

Hodnocení antioxidační aktivity vybraných druhů koření

Bc. Jana Bělunková

Diplomová práce
2014



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Jana Bělunková
Osobní číslo: T12690
Studijní program: N2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin
Forma studia: kombinovaná

Téma práce: Hodnocení antioxidační aktivity vybraných druhů koření

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika vybraných druhů koření, složení, vlastnosti, využití
2. Popis antioxidantů, zdroje
3. Analytické metody pro stanovení antioxidační aktivity a polyfenolických látek

II. Praktická část

1. Stanovení antioxidační aktivity vybraných druhů koření metodou DPPH
2. Určení hodnoty IC50 ve vybraných vzorcích koření
3. Stanovení celkového obsahu polyfenolů v koření spektrofotometricky

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin I. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-00-3.
2. ZLOCH, Z., J. ČELÁKOVSKÝ a A. AUJEZDSKÁ. Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu. Plzeň: ÚHLF UK, 2004.
3. KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. Analýza potravin. Brno: MZLU, 2007. ISBN 978-80-7375-036-7.
4. BUŘIČOVÁ, Lucie a Zuzana RÉBLOVÁ. Czech medical plants as possible sources of anti-oxidants, Czech J. Food Sci. 2008, roč. 26, č. 2, s. 132-138.
5. WOJDYLO, A., J. Oszmianski a R. Czerny. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry. 2007, roč. 105, č. 3, s. 940-949.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

10. února 2014

Termín odevzdání diplomové práce:

2. května 2014

Ve Zlíně dne 11. února 2014


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: BĚLUNKOVÁ JANA

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

Ve Zlíně 2.5.2014

Bělunková Jana

²⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

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

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

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

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

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

³⁾ 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 přihlíží k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V teoretické části práce jsou charakterizovány vybrané druhy koření – anýz, fenykl, hřebíček, kmín, majoránka, muškátový ořech a květ, nové koření a skořice. Dále jsou popsány antioxidanty, volné radikály, metody stanovení antioxidační aktivity a celkového obsahu polyfenolů. V praktické části jsou uvedeny výsledky stanovení sušiny, antioxidační aktivity koření metodou DPPH, hodnot IC_{50} a výsledky spektrometrického stanovení obsahu celkových polyfenolů vybraných druhů koření.

Klíčová slova: koření, antioxidační aktivita, IC_{50} , polyfenoly

ABSTRACT

In the theoretical part of the thesis the selected spices, aniseed, fennel, cloves, cumin, marjoram, nutmeg and flower, allspice and cinnamon, are characterized. Further, antioxidants, free radicals, methods for the antioxidant activity and total polyphenol content determination are described. In the practical part the results of the evaluation of dry matter content, antioxidant activity of spices by DPPH method, IC_{50} values and total polyphenols content by spectrometric method in selected spices are presented.

Keywords: spices, antioxidant activity, IC_{50} , polyphenols

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce Ing. Soni Škrovánkové Ph.D. za odborné rady, výbornou spolupráci, důležité připomínky a velkou trpělivost při tvorbě diplomové práce. Děkuji také paní laborantce Lence Škubalové za pomoc při práci v laboratořích.

„Zdraví je nejdůležitější kvalita těla“.

Aristoteles ze Stageiry

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 KOŘENÍ	12
1.1 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ KOŘENÍ	12
1.1.1 Anýz	12
1.1.2 Fenykl.....	13
1.1.3 Hřebíček	14
1.1.4 Kmín.....	15
1.1.5 Majoránka	17
1.1.6 Muškátový ořech a muškátový květ.....	18
1.1.7 Nové koření	19
1.1.8 Skořice.....	20
2 ANTIOXIDANTY	22
2.1 VOLNÉ RADIKÁLY	23
2.2 ZDROJE ANTIOXIDANTŮ.....	24
3 ANYLYTICKÉ METODY STANOVENÍ ÚČINKU ANTIOXIDANTŮ	27
3.1 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	27
3.2 STANOVENÍ POLYFENOLŮ	30
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	33
5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE	34
5.1 VZORKY KOŘENÍ	34
5.2 POUŽITÉ POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	36
5.3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	36
6 METODIKA STANOVENÍ	37
6.1 STANOVENÍ OBSAHU VLHKOSTI, SUŠINY KOŘENÍ	37
6.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	38
6.2.1 Příprava extraktu pro zjištění antioxidační aktivity	38
6.2.2 Měření antioxidační aktivity koření metodou DPPH.....	38
6.2.3 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity	39
6.3 URČENÍ HODNOTY IC ₅₀	39
6.4 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ SPEKTROFOTOMETRICKY	40
6.4.1 Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů	40
7 VÝSLEDKY A DISKUSE	42
7.1 STANOVENÍ SUŠINY	42
7.2 VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	43
7.2.1 Kalibrační křivka kyseliny askorbové.....	44
7.2.2 Výsledky antioxidační aktivity koření metodou DPPH	45
7.3 URČENÍ HODNOTY IC ₅₀ VE VYBRANÝCH VZORCÍCH KOŘENÍ	48
7.3.1 Hodnota IC ₅₀ nového koření	48
7.3.2 Hodnota IC ₅₀ kmínu	52
7.3.3 Hodnota IC ₅₀ skořice.....	60

7.3.4	Hodnota IC ₅₀ majoránky	63
7.3.5	Hodnota IC ₅₀ muškátového ořechu	67
7.3.6	Hodnota IC ₅₀ fenyklu	69
7.3.7	Hodnota IC ₅₀ anýzu	72
7.3.8	Hodnota IC ₅₀ hřebíčku	75
7.3.9	Porovnání výsledků hodnot IC ₅₀	78
7.4	VÝSLEDKY MĚŘENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ	79
7.4.1	Kalibrační křivka kyseliny gallové	80
7.4.2	Stanovení celkového obsahu polyfenolů v kořeni spektrofotometricky	81
ZÁVĚR		85
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		87
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		92
SEZNAM OBRÁZKŮ		93
SEZNAM TABULEK.....		95

ÚVOD

Koření může být definováno jako části rostlin (plody, listy, kořeny, nať, květy, semena, kůra), které se přidávají do potravin, k ovlivnění a zvýraznění chuti, vůně a u některých druhů koření i k ovlivnění barvy potravin, čímž se podpoří celkový estetický vzhled. Koření se řadí mezi pochutiny, protože energetická a výživová hodnota je vlivem používaného malého množství prakticky nulová.

Koření není důležité jen z pohledu kulinářského, ale využití nachází i v průmyslu farmaceutickém a kosmetickém, kvůli svým farmakologickým, antioxidačním a konzervačním účinkům.

K významným složkám koření patří antioxidanty. Jsou to látky, které jsou schopny zabránit oxidaci organických molekul a potlačit tak škodlivé účinky volných radikálů. Volné radikály jsou chemicky velmi aktivní a snadno se vážou na jiné molekuly a oxidují je. Tím dochází ke zhoršení kvality potravin. Tomu se dá zabránit použitím antioxidantů, které prodlužují údržnost potravin.

Přírodní zdroje antioxidantů se nachází v zeleném a černém čaji, ve víně, kávě, luštěninách, kakau, ovoci, zelenině, a také v různých druzích koření (např. v hřebíčku, skořici, majoránce, v novém koření aj.). Je proto důležité zjišťovat antioxidační účinek různých rostlinných surovin a produktů, které obsahují antioxidanty. Antioxidační aktivita se zjišťuje pomocí různých metod. K nejznámějším patří stanovení antioxidační aktivity pomocí radikálu DPPH, která je považována za jednu ze základních metod. Antioxidační aktivitu lze také zjistit pomocí metody ABTS, ORAC, FRAP aj. Další významnou metodou pro zjištění přítomnosti antioxidantů je určení obsahu polyfenolů. Polyfenoly patří mezi přírodní antioxidační látky. Ke stanovení polyfenolů se využívá metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem nebo metoda HPLC.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOŘENÍ

Kořením se nazývají části rostlin, mezi které patří plody (anýz, fenykl, kmín, muškátový květ, muškátový ořech, nové koření), semena, listy (majoránka), kořeny, nať, květy (hřebíček), oddenky, kůra (skořice). Užívá se k ovlivnění chuti, vůně a u některých druhů koření i barvy potravin, čímž podpoří celkový estetický vzhled. Koření se řadí mezi pochutiny (společně s kávou, čaji, oříšky aj.) [1, 2, 3].

K významným účinkům koření se řadí farmakologické, antioxidační a konzervační účinky. Podporuje vylučování trávicích šťáv, což umožňuje lepší stravitelnost potravin a vstřebávání živin. Naopak některé druhy koření (např. muškátový ořech a květ) obsahují dráždivé i toxické látky, je to ale otázkou správného dávkování. Koření se běžně využívá v malém množství, proto se nežádoucí účinky nemohou projevit. Obsahem muškátového ořechu a květu jsou myristicin a jiné látky, vyvolávající nevolnost, zvracení, bolesti hlavy nebo halucinace [1, 2].

Složení koření se liší podle druhu. Koření může obsahovat silice (převážně terpenové uhlovodíky, alkoholy, ketony, aldehydy, estery aj.), fenoly, barviva (karotenoidy), alkaloidy, sloučeniny síry, organické kyseliny, vitamíny (A, B, C, kyselina listová, foláty), minerální prvky (Ca, Mg, Na, K, P), n-6 mastné kyseliny, bílkoviny, sacharidy, tuky (oleje). Koření tedy obsahuje přírodní přídatné látky, které jsou v poslední době více vyhledávané, místo syntetických [1, 3, 4].

1.1 Charakteristika vybraných druhů koření

V následujících kapitolách budou uvedeny druhy koření, které byly analyzovány v praktické části. Mezi koření, které je pěstované v České republice se řadí anýz, fenykl, a kmín [4].

1.1.1 Anýz

Jako koření se mohou využít plody z byliny jménem anýz vonný (*Pimpinella anisum*) (Obr. 1). Plody jsou suché oválné nažky, zelené šedé až žluto hnědé. Anýz je kořením s lahodně sladkou, lékořicovou chutí a s výrazným aromatem. Plody obsahují silici (1,5–

6 %) s hlavními složkami – trans-anethol (80–90 %), methylchavikol, isoanethol, anisaldehyd [2, 4, 5, 6].

Anýz se používá ve sladké a pikantní kuchyni, v kořeněných jídlech. K aromatizaci masa, klobás, luncheon meatu, ryb, sýrů, moučnicků, chleba, cukrovinek (anýzová semínka v cukru), moštů, dresinků. Přidává se do nakládaných okurek a červené řepy. Dodává chuť omáčkám a koláčům. Přidává se do řady nápojů (řecké ouzo, likér anýzovka, sambuca, francouzský pastis, pernod, zelená káva) [2, 4, 5, 7].



Obr. 1. Anýz [8, 9]

Anýz se používá nejen v kuchyni, ale i v jiných odvětvích. Škytavku vyléčíme rozžvýkáním semen anýzu. Anýz se užívá při nachlazení, rýmě. Může způsobit podráždění žaludku. Působí tak jako přírodní projímadlo a používá se také proti plynatosti. Olej ze semen se přidává do bonbonů nebo sirupů proti kašli. Používá se i v mýdlech či parfémeh, do pleťových masek nebo k osvěžení dechu [2, 4, 5, 10].

Semena anýzu se mohou požívat jako návnada do pastí na myši [10].

1.1.2 Fenykl

Koření fenyklu se získává z byliny fenyklu obecného (*Foeniculum vulgare*) (Obr. 2). Plody jsou suché zralé dvojnažky, které jsou protáhlé a hnědozelené. Pěstovat se mohou dva typy fenyklu – fenykl hořký a fenykl sladký. Vůně se podobá anýzu, chuť je příjemně hořko-

sladká. Plody obsahují silici (1–6 %) s hlavními složkami – trans-anethol (50 %), fenchon, limonen, α -fellandren, α -pinen, myrcen [2, 4, 5, 11].

V kuchyni se využívá v kombinaci s rybami – např. makrela, losos a sled'. Používá se do mletého masa, uzenin, salátů, polévek. Fenykl se může nacházet v chlebu, v sušenkách a koláčích. Z nápojů je nejznámější fenyklový čaj [2, 5, 11].



Obr. 2. Fenykl [12, 13]

Fenykl má i zdravotní účinky. Působí proti nadýmání, nevolnostem, křečím, astmatu, revmatu, bolesti zubů a uší. Podporuje tvorbu mléka při kojení. Zlepšuje zrak a kašel, zmírňuje záněty. Olej z fenyklu se přidává do mýdel, parfémů, pleťových vod a do léků na kašel [5, 14, 15].

Fenykl uctívali Anglosasové, jako posvátnou rostlinu. Věřili, že jim pomůže bojovat se zlem. Ve starém Římě se fenyklovými věnci oceňovali vítězové gladiátorských zápasů [10].

1.1.3 Hřebíček

Jako koření se mohou použít nerozvitá květní poupata, květ, listy, větvičky, silice ze stromu hřebíčkovce vonného (*Syzygium aromaticum*) (Obr. 3). Poupata se sbírají před rozkvetem a suší se na slunci. Při sušení se mění barva pupat ze žluté (nezralé) na tmavě červenohnědou. Suchá poupata mají silně aromatické, dřevité, sladce pronikavé a lehce svíravé aroma. Poupata obsahují silici (5–20 %) s hlavními složkami – eugenol (70–90 %), euge-

nyl acetát, β -karyofyllen, α - a β -humulen, benzyldehyd. Dále se v hřebíčku nachází třísloviny, vitamíny C, E, A a minerální látky (Ca, Mn, K, Mg) [2, 4, 15].

V kuchyni se používá do omáček, ve kterých se dusí zvěřina, drůbež, ryby. Využívá se v uzenářství, likérnictví, při nakládání hub a zeleniny. Přidává se do kečupů, dresinků, červeného zelí a je ozdobou pečené šunky. Může se nacházet v koláčích, pudincích, pernicích a ve vánočním cukroví. Hojně se připravuje spolu s jablky [2, 5].



Obr. 3. Hřebíček [16, 17]

Využívá se i hřebíčkový olej, jehož hlavní složkou je eugenol. Eugenol brání tvorbě zánětů na sliznicích. Olej je vyrobený destilací listů, stonků a pupat. Olej se používá jako dezinfekční a konzervační prostředek. Využití oleje je i k léčení žaludeční nevolnosti a špatného zažívání. Olejem se čistí optické nástroje a přidává se i do kosmetiky. Hřebíček mírní bolesti, nadýmání a koliky. Používá se při bolestech zubů, proto se nachází v ústních vodách či v zubních pastách. Působí proti střevním parazitům a zvyšuje cirkulaci krve [2, 5, 18].

Hřebíčkovce je poměrně vysoký strom, pro umožnění sběru pupat se kolem stromu musí stavět lešení [6].

1.1.4 Kmín

Koření kmínu jsou plody z byliny kmínu kořenného (*Carum carvi*) (Obr. 4, vlevo a Obr. 5). Plody jsou suché zralé dvojnažky, s hnědou barvou. Vůně kmínu připomíná sladkou, pepřnou vůni. Chuť je podobná fenyklu a anýzu, je lehce eukalyptová, později nahořklá.

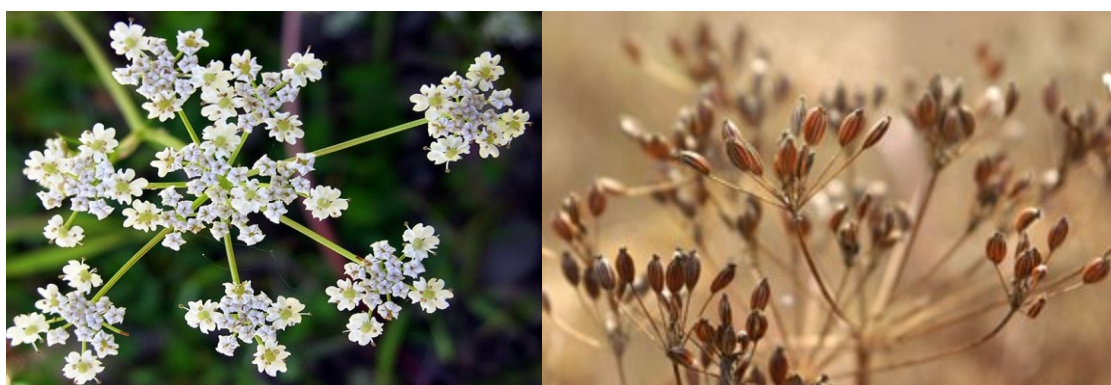
Plody obsahují silici (3–7,5 %), s hlavními složkami – d-karvon (50–85 %), limonen, karveol, dihydrokarveol, sabinen. Dále obsahuje vitamín C, β -karoten, α -tokoferol a minerální látky – Ca, K, Mg, P [2, 4, 5, 19].

V kuchyni se objevuje velice často – v pikantních a sladkých jídlech, v mase, uzeninách, v kyselém zelí, guláši, v bramborových a sýrových jídlech, v pekárenských výrobcích, v polévkách, ale i v nápojích – likér kummel, akvarit, gin. Přidává se k pokrmům z hub ke zvýšení jejich stravitelnosti. Při vaření zelí se kmín přidává do vody, a tím se zmírní mírný zápach [2, 5, 10].

Využití nachází i v parfémeh, v přípravcích ke kloktání, k vyplachování z úst. Kmín podporuje trávení, odstraňuje křeče a je proti nadýmání [20].



Obr. 4. Kmín kořenný a kmín římský [21]



Obr. 5. Kmín kořenný [4, 22]

Kmín kořenný si drží postavení významné plodiny českého zemědělství i exportní komodity. Důkazem je získání ochranného označení původu pro produkt „ČESKÝ KMÍN“ [4].

Kmín římský (Obr. 4, vpravo) jsou plody z byliny *Cuminum cyminum*. Plody jsou suché zralé dvounažky. Má ostrou, hořkou a kořenou chuť. S teplým lehce citronovým aroma. Často se používá s koriandrem, kdy je hořkost potlačena. Po pražení za sucha dostává příjemnou ořechovou chuť. Nažky obsahují silici (2,5–4,5 %) s hlavními složkami – kuminaldehyd (33 %), β -pinen, terpinen, p-cymen, kuminylalkohol, β -farnesen. Kmín římský se hojně využívá v asijské kuchyni do luštěnin, masových jídel a omáček. Používá se jako protistresový prostředek, snižuje krevní tlak [4, 5].

1.1.5 Majoránka

Jako majoránku lze označit celé snítky nebo drhnuté lístky byliny majoránky zahradní (*Origanum majorana*) (Obr. 6). Majoránka obsahuje kyselinu kávovou, eugenol, vitamín E, β -karoten, riboflavin, minerální látky – draslík, vápník, fosfor, železo. Přidává se do polévek, brambor, omáček a uzenin. Majoránka zjemňuje zeleninová jídla, saláty. Spolu s pepřem tvoří nejdůležitější zabijačkové koření. Položí-li se nať na žhavé uhlí při grilování masa, dodá masu příchut' a vůni [2, 17, 19].



Obr. 6. Majoránka [23, 24]

Z majoránky se připravuje čaj, který pomáhá v léčbě poruch zažívání, odstraňuje křeče, pomáhá při únavě a bolestech hlavy. Čaj také podporuje tvorbu žaludečních šťáv a tvorbu žluči. Majoránka se hodí zejména k tučným pokrmům (husa, sádlo), protože podporuje

trávení. Z majoránky lze připravit dezinfekční hojivé koupele. Silice se využívají v kosmetice [2, 18].

1.1.6 Muškátový ořech a muškátový květ

Muškatový ořech (Obr. 6, vpravo) a muškátový květ (Obr. 6, vlevo) jsou produkty tropického stromu muškátovníku vonného (*Myristica fragrans*) (Obr. 6, uprostřed). Muškátovník obsahuje plody, které v době zralosti pukají a odhalují semeno – muškátový ořech, který má tmavě hnědou někdy až našedlou barvu. Muškátový ořech je krytý světle hnědočerveným míškem (obalem) – muškátovým květem. Muškátový květ i ořech pochází ze stejného stromu, mají ale trochu jinou chuť a vůni. Obě koření sice voní sladce a silně aromaticky, ale muškátový ořech je sladší, než muškátový květ [2, 5, 6].

Ořech i květ obsahují silici (6,5–16 %). Mezi hlavní složky ořechové silice mohou být zařazeny sabinen (15–50 %), α -pinen, β -pinen, myrcen, myristicin, limonen. Dále jsou obsaženy minerální látky (K, Mg, P), tuk (tzv. muškátovníkové máslo), saponiny, steroly, škroby, pektiny. Silice muškátového květu obsahuje téměř stejné složky jako ořechová silice. Květ dále obsahuje vitamín C [2, 4, 5].



Obr. 7. Muškátový ořech a květ [16, 25, 26].

Muškatový květ se přidává k pikantním jídlům, k ochucení mléčných omáček a hojně se využívá při zpracování uzenin. Přidává se do pokrmů z ryb, ke konzervovaným krevetám, k vejším a nakládané pikantní zelenině [5].

Muškatový ořech může být doplňkem nápojů – vaječný likér, horké mléčné nápoje. Využívá se do náplní těstovin, do rajské omáčky, sýrové omáčky, do rizota, nebo do bramborové kaše. Přidává se k masu, uzeninám, k paštikám, k zelenině. Muškátový ořech je kořením perníků, čokolád, koláčů, pudinků, keksů a ovocných jídel [2, 27, 28].

Muškatový ořech i květ povzbuzují chuť k jídlu, podporují trávení, odstraňují křeče. Využívají se proti nadýmání a revmatu. V asijské medicíně je muškátový ořech používán proti horečkám a zvracení. Mohou se používat jako afrodiziakum. Nesmí se konzumovat větší množství, mohou vznikat halucinogenní stavy a úzkosti. Ořech i květ může působit toxicky, a to při dávce vyšší než 5g. Muškátový olej se přidává do mastí a parfémů, je přísadou solí do koupele, a také se může využívat pro aromaterapii [2, 5, 15].

1.1.7 Nové koření

Jako nové koření lze označit plody stromu pimentovníku pravého (*Pimenta dioica*) (Obr. 8). Plody se sbírají jako zelené, nezralé a suší se do doby, kdy mají tmavě hnědou barvu. Plody mají velmi komplexní vůni. Vůně a chuť se přirovnává k více složkám. Mají štiplavé aroma po hřebíčku s květinovými podtóny po skořici, muškátovém ořechu, dokonce některým voní i po pepři. Pro potřebu v kuchyni je nejlépe kupovat nové koření celé a mlít jej podle potřeby, protože nové koření má hodně pronikavou chuť, ale brzy ztratí ostrost. Plody obsahují silici (1,5–5 %) s hlavními složkami – eugenol, methyleugenol, 1,8-cineol, α -fellandren, humulon, terpinolen. Dále plody obsahují třísloviny, α -tokoferol [4, 5].



Obr. 8. Nové koření [29, 30]

V kuchyni se využívá do pudinků, cukroví, koláčů, do konzerv. Přidává se do omáček, marinád, polévek. Používá se k úpravě masa a uzenin. Často jej najdeme v jídlech ze sledů a v nápojích – svařené víno, likér Chartreuse, jamajský dram [5].

Využití je i v kosmetickém průmyslu (parfémy, zubní pasty, pleťové vody), nebo se nachází v léčích proti plynatosti. Užívá se proti bolesti zubů, kloubů a svalů [5].

Listy pimentovníku jsou dlouhé přes 1 metr [30].

1.1.8 Skořice

Jako skořice se používá kůra z dřeviny skořicovníku – rod *Cinnamomum* (Obr. 9). Nejpoužívanější je skořicovník čínský (*Cinnamomum cassia*) a skořicovník cejlonský (*Cinnamomum verum*). Skořicová kůra má tvar srolovaných tyčinek. Čínská kůra je silnější, barvy tmavě hnědé s hrubším povrchem. Cejlonská kůra je tenčí, barvy světle hnědé a má jemný povrch. Chuť je sladká a teplá, vůně je exotická a sladká. Kůra obsahuje silici a mezi hlavní složky silice patří skořicový aldehyd a eugenol. Dále kůra obsahuje Ca, K, Mg, Mn, Fe, vitamín C, α -tokoferol [4, 5, 19].

V kuchyni se přidává do dušených jídel, koláčů, jogurtů, k ořechům, cukroví, k nakládání ovoce, do kořeněných vín, sirupů, punčů a k ovonění čajů. V některých zemích se přidává do čokolády [4, 5].



Obr. 9. Skořice [16, 31]

Skořice je prostředek proti nadýmání, průjmům a proti žaludečním potížím. Zlepšuje cirkulaci krve a používá se při nachlazení. Podává se ženám jako sedativum při porodu. Skořice

je užitečná při léčbě cukrovky. Z listů skořice se extrahuje olej, ten slouží jako náhrada za hřebíčkový olej, nebo se přidává do parfémů [4, 5, 15].

Skořici, aby měla co nejlepší chuť, je důležité skladovat v temnu a v chladu ve vzduchotěsné nádobě. Skořicovník je statný strom, vysoký až 15 metrů [5].

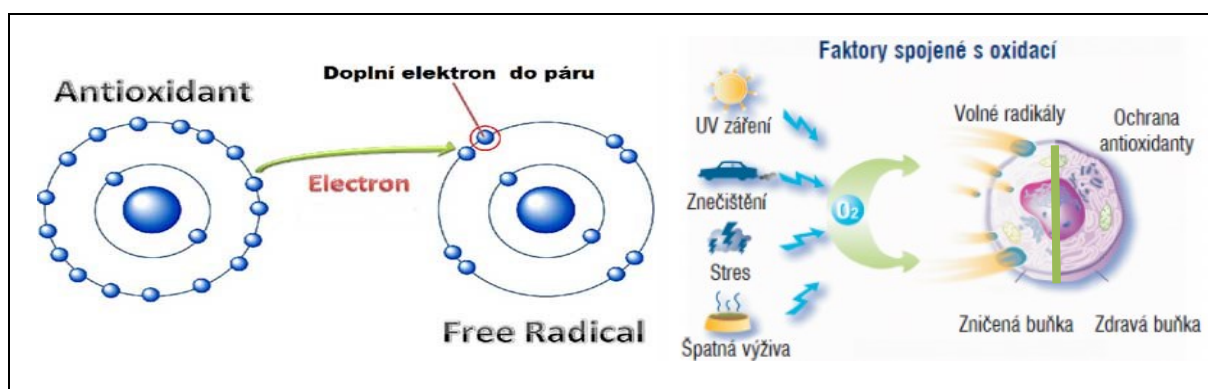
2 ANTIOXIDANTY

Antioxidanty představují skupinu látek, které se liší v chemické struktuře a liší se tak i chemická podstata jejich antioxidačního působení. Jsou to látky, které omezují aktivitu volných radikálů, snižují pravděpodobnost vzniku volných radikálů nebo je převádí do méně reaktivních nebo nereaktivních stavů. Antioxidanty patří mezi inhibitory oxidace. Působení antioxidantů je znázorněno na Obr. 10 [32, 33, 34].

Antioxidanty reagují s volnými radikály (primární antioxidanty), kdy přerušují řetězovou radikálovou reakci nebo redukují vzniklé hydroperoxy (sekundární antioxidanty). Antioxidanty se také váží do komplexů katalyticky působících kovů nebo eliminují přítomný kyslík (snižují množství kyslíku) [35].

Některé antioxidanty působí jako prevence proti nemocím (proti srdečním onemocněním, infarktu), snižují riziko vzniku nádorů, zpomalují průběh Alzheimerovy choroby [36].

Antioxidanty mají důležitou úlohu v potravinářství. V potravinách mají schopnost zpomalit, oddálit nebo zabránit oxidačním procesům. Antioxidanty prodlužují údržnost potravin tak, že je chrání před znehodnocením, které je způsobené oxidací. Projevem oxidace je žluknutí tuků a dalších snadno se oxidujících složek v potravine. Vlivem oxidace může docházet ke zhoršující se kvalitě potravin, nejvíce při zpracování a skladování. Negativně je ovlivněna výživová či sensorická hodnota potraviny (barva, chuť, vůně). Antioxidanty tedy zajišťují i zachování chuti, vůně a barvu potravin [37, 38].



Obr. 10. Působení antioxidantů [39, 40]

2.1 Volné radikály

V dnešní společnosti vzrůstá počet civilizačních onemocnění, související s působením volných radikálů. Volné radikály jsou vysoce reaktivní nestabilní chemické látky, které vznikají přirozeně v těle jako vedlejší produkty látkové výměny a mají mnoho fyziologicky podstatných funkcí. Pokud se jich tvoří velké množství, stávají se pro tělo nebezpečné. Mohou poškodit tkáň v těle, narušit buněčné membrány [41, 42].

Youngson definoval volný radikál jako jakýkoliv atom nebo skupina atomů, které mohou existovat samostatně a které obsahují alespoň jeden nepárový elektron. Volný radikál je vlivem nepárového elektronu velmi chemicky reaktivní. Volné radikály napadají další částice a mohou je přeměnit na nové volné radikály, vzniká tak řetězová reakce [42].

Volné radikály můžou přispět k řadě nemocí. Jejich působením je zrychlen proces degenerace a stárnutí buněk, volné radikály mohou zvýšit riziko vzniku rakoviny, aterosklerózy, nemoci srdce a dalších zdravotních problémů. Volným radikálům se nelze vyhnout, ale omezit množství a jejich působení lze mnoha způsoby – jíst vyváženou stravu, potraviny obsahující přirozené zdroje antioxidantů, snížit působení stresových situací, snížit množství toxinů, nekouřit apod. [42].

Hlavní volné radikály lidského těla jsou hydroxylový ($\text{OH}\cdot$) a superoxidový ($\text{O}_2\cdot$) radikál. Tyto kyslíkové radikály se ihned po svém vzniku naváží na jinou molekulu (předají svůj nepárový elektron této molekule nebo od ní získají další). Radikál se stává stabilním, ale napadená molekula se mění na volný radikál a proto dojde k zahájení řetězové reakce [42].

Volné radikály vznikají v buňkách vystavením vnějšímu záření (ultrafialové, rentgenové, gama záření). Záření způsobuje porušení vazeb mezi atomy a vznikají tak volné radikály. Další příčinou vzniku volných radikálů jsou škodliviny v ovzduší, kouření, potrava [42].

Volné radikály vznikají při reakcích, které probíhají v buňce – souhrnně metabolismus. Při metabolismu probíhá řada dějů, při kterých je součástí reakce s volnými radikály. Ve většině případů je proces kontrolován. Tělo produkuje enzym superoxidodismutázu, který přeměňuje v těle volné radikály superoxidu na peroxid vodíku. Ten je však poměrně také reaktivní sloučeninou (může poškodit tkáň). Naše tělo produkuje další enzym katalázu, ten rozloží peroxid vodíku na vodu a kyslík. Tyto enzymy jsou produkovány v buňkách podle genetického kódu uloženého v DNA [41,42].

Volné radikály jsou chemicky velmi aktivní a snadno se vážou na jiné molekuly a oxidují je. Tím dochází ke zhoršení kvality potravin, projevuje se žluknutím tuků a dalších snadno se oxidujících látek. Oxidace lipidů vyvolává v potravinách další chemické změny, které mohou znehodnotit potravinu. Projeví se změnou barvy, vůně, chuti a ovlivní výživovou hodnotu. Tomu se dá zabránit použitím antioxidantů, které prodlužují údržnost potravin [33, 42].

2.2 Zdroje antioxidantů

Lidské tělo obsahuje přirozené antioxidanty, tzv. endogenní antioxidanty. Nejdůležitějším je tokoferol (vitamin E) a vitamin C. Tokoferol je rozpustný v tucích, což je důležité z toho důvodů, že volné radikály nejvíce poškozují buněčné membrány a lipoproteiny, které v molekule obsahují tuky. Vitamin C patří mezi silné antioxidanty a je rozpustný ve vodě, tím se dostává do všech částí těla. Oba tyto vitamíny působí proti volným radikálům často společně [36, 42, 43, 44, 45].

Další přirozené antioxidanty jsou krevní složky – např. transferin. To je sloučenina obsahující bílkovinu ceruloplasmin a železo, tyto látky volné radikály likvidují nebo zabraňují jejich vzniku. Mezi jiné přirozené antioxidanty se řadí sloučeniny D-penicilamin, cystein, glutathion a enzymy s antioxidačními účinky. Mezi tyto enzymy patří superoxiddismutáza, glutathionperoxidasa a kataláza [46, 47].

Zvýšený příjem antioxidantů je zapotřebí při zvýšené únavě, vyčerpání, v průběhu onemocnění. Větší potřebu antioxidantů vyvolává životní styl a strava obsahující karcinogeny, extrémní zátěž, ozáření rentgenovými paprsky, menopauza, duševní stres, dlouhé opalování [43].

Tělo se spoléhá i na přísun tzv. exogenních (vnějších) zdrojů antioxidantů, které se dodávají především ze stravy [47].

Zdroje antioxidantů se hojně vyskytují v zeleném čaji, černém čaji, červeném víně, kakau, ovoci (např. borůvky, lesní jahody, lesní maliny, třešně, hrozny, švestky), zelenině (např. brokolice, kapusta, listová zelenina, špenát, červená řepa), jinanu dvoulaločném. Koření (Tab.1) a byliny také patří k významným zdrojům antioxidantům [32].

Koření a byliny slouží i k prodloužení údržnosti potravin. Zvláště účinné jsou hřebíček, majoránka, tymián, oregano, šalvěj a rozmarýna [45].

Mezi nejběžnější přírodní antioxidanty patří:

1. Jednoduché fenoly – antioxidační účinky mají hydrochinon, salicylaldehyd, isoeugenol, guajakol. V tymiánu se nachází fenoly thymol a karvakrol.
2. Fenolové kyseliny a jejich deriváty – mezi tuto skupinu patří benzoová kyselina a její deriváty a skořicová kyselina a její deriváty. Fenolové kyseliny a jejich deriváty vykazují účinky primárních antioxidantů.
 - Estery - rosmarinová kyselina (ester kyseliny kávové a 2-hydroxy-3-(3,4-dihydroxyfenyl) propionové kyseliny) je významný antioxidant majoránky. Nejběžnější ester fenolových kyselin jsou depsidy (zástupcem je chlorogenová kyselina, vyskytující se v kávě, v koření anýzu). Dalším zástupcem je kyselina dikaffeoylvinná, vyskytující se v koření čekanky. Ester sinapin se vyskytuje v semenech řepky.
 - Glykosidy – glykosid odvozený od protokatechuové kyseliny se vyskytuje v oreganu. Dalším zástupcem je verbaskosid, který je účinným antioxidantem byliny divizny a oliv.
 - Amidy – vysoce aktivními antioxidanty jsou amidy fenolových kyselin. V ovsu setém se nachází avenanthramid. V černém pepři se nachází *N*-feruloyltyramin a amid odvozený od alkaloidu piperinu (tento amid je bez pachu a nemá pálivý vjem). V paprice se vyskytují vanillylamidy, které jsou pálivými látkami. V chilli paprice se nachází kapsaicinol, který nevyvolává pálivý vjem ale je účinný antioxidant.
3. Lignany – jsou fenolové sloučeniny základního skeletu s 18 atomy uhlíku v molekule. V semenech lnu setého se vyskytuje sekoisolariciresinol. Dalším zástupcem jsou bisepoxylygnany, které se nachází v sezamových semenech.
4. Kurkuminoidy – mezi tyto sloučeniny patří diarylheptanoidy, nacházející se v odděncích kurkumy. V zázvoru se vyskytují gineroly, zingerony, shogaoly a fenylbutenoidy.
5. Diterpeny a chinony – *o*-chinony a *p*-chinony se vyskytují v tymiánu. Dalším zástupcem jsou fenolové diterpeny, které se řadí mezi neaktivnější přírodní antio-

xidanty. Mezi fenolové diterpeny se řadí karnosol a kyselina karnosová, které se nachází v rozmarýně nebo v šalvěji. Chinony se nachází v kořeni ženšenu.

6. Flavonoidy – jsou primárními antioxidanty. Pro antioxidační aktivitu flavonoidů je důležitý počet hydroxylových skupin v molekule a jejich poloha. Řadí se zde flavonoly (myricetin, robinetin a kvercetin), flavanony (naringenin, hesperetin).
7. Další antioxidanty – karotenoidy, mezi které se řadí α a β -karoten (zdroje karotenoidů jsou mrkev, špenát). Dalším antioxidantem je vitamin E, který je součástí rostlinných olejů, ořechů, luštěnin a obilných klíčků a vitamin C, který je obsažen v ovoci a zelenině jako jsou jahody, citrusové plody, paprika [34, 36, 44, 48, 49].

Tab. 1. Sloučeniny s antioxidační aktivitou u koření [50, 51]

DRUH KOŘENÍ	SLOUČENINY S ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU
ANÝZ	Izomery kyseliny chlorogenové, <i>trans</i> -anetol, estragol
FENYKL	<i>Trans</i> -anetol, fenchon, estragol, limonen, kamfen, α -pinen, fenchyl alkohol, myristicin
HŘEBÍČEK	Eugenol, eugenol acetát, β -karyofylen, isoeugenol, nerolidol, farnesol
KMÍN	β -karoten, terpinen, kyselina laurová, myrcen, myristová kyselina, palmitová kyselina, quercetin, tanin
MAJORÁNKA	Kyselina askorbová, β -karoten, β -sitosterol, kyselina kávová, eugenol, hydrochinon, linalyl-acetát, myrcen, fenol, tanin, <i>trans</i> -anetol
MUŠKÁTOVÝ OŘECH	α -pinen, β -pinen, terpinen, myristicin, myrcen, limonen, linalol, methyl eugenol, eugenol, elemicin
NOVÉ KOŘENÍ	Methyleugenol, eugenol, myrcen, α -pinen, β -pinen, limonen, myristicin, elemicin
SKOŘICE	Aldehyd skořice, eugenol, acetát eugenolu, linalol, methyl eugenol, benzaldehyd, pinen

3 ANYLYTICKÉ METODY STANOVENÍ ÚČINKU ANTIOXIDANTŮ

Pro stanovení antioxidační aktivity se používá řada metod a postupů, které obecně poskytují odlišné výsledky. Faktory, ovlivňující antioxidační aktivitu jsou:

- Přítomnost jiných antioxidantů
- pH
- koncentrace antioxidantu
- použité rozpouštědlo
- přítomnost dalších látek
- teplota
- oxidační činidlo a další [52].

3.1 Metody stanovení antioxidační aktivity

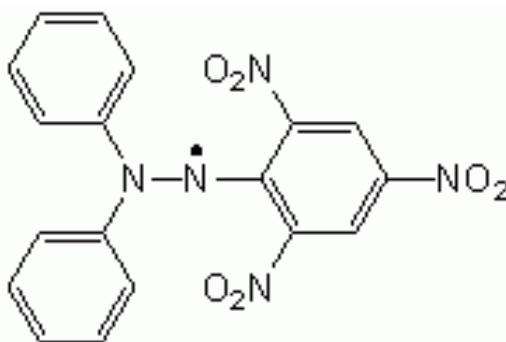
K zabránění působení volných radikálů slouží antioxidanty. Důležité tedy je zjišťovat antioxidační aktivitu v potravinách či pochutinách. Důležitá pozornost je věnována potravinám rostlinného původu, které jsou významným zdrojem antioxidantů a slouží tak k ochraně proti volným radikálům. Antioxidační aktivitu mohou ovlivňovat ostatní složky potravin, sacharidy, bílkoviny, vitaminy, voda a minerální látky [52].

Antioxidační aktivita je definována jako schopnost sloučeniny inhibovat oxidační degradaci sloučenin. Ke stanovení antioxidační aktivity lze nalézt větší počet rozmanitých metod. Antioxidanty mohou reagovat různými mechanismy, nejčastěji jde o reakci přímou s radikály (zhášení, vychytávání). Postupy hodnotící antioxidační působení jsou založeny na různých principech, obecně na metody hodnotící schopnost eliminovat radikály a na metody posuzující redoxní vlastnosti látek. Aktivitu antioxidantů lze měřit fyzikálními a chemickými metodami. Mezi nejběžnější metody patří DPPH, ORAC, FRAP, ABTS, galvinoxylóvá metoda, elektrochemická cyklická voltametrie [52, 53, 54].

Metoda používající DPPH patří mezi základní metody pro posouzení antiradikálové aktivity. Metoda se používá u čistých látek i u směsných vzorků. Je založena na reakci vzorku se stabilním volným radikálem difenylpicrylhydrazylem – DPPH (Obr. 11), který má schopnost reagovat s donory vodíku. Vlivem přítomnosti redukčních faktorů dochází při reakci k redukci radikálů (radikál se zhasí, tím se odbarvuje) a vzniká difenylpicrylhydrazin – DPPH-H. DPPH radikál vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. DPPH je fialový (působením železité soli) a po redukci se vytvoří žlutohnědé zbarvení [52, 55, 56, 57].

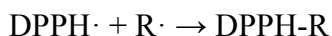
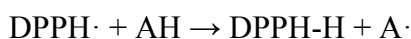
Reakce je sledována spektrofotometricky, metodou elektronové spinové rezonance nebo HPLC. Použití HPLC, při které je hodnocen pík radikálu DPPH, se používá nejvíce u barevných vzorků, kdy se zbarvení vzorku eliminuje [52].

Při spektrofotometrické metodě se měří úbytek absorbance při vlnové délce 515, 517 nebo 522 nm proti etanolu nebo metanolu. Absorbance je měřena po 1 hodině. Vypočítá se úbytek absorbance v %. Jako standard se může použít kyselina askorbová nebo trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina), na jejíž ekvivalentní množství se antioxidační aktivita vzorku může přepočítat [52, 55, 56, 57].



Obr. 11. Vzorec radikálu DPPH

Při této metodě se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem (R \cdot) roztok odbarví: [53].



Metodou DPPH se nejčastěji antioxidační aktivita zjišťuje u ovoce, koření a bylin.

Metoda používající ABTS (metoda TEAC) je metoda nejpoužívanější a patří mezi základní, pro stanovení celkové antioxidační aktivity. Metoda je jednoduchá, rychlá, je od hodnocení antioxidační aktivity látek až po směsné vzorky. Testuje schopnost vzorku zhaset radikál $ABTS\cdot^+$. Antioxidační aktivita vzorku je srovnávána s antioxidační aktivitou syntetické látky troloxu. TEAC vyjadřuje počet radikálových kationtů $ABTS\cdot^+$ inaktivovaných jednou molekulou antioxidantu. Zhasení radikálu antioxidanty, chovající se jako donory (dárce) vodíku. Sleduje se spektrofotometricky (absorbance při 600–750 nm) pomocí změn absorpčního spektra $ABTS\cdot^+$. Stanovení celkové antioxidační aktivity vzorků se hodnotí parametrem TEAC, který označuje antioxidační aktivitu vzorku ekvivalentní definovanému množství syntetického derivátu troloxu. Stanovení je vhodné pro hydrofilní i lipofilní antioxidanty [52, 53].

Metoda používající galvinoxyl, spočívá v reakci antioxidantu s radikálem galvinoxylu. Principem je redukce radikálu galvinoxylu látkami poskytujícími vodík. Sleduje se spektrofotometricky při vlnové délce 428 nm [52].

Při metodě ORAC se ve vzorku generují kyslíkové radikály, hodnotí se schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Pro detekci se sleduje úbytek fluorescence β -fykoerytrinu po ataku radikály. Metoda má široké využití a poskytuje důležité informace o antioxidační aktivitě různých vzorků [52].

Metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace, se zaměřuje přímo na testování inhibičních účinků na lipidovou peroxidaci. Lipidová peroxidace je vyvolána volnými radikály. Látky, které potlačují lipidovou peroxidaci mohou eliminovat iniciační kyslíkové radikály ($OH\cdot$), sekundární radikálové meziprodukty (peroxyl). K hodnocení vlivu antioxidantů na lipidovou peroxidaci slouží metody s jednoduchými lipidy či složitější biologické metody využívající biologické membrány jako matrici. Častým postupem je využití fosfolipidových liposomů. Další metodou je sledování lipidové peroxidace na LDL-částicích, mitochondriích nebo tkáňových homogenátorech [52].

Metody se provádí v pufovaných modelových systémech, které obsahují nenasycené mastné kyseliny a vzorek [52].

Metoda FRAP patří mezi metody chemické. Metoda je založena na principu redoxní reakce železitých komplexů. Antioxidanty redukují komplex Fe^{3+} -2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin) (zkráceně Fe^{3+} -TPTZ). Spektrofotometricky se měří absorbance při 593 nm. Nárůst absorbance odpovídající množství komplexu Fe^{3+} -TPTZ je mírou antioxidační aktivity vzorku. Metoda odráží pouze schopnost látek redukovat ion Fe^{3+} a s celkovou antioxidační aktivitou vzorku nemusí pozitivně korelovat. Vzorky jsou téměř bezbarvé, po redukcii vytváří barevné produkty [52, 53].

Poslední metodou je cyklická voltametrie, která patří mezi elektrochemické metody. Redoxní vlastnosti se hodnotí cyklickou voltametrií, při které se odštěpují elektrony z látek. Na elektrodu se vkládá potenciálový pulz s určitou rychlostí polarizace a sledují se proudové odezvy v látce. Na konci vzniká křivka – cyklický voltamogram. Tato metoda souží pro získání informace, zda je látka schopna snadno odevzdávat elektrony, potom se zvolí metoda ke stanovení antioxidační aktivity [52, 53].

3.2 Stanovení polyfenolů

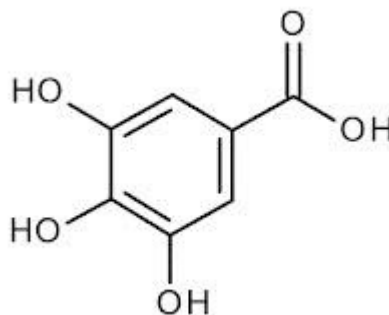
Polyfenoly jsou přírodní antioxidační látky. Pro jejich stanovení se dnes používají nejčastěji dvě metody. První metoda je pomocí reakce s Folin-Ciocalteuovým činidlem (FC), druhá je stanovení metodou HPLC [58].

Stanovení s Folin-Ciocalteuovým činidlem

Hlavní funkční složky Folin-Ciocalteuova činidla jsou kyseliny fosfowolframová a fosfomolybdenová. Kyseliny reagují s fenoly a redukujícími látkami v bazickém prostředí se vznikem barevných sloučenin [54].

Pro stanovení polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla se připraví reakční směs, kde probíhá oxidace fenolických sloučenin a mění se barva ze žluté na modrou, a to vlivem kyselin (fosfowolframové a fosfomolybdenové). Využívá se měření spektrofotometrem při vlnové délce 750 nm proti slepému pokusu. Ke vzorku se přidá Folin-Ciocalteuovo činidlo, voda a uhličitan draselný a po 20 minutách se měří jeho absorbance [54, 59].

Metodou je stanoven celkový obsah polyfenolů (to mohou být stovky různých sloučenin) proto se výsledek musí vyjádřit jako ekvivalent látky fenolické povahy - standard. Nejčastěji používaným standardem je kyselina gallová (Obr. 12). Výsledky jsou uvedeny v mg ekvivalentu kyseliny gallové na gram vzorku [58, 60].



Obr. 12. Vzorec kyseliny gallové

Při metodě za pomoci Folin-Ciocalteuova činidla se musí dávat pozor na to, že může dojít k nežádoucím interakcím, a ty snižují přesnost výsledků. Hlavní sloučeniny ovlivňující výsledky metody jsou oxid siřičitý, kyselina askorbová, glukóza a fruktóza. Vlivem oxidu siřičitého dochází k redukci Folin-Ciocalteuova činidla pouze v přítomnosti polyfenolických sloučenin. To nastává tehdy, pokud polyfenoly oxidované Folin-Ciocalteuovým činidlem jsou zpětně redukovány oxidem siřičitým, dochází tak k regeneraci oxidovaných polyfenolů, následkem je vyšší míra redukce Folin-Ciocalteuova činidla a získané výsledky obsahu polyfenolů jsou pak vyšší než je skutečnost [58, 60].

Stanovení metodou HPLC

Z chromatografických metod se ke stanovení polyfenolů používá vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Principem je rovnovážná distribuce analytů mezi mobilní a stacionární fází. Mobilní fází je kapalina a stacionární fází je film příslušné látky zakotvený na povrchu nosiče nebo pevný adsorbent. Kapalinový chromatograf se skládá z těchto hlavních částí: zásobníky s mobilní fází, vysokotlaká pumpa, dávkovač, kolona a detektor. Pro stanovení polyfenolů se nejčastěji používá UV/VIS detekce. Tato metoda se používá pro stanovení jednotlivých fenolů [61, 62].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce v teoretické části byla charakteristika koření, které se stanovovalo v praktické části – anýz, fenykl, hřebíček, kmín, majoránka, muškátový květ a muškátový ořech, nové koření, skořice. Dále popis antioxidantů, volných radikálů a také analytických metod pro stanovení antioxidační aktivity a polyfenolů.

V praktické části bylo cílem práce stanovit sušinu, antioxidační aktivitu metodou DPPH, hodnoty IC_{50} a spektrofotometricky zjistit celkový obsah polyfenolů vybraných druhů koření – *Pimpinella anisum*, *Foeniculum vulgare*, *Syzygium aromaticum*, *Carum carvi*, *Origanum majorana*, *Myristica fragrans*, *Pimenta dioica* a *Cinnamomum verum*.

5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

5.1 Vzorčky koření

V diplomové práci bylo použito 9 druhů koření, celkově 26 vzorků, ve formě celé, mleté nebo drcené. Přehled analyzovaných koření se nachází v Tab. 2. Koření bylo zakoupeno v obchodních řetězcích České republiky.

Tab. 2. Přehled vzorků koření

Druh koření	forma	Zn.	Firma	Výrobce	Datum spotřeby	Původ
Nové koření	Mletá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	08.09.2014	
	Celá	2	AVOKAD O	Pěkný-Unimex s.r.o., Praha, ČR	09.07.2015	Mexiko
	Celá	3	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	21.08.2016	
Kmín	Mletá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	08.08.2015	
	Drcená	2	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	28.03.2015	
	Mletá	3	EURO SHOPPER	Thymos spol. s r.o., Velká Lomnica, SR	10.12.2015	
	Celá	4	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	29.08.2016	
	Celá	5	KOTÁNYI	Kotányi GmbH, Wolkersdorf, Rakousko	03.04.2017	Rakousko
	Drcená	6	DLE GUSTA	MASPOMA spol. s.r.o., Zvolen, SR	14.05.2015	
	Římská celá	7	KOTÁNYI	Kotányi GmbH, Wolkersdorf, Rakousko	31.07.2017	Indie

(Zn. = značení koření v diplomové práci)

Tab. 2. – pokračování Přehled vzorků koření

Skořice	Mletá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	19.06.2015	
	Mletá	2	KOTÁNYI	Kotányi GmbH, Wolkersdorf, Ra- kousko	14.08.2016	In- donésie
	Mletá	3	EURO SHOPPER	Thymos spol. s r.o., Velká Lomnica, SR	30.08.2015	
Majoránka	Drhnu- tá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	19.07.2015	
	Drhnu- tá	2	KOTÁNYI	Kotányi GmbH, Wolkersdorf, Ra- kousko	19.05.2016	Egypt
	Drhnu- tá	3	DLE GUSTA	MASPOMA spol. s.r.o., Zvolen, SR	28.11.2014	
Muškáto- vý květ	Mletá		VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	09.09.2015	
Muškáto- vý ořech	Celá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	04.06.2016	
	Mletá	2	KOTÁNYI	Kotányi GmbH, Wolkersdorf, Ra- kousko	19.06.2016	Grenada
Fenykl	Celá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	02.09.2016	
	Celá	2	THYMOS	Thymos spol. s r.o., Velká Lomnica, SR	30.04.2015	
Anýz	Celá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	12.07.2016	
	Celá	2	EQUICENT RUM	EQUICENTRUM , spol. s.r.o., Ostrava-Hrabová, ČR	07.10.2015	
	Celá	3	KOTÁNYI	Kotányi GmbH, Wolkersdorf, Ra- kousko	24.11.2015	Sýrie
Hřebíček	Celá	1	VITANA	VITANA a.s., Byšice, ČR	10.09.2016	
	Celá	2	EURO SHOPPER	Thymos spol. s r.o., Velká Lomnica, SR	11.09.2015	

(Zn. = značení koření v diplomové práci)

5.2 Použité pomůcky a přístroje

- Laboratorní sklo
- Spektrofotometr (Spekol 11, Německo)
- Analytické váhy (Voyager Pro, Švýcarsko)
- Termostat (Venticel 1, BMT a.s MMM-group, ČR)
- Ruční kuchyňský strojek (Braun turbo, Španělsko)
- Elektrický mlýnek/vločkovač (Combi-star, Waldner biotech, Rakousko)

5.3 Použité chemikálie

- Demineralizovaná voda
- Acetátový pufr (pH=5,5)
- Etanol (P. Švec, Chrudim)
- Uhličitan sodný (P. Lukeš, Uherský Brod)
- DPPH - difenylpikrylhydrazyl (Aldrich, USA)
- Standard kyseliny askorbové (Fluka – Chemika, Švýcarsko)
- Standard kyseliny gallové (Sigma, Německo)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Penta, ČR)

6 METODIKA STANOVENÍ

6.1 Stanovení obsahu vlhkosti, sušiny koření

Voda je v koření obsažena ve formě buněčné (intracelulární) a mimobuněčné (extracelulární). A podle formy výskytu jako adsorbovaná, volná nebo vázaná na složky – hydratační [36].

Sušina je zbytek látky po vysušení do konstantní hmotnosti při určité teplotě. Sušením se ztrácí voda i těkavé látky. Suší se v elektrické sušárně při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti [36].

Ke stanovení sušiny byly použity vysušené a zvážené hliníkové misky s víčky, zvážené na 4 desetinná místa. Do misky byl, s přesností na 0,0001 g, navážen 1 g vzorku koření. Miska se uzavřela víčkem a vložila do termostatu, který byl přehřát na teplotu 105 °C. Sušilo se do konstantní hodnoty hmotnosti při teplotě 105 °C. Po vysušení se miska vložila do exikátoru a nechala vychladnout. Po vychlazení se miska zvažila s přesností na 0,0001 g. Sušina byla zjištěna u každého vzorku koření 3 krát. Z těchto tří měření se vypočítal průměr sušiny.

Obsah vlhkosti v (%) se vypočte dle vzorce:

$$v = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100$$

m_0 - hmotnost vysušené prázdné misky (g)

m_1 - hmotnost vysušené misky s navázkou vzorku před vysušením (g)

m_2 - hmotnost misky se vzorkem po vysušení (g)

Sušina koření S (%) se vypočte dle vzorce:

$$S = 100 - v$$

6.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Principem stanovení je reakce testovaného vzorku koření se stabilním radikálem DPPH – difenylpikrylhydrazylem, kdy dochází k redukci radikálu a vzniká DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Antioxidační aktivita se následně vyjadřuje například v ekvivalentech kyseliny askorbové.

6.2.1 Příprava extraktu pro zjištění antioxidační aktivity

Pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH se navážil 1 g koření s přesností na 4 desetinná místa. Celé a drcené koření se nejdříve pomocí mlýnku rozdrtilo. Navážka vzorku koření se extrahovala do 100 ml odměrné baňky destilovanou vodou o teplotě 100 °C. Takto připravený výluh se po 5 minutách extrakce vychladil a poté se přefiltroval přes filtrační papír a podle nutnosti ředil.

6.2.2 Měření antioxidační aktivity koření metodou DPPH

Pro stanovení antioxidační aktivity pomocí činidla DPPH bylo experimentálně stanoveno složení reakční směsi:

- 0,1 ml roztoku extraktu koření
- 1,9 ml roztoku DPPH (0,02 mM)
- 1 ml acetátového pufru (pH = 5,5)

Podobným způsobem se ve zkumavkách připravily slepý a kontrolní vzorek, ve slepém vzorku bylo místo roztoku DPPH dávkováno 1,9 ml etanolu, v kontrolním vzorku bylo místo roztoku výluhu koření dávkováno 0,1 ml destilované vody.

Zkumavky s reakční směsí se uzavřely a promíchaly, poté se 1 hodinu nechaly stát ve tmě. Po hodině se změřila absorbance směsi vzorku koření (A) při vlnové délce 515 nm proti slepému vzorku. Ve stejném čase se změřila absorbance kontrolního vzorku (K) při 515 nm proti slepému vzorku.

Výpočet inaktivace:

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

Výsledné hodnoty antioxidační aktivity se vyjádřily na základě přepočtu z kalibrační křivky jako ekvivalent kyseliny askorbové.

6.2.3 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity

Na přípravu kalibrační křivky standardu kyseliny askorbové byl připraven roztok kyseliny askorbové o koncentraci 0,3 mg/ml. Z roztoku byly připraveny roztoky základní kalibrační řady o koncentracích 0,21; 0,18; 0,15; 0,12; 0,075; 0,06; 0,03; 0,015; 0,003 mg/ml.

Pro zjištění inaktivace se připravila směs s kyselinou askorbovou:

- 0,1 ml roztoku z kalibrační řady
- 1,9 ml DPPH (0,02 mM)
- 1 ml acetátového pufru (pH = 5,5)

Podobným způsobem se připravil slepý a kontrolní vzorek, ve slepém vzorku bylo místo roztoku DPPH 1,9 ml etanolu (rozpuštědlo pro roztok DPPH), v kontrolním vzorku místo roztoku z kalibrační řady 0,1 ml destilované vody. Zkumavky se zazátkovaly, promíchaly a nechaly stát ve tmě 1 hodinu. Po této době se změřila absorbance při vlnové délce 515 nm.

Inaktivace roztoků standardu kyseliny askorbové se vypočetla podle vzorce uvedeného v kap. 6.2.2.

6.3 Určení hodnoty IC₅₀

Hodnota IC₅₀ udává koncentraci vzorku, která má schopnost odbourat 50 % radikálu DPPH. Antioxidační aktivita se zvyšuje tím, čím je hodnota IC₅₀ nižší.

Hodnota IC₅₀ byla zjišťována u 25 vzorků koření. Z výluhu (100 % roztok) extraktu koření byly připraveny roztoky o různých koncentracích, které se ředily demineralizovanou vodou. Hledaly se ty správné koncentrace pro každý vzorek koření. Z naředěných roztoků byly připraveny reakční směsi. Vypočítá se hodnota inaktivace podle vzorce uvedeného v kap. 6.2.2. Z hodnot inaktivace při stanovení DPPH byla sestrojena kalibrační křivka, jako závislost koncentrace výluhu vzorku na inaktivaci.

6.4 Stanovení celkového obsahu polyfenolů spektrofotometricky

Pro stanovení se navážil 1 g koření s přesností na 4 desetinná místa. Celé a drcené koření se nejdříve pomocí mlýnku rozdrtilo. Navážka vzorku koření se extrahovala do 100 ml odměrné baňky destilovanou vodou o teplotě 100 °C. Takto připravený výluh se po 5 minutách extrakce vychladil a poté se přefiltroval přes filtrační papír a podle nutnosti ředil.

Pro stanovení celkového obsahu polyfenolů bylo použito Folin-Ciocalteuovo činidlo.

Reakční směs:

- 0,1 ml výluhu koření
- 1ml demineralizované vody
- 1 ml 10 % Folin-Ciocalteuova činidla

Pro měření celkového obsahu polyfenolů byl připraven slepý pokus, kdy místo výluhu se pipetovalo 0,1 ml destilované vody.

Roztoky výluhu vzorku i slepého pokusu ve zkumavkách se zazátkovaly, promíchaly a nechaly stát v temnu 5 minut. Po 5 minutách se do obou zkumavek napipetoval 1 ml 10 % roztoku uhličitanu sodného. Zkumavky se promíchaly a nechaly stát 15 minut v temnu. Po uplynutí doby se proměřila absorbance výluhu vzorku proti slepému pokusu při vlnové délce 750 nm.

Výsledné hodnoty obsahu polyfenolů se vyjádřily na základě přepočtu z kalibrační křivky jako ekvivalent kyseliny gallové.

6.4.1 Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů

Na přípravu kalibrační křivky standardu kyseliny gallové byl připraven roztok o koncentraci 1 mg/ml. Z roztoku byly do zkumavek připraveny roztoky kalibrační řady o koncentracích 0,5; 0,4; 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1 mg/ml.

Pro zjištění celkového obsahu polyfenolů se připravila směs s kyselinou gallovou:

- 0,1 ml roztoku z kalibrační řady
- 1ml demineralizované vody
- 1 ml 10 % Folin-Ciocalteuova činidla

Podobným způsobem se připravil slepý vzorek, ve slepém vzorku bylo místo roztoku z kalibrační řady dávkováno 0,1 ml destilované vody.

Roztoky kalibrační řady i slepého pokusu se zazátkovaly, promíchaly a nechaly stát v temnu 5 minut. Po 5 minutách se do obou zkumavek napipetoval 1 ml 10 % roztoku uhličitanu sodného. Zkumavky se promíchaly a nechaly stát 15 minut v temnu. Po uplynutí doby se proměřila absorbance vyluhu vzorku proti slepému pokusu při vlnové délce 750 nm.

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

V práci byl stanoven obsah sušiny u 26 vzorků koření. Dále byla zjištěna antioxidační aktivita vzorků koření pomocí metody DPPH. Stanovena byla také hodnota IC_{50} u 25 vzorků a celkový obsah polyfenolů u všech vzorků.

7.1 Stanovení sušiny

Vlhkost byla měřena a sušina zjištěna ve 26 vzorcích koření.

Vlhkost vzorků byla stanovena postupem, který je popsán v kapitole 6.1.

Výsledky jsou uvedeny v Tab. 3. Výsledek je průměr z 3 stanovení s uvedenou směrodatnou odchylkou (s).

Tab. 3. Obsah vlhkosti a sušiny ve vzorcích koření

Koření	Obsah vlhkosti (%)	Obsah sušiny (%)	s
Nové koření-1	11,5	88,5	0,02
Nové koření-2	9,4	90,6	0,12
Nové koření-3	10,6	89,4	0,15
Kmín-1	10,5	89,5	0,03
Kmín-2	10,3	89,7	0,08
Kmín-3	10,1	89,9	0,07
Kmín-4	9,3	90,7	0,04
Kmín-5	8,8	91,2	0,02
Kmín-6	10,5	89,5	0,01
Kmín-7	8,8	91,2	0,12
Skořice-1	11,8	88,2	0,03
Skořice-2	11,1	88,9	0,08
Skořice-3	11,1	88,9	0,11
Majoránka-1	8,9	91,1	0,01
Majoránka-2	8,7	91,3	0,03
Majoránka-3	7,9	92,1	0,07

Tab. 3. – pokračování Obsah vlhkosti a sušiny ve vzorcích koření

Muškátový květ	14,6	85,4	0,11
Muškátový ořech-1	9,8	90,2	0,67
Muškátový ořech-2	12,4	87,6	0,01
Fenykl-1	8,3	91,7	0,02
Fenykl-2	7,6	92,4	0,16
Anýz-1	16,9	83,1	0,30
Anýz-2	7,1	92,9	0,09
Anýz-3	7,9	92,1	0,09
Hřebíček-1	16,9	83,1	0,60
Hřebíček-2	14,4	85,6	0,26

Obsah vlhkosti se pohyboval v rozmezí od 7,1 % do 16,9 %, obsah sušiny od 83,1 % do 92,9 %. Nejvyšší obsah vlhkosti byl zaznamenán u vzorku hřebíčku od českého producenta, anýz od firmy Vitana a muškátový květ mletý. Nejvyšší obsah sušiny měly vzorky anýz od firmy Equicentrum, fenykl ze Slovenské republiky a anýz původem ze Sýrie.

Nejmenší rozdíly v obsahu sušiny v rámci jednoho druhu koření měla skořice a fenykl. U obou druhů koření byl rozdíl 0,7 %. Největší rozdíl v obsahu sušiny v rámci jednoho druhu koření měl anýz (rozdíl byl 9,8 %) a muškátový ořech (s rozdílem 2,6 %).

Vzorky majoránky měly rozdíl v obsahu sušiny 1 %. U vzorků nového koření byl rozdíl v obsahu sušiny 1,2 %. Rozdíl v obsahu sušiny mezi sedmi vzorky kmínu se stanovil na 1,7 %. Vzorky hřebíčků měly rozdíl v obsahu sušiny 2,5 %.

Rozdíly v obsahu sušiny v rámci druhu koření mohou být zapříčiněny odrůdou, klimatickými podmínkami, druhem, původem, podmínkami stanovení, způsobem pěstování aj.

7.2 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

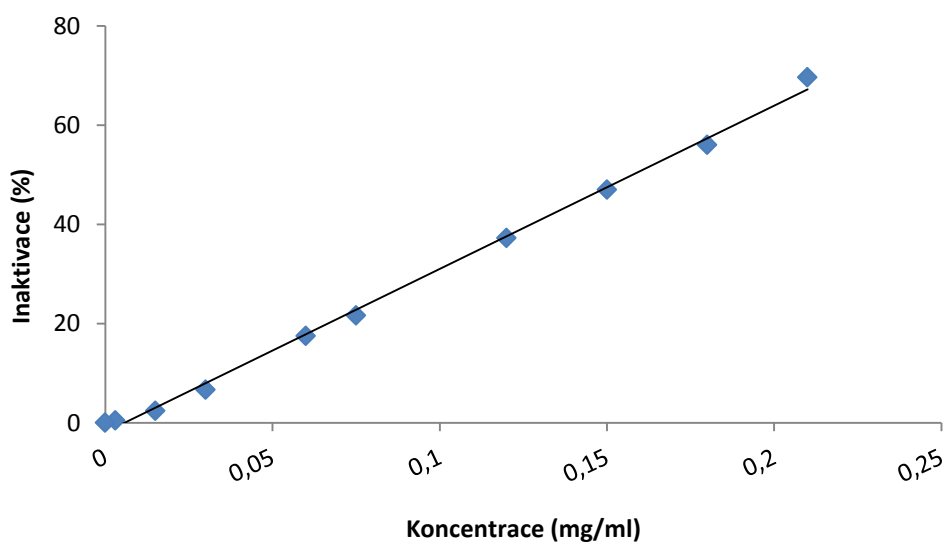
Antioxidační aktivita metodou DPPH byla zjišťována u 26 vzorků koření. Postup byl popsán v kap. 6.2.

7.2.1 Kalibrační křivka kyseliny askorbové

Kalibrační křivka kyseliny askorbové byla sestavena postupem popsáním v kapitole 6.2.3. Kalibrační křivky byla sestavena pro koncentrace v rozmezí kyseliny askorbové od 0,003 mg/ml do 0,21 mg/ml. Hodnoty koncentrací a inaktivace kyseliny askorbové jsou popsány v Tab. 4, na Obr. 13 byl sestrojen graf pro kalibrační křivku kyseliny askorbové.

Tab. 4. Hodnoty pro kalibrační křivku kys. askorbové

Koncentrace KA (mg/ml)	Inaktivace (%)
0,21	69,62
0,18	56,02
0,15	47,01
0,12	37,25
0,075	21,62
0,06	17,53
0,03	6,68
0,015	2,44
0,003	0,47
0	0



Obr. 13. Kalibrační křivka kyseliny askorbové

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 328,95 x - 1,87$$

y - inaktivace (%)

x - koncentrace kyseliny askorbové (mg/ml)

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9971$.

7.2.2 Výsledky antioxidační aktivity koření metodou DPPH

Antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometricky. Byla zjištěná hodnota inaktivace, která se dosadila do rovnice regresní přímky kalibrační křivky kyseliny askorbové. V Tab. 5 jsou uvedeny výsledky všech 26 vzorků koření, a to v přepočtu na hodnotu ekvivalentu kyseliny askorbové v 1 g vzorku koření a v 1 g sušiny vzorku koření.

Tab. 5. Antioxidační aktivita

Vzorek	Inaktivace (%)	Ředění (%)	AA (mg ekv. KA/g vzorku)	Sušina (%)	AA (mg ekv. KA/g sušiny vzorku)
Nové koření-1	50,87	20	80,0	88,5	90,4
Nové koření-2	62,14	35	55,7	90,6	61,5
Nové koření-3	63,49	35	56,9	89,4	63,6
Kmín-1	52,32	90	18,3	89,5	20,5
Kmín-2	50,50	100	15,9	89,7	17,7
Kmín-3	47,92	100	15,1	89,9	16,8
Kmín-4	51,60	100	16,3	90,7	18,0
Kmín-5	52,41	100	16,5	91,2	18,1
Kmín-6	36,05	100	11,5	89,5	12,9
Kmín-7	38,44	100	12,3	91,2	13,5
Skořice-1	50,21	15	105,3	88,2	119,4
Skořice-2	58,69	35	262,8	88,9	295,6
Skořice-3	49,48	25	312,0	88,9	351,0
Majoránka-1	65,50	25	82,0	91,1	90,0
Majoránka-2	69,48	25	86,8	91,3	95,1
Majoránka-3	56,82	25	71,2	92,1	77,3

Tab. 5. – Pokračování Antioxidační aktivita

Muškatový květ	14,30	100	4,9	85,4	5,7
Muškatový ořech-1	37,27	50	23,8	90,2	26,4
Muškatový ořech-2	22,42	100	7,4	87,6	8,5
Fenykl-1	50,78	100	16,0	91,7	17,5
Fenykl-2	50,26	100	15,8	92,4	17,1
Anýz-1	43,35	100	13,7	83,1	16,5
Anýz-2	57,39	100	18,0	92,9	19,4
Anýz-3	38,65	100	12,3	92,1	13,4
Hřebíček-1	78,10	7,5	324,0	83,1	389,9
Hřebíček-2	72,76	7,5	302,7	85,6	353,6

Z Tab. 5 je patrné, že antioxidační aktivita koření byla v rozmezí od 4,9 do 324 mg ekv. KA/g vzorku. Po přepočtu na sušinu vzorku se antioxidační aktivita pohybovala od 5,7 do 389,9 mg ekv. KA/g sušiny.

Z výsledků antioxidační aktivity bylo zjištěno, že nejvyšší antioxidační aktivitu měl hřebíček od českého producenta, dále skořice vyrobená ve Slovenské republice, následoval hřebíček, také vyrobený ve Slovenské republice. Nejnižší antioxidační aktivitu měly vzorky muškátový květ, muškátový ořech původem z Grenady a kmín od firmy Dle Gusta.

Po přepočtu antioxidační aktivity na sušinu vzorku měly nejvyšší antioxidační aktivitu opět vzorky hřebíčků, nejnižší antioxidační aktivitu měl muškátový květ (od firmy Vitana) a muškátový ořech, původem z Grenady.

Nejmenší rozdíl v antioxidační aktivitě měly vzorky fenyklu, s rozdílem 0,2 mg ekv. KA/g vzorku. Největší rozdíl v antioxidační aktivitě měly vzorky skořice, s rozdílem 206,7 mg ekv. KA/g vzorku. Vzorky skořice se od sebe lišily původem nebo výrobcem. Nejvyšší antioxidační aktivitu mezi vzorky skořice měl vzorek, vyrobený ve Slovenské republice, následoval vzorek skořice původem z Indonesie a nejmenší antioxidační aktivitu měl vzorek skořice od českého producenta.

Wojdylo a kol. ve své studii stanovovali antioxidační aktivitu metodou ABTS, DPPH a FRAP u koření kmínu, muškátového ořechu a hřebíčku. Jako standard byl použit trolox. Výluhy byly ředěny metanolem. Metodou DPPH se zjistilo, že hřebíček měl AA nejvyšší, muškátový ořech a kmín patřily mezi koření s nízkou antioxidační aktivitou, také jako v našem hodnocení [63].

Ve své práci se Mei Lu a kol. zabývali antioxidační aktivitou metodou DPPH u skořice, fenyklu, kmínu a muškátového ořechu. Výluh z koření byl vytvořen po extrakci vodou a etanolem. Z těchto koření měla nejvyšší antioxidační aktivitu skořice, dále muškátový ořech, fenykl a nejnižší antioxidační aktivitu měl kmín. Při porovnání s našimi výsledky u těchto koření, měla skořice také největší antioxidační aktivitu. Muškátový ořech, fenykl a kmín také u našich výsledků patřily mezi koření s nízkou antioxidační aktivitou [64].

Studie od Ranilla a kol. se zabývala antioxidační aktivitou, metodou DPPH, u vodních výluhů kmínu římského a skořice. Skořice měla inaktivaci 69 % a kmín římský měl inaktivaci 59 %. Inaktivace vodních výluhů skořice v našem stanovení byla 49,48–58,69 %, u kmínu římského je 38,44 %. Naše hodnocení tohoto koření je nižší, to může být způsobeno původem koření, teplotou, podmínkami stanovení a jinými vlivy [65].

V článku Queralt se také zjišťovala antioxidační aktivita metodou DPPH u kmínu římského a skořice. Vzorek koření byl extrahován s 50 % etanolem ve vodě s kyselinou mravenčí. Jako standard byl zvolen trolox. Antioxidační aktivita u kmínu římského byla vyšší než u skořice. V našem hodnocení byly vzorky koření v opačném pořadí [66].

Chrpová a kol. ve své práci zjišťovali antioxidační aktivitu majoránky. Metodou DPPH byla antioxidační aktivita vodního výluhu majoránky 42,1 mg ekv. KA/g. Vzorek majoránky se extrahoval 70 °C vodou. Jako standard se použila kyselina askorbová, absorbance se zjišťovala při 522 nm. Antioxidační aktivita vodních výluhů majoránky v našem stanovení byla v rozmezí od 71,2 do 86,8 mg ekv. KA/g. Vodní výluh majoránky v našem stanovení měl antioxidační aktivitu vyšší, to může být způsobeno tím, že v našem hodnocení se navážka vzorku extrahovala 100 °C vodou [67].

7.3 Určení hodnoty IC₅₀ ve vybraných vzorcích koření

Hodnota IC₅₀ byla zjištěna u 25 vzorků koření.

Pro výpočet hodnoty IC₅₀ byl sestrojen u každého vzorku koření graf závislosti inaktivace (%) na koncentraci výluhu koření (mg/ml). Z grafu byla zjištěna rovnice regresní přímky ve tvaru $y = kx \pm q$, kde y je hodnota inaktivace (%), v tomto případě 50 % a x je zjišťovaná koncentrace roztoku koření pro IC₅₀.

7.3.1 Hodnota IC₅₀ nového koření

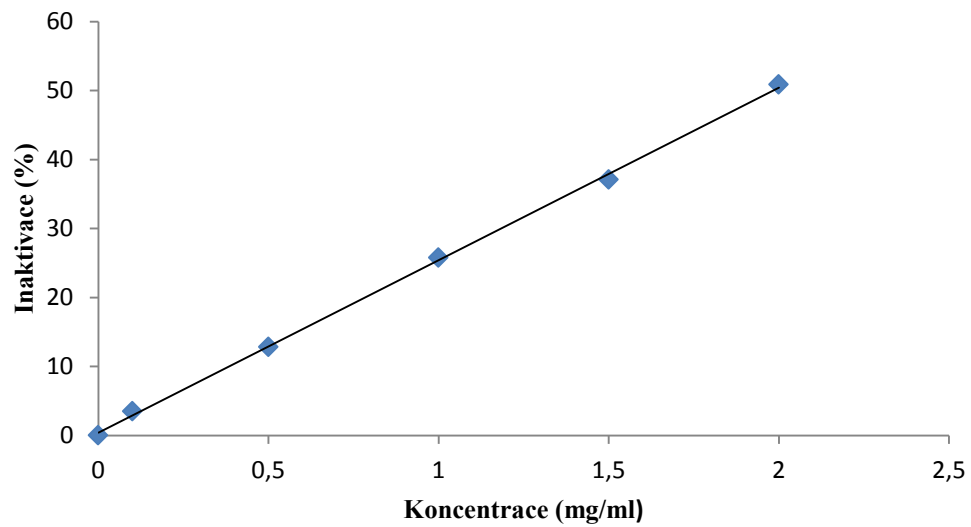
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů nového koření (nové koření1-3) jsou uvedeny v Tab. 6-8 a na Obr. 14-16.

NOVÉ KOŘENÍ-1

Koncentrace výluhů nového koření-1 byly od 0,1 do 2,00 mg/ml.

Tab. 6. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu nového koření-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
2,00	50,87
1,50	37,06
1,00	25,76
0,50	12,81
0,10	3,47
0	0



Obr. 14. Antioxidační aktivita nového koření-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 24,998 x + 0,4137$$

$$IC_{50} = 1,98 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9992$.

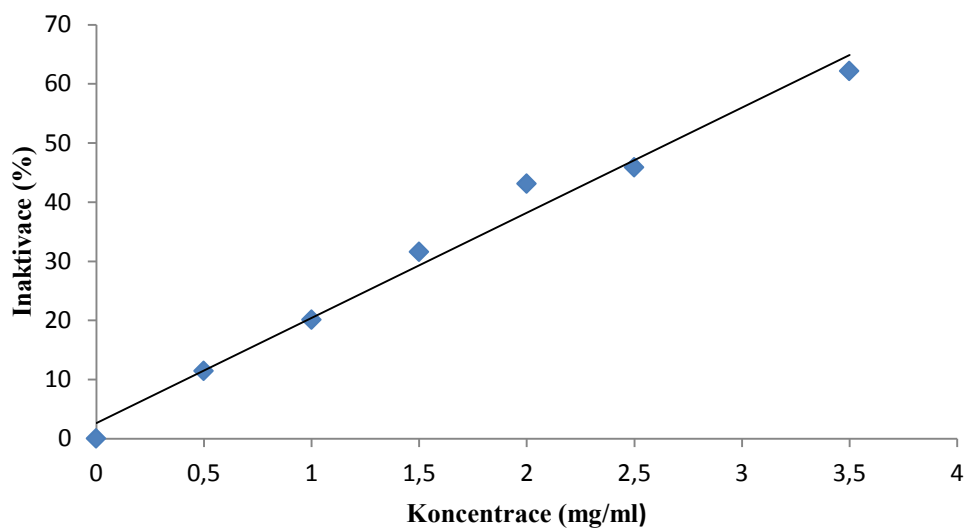
Hodnota IC_{50} nového koření-1 byla určena na 1,98 mg/ml.

NOVÉ KOŘENÍ-2

Koncentrace výluhů nového koření-2 byly od 0,5 do 3,50 mg/ml.

Tab. 7. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu nového koření-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
3,50	62,14
2,50	45,86
2,00	43,09
1,50	31,58
1,00	20,07
0,50	11,44
0	0



Obr. 15. Antioxidační aktivita nového koření-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 17,777 x + 2,6623$$

$$IC_{50} = 2,66 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9839$.

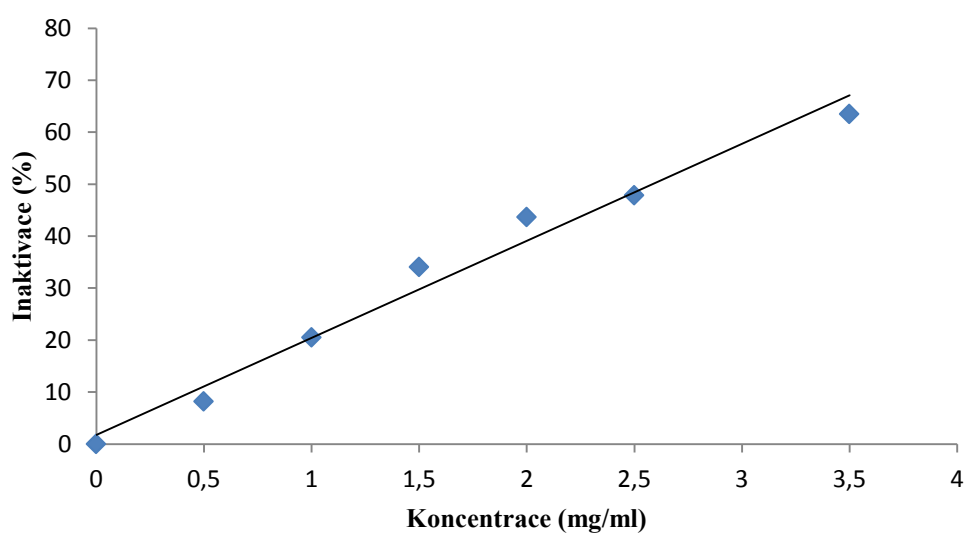
Hodnota IC_{50} nového koření-2 byla určena na 2,66 mg/ml.

NOVÉ KOŘENÍ-3

Koncentrace výluhů nového koření-3 byly od 0,5 do 3,50 mg/ml.

Tab. 8. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu nového koření-3

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
3,50	63,49
2,50	47,86
2,00	43,67
1,50	34,06
1,00	20,54
0,50	8,20
0	0



Obr. 16. Antioxidační aktivita nového koření-3

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 18,664 x + 1,7875$$

$$IC_{50} = 2,58 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9793$.

Hodnota IC_{50} nového koření-3 byla určena na 2,58 mg/ml.

Při porovnání hodnot IC_{50} u tří druhů nového koření vyšla nejvyšší hodnota u nového koření celého původem z Mexika, a to 2,66 mg/ml, má tedy nejnižší antioxidační účinek. Naopak nejvyšší antioxidační účinek mělo nové koření mleté od firmy Vitana s hodnotou 1,98 mg/ml. Hodnoty IC_{50} koření od různých výrobců se od sebe lišily jen minimálně. Při porovnání s antioxidační aktivitou se výsledky shodují, jsou ve stejném pořadí.

7.3.2 Hodnota IC_{50} kmínu

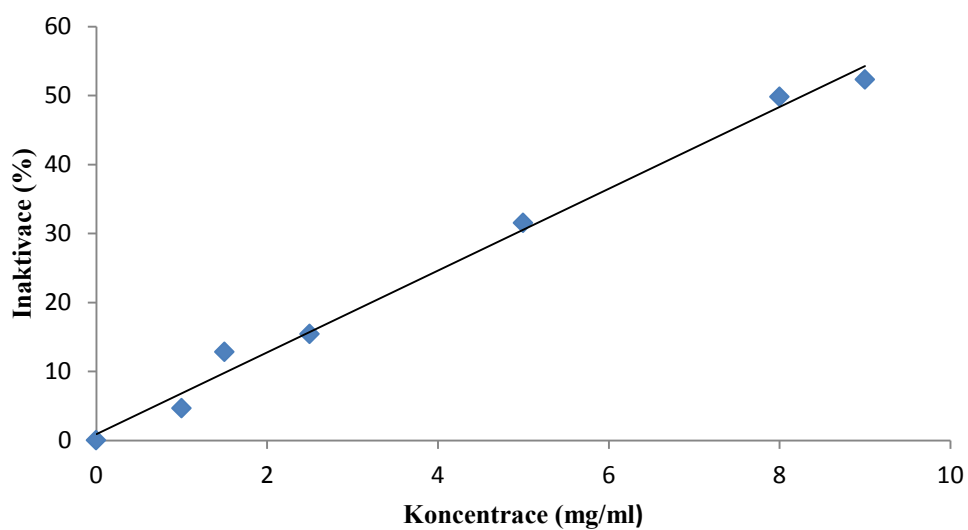
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů kmínů (kmín1-7) jsou uvedeny v Tab. 9-15 a na Obr. 17-23.

KMÍN-1

Koncentrace výluhů kmínu-1 byly od 1 do 9 mg/ml.

Tab. 9. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
9,00	52,32
8,00	49,78
5,00	31,52
2,50	15,40
1,50	12,82
1,00	4,66
0	0



Obr. 17. Antioxidační aktivita kmínu-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 5,9304 x + 0,9114$$

$$IC_{50} = 8,28 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9919$.

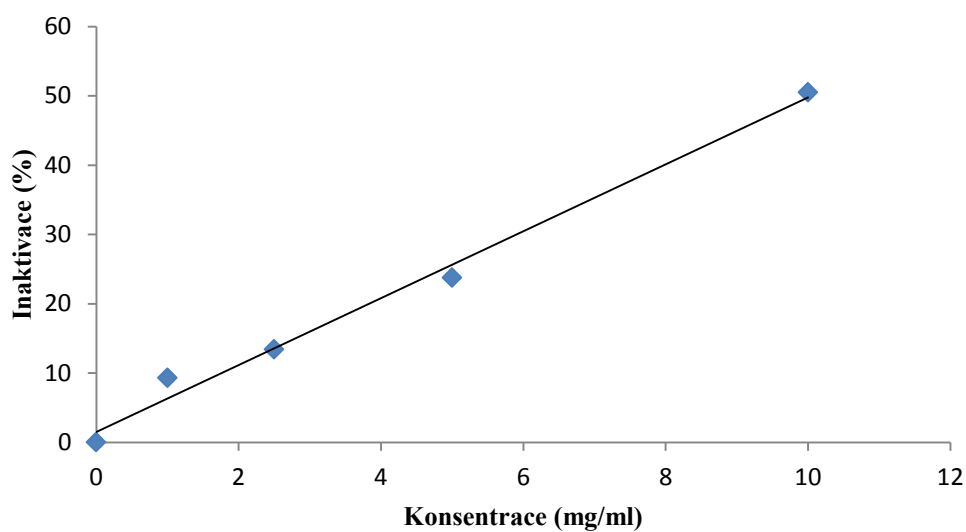
Hodnota IC_{50} kmínu-1 byla určena na 8,28 mg/ml.

KMÍN-2

Koncentrace výluhů kmínu-2 byly od 1 do 10 mg/ml.

Tab. 10. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	50,50
5,00	23,74
2,50	13,38
1,00	9,28
0	0



Obr. 18. Antioxidační aktivita kmínu-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 4,826 x + 1,5237$$

$$IC_{50} = 10,04 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9899$.

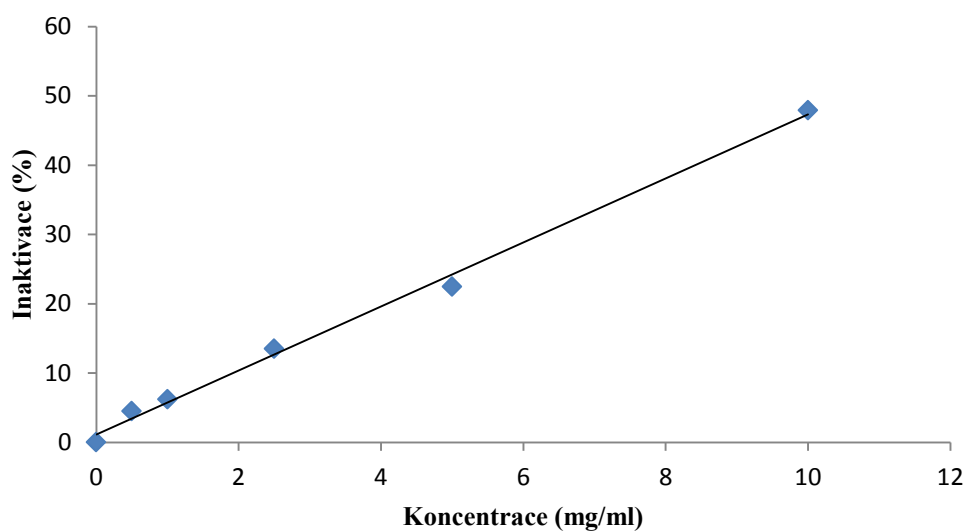
Hodnota IC_{50} kmínu-2 byla určena na 10,04 mg/ml.

KMÍN-3

Konzentrace výluhů kmínu-3 byly od 0,50 do 10 mg/ml.

Tab. 11. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-3

Konzentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	47,92
5,00	22,43
2,50	13,47
1,00	6,18
0,50	4,51
0	0



Obr. 19. Antioxidační aktivita kmínu-3

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 4,62 x + 1,1217$$

$$IC_{50} = 10,58 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9956$.

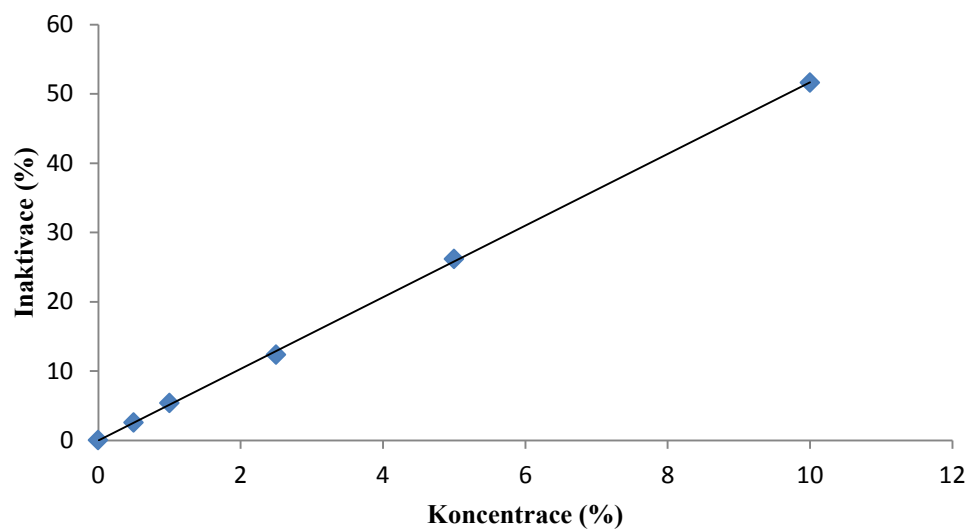
Hodnota IC_{50} kmínu-3 byla určena na 10,58 mg/ml.

KMÍN-4

Koncentrace výluhů kmínu-4 byly od 0,50 do 10 mg/ml.

Tab. 12. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-4

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	51,60
5,00	26,14
2,50	12,36
1,00	5,36
0,50	2,53
0	0



Obr. 20. Antioxidační aktivita kmínu-4

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 5,1694 x - 0,0382$$

$$IC_{50} = 9,68 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9998$.

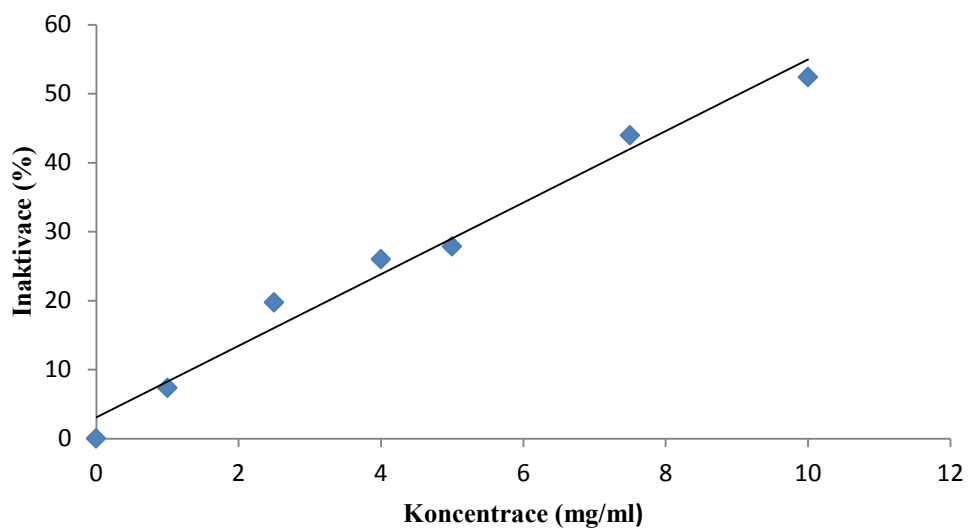
Hodnota IC_{50} kmínu-4 byla určena na 9,68 mg/ml.

KMÍN-5

Koncentrace výluhů kmínu-5 byly od 1 do 10 mg/ml.

Tab. 13. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-5

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	52,41
7,50	43,95
5,00	27,84
4,00	25,99
2,50	19,75
1,00	7,34
0	0



Obr. 21. Antioxidační aktivita kmínu-5

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 5,1868 x + 3,0964$$

$$IC_{50} = 9,04 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9806$.

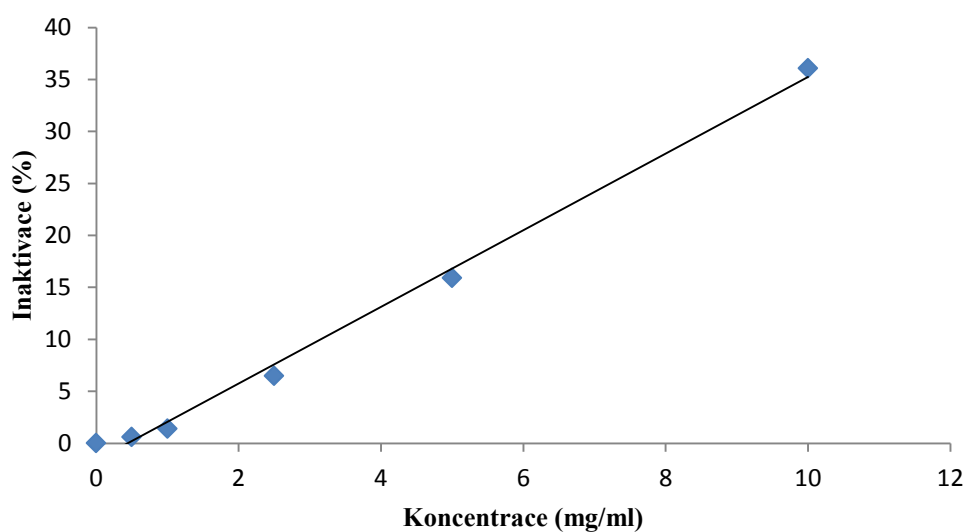
Hodnota IC_{50} kmínu-5 byla určena na 9,04 mg/ml.

KMÍN-6

Koncentrace výluhů kmínu-6 byly od 0,50 do 10 mg/ml.

Tab. 14. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-6

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	36,05
5,00	15,88
2,50	6,48
1,00	1,38
0,50	0,58
0	0



Obr. 22. Antioxidační aktivita kmínu-6

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 3,6857 x - 1,6097$$

$$IC_{50} = 14,00 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9939$.

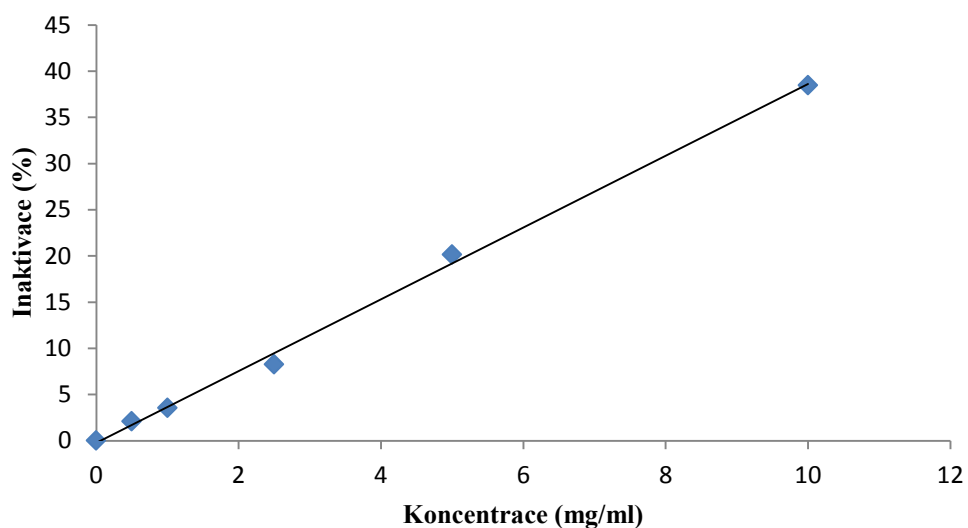
Hodnota IC₅₀ kmínu-6 byla určena na 14,00 mg/ml.

KMÍN-7

Koncentrace výluhů kmínu-7 byly od 0,50 do 10 mg/ml.

Tab. 15. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-7

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	38,44
5,00	20,12
2,50	8,26
1,00	3,53
0,50	2,1
0	0



Obr. 23. Antioxidační aktivita kmínu-7

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 3,8821 x - 0,2183$$

$IC_{50} = 12,94 \text{ mg/ml}$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9976$.

Hodnota IC_{50} kmínu římského byla určena na 12,94 mg/ml.

Hodnota IC_{50} sedmi druhů kmínu se pohybovala od 8,28 do 14,00 mg/ml. Kmín mletý od firmy Vitana měl nejnižší hodnotu IC_{50} a tedy nejvyšší antioxidační aktivitu, dále kmín celý původem z Rakouska, kmín-4, kmín-2, kmín mletý ze Slovenské republiky, kmín římský. Nejvyšší hodnota IC_{50} byla zjištěna u kmínu drceného od firmy Dle Gusta, který tedy měl nejnižší hodnotu antioxidační aktivity u vzorků kmínu. Při porovnání s antioxidační aktivitou byly vzorky ve stejném pořadí.

7.3.3 Hodnota IC_{50} skořice

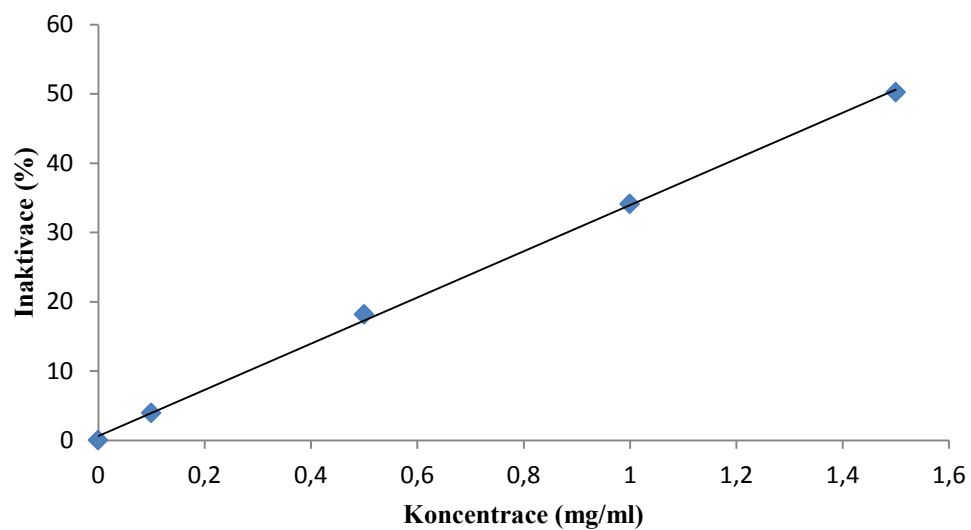
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů skořice (skořice1-3) jsou uvedeny v Tab. 16-18 a na Obr. 24-26.

SKOŘICE-1

Koncentrace výluhů skořice-1 byla od 0,1 do 1,5 mg/ml.

Tab. 16. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu skořice-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
1,50	50,21
1,00	34,08
0,50	18,17
0,10	3,93
0	0



Obr. 24. Antioxidační aktivita skořice-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 33,319 x + 0,62$$

$$IC_{50} = 1,48 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9992$.

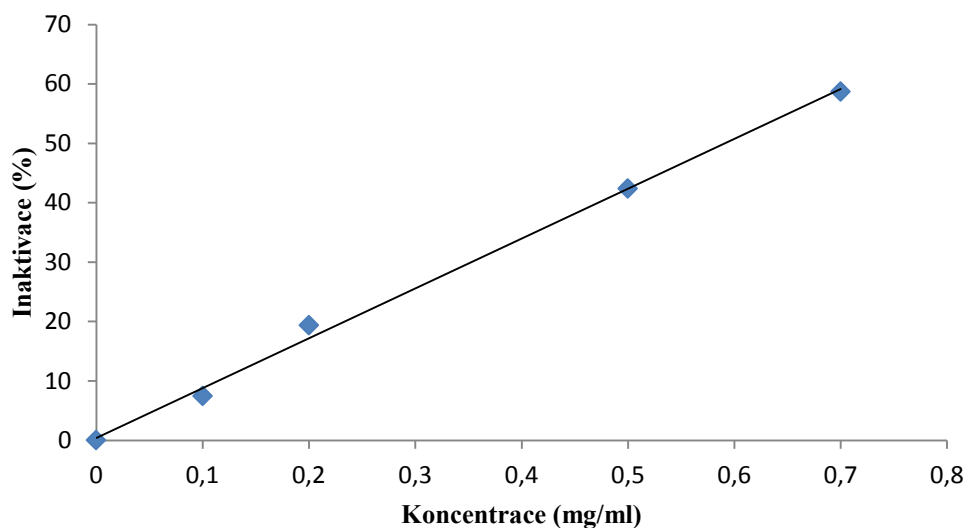
Hodnota IC_{50} skořice-1 byla určena na 1,48 mg/ml.

SKOŘICE-2

Koncentrace výluhů skořice-2 byla od 0,1 do 0,7 mg/ml.

Tab. 17. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu skořice-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
0,70	58,69
0,50	42,38
0,20	19,36
0,10	7,47
0	0



Obr. 25. Antioxidační aktivita skořice-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 83,888 x + 0,4135$$

$$IC_{50} = 0,59 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9971$.

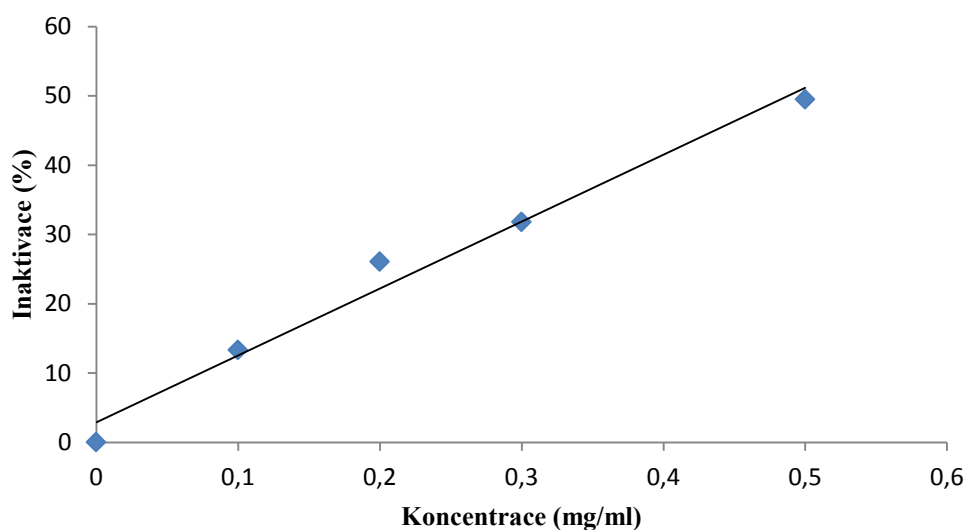
Hodnota IC_{50} skořice-2 byla určena na 0,59 mg/ml.

SKOŘICE-3

Koncentrace výluhů skořice-3 byla od 0,1 do 0,50 mg/ml.

Tab. 18. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu skořice-3

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
0,50	49,48
0,30	31,78
0,20	26,07
0,10	13,33
0	0



Obr. 26. Antioxidační aktivity skořice-3

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 96,458 x + 2,9112$$

$$IC_{50} = 0,49 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9809$.

Hodnota IC_{50} skořice-3 byla určena na 0,49 mg/ml.

Hodnoty IC_{50} tří druhů skořice se pohybovaly od 0,49 do 1,48 mg/ml. Skořice od firmy Euro Shopper měla nejnížší hodnotu IC_{50} , tedy nejvyšší antioxidační aktivitu. Dále byla skořice původem z Indonésie. Skořice od českého producenta měla nejvyšší hodnotu IC_{50} , tedy nejnížší hodnotu antioxidační aktivity. Ve stejném pořadí vyšly i hodnoty antioxidační aktivity.

7.3.4 Hodnota IC_{50} majoránky

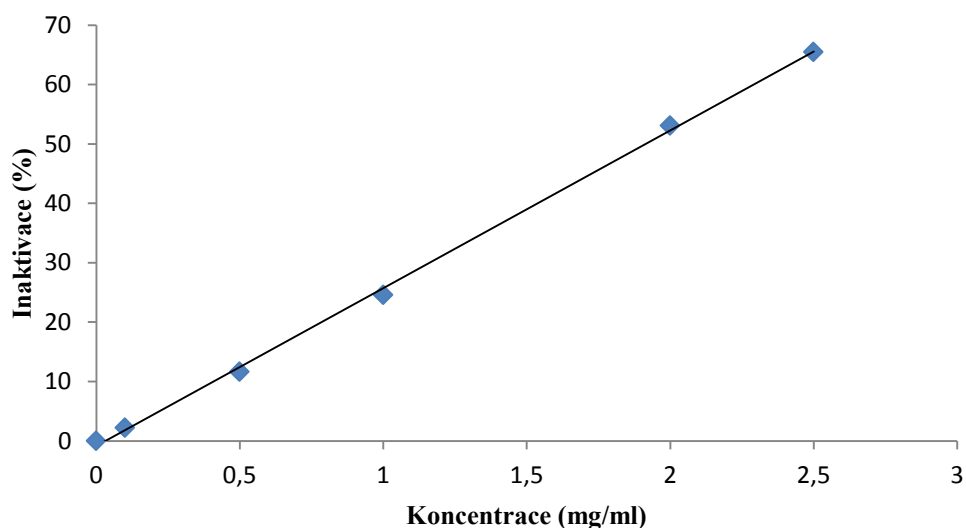
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů majoránky (majoránka 1-3) jsou uvedeny v Tab. 19-21 a na Obr. 27-29.

MAJORÁNKA-1

Koncentrace výluhů majoránky-1 byla od 0,1 do 2,50 mg/ml.

Tab. 19. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu majoránky-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
2,50	65,50
2,00	53,1
1,00	24,57
0,50	11,64
0,10	2,21
0	0



Obr. 27. Antioxidační aktivita majoránky-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 26,548 x - 0,8202$$

$$IC_{50} = 1,91 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9991$.

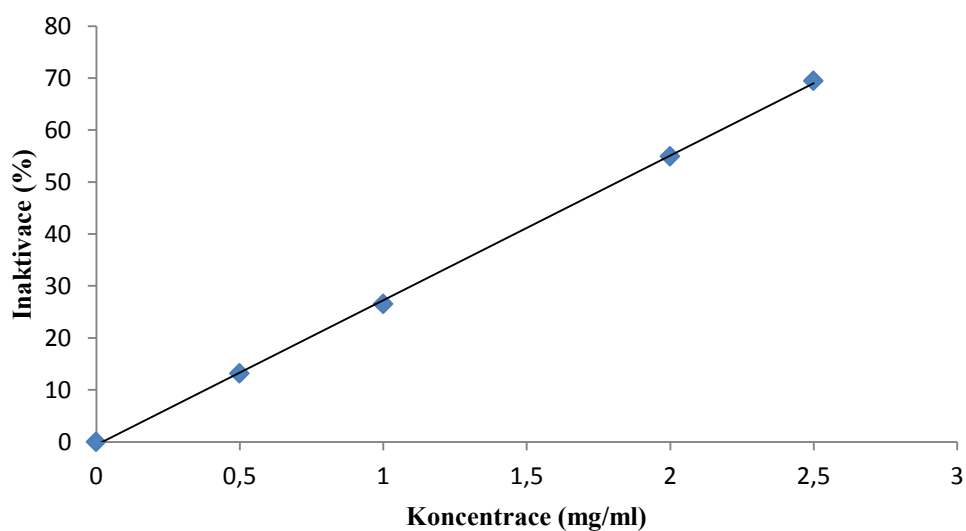
Hodnota IC_{50} majoránky-1 byla určena na 1,91 mg/ml.

MAJORÁNKA-2

Koncentrace výluhů majoránky-2 byla od 0,5 do 2,50 mg/ml

Tab. 20. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu majoránky-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
2,50	69,48
2,00	54,93
1,00	26,57
0,50	13,21
0	0



Obr. 28. Antioxidační aktivita majoránky-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 27,839 x - 0,5686$$

$$IC_{50} = 1,82 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9997$.

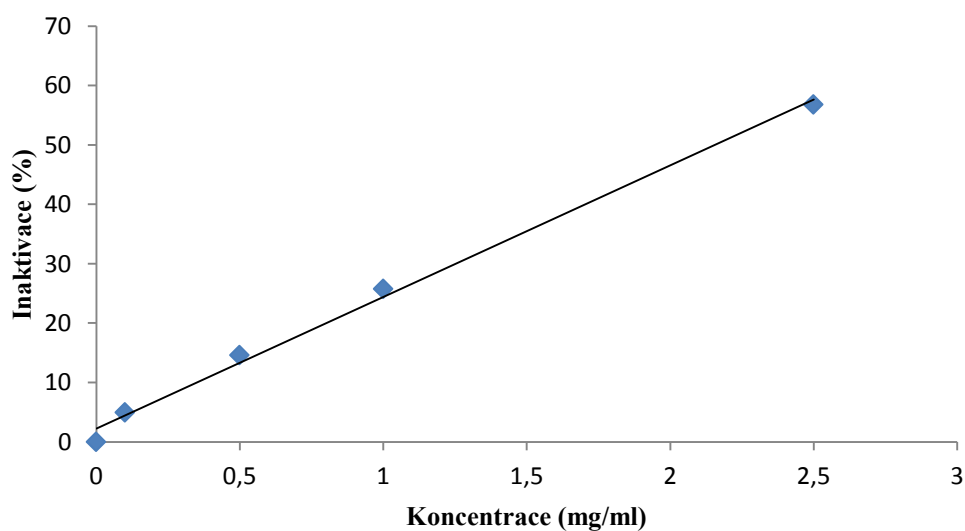
Hodnota IC_{50} majoránky-2 byla určena na 1,82 mg/ml.

MAJORÁNKA- 3

Koncentrace výluhů majoránky-3 byla od 0,1 do 2,50 mg/ml

Tab. 21. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu majoránky-3

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
2,50	56,82
1,00	25,77
0,50	14,62
0,10	4,94
0	0



Obr. 29. Antioxidační aktivita majoránky-3

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 22,146 x + 2,2704$$

$$IC_{50} = 2,16 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9954$.

Hodnota IC_{50} majoránky-3 byla určena na 2,16 mg/ml.

Hodnoty IC_{50} tří druhů majoránek se od sebe moc nelišily, od hodnoty 1,82 do hodnoty 2,16 mg/ml. Nejvyšší antioxidační aktivitu měla majoránka původem z Egypta, dále byla majoránka-1, nejnižší antioxidační aktivitu měla majoránka-3. Při porovnání s antioxidační aktivitou jsou výsledky ve stejném pořadí.

7.3.5 Hodnota IC_{50} muškátového ořechu

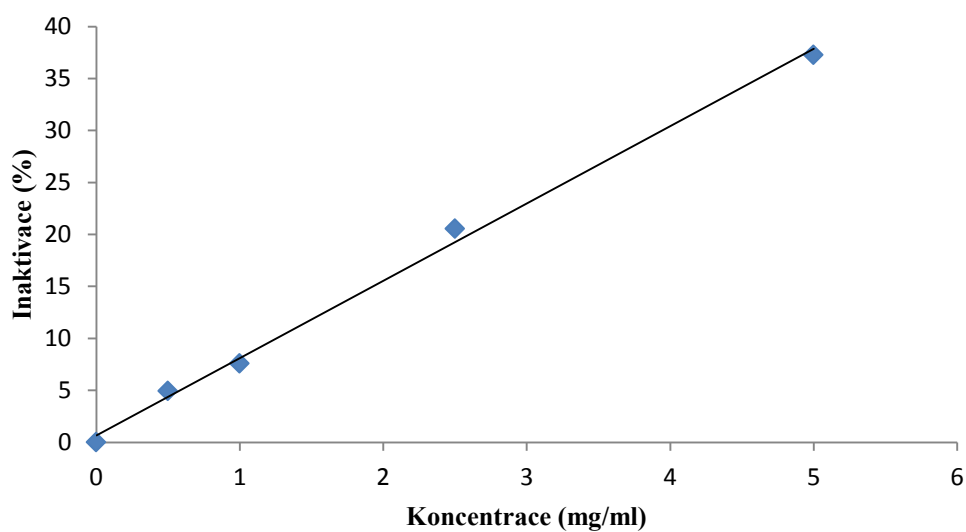
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů muškátového ořechu (muškátový ořech 1-2) jsou uvedeny v Tab. 22-23 a na Obr. 30-31.

MUŠKÁTOVÝ OŘECH-1

Koncentrace výluhů muškátového ořechu-1 byla od 0,5 do 5 mg/ml.

Tab. 22. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu muškátového ořechu-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
5,00	37,27
2,50	20,53
1,00	7,59
0,50	4,92
0	0



Obr. 30. Antioxidační aktivita muškátového ořechu-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 7,4336 x + 0,6816$$

$$IC_{50} = 6,63 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9967$.

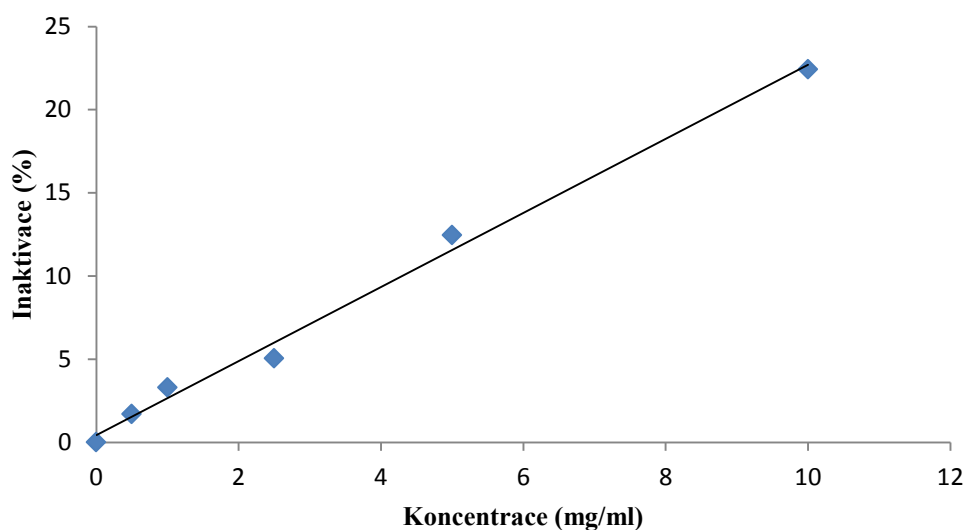
Hodnota IC_{50} muškátového ořechu-1 byla určena na 6,63 mg/ml.

MUŠKÁTOVÝ OŘECH-2

Koncentrace výluhů muškátového ořechu-2 byla od 0,5 do 10 mg/ml

Tab. 23. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu muškátového ořechu-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	22,42
5,00	12,45
2,50	5,05
1,0	3,3
0,50	1,69
0	0



Obr. 31. Antioxidační aktivita muškátového ořechu-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 2,2259 x + 0,4364$$

$$IC_{50} = 22,27 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9934$.

Hodnota IC_{50} muškátového ořechu-2 byla určena na 22,27 mg/ml.

Hodnoty IC_{50} muškátového ořechu od dvou výrobců se od sebe poměrně hodně lišily. Muškátový ořech od firmy Vitana měl hodnotu 6,63 mg/ml, má tedy vyšší antioxidační účinek než muškátový ořech od firmy Kotanyi, který měl hodnotu IC_{50} asi 3,3x vyšší a to 22,27 mg/ml. To se shoduje i s výsledky hodnocení antioxidační aktivity.

7.3.6 Hodnota IC_{50} fenyklu

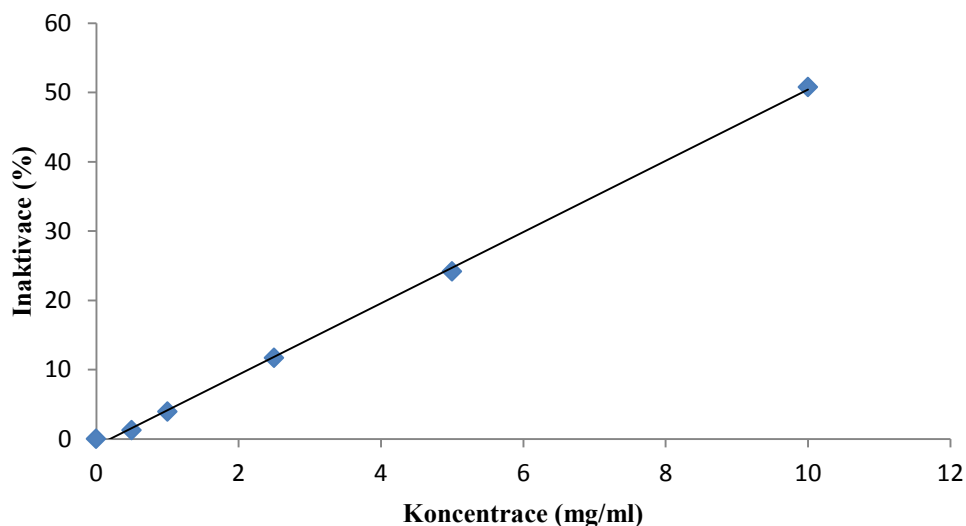
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů fenyklů (fenykl1-2) jsou uvedeny v Tab. 24-25 a na Obr. 32-33.

FENYKL-1

Koncentrace výluhů fenyklu-1 byla od 0,5 do 10 mg/ml

Tab. 24. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu fenyklu-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	50,78
5,00	24,17
2,50	11,68
1,0	3,92
0,50	1,26
0	0



Obr. 32. Antioxidační aktivita fenyklu-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 5,1383 x - 0,9695$$

$$IC_{50} = 9,92 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9992$.

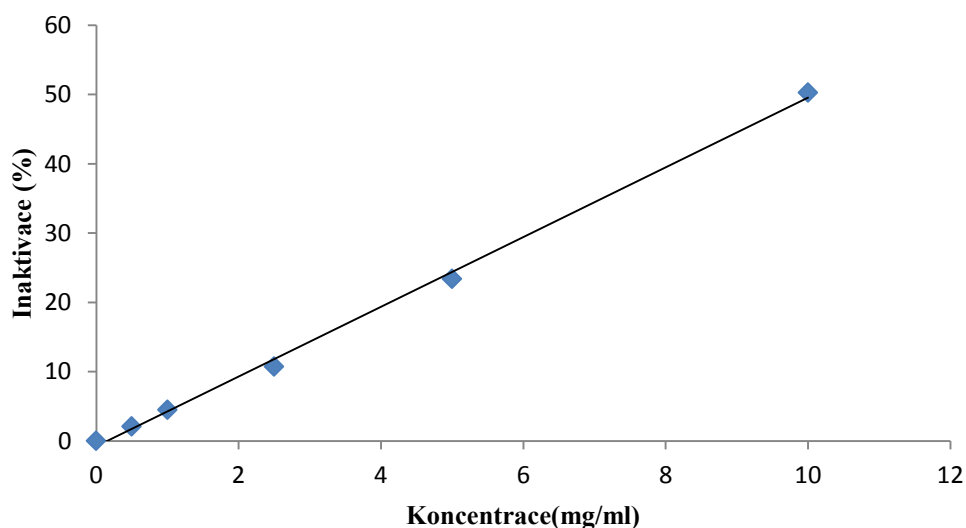
Hodnota IC_{50} fenyklu-1 byla určena na 9,92 mg/ml.

FENYKL-2

Koncentrace výluhů fenyklu-2 byla od 0,5 do 10 mg/ml

Tab. 25. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu fenyklu-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	50,26
5,00	23,38
2,50	10,72
1,0	4,51
0,50	2,10
0	0



Obr. 33. Antioxidační aktivita fenyklu-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 5,0293 x - 0,7646$$

$$IC_{50} = 10,09 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9981$.

Hodnota IC_{50} fenyklu-2 byla určena na 10,09 mg/ml.

Výsledky hodnot IC_{50} jsou od hodnoty 9,92 do 10,09 mg/ml. Rozdíl těchto hodnot je tedy malý. Antioxidační aktivita vyšla také ve stejném pořadí i rozdíly antioxidační aktivity byly malé. Ve své práci se Shahat a kol. zabývali hodnotou IC_{50} fenyklu. Jejich zjištění hodnoty IC_{50} fenyklu byla stanovena na 15,33 mg/ml, což je srovnatelné s námi stanovenými hodnotami [68].

7.3.7 Hodnota IC_{50} anýzu

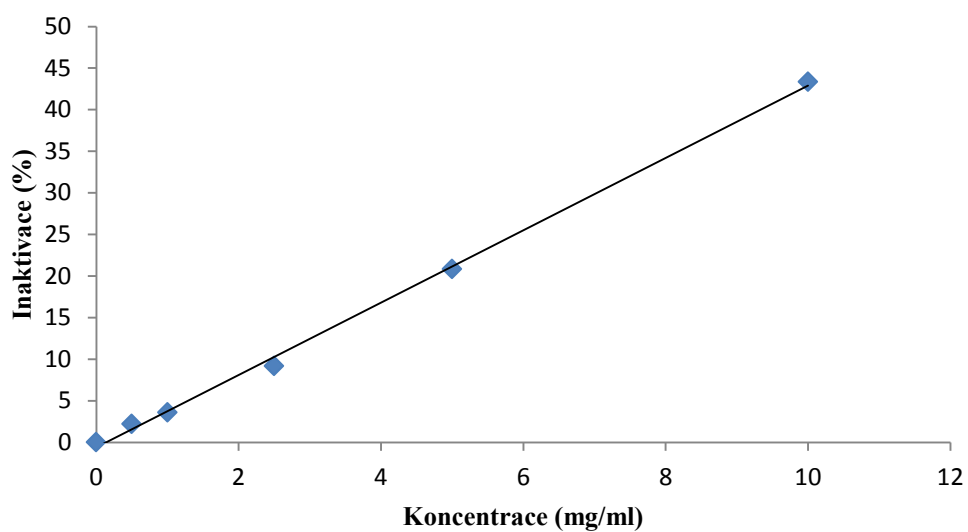
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů anýzu (anýz1-3) jsou uvedeny v Tab. 26-28 a na Obr. 34-36.

ANÝZ-1

Koncentrace výluhů anýzu-1 byla od 0,5 do 10 mg/ml.

Tab. 26. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu anýzu-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	43,35
5,00	20,83
2,50	9,15
1,0	3,58
0,50	2,19
0	0



Obr. 34. Antioxidační aktivita anýzu-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 4,3509 x - 0,5946$$

$$IC_{50} = 11,63 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9983$.

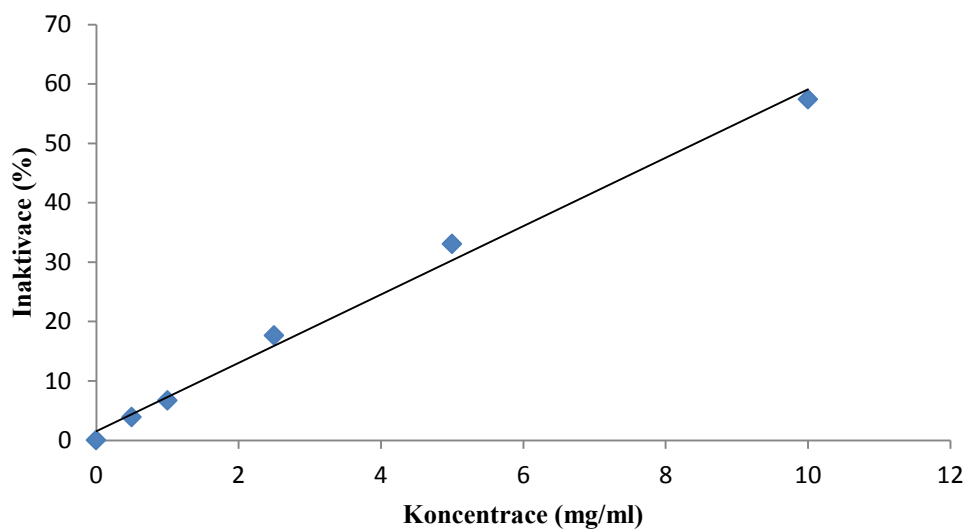
Hodnota IC_{50} anýzu-1 byla určena na 11,63 mg/ml.

ANÝZ-2

Koncentrace výluhů anýzu-2 byla od 0,5 do 10 mg/ml.

Tab. 27. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu anýzu-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	57,39
5,00	33,03
2,50	17,61
1,0	6,69
0,50	3,87
0	0



Obr. 35. Antioxidační aktivita anýzu-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 5,7534 x + 1,5458$$

$$IC_{50} = 8,42 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9933$.

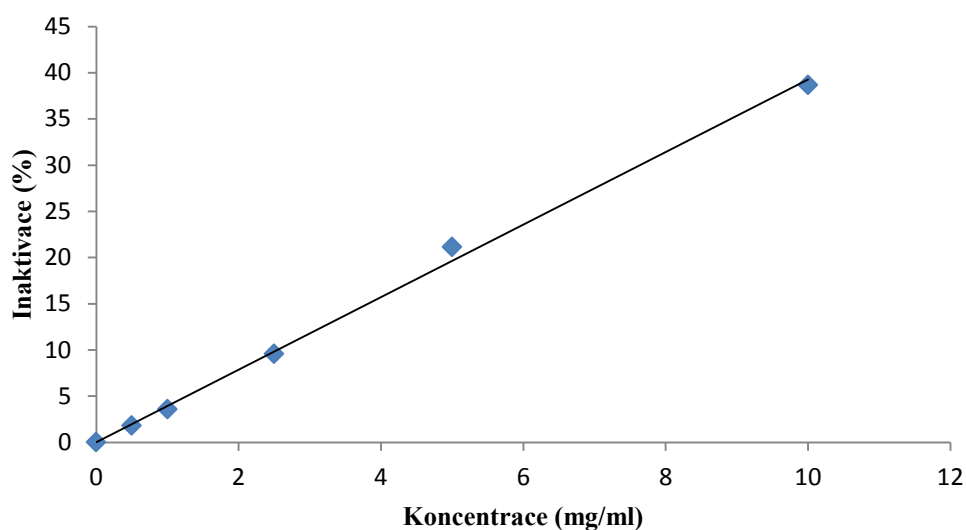
Hodnota IC_{50} anýzu-2 byla určena na 8,42 mg/ml.

ANÝZ-3

Koncentrace výluhů anýzu-3 byla od 0,5 do 10 mg/ml.

Tab. 28. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu anýzu-3

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
10,00	38,65
5,00	21,15
2,50	9,55
1,0	3,56
0,50	1,8
0	0



Obr. 36. Antioxidační aktivita anýzu-3

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 3,9263 x + 0,0183$$

$$IC_{50} = 12,73 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9974$.

Hodnota IC_{50} anýzu-3 byla určena na 12,73 mg/ml.

Hodnoty IC_{50} anýzu od tří výrobců byly zjištěny od 8,42 do 12,73 mg/ml. Anýz od firmy Equicentrum měl nejvyšší hodnotu antioxidační aktivity, nejnižší hodnotu antioxidační aktivity měl anýz od firmy Kotanyi. Stejně pořadí vyšlo i při antioxidační aktivitě.

7.3.8 Hodnota IC_{50} hřebíčku

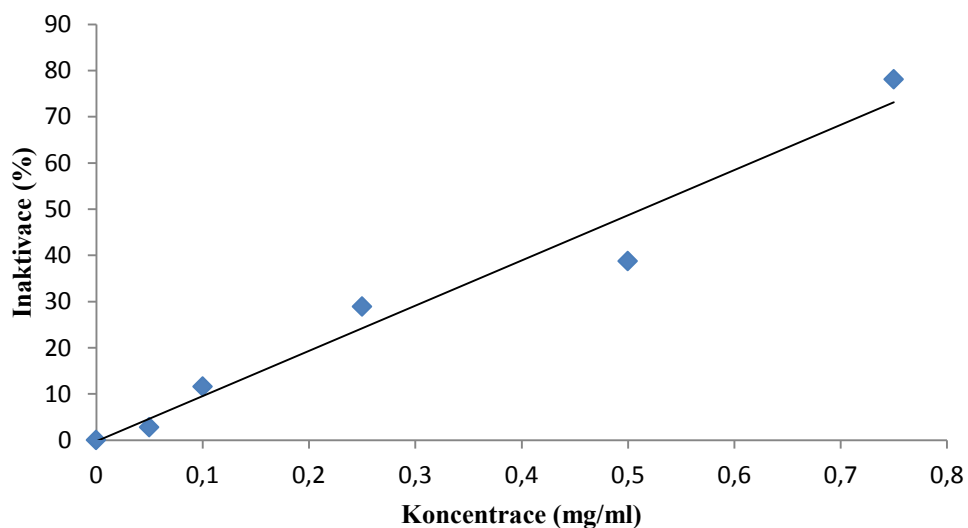
Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů hřebíčku (hřebíček1-2) jsou uvedeny v Tab. 29-30 a na Obr. 37-38.

HŘEBÍČEK-1

Koncentrace výluhů hřebíček-1 byla od 0,05 do 0,75 mg/ml.

Tab. 29. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu hřebíčku-1

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
0,75	78,10
0,50	38,74
0,25	28,92
0,10	11,55
0,05	2,78
0	0



Obr. 37. Antioxidační aktivita hřebíčku-1

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 97,854 x - 0,2282$$

$$IC_{50} = 0,51 \text{ mg/ml}$$

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9645$.

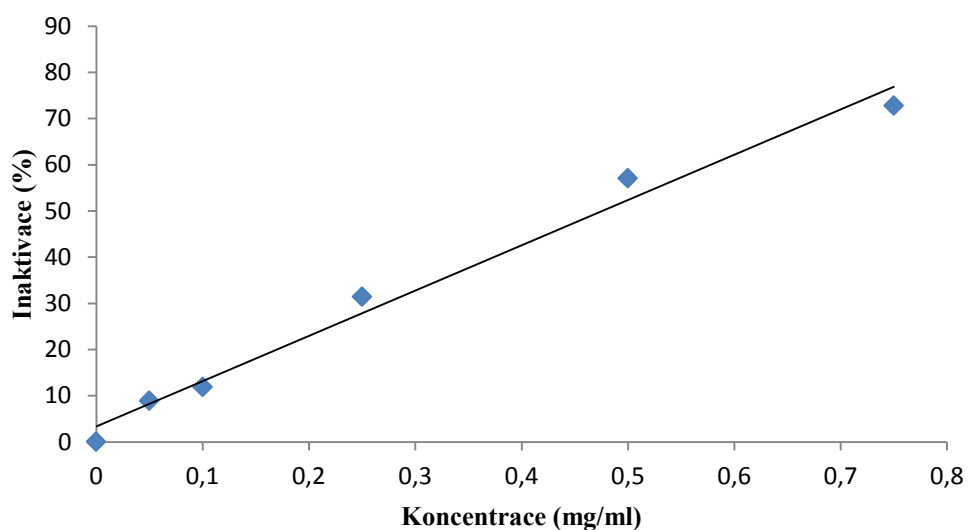
Hodnota IC_{50} hřebíčku-1 byla určena na 0,51 mg/ml.

HŘEBÍČEK-2

Koncentrace výluhů hřebíček-2 byla od 0,05 do 0,75 mg/ml.

Tab. 30. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu hřebíčku-2

Koncentrace (mg/ml)	Inaktivace (%)
0,75	72,76
0,50	57,02
0,25	31,40
0,10	11,85
0,05	8,89
0	0



Obr. 38. Antioxidační aktivita hřebíčku-2

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 98,055 x + 3,3548$$

$$IC_{50} = 0,48 \text{ mg/ml}$$

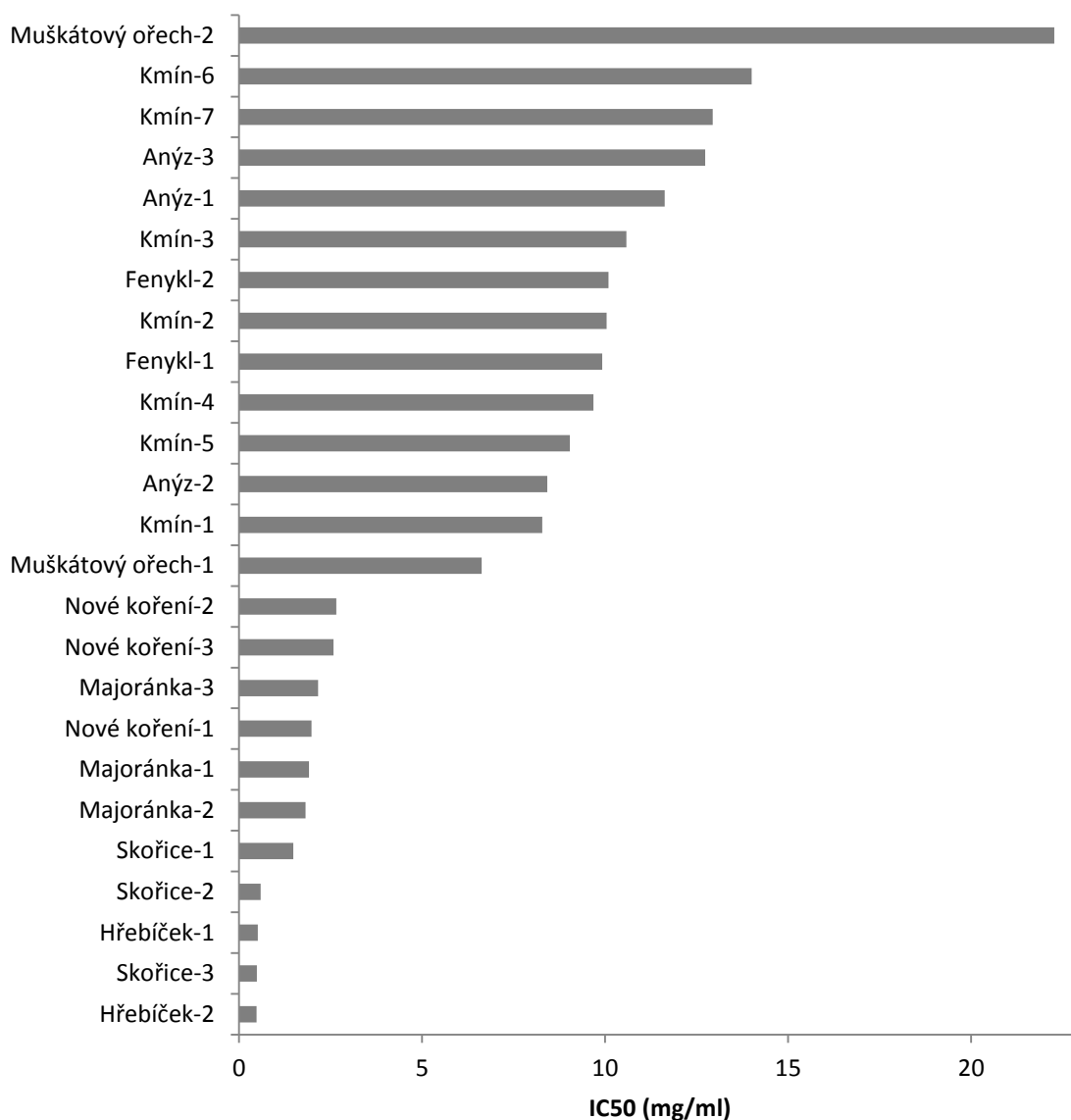
Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9848$.

Hodnota IC_{50} hřebíčku-2 byla určena na 0,48 mg/ml.

Hodnoty IC_{50} obou hřebíčků jsou podobné. Hřebíček-2 má vyšší antioxidační aktivitu než hřebíček-1. Hřebíček od firmy Euro Shopper má celkově ze všech koření nejnižší hodnotu IC_{50} a měl tedy nejvyšší antioxidační aktivitu ze všech koření, které byly analyzovány. Při porovnání s antioxidační aktivitou vyšel výsledek větší antioxidační aktivity u hřebíčku Vitana. V tomto případě nebyly výsledky v úplné shodě s výsledky antioxidační aktivity.

7.3.9 Porovnání výsledků hodnot IC_{50}

Ze stanovených hodnot IC_{50} u 25 vzorků koření byl sestrojen graf na Obr. 39, dle sestupného pořadí hodnot IC_{50} . Protože nejvyšší hodnota IC_{50} = nejnižší antioxidační aktivita, měl nejnižší antioxidační aktivitu muškátový ořech firmy Kotanyi. Nejvyšší antioxidační aktivitu měl hřebíček firmy Euro Shopper.



Obr. 39. Výsledky IC_{50} u koření.

7.4 Výsledky měření celkového obsahu polyfenolů

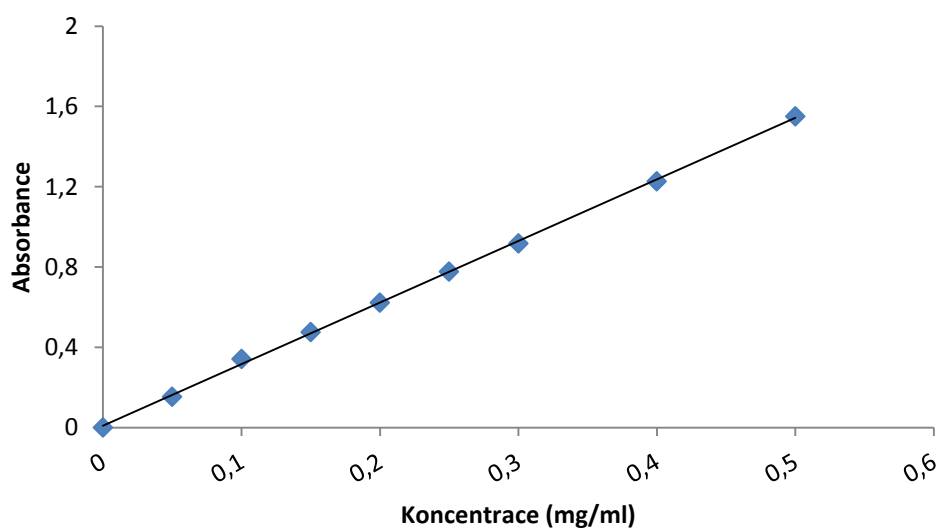
Celkový obsah polyfenolů byl zjišťován u 26 vzorků koření. Postup měření byl popsán v kapitole 6.4.

7.4.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Kalibrační křivka kyseliny gallové byla sestavena postupem popsáním v kapitole 6.4.1. Hodnoty pro kalibrační křivku kyseliny gallové jsou obsaženy v Tab. 31. Obr. 40 ilustruje graf kalibrační křivky kyseliny gallové.

Tab. 31. Hodnoty pro kalibrační křivku kys. gallové

Koncentrace GA (mg/ml)	Absorbance
0,5	1,551
0,4	1,226
0,3	0,918
0,25	0,777
0,2	0,623
0,15	0,475
0,1	0,341
0,05	0,153
0	0



Obr. 40. Kalibrační křivka kyseliny gallové

Rovnice regresní přímky, určená z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 3,0664 x + 0,0094$$

y - absorbance

x - koncentrace kyseliny gallové (mg/ml)

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9994$.

7.4.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů v kořeni spektrofotometricky

Celkový obsah polyfenolů byl zjištěn u 26 vzorků kořeni pomocí Folin-Ciocalteova činidla. Tab. 32 zobrazuje výsledky celkového obsahu polyfenolů v kořeni.

Hodnoty absorbance vzorku kořeni byly dosazeny do rovnice regrese kalibrační křivky kyseliny gallové na zjištění obsahu celkových polyfenolů, které byly vyjádřeny jako mg kyseliny gallové na gram vzorku a také jako mg kyseliny gallové na gram sušiny vzorku.

Tab. 32. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů v kořeni

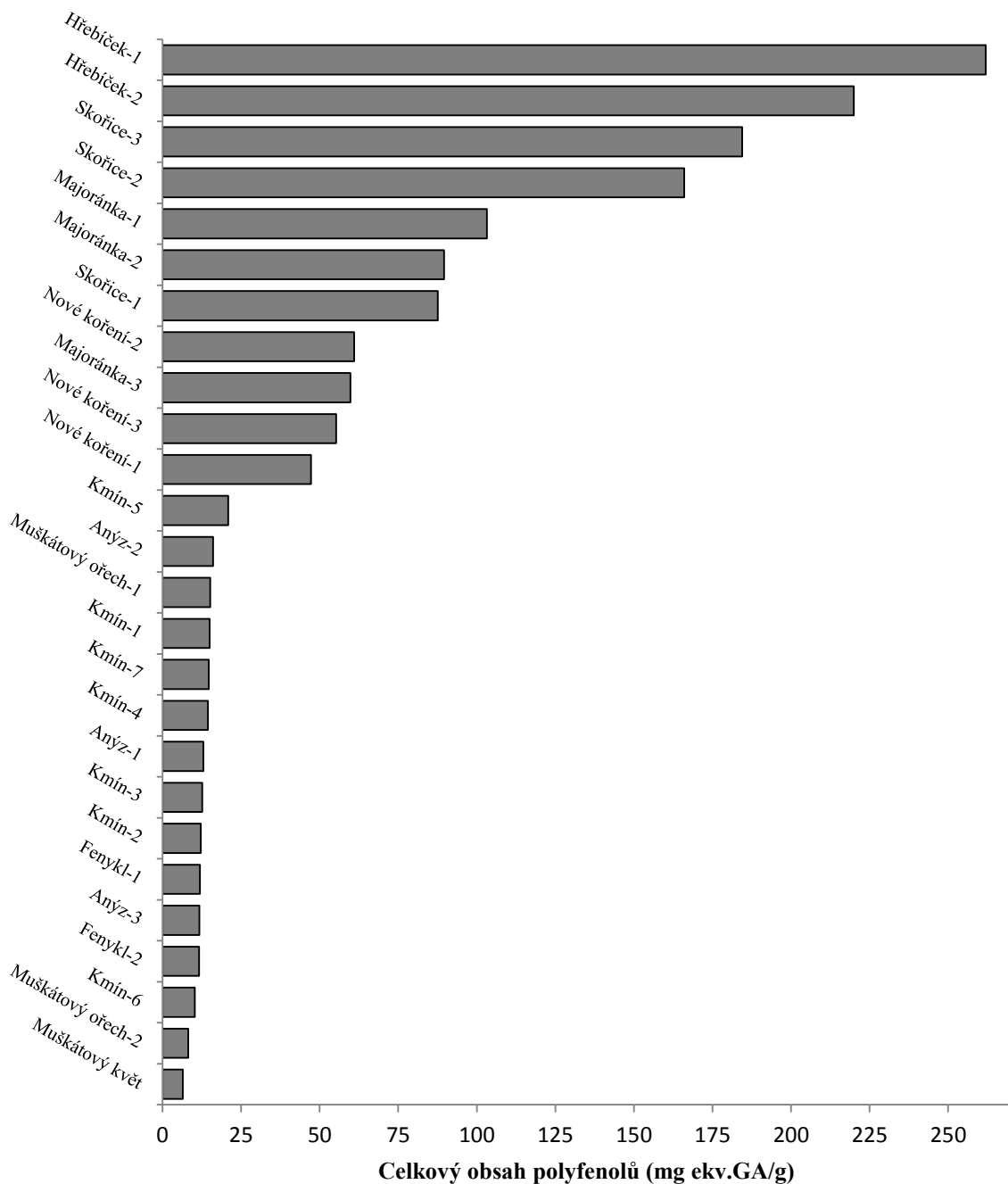
Vzorek kořeni	Výluh (%)	A_{vzorek}	Obsah polyfenolů (mg GA/g vzorku)	Sušina (%)	Obsah polyfenolů (mg GA/g sušiny)
Nové kořeni-1	50	0,734	47,2	88,5	53,3
Nové kořeni-2	50	0,946	61,0	90,6	67,3
Nové kořeni-3	50	0,856	55,2	89,4	61,7
Kmín-1	100	0,468	15,0	89,5	16,8
Kmín-2	100	0,383	12,2	89,7	13,6
Kmín-3	100	0,393	12,6	89,9	14,0
Kmín-4	100	0,450	14,4	90,7	15,9
Kmín-5	100	0,650	20,9	91,2	22,9
Kmín-6	100	0,325	10,3	89,5	11,5
Kmín-7	100	0,461	14,7	91,2	16,1
Skořice-1	25	0,681	87,6	88,2	99,3
Skořice-2	100	1,026	166,0	88,9	186,7
Skořice-3	100	1,142	184,5	88,9	207,5

Tab. 32. Pokračování Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů v kořeni

Majoránka-1	25	0,799	103,2	91,1	113,3
Majoránka-2	25	0,696	89,6	91,3	98,1
Majoránka-3	50	0,926	59,8	92,1	64,9
Muškatový květ	100	0,205	6,4	85,4	7,5
Muškatový ořech-1	100	0,476	15,2	90,2	16,9
Muškatový ořech-2	100	0,260	8,2	87,6	9,4
Fenykl-1	100	0,373	11,9	91,7	13,0
Fenykl-2	100	0,365	11,6	92,4	12,6
Anýz-1	100	0,408	13,0	83,1	15,6
Anýz-2	100	0,503	16,1	92,9	17,3
Anýz-3	100	0,369	11,7	92,1	12,7
Hřebíček-1	10	0,813	262,0	83,1	315,3
Hřebíček-2	10	0,683	220,0	85,6	257,0

Zjištěný obsah celkového množství polyfenolů v kořeni se pohyboval od hodnoty 6,4 do hodnoty 262 mg GA/g vzorku. Na Obr. 41 je sestaven graf dle sestupnosti celkového obsahu polyfenolů v kořeni.

Nejvyšší celkový obsah polyfenolů byl zjištěn u vzorku hřebíčku z České republiky (262 mg GA/g vzorku), u hřebíčku od firmy Euro Shopper (220 mg GA/g vzorku), u skořice ze Slovenské republiky (184,5 mg GA/g vzorku) a skořice původem z Indonesie (166 mg GA/g vzorku). Nejnižší celkový obsah polyfenolů byl stanoven u vzorku muškátového květu z České republiky (6,4 mg GA/g vzorku), u vzorku muškátového ořechu, původem z Grenady (8,2 mg GA/g vzorku), u drceného kmínu ze Slovenské republiky (10,3 mg GA/g vzorku) a vzorku fenyklu od firmy Thymos (11,6 mg GA/g vzorku).



Obr. 41. Celkový obsah polyfenolů v koření

Wojdylo a kol. ve své studii zjišťovali obsah celkových polyfenolů kmínu, skořice, muškátového ořechu a hřebíčku. Vzorek koření se extrahoval s 80 % metanolem. Absorbance se zjišťovala při 765 nm, standardem byla kyselina gallová, stanovení bylo pomocí Folin-Ciocalteova činidla. Celkový obsah polyfenolů stanovili u kmínu na 0,07 mg ekv. GA/100

g, u skořice 0,13 mg ekv. GA/100 g, u muškátového ořechu na 8,95 mg ekv. GA/100 g a u hřebíčku 8,96 mg ekv. GA/100 g. Hřebíček má tedy nejvyšší obsah celkových polyfenolů, v naší práci byl obsah celkových polyfenolů u hřebíčku také nejvyšší. Z tohoto pohledu se tedy dá říci, že hřebíček je kořením s jedním z nejvyšších obsahů celkových polyfenolů [63].

Mei Lu a kol. (23) ve své studii zjišťovali obsah celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteova činidla. Vzorek koření se extrahoval s 60 % etanolem, standardem byla kyselina gallová. Celkový obsah polyfenolů byl stanoven u fenyklu na 6,76 mg ekv. GA/g, u kmínu na 9,00 mg ekv. GA/g, u muškátového ořechu 18,23 mg ekv. GA/g a u skořice 45,24 mg ekv. GA/g. V porovnání s našimi výsledky patří skořice také mezi koření s nejvyšším obsahem celkových polyfenolů (naš výsledek byl v rozmezí od 87,60 do 184,5 mg ekv. KG/g. Celkový obsah polyfenolů u našich vzorků muškátových ořechů byl od 8,2 do 15,2 mg ekv. GA/g, u kmínu se pohyboval v rozmezí od 10,3 do 20,9 mg ekv. GA/g a celkový obsah našich vzorků fenyklů byl v rozmezí od 11,6 do 11,9 mg ekv. GA/g. Naše výsledky jsou trochu odlišné [64].

Ranilla a kol. ve své studii určovali obsah celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteova činidla u vzorku kmínu římského a skořice. Vzorek koření byl extrahován 95 °C destilovanou vodou. Jako standard byla použita kyselina gallová. Absorbance se měřila při 725 nm. Kde skořice měla 27 mg GA/g a kmín římský měl 2,5 mg GA/g. Naše výsledky obsahu polyfenolů jsou u obou druhů koření vyšší, to může být způsobeno různými faktory, jako jsou podmínky stanovení, teplotou, původem vzorku koření, klimatickými podmínkami aj [65].

V článku Chrpové a kol. se stanovoval celkový obsah polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteova činidla u koření majoránky. Vzorek majoránky byl extrahován 70 °C demineralizovanou vodou, standardem byla kyselina gallová, absorbance byla měřena při 760 nm. Celkový obsah polyfenolů stanovili na 27,7 mg GA/g, Naše hodnoty celkového obsahu polyfenolů u vzorků majoránky byly v rozmezí od 59,8 do 103,2 mg ekv. GA/g. Naše hodnoty jsou asi 1x až 3x vyšší [67].

ZÁVĚR

Předložená diplomová práce se zabývá analýzou vybraných druhů koření – anýz, fenykl, hřebíček, kmín, majoránka, muškátový ořech a květ, nové koření a skořice. Koření patří mezi zdroje antioxidantů působící proti volným radikálům, a tím proti oxidaci.

Cílem diplomové práce bylo stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH, hodnot IC_{50} a obsahu celkových polyfenolů metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem u vybraných druhů koření. Analyzováno bylo 9 druhů koření, 26 vzorků ve formě mleté, celé, drcené nebo drhnuté.

Metodou DPPH a přepočtem na standard kyseliny askorbové byla zjištěna antioxidační aktivita vybraných druhů koření. Nejvyšší antioxidační aktivita byla zjištěna u vzorků hřebíčků (324 mg KA/g u hřebíčku z České republiky a 302,7 mg KA/g u hřebíčku ze Slovenské republiky) a u skořice (312 mg KA/g). Nejnižší antioxidační aktivita byla stanovena u muškátového květu (4,9 mg KA/g), u muškátového ořechu, původem z Grenady (7,4 mg KA/g) a u kmínu značky Dle Gusta (11,5 mg KA/g).

Hodnota IC_{50} udává koncentraci extraktu z koření, při které je schopno odbourat 50 % radikálu DPPH. Nejnižší hodnota IC_{50} znamená nejvyšší antioxidační účinek. Nejvyšší antioxidační účinek byl zjištěn u hřebíčku značky Euro Shopper (0,48 mg/ml), skořice značky Euro Sopper (0,49 mg/ml) a hřebíčku značky Vitana (0,51 mg/ml). Nejnižší antioxidační účinek měl muškátový ořech značky Kotanyi (22,27 mg/ml), kmín drcený ze Slovenské republiky (14 mg/ml) a kmín římský, původem z Indie (12,94 mg/ml).

Celkový obsah polyfenolů byl analyzován metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem v přepočtu na standard kyseliny gallové. Nejvyšší obsah celkových polyfenolů byl zjištěn u vzorků hřebíčků (262 a 222 mg GA/g) a skořice ze Slovenské republiky (184,5 mg GA/g). Nejnižší obsah celkových polyfenolů byl stanoven u muškátového květu (6,4 mg GA/g), muškátového ořechu původem z Grenady (8,2 mg GA/g) a u drceného kmínu značky Dle Gusta (10,3 mg GA/g).

Z hodnot antioxidační aktivity, IC_{50} i obsahu celkových polyfenolů vyplývá, že nejvyšší obsah antioxidantů a největší antioxidační aktivitu z vybraných koření, které se analyzovalo má koření hřebíčku. Analyzovány byly 2 vzorky hřebíčku. Jeden vzorek značky Vitana z České republiky a druhý vzorek značky Euro Shopper ze Slovenské republiky. Rozdíl v

antioxidační aktivitě vzorků hřebíčků byl 21,3 mg KA/g vzorku a diference v celkovém obsahu polyfenolů u vzorků hřebíčků byl zjištěn na 42 mg GA/g vzorku.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KADLEC, P., K. MELZOCH a M. VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?* Ostrava: Key Publishing, 2009. ISBN 978-80-7418-051-4.
- [2] LORENCOVÁ, Klára. *Koření známé i neznámé.* Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1934-4.
- [3] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin II.* Praha: Všcht, 2002. ISBN 80-7080-510-2.
- [4] RŮŽIČKOVÁ, Gabriela a Blanka KOCOURKOVÁ. *Koření – zdroje pěstování a zpracování.* [online]. Brno: Agronomická fakulta [cit. 2014-03-20]. Dostupné z: http://pssp.cz/multi_dvd/index.html
- [5] MORRISOVÁ, Sallie. *Koření.* Praha: Svojtka & Co, 2002. ISBN 80-7237-574-1.
- [6] VERMEULEN, Nico. *Encyklopedie bylin a koření.* Čestlice: Rebo Productions, 1999. ISBN 80-7234-067-0.
- [7] GREŠÍK, Valdemar. *Léčivé rostliny. Jejich vlastnosti, účinky a použití.* Praha: Eminent, 2013. ISBN 978-80-7281-460-2.
- [8] *Obrázek koření anýzu.* [online]. [cit. 2014-03-25]. Dostupný z: <http://www.novinky.cz/vanoce/322407-vanocni-koreni-podtrhne-tu-spravnou-atmosferu.html>
- [9] *Obrázek anýzu.* [online]. [cit. 2014-03-20]. Dostupný z: <http://blog.metmuseum.org/cloistersgardens/2008/10/02/the-fragrant-family-of-fennel/anise-in-flower/>
- [10] BREMNESSOVÁ, Lesley. *Bylinář. Zdraví, krása a radost.* Praha: Fortuna Print, 1994. ISBN 80-85873-00-1.
- [11] CLEVELY, Andi a Katherine RICHMONDOVÁ. *Bylinky.* Praha: Svojtka & Co, 2002. ISBN 80-7237-501-6.
- [12] *Obrázek koření fenyklu.* [online]. [cit. 2014-03-29]. Dostupný z: <http://www.nasevyziva.cz/sekce-lidove-lecitelstvi/clanek-fenykl-nejen-na-dobre-traveni-a-unavene-oci-227.html>
- [13] *Obrázek fenyklu.* [online]. [cit. 2014-03-15]. Dostupný z: <http://www.actaplantarum.org/acta/galleria1.php?aid=2800>

- [14] BULÁNKOVÁ, Iveta. *Léčivé rostliny na naší zahradě*. Praha: Grada, 2005. ISBN 80-247-1274-1.
- [15] ODYOVÁ, Penelope. *Velký atlas léčivých rostlin*. Martin: Osveta, 1995. ISBN 80-217-0521-3.
- [16] *Obrázek koření hřebíčku, muškátového ořechu, skořice*. [online]. [cit. 2014-04-20]. Dostupný z: <http://www.foodtv.cz/uvod/Ko%C5%99en%C3%AD>
- [17] *Obrázek hřebíčku*. [online]. [cit. 2014-03-21]. Dostupný z: <http://www.imagejuicy.com/images/fruits/c/clove/2/>
- [18] IBURG, Anne. *Lexikon koření. Původ, chuť, použití, recepty*. Čestlice: Rebo Productions, 2004. ISBN 80-7234-375-0.
- [19] *Centrum pro databázi složení potravin* [online]. [cit. 2014-04-15]. Dostupné z: <http://www.czfcdb.cz/vyhledavani-potravin/podle-nazvu/?action=result>
- [20] RAUSCH, Andrea a Brigitte LOTZ. *Lexikon bylinky. Pěstování, kuchyně, kosmetika, zdraví*. Čestlice: Rebo Productions, 2007. ISBN 978-80-7234-735-3.
- [21] *Biodiversity Library Exhibition. Spices*. [online]. [cit. 2014-03-16]. Dostupné z: <http://spices.biodiversityexhibition.com/cz>
- [22] *Obrázek kmínu*. [online]. [cit. 2014-04-14]. Dostupné z: <http://www.monde-de-lupa.fr/Medicinales/PagesMed/Carum%20pg/Carum1.html>
- [23] *Obrázek koření majoránky*. [online]. [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://www.progast.cz/druhy-koreni/?alpha=11>
- [24] *Obrázek majoránky*. [online]. [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://www.babickinazahrada.sk/fotky20336/majoranka.jpg>
- [25] *Obrázek muškátového květu*. [online]. [cit. 2014-04-15]. Dostupné z: <http://www.labuznik.cz/clanky/muskatovy-kvet-a-orisek/>
- [26] *Obrázek muškátovníku* [online]. [cit. 2014-03-15]. Dostupné z: <http://tachyon-ostrava.webnode.cz/products/os-5-tachyonizovanytm-karminativni-aromaticky-pripravek-proti-nevolnosti-tachyonizedtm-arom-carminative-anti-nausean1/>
- [27] GATO, Martin. *Léčivé rostliny v praktickém bylinkářství, kosmetice a kuchyni*. Olomouc: Agentura Rubico, 2013. ISBN 978-80-7346-156-0.
- [28] BRAUNOVÁ-BERNHARTOVÁ, Ursula. *Bylinky a koření*. Praha: Jan Vašut, 2005. ISBN 80-7236-398-0.

- [29] *Obrázek nového koření.* [online]. [cit. 2014-04-02]. Dostupné z: <http://www.koreni.cz/obchod/jednodruhove-koreni/nove-koreni-cele>
- [30] *Pimentovník.* [online]. [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://botanika.wendys.cz/cizi/rostlina.php?153>
- [31] *Obrázek skořice.* [online]. [cit. 2014-04-15]. Dostupné z: <http://abecedazahrady.dama.cz/clanek/nenechte-vuni-skorice-zmizet-s-vanocemi>
- [32] *Co jsou antioxidanty a v čem se nacházejí.* [online]. [cit. 2014-03-10]. Dostupné z: <http://zdrava-vyziva.zdrave.cz/co-jsou-antioxidanty-a-v-cem-se-nachazeji/>
- [33] VELÍŠEK, Jan a Jana Hajšlová. *Chemie potravin I.* Tábor: Osis, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [34] INGR, Ivo. *Základy konzervace potravin.* Brno: Agronomická fakulta, 2007. ISBN 978-80-7375-110-4.
- [35] ODSTRČIL, Jaroslav a Milada Odstrčilová. *Chemie potravin.* Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2006. ISBN 80-7013-435-6.
- [36] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr Kubáň. *Analýza potravin.* Brno: Agronomická fakulta, 2007. ISBN 978-80-7375036-7.
- [37] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3.* Tábor: Osis, 1999. ISBN 80-902391-5-3.
- [38] PASSWATER, Richard. *O antioxidantech.* Praha: Pragma, 2002. ISBN 80-7205-897-5.
- [39] *Obrázek Opravný řetězec antioxidantů.* [online]. [cit. 2014-03-12]. Dostupné z: <http://www.symbinatur.com/Opravny-retezec-antioxidantu-clanek-1857.html>
- [40] *Obrázek působení antioxidantů.* [online]. [cit. 2014-03-15]. Dostupné z: <http://www.royalcanin.cz/veterinari/pece/kastrovany-pes.html>
- [41] *National cancer Institute. Antioxidants and Cancer Prevention.* [online]. [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/prevention/antioxidants>
- [42] YOUNGSON, Robert. *Antioxidanty cesta ke zdraví.* Brno: Jota, 1995. ISBN 80-85617-56-0.
- [43] ORTEMBERGOVÁ, Adriana. *Mládneme s antioxidanty.* Praha: Ivo Železný, 2002. ISBN 80-237-3742-2.

- [44] PAPAS, Andreas. *Vitamin E*. Praha: Pragma, 2001. ISBN 80-7205-773-1.
- [45] *Symbinatur s.r.o. Ochrana buněk* [online]. [cit. 2014-03-19]. Dostupné z: <http://www.symbinatur.com/OCHRANA-BUNEK-clanek-1087.html>
- [46] RACEK Jan a Václav HOLEČEK. Enzymy a volné radikály. *Chem. Listy*. 1999, roč. 93, s. 774-780.
- [47] *Spektrofotometrické metody*. [online]. [cit. 2014-04-15]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/navody/oborI/Spektrofotometrie.pdf
- [48] *Antioxidanty pro zdraví*. [online]. [cit. 2014-04-10]. Dostupné z: http://www.viscojis.cz/teens/index.php?option=com_content&view=article&id=131:115&catid=56&Itemid=106
- [49] MARCANÍKOVÁ, Kateřina a Blanka BEŇOVÁ. Využití coulometrického detektoru pro analýzu fenolických látek. *Chem. Listy*. 2010, roč. 104, s. 27-30.
- [50] SUHAJ, Milan. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006, roč. 19, s. 531-537.
- [51] PRZYGODZKA, P., ZIELINSKA, D., at al. Comparison of methods for evaluation of the antioxidant capacity and phenolic compounds in common spices. *LWT-Food Science and Technology*. 2013, s. 1-6.
- [52] PAULOVÁ, H., H. BOCHOŘÁKOVÁ a. E. TÁBORSKÁ. metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek IN VIVO. *Chem. Listy*. 2004, roč. 98, s. 174-179.
- [53] ŠULC, M., LACHMAN J. a kol. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. *Chem. Listy*. 2007, roč. 101, s. 584-591.
- [54] ZLOCH. Z., ČELAKOVSKÝ, J., AUJEZDSKÁ, A. Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu. Plzeň: ÚHLF UK, 2004.
- [55] FIDLER, M., L. KOLÁŘOVÁ a M. HOLČAPEK. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. [online]. [cit. 2014-03-15]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/anl/soutez2007/abstrakt-Fidler.pdf>
- [56] NEUGEBAUEROVÁ, J., VÁBKOVÁ J. Antioxidační aktivita a látky fenolické povahy v rodu máta. Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu. 2011, s. 395-401. ISSN 0139-6013.

- [57] DOBEŠ J. a kol. Stanovení antioxidační aktivity přírodních antioxidantů pomocí automatického robota a spektrofotometru. [online]. [cit. 2014-04-10]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/data/up/39_dobes_669.pdf
- [58] KAHKONEN, M., HOPIA, A., VUORELA, H. Antioxidant Acitivity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, roč. 47, č. 1, s. 3954-3962. ISSN 0021-8561.
- [59] LACHMAN J. a kol. Vliv vybraných faktorů na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu hlíz brambor. *Chem. Listy*. 2006, roč. 100, s. 522-527.
- [60] WROLSTAD, Ronald. *Handbook of food analytical chemistry*. Ney Jersey: Wiley, 2005. ISBN 0-471-66378-6.
- [61] *HPLC*. [online]. [cit. 2014-04-20]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/hplc/HPLC/hplc.html
- [62] TSAO, R., DENG, Z. Separation procedures for naturally occuring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*. 2004, roč. 812, č. 1, s. 85-99. ISSN 1570-0232.
- [64] LU, M., YUAN, B., ZENG, M., CHEN. J. Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices sommonly consumed in China. *Food Research International*, 2011. roč. 44, s. 530-536.
- [65] RANILLA L. et al. Phenolic compounds, antioxidant aktivity and in vitro inhibitory potencial against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin Amerika. *Biore-source Technology*, 2010. roč. 101, s. 4676-4689.
- [66] QUERALT A. et al. A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spice: Rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin a bay. *Food Chemistry*, 2014. Roč. 154, s. 299-307.
- [67] CHRPOVÁ, D., KOUŘIMSKÁ, L., GORDON, M. H., HEŘMANOVÁ, V., ROUBÍČKOVÁ, I., PÁNEK, J. Antioxidant activity of selected phenols and herbs used in diets for medical conditions. *Czech Journal of Food Sciences*. 2010, roč. 28, č. 4, s. 317-325.
- [68] SHAHAT A., IBRAHIM Y. et al. Chemical Composition, Antimicrobial a and Antioxidant Actives of Essential Oils fromOrganically Cultivated Fennel Cultivars. *Molecules*. 2011, roč. 16, s 1366-1377. ISSN 1420-3049.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	Antioxidační aktivita.
ABTS	2,2-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát).
DNA	Deoxyribonukleová kyselina.
DPPH	Difenylpikrylhydrazyl.
FRAP	Ferric reduction ability of plasma.
GA	Kyselina gallová.
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie.
KA	Kyselina askorbová.
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity.
TEAC	Celková antioxidační aktivita.

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Anýz [8, 9]</i>	13
<i>Obr. 2. Fenykl [12, 13]</i>	14
<i>Obr. 3. Hřebíček [16, 17]</i>	15
<i>Obr. 4. Kmín kořený a kmín římský [21]</i>	16
<i>Obr. 5. Kmín kořený [4, 22]</i>	16
<i>Obr. 6. Majoránka [23, 24]</i>	17
<i>Obr. 7. Muškátový ořech a květ [16, 25, 26].</i>	18
<i>Obr. 8. Nové koření [29, 30]</i>	19
<i>Obr. 9. Skořice [16, 31]</i>	20
<i>Obr. 10. Působení antioxidantů [39, 40]</i>	22
<i>Obr. 11. Vzorec radikálu DPPH</i>	28
<i>Obr. 12. Vzorec kyseliny gallové</i>	31
<i>Obr. 13. Kalibrační křivka kyseliny askorbové</i>	44
<i>Obr. 14. Antioxidační aktivita nového koření-1</i>	49
<i>Obr. 15. Antioxidační aktivita nového koření-2</i>	50
<i>Obr. 16. Antioxidační aktivita nového koření-3</i>	51
<i>Obr. 17. Antioxidační aktivita kmínu-1</i>	53
<i>Obr. 18. Antioxidační aktivita kmínu-2</i>	54
<i>Obr. 19. Antioxidační aktivita kmínu-3</i>	55
<i>Obr. 20. Antioxidační aktivita kmínu-4</i>	56
<i>Obr. 21. Antioxidační aktivita kmínu-5</i>	57
<i>Obr. 22. Antioxidační aktivita kmínu-6</i>	58
<i>Obr. 23. Antioxidační aktivita kmínu-7</i>	59
<i>Obr. 24. Antioxidační aktivita skořice-1</i>	61
<i>Obr. 25. Antioxidační aktivita skořice-2</i>	62
<i>Obr. 26. Antioxidační aktivity skořice-3</i>	63
<i>Obr. 27. Antioxidační aktivita majoránky-1</i>	64
<i>Obr. 28. Antioxidační aktivita majoránky-2</i>	65
<i>Obr. 29. Antioxidační aktivita majoránky-3</i>	66
<i>Obr. 30. Antioxidační aktivita muškátového ořechu-1</i>	68
<i>Obr. 31. Antioxidační aktivita muškátového ořechu-2</i>	69
<i>Obr. 32. Antioxidační aktivita fenyklu-1</i>	70

<i>Obr. 33. Antioxidační aktivita fenyklu-2</i>	71
<i>Obr. 34. Antioxidační aktivita anýzu-1</i>	73
<i>Obr. 35. Antioxidační aktivita anýzu-2</i>	74
<i>Obr. 36. Antioxidační aktivita anýzu-3</i>	75
<i>Obr. 37. Antioxidační aktivita hřebíčku-1</i>	76
<i>Obr. 38. Antioxidační aktivita hřebíčku-2</i>	77
<i>Obr. 39. Výsledky IC₅₀ u koření</i>	79
<i>Obr. 40. Kalibrační křivka kyseliny gallové</i>	80
<i>Obr. 41. Celkový obsah polyfenolů v koření</i>	83

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Sloučeniny s antioxidační aktivitou u koření [50, 51]</i>	26
<i>Tab. 2. Přehled vzorků koření</i>	34
<i>Tab. 3. Obsah vlhkosti a sušiny ve vzorcích koření</i>	42
<i>Tab. 4. Hodnoty pro kalibrační křivku kys. askorbové</i>	44
<i>Tab. 5. Antioxidační aktivita</i>	45
<i>Tab. 6. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu nového koření-1</i>	48
<i>Tab. 7. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu nového koření-2</i>	50
<i>Tab. 8. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu nového koření-3</i>	51
<i>Tab. 9. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-1</i>	52
<i>Tab. 10. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-2</i>	53
<i>Tab. 11. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-3</i>	54
<i>Tab. 12. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-4</i>	55
<i>Tab. 13. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-5</i>	57
<i>Tab. 14. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-6</i>	58
<i>Tab. 15. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu kmínu-7</i>	59
<i>Tab. 16. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu skořice-1</i>	60
<i>Tab. 17. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu skořice-2</i>	61
<i>Tab. 18. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu skořice-3</i>	62
<i>Tab. 19. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu majoránky-1</i>	64
<i>Tab. 20. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu majoránky-2</i>	65
<i>Tab. 21. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu majoránky-3</i>	66
<i>Tab. 22. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu muškátového ořechu- 1</i>	67
<i>Tab. 23. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu muškátového ořechu- 2</i>	68
<i>Tab. 24. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu fenyklu-1</i>	70
<i>Tab. 25. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu fenyklu-2</i>	71
<i>Tab. 26. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu anýzu-1</i>	72
<i>Tab. 27. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu anýzu-2</i>	73
<i>Tab. 28. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu anýzu-3</i>	74
<i>Tab. 29. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu hřebíčku-1</i>	76
<i>Tab. 30. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhu hřebíčku-2</i>	77

<i>Tab. 31. Hodnoty pro kalibrační křivku kys. gallové.....</i>	<i>80</i>
<i>Tab. 32. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů v kořeni</i>	<i>81</i>