

# **Antioxidační látky v potravinách, jejich účinky v organismu a možnosti stanovení**

Veronika Faltusová

---

Bakalářská práce  
2019/2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Veronika Faltusová
Osobní číslo:	T17110
Studijní program:	B2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor:	Chemie a technologie potravin
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Antioxidační látky v potravinách, jejich účinky v organismu a možnosti stanovení

### Zásady pro vypracování

#### I. Teoretická část

1. Antioxidační látky v potravinách.
2. Účinky antioxidačních látek v organismu.
3. Metody stanovení antioxidačních látek.
4. Porovnání antioxidační kapacity potravin.
5. Legislativa omezující použití antioxidantů v potravinách.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] POKORNÝ, Jan. Antioxidants in food: practical applications. Cambridge: Woodhead, 2001, 380 s. Woodhead Publishing in food science and technology. ISBN 1-85573-463-X.
- [2] BARTOSZ, G. Food oxidants and antioxidants: chemical, biological, and functional properties. Boca Raton: CRC Press, 2014, xvii, 550 p. Chemical and functional properties of food components series. ISBN 9781439882429.
- [3] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [4] PREEDY, Victor R. Processing and impact on active components in food. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2015, ISBN 978-0-12-404699-3.
- [5] BINGCAN CHEN, MINWEI XU. Natural Antioxidants in Foods, Editor(s): Laurence Melton, Fereidoon Shahidi, Peter Varelis, Encyclopedia of Food Chemistry, Academic Press, 2019, Pages 180-188, ISBN 9780128140451.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Mgr. Barbora Lapčíková, Ph.D.**  
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2020**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

---

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

---

**doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

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

### **Prohlašuji,**

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

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce je zaměřena na antioxidační látky, které se nachází v potravinách ať už v přirozené formě nebo jako aditiva. Je zde popsána důležitost antioxidantů jakožto látek prodlužujících údržnost potravin a také jejich úloha při ochraně organismu proti oxidačnímu stresu. Práce zahrnuje i dělení antioxidantů z různých hledisek, popis, charakteristiku a výskyt jednotlivých zástupců. Dále je zde popsána problematika volných radikálů a mechanismy reakcí s antioxidanty. Další kapitoly jsou zaměřeny na metody stanovení antioxidačních látek a porovnání antioxidační kapacity potravin. A závěrečná část je věnována legislativě týkající se antioxidantů v potravinářském průmyslu.

Klíčová slova: Antioxidanty, potraviny, volné radikály, oxidační stres, antioxidační kapacita

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis is focused on antioxidant substances, which are natural part of foods or used as additives. This thesis describes the importance of antioxidants as a food preservative and they also protect the human body against oxidative stress. The next part is about sorting antioxidants in different ways. Then there is a description, characterization and occurrence of individual antioxidants. Next is a description of free radicals and mechanisms of reactions with antioxidants. Other chapters are focused on determination methods of antioxidant substances and comparison of antioxidant capacity in foodstuffs. The final part is about legislation for the food industry that uses antioxidants.

Keywords: Antioxidants, food, free radicals, oxidative stress, antioxidant capacity

Chtěla bych touto cestou vyjádřit poděkování vedoucí bakalářské práce paní doc. Mgr. Barboře Lapčíkové, Ph.D. za věnovaný čas, vstřícné jednání, poskytnutí materiálů a cenných rad pro zhotovení práce.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>1 ANTIOXIDAČNÍ LÁTKY V POTRAVINÁCH</b> .....	<b>8</b>
1.1 KLASIFIKACE ANTIOXIDANTŮ.....	9
1.1.1 Primární antioxidanty.....	10
1.1.2 Sekundární antioxidanty.....	11
1.2 SYNTETICKÉ ANTIOXIDANTY.....	11
1.3 PŘÍRODNÍ ANTIOXIDANTY.....	12
1.3.1 Askorbová kyselina.....	12
1.3.2 Vitamin E.....	14
1.3.3 Ubichinon.....	16
1.3.4 Terpeny.....	16
1.3.5 Fenolové sloučeniny.....	20
1.3.6 Katalytické kovy.....	26
1.3.7 Dusíkaté a sírné sloučeniny.....	26
1.4 ANTIOXIDANTY JAKO ADITIVA DO POTRAVIN.....	27
<b>2 ÚČINKY ANTIOXIDAČNÍCH LÁTEK V ORGANISMU</b> .....	<b>29</b>
2.1 VOLNÉ RADIKÁLY.....	30
2.2 MECHANISMUS PŮSOBENÍ ANTIOXIDANTŮ.....	33
2.3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITU V ORGANISMU.....	34
<b>3 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍCH LÁTEK</b> .....	<b>35</b>
3.1 ORAC.....	36
3.2 DPPH.....	37
3.3 ABTS.....	37
3.4 DMPD.....	38
3.5 FRAP.....	38
3.6 CUPRAC.....	38
<b>4 POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY POTRAVIN</b> .....	<b>39</b>
4.1 OVOCE.....	40
4.1.1 Bobulovité ovoce.....	40
4.2 ZELENINA.....	42
4.3 DALŠÍ ZDROJE.....	42
4.4 ZTRÁTY PŘI OPRACOVÁNÍ.....	43
<b>5 LEGISLATIVA OMEZUJÍ POUŽITÍ ANTIOXIDANTŮ V POTRAVINÁCH</b> .....	<b>44</b>
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>46</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>47</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>52</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>54</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>55</b>

## ÚVOD

Antioxidanty jsou látky, které chrání buňky proti škodlivému působení nestabilních molekul. Tyto nestabilní molekuly jsou jinak nazývány jako volné radikály, přičemž jejich vysoká reaktivita způsobuje nežádoucí oxidační reakce. Právě antioxidanty jsou schopny s radikály interagovat a stabilizovat je. Antioxidant je tedy molekula schopná zpomalovat nebo bránit oxidaci ostatních molekul. Oxidací se rozumí chemická reakce, kdy jsou přenášeny elektrony z látky na oxidační činidlo. Ve výsledku se tedy může jednat o řetězovou reakci, kterou zahajují volné radikály a jejíž důsledkem je i případné poškození buněk. O přetržení řetězové reakce se zaslouhují právě antioxidanty. Ukončení reakce spočívá v odstranění radikálových meziproductů a následné inhibici, přičemž se antioxidanty samy zoxidují [1].

Definice popisuje antioxidanty jako molekuly, které jsou přirozenou součástí potravin. Jejich koncentrace je v potravinách nízká, ale přesto je efektivní jejich schopnost bránit či omezovat oxidační reakce [2].

Oxidace jsou nezbytné pro život, ale na druhou stranu mohou také ve značné míře škodit. Jako ochranu proti oxidačním reakcím si rostliny a živočichové vytváří různé typy komplexních systémů antioxidantů. Příkladem je glutathion, vitamin C, vitamin E, také enzymy, jako je kataláza, superoxiddismutáza a různé peroxidázy [1].

Oxidace tuků přítomných v potravinách je nežádoucím procesem, který je spojen i se změnami chutě, pachu, strukturou a vzhledu potravin, také snižuje množství lipofilních vitamínů [3].

Pokud množství antioxidantů klesne nebo jsou inhibovány antioxidační enzymy, pak nastává oxidační stres, v jehož důsledku mohou být buňky poškozeny či zničeny. Oxidační stres je úzce spjatý s řadou lidských chorob, přičemž může být oxidační stres nejen příčinou, ale i následkem nemocí [1].



## 1 ANTIOXIDAČNÍ LÁTKY V POTRAVINÁCH

Rostlinné, živočišné tkáně i tekutiny jsou pro člověka zdrojem živin, obsahují kromě bílkovin, lipidů a sacharidů i látky daleko nižšího zastoupení – vitaminy, antioxidanty, které mají pro zdraví člověka velmi výrazný přínos. Obecně platícím pravidlem je, že strava bohatá na zeleninu a ovoce je klíčová při prevenci onemocnění člověka (snížení rizika hypertenze, koronárních srdečních chorob, mozkové mrtvice, rakoviny) [4].

Antioxidanty jsou látky, které mají schopnost oddálit či zabránit oxidaci (nebo autooxidaci) způsobenou volnými radikály.

Příkladem exogenních antioxidantů jsou polyfenoly, karotenoidy, vitamin C, vitamin E. Zdroji jsou především ovoce, zelenina a další potraviny rostlinného původu (např. celá zrna), pak také ryby, maso, mléčné výrobky [1].

Druhou skupinou jsou nízkomolekulární endogenní antioxidanty, příkladem je glutathion, kyselina močová, koenzym Q a další [2].

Přestože živočichové mají svůj ochranný antioxidantní systém a vnitřní účinné látky, nevykazují tyto mechanismy dostatečnou kompletní ochranu proti škodlivému účinku reaktivních částic za jakýchkoliv okolností. Proto zejména při zvýšeném množství reaktivních částic v organismu je vhodné doplňovat antioxidantní látky z rostlinných zdrojů [4].

Antioxidanty v podobě potravinových doplňků mohou vytvářet naději o udržení zdraví a prevenci nemocí. Přestože řady studií popisují, že antioxidanty ve formě doplňků stravy by mohly podporovat zdraví, v praxi nebyl zaznamenán jejich znatelný přínos. Rozsáhlé klinické testy nejenže nezaznamenali pozitivní vliv doplňků s antioxidanty na zdraví člověka, ale také tvrdí, že jejich nadměrné množství může tělu i škodit [1].

Místem vzniku reaktivních kyslíkových částic může být například zánět. Je prokázáno, že dlouhodobý chronický zánět je hlavní příčinou vzniku nádorů. (Příkladem je infekce žaludku bakteriemi *Campylobacter pylori* z důvodu nedostatečné hygieny vedoucí ke vzniku žaludečních vředů, které jsou zdrojem chronického zánětu. A pokud chronický zánět není léčen, postupem času z něho vznikne nádor. Dalším příkladem je souvislost žlučnickových kamenů se zvýšenou incidencí nádorů žlučníku anebo ledvinové kameny s národy ledvin) [4].

Antioxidanty přírodního původu mají řadu odlišností a to v molekulové hmotnosti, složení, fyzikálních i chemických vlastnostech, mechanismu i místu působení. A z důvodu jejich

rozmanitosti je několik možných způsobů, jak antioxidační látky klasifikovat, příkladem může být, již zmíněné, dělení na:

- endogenní antioxidy – vznikají v organismu *in vivo*, nachází se v buňkách;
- exogenní antioxidy – jsou látky, které lidé přijímají potravou z vnějšího prostředí [1,4].

Právě antioxidy mají schopnost chránit oxylabilní sloučeniny proti autooxidaci a nežádoucím oxidačním reakcím, které by mohli vést k poškození živočišné tkáně a zhoršení či narušení některých metabolických procesů. I u neživých materiálů mají kyslíkové radikály možný negativní dopad. Například může dojít k ovlivnění výživové, sensorické i hygienic-ko-toxikologické hodnoty u potravin, krmiv či surovin.

Dále reaktivní radikály (kyslíkové i nekyslíkové) mohou vznikat při výrobě, skladování či nevhodnou kulinární úpravou potravin a surovin. Vyšší náchylnost mají především potraviny bohaté na tuky s vyšším podílem polynenasycených mastných kyselin při tepelném zpracování, dlouhodobému působení světla a vzduchu či při dlouhodobějším mikrobiálním zpracování.

A pro zajištění prevence vůči zdravotním rizikům i problémům potravinářských technologií, jež způsobují radikály, je snaha o jejich inhibici. Jako nástroj k tomuto opatření je využívána aplikace dostatečného množství antioxydantů do potravin nebo případně do lidského těla [4].

## 1.1 Klasifikace antioxydantů

Antioxydanty dle původu lze rozdělit na přírodní, syntetické a pak syntetické antioxydanty identické s přírodní variantou. Skupina přírodních antioxydantů, jak už název napovídá, se nachází přirozeně v přírodních zdrojích, většinou v rostlinách. Syntetické antioxydanty vznikají prostřednictvím chemických syntéz a pro potvrzení jejich bezpečnosti je nezbytnou součástí jejich toxikologické vyšetření. Třetí skupina jsou antioxydanty získané syntetickou cestou, ale se stejnou molekulou jako se vyskytuje v přírodě. Příkladem tohoto typu je syntetický vitamin C, který má podobu identickou s přírodní molekulou, nese označení L-askorbová kyselina či její sůl – askorbát [5].

Jiný způsob dělení pro (externí) antioxidanty je:

a) dle místa účinku

- antioxidanty působící mimo organismus (chránící potravu nebo krmiva),
- antioxidanty získané z potravy působící vně organismu (chrání proti poškození biomolekul),

b) dle mechanismu účinku

- primární antioxidanty, které mají schopnost reagovat s volnými radikály (askorbová a erythorbová kyselina a jejich deriváty, karotenoidy, tokoferoly, fenolové sloučeniny),
- sekundární antioxidanty, které jsou schopny redukovat vzniklé hydroperoxydy (cystein, glutathion, fylochelaniny, methionin, lipoová kyselina),
- sloučeniny vážící přechodné kovy do komplexu (vícesytné a hydroxykyseliny, EDTA, fytáty),
- sloučeniny eliminující přítomný kyslík [4,6].

Sloučeniny, které mají schopnost vychytávat kyslík, mají v podstatě redukční vlastnosti, příkladem takových látek je askorbyl palmitát, siřičitany apod [3].

### 1.1.1 Primární antioxidanty

Primární antioxidanty jsou jedny z nejvýznamnějších, mají schopnost zneškodňovat reaktivní radikály tím, že poskytnou vodíkový radikál a vytvoří tak neutrální molekulu a nový stabilní radikál antioxidantu [4].

K zásahu primárních antioxidantů dochází ve fázi propagace nebo iniciace. Jsou schopné přerušit šířící se řetězec vznikajících radikálů tím, že interagují s volnými radikály za vzniku stabilních radikálů [5].

Je možné je dělit podle struktury:

- endioly (kyselina askorbová, kyselina erythorbová i jejich soli a deriváty)
- fenolové substituované sloučeniny (tokoferoly, fenolové sloučeniny, galláty)
- kombinované struktury - konjugovaný systém dvojných vazeb i substituované fenoly (kurkuma, resveratrol)
- jiné látky s antioxidačním účinkem [4].

### 1.1.2 Sekundární antioxidanty

Sekundární antioxidanty se od primárních odlišují tím, že nepřetvářejí volné radikály na nereaktivní stabilnější produkty. Jsou považovány za preventivní antioxidanty, protože mají schopnost tlumit rychlost iniciace oxidačního řetězce reakcí. Zpoždění oxidace se děje vlivem navázání vzdušného kyslíku či katalytických kovových iontů [5].

Příkladem jedněch z nejčastěji používaných sekundárních antioxidantů je kyselina thiodipropionová a dilaurylthiodipropionát [3].

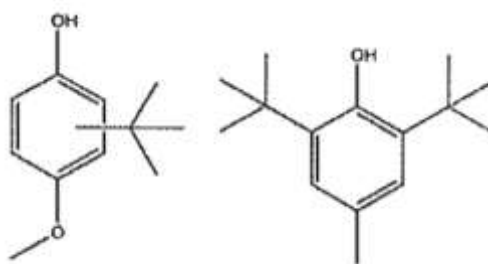
Existují i antioxidanty, které reagují jako primární a zároveň i jako sekundární antioxidanty, mají tedy smíšenou funkci, příkladem jsou přirozeně se vyskytující polyfenoly [5].

## 1.2 Syntetické antioxidanty

Antioxidanty mohou být získány i syntetickou cestou a přidávány do potravin, kde nejsou přirozeně a potom mají funkci protektivních látek [1]. V potravinářském průmyslu mají umělé antioxidanty své místo, používají za účelem oddálení oxidační degradace lipidů (chrání lipidy před žluknutím), mezi nejčastější patří: butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT), terciální butylhydrochinon (TBHQ), propylgalát (PG), 2,4,5-trihydroxybutyrofenon (THBP), di-terc-butyl-4-hydroxymethylfenol (Ionox-100) [3].

Bylo zjištěno, že po aplikaci BHA a BHT do mletého hovězího masa, došlo až k dvojnásobně nižší oxidaci lipidů při porovnání s neošetřeným masem nebo některými jinými antioxidanty. Tento efekt však nenastal v případě, kdy byl výrobek smažený a skladovaný při 4 °C po dobu 35 dnů. Výzkum uvádí, že tyto antioxidační látky mívají často synergické efekty s jinými látkami [7].

Základem struktury BHA i BHT je fenolový kruh s terc-butylovými skupinami (viz Obrázek 1), obě látky patří mezi vysoce účinné primární antioxidanty.



Obrázek 1: Strukturní vzorce BHA a BHT [3]

Díky dobré rozpustnosti v tucích je BHA ve vysoké míře aplikován do velkoobjemových olejů. Hojně využití má také při výrobě pekárenských a cukrárenských výrobků, protože je tepelně stabilní. Ke smažení není vhodný, jak bylo zmíněno v předchozím odstavci, důvodem je jeho těkavost. BHA vykazuje synergii s jinými antioxidanty a má schopnost regenerovat např. BHT nebo  $\alpha$ -tokoferol. V organismu je při metabolických přeměnách vstřebáván v gastrointestinálním traktu, metabolizován a vylučován močí či stolicí. Produkty metabolismu jsou volné fenoly, sulfáty, glukuronidy a jako metabolity vznikají i jiné antioxidanty, jako je TBHQ.

BHT je bílá krystalická látka s podobnými vlastnostmi jako BHA, ale jeho tepelná stabilita nedosahuje takové míry jako má BHA. V potravinářském průmyslu má využití hlavně u nízkotučných potravin, rybích výrobků i obalových materiálů, parafinů apod. Pro stabilizaci tučných potravin, olejů se používá v kombinaci s jinými antioxidanty, příkladem je BHA, PG a jiné [3].

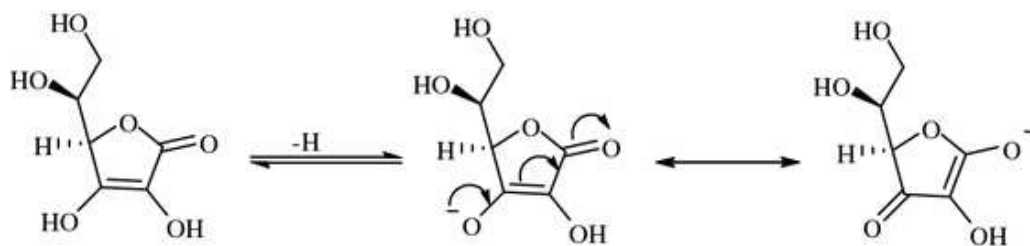
### 1.3 Přírodní antioxidanty

#### 1.3.1 Askorbová kyselina

Kyselina askorbová neboli vitamin C patří mezi látky hydrofilní povahy. Askorbát působí jako vychytávač volných radikálů v živočišných i rostlinných tkáních. Má schopnost inaktivovat peroxylové radikály a také regenerovat oxidovaný  $\alpha$ -tokoferol. Vlastnosti silného redukčního činidla má askorbát zejména při nízkém pH. Na druhou stranu může mít i podíl na potenciální prooxidační aktivitě. To z toho důvodu, že redukované přechodné kovy způsobují oxidace, mají schopnost rozkládat vodík a peroxidy lipidů na volné radikály. Dále má askorbát také vliv na uvolňování železa vázaného na proteiny (např. Feritin), což rovněž podporuje oxidaci. Vůči těmto nežádoucím jevům je však živý organismus vybaven efektivním kontrolním systémem, který brání redukcím kovů.

Askorbát se nachází v široké škále potravin rostlinného původu zahrnující zelenou zeleninu, rajčata, brambory, bobuloviny, citrusové plody apod. Avšak při dlouhodobém skladování či tepelném opracování dochází k jeho značným ztrátám a podíl na degradaci kyseliny askorbové má i přítomnost přechodných kovů a vzduchu [8].

Kyselina askorbová má schopnost ukončovat řetězové radikálové reakce elektronovým přenosem. Molekula obsahuje systém konjugovaných dvojných vazeb. Deprotonovaná forma kyseliny (viz Obrázek 2) může být označována jako stabilizovaný enolát [7].



Obrázek 2: Kyselina askorbová [9]

Kyselina askorbová se může vyskytovat jako konjugát s kyselinou palmitovou, což z ní utváří látku rozpustnou v tucích. Tento konjugát pak může být využit jako antioxidant v tučných potravinách, olejích a emulzích. Použití askorbyl palmitátu není omezeno, z toho důvodu, že je v gastrointestinálním traktu rozhydrolyzován na kyselinu askorbovou a kyselinu palmitovou [10].

Interakcí s ROS se kyselina askorbová prostřednictvím volného radikálu oxiduje na dehydroaskorbát. Za ROS lze považovat superoxidové radikály, peroxid vodíku, hydroxylový radikál i singletový kyslík. Proti těmto sloučeninám je schopna kyselina askorbová antioxidačně působit a kromě toho má také schopnost zachycovat reaktivní oxidy dusíku z vodných roztoků [7].

L-askorbová kyselina má mimo jiné také funkci hlavního inhibitoru enzymového hnědnutí u přírodních látek s obsahem fenolových sloučenin. Má tedy schopnost redukovat produkty oxidace (*o*-chinony) zpět do původní podoby difenolů. A sama se tímto oxiduje na dehydroaskorbovou kyselinu [4].

Oxidovaný askorbát je schopný se zpět regenerovat pomocí enzymatických pochodů zprostředkovaných NADH nebo GSH [6]. Regeneraci umožňuje enzym dehydroaskorbátreduktáza [7].

Přírodními zdroji kyseliny askorbové jsou některé potraviny, příklady a jejich množství je uvedeno níže (viz Tabulka 1).

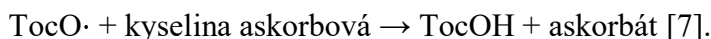
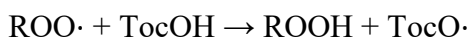
Tabulka 1: Zdroje kyseliny askorbové (AA) ve 100 g čerstvé hmotnosti potravin [4].

potravina	AA [mg]	potravina	AA [mg]	potravina	AA [mg]
jablka	1,5-5	šípky	250-1000	špenát	35-84
pomeranče	30-60	rajčata	8-38	květák	70
kiwi	7-127	papriky	62-300	růžičková kapusta	100
černý rybíz	110-300	brambory	8-40	zelí	17-70

Biologická dostupnost vitamínu C je při nízkých dávkách (100 mg) využitelná ve stejné míře ze syntetických zdrojů jako z těch přirozených. Efektivita absorpce je omezena při vyšších dávkách [7].

Kyselina askorbová se pro svoji antioxidační schopnost přidává do masných výrobků, kde se využívá její schopnosti redukčního působení při vybarvovacích reakcích. Dochází k redukci dusitanu na oxid dusnatý a vznikajícího metmyoglobinu na původní myoglobin. Určitým negativním faktorem je pokles pH, proto je vhodnější použití její sodné soli askorbanu sodného nebo erythorbátu sodného (isoaskorban sodný) [11].

Dále byla prokázána schopnost vitamínu C regenerovat tokoferol (TocOH) z tokoferoxylového radikálu (TocO·), který vzniká při procesu inhibice peroxidace lipidů vitamínem E.



Už bylo zmíněno, že askorbát je také schopen za určitých podmínek působit jako prooxidant. Ve spojení askorbátu s  $\text{Cu}^{2+}$  je schopen inaktivovat některé enzymy (vznikajícím ·OH). A směs kyseliny askorbové se solemi železa oxidativně poškozují a způsobují peroxidace lipidů [4].

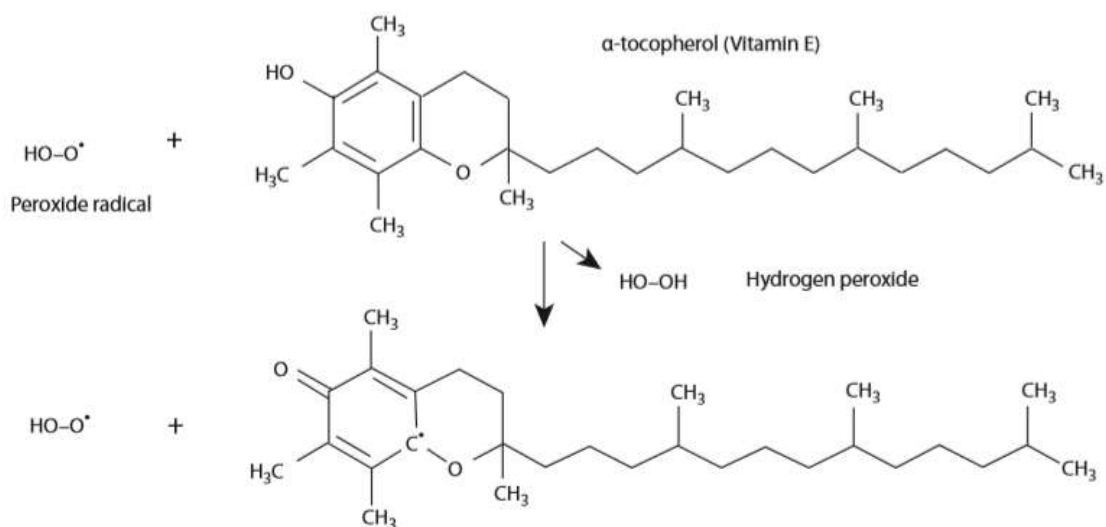
### 1.3.2 Vitamin E

Vitamín E je řazen mezi látky rozpustné v tucích a má schopnost působit jako antioxidant [12]. Tento vitamín je tvořen osmi různými izomery skupiny tokoferolů a tokotrienolů [7].

Ze všech derivátů dosahuje nejvyšší účinnosti  $\alpha$ -tokoferol. A jeho radikálovou formu  $\alpha$ -tokoferyl má schopnost redukovat askorbát, dále i ubichinol, flavonoidy a GSH.

Vitamin E má schopnost, jako jediný antioxidant, bránit poškození biologických membrán a lipoproteinů. Škody způsobují reaktivní kyslíkové radikály. Schopnost vitamínu spočívá v tom, že inhibuje peroxylové radikály rychleji než jsou tyto radikály schopné reagovat s membránovými proteiny nebo mastnými kyselinami [4].

Díky alifatickému postrannímu řetězci, který je substituovaný na monofenolovém či chromanolovém kruhu, mají molekuly vitamínu schopnost pronikat do biologických membrán. Tokoferoly se po interakci s radikálovými částicemi samy přetváří na radikály a ze dvou radikálů pak mohou vznikat dimery. Tokoferolové radikály vznikají tak, že darují vodík peroxylovému radikálu z chromanolového kruhu, konkrétně z 6-hydroxyskupiny (viz Obrázek 3) a produktem reakce je hydroperoxid [12].



Obrázek 3: Reakce tokoferolů s volnými radikály [12]

Kromě reakcí s peroxylovými radikály mají tokoferoly schopnost reagovat také se singletovým kyslíkem [6].

Aby byl u člověka zaznamenán výrazný pokles peroxidace, je třeba denního dávkování 2000 mg vitamínu E po dobu osmi týdnů nebo při ročním dávkování 200 mg za den.

Vitamin má tedy schopnost zneškodňovat reaktivní volné radikály a tudíž i inhibovat oxidativní poškození buněk a lipoproteinových částic. Dále jejich schopností je stabilizace buněčných membrán, regulace membránové fluidity a díky jejich antioxidační aktivitě mají i protinádorový účinek [4]. Dle epidemiologických studií má  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E) i výrazně pozitivní vliv na prevenci vzniku a rozvoje kardiovaskulárních chorob [11].

Hlavními zdroji vitamínu E jsou olejnatá semena (slunečnice, řepka, mandle, lískové a vlašské ořechy), dále pak obiloviny a listová zelenina. Příklady obsahu  $\alpha$ -tokoferolu v mg na 1 kg vybraných potravin jsou uvedeny níže (viz Tabulka 2) [4].

Tabulka 2: Obsah  $\alpha$ -tokoferolu v potravinách [ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ] [4].

potravina	$\alpha$ -T	potravina	$\alpha$ -T	potravina	$\alpha$ -T	potravina	$\alpha$ -T
olivový olej	134	pšenice	10	jáhly proso	2	vlašské ořechy	8,3
řepkový olej	202	pšeničné klíčky	186,5	pohanka	3,9	lískové ořechy	129
sojový olej	144	žito	11,5	čočka	9	mák	9,8
slunečnicový olej	477	ovesné vločky	9,8	sója	14,7	lněné semínko	2



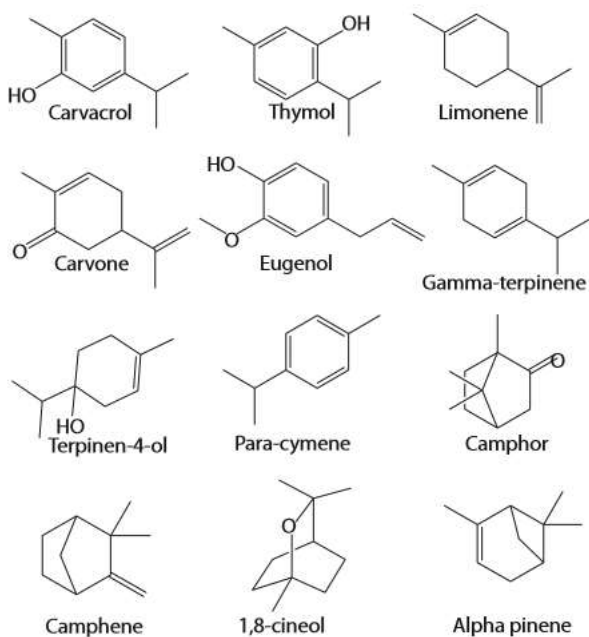
### 1.3.3 Ubichinon

Ubichinon nebo jiným označením jako koenzym Q (CoQ) je skupina benzochinonů, které se od sebe vzájemně liší délkou lipofilního izoprenového řetězce. U savců je nejrozšířenějším typem CoQ10, který obsahuje deset pětiuhlíkových izoprenových jednotek. Má funkci v dýchacím řetězci na mitochondriích, kde slouží jako přenašeč elektronů. Avšak jeho výskyt je ve všech membránách, kde tlumí společně s tokoferoly radikálové reakce. Ubichinon pravděpodobně pomáhá i při regeneraci vitamínu E z tokoferolových radikálů [13].

Koenzym Q10 působí tedy s vitamínem E synergeticky. Koenzym lze získat z potravin, kterými jsou především tučné ryby – sardinky, makrely, dále arašídny, pistácie, sójové boby, vlašské ořechy, sezamová semínka, vaječný žloutek a jedním z nejbohatších zdrojů je hovězí srdce [14].

### 1.3.4 Terpeny

Terpeny je označení skupiny běžných rostlinných složek, které jsou součástí éterických olejů pocházejících z koření a aromatických bylin. Jejich struktury jsou odlišné, ale vycházejí z kondenzovaných izoprenových jednotek. Je možné je dělit na monoterpeny, diterpeny a seskviterpeny. Jejich vlastností je extrémní těkavost a také u nich byla prokázána i řada funkčních schopností zahrnující antioxidační a antikarcinogenní aktivity. Na obrázku (viz Obrázek 4) jsou zobrazeny vybrané terpeny rostlinného původu [12]. Většinou platí, že potenciálními antioxidanty jsou terpeny, které mají konjugovaný systém dvojných vazeb nebo benzenové jádro s jednou či více hydroxylovými skupinami. Příkladem monoterpenů s antioxidačním účinkem jsou složky tymiánové silice thymol a karvakrol [4].



Obrázek 4: Vybrané terpeny [12]

### ***Diterpeny a chinony***

Jedny z neaktivnějších přírodních antioxidantů jsou fenolové diterpeny – karnosová kyselina a karnosol, které jsou obsaženy v rozmarýnu a šalvěji [4].

### ***Triterpeny a steroly***

Rostlinné steroly jsou nezastupitelnými složkami všech rostlinných buněčných membrán. Strukturně se od sebe vzájemně liší v připojených postranních řetězcích na steroidním kruhu, jinak jsou strukturálně velmi podobné cholesterolu. Nejčastějšími steroly jsou  $\beta$ -sitosterol, kampesterol, stigmastanol a stigmasterol. To jsou sloučeniny, u kterých byla v některých studiích prokázána antioxidační aktivita [12].

Fytosteroly mají zpravidla nízké antioxidační aktivity, neaktivnějším z nich je avenasterol v ovsu. V rozmarýnu a voscích tvořících kutikuly jablek, hrušek a citrusů se vyskytují některé triterpenové kyseliny např. betulinová, oleanová a ursolová kyselina a také triterpenové alkoholy ( $\beta$ -amyrin) [4].

### ***Karotenoidy***

Karotenoidy jsou tetraterpenoidní sloučeniny, které mohou mít strukturu tvořenou pouze molekulami uhlíku a vodíku, pak jsou označovány jako karoteny. Pokud mají ve své struktuře zahrnuty i atomy kyslíku, mají označení xantofyty. V přírodě se karotenoidů nachází asi 700 druhů, člověk jich potravou přijímá přibližně 40 a v krvi a lidských tkáních jich

bylo identifikováno pouze 14. Jsou to například:  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, lykopen,  $\beta$ -kryptoxantin a lutein [15].

Karotenoidy mají struktury tvořené z 40-ti jednotek atomů uhlíku poskládané v řetězce, kde se nachází konjugovaný systém dvojných vazeb. Díky tomuto systému mají molekuly možnost utvářet různé geometrické konfigurace – tedy různé kombinace *cis* a *trans* konfigurací na dvojných vazbách.  $\beta$ -karoten přírodního původu zaujímá především formy *cis*. Konfigurace *trans* má převahu v syntetických  $\beta$ -karotenech, často to jsou *all-trans* izomery. Uspořádání *trans* je výhodnější z hlediska energie a je tedy i stálější v porovnání s *cis* [4].

Některé karoteny, konkrétně  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten a kryptoxantin, jsou prekurzory vitamínu A. Je několik důkazů o jejich prospěšnosti při prevenci proti různým kardiovaskulárním chorobám a diabetu [15].

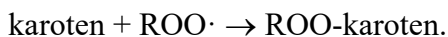
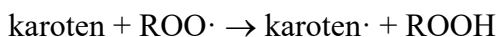
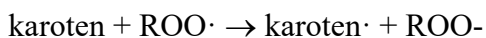
Karotenoidy mají svůj podíl na fotosyntéze, v chlorofylovém komplexu jsou schopny zpracovávat krátké vlnové délky světla (680 a 700 nm) a také mají schopnost zneškodňovat v chlorofylu excitované stavy. Řadí se mezi primární antioxidanty, jejichž aktivita je zprostředkována díky jejich rozsáhlému systému konjugovaných dvojných vazeb [4].

Jedná se o lipolytické pigmenty produkované rostlinami a mikroorganismy (řasy, houby a bakterie) a dodávají tak rostlinám, mořským plodům a mikroorganismům červenou, oranžovou, žlutou barvu. Také vaječný žloutek má svoji barvu právě díky karotenoidům. V rajčatech je jako hlavní karoten udávající barvu lykopen [15,16].

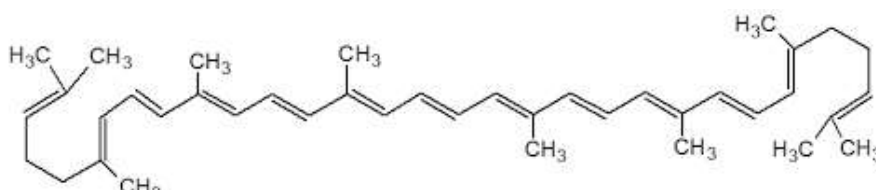
Karotenoidy jsou společně s vitamíny C, E a fenolovými sloučeninami jedny z hlavních antioxidantů získatelných z potravin rostlinného původu. Mají schopnost zvyšovat míru rozpustnosti a prodlužovat délku udržitelnosti potravin. A kromě toho mají také vliv na prevenci chronických degenerativních nemocí [16].

Jejich antioxidační funkce je především uplatňována u lipidů v případech uhlíkových radikálů a také alkylperoxylových radikálů (ROO $\cdot$ ). Jejich mechanismus je zřejmě umožněn v přítomnosti tokoferolů. Mohou zneškodňovat excitovanou formu singletového kyslíku na neškodný běžný tripletový kyslík [13].

Interakce s radikály probíhají především třemi cestami, kterými jsou schopny zajistit přerušování řetězově se šířících reakcí:



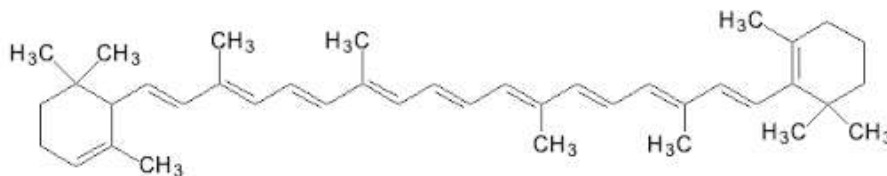
Jejich struktura může mít podobu acyklickou, příkladem je lykopen,  $\zeta$ -karoten (viz Obrázek 5) [16].



Obrázek 5: Lykopen [17]

Nebo mohou mít na jednom z jejich konců šestičlenný kruh ( $\gamma$ -karoten,  $\delta$ -karoten).

Šestičlenné kruhy mohou být vytvořeny také na obou koncích (viz Obrázek 6), příkladem je molekula  $\beta$ -karotenu,  $\alpha$ -karotenu [16].



Obrázek 6:  $\beta$ -karoten [18]

Dále je také možný výskyt pětičlenných kruhů, příkladem jsou kapsorubin a kapsanthin, které se vyskytují v paprice jako červená barviva [16].

Xanthofyly jsou hlavními karotenoidy vyskytující se v rostlinách. Vznikají především jako hlavní produkty biochemických oxidací (hydroxylace, epoxidace) karotenů [19].

Jejich biologickou funkcí je absorpce části viditelného světla v listech, které je využitelné pro fotosyntézu [4].

Běžně jsou v rostlinách zastoupeny alicyklické karoteny - kryptoxanthiny. Velké množství rostlinných pletiv obsahuje  $\alpha$ -kryptoxantin (zeinoxantin) a  $\beta$ -kryptoxantin (odvozen od  $\beta$ -karotenu), což jsou prekurzory xantofylů. Xantofyl  $\beta$ -kryptoxantin je řazen mezi provitaminy A.  $\beta$ -karoten ( $\beta$ -kryptoxantin) je prekurzor zeaxantinu a lutein je prekurzorem  $\alpha$ -karotenu ( $\alpha$ -kryptoxantinu) [19].

Karotenoidy jsou tedy významnými, nejrozšířenějšími barvivy mnoha druhů ovoce a zeleniny. Často se nacházejí společně s jinými druhy barviv jako jsou anthokyaniny. Avšak jejich přítomnost v zelených částech rostlin bývá často maskována překrytím zeleným chlorofylem. Složení karotenoidů závisí na mnoha faktorech (druh, odrůda, sezóna, míra zralosti, způsob zpracování atd.). Jejich nejhojnější výskyt je v mrkvi, paprikách a rajčatech, kde jich jsou stovky  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , dále se nacházejí v různých druzích ovoce a zeleniny, také v kořeni (šafrán), rostlinných olejích (palmový olej) a svoje zastoupení mají i v potravinách živočišného původu (vejce, ryby, korýši) [4].

### ***Lykopen***

Červená barva rajčat i dalších červených plodů (meloun, papája, červený grapefruit atd.) je dána díky obsahu lykopenů [7]. Jako příklad lykopenů je 1,2-epoxylykopen, 5,6-epoxylykopen [19].

Barevnost lykopenu je způsobena vyšším obsahem konjugovaných dvojných vazeb. A právě dvojná vazba umožňuje molekule absorbovat velkou část vlnových délek z viditelného spektra světla. Tudíž je lykopen pozorován jako červený a řazen mezi karotenoidní pigmenty [7].

### **1.3.5 Fenolové sloučeniny**

Fenolové sloučeniny obsahují ve svých strukturách alespoň jeden charakteristický aromatický kruh s připojenými hydroxylovými skupinami. Sloučeniny jsou široce rozšířené a velikost těchto molekul je různorodá – od jednoduchých sloučenin s nízkou molekulovou hmotností až po velké struktury [20].

Podle toho, kde jsou fenolické sloučeniny v buňkách lokalizovány, dělí se na rozpustné a nerozpustné. Příkladem rozpustných jsou jednoduché fenoly, flavonoidy a taniny nižší molekulové hmotnosti. Do druhé skupiny – nerozpustných patří například kondensované taniny, fenolové kyseliny a další fenolové sloučeniny vázané na polysacharidy či bílkoviny buněčné stěny. Tato míra rozpustnosti značně ovlivňuje to, jaký bude osud sloučenin v trávicím traktu a jakého fyziologického efektu budou dosahovat. Nerozpustné sloučeniny nejsou tráveny a mohou být vyloučeny stolicí, zatímco fenolové sloučeniny rozpustné mohou být vstřebávány skrze střevní stěnu do krve a stát se metabolity [4].

Fenolové látky mají řadu funkcí: jsou meziproducty biosyntézy živočišného pigmentu (melaniny), jsou součástí strukturních složek rostlinných buněk (lignin, suberin). Některé utvá-

ří chutě a vůně ovoce a zeleniny (alkoholy, aldehydy, alkany, ethery, estery fenolů), mnoho jich má také cenné hormonální, antimikrobiální, antioxidační účinky a tedy i protirakovinné a další farmaceutické účinky [20].

Přímý antioxidační účinek fenolických sloučenin spočívá ve schopnosti vychytávat reaktivní radikály a kromě toho se účastní i jiných mechanismů vedoucích k antioxidační ochraně. Například epikatechin má schopnost zachycovat oxid dusnatý, superoxid, peroxy-nitril a funguje jako prevence oxidačního poškození, které může být způsobováno účinky UV-A v kožních buňkách. Fenolové sloučeniny člověk může získat především z vhodné potravy či nápojů (víno, čaj, čokoláda), pokud jsou absorbovány gastrointestinálním traktem [6].

Denní příjem fenolických látek může dosahovat množství až 1 g, ale příjem flavonoidů pravděpodobně nepřesahuje desítky miligramů ze den [21].

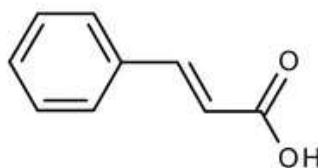
### ***Jednoduché fenoly***

Jednoduché fenoly, zejména hydrochinon, guajakol, isoeugenol a salicylaldehyd mají antimikrobiální a antioxidační účinky. Vyskytují se především jako složky kouře používaného při uzení potravin [6].

Dále se fenoly s významnými antioxidačními účinky nacházejí v koření. Příkladem je thymol a karvakrol v tymiánu [6,4].

### ***Fenolové kyseliny a jejich deriváty***

Fenolové kyseliny mají četný výskyt v rostlinných materiálech. Jejich struktury jsou nejčastěji odvozeny od kyseliny benzoové a kyseliny skořicové (viz Obrázek 7). Tyto kyseliny i se svými deriváty vykazují často primární antioxidační účinky, reagují přímo s volnými radikály. Míra jejich aktivity závisí na počtu hydroxylových skupin v molekule. Vyšší aktivity obecně dosahují skořicové kyseliny a o-difenoly, antioxidační aktivitu mají také další deriváty – např.: glykosidy a amidy [6,12].



Obrázek 7: Kyselina skořicová [22]

Kyseliny benzoové jsou často součástí složitých struktur (např. hydrolyzované taniny), zatímco kyseliny hydroxyskořicové jsou daleko běžnější, jejich příkladem je: p-kumarová kyselina, kyselina kávová, ferulová a sinapová [12,4].

Aromatický kruh derivátů kyseliny skořicové může být různě substituován anebo karboxylová skupina může být redukována na alkoholovou. Příkladem je koniferylalkohol odvozený od ferulové kyseliny a eugenol, jejichž výskyt je v hřebíčkové silici.

Benzoová kyselina a její deriváty jsou běžnou součástí rostlinných materiálů. Příkladem jsou: 4-hydroxybenzoová kyselina, salicylová (2-hydroxybenzoová) kyselina, protokatechová (3,4-dihydroxybenzoová) kyselina, dále kyselina vanillová, syringová a gallová. Kyselina gallová (3,4,5-trihydroxybenzoová) je nejvýznamnější z výše uvedených, obvykle je vázána na cukernou složku a tvoří hydrolyzované tanniny (gallotanniny a allagotanniny). Kyselina salicylová je metabolitem vyskytujícím se ve vrbě, má protizánětlivé a antipyretické účinky [4].

V mnoha případech fenolové kyseliny přispívají k barvě a chuti rostlin [12].

### ***Estery***

Estery fenolových kyselin jsou nejčastěji depsidy. Příkladem jsou estery kyseliny chinové, šikimové. Depsidy jsou významné a značně účinné primární antioxidanty. Pro skupinu depsidů odvozených od kyseliny chinové je používáno obecné označení chlorogenová kyselina. Významné množství chlorogenové kyseliny se nachází v kávě, bramborách i jiných rostlinných druzích. Do této skupiny patří také daktyliforová kyselina, kterou obsahují datle. Také zelená káva obsahuje jako hlavní kyseliny depsidy chinové kyseliny. Čerstvé brambory mají obsah chlorogenové kyseliny v množství  $100-200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , přičemž procesem vaření je jejich obsah snížen až o 65 % a po upečení je přítomnost nulová.

Estery skořicových kyselin s kyselinou jablečnou se nacházejí v brukvovitých rostlinách. Vinné mošty a vína mají ve svém složení zastoupené depsidy některých fenolových kyselin s kyselinou vinnou v množství mg na litr.

Jako galláty jsou označovány estery kyseliny gallové, které se nacházejí v malém množství v rostlinách. Mají vysokou polaritu a nejúčinnější jsou v bezvodých tucích. Mají vyšší polaritu než BHT, BHA a TBHQ, jsou schopny s nimi (s BHT, BHA) vykazovat synergický účinek [4].

Sinapiny je označení pro všechny estery cholinu s fenolovými kyselinami. Vyskytují v semenech brukvovitých rostlin, mají hořkou svíravou chuť, která je podobná kofeinové. Antioxidační účinnost mají nižší než samotné fenolové kyseliny [4,6].

### ***Glykosidy***

Antioxidačního účinku dosahují i některé glykosidy fenolových kyselin. Příkladem je verbakosid, což je glykosid protokatechové kyseliny, který můžeme nalézt v oreganu, divizně i olivách [4].

### ***Amidy***

Antioxidanty s vysokou aktivitou jsou amidy fenolových kyselin. Příkladem je oves, ve kterém se vyskytuje přibližně 40 cinnamoylanthranilových kyselin. Hlavní sloučeninou je avenanthramid 1 (amid 5-hydroxyanthranilové a ferulové kyseliny), kterého oves obsahuje 40-132 mg·kg<sup>-1</sup>.

V černém pepři je zdrojem antioxidantů amid ferulové kyseliny a tyraminu a také amid odvozený od piperinu. Piperin je alkaloidem obsaženým v pepři a může působit díky své ostrosti dráždivě. Pepř má řadu farmakologických účinků, které zahrnují i protizánětlivý a analgetický, dále protivředový efekt, také má údajně vlastnosti zlepšující paměť, cytoprotektivní a antioxidační. Větší konzumace pepře však může mít i nepříznivé účinky na zdraví.

Paprika obsahuje amidy kapsaicinoidy, které jsou řazeny mezi vanillylamidy. Kapsaicinoidy jsou účinnými antioxidanty a jsou částečně zdrojem pálivé chuti paprik. Konkrétními pálivými látkami je kapsaicin a dihydrokapsaicin [4].

### ***Flavonoidy***

Další látky s významnými antioxidačními účinky i chelatačními účinky jsou flavonoidy, které patří do skupiny polyfenolických sloučenin. Mohou být děleny do několika podskupin: flavonoly, flavony, isoflavony, flavonony, flavanoly a antokyany. Flavonoidy mají svoji biologickou aktivitu díky svým strukturálním rysům, kdy největší roli hrají hydroxylové skupiny na kruhu B a dvojná vazba mezi uhlíky na kruhu C (viz Obrázek 8). Vzhledem k tomu, že se různé flavonoidy strukturálně liší, tak i jejich mechanismus antioxidační aktivity je různorodý [23].

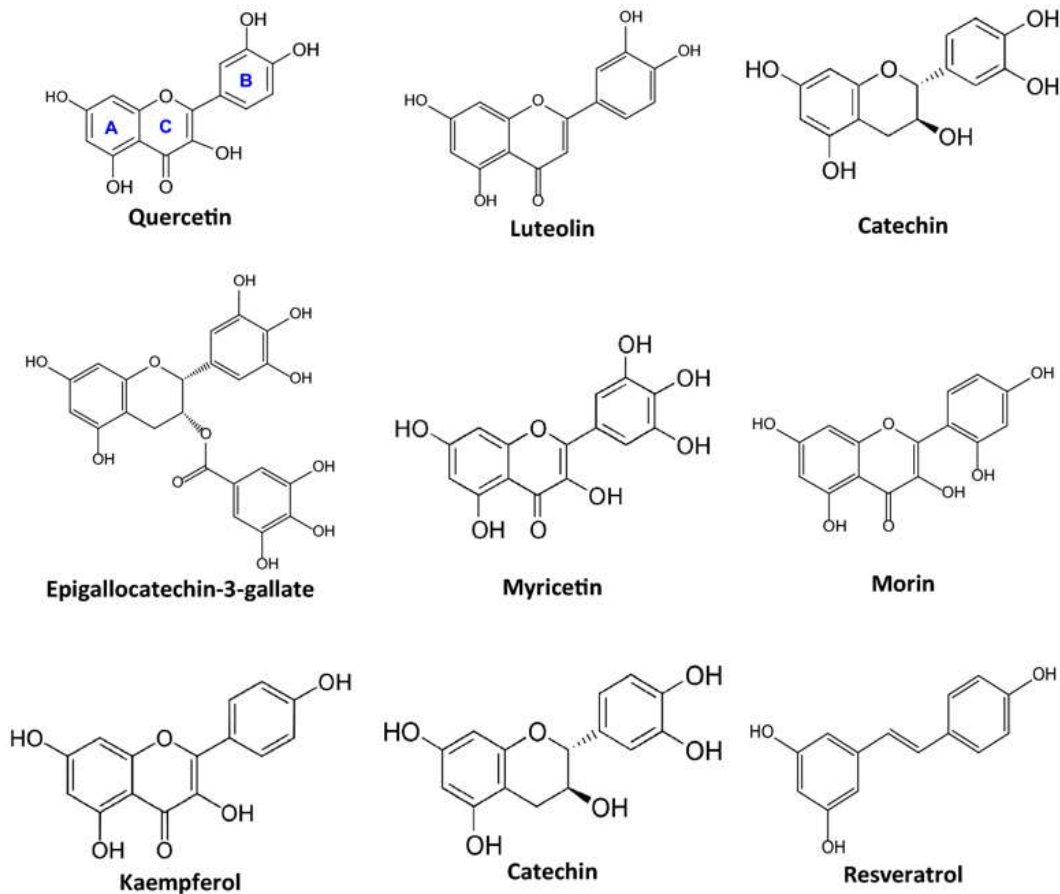
Jejich antioxidační účinek byl popsán díky tomu, že zachycují radikály - superoxidové aniontové, lipidové peroxylové a hydroxylové, dále zhášejí singletový kyslík, chelatují



ionty kovů a inhibují lipoxygenázy. Mají tedy schopnost chránit proti kardiovaskulárním onemocněním snižováním lipoproteinů o nízké hustotě. Tvoří ochranu proti oxidačním chorobám a mají schopnost modulace aktivity různých enzymů a interakcí se specifickými receptory [7].

Flavonoidy mají kromě významné biologické funkce také funkci přírodních rostlinných barviv a některé mají i význam jako chuťové látky (hořké, trpké) [19].

Výskyt flavonoidů, včetně flavonů, flavonolů, izoflavonů, flavanonů a chalkonů, je ve všech typech vyšších rostlinných tkání. Téměř každá rostlina obsahuje flavony a flavonoly, zejména v listech a okvětních lístcích, přičemž flavonoly se vyskytují častěji než flavony. Běžnými flavonoidy jsou apigenin, chrysin, luteolin, datiscetin, kvercetin, myricetin, morin a kaempferol. V rostlinách se většina flavonoidů vyskytuje také v podobě glykosidů [7].



Obrázek 8: Flavonoidy [23]

### *Anthokyany*

Anthokyany jsou sekundární metabolity rostlin, patří mezi látky rozpustné ve vodě. Jsou označovány jako přírodní barviva, jejich schopnost je dodávat barvu rostlinným tkáním. Jsou odpovědné za modrou, červenou a fialovou barvu [24].

Dodávají barvu hroznům, třešním, švestkám, malinám, jahodám, ostružinám, lilkovitým rostlinám (bramborám s červenou slupkou), dále rybízu a červenému angreštu, borůvkám, brusinkám a červenému zelí. U většiny anthokyanů zpracovávaného ovoce a zeleniny roste jejich stabilita s vyšší teplotou při zpracování a delší skladovací dobou. Mají pak význam jako nositelé barvy ovocných šťáv a červených vín [4].

Anthokyany jsou důležitou podskupinou flavonoidů. Díky svým vlastnostem jsou považovány za silné antioxidanty. Jejich schopností je snižovat oxidační stres prostřednictvím přímých či nepřímých mechanismů [24].

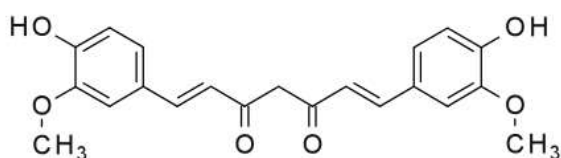
### *Lignany*

Lignany jsou fenolové sloučeniny odvozené od koniferylalkoholu a dalších skořicových alkoholů. Jsou složkami rostlin, kde mají ochrannou funkci proti patogennímu napadení. Jejich účinky jsou i antioxidační a antikarcinogenní [19].

Semena lnu setého obsahují diglykosid sekoisolariciresinolu, sezamová semena obsahují jako hlavní složky bisepoxylygnany sesamin a sesamolín, také v menším množství sesamol, který je hlavním antioxidantem [4].

### *Kurkuminoidy*

Kurkumin (viz Obrázek 9) produkují rostliny *Curcuma longa*, jeho pozitivní účinek na zdraví byl prokázán. Dále bylo zjištěno, že se podílí na snížení oxidačního stresu tím, že je schopen vázat kovy (např. měď), překážkou možného terapeutického použití kurkuminu je jeho nízká biologická dostupnost a rozpustnost [23].



Obrázek 9: Kurkumin (keto forma) [25]

### 1.3.6 Katalytické kovy

Katalytickými kovy se rozumí skupina přechodných kovů, která zahrnuje železo, zinek, měď, mangan, selen, nikl. Tyto kovy mají kromě antioxidačního účinku z důvodu přítomnosti v antioxidačních enzymech i prooxidační efekt. Ten se dostaví pokud jsou uvolněny z jejich obvyklých vazeb na bílkoviny a dostanou se do iontové formy. Jakmile dojde ke kontaktu iontové formy kovu a prooxidačního materiálu, dostaví se jejich nežádoucí efekt. Pro tuto schopnost je nejzávažnější železo, které se vyskytuje v potravinách v hojném množství. Přechodné kovy však mohou být inaktivovány prostřednictvím chelatace řadou sloučenin např. fosfolipidy, aminokyselinami, bílkovinami, polyfenoly, polyhydroxykarboxylovými a polykarboxylovými kyselinami (jablečnou, vinnou, fytoovou) [4].

### 1.3.7 Dusíkaté a sírné sloučeniny

Z dusíkatých látek antioxidační aktivitu vykazují některé alkaloidy, kyselina močová a dále puriny, aminokyseliny, peptidy, biogenní aminy a tetrapyrrollová barviva.

Sírné sloučeniny s antioxidační aktivitou jsou sírné aminokyseliny a jejich peptidy a proteiny. Dále sulfidy a polysulfidy lipooové kyseliny, přičemž kyselina lipooová je důležitý antioxidant živočichů [6].

Thioly reagují podobným způsobem, jako reaguje kyselina askorbová, jsou tedy schopné zachycovat reaktivní radikály. K antioxidační stabilitě rostlinných buněk jsou schopny přispívat molekuly cysteinu a glutathionu, což jsou látky nacházející se v rostlinách a svalových tkáních, kde antioxidačně působí. Jako aditiva do potravin jsou používány pouze výjimečně. Je ale možné využít schopnosti thiolů obsažených v proteinech jako inhibitor oxidace lipidů v potravinářských výrobcích [10].

Glutathion je tripeptid  $\gamma$ -glutamylcysteinylglycin, který se vyskytuje v poměrně vysoké koncentraci v buňkách savců ( $1-10 \text{ mmol} \cdot 10^{-1}$ ). Slouží jako redoxní pufr buněk, snadno se oxiduje a s další molekulou glutathionu je schopen tvořit glutathiondisulfid. Také má nepostradatelnou funkci při odstraňování reaktivních radikálů a udržování redukované formy sulfhydrylových skupin proteinů, cysteinu a koenzymu. Dále má schopnost regenerovat tokoferoly a askorbáty [13].

Živočišné tkáně také obsahují dipeptid karnosin. Některé houby obsahují jako antioxidanty deriváty histidinu (ergothionein) a mořští živočichové ovothioli A [6].

## 1.4 Antioxidanty jako aditiva do potravin

Běžně používanými antioxidanty jsou tokoferoly, kyselina askorbová, askorbyl palmitát, askorbát sodný, terc-butyhydroxyanisol (BHA), terc-butyhydroxytoluen (BHT), terciární butyl hydrochinon (TBHQ), propylgallát (PG), polyfenoly čaje, antioxidanty glycyrrizinu a další. Používané vitaminy (kyselina askorbová a tokoferoly), které mohou být získány z přírodních zdrojů nebo získané synteticky, mají sice vysokou bezpečnost, ale jsou drahé. Askorbyl palmitát má dobrou rozpustnost v oleji, tudíž může být použit jako antioxidant do potravin s vysokým obsahem lipidů (oleje, tuky) [24].

Aplikace antioxidantů se využívá nejčastěji za účelem uchování barvy potravin či redukce procesu oxidace tuků. Deriváty kyseliny askorbové jsou nejčastěji používanými antioxidanty, které se nachází přirozeně v extraktech z koření (rozmarýn, šalvěj, dobromysl, nové koření aj.) [11].

Ve většině zemí jsou do potravin přidávány jako silné antioxidanty BHA, BTH a PG. BHA a BTH jsou antioxidanty syntetické, lipofilního charakteru a při zpracování jsou velmi dobře rozpustné. PG je polární a nestabilní při vysoké teplotě. Množství, které smí být použito v potravinách je legislativně omezeno. TBHQ je schopen poskytovat vysokou antioxidační schopnost u tuků a olejů, při vyšší teplotě je stabilnější než BHA [24].

Tyto syntetické fenolické antioxidanty jsou v mnoha potravinových systémech vysoce účinné, ale jejich aplikace do potravin klesá z důvodu nižší poptávky spotřebitelů [10].

Syntetické antioxidanty jako aditiva do potravin jsou v mnoha zemích zakázané. Dlouhodobě jich bylo testováno jen několik. To z toho důvodu, že jsou vyžadovány velmi přísné testovací postupy. U některých antioxidantů není snadno posoudit jejich toxicitu, a proto jsou považovány některými zeměmi za nebezpečné a tudíž za zakázané, ale v jiných zemích mohou být tolerovány. Například karcinogenní účinky BHA a BHT při experimentech na zvířatech byly již popsány (Hocmanem, 1981) [27].

Dále průmysl využívá polyfenoly čaje, glycyrrhizin a antioxidanty z bambusových listů, dále fenolové látky (katechiny, flavonoidy a kyselina fenolová).

Také extrakt z rozmarýnu je přírodním antioxidantem, jehož účinnými složkami je kyselina ursulová, kyselina rozmarinová, kyselina karnosová a karnosol, pak EDTA (ethylen-diamin-tetraacetát), kyselina fytoová a další [24]. Rozmarýnový extrakt je používán jako

přídavná látka pro inhibici oxidace lipidů, může být aplikován do řady potravinářských produktů včetně masa, olejů a lipidových emulzí.

Využitelnost fenolických sloučenin z bylinných extraktů je často omezena z důvodu přítomnosti aromatických sloučenin například monoterpenů.

Množství fenolických látek, které se přirozeně vyskytují v potravinách, se liší v závislosti na zralosti plodin, typu tkáně, podmínkách růstu, délce a způsobu skladování [10].

Použití syntetických antioxidantů je výhodné z toho důvodu, že jsou vyráběny jako čisté látky, a tudíž je zajištěno jejich stálé složení, jejich aplikace je tedy relativně snadná a nejsou vyžadovány žádné další úpravy před použitím. Kdežto při použití přírodních antioxidantů je žádoucí úprava na základě analytických výsledků. Množství přírodního antioxidantu, který je přidáván do potravin, je také ovlivněno podmínkami zpracování. Jedná se o procesy pasterizace (dochází k přeměně vitamínu E), sterilizace, vaření a odpařování, což jsou operace, při kterých se destruuje tepelně labilní vitamíny a klesá biologická funkčnost bílkovin [27].

Při výběru antioxidantů v potravinářském průmyslu je třeba brát v potaz jejich silné i slabé stránky. Výběr konkrétního druhu antioxidantu je třeba provést s ohledem na faktory, jako je účinná koncentrace, tepelná stabilita, synergie [3].

## 2 ÚČINKY ANTIOXIDAČNÍCH LÁTEK V ORGANISMU

Antioxidanty lze definovat jako inhibitory oxidačního procesu. V organismech se nachází v malých koncentracích a zastávají zde různé fyziologické role. Podílí se na ochraně lidského těla před poškozením reaktivními radikály a kromě toho jsou to látky zajímavé pro potravinářský průmysl [1].

V lidském těle jsou primární ochranou proti oxidačnímu poškození tkání zejména enzymy: superoxiddismutasa, katalasa a glutathionperoxidasa.

Ukazatel ochrany organismu před volnými radikály je tzv. celková antioxidační kapacita, která je obvykle stanovována v plazmě. Nejvíce tuto hodnotu ovlivňuje množství kyseliny močové, albuminu a vitaminů C a E. Antioxidační kapacita se vyjadřuje v jednotkách  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  jako ekvivalentní množství antioxidačního účinku hydrofilní formy vitaminu E (Troloxu) [4].

Některé antioxidanty tzv. endogenní je lidský organismus schopen sám syntetizovat, například koenzym Q, ale velká většina z nich se do organismu dostává potravou (tokoferoly, kyselina askorbová, karotenoidy, flavonoidy, fenolové kyseliny). V předchozí kapitole bylo řečeno, že k antioxidantům jsou často řazeny i některé stopové prvky (selen, zinek, mangan, měď), které jsou vázány v antioxidačních enzymech, ale samy o sobě nevykazují antioxidační aktivitu [11].

V buňce mají vysokou důležitost antioxidanty: vitamin E, koenzym Q 10, superoxiddismutasa, glutathionperoxidasa a redukovaný glutathion [4].

V organismu za normální situace, kdy je tělo zdravé a bez výrazného vystavování externím vlivům, převládá stav oxidačně/redukční rovnováhy. Při narušení této rovnováhy dojde ke vzniku oxidačního stresu. Důvodem může být nadměrné množství vznikajících nežádoucích oxidačních činidel nebo nedostatečná míra obranných mechanismů. Důsledek oxidačního stresu je oxidační poškození prakticky všech biomolekul, především lipidů, bílkovin i DNA. Existuje spousta důkazů o tom, že nahromaděné reaktivní kyslíkové částice mají nemalý podíl na patofyziologii stárnutí a mnohých chorobách, jako je rakovina, srdeční choroby, ateroskleróza, diabetes mellitus, chronický zánět, neurodegenerativní poruchy, Alzheimerova a Parkinsonova choroba [11,9].

Reaktivní formy kyslíku (ROS) i reaktivní formy dusíku (RNS) mohou být v těle generovány na základě podnětu od různých vnitřních zdrojů nebo je jejich vznik ovlivněn vnější-

mi faktory. ROS i další radikály jsou i vedlejší produkty běžného aerobního metabolismu v organismech. Také mohou vznikat vlivem působení UV-světla, rentgenů či gama-paprsků, jsou dále produkty kovem katalyzovaných reakcí a jsou přítomny v atmosféře. Během zánětu v organismu je generují neutrofily a makrofágy. Také mitochondriální transport elektronů dává podnět k jejich vzniku. Proto pro lidské zdraví je podstatná snaha o snížení či potlačení tvorby radikálů v těle, aby nedocházelo ke vzniku oxidačního stresu [7].

Epidemiologické studie tvrdí, že riziko vzniku nádorového bujení je možno snížit o 30 až 50 %, při zvýšeném příjmu antioxidantů v dietě ze zdrojů ovoce a zeleniny. Zvýšený příjem těchto potravin by měl také snižovat riziko kardiovaskulárních chorob, neurodegenerativních onemocnění, diabetu a dalších obtíží. Klinické studie však tento efekt zcela nepotvrzují. Vztah mezi antioxidační aktivitou potravin či sloučenin *in vitro* a pozitivní efektivitou *in vivo* nebyl přímo prokázán [11].

## 2.1 Volné radikály

Volnými radikály jsou nazývány částice s nepárovým počtem elektronů, mohou jimi být atomy, molekuly i ionty. Jedná se o vysoce reaktivní částice, které velice ochotně reagují s jinými molekulami. Podle toho, z jakých prvků pochází, se označují zkratkami: ROS jsou reaktivní formy pocházející z kyslíku, RNS jsou reaktivní formy dusíku a RSS mají původ ze síry [1].

Do skupiny ROS se zařazují volné radikály:

- superoxid ( $O_2\cdot$ ),
- hydroxylový radikál ( $OH\cdot$ ),
- hydroperoxyl ( $HO_2\cdot$ ),
- peroxy ( $ROO\cdot$ ),
- alkoxy ( $RO\cdot$ ).

Dále do této skupiny reaktivních forem kyslíku patří i neradikálové látky:

- peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ),
- singletový kyslík ( $^1O_2$ ),
- kyselina chlorná ( $HOCl$ ) a
- ozon ( $O_3$ ).

Mezi RNS se řadí radikály:

- oxid dusnatý ( $\text{NO}\cdot$ ),
- oxid dusičitý ( $\text{NO}_2\cdot$ )

a sloučeniny:

- nitrosyl ( $\text{NO}^+$ ),
- nitroxid ( $\text{NO}$ ),
- kyselina dusitá ( $\text{HNO}_2$ ),
- oxid dusitý ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ),
- oxid dusičitý ( $\text{N}_2\text{O}_4$ ),
- nitronium ( $\text{NO}_2^+$ ),
- peroxyinitrit ( $\text{ONOO}$ ),
- alkylperoxyinitrit ( $\text{ROONO}$ ) [13].

RSS snadno vznikají při reakci ROS s thioley [1].

Tkáně lidského těla obsahují superoxid v množství 0,01 až 0,001  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ , peroxid vodíku 1-100  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$  a oxid dusnatý o koncentraci odhadované v  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Lidská játra každou minutu produkují 24  $\text{nmol}$  superoxidu. Obecně nejvíce ROS vytvoří enzymy, které jsou vázány v membránách, především ty, jejichž koenzymy mají chinoidní nebo flavinovou strukturu, pak hemové koenzymy a enzymy s mědí v aktivním centru. Obrovská část ROS vzniká v mitochondriích při respiračních procesech, dále v endoplazmatickém retikulu (vzniká superoxid z oxokomplexu cytochromu P-450). Také v leukocytech a makrofázích je produkován superoxid NADPH-oxidázou v cytoplazmatické membráně. Dále může superoxid vznikat i náhodnou oxidací hemoglobinu na methemoglobin. Peroxid vodíku vzniká ve tkáních především ze superoxidu (dismutací). Je také tvořen přímo působením některých oxidáz, jako je glutathionoxidáza, xantinooxidáza a monoaminoxidáza. Zdrojem peroxidu vodíku jsou i peroxizomy. Dále mohou být zdroji ROS i neenzymové částice - exogenní a endogenní malé molekuly, v jejichž přítomnosti se kyslík redukuje na aktivní formy. Takovými molekulami jsou například chinonová antibiotika, která ničí působením vznikajícího superoxidu nádorové buňky, ale zároveň v důsledku hromadění poškozují i normální buňky. Mezi takováto antibiotika patří adriamycin, daunomycin a streptomycin. Jednou z možných cest vzniku RNS je za přítomnosti molekulárního kyslíku vznik z aminokyseliny argininu oxidu dusnatého [13].



Produkcí volných radikálů podporují i vnější faktory jako je kouření, záření, drogy, pesticidy, látky znečišťující životní prostředí, průmyslová rozpouštědla a ozon. Může se zdát paradoxní, že prvky nezbytné pro život jako je kyslík, má ve formě radikálů škodlivé účinky na lidské tělo. V případě, že nejsou ROS v dostatečné míře neutralizovány antioxidanty, pak nerovnováha vede k oxidačnímu stresu buněk.

ROS, RNS a RSS jsou především zaměřeny na reakce s proteiny, sacharidy, lipidy, molekulami DNA a RNA [1].

Působení volných radikálů na buněčné struktury může mít za následek změny fluidity lipidů, propustnosti membrán a ovlivnění membránově vázaných enzymů. Známým procesem je peroxidace lipidů vedoucí k žluknutí tuků a olejů, tomuto procesu jsou náchylné především polyenové mastné kyseliny [13].

Při oxidačním poškození sacharidů nastává fragmentace polysacharidů a důsledkem je narušení původních biologických funkcí molekul. Těmto procesům jsou náchylné zejména ty osoby, které trpí cukrovou a mají vysokou hladinu glukózy v krvi [4].

Působení radikálů na proteiny vyvolává změny v aktivitě enzymů. Radikály mohou také způsobovat proteinové agregace či fragmentace, ztráty signálních a transportních funkcí proteinů i jejich degradace [13]. Pokud je protein zoxidován a je pozměněna jeho struktura, a tak může být imunitním systémem rozpoznán jako cizí, což může být impulz pro odstartování tvorby protilátek a iniciace autoimunitní odezvy organismu. Oxidacím jsou náchylné zejména aminokyseliny obsahující síru (především cystein), pak aromatické aminokyseliny (tryptofan, tyrosin, fenylalanin). A v menší míře oxidacím podléhají i aminokyseliny – histidin, lysin, leucin, izoleucin a valin. Například histidin má funkci v enzymech, kde má odpovědnost za vazbu kovů a pokud je jeho molekula narušena oxidací (modifikována), pak je kov uvolněn ze struktury a funkce enzymu je ztracena [4].

Pokud radikály cílí na DNA (RNA), tak mohou nastávat mutace, translační chyby, či inhibice proteosyntézy, což se projeví jako apoptóza, mutageneze, karcinogeneze a stárnutí [13].

Vysoce reaktivní radikály s jinými molekulami mohou reagovat několika způsoby. Prvním principem je, že nepárový elektron je přenesen z původního radikálu na jinou molekulu, výsledkem je tedy vznik nového radikálu a původní radikál je současně stabilizován. Nově vzniklý vysoce reaktivní radikál může dále podněcovat vznik dalších radikálů. Tyto děje jsou nazývány řetězovými reakcemi. Další možností je reakce dvou radikálů, které mezi

sebou vytvoří kovalentní vazbu a stávají se stabilní. Také je možnost, že radikál se stabilizuje při reakci se sloučeninou obsahující konjugovaný systém dvojných vazeb [4,28].

Volné radikály mají mimo negativní působení i důležité biologické role, které vedou k blahodárným účinkům na organismy [1]. V těle člověka například makrofágy vytváří radikály, které mají funkci usmrcovat bakterie a parazity, T-buňky produkují radikály se schopností usmrcovat nádorové buňky, a nebo spermie si touto cestou zajistí svůj průnik do vajíčka. Dále volné radikály také mohou stimulovat buněčné množení (fibroblastů), regulovat buněčnou apoptosu, mají schopnost stimulace cévních hladkých svalových buněk a schopnost regulace funkce krevních destiček nebo stimulace aktivity cyklooxygenas a lipooxygenas [4].

## 2.2 Mechanismus působení antioxidantů

Antioxidanty mají v lidském organismu ochranné účinky vůči škodlivým oxidačním reakcím [7]. Antioxidační ochranný mechanismus může být zprostředkován různými způsoby:

A) Preventivně působící antioxidanty, které potlačují vznik volných radikálů. Příkladem je superoxiddismutasa, která urychluje dismutaci superoxidu na peroxid vodíku. Dále antioxidanty, které zprostředkovávají neradikálový rozklad hydroperoxidů a hydrogenperoxidů – katalasa, glutathionperoxidasa, peroxidasa (u lipidů), glutathion-S-transferasa.

B) Redukčně působící enzymy: GSH-reduktasa, askorbátreduktasa, thioredoxinreduktasa, lipoyldehydrogenasa, glukosa-6-fosfátdehydrogenasa.

C) Chelatační proteiny, které omezují dostupnost přechodných kovů. Příkladem je transferrin, ferritin, laktorferrin, haptoglobin, hemopexin, albumin, metalothioneiny.

D) Látky se schopností zhašet aktivní kyslík: superoxiddismutasa, karotenoidy.

E) Antioxidanty, které inaktivují radikály, a tak brání průběhu řetězové reakce. Zařadit do této kategorie lze hydrofilní: vitamin C, kyselinu močovou, glutathion, bilirubin, albumin, polární fenolové sloučeniny a lipofilní: vitamin E, ubichinon, karotenoidy ( $\beta$ -karoten, lykopen), flavonoidy, retinoidy, dále lipoovou kyselinu, která je amfifilního charakteru.

F) Enzymy, které opravují a znovu sestavují poškozené membrány: lipasy, proteasy, transferasy, enzymy na reparace DNA.

G) Mechanismy (tzv. adaptační), které mají schopnost regulace generování příslušných antioxidantů a distribuce na potřebné místo v daný okamžik a potřebném množství [4].

### 2.3 Faktory ovlivňující antioxidační aktivitu v organismu

Obecně aktivita antioxidantů je závislá na teplotě, pH, inaktivovaných volných radikálech, koncentraci antioxidantů, na druhu rozpouštědla, homogenitě/heterofázovosti systému, koncentraci dalších reakčních složek i přítomnosti jiných antioxidačních látek [11].

Většina přírodních antioxidantů je přijímána právě ve formě složitých směsí, které mohou interagovat s radikály různými mechanismy. Mohou na sebe vzájemně působit a ovlivňovat se. Efekt, jež současné působení vyvolává, může být synergetický či antagonistický [11,2].

Koncentrace antioxidantů nacházejících se obvykle v plazmě dosahují řádově nižších hodnot než při *in vitro* pokusech. Množství v organismu může být ovlivněno vstřebáváním antioxidantů v trávicím traktu i přestupem látek do jednotlivých tkání a buněk. Vstřebávání antioxidantů je obecně nízké a může být ještě sníženo vazbou na potravinové matrice (polysacharidy, bílkoviny) [11]. Vlákna například snižuje vstřebatelnost fenolů. Naopak zvyšování vstřebatelnosti lipofilních antioxidantů může podpořit tuk, alkohol nebo emulgátor [29].

Na antioxidační aktivitu má také vliv chemická modifikace antioxidantu. K tomuto ději dochází v trávicím traktu a dále i v samotném organismu. Pokles aktivity antioxidantů *in vivo* může také zapříčinit současný příjem oxidovaných lipidů a snadno oxidovatelných polyenových mastných kyselin. Například flavonoidy mohou být organismem rozpoznány jako cizorodé látky a pak se organismus snaží je co nejrychleji vyplavit ven [11].

### 3 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍCH LÁTEK

Metoda pro stanovení antioxidačních vlastností by měla ideálně posuzovat účinek potravinářských sloučenin v podmínkách simulujících oxidační stres v organismu vlivem ROS a RNS [7].

Veličina, která je při analytických metodách sledována, je antioxidační kapacita, jejíž hodnotu silně ovlivňuje synergetické působení různých antioxidantů.

Metod pro vyhodnocení antioxidační kapacity je celá řada, ale obecně se dělí na dvě kategorie dle reakčních mechanismů. Jednou skupinou jsou testy, jejichž princip je založen na přenosu vodíkového atomu [30]. Při stanovení se sleduje schopnost interakce testovaného antioxidantu s volným radikálem, kdy antioxidant uvolňuje vodík, který prostřednictvím reakce inaktivuje radikálové částice [29]. Tyto metody se označují zkratkou HAT (přenos atomů vodíku) [7].

Druhou skupinou jsou testy založené na redukci [29]. Reakce spočívá v přenosu elektronu, přičemž ji lze detekovat jako barevnou změnu oxidačního činidla, jež podléhá redukci [30]. Označení této skupiny metod je SET (přenos jednoho elektronu) [7].

Výsledky obou metod jsou totožné, ale odlišnost metod spočívá v jejich kinetice a potenciálu vzniku vedlejších reakcí. Metody SET detekují schopnost testovaného antioxidantu přenášet jeden elektron a tím redukovat libovolnou sloučeninu (kovy, radikály, karbonyly). Pokud se redukce oxidantu uskuteční, pak je reakce detekovatelná změnou barvy.

Metody HAT měří schopnost antioxidantu uhasit volné radikály tím, že částicím darují vodík. Reakce HAT jsou často velmi rychlé, jejich délka je několik sekund, případně minut a nezávisí na druhu rozpouštědla ani pH. Komplikací testu HAT by mohla být přítomnost redukčních činidel včetně kovů, což by mohlo vést ke zdánlivě vysoké reaktivitě.

Reakce HAT je založena na schopnosti antioxidantu uhasit volné radikály darováním vodíku:  $AH + X\cdot \rightarrow A\cdot + XH$  [7].

Testy využívající metody HAT zahrnují následující možnosti:

1. metoda ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) tedy absorpční kapacita kyslíkových radikálů;
2. TRAP metoda (Total radical-trapping antioxidant parameter) – parametr celkového antioxidačního zachycení radikálů;
3. TOSCA (Total oxyradical scavenging capacity assay) [15,9,31].

Dále: metoda inhibice indukované oxidace LDL; crocin-bělící testy; chemiluminiscenční testy [7].

Metody založené na SET zahrnují následující testy:

1. Stanovení celkového fenolu pomocí Folin-Ciocalteuho činidla;
2. Test TEAC (Trolox equivalence antioxidant capacity), tedy test antioxidační kapacity ekvivalentu troloxu;
3. FRAP (Ferric ion reducing antioxidant power) je metoda stanovující antioxidační sílu, která redukuje železité ionty;
4. Dále může být použit jako oxidant měďnatý komplex pro stanovení celkového antioxidačního potenciálu;
5. Pak může pro stanovení sloužit radikál 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu (DPPH $\cdot$ ) a být sledován jeho úbytek;
6. Nebo je použita zkouška zachycení zbytku kyseliny 2,2-azinobis 3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonové (ABTS $\cdot^+$ );
7. Test DMPD $\cdot^+$  je založen na vychytávání radikálů N,N-dimethyl-p-fenylenediaminu;
8. Stanovení CUPRAC používá ke stanovení antioxidační síly měďnaté ionty [7].

### 3.1 ORAC

Metoda ORAC (absorpční kapacita kyslíkových radikálů) testuje antioxidační kapacity vzorků. Test je založen na oxidační degradaci barviva, což způsobují peroxylové radikály (ROO $\cdot$ ) [32].

Peroxylový radikál je totiž schopen reakce s fluorescenční molekulou (beta-fykoerythin nebo fluorescein) a výsledkem reakce je produkt bez fluorescence. Antioxidanty přítomné ve vzorku mají schopnost ochránit fluorescenční molekulu před degradací, proto ztráta fluorescence v přítomnosti antioxidantů nenastává nebo je alespoň zpomalena. Výsledky získané metodou ORAC lze vyhodnotit z grafu na základě odečtu plochy pod křivkou fluorescenčního rozpadu [15,32].

Výsledky jsou vyjadřovány jako ekvivalenty Troloxu (je analogem  $\alpha$ -tokoferolu), tedy množství Troloxu, které by poskytovalo stejnou míru antioxidační ochrany.

Tato metoda je znevýhodněna z toho důvodu, že reakce probíhá ve vodném rozpouštědle, tudíž je vhodná jen pro látky rozpustné ve vodě [32].

### 3.2 DPPH

Příkladem testů HAT (s jedno-elektronovým přenosem) je zkouška zachycení DPPH· (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl radikál), což je syntetická organická molekula, která absorbuje světlo při 517 nm. Metoda je založena na redukcí radikálu pomocí reakce s antioxidanty (donory vodíku) na odpovídající hydrazin (DPPH-H), který má žlutou barvu [15].

Původní barva radikálu DPPH· (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu) je intenzivně fialová a po reakci s antioxidanty vzniká produkt DPPH-H nažloutlé barvy [32].

Kapacitu antioxidantu lze stanovit po změření zbytkového DPPH· v potravině. Měření lze provést pomocí různých metod:

- a) spektroskopicky, kde je měřena změna zabarvení při absorbanci v rozmezí 515 a 528 nm;
- b) elektronovou spinovou rezonancí, kdy koncentrace antioxidantu a reakční doba jsou nepřímo úměrné intenzitě signálu DPPH·;
- c) elektrochemickou metodou;
- d) kapalinovou chromatografií (HPLC).

Výsledky jsou uváděny jako antiradikálový efekt, což je parametr, který vyjadřuje množství antioxidantu potřebného ke snížení počáteční koncentrace radikálu DPPH·. Tento test je považován za jednu z nejúčinnějších metod pro stanovení antioxidační kapacity potravin. Měření není náročné, protože radikál DPPH· je dostupný a stabilní, vzorek nevyžaduje žádná zvláštní ošetření. Prostřednictvím této metody lze hodnotit široké spektrum ovoce, zeleniny, výtažků z rostlin či potravin (maliny, ostružiny, třešně, jahody, cereálií, hub, salátu, brokolice, byliny) [15].

### 3.3 ABTS

Další metoda využívá pro měření antioxidantů kyselinu 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonovou) (ABTS). Měřena je schopnost antioxidačních sloučenin redukovat barvu radikálového kationtu. Radikálový kation ( $ABTS^{\cdot+}$ ) vzniká při reakci ATBS s peroxylovými radikály ( $ROO^{\cdot}$ ), nebo jinými sloučeninami, které ji oxidují. Radikálový kation ( $ABTS^{\cdot+}$ ) je intenzivně zbarvená sloučenina [15].

Metoda je aplikovatelná pro lipofilní i hydrofilní sloučeniny. Radikály  $ABTS^{\cdot+}$  jsou reaktivnější než radikály DPPH, reakce zahrnují metody HAT i SET [7].

Používána je odbarvovací technika, kdy je generovaný radikál odbarvován díky přítomnému antioxidantu a zbývající koncentrace  $\text{ABTS}\cdot^+$  je stanovena spektrofotometricky při 414, 734 a 815 nm ve vodném médiu a při 414, 730 a 873 nm v ethanolovém médiu [9,15].

### 3.4 DMPD

Test *N,N*-Dimethyl-*p*-fenylendiamin ( $\text{DMPD}\cdot^+$ ) je velmi podobný ABTS testu, rozdíl spočívá v radikálovém zdroji. Sloučenina DMPD je na rozdíl od ATBS pouze hydrofilní [15].

### 3.5 FRAP

Mechanismus metody FRAP (antioxidační síla železité redukce) spočívá v přenosu elektronů, nikoli v přenosu vodíkových atomů, jak je tomu obvykle. Test je tedy založen na redukci  $\text{Fe}^{3+}$  za vzniku  $\text{Fe}^{2+}$ . Aby byla udržena rozpustnost železa, je reakce prováděna v kyselém pH 3,6. Nízké pH snižuje ionizační potenciál, tak brání přenosu atomů vodíku a naopak je zvýšen redoxní potenciál, na kterém je založen reakční mechanismus metody.

Reakce je detekovatelná změnou barvy, kterou způsobuje barevný komplex  $\text{Fe}^{2+}$  a 2,4,6-trypyridyl-*s*-triazin s absorpční při 593 nm. FRAP není schopna indikovat sloučeniny vyžadující pro radikálové zhášení přenos vodíku, příkladem jsou thioly, proteiny. Výhodou metody je jednoduchost, rychlost (4 - 6 minut), finanční nenáročnost [33].

### 3.6 CUPRAC

Podobného principu jako metoda FRAP využívá CUPRAC [33].

Tento test využívá redukčního působení antioxidantů, kdy z měďnatých iontů ( $\text{Cu}^{2+}$ ) vznikají ionty  $\text{Cu}^+$  [7]. Redoxní potenciál mědi je oproti železu nižší, a proto je pro stanovení výhodnější variantou [33]. Výhodou metody je rychlost, stabilita, selektivita, nákladová efektivita, má široké rozmezí aplikovatelnosti pro velkou škálu antioxidantů bez ohledu na chemický typ a hydrofilitu [7].

#### 4 POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY POTRAVIN

Antioxidanty by měly být přijímány v přirozené formě jako součást běžné stravy, zejména ovoce a zeleniny, jejichž poměr by měl být 1:2. Celkový denní příjem pro obyvatele ČR by měl ideálně představovat 600 g [11].

Veličina, která je schopna zobrazovat míru antioxidačního účinku látek, je TAA (total antioxidant activity), tedy celková antioxidační aktivita. TAA je parametr, který je schopen kvantitativně vyjádřit vlastnost biologického vzorku eliminovat radikály. Pro získání těchto hodnot se využívá nejčastěji již zmíněných metod TEAC, FRAP, ORAC a dalších [2].

Při laboratorním stanovení byly zjišťovány hodnoty celkové antioxidační kapacity (aktivity) několika vzorků potravin s využitím různých metod. Výsledky testování (viz Tabulka 3) téhož vzorku různými metodami nejsou shodné a často se odlišují až v rámci řádu, tato skutečnost je popisována celou řadou autorů jako velice běžná. Odchytky jsou dány pravděpodobně odlišným zastoupením antioxidačních látek ve vzorcích, klíčová je reakční rychlost v oxidačně-redukčních reakcích, na což má vliv použité činidlo. Naměřené hodnoty ukazují, že potravinami s nejvyšším obsahem antioxidantů (z měřených) jsou červené i bílé hrozny, červená paprika, mandarinka, pak vysoké hodnoty antioxidační kapacity mají i červená vína, dále jablko, cibule, kapusta, rajčata apod [34].

Tabulka 3: TAC vyjádřena jako mg kyseliny gallové / 10g vzorku [34]

Vzorek potravin	Metoda FRAP	Metoda DMPD
Avokádo	51,0	66,6
Meloun vodní	65,5	61,3
Hruška letní	86,0	8,5
Jablko letní	92,4	432,0
Mandarinka	116,7	296,0
Grapefruit	187,3	297,5
Citron	48,3	287,0
Pomeranč	84,1	113,9
Hrozen červený	379,0	-
Hrozen bílý	456,0	-
Víno červené (Frankovka)	1323,0	108,2
Víno bílé (Veltlín)	56,6	178,2
Cibule žlutá	178,0	186,1
Paprika zelená	10,3	1018,0
Paprika červená	67,2	665,0
Kapusta	98,3	102,9
Okurka salátová	26,5	3,4
Brambor	17,9	-
Zelí bílé	97,1	32,6
Rajče	66,6	343,0
Květák	96,2	139,7
Salát hlávkový	59,8	7,8



## 4.1 Ovoce

Ovoce, ovocné šťávy a výrobky mají vysoký obsah polyfenolických sloučenin, což jsou hlavní složky ovlivňující sensorické vlastnosti a kromě toho mají i benefity jakožto antioxidanty. Ovoce tedy přispívá k prevenci vůči nádorovým a srdečním nemocem [36]. Jednotlivé druhy ovoce se v mnoha ohledech liší, včetně obsahu vitaminů, minerálů, vlákniny, a rovněž i jejich antioxidační vlastnosti jsou různé. Ovocné plody jsou bohatým zdrojem antioxidantů, jedny z nejčastějších jsou karotenoidy, polyfenolické sloučeniny a kyselina askorbová [12].

### *Jablka*

Jablka obsahují fenolové sloučeniny v množství 296,3 mg na 100 g, přítomny jsou především v rozpustné formě. Zastoupeny jsou hlavně flavonoidy, jako jsou katechiny, epikatechin, kvercetinové glykosidy, dihydrochalkony (florizin), kyseliny hydroxybenzoové (kyselina p-hydroxybenzoová, kyselina protokatechová, kyselina gallová, atd.) a hydroxy-skořicové kyseliny s jejich deriváty (kyselina p-kumarová, kyselina kofeová, kyselina ferulová, kyselina chlorogenová). Pokud jsou jablka technologicky opracovávána - loupána, dochází ke ztrátám polyfenolových sloučenin a při odšťavňování zůstává většina antioxidantů ve výlisku, v jablečné šťávě jich bývá málo [37].

### 4.1.1 Bobulovité ovoce

Některé druhy bobulovitého ovoce byly označeny za nejlepší zdroj antioxidantů z řad rostlinných produktů [12].

### *Açai*

Açai berry získalo v poslední době vysokou popularitu a je často označováno jako „super ovoce“. Bobule Açai totiž dosahují velmi vysokých antioxidačních kapacit, převládajícími složkami jsou polyfenoly, hlavně anthokyany (kyanidin-3-glukosid a kyanidin-3-rutinosid) a flavonoidy. Studie, která byla prováděna na lidských dobrovolnících, ukázala, že strava obohacená o šťávu z plodů Açai má pravděpodobně souvislost s vyššími hladinami antioxidační kapacity v plazmě, což by tedy mohlo znamenat, že plody Açai mají antioxidační potenciál *in vivo*. Bylo zjištěno, že antioxidační kapacita Açai dosahuje vyšších hodnot než jiné bobuloviny [12].

### ***Borůvky***

Borůvky byly v poslední době velmi podrobně studovány na jejich celkovou antioxidační kapacitu (AOC). Uvádí se, že plody obsahují 15 druhů antokyanů, které vykazují antioxidační aktivitu. Nejvyšší účinnosti dosahuje delfinin-3-O-galaktosid, kyanidin-3-O-galaktosid, delfinin-3-O-arabinosid, petunidin-3-O-galaktosid, malvidin-3-O-galaktosid, malvidin-3-O-arabinosid, kyselina 5-O-feruloylchinová a stopy quercetin-O-diglukosidu. Dále borůvky obsahují vitamin C, který ale nepřispívá k hodnotě celkové antioxidační kapacity v takové míře jako antokyany [35]. Obsah antokyaninů v borůvkách byl stanoven v 1 kg čerstvé hmotnosti jako 3970-4840 mg, množství flavonolů bylo 115-139 mg, obsah hydroxycinamátů (fenolových kyselin) odpovídalo 226-315 mg, flavonoidů bylo stanoveno 63-70 mg [27].

Hodnota antioxidační aktivity, která byla změřena metodou FRAP jako  $30 \mu\text{mol Fe}^{+2} \cdot \text{g}^{-1}$ . Z 84 % je celková antioxidační kapacita dána antokyany a ze 14 % flavonoidy [35].

### ***Brusinky***

Další bobulovité ovoce, jehož antioxidační kapacita byla v posledních letech předmětem studia, jsou brusinky. Metodou FRAP byla změřena celková antioxidační kapacita  $18,6 \mu\text{mol Fe}^{+2} \cdot \text{g}^{-1}$ . K AOC přispívá vitamin C z 22,6 %. 14% z celkového AOC je dáno epikatechinem spolu s peonidin-3-O-galaktosidem. Množství epikatechinu bylo stanoveno jako  $1121 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ . Dále antokyany tvoří 39% AOC v množství až  $725 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ . K celkové antioxidační kapacitě brusinek přispívají i flavonoly  $456 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ , které představují 10% z AOC [35]. Jiný zdroj udává hmotnost antioxidantů v kg čerstvé hmotnosti brusinek – pro antokyaniny je to 460-1720 mg, množství flavonolů a protoantokynidů je 285 mg, flavonolů 139-334 mg, hydroxycinamátů 191 mg, také je stanoven obsah karotenoidů ( $\beta$ -karotenu) jako 0,2 mg [27].

### ***Ostružiny***

I ostružiny patří mezi bobulovité ovoce, které obsahuje vysoké koncentrace bioaktivních látek - fenolických sloučenin, flavonoidů zahrnující antokyany. Největší část celkové antioxidační kapacity je údajně dána fenoly a kyselinou askorbovou. Hodnota AOC závisí na druhu plodu, pohybuje se kolem 347,05 do 464,2  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  čerstvé hmotnosti. Hodnoty byly stanoveny pomocí metod ABTS a DPPH ve zcela zralém stádiu plodu [35].

## 4.2 Zelenina

Zelenina je vhodnou potravinou, která by měla být zařazována do jídelníčku, obsahuje potřebné živiny pro život i látky podporující zdraví a prevenci nemocí. Studie potvrdily, že příjem zeleniny souvisí se sníženou četností kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny. Jako odůvodnění tohoto jevu je pozitivní efekt připisován sloučeninám s antioxidačním efektem, kterými v zelenině jsou například: vitamín C a E, selenu, flavonoidy a  $\beta$ -karotenu. Antioxidační kapacita potravin může být ovlivněna i způsobem zpracování, ale ne jen negativním směrem, například fermentace způsobuje zlepšení původní aktivity a biologické dostupnosti přirozeně se vyskytujících fotochemikálií [36]. Ze zeleniny byla vyhodnocena nejvyšší hodnota antioxidační kapacity u brokolice a špenátu (metodou DPPH), dále nadprůměrné hodnoty měla i červená, žlutá a zelená paprika, česnek a červené zelí. Jiná metoda (ORAC) vyhodnotila jako nejhojnější zdroj brokolici, květák a artyčok [39].

Například brokolice poskytuje organismu řadu prospěšných látek z řad antioxidantů, jsou jimi: vitaminy C a E, flavonoly quercetin a kaempferol, karotenoidy  $\beta$ -karoten a lutein a glukosinoláty. Obsah antioxidantů u čerstvě sklizené brokolice před byl 3,96  $\mu\text{mol Trolox / g}$ . Během skladování dochází ke značným změnám bioaktivních složek, a tedy i snížení antioxidační kapacity [30].

## 4.3 Další zdroje

### *Červené víno*

Červené víno v podobě fermentovaného nápoje z červených hroznů je zdrojem velkého množství polyfenolických sloučenin, je dobrým zdrojem flavonolů a flavonů. V průběhu fermentace koncentrace fenolických sloučenin (hl. antokyaninů) ve víně narůstá. Právě z důvodu poměrně vysokých koncentrací antioxidantů má červené víno pozitivní účinky na zdraví. Zastoupeny jsou hlavně kvercetin, resveratrol a epikatechin [36].

### *Ořechy*

Ořechy obsahují kromě zdraví prospěšného lipidového spektra i antioxidační sloučeniny různých typů. Například mandle obsahují fenolové kyseliny a flavonoidy, jako jsou katechiny, flavonoly a flavonony. Pistácie jsou zdrojem fenolových kyselin a flavonoidů. Vlašské ořechy obsahují řadu různých polyfenolů a tokoferolů. Kešu ořechy mají jako hlavní antioxidanty taniny a alkyferoly [12].

### *Koření a byliny*

Koření obsahuje kromě jiných složek i bioaktivní sloučeniny, jako jsou fenolové kyseliny, flavonoidy, steroly a kumariny. Antioxidační aktivita byla pozorována u řady aromatických bylin, koření i éterických olejů. Například esenciální olej z tymiánu je bohatý na thymol, karvakrol nebo eugenol, což jsou látky s antioxidačními účinky. Dalšími látkami z koření s antioxidačním efektem je kurkumin a kapsaicin. Pak třeba éterické oleje z oregana, tymiánu obsahují jako antioxidanty fenolické monoterpeny, thymol a karvakrol [12].

Vysoký obsah antioxidantů v ořeších a bylinách lze pozorovat (viz Tabulka 4) při porovnání s ostatními plody.

Tabulka 4: Celkový obsah antioxidantů v potravinách [35]

potravina	[mmol·100 g <sup>-1</sup> ]	potravina	[mmol·100 g <sup>-1</sup> ]
borůvky	2,154	arašidy	0,351
ostružiny	3,990	pistácie	1,426
brusinky	3,289	ředkvičky	0,110
jahody	2,159	brambory	0,186
řepa	0,521	červené brambory	0,221
mandle	0,535	mrkev	0,034
kešu	0,642	cibule žlutá	0,236
pekanové ořechy	9,668	rajčata	0,155
vlašské ořechy	13,126	zázvorový kořen	21,571

### 4.4 Ztráty při opracování

Při opracování potravin dochází ke značným ztrátám obsahu antioxidantů, celková antioxidační kapacita potravin po technologickém zásahu výrazně klesá oproti čerstvým plodům. Příklady ztrát jsou uvedeny níže (viz Tabulka 5) [39].

Tabulka 5: Obsah antioxidantů a celkové kapacity potravin při různých úpravách [39]

Zelenina	Úprava	Fenoly [mg/g]	Flavonoidy [mg/g]	ORAC [μmol/g]
Špenát	čerstvý	1,01±0,11	0,32±0,10	27,32±2,30
	mražený	0,81±0,07	0,28±0,10	16,87±1,30
Žlutá paprika	čerstvá	1,54±0,07	0,18±0,01	9,50±0,89
	grilovaná	1,45±0,09	0,11±0,01	9,94±0,81
Květák	čerstvý	0,62±0,09	0,32±0,02	9,25±0,97
	dušený	0,54±0,06	0,10±0,01	6,20±0,58

## 5 LEGISLATIVA OMEZUJÍ POUŽITÍ ANTIOXIDANTŮ V POTRAVINÁCH

Legislativa, která pojednává o antioxidačních látkách je nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách. Součástí tohoto nařízení jsou i přílohy a změny, například NEPR 1229/2011 [3]. Přílohou II je nařízení Komise (EU) č. 1129/2011, které obsahuje seznam potravinářských přídatných látek a jeho změna č. 1149/2012, která se zabývá používáním výtažků z rozmarýnu v náplních pro sušené těstoviny. A přílohou III je nařízení Komise (EU) č. 1130/2011.

Přílohy obsahují seznamy, které vytváří přehled povolených potravinářských přídatných látek s jejich E-číselným kódem, také jsou zde definovány i podmínky, omezení použití a potraviny, do kterých je možné látku přidávat a v jakém množství [40].

Označování skupin přídatných látek pomocí číselných E-kódů je následující: E100-199 jsou barviva; E200-299 jsou konzervanty; E300-399 jsou antioxidanty a regulátory kyselosti; E400-499 emulgátory, stabilizátory, modifikované škroby a zahušňovačla; E500-599 jsou plnidla a protispékavé látky; E600-699 jsou zvýrazňovače chuti a aroma; E900-999 náhradní sladidla, potravinářské plyny a lešticí látky; E1000-1999 jsou ostatní aditiva [41].

Některé látky, které působí jako antioxidanty jsou primárně klasifikovány jako barviva, například karotenoidy, anthokyaniny [3]. To z toho důvodu, že zařazení do kategorií je udělováno na základě hlavní funkce, kterou má látka v potravine [41].

NEPR č. 1333/2008 definuje: „antioxidanty se rozumějí látky, které prodlužují trvanlivost potravin tím, že je chrání proti zkáze způsobené oxidací, například proti žluknutí tuků a barevným změnám“. Dále toto nařízení říká, že obecně potravinářské přídatné látky by neměly být do potravin přidávány za účelem dodání vůně, chuti nebo zvýšení živinových hodnot, ale používány jen za účelem technologickým, například konzervace.

Nařízení dále stanovuje požadavky na označování, přičemž na obale potraviny, která obsahuje přídatné látky, musí být uveden název sloučeniny nebo její číselný E-kód [40].

Antioxidanty BHA, BHT, TBHQ, PG jsou v potravinářském průmyslu využívány především z důvodu jejich oxidační stability, finanční dostupnosti a dobrého výkonu, kterým je hlavně oddálení oxidační degradace lipidů. Tyto látky, jakožto syntetická potravinová aditiva, musí být analyzovány ohledně jejich bezpečnosti a legislativou potvrzeny [3].

V případě, že by nějaká použitá přídatná látka mohla mít (ve velkém množství) potenciální negativní dopad na zdraví, musí být riziko uvedeno na obale potraviny [41].

Potravinářské přídatné látky musí projít procesem schválení a jejich použití musí být bezpečné a v nezbytném množství. Přídatné látky nebo jejich produkty se stávají složkami potravin. Přídatná látka ale nesmí uvádět spotřebitele do omylu [40]. Uváděním spotřebitele v omyl se rozumí to, že přídatné látky by byly použity za účelem maskování vad nebo jiných změn, které jsou nežádoucí [41].

Některé přídatné látky nemají přesně definované maximální povolené množství, které smí být do potravin přidáváno, ale výrobci se musí držet pravidla „quantum satis“, tedy nezbytně nutné množství. Jiná aditiva mají legislativou stanovené limity v mg/kg nebo mg/l potraviny [40].

V nezbytném množství mohou být do potravin přidávány látky: estery mastných kyselin s kyselinou askorbovou (palmitát, stearát), pak přírodní tokoferoly i syntetické  $\alpha$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ -tokoferol, jejichž struktura je identická s přírodními [19].

Nejvyšší povolené množství je v některých případech definováno pro skupinu konkrétního výčtu aditiv. Příkladem může být skupina antioxidantů E310-320: Galáty, TBHQ a BHA, kdy nejvyšší povolené množství je stanoveno pro součet těchto látek [41]. Potraviny, které mohou obsahovat galáty a fenolové sloučeniny jsou stanoveny příslušnými předpisy. Například tuky a oleje pro smažení, sádlo, lůj a rybí tuk mají povolené nejvyšší množství gallátů  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  BHA a  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  BHT. Dále například přidávání erythorbové kyseliny (isoaskorbové) i erythorbanu sodného, je povolené do masných výrobků v množství  $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  a do rybích výrobků  $1500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  [19].

Výtažky z rozmarýnu (E 392) jsou dle legislativy řazeny mezi povolené látky, které mají schopnost chránit potravinu proti zkáze vlivem oxidace, proto jsou řazeny mezi antioxidanty. Tyto antioxidanty je možné přidávat pouze do náplní pro plněné sušené těstoviny, kde mají zlepšovat stabilitu tuků. Množství aditiva E 392, vyjádřeného jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny, smí být maximálně  $250 \text{ mg/kg}$ . Jiný způsob použití výtažků z rozmarýnu není možný [43].

Nařízení komise EU č. 1129/2011 říká, že množství lykopenu jako aditivum do potravin (E160d) je třeba omezit na hodnotu denního příjmu  $0,5 \text{ mg/kg}$  tělesné hmotnosti. Překročení této meze může hrozit především u dětí. V potravinách má vyšší zastoupení z toho důvodu, že má funkci jako barvivo [42].

## ZÁVĚR

Hlavní úlohou antioxidantů je ochrana potravin vůči oxidačním procesům, které vedou k jejich znehodnocení. K oxidacím jsou náchylné především lipidy, kdy projevem může být štiplavá chuť, zápach, změna struktury a vzhledu.

Produkty oxidačních procesů, kterými jsou volné radikály a reaktivní formy kyslíku, mají negativní dopad i na lidský organismus. V těle vznikají nejen v průběhu metabolických procesů, ale dostávají se dovnitř i z vnějších faktorů. Oxidační stres, čímž je označován stav nadprodukce volných radikálů, má dopad na poškození molekul, buněk i tkání.

Oxidační stres má tedy prokazatelný negativní vliv na lidské zdraví a je tedy příčinou mnoha onemocnění. Protektivní úlohu vůči těmto dějům mají antioxidační látky, které si do určité míry tělo dokáže samo vytvářet, ale chceme-li zajistit dostatečnou hladinu antioxidantů v tkáních, je vhodné zařadit do své stravy potraviny obsahující přirozeně antioxidační látky, těmi jsou například i vitaminy vykazující antioxidační efekt a další mikronutrienty. Potraviny, které jsou bohaté na tyto látky, jsou obecně ovoce, zelenina, koření a byliny. Konzumace antioxidantů v podobě potravinových doplňků neměla dle klinických studií pozitivní efekt. Důraz by měl být také kladen na pestrost stravy, protože jednotlivé antioxidanty nemají schopnost interakce se všemi typy radikálů.

Při aplikaci antioxidačních látek do potravin v potravinářském průmyslu musí být zohledněny ekonomické dopady, účinnost antioxidantů i při nízkých koncentracích, jejich stabilita, dále by neměly způsobovat negativní organoleptické změny, neměly by být toxické. A jako vysoce efektivní pozitivní opatření je využívání synergetických vlastností sloučenin navzájem.

Pokud se výrobce rozhodne do průmyslově zpracovaných potravin přidávat antioxidanty jako aditiva, musí si ověřit, že jeho záměry jsou v souladu s platnou legislativou, což je aktuálně nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] IVANIŠOVÁ, Eva. *Bioactive compounds in foodstuffs*. Nitra: Slovak University of Agriculture in Nitra, 2014, 96 s. ISBN 9788055212647.
- [2] PAULOVÁ, J., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 2004, 98, 174-179.
- [3] BARREIRA, João C.M. a Isabel C.F.R. FERREIRA. Artificial Antioxidants. *Encyclopedia of Food Chemistry*. Oxford: Academic Press, 2019, s. 283-290. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21600-4>. ISBN 978-0-12-814045-1. Dostupné také z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965216004>
- [4] STRATIL, Pavel a Vlastimil KUBÁŇ. *Reaktivní kyslíkové radikály, přírodní antioxidanty a jejich zdravotní účinky*. Český Těšín: 2 THETA, 2018, 278 s. ISBN 9788086380919.
- [5] SHAHIDI, Fereidoon. 13.2.1 Classification of Antioxidants. *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Elsevier, 2015. ISBN 978-1-78242-089-7. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00UR5GA6/handbook-antioxidants/classification-antioxidants>
- [6] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 8090239153.
- [7] DECKER, Eric A., Ryan J. ELIAS a D. Julian MCCLEMENTS. 1.4.2.1 Free Radical Quenchers. *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications, Volume 2 - Management in Different Industry Sectors*. Woodhead Publishing, 2010. ISBN 978-1-84569-983-3. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt008HPB81/oxidation-in-foods-beverages/free-radical-quenchers>
- [8] CHEN, Bingcan a Minwei XU. Natural Antioxidants in Foods. *Encyclopedia of Food Chemistry*. Oxford: Academic Press, 2019, s. 180-188. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21599-0>. ISBN 978-0-12-814045-1. Dostupné také z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965215990>
- [9] GÜLÇİN, İlhami. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology* [online]. 2012, 86(3), 345-391 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1007/s00204-011-0774-2. ISSN 03405761. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00204-011-0774-2>



- [10] DAMODARAN, Srinivasan a Kirk L. PARKIN, ed. *Fennema's food chemistry*. Fifth edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, [2017], xvi, 1107 s. ISBN 9781482208122.
- [11] PICKOVÁ, Ivana, ed. *Svět potravin a kouzlo biotechnologií: 24. letní škola*. Ostrava: Key Publishing, 2010, 116 s. ISBN 9788074180699.
- [12] BARTOSZ, G. *Food oxidants and antioxidants: chemical, biological, and functional properties*. Boca Raton: CRC Press, 2014, 550 s. ISBN 9781439882429. Dostupné také z: <http://marc.crcnetbase.com/isbn/9781439882429>
- [13] ŠTÍPEK, Stanislav. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. Praha: Grada, 2000, 314 s. ISBN 8071697044.
- [14] PAZDERA, Josef. *Antioxidanty: část 2* [online]. 4. 12. 2005 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: [http://www.darius.cz/archeus/LU\\_antiox\\_2.html](http://www.darius.cz/archeus/LU_antiox_2.html)
- [15] YAHIA, Elhadi M., ed. *Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry and human health*. Second edition. Hoboken: Wiley Blackwell, 2018, 2 svazky (xxxvi, 1405 stran). ISBN 9781119157946.
- [16] SHAHIDI, Fereidoon, ed. *Handbook of antioxidants for food preservation*. Amsterdam: Elsevier/Woodhead Publishing, [2015], xxiii, 487 s. Woodhead Publishing series in food science, technology and nutrition. ISBN 1782420894. Dostupné také z: <https://www.loc.gov/catdir/enhancements/fy1617/2014954546-d.html>
- [17] BŘÍŽĎALA, Jan. *Lipidy*. In: E-ChemBook: Multimediální učebnice chemie pro gymnázia [online]. [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <http://e-chembook.eu/lipidy>
- [18] Beta-karoten. In: *Sinice a řasy.cz: Algologická laboratoř na katedře botaniky Přírodovědecké fakulty JU v Českých Budějovicích* [online]. České Budějovice, 2020 [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: [http://www.sinicearasy.cz/files/beta\\_karoten.gif](http://www.sinicearasy.cz/files/beta_karoten.gif)
- [19] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 9788086659176.
- [20] VELÍŠEK, Jan a Karel CEJPEK. *Biosynthesis of food components*. Tábor: OSSIS, 2008, xii, 497 s. ISBN 9788086659121.
- [21] POKORNÝ, Jan. *Antioxidants in food: practical applications*. Cambridge: Woodhead, 2001, 380 s. Woodhead Publishing in food science and technology. ISBN 185573463X. Dostupné také z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpAFPA0001/antioxidants-in-food>

- [22] Kyselina skořicová. In: *Merckmillipore* [online]. 2020 [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: [https://www.merckmillipore.com/CZ/cs/product/Cinnamic-acid,MDA\\_CHEM-800235](https://www.merckmillipore.com/CZ/cs/product/Cinnamic-acid,MDA_CHEM-800235)
- [23] SIMUNKOVA, Miriama, Saleh H. ALWASEL, Ibrahim M. ALHAZZA, Klaudia JOMOVA, Vojtech KOLLAR, Miroslav RUSKO a Marian VALKO. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease. *Archives of Toxicology* [online]. 2019, 93(9), 2491-2513 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1007/s00204-019-02538-y. ISSN 03405761. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00204-019-02538-y>
- [24] WALLACE, Taylor C. a M. Monica GIUSTI. *Anthocyanins in health and disease*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2014, 1 online zdroj. ISBN 9781439894767. Dostupné také z: <http://marc.crcnetbase.com/isbn/9781439894767>
- [25] Curcumin Molecular Structure (Keto form). In: *World of Molecules* [online]. 2016 [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: <https://www.worldofmolecules.com/anti-aging-and-senolytics/curcumin-and-curcumin-analogs.html>
- [26] WANG, Dongfeng, ed. *Food chemistry*. New York: Nova Science Publishers, c2012, xii, 370 s. Food science and technology. ISBN 9781619421257.
- [27] MOHAPATRA, Debabandya. Antioxidants, their properties, uses in food products and their legal implications. *International Journal of Food Studies* [online]. 2013, 2(1) [cit. 2020-02-21]. ISSN 21821054. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsdoj&an=edsdoj.6f441c8741704fc49ff07c689b151e99&scope=site>
- [28] HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John M. C. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA, 2015.
- [29] RÉBLOVÁ, Zuzana. External Factors Affecting Antioxidant Activity. *Chemické listy* [online]. 2011, 15. 10. 2011, 105(9), 667-673 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/1075>
- [30] PREEDY, Victor R. *Processing and impact on active components in food*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2015, ISBN 978-0-12-404699-3.

- [31] WATSON, Ronald Ross a Victor R. PREEDY. 3.6 Methods for Assaying Antioxidant Capacity. *Bioactive Foods in Promoting Health - Fruits and Vegetables*. USA: Elsevier, 2010. ISBN 978-0-12-374628-3. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00BKAYS6/bioactive-foods-in-promoting/methods-assaying-antioxidant>
- [32] HASHEMI, Seyed Mohammad Bagher, Amin Mousavi KHANEGHAH a Anderson de Souza SANT'ANA. 9.3.5 DPPH Test. *Essential Oils in Food Processing - Chemistry, Safety and Applications*. John Wiley, 2018. ISBN 978-1-119-14934-7. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011N6VHD/essential-oils-in-food/dpph-test>
- [33] PREEDY, Victor R. a Ronald Ross WATSON. 67.2.2 Direct Methods. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2009. ISBN 978-0-12-374420-3. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00BWIUQH/olives-olive-oil-in-health/direct-methods>
- [34] ZLOCH, Zdeněk. *Chemie potravin a výživy: Celková antioxidační kapacita potravin jako významný ukazatel jejich nutriční hodnoty a metody jejího laboratorního stanovení* [online]. 28. 2. 2014, , 25 [cit. 2020-04-11]. Dostupné z: <https://adoc.tips/chemie-potravin-a-vyivy.html>
- [35] SHAHIDI, Fereidoon. 19.1.1.2 Cranberry. *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Elsevier, 2015. ISBN 978-1-78242-089-7. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00UR5IV4/handbook-antioxidants/cranberry>
- [36] HOLZAPFEL, Wilhelm. *Advances in Fermented Foods and Beverages - Improving Quality, Technologies and Health Benefits*. Elsevier. ISBN 978-1-78242-015-6. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpAFFBIQT3/advances-in-fermented/advances-in-fermented>
- [37] GALANAKIS, Charis M. 5.1.1.2 Berries and Their Processing By-Products. *Polyphenols - Properties, Recovery, and Applications*. Elsevier, 2018. ISBN 978-0-12-813572-3. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011PUEWN/polyphenols-properties/berries-their-processing>

- [38] DECKER, Eric A., Ryan J. ELIAS a D. Julian MCCLEMENTS. 12.1 Introduction. Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications, *Volume 2 - Management in Different Industry Sectors*. Woodhead Publishing. ISBN 978-1-84569-983-3. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt008HPHU1/oxidation-in-foods-beverages/oxidative-stability-introduction>
- [39] WATSON, Ronald Ross a Victor R. PREEDY. 3.10 Additive and Synergic Antioxidant Effects. *Bioactive Foods in Promoting Health - Fruits and Vegetables*. Elsevier, 2010. ISBN 978-0-12-374628-3. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00BKAYWB/bioactive-foods-in-promoting/additive-synergic-antioxidant>
- [40] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. In: . Štrasburk, 2008. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:CS:PDF>
- [41] KOCOUREK, Vladimír a Jana KOHOUTKOVÁ. Úvod do potravinářské legislativy: *Lekce 6: Podmínky používání přídatných látek a aromat, obohacování potravin*. [online]. In: . Praha, 2019, s. 48 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~kocourev/files/Leg\\_6\\_2019-aditiva.pdf](https://web.vscht.cz/~kocourev/files/Leg_6_2019-aditiva.pdf)
- [42] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1129/2011 ze dne 11. listopadu 2011, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 vytvořením seznamu potravinářských přídatných látek Unie. In: . Brusel, 2011.
- [43] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1149/2012 ze dne 4. prosince 2012, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008, pokud jde o používání výtažků z rozmarýnu (E 392) v náplních pro plněné sušené těstoviny. In: . Brusel, 2012.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

EDTA	ethylendiamintetraoctová kyselina a její soli
BHA	Butylhydroxyanisol
BTH	Butylhydroxytoluen
TBHQ	terciální butylhydrochinon
PG	propylgalát
THBP	2,4,5-trihydroxybutyrofenon
Ionox-100	di-terc-butyl-4-hydroxymethylfenol
DNA	deoxyribonukleová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
NADH	redukovaný nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	redukovaný nikotinamidadenindinukleotidfosfát
GSH	Glutathion
AA	kyselina askorbová
TocOH	Tokoferol
$\alpha$ -T	$\alpha$ -tokoferol
CoQ	koenzym Q
UV	ultrafialové záření
ROS	reaktivní formy kyslíku
RNS	reaktivní formy dusíku
RSS	reaktivní formy síry
LDL	lipoproteiny s nízkou hustotou
HAT	metody založené na přenosu atomů vodíku
SET	metody založené na přenosu elektronu
ORAC	metoda pro stanovení antioxidační kapacity (Oxygen radical absorbance capacity)

---

TRAP	metoda pro stanovení antioxidační kapacity (Total radical-trapping antioxidant parameter)
TOSCA	metoda pro stanovení antioxidační kapacity (Total oxyradical scavenging capacity assay)
TEAC	metoda pro stanovení antioxidační kapacity (Trolox equivalence antioxidant capacity),
FRAP	metoda pro stanovení antioxidační kapacity (Ferric ion reducing antioxidant power)
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
ABTS	kyselina 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová)
DMPD	<i>N,N</i> -dimethyl- <i>p</i> -fenylendiamin
CUPRAC	metoda pro stanovení antioxidační kapacity pomoc (Cupric reducing antioxidant capacity)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
TAA	celková antioxidační aktivita (Total Antioxidant Activity)
TAC	celková antioxidační kapacita (Total Antioxidant Capacity)
AOC	celková antioxidační kapacita
NEPR	Nařízení Evropského parlamentu a Rady
EU	Evropská unie

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1: Strukturní vzorce BHA a BHT .....	11
Obrázek 2: Kyselina askorbová .....	13
Obrázek 3: Reakce tokoferolů s volnými radikály .....	15
Obrázek 4: Vybrané terpeny .....	17
Obrázek 5: Lykopen .....	19
Obrázek 6: $\beta$ -karoten .....	19
Obrázek 7: Kyselina skořicová .....	21
Obrázek 8: Flavonoidy .....	24
Obrázek 9: Kurkumin (keto forma) .....	25

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Zdroje kyseliny askorbové (AA) ve 100 g čerstvé hmotnosti potravin .....	13
Tabulka 2: Obsah $\alpha$ -tokoferolu v potravinách [ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ] .....	15
Tabulka 3: TAC vyjádřena jako mg kyseliny gallové / 10g vzorku .....	39
Tabulka 4: Celkový obsah antioxidantů v potravinách .....	43
Tabulka 5: Obsah antioxidantů a celkové kapacity potravin při různých úpravách .....	43