

Stanovení biologicky aktivních látek vybraných léčivých rostlin

Bc. Martina Válková

Diplomová práce
2014



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martina Válková**
Osobní číslo: **T12398**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení biologicky aktivních látek vybraných léčivých rostlin**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika léčivých rostlin, popis jednotlivých vybraných léčivých rostlin, jejich vlastnosti.
2. Antioxidanty, zástupci, zdroje a působení.
3. Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity a polyfenolických látek.

II. Praktická část

1. Stanovení antioxidační aktivity léčivých rostlin, v čerstvé nebo sušené formě, metodou DPPH.
2. Určení hodnoty IC50 u vybraných léčivých rostlin s nejvyšší antioxidační aktivitou.
3. Stanovení celkového obsahu polyfenolů v léčivých rostlinách spektrofotometrickou metodou.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] BUŘIČOVÁ, L., RÉBLOVÁ, Z. Czech medical plants as possible sources of antioxidants. Czech J. Food Sci. 2008, 26, 132-138. ISSN 1212-1800.

[2] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 2. Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN 80-902-3912-9.

[3] PEREIRA, E., BARROS, L., FERREIRA C.F.R.I. Chemical characterization of Ginkgo biloba L. and antioxidant properties of its extracts and dietary supplements. Industrial Crops and Products. 2013, 51, 244-248. ISSN 0926-6690.

[4] PELLATI, F., BENVENUTI, S., MAGRO, L., MELEGARI, M., SORAGNI, F. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of Echinacea spp. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2004, 35, 289-301. ISSN 0731-7085.

[5] ERCETIN, T., SENOL, S.F., ORHAN, E.I., TOKER, G. Comparative assessment of antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of the marigold extracts from Calendula arvensis L. and Calendula officinalis L. Industrial Crops and Products. 2012, 36, 203-208. ISSN 0926-6690.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

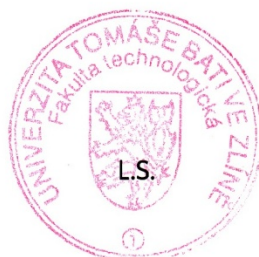
10. ledna 2014


Termín odevzdání diplomové práce:

25. dubna 2014

Ve Zlíně dne 3. února 2014


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




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

Přijmení a jméno: VÁLKOVÁ MARTINA

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 obhajoby¹⁾;
- 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. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ 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 § 60³⁾ 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 30.3.2014

Válková

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

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

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

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

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 vzdělávacího 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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá stanovením antioxidační aktivity a celkového obsahu polyfenolů vybraných léčivých rostlin. Teoretická část je zaměřena na charakterizaci léčivých rostlin, jejich vlastnosti a využití. Dále jsou v této části popsány antioxidanty a nejčastější metody stanovení antioxidační aktivity a celkových polyfenolů. Praktická část je zaměřena na určení obsahu sušiny, stanovení antioxidační aktivity spektrofotometricky metodou DPPH, hodnot IC_{50} a obsahu celkových polyfenolů metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem u vybraných léčivých rostlin (aloe vera, hloh obecný, jinan dvoulaločný, měsíček lékařský, pelyněk pravý, rakytník řešetlákový, růže šípková, saturejka zahradní, třapatka nachová, ženšen pravý).

Klíčová slova: léčivé rostliny, antioxidanty, antioxidační aktivita, IC_{50} , polyfenoly

ABSTRACT

The thesis deals with the evaluation of antioxidant activity and total polyphenol content in selected medicinal plants. The theoretical part of the thesis is focused on the characterization of the medicinal plants, their properties and usage. Furthermore, antioxidants and the most common methods for antioxidant activity and total phenolics determination are described. The practical part is focused on the determination of dry matter content, antioxidant activity by spectrophotometry with DPPH, IC_{50} values and total polyphenol content by the Folin-Ciocalteu reagent on selected medicinal plants (aloe vera, hawthorn, ginkgo biloba, marigold, wormwood, sea buckthorn, dog rose, savory, purple coneflower, true ginseng).

Keywords: medicinal plants, antioxidants, antioxidant activity, IC_{50} , polyphenols

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce Ing. Soně Škrovánkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při konzultacích práce. Také bych chtěla poděkovat za podporu při práci své rodině. Dále bych chtěla poděkovat laborantce Lence Škubalové za pomoc a ochotu při měření v laboratořích. Poděkování patří i mojí rodině a mému příteli za trpělivost a povzbuzení.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 LÉČIVÉ ROSTLINY.....	12
1.1 ALOE PRAVÁ	13
1.1 HLOH OBECNÝ.....	15
1.1 JINAN DVOULALOČNÝ	16
1.1 MĚSÍČEK LÉKAŘSKÝ.....	17
1.1 PELYNĚK PRAVÝ	19
1.1 RAKYTNÍK ŘEŠETLÁKOVÝ	20
1.2 RŮŽE ŠÍPKOVÁ.....	22
1.3 SATUREJKA ZAHRADNÍ.....	24
1.4 TŘAPATKA NACHOVÁ.....	25
1.5 ŽENŠEN PRAVÝ.....	26
2 ANTIOXIDANTY	28
2.1 FENOLOVÉ ANTIOXIDANTY.....	30
2.1.1 Polyfenoly	31
2.1.1.1 Fenolové kyseliny a jejich deriváty	32
2.1.1.2 Flavonoidy	33
2.1.1.3 Stilbeny	34
2.1.1.4 Lignany	35
2.1.2 Antioxidační účinky polyfenolů.....	36
3 METODY STANOVENÍ VYBRANÝCH BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK.....	37
3.1 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	37
3.1.1 Metody založené na eliminaci radikálů.....	37
3.1.2 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek.....	41
3.2 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ.....	41
II PRAKTICKÁ ČÁST	43
4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	44
5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	45
5.1 VZORKY LÉČIVÝCH ROSTLIN	45
5.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	48
5.3 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	49
6 METODIKA STANOVENÍ.....	50
6.1 STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY	50
6.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	50
6.2.1 Příprava výluhů léčivých rostlin	51
6.2.2 Stanovení antioxidační aktivity léčivých rostlin.....	51
6.2.3 Příprava standardního roztoku a kalibrační křivky kyseliny askorbové	52
6.2.4 Příprava výluhů a stanovení hodnoty IC ₅₀	52

6.3	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ S FOLIN-CIOCALTEUOVÝM ČINIDLEM	53
6.3.1	Příprava výluhů léčivých rostlin	53
6.3.2	Stanovení celkového obsahu polyfenolů léčivých rostlin.....	53
6.3.3	Příprava standardního roztoku a kalibrační křivky kyseliny gallové.....	54
7	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	55
7.1	STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY	55
7.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	56
7.2.1	Kalibrační křivka kyseliny askorbové pro určení antioxidační aktivity	56
7.2.2	Stanovení antioxidační aktivity aloe pravé	58
7.2.3	Stanovení antioxidační aktivity hlohu obecného	59
7.2.4	Stanovení antioxidační aktivity jinanu dvoulaločného	59
7.2.5	Stanovení antioxidační aktivity měsíčku lékařského	61
7.2.6	Stanovení antioxidační aktivity pelyňku pravého	62
7.2.7	Stanovení antioxidační aktivity rakytníku řešetlákového	63
7.2.8	Stanovení antioxidační aktivity růže šípkové	64
7.2.9	Stanovení antioxidační aktivity saturejky zahradní	65
7.2.10	Stanovení antioxidační aktivity třapatky nachové	66
7.2.11	Stanovení antioxidační aktivity ženšenu pravého	67
7.2.12	Porovnání antioxidační aktivity léčivých rostlin.....	67
7.2.13	Hodnoty IC ₅₀ vybraných léčivých rostlin	69
7.2.13.1	Hodnoty IC ₅₀ vzorků růže šípkové	69
7.2.13.2	Hodnoty IC ₅₀ vzorků saturejky zahradní	73
7.2.13.3	Hodnoty IC ₅₀ vzorků třapatky nachové	76
7.3	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ S FOLIN-CIOCALTEUOVÝM ČINIDLEM	80
7.3.1	Kalibrační křivka kyseliny gallové pro učení obsahu celkových polyfenolů	80
7.3.2	Porovnání obsahu celkových polyfenolů léčivých rostlin	82
	ZÁVĚR	87
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	89
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	95
	SEZNAM OBRÁZKŮ	96
	SEZNAM TABULEK.....	97

ÚVOD

Mnoho lidských nemocí je způsobeno nebo negativně ovlivněno volnými radikály. Část volných radikálů si vytváří tělo samo při maximálních tělesných zátěžích. Volné radikály jsou schopny náhodně poškozovat lipidy, proteiny, sacharidy a DNA. Na člověka však působí i vnější podněty volných radikálů, mezi něž patří stresové situace, znečištění vzduchu, kouření, alkohol, ionizující záření, pesticidy. Volné radikály jsou považovány za spolupůvodce celé řady onemocnění, jako je diabetes, neurologické a oční choroby, degenerativní choroby, poruch imunity, srdeční a cévní choroby, a vzniku rakovinných onemocnění. Jeden ze způsobů ochrany před nežádoucí oxidací jsou antioxidanty. Antioxidanty jsou látky, které mohou zpomalit nebo inhibovat oxidaci nebo neutralizovat účinky volných radikálů. Antioxidanty si dokáže lidský organismus vytvářet sám, ale jejich množství je nedostačující. Proto je nutné, aby člověk přijímal antioxidanty z potravy. Zdrojem antioxidantů je ovoce, zelenina, obiloviny, čaje, vína a některá koření. Léčivé rostliny používané v medicíně a tradičním léčitelství jsou také jedním z těchto zdrojů antioxidantů.

Proto cílem této práce bylo stanovit a porovnat antioxidační aktivitu a celkový obsah polyfenolů v deseti léčivých rostlinách, ze sedmi botanických čeledí. Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na léčivé rostliny (aloe pravá, hloh obecný, jinan dvoulaločný, měsíček lékařský, pelyněk pravý, rakytník řešetlákový, růži šípkovou, saturejku zahradní, třapatku nachovou a ženšen pravý).

V oblasti chemické analýzy byl v posledním desetiletí vypracován velký počet metod, které umožňují stanovit celkovou antioxidační aktivitu vzorku. První skupinou jsou metody založené na eliminaci radikálů (DPPH, ABTS (TEAC), ORAC, metody používající galvinoxyl a metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace), druhou metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek (FRAP, cyklická volumetrie a HPLC).

Ke stanovení obsahu celkových polyfenolů v potravinách se v současnosti nejvíce používanou metodou je technika HPLC, která se také používá pro kvantifikaci fenolických sloučenin. Druhou metodou, která se hojně využívá je spektrofotometrická metoda s použitím Folin-Ciocalteuova činidla.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LÉČIVÉ ROSTLINY

Historie využívání léčivých rostlin v léčitelské praxi začala už před několika tisíci lety. Doklady o léčení rostlinami ve vyspělých civilizacích Asie, severní Afriky, Střední a Jižní Ameriky a Dálného východu lze datovat do doby zhruba 4000 let př. n. l. [1].

Pojem léčivé rostliny zahrnuje široké spektrum druhově rozmanitých rostlin. Celkem je známo více než 4000 druhů léčivých rostlin. U nás se jich používá kolem 250 druhů. Z botanického hlediska se dělí do velkého počtu čeledí lišících se svým původem výskytu. Z tohoto důvodu je poměrně složité léčivé rostliny řadit jen podle jednoho systému. Vedle botanického, příp. abecedního řazení, je možné léčivky třídit podle jejich využívaných částí, nebo podle obsažených účinných látek [2, 3].

Schopnost léčivých rostlin působit na tělo závisí na chemických látkách, které obsahují. Účinnými látkami v léčivých rostlinách jsou alkaloidy, glykosidy, hořčiny, saponiny, siliice, slizy, třísloviny, vitaminy a doprovodné organické látky jako jsou organické kyseliny, barviva či pryskyřice. Tyto látky jsou schopné pomoci k léčbě chorob, předcházet jim nebo zmírňovat jejich průběh [1, 3].

Tyto rostliny se používají k přímému léčení v čerstvém nebo konzervovaném stavu jako vegetabilní drogy, což jsou usušené nebo jiným způsobem konzervované rostliny či jejich části. Slouží též jako průmyslová surovina k výrobě léčivých látek, případně jsou zpracovávány do různých léčivých přípravků. Čajové směsi jsou nejběžnější užívanou formou léčivých rostlin. V současné době se běžně používají lihové výtažky, které jsou základem pro přípravu tekutých forem roztoků, sirupů, tablet, dražé, čípků, mastí a krémů [1].

Léčivé rostliny se v domácím léčitelství uplatňují především při prevenci a běžných lehkých nemocích jako zánětech horních cest dýchacích, při zažívacích potížích nebo při zevním použití v koupelích. Jejich velkou výhodou je, že až na několik výjimek nemají vedlejší účinky. Léčivé rostliny jsou vlastně rostliny užitkové a často nacházejí více uplatnění. Můžou být využívány v lékařství, zvěrolékařství, lidovém léčitelství i ve farmaceutickém průmyslu. Některé rostliny jsou důležité obsahem aromatických látek, které se z nich získávají. Jiné mohou být využívány jako zelenina, ovoce nebo zdroj barviv a vlákniny. Významnou skupinou jsou rostliny, které se uplatňují jako koření [2].

Léčivé rostliny se staly objevem současných vědeckých farmaceutických disciplín, např. chemie přírodních látek (zkoumající obsahové složky rostlin), farmakologie a toxikologie (sledující jejich biologický účinek, toxicitu a možnosti léčebného využití), a zejména fyto-terapie, zabývající se praktickým využitím produktů z rostlin ve formě léčivých přípravků [1].

1.1 Aloe pravá

Aloe pravá, *Aloe vera* (obr. 1) je sukulentní druh z čeledi liliovitých (Liliaceae). Na aloe jsou nejzajímavější její pozitivní účinky na organismus [4].

Je 30-70 cm vysoká a odolná vůči suchu. Tvoří trsy růžic s krátkými masitými stále šedozelenými, až 60 cm dlouhými, špičatými pilovitými listy. Téměř 200 druhů pochází především z Afriky, ale zplaněle rostou v oblasti Středomořího moře, v jihovýchodní Asii. Roste v tropech či subtropích v plném či částečném stínu v písčité, propustné půdě [4, 5].



Obr. 1. Aloe pravá [6]

Hlavní skupinou účinných látek drogy jsou deriváty hydroxy-antrachinonů, především aloin (tzv. barbaloin), a některé hydroxyaloiny. Gel parenchymatická tkáň listů aloe obsahuje především více než 98 % vody a více než 60 % sušiny je tvořeno polysacharidy (např. pektin, hemicelulózu), aminokyselinami, lipidy, steroly, enzymy, lektiny a antrachinony (emodin). Je bohatá především na organické kyseliny, vitaminy, tiamin, pryskyřici a mine-

rální látky, steroly, saponiny, enzymy, kyselinu p-kumarinovou. Aloe obsahuje sedm z osmi esenciálních aminokyselin: izoleucin, leucin, lysin, metionin, fenylalanin, treonin a valin. Z neesenciálních aminokyselin jsou to alanin, arginin, asparagin, cystein, kyselina glutamová, glycin, histidin, prolin, serin, tyroxin, glutamin a kyselina asparagová [7, 8, 9].

V aloe se nacházejí mastné kyseliny s protizánětlivými účinky kampersterol a beta-sitosterol, proto je využívána při léčbě popálenin, poranění, škrábanců, odřenin, bodnutí a kousnutí hmyzem, alergiích, revmatoidní artritidě, revmatické horečce, při špatném trávení kyselin, léčení vředů. Beta-sitosterol výrazně snižuje hladinu cholesterolu v krvi, z čehož mají prospěch pacienti se srdečními a cévními chorobami. Aloe pravá dále obsahuje 23 polypeptidů, které zvládají široké spektrum poruch imunitního systému. Kromě výstavby buněk a opravy tkání vytvářejí aminokyseliny protilátky proti bakteriím a virům, jsou součástí enzymatického a hormonálního systému. Vytvářejí nukleoproteiny a podílejí se na svalové aktivitě [9].

Vnitřně se užívají šťáva i gel při zácpě, kožních chorobách, gastritidě, zhoršeném trávení, bolestech břicha, pálení žáhy, bolestech hlavy a závratích. Napomáhají rovněž k regulaci krevního tlaku pročišťováním poškozených tkání tepen a žil. Velmi se cení v očním lékařství, např. při atrofii očního nervu, trachomu. Léčí žaludeční a dvanáctíkové vředy, astma, epilepsii a tuberkulózu. Vnitřní užití je přísně kontraindikováno u malých dětí, těhotných žen, u kterých způsobuje stimulaci kontrakce dělohy a u kojících žen, kde způsobuje, přechod antrachinonových glykosidů do mateřského mléka (laxativum). Neměli by ho používat ani osoby trpící urémií, ledvinovou nedostatečností nebo onemocněním jater [5, 10].

Zevně se užívá šťáva na různé dermatózy, např. sklerodermii, ale rovněž na hemoroidy. Používá se i při léčbě infekcí virového, bakteriálního i kvasinkového původu, ale také rakoviny. Gel lze užívat na širokou řasu problémů včetně akné, ekzému, plešatosti, zánětlivých onemocnění kůže, oparů, opruzenin, kopřivky, lupénky, popálenin z ozáření, pásového oparu, pálení žáhy, ústní dutinu, diabetes mellitus, bolesti kloubů a svalů [5, 9, 11].

Aloe pravá se nepoužívá pouze v léčitelství, ale má uplatnění i v kosmetickém průmyslu. Přidává se do šampónů, vody po holení, rtěnek, tělových mlék a hydratačních krémů, ale je i součástí čistících prostředků, dětských plenek, dámských vložek a latexových rukavic [9].

1.1 Hloh obecný

Hloh obecný (*Crataegus oxyacantha*) je trnitý, opadavý, bohatě větvený keř nebo strom dorůstající až do výšky 10 m. Patří do čeledi růžovité (Rosaceae) a roste po celé Evropě. Listy jsou střídavé, slabě laločnaté, na okraji zubaté, sytě zelené. Květy jsou bílé nebo narůžovělé, intenzivně páchnoucí, objevují se od května do června. Květy jsou oboupohlavní, pětičetné s volnými květními obaly. Kališní cípky jsou široké a přitisklé k plodu. Korunní lístky jsou bílé, prašníky červené. U nás roste v listnatých a smíšených lesích, v křovinách, na rumišťích. Dává přednost vápenitým půdám [1, 10, 12].

Hloh obecný obsahuje účinné látky, jako jsou flavonoidy (0,1-2,2%, (kemferol, apigenin, rutin, hyperosid, vitexin, vitexin-2"-O-rhamnosid, a acetylvitexin-2"-O-rhamnosid), katechiny [(+)-katechin,(-) epikatechin], proantokyanidiny 1-3% (pyknogenoly), fenolové kyseliny (chlorogenovou, kávovou), triterpeny (krategovou, ursulovou kyselinu), aromatické aminy (tyramin, fenyletylamin) a xantinové deriváty, aminopuriny, antokyany, vitaminy skupiny B, vitamin C, pektiny, saponiny a třísloviny, organické kyseliny (jablečná, citrónová, jantarová, vinná) a steroly. Ze sacharidů je obsažena glukóza, sacharóza, fruktóza, xylóza, ale také cukerné alkoholy jako je sorbitol nebo myo-inositol [1, 10, 13, 14, 15].



Obr. 2. Hloh obecný [16]

Hloh se využívá při onemocněních kardiovaskulární soustavy, také zvyšuje průtok krve ve věnčitých cévách, zlepšuje stahy srdečního svalu a snižuje periferní cévní rezistenci bez změny krevního tlaku. Upravuje arytmií, vysoký tlak a snižuje rozsah ischemických poruch myokardu. Při silných dávkách má sedativní účinky na centrální nervovou soustavu. Hloh působí močopudně a podporuje vylučování nadbytečné tekutiny z tkání, kterým často trpí kardiaci. Až na začátku 20. století odhalili američtí a poté také evropští lékaři pozitivní

působení hlohu na anginu pectoris. Ve velké míře se hloh konzumuje jako čaj. Čerstvé nebo sušené hložinky jsou používány při výrobě marmelád ve směsi s jablky, hruškami, ostružinami nebo plody černého bezu, želé, semleté na moučku v koláčcích nebo ovocných chlebíčcích, likérů, brandy, vína či zavařenin [12, 14].

1.1 Jinan dvoulaločný

Jinan dvoulaločný (*Ginkgo biloba*), patří do stejnojmenné čeledi jinanovitých (Ginkgoaceae). Jde o velmi pomalu rostoucí, otužilý, opadavý strom se silně zbrázděnou, podélně rozpraskanou kůrou. Je 30-40 m vysoký a 20 m široký. Listy jsou dlouze řapíkaté s čepelí v obrysu klínovitou a zpravidla rozdělenou na dva laloky, 10-12 cm dlouhé, kožovité a světle zelené na podzim jasně zlatožluté [5, 17, 18].

Jinan dvoulaločný (Obr. 3) pochází z poměrně malého území v jihovýchodní Číně (provincie Chekiang). Dnes roste hlavně v Číně a Japonsku. Jinan roste na svěžích, propustných, kyselých až alkalických půdách bohatých na živiny na slunném místě [18, 19].



Obr. 3. Jinan dvoulaločný [13]

K nejvíce účinným skupinám látek patří flavonoidy a terpenické laktony. Flavonové glykosidy chrání buňky před štěpením kyseliny arachidonové, která udržuje buněčné membrány zdravé a propustné. Jinan obsahuje tři biflavonoidové sloučeniny: kvercetin, kaempferol a jejich glykosidy (apigeninluteolin, bilobetin, ginkgetin, isoginkgetin). Co se týče terpeno-

laktonů ty jsou dvojího druhu ginkgolidy a bilobalidy . Jinan obsahuje dále ginnol a kyselinu ginkgolovou, organické kyseliny, fenolické látky, karotenoidní barviva, silice, sacharidy. V semenech jsou navíc obsaženy glyceridy, steroly a estery [13, 19, 21].

V tradiční čínské medicíně semeno a kořen jinanu pomáhá při léčbě astma, tuberkulózy, zánětu močového měchýře, častém močení. Používá se jako prostředek proti kašli, má účinky stahující a kardiotonické, podporuje trávení. Listy působí na vysoký krevní tlak, anginu pectoris, příznivě ovlivňuje poruchy periferních částí krevního oběhu. Extrakt z listů zvyšuje cirkulaci krve v mozku a používá se k léčení cévní mozkové nedostatečnosti, migrenózních bolestí hlavy, závratí a poruch paměti. Chrání mozkové buňky před destrukcí volnými radikály a před předčasným stárnutím. Zabraňuje také shlukování krevních destiček, za což jsou zodpovědné ginkgolidy. Působí tak preventivně proti vzniku mrtvice a koronární trombózy [5].

Zlepšuje důležité mozkové funkce, jako jsou paměť, bystrost, zpracování informací a zpětné vazby s endokrinním systémem. Extrakt z listů je tedy významný pro prevenci a léčbu předčasné senility, poškození mozku, poruch vnímání a demence Alzheimerova typu. Extrakt z jinanu též pomáhá při náhlé hluchotě, otocích mozku, hučení a pískání v uších. Lze jím léčit také Parkinsonovu nemoc, praskání cév, křečové žíly, bolesti hlavy, závratě, úzkostné stavy, pomatenost, otoky a proleženiny. Výtazek z plodů jinanu pomáhá při plicní tuberkulóze, výtazek ze semen pomáhá zase při onemocnění průdušek. Jinan může preventivně působit proti degeneraci žluté skvrny. Číňané a Japonci jedí loupaná a pražená jádra jinanu nebo je používají do polévek a smažených jídel [5, 6, 13, 18, 19, 22].

1.1 Měsíček lékařský

Měsíček lékařský latinským názvem *Calendula officinalis*, náleží do čeledi hvězdnicovitých (Asteraceae). Je to jednoletá bylina, jen výjimečně dvouletá letnička dorůstající 30-70 cm do výšky a 25-40 cm do šířky, s jemně chlupatou, hranatou rozvětvenou statnou lodyhou. Kvete od června do října 6-9 cm velkými, zářivě žlutými až oranžovými úbory s tmavšími terči. Mají velké ploché lůžko, z něhož uprostřed vyrůstají květy trubkovité, na obrubě potom dva nebo tři kruhy květů jazykovitých [1, 23].

Původní domovina měsíčku se rozkládá od jižní Evropy po Asii. Měsíček potřebuje k dobrému růstu teplé podnebí, přiměřenou vlhkost, půda by měla být propustná písčitohlinitá [23, 24].

Květy měsíčku lékařského obsahují saponiny (2-10%, oleanosidy), flavonoidy (0,3 až 1,5%), silici (do 0,4%), seskviterpeny, estery cholinu s mastnými kyselinami, triterpenoidní alkoholy, polysacharidy, polyiny, alifatické uhlovodíky. Další obsaženými látkami jsou glykosidy, hořčiny (kalenden a kalendulin), slizové látky, pryskyřice, steroly a organické kyseliny. Obsahuje také karotenoidy a xantofyly. Barvivem žlutých květů je 5,6-epoxylutein zvaný flavoxanthin, a barvivem oranžových květů je lykopen [1, 8, 24, 25].



Obr. 4. Měsíček lékařský [20]

Měsíček lékařský (Obr. 4) má antiseptické a antibakteriální účinky proti stafylokokům a trichomonádám. Vnitřně se užívá jako spasmolytikum a choleretikum ke zvýšení sekrece žluči při žloutence a jaterních chorobách. Velmi účinný je při zánětech, u gynekologických onemocnění a nemoci slinivky břišní. Zevně se užívá v obkladech a mastech k ošetření špatně se hojících a hnisavých ran. Měsíčková mast se používá na záněty žil, bércové vředy, křečové žíly a proti plísni na nohou. Léčí i odřeniny, drobná zranění, bodnutí hmyzem a zarudnutí kůže způsobené sluncem a zánět hltanu. Tinktura, ředěná vodou, se užívá na obklady při pohmožděninách, výronech, přetažení svalů, otevřených proleženinách, při otocích a dokonce i při rakovinových vředech [3, 10, 25, 26].

Některé seskviterpenické látky jsou aktivní vůči určitým chorobám v ústní dutině, saponiny mají protinádorovou aktivitu, kalendulosidy snižují hladinu tuků v krvi a působí na centrální nervový systém. Flavonoidy působí v kombinaci s ostatními látkami protikřečově,

silice má účinek proti bičikovcům. Pitím měsíčkového čaje jsou zmírněny menstruační potíže. Využívá se i ve formě nálevu, odvaru či měsíčkového oleje. Měsíček je důležitou složkou dermatologických přípravků a přípravků v kosmetickém průmyslu. Pomáhá při léčbě aft, ekzémů, akné, popraskaných rtů a také popraskaných prsních bradavek v důsledku kojení. Květy měsíčku se dříve dobarvovalo máslo, sýry, polévky a pokrmy z rýže [1, 10, 23, 24].

1.1 Pelyněk pravý

Artemisia absinthium (Obr. 5), pelyněk pravý, patří do čeledi hvězdnicovité (Asteraceae). Jedná se o vytrvalou, výrazně hořkou aromatickou bylinu vysokou asi 1 m. Listy jsou 2-3 krát lichozpeřené, jehlicovité, jemně dělené, oboustranně chlupaté, aromatické, stříbřitě zelené. Květy i listy jsou velmi hořké s typickou pižmovou vůní. Podle pověsti rostlinu objevila bohyně Artemis, po níž je pojmenována [25, 27].

Je rozšířen po celé Evropě, v severní Africe a západní Asii. U nás roste na pastvinách, rumišťích, u cest a plotů. Pelyněk potřebuje dobře propustnou, suchou na živiny bohatou půdu a slunné stanoviště [3,28].



Obr. 5. Pelyněk pravý [20]

Nať obsahuje především hořké seskviterpenické laktony (0,15-0,4%, absinthin a anabsinthin) a silici (0,2-1,5%) s obsahem terpenů (alfa- a beta- thujon a více než 50 mono- a se-

skviterpenů, felandren, pinen, kadinen, chamazulen). Z ostatních sloučenin jsou to flavonoidy (například kvercetin, isorhamnetin, patuletin a spinacetin), kávová a různé fenolkarboxylové kyseliny, malá množství polyinů a homoditerpenové peroxidy také třísloviny, lignany a organické kyseliny [1, 3].

Pelyněk je hořkým zaživacím tonikem, anthelmintikum, uterotonikum, cholagogum, cholerikum, karminativum, stimuluje imunitní systém a snižuje horečku. Hořčiny povzbuzují vylučování žaludeční šťávy a žluči, zlepšují i sekreci jiných trávicích šťáv a ovlivňují činnost střev. Terpeny ze silice podporují účinek hořčin, působí protikřečově a antisepticky. Peroxidy homoditerpenů jsou účinné proti malárii. Silice působí mikrobicidně. Azuleny mají protizánětlivé účinky. Čaj snižuje bolesti při silné menstruaci a doporučuje se i při revmatu a nachlazení. Využívá se také ve formě tinktury, výluhu, obkladu či extraktu. Měly by se mu vyhýbat těhotné ženy, protože způsobuje novorozenecké vady a kojící ženy, protože je neurotoxický pro děti, stejně tak není vhodný pro osoby s onemocněním jater. Pelyněk odpuzuje moly, blechy, čmeláky a mouchy. Z listů a kořenů se vyrábí přírodní žluté rostlinné barvivo pro barvení látek. Ve velké míře je pelyněk využíván na výrobu vína a likérů [1, 6, 16, 25, 27].

1.1 Rakytník řešetlákový

Hippophae rhamnoides neboli rakytník řešetlákový (Obr. 6) patří do čeledi hlošínovité (Elaeagnaceae). Jedná se o opadavý dvoudomý trnitý keř nebo stromek s dlouhými podzemními výhony a se vzpřímenými větvemi dorůstající výšky až 10 metrů. Listy jsou střídavé, kopinaté, květy jsou drobné, žluté, oddělené na samčích a na samičích keřích. Samičí jsou jednotlivé, samčí po čtyřech až šesti krátkých hroznech. Rostlina kvete v březnu až květnu. Plody jsou kulovité 5-10mm dlouhé a 3-5 mm široké, nápadně oranžově červené až zřídka žluté, hnědě tečkované bobule, šťavnaté, sladkokyselé chuti, které zrají v září až říjnu [1, 29, 12, 18].

Rakytník je rozšířen v několika zemích, jako je Indie, Čína, Nepál, Pákistán, Myanmar, Rusko, Velká Británie, Německo, Finsko, Rumunsko a Francie, ve vysoké nadmořské výšce 2500-4300 m. Vyskytuje se v horských údolích, mořských pobřežích s dunami, polních mezích. Vyžaduje písčitoštěrkovou půdu, která má dostatek vápna [18].

Čerstvé zralé plody obsahují 2,8-7,8% oleje, 3% tříslovin, 0,15 % pektinu a velké množství vitamínu C (40-1300 mg/ 100g dužniny). Vedle toho obsahuje vitaminy skupiny B, především B₁(0,016-0,085 mg/100g dužniny), B₂ (0,030-0,056 mg/100g dužniny) a B₆(0,050-0,79 mg/100g dužniny). Dále je obsažen vitamin PP(0,21-0,74 mg/100g dužniny), vitamin E (8,0-18,0 mg/100g dužniny) a vitamin K (1- 0,9-1,5 mg/ 100g dužniny). Vysoký je i obsah karotenoidů (0,9-10 mg/100 g dužniny plodů, α, β, γ - karoten, lykopen, zeaxantin) a flavonoidů (kvercetin, kamferol, isokvercetin, rutin, leukoantokyanidy, katechiny) a fosfolipidy (do 1%) [1, 25, 29].

Co se týče sacharidů, jejich obsah kolísá 2-8,7% (glukóza 2%, fruktóza 1% a sacharóza, ale rovněž 0,03-0,12% oligosacharidů a také manitolu. Organických kyselin je 2,6-4% a to především kyselina jablečná (2,86%), chinová (0,94 %). Méně je zastoupena kyselina kávová, jantarová, citrónová, vinná a také šťavelová. Dále je přítomen betain, kumariny, serotonin, některé aminokyseliny, steroly, tokoferoly a aromatické složky. Velmi důležitý je obsah fytoncidů, chemicky velmi různorodých látek, které brání růstu mikroorganismů, jsou to rostlinná antibiotika. V rakytníku je obsaženo až 15 minerálních prvků - železo, draslík, mangan, síra, bór, měď, nikl, vápník, hliník, titan. V rakytníkovém oleji jsou obsaženy především nasycené mastné kyseliny a kyseliny mononenasyčené (kyselina palmitová, kyseliny palmitolejová a olejová), semena obsahuje olej bohatý na polynenasycené mastné kyseliny [10, 29].



Obr. 6. Rakytník řešetlákový [18]

Šťáva z rakytníku se podává preventivně při nachlazení a pomáhá při vyčerpanosti a stresu. Vitamin C obsažený v rakytníku je velice důležitý pro podporu imunity, syntézu kolagenu

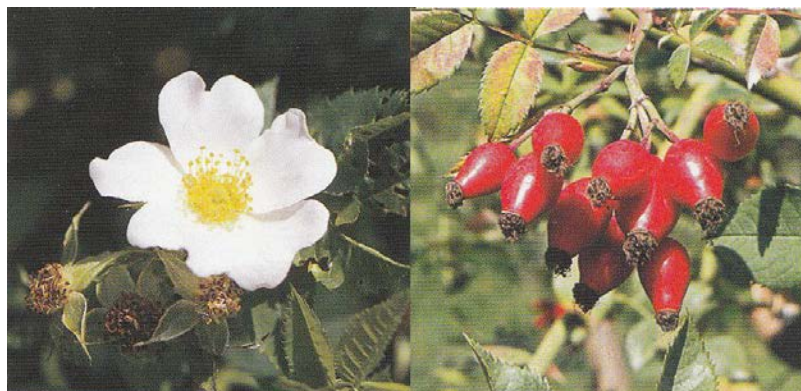
a vstřebávání železa v trávicím traktu. Navíc je to antioxidant a tvoří spolu s vitamínem E, karotenem a doprovodnými flavonoidy synergetický komplex přírodních antioxidantů, které posilují obranyschopnost organismu proti volným radikálům. Má i antibiotický a protizánětlivý účinek, za který jsou zodpovědné flavonoidy. Olej ze semen se používá na špatně zhojené jizvy, k čištění infikovaných ran, v gynekologii při zánětlivých procesech zevního pohlavního ústrojí, při vředové chorobě žaludku a dvanáctníku, při chronickém zánětu mandlí [1, 10, 18, 25].

Zevně je rakytník účinný při léčbě akné, artritidy, bércových vředů, dermatózy, popáleninách, popraskané kůže, proleženin, rakoviny kůže a revmatismu. Vnitřně je užíván proti angíně, anémii, artritidě, arteriálnímu tlaku, ateroskleróze, avitaminóze, cukrovce, dně, dyzentérii, gastritidě, hemoroidech, horečce, chřipce, infekčním chorobám, lupénce, otokům dásní, paradontóze, rakovině jícnu a kůže, vysokému cholesterolu, žaludečním vředům. Rostlina se aplikuje ve formě rakytníkového oleje, odvaru, obkladu, sirupu, čaje, džusu nebo masti. Plody jsou používány syrové s jinými plody do ovocného salátu, hodí se též jako přísada ke kompotům nebo ve formě šťávy do jogurtu, zmrzliny, limonád, bonbónů a také do rybích polévek a marmelád. Z rakytníku lze také připravovat likéry a víno. Rakytníkový olej se využívá v kosmetickém průmyslu. Plody s vysokým obsahem karotenu a vitamínu C se zpracovávají na džemy a želé [1, 2, 12, 18, 29].

1.2 Růže šípková

Rosa canina patří do čeledi růžovité (Rosaceae). Růže šípková (Obr. 7) je rozložitý a někdy šplhavý keř, až 1-5 m vysoký s převislými větvemi a silnými, hákovitě dolů zahnutými ostny. Listy jsou lichozpeřené. Kvete od června do srpna bílými nebo růžovými květy složenými z 5 korunních plátků a baňkovité číšky s velkým množstvím pilových tyčinek. Z oplozených květů se vyvíjí nepravý plod – šípek. Plody jsou šarlatově červené a elipsoidní až kulaté zrají v září až říjnu. Uvnitř šípku se nacházejí pravé plody, tvrdé nažky [10, 12, 18].

Růže šípková se vyskytuje v Evropě, na Madeiře, Kanárských ostrovech, severozápadní Africe i Blízkém východě. U nás se vyskytuje hojně na lesních okrajích, na svazích, při železničních kolejích, na mezích a v remízcích. Preferuje humózní půdy bohaté na živiny, nepříliš suché na slunných či polostinných místech [18, 30].



Obr. 7. Růže šípková [16]

Šípek je bohatý na kyselinu askorbovou, vitamin C (0,2 až 1,2 %). Kromě toho, šípkový čaj obsahuje další vitaminy (B₁, B₂, B₃, A, E, K a karoten). Obsahuje i fenolické sloučeniny, pektiny (15%), organické kyseliny (především kyselinu citronovou a jablečnou), hydrolyzovatelné taniny (deriváty kyseliny gallové). V růži se nacházejí i třísloviny (prokyanidiny). Minerální prvky (vápník, fosfor a železo), bioflavonoidy, antokyany, sacharidy (fruktóza, sacharóza), karotenoidy, polyfenoly, silice a vanilin v nažkách [10, 31].

Odvar z kvetoucích vršků s listy se používá k obkladům na zmírnění zánětů spojivek. Nálev z korunních plátků pomáhá ke snadnějšímu trávení po použití těžkých jídel. Odvar z kořene se používá proti průjmům. Plodové kyseliny a pektiny povzbuzují činnost střev tak, že čaj nemá projímavé, ale spíše regulační účinky na střeva ale zároveň působí močopudně. Ve směsi s jinými složkami jsou šípkový čaj obsažen také v čajích proti chřipce a v urologických čajích. V lidovém léčitelství se používá i čaj z šípkových jader, který má pomáhat při problémech ledvin, močového měchýře, při ledvinových kamenech, dále při revmatismu a dně. Vitamin C z šípků posiluje obranyschopnost organismu, jarní únavě a hojení ran. Flavonoidy působí protizánětlivě a antibioticky. Pektiny regulují činnost střev. Šípkový čaj se zpracovává na marmeládu, ovocnou dřeň, kompot, bonbóny, likéry, vína. Přidávají se i do zmrzlin. Legendou je využití růžové vody při přípravě marcipánu [12, 18, 25, 30, 32].

1.3 Saturejka zahradní

Saturejka zahradní (*Satureja hortensis*), (Obr. 8) patří do čeledi hluchavkovitých (Lamiaceae).



Obr. 8. Saturejka zahradní [20]

Pochází z východního Středomoří a přední Asie. Roste planě na suchých, lehkých půdách a na kamenitých vápencových stráních Středozeří. Preferuje teplé oblasti humózní, propustnou, lehkou půdu. Saturejka je jednoletá výjimečně dvouletá, až 45 cm vysoká a 10-20 cm široká, velmi aromatická bylina s keřovitě rozvětvenou, dole dřevnatou lodyhou. Tři centimetry dlouhé listy jsou řapíkaté a čárkovitě kopinaté, tmavě zelené a na obou stranách žláznatě pířité. Květy jsou fialové, výjimečně růžové nebo bílé barvy vyrůstající v malých lichopřeslenech. Saturejka kvete od července do října [4, 33, 34, 35].

V celé rostlině jsou obsaženy třísloviny (8 %), silice s obsahem cymolu, tymolu a karvakrolu, dále obsahuje flavonoidy, sacharidy, lipidy a hořčiny [3, 4, 35].

V lidovém léčitelství je odpradávná užívána jako prostředek proti nadýmání. Působí jako mírné kardiotonikum, tlumí tachykardii a snižuje krevní tlak. Saturejka se užívá při katarrech žaludku a střev provázených průjmy, ke zlepšení chuti k jídlu a trávení, ale i proti zánětu horních cest dýchacích, průduškovému astma. Má baktericidní účinek, který předurčuje drogu k vnějšímu použití na špatně se hojící hnisavé rány a k výplachům nosu při rýmě. Nejširší použití nachází saturejka v kuchyni jako přísada při přípravě luštěnin, omáček, obilninových jídlech, bramborových polévkách, zelí či kapusty. Při dietách může nahrazovat sůl. Hodí se i do nakládaného masa a je součástí mnoha bylinných směsí [3, 4, 35].

1.4 Třapatka nachová

Echinacea purpurea neboli třapatka nachová patří do čeledi hvězdicovité (*Asteraceae*).



Obr. 9. Třapatka nachová [26]

Třapatka (Obr. 9) je vytrvalá bylina se silnou, drsnou až 1 m vysokou a 45 cm širokou lodyhou. Listy jsou též drsné, kopinaté, dlouze řapíkaté, zubaté a zašpičatělé. Její květy jsou 4-6 cm dlouhé velké dekorativní úbory s okrajovými štíhlými červenofialovými kvítky. Na vyklenutém květním lůžku, tzv. terči, vyrůstají žlutě purpurové až rudohnědé plodné květy s tvrdě pichlavými plevkami sestavenými ve spirále. Jalové jazykové květy pak tvoří po okraji výrazně zbarvený paprsek. Kveté od července až do podzimu [2, 5, 10].

Rod pochází z rozsáhlých oblastí Severní Ameriky, především USA. Nejlépe se jí daří v lehčích, humózních půdách s dostatkem vláhy a vápníku. Roste velmi dobře na přímém slunci i v polostínu [5, 36].

Kořen třapatky obsahuje velké množství cenných látek, a to především 1% echinacosidu, 1,5% silice (humulon), do 0,9% pryskyřice, inulin, pentozany, polyiny, polyeny, vyšší mastné kyseliny, deriváty kyseliny kávové, pyrrolizidinové alkaloidy (tusilagin, isotusilagin), isobutylamidy, polysacharidy, třísloviny, steroly a flavonoidy. Jazykové květy obsahují rovněž řadu uvedených látek, avšak v menším množství. Obsah fenolů a derivátů kyseliny kávové obsažen v různých částech rostlin je uveden v sestupném pořadí: květy > listy > stonky > kořeny [5, 36, 37].

V lidovém léčitelství se třapatka používá jak vnitřně, tak i zevně. Vnitřně nejčastěji ve formě extraktu z kořenů nebo jazykových květů, který je vhodný k léčení močového ústrojí,

chřipky a jiných viróz, užívá se rovněž v gynekologii a jako podpůrný prostředek při léčení rakoviny. Osvědčil se i při léčbě žaludečních vředů, gastritid a prostaty. Zevně se používá extrakt, nálev nebo mast, a to hlavně v dermatologii na špatně se hojící rány, proleženiny, pooperační rány a jizvy, omrzliny, ekzémy a akné. Také brání šíření infekcí, a rozvoji bakterií a virů, působí proti zánětům dásní a ucha, hojí vřídky v ústech, bércové vředy i křečové žíly. Třapatka se používá pro stimulaci imunitního systému, její imunostimulační vlastnosti jsou způsobeny bioaktivními fytochemikáliemi, včetně derivátů kyseliny kávové, polysacharidy a glykoproteiny. Polyiny zase fungují virostaticky a mají obdobný účinek jako antibiotika a isobutylamidy, kterým se přisuzuje především analgetický a anestetický účinek [5, 10, 36, 37].

1.5 Ženšen pravý

Ženšen pravý neboli *Panax ginseng* je bylina patřící do čeledi aralkovitých (Araliaceae). Jedná se o drobnou bylinu 60 až 80 cm vysokou, s dlanitolaločnými pětičetnými lístky a hladkými, zelenými, někdy do červena zbarvenými lodyhami. Vytrvalý mrkvovitý kořen, nejdůležitější orgán této rostliny připomíná svým rozvětvením tvar lidského těla. Žlutý kořen se často větví, ohýbá nebo krotí, je vřetenovitý a podélně vrásčitý. Je silný a dužnatý o průměru 2,5 cm, dlouhý 17-25 cm. Původním domovem ženšenu pravého byly horské lesy východního Mandžuska, severní Číny a Koreje. Ženšen vyžaduje úrodnou půdu, dostatek vody a stinné stanoviště. Kořeny jsou sklizeny až po 7 letech [5, 16, 17, 38].



Obr. 10. Ženšen pravý [16]

Kořen ženšenu obsahuje vedle sacharidů, lipidů a proteinů i velké množství dalších látek, vitaminy skupiny B a C, daukosterin a skupinu 2-3% saponinových glykosidů, které se nazývají též ginsenosidy, či panaxosidy, které jsou podle struktury rozdělovány do tří skupin (dioly, trioly a oleanany). Minerální složení kořenů ženšenu je charakterizováno značným obsahem draslíku, fosforu, vápníku, sodíku, železa, síry a množstvím mikroelementů, z nichž byly nalezeny především hliník, křemík, mangan, hořčík, titan. Obsahuje také uhlovodíky, aminokyseliny (tyrosin, leucin, serin, arginin), peptidy, organické kyseliny, flavonoidy, polyacetylenové deriváty, zjištěné v silici, která se získává z kořene [5, 16].

Ženšen pravý (Obr. 10) se v Koreji využívá k léčbě malárie, hysterie, akutní gastritidy a k regeneraci při rekonvalescent či po vážných onemocněních. V Japonsku se používá k léčbě průjmu, dyspepsie, zvracení, kašle a cukrovky. V Hongkongu se kořen používá k léčbě závratí a celkové slabosti [5, 11, 16, 38].

U ženšenu byly prokázány účinky jako imunostimulační schopnost, kterou zajišťují ginsenosidy, ty také snižují hladinu cukru, cholesterolu a lipidů v krvi, zbavují únavy, stresů, působí příznivě na paměť, na kardiovaskulární ústrojí. Polyacetylenové deriváty mají protizánětlivé účinky, vybrané polysacharidy snižují množství cukru v krvi. V klinické praxi je využíván ženšen pravý též k léčbě nespavosti, poruch paměti a depresí a k prevenci progresy symptomů Alzheimerovy choroby. Posiluje oběhovou soustavu a pro své antioxidační vlastnosti neutralizující volné radikály zabraňuje vzniku aterosklerózy. Droga se užívá při nervovém vyčerpání a celkové slabosti organismu, zhoršeném trávení, nemoci nebo těžkém porodu, při mrtvici i anémii. Ženšenové přípravky se ordinují ve formě sirupu, porcovaného čaje, tablet, extraktu, tinktury, ale i kosmetického krému a masti. Ženšen není vhodný pro těhotné či kojící ženy, protože zvyšuje citlivost prsou, způsobuje děložní krvácení a vyvolává úzkost [5, 11, 16, 38].

2 ANTIOXIDANTY

Antioxidanty jsou látky, které mohou zpomalit nebo inhibovat oxidaci nebo neutralizovat účinky volných radikálů [39].

Volné radikály jsou látky s nepárovými elektrony. Jsou schopny náhodně poškozovat lipidy, proteiny, sacharidy, také DNA, u které by mohlo dojít k mutaci. Reakce iniciovaná radikály vede k změnám ve struktuře buněk, k poškození celých tkání, orgánů a důležitých funkcí v organismu. Procesy v organismu nemohou samy plně eliminovat poškození biomolekul. Významnou ochranou před volnými radikály je prevence, tj. přijímání vyššího množství antioxidantů v potravě [21, 40].

Část volných radikálů si vytváří tělo při uvolňování energie, jedná se o nežádoucí vedlejší produkty metabolismu, vznikající většinou při maximálních tělesných zátěžích. Podobně působí a stimulují tvorbu radikálů i některé vnější podněty svým toxickým působením. Vyvolávajícími faktory jsou stresové situace, jako je pylové nebo toxické znečištění vzduchu, kouření, alkohol, ionizující záření, organická rozpouštědla a pesticidy, ale rovněž pochody spojené se stárnutím, nebo i vyčerpávající tělesná práce [22, 41].

Kyslíkové radikály i aktivní formy kyslíku, vznikající v mnoha redox procesech jsou zachyceny a zničeny specifickými enzymy, jako je peroxid dismutáza, kataláza a glutathion peroxidáza. Nadprodukce volných radikálů, spojených s A, C a E avitaminózou a sníženou hladinou výše uvedených enzymů, je hlavním faktorem, který vede k tzv. oxidativnímu stresu. Volné radikály jsou považovány za spolupůvodce celé řady onemocnění, svým působením se podílejí na vzniku a průběhu diabetu, podporují stárnutí, vznik neurologických a očních chorob (šedého zákalu), vzniku zánětů, plicních chorob, kožních onemocnění, degenerativní choroby (Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby), poruch imunity, srdeční a cévní choroby. Velmi významnou roli hrají volné radikály v případě aterosklerózy a při vzniku rakovinných onemocnění [21, 42].

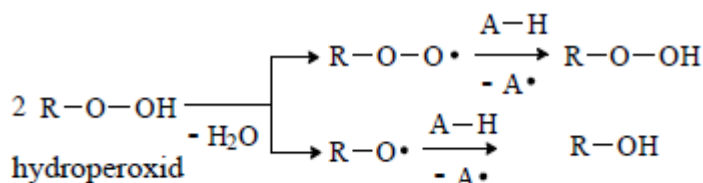
Oxidační pochody jsou v živých biologických systémech nezbyté pro získávání energie, u rozkládajících se biologických materiálů se podílejí na vzniku jednoduchých sloučenin, které se vracejí do koloběhu prvků v přírodě. Nežádoucí je však oxidace příliš rychlá, nebo příliš velkého rozsahu. V organismu jsou oxidační pochody, nežádoucí volné radikály

a jejich metabolické produkty zneškodňovány účinkem antioxidantů, které jsou schopné radikály eliminovat [22, 43].

V případě porušení rovnováhy mezi vytvářeným nebo přijímaným volným radikálem a antioxidanty, v organismu převládnu radikály, nastává oxidační stres, který vede k výše popsaným negativním zdravotním následkům. Jednou z možností, jak organismus chránit před vlivem exogenních i endogenních volných radikálů, je působení antioxidantů. Živé organismy chrání před oxidačním poškozením endogenní antioxidanty obranného systému. Proto zvýšením množství antioxidantů může pomoci chránit proti poškození buněk a rozvoji chronických onemocnění [22, 39, 40, 43].

Antioxidanty interferují s procesem oxidace lipidů a jiných oxylabilních sloučenin tak, že:

- reagují s volnými radikály (pak jsou to antioxidanty primární) nebo redukují vzniklé hydroperoxydy (antioxidanty sekundární)
- váží do komplexů katalyticky působící kovy
- eliminují přítomný kyslík [8].



A-H = antioxidant

A• = radikál antioxidantu

R-O-O• = peroxylový radikál

R-O• = alkoxylový radikál

R-OH = hydroxy derivát

Obr. 11. Reakce antioxidantů s volnými radikály

vzniklými autooxidací mastných kyseliny [8]

Z pohledu výživy je možno antioxidanty rozdělit na endogenní a exogenní. Endogenní antioxidanty se tvoří v těle, jedná se především o různé enzymy s antioxidačním účinkem, glutathion, melatonin, kyselina močová, koenzym Q. Exogenní antioxidanty jsou získává-

ny z přijímaných potravin. Tato skupina zahrnuje celou řasu sloučenin, jako jsou vitaminy C, E a karotenoidy (karoteny, lykopen, lutein), stopové prvky (zinek, selen), fenolové sloučeniny, mezi něž patří jednoduché fenoly (hydrochinon, guajakol, isoeugenol, thymol, karvakrol), fenolové kyseliny a jejich deriváty (kyseliny benzoová, skořicová), flavonoidy (rutin, kvercetin). Antioxidační účinky mají také kyselina citrónová či kyselina fytová [43, 44].

Další možností dělení antioxidantů je podle způsobu, kterým zabraňují oxidaci. Můžou být děleny na primární a sekundární antioxidanty. Primární antioxidanty přímo zhasí volné radikály, ke kterým jsou řazeny například fenolické sloučeniny, zejména substituované skořicové kyseliny, jejich estery, glykosidy a amidy. Sekundární antioxidanty brání oxidaci řadou jiných nepřímých mechanismů. Tyto látky váží kovové ionty, přeměňují peroxidy na neradikálové částice, absorbují UV záření nebo deaktivují singletový kyslík. Ovoce, zelenina, čaj, víno, obiloviny a některé druhy koření jsou přírodními zdroji antioxidantů [8].

V potravinách dochází k oxidaci při zpracování a skladování, což vede k jejich znehodnocení. Vzhledem k nežádoucím účinkům oxidovaných lipidů na lidské zdraví, je nezbytné snížit kontakt s produkty oxidace lipidů v potravinách. Aby se prodloužila skladovatelnost potravin, jsou široce používány syntetické antioxidanty pro průmyslové zpracování [45].

2.1 Fenolové antioxidanty

Fenoly jsou aromatické analogy alkoholů, jsou součástí prakticky všech potravin. Více než 8000 fenolických struktur je rozšířeno, jak u zvířat, tak v rostlinné říši. Fenoly se pohybují od jednoduchých struktur, s nízkou molekulovou hmotností, až po velké a složité molekuly s aromatickým kruhem. Výchozí látky k tvorbě mnoha fenolických látek u zvířat, rostlin a mikroorganismů jsou zejména aromatické aminokyseliny L-fenylalanin a L-tyrosin. Fenoly jsou velice heterogenní skupinou sloučenin, ze kterých se některé uplatňují jako vonné látky (alkoholy, aldehydy, alkany a alkeny, ethery a estery), a jiné jako látky chuťové (jednoduché fenoly i polyfenoly). Fenoly rostlin zahrnují jednoduché fenoly, fenolové kyseliny (deriváty kyseliny benzoové a kyseliny skořicové), kumariny, flavonoidy, stilbeny, hydrolyzovatelné a kondenzované taniny, lignany a ligninů. V přírodních materiálech se fenolické látky vyskytují v různých koncentracích [8, 46, 47].

Tab. 1. Hlavní skupiny fenolových sloučenin [3]

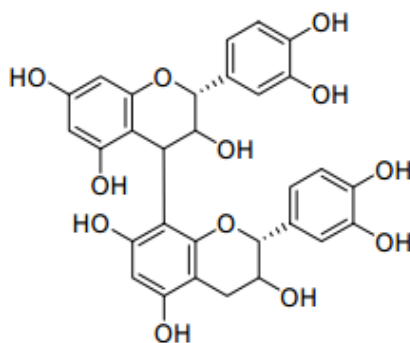
Počet uhlíků	Skupina polyfenolů	Základní skelet
6	jednoduché fenoly, benzochinony	C_6
7	fenolové (benzoové) kyseliny	C_6-C_1
8	acetofenony, fenylctové kyseliny	C_6-C_2
9	fenolové (skořicové) kyseliny, fenylpropeny, kumariny, chromeny	C_6-C_3
10	naftochinony	C_6-C_4
13	xantiny	$C_6-C_1-C_6$
14	stilbeny, anthrachinony	$C_6-C_2-C_6$
15	flavonoidy, isoflavonoidy, chalkony	$C_6-C_3-C_6$
18	lignany, neolignany	$(C_6-C_3)_2$
30	biflavonoidy	$(C_6-C_3-C_6)_2$
n	lignin	$(C_6-C_3)_n$
n	kondenzované taniny	$(C_6-C_3-C_6)_n$

2.1.1 Polyfenoly

Polyfenoly rostlin tvoří jednu z nejpočetnějších a nejvíce zastoupených skupin rostlinných sekundárních metabolitů, které jsou obsaženy v rostlinách. Polyfenolické sloučeniny jsou takové látky, které ve své molekule obsahují dvě a více hydroxylových skupin navázaných na aromatickém jádře. Jsou široce distribuovány a mohou být v rozsahu od jednoduchých molekul, jako jsou fenolové kyseliny, až po komplexní molekuly s mnoha fenolickými skupinami, např. acylované flavonoidní glykosidy, oligomerní proanthokyanidiny (Obr. 12) nebo hydrolyzovatelné taniny [48].

Polyfenoly se vyskytují především v konjugované formě, spojené s cukry, ale mohou být spojeny také s jinými sloučeninami, jako jsou karboxylové a organické kyseliny, aminy, lipidy a dokonce i s jinými polyfenoly. Hlavními skupinami polyfenolů jsou fenolové ky-

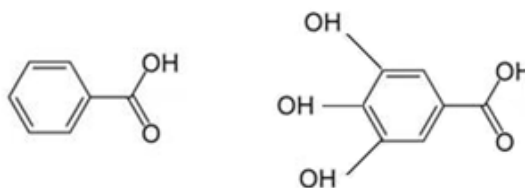
seliny, flavonoidy, stilbeny a lignany. Polyfenoly mají širokou škálu farmakologických vlastností, včetně protizánětlivé, antialergické a antibakteriální aktivity. Polyfenoly patří mezi nejvíce žádané fytochemikálie díky své antioxidační aktivitě. Zdrojem polyfenolických látek jsou zelenina, ovoce, čaj, víno, chmel, aromatické a léčivé rostliny [48, 49].



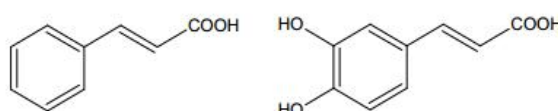
Obr. 12. Proanthokyanidin [8]

2.1.1.1 Fenolové kyseliny a jejich deriváty

Tyto sloučeniny vykazují primární antioxidační aktivitu, která je závislá na počtu hydroxylových skupin v molekule antioxidantu. Z fenolových kyselin se v rostlinách nejčastěji vyskytuje kyselina benzoová (Obr. 13) a její derivát (kyselina gallová, gentisová, vanilová, syringová) a kyselina skořicová a její deriváty (kyselina kávová, *o*-kumarová, *m*-kumarová, *p*-kumarová, ferulová). Tyto sloučeniny vykazují primární antioxidační aktivitu, která je závislá na počtu hydroxylových skupin v molekule antioxidantu. Fenolové kyseliny a jejich deriváty jsou obsaženy v aloe (kys. salicylová, skořicová, *p*-kumarová), hlohu (kys. chlorogenová, kávová, oleanolová), jinanu (kys. salicylová), měsíčku (kys. oleanolová), pelyňku (kys. kávová), rakytníku (kys. hydroxyskořicová, kávová) a třapatce (kys. kávová, chlorogenová, čekanková, kumarová, vanilová, *p*-hydroxyskořicová) [8, 46].



Obr. 13. Kyselina benzoová, kyselina gallová

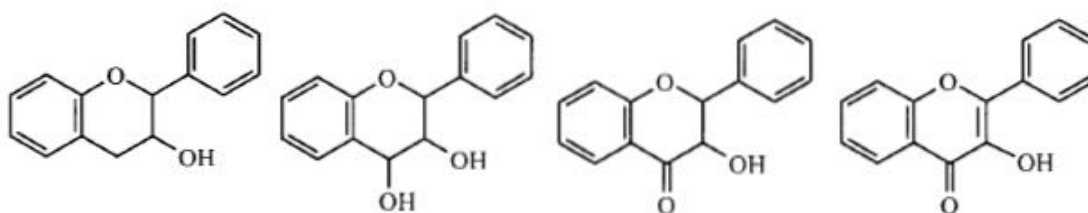


Obr. 14. Kyselina skořicová, kyselina kávová

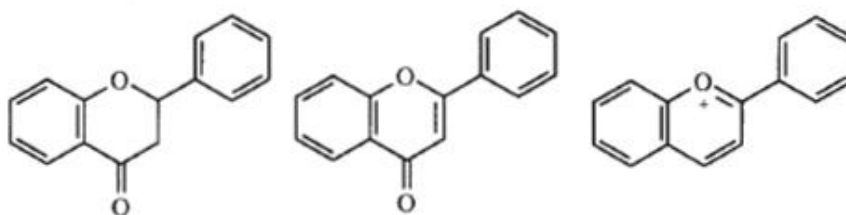
2.1.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahujících v molekule 2 benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Svými vlastnostmi se liší od ostatních polyfenolických sloučeniny a proto jsou uváděny jako samostatná skupina rostlinných látek. Dnes je známo více než 4000 flavonoidních látek, které jsou přítomny téměř ve všech rostlinách, převážně v listech, květech, slupkách plodů, v semenech, kůře a také v různých přírodních produktech rostlinného původu, např. v medu, propolisu, víně, ovocné šťávě. Nacházejí se v citrusových plodech, jablkách, rajčatech, cibuli, houbách a čaji. Flavonoidy představují nejběžnější a široce distribuovanou skupinu rostlinných fenolických látek, které jsou dále rozděleny podle stupně oxidace C_3 řetězce do 7 tříd na katechiny, leukoantokyanidiny, flavanonoly, flavonoly, flavanonyflavony a antokyanidiny [8, 46, 48, 50].

Obecná struktura flavonoidních látek:



Obr. 15. Katechin, leucoanthokyanidin, flavanonol, flavonol [8]

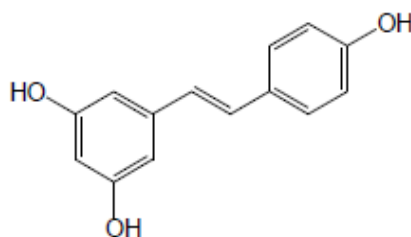


Obr. 16. Flavanon, flavon, anthokyanidin [8]

Flavonoidy, jsou významné přírodní antioxidanty, schopné odstraňovat (zhášet) hydroxylové a peroxidové radikály. Tak mohou působit uvnitř samotného organismu již od úrovně buňky, ale také mimo organismus, jako součást chemické interakce mezi organismy. Důležitý pro antioxidační aktivitu flavonoidů je počet hydroxylových skupin v molekule a jejich poloha. Aktivními sloučeninami jsou všechny dihydroxyderiváty s hydroxyskupinami v polohách C-3' a C-4'. Bývají účinnou složkou v převážné většině rostlinných léčivých preparátů s antibakteriálním, antialergickým, protizánětlivým, virostatickým, protinádorovým, protistrážlivým a vazodilatačním působením. Některé flavonoidy jsou důležité jako přírodní barvivo, jiné jsou významné pro svoji trpkou a hořkou chuť. Flavonoidy jsou významnou složkou u všech deseti vybraných léčivých rostlin. Nejčastěji jsou zastoupeny kvercetin, kemferol, apigenin a rutin [8, 50].

2.1.1.3 Stilbeny

Přirozeně se vyskytující stilbeny jsou substituované sloučeniny s dvěma benzenovými kruhy spojenými alifatickým dvouuhlíkatým řetězcem se strukturou $C_6-C_2-C_6$. Stejně jako flavonoidy, které mají strukturu $C_6-C_3-C_6$, se také deriváty stilbenu vyskytují jako volné sloučeniny nebo jako glykosidy. Počet rostlinných stilbenů je podstatně menší než počet flavonoidů. I jejich distribuce v rostlinné říši je méně globální, přesto zabírá několik čeledí, převážně u vyšších rostlin. Jejich biologický význam tkví především v obraně rostlin vůči mikrobiálnímu napadení. Tato obrana má často fytoalexinový charakter, tj. organismus produkuje dané látky v nepoměrně větší (účinné) dávce až po stresu vyvolaném napadením. Příkladem může být pinosylvin u borovic nebo jeho hydroxylový analog resveratrol, který byl nalezen v révě vinné [8, 50]. Resveratrol má 2 izomery, cis a trans (Obr. 17).

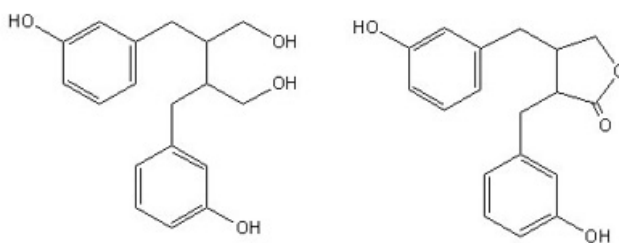


Obr. 17. *Trans-resveratrol* [49]

2.1.1.4 Lignany

Název lignany se používá pro specifickou třídu dimerů a oligomerů fenyylpropanoidů. Jsou to fytoestrogeny, což jsou vícesytné fenoly strukturou podobné steroidním sloučeninám. Přítomny jsou v rostlinách jako je len, luštěniny (čočka), obiloviny (tritikále a pšenice), zelenina (česnek, chřest, mrkev) a ovoce (hrušky, švestky) [49, 50].

Lignany hrají významnou roli v chemických interakcích mezi rostlinami a houbami, rostlinami navzájem a rostlinami a hmyzem, a to buď přímo, nebo zprostředkovaně, formou synergismu s jinými účinnými rostlinnými látkami. To znamená, že mají svůj význam v obranném systému hostitelských rostlin a ovlivňují tak symbiózu organismů na ekologické úrovni. Prekursory lignanů jsou také meziprodukty nebo komponenty tvorby ligninu, tudíž mohou hrát určitou roli i v regulaci růstu rostlin. Lignany ovšem vykazují velmi rozmanité spektrum účinků i na vyšší organismy, včetně člověka. Z deseti vybraných rostlin k analýze jsou lignany obsaženy v pelyňku pravém [8].



Obr. 18. *Enterodiol, anterolakton* [46]

2.1.2 Antioxidační účinky polyfenolů

Antioxidační účinek polyfenolů je komplexní a může se projevit několika mechanismy:

- Řada flavonoidů i dalších polyfenolů inhibuje enzymy zodpovědné za produkci superoxidového anion-radikálu (např. xantinoxidasa, proteinkinasa C). Inhibují i další enzymy, které se podílejí na tvorbě volných radikálů (cyklooxygenasa, lipoxygenasa, mikrosomální monooxygenasa).
- Mnohé polyfenoly vytváří chelátové vazby s kovy, především s mědí a dvojmocným železem. Volné ionty těchto kovů se účastní při tvorbě reaktivních kyslíkových forem.
- Řada polyfenolů je snadno oxidovatelná. Snadnost oxidace závisí na redoxním potenciálu. Látky s nízkou hodnotou redox potenciálu jsou schopny redukovat některé volné radikály s oxidačními účinky, např. superoxidový, peroxylový, alkoxylový a hydroxylový. Při reakcích poskytují vodík a samy se přitom většinou přeměňují na málo reaktivní fenoxyllový radikál nebo neradikálové chinoidní struktury. Význam reakce spočívá v tom, že radikály jsou eliminovány dříve, než reagují s dalšími buňčnými komponentami.

Za určitých okolností mohou některé fenolické látky působit i jako prooxidanty. Za přítomnosti zvýšeného množství přechodných kovů může fenoxyllový radikál reagovat i s kyslíkem za vzniku superoxidu a chinonu [43].

3 METODY STANOVENÍ VYBRANÝCH BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK

V práci byla ke stanovení antioxidační aktivity použita metoda DPPH a k zjištění celkového obsahu polyfenolů byla použita spektrofotometrická metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem.

3.1 Stanovení antioxidační aktivity

V oblasti chemické analýzy a biologického hodnocení potravin byl vypracován velký počet metod v posledním desetiletí, které umožňují stanovit tzv. celkovou antioxidační aktivitu vzorku. Jsou principiálně navzájem dosti odlišné a postupně se vyvíjejí jejich modifikace. Jejich rozmanitost vyplývá ze skutečnosti, že nízkomolekulární antioxidanty mohou působit různými mechanismy. Nejčastěji jde o přímou reakci s radikály nebo reakci s přechodnými kovy. Obecně mohou být metody kategorizovány do dvou skupin [40, 51].

- První skupinou jsou metody založené na eliminaci radikálů - spočívají v hodnocení schopnosti vzorku vychytávat volné radikály. Radikály mohou být v reakční směsi generovány nebo jsou do reakční směsi přidávány. Z hlediska chemického jde o radikály kyslíkové, které zahrnují řadu volných radikálů, jako jsou superoxidový anion radikál ($O_2\cdot$), hydroxylový radikál ($OH\cdot$), singletový kyslík (1O_2), peroxid vodíku (H_2O_2) a kyselina chlorná ($HClO$) nebo syntetické stabilní radikály (DPPH, ABTS+, galvinoxyl). Zvláštní skupinu tvoří metody testující schopnost inhibovat nebo zpomalovat lipidovou peroxidaci [40].
- Druhou skupinou jsou metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek [40].

3.1.1 Metody založené na eliminaci radikálů

- **Metoda ORAC**

Při použití metody ORAC (oxygen radical absorbance capacity) se v testovaném systému generují kyslíkové radikály a hodnotí se schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Detekce je založena na sledování úbytku fluorescence β -fykoerytrinu

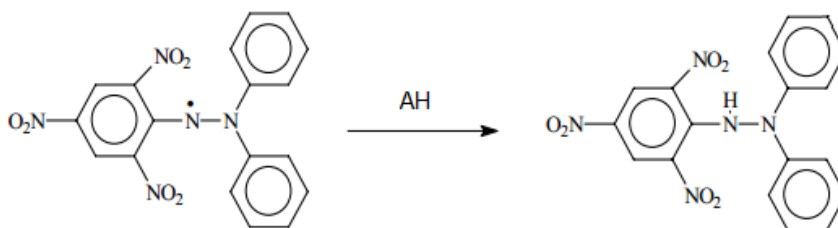
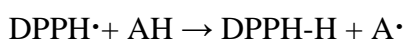
(β -PE) po ataku radikály. Pro generaci peroxylových radikálů se používá AAPH (2,2.-azobis(isobutyrimidamid)-dihydrochlorid, při generaci hydroxylových radikálů pak systém $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cu}^{2+}$ [40].

Vzhledem k tomu, že tyto radikály patří k nejreaktivnějším, patří test ORAC k důležitým parametrům charakterizujícím antioxidanty. Originální metoda ORAC používá sondu β -PE (ORAC_{PE}). Zavedením jiného typu fluorescenční sondy, a sice fluoresceinu (FL), se metodika (ORAC_{FL}) zpřesňuje. [40]

- **Metoda využívající DPPH**

Metoda DPPH je jednou ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých syntetických antioxidantů, izolovaných přírodních látek, rostlinných extraktů a potravin. Antioxidační látky mohou být rozpustné ve vodě, rozpustné v tuku, nerozpustné nebo vázané na buněčné stěny, a proto nemusí být volně k dispozici pro reakci s DPPH. Proto, je extrakční účinnost důležitým faktorem při kvantifikaci antioxidační aktivity potravin. Jedná se o rychlou, jednoduchou a nenákladnou metodu, která může být široce využívána u pevných a kapalných vzorků [40, 52].

Je založena na antioxidační schopnosti stabilního volného radikálu DPPH \cdot (1,1-difenylnitrofenyl)hydrazyl), kdy dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). DPPH vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. Při tomto testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem ($\text{R}\cdot$) roztok odbarví z fialové na žlutou podle následujících rovnic:



Obr. 19. Reakce DPPH s volným radikálem [52]

Reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm po uplynutí určitého konstantního času. Reakci je možno sledovat i metodou elektronové spinové rezonance (ESR) nebo HPLC. Použití detekce HPLC, při které je hodnocen pík radikálu DPPH, je výhodné zvláště u barevných vzorků, kdy se na rozdíl od spektrofotometrie zabarvení vzorku eliminuje. Antioxidační aktivita může být vyjádřena několika způsoby, v procentech použitého činidla či rychlosti oxidační inhibice. Jednodušší způsob jak vyjádřit antioxidační aktivitu metodou DPPH je použití referenčního standardu v ekvivalentech askorbové kyseliny nebo v jednotkách standardu trolu. Metoda se používá ke stanovení antioxidačních složek v různých typech vzorků, jako jsou i léčivé rostliny [40, 52].

- **Metoda používající galvinoxyl**

K metodám využívajícím reakci antioxidantu se stabilními radikály patří také test s galvinoxylem (2,6-di-*terc*-butyl-4-[(3,5-di-*terc*-butyl-4-oxocyklohexa-2,5-dien-1-yliden)-methyl]fenoxyl. Princip metody spočívá v redukci stabilního radikálu galvinoxylu látkami poskytujícími vodík podobně jako při testu DPPH. Reakce se sleduje spektrofotometricky při vlnové délce 428 nm nebo na základě elektronové spinové rezonance. [40]

- **Metoda používající ABTS= TEAC**

Je jednou ze základních a nejpoužívanějších metod pro stanovení celkové antioxidační aktivity. Principem ABTS testu je sledování inaktivace radikálového kationu $ABTS^+$ vznikajícího oxidací (2,2.-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu)), kde aktivním činidlem je peroxodisíran draselný, MnO_2 , AAPH (2,2.-azobis(2-amidinopropan)-dihydrochlori) či systém H_2O_2 /peroxidasa na radikál $ABTS^{\bullet+}$ [51].

Antioxidant reaguje s kationradikálem $ABTS^+$ a reakcí se snižuje hodnota absorbance. Je také označována jako metoda TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), vzhledem k tomu, že výsledná antiradikálová aktivita vzorku je srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Troloxu (6-hydroxy- 2,5,7,8-tetramethylchroman-2- karboxylová kyselina) [40].

Tato metoda může být aplikována na měření antioxidační aktivity čistých látek, vodných roztoků i nápojů. TEAC vyjadřuje počet radikálových kationtů $ABTS^{\bullet+}$ inaktivovaných

jednou molekulou antioxidantu. ABTS₂₊ má silnou absorpenci ve viditelné oblasti 600–750 nm (roztok je zelený) a antioxidační aktivita může být snadno stanovena spektrofotometricky [40, 51].

Při vlastním experimentálním měření se užívají dva postupy. V prvním se antioxidant přidává do reakční směsi, ve které byl již vytvořen radikál ABTS^{•+}, při druhém postupu je antioxidant v reakční směsi přítomen při generování radikálu ABTS^{•+}. Častěji se užívá uspořádání, při němž se antioxidant přidává k radikálu ABTS^{•+} již vyprodukovanému pomocí peroxidasy. Metoda stanovení antioxidační aktivity vzorků pomocí ABTS je jednoduchá, rychlá v provedení a má široké uplatnění, od hodnocení antioxidační aktivity látek různého původu až po směsné vzorky [40].

- **Metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace**

Lipidová peroxidace vyvolaná volnými radikály je jedním z nejvýznamnějších patologických pochodů organismu. Látky potlačující lipidovou peroxidaci mohou eliminovat jak iniciační kyslíkové radikály (OH[•]), tak sekundárně vznikající radikálové meziprodukty (peroxyl, alkoxy) a mohou též působit jako látky chelatující ionty přechodných kovů. Bylo vyvinuto mnoho metod hodnotících vliv antioxidantů na lipidovou peroxidaci. Častým postupem je užití fosfolipidových liposomů. Jinou možností je studium na mikrosomech. Další modifikací je sledování lipidové peroxidace na tkáňových homogenátech, mitochondriích nebo LDL-částicích [40].

K nejjednodušším testům patří metody založené na detekci produktů peroxidace linolové kyseliny. Jako iniciátor radikálové reakce je často užíván AAPH, produkty peroxidace jsou sledovány spektrofotometricky při 234 nm. Jednou z nejužívanějších metod k hodnocení schopnosti látek eliminovat lipidovou peroxidaci je metoda TBA-MDA. Je založena na stanovení jednoho ze sekundárních produktů lipidové peroxidace malondialdehydu (MDA) na základě jeho barevné reakce s kyselinou thiobarbiturovou (TBA), měří se absorbance při 532 nm [40].

3.1.2 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek

- **Metoda FRAP**

Metoda FRAP (Ferric reducing antioxidant power) je založena na redukci železitých komplexů jako je TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin))s hexakynoželezitanem draselným $K_3[Fe(CN)_6]$ nebo chloridem železitým $FeCl_3$, které jsou téměř bezbarvé, a po redukci se vytváří modře zbarvený železnatý komplex, jakým může být např. berlínská modř. Nárůst absorpance při 593 nm odpovídající množství komplexu Fe^{2+} -TPTZ je mírou antioxidační aktivity vzorku. Metoda má svá omezení spočívající v tom, že měření probíhá při velmi nízké hodnotě pH (3,6), dále nejsou zachyceny polyfenolické látky reagující s komplexem pomalu. Metoda FRAP tak odráží pouze schopnost látek redukovat ion Fe^{3+} a s celkovou antioxidační aktivitou vzorku nemusí pozitivně korelovat [40, 51].

- **HPLC metoda s elektrochemickou detekcí**

Elektroaktivní látky je možno velmi přesně a citlivě detekovat použitím amperometrických nebo coulochemických detektorů při analýze HPLC- ECD. Při HPLC-ECD se na pracovní elektrodu detektoru vkládá určitý kladný potenciál. Pík látky se projeví pouze tehdy, je-li látka při tomto potenciálu oxidována. Látku je tak možno charakterizovat nejen retenčním časem, ale také potenciálem, při kterém se oxiduje. To umožňuje analyzovat komplexní směsi a identifikovat v nich jednotlivé účinné antioxidační komponenty na základě hodnoty potenciálu aplikovaného na elektrodu [40].

3.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Pro stanovení celkového obsahu polyfenolických látek je hojně využívána spektrofotometrická metoda za použití Folin-Ciocalteuova činidla [47].

Základem metody je oxidace fenolů FC činidlem, což je směs fosfowolframové a fosfomolybdenové kyseliny, při níž se tvoří barevný produkt s absorbcí při λ_{max} 745-750 nm. Intenzita zbarvení závisí na koncentraci fenolických látek s antioxidačními schopnostmi přítomnými ve vzorku. Je založena na redukci fosfowolframato-fosfomolybdenového komplexu. Nejvíce se jako standard využívá kyselina gallová. Folin-Ciocalteuova reakce není specifická jen pro fenolové látky, ale činidlo může být redukováno i mnoha nefenolovými

sloučeninami jako vitamin C nebo ionty Cu^+ a jinými. Fenolové sloučeniny reagují jen v alkalickém prostředí při pH 10. Metoda byla a je po mnoho let používána pro měření koncentrace celkových fenolových látek v přírodních produktech, vzorcích zeleniny a ovoce, zrnin, ovocných šťáv, piva a vína. Metoda se používá ke stanovení polyfenolických složek v různých typech vzorků, jako jsou i léčivé rostliny [32, 47].

V současnosti často používanou metodou je technika HPLC, která se také používá pro kvantifikaci fenolických sloučenin. Pro analýzu antokyanů, prokyanidinů, flavonů, flavonolů, flavan-3-olu, flavonů a fenolových kyselin je možno použít různé nosiče a mobilní fáze. Zavedení systému s obrácenou fází má výrazně lepší separaci různých tříd fenolických sloučenin. Potravinové fenolické látky jsou běžně detekovány pomocí UV-VIS, fotodiodovým polem, a fluorescenčním detektorem [47].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovit a porovnat antioxidační aktivitu a stanovit celkový obsah polyfenolů u vybraných léčivých rostlin aloe pravá, hloh obecný, jinan dvoulaločný, měsíček lékařský, pelyněk pravý, rakytník řešetlákový, růže šípková, saturejka zahradní, třapatka nachová a ženšen pravý.

1. Formou literární rešerše charakterizovat vybrané léčivé rostliny a jejich vlastnosti, dále uvést zástupce antioxidantů, popsat jejich působení a zdroje. Popsat také metody využívané ke stanovení antioxidační aktivity a celkových polyfenolických látek.
2. Stanovit u vybraných léčivých rostlin jejich antioxidační aktivitu pomocí metody DPPH a následně určit hodnotu IC_{50} u vybraných léčivých rostlin s nejvyšší antioxidační aktivitou. Stanovit celkový obsah polyfenolických látek spektrofotometrickou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Získané výsledky vyhodnotit a porovnat s literaturou.

5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

5.1 Vzorke léčivých rostlin

V diplomové práci bylo analyzováno 41 vzorků 10 různých druhů léčivých rostlin- aloe pravá, hloh obecný, jinan dvoulaločný, měsíček lékařský, pelyněk pravý, rakytník řešetlákový, růže šípková, saturejka zahradní, třapatka nachová a ženšen pravý. U těchto desíti rostlin byly vybrány jejich části s ohledem na běžné použití, a doporučení pro použití v tradiční medicíně a léčení.

K analýze byly použity čerstvé vzorky léčivých rostlin (aloe, jinan, měsíček, rakytník, růže a třapatka), z domácího pěstitelství a tržní sítě. Veškeré čerstvé vzorky byly také následně vysušeny a podrobeny analýze. Dále byly použity ke stanovení sušené vzorky léčivých rostlin (hloh, jinan, měsíček, pelyněk, rakytník, saturejka, třapatka, ženšen), které byly zakoupeny v sypané formě v tržní síti. V tab. 2 je uveden přehled vzorků léčivých rostlin použitých k analýze.

Tab. 2. Přehled vzorků léčivých rostlin použitých k analýze

Vzorek		Forma	Část rostliny	Původ
Aloe pravá (<i>Aloe vera</i>)	1	čerstvá	list	domácí pěstitelství- Aloe vera 'barbadensis', Langenberg, SRN, říjen 2013
	1.1	sušená - laboratoř		
	2	čerstvá	list	domácí pěstitelství- Aloe vera 'sweet', Langenberg, SRN, říjen 2013
	2.1	sušená - laboratoř		
	3	čerstvá	list	Pěnička, Zlín, ČR, říjen 2013
	3.1	sušená - laboratoř		

Tab. 2 – pokračování. Přehled vzorků léčivých rostlin použitých k analýze

Vzorek		Forma	Část rostliny	Původ
Hloh obecný <i>(Crataegus oxyacantha)</i>	1s	sušená	list s květem	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	2s	sušená	list s květem	Rosa Canina, Brno, ČR, doba spotřeby: listopad 2014
Jinan dvoulaločný <i>(Ginkgo biloba)</i>	1	čerstvá	list	volně rostoucí, Hluboká, ČR, říjen 2013
	1.1	sušená - laboratoř		
	2	čerstvá	list	volně rostoucí, Zlín, ČR, říjen 2013
	2.1	sušená - laboratoř		
	3s	sušená	list	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	4s	sušená	list	Rosa Canina, Brno, ČR, doba spotřeby: listopad 2014
	5	čerstvá	list	volně rostoucí, Zlín, ČR, říjen 2013
	5.1	sušená - laboratoř		
Měsíček lékařský <i>(Calendula officinalis)</i>	1	čerstvá	květ se	domácí pěstitelství- Trenčín, SR, září 2013
	1.1	sušená - laboratoř	zákrovem	
	2s	sušená	květ bez zákrovu	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	3s	sušená	květ se zákrovem	Rosa Canina, Brno, ČR, doba spotřeby: listopad 2014

Tab. 2. – pokračování 2. Přehled vzorků léčivých rostlin použitých k analýze

Vzorek		Forma	Část rostliny	Původ
Pelyněk pravý <i>(Artemisia absinthium)</i>	1s	sušená	nať	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	2s	sušená	nať	Rosa Canina, Brno, ČR, doba spotřeby: listopad 2014
Rakytník řešetlákový <i>(Hippophae rhamnoides)</i>	1	čerstvá	plod	volně rostoucí- Hodonín, ČR, listopad 2013
	1.1	sušená		
	2s	sušená	plod	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
Růže šípková <i>(Rosa canina)</i>	1	čerstvá	plod	volně rostoucí, Zlín, ČR, říjen 2013
	1.1	sušená		
	2	čerstvá	plod	volně rostoucí, Zlín, ČR, říjen 2013
	2.1	sušená		
	3	čerstvá	plod	volně rostoucí, Zlín, ČR, říjen 2013
	3.1	sušená		
Saturejka zahradní <i>(Satureja hortensis)</i>	1s	sušená	nať	Pollau, Pavlov, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	2s	sušená	nať	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	3s	sušená	nať	Rosa Canina, Brno, ČR, doba spotřeby: listopad 2014

Tab. 2– pokračování 3. Přehled vzorků léčivých rostlin použitých k analýze

Vzorek		Forma	Část rostliny	Původ
Třapatka nachová <i>(Echinacea purpurea)</i>	1s	sušená	kořen	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	2s	sušená	kořen	Rosa Canina, Brno, ČR, doba spotřeby: listopad 2014
	3s	sušená	květ	Rosa Canina, Brno, ČR, doba spotřeby: listopad 2014
	4	čerstvá	květ	volně rostoucí - Zlín, ČR, říjen 2013
	4.1	sušená		
Ženšen pravý <i>(Panax ginseng)</i>	1s	sušená	kořen	Natura s.r.o., Děčín, ČR, doba spotřeby: říjen 2014
	2s	sušená	kořen	Dr. Popov s.r.o., Planá, ČR, doba spotřeby: září 2014

5.2 Použité chemikálie

- demineralizovaná voda
- etanol (P. Lukeš, Uherský Brod)
- DPPH (Aldrich, USA)
- Na₂CO₃ (P. Lukeš, Uherský Brod)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Penta, Praha)
- acetátový pufr (pH= 5,5)
- standard kyseliny askorbové (Fluka – Chemika, Švýcarsko)
- standard kyseliny gallové (Sigma, Německo)

5.3 Použité přístroje a pomůcky

- laboratorní sklo a pomůcky
- hliníkové misky
- analytické váhy EP 214, Ohaus, Švýcarsko)
- spektrofotometr (Spekol 11, Carl Zeiss Jena, Německo)
- sušárna (Venticell, BMT a.s., ČR)

6 METODIKA STANOVENÍ

6.1 Stanovení obsahu sušiny

Pro stanovení obsahu sušiny ve vzorcích léčivých rostlin byla použita kontrolní metoda. Cílem tohoto stanovení bylo zjistit úbytek hmotnosti drogy vzniklé únikem těkavých látek (vody a silic) při teplotě 105°C. Pro stanovení sušiny byly použity všechny čerstvé i sušené vzorky uvedené v tab. 2 (kapitola 5). Hliníková miska s víčkem byly předsušeny v sušárně, poté byly vloženy do exsikátoru a po vychladnutí byla miska s víčkem zvážena na analytických vahách s přesností na 0,0001 g. Do ní byl navážen 1 g sušeného vzorku léčivé rostliny s přesností na čtyři desetinná místa. V případě čerstvých vzorků bylo naváženo 5 g vzorku léčivé rostliny s přesností na 4 desetinná místa. Vzorek byl rozprostřen do stejnoměrné vrstvy, víčko bylo umístěno pod misku, a miska byla vložena do elektrické sušárny předehřáté na teplotu 105 °C.

Vzorek byl sušen do konstantního úbytku hmotnosti. Miska byla vyjmuta ze sušárny, uzavřena víčkem a vložena do exsikátoru a zvážena na analytických vahách. Výsledkem byl průměr ze tří provedených stanovení. Ze získaných hodnot byla vypočítána sušina v %.

Obsah sušiny S [%] byl vypočítán podle vztahu:

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

m_0 – hmotnost vysušené prázdné misky [g]

m_1 – hmotnost misky se vzorkem před vysušením [g]

m_2 – hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g]

6.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Ke stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda DPPH a ze závislosti inaktivace na koncentraci pak byla vypočtena antioxidační aktivity mg KA/g vzorku přepočítána na sušinu. Metoda používající DPPH spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem DPPH. Přítomnost antioxidantů s antiradikálovou aktivitou způsobí redukci barveného

stabilního radikálu DPPH na bezbarvou molekulu. Reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky. Metoda DPPH byla zvolena vzhledem k rychlosti, citlivosti a reprodukovatelnosti výsledků [53].

6.2.1 Příprava výluhů léčivých rostlin

Na analytických vahách bylo naváženo 5g čerstvého vzorku s přesností na 0,0001 g a následně rozetřeno v třecí misce pro lepší extrakci. V případě sušeného vzorku byl navážen 1 g s přesností na 4 desetinná místa. Navážka vzorku byla dvakrát extrahována 50 ml demineralizované vody, celkem tedy 100 ml. Při extrakci čerstvého vzorku byla teplota destilované vody 80°C, v případě sušeného vzorku to byla teplota 90°C. Každá extrakce probíhala 10 minut. Po 20 minutách byl extrakt přefiltrován přes filtrační papír. Filtrát byl kvantitativně převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn demineralizovanou vodou. Takto připravený výluh léčivé rostliny byl dále ředěn a použit k analýze.

6.2.2 Stanovení antioxidační aktivity léčivých rostlin

Pro měření antioxidační aktivity byly použity výluhy, které byly připraveny způsobem uvedeným v kapitole 6.2.1. Výluhy byly ředěny na 50, 25, 15 a 10 % koncentraci. Pro měření byla použita koncentrace DPPH, která byla experimentálně zjištěna jako nejvhodnější - 0,2 mM v etanolu. Do zkumavek se zábrusem byla, po předchozí optimalizaci postupu, napipetována mikropipetou reakční směs, která se skládala z: 0,1 ml vzorku vodného výluhu léčivé rostliny, 1,9 ml DPPH (1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl) a 1 ml acetátového pufru. Zkumavka byla zazátkována a protřepána. Zkumavky byly uloženy do tmy na 1 hodinu při laboratorní teplotě. V průběhu reakce byly zkumavky promíchávány. Po 60 minutách byla měřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 517 nm proti slepému pokusu.

Slepý pokus byl připraven stejně jako reakční směs s tím rozdílem, že místo DPPH byl použit etanol. Pro výpočet inaktivace bylo nutné proměřit absorbanci kontrolního vzorku. Kontrolní vzorek byl připraven smícháním 0,1 ml demineralizované vody, 1,9 ml DPPH a 1 ml acetátového pufru. Z filtrátu léčivých rostlin byly připraveny dva vzorky, kterých absorbance byla měřena třikrát. Ze získaných hodnot absorbance kontrolního vzorku a filtrátu léčivých rostlin byla spočítána hodnota inaktivace v %.

Inaktivace [%] byla vypočítána podle vztahu:

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

K - absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 517 nm

A – absorbance filtrátu vzorku při vlnové délce 517 nm

Hodnoty inaktivace byly následně dosazeny do kalibrační křivky kyseliny askorbové a vypočítány hodnoty mg ekvivalentu kyseliny askorbové na gram vzorku a přepočítány na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na gram sušiny.

6.2.3 Příprava standardního roztoku a kalibrační křivky kyseliny askorbové

Pro přípravu kalibrační křivky pro metodu DPPH byl jako standard použita kyselina askorbová, ze které byl připraven zásobní roztok (KA) o koncentraci 0,3 mg/ml. Ze zásobního roztoku byla ředěním připravena kalibrační řada o 9 koncentracích: 0,003; 0,015; 0,03; 0,075; 0,105; 0,15; 0,165; 0,18; a 0,225 mg/ml. Reakční směs kalibračních roztoků byla připravena stejným způsobem jako v kapitole 6.2.2.

Absorbance reakční směsi z každé koncentrace standardu kyseliny askorbové byla měřena třikrát. Ze získaných hodnot byla sestrojena kalibrační křivka jako závislost inaktivace na koncentraci kalibračních roztoků standardu kyseliny askorbové. Výsledky byly proloženy přímkou, byla zjištěna rovnice lineární regrese, ze které byly vypočítány hodnoty koncentrace v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na gram vzorku a přepočítána na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na gram sušiny.

6.2.4 Příprava výluhů a stanovení hodnoty IC₅₀

Pro výpočet hodnoty IC₅₀ byla vytvořena kalibrační řada vodných výluhů u třech léčivých rostlin s nejvyšší antioxidační aktivitou (růže šípková, saturejka zahradní, třapatka nachová) o různých koncentracích. Vodné výluhy byly připraveny obdobně jako v kapitole 6.2.1. Z jednotlivých koncentrací byla připravena a proměřena reakční směs stejně jako je uvedeno v kapitole 6.2.2. Z naměřených absorbancí byla vypočítána inaktivace. Výsledky byly

proloženy přímkou, byla zjištěna rovnice lineární regrese, ze které byla vypočítána hodnota IC_{50} . Hodnota IC_{50} udává koncentraci, při které dochází k odbourání 50 % radikálu DPPH.

6.3 Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem

Pro stanovení obsahu celkových polyfenolů byla použita fotometrická metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Princip metody spočívá v tom, že fenoly jsou v alkalickém prostředí oxidovány FC činidlem, což je směs fosfowolframové a fosfomolybdenové kyseliny. Toto činidlo je tvořeno směsí kyseliny fosforečno-wolframové a kyseliny fosforečno-molybdenové, které se po oxidaci fenolů redukují na směs modrých oxidů wolframu a molybdenu. Vytvořené modré zbarvení silně absorbuje v oblasti 750 nm a je úměrné celkovému množství původně přítomných fenolových sloučenin [32].

6.3.1 Příprava výluhů léčivých rostlin

Na analytických vahách bylo naváženo 5 g čerstvého vzorku nebo 1 g sušeného vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Před vlastní extrakcí byly čerstvé vzorky rozetřeny v třecí misce pro lepší extrakci. Navážka vzorku byla dvakrát extrahována 50 ml destilované vody o teplotě 80 °C u čerstvých vzorků a 90 °C v případě sušených vzorků po dobu 10 minut. Extrakt byl následně přefiltrován přes filtrační papír a převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou. Takto připravený výluh léčivé rostliny byl dále ředěn a použit k analýze.

6.3.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů léčivých rostlin

Nejdříve se připravil extrakt vzorku, který byl ředěn na 50 a 25% koncentraci. Pro stanovení celkového obsahu polyfenolů v léčivých rostlinách byla, po předchozí optimalizaci postupu připravena reakční směs z 0,5 ml vodného výluhu léčivé rostliny, 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1 ml demineralizované vody a vše bylo promícháno. Zároveň byl připraven slepý pokus, který byl připraven stejně jako reakční směs, s rozdílem, že místo 0,5 ml vzorku byla použita demineralizovaná voda. Takto připravená reakční směs byla v zazátkovaných zkumavkách ponechána v temnu při laboratorní teplotě, přičemž po 5

minutách byl přidán 1ml 10% roztoku Na_2CO_3 a směs promíchána. Po 15 minutách v temnu při laboratorní teplotě byla měřena absorbance na spektrofotometru proti slepému pokusu při vlnové délce 750 nm. Z filtrátu léčivých rostlin byly připraveny dva vzorky, kterých absorbance byla měřena třikrát.

Ze získaných hodnot byla sestrojena kalibrační křivka jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků standardu kyseliny gallové. Ze sestrojené kalibrační křivky byla pomocí lineární regrese vypočtena hodnota koncentrace v mg ekvivalentu kyseliny gallové na gram vzorku a přepočten i na mg/g sušiny.

6.3.3 Příprava standardního roztoku a kalibrační křivky kyseliny gallové

Pro stanovení celkových polyfenolů byl použit jako standard kyselina gallová (GA), ze které byl připraven zásobní roztok o koncentraci 1,0 mg/ml. Ze zásobního roztoku byla ředěním připravena kalibrační řada o 8 koncentracích: 0,01; 0,03; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 a 0,5 mg/ml. Reakční směs kalibračních roztoků byla připravena stejným způsobem jako v kapitole 6.3.2. Na spektrofotometru byla změřena absorbance připravených reakčních směsí.

Absorbance reakční směsi z každé koncentrace standardu kyseliny gallové byla měřena třikrát. Ze získaných hodnot byla sestrojena kalibrační křivka jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků standardu kyseliny gallové. Ze sestrojené kalibrační křivky byla pomocí lineární regrese vypočtena odpovídající koncentrace v mg ekvivalentu kyseliny gallové na gram vzorku a přepočten i na mg/g sušiny.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Stanovení obsahu sušiny

Stanovení obsahu sušiny bylo provedeno u všech vzorků, jak čerstvých, tak i sušených, dle postupu popsaneho v kapitole 6.1. V tab. 3 je uveden průměr ze tří provedených stanovení se směrodatnou odchylkou (s).

Tab. 3. Obsah sušiny léčivých rostlin

Vzorek		Sušina [%]	s
Aloe pravá	1	5,04	0,02
	2	3,26	0
	3	3,80	0
Hloh obecný	1s	93,57	0
	2s	92,87	0
Jinan dvoulaločný	1	26,74	0,01
	2	25,48	0,01
	3s	94,98	0
	4s	94,79	0
	5	25,70	0,01
Měsíček lékařský	1	17,60	0,01
	2s	93,66	0
	3s	90,66	0
Pelyněk pravý	1s	93,57	0
	2s	93,38	0
Rakytník řešetlákový	1	18,83	0,02
	2s	93,63	0
Růže šípková	1	47,49	0
	2	47,69	0
	3	52,11	0,02
Saturejka zahradní	1s	91,75	0,01
	2s	92,70	0,01
	3s	93,01	0
Třapatka nachová	1s	92,06	0,01
	2s	93,08	0
	3s	93,08	0
	4	19,58	0,01
Ženšen pravý	1s	92,13	0
	2s	92,57	0

Z Tab. 3 je patrné, že obsah sušiny sušených léčivých rostlin zakoupených v tržní síti (s) se pohyboval v rozmezí od 90,66 do 94,98 %. Nejvyšší obsah měl vzorek jinanu dvoulaločnatého od společnosti Natura a nejnižší obsah měl vzorek měsíčku lékařského od společnosti Rosa Canina. Nejvyšší obsah sušiny u čerstvých vzorků měli vzorky plodu růže šípkové v pořadí růže šípková 3 (52,11 %), 2 a 1 (47,49 %), dále to byl vzorek jinanu dvoulaločného 1 a 5 s hodnotami (26,74 a 25,7 %). Naopak nejnižší obsah sušiny měli vzorky aloe pravá 2 pocházející ze Slovenska a 3 z České republiky. Rozdíl obsahu sušiny v čerstvých a sušených vzorcích léčivých rostlin je značný. Největší rozdíl sušiny byl u rakytníku řešetlákového s rozdílem 74,80 % mezi čerstvým a sušeným vzorkem, následovala třapatka nachová a měsíček lékařský s hodnotami 73,50 a 73,06 % a jinan dvoulaločný s hodnotou 68,92 %.

7.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita byla stanovena celkem u 11 čerstvých a 30 sušených vzorků metodou DPPH v 10 léčivých rostlinách (aloe pravá, hloh obecný, jinan dvoulaločný, měsíček lékařský, pelyněk pravý, rakytník řešetlákový, růže šípková, saturejka zahradní, třapatka nachová, ženšen pravý). Toto stanovení bylo provedeno postupem uvedeným v kapitole 6.2. Antioxidační aktivita byla vypočtena z regresní přímky grafické závislosti a vyjádřena jako mg ekvivalentu kyselina askorbové na gram vzorku.

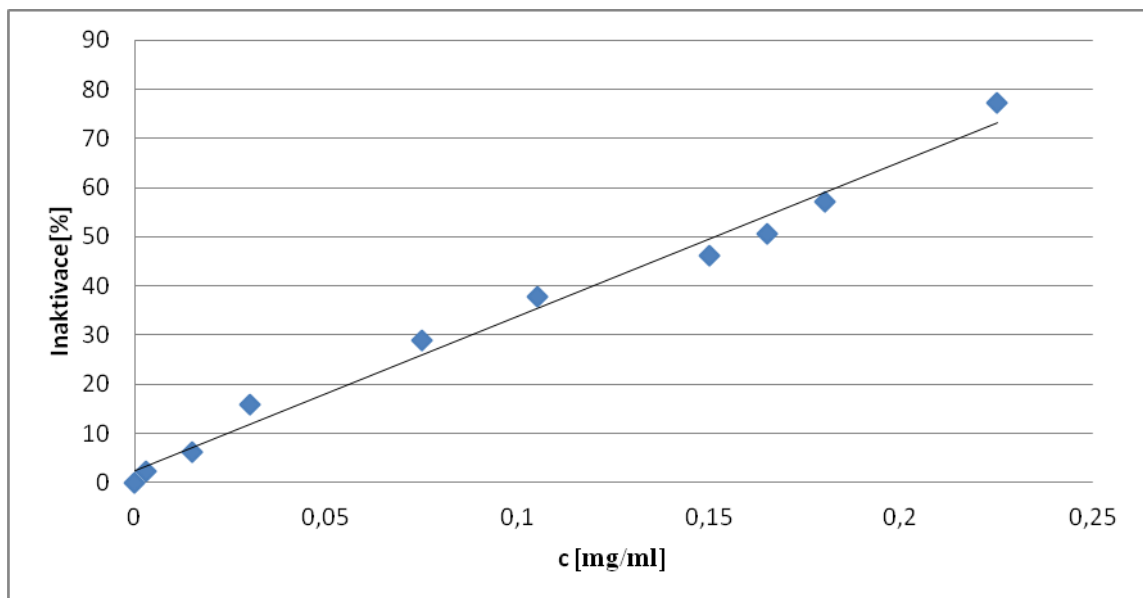
7.2.1 Kalibrační křivka kyseliny askorbové pro určení antioxidační aktivity

Pro přípravu kalibrační křivky pro určení antioxidační aktivity byla jako standard použita kyselina askorbová, z níž byl připraven zásobní roztok o koncentraci 0,3 mg/ml. Ze zásobního roztoku byla ředěním připravena kalibrační řada 9 roztoků o koncentraci 0,03 až 0,225 mg/ml. Reakční směs kalibračních roztoků byla připravena, jak je uvedeno v kapitole 6.2.2. Pro výpočet inaktivace podle vzorce uvedeného v kapitole 6.2.2. byla měřena absorbance reakčních směsí.

Kalibrační křivka (Obr. 20) byla sestrojena jako závislost inaktivace na koncentraci kalibračních roztoků standardu kyseliny askorbové. Jednotlivé body byly proloženy lineární regresí. Hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace KA jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace kyseliny askorbové

Koncentrace KA [mg/ml]	Inaktivace [%]
0,003	2,31
0,015	6,35
0,030	15,92
0,075	28,96
0,105	37,95
0,150	46,12
0,165	50,52
0,180	57,18
0,225	77,15



Obr. 20. Kalibrační křivka kyseliny askorbové

Sestrojená kalibrační křivka má rovnici regrese: $y = 314,394x + 2,441$

kde: y ... inaktivace I [%]

x ... koncentrace kyseliny askorbové [mg/ml]

Korelační koeficient závislosti koncentrace kyseliny askorbové na inaktivaci: $R^2 = 0,9861$.

7.2.2 Stanovení antioxidační aktivity aloe pravé

Antioxidační aktivita byla stanovena u aloe pravé ve 3 čerstvých vzorcích, které byly podrobeny analýze i po vysušení.

V Tab. 5 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 5. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvé i sušené aloe

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Aloe	1	12,23	0,31	0,08	5,04	6,11
Aloe	1.1	34,75	6,94	0,33	-	6,94
Aloe	2	8,61	0,20	0,05	3,26	6,01
Aloe	2.1	15,25	3,44	0,13	-	3,44
Aloe	3	5,80	0,11	0,03	3,80	2,80
Aloe	3.1	14,33	3,67	0,16	-	3,67

Antioxidační aktivita čerstvých vzorků aloe se pohybovala v rozmezí 0,11-0,31 mg ekv. KA/g vzorku. U aloe 3 pocházející ze Zlína byla zjištěná dvakrát až třikrát menší antioxidační aktivita než u vzorků aloe 1 a 2 pocházející ze Slovenska, což je patrné i z hodnot přepočtených na sušinu. Antioxidační aktivita přepočtená na sušinu se pohybovala v rozmezí 2,80-6,11 mg ekv. KA/g sušiny. U sušených vzorků byly hodnoty antioxidační aktivity v rozmezí 3,44-6,94 v mg ekv. KA/g sušiny. Rozdíly je možné přičíst různým faktorům, jako je odrůda, klimatické podmínky, geografická poloha nebo fáze uzrání.

Ozsoy, Candoken a Akev [54] stanovovali antioxidační aktivitu ve vodném výluhu z čerstvé aloe. Antioxidační aktivitu autoři vyjádřili v přepočtu na hodnotu IC₅₀, která byla 41,81 mg/ml.

7.2.3 Stanovení antioxidační aktivity hlohu obecného

Pro stanovení antioxidační aktivity hlohu byly použity 2 sušené vzorky této léčivé rostliny zakoupené v tržní síti.

V Tab. 6 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 6. Výsledky stanovení antioxidační aktivity ze sušeného hlohu

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Hloh	1s	38,82	46,01	0,35	93,57	49,17
Hloh	2s	29,16	33,69	0,48	92,87	36,28

Vyšší antioxidační aktivitu měl hloh od společnosti Natura. Příčinou rozdílů může být heterogenita rostlinného materiálu (kvantitativní zastoupení jednotlivých částí), v tomto případě podíl listů a květů, které byly obsaženy ve vzorku, nebo také původ a klimatické podmínky při jeho růstu.

7.2.4 Stanovení antioxidační aktivity jinanu dvoulaločného

Antioxidační aktivita byla stanovena u jinanu dvoulaločného ve 3 čerstvých vzorcích, které byly podrobeny analýze i po vysušení a 2 sušených vzorcích zakoupených v tržní síti.

V Tab. 7. jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 7. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvého i sušeného jinanu

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Jinan	1	28,08	8,08	0,22	36,74	30,23
Jinan	1.1	15,05	3,99	0,36	-	3,99
Jinan	2	34,3	10,05	0,60	25,48	39,45
Jinan	2.1	21,13	5,87	0,29	-	5,87
Jinan	3s	28,82	8,35	0,43	94,98	8,79
Jinan	4s	19,85	5,52	0,29	94,79	5,82
Jinan	5	39,88	4,74	0,15	25,7	18,46
Jinan	5.1	36,95	10,94	0,44	-	10,94

Z výsledků stanovení antioxidační aktivity čerstvého jinanu je patrné, že jeho antioxidační aktivita se pohybovala v rozmezí od 4,74-10,05 mg ekv. KA/g vzorku. Vzorky jinanu, po přepočtu na sušinu, měly antioxidační aktivitu v rozmezí 18,46-30,23 mg ekv. KA/g sušiny vzorku. Zjištěné rozdíly hodnot mohly být způsobeny pěstebními a klimatickými podmínkami, ale také vyzrálostí listů a původem. Listy jinanu by měly být sbírány po zežloutnutí, v tomto stádiu obsahují nejvíce účinných látek.

U sušených vzorků jinanu byla antioxidační aktivita v rozmezí 3,99-10,94 mg KA/g sušiny. Nejvyšší antioxidační aktivitu z nich měl vzorek pocházející ze Zlína a nejnižší antioxidační aktivitu měl jinan pocházející z Hluboké nad Vltavou.

Antioxidační aktivitu ve vodném a metanolovém výluhu sušených listů jinanu stanovovali Pepeira a kol. [19], kterou vyjádřili v přepočtu na hodnotu IC_{50} . Pro vodný výluh to byla hodnota 1,58 mg/ml a pro metanolový výluh 0,74 mg/ml. Tawaha a kol. [55] stanovovali antioxidační aktivitu u sušených listů jinanu ve vodném a metanolovém extraktu s hodnotami 311 μ mol ekv. trolox/g a 276 μ mol ekv. trolox/g. Metanolový extrakt se jeví jako lepší rozpouštědlo pro extrakci antioxidačních složek jinanu dvoulaločného.

7.2.5 Stanovení antioxidační aktivity měsíčku lékařského

Pro stanovení antioxidační aktivity měsíčku byl použit 1 čerstvý vzorek, který byl podroben analýze i po vysušení a 2 sušené vzorky této léčivé rostliny zakoupené v tržní síti.

V Tab. 8 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 8. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvého i sušeného měsíčku

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Měsíček	1	37,31	1,11	0,25	17,60	6,29
Měsíček	1.1	27,23	7,84	0,19	-	7,84
Měsíček	2s	20,16	5,60	0,36	93,66	5,98
Měsíček	3s	53,84	16,25	0,70	90,66	17,93

Z porovnání výsledků antioxidační aktivity u třech sušených vzorků měsíčku je patné, že vzorek měsíčku se zákrovem zakoupený v tržní síti od společnosti Rosa Canina s hodnotou 17,93 mg ekv. KA/g sušiny měl dvakrát větší antioxidační aktivitu než vzorek pocházející ze Slovenska s hodnotou 7,84 mg ekv. KA/g. Tyto patrné rozdíly v antioxidační aktivitě mohou být způsobeny rozdílnou geografickou polohou, dobou sběru nebo také rozdílnými podmínkami při sušení. Nejnižší antioxidační aktivitu měl vzorek měsíčku bez zákrovu od společnosti Natura, což je způsobeno rozdílnou koncentrací antioxidantů v analyzovaných vzorcích. To potvrzuje i hodnota antioxidační aktivity čerstvého vzorku měsíčku se zákrovem, která s hodnotou 6,29 mg KA/g sušiny byla vyšší než je tomu u sušeného vzorku bez zákrovu.

Ercetin a Senol [24] studovali antioxidační aktivitu v sušených květech měsíčku ve vodném výluhu. V této práci byla uvedena hodnota AA 12,99 mg ekv. KA/g vzorku. Hodnota AA ze studie odpovídá námi zjištěným hodnotám, které byly v rozmezí 5,60-16,25 mg ekv. KA/g vzorku.

Miliauskas, Venskutonis a van Beek [56] stanovili antioxidační aktivitu metodou DPPH v sušeném měsíčku bez zákrovu za použití ethylacetátového, acetátového a metanolového rozpouštědla. Autoři vyjádřili výsledky v procentech inaktivace - 12,9 % pro metanolový extrakt, 2,6 % acetátový extrakt a 1,6 % pro ethylacetátový extrakt, tedy metanol se dá považovat za vhodnější extrakční činidlo než zbývající rozpouštědla.

7.2.6 Stanovení antioxidační aktivity pelyňku pravého

Antioxidační aktivita byla stanovena u pelyňku pravého ve 2 sušených vzorcích zakoupených v tržní síti.

V Tab. 9 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 9. Výsledky stanovení antioxidační aktivity ze sušeného pelyňku

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Pelyněk	1s	23,67	13,41	0,71	93,52	14,34
Pelyněk	2s	32,95	19,35	0,53	93,38	20,72

Jak je patrné z Tab. 9, antioxidační aktivita vzorků pelyňků se mírně liší. Rozdíl mezi vzorky činí 6,38 mg ekv. KA/g sušiny. Tento rozdíl v antioxidační aktivitě mohl být způsoben i dobou sběru, fází uzrání, ale i rozdílnými podmínkami při sušení.

Antioxidační aktivitu sušených květů a listů pelyňku extrahovaných metanolovým rozpouštědlem stanovovali Riahi a kol. [57] za použití metody DPPH a výsledky vyjádřili v přepočtu na hodnotu IC₅₀. U vzorku z listů to byla hodnota 21,78 mg/ml a u květu 11,65 mg/ml, tedy listy obsahují vyšší podíl antioxidantů než květy.

7.2.7 Stanovení antioxidační aktivity rakytníku řešetlákového

Pro stanovení antioxidační aktivity rakytníku byl použit 1 čerstvý vzorek, který byl podroben analýze i po vysušení a 1 sušený vzorek této léčivé rostliny zakoupený v tržní síti.

V Tab. 10 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 10. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvého i sušeného rakytníku

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Rakytník	1	37,94	4,46	0,47	18,83	23,69
Rakytník	1.1	44,66	13,22	1,01	-	13,22
Rakytník	2s	19,73	5,40	0,88	93,63	5,76

Antioxidační aktivita sušených vzorků z plodu rakytníku byla rozdílná. Vyšší hodnota AA byla stanovena u vzorku rakytníku pocházející z Hodonína a to s rozdílem 7,46 mg ekv. KA/g sušiny oproti vzorku od společnosti Natura. Rozdíl mohl být způsoben faktory, jako jsou doba sběru, podmínky sušení, složení a koncentrace antioxidantů. U čerstvého vzorku rakytníku byla AA s hodnotou 4,46 mg ekv. KA/g nižší než u obou sušených vzorků, po přepočtu na sušinu měl ale čerstvý vzorek nejvyšší AA ze všech vzorků.

Buřičová a Réblová [58], stanovovaly antioxidační aktivitu vodných a etanolových výluhů rakytníku řešetlákového spektrofotometricky, také metodou DPPH. Bylo zjištěno, že AA vodného výluhu ze sušeného plodu rakytníku byla 24,6 mg ekv. KA /g sušiny. Naše zjištěné hodnoty vodných výluhů byly nižší (5,76 a 13,22 mg ekv. KA/ g sušiny). Tento rozdíl může být způsoben mnoha faktory, jedním z nich je i rozdílná teplota použitá pro extrakci antioxidantů ze vzorků. Antioxidační aktivita etanolového výluhu byla 0,9 mg KA/ g sušiny.

Upadhyay, Kumar a Gupta [59] ve své práci zjišťovali antioxidační aktivitu vodných a alkoholových extraktů z listů rakytníku. Bylo zjištěno, že u vodného výluhu ze sušených

listů rakytníku byla hodnota antioxidační aktivity 109,03mg ekv. Troloxu/g sušiny, u alkoholového extraktu pak 143,21mg ekv. Troloxu/g sušiny.

7.2.8 Stanovení antioxidační aktivity růže šípkové

Antioxidační aktivita byla stanovena u růže šípkové ve 3 čerstvých vzorcích a, které byly podrobeny analýze i po vysušení.

V Tab. 11 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 11. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvé i sušené růže

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Růže	1	33,47	24,65	1,35	47,49	51,90
Růže	1.1	31,87	74,88	2,05	-	74,88
Růže	2	69,47	42,64	1,01	47,69	89,41
Růže	2.1	38,06	90,09	0,98	-	90,09
Růže	3	69,06	20,86	1,55	52,11	40,02
Růže	3.1	65,82	79,84	1,43	-	79,84

Antioxidační aktivita čerstvých vzorků plodů růže se pohybovala v rozmezí 40,02-89,41 v mg KA/g sušiny. Nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena u vzorku plodu růže 2, která byla více než dvakrát vyšší oproti nejnižší hodnotě AA u plodu růže 3. U sušených vzorků byly hodnoty antioxidační aktivity v rozmezí 74,88-90,09 v mg KA/g sušiny. Ze sušených vzorků měl nejvyšší antioxidační aktivitu vzorek plodu růže 2.1 s rozdílem 15,21 mg ekv. KA/g sušiny oproti nejnižší stanovené hodnotě AA u sušených vzorků. Rozdíly u čerstvých a sušených vzorků plodu růže mohou být způsobeny faktory, jakými jsou fáze uzrání, složení a koncentrace antioxidantů v plodech růže.

Buřičová s Réblovou [58] uvádějí ve své práci, hodnotu antioxidační aktivity u vodného a etanolového výluhu sušeného plodu růže šípkové. Ve vodném výluhu byla hodnota AA 62,7 mg ekv. KA/g sušiny, v etanolovém výluhu 6,3 mg ekv. KA/g sušiny. Námi stanovené hodnoty AA u sušených vzorků z plodu růže byly v rozmezí 74,88-90,09 mg ekv. KA/g sušiny, tedy mírně vyšší hodnoty z důvodu vyššího množství antioxidačních látek, než u vzorků analyzovaných v dané studii.

7.2.9 Stanovení antioxidační aktivity saturejky zahradní

Pro stanovení antioxidační aktivity saturejky byly použity 3 sušené vzorky této léčivé rostliny zakoupené v tržní síti.

V Tab. 12 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 12. Výsledky stanovení antioxidační aktivity ze sušené saturejky

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Saturejka	1s	59,90	72,81	1,65	91,75	79,36
Saturejka	2s	36,45	42,93	2,05	92,70	46,31
Saturejka	3s	63,73	77,51	1,23	93,01	83,34

U vzorků saturejky byly stanoveny hodnoty AA v rozmezí 42,93-77,51 mg ekv. KA/g vzorku. Nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena ve vzorku saturejky od společnosti Rosa Canina. Nepatrně nižší antioxidační aktivitu vykazoval vzorek bio saturejky od společnosti Pollau. Nejnižší antioxidační účinek vykazoval vzorek saturejky od společnosti Natura, která byla téměř dvakrát nižší oproti vzorku s nejvyšší antioxidační aktivitou. K faktorům, které mohly způsobit rozdíly ve stanovených antioxidačních aktivitách, se můžou řadit rozdílné klimatické podmínky, doba sběru, fáze zralosti, i podmínky sušení.

7.2.10 Stanovení antioxidační aktivity třapatky nachové

Antioxidační aktivita byla stanovena u třapatky nachové v 1 čerstvém vzorku, který byl podroben analýze i po vysušení a 3 sušených vzorcích zakoupených v tržní síti.

V Tab. 13 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 13. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvé i sušené třapatky

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Třapatka	1s	56,05	16,84	1,08	92,06	18,29
Třapatka	2s	60,44	36,71	1,88	93,08	39,44
Třapatka	3s	51,59	62,41	1,13	93,08	67,05
Třapatka	4	35,75	10,58	0,56	19,58	54,04
Třapatka	4.1	32,31	44,03	2,00	-	44,03

Antioxidační aktivita sušených vzorků třapatky se pohybovala v rozmezí od 16,84 do 32,41 mg KA/g vzorku. U vzorků přepočtených na sušinu byla AA v rozmezí od 18,29 do 67,05 mg KA/g sušiny. Ze sušených vzorků měl nejnižší AA vzorek kořene třapatky od společnosti Natura, který byl 2-3x nižší než u zbývajících sušených vzorků. U sušených vzorků z květu třapatky měl vyšší antioxidační aktivitu vzorek od společnosti Rosa Canina s rozdílem 23,02 mg ekv. KA/g sušiny oproti druhému vzorku pocházejícího z lokality Zlína. Antioxidační aktivita čerstvého vzorku květu třapatky byla vyšší než u vzorků z kořene třapatky. Podle našich zjištění je tedy v květu třapatky vyšší množství antioxidačních látek než v kořenu třapatky.

Miliauskas, Venskutonis a van Beek [56] stanovili antioxidační aktivitu metodou DPPH v sušené směsi z listů, stonků a květů třapatky za použití ethylacetátového, acetátového a metanolového rozpouštědla. Autoři vyjádřili výsledky v procentech inaktivace - 14,2 % pro acetátový extrakt, 6,8 % metanolový extrakt, 3,5 % pro etylacetátový extrakt. Ethyla-

cetátový extrakt se jeví jako lepší rozpouštědlo pro extrakci antioxidantních složek třapatky nachové.

7.2.11 Stanovení antioxidantní aktivity ženšenu pravého

Pro stanovení antioxidantní aktivity ženšenu byly použity 2 sušené vzorky této léčivé rostliny zakoupené v tržní síti.

V tabulce 14 jsou uvedeny hodnoty inaktivace odpovídající AA v mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g vzorku a přepočteny na mg ekvivalentu kyseliny askorbové na g sušiny u jednotlivých vzorků.

Tab. 14. Výsledky stanovení antioxidantní aktivity ze sušeného ženšenu

Vzorek		Inaktivace [%]	AA [mg ekv. KA/ g vzorku]	s	Sušina [%]	AA [mg ekv. KA/ g sušiny]
Ženšen	1s	6,58	1,31	0,17	92,13	1,42
Ženšen	2s	5,11	0,84	0,40	92,57	0,91

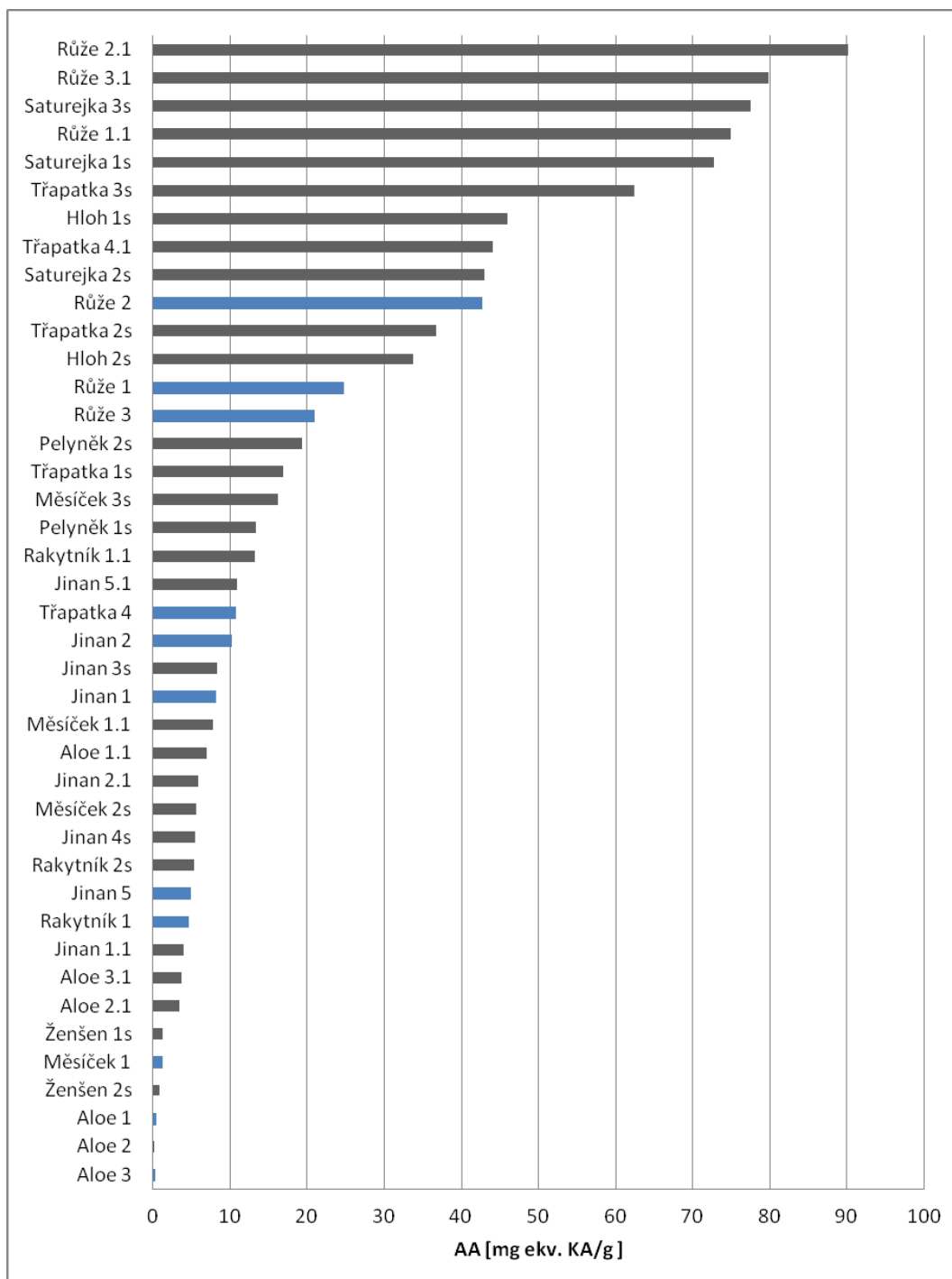
Antioxidantní aktivita obou vzorků ženšenu se výrazně neliší. Nižší antioxidantní aktivita byla stanovena u vzorku od společnosti Dr. Popov. Rozdíl mezi těmito dvěma vzorky činil jen 0,51 mg ekv. KA/g sušiny.

Katsube, Tabata, Ohta a kol. [44] ve své práci stanovovali antioxidantní aktivitu v 70 % etanolvých extraktech bylin. U ženšenu pravého byla naměřena hodnota nižší než 2 μ mol epigalokatechingalátu/g vzorku.

7.2.12 Porovnání antioxidantní aktivity léčivých rostlin

Z naměřených hodnot antioxidantní aktivity u čerstvých i sušených vzorků byl sestrojen graf, který ukazuje sestupné pořadí AA léčivých rostlin (Obr. 21). Pro sestrojení grafu byly použity hodnoty antioxidantní aktivity v mg ekv. KA/g vzorku. Modře jsou označeny čerstvé vzorky, černě jsou vyznačeny sušené vzorky léčivých rostlin.

Z grafické závislosti na Obr. 21 je patrné, že sušené vzorky vykazovali vyšší antioxidační aktivitu nežli vzorky v čerstvé formě. Nejvyšší antioxidační aktivita byla zjištěna u sušených vzorků plodů růže šípkové a saturejky. Nejnižší antioxidační aktivitu vykazovaly čerstvé vzorky aloe, sušené vzorky ženšenu a čerstvý vzorek měsíčku.



Obr. 21. Sestupné porovnání antioxidační aktivity léčivých rostlin

7.2.13 Hodnoty IC_{50} vybraných léčivých rostlin

Hodnota IC_{50} udává koncentraci vzorku, která je schopna odbourat 50 % radikálu DPPH. Čím je hodnota IC_{50} nižší, tím je antioxidační aktivita vyšší.

Stanovení bylo provedeno u tří druhů léčivých rostlin s nejvyšší antioxidační aktivitou. U každého druhu léčivé rostliny byly proměřeny 3 různé vzorky, které byly v sušeném stavu. Hodnota IC_{50} byla měřena u růže šípkové, saturejky zahradní a třapatky nachové.

Pro zjištění hodnot IC_{50} byla měřena absorbance vodných výluhů u jednotlivých vzorků. Z naměřených absorbancí byla vypočítána inaktivace podle vzorce uvedeného v kapitole 6.2.2. V Tab. 15-23 jsou uvedeny vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé koncentrace výluhů jednotlivých vzorků a tyto hodnoty jsou graficky znázorněny na Obr. 22-30 jako závislosti inaktivace (%) na koncentraci výluhu (mg/ml).

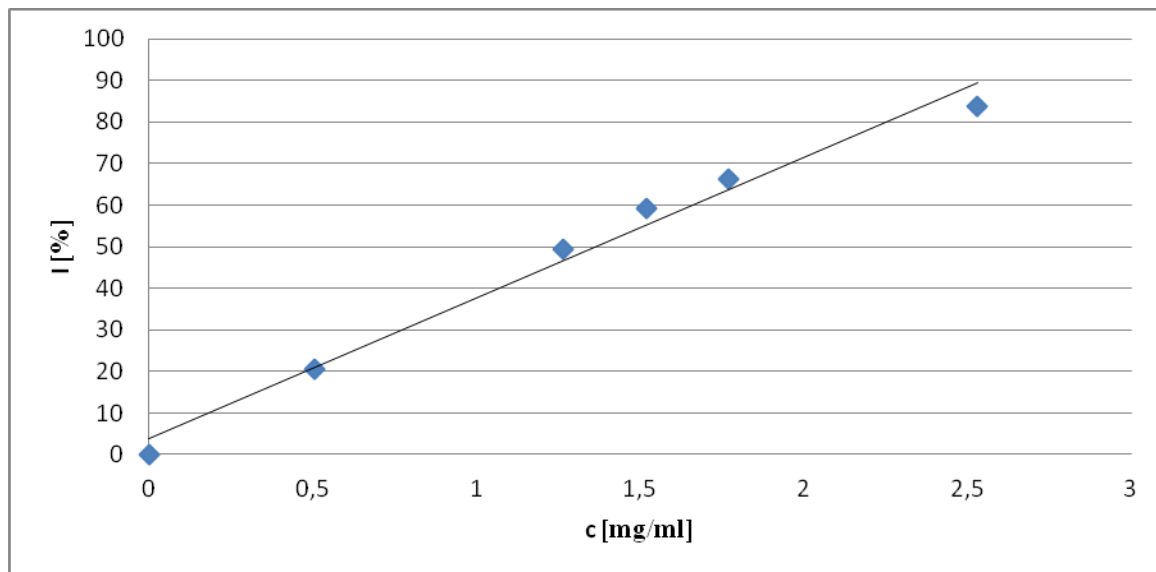
7.2.13.1 Hodnoty IC_{50} vzorků růže šípkové

- **Růže šípková 1.1**

Bylo zvoleno pět koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 0,51-2,53 mg/ml.

Tab. 15. Vypočtené hodnoty inaktivace růže 1.1

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
0,51	20,66
1,27	49,52
1,52	59,11
1,77	66,35
2,53	83,70



Obr. 22. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu růže 1.1

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 33,8643x + 3,7184$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je $I = 50$ %

x ... koncentrace výluhu růže 1.1 (mg/ml)

Korelační koeficient závislost inaktivace na koncentraci výluhu růže 1.1: $R^2 = 0,9837$

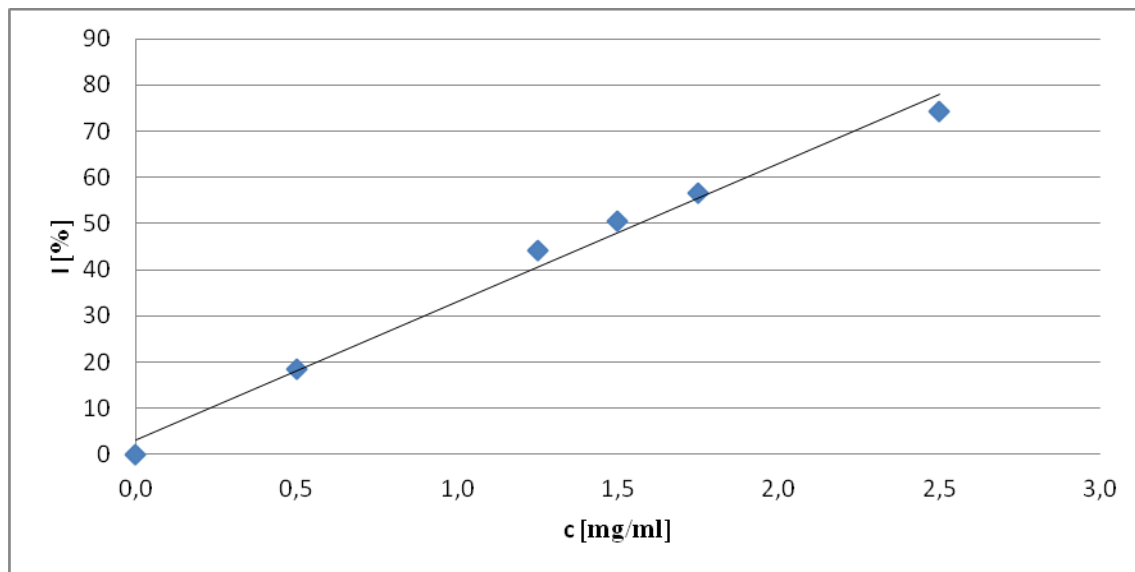
$IC_{50} = 1,37$ mg/ml

- **Růže šípková 2.1.**

Bylo zvoleno pět koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 0,50-2,50 mg/ml.

Tab. 16. Vypočtené hodnoty inaktivace růže 2.1

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
0,50	18,43
1,25	44,26
1,50	50,43
1,75	56,70
2,50	74,17



Obr. 23. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu růže 2.1

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 29,9619x + 3,2127$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je $I = 50$ %

x ... koncentrace výluhu růže 2.1 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu růže 2.1: $R^2 = 0,9876$

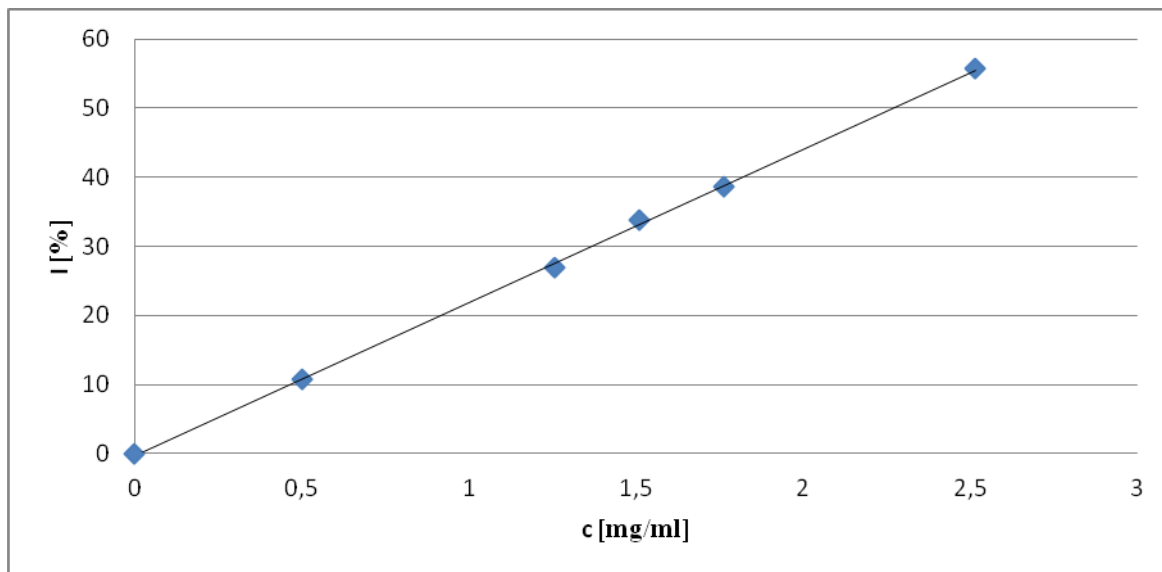
$IC_{50} = 1,56$ mg/ml

- **Růže šípková 3.1.**

Bylo zvoleno pět koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 0,50-2,52 mg/ml.

Tab. 17. Vypočtené hodnoty inaktivace růže 3.1

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
0,50	10,80
1,26	27,00
1,51	33,77
1,76	38,62
2,52	55,71



Obr. 24. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu růže 3.1

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 22,1879x - 0,2550$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je I = 50 %

x ... koncentrace výluhu růže 3.1 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu růže 3.1: $R^2 = 0,9996$

$IC_{50} = 2,26$ mg/ml

V naší práci byly stanoveny hodnoty IC_{50} v rozmezí 1,37-2,26 mg/ml. Nejvyšší hodnota IC_{50} , a tudíž nejnižší antioxidační aktivita byla stanovena u vzorku plodu růže 3.1, naopak nejnižší hodnota byla u plodu růže 1.1. To není v korelaci s hodnocením antioxidační aktivity, kde byla stanovena nejvyšší AA u růže 2.1 a nejnižší u růže 1.1.

Pro čerstvý vzorek plodu růže šípkové extrahovaný metanolem uvádí Demir a Yildiz [32] ve své práci hodnotu IC_{50} 0,279 mg/ml. Barros a spol. [60] uvádějí, hodnotu IC_{50} 0,429 mg/ml pro metanolový výluh sušených vzorků plodů růže. V metanolovém extraktu byla zjištěna vyšší antioxidační aktivita, než u vodných extraktů. Metanolový extrakt se jeví jako lepší rozpouštědlo než voda pro extrakci antioxidačních složek růže šípkové.

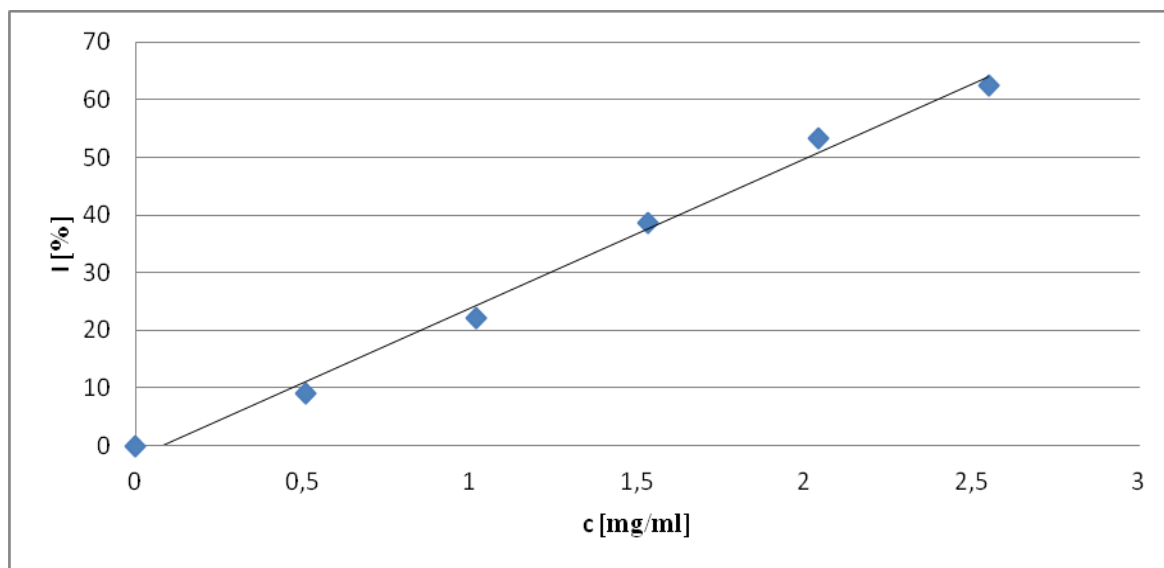
7.2.13.2 Hodnoty IC_{50} vzorků satirejky zahradní

- Saturejka zahradní 1s

Bylo zvoleno šest koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 0,51-5,10 mg/ml.

Tab. 18. Vypočtené hodnoty inaktivace satirejky 1s

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
0,51	8,8
1,02	22,1
1,53	38,67
2,04	53,31
2,55	62,5
5,10	88,12



Obr. 25. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu satirejky 1s

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 25,8857x - 2,0776$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je I = 50 %

x ... koncentrace výluhu satirejky 1 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu satirejky 1s: $R^2 = 0,9922$

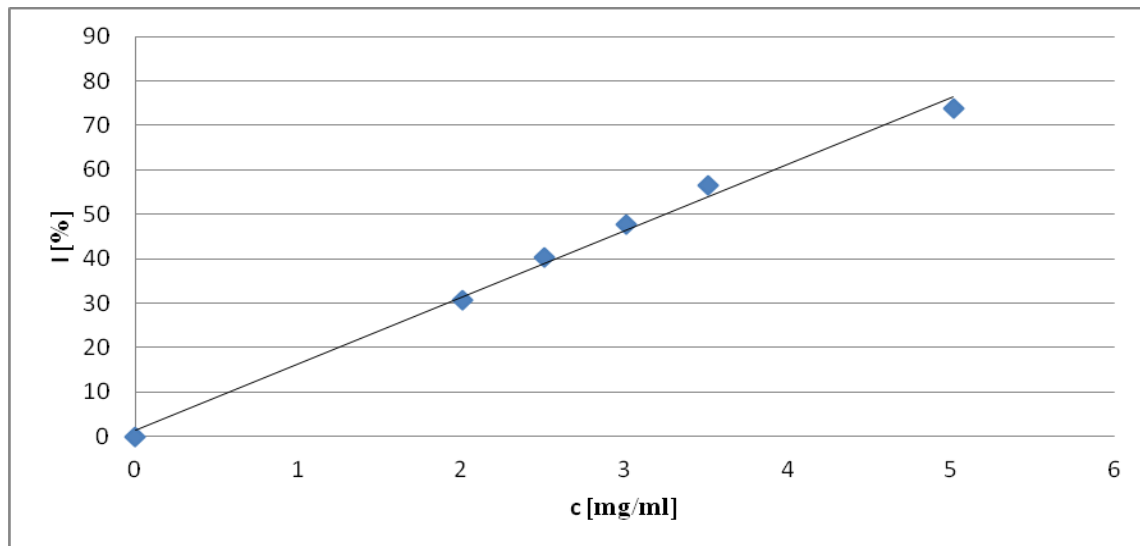
$IC_{50} = 2,01$ mg/ml

- **Saturejka zahradní 2s**

Bylo zvoleno pět koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 2,00-5,01 mg/ml.

Tab. 19. Vypočtené hodnoty inaktivace satirejky 2s

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
2,00	30,64
2,51	40,30
3,01	47,57
3,51	56,41
5,01	73,68



Obr. 26. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu satirejky 2s

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 14,9803x + 1,4060$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je I = 50 %

x ... koncentrace výluhu satirejky 2 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu satirejky 2s: $R^2 = 0,9938$

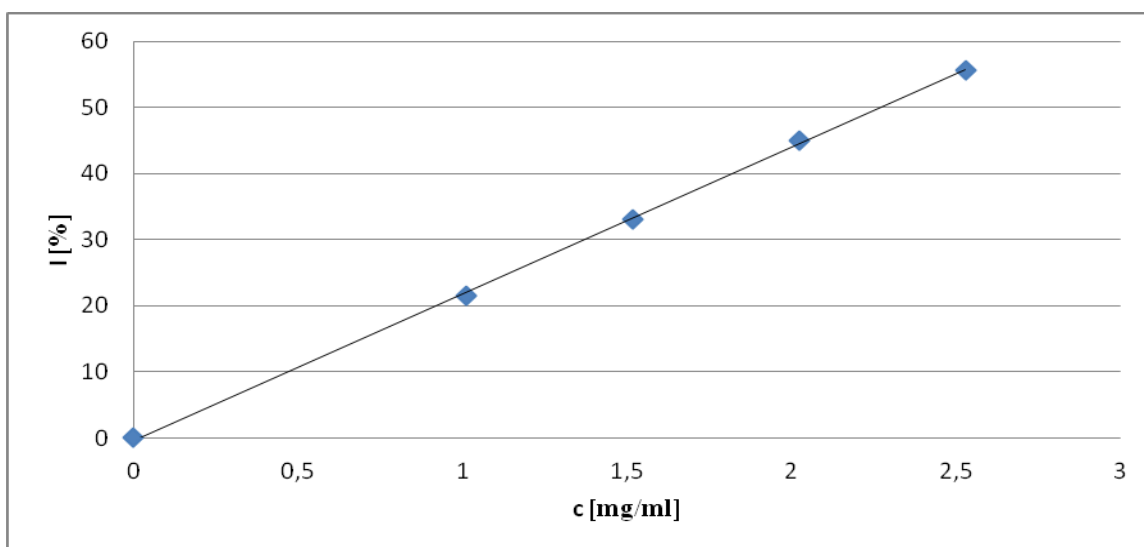
$IC_{50} = 3,24$ mg/ml

- **Saturejka zahradní 3s**

Byly zvoleny čtyři koncentrace výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 1,01-2,53 mg/ml.

Tab. 20. Vypočtené hodnoty inaktivace satirejky 3s

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
1,01	21,56
1,52	33,01
2,02	44,95
2,53	55,66



Obr. 27. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu satirejky 3s

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 22,1325x - 0,3214$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je I = 50 %

x ... koncentrace výluhu satirejky 3 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu saturejky 3s: $R^2 = 0,9996$

$IC_{50} = 2,27$ mg/ml

U vzorků saturejky byly hodnoty IC_{50} v rozmezí 2,01-3,24 mg/ml. Z těchto tří vzorků měl nejvyšší antioxidační účinek vzorek bio saturejky od společnosti Pollau, což není úplně ve shodě se zjištěnými výsledky antioxidační aktivity vzorků saturejky.

Dorman a Hiltunen [61] ve své studii hodnotili antioxidační aktivitu pomocí metody DPPH ve vodném a butanolovém rozpouštědle u saturejky zahravní. Hodnota IC_{50} pro vodný výluh této rostliny byla $2,16 \pm 0,04$ mg/ml, což je hodnota v korelaci snámi zjištěnou hodnotou IC_{50} , která byla 2,01 mg/ml. V butanolovém extraktu byla zjištěna hodnota IC_{50} 3,34 mg/ml.

Ve studii Cavar, Maksimovic a kol. [53] byla stanovena hodnota IC_{50} v sušených vzorcích plodu růže ze dvou lokalit, extrahovaných dimethylsulfoxidem, s hodnotami 5,49 mg/ml a 18,9 mg/ml. Nejnižší hodnota IC_{50} byla stanovena u vodného výluhu, proto se voda jeví jako lepší rozpouštědlo než dimethylsulfoxid pro extrakci antioxidačních složek saturejky.

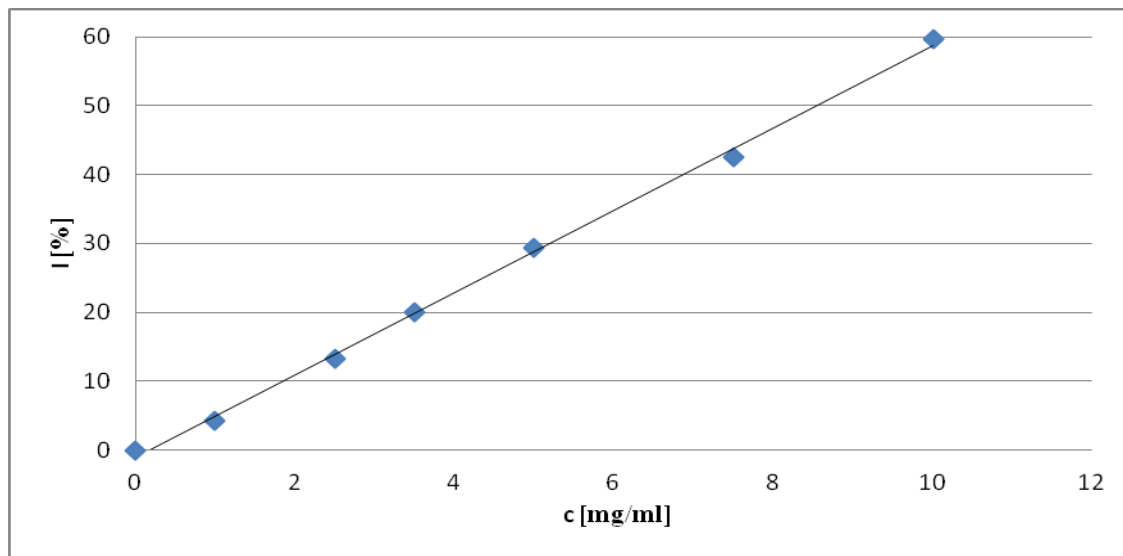
7.2.13.3 Hodnoty IC_{50} vzorků třapatky nachové

- **Třapatka nachová 1s**

Bylo zvoleno šest koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 1,00-10,01 mg/ml.

Tab. 21. Vypočtené hodnoty inaktivace třapatky 1s

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
1,00	4,20
2,50	13,29
3,50	20,00
5,01	29,37
7,51	42,45
10,01	59,65



Obr. 28. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 1s

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 5,9748x - 1,0688$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je $I = 50$ %

x ... koncentrace výluhu třapatky 1 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 1s: $R^2 = 0,9982$

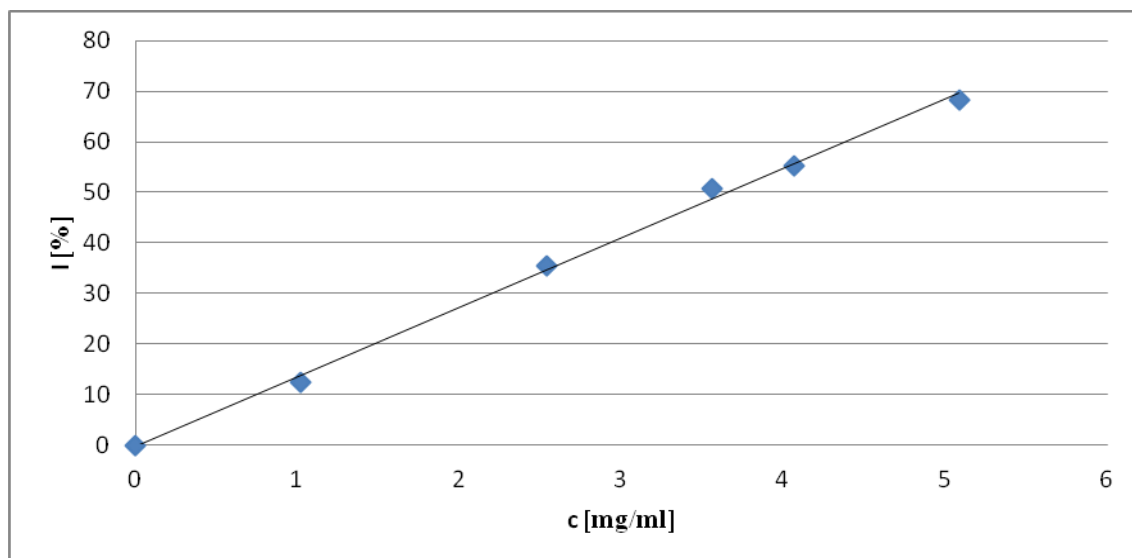
$IC_{50} = 8,55$ mg/ml

- **Třapatka nachová 2s**

Bylo zvoleno pět koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 1,02-5,09 mg/ml.

Tab. 22. Vypočtené hodnoty inaktivace třapatky 2s

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
1,02	12,43
2,54	35,44
3,56	50,71
4,07	55,32
5,09	68,38



Obr. 29. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 2s

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 13,7262x - 0,1811$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je $I = 50$ %

x ... koncentrace výluhu třapatky 2 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 2s: $R^2 = 0,9977$

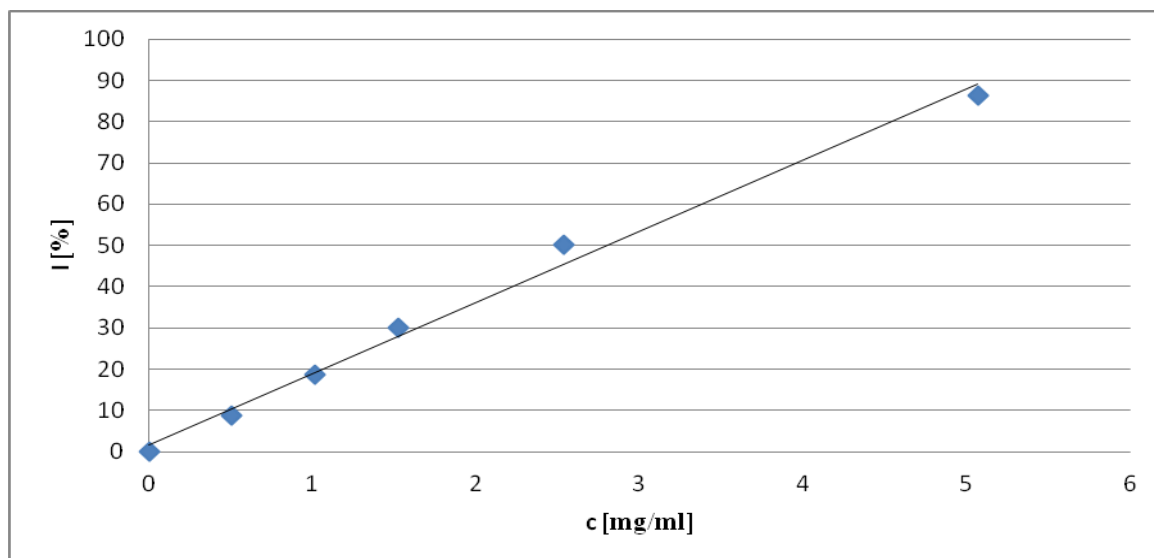
$IC_{50} = 3,66$ mg/ml

- **Třapatka nachová 3s**

Bylo zvoleno pět koncentrací výluhu, u kterých byla stanovena hodnota inaktivace v rozmezí 0,51-5,07mg/ml.

Tab. 23. Vypočtené hodnoty inaktivace třapatky 3s

Koncentrace [mg/ml]	Inaktivace [%]
0,51	8,68
1,01	18,60
1,52	30,03
2,54	50,04
5,07	86,36



Obr. 30. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 3s

Sestrojená křivka má rovnici regrese: $y = 17,2180x + 1,7316$

kde: y ... inaktivace I [%] → pro IC_{50} je I = 50 %

x ... koncentrace výluhu třapatky 3 (mg/ml)

Korelační koeficient závislosti inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 3s: $R^2 = 0,9921$

$IC_{50} = 2,80$ mg/ml

U trojice vzorků třapatky nachové byly naměřeny velké rozdíly v hodnotách IC_{50} . Hodnota IC_{50} u vzorku kořene 1s od společnosti Natura byla dvojnásobně vyšší než u vzorku 2s od společnosti Rosa Canina. Nejnižší hodnota IC_{50} , a tudíž nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena u vzorku květu třapatky od společnosti Rosa Canina, což je v souladu s hodnotami antioxidační aktivity. Rozdíly jsou způsobeny rozdílným obsahem celkových fenolů a derivátů kyseliny kávové v různých částech rostliny. V květech je obsaženo více fenolických látek než v kořenech [37].

Pelatti a Benvenuti [62] ve své práci zjišťovali ve své práci antioxidační aktivitu metodou DPPH u třapatky v metanolovém extraktu, kterou vyjádřili jako hodnotu IC_{50} . U kořene třapatky byla tato hodnota rovna 0,134 mg/ml. Naším stanovením ve vodném výluhu byly získány hodnoty 3,66 a 8,55 mg/ml. Námi zjištěná hodnota je vyšší, takže vzorek vykazuje

nižší antioxidační účinek. Ve studii byl ke stanovení použit metanolový extrakt, čímž bylo dosaženo lepší účinnosti extrakce antioxidačních složek.

Porovnání hodnot IC_{50} vybraných léčivých rostlin

Hodnota IC_{50} u vybraných sušených vzorků léčivých rostlin se pohybovala v rozmezí 1,37- 8,55 mg/ml. Nejvyšší hodnota IC_{50} byla stanovena u vzorku třapatky 1, z čehož vyplývá, že tento vzorek měl z testovaných vzorků nejnižší antioxidační účinek. Naopak nejnižší hodnotu měl vzorek růže 1.1 a růže 2.1. Z toho vyplývá, že nejvyšší antioxidační účinek měly právě tyto dva vzorky plodu růže šípkové.

7.3 Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem

Ke stanovení celkových polyfenolů v této práci byla použita spektrofotometrická metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Stejně jako u metody DPPH byl celkový obsah polyfenolů stanoven u 11 čerstvých a 30 sušených vzorků 10 léčivých rostlin. Postup stanovení a výpočet obsahu celkových polyfenolů je uveden v kapitole 6.3.2. Celkový obsah polyfenolů vyjádřený jako mg kyseliny gallové na gram vzorku je uveden v Tab. 28.

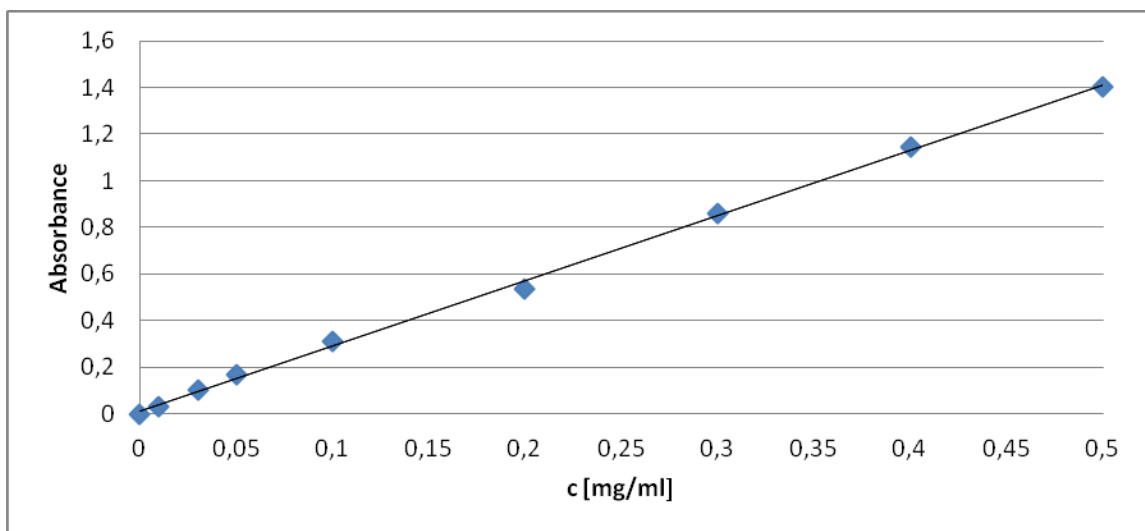
7.3.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové pro učení obsahu celkových polyfenolů

Pro sestrojení kalibrační křivky pro určení celkových polyfenolů byla jako standard použita kyselina gallová, ze které byl připraven zásobní roztok o koncentraci 1,0 mg/ml. Ze zásobního roztoku byla ředěním připravena kalibrační řada 8 roztoků o koncentraci 0,01 až 0,50 mg/ml. Reakční směs kalibračních roztoků byla připravena, jak je uvedeno v kapitole 6.3.2. U připravených reakčních směsí byla měřena absorbance na spektrofotometru.

Kalibrační křivka (Obr. 31) byla sestrojena jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků standardu kyseliny gallové. Jednotlivé body byly proloženy přímkou lineární regrese. Hodnoty absorbance pro jednotlivé koncentrace GA jsou uvedeny v Tab. 24.

Tab. 24. Naměřené hodnoty absorbance pro jednotlivé koncentrace gallové kyseliny

Koncentrace GA [mg/ml]	Absorbance
0,01	0,030
0,03	0,100
0,05	0,170
0,10	0,310
0,20	0,535
0,30	0,860
0,40	1,147
0,50	1,405



Obr. 31. Kalibrační křivka kyseliny gallové

Sestrojená kalibrační křivka má rovnici regrese: $y = 2,8028x + 0,0112$

kde: y ... absorbance A

x ... koncentrace kyseliny gallové [mg/ml].

Korelační koeficient závislosti koncentrace kyseliny gallové na absorbanci: $R^2 = 0,9988$.

7.3.2 Porovnání obsahu celkových polyfenolů léčivých rostlin

Z naměřených hodnot celkového obsahu polyfenolů u čerstvých i sušených vzorků byl sestrojen graf, který ukazuje sestupné pořadí obsahu CP léčivých rostlin (Obr. 22). Pro sestrojení grafu byly použity hodnoty celkového obsahu polyfenolů v mg ekv. GA/g vzorku. Modře jsou označeny čerstvé vzorky, černě jsou vyznačeny sušené vzorky léčivých rostlin.

Z Tab. 25 je patrné, že u čerstvých vzorků rostlin se celkový obsah polyfenolů pohyboval v rozmezí 0,15-22,76 mg GA/ g vzorku, přepočtením na sušinu byly hodnoty celkových polyfenolů v rozmezí 4,46-52,77 mg GA/g sušiny. Přepočtením na sušinu měl nejvyšší obsah CP vzorek třapatky 4 (52,77 mg GA/g sušiny), následovaly vzorky plodů růže šípkové 2 a 1 (47,73 a 41,05 mg GA/g sušiny). Nejnižší obsah polyfenolů měly vzorky aloe – 2,3a aloe 1 (4,46; 8,95; 9,72 mg GA/g sušiny).

U sušených vzorků byly zjištěny vyšší hodnoty celkového obsahu polyfenolů. Tyto hodnoty byly v rozmezí 2,16-63,78 mg GA/g vzorku přepočtením na sušinu byly získány hodnoty 2,34-63,78 mg GA/g sušiny. Přepočtením na sušinu měl nejvyšší obsah CP růže 1.1 a 2.1 s hodnotami (63,78 a 63,11 mg GA/g sušiny), dále pak saturejka 3s (60,99 mg GA/g sušiny) a růže šípková 3.1 (58,77 mg GA/g sušiny). Naopak nejnižší obsah CP byly naměřeny u vzorků ženšenu (2,34 a 2,97 mg GA/g sušiny), a jako další v pořadí to byl vzorek jinanu 1.1 (4,40 mg GA/g sušiny).

Ozsoy, Candoken a Akev [54] zjišťovali celkový obsah polyfenolů ve vodném výluhu z čerstvé aloe. Ve studii byla stanovena hodnota 0,241 mg ekv. GA/g, která je blízká naším naměřeným hodnotám, které byly v rozmezí 0,15-0,49 mg GA/g.

Celkový obsah polyfenolů v hlohu, stanovovali Tadic a kol. [14] Z jejich výsledků bylo zjištěno, že celkový obsah polyfenolů v sušeném plodu v 70 % etanolovém extraktu byl 35,4 mg ekv. GA/g.

Pepeira, Barros a Ferreira [19] stanovovali celkový obsah polyfenolů spektrofotometrickou metodou s FC činidlem ve vodném výluhu sušeného jinanu dvoulaločného. Stanovili hodnotu 61,58 mg ekv. GA/ g vzorku. Li a kol. [63] zjistili u vodného extraktu ze sušených listů jinanu hodnotu CP 2,50mg ekv. GA/g vzorku. Tawaha a kol. [55] stanovovali také celkový obsah polyfenolů u sušených vzorků listu jinanu dvoulaločného extrahovaných vodou a zjistili množství CP 39,0mg GA/g sušiny. Z výše uvedených literárních zdrojů se nám zjištěné hodnoty (4,40-10,66 mg GA/g) blíží hodnotám ve studii Li a kol.

U sušeného květu a listu pelyňku stanovovali Riahi, Chograni a kol. [57] celkový obsah polyfenolů s FC činidlem v metanolovém extraktu. Vzorek sušených listů pelyňku obsahoval 278 mg ekv. GA/g, ve vzorku květu byla stanovena hodnota nižší - 156 mg ekv. GA/g. Naše stanovené hodnoty ve vodném výluhu byly několikrát nižší než hodnota autorů studie v metanolovém výluhu, a metanolový extrakt se proto jeví jako lepší extrakční rozpouštědlo.

Ercisli a Orhan a kol. [64] zkoumali obsah fenolických látek v různých genotypech rakytníku řešetlákového stejnou metodou s Folin Ciocalteuovým činidlem a zjistili obsah 21,31–55,38 mg ekv. GA/g sušiny. Naše hodnota byla totožná se spodní hranicí z rozpětí uvedeným v této literatuře (21,40 mg ekv. GA/g sušiny v čerstvém plodu rakytníku).

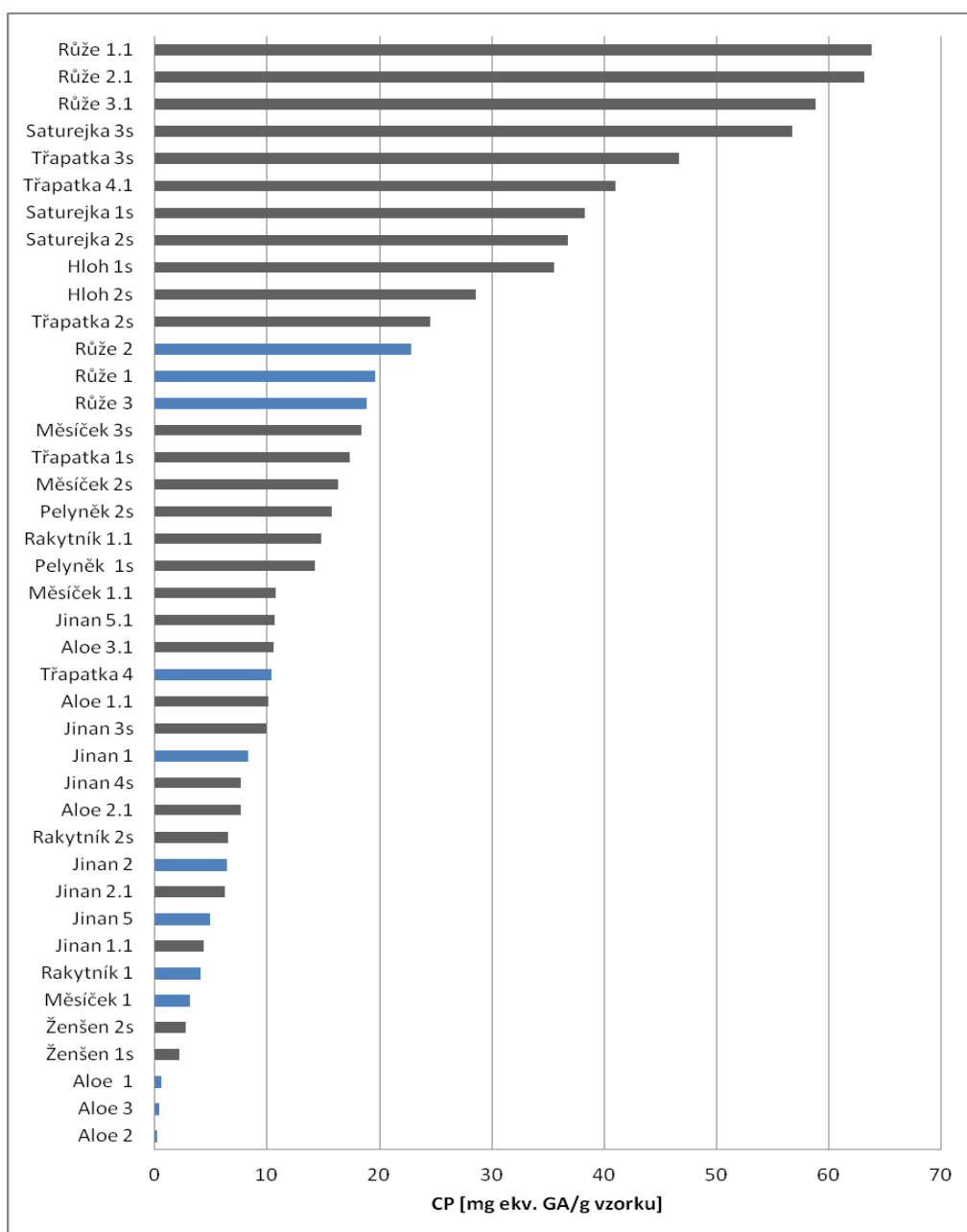
Demir a kol. [32] měřili celkový obsah polyfenolů spektrofotometrickou metodou v čerstvém vzorku plodu růže šípkové extrahované metanolem. Z jejich výsledků bylo zjištěno, že celkový obsah polyfenolů byl 31,08 mg ekv. GA/g vzorku. Barros a spol. [60] stanovili hodnotu celkových polyfenolů 143,17 mg GA/g sušeného vzorku plodu růže, který byl extrahován metanolem. V pracích [32] a [60] byly stanoveny v metanolovém extraktu vyšší hodnoty celkových polyfenolů, než v naší práci, ve které byla pro extrakci použita voda. Ercisli [31] zkoumal množství celkových polyfenolů v plodu růže ve vodných extraktech. Analýza měření obsahu CP byla prováděna metodou s použitím Folin-Ciocalteuova činidla. Pro sušený vzorek růže šípkové byla stanovena hodnota 96 mg GA/g sušiny. Porovnáním s našimi výsledky bylo zjištěno, že naše vzorky sušených plodů růží obsahovaly až o třetinu méně polyfenolů než ve studii. Námi zjištěné hodnoty byly v rozmezí 58,77–63,78 mg GA/g sušiny.

Celkový obsah polyfenolů v různých extrakčních rozpouštědlech u saturejky zahradní zjišťovali Dorman a Hiltunen [61]. Pro hexanový extrakt byla stanovena hodnota celkových polyfenolů 37,1 mg ekv. GA/g vzorku, ethylacetátový extrakt 500 mg ekv. GA/g vzorku, butanolový extrakt 27,0 mg ekv. GA/g vzorku. Celkový obsah polyfenolů pro vodný výluh této rostliny byl 67,2 mg ekv. GA/g vzorku. Tato hodnota je jen mírně vyšší v porovnání s námi stanovenými hodnotami, které byly v rozmezí 36,77–56,73 mg ekv. GA/g vzorku. Porovnání hodnot CP v různých rozpouštědlech bylo zjištěno, že ethylacetát se jeví jako lepší extrakční rozpouštědlo pro extrakci polyfenolických látek z plodu růže šípkové.

Lin, Sung a Chen [65] stanovovali celkový obsah polyfenolů v sušených vzorcích kořenu, listů, květů a v stoncích třapatky nachové v 70 % etanolu. V listech byla stanovena hodnota

ta CP v rozmezí 2,72-14,53 mg kyseliny chlorogenové/g sušiny a u stonků 0,47-4,52. U sušeného vzorku květu třapatky byly naměřeny hodnoty CP v rozmezí 24,65-142,14 mg kyseliny chlorogenové/g sušiny, u kořene byly stanoveny hodnoty několikanásobně nižší v rozmezí 0,71-3,04 mg kyseliny chlorogenové/g sušiny.

Množství celkových polyfenolů ve vzorku ženšenu extrahovaného 70 % etanolem zjišťovali Katsube, Tabata, Ohta a kol. [21]. Uvádějí hodnotu CP 6,4 μ mol epigalokatechin galátu/g vzorku.



Obr. 32. Sestupné porovnání celkového obsahu polyfenolů léčivých rostlin

Tab. 25. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů čerstvých i sušených léčivých rostlin

Vzorek		Odpovídající koncentrace GA [mg/ml]	Obsah polyfenolů [mg ekv. GA/g vzorku]	s	Sušina [%]	Obsah polyfenolů [mg ekv. GA/g sušiny vzorku]
Aloe pravá	1	0,05	0,49	0,05	5,04	9,72
	1.1	0,15	10,14	0,31	-	10,14
	2	0,01	0,15	0,06	3,26	4,46
	2.1	0,09	7,65	0,25	-	7,65
	3	0,03	0,34	0,14	3,80	8,95
	3.1	0,11	10,57	0,24	-	10,57
Hloh obecný	1s	0,36	35,57	0,48	93,57	38,01
	2s	0,29	28,56	0,67	92,87	30,76
Jinan dvoulaločný	1	0,41	8,23	0,38	26,74	30,76
	1.1	0,04	4,40	0,22	-	4,40
	2	0,32	6,36	0,73	25,48	24,97
	2.1	0,06	6,27	0,31	-	6,27
	3s	0,10	9,90	0,18	94,98	10,42
	4s	0,08	7,68	0,27	94,79	8,10
	5	0,24	4,82	0,45	25,70	18,74
	5.1	0,11	10,66	0,19	-	10,66
Měsíček lékařský	1	0,31	3,05	0,41	17,60	17,33
	1.1	0,11	10,74	0,30	-	10,74
	2s	0,16	16,33	0,36	93,66	17,43
	3s	0,18	18,36	0,12	90,66	20,26

Tab. 25- pokračování. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů čerstvých i sušených rostlin

Vzorek		Odpovídající koncentrace GA [mg/ml]	Obsah polyfenolů [mg ekv. GA/g vzorku]	^s	Sušina [%]	Obsah polyfenolů [mg ekv. GA/g sušiny vzorku]
Pelyněk pravý	1s	0,14	14,24	0,40	93,52	15,22
	2s	0,16	15,72	0,22	93,38	16,83
Rakytník řešetlákový	1	0,10	4,03	0,88	18,83	21,40
	1.1	0,15	14,81	0,18	-	14,81
	2s	0,07	6,51	0,32	93,63	6,95
Růže šípková	1	0,39	19,49	0,54	47,49	41,05
	1.1	0,32	63,78	0,25	-	63,78
	2	0,23	22,76	0,38	47,69	47,73
	2.1	0,32	63,11	0,30	-	63,11
	3	0,38	18,73	0,80	52,11	35,95
	3.1	0,30	58,77	0,33	-	58,77
Saturejka zahradní	1s	0,38	38,23	0,27	91,75	41,67
	2s	0,37	36,77	0,41	92,70	39,66
	3s	0,29	56,73	0,16	93,01	60,99
Třapatka nachová	1s	0,18	17,32	0,25	92,06	18,82
	2s	0,25	24,52	0,22	93,08	26,35
	3s	0,23	46,63	0,60	93,08	50,10
	4	0,26	10,33	1,02	19,58	52,77
	4.1	0,35	41,04	0,73	-	41,04
Ženšen pravý	1s	0,02	2,16	0,17	92,13	2,34
	2s	0,03	2,75	0,09	92,57	2,97

ZÁVĚR

Léčivé rostliny obsahují mnoho účinných chemických látek, jako jsou alkaloidy, glykosidy, hořčiny, saponiny, silice, třísloviny, vitaminy a doprovodné organické látky. Tyto látky jsou schopné pomoci k léčbě chorob, předcházet jim nebo zmírňovat jejich průběh. Léčivé rostliny jsou využívány v lékařství, zvěrolékařství, lidovém léčitelství i ve farmaceutickém průmyslu.

Cílem práce bylo stanovit a porovnat antioxidační aktivitu a celkový obsah polyfenolů v deseti léčivých rostlinách, ze sedmi botanických čeledí ve vodních extraktech z čerstvé nebo sušené formy. Práce je zaměřena na rostliny aloe pravá z čeledi Liliaceae, hloh obecný a růže šípkovou (Rosaceae), jinan dvoulaločný (Ginkgoaceae), měsíček lékařský, pelyněk pravý, třapatka nachovou z čeledi (Asteraceae). Dále na rakytník řešetlákový z čeledi (Elaeagnaceae), saturejku zahradní (Laminaceae), a ženšen pravý (Araliaceae).

Ke stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda DPPH. Princip metody je založen na antioxidační schopnosti stabilního volného radikálu DPPH· redukovat radikál za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazinu). Pro stanovení antioxidační aktivity byla jako standard použita kyselina askorbová. Nejvyšší antioxidační aktivita byla zjištěna u sušených vzorků růže rostoucí v lokalitě Zlína (90,09 mg ekv. KA/g a 79,84 mg ekv. KA/g), sušeného vzorku saturejky od společnosti Rosa Canina (77,51 mg ekv. KA/g), sušeného vzorku růže rostoucí v lokalitě Zlína (74,88 mg ekv. KA/g) a sušeného vzorku saturejky od společnosti Pollau (72,81 mg ekv. KA/g). Nejnižší antioxidační aktivitu vykazovaly čerstvé vzorky aloe (0,11-0,31 mg ekv. KA/g), sušený vzorek ženšenu od společnosti Dr. Popov a čerstvý vzorek měsíčku rostoucí v lokalitě Trenčín. Rozdíly zjištěné v antioxidační aktivitě mohly být způsobeny různými faktory, jako je odrůda, půdní a klimatické podmínky při pěstování, a i heterogenita rostlinného materiálu.

U třech léčivých rostlin (růže šípková, saturejka zahradní a třapatka nachová) s nejvyšší antioxidační aktivitou byla stanovena také hodnota IC_{50} což je hodnota koncentrace vzorku, která je schopna odbourat 50 % radikálu DPPH. Nejnižší antioxidační aktivita a tedy nejvyšší hodnota IC_{50} byla stanovena u sušených vzorků kořene třapatky od společnosti Natura (8,55 mg/ml) a třapatky od společnosti Rosa Canina (3,66 mg/ml). Naopak nejnižší hodnota byla u vzorku růže 1.1 (1,37 mg/ml) a růže 2.1 (1,56 mg/ml), z toho vyplývá, že nejvyšší antioxidační účinek měly právě tyto dva sušené vzorky plodu růže šípkové.

Pro stanovení obsahu celkových polyfenolů byla použita fotometrická metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Základem metody je oxidace fenolů Folin-Ciocalteuovým činidlem, při níž se tvoří modrý produkt při vlnové délce λ_{\max} 745-750 nm. Pro výpočet CP byla jako standard použita kyselina gallová. Dle spektrofotometrické metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem byl nejvyšší obsah celkových polyfenolů zjištěn u sušených vzorků růže (63,78-58,77±0,33 mg ekv. GA/g), sušeného vzorku satirejky od společnosti Rosa Canina (56,73±0,16 mg ekv. GA/g) a květu třapatky také od společnosti Rosa Canina (46,63±0,6 mg ekv. GA/g). Nejnižší hodnoty byly naměřeny u čerstvých vzorků aloe (0,15- 0,49 mg ekv. GA/g) a dále u sušených vzorků ženšenu (2,16 a 2,76 mg ekv. GA/g), což je v korelaci i s výsledky stanovení antioxidační aktivity.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] OPLETAL, Lubomír a Jan VOLÁK. *Rostliny pro zdraví*. Praha: Aventinum, 1999. ISBN 80-715-1074-2.
- [2] BULÁNKOVÁ, Iveta. *Léčivé rostliny na naší zahradě*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 80-247-1274-1.
- [3] BODLÁK, Jiří. *Příroda léčí: bylinář s recepty*. 3. vyd. Praha: Granit, 2004. ISBN 80-729-6036-9.
- [4] CLEVELY, A. M. a Katherin RICHMONDOVÁ. *Velká kniha bylinek*. Praha: Svojtka & Co s.r.o., 2007. ISBN 80-7237-132-0.
- [5] VALÍČEK, P., L. KOKOŠKA a K. HOLUBOVÁ. *Léčivé rostliny třetího tisíciletí*, Benešov: START, 2001. ISBN 80-86231-14-3.
- [6] CURTIS, Susan. *Domácí bylinář: příprav, uvař a smíchej léčivé bylinky*. Praha: Ikar, 2012. ISBN 978-80-249-1809-9.
- [7] VEGA-GÁLVEZ, A., E. URIBE a M. PEREZ. Effect of high hydrostatic pressure pre-treatment on drying kinetics, antioxidant activity, firmness and microstructure of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) gel. *LWT - Food Science and Technology*. 2011, 44, 384-391.
- [8] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin II*. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [9] FABER, Lee. *Aloe vera: rostlina pro zdraví i krásu*. Praha: Fortuna Libri, 2009. ISBN 978-80-7321-491-3.
- [10] BEQUINOVÁ, Helena. *Rostlinná medicína*. Praha: Reader"s Digest výběr, 2003.
- [11] BRISTOW, Su. *Léčivé byliny: kompletní průvodce*. Frýdek-Místek: Alpress, 2005. ISBN 80-736-2081-2.
- [12] DREYER, Eva-Maria. *Bylinky do kuchyně a jejich jedovatí dvojníci*. Líbeznice: Víkend, 2008. ISBN 978-80-86891-77-4.
- [13] VÁŇA, Pavel. *Léčivé stromy a keře podle bylináře Pavla*. Praha: Eminent, 2006. ISBN 80-7281-224-6

- [14] TADIC, M. V., S. DOBRIC, M. G. MARKOVIC, M. S. DORDEVIC, A. I. ARSIC, R. N. MENKOVIC a T. STEVIC. Anti-inflammatory, Gastroprotective, Free-Radical Scavenging, and Antimicrobial Activities of Hawthorn Berries Ethanol Extract. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 2008, 56(1), 7700-7709.
- [15] EDWARDS J. E., P. N. BROWN, N. TALENT, T. A. DICKINSON a P. R. SHIPLEY. A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*. 2012, 79, 5-26.
- [16] CHEVALLIER, Andrew. *Rostliny léčí*. Praha: Slovart, 2008. ISBN 978-80-7391-053-2.
- [17] JABLONSKÝ, Ivan a Jiří. BAJER. *Rostliny pro posílení organismu a zdraví*. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1745-6.
- [18] ALBERTS, A., P. MULLEN a M. SPOHN. *Léčivé stromy a keře: jednotlivé druhy a jejich léčebné účinky*. Plzeň: Ševčík, 2006. ISBN 80-729-1144-9.
- [19] PEREIRA, E., L. BARROS a C. F. R. I. FERREIRA. Chemical characterization of Ginkgo biloba L. and antioxidant properties of its extracts and dietary supplements. *Industrial Crops and Products*. 2013, 51, 244– 248.
- [20] HOHENBERGER, Eleonore. *Léčivé byliny a koření*. Praha: Knižní klub a Balios, 1998. ISBN 80-7176-708-5.
- [21] ELLNAIN- WOJTASZEK, M., Z. KRUCZYNSKI a J. KASPRZAK. Investigation of the free radical scavenging activity of *Ginkgo biloba* L. leaves. *Fitoterapie*. 2003, 74, 1-6.
- [22] MINDELL, Earl a Hester MUNDIS. *Nová vitaminová bible*. 3. vyd. Praha: Ikar, 2010. ISBN 978-80-249-1419-0.
- [23] RAUSCH, Andrea a Brigitte LOTZ. *Lexikon bylinky*. Dobřejovice: Rebo Productions CZ, 2004. ISBN 80-7234-374-2.
- [24] ERCETIN, T., S. F. SENOL, E. I. ORHAN a G. TOKER. Comparative assessment of antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of the marigold extracts from *Calendula arvensis* and *Calendula officinalis*. *Industrial Crops and Products*. 2012, 36, 203–208.
- [25] IBURG, Anne. *Lexikon přírodní medicíny*. Dobřejovice: Rebo Productions CZ, 2004. ISBN 80-7234-378-5.
- [26] BREMNESS, Lesley. *Bylinář*. Praha: Fortuna Print, 2003. ISBN 80-7321-074-6.

- [27] McVICAR, Jekka. *Velká kniha o bylinkách*. Praha: Knižní klub, 2005. ISBN 80-242-1218-8.
- [28] BOHNE, Burkhard. *Bylinky do kuchyně*. Praha: OTTOVO, 2011. ISBN 978-80-7360-976-4.
- [29] VALÍČEK, Pavel a Emil Václav HAVELKA. *Rakytník řešetlákový*. Benešov: Start, 2004. ISBN 978-80-86231-44-0.
- [30] KOVÁČOVÁ, Jitka. *Léčivky na zahrádce*. Praha: SUN s.r.o., 2007. ISBN 978-80-7371-217-4.
- [31] ERCISLI, Sezai. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*. 2007, 104, 1379–1384.
- [32] DEMIR, N., O. YILDIZ, M. ALPASLAN a A. HAYALOGLU. Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa* L.) fruits in Turkey. *LWT - Food Science and Technology*. 2014, 1-8.
- [33] KREUTER, Marie-Luise. *Bylinky: nejlepší druhy a odrůdy: pěstování v souladu s přírodou, sklizeň, použití*. Dobřejovice: Rebo Productions, 2003. ISBN 80-723-4277-0.
- [34] WOJTOWICZ, Dalibor. *Bylinky z vlastní zahrady*. Brno: Computer Press, 2004. ISBN 80-251-0240-8.
- [35] MIKEŠOVÁ, Iveta a Monika LUTOVSKÁ. *Léčivé rostliny: o sběru a pěstování*. Praha: Dokořán, 2004. ISBN 80-865-6968-3.
- [36] STANISAVLJEVIC, I., S. STOJIČEVIC, D. VELIČKOVIC, V. VELJKOVIC a M. LAZIC. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2009, 17(3), 478-483.
- [37] YU-LING, T., CH. SHIOW-YING, CH. KUNG-CHI, S. JIH-MIN a L. SHENG-DUN. Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of *Echinacea purpurea* flower extracts. *LWT - Food Science and Technology*. 2012, 46, 169-176.
- [38] WINSTON, David a Steven MAIMES. *Adaptogeny: byliny poskytující odolnost, vytrvalost a úlevu od stresu*. Praha: Triton, 2011. ISBN 978-807-3874-964.

- [39] ŠTAJNER, D., M. B. POPOVI, J. ČANADANOVIC-BRUNET, S. DILAS a G. CETKOVIC. Nutritive composition and free radical scavenger activity of honey enriched with of *Rosa* spp. *LWT - Food Science and Technology*. 2014, 55,408-413.
- [40] PAULOVÁ, H., H. BOCHOŘÁKOVÁ a E. TÁBORSKÁ. Metody stanovení anti-oxidanční aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 2004, 98 (4), 174-179. ISSN 0009-2770.
- [41] KORDALI, S., A. CAKIR, A. MAVI, H. KILIC a A.YILDIRIM. Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from Three Turkish *Artemisia* Species. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 2005, 53, 1408-1416.
- [42] CHLUDIL, D. H., B. G. CORBINO a R. A. LEICACH. Soil Quality Effects on *Chenopodium album* Flavonoid Content and Antioxidant Potential. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 2008, 56 (1), 5050-5056.
- [43] TRNA, J. a E. TÁBORSKÁ. *Přírodní polyfenolové antioxidanty*. Masarykova uni-verzita. Lékařská fakulta [Cit. 2014-04-04]. Dostupný z: <<http://www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf>>.
- [44] KATSUBE, T., H. TABATA, Y. OHTA, Y. YAMASAKI, E. ANUURAD, K. SHIWAKU a Y. YAMAKE. Screening for Antioxidant Activity in Edible Plant Products: Comparison of Low-Density Lipoprotein Oxidation Assay, DPPH Radical Scavenging Assay, and Folin-Ciocalteu Assay. *Journal of Agricultural and food chemistry*.2004, 52 (1), 2391-2396.
- [45] LIU, X., M. DONG, X. CHEN, M. JIANG, X. LV a G. YAN. Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chemistry*.2007, 105, 548-554.
- [46] VELÍŠEK, Jan a Karel CEJPEK. *Biosynthesis of food components*. Tábor: OSSIS, 2008. ISBN 978-80-86659-12-1.
- [47] NACZK, Marian a Fereidoon SHAHIDI. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1054 (1), 95–111.
- [48] GUIMARAES, R., L. BARROS, M. DUENAS a M. A. CARVALHO. Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food Chemistry*. 2013, 141, 1721-1730.

- [49] MANACH, C., A. SCALBERT, CH. MORAND, CH. RÉMESY a L. JIMENEZ. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2004, 79(1), 727-747.
- [50] HARMATHA, J. Chemie a biochemie přírodních látek. Praha: ÚOCHB-AVČR, 2002.
- [51] ŠULC, M., J. LACHMAN, K. HAMOUZ, M. ORSÁK, O. DVOŘÁK a V. HORÁČKOVÁ. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. *Chemické Listy*. 2007, 101 (1), 584-591.
- [52] PRAKASH, Aruna, Fred RIGELHOF a Eugene MILLER. Antioxidant Activity. Medallion Laboratories [online]. [cit. 2014-04-11]. Dostupné z: http://www.medlabs.com/downloads/antiox_acti_.pdf
- [53] CAVAR, S., M. MAKSIMOVIC, E. M. ŠOLIC, A. JERKOVIC-MUJKIC a R. BEŠTA. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chemistry*. 2008, 111, 648–653.
- [54] OZSOY, N., E. CANDOKEN a N. AKEV. Implications for degenerative disorders. *Oxidative Medicine and Cellular longevity*. 2009, 2, 99-106.
- [55] TAWAHA, K., F. Q. ALALI, M. GHARAIBEH, M. MOHHAMAD a T. EL-LIMAT. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*. 2007, 104, 1372-1378.
- [56] MILIAUSKAS, G., P. R. VENSKUTONIS a T. A. VAN BEEK. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*. 2004, 85, 231-237.
- [57] RIAHI, L., H. CHOGRANI, M. ELFERCHICHI, Y. ZAOUALI, N. ZOGHLAMI a A. MLIKI. Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*. 2013, 46, 290-296.
- [58] BUŘIČOVÁ, Lucie a Zuzana RÉBLOVÁ. Czech medical plants as possible sources of antioxidants. *Czech J. Food Sci*. 2008, 26, 132-138. ISSN 1212-1800.
- [59] NITIN, K. M. S. UPADHYAY, Y. KUMAR a A. GUPTA. Antioxidant, cytoprotective and antibacterial effects of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves. *Food and Chemical Toxicology*. 2010, 48, 3443-3448.

- [60] BARROS, L., A. M. CARVALHO, J. S. MORAIS a C. F. R. I. FERREIRA. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry*. 2010, 120, 247-254.
- [61] DORMAN, H. J. D. a R. HILTUNEN. Fe (III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. *Food Chemistry*. 2004, 88, 193-199.
- [62] PELLATI, F., S. BENVENUTI, L. MAGRO, M. MELEGARI a F. SORAGNI. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of *Echinacea* spp. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2004, 35, 289-301.
- [63] LI, S., R. GAN, F. SONG, L. KUANG a H. BIN LI. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 2013, 51, 289-298.
- [64] ERCISLI, S., E. ORHAN, O. OZDEMIR a M. SENGUL. The genotypic effects on the chemical composition and antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries grown in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 2007, 115, 27–33.
- [65] LIN, S., J. SUNG a CH. CHEN. Effect of drying and storage conditions on caffeic acid derivatives and total phenolics of *Echinacea Purpurea* grown in Taiwan. *Food Chemistry*. 2010, 125, 226-231.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BHA	Butylhydroxyanisol
BHT	Butylhydroxytoluen
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
FRAP	Ferric reduction ability of plasma
ABTS	2,2-azino-bis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
AAPH	2,2-azobis(isobutyrimidamid)-dihydrochlorid
DPPH	Difenylpicrylhydrazyl
UV-VIS	Ultraviolet-visible
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ESR	Elektrospinová rezonance
MDA	Malondialdehyd
TBA	Thiobarbiturová kyselina
TPTZ	2,4,6-tri (2-pyridyl-1,3,5-triazin)
FC	Folin-Ciocalteuovo činidlo
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
GA	Kyselina gallová
AA	Antioxidační aktivita
CP	Celkové polyfenoly

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Aloe pravá.....	13
Obr. 2. Hloh obecný	15
Obr. 3. Jinan dvoulaločný	16
Obr. 4. Měsíček lékařský	18
Obr. 5. Pelyněk pravý	19
Obr. 6. Rakytník řešetlákový	21
Obr. 7. Růže šípková	23
Obr. 8. Saturejka zahradní	24
Obr. 9. Třapatka nachová	25
Obr. 10. Ženšen pravý	26
Obr. 11. Reakce antioxidantů s volnými radikály	29
Obr. 12. Proanthokyanidin	32
Obr. 13. Kyselina benzoová, kyselina gallová.....	33
Obr. 14. Kyselina skořicová, kyselina kávová.....	33
Obr. 15. Katechin, leukoanthokyanidin, flavanonol, flavonol	33
Obr. 16. Flavanon, flavon, anthokyanidin	34
Obr. 17. Trans-resveratrol	35
Obr. 18. Enterodiol, anterolakton	35
Obr. 19. Reakce DPPH s volným radikálem	38
Obr. 20. Kalibrační křivka kyseliny askorbové	57
Obr. 21. Sestupné porovnání antioxidační aktivity léčivých rostlin.....	68
Obr. 22. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu růže 1.1.....	70
Obr. 23. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu růže 2.1.....	71
Obr. 24. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu růže 3.1	72
Obr. 25. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu saturejky 1s	73
Obr. 26. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu saturejky 2s	74
Obr. 27. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu saturejky 3s	75
Obr. 28. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 1s.....	77
Obr. 29. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 2s.....	78
Obr. 30. Závislost inaktivace na koncentraci výluhu třapatky 3s.....	79
Obr. 31. Kalibrační křivka kyseliny gallové.....	81
Obr. 32. Sestupné porovnání celkového obsahu polyfenolů léčivých rostlin.....	84

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Hlavní skupiny fenolových sloučenin	31
Tab. 2. Přehled vzorků léčivých rostlin použitých k analýze	45
Tab. 3. Obsah sušiny léčivých rostlin	55
Tab. 4. Vypočtené hodnoty inaktivace pro jednotlivé	57
Tab. 5. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvé i sušené aloe	58
Tab. 6. Výsledky stanovení antioxidační aktivity ze sušeného hlohu	59
Tab. 7. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvého i sušeného jinanu.....	60
Tab. 8. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvého i sušeného měsíčku	61
Tab. 9. Výsledky stanovení antioxidační aktivity ze sušeného pelyňku	62
Tab. 10. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvého i sušeného rakytníku	63
Tab. 11. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvé i sušené růže.....	64
Tab. 12. Výsledky stanovení antioxidační aktivity ze sušené saturejky.....	65
Tab. 13. Výsledky stanovení antioxidační aktivity z čerstvé i sušené třapatky.....	66
Tab. 14. Výsledky stanovení antioxidační aktivity ze sušeného ženšenu	67
Tab. 15. Vypočtené hodnoty inaktivace růže 1.1	69
Tab. 16. Vypočtené hodnoty inaktivace růže 2.1	70
Tab. 17. Vypočtené hodnoty inaktivace růže 3.1	71
Tab. 18. Vypočtené hodnoty inaktivace saturejky 1s	73
Tab. 19. Vypočtené hodnoty inaktivace saturejky 2s	74
Tab. 20. Vypočtené hodnoty inaktivace saturejky 3s	75
Tab. 21. Vypočtené hodnoty inaktivace třapatky 1s.....	76
Tab. 22. Vypočtené hodnoty inaktivace třapatky 2s.....	77
Tab. 23. Vypočtené hodnoty inaktivace třapatky 3s.....	78
Tab. 24. Naměřené hodnoty absorbance pro jednotlivé	81
Tab. 25. Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů v léčivých rostlinách	85