

# **Charakteristika rostlin z čeledi hluchavkovité a analýza jejich antioxidačních vlastností**

Nikola Vlková

---

Bakalářská práce  
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: **Nikola Vlková**  
Osobní číslo: **T17678**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Charakteristika rostlin z čeledi hluchavkovité a analýza jejich antioxidačních vlastností**

### Zásady pro vypracování

#### I. Teoretická část

1. Charakteristika rostlin z čeledi hluchavkovité, jejich složení a vlastnosti.
2. Přehled metod využívaných pro stanovení antioxidačních vlastností.

#### II. Praktická část

1. Analýza antioxidačních vlastností rostlin z čeledi hluchavkovité spektrofotometricky.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin 3. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902-3912-9.
- [2] JANČA, J., ZENTRICH, J.A. Herbář léčivých rostlin. Praha: EMINENT, 1994. ISBN 80-85876-02-7.
- [3] CAPECKA, E., MARECZEK, A., LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. Food Chem. 2005, 93, 2, 223-226.
- [4] HOSSAIN, M.B., BARRY-RYAN, C., MARTIN-DIANA, A.B., BRUNTON, N.P. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. Food Chem. 2010, 123, 1, 85-91.
- [5] DANILA, A. O., GATEA, F., RADU, G.L., GARELLA, D. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs: an evaluation of the potential of 1000 plants. Chem. Nat. Comp. 2011, 47, 1, 22-26.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**  
Ústav analýzy a chemie 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 užít 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**

Teoretická část bakalářské práce je zaměřena na popis rostlin čeledi hluchavkovité (yzop lékařský, hluchavka bílá, srdečník obecný, saturejka zahradní, rozmarýn lékařský, šišák bajkalský), dále je uvedena charakteristika antioxidačního účinku a metod využívaných ke stanovení antioxidační aktivity. V experimentální části jsou zhodnoceny výsledky stanovení antioxidační aktivity vybraných rostlin metodou DPPH, IC50 a ABTS a polyfenolických látek s použitím Folin-Ciocalteuova činidla.

Klíčová slova: Rostliny čeledi hluchavkovité, antioxidační aktivita, DPPH, ABTS, polyfenoly

## **ABSTRACT**

The theoretical part of the thesis is focused on description of Lamiaceae plants (*Lamium album*, *Rosmarinus officinalis*, *Satureja hortensis*, *Leonurus cardiaca*, *Scutellaria baicalensis*, *Hyssopus officinalis*), also on characteristics of antioxidant effect and methods used to determine antioxidant activity. In the experimental part there are evaluated results of antioxidant activity of chosen plants using DPPH, IC50, and ABTS methods and polyphenols determination using Folin-Ciocalteu agent.

Keywords: Lamiaceae plants, antioxidant activity, DPPH, ABTS, polyphenols

Chtěla bych poděkovat vedoucí bakalářské práce Ing. Soni Škrovánkové Ph.D. za veškerou pomoc a za čas, který mi věnovala při vypracování mé bakalářské práce, a také laborantkám, které mi byly vždy po ruce.

Ráda bych také poděkovala své rodině a manželovi za neuvěřitelnou podporu po celou dobu studia.

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

# OBSAH

<b>OBSAH</b> .....	<b>7</b>
<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I.</b> .....	<b>10</b>
<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1 CHARAKTERISTIKA ROSTLIN Z ČELEDI HLUCHAVKOVITÉ</b> .....	<b>11</b>
1.1 NEJZNÁMĚJŠÍ ROSTLINY Z ČELEDI HLUCHAVKOVITÉ .....	11
1.1.1 Bukvice lékařská ( <i>Betonica officinalis</i> ) .....	11
1.1.2 Dobromysl obecná ( <i>Origanum vulgare</i> ) .....	11
1.1.3 Máta peprná ( <i>Mentha piperita</i> ) .....	12
1.1.4 Mateřídouška obecná ( <i>Thymus serpyllum</i> ) .....	12
1.1.5 Meduňka lékařská ( <i>Melissa officinalis</i> ) .....	12
1.1.6 Šalvěj lékařská ( <i>Salvia officinalis</i> ) .....	13
1.2 VYBRANÉ ANALYZOVANÉ ROSTLINY Z ČELEDI HLUCHAVKOVITÉ .....	13
1.2.1 Hluchavka bílá ( <i>Lamium album</i> ) .....	13
1.2.1.1 Složení .....	14
1.2.1.2 Biologické účinky .....	14
1.2.2 Rozmarýn lékařský ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) .....	15
1.2.2.1 Složení .....	15
1.2.2.2 Biologické účinky .....	16
1.2.3 Saturejka zahradní ( <i>Satureja hortensis</i> ) .....	16
1.2.3.1 Složení .....	17
1.2.3.2 Biologické účinky .....	17
1.2.4 Srdečník obecný ( <i>Leonurus cardiaca</i> ) .....	17
1.2.4.1 Složení .....	18
1.2.4.2 Biologické účinky .....	18
1.2.5 Šišák bajkalský ( <i>Scutellaria baicalensis</i> ) .....	19
1.2.5.1 Složení .....	19
1.2.5.2 Biologické účinky .....	19
1.2.6 Yzop lékařský ( <i>Hyssopus officinalis</i> ) .....	20
1.2.6.1 Složení .....	21
1.2.6.2 Biologické účinky .....	21
<b>2 ANTIOXIDANTY</b> .....	<b>22</b>
2.1 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	22
2.2 PŘEHLED METOD VYUŽÍVANÝCH PRO STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍCH VLASTNOSTÍ .....	23
2.2.1 Metoda používající DPPH .....	23
2.2.2 Metoda používající ABTS .....	24
2.2.3 Metoda stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem .....	25
<b>II.</b> .....	<b>26</b>
<b>PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>26</b>
<b>3 CÍL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE</b> .....	<b>27</b>
<b>4 MATERIÁL A PŘÍSTROJE</b> .....	<b>28</b>
4.1 VZORKY ROSTLIN .....	28
4.2 PŘÍSTROJE A POMŮCKY .....	28
4.3 CHEMIKÁLIE A ROZTOKY .....	28
<b>5 METODIKA STANOVENÍ</b> .....	<b>30</b>
5.1 PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ ROSTLIN .....	30
5.2 STANOVENÍ OBSAHU POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEUOVA ČINIDLA .....	30
5.2.1 Kalibrační křivka standardu kyseliny gallové .....	31
5.3 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH .....	31
5.3.1 Kalibrační křivka standardu kyseliny askorbové .....	33

5.3.2	<i>IC50 stanovení</i> .....	33
5.4	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS .....	34
5.4.1	<i>Kalibrační křivka troloxu</i> .....	34
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>36</b>
6.1	CELKOVÝ OBSAH POLYFENOLŮ BYLIN .....	36
6.2	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA BYLIN .....	39
6.2.1	<i>Antioxidační aktivita bylin stanovená metodou s DPPH</i> .....	39
6.2.1.1	Hodnoty IC50 vybraných bylin .....	42
6.2.2	<i>Antioxidační aktivita bylin stanovená metodou s ABTS</i> .....	44
6.3	KORELAČNÍ VZTAHY MEZI CELKOVÝM OBSAHEM POLYFENOLŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU .....	46
	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>48</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>49</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>56</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>57</b>
	<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>58</b>



## ÚVOD

Rostliny čeledi hluchavkovité jsou krytosemenné vyšší dvouděložné rostliny. Tato čeleď zahrnuje okolo 7800 druhů a až 245 rodů. Hluchavkovité rostliny zahrnují jak byliny, tak i dřeviny. Charakteristickým rysem hluchavkovitých rostlin je čtyřhranný stonek se vstřícnými listy a s květy shluklými v lichopřeslen.

Mezi typické obsahové látky hluchavkovitých bylin patří silice obsahující terpenoidní sloučeniny a glykosidy, hořčiny, třísloviny a flavonoidy. Obsahují také organické kyseliny jako kyselina kávová a rozmarýnová. Charakteristická je i přítomnost monoterpenoidů a seskviterpenoidů jako mentol, eukalyptol, linalool, tymol a další.

Hluchavkovité rostliny jsou bylinami široce využívanými nejen ke zlepšení chuti a celkové kvality potravin, které mají své místo i v lidovém léčitelství, zejména v tradiční čínské medicíně. Jsou také zdrojem mnoha chemických sloučenin, které mají pozitivní účinky pro zdraví a hrají roli i při uzdravování. Jejich silice jsou využívány nejen jako aromatické složky, ale jsou významné i pro kulinářské účely. Jsou pěstovány po celém světě i jako okrasné rostliny a v mnohých kulturách mají i mytologickou symboliku. Využívají se též v kosmetickém průmyslu jako přídavek při výrobě pleťových krémů ať už z hlediska vůně, zklidňujících či hojivých účinků. Kvůli svým antiseptickým, antimikrobiálním či mírně analgetickým účinkům jsou též rostliny využívány ve farmacii.

Významnou vlastností mnohých hluchavkovitých bylin je jejich antioxidační schopnost. Míra antioxidačních účinků se sice u mnohých druhů značně liší, celkově jsou ale považovány za dobrý zdroj antioxidačních látek. Antioxidanty jsou látky působící proti volným radikálům v těle, kdy nadbytek volných radikálů může v těle ovlivňovat výskyt mnoha onemocnění jako kardiovaskulární choroby či různé záněty. Mezi látky působící antioxidačně patří zejména polyfenolické sloučeniny.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 CHARAKTERISTIKA ROSTLIN Z ČELEDI HLUCHAVKOVITÉ

Rostliny čeledi *Lamiaceae* neboli hluchavkovité rostliny jsou jednoleté, dvouleté či vytrvalé byliny nebo polokeře, mohou být i keře či stromy. Lodyhy mohou být jednoduché nebo větvené, nejčastěji čtyřhranné s křížmostojným postavením listů. Listy jsou u většiny hluchavkovitých rostlin jednoduché, mohou být však i se členitými okraji. Listy jsou k lodyze připojeny pomocí řapíku nebo jsou přisedlé. Květy jsou shluknuty v lichopřesleny, u některých druhů hluchavkovitých rostlin mohou být květy jednotlivě ve vrcholíku. Květy jsou většinou souměrné a oboupohlavné či druhotně jednopohlavné, produkující nektar. Kalich hluchavkovitých rostlin je pravidelného trubkovitého až zvonkovitého tvaru s korunou srostlou převážně z pěti lístků. Plodem je především tvrdka, může být ale i peckovice či tobolka, to však bývá vzácně u mimoevropských druhů [1].

### 1.1 Nejznámější rostliny z čeledi hluchavkovité

K významným rostlinám čeledi hluchavkovité patří Bukvice lékařská, Dobromysl obecná, Máta peprná, Mateřídouška obecná, Meduňka lékařská a Šalvěj lékařská.

#### 1.1.1 Bukvice lékařská (*Betonica officinalis*)

Bukvice lékařská je vytrvalá rostlina až 80 cm vysoká s hustou karmínově červenou až růžovou korunou. Obvykle se využívá odvar z nati bukvice. Bukvice lékařská obsahuje zejména třísloviny, hořké látky, silice, betainy zejména stachydrin, betonicin a cholin. Třísloviny mají stahující účinky pro cévy, což se využívá při hojení kůže a sliznic. Odvar z bukvice působí příznivě na zanícené sliznice trávicího ústrojí. Rostlina má též antiseptické účinky, což se projevuje tvorbou filmu na sliznici, čímž se zabrání proniknutí toxinů do krve. Tato rostlina se využívá i při krvácivých průjmech, kdy obsahová látka stachydrin mírně zvyšuje srážlivost krve. Bukvice lékařská působí též sedativně při bolestech hlavy či při nespavosti. Využívá se i pro zevní použití při kožních infekcích a urychluje regeneraci kůže [2,3].

#### 1.1.2 Dobromysl obecná (*Origanum vulgare*)

Dobromysl obecná je vytrvalá bylina dorůstající výšky až 40 cm. Dobromysl obsahuje malé procento silice (asi do 0,5%), hořčiny a do 8 % třísloviny, flavonoidy. Silice obsahuje

směs mono- a seskviterpenických uhlovodíků a kyslíkatých látek. Mezi významné fenolické látky patří především tymol a karvakrol. Dále může obsahovat karyofylen, a-bisabolen, dipenten, p-cymol, terpineol a další terpenické látky. Jako léčivá rostlina se využívá čajový nálev z kvetoucí nati dobromysly, který zlepšuje střevní peristaltiku při trávení, napomáhá ke zklidnění trávicího ústrojí při zažívacích potížích. Má protizánětlivé účinky a využívá se zejména při zánětu průdušek, kašli a při průvodních potížích souvisejících s nachlazením. Má také desinfekční účinky a využívá se do posilujících koupelí proti kožním infekcím. Často se využívá v lidové medicíně ve formě mastí proti svědění a rýmě [4,5].

### 1.1.3 Máta peprná (*Mentha piperita*)

Máta peprná je vytrvalá bylina dorůstající výšky až 90 cm. Pro sběr a sušení se využívá nat' ale i listy máty peprné. Mezi významné obsahové látky máty patří terpenický alkohol mentol, který je až ze 70 % obsažen v silici. Dalšími významnými látkami jsou menton, což je stabilní monoterpen dodávající mátě její vůni a v rostlině je obsaženo až 31 %, v menším zastoupení látky mentofuran a metylacetát. K dalším složkám účinným ve farmakologii patří hořké složky, kyselina kofeinová, flavonoidy, polyfenoly, karoteny, tokoferoly, cholin a třísloviny. Máta a pepermintový olej se využívá při léčbě nevolností, při problémech se zažívacím ústrojím, při bolestech v krku, nachlazení a bolestech zubů [6,7,52].

### 1.1.4 Mateřídouška obecná (*Thymus serpyllum*)

Mateřídouška obecná je drobná vytrvalá bylina vysoká do 30 cm. Pro sběr se využívá nat' mateřídoušky obecné. Obsahuje až 0,6 % silice, v níž jsou obsaženy látky jako tymol, karvakrol, cymen, ale i řada dalších terpenů a seskviterpenů. Obsahuje i hořčinu jako serpyllin, a třísloviny a flavonoidy. Má silné antiseptické účinky zejména díky tymolu. Výluh z mateřídoušky působí proti průjmům a nadýmání, při zánětech horních cest dýchacích a silnému kašli. Využívá se též k posilujícím koupelím a při revmatismu [4,8].

### 1.1.5 Meduňka lékařská (*Melissa officinalis*)

Meduňka lékařská je vytrvalá bylina, vysoká až 1 m. Celá rostlina je jemně ochmýřena a má citronové aroma. Pro sběr se využívají listy i nat'. Čerstvé listy meduňky obsahují v řádech miligramů karotenů, a vitamin C. Dále také obsahuje malé procento silice (asi 0,25%), a třísloviny a vosky. Výluh z meduňky má uklidňující účinky, při křečích uvolňuje

svalstvo, zejména při křečích střev. Meduňkový líh a koupele působí při revmatických potížích. Má příznivé účinky při léčbě nachlazení a při chorobách žlučníku. Čajový výluh se využívá i při uklidnění při křečích v oblasti pánevní. Využívá se též v kosmetice, zejména při relaxačních koupelích [4,9].

### 1.1.6 Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*)

Šalvěj lékařská je víceletý polokeř dorůstající výšky 80 cm. Šalvěj má velmi silné, kořeněné aroma s nahořklou chutí. Pro sběr se využívá především nat'. Obsahuje až 2,5% silice, dále také hořčiny, vosky, trísloviny, saponiny, pryskyřice. Látky s antioxidačním účinkem obsažené v rostlině jsou karnosol, rosmanol a kyselina rozmarýnová. Má protizánětlivé a protiprůjmové účinky, potlačuje pocení a zlepšuje funkci žlučníku. Využívá se též při zánětech sliznice v dutině ústní a při bolestech zubů [4,10,52].

## 1.2 Vybrané analyzované rostliny z čeledi hluchavkovité

Pro bakalářskou práci bylo vybráno ze skupiny rostlin z čeledi hluchavkovité pro analýzu jejich antioxidačních vlastností 6 rostlin (Hluchavka bílá, Rozmarýn lékařský, Saturejka zahradní, Srdečník obecný, Šišák bajkalský, Yzop lékařský), které jsou níže více charakterizovány.

### 1.2.1 Hluchavka bílá (*Lamium album*)

Hluchavka bílá je vytrvalá bylina s přímou lodyhou, vysoká až 50 cm. Lodyha je hustě a krátce chlupatá s řapíkatými listy, které v horní části přecházejí v listeny. Na listech jsou viditelné žlázy. Květy vyrůstají v úžlabí horních listů a tvoří květní lichopřesleny. Květy jsou bílé a obojaké, kalichovitého tvaru. Kvete od května do srpna. Nitky tyčinek jsou chlupaté a prašníky mají modročernou až černou barvu. Plody jsou trojhranné tvrdky schované na dně kalicha. Roste na půdách bohatých na dusík. Je možné ji nalézt na rumišťích, v křovinách, v příkopech cest, v kompostech a zanedbávaných zahradách, od nížin až do hor. Rozšířena je téměř v celé Evropě, v mírné oblasti severní Asie a byla zavlečena i do Severní Ameriky [11,12,52].



Obrázek 1 Hluchavka bílá [56]

### **1.2.1.1 Složení**

Mezi obsahové látky patří stopy silice, katechinové třísloviny, slizové látky a flavonoidy, a kyselina kávová, která působí bakteriocidně. Obsahuje deriváty kyseliny cinové, alkaloidy, fenypropanoidy a jejich glykosidy, kvercetin. Dalšími látkami je cholin, saponin, a betain, což je dusíkatá organická sloučenina, která se rozkládá v žaludku a napomáhá uvolňování kyseliny chlorovodíkové v žaludku. PEREIRA a kol [13] určili jako hlavní složky hluchavky verbaskosid a izoverbaskosid, které tvořili asi 55 % celkových polyfenolů, látek s antioxidačním účinkem ve vzorku, a dále deriváty glukosyl izoskutelareinu [11,14].

### **1.2.1.2 Biologické účinky**

Odvar z hluchavky bílé se využívá při nachlazení, kdy obsahové látky saponiny usnadňují uvolňování hlenu při vykašlávání. Má také protizánětlivé a močopudné účinky. Čajový výluh se využívá proti nespavosti a má příznivý vliv na střevní činnost. Sedací koupel z rostliny napomáhá při křečích, bolestech a gynekologických obtížích, napomáhá při léčbě vředů a křečových žil. Pro zevní použití se využívají obklady působící při ekzémech, hemoroidech a zánětlivých a mokvajících ranách. Obsahové látky mají také antioxidační a antimikrobní účinky, regulují metabolickou aktivitu, mají antivirové a cytoprotektivní účinky. Fenolické látky obsažené v hluchavce mají značný biologický význam, a to zejména jako antioxidanty. Díky těmto látkám zlepšují účinky inhibitorů nádorů a mají

pozitivní vliv na kardiovaskulární systém. Dalším pozitivem je riziko snížení rakoviny a ochrana proti buněčnému poškození způsobeným oxidativním stresem [14,15,16].

### 1.2.2 Rozmarýn lékařský (*Rosmarinus officinalis*)

Rozmarýn lékařský je aromatický keř rostoucí převážně v houštinách v oblasti Středozemního moře. Listy jsou tuhé, na okraji podvinuté, stříbřitě šedozelené barvy. Květy jsou uspořádány v lichopřeslenech a jsou světle modré barvy. Plodem jsou tvrdky. Sběr se provádí v období květu či odkvětu a sbírají se nat' s listy. Roste převážně v suché, skalnaté půdě na prosluněných stráních [17].



Obrázek 2 Rozmarýn lékařský [57]

Tato rostlina se ve fytoterapii využívá ve formách jako základní roztok, silice a odvar nebo jako extrakt. Nejčastěji je využíván lihoglycerínový macerát z rozmarýnu, který se připravuje z mladých listových výhonků [18]. Rozmarýn je využíván nejen ve formě čaje, ale je možno jej použít i při vaření různých pokrmů, především při grilování masa, či jako přísadu do omáček [19].

#### 1.2.2.1 Složení

Rozmarýn obsahuje řadu biologicky aktivních látek jako jsou flavonoidy jako diosmetin, diosmin, luteolin, hispudin, nepetin a další. Mezi další obsahové látky patří také fenolické látky - kyselina kávová, chlorogenová, neochlorogenová, labiatová a rozmarýnová, dále také diterpeny jako jsou karnosol a karnosolová kyselina, rosmanol a izorosmanol, triterpeny např.  $\alpha$ -amyrin a  $\beta$ -amyrin, kyselina ursolová a další. V neposlední řadě

obsahuje také třísloviny. Dle obsahu určitých látek rozmarýnové silice se řadí tyto silice do různých typů [20].

### 1.2.2.2 *Biologické účinky*

Rozmarýn má vliv na nervový systém a antidepresivní a anxiolytický účinek, kdy odstraňuje pocit úzkosti a psychické napětí. Rozmarýn a jeho obsahové látky chrání nervové buňky před poškozením zapříčiněným toxickými látkami, a také před poškozením zapříčiněným nedostatkem kyslíku. Obsahové látky rozmarýnu, zejména kyselina rozmarýnová a některé složky silice inhibují acetylcholinesterázu v mozku, která působí negativně na fungování mozku. Kromě působení na nervový systém, působí rozmarýn protizánětlivě, analgeticky, antimikrobiálně, antiparaziticky. Využívá se také k léčbě zažívacích potíží, revmatismu a kožních onemocnění. Antioxidační aktivita rozmarýnu souvisí především se dvěma fenolickými diterpeny karnosolem a kyselinou karnosovou. Stimuluje játra a zrychluje odstraňování toxinů. Má také hydratační účinek a využívá se při výrobě krémů a mastí [10,19,20].

### 1.2.3 *Saturejka zahradní (Satureja hortensis)*

Saturejka zahradní je jednoletá aromatická bylina původem ze Středomoří, vysoká až 60 cm. Pro sběr se využívá kvetoucí nať, která se sklízí od července do srpna. Lodyha je přímá, zelená až nařiaovělá, hustě větvená. Listy jsou zašpičatělé a kopinaté, přisedlé k dřevnatějící lodyze. Květy kvetou v lichopřeslenech a jsou světlefialové, růžové nebo bílé barvy s trojlaločnou spodní částí a delším horním pyskem. Saturejka vyžaduje slunné teplé místo s kyprou půdou [11,21].





Obrázek 3 Saturejka zahradní [58]

### 1.2.3.1 Složení

Využívá se především nať saturejky, která je bohatá na silici obsahující karvakrol, tujon, *p*-cymol a obsahuje i třísloviny. Čerstvá nať obsahuje přibližně 28 % sušiny, v sušině je přítomno přibližně 5,6 % bílkovin, 1,6 % tuků, 9 % bezdusíkatých látek, 8,6 % vlákniny a 2 % popelovin. Rostlina obsahuje látky především ze skupiny terpenoidů, fenolů, polyfenolů a flavonoidů. Dále také pryskyřice, hořčiny a minerální látky [11,22].

### 1.2.3.2 Biologické účinky

Saturejka zahradní je využívána jako diuretikum na podporu zažívání. Díky svým antiseptickým účinkům napomáhá obnovit střevní mikroflóru a překonat bakteriální infekci. Silice saturejky zahradní mají významné pesticidní účinky, zejména insekticidní, fungicidní a baktericidní. Tyto účinky jsou pravděpodobně způsobeny karvakrolem a  $\gamma$ -terpinenem. Karvakrol je jednoduchý fenol, který se využívá i při léčbě kožních onemocnění či proti nadýmání. Monoterpen  $\gamma$ -terpinen je obsažený v mnohých aromatických rostlinách. Je využíván nejen jako antioxidant, ale i při léčbě nachlazení a žaludečních potíží. V lidové medicíně se využívá na otok při bodnutí hmyzem a či jako mast na hojení ran. Mezi významné biologické účinky patří také antioxidační aktivita, která je dána především přítomností fenolických sloučenin, především přítomností jejich difenolů, oxidoredukčních látek, vodíkových a kyslíkových sloučenin apod. Antioxidační účinek rostlinných fenolů v této rostlině byl studován v souvislosti s prevencí kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny a s věkem související degenerativní poruchy mozku [19,22,23,52].

### 1.2.4 Srdečník obecný (*Leonurus cardiaca*)

Srdečník je vytrvalá evropská bylina vysoká až 150 cm. Má bohatě větvenou chlupatou lodyhu s řapíkatými, dlanitými trojlaločnými listy. Květy kvetou v lichopřeslenech po až 10 květech. Květy jsou přisedlé, fialové až růžové, v dolní části s purpurovým odstínem. Kvetou od června do září. Roste v rumišťích, v příkopech podél cest, na skládkách a v mezích. Hojně se vyskytuje v teplejších oblastech po celé Evropě kromě severních oblastí, druhotně roste i v Severní Americe. Sbírá se především kvetoucí nať [11,24].



Obrázek 4 Srdečník obecný [59]

#### **1.2.4.1 Složení**

Srdečník obecný obsahuje hořčinu leonurin, a flavonoidní a iridoidní glykosidy jako saponin, rutin, hyperozid, kvercetin, a třísloviny, i silici. Dále také obsahuje labdanové diterpeny, některé organické kyseliny (citrónovou, jablečnou, mléčnou, vinnou) a křemičitany [11,24,25].

#### **1.2.4.2 Biologické účinky**

Přípravky ze srdečníku obecného mají kardiotonický, hypotonický, sedativní a diuretický účinek. Kardiotonika jsou kardiostimulační léčiva, která zvyšují či snižují srdeční frekvence. Hypotonikum působí jako látka snižující krevní tlak. Diuretika působí na ledviny a způsobují zvýšení vylučování vody a elektrolytů v moči. V tinktuře z nati srdečníku převažuje látka rutin, která nejvíce ovlivňuje celkovou antioxidační aktivitu. Antioxidační účinek srdečníku spočívá ve schopnosti inhibovat radikály a reaktivní formy kyslíku a dusíku. Působí sedativně při nespavosti či úzkosti. Využívá se i při menopauze na snížení klimakterických potíží (při návalech horka a pocení). Odvar lze využít k nápomoci vyvolání menstruace, kdy látka leunorin vyvolává děložní stahy. Odvar není tedy vhodný pro těhotné ženy, jelikož by leunorin mohl vyvolat potrat. Šišák obsahuje polyfenolické látky, které působí antioxidačně, avšak studie prokázaly slabou antioxidační aktivitu této byliny [24,25,26].

### 1.2.5 Šišák bajkalský (*Scutellaria baicalensis*)

Šišák bajkalský je vytrvalá bylina dosahující výšky 30 až 60 cm. Má bohatě větvenou čtyřhrannou purpurově začervenalou lodyhu. Květy jsou modré uspořádané do jednostranných hroznů. Tuhé a křížmostojné listy jsou jednoduché a kopinaté. Kvete obvykle koncem léta a na podzim. Roste v lesostepních oblastech východního Zabajkalí, v severní Koreji, Číně, Japonsku a severovýchodním Mongolsku, ale i v ČR. Nachází se na suchých stanovištích s přímým sluncem či polostínem v nadmořské výšce do 2000 m [27].



Obrázek 5 Šišák bajkalský [60]

#### 1.2.5.1 Složení

Mezi hlavní obsahové látky patří flavonoidy. Ty se nacházejí hlavně ve formě glykosidů. Obsah flavonoidů kolísá s ročním obdobím i s místem pěstění. V šišáku bajkalském se nejvíce nachází flavonoid baicalin (5,6,7-trihydroxyflavon-7-O- $\beta$ -glukuronid). Dalšími flavonoidy a izoflavonoidy jsou oroxylin A, skullkapflavon I a II, neobaikalein, dihydrobaikalein a další. Glykosidy jako wogonosid a skutellarin jsou významné zejména pro podporu antioxidační aktivity. Autoři GAO a kol. [43] určili za hlavní složky flavonoidů šišáku s významným antioxidačním účinkem kvercetin, luteolin a katechin [27].

#### 1.2.5.2 Biologické účinky

Mezi hlavní účinky výluhu z kořene šišáku patří antibakteriální, protivirový, protizánětlivý, antialergický a sedativní účinek. Nať šišáku má antioxidační účinky, kdy se jedná o vychytávání volných radikálů v těle. Jde o složky schopné v těle poškozovat bílkoviny, nukleové kyseliny a lipidy. Působí jako iniciátoři peroxidace lipidů, což způsobuje narušení buněčných membrán a organel. Při laboratorních testech byla zkoušena aktivita baicalinu a baikaleinu, látek vyskytujících se v šišáku, proti hydroxylovému, alkylovému a DPPH radikálu. Baikalein a baicalin vychytávaly všechny volné radikály.

Zjistilo se, že ochranný efekt u buněk je způsoben nejen antioxidační aktivitou (vychytáváním volných radikálů v těle), ale pravděpodobně i interakcí baikalinu s mitochondriální NADH dehydrogenázou [27].

### 1.2.6 Yzop lékařský (*Hyssopus officinalis*)

Yzop lékařský je polokeř dorůstající 20 až 60 cm. Sbírá se především kvetoucí nat' v rozkvětu. Sběr lze provádět až 3x za rok. Yzop tvoří čtyřhranná větvená lodyha s přisedlými kopinatými listy, které jsou vstřícné a téměř přisedlé. Lichopřesleny jsou tvořeny až 7 květy, které jsou zbarveny do modré až fialové barvy. Tyčinky vyčnívají z koruny s ještě delší čnělkou. Plodem jsou drobné tmavohnědé tvrdky. Kvetे v období od června do srpna. V potravinářství se nejčastěji využívá nat'. Pěstuje se v chudých hlinitopísčitých až písčitých půdách, na skalnatých stráních, rumišťích a lomech ve Středozeří [28,29].



Obrázek 6 Yzop lékařský [61]



Obrázek 7 Yzop lékařský - květ [61]

### ***1.2.6.1 Složení***

Yzop lékařský obsahuje až 1 % silice, která obsahuje především pinen, pinokamfon, isopinokamfon, limonen a sabinen. Dále obsahuje fenolické látky jako kyselina rozmarýnová a flavonoidy. V silici je přítomen i flavonový glykosid hesperidin. Také obsahuje diterpeny a triterpeny jako marrubiin a oleanovou kyselinu, a třísloviny s malým množstvím pryskyřice [29,30].

### ***1.2.6.2 Biologické účinky***

Yzop lékařský je využíván především pro léčbu chorob dýchacího ústrojí při onemocnění horních cest dýchacích, při zápalu průdušek, černém kašli nebo astmatu, dále se také využívá při onemocnění močových cest či žlučníku. Je využíván jako léčivá bylina s antiseptickými, protivirovými a sedativními účinky. Yzopové oleje napomáhají společně s tinkturami proti revmatickým bolestem. Výtažek z yzopu lékařského ulevuje při zánětu v dutině ústní a napomáhá při léčbě infekcí dásní a zubů. Louhy z listů yzopu napomáhají při zažívacích potížích a při zánětu sliznic. Výluh podávaný za studena zabraňuje pocení zejména při klimakterických potížích. Výtažek yzopu je bohatým zdrojem antioxidantů, zejména polyfenolů, redukujících v těle volné radikály [19,29,31].

## 2 ANTIOXIDANTY

Mnoho lidských nemocí je negativně ovlivněno působením volných radikálů v těle. Lidské tělo dokáže přirozeně vycytávat volné radikály v těle, avšak není mnohdy schopno je účinně odbourat v tak velkém množství, které přijímáme nyní z různých zdrojů. Je dokázáno, že příjem antioxidantů v potravě účinně napomáhá k ochraně lidského organismu proti volným radikálům a mnoho studií dokazuje souvislost mezi antioxidační aktivitou látek přítomných v určité potravě a prevencí vůči chorobám jako jsou kardiovaskulární choroby či karcinogeneze [32].

Hodnocení antioxidačních vlastností je proto důležitým ukazatelem vhodnosti potravin pro lidské zdraví.

Klima, odrůda, složení půdy při jejich pěstování, ale i typ rozpouštědla využitého při jejich extrakci ovlivňuje vlastnosti extraktů rostlin, a to i ty antioxidační. Byliny se často využívají čerstvé nebo i sušené. A enzymatické procesy při sušení mohou také vést ke změnám ve složení fotochemikálií, což může ovlivňovat antioxidační účinek. Tak u máty peprné může mít sušení za následek zvýšení obsahu fenolických látek, kdežto u meduňky sušení nemusí nijak výrazně ovlivnit obsah těchto látek. Sušení u některých druhů bylin také snižuje obsah kyseliny askorbové až o desetinásobek [33,34].

### 2.1 Stanovení antioxidační aktivity

Mezi volné radikály působící především v organismu jsou reaktivní kyslíkové radikály a dusíkové radikály. Tyto dva typy radikálů působí negativně v těle především na funkci sloučenin jako jsou lipidy, bílkoviny a nukleové kyseliny, kdy dochází k pozměňování struktur těchto molekul. Toto pozměnění struktur má za důsledek změny buněčných struktur, a to vede k poškození celých tkání, orgánů, a tudíž i k nesprávné funkci celého organismu. Organismus není schopen samovolně eliminovat volné radikály, tudíž je nutno předcházet jejich vzniku. Možností ochrany je konzumovat antioxidační látky v rostlinné potravě. Jde o potraviny obsahující vitaminy C a E, ale také karotenoidy. Dalšími významnými látkami majícími antioxidační schopnosti jsou polyfenolické sloučeniny jako flavonoidy nebo katechiny, ale i jiné fenolické sloučeniny. Jako zdroj těchto látek se může využít ovoce, zelenina, ale i léčivé a aromatické rostliny, byliny, jejich extrakty [35,53].

Antioxidační aktivitu je možno charakterizovat jako schopnost eliminovat volné radikály v organismu, které působí převážně negativně. Rostlinné složky jsou v organismu zpracovávány metabolickými drahami zejména v trávicím traktu, kde dochází k různým změnám a úpravám. Antioxidační účinek je tak ovlivněn i různou mírou vstřebávání látek.

Metody využívané ke stanovení antioxidační aktivity je možno rozdělit na chemické a fyzikální. U metod chemických se využívá určitých činidel, které poskytují barevné produkty s volnými radikály, kdy přítomné antioxidanty naopak brání vzniku barevné změny. Intenzita barevné změny se měří nejčastěji pomocí spektrofotometrie a rozdíl absorbancí kontrolního vzorku a měřeného vzorku pak udává obsah látek působících antioxidačně. Při hodnocení je však důležité vědět, že se ve vzorku mohou kromě antioxidantů nacházet i látky reaktivní způsobující oxidační změny. Fyzikální metody spočívají ve změně fyzikálních vlastností, které doprovází chemickou reakci [35,53,54].

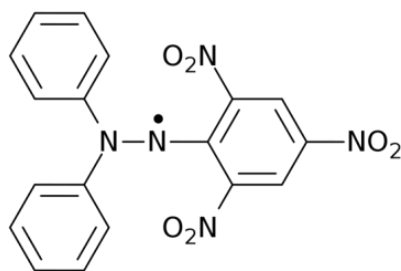
## 2.2 Přehled metod využívaných pro stanovení antioxidačních vlastností

V rostlinách závisí celková antioxidační aktivita nejen na obsahu a složení fenolických sloučenin, ale také na obsahu dalších přítomných antioxidantů. Metody spočívají ve schopnosti daného vzorku vycytávat volné radikály. Tyto radikály mohou být směsí vytvářeny či do ní jsou přidávány. Z chemického hlediska se může jednat o kyslíkové radikály například hydroxyl nebo peroxy, nebo syntetické stabilní radikály jako jsou například DPPH či kation-radikál  $ABTS^+$  [36,37,51].

Při stanovení polyfenolických látek se využívají metody stanovení jednotlivých polyfenolických látek či se stanovují skupiny látek se společnými vlastnostmi jako jsou flavonoidy. Jednou ze základních metod stanovení polyfenolů je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Dále je možno využít i papírovou chromatografii či chromatografii na tenké vrstvě (TLC), nebo také kolorimetrii [38,51].

### 2.2.1 Metoda používající DPPH

Tato metoda je jednou ze základních a spočívá v reakci testované antioxidační látky s činidlem 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazylem, což je stabilní volný radikál.

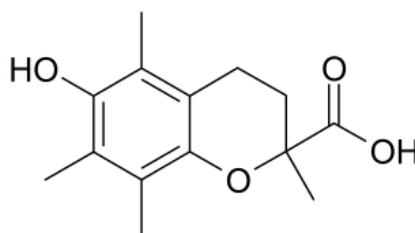


Obrázek 8 DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) [62]

Díky této struktuře má DPPH možnost přijímat do své struktury atom vodíku. Při reakci dochází k redukci radikálu a vzniká DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Tato reakce je nejčastěji sledována pomocí spektrofotometrického stanovení při vlnové délce 517 nm. Sleduje se pokles absorbance. U výrazně barevných vzorků je výhodnější využití metody detekce pomocí HPLC, u které nedochází k zabarvení směsi a při které se hodnotí pík radikálu DPPH [35,39].

### 2.2.2 Metoda používající ABTS

Metoda používající činidlo ABTS je také jednou ze základních druhů metod využívajících pro stanovení antioxidační aktivity. Při testování se využívá schopnosti vzorku eliminovat kation-radikál  $ABTS^+$  (2,2-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)). Následně se radikálová aktivita vzorku vyjadřuje v ekvivalentech syntetická látka Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina).

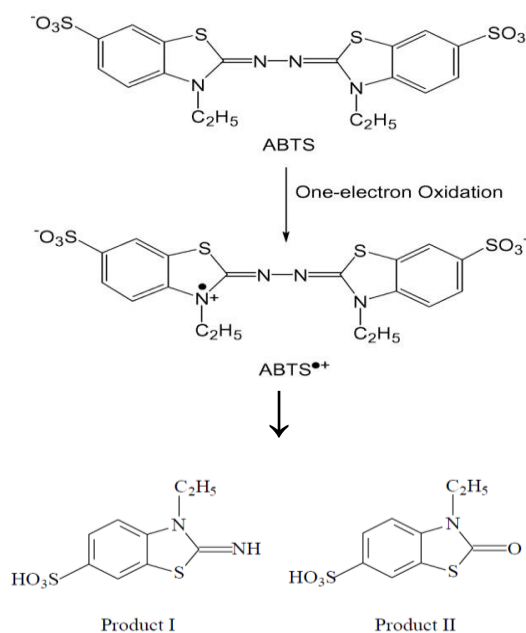


Obrázek 9 Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina)

Zhášení radikálu  $ABTS^+$  antioxidačními látkami, které jsou donory vodíku, dochází ke změnám absorpčního spektra  $ABTS^+$  měřeného spektrofotometricky nejčastěji při vlnové délce 734 nm. V reakční směsi se kation radikál může vytvářet oxidací látkou ABTS. Při experimentálním měření je možno využít přidání antioxidantu do reakční směsi, ve které již byl vytvořen radikál  $ABTS^+$  či využít postupu, kdy je antioxidant v reakční směsi



přítomen při tvorbě radikálu  $ABTS^+$ . Nejčastěji je však využit postup, kdy je antioxidant přidáván do směsi, kde je radikál  $ABTS^+$  již vytvořen pomocí peroxidázy. Metoda stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí ABTS je jednoduchá, rychlá a dá se uplatnit při měření antioxidační aktivity jak u látek různého původu, tak u směsných vzorků [37].



Obrázek 10 Generování radikálu ABTS a vznik degeneračních produktů působení polyfenolů

### 2.2.3 Metoda stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem

Pro stanovení obsahu polyfenolů, které jsou spoluzodpovědné za antioxidační účinek, se využívá metoda za použití Folin-Ciocalteuova činidla. Tato metoda je založena na oxidaci redukovaných molekul působením kyseliny fosfowolframové a kyseliny fosfomolybdenové, která jsou silná anorganická oxidační činidla. Při reakci dochází k modrému zbarvení vzorku, což je způsobeno oxidačně-redukční reakcí. Stanovení koncentrace fenolických látek se následně provádí spektrofotometricky při vlnové délce 765 nm. U vzorků se využívá vyjádření radikálové aktivity jako celkového obsahu a z důvodu obsahu mnoha různých fenolických sloučenin se vztahuje k jedné sloučenině, jako ekvivalent kyseliny gallové [36,37,55].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo charakterizovat vybrané byliny čeledi hluchavkovité (Hluchavka bílá, Rozmarýn lékařský, Saturejka zahradní, Srdečník obecný, Šišák bajkalský, Yzop lékařský) a u těchto rostlin stanovit obsah polyfenolických látek spektrofotometrickou metodou s využitím Folin-Ciocalteuova činidla a také stanovit antioxidační aktivitu daných rostlin pomocí spektrometrické metody s DPPH a ABTS činidly za různých podmínek.

## 4 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

### 4.1 Vzorby rostlin

Při zpracování praktické části byly využity sušené byliny z čeledi hluchavkovité zakoupené v obchodní síti od stejného výrobce z ČR (Tab. 1).

Tabulka 1 Analyzované vzorky bylin

	Vzorek byliny	Část použité byliny	Datum spotřeby
1.	Hluchavka bílá	nať	Únor 2021
2.	Rozmarýn lékařský	list, nať	Listopad 2020
3.	Saturejka zahradní	nať	Prosinec 2020
4.	Srdečník obecný	nať	Říjen 2020
5.	Šišák bajkalský	nať	Únor 2021
6.	Yzop lékařský	nať	Duben 2020

### 4.2 Přístroje a pomůcky

- analytické váhy Voyager PRO VP214C (Ohaus, Pine Brook USA)
- laboratorní sklo
- teploměr
- třepačka Vortex
- spektrofotometr (PerkinElmer, Lambda 25, Velká Británie)

### 4.3 Chemikálie a roztoky

- destilovaná voda
- etanol p.a. (Penta, ČR)
- DPPH (Sigma Aldrich, Francie)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Penta, ČR)

- acetátový pufr o pH=5,5
- acetátový pufr o pH=4,3
- uhličitan sodný (Lukeš, ČR)
- ABTS (Sigma Aldrich, Francie)
- peroxidisíran draselný (Lukeš, ČR)

## 5 METODIKA STANOVENÍ

### 5.1 Příprava extraktů rostlin

Příprava extraktů spočívala v navážení 1 g vzorku sušených rostlin, bylin čeledi hluchavkovité (Hluchavka bílá, Rozmarýn lékařský, Saturejka zahradní, Srdečník obecný, Šišák bajkalský, Yzop lékařský) s přesností na 0,0001 g. Následně byl vzorek zalit 50 ml demineralizované vody o teplotě 100 °C, další o teplotě 80 °C a také 70 °C a ponechán louhovat 10 min s občasným promícháním. Poté byl roztok filtrován přes jemné sítko a převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn demineralizovanou vodou po rysku. U většiny bylin bylo před samotným měřením dle potřeby nutné ředění.

Připravené extrakty z rostlin byly využívány pro stanovení obsahu polyfenolů i antioxidační aktivity metodou s DPPH, IC50 a ABTS.

### 5.2 Stanovení obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Ke stanovení obsahu polyfenolů námi modifikovanou metodou pomocí Folin-Ciocalteuova činidla [40] byl připraven roztok vzorku byliny a slepý vzorek v následujícím složení:

Vzorek:

- 2 ml 10 % roztoku Folin-Ciocalteuova činidla
- 0,2 ml extraktu byliny

Slepý vzorek:

- 2 ml 10 % roztoku Folin-Ciocalteuova činidla
- 0,2 ml demineralizované vody

Takto připravené směsi v uzavřených zkumavkách byly důkladně promíchány na vortexu a ponechány ve tmě při laboratorní teplotě 5 minut. Následně byl přidán do obou směrů 10% - ní roztok uhličitanu sodného (2 ml). Směs byla opět promíchána a ponechána ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 15 minut. V průběhu reakce byla směs několikrát promíchána.

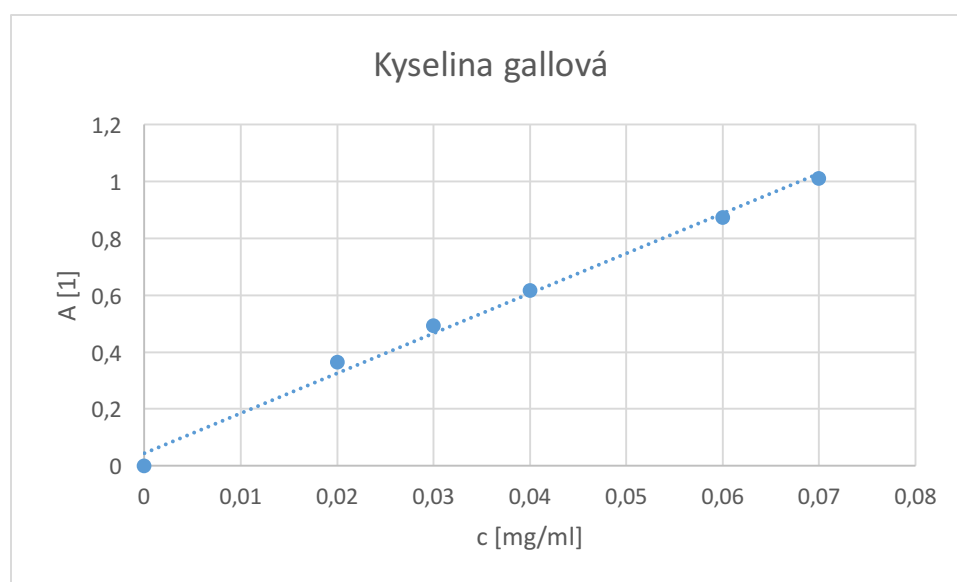
Po uplynutí reakční doby byla absorbance vzorků měřena na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm.

Celkový obsah polyfenolů ve vzorcích byl přepočítán pomocí kalibrační křivky na standard kyseliny gallové a převeden na původní hmotnost a vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v miligramech na gram vzorku.

### 5.2.1 Kalibrační křivka standardu kyseliny gallové

Pro sestavení kalibrační křivky kyseliny gallové byly použity koncentrace - 0,07; 0,06; 0,04; 0,03; 0,02 mg/ml.

Kalibrační křivka standardu kyseliny gallové byla sestavena z hodnot změřené absorbance v závislosti na koncentraci kalibračního roztoku kyseliny gallové.



Obrázek 11 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Rovnice lineární regrese kalibrační přímky kyseliny gallové:

$$y = 14,044 \cdot x + 0,0452$$

$y$  - absorbance [1]

$x$  - koncentrace kyseliny gallové  $c$  [mg/ml]

Hodnota  $R^2 = 0,9927$

### 5.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Ke stanovení antioxidační aktivity námi modifikovanou metodou s DPPH činidlem [41] byl připraven roztok vzorku bylin, odpovídající kontrolní pokus a slepý pokus ve složení:

Vzorek:

- 3,8 ml roztoku DPPH
- 2 ml acetátového pufru o pH=5,5
- 0,2 ml extraktu bylin

Slepý vzorek:

- 3,8 ml etanolu
- 2 ml acetátového pufru o pH=5,5
- 0,2 ml vzorku

Kontrolní vzorek:

- 3,8 ml roztoku DPPH
- 2 ml acetátového pufru o pH
- 0,2 ml demineralizované vody

Roztoky v uzavřených zkumavkách byly důkladně promíchány na vortexu a byly ponechány reagovat ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 1 h. Průběžně byly zkumavky promíchávány. Po 1 hodinové reakci bylo provedeno spektrofotometrické měření vzorku a odpovídajícího kontrolního vzorku při vlnové délce 517 nm.

Získané hodnoty absorbance vzorku a kontrolního vzorku byly dále použity k výpočtu inaktivace I.

Hodnota inaktivace I [%] byla vypočtena ze vztahu (1):

$$I = \frac{K-A}{K} \cdot 100 \quad (1)$$

K - absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 517 nm

A - absorbance extraktu jednotlivých vzorků při vlnové délce 517 nm

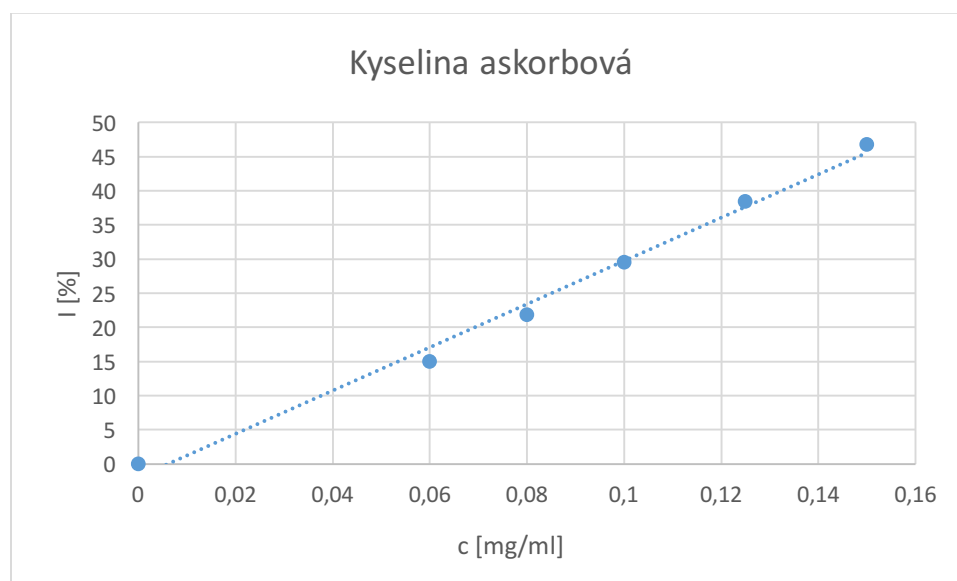
Z hodnot inaktivace se vypočetla antioxidační aktivita (AA) vzorků pomocí kalibrační křivky na standard kyseliny askorbové, a byla převedena na původní hmotnost a vyjádřena jako ekvivalent kyseliny askorbové v miligramech na gram vzorku.



### 5.3.1 Kalibrační křivka standardu kyseliny askorbové

Pro stanovení kalibrační křivky byly použity koncentrace kyseliny askorbové v hodnotách 0,15; 0,125; 0,1; 0,08 0,06 mg/ml.

Kalibrační křivka kyseliny askorbové byla sestavena z vypočtených hodnot inaktivace I [%] v závislosti na koncentraci kalibračního roztoku kyseliny askorbové. Hodnoty inaktivace byly spočteny ze změřených absorbancí z rovnice pro výpočet inaktivace (1) (kap. 5.3).



Obrázek 12 Kalibrační křivka kyseliny askorbové

Rovnice lineární regrese z kalibrační přímky kyseliny askorbové:

$$y = 316,35 \cdot x - 1,9199$$

y - hodnota inaktivace [%]

x - koncentrace kyseliny askorbové [mg/ml]

Hodnota  $R^2 = 0,9911$

### 5.3.2 IC50 stanovení

Hodnota IC50 vyjadřuje koncentraci roztoku, která je nezbytná pro inhibici 50 % volných radikálů DPPH. V rozmezí koncentrací bylinných extraktů 4-10 mg/ml bylo připraveno 4 nebo 5 zředěných roztoků u tří vybraných bylin (Hluchavka bílá, Srdečník obecný, Šišák bajkalský). Reakční směsi s činidlem DPPH byly připraveny stejným způsobem jako u stanovení AA (kap. 5.3). Hodnoty zjištěné inaktivace pro dané koncentrace použitého

extraktu bylin byly graficky zobrazeny a výsledné hodnoty koncentrací IC<sub>50</sub> byly následně vypočítány pomocí lineární regrese pro I = 50 %.

#### 5.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Ke stanovení antioxidační aktivity námi modifikovanou metodou s ABTS [42] byl připraven roztok vzorku a slepý pokus v následujícím složení:

Reakční směs:

- peroxodisíran draselný (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) (0,06 M)
- roztok ABTS (3,5 mM)
- octanový pufr o pH 4,3

Vzorek:

- 4 ml reakční směsi
- 50 µl vzorku

Slepý vzorek:

- octanový pufr o pH 4,3

Připravené roztoky vzorků a slepého vzorku v uzavřených zkumavkách byly důkladně promíchány na vortexu a ponechány reagovat ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 30 minut. Průběžně byly zkumavky promíchávány. Po půlhodinové reakci bylo provedeno spektrofotometrické měření vzorku při vlnové délce 734 nm.

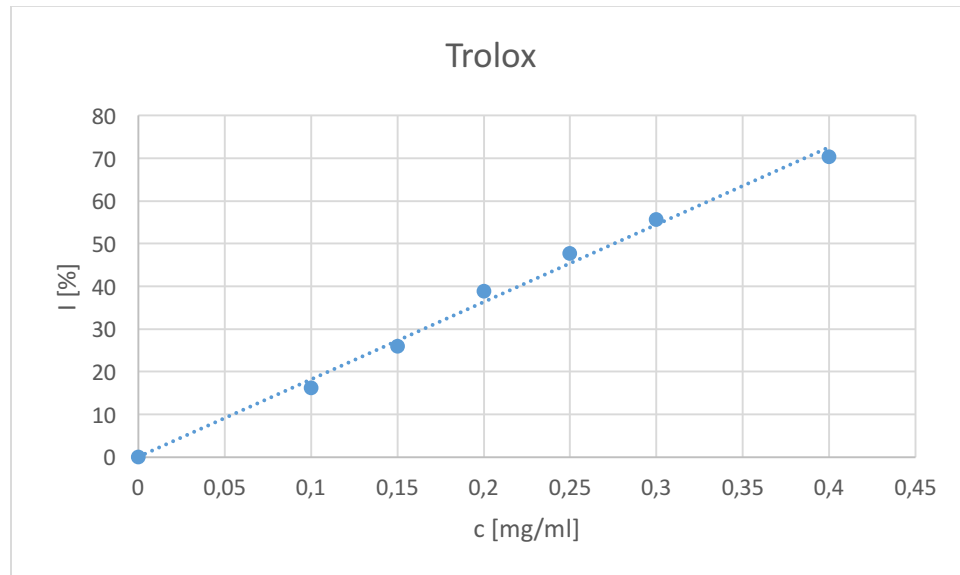
Získané hodnoty absorbance vzorků byly dále použity k výpočtu inaktivace pomocí rovnice pro výpočet inaktivace (1) uveden v kap. 5.3.

Z hodnot inaktivace se vypočetla antioxidační aktivita (AA) vzorků pomocí kalibrační křivky na standard troloxu, která byla převedena na původní hmotnost a vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

##### 5.4.1 Kalibrační křivka troloxu

Pro stanovení kalibrační křivky byly použity koncentrace troloxu v hodnotách 0,4; 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1 mg/ml.

Kalibrační křivka troloxu byla sestavena z vypočtených hodnot inaktivace [%] v závislosti na koncentraci kalibračního roztoku troloxu. Hodnoty inaktivace byly spočteny z úbytku absorbance z rovnice pro výpočet inaktivace (1) (kap. 5.3).



Obrázek 13 Kalibrační křivka troloxu

Rovnice lineární regrese kalibrační přímky troloxu:

$$y = 181,66 \cdot x + 0,0153$$

y - hodnota inaktivace I [%]

x - koncentrace troloxu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9932$

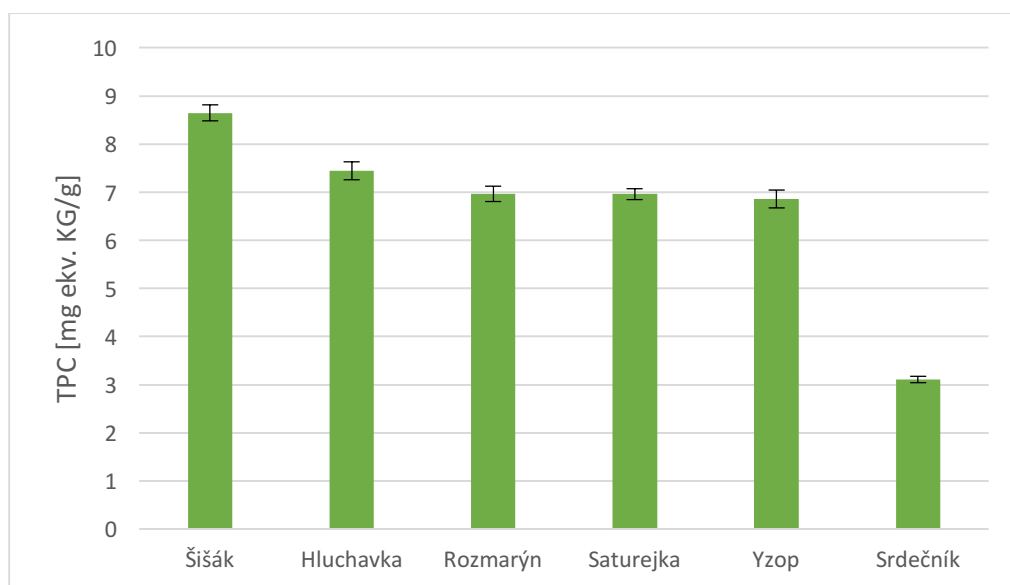
## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Testováno bylo 6 vzorků sušených bylin (Hluchavka bílá, Rozmarýn lékařský, Saturejka zahradní, Srdečník obecný, Šišák bajkalský, Yzop lékařský). Výsledky hodnocení celkového obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity stanovené několika metodami (DPPH, IC50, ABTS) jsou uvedeny v následujících kapitolách.

### 6.1 Celkový obsah polyfenolů bylin

Celkový obsah polyfenolických látek (TPC) byl stanovován pomocí Folin-Ciocalteuova činidla postupem uvedeným v kap. 5.2. Extrakty vybraných bylin byly připraveny postupem uvedeným v kap. 5.1. Celkový obsah polyfenolů v extraktech byl následně přepočítán na standard kyseliny gallové (KG) pomocí rovnice lineární regrese kalibrační křivky KG (kap.5.2.1) a vyjádřen jako ekvivalent KG v miligramech na gram vzorku.

Výsledky hodnocení celkového obsahu polyfenolů bylin jsou uvedeny na Obr. 14



Obrázek 14 Hodnoty TPC bylin v sestupném pořadí

Hodnota TPC se u bylin čeledi hluchavkovité pohybovala v rozmezí od 3,10 do 8,65 mg ekv. KG/g. Nejnižší stanovená hodnota polyfenolů byla u srdečníku, a to více než poloviční zjištěný obsah v porovnání s ostatními bylinami, které měly obsah podobný (6,86

- 8,65 mg ekv. KG/g). Nejvíce polyfenolů bylo zjištěno u šišáku, o 14 % více než u druhé byliny v pořadí (hluchavka).

Autoři Vaidya a kol. [43] stanovovali celkový obsah polyfenolů v metanolovém extraktu připraveném z různých částí šišáku bajkalského. Stanovení bylo prováděno pomocí metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Celkový obsah polyfenolů stanovili u extraktů čerstvého šišáku na 91,8 mg ekv. KG/g vzorku a u extraktů sušeného šišáku na 185 mg/g vzorku. Výsledky stanovení polyfenolických látek v daných metanolových extraktech byly oproti našemu stanovení vyšší, což může být z důvodů rozdílné úpravy vzorků, rozpouštědla, modifikované metody stanovení apod.

Celkový obsah polyfenolů v etanolovém extraktu připraveném z různých částí rostliny hluchavky byl zjišťovaný podle modifikované metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem autory PEREIRA a kol [13]. Obsah celkových polyfenolů určili na 24,24 mg ekv. KG/g, co je vyšší hodnota, než byla stanovena u hluchavky v této práci, z obdobných důvodů jako byly uvedeny výše.

VALYOVA a kol. [44] zjišťovali celkový obsah polyfenolů u *in vivo* a *in vitro* extraktů hluchavky pěstované v Bulharsku. Zjistili, že obsah polyfenolů je závislý na polaritě použitého rozpouštědla, kdy hodnoty dosahovaly 21,45 až 103,12 mg ekv. KG/g. Nejvyšší množství určili u *in vivo* metanolových extraktů, nižší u etanolových extraktů, přičemž *in vitro* extrakty měly až 2x menší obsah těchto látek.

Stanovení obsahu polyfenolů prováděli u rozmarýnu WEIGUANG a HAZEL [45], kteří zjišťovali vliv sušení bylin (na slunci, při 40 a 70 °C) na obsah těchto látek. Nejvyšší obsah stanovili u bylin sušených na slunci, které byly následně extrahovány do metanolu (39,6 mg ekv. KG/g), kde určili vyšší TPC než u etanolového extraktu (34,3 mg/g). V obou případech je to vyšší hodnota než v námi stanovovaném vodném extraktu rozmarýnu.

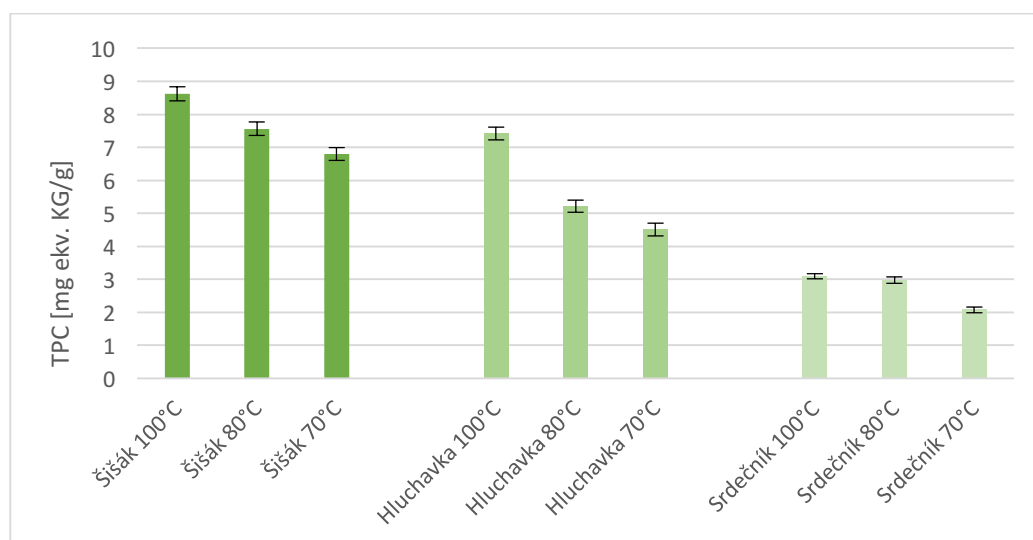
Autoři GUMUS a kol. [46] ve své práci stanovovali antioxidační aktivitu a celkový obsah polyfenolů v etanolových extraktech saturejky zahradní. TPC stanovili na 81,3 mg ekv. KG/g vzorku. Odlišnost výsledků stanovených autory se liší oproti našim nejspíše použitím jiného rozpouštědla i metodou stanovení.

VLASE a kol. [47] ve své práci zjišťovali celkový obsah polyfenolů v etanolovém extraktu yzopu lékařského. Množství polyfenolů u této byliny stanovili na 77,7 mg ekv. KG/g.

WEIGUANG a HAZEL [45] zjišťovali vliv sušení bylin (na slunci, při 40 a 70 °C) také na obsah TPC u metanolového a etanolového extraktu ze srdečníku. Nejvyšší množství

polyfenolů určili u této byliny sušené při 40 °C, a to s využitím obou rozpouštědel (max. pro metanol 38,1 mg ekv. KG/g). Rozdíly stanovení proti našim výsledkům lze připsat různým extrakčním podmínkám a průběhu stanovení.

U tří vybraných bylin - Šišák bajkalský, Hluchavka bílá, Srdečník obecný (s nejvyšším, podobně vysokým a nejnižším obsahem) byl také sledován vliv použité teploty extrakce byliny na množství polyfenolů. Na základě využití různých teplot (70 °C, 80 °C a 100 °C), při kterých byly byliny extrahovány, byly zjištěny změny obsahu polyfenolických látek. Výsledky tohoto stanovení jsou uvedeny na Obr. 15.



Obrázek 15 Hodnoty TPC bylin při různých teplotách extrakce u vybraných vzorků

Jak je z grafu (Obr. 15) patrné, při stanovení TPC za různých teplot extrakce, u vzorků vybraných bylin se hodnota obsahu TPC s teplotou snižuje. V případě šišáku došlo při snížení teploty extrakce na 80 °C k poklesu obsahu TPC o 13 %, a při teplotě 70 °C klesla hodnota TPC o 21 % oproti extrakci při 100 °C. Množství TPC stanovené u hluchavky při extrakci za teploty 80 °C kleslo o 30 % oproti extrakci při teplotě 100 °C, a u teploty 70 °C bylo TPC sníženo až o 39 %. U srdečníku při teplotách 80 a 100 °C byla určena jen minimální změna hodnoty TPC, kdy se lišila tato hodnota o necelé 4 %. Obsah polyfenolů při 70 °C extrakci byl ale až o 33 % nižší než při extrakci za teploty 100 °C.

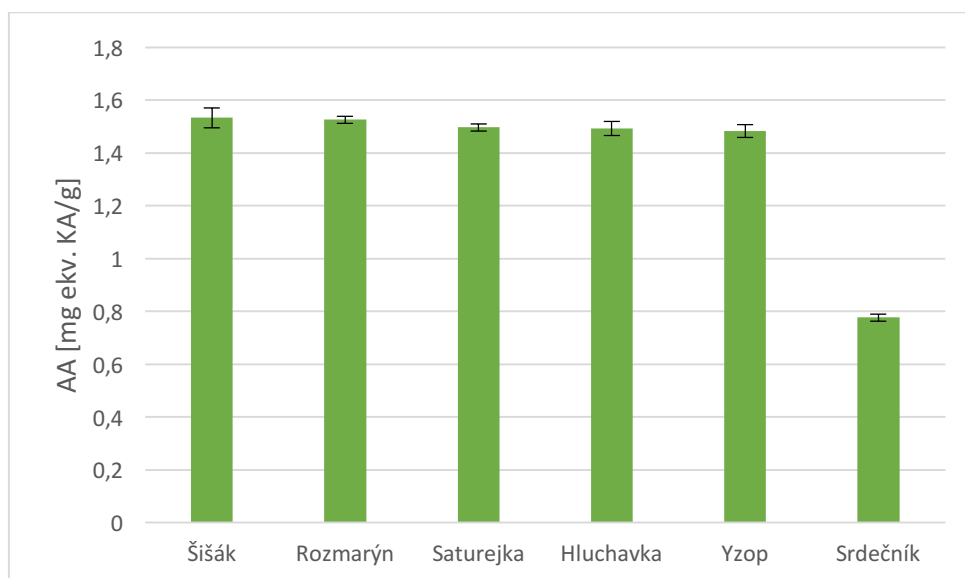
K největšímu poklesu TPC tedy došlo u hluchavky, kdy teplota 100 °C je nejvhodnější pro získání největšího množství polyfenolů z této byliny. I v případě srdečnicku došlo k poklesu TPC, ale jen při teplotě 70 °C. U šišáku byl pozorován nejnižší pokles.

## 6.2 Antioxidační aktivita bylin

### 6.2.1 Antioxidační aktivita bylin stanovená metodou s DPPH

Antioxidační aktivita (AA) metodou s DPPH byla určena postupem uvedeným v kap. 5.3. Extrakty bylin byly připraveny postupem uvedeným v kap. 5.1. AA u všech extraktů byla následně přepočítána na standard kyseliny askorbové pomocí rovnice lineární regrese kalibrační křivky kyseliny askorbové (KA) (kap. 5.3.1). Celková AA byla vyjádřena jako ekvivalent kyseliny askorbové v miligramech na gram vzorku.

Výsledky stanovení AA u jednotlivých bylin jsou uvedeny na Obr. 16.



Obrázek 16 Hodnoty AA (DPPH) bylin v sestupném pořadí

Hodnoty AA se pohybovaly v rozmezí 0,78 až 1,53 mg ekv. KA/g. Nejvyšší stanovená hodnota AA byla u vzorku šišáku, přičemž další čtyři vzorky bylin měly velmi podobné hodnoty AA. Nejnižší, přibližně poloviční hodnota AA byla zjištěna u vzorku srdečnicku.

Autoři GAO a kol. [48] zjišťovali antioxidační aktivitu flavonoidů obsažených v extraktech šišáku bajkalského. Pomocí metody DPPH stanovili hodnoty koncentrací IC50 v etanolových extraktech šišáku na 24 až 32  $\mu\text{mol/ml}$ . Nejúčinnějšími látkami byly baikalein a baikalin.

KASPARAVIČIENĚ a kol. [31] stanovovali ve své práci antioxidační aktivitu v etanolových extraktech rozmarýnu. Etanol o různých koncentracích (30-96 %) byl použit pro extrakci rozmarýnu, následně byla měřena AA metodou DPPH, kdy stanovili schopnost rozmarýnu inaktivovat 72-85 % DPPH v závislosti na koncentraci použitého etanolu.

VALYOVA a kol. [44] zjišťovali antioxidační aktivitu metanolových a etanolových *in vivo* a *in vitro* extraktů hluchavky pěstované v Bulharsku pomocí metody DPPH. Byly stanoveny hodnoty IC50, kdy nejnižších hodnot IC50, a tedy nejvyšší AA dosahovaly metanolové extrakty *in vivo* a etanolové extrakty *in vivo* (20,6 – 49,9  $\mu\text{g/ml}$ ), u extraktů *in vitro* byly určeny podstatně vyšší IC50 (193,8 – 274,4  $\mu\text{g/ml}$ ) a tedy nižší AA. Rozdílnost hodnot s našimi výsledky jsou dány např. jiným druhem extrakčního rozpouštědla nebo rozdílným postupem u stanovení metodou DPPH.

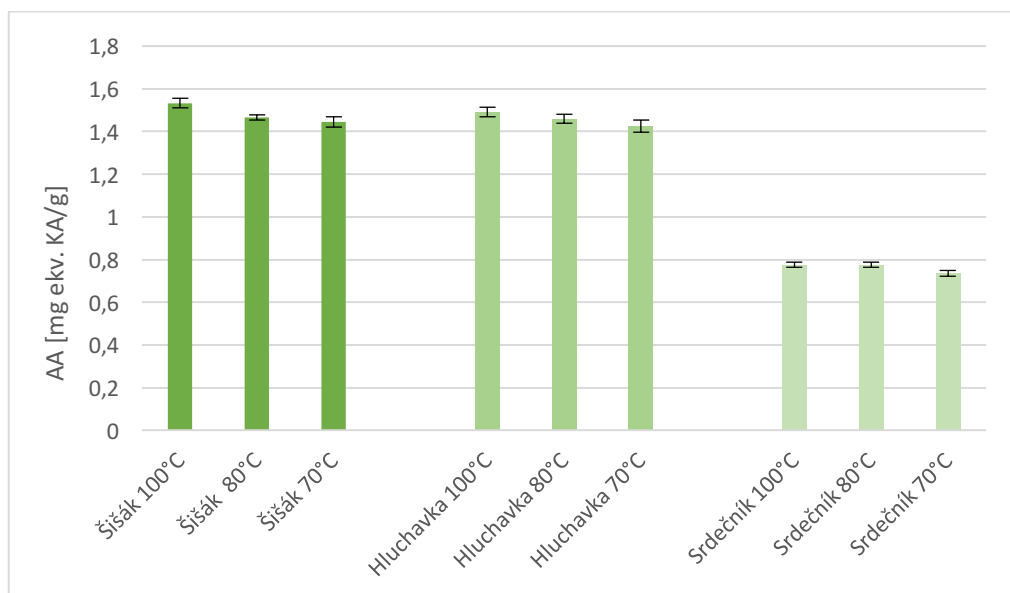
Studie autorů HATIPOĞLU a kol. [49] u yzopu lékařského byla zaměřena na stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH v metanolovo-vodných, vodných a chloroformových extraktech *in vitro*. Hodnota IC50 u vodného extraktu byla 18,8  $\mu\text{g/ml}$ . V metanolovo-vodném roztoku hodnota IC50 byla stanovena na 28,8  $\mu\text{g/ml}$  a chloroformového extraktu činila hodnota 250  $\mu\text{g/ml}$ . Dle této studie je pro extrakci nejvhodnější použít jako rozpouštědlo vodu. Autoři KIZIL a kol. [50] stanovili AA metodou DPPH u yzopu lékařského na mírně nižší hodnotu IC50, 16,4  $\mu\text{g/ml}$ . Hodnoty stanovené v naší práci se mohou lišit z důvodu rozdílného postupu při stanovení či využitím jiné části rostliny apod.

ARMATU a kol. [26] zjišťovali antioxidační aktivitu srdečníku obecného *in vitro* v metanolovém a etanolovém extraktu. Inhibiční efekt volných radikálů stanovován metodou DPPH činil kolem 47,8 %.

I při hodnocení AA (podobně jako u stanovení polyfenolů) byl u tří vybraných bylin - Šišák bajkalský, Hluchavka bílá, Srdečník obecný (s nejvyšší, podobně vysokou a nejnižší



hodnotou) zkoumán vliv teploty při extrakci bylin na antioxidační aktivitu extraktu. Také v tomto případě byly zjištěny jisté rozdíly v hodnotách AA při různých teplotách (70 °C, 80 °C a 100 °C). Výsledky stanovení jsou uvedeny na Obr. 17.



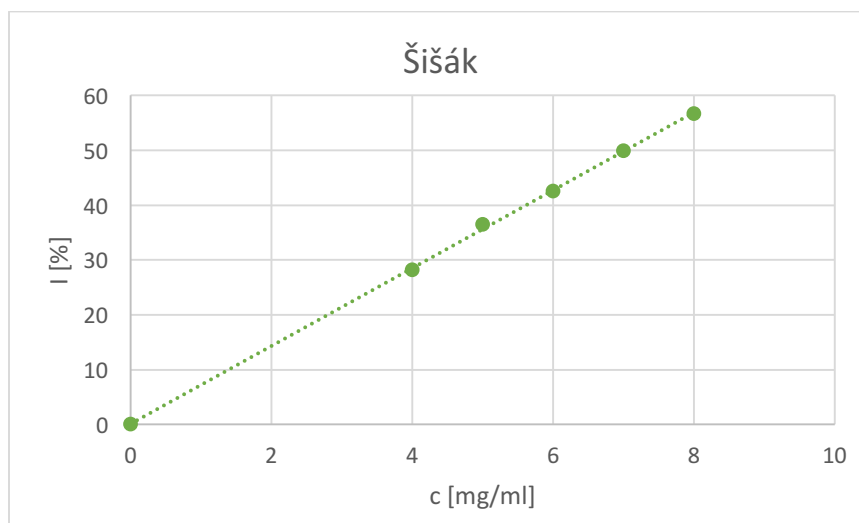
Obrázek 17 Hodnoty AA (DPPH) bylin při různých teplotách extrakce u vybraných vzorků

Při stanovení AA metodou DPPH vlivem různých teplot použitých při extrakci byl pozorován minimální pokles AA při snižování teploty extrakce. V případě šišáku došlo u teploty 80 °C oproti louhování při 100 °C ke snížení hodnoty AA o 4 %, u teploty 70 °C hodnota AA klesla o 5 %. AA stanovená metodou DPPH u hluchavky při extrakci za teploty 80 °C klesla o 2 % oproti extrakci při teplotě 100 °C, a u teploty 70 °C byla AA snížena o 5 %. U srdečníku byla stanovena téměř stejná hodnota AA při teplotách 80 a 100 °C, kdy se hodnoty lišily o méně než 1 %. AA při 70 °C byla o 5 % nižší (0,74 mg ekv. KA/g), než při extrakci za teploty 100 °C, a byla nejnižší hodnotou AA zjištěnou u všech bylin.

### 6.2.1.1 Hodnoty IC<sub>50</sub> vybraných bylin

Určení antioxidační aktivity bylo provedeno také stanovením hodnot IC<sub>50</sub> s využitím DPPH činidla, postupem uvedeným v kap. 5.3 a 5.3.2. Základní extrakty tří vybraných bylin - Šišák bajkalský, Hluchavka bílá, Srdečník obecný, byly připraveny postupem uvedeným v kap. 5.1, následně byly ředěny postupem uvedeným v kap. 5.3.2. Hodnoty IC<sub>50</sub> byly u vybraných extraktů vypočteny pomocí rovnice lineární regrese pro danou bylinu v miligramech na mililitr vzorku.

Výsledky stanovení IC<sub>50</sub> u vybraných bylin jsou uvedeny na obrázcích Obr. 18-20.



Obrázek 18 Hodnoty inaktivace pro různé koncentrace extraktu šišáku

Rovnice lineární regrese pro IC<sub>50</sub>:

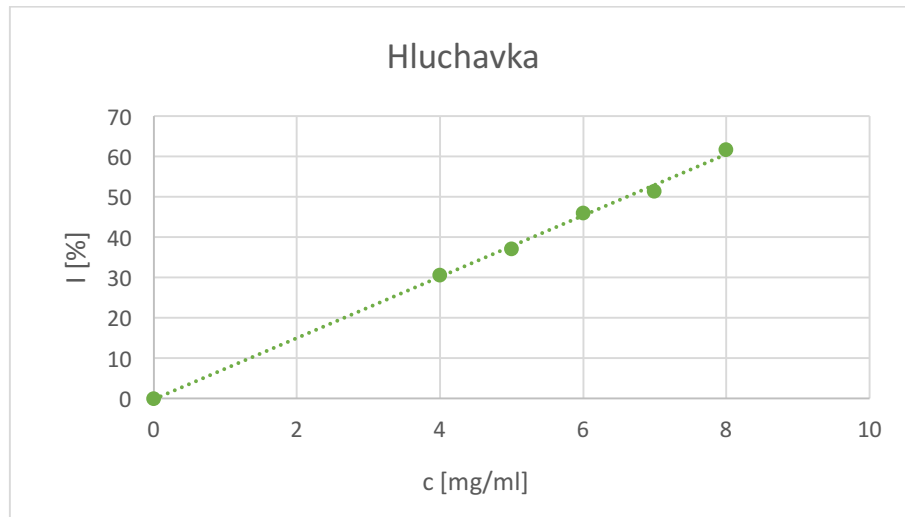
$$y = 7,1017 \cdot x - 0,1011$$

y - hodnota inaktivace I [%] pro jednotlivé koncentrace roztoků vzorků

x - koncentrace c [mg/ml] roztoku vzorku byliny

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9995$

Vypočtená hodnota koncentrace IC<sub>50</sub> (při inaktivaci I = 50 %): 7,03 mg/ml



Obrázek 19 Hodnoty inaktivace pro různé koncentrace extraktu hluchavky

Rovnice lineární regrese IC50:

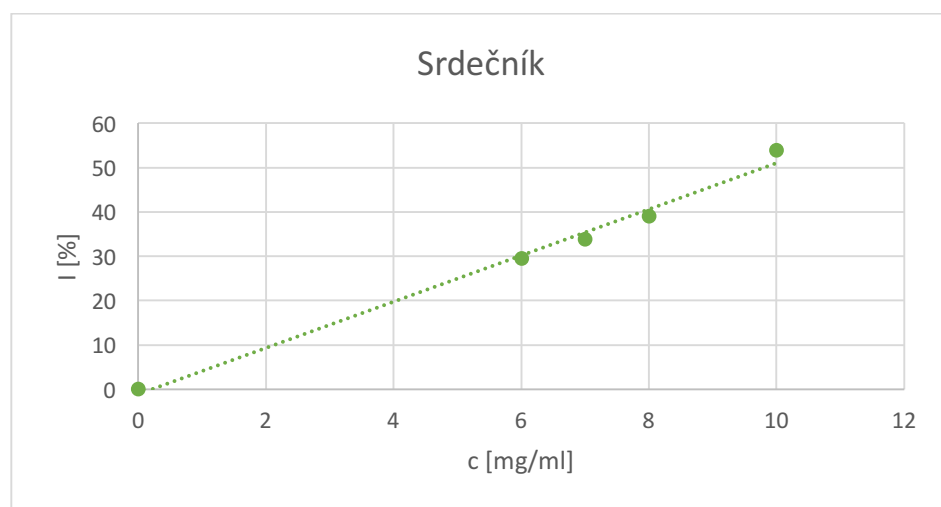
$$y = 7,5878 \cdot x - 0,1139$$

y - hodnota inaktivace I [%] pro jednotlivé koncentrace roztoků vzorků

x - koncentrace c [mg/ml] roztoku vzorku byliny

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,99789$

Vypočtená hodnota koncentrace IC50 (při inaktivaci I = 50 %): 6,60 mg/ml



Obrázek 20 Hodnoty inaktivace pro různé koncentrace extraktu srdečníku

Rovnice lineární regrese IC50:

$$y = 5,2066 \cdot x - 1,0791$$

y - hodnota inaktivace I [%] pro jednotlivé koncentrace roztoků vzorků

x - koncentrace c [mg/ml] roztoku vzorku byliny

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9908$

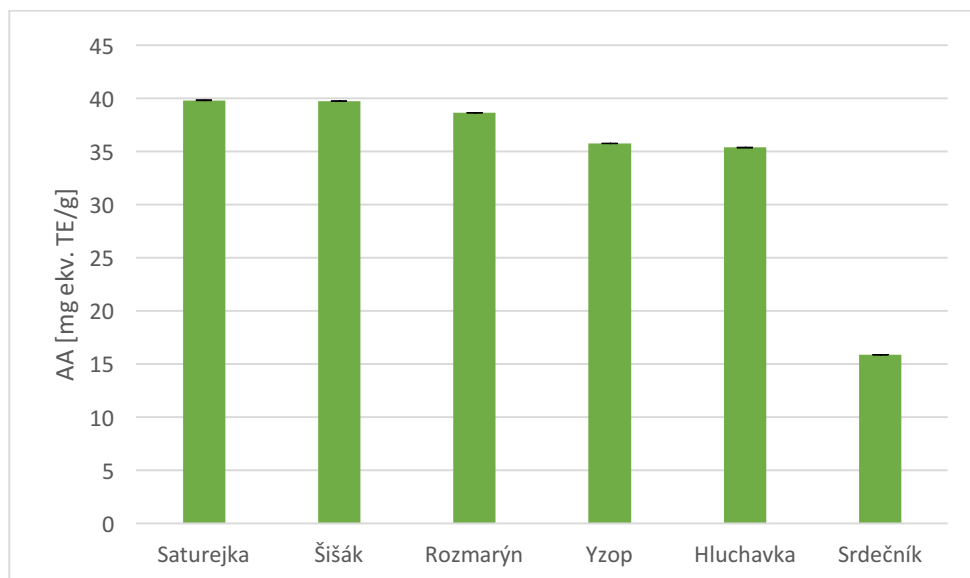
Vypočtená hodnota koncentrace IC50 (při inaktivaci I = 50 %): 9,81 mg/ml

Z hodnocení koncentrací IC50 je zřejmé, že nejvyšší hodnotu koncentrace IC50, a tedy nejnižší antioxidační aktivitu měl vzorek srdečnicku, což bylo zjištěno i v rámci stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH. Podstatně nižší hodnotu IC50 (téměř o 33 % nižší) a proto vyšší AA má šišák, a proti této hodnotě jen o málo nižší koncentrací IC50 a podobně vysokou AA, má hluchavka.

### 6.2.2 Antioxidační aktivita bylin stanovená metodou s ABTS

Stanovení antioxidační aktivity (AA) metodou ABTS bylo prováděno postupem uvedeným v kap. 5.4 u extraktů všech 6 vzorků bylin. Extrakty byly připraveny postupem uvedeným v kap. 5.1. AA jednotlivých vzorků byla přepočítána z hodnot inaktivace na standard troloxu (TE) (kap. 5.4.1) a vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku. Výsledky stanovení AA u jednotlivých bylin jsou uvedeny na Obr. 21.

Antioxidační aktivita u vybraných hluchavkovitých bylin stanovená metodou ABTS byla určena v rozmezí od 15,88 do 39,82 mg ekv. TE/g. Nejnižší AA, podobně jako při stanovení TPC a AA (DPPH) byla zjištěna u srdečnicku, a dosahovala níže než 50 % hodnot ostatních bylin. Další dvě byliny vykazovaly podobnou AA v šíři 35,37 – 35,75 mg ekv. TE/g. Jen mírně vyšší a zároveň téměř shodné hodnoty antioxidační aktivity byly stanoveny u rozmarýnu, hluchavky a yzopu.



Obrázek 21 Hodnoty AA (ABTS) bylin v sestupném pořadí

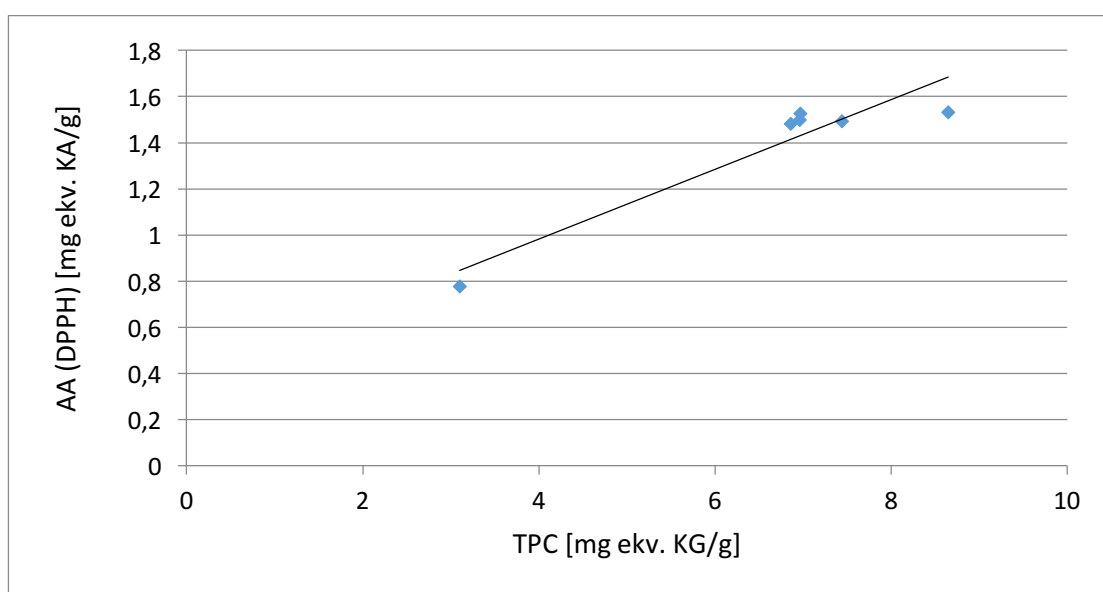
Hodnoty AA zjištěné metodou ABTS byly pro byliny také přepočteny a vyjádřeny v jednotkách  $\mu\text{mol}$  ekvivalentu troloxu na gram vzorku (Tab. 2), kde je také vidět daný trend u hodnot AA hodnocených bylin.

Tabulka 2 Antioxidační aktivita (ABTS) vybraných bylin ve vzestupném pořadí

Vzorek byliny	AA (ABTS) [ $\mu\text{mol}$ ekv. TE/g]
Srdečník obecný	63,43
Hluchavka bílá	141,32
Yzop lékařský	142,81
Rozmarýn lékařský	154,34
Šišák bajkalský	158,71
Saturejka zahradní	159,10

### 6.3 Korelační vztahy mezi celkovým obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou

Pro zjištění vzájemných vztahů mezi celkovým obsahem polyfenolů (TPC) a antioxidační aktivitou (AA) u obou metod (DPPH, ABTS) byla provedena korelační analýza s určením hodnot korelačních faktorů. Na Obr. 22 a 23 jsou znázorněny závislosti vytvořené z hodnot AA a TPC u všech šesti druhů bylin. Dané závislosti jsou vyjádřeny i rovnicí lineární regrese přímky.



Obrázek 22 Závislost AA (DPPH) na TPC pro extrakty bylin

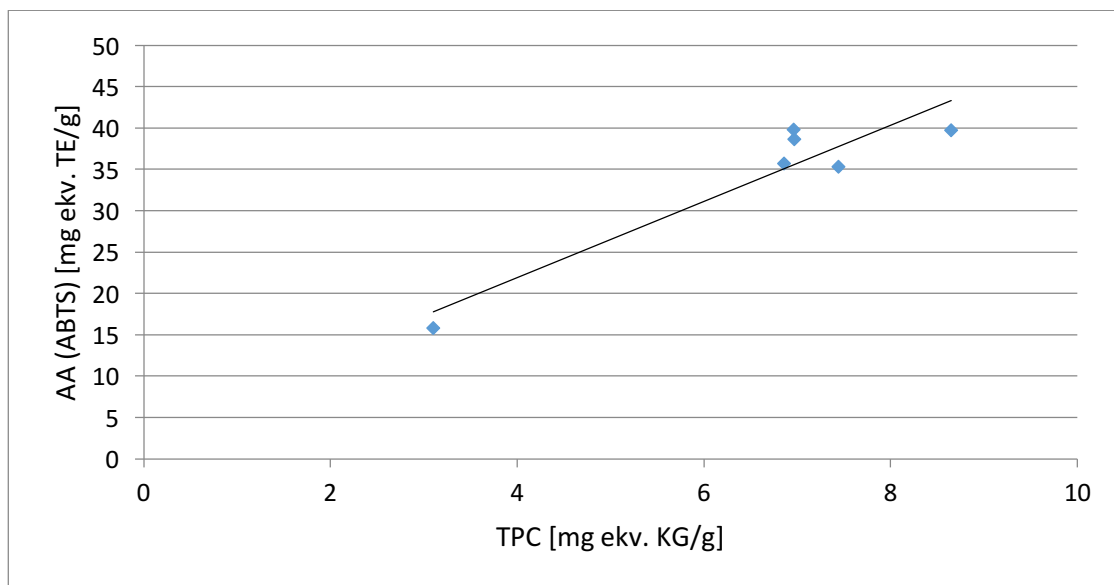
Rovnice lineární regrese korelace:

$$y = 0,1513 \cdot x + 0,3765$$

y - antioxidační aktivita [mg ekvivalentu KA/g vzorku]

x - celkový obsah polyfenolů [mg ekvivalentu KG/g vzorku]

Pro závislost AA (DPPH) na TPC pro extrakty hluchavkovitých bylin byl určen vysoký korelační faktor,  $R = 0,9469$ . Jde tedy o kladnou lineární závislost.



Obrázek 23 Závislost AA (ABTS) na TPC pro extrakty bylin

Rovnice lineární regrese korelace:

$$y = 4,6132 \cdot x + 3,454$$

y - antioxidační aktivita [mg ekvivalentu TE/g vzorku]

x - celkový obsah polyfenolů [mg ekvivalentu KG/g vzorku]

I u závislosti AA (ABTS) na TPC pro extrakty hluchavkovitých bylin byl stanoven vysoký korelační faktor,  $R = 0,9386$ , mírně nižší než v předchozím případě. I v tomto případě se jedná o kladnou lineární závislost.

Z daných zjištění korelačních faktorů s kladnou lineární závislostí tedy lze konstatovat, že přítomnost polyfenolických látek a jejich obsah je velmi důležitým předpokladem pro ovlivnění hodnot antioxidační aktivity vybraných bylin.

## ZÁVĚR

Rostliny čeledi hluchavkovité jsou široce využívány v potravinářském, kosmetickém či farmaceutickém průmyslu a v lidovém léčitelství. Jejich široké využití je dáno jednak jejich antioxidačními a antimikrobními vlastnostmi, a také jejich aromatickým charakterem. Antioxidanty jsou pro lidské tělo důležité zejména kvůli redukcí volných radikálů v těle, které způsobují poškození tkání. Zejména látky polyfenolické, které mají antioxidační účinky, tak napomáhají k ochraně před některými onemocněními, jako např. kardiovaskulárními.

V této práci bylo cílem stanovit obsah polyfenolických látek (TPC) metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem a jejich antioxidační aktivitu (AA) ve vodných extraktech vybraných bylin (Hluchavka bílá, Rozmarýn lékařský, Saturejka zahradní, Srdečník obecný, Šišák bajkalský, Yzop lékařský), při různých teplotách, pomocí metody DPPH a ABTS.

Bylo zjištěno, že teplota použitá k louhování má vliv jak na TPC, tak i na AA. V případě šišáku, který vykazoval nejvyšší hodnoty TPC v rámci všech bylin, došlo změnou teploty při extrakci ze 100 °C na 70 °C ke snížení hodnoty TPC o více než 20 %. V rámci všech analyzovaných extraktů rostlin byl stanoven jako bylina s nejvyšší AA a TPC tedy šišák bajkalský, který obsahuje značné množství antioxidačních látek a má významnou antioxidační aktivitu. Nižší hodnoty byly zjištěny u saturejky zahradní, hluchavky bílé a u yzopu lékařského. Nejnižší TPC a AA vykazoval srdečník obecný, a to až o 50 % nižší v porovnání s ostatními bylinami.

V rámci hodnocení všech analyzovaných vzorků bylin je nutné brát v úvahu mnoho faktorů. Vliv na obsah antioxidantů v určité rostlině má typ konkrétní odrůdy, podmínky pěstování (klíma, půdní podmínky, způsob pěstování), užitím různých částí rostliny k výluhu či různých rozpouštědel pro extrakci. Celkově lze konstatovat, že šišák bajkalský a hluchavka bílá byly vyhodnoceny jako byliny s dobrým antioxidačním účinkem.



**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

1. SLAVÍK, B. aj. Květena České republiky, sv. 6. Praha : Academia, 2000, s. 554-709. ISBN: 80-200-0306-1
2. BUKVICE LÉKAŘSKÁ (*BETONICA OFFICINALIS L.*). *Bylinky KOTTAS: bylinky, léčivé bylinky, čajové směsi, koření* [online]. 2012 [cit. 2020-03-30]. Dostupné z: <http://kottas.mbst.cz/bukvice-lekarska.html>
3. Bukvice lékářská (*Betonica officinalis*). *Květena ČR* [online]. 2018 [cit. 2020-03-30]. Dostupné z: <http://www.kvetenacr.cz/detail.asp?IDdetail=118>
4. LÁNSKÁ, D. a P. ŽILÁK. *Jedlé rostliny z přírody*. Bratislava: AVENTINUM, 2006. ISBN 80-86858-13-8.
5. SOCHOR, M. Dobromysl obecná (*Origanum vulgare L.*). *Botanika - teorie a praxe* [online]. 2007 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: [http://botanika.borec.cz/dobromysl\\_obecna.php](http://botanika.borec.cz/dobromysl_obecna.php)
6. NOVÁČEK, F. *Fytochemické základy botaniky*. Olomouc: Fontána, 2009, s. 202. ISBN 978-80-7336-457-1.
7. SINGH, R., M.A.M. SHUSHNI a A. BELKHEIR. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita L.* *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2015, **8**(3), 322-328 [cit. 2017-03-22]. ISSN 1878-5352. Dostupné z: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1878535211000232?token=27149ECE9392D7F1177CD9B4203B7CC59840D17498172747231172FE1E7E15A04B08116876DAF9A1F23BEAEE88D69229>
8. SOCHOR, M. Mateřídouška obecná (*Thymus serpyllum L. sp. coll.*). *Botanika - teorie a praxe* [online]. 2007 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: [http://botanika.borec.cz/materidouska\\_obecna.php](http://botanika.borec.cz/materidouska_obecna.php)
9. SOCHOR, M. Meduňka lékářská (*Melissa officinalis L.*). *Botanika - teorie a praxe* [online]. 2007 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: [http://botanika.borec.cz/medunka\\_lekarska.php](http://botanika.borec.cz/medunka_lekarska.php)

10. PETER, K.V. *Handbook of herbs and spices: volume 3*. Boca Raton: CRC Press, 2006, s. 269-275. Woodhead publishing in food science and technology. ISBN 978-1-84569-017-5.
11. NAVRÁTILOVÁ, Z. a J.PATOČKA. Rozmarýn lékařský (*Rosmarinus officinalis* L.) a jeho účinky na nervový systém. *Psychiatrie*. Praha, 2019, **23**(4), 181-185
12. SOCHOR, M. Hluchavka bílá (*Lamium album* L.). *Botanika - teorie a praxe* [online]. 2007 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: [http://botanika.borec.cz/hluchavka\\_bila.php](http://botanika.borec.cz/hluchavka_bila.php)
13. PEREIRA, O.R., A.M.S. SILVA a S.M. CARDOSO. Phenolic constituents of *Lamium album*: Focus on isoscutellarein derivatives. *Food Research International* [online]. 2012, 11.5.2012, (48), 330-335 [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/267030915>
14. Botirov, E.K. Flavonoids and Phenolcarboxylic Acids from *Lamium album*. *Chem Nat Compd* **55**, 1159–1160 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10600-019-02921-2>
15. SOCHOR, M. Hluchavka bílá (*Lamium album* L.). *Botanika - teorie a praxe* [online]. 2007 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: [http://botanika.borec.cz/hluchavka\\_bila.php](http://botanika.borec.cz/hluchavka_bila.php)
16. KELAYEH, T.P.S., M. ABEDINZADE a A. GHORBANI. A review on biological effects of *Lamium album* (white dead nettle) and its components. *J Herbmed Pharmacol*. [online]. 2019, **8**(3), 185-193 [cit. 2020-05-11]. Dostupné z: <http://www.herbmedpharmacol.com>
17. SKRUŽNÁ, J. Rozmarýn lékařský. *Medicína.cz: První český zdravotnický portál* [online]. 2000 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: <http://medicina.cz/clanky/2294/34/Rozmaryn-lekarsky/>
18. JAHODÁŘ, L. *Farmakobotanika: semenné rostliny*. Karolinum, 2011. ISBN 978-80-246-2015-2.
19. ANDRIANNE, P. *Velká kniha gemmoterapie*. 1. Olomouc: Fontána, 2007. ISBN 978-80-7336-382-6.
20. PAVELA, R. a M. BÁRNET. Alternativní plodina saturejka zahradní (*Satureja hortensis* L.) pěstování, význam, využití v ochraně rostlin. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2011, s. 5-8. ISBN 978-80-7427-083-3.

21. *Satureja hortensis* - saturejka zahradní. *Herbář Wendys* [online]. 2015 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: <https://botanika.wendys.cz/index.php/14-herbar-rostlin/222-satureja-hortensis-saturejka-zahradni>
22. MASTEIKOVÁ, R., J. MUSELÍK, J. BERNATOIENÉ, et al. Antioxidační aktivita tinktur připravených z hlochových plodů a nati srdečníku. *Česká a slovenská farmacie*. 2008, **57**(1), 35-38.
23. GUMUS, T., S. ALBAYRAK, O. SAGDIC a M. ARICI. EFFECT OF GAMMA IRRADIATION ON TOTAL PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SATUREJA HORTENSIS, THYMUS VULGARIS, AND THYMBRA SPICATA FROM TURKEY. *International Journal of Food Properties* [online]. 2011, , 830–839 [cit. 2020-05-11]. DOI: 10.1080/10942910903453397. ISSN 1532-2386. Dostupné z: <http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=7&sid=0a811f35-2789-41ef-a0db-42ec62e4d72d%40sessionmgr103>
24. *Leonurus cardiaca* - srdečník obecný. *Herbář Wendys* [online]. 2015 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: <https://botanika.wendys.cz/index.php/14-herbar-rostlin/556-leonurus-cardiaca-srdecnik-obecny>
25. KRESÁNEK ML., J. a J. KRESÁNEK ST. *Atlas léčivých rostlín a lesných plodov*. Osveta, 2010. ISBN 9788080632922.
26. ARMATU, A., S. COLCERU-MIHUL, C. BUBUEANU, E. DRAGHICI a L. PIRVU. Evaluation of antioxidant and free scavenging potential of some Lamiaceae species growing in Romania. *Romanian Biotechnological Letters*. 2010, **15**(3), 5274-5280.
27. MARTIN, J. a J. DUŠEK. Česká a Slovenská farmacie: Šišák bajkalský - Potencionální zdroj nových léčiv [online]. 2002, **LI**(6) [cit. 2020-01-29].
28. HURST, K. *Pozoruhodný svět bylin*. 1. Londýn: Timber Press, 2015, 224 s. ISBN 978-80-7617-024-7.
29. *Hyssopus officinalis* - yzop lékařský. *Herbář Wendys* [online]. 2015 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: <https://botanika.wendys.cz/index.php/14-herbar-rostlin/440-hyssopus-officinalis-yzop-lekarsky>

30. TOMŠOVIC, P., SLAVÍK, B., ed. *Květena České republiky: Hyssopus officinalis - yzop*. 6. Praha: Academia, 2000, 554-709. ISBN 80-200-0306-1
31. KASPARAVIČIENĚ, G., K. RAMANAUSKIENĚ, A. SAVICKAS, S. VELŽIENĚ, Z. KALVĚNIENĚ a D. KAZLAUSKIENĚ. Evaluation of total phenolic content and antioxidant activity of different *Rosmarinus officinalis* L. ethanolic extracts. *BIOLOGIJA* [online]. 2013, **59**(1), 39-44 [cit. 2020-05-11]. Dostupné z: <http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=11&sid=0b7fe36e-42c3-44e7-a669-a7b46043d01a%40pdc-v-sessmgr06>
32. Buřičová L., Réblová Z. (2008): Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech J. Food Sci.*, 26: 132-138.
33. CAPECKA, E., MARECZEK, A., LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chem.* 2005, 93, 2, 223-226.
34. KOZŁOWSKA, M., A.E. LAUDY, J. PRZYBYŁ, M. ZIARNO a E. MAJEWSKA. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 2015, **72**(4), 757-767. ISSN 0001-6837.
35. KARABÍN, M., P. DOSTÁLEK a P. HOFTA. PŘEHLED METOD PRO STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY V PIVOVARSTVÍ. *Chem. Listy* [online]. 2006, 21.7.2005, (100), 184-189 [cit. 2020-01-27]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006\\_03\\_184-189.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006_03_184-189.pdf)
36. WROLSTAD, R. E. *Handbook of food analytical chemistry*. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2005, 2 sv. ISBN 9780471709084
37. PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chem. Listy*. 2004, roč. 98, s. 174-179. ISSN 1213-7103.
38. DVOŘÁKOVÁ, M., P. DOSTÁLEK, P. HULÍN. Analytické stanovení polyfenolů ve sladínách, mladínách a pivech. *Kvasný Průmysl*. 2006, roč. 52, č. 4, s. 111-114. ISSN 0023-5830.

39. KARABÍN, M., P. DOSTÁLEK a P. HOFTA. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chem. Listy* [online]. 2004, **98**, 174–179. ISSN 1213-7103. Dostupné z: [http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/2004\\_04\\_03.pdf](http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf)
40. YI, W., H.Y. WETZSTEIN. Effects of Drying and Extraction Conditions on the Biochemical Activity of Selected Herbs. *HortScience*. 2011, **46**(1), 70-73. ISSN 0018-5345
41. Škrovánková, S., Snopek, L., Mlček, J., Volaříková, E. Bioactive compounds evaluation in different types of Czech and Slovak honeys. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2019, 13(1), 94-99. <https://doi.org/10.5219/1025>
42. Škrovánková, S., Mlček, J., Snopek, L., Planetová, T. Polyphenols and antioxidant capacity in different types of garlic. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2018, 12(1), 267-272. <https://doi.org/10.5219/895>
43. Vaidya, Brajesh N., Terri A. Brearley, Nirmal Joshee. 2014. "Antioxidant Capacity of Fresh and Dry Leaf Extracts of Sixteen Scutellaria Species," *Journal of Medicinally Active Plants* 2(Vol 2 Issues 3-4):42-49. DOI: <https://doi.org/10.7275/R5J9649K>
44. MIGLENA SPASIMIROVA VALYOVA ET AL. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging potential of *Lamium album* L. growing in Bulgaria. *Journal of Pharmacy Research* [online]. 2011, 2016, **4**(4), 945-947 [cit. 2020-04-29]. ISSN 0974-6943. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/285731211>
45. WEIGUANG, Yi a Y. HAZEL. Effects of Drying and Extraction Conditions on the Biochemical Activity of Selected Herbs. *HORTSCIENCE* [online]. 2011, **46**(1), 70-73 [cit. 2020-04-29]. DOI: 10.21273/HORTSCI.46.1.70. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/330781183\\_Effects\\_of\\_Drying\\_and\\_Extraction\\_Conditions\\_on\\_the\\_Biochemical\\_Activity\\_of\\_Selected\\_Herbs](https://www.researchgate.net/publication/330781183_Effects_of_Drying_and_Extraction_Conditions_on_the_Biochemical_Activity_of_Selected_Herbs)
46. GUMUS, T., S. ALBAYRAK, O. SAGDIC a M. ARICI. EFFECT OF GAMMA IRRADIATION ON TOTAL PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SATUREJA HORTENSIS, THYMUS VULGARIS, AND THYMBRA SPICATA FROM TURKEY. *International Journal of Food Properties* [online]. 2011, , 830–839 [cit. 2020-05-11]. DOI: 10.1080/10942910903453397. ISSN 1532-2386. Dostupné z:

<http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=7&sid=0a811f35-2789-41ef-a0db-42ec62e4d72d%40sessionmgr103>

47. VLASE, L., D. BENEDEC, D. HANGANU, G. DAMIAN a kol. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities and Phenolic Profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules* [online]. 2014, **19**, 5490-5507 [cit. 2020-05-11]. DOI: 10.3390. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=13&sid=6bced15f-e688-4638-b9af-9898afbab5bb%40sessionmgr4007>
48. GAO, Z., K. HUANG, X. YANG a H. XU. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochimica et Biophysica Acta*. Elsevier, 1999, (1472), 643-650.
49. HATİPOĞLU, G., M. SÖKMEN, E. BEKTAŞ, D. DAFERERA, A. SÖKMEN, E. DEMİR a H. ŞAHİN. Automated and standard extraction of antioxidant phenolic compounds of *Hyssopus officinalis* L. ssp. *angustifolius*. *Industrial Crops & Products*. 2013, **43**, 427-433. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.07.028. ISSN 0926-6690.
50. KIZIL, S., N. HAŞİMİ, V. TOLAN, E. KILINÇ a H. KARATAŞ. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) Essential Oil. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* [online]. 2010, **38**(3), 99-103 [cit. 2020-05-11]. ISSN 0255-965X. Dostupné z: <http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=9&sid=6bced15f-e688-4638-b9af-9898afbab5bb%40sessionmgr4007>
51. VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902-3912-9.
52. JANČA, J., ZENTRICH, J.A. *Herbář léčivých rostlin*. Praha: EMINENT, 1994. ISBN 80-85876-02-7.
53. CAPECKA, E., MARECZEK, A., LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chem*. 2005, **93**, 2, 223-226.
54. HOSSAIN, M.B., BARRY-RYAN, C., MARTIN-DIANA, A.B., BRUNTON, N.P. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chem*. 2010, **123**, 1, 85-91.

55. DANILA, A. O., GATEA, F., RADU, G.L., GARELLA, D. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs: an evaluation of the potential of 1000 plants. *Chem. Nat. Comp.* 2011, 47, 1, 22-26.
56. STARÝ, František a Karel SVOLINSKÝ. *Rostliny a jejich půvab v ilustracích Karla Svolinského*. 1. Praha: AVENTINUM, 2006. ISBN 80-86858-24-3.
57. <http://www.reiki-cz.com/herba/herbar.php?id=101>
58. <https://www.icajove-more.cz/seznam-bylin/saturejka-zahradni/>
59. <http://www.avicenna.cz/item/leonurus-cardiaca-srdecnik-obecný>
60. <https://www.navratkuzdraviu.sk/n/sisiak-bajkalsky-scutellaria-baicalensis-l>
61. LÁNSKÁ, D. a P. ŽILÁK. *Jedlé rostliny z přírody*. Bratislava: AVENTINUM, 2006. ISBN 80-86858-13-8.
62. <https://en.wikipedia.org/wiki/DPPH>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

DPPH	1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl)
ABTS	2,2-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)
TPC	celkový obsah polyfenolů
AA	antioxidační aktivita
KG	kyselina gallová
KA	kyselina askorbová
TE	trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina)



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 Hluchavka bílá [56] .....	14
Obrázek 2 Rozmarýn lékařský [57] .....	15
Obrázek 3 Saturejka zahradní [58] .....	17
Obrázek 4 Srdečník obecný [59].....	18
Obrázek 5 Šišák bajkalský [60] .....	19
Obrázek 6 Yzop lékařský [61] .....	20
Obrázek 7 Yzop lékařský - květ [61].....	20
Obrázek 8 DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) [62].....	24
Obrázek 9 Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina).....	24
Obrázek 10 Generování radikálu ABTS a vznik degeneračních produktů působení polyfenolů .....	25
Obrázek 11 Kalibrační křivka kyseliny gallové.....	31
Obrázek 12 Kalibrační křivka kyseliny askorbové.....	33
Obrázek 13 Kalibrační křivka troloxu .....	35
Obrázek 14 Hodnoty TPC bylin v sestupném pořadí .....	36
Obrázek 15 Hodnoty TPC bylin při různých teplotách extrakce u vybraných vzorků.....	38
Obrázek 16 Hodnoty AA (DPPH) bylin v sestupném pořadí.....	39
Obrázek 17 Hodnoty AA (DPPH) bylin při různých teplotách extrakce u vybraných vzorků .....	41
Obrázek 18 Hodnoty inaktivace pro různé koncentrace extraktu šišáku.....	42
Obrázek 19 Hodnoty inaktivace pro různé koncentrace extraktu hluchavky .....	43
Obrázek 20 Hodnoty inaktivace pro různé koncentrace extraktu srdečníku .....	43
Obrázek 21 Hodnoty AA (ABTS) bylin v sestupném pořadí.....	45
Obrázek 22 Závislost AA (DPPH) na TPC pro extrakty bylin.....	46
Obrázek 23 Závislost AA (ABTS) na TPC pro extrakty bylin.....	47

## **SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 Analyzované vzorky bylin.....	28
Tabulka 2 Antioxidační aktivita (ABTS) vybraných bylin ve vzestupném pořadí .....	45