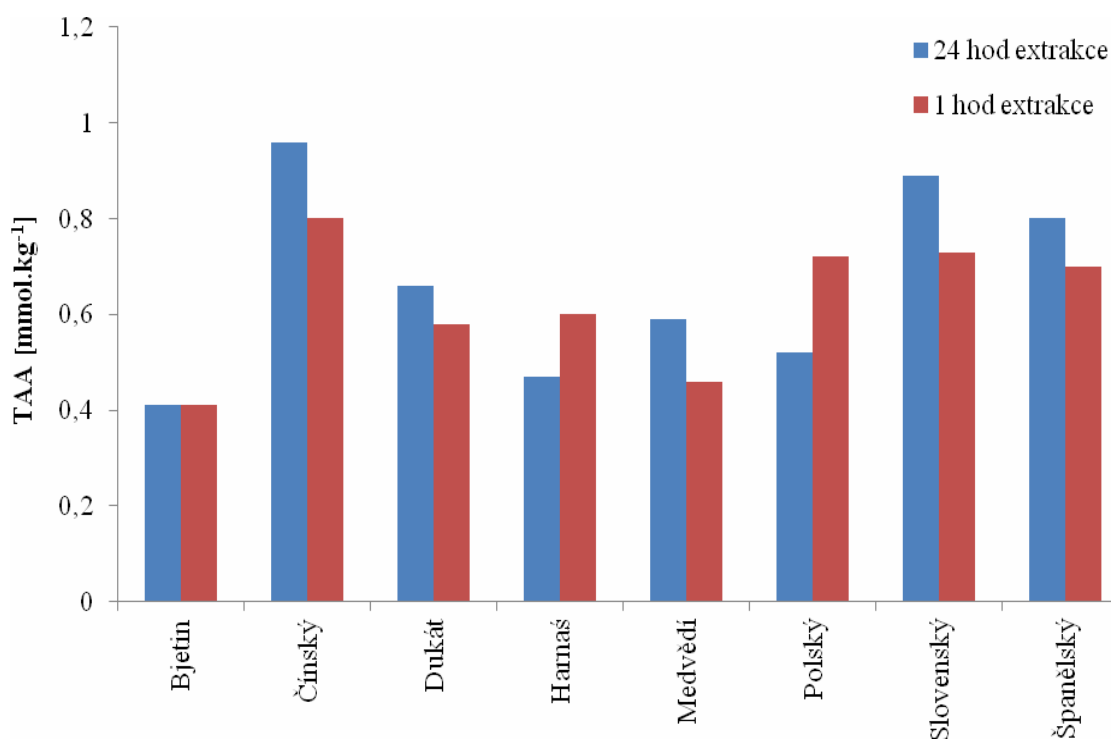
	Úbytek A1 [%]	Úbytek A2 [%]	Úbytek A3 [%]	Ø úbytek A [%]
Bjetin 1	61,77	62,13	62,13	62,01
Bjetin 2	62,13	61,59	61,86	61,86
Čínský 1	63,47	63,56	63,38	63,47
Čínský 2	63,38	63,65	63,56	63,53
Polský 1	61,24	61,77	61,24	61,41
Polský 2	60,43	60,16	60,34	60,31
Španělský 1	60,61	60,34	60,70	60,55
Španělský 2	60,97	60,97	61,32	61,09

Tabulka 31 – Výpočet TAA z rovnice regrese kalibrační křivky

	TAA 1 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 2 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	TAA 3 [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	Ø TAA [mmol.kg <sup>-1</sup> ]	S.D.
Bjetin 1	3,52	3,54	3,54	3,58	0,05
Bjetin 2	3,65	3,62	3,63		
Čínský 1	3,78	3,79	3,77	3,76	0,02
Čínský 2	3,74	3,75	3,75		
Polský 1	3,61	3,64	3,61	3,55	0,07
Polský 2	3,49	3,47	3,48		
Španělský 1	3,59	3,57	3,59	3,57	0,02
Španělský 2	3,55	3,55	3,57		

Při použití hodinové extrakce metanolem pomocí metody DPPH byla u lyofilizovaného česneku zjištěna nejvyšší celková antioxidační aktivita opět u konzumního čínskému česneku s průměrnými hodnotami  $3,76 \pm 0,02 \text{ mmol.kg}^{-1}$ . Nejnižší celkovou antioxidační aktivitu vykazuje česnek polský s průměrnou hodnotou  $3,55 \pm 0,07 \text{ mmol.kg}^{-1}$ , ale hodnoty českého i španělského česneku jsou velmi podobné a s 95% pravděpodobností mezi nimi neexistuje statisticky významný rozdíl. Jednotlivé výsledky statistického vyhodnocení podle analýzy jednosměrných dat na hladině významnosti 0,05 (srovnání 2 nezávislých souborů) jsou uvedeny v příloze II.

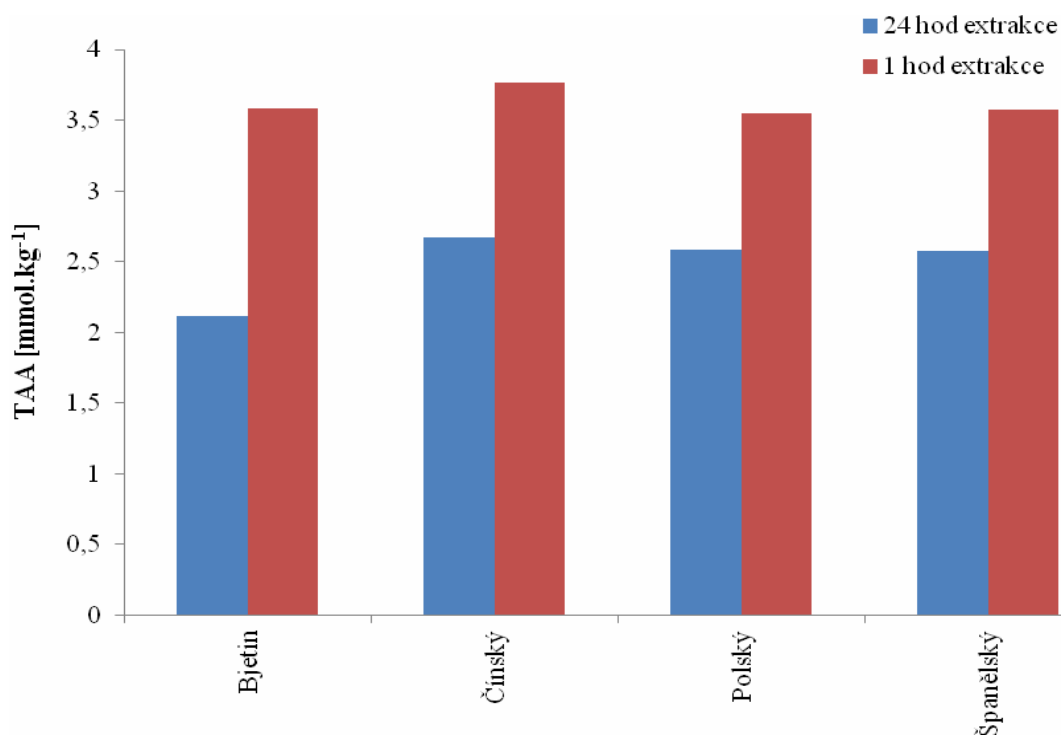
### 7.2.6 Srovnání extrakcí u čerstvého česneku pro metodu DPPH



Graf 5 – Extrakce vzorků čerstvého česneku pro metodu DPPH

24 hodinovou extrakcí čerstvého česneku bylo dosaženo vyšších hodnot TAA u vzorků čínskému česneku, českého Dukátu, medvědího česneku slovenského a španělského česneku neznámé odrůdy. Naopak hodinová ultrazvuková extrakce zde byla efektivnější u českého Bjetinu, polského Harnaše, a polského česneku neznámé odrůdy. V tomto případě byla výhodnější použití 24 hodinové extrakce.

## 7.2.7 Srovnání extrakcí u lyofilizovaného česneku pro metodu DPPH



Graf 6 – Extrakce lyofilizovaného česneku pro metodu DPPH

Z grafu je patrné, že byla pro metodu DPPH jednoznačně efektivnější hodinová ultrazvuková extrakce, protože u všech uvedených vzorků bylo dosaženo vyšších hodnot TAA než při použití 24 hodinové extrakce metanolem.

## ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo stanovení antioxidační aktivity v čerstvém a lyofilizovaném česneku. Pro měření byly použity čerstvé vzorky konzumních neodrudových česneků – polský, čínský, španělský, slovenský, a odrudových česneků – polský Harnaš, český Dukát, Bjetin a lyofilizované vzorky konzumních neodrudových česneků – španělský, čínský, polský a odrudový český Bjetin.

Pro stanovení antioxidační aktivity byly použity metody ABTS a DPPH při použití extrakce vzorků metanolem. Extrakce byly zvoleny jako 24 hodinová při pokojové teplotě a hodinová v ultrazvuku při teplotě kolem 40 °C. Samotné měření probíhalo spektrofotometricky na spektrofotometru Libra (příloha I).

Pomocí metody ABTS a použitím 24 hodinové extrakce česneku metanolem byla zjištěna nejvyšší hodnota TAA u čínského česneku. Při použití hodinové ultrazvukové extrakce pomocí téže metody vykazoval nejvyšší hodnoty medvědí česnek a až druhé nejvyšší hodnoty čínský česnek. Metodou DPPH při 24 hodinové i hodinové extrakci česneku metanolem dosahoval nejvyšších výsledků opět čínský česnek. Hodnoty TAA lyofilizovaného česneku zjištěné pomocí metody ABTS u 24 hodinové extrakce byly nejvyšší opět u česneku čínského, stejně tak při použití metody DPPH v případě obou typů extrakce. Pouze u hodinové ultrazvukové extrakce metody ABTS vykazoval nejvyšší hodnoty česnek španělský, ale čínský česnek měl hodnoty druhé nejvyšší. V obou extrakcích, u obou metod, u lyofilizovaného i čerstvého česneku vykazovala nejnižší antioxidační aktivitu česká odrůda Bjetin.

U metody ABTS byly hodnoty antioxidační aktivity několikanásobně vyšší, protože radikálový kationt ABTS reaguje s lipofilními i hydrofilními antioxidanty, kdežto radikál DPPH reaguje pouze s donory vodíku a s některými fenolickými látkami vůbec nereaguje. Metoda ABTS je tedy efektivnější. U metody ABTS se zdá být efektivnější použití 24 hodinové extrakce, kdežto u metody DPPH hodinová ultrazvuková extrakce.

Česnek dovezený z jiných zemí vykazoval celkově větší antioxidační aktivitu než česnek, který byl vypěstovaný na území České republiky a který je považován za jeden z nejkvalitnějších na světě. Lze se i domnívat, že chemické látky, kterými je často dovozený česnek ošetřován proti klíčení a plesnivění, mohou vykazovat antioxidační aktivitu. Také je vše otázkou zralosti, sklizně, technologického ošetření, skladování, apod.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] CABÁLKOVÁ, I. *Antioxidační účinky ovoce a zeleniny*. Brno, 2007. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně, Fakulta lékařská. Vedoucí bakalářské práce Danuše Lefnerová
- [2] CARMIA, B., Antioxidant Health Effects of Aged Garlic Extract, *American Society for Nutritional Sciences*. [online] 2001, [cit. 2013-01-14]. Dostupné z: <http://nutricore.com.br/app/webroot/img/bibliotecas/Efeitos%20Antioxdantes%20do%20extrato%20de%20alho%20envelhecido.pdf>
- [3] MARTINKOVÁ, Z. *Stanovení antioxidační aktivity fenolických látek v pivu*. Pardubice, 2009. Bakalářská práce. Univerzita Padubice, Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí bakalářské práce Lenka Česlová. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10195/34585>
- [4] VEČEŘOVÁ, E. *Využití rostlin z čeledi česnekovitých ve výživě*, Brno, 2010. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí bakalářské práce Jan Šimůnek
- [5] KODOVSKÁ, B. *Fytoncidy v česneku*. Zlín, 2011. Bakalářská práce. UTB Zlín, Fakulta technologická. Vedoucí bakalářské práce Daniela Sumczynski
- [6] KONVIČKA, O. *Česnek (Allium sativum L.)*, Olomouc 1998, ISBN: 80-238-1928-3
- [7] KOZÁK, J. *Šlechtění česneku: Odrůdy česneku*. [online] 2013. [cit. 2013-02-22]. Dostupné na: <http://www.k-cesnek.cz/>
- [8] *Odrůdy českého česneku*. [online] 2012. Cesneky.cz [cit. 2013-02-23]. Dostupné z: <http://www.cesneky.cz/odrudy.html#tantal>
- [9] DRYÁK, K. *Česnek: Pěstované odrůdy*. [online] 2012. Farma Dryák. [cit. 2013-02-23]. Dostupné z: <http://www.farmadryak.cz/cesnek/pestovane-odrudy-2>

- [10] KNFEL, L. *Czosnek – dochodowe warzywo*. [online] 1998-2013. Plantpress Sp. [cit. 2013-02-23]. Dostupné z: <http://www.ogroinfo.pl/warzywapolowe/czosnek-dochodowe-warzywo/2>
- [11] OMAR, S., H. Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer, *Saudi Pharmaceutical Journal*. [online] 2010, 18(1) [cit. 2013-01-14]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S131901640900058>
- [12] PUTHANAPURA M. CHANDRASHEKAR. Isolation, structural elucidation and immunomodulatory activity of fructans from aged garlic extra. *Phytochemistry*. [online] 2011, 72. s. 255–264 [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://www.ajbasweb.com/ajbas/2011/October-2011/453-462.pdf>
- [13] HUMPLOVÁ, L. *Antioxidanty v potravinách*. Zlín, 2009. Bakalářská práce. UTB Zlín, Fakulta technologická. Vedoucí bakalářské práce Pavel Hanuštiak
- [14] PARKÁNYIOVÁ, J., PARKÁNYIOVÁ, L., POKORNÝ, J. *Rostliny jako zdroje přírodních antioxidantů*. Praha, 2003. VŠCHT Praha. Dostupné z: [www.vitamins.cz/archiv/2003/doc/p/P\\_30C.doc](http://www.vitamins.cz/archiv/2003/doc/p/P_30C.doc).
- [15] Kyolic.com: Transformation of Sulfur Compounds in Garlic. [online] 2010 [cit. 2013-02-11]. Dostupné z: <http://www.kyolic.com/research/truth-about-garlic/transformation-of-sulfur-compounds-in-garlic/>
- [16] MUHAMMAD, S. A. Aged garlic extract and S-allyl cysteine prevent formation of advanced glycation endproducts. *European Journal of Pharmacology*. [online] 2007, 561(32-38) [cit. 2013-04-04]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17321518>
- [17] COLÍN-GONZÁLEZ, A. L., The Antioxidant Mechanisms Underlying the Aged Garlic Extract- and S-Allylcysteine-Induced Protection. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. [online] 2012. [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/oximed/2012/907162/cta/>

- [18] The free chemicals database (ChemSpider) [online databáze]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2013 [cit. 2013-02-11]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21375384.html>
- [19] SEKI, Taichihiro. Anticancer effects of diallyl trisulfide derived from garlic. *Asia Pac J Clin Nutr.* [online]. 2008, 17(1) [cit. 2013-02-11]. Dostupné z: <http://apjcn.nhri.org.tw/server/apjcn/Volume17/vol17suppl.1/249-252S14-4.pdf>
- [20] The Wonder of Garlic: New natural extract for treating MRSA. [online] 2005 [cit. 2013-01-16]. Dostupné z: [http://www.hyscience.com/archives/2005/06/the\\_wonder\\_of\\_g.php](http://www.hyscience.com/archives/2005/06/the_wonder_of_g.php)
- [21] CABRELE, CH. *Garlic or viagra.* [online] 2008. Solvo. [cit. 2013-02-11]. Dostupné z: <http://www.chemistry-in-context.com/articles/0092/index4.html>
- [22] HOHNOVÁ, B. *Studium přírodních látek obsažených ve vybraných bylinách a méně obvyklých druzích drobného ovoce.* Brno, 2010. Disertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí disertační práce Jiřina Omelková
- [23] MANDELOVÁ, L. *Antimutagenní aktivita obsahových látek v ovoci a zelenině.* Brno, 2006, Disertační práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Školitel disertační práce Jiří Totušek
- [24] SINGH, K., V., Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum* L.), *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences.* [online] 2008. 10, s. 6 - 26. [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: [http://www.journaldatabase.org/articles/pharmacological\\_effects\\_garlic\\_allium.html](http://www.journaldatabase.org/articles/pharmacological_effects_garlic_allium.html)
- [25] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin II.*, OSSIS 2009, ISBN: 978-80-86659-16-9



- [26] BUTT, S. M. SULTAN, T. M. Garlic: Nature's Protection Against Physiological Threats, *Food Science and Nutrition*. [online] 2009. 49 (10), s. 538 - 551. [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://missclasses.com/mp3s/Prize%20CD%202010/Garlic/protection.pdf>
- [27] JONES, M., G., Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic, *Journal of Experimental Botany*, 55 (404) , s. 1904 - 1915, 2004
- [28] SIES, Helmut. Physiological society symposium: impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress: oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experitnental Physiology*[online]. 1997, č. 82, s. 291-295 [cit. 2013-01-16]. Dostupné z: <http://ep.physoc.org/content/82/2/291.long>
- [29] FOJTÍKOVÁ, Hana. *Antioxidační sloučeniny řas*. Zlín, 2010. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Ladislava Mišurcová.
- [30] HAVELKOVÁ, E., *Nutrigenomika při studiu lidských genetických poruch*, [online] Brno, 2010. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně, Fakulta přírodovědecká. Vedoucí práce Jana Řepková. [cit. 2013-03-24]. Dostupné na: [http://is.muni.cz/th/258859-/prif\\_b/Bakalarska\\_prace.txt](http://is.muni.cz/th/258859-/prif_b/Bakalarska_prace.txt)
- [31] AMBROŽOVÁ, Gabriela. *Vliv vysoce nenasycených mastných kyselin a jejich metabolitů na fyziologické funkce profesionálních fagocytů*. [online]. Brno, 2008. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Fakulta přírodovědecká. Vedoucí diplomové práce Antonín Lojek. [cit. 2013-03-24]. Dostupné z: [http://is.muni.cz/th/106838/prif\\_m/DIPLOMKA.GABA.cela.proIS.pdf](http://is.muni.cz/th/106838/prif_m/DIPLOMKA.GABA.cela.proIS.pdf)
- [32] ŠTÍPEK, Stanislav. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. 1.vydání. Praha: Grada, 2000. Grada. ISBN 80-7169-704-4
- [33] GALLOVÁ, Lucie. *Modulace funkční aktivity fagocytů látkami s prozánětlivými, protizánětlivými a antioxidačními účinky*. Brno, 2006. Disertační. Masarykova univerzita v Brně, Fakulta přírodovědecká. Vedoucí práce Antonín Lojek

- [34] PLÁTENÍK, Jan. *Reaktivní formy kyslíku v lidském těle – Antioxidační ochrana* [online]. 2009 [cit. 2013-01-15]. Dostupné z: [http://che1.lf1.cuni.cz/html/ROS\\_CZE\\_081209b.pdf](http://che1.lf1.cuni.cz/html/ROS_CZE_081209b.pdf)
- [35] PETŘIVALSKÝ, Marek. *Reaktivní formy kyslíku a dusíku ve vývoji a stresových odpovědích rostlin*. [online]. Olomouc, 2012. Habilitační práce. Univerzita Palackého. [cit. 2013-02-21]. Dostupné z: [http://www.prf.upol.cz/fileadmin/user\\_upload/PrFdokumenty/Vedecka\\_rada/Habilitace\\_a\\_profesury/ukon\\_hab\\_prof/Petrivalsky\\_Marek/Petrivalsky\\_Habilitacni\\_prace\\_final.pdf](http://www.prf.upol.cz/fileadmin/user_upload/PrFdokumenty/Vedecka_rada/Habilitace_a_profesury/ukon_hab_prof/Petrivalsky_Marek/Petrivalsky_Habilitacni_prace_final.pdf)
- [36] Základní reaktivní formy kyslíku a dusíku. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2013-01-16]. Dostupné z: [http://www.wikiskripta.eu/index.php/Z%C3%A1kladn%C3%AD\\_reaktivn%C3%AD\\_formy\\_kysl%C3%ADku\\_a\\_dus%C3%ADku](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Z%C3%A1kladn%C3%AD_reaktivn%C3%AD_formy_kysl%C3%ADku_a_dus%C3%ADku)
- [37] KUFOVÁ, G. *Možnosti využití ABTS v oblasti cereálních technologií*. Bakalářská práce. Zlín 2010. UTB Zlín, Fakulta technologická. Vedoucí práce Daniela Sumczynski
- [38] JANČOVÁ, V. *Význam a použití DPPH v oblasti cereálií*. Bakalářská práce. Zlín 2010, UTB Zlín, Fakulta technologická. Vedoucí bakalářské práce Daniela Sumczynsky
- [39] POKORA, P. *Měření antioxidační aktivity a polyfenolických sloučenin ve vybraných hybridech meruněk*. Brno, 2011. Středoškolská odborná činnost. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Jiří Sochor
- [40] KŘÍŽENECKÁ, S. *Základy analytické chemie*. [online]. Brno, 2010. [cit. 2013-02-20]. Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, Fakulta životního prostředí. Dostupné na: <http://www.sos-veseli.cz/download/zach.pdf>
- [41] SLÁDKOVÁ, K., *Hmotnostní spektrometrie klastrů a nanomateriálů*. Brno, 2010. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Fakulta přírodovědecká. Vedoucí diplomové práce Jiří Havel

- [42] KLÍMA, J., *Spektroskopie EPR a její využití při studiu mechanismů*. [online]. [cit. 2013-02-21]. Dostupné na: <http://lynette.natur.cuni.cz/stepanek/vyuka/EPR.pdf>
- [43] KOPŘIVA, V., *Antioxidační kapacita potravin*, doplňkový studijní materiál. [online]. VFU, Brno 2011. [cit. 2013-03-15]. Dostupné na: <http://cit.vfu.cz/iv-bp/wp-content/uploads/2011/07-/ANTIOXIDA%C4%8CN%C3%8D-KAPACITA-POTRAVIN.pdf>
- [44] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*, 2004, č. 98, 174 – 179
- [45] DAYAN, N. *Skin Aging Handbook - An Integrated Approach to Biochemistry and Product Development*. William Andrew Publishing, 2008, ISBN 978-0-8155-1979-9
- [46] PRAKASH, A. Antioxidant aktivity, Analytical Progress, *Medallion Laboratories*. [online]. 2001, [cit. 2013-04-04]. Dostupné na: [http://www.medlabs.com/downloads/antiox\\_acti\\_.pdf](http://www.medlabs.com/downloads/antiox_acti_.pdf)
- [47] MITUROVÁ, V. *Antioxidanty syntetické a přírodní*. Zlín, 2009. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Soňa Škrovánková
- [48] VEJRAŽKA, M. Spectrophotometer. [online]. Wikipedia, 2012. [cit. 2013-02-20]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Spektrofotometr.jpg>
- [49] Fisher Scientific [online]. Fisher Scientific s.r.o., 2012. [cit. 2013-02-20]. Dostupné z : <http://www.thermofisher.cz/produkty/spektrofotometr-libra-s6-vis>
- [50] S. GORINSTEIN, et. al. Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol fed-rats, *Life Science*. [online] 2006. 78, str. 655-663. [cit. 2013-04-23]. Dostupné na: <http://bashanfoundation.org/shela/shela-boiledgarlic.pdf>

- [51] Y.S. QUEIROZ et al. Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to-eat garlic products: In vitro antioxidant activity. *Food Chemistry*. [online] 2009. 115, str. 371–374. [cit. 2013-04-14]. Dostupné na: <http://missclasses.com/mp3s/Prize%20CD%20-2010/Previous%20years/Garlic/garlic%20products%20and%20storage.pdf>
- [52] WANGCHAROEN, W. Effect of heat treatment on the antioxidant capacity of garlic. *Maejo International Journal of Science and Technology*. [online] 2009. 3(01), str. 60 – 70. [cit. 2013-04-14]. Dostupné na: <http://pdfcast.org/pdf/effect-of-heat-treatment-on-the-antioxidant-capacity-of-garlic>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ABTS 2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina).

ATP Adenzin trifosfát.

DPPH 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl.

FRAP Ferric Reduction Antioxidant Power.

ORAC Oxygen Radical Absorbance Capacity

PAL *Fenylalaninamoniumlyáza*

RNS Reactive Nitrogen Species

ROS Reactive Oxygen Species

TAA Total Antioxidant Activity

TPTZ pyridyl-1,3,5-triazin.

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 - <i>Allium sativum</i> (celá rostlina, cibule a květenství) [5].....	14
Obrázek 2 – Vybrané druhy českého česneku [7].....	19
Obrázek 3 – Vybrané odrůdy českého česneku [7,9].....	19
Obrázek 4 – Harnaš [10] .....	20
Obrázek 5 – Transformace sirných sloučenin v česneku [15] .....	22
Obrázek 6 – Vznik SAC [5].....	23
Obrázek 7 – Předpokládaný vznik ajoenu [21].....	24
Obrázek 8 – Flavonový skelet.....	24
Obrázek 9 – Obecná struktura flavonoidních látek [22].....	25
Obrázek 10 – Oxidace kyseliny askorbové.....	26
Obrázek 11 – Syntéza allicinu [5].....	27
Obrázek 12 – Oxidace jednoho elektronu ABTS [37].....	37
Obrázek 13 – Uspořádání spektrofotometru [48] .....	82
Obrázek 14 – Spektrofotometr (Libra S6) [49].....	82

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 – Taxonomické zařazení <i>Allium sativum</i> .....	13
Tabulka 2 – Průměrné nutriční hodnoty syrového česneku [5] .....	21
Tabulka 3 – Aminokyseliny v česneku (Podle Parthasarathi, K.) [6] .....	29
Tabulka 4 – Reaktivní formy kyslíku [33] .....	32
Tabulka 5 – Reaktivní formy dusíku [31] .....	33
Tabulka 6 – Hodnoty pro kalibrační křivku ABTS .....	47
Tabulka 7 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku .....	48
Tabulka 8 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u čerstvého česneku .....	49
Tabulka 9 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky .....	49
Tabulka 10 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku .....	50
Tabulka 11 – Vypočtené hodnoty úbytku absorbancí u lyofilizovaného česneku .....	51
Tabulka 12 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky .....	51
Tabulka 13 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku .....	52
Tabulka 14 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u čerstvého česneku .....	53
Tabulka 15 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky .....	53
Tabulka 16 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku .....	54
Tabulka 17 – Hodnoty úbytků absorbancí u lyofilizovaného česneku .....	55
Tabulka 18 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky ABTS .....	55
Tabulka 19 – Hodnoty pro kalibrační křivku troloxu při metodě DPPH .....	58
Tabulka 20 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku .....	60
Tabulka 21 – Výpočty úbytků absorbancí u čerstvého česneku .....	60
Tabulka 22 – Výpočet TAA z rovnice regrese kalibrační křivky .....	61
Tabulka 23 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku .....	62
Tabulka 24 – Výpočty úbytků absorbancí u lyofilizovaného česneku .....	62
Tabulka 25 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky .....	63
Tabulka 26 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků čerstvého česneku .....	64
Tabulka 27 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u čerstvého česneku .....	64
Tabulka 28 – Výpočty TAA z rovnice regrese kalibrační křivky .....	65
Tabulka 29 – Naměřené hodnoty absorbancí vzorků lyofilizovaného česneku .....	66
Tabulka 30 – Vypočtené hodnoty úbytků absorbancí u lyofilizovaného česneku .....	66
Tabulka 31 – Výpočet TAA z rovnice regrese kalibrační křivky .....	66

**SEZNAM GRAFŮ**

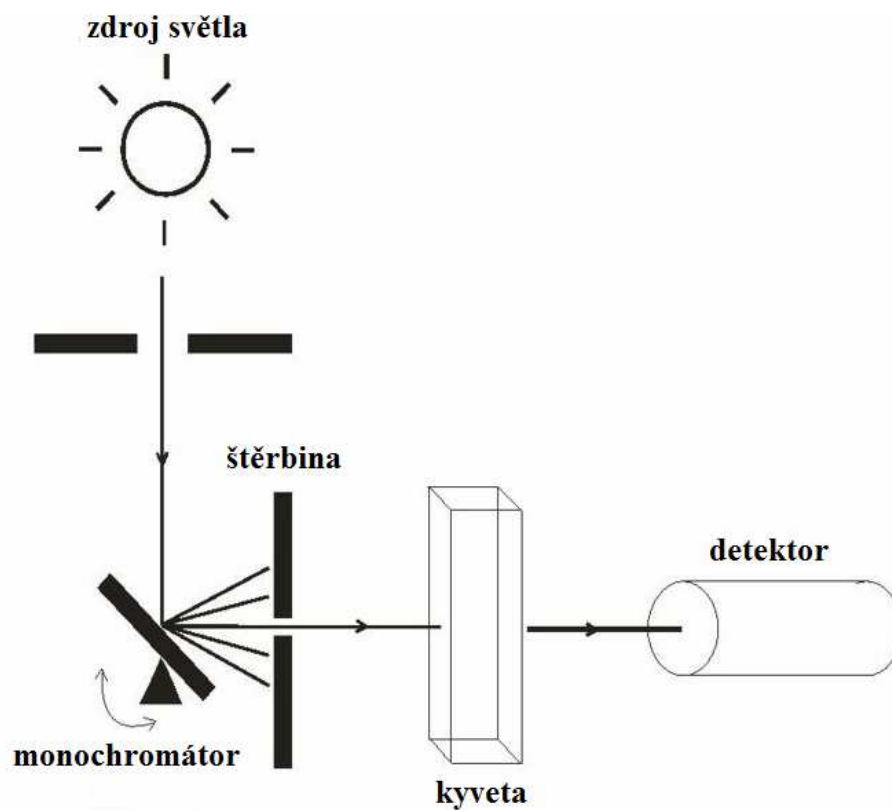
Graf 1 – Závislost úbytku absorbance na koncentraci troloxu.....	47
Graf 2 – Extrakce čerstvého česneku pro metodu ABTS .....	56
Graf 3 – Extrakce čerstvého česneku pro metodu ABTS .....	57
Graf 4 – Závislost úbytku absorbance na koncentraci troloxu.....	59
Graf 5 – Extrakce vzorků čerstvého česneku pro metodu DPPH.....	67
Graf 6 – Extrakce lyofilizovaného česneku pro metodu DPPH.....	68



## SEZNAM PŘÍLOH

PI .....	Spektrofotometr
PII .....	Statistické vyhodnocení – analýza jednosměrných dat

## PŘÍLOHA P I: SPEKTROFOTOMETR



Obrázek 13 – Uspořádání spektrofotometru [48]



Obrázek 14 – Spektrofotometr (Libra S6) [49]

## Příloha P II: Statistické vyhodnocení – analýza jednosměrných dat

### ABTS - čerstvý česnek (P < 0,05)

24 hodinová extrakce	
Bjetin 1	13,0475 ± 0,2148 <sup>d</sup>
Bjetin 2	13,3643 ± 0,2166 <sup>d</sup>
Čínský 1	23,9791 ± 0,0480 <sup>b</sup>
Čínský 2	23,9024 ± 0,0000 <sup>b</sup>
Dukát 1	20,2409 ± 0,2062 <sup>a</sup>
Dukát 2	20,3115 ± 0,2066 <sup>a</sup>
Harnaš 1	17,2508 ± 0,1611 <sup>c</sup>
Harnaš 2	17,2698 ± 0,1091 <sup>c</sup>
Medvědí 1	16,2064 ± 0,1868 <sup>g</sup>
Medvědí 2	16,1168 ± 0,2104 <sup>g</sup>
Polský 1	14,6121 ± 0,2296 <sup>f</sup>
Polský 2	14,6363 ± 0,2094 <sup>f</sup>
Slovenský 1	21,9487 ± 0,2295 <sup>e</sup>
Slovenský 2	21,6339 ± 0,1194 <sup>e</sup>
Španělský 1	20,4662 ± 0,2450 <sup>a</sup>
Španělský 2	20,7253 ± 0,2194 <sup>a</sup>

Hodinová extrakce	
Bjetin 1	14,4535 ± 0,0000 <sup>d</sup>
Bjetin 2	14,8924 ± 0,2729 <sup>de</sup>
Čínský 1	21,0306 ± 0,2260 <sup>a</sup>
Čínský 2	21,8488 ± 0,3903 <sup>a</sup>
Dukát 1	18,1020 ± 0,1088 <sup>bc</sup>
Dukát 2	17,7781 ± 0,4867 <sup>bg</sup>
Harnaš 1	18,6607 ± 0,2242 <sup>c</sup>
Harnaš 2	17,9321 ± 0,1257 <sup>cg</sup>
Medvědí 1	27,1337 ± 0,1761 <sup>h</sup>
Medvědí 2	26,8332 ± 0,0000 <sup>h</sup>
Polský 1	17,1204 ± 0,0630 <sup>g</sup>
Polský 2	17,7526 ± 0,3326 <sup>cg</sup>
Slovenský 1	15,9267 ± 0,1677 <sup>ef</sup>
Slovenský 2	15,7764 ± 0,0630 <sup>f</sup>
Španělský 1	18,7073 ± 0,2830 <sup>c</sup>
Španělský 2	18,7304 ± 0,1667 <sup>c</sup>

### ABTS – lyofilizovaný česnek (P < 0,05)

24 hodinová extrakce	
Bjetin 1	49,7474 ± 0,4127 <sup>b</sup>
Bjetin 2	49,3817 ± 0,2440 <sup>b</sup>
Čínský 1	62,8866 ± 0,0000 <sup>a</sup>
Čínský 2	62,5565 ± 0,1150 <sup>a</sup>
Polský 1	53,3579 ± 0,4277 <sup>d</sup>
Polský 2	53,8836 ± 0,4095 <sup>d</sup>
Španělský 1	61,7502 ± 0,4771 <sup>c</sup>
Španělský 2	61,9223 ± 0,3969 <sup>ac</sup>

Hodinová extrakce	
Bjetin 1	48,7929 ± 0,1104 <sup>b</sup>
Bjetin 2	48,7949 ± 0,3315 <sup>b</sup>
Čínský 1	54,5980 ± 0,2906 <sup>a</sup>
Čínský 2	54,4161 ± 0,0630 <sup>a</sup>
Polský 1	55,6379 ± 0,1074 <sup>d</sup>
Polský 2	55,4006 ± 0,1663 <sup>ad</sup>
Španělský 1	57,2579 ± 0,4159 <sup>c</sup>
Španělský 2	57,8574 ± 0,2275 <sup>c</sup>

**DPPH – čerstvý česnek (P < 0,05)**

24 hodinová extrakce	
Bjetin 1	0,4029 ± 0,0027 <sup>c</sup>
Bjetin 2	0,4101 ± 0,0046 <sup>ce</sup>
Čínský 1	0,9827 ± 0,0049 <sup>b</sup>
Čínský 2	0,9273 ± 0,0010 <sup>b</sup>
Dukát 1	0,6540 ± 0,0057 <sup>a</sup>
Dukát 2	0,6667 ± 0,0050 <sup>a</sup>
Harnas 1	0,4971 ± 0,0065 <sup>ace</sup>
Harnas 2	0,4424 ± 0,0040 <sup>ce</sup>
Medvědí 1	0,5869 ± 0,0027 <sup>af</sup>
Medvědí 2	0,5921 ± 0,0021 <sup>af</sup>
Polský 1	0,5303 ± 0,0059 <sup>ace</sup>
Polský 2	0,5161 ± 0,0010 <sup>ef</sup>
Slovenský 1	0,8924 ± 0,0025 <sup>bd</sup>
Slovenský 2	0,8802 ± 0,0027 <sup>bd</sup>
Španělský 1	0,8100 ± 0,0018 <sup>d</sup>
Španělský 2	0,7919 ± 0,0061 <sup>d</sup>

Hodinová extrakce	
Bjetin 1	0,4155 ± 0,0083 <sup>c</sup>
Bjetin 2	0,4073 ± 0,0010 <sup>c</sup>
Čínský 1	0,8213 ± 0,0060 <sup>a</sup>
Čínský 2	0,7721 ± 0,0019 <sup>a</sup>
Dukát 1	0,5974 ± 0,0019 <sup>bd</sup>
Dukát 2	0,5577 ± 0,0041 <sup>bc</sup>
Harnas 1	0,6012 ± 0,0025 <sup>bd</sup>
Harnas 2	0,5909 ± 0,0048 <sup>bd</sup>
Medvědí 1	0,4531 ± 0,0019 <sup>ce</sup>
Medvědí 2	0,4569 ± 0,0019 <sup>ce</sup>
Polský 1	0,7141 ± 0,0039 <sup>ab</sup>
Polský 2	0,7173 ± 0,0039 <sup>ab</sup>
Slovenský 1	0,7256 ± 0,0047 <sup>ad</sup>
Slovenský 2	0,7295 ± 0,0011 <sup>a</sup>
Španělský 1	0,6908 ± 0,0039 <sup>ab</sup>
Španělský 2	0,7177 ± 0,0039 <sup>ad</sup>

**DPPH – lyofilizovaný česnek (P < 0,05)**

24 hodinová extrakce	
Bjetin 1	2,1199 ± 0,0188 <sup>a</sup>
Bjetin 2	2,1008 ± 0,0044 <sup>a</sup>
Čínský 1	2,6799 ± 0,0171 <sup>b</sup>
Čínský 2	2,6565 ± 0,0026 <sup>b</sup>
Polský 1	2,5798 ± 0,0189 <sup>b</sup>
Polský 2	2,5887 ± 0,0115 <sup>b</sup>
Španělský 1	2,5648 ± 0,0051 <sup>b</sup>
Španělský 2	2,5785 ± 0,0264 <sup>b</sup>

Hodinová extrakce	
Bjetin 1	3,5336 ± 0,0100 <sup>a</sup>
Bjetin 2	3,6310 ± 0,0134 <sup>ab</sup>
Čínský 1	3,7797 ± 0,0045 <sup>b</sup>
Čínský 2	3,7443 ± 0,0068 <sup>bc</sup>
Polský 1	3,6216 ± 0,0155 <sup>ab</sup>
Polský 2	3,4823 ± 0,0067 <sup>a</sup>
Španělský 1	3,5836 ± 0,0094 <sup>ac</sup>
Španělský 2	3,5602 ± 0,0102 <sup>a</sup>