

Ovlivnění obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity v extraktech rozmarýnu a oregana

Bc. Sabina Kuncová, DiS.

Diplomová práce
2022

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Sabina Kuncová, DiS.
Osobní číslo:	T20053
Studijní program:	N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia:	Kombinovaná
Téma práce:	Ovlivnění obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity v extraktech rozmarýnu a oregana

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Charakteristika rozmarýnu a oregana, jejich složení, vlastnosti.
2. Antioxidanty, zástupci, zdroje a působení.
3. Přehled metod využívaných pro stanovení obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity.

II. Praktická část

1. Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu polyfenolů v extraktech rozmarýnu a oregana s různými podmínkami extrakce.
2. Stanovení antioxidační aktivity v extraktech rozmarýnu a oregana s různými podmínkami extrakce pomocí spektrometrické metody.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Amaral, G.P., Mizdal, C.R., Stefanello, S.T., Mendez, A.S.L., Puntel, R.L., et al. Antibacterial and antioxidant effects of *Rosmarinus officinalis* L. extract and its fractions. *J. Tradit. Complement. Med.* 2018, 9, 4, s. 383-392. doi: 10.1016/j.jtcm.2017.10.006
- [2] Coccimiglio, J., Alipour, M., Jiang, Z.H., Gottardo, C., Suntres, Z. Antioxidant, Antibacterial, and Cytotoxic Activities of the Ethanolic *Origanum vulgare* Extract and Its Major Constituents. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2016, 2016:1404505. doi: 10.1155/2016/1404505
- [3] Velišek, J. *Chemie potravin 3. Tábor: OSSIS, 1999. 368 s. ISBN 80-902391-5-3*
- [4] Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., Nemzer, B. Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidants (Basel)*, 2017, 6, 3, s. 70-88. <https://doi.org/10.3390/antiox6030070>

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 18. února 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou 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 – diplomovou 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 diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové 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 diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta: Sabina Kuncová

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se v teoretické části zabývá charakteristikou rozmarýnu a oregana, jejich chemickým složením, zdravotními účinky, antioxidační aktivitou a využitím. Dále jsou v práci popsány antioxidanty a metody využívané pro stanovení množství polyfenolických látek a antioxidační aktivity. Praktická část práce se zabývá stanovením celkového obsahu polyfenolů, antioxidační aktivity (metody s využitím DPPH a ABTS) i s vyhodnocením antioxidační aktivity pomocí hodnoty IC₅₀ v extraktech rozmarýnu a oregana připravených extrakcí při různých teplotách, a to při 80 a 95 °C. Při vyšší teplotě extrakce byly ve většině stanovení zjištěny vyšší hodnoty celkového obsahu polyfenolů, antioxidační aktivity u obou použitých metod, DPPH i ABTS, i hodnot IC₅₀.

Klíčová slova: rozmarýn, oregano, polyfenoly, antioxidační aktivita, IC₅₀

ABSTRACT

The diploma thesis is in the theoretical part focused on characteristics of rosemary and oregano, their chemical composition, medicinal effects, antioxidant activity and usage. Antioxidants and methods of polyphenolic content and antioxidant activity determination are there also described. The practical part is focused on the analysis of total polyphenolic content, antioxidant activity (DPPH and ABTS methods) and the evaluation of the IC₅₀ values, in extracts of rosemary and oregano prepared by the extraction using the temperatures of 80 and 95 °C. At higher extraction temperature, higher levels of total polyphenols, antioxidant activity for both methods used, DPPH and ABTS, and IC₅₀ values were detected in most determinations.

Keywords: rosemary, oregano, polyphenols, antioxidant activity, IC₅₀

Ráda bych poděkovala vedoucí diplomové práce Ing. Soně Škrovánkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu a pomoc při zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala paním laborantkám za ochotu a pomoc při vykonávání praktické části diplomové práce.

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

OBSAH

OBSAH	8
ÚVOD	10
I. TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ROZMARÝN	12
1.1 SLOŽENÍ	14
1.2 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY.....	14
1.3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	14
1.4 VYUŽITÍ	15
2 OREGANO	17
2.1 SLOŽENÍ	18
2.2 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY.....	19
2.3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	19
2.4 VYUŽITÍ.....	19
3 ANTIOXIDANTY A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	21
3.1 ANTIOXIDANTY	21
3.2 STANOVENÍ POLYFENOLICKÝCH LÁTEK	21
3.3 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY.....	22
3.3.1 METODA VYUŽÍVAJÍCÍ DPPH	23
3.3.2 METODA POUŽÍVAJÍCÍ ABTS.....	23
II. PRAKTICKÁ ČÁST	25
4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	26
5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE	27
5.1 MATERIÁL	27
5.2 PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	28
5.3 CHEMIKÁLIE A ROZTOKY	29
6 METODIKA STANOVENÍ	30
6.1 PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ ROZMARÝNU A OREGANA	30
6.2 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ S FOLIN- CIOCALTEUOVÝM ČINIDLEM	30
6.2.1 KALIBRAČNÍ KŘIVKA KYSELINY GALLOVÉ	31
6.3 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	32
6.3.1 KALIBRAČNÍ KŘIVKA TROLOXU PRO STANOVENÍ DPPH	33
6.3.2 HODNOCENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY POMOCÍ IC ₅₀	34
6.4 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	34

6.4.1 KALIBRAČNÍ KŘIVKA TROLOXU KE STANOVENÍ ABTS	35
7 VÝSLEDKY A DISKUSE	37
7.1 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ	37
7.1.1 POROVNÁNÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ U VZORKŮ ROZMARÝNU PŘI RŮZNÉ TEPLOTĚ EXTRAKCE	37
7.1.2 POROVNÁNÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ U VZORKŮ OREGANA PŘI RŮZNÉ TEPLOTĚ EXTRAKCE	38
7.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	40
7.2.1 POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH U VZORKŮ ROZMARÝNU PŘI RŮZNÉ TEPLOTĚ EXTRAKCE	40
7.2.2 HODNOCENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY VZORKŮ ROZMARÝNU PROSTŘEDNICTVÍM HODNOT IC_{50} (METODA DPPH)	41
7.2.3 POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH U VZORKŮ OREGANA PŘI RŮZNÉ TEPLOTĚ EXTRAKCE	46
7.2.4 HODNOCENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY VZORKŮ OREGANA PROSTŘEDNICTVÍM HODNOT IC_{50} (METODA DPPH)	48
7.3 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	52
7.3.1 POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS U VZORKŮ ROZMARÝNU PŘI RŮZNÉ TEPLOTĚ EXTRAKCE	53
7.3.2 POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS U VZORKŮ OREGANA PŘI RŮZNÉ TEPLOTĚ EXTRAKCE	54
ZÁVĚR	56
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	58
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	64
SEZNAM OBRÁZKŮ	65
SEZNAM TABULEK.....	66

ÚVOD

Rozmarýn (*Rosmarinus officinalis L.*) i oregano (*Origanum vulgare*) se řadí do skupiny rostlin čeledi *Lamiaceae* neboli hluchavkovité rostliny. Jedná se o rostliny, které se vyznačují svojí typickou vůní a chutí. Díky svým organoleptickým vlastnostem bývají využívány v gastronomii jako koření při přípravě pokrmů i jako součást některých bylinných likérů. Už od nepaměti jsou byliny jako rozmarýn a oregano využívány na přípravu bylinných extraktů a výluhů. Kvůli obsahu celé řady významných obsahových složek, biologicky aktivních látek jako jsou silice, terpenoidní sloučeniny, trísloviny a flavonoidy, mají své využití v léčitelství na přípravu mastí, tinktur a nálevů čajů, dále mají využití v oblasti medicíny a kosmetiky. Uvedené biologicky aktivní látky jsou známé i díky jejich antioxidačnímu působení.

Rozmarýn je využíván v léčitelství, i medicíně, kvůli protizánětlivým, analgetickým, antimikrobiálním, antiparazitickým a protikřečovým účinkům. Dále je znám díky antidepresivnímu účinku, je tedy využíván při léčbě úzkostlivých stavů. Oregano je významné i díky svým antispasmodickým, protizánětlivým, antidepresivním, analgetickým, a kardioprotektivním účinkům. Bývá často využíváno při léčbě dýchacích a kožních infekcí, dále se hojně využívá při léčbě migrén. Jak rozmarýn, tak oregano vykazuje antioxidační účinek díky obsahu polyfenolických sloučenin.

Antioxidanty jsou v dnešní době velmi ceněné látky. Díky svému antioxidačnímu účinku vykazují vlastnosti, kterých bývá často využíváno v potravinářství a léčitelství. V potravinách antioxidanty zabraňují oxidaci nutričně významných látek, především lipidů. V lidském organismu zase antioxidanty zmírňují oxidační stres, vylučují volné radikály, které mohou negativně přispívat k vzniku a výskytu některých civilizačních onemocnění jako jsou kardiovaskulární nebo neurodegenerativní choroby.

Antioxidační aktivitu je možné stanovit experimentálně, a to chemickými metodami, které využívají zachytávání volných radikálů (DPPH, ABTS), metodami hodnotícími eliminaci lipidové peroxidace nebo metodami hodnotícími eliminaci kyslíkových radikálů (ORAC). Antioxidační účinky jsou ovlivnitelné mnoha faktory, jako např. teplotou extrakce, využitím extrakčního činidla a dalšími podmínkami izolace těchto látek z bylin.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ROZMARÝN

Rozmarýn (*Rosmarinus officinalis*) je bylina, která se řadí do skupiny rostlin čeledi *Lamiaceae* neboli hluchavkovité rostliny. Tyto rostliny jsou klasifikovány jako jednoleté, dvouleté či vytrvalé byliny, keře, polokeře či stromy. Čeleď hluchavkovité náleží mezi semenné a dvouděložné rostliny. Rostliny této čeledi patří mezi silně aromatické, za vhodných podmínek bývají listy často vybaveny siličnými žlázkami, které vydávají aromatickou vůni [1, 2, 3].

Květy bývají shlukovány v lichopřesleny, u některých rostlin mohou být květy jednotlivě nebo ve vrcholíku. Nejčastěji bývají květy oboupohlavné, souměrné se srostlým kalichem i korunou. Plody hluchavkovitých rostlin bývají zejména tvrdky [1, 4].

Rozmarýn lékařský patří v rámci klasifikace do:

Třída vyšší dvouděložné rostliny - *Rosopsida*

Řád hluchavkotvaré - *Lamiales*

Čeleď hluchavkovité - *Lamiaceae* Lindl.

Rod rozmarýn - *Rosmarinus* L.

Druh rozmarýn lékařský - *Rosmarinus officinalis* L.

Lidové názvy: rozmarýnka, mořská rosa, posvátný keř, merdov



Obrázek 1: *Rosmarinus officinalis* [5]

Je to stálezelený aromatický polokeř, který bývá 50-150 cm vysoký se vzpřímeným stonkem, který je ve spodní části zdřevnatělý. Větve jsou hranaté, pevné a vzpřímené. Listy jsou přisedlé, tuhé, na okraji ohnuté směrem dolů, jsou šedozelené barvy. Rozmarýn má květy uspořádané v lichopřeslenech, jsou modré až fialové barvy. Plodem jsou tvrdky. Období květu rozmarýnu v České republice je od června do září [1, 6, 7].

Tato rostlina je původem z jihozápadní Evropy, v České republice je pěstována, protože je schopna se přizpůsobit místním podmínkám. Rozmarýn roste při různých klimatických podmínkách, dobře snáší suché a teplé počasí, roste na různých druzích půdy, snese i půdu, která je chudá, písčitá a kamenitá. Rozmarýn toleruje mírnou zimu, ale není schopen snést teplotu pod $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přezimovat může ale i při teplotě do $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Rozmarýn může být rozmnožován pomocí semen, ale i pomocí řízků. Sklizeň rozmarýnu probíhá třikrát až čtyřikrát do roka. Mezi nejčastější škůdce rozmarýnu patří molice, rostlina může být napadena i padlím. Mezi optimální kultivační podmínky patří otevřená, slunná pozice s dobrou drenáží, vhodné pH, které by se mělo pohybovat kolem neutrálního pH (pH 7-7,8) [8, 9].

Rozmarýn lékařský je členěn na tři poddruhy, a to: *Rosmarinus officinalis* subsps. *officinalis*, *Rosmarinus officinalis* subsps. *palaui malag* a *Rosmarinus officinalis* subsps. *valentinus ferrer*, tyto poddruhy byly rozčleněny podle toho, ze které země rozmarýn lékařský původně pochází, poddruhy se od sebe mírně liší především díky svému složení [8, 9].



Obrázek 2: Rozmarýn pěstovaný v květináči [10]

1.1 Složení

Rozmarýn obsahuje celou řadu biologicky aktivních látek, mezi které patří flavonoidy, např. diosmetin, diosmin, luteolin, hispuidin, nepetin. K dalším významným fenolickým látkám rozmarýnu patří kyselina kávová, chlorogenová, neochlorogenová, rozmarýnová a labiatová. Obsahuje také diterpeny jako rosmanol, izorosmanol, karnosol a karnosolová kyselina, dále triterpeny, kyselinu ursolovou, α -amyrin a β -amyrin. Rozmarýn obsahuje také trísloviny a silice jako cineol, borneol, bornylacetát, kafr, kamfen, limonen aj. [3, 11].

1.2 Zdravotní účinky

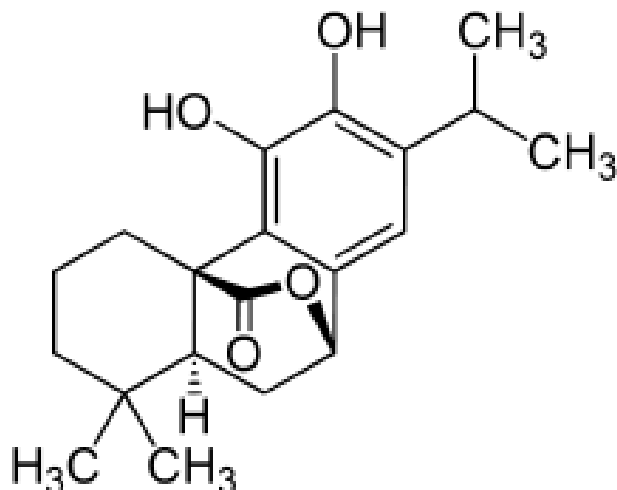
Je uváděno, že rozmarýn působí protizánětlivě, analgeticky, antimikrobiálně a antiparaziticky. Nejčastěji bývá využíván k léčbě zažívacích potíží, revmatismu a kožních obtíží. Má protikřečové a dezinfekční účinky. Rozmarýn má značný vliv na nervový systém, je znám antidepresivním a anxiolytickým účinkem. Potlačuje pocit úzkosti a odstraňuje psychické napětí. V rozmarýnu obsažené látky chrání nervové buňky před intoxikací a před kyslíkovou nedostatečností [11, 12, 13].

Pro medicínální využití je z rozmarýnu používán květ a listy. V kosmetice je rozmarýn často využíván na přípravu mastí a tinktur, rozmarýn je také využíván jako koření při přípravě pokrmů a bývá i součástí některých bylinných likérů [11, 12, 13].

1.3 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita rozmarýnu je vykazována zejména díky obsahu fenolických diterpenů, a to karnosolu a kyseliny karnosové, které se podílí na této aktivitě až z 90 %. Tato aktivita je vykazována extrakty rozmarýnu a rozmarýnovým olejem, které jsou využívány jak pro medicínální léčbu, tak pro uchovávání údržnosti potravin [14, 15].

Fenolické sloučeniny jsou považovány za primární antioxidanty, protože reagují s lipidy a hydroxylovými radikály, aby z nich učinily stabilní produkty. Karnosol a kyselina karnosolová jsou známy svou schopností vychytávat peroxylové radikály a schopností podílet se na peroxidaci membránových lipidů [16].



Obrázek 3: Vzorec karnosolu [17].

Antioxidační aktivita rozmarýnu se může lišit podle použití extrakčního činidla. Značným aspektem, díky kterému je vykazována antioxidační aktivita, je vztah mezi diterpeny a radikál-vychytávající aktivitou. Mezi nejvýznamnější složky struktury rozmarýnu patří aromatické kruhy katecholové skupiny, tyto složky jsou zodpovědné za vychytávání radikálových iontů vzniklých jako důsledek oxidace [18].

1.4 Využití

Rozmarýn bývá často využíván v gastronomii, může být využíván čerstvý nebo sušený list. Nejčastější použití je při přípravě pokrmů v italské gastronomii. Rozmarýn má hořkou a svíravou chuť a typické rozmarýnové aroma. Z listů může být připravován bylinný čaj. Extrakty z rozmarýnu mají využití i v potravinářství pro prodloužení doby údržnosti a pro zajištění stability omega 3 mastných kyselin. Silice z rozmarýnu zabraňuje také peroxidaci lipidů při zmrazování masa a ryb. Díky své antimikrobiální aktivitě může být využívána silice z rozmarýnu při výrobě sýrů, protože potlačují růst mezofilních bakterií. [19, 20].



Obrázek 4: Sušený rozmarýn jako koření [21]

2 OREGANO

Oregano neboli dobromysl obecná, *Origanum vulgare*, je 25-70 cm vysoká vytrvalá aromatická bylina pěstovaná v celé Evropě. Oregano, podobně jako rozmarýn, je bylina, které se řadí do skupiny rostlin čeledi *Lamiaceae* neboli hluchavkovité rostliny. Původně pochází z jižní Evropy a jižní Asie. Dobromysl roste na slunných stráních a pasekách, jedná se o světlomilný a teplomilný druh rostliny. Listy mají vejčitý tvar, růžový až růzovofialový květ tvoří lichoklasy. Dobromysl kvete od června do září [22, 23].

Dobromysl obecná patří v rámci klasifikace do:

Třída vyšší dvouděložné rostliny - *Rosopsida*

Řád hluchavkotvaré - *Lamiales*

Čeleď hluchavkovité - *Lamiaceae Lindl.*

Rod dobromysl - *Origanum*

Druh dobromysl obecná – *Origanum vulgare*

Lidové názvy: Voněkklas, Červená lebeda, Mysl domácí, Dobrá mysl, Dobrotnice, Zimní majoránka, Dobráček, Divoká marjánka, Oregano, Oreganum, Origanum, Pamajorán.



Obrázek 5: *Origanum vulgare* [24]

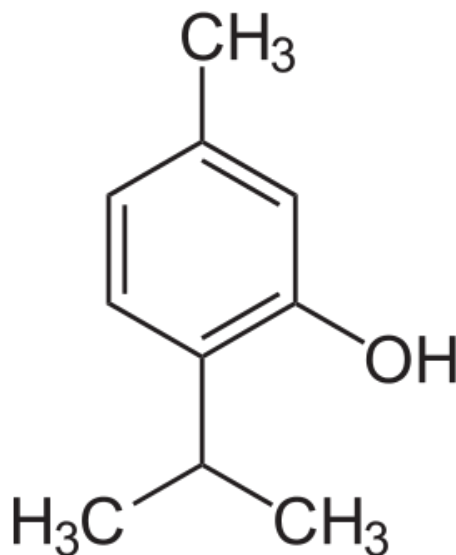
Rod *Origanum* zahrnuje více než 70 druhů a 49 poddruhů. Mezi nejznámější je řazeno řecké oregano *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, španělské oregano *Coridothymus capitatus* L.,

turecké oregano *Origanum inites* L., mexické oregano *Lippia graveolens*, dále *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*, *Origanum vulgare* ssp. *viridulum* a *Origanum vulgare* L.

Optimální teplota pro růst oregana je v rozmezí od 18 °C do 22 °C, kořenový systém dobře rozvinuté rostliny je schopný přežít teploty v rozmezí od -25 °C do 42 °C. Teploty pod 4 °C a nad 33 °C mohou ovlivnit růst rostliny. Při růstu je preferováno rozmezí pH od 6,0 do 8,0. V období, kdy se vyskytuje více slunečního světla, oregano obsahuje více silice a mění se také její složení. Rostlina je sklízena mechanicky v období plného květu, je stříhána 5 - 8 cm nad zemí, někdy je možné provést v jednom roce i druhou sklizeň [25].

2.1 Složení

Nejdůležitější obsahovou látkou oregana je silice, která obsahuje významné látky terpenické povahy. Mezi zástupce monoterpenů obsažených v dobromysli patří např.: thymol, karvakrol, p-cymen, linalool, obsahuje také cyklické monoterpeny 1,8,-cineol, α -terpineol a terpinen-4-ol. Seskviterpeny jsou představovány α a β -karyofylenem a spathulenolem. Dobromysl dále obsahuje třísloviny, hořčiny a flavonoidy jako např.: glykosidy luteolinu a apigeninu [23, 26, 27].



Obrázek 6: Vzorec thymolu [28].

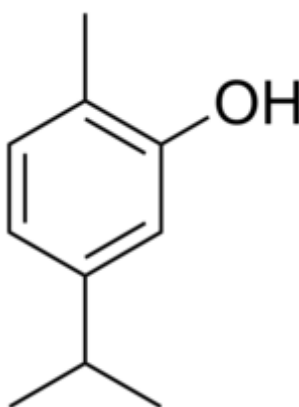
2.2 Zdravotní účinky

Dobromysl je nejčastěji podávána ve formě nálevu, má antispasmodické účinky, používá se při zažívacích obtížích (střevní záněty, nadýmání). Dobromysl také vykazuje protizánětlivé účinky, které jsou využívány při léčbě dýchacích infekcí a kožních infekcí. Využívá se hojně díky svým účinkům na psychiku, je účinná též při léčbě migrén [29, 30].

Dobromysl potlačuje produkci mikrobiálních toxinů a mykotoxinů. Dobromysl je dobře známá pro své analgetické, antiartritické, antialergické, antikarcinogenní, antidiabetické, kardioprotektivní, gastroprotektivní, hepatoprotektivní a neuroprotektivní účinky [25, 31].

2.3 Antioxidační aktivita

Antioxidační účinky jsou u oregana vykazovány zejména díky obsahu terpenických látek, a to hlavně díky thymolu, karvakrolu, a dále thymochinonu. Tyto látky pomáhají především stabilizaci lipidů před jejich autooxidací. Podle četných studií vykazují extrakty oregana nejefektivnější antioxidační aktivitu napříč aromatickými bylinami. Thymochinon slouží jako inhibitor peroxidace membránových lipidů [32].



Obrázek 7: Vzorec karvakrolu [33].

2.4 Využití

Oregano je běžně využíváno při přípravě mnoha jídel a je součástí některých druhů koření i díky blahodárným účinkům na trávení. V gastronomii je využíván list rostliny díky své typické chuti. Sušené oregano vykazuje silnější chuť než oregano čerstvé. Oregano má aromatickou, slabě hořkou chuť, která se liší svou intenzitou, přičemž kvalitní oregano může

způsobovat brnění jazyka. V gastronomii je využíváno zejména jako koření na pizzu, ale používá se také na pečenou, smaženou nebo grilovanou zeleninu, maso a ryby [34].



Obrázek 8: Sušené oregano jako koření [35]

3 ANTIOXIDANTY A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

3.1 Antioxidanty

Antioxidanty jsou klasifikovány jako látky, které zabraňují oxidaci v potravině či v lidském těle. Oxidace v potravině se může projevovat žluknutím tuků nebo jiných snadno se oxidujících látek, jako jsou například sensoricky aktivní látky. Oxidace v potravinách vyvolává řadu chemických změn, které mají negativní vliv na výživovou a sensorickou hodnotu. Oxidace v lidském těle způsobuje vznik volných radikálů, které mohou způsobovat oxidaci makrobiomolekul. Volné radikály přispívají ke vzniku řady onemocnění, mohou spolupůsobit v karcinogenním procesu, působit při kardiovaskulárních onemocněních, neurodegenerativních poruchách, ateroskleróze, zánětech, při stárnutí apod. [36, 37, 38].

Je doporučováno, aby antioxidanty přítomné v mnoha rostlinných a některých živočišných potravinách byly součástí lidské stravy, aby byl zajištěn přísun látek na ochranu organismu proti působení volných radikálů. Na základě početných studií je dokázána souvislost mezi množstvím antioxidačních látek obsažených v potravě a prevencí civilizačních onemocnění. Mezi potraviny vykazující antioxidační aktivitu je řazeno ovoce (acai, borůvky, ostružiny), zelenina, víno, některé druhy koření, bylin, vlašské ořechy, vysokoprocenní hořká čokoláda a káva [37].

Byliny vykazují antioxidační aktivitu v sušeném i čerstvém stavu. Jejich antioxidační vlastnosti mohou být ovlivněny mnoha faktory – druh byliny, klima při pěstování, složením půdy, hnojením, vhodnou dobou sklizně, odpovídajícím postupem při sušení bylin a také odpovídající přípravou extraktů z nich, použitím vhodného extrakčního činidla aj. [39].

3.2 Stanovení polyfenolických látek

Prvním krokem ke stanovení polyfenolických látek je extrakce vzorku. Extrakce může probíhat ve vzorcích čerstvých, zmrazených nebo sušených. Ke stanovení polyfenolických látek bývá nejčastěji využívána spektrofotometrická metoda s FCM (Folin-Ciocalteuovým činidlem). U této metody dochází k redukci směsi fosfomolybdenanu a fosfowolframanu díky obsahu fenolických sloučenin. Vznikající produkty vykazují modré zbarvení. Měření probíhá při vlnové délce 765 nm. Tato metoda slouží ke stanovení celkového obsahu polyfenolů v rostlinných extraktech a šťávách. Naměřené hodnoty bývají vyjádřeny na použitý standard, kyselinu gallovou jako její ekvivalent.

Další metodou pro stanovení polyfenolů je metoda PBM (metoda Price a Butlera). U této metody je prováděna oxidace anion fenolátu na radikál fenolátu, při tom dochází k redukci hexakynoželezitanu na hexakynoželeznatan a dochází k tvorbě berlínské modři.

Metoda s AAPM (4-aminoantipyrinem) bývá také používána pro stanovení polyfenolů. Princip metody je založen na tvorbě barevného komplexu mezi 4-aminoantipyrinem a fenoly za přítomnosti oxidačního činidla [40, 41].

V dnešní době bývá ke stanovení konkrétních polyfenolických látek využívána také metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie HPLC. Při jejím využití je nejčastěji preferována chromatografie na reverzní fázi s kolonami C18 a různými mobilními fázemi, a s UV/VIS detekcí, ale využívají se též hmotnostní (MS) detektory [42].

3.3 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita v rostlinných materiálech je závislá na obsahu jednotlivých látek vykazujících antioxidační účinky. Mezi látky vykazující antioxidační účinky jsou řazeny fenolické sloučeniny (karnosol, kyselina karnosová, thymol, karvakrol), vitaminy jako kyselina askorbová či tokoferoly a mnoho jiných látek. Tyto látky mezi sebou mohou dále interagovat, je tedy nutné antioxidační aktivitu stanovovat experimentálně v každém produktu v rámci celkového antioxidačního působení [43].

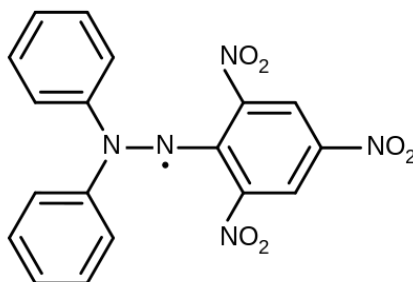
Metody stanovení antioxidační aktivity využívají stanovení celkového antioxidačního působení, kde je vykazována schopnost vzorku eliminovat radikály. Děje se tak, protože přírodní antioxidanty jsou součástí směsí, jejichž složky mohou navzájem interagovat, např. vykazovat synergii [44].

Antioxidační látky přijímané do lidského organismu podléhají metabolickým změnám a jejich účinek je tedy ovlivněn mírou resorpce daných látek [44].

Pro stanovení antioxidační aktivity se nejčastěji využívají chemické metody založené na zachytávání volných radikálů. Mezi tyto metody jsou řazeny metody vylučování syntetických radikálů (DPPH, ABTS), metoda hodnotící eliminaci lipidové peroxidace a metoda hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů (ORAC) [44].

3.3.1 Metoda využívající DPPH

Metoda využívající DPPH spočívá v reakci testovaného vzorku s obsaženými antioxidačními látkami s činidlem difenylpikrylhydrazylem – DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), který reprezentuje stabilní volný radikál [44].



Obrázek 9: Struktura DPPH [45].

Díky své struktuře je DPPH schopno přijímat atom vodíku. Reakce je provázena redukcí radikálu a dochází ke vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Reakce je sledována pomocí spektrofotometrického stanovení při vlnové délce 517 nm, kdy dochází k poklesu absorbance. Pokles absorbance je sledován po uplynutí reakční doby. Antioxidační aktivita bývá vyjadřována na standard jako ekvivalent Troloxu nebo kyseliny askorbové [46].

DPPH vytváří v methanolu intenzivní fialové zbarvení směsi, které v přítomnosti antioxidantu bývá odbarvováno až do žluta. Odbarvení bývá snadno pozorovatelné pouhým okem. Rychlost a intenzita odbarvení přímo úměrně závisí na antioxidační aktivitě zkoumané látky a bývá měřena spektrofotometricky při vhodné vlnové délce [47].

3.3.2 Metoda používající ABTS

Metoda používající ABTS využívá schopnost vzorku, který obsahuje antioxidační látky, zhaset kation-radikál $ABTS^{\cdot+}$ (2,2.-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)). V reakční směsi je kation-radikál $ABTS^{\cdot+}$ generován oxidací ABTS různými sloučeninami, chemicky např. peroxodisíranem draselným. Extrakt vzorku s antioxidanty je možno přidat do reakční směsi již při generování radikálu, většinou však bývá přidáván k již vytvořenému radikálu. Zhasení radikálu je charakterizováno změnou absorpčního spektra, kdy dochází

k odbarvení reakční směsi. Tato reakce je sledována spektrofotometricky při vlnové délce 734 nm [43].

Metoda ABTS je vhodná pro hydrofilní i lipofilní antioxidanty. Tato metoda může být omezena díky malé selektivitě při reakci s donory vodíkových atomů. Metoda dovoluje změřit antioxidační aktivitu řady fenolů, karotenoidů a některých antioxidantů obsažených v plazmě [48].

Výsledná antioxidační aktivita je srovnávána s aktivitou syntetické látky Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina). Metoda bývá někdy označována jako metoda TEAC, což je Trolox equivalent antioxidant capacity [43].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity třemi metodami v extraktech rozmarýnu a oregana.

V teoretické části práce bylo cílem charakterizovat rozmarýn a oregano, popsat látky vykazující antioxidační aktivitu a také jednotlivé metody stanovení antioxidační aktivity a polyfenolů.

V praktické části práce bylo cílem stanovit u vodných extraktů sušeného a čerstvého rozmarýnu a oregana celkový obsah polyfenolických látek spektrofotometrickou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem a zároveň určit antioxidační aktivitu s využitím spektrofotometrické metody pomocí DPPH a ABTS činidla a také zjištěním hodnot IC_{50} .

5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

5.1 Materiál

Ke zpracování praktické části diplomové práce byly využity sušené a čerstvé vzorky rozmarýnu uvedené v tabulce 1 a oregana uvedené v tabulce 2, celkem 21 vzorků bylin. Vzorky byly zakoupeny v tržní síti, případně získány ze soukromého pěstitelství.

Tabulka 1: Analyzované vzorky rozmarýnu

Číslo vzorku	Název vzorku	Forma vzorku	Země původu	Trvanlivost vzorku/rok sklizně
RS1	Rozmarýn	Sušený	Česká republika	8. 4. 2024
RS2	Rozmarýn mletý	Sušený	Rakousko	24. 11. 2022
RS3	Rozmarýn	Sušený	Česká republika	20. 6. 2023
RS4	Rozmarýn	Sušený	Česká republika	6. 8. 2022
RS5	Rozmarín	Sušený	Slovenská republika	16. 12. 2022
RS6	Rozmarýn drcený	Sušený	Česká republika	Červen 2024
RS7	Rozmarýna list	Sušený	Slovenská republika	25. 6. 2022
RC1	Rozmarýn	Čerstvý	Česká republika	2021
RC2	Rozmarýn	Čerstvý	Česká republika	2021
RC3	Rozmarýn	Čerstvý	Česká republika	2021

Tabulka 2: Analyzované vzorky oregana

Číslo vzorku	Název vzorku	Forma vzorku	Země původu	Trvanlivost vzorku/rok sklizně
OS1	Oregano	Sušené	Česká republika	8. 5. 2023
OS2	Oregano drhnuté	Sušené	Rakousko	18. 11. 2023
OS3	Oregano	Sušené, řezané	Česká republika	30. 5. 2023
OS4	Oregáno	Sušené	Česká republika	25. 8. 2022
OS5	Oregano	Sušené	Slovenská republika	15. 12. 2022
OS6	Oregáno	Sušené	Česká republika	Listopad 2023
OS7	Oregáno drhnuté	Sušené	Česká republika	Srpen 2024
OS8	Dobromysl nat'	Sušené	Slovenská republika	28. 6. 2023
OS9	Dobromysl obecná	Sušené	Slovenská republika	30. 11. 2022
OC1	Oregano	Čerstvé	Česká republika	2021
OC2	Oregano	Čerstvé	Česká republika	2021

5.2 Přístroje a pomůcky

- analytické váhy Voyager PRO VP214C (OHAUS Corporation, Pine Brook USA)
- spektrofotometr WPA S1200+ (Bio-chrom, s.r.o., SK)
- filtrační papíry KA4 (LABICOM, ČR)
- teploměr
- laboratorní sklo

5.3 Chemikálie a roztoky

- ethanol p.a. (Penta, ČR)
- acetátový pufr (pH = 5,5), (Lukeš, ČR)
- uhličitan sodný (Lukeš, ČR)
- DPPH (Sigma Aldrich, Francie)
- methanol p.a. (Lachner, s.r.o., ČR)
- ABTS (Sigma Aldrich, Francie)
- peroxidisíran draselný (Lachner, s.r.o., ČR)
- kyselina octová (Penta, ČR)
- octan sodný (Penta, ČR)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Penta, ČR)
- Trolox (Sigma Aldrich, Francie)
- kyselina gallová (Sigma Aldrich, Francie)
- demineralizovaná voda

6 METODIKA STANOVENÍ

6.1 Příprava extraktů rozmarýnu a oregana

Obsah celkových polyfenolických látek a antioxidační aktivita metodou DPPH a ABTS byly stanovovány ve vodných extraktech čerstvých a sušených vzorků rozmarýnu a oregana při teplotách louhování 80 °C a 95 °C.

U sušených vzorků rozmarýnu a oregana bylo naváženo 1,6 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Vzorek byl kvantitativně převeden do Erlenmeyerovy baňky a byl extrahován se 100 ml demineralizované vody o teplotě 80 °C a 95 °C na třepačce, po ochlazení na laboratorní teplotu byl zfiltrován přes filtrační papír a dle potřeby byl dále ředěn a použit k analýze.

U čerstvých vzorků rozmarýnu a oregana bylo naváženo 2 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Vzorek byl před vážením rozkrájen na menší části. Navážka vzorku byla kvantitativně převedena do Erlenmeyerovy baňky. K navážce bylo přidáno 100 ml demineralizované vody o teplotě 80 °C a 95 °C, a vzorek byl extrahován 15 minut na třepačce. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl zfiltrován přes filtrační papír a dle potřeby byl dále ředěn a použit k analýze.

6.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem

Stanovení celkového obsahu polyfenolů bylo prováděno s extrakty vzorků rozmarýnu a oregana připravených dle kapitoly 6.1.

Na stanovení celkového obsahu polyfenolů byla, po předchozím experimentálním ověření a modifikaci s využitím publikovaných prací [49], použita následující směs:

- 2 ml 10% Folin-Ciocalteuova činidla
- 0,2 ml vzorku

Reakční směs byla napipetována do zkumavek, zazátkována, promíchána a ponechána po dobu 5 minut ve tmě při laboratorní teplotě. Poté byly do směsi přidány 2 ml 10% uhličitanu sodného, směs byla opětovně promíchána a ponechána ve tmě po dobu 15 minut při laboratorní teplotě. Po uplynutí reakční doby byla změřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm proti slepému vzorku.

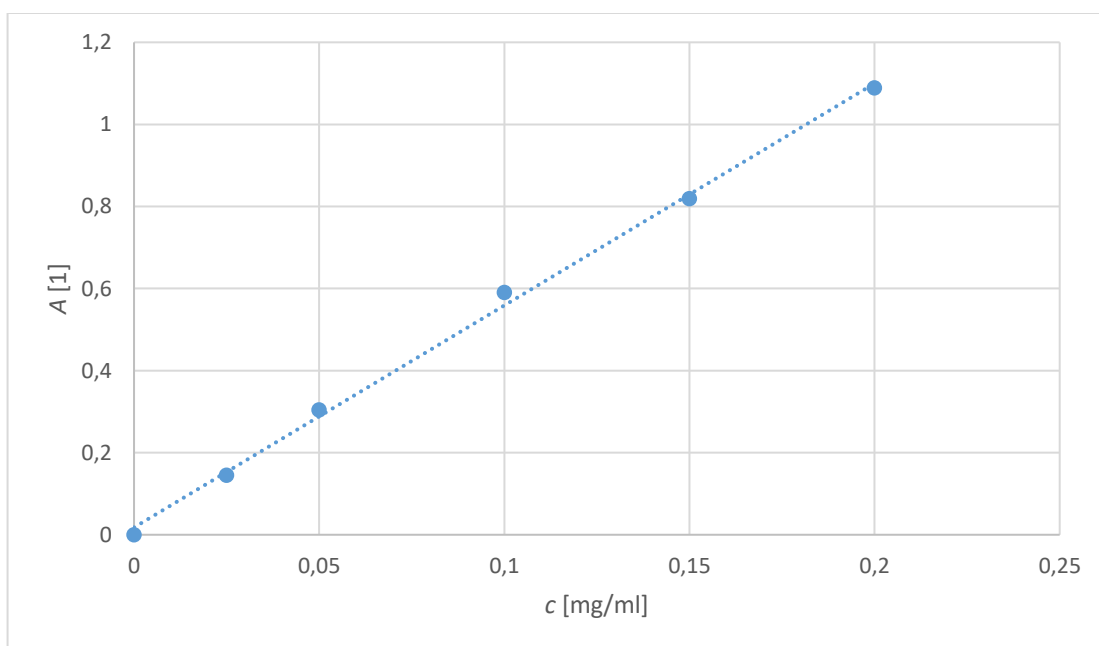
Slepý pokus byl připraven obdobně jako reakční směs se vzorkem, ale místo vzorku byla přidána demineralizovaná voda.

Celkový obsah polyfenolů v extraktu byl přepočítán na standard, kterým byla kyselina gallová. Výsledek byl následně vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v miligramech na gram vzorku.

6.2.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Pro sestavení kalibrační křivky byl použit roztok kyseliny gallové o koncentraci 0,2 mmol/l. Následným ředěním zásobního roztoku na koncentrace 0,15; 0,10; 0,05 a 0,025 mmol/l byly připraveny jednotlivé kalibrační roztoky. Příprava reakčních směsí a měření absorbance bylo provedeno způsobem, který je uveden v kapitole 6.2, kalibrační roztoky nahradily extrakt vzorku.

Z naměřených hodnot byla sestavena kalibrační křivka jako závislost absorbance na koncentraci kalibrační roztoků kyseliny gallové. Byla zjištěna rovnice lineární regrese.



Obrázek 10: Kalibrační křivka kyseliny gallové

Rovnice regrese stanovená z kalibrační křivky kyseliny gallové má tvar:

$$y = 5,4101 * x + 0,0178$$

y – hodnota absorbance [1]

x – hodnota koncentrace kyseliny gallové [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9979$.

6.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita metodou DPPH byla stanovována v extraktech rozmarýnu a oregana připravených postupem uvedeným v kapitole 6.1.

Ke stanovení byl použit roztok DPPH o koncentraci 0,2 mmol/l. Pro stanovení antioxidační aktivity byla do zkumavek pipetována reakční směs, která byla nejdříve experimentálně ověřena a modifikována s využitím publikovaných prací [49, 50], o složení:

- 2,75 ml roztoku DPPH
- 1,5 ml acetátového pufru o pH = 5,5
- 0,15 ml vzorku

Zkumavky byly opatřeny zátkou, protřepány a ponechány 1 hodinu ve tmě při laboratorní teplotě. Jakmile uplynula reakční doba, byla na spektrofotometru změřena absorbance při vlnové délce 517 nm proti slepému pokusu.

Slepý pokus byl připraven ve stejném složení jako reakční směs, kdy místo roztoku DPPH byl použit ethanol.

Pro stanovení hodnoty inaktivace, byla změřena i absorbance kontrolního vzorku. Složení kontrolního vzorku bylo:

- 2,75 ml roztoku DPPH
- 1,5 ml acetátového pufru o pH = 5,5
- 0,15 ml demineralizované vody

Z naměřených hodnot absorbance daného extraktu a kontrolního vzorku byla vypočítána hodnota inaktivace podle vztahu:

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

I – hodnota inaktivace [%]

K – absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 517 nm

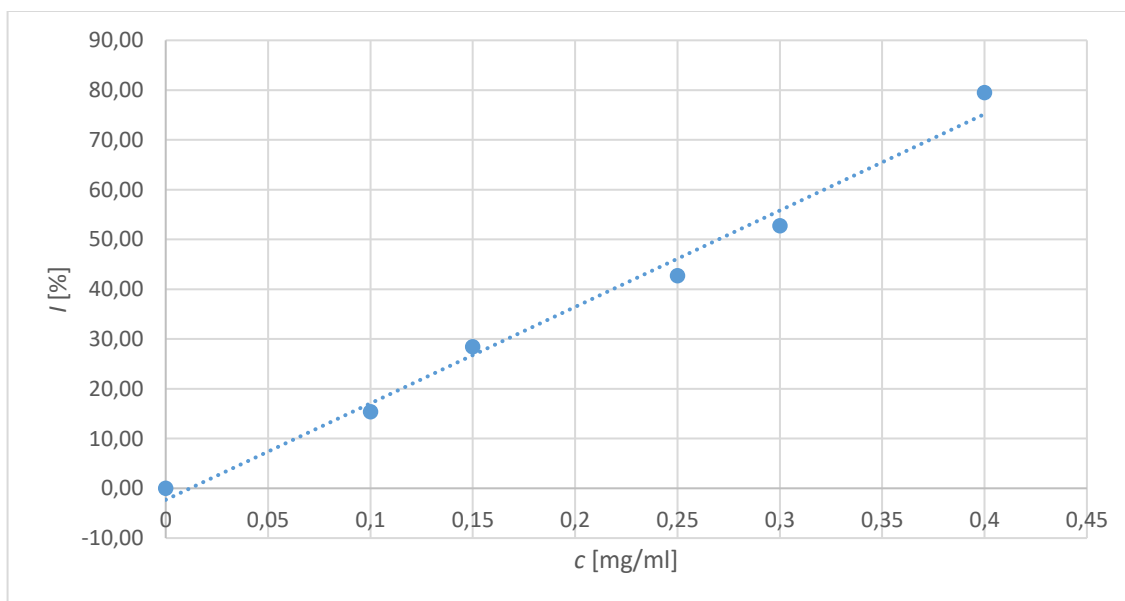
A – absorbance extraktu rozmarýnu/oregana při vlnové délce 517 nm

Antioxidační aktivita byla přepočítána z hodnot inaktivace na standard Troloxu a vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

6.3.1 Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení DPPH

Pro stanovení kalibrační křivky byl připraven zásobní roztok Troloxu o koncentraci 0,4 mg/ml. Ze zásobního roztoku byly ředěním připraveny kalibrační roztoky Troloxu o koncentracích 0,3; 0,25; 0,15; 0,1 mg/ml. Příprava reakčních směsí, měření absorbance při 517 nm i výpočet inaktivace byly provedeny stejným postupem, který je uveden v kapitole 6.3, vzorek extraktu rozmarýnu/oregana byl nahrazen jednotlivými kalibračními roztoky.

Z vypočtených hodnot inaktivace byla sestrojena kalibrační křivka jako závislost inaktivace na koncentraci kalibračních roztoků Troloxu. Body kalibračního grafu byly proloženy přímkou a byla zjištěna rovnice lineární regrese.



Obrázek 11: Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Rovnice regrese zjištěná z kalibrační křivky Troloxu má tvar:

$$y = 193,72 * x - 2,3105$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace Troloxu c [g/l]

Hodnota spolehlivost $R^2 = 0,9874$.

6.3.2 Hodnocení antioxidační aktivity pomocí IC_{50}

Ke stanovení antioxidační aktivity pomocí zjištění hodnot IC_{50} (metodou DPPH) byly použity extrakty rozmarýnu a oregana, které byly podle potřeby ředěny na různé koncentrace na základě intenzity antioxidační reakce, konkrétně v rozmezí 90 – 5 %.

Pro stanovení hodnot inaktivace pro jednotlivé koncentrace byly měřeny vzorky zředěných extraktů rozmarýnu a oregana postupem uvedeným v kapitole 6.3 s danou reakční směsí.

6.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Antioxidační aktivita metodou ABTS byla stanovována v extraktech rozmarýnu a oregana připravených dle postupu uvedeného v kapitole 6.1.

Ke stanovení byla použita reakční směs, která byla nejdříve experimentálně ověřena a modifikována s využitím publikovaných prací [49, 50]:

- roztok ABTS (3,5 mmol/l) a peroxidisíran draselný (0,06 mol/l) v poměru 50:1, roztok byl ponechán 16 hodin ve tmě při pokojové teplotě
- octanový pufr o pH 4,3 byl smíchán s roztokem vygenerovaného radikálu kationtu ABTS v poměru 39:1 – vzniklá reakční směs

Do zkumavek bylo pipetováno 8 ml reakční směsi a 0,1 ml extraktu rozmarýnu nebo oregana. Směs ve zkumavce byla promíchána a ponechána 30 minut ve tmě při laboratorní teplotě. Po uplynutí reakční doby byla změřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 734 nm. Jako slepý pokus byl použit octanový pufr.

Pro výpočet hodnoty inaktivace bylo nutné změřit i hodnotu absorbance připravené reakční směsi.

Z naměřených hodnot absorbance extraktu a reakční směsi bez vzorku byla vypočítána hodnota inaktivace dle vztahu:

$$I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} * 100$$

I – hodnota inaktivace [%]

A_0 – absorbance reakční směsi bez vzorku při vlnové délce 734 nm

A_1 – absorbance extraktu rozmarýnu/oregana při vlnové délce 734 nm

Antioxidační aktivita byla přepočítána z hodnot inaktivace na standard Troloxu a vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

6.4.1 Kalibrační křivka Troloxu ke stanovení ABTS

Pro sestavení kalibrační křivky Troloxu byl připraven zásobní roztok o koncentraci 0,5 g/l. Ředěním zásobního roztoku na koncentrace 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 g/l byly připraveny kalibrační roztoky. Příprava reakčních roztoků, měření absorbance a výpočet hodnoty inaktivace byl proveden obdobně jako v kapitole 6.4.

Na základě vypočítaných hodnot inaktivace byla sestavena kalibrační křivka jako závislost úbytku absorbance na koncentraci kalibračních roztoků Troloxu. Body kalibračního grafu byly proloženy přímkou a byla zjištěna rovnice lineární regrese.

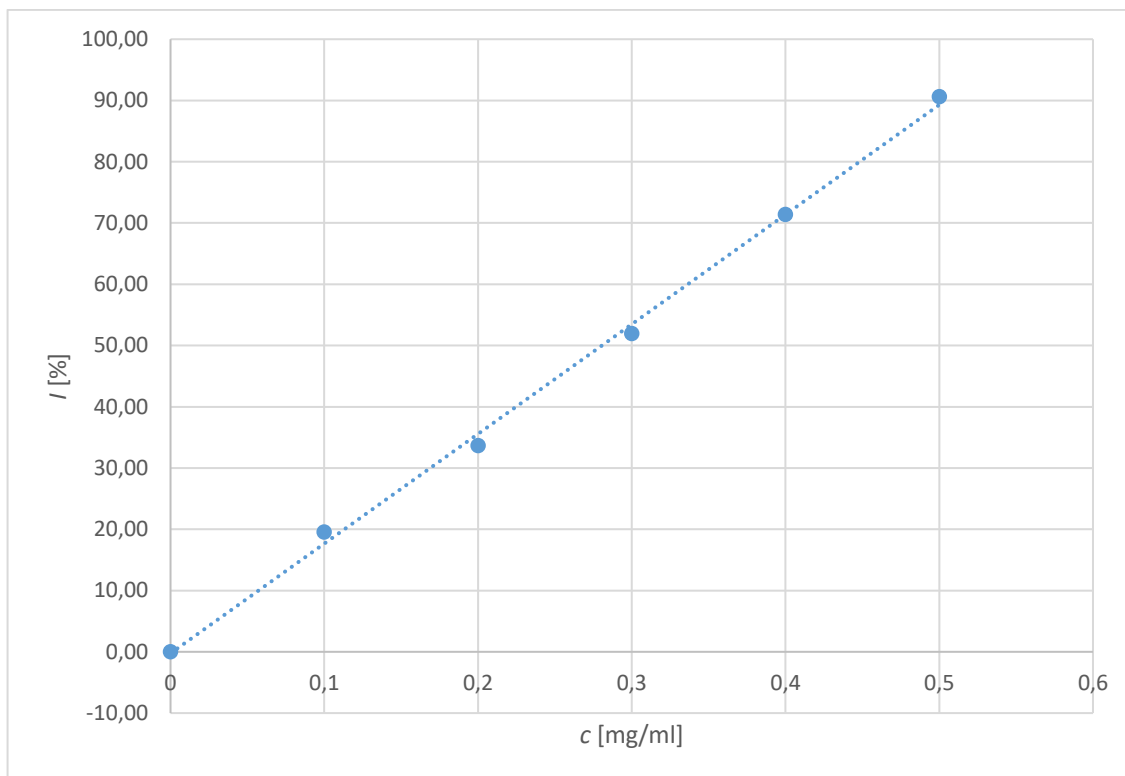
Rovnice regrese stanovená z kalibrační křivky Troloxu má tvar:

$$y = 179,06 * x - 0,2457$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace Troloxu c [g/l]

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9980$.



Obrázek 12: Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

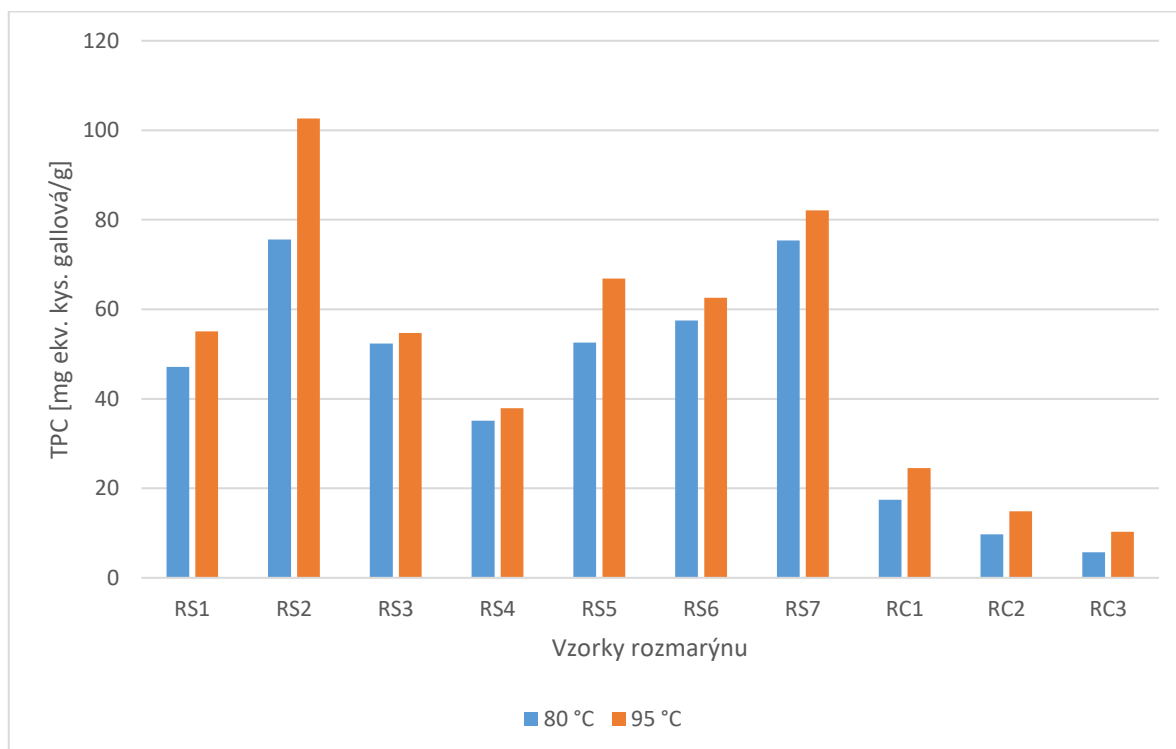
7.1 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Celkový obsah polyfenolů byl stanovován Folin-Ciocalteuovým činidlem u 20 extraktů vzorků sušeného a čerstvého rozmarýnu a 22 extraktů vzorků sušeného a čerstvého oregana dle postupu uvedeného v kapitole 6.2. Zjištěné hodnoty byly přepočítány na standard kyseliny gallové a byly vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové v miligramech na gram vzorku.

7.1.1 Porovnání celkového obsahu polyfenolů u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce

Extrakty sušených i čerstvých vzorků rozmarýnu byly připravovány pomocí extrakce v demineralizované vodě při dvou teplotách, a to 80 °C a 95 °C. Bylo připraveno 10 extraktů rozmarýnu, z toho 7 vzorků sušeného rozmarýnu a 3 vzorky čerstvého rozmarýnu.

V grafu na obrázku č. 13 jsou uvedeny výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů (TPC) při daných teplotách.



Obrázek 13: Porovnání TPC u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce

Hodnoty celkového obsahu polyfenolů u sušených vzorků rozmarýnu extrahovaných při teplotě 80 °C byly v rozmezí od 47,10 do 75,58 mg ekv. KG (kyseliny gallové)/g s průměrem 55,51 mg/g. U vzorků extrahovaných při teplotě 95 °C byly zjištěny hodnoty v širším v intervalu, od 37,86 do 102,65 mg/g s vyšším průměrem 65,98 mg/g. U čerstvých vzorků byl TPC při extrakci s teplotou 80 °C v intervalu hodnot do 17,45 mg/g s průměrem 10,97 mg/g, u vzorků při teplotě extrakce 95 °C to bylo opět širší rozmezí s vyššími zjištěnými hodnotami, od 10,32 do 24,50 mg/g, s průměrem 16,55 mg/g.

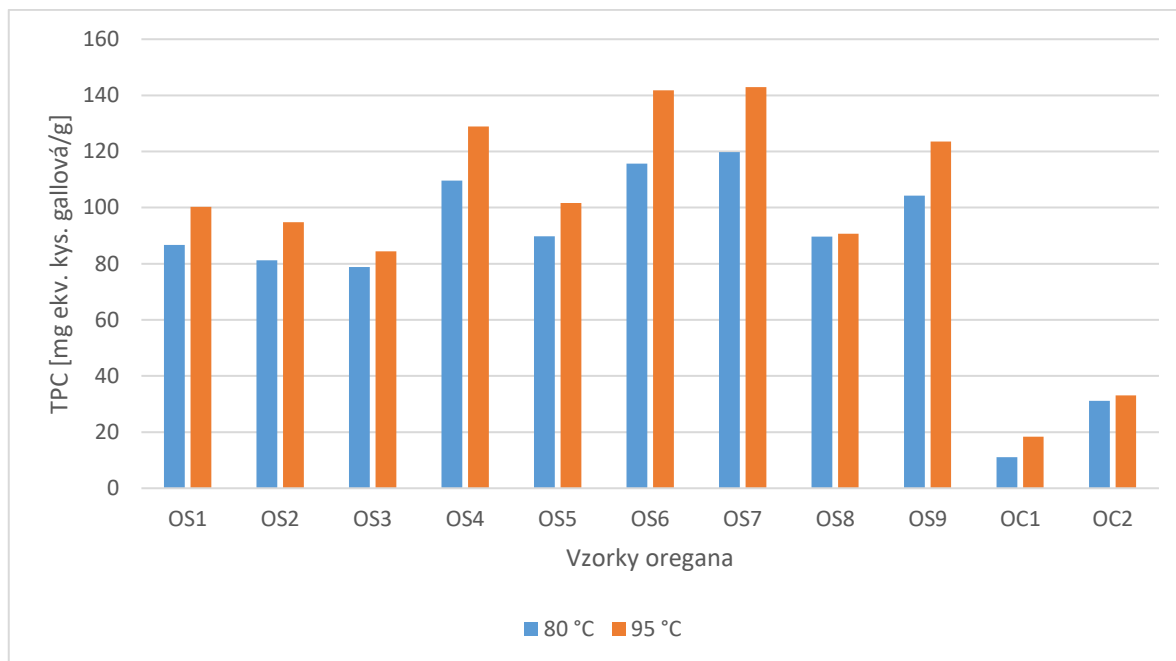
Z výsledků je patrné, že u čerstvých vzorků rozmarýnu (vzorky RC1, RC2, RC3) jsou hodnoty celkového obsahu polyfenolů nižší než u sušeného rozmarýnu, což je dáno tím, že čerstvé vzorky mají vysoký podíl vody, tedy v přepočtu mnohem méně sušiny než u sušených vzorků, co se projeví i na výsledku TPC.

Při porovnání TPC u všech analyzovaných vzorků rozmarýnu při obou teplotách extrakce je zřejmé, že vyšší teplota extrakce, 95 °C, se projevila mírně vyšším množstvím polyfenolů, a to nárůst v průměru o 28 %. Z hlediska množství vyextrahovaných polyfenolických látek je tedy výhodnější připravovat výluh z rozmarýnu při vyšší teplotě.

Yesil-Celiktas a kol. [51] zjistili analýzou metanolových vzorků rozmarýnu celkový obsah polyfenolů v rozmezí od 20,3 do 115,6 mg ekv. KG/g vzorku. Námi stanovené hodnoty odpovídají danému rozmezí, co se sušených vzorků rozmarýnu týče. Vzorky čerstvého rozmarýnu vykazovaly o něco nižší obsah celkových polyfenolů. K extrakci bylo ale použito jiné extrakční činidlo a lišily se i podmínky extrakce, tedy výsledný obsah polyfenolů mohl být ovlivněn těmito podmínkami.

7.1.2 Porovnání celkového obsahu polyfenolů u vzorků oregana při různé teplotě extrakce

Extraktý sušených i čerstvých vzorků oregana byly připravovány pomocí extrakce v demineralizované vodě při dvou teplotách 80 °C a 95 °C. Bylo připraveno 11 extraktů oregana, z toho 9 vzorků sušeného oregana a 2 vzorky čerstvého oregana. V grafu na obrázku č. 14 jsou uvedeny výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů (TPC).



Obrázek 14: Porovnání TPC u vzorků oregana při různé teplotě extrakce

Hodnoty celkového obsahu polyfenolů u sušených vzorků oregana extrahovaných při teplotě 80 °C byly v rozmezí od 78,89 do 119,83 mg ekvivalentu KG/g s průměrem 97,27 mg /g, u vzorků extrahovaných při teplotě 95 °C byly opět, podobně jako u rozmarýnu, v širším intervalu 84,42 - 142,97 mg/g s opět vyšším průměrem 112,13 mg/g. U čerstvých vzorků byly hodnoty TPC při extrakci s teplotou 80 °C v intervalu 11,07 až 31,17 mg/g s průměrem 21,12 mg/g, u vzorků extrahovaných při teplotě 95 °C byly tentokrát v užším rozmezí od 18,41 do 33,06 mg/g, ale s vyšším průměrem (25,73 mg/g).

U čerstvých vzorků oregana (vzorky OC1 a OC2) jsou hodnoty celkového obsahu polyfenolů opět nižší než u sušeného oregana, ze stejných důvodů, které byly uvedeny v předchozí kapitole.

Při porovnání TPC u všech analyzovaných vzorků oregana při různé teplotě extrakce je patrné, že při vyšší teplotě extrakce se opět mírně zvýšilo i množství polyfenolů, průměrně o 18 %. I v případě výluhů z oregana je výhodnější, vzhledem k zjištěnému množství polyfenolů, připravovat extrakty při vyšší teplotě.

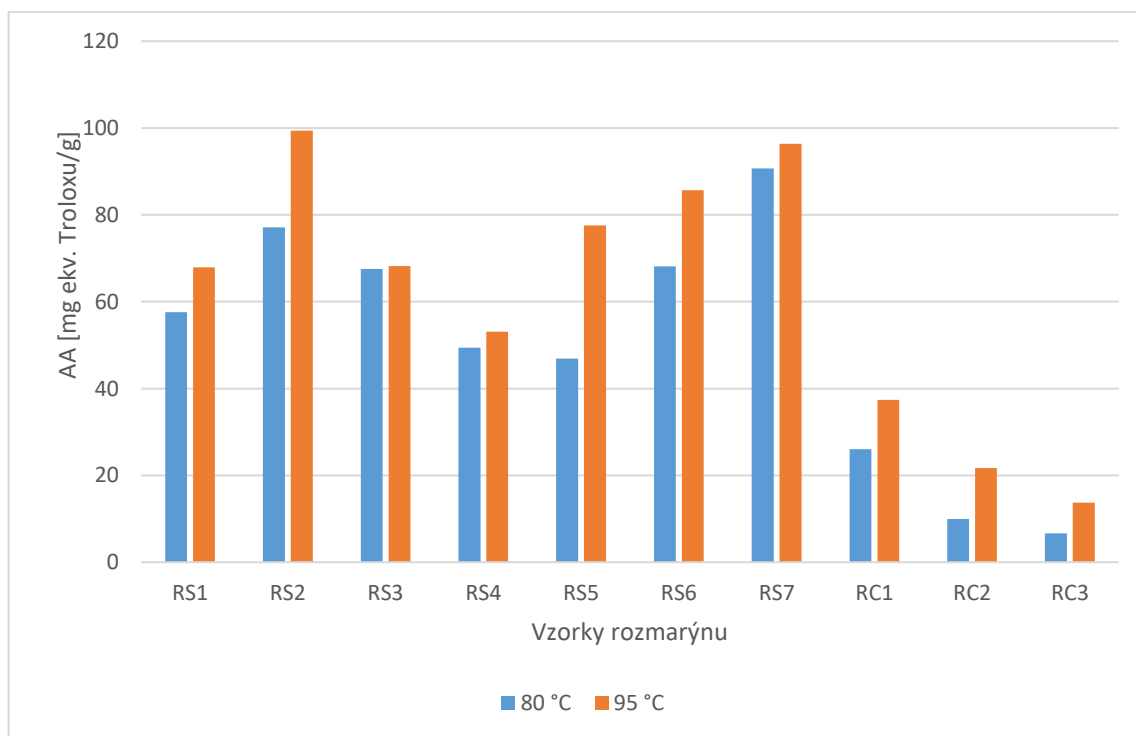
V práci Kaurinovic a kol. [52] byl stanoven celkový obsah polyfenolů ve vodném extraktu oregana na hodnotu 10,29 mg ekv. KG/g sušiny. Naše hodnoty jsou vyšší, což ale může být dáno efektivnějším extrakčním postupem.

7.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita (AA) metodou DPPH byla stanovována u 20 extraktů rozmarýnu v pěti různých koncentracích a u 22 extraktů oregana ve čtyřech různých koncentracích. Extrakty rozmarýnu i oregana byly připravovány při dvou různých teplotách destilované vody dle postupu uvedeného v kapitole 6.1. Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno dle postupu uvedeného v kapitole 6.3. Antioxidační aktivita extraktů rozmarýnu a oregana byla vypočítána z rovnice lineární regrese grafické závislosti inaktivace na koncentraci kalibračních roztoků troloxu a vyjádřena jako ekvivalent Troloxu v miligramech na gram vzorku.

7.2.1 Porovnání antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce

Extrakty sušených i čerstvých vzorků rozmarýnu byly připravovány pomocí extrakce v destilované vodě při teplotě 80 °C a 95 °C. Bylo připraveno 10 extraktů rozmarýnu, z toho 7 vzorků sušeného rozmarýnu a 3 vzorky čerstvého rozmarýnu. V grafu na obrázku č. 15 je uvedeno porovnání použitých teplot extrakce při stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH při dvou teplotách extrakce.



Obrázek 15: Porovnání AA metodou DPPH u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce

Hodnoty antioxidační aktivity metodou DPPH u sušených vzorků rozmarýnu extrahovaných při teplotě 80 °C byly v rozmezí od 46,89 do 90,68 mg ekvivalentu Troloxu (TE)/g vzorku s průměrem 65,33 mg/g. U vzorků extrahovaných při teplotě 95 °C byly hodnoty AA v intervalu od 53,11 do 99,41 mg/g s vyšším průměrem 78,32 mg/g. U čerstvých vzorků byla antioxidační aktivita, obdobně jako u stanovení polyfenolů v rozmarýnu, při extrakci s teplotou 80 °C v intervalu nízkých hodnot, konkrétně do 26 mg/g, s průměrem 14,21 mg/g, přičemž u vzorků extrahovaných při 95 °C byly opět hodnoty AA vyšší, od 13,73 do 37,41 mg/g, s téměř dvojnásobným průměrem 24,27 mg/g. U čerstvých vzorků rozmarýnu (RC1, RC2, RC3) jsou hodnoty antioxidační aktivity stanovené metodou DPPH opětovně nižší než u sušeného rozmarýnu, který neobsahuje téměř žádnou vlhkost, a tedy výsledné hodnoty odpovídají této skutečnosti.

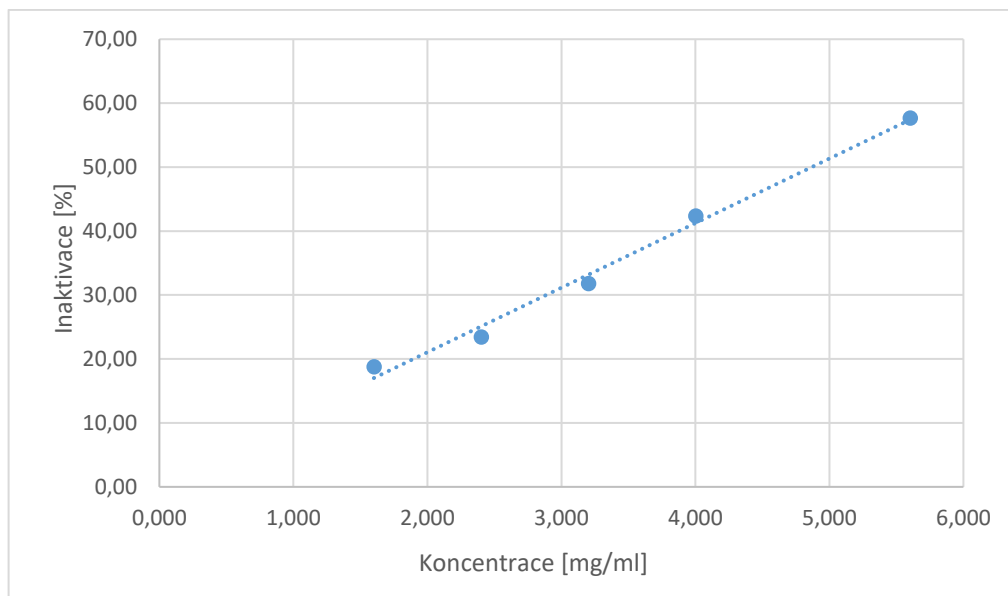
Při porovnání antioxidační aktivity metodou DPPH u všech analyzovaných vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce je patrné, že při vyšší teplotě extrakce, 95 °C, byla zjištěna metodou DPPH vyšší antioxidační aktivita o 42 %, a tedy výluhy rozmarýnu připravované při vyšší teplotě jsou antioxidačně intenzivnější.

Wojdyło a kol. [53] ve své práci stanovovali antioxidační aktivitu pomocí metody s DPPH činidlem, podobně jako v našem stanovení, ale výsledné hodnoty AA uvádějí v jiných jednotkách po přepočtu, jako 513 μM Troloxu/100 g sušiny vzorku.

7.2.2 Hodnocení antioxidační aktivity vzorků rozmarýnu prostřednictvím hodnot IC_{50} (metoda DPPH)

Hodnota inaktivace byla vyhodnocována u vzorků připravovaných z extraktů všech vzorků rozmarýnu při dvou různých teplotách extrakce. Extrakty byly pro stanovení dále ředěny dle potřeby na koncentraci 90-10 %.

Na obrázku č. 16 je zobrazen vzorový příklad křivky pro výpočet hodnoty IC_{50} u prvního vzorku rozmarýnu, RS1, při teplotě extrakce 80 °C. V tabulce č. 3 jsou uvedené rovnice regrese s vypočtenou hodnotou inaktivace IC_{50} pro všechny vzorky rozmarýnu extrahované při teplotě 80 °C.



Obrázek 16: Stanovení hodnoty IC_{50} u vzorku RS1 při teplotě 80 °C

Rovnice regrese zjištěná u křivky vzorku RS1 při teplotě 80 °C má tvar:

$$y = 10,095 * x + 0,8593$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace extraktu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9906$.

Vypočítaná hodnota inaktivace IC_{50} (dosazení hodnoty 50 % za hodnotu inaktivace I) je 4,87 mg/ml pro vzorek rozmarýnu RS1.

Tabulka 3: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků rozmarýnu extrahovaných při teplotě 80 °C

Číslo vzorku	Rovnice regrese	IC_{50} [mg/ml]
RS1	$y = 10,095 x + 0,8593$	4,87
RS2	$y = 14,425 x + 0,9294$	3,40
RS3	$y = 13,613 x - 5,2129$	4,06
RS4	$y = 7,5856 x + 5,5742$	5,86
RS5	$y = 13,023 x + 2,9585$	3,61

RS6	$y = 12,666 x + 0,2009$	3,93
RS7	$y = 14,655 x + 7,0509$	2,93
RC1	$y = 4,7315 x - 0,1441$	10,60
RC2	$y = 3,5927 x - 35,438$	23,78
RC3	$y = 1,3382 x - 3,2947$	39,83

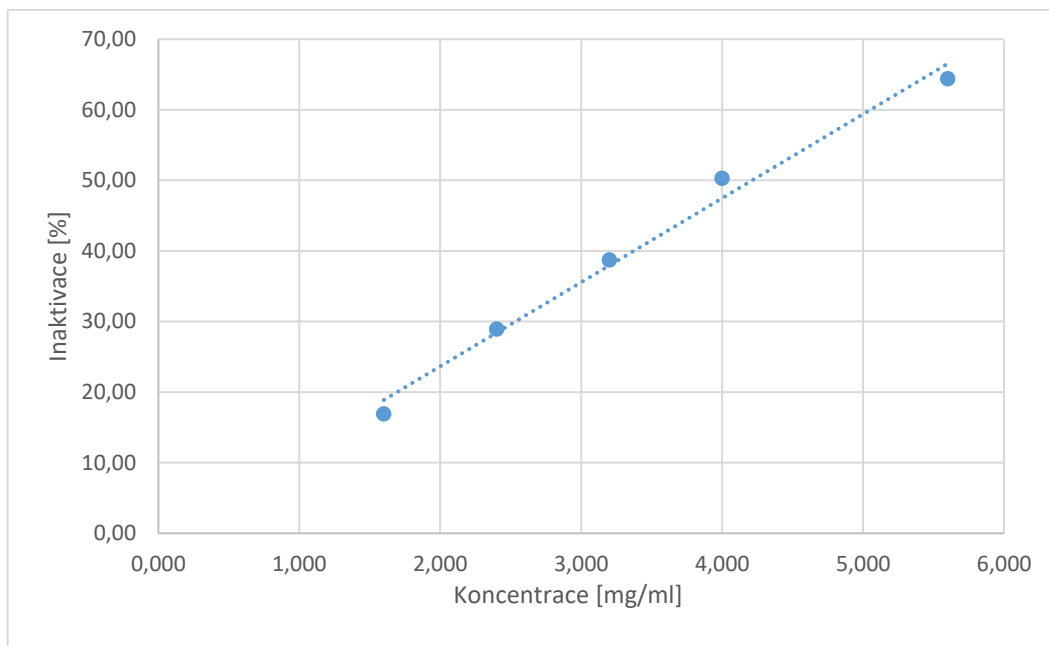
Z výše uvedených hodnot je možné usoudit, že nejvyšší antioxidační aktivitu vykazoval u sušených vzorků vzorek RS7 s nejnižší hodnotou inaktivace IC_{50} , tento vzorek vykazoval i nejvyšší antioxidační aktivitu při stanovení metodou DPPH.

Hodnota inaktivace se u sušených vzorků pohybovala v rozmezí 2,93 do 5,86 mg/ml s průměrem 4,09 mg/ml. Rozdíly mezi jednotlivými vzorky nebyly tak významné, jako u čerstvých vzorků.

U čerstvých vzorků rozmarýnu vykazoval nejvyšší antioxidační aktivitu vzorek RC1, daný vzorek byl vyhodnocen také jako vzorek s nejvyšší antioxidační aktivitou při stanovení metodou DPPH. Hodnota inaktivace se u extraktů z čerstvých vzorků rozmarýnu pohybovala v poměrně širokém rozmezí až do čtyřnásobku dolní hranice hodnoty IC_{50} , od 10,60 mg/ml do 39,83 mg/ml s průměrem 24,74 mg/ml.

Dle výsledných hodnot IC_{50} lze říct, že vzorky sušeného rozmarýnu vykazovaly v průměru šestkrát vyšší antioxidační aktivitu než vzorky čerstvého rozmarýnu. Tento rozdíl je opět nejpravděpodobněji způsobený vysokým obsahem vody u čerstvých vzorků rozmarýnu.

Na obrázku č. 17 je zobrazen vzorový příklad křivky pro výpočet hodnoty IC_{50} vzorku rozmarýnu RS1 při teplotě extrakce 95 °C. V tabulce č. 4 jsou uvedené rovnice regrese s vypočtenou hodnotou inaktivace IC_{50} pro všechny vzorky rozmarýnu extrahované při teplotě 95 °C.



Obrázek 17: Stanovení hodnoty IC_{50} u vzorku RS1 při teplotě 95 °C

Rovnice regrese zjištěná z křivky vzorku RS1 při teplotě 95 °C má tvar:

$$y = 11,909 * x + 0,1654$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace extraktu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivost $R^2 = 0,9873$.

Vypočítaná hodnota inaktivace IC_{50} je 4,18 mg/ml pro vzorek rozmarýnu RS1.

Tabulka 4: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků rozmarýnu extrahovaných při teplotě 95 °C

Číslo vzorku	Rovnice regrese	IC_{50} [mg/ml]
RS1	$y = 11,909 x + 0,1654$	4,18
RS2	$y = 12,407 x + 22,724$	2,20
RS3	$y = 13,732 x - 5,6724$	3,23
RS4	$y = 8,2352 x + 5,4352$	5,41
RS5	$y = 13,819 x + 9,9798$	2,90

RS6	$y = 13,097 x + 11,227$	2,96
RS7	$y = 14,361 x + 11,586$	2,67
RC1	$y = 6,7506 x + 0,4175$	7,34
RC2	$y = 5,0846 x - 18,863$	13,54
RC3	$y = 2,0565 x + 9,5293$	19,68

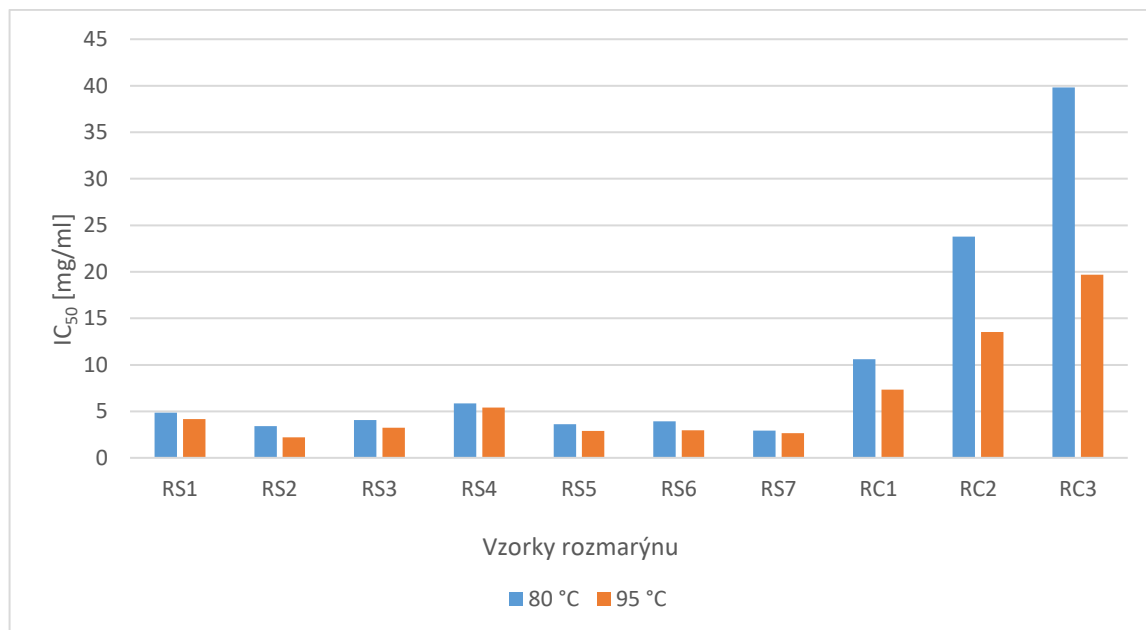
Sušené vzorky rozmarýnu extrahované při teplotě 95 °C měly hodnoty inaktivace v rozmezí od 2,20 do 6,09 mg/ml, s průměrem 3,36 mg/ml. Jednotlivé vzorky sušeného rozmarýnu mezi sebou nevykazovaly tak velké rozdíly v hodnotách inaktivace jako čerstvé vzorky. Nejnižší hodnotu inaktivace vykazoval vzorek RS2, který také vykazoval nejvyšší antioxidační aktivitu při stanovení AA s využitím metody DPPH.

U čerstvých vzorků rozmarýnu jsou patrné velké rozdíly v hodnotách inaktivace, jejich rozpětí se pohybovalo v širokém spektru hodnot, a to od 7,34 do 19,68 mg/ml s průměrem 13,52 mg/ml. Nejnižší inaktivaci vykazoval vzorek RC1, přičemž tento vzorek zároveň měl i nejvyšší antioxidační aktivitu stanovenou pomocí metody DPPH.

Ze stanovených hodnot inaktivace je vidět, že všechny vzorky sušeného rozmarýnu vykazovaly v průměru čtyřikrát vyšší antioxidační aktivitu než vzorky čerstvého rozmarýnu, což bylo způsobeno vysokým obsahem vlhkosti u čerstvých rostlin rozmarýnu, stejně tak jako při stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.

Akrouť a kol. [54] ve své studii stanovili hodnotu IC_{50} pro rozmarýn v rozmezí hodnot od 4186 do 7298 $\mu\text{g/ml}$. Naše hodnoty IC_{50} se pro sušené vzorky v tomto rozmezí pohybují také, některé hodnoty IC_{50} jsou dokonce nižší.

Na obrázku č. 18 je porovnání hodnot IC_{50} u extraktů rozmarýnu extrahovaných při dvou teplotách.

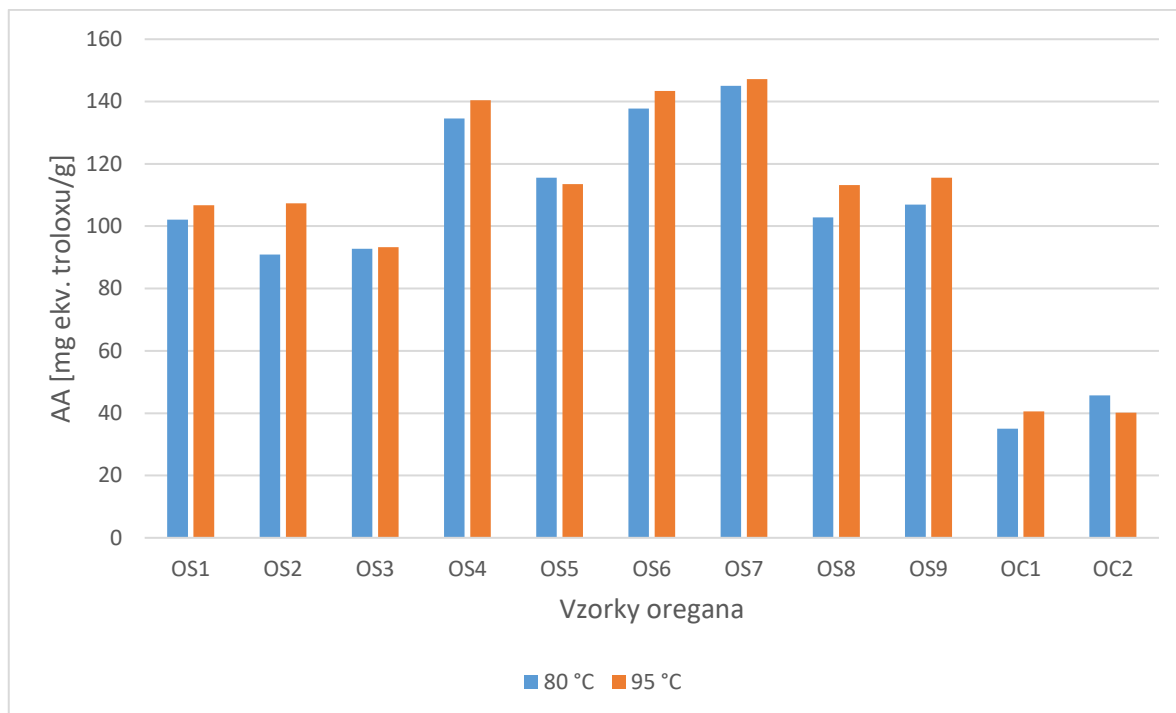


Obrázek 18: Porovnání hodnot IC_{50} rozmarýnu při extrakci o teplotě 80 °C a 95 °C

Hodnoty inaktivace byly ovlivňovány použitou teplotou extrakce, přičemž nižší hodnoty IC_{50} , tedy vyšší antioxidační aktivitu, vykazovaly vzorky extrahované při vyšší teplotě, 95 °C. U sušených vzorků rozmarýnu klesly hodnoty inaktivace v průměru o 17,8 % při vyšší extrakční teplotě, u čerstvých vzorků rozmarýnu byl rozdíl v teplotách extrakce výraznější, došlo zde k poklesu hodnoty inaktivace o 45,4 % při teplotě extrakce 95 °C. Tento pokles IC_{50} , tedy nárůst AA, kopíruje výsledky zjištěného nárůstu antioxidační aktivity při stanovení metodou DPPH.

7.2.3 Porovnání antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků oregana při různé teplotě extrakce

Extraktů sušených i čerstvých vzorků oregana byly připravovány pomocí extrakce v demineralizované vodě při dvou teplotách 80 °C a 95 °C. Bylo připraveno 11 extraktů oregana, z toho 9 vzorků sušeného oregana a 2 vzorky čerstvého oregana. V grafu na obrázku č. 19 je uvedeno porovnání použitých teplot extrakce při stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH při dvou různých teplotách extrakce.



Obrázek 19: Porovnání AA metodou DPPH u vzorků oregana při různé teplotě extrakce

Hodnoty antioxidační aktivity metodou DPPH u sušených vzorků oregana extrahovaných při teplotě 80 °C i při teplotě 95 °C byly velmi podobné, rozmezí i průměr AA také byly v rámci velmi podobných hodnot (nižší teplota 90,95-145,09 mg/g s průměrem 114,27 mg/g, vyšší teplota 93,30-147,23 mg/g s průměrem 120,08 mg/g). U čerstvých vzorků byla antioxidační aktivita při extrakci s teplotou 80 °C v intervalu třetinových hodnot oproti sušenému rozmarýnu, od 35,01 do 45,71 mg/g s průměrem 40,30 mg/g. U vzorků extrahovaných při vyšší teplotě (95 °C) bylo rozmezí hodnot velmi úzké s průměrem 40,35 mg/g, přičemž tento výsledek je stejný jako u výluhu získaného při nižší teplotě. U čerstvých vzorků oregana (OC1, OC2) jsou hodnoty AA stanovené metodou DPPH opět nižší než u sušeného rozmarýnu, z obdobných důvodů jako popsáno v předchozích kapitolách.

Při porovnání antioxidační aktivity metodou DPPH u všech analyzovaných vzorků při dvou teplotách extrakce je patrné, že teplota extrakce v tomto případě neměla významný vliv na antioxidační aktivitu výluhů oregana, i když množství vyextrahovaných polyfenolů u vzorků z oregana bylo vyšší při extrakci s vyšší teplotou.

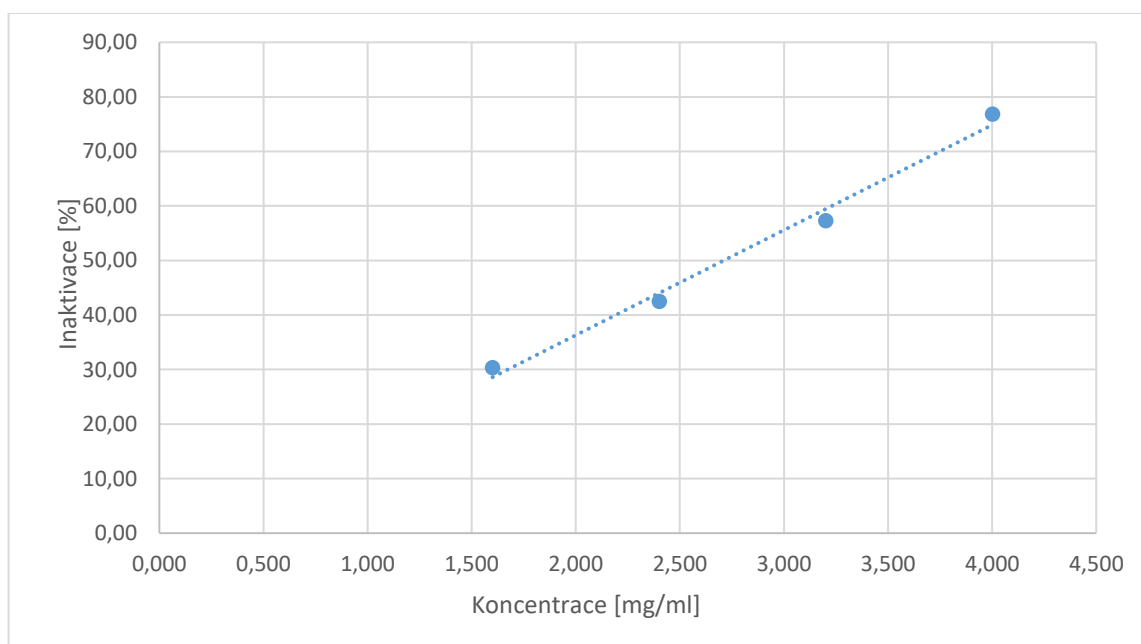
Dle Szarowské [55] je antioxidační aktivita extraktů oregana v rozmezí od 19,42 do 208,80 mg ekv. kyseliny askorbové na gram vzorku. Při teplotě výluhu 80 °C

byla hodnota AA 146,97 mg KA/g. V dané práci byl použit ale jiný standard pro přepočet výsledků. Wojdyło a kol. [53] ve své práci stanovili hodnotu AA metodou DPPH u oregana v hodnotách 79,6 μM Troloxu/100 g sušiny vzorku, tedy s využitím jiných jednotek pro vyjádření výsledku AA.

7.2.4 Hodnocení antioxidační aktivity vzorků oregana prostřednictvím hodnot IC_{50} (metoda DPPH)

Hodnota inaktivace IC_{50} byla zjišťována u vzorků připravovaných z extraktů všech vzorků oregana při dvou různých teplotách louhování. Extrakty byly pro stanovení dále ředěny dle potřeby na koncentraci 90-5 %.

Na obrázku č. 20 je zobrazena vzorová křivka pro výpočet hodnoty IC_{50} vzorku oregana OS1 při teplotě extrakce 80 °C. V tabulce č. 5 jsou uvedené rovnice regrese s vypočtenou hodnotou IC_{50} pro všechny vzorky oregana extrahované při teplotě 80 °C.



Obrázek 20: Stanovení hodnoty IC_{50} u vzorku OS1 při teplotě 80 °C

Rovnice regrese zjištěná z křivky vzorku OS1 při teplotě 80 °C má tvar:

$$y = 19,271 * x - 2,2447$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace extraktu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivost $R^2 = 0,9886$.

Vypočítaná hodnota inaktivace IC_{50} je 2,71 mg/ml pro vzorek oregana OS1.

Tabulka 5: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků oregana extrahovaných při teplotě 80 °C

Číslo vzorku	Rovnice regrese	IC_{50} [mg/ml]
OS1	$y = 19,271 x - 2,2447$	2,71
OS2	$y = 16,688 x + 1,4234$	2,91
OS3	$y = 15,78 x + 6,3422$	2,77
OS4	$y = 22,938 x + 7,902$	1,84
OS5	$y = 19,269 x + 11,769$	1,98
OS6	$y = 25,178 x + 4,345$	1,81
OS7	$y = 25,895 x + 6,0704$	1,70
OS8	$y = 24,449 x + 0,6466$	2,02
OS9	$y = 25,052 x + 4,0589$	1,83
OC1	$y = 6,399 x - 0,4931$	7,89
OC2	$y = 10,299 x - 11,936$	6,01

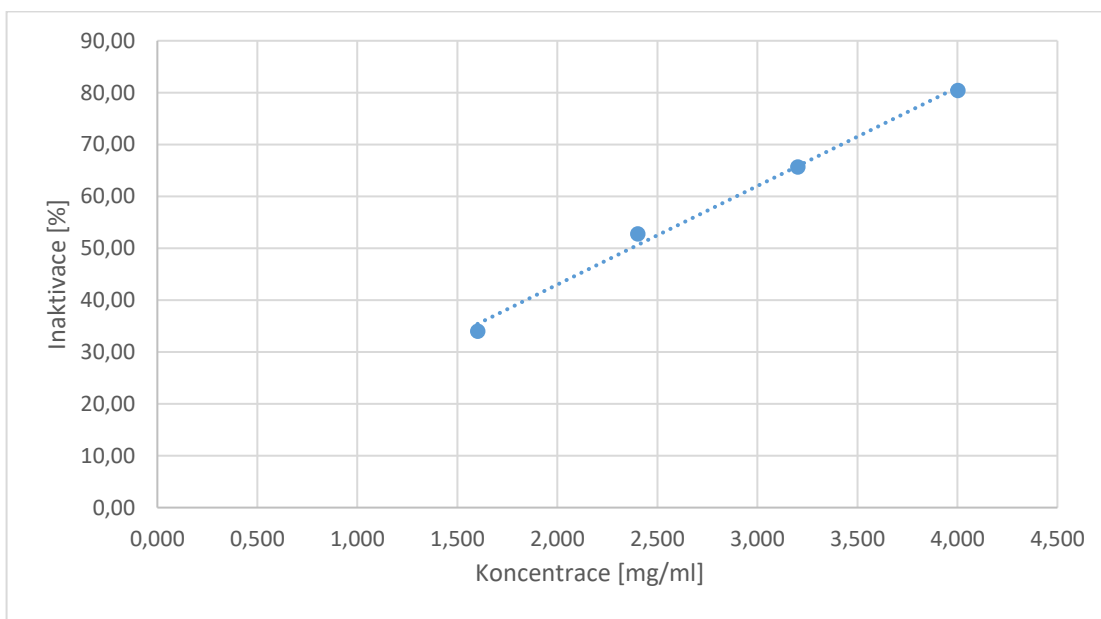
Vzorky sušeného oregana vykazovaly hodnoty inaktivace v úzkém rozmezí, a to v rozpětí od 1,70 do 2,91 mg/ml s průměrem 2,17 mg/ml. Nejnižší hodnotu inaktivace vykazoval vzorek OS7, ale podobné výsledky vykazovaly i další vzorky. Tyto zjištěné hodnoty korespondují se stanovenou antioxidační aktivitou metodou DPPH.

U čerstvých vzorků oregana vykazoval vyšší antioxidační aktivitu vzorek OC2 s hodnotou inaktivace 6,01 mg/ml, tento vzorek vykazoval také vyšší antioxidační aktivitu při stanovení AA s využitím metody DPPH.

Z porovnání všech vzorků sušeného oregana je zřejmé, že hodnocené vzorky vykazovaly dva až čtyřikrát vyšší antioxidační aktivitu, než byla zjištěna u dvou analyzovaných vzorků

čerstvého oregana. Tento rozdíl je způsobený, stejně jako u samotného stanovení AA metodou DPPH, nejpravděpodobněji vyšším obsahem vody u čerstvých vzorků oregana.

Na obrázku č. 21 je uvedena vzorová křivka pro výpočet hodnoty IC_{50} vzorku oregana OS1 extrahovaného při teplotě 95 °C. V tabulce č. 6 jsou uvedené rovnice regrese s vypočtenou hodnotou inaktivace IC_{50} pro všechny vzorky oregana extrahované při teplotě 95 °C.



Obrázek 21: Stanovení hodnoty IC_{50} u vzorku OS1 při teplotě 95 °C

Rovnice regrese zjištěná z křivky vzorku OS1 při teplotě 95 °C má tvar:

$$y = 19,007 * x + 4,985$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace extraktu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,994$.

Vypočítaná hodnota inaktivace IC_{50} je 2,37 mg/ml pro vzorek oregana OS1 extrahovaného při teplotě 95 °C.

Tabulka 6: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků oregana extrahovaných při teplotě 95 °C

Číslo vzorku	Rovnice regrese	IC_{50} [mg/ml]
OS1	$y = 19,007 x + 4,985$	2,37
OS2	$y = 19,561 x + 2,6507$	2,42
OS3	$y = 15,474 x + 7,8024$	2,73
OS4	$y = 19,515 x + 23,499$	1,36
OS5	$y = 16,401 x + 21,733$	1,72
OS6	$y = 25,033 x + 12,237$	1,51
OS7	$y = 24,744 x + 16,092$	1,37
OS8	$y = 16,685 x + 18,391$	1,89
OS9	$y = 27,258 x + 7,0043$	1,58
OC1	$y = 7,4887 x - 0,5149$	6,75
OC2	$y = 8,0944 x - 2,9224$	5,82

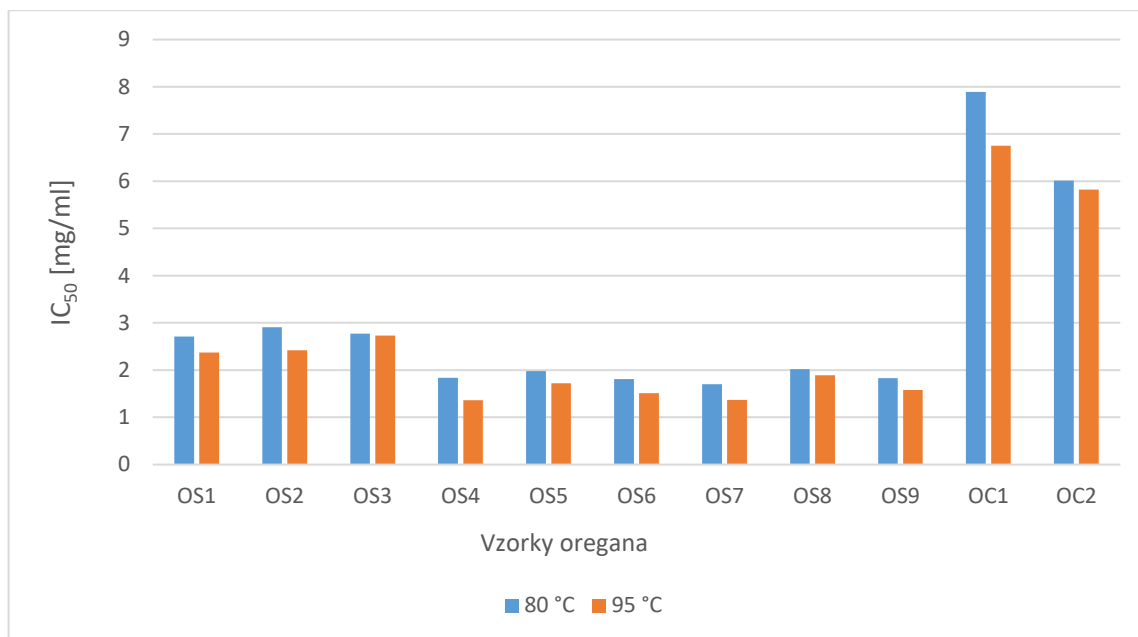
Hodnoty inaktivace se u vzorků sušeného oregana pohybovaly v úzkém rozmezí hodnot od 1,36 do 2,73 mg/l s průměrem 1,88 mg/ml. Nejnižší hodnotu inaktivace vykazovaly vzorky OS4 a OS7, tyto výsledky korespondují i se zjištěnými výsledky antioxidační aktivity pomocí DPPH.

U čerstvých vzorků oregana vykazoval vyšší antioxidační aktivitu vzorek OC2 s nižší hodnotou inaktivace.

I v tomto případě stanovení vykazovaly všechny vzorky sušeného oregana vyšší antioxidační aktivitu než oba vzorky čerstvého oregana, a to až pětinašobně, což přibližně odpovídá i zjištěnému rozdílu mezi čerstvými a sušenými vzorky při stanovení antioxidační aktivity. Tento vysoký rozdíl je způsobený vyšším obsahem vody v čerstvých vzorcích rostlin. U stanovení antioxidační aktivity vykazovaly sušené vzorky až čtyřnásobně vyšší hodnotu než vzorky čerstvé.

Szarowská [55] ve své práci experimentálně stanovovala hodnotu IC_{50} pro oregano. Hodnota IC_{50} byla určena na 2,04 mg/ml, lze tedy říct, že stanovené hodnoty IC_{50} se pohybují na stejné hodnotové úrovni jako bylo zjištěno v této práci.

Na obrázku č. 22 je porovnání hodnot IC_{50} u vzorků oregana extrahovaných při dvou různých teplotách extrakce.



Obrázek 22: Porovnání hodnot IC_{50} oregana při extrakci o teplotě 80 °C a 95 °C

Stanovení IC_{50} koresponduje s výsledky získanými při stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH. U všech vzorků je znát mírný vliv vyšší teploty extrakce na hodnotu inaktivace. U sušených vzorků lze pozorovat pokles hodnoty inaktivace v průměru o 13,4 % (tedy nárůst AA o 13,4 %), u čerstvých vzorků oregana je pokles 9,6 %, tedy nárůst AA o tuto hodnotu. Lze tedy říci, že vyšší teplota extrakce (95 °C) má mírný vliv na hodnoty inaktivace.

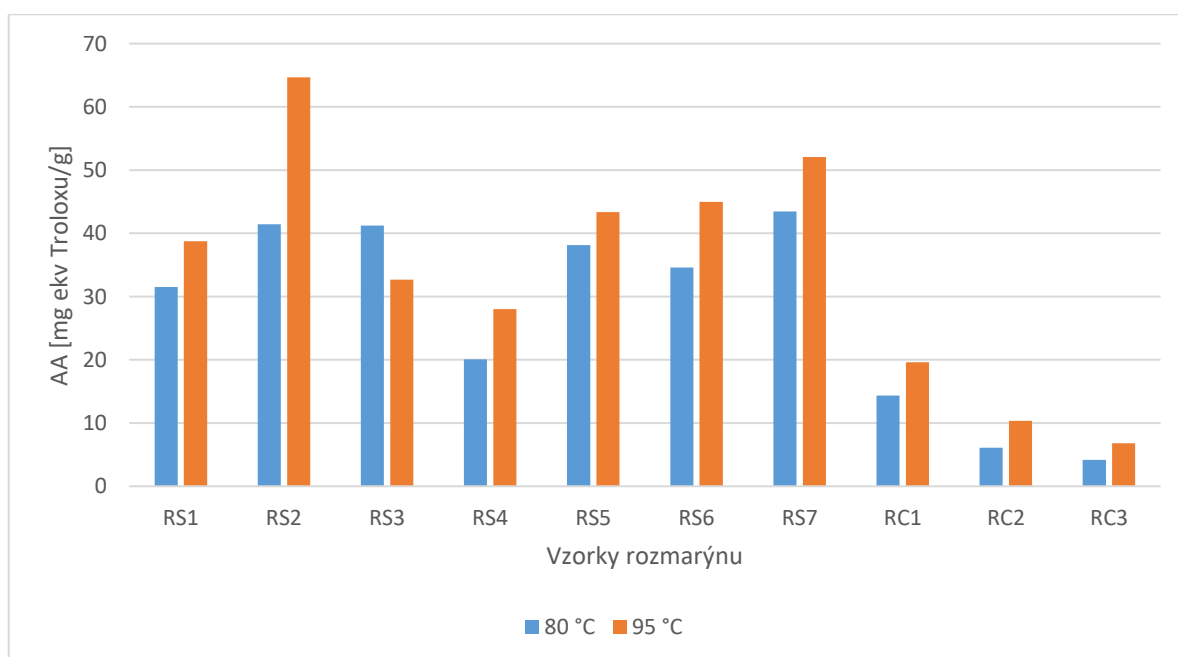
7.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS bylo provedeno dle postupu uvedeného v kapitole 6.4. Antioxidační aktivita metodou ABTS byla stanovena u 20 extraktů rozmarýnu a u 22 extraktů oregana připravených při dvou různých teplotách extrakce.

Antioxidační aktivita v extraktech rozmarýnu a oregana byla přepočítána z hodnot inaktivace na standard Troloxu a vyjádřena jako ekvivalent Troloxu v miligramech na gram vzorku.

7.3.1 Porovnání antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce

Extrakty sušených i čerstvých vzorků rozmarýnu byly připravovány pomocí extrakce v destilované vodě při teplotě 80 °C a 95 °C. Bylo připraveno 10 extraktů rozmarýnu, z toho 7 vzorků sušeného rozmarýnu a 3 vzorky čerstvého rozmarýnu. V grafu na obrázku č. 23 je uvedeno porovnání použitých teplot extrakce při stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS s dvěma teplotami extrakce.



Obrázek 23: Porovnání AA metodou ABTS u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce

Výsledky antioxidační aktivity (AA) stanovené metodou ABTS u sušených vzorků rozmarýnu extrahovaných při teplotě 80 °C byly v rozmezí od 20,08 do 43,44 mg ekvivalentu Troloxu (TE)/g s průměrem 35,78 mg/g, u extraktů připravených při teplotě 95 °C byly hodnoty AA v podobně širokém intervalu, s vyššími hodnotami od 28,01 do 52,08 mg/g, a tedy i vyšším průměrem 43,51 mg/g.

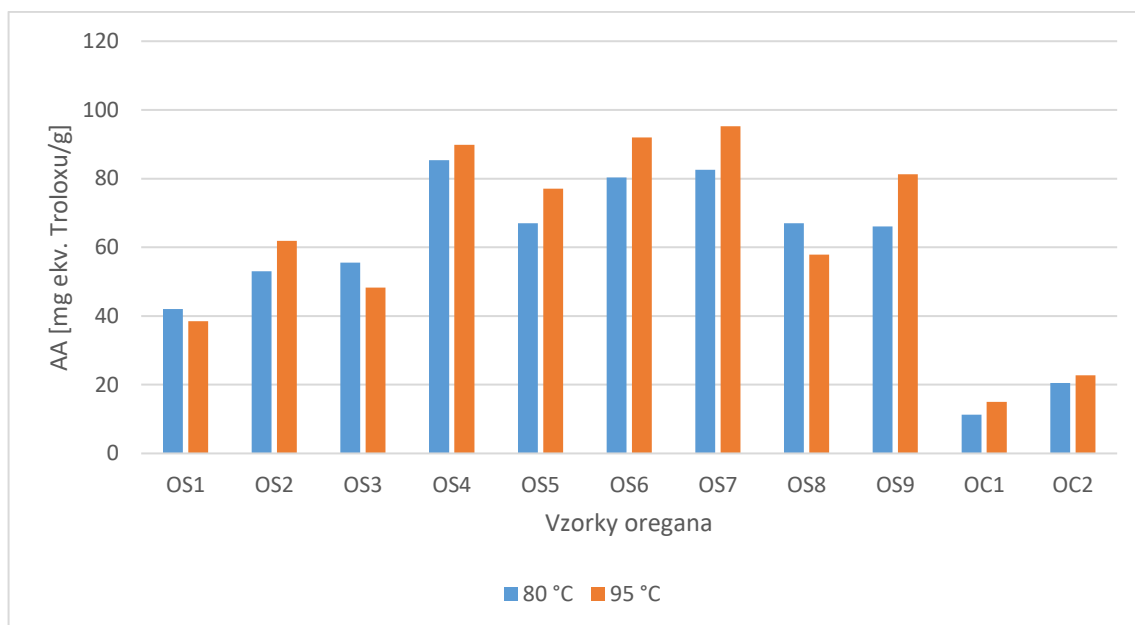
U čerstvých vzorků byla zjištěna antioxidační aktivita při extrakci s teplotou 80 °C opětovně v intervalu poměrně nízkých hodnot do 14,33 mg/g s průměrem 8,20 mg/g, kdy u výluhů při teplotě 95 °C byly výsledky vyšší v rozmezí od 6,81 do 19,62 mg/g s průměrem 12,27 mg/g. I u této analýzy bylo určeno, že výluhy z čerstvých rostlin rozmarýnu (RC1, RC2, RC3) dosahovaly výrazně nižších hodnot AA u sušeného rozmarýnu.

Při porovnání antioxidační aktivity metodou ABTS u všech analyzovaných vzorků rozmarýnu při dvou teplotách extrakce je patrné, že teplota extrakce měla jistý vliv na intenzitu antioxidační aktivity, kdy antioxidační aktivita byla, s výjimkou jednoho vzorku, mírně vyšší u extraktů připravovaných při vyšší teplotě, 95 °C.

Tlili a kol. [56] ve své studii stanovili AA u rozmarýnu metodou ABTS na hodnotu 16,38 TE mg/g sušiny. To je hodnota odpovídající v naší práci antioxidační aktivitě čerstvých vzorků. Wojdyło a kol. [53] ve své práci stanovili antioxidační aktivitu ABTS metodou u vzorku rozmarýnu na 38,7 μM Troloxu/100 g sušiny vzorku, v jiných jednotkách, než se uvádí v této práci.

7.3.2 Porovnání antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků oregana při různé teplotě extrakce

Extrakty sušených i čerstvých vzorků oregana byly připravovány pomocí extrakce v demineralizované vodě při dvou teplotách 80 °C a 95 °C. Bylo připraveno 11 extraktů oregana, z toho 9 vzorků sušeného oregana a 2 vzorky čerstvého oregana. V grafu na obrázku č. 24 je uvedeno porovnání použitých teplot extrakce při stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS u daných teplot extrakce.



Obrázek 24: Porovnání AA metodou ABTS u vzorků oregana při různé teplotě extrakce

Hodnoty antioxidační aktivity metodou ABTS u sušených vzorků oregana extrahovaných při teplotě 80 °C byly v rozmezí od 42,03 do 85,39 mg ekvivalentu Troloxu/g s průměrem 66,56 mg/g, přičemž u vzorků oregana louhovaných při vyšší teplotě, 95 °C, byly zjištěny výsledky v téměř stejné šíři (38,51 do 91,99 mg/g) s obdobným průměrem (71,34 mg/g) jako při využití nižší extrakční teploty.

U čerstvých vzorků oregana (OC1 a OC2) byla situace s AA obdobná jako v případě vzorků rozmarýny, kdy jak při nižší, tak i vyšší teplotě byly hodnoty AA výrazně nižší než u sušených bylin s navzájem podobnými hodnotami pro obě teploty (11,29-20,54 mg/g s průměrem 15,92 mg/g u nižší teploty, a 14,99-22,75 mg/g s průměrem 18,87 mg/g u vyšší teploty).

Při porovnání antioxidační aktivity metodou ABTS u všech analyzovaných vzorků oregana při různé teplotě extrakce je patrné, že teplota extrakce při tomto stanovení neměla významný vliv na antioxidační aktivitu stanovenou metodou ABTS.

Wojdyło a kol. [53] experimentálně stanovili antioxidační aktivitu pomocí metody ABTS u vzorku oregana na 19,9 μM Troloxu/100 g sušiny vzorku, v jiných jednotkách, než uvádíme my.

ZÁVĚR

Rozmarýn i oregano jsou ceněnými rostlinami v mnoha odvětvích průmyslu – farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém. V těchto odvětvích je využíván i jejich antioxidační účinek. V potravinářství je významný vliv na prodloužení údržnosti potravin, v kosmetickém průmyslu jejich přídavek pomáhá k prodloužení trvanlivosti kosmetických prostředků a ve farmaceutickém průmyslu je využíváno některých jejich léčebných vlastností a také schopnosti vychytávat volné radikály, které mohou způsobovat řadu civilizačních chorob a stárnutí. Antioxidační účinky obou bylin jsou zprostředkovávány především díky obsahu polyfenolických sloučenin.

Cílem této práce bylo zjišťování vlivu teploty extrakce na stanovení obsahu polyfenolických látek a antioxidační aktivity v extraktech připravených z rozmarýnu a oregana s využitím metod stanovení celkového obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity metodami DPPH, IC_{50} a ABTS. Celkem bylo připraveno 14 extraktů sušených vzorků rozmarýnu, 6 extraktů čerstvých vzorků rozmarýnu, 18 extraktů sušených vzorků oregana a 4 extrakty čerstvých vzorků oregana. Extrakty byly připravovány za použití vody jako extrakčního činidla a extrakce probíhala za dvou různých teplot, a to 80 °C a 95 °C.

Bylo zjištěno, že extrakty z čerstvých bylin, jak rozmarýnu, tak i oregana, vykazovaly nižší celkový obsah polyfenolů a vykazovaly nižší antioxidační aktivitu metodou DPPH, IC_{50} i ABTS. Tato skutečnost je způsobena v největší míře vyšším obsahem vody v čerstvých rostlinách.

U vzorků rozmarýnu i oregana byl zjištěn vliv teploty extrakce na množství celkového obsahu polyfenolů. Vyšší teplota extrakce, 95 °C, byla účinnější při extrakci polyfenolických látek z těchto bylin než nižší extrakční teplota 80 °C. Této teploty je také využíváno při přípravě odvarů z těchto bylin nebo kosmetických výluhů.

Extrakty rozmarýnu vykazovaly při stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH, IC_{50} i metodou ABTS vyšších hodnot při využití vyšší extrakční teploty, 95 °C, která tedy byla účinnější. Vliv teploty se u jednotlivých vzorků rozmarýnu občas mírně lišil, ale je nutné zohlednit druh rozmarýnu, podmínky pěstování, sklizně, sušení a podmínky přípravy extraktů.

U extraktů oregana byl prokázán jen mírný vliv extrakční teploty na antioxidační aktivitu. Výsledky zjištěné s využitím dvou extrakčních teplot byly v některých případech navzájem

srovnatelné, ve všeobecnosti byl patrný mírný nárůst pro AA u vzorků po extrakci vyšší teplotou.

V rámci hodnocení výsledků všech analyzovaných vzorků rozmarýnu i oregana je nutné brát v úvahu druh byliny, podmínky pěstování, sklizně i dalšího průmyslového zpracování v případě sušených vzorků. Všechny tyto faktory mají značný vliv na obsah antioxidantů v těchto rostlinách. Celkově byly obě byliny vyhodnoceny jako dobrý zdroj antioxidantů a je tedy vhodné zařadit jejich konzumaci do naší stravy, jako přídavek při přípravě pokrmů, bylinných nálevů. Na základě obsahu polyfenolických látek a antioxidační aktivity zjištěných v této práci je oregano o trochu lepší zdroj antioxidantů než rozmarýn.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SLAVIK, B. aj. Květena České republiky, sv. 6. Praha: Academia, 2000, s. 554-709.
ISBN: 80-200-0306-1
- [2] VEČEREK, Břetislav a Jaroslav PROKEŠ a Petr SCHNEIDERKA. Lékařská chemie pro stomatology. Díl 1. Praha: Avicenum, 1981. 452 s.
- [3] JIRÁSEK, Václav a František STARÝ. Atlas léčivých rostlin. Ilustroval František SEVERA. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986. Obrazové atlasy. ISBN (Váz.):.
- [4] Zahradnický slovník naučný. [Díl] 3., Ch - M. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1997. 559 s.
ISBN 80-85120-62-3
- [5] Hotel IONI. <https://hotelioni.gr/rosmarinus-officinalis/> (accessed April 13, 2022).
- [6] SKRUŽNÁ, J. Rozmarýn lékařský. Medicina.cz: První český zdravotnický portál [online]. 2000 [cit. 2022-03-18]. Dostupné z: <http://medicina.cz/clanky/2294/34/Rozmaryn-lekarsky/>
- [7] KUBÁT, K. Klíč ke květeně České republiky. Praha: Academia, 2002. 927 s. ISBN 80-200-0836-5.
- [8] Ejaz Aziz, Riffat Batool, Wasim Akhtar, Tasmeeena Shahzad, Ayesha Malik, Muhammad Ajmal Shah, Shabnoor Iqbal, Abdur Rauf, Gokhan Zengin, Abdelhakim Bouyahya, Maksim Rebezov, Nalok Dutta, Muhammad Usman Khan, Mars Khayrullin, Maria Babaeva, Andrey Goncharov, Mohammad Ali Shariati, Muthu Thiruvengadam, Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications, South African Journal of Botany, 2021, ISSN 0254-6299, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.09.026>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629921003975>)
- [9] Carrubba, A., Abbate, L., Sarno, M. et al. Characterization of Sicilian rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) germplasm through a multidisciplinary approach. *Planta* 251, 37 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03327-8>
- [10] Bydlení21. <https://bydleni21.cz/pestovani-rozmarynu-v-kvetinaci/> (accessed May 02, 2022).
- [11] TOMČÍKOVÁ, L. Vybrané krytosemenné rostliny. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1999. 396 s. ISBN 80-7013-284-1.

- [12] 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.
- [13] vegetarian-nutrition.info. <https://vegetarian-nutrition.info/rosemary-a-culinary-delight/> (accessed March 20, 2022).
- [14] Gordon, M.H. The mechanism of antioxidant action in vitro. In Food Antioxidants; Hudson, B.J.F., Ed.; Elsevier Science Publishing: New York, NY, USA, 1990; pp. 1–18.
- [15] Guilherme Pires Amaral, Caren Rigon Mizdal, Silvio Terra Stefanello, Andreas Sebastian Loureiro Mendez, Robson Luiz Puntel, Marli Matiko Anraku de Campos, Félix Alexandre Antunes Soares, Roselei Fachinetto, Antibacterial and antioxidant effects of *Rosmarinus officinalis* L. extract and its fractions, Journal of Traditional and Complementary Medicine, Volume 9, Issue 4, 2019, Pages 383-392, ISSN 2225-4110, <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.10.006>.
- [16] Chen, C.H.; Pearson, A.M.; Gray, J.I. Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. Food Chem. 1992, 43, 177–183
- [17] Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Carnosol> (accessed May 02, 2022).
- [18] Munné Bosch, S.; Alegre, L. Subcellular compartmentation of the diterpene carnosic acid and its derivatives in the leaves of rosemary. Plant Physiol. 2001, 125, 1094–1102
- [19] R.V.d.B. Fernandes, I.C.Gumarães, C.L.R. Ferreira, D.A. Botrel, S.V. Borges, A.U. Souza. Microencapsulated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil as a biopreservative in Minas Frescal cheese. Journal of Food Processing and Preservation, 41 (1) (2017), p.e12759
- [20] N.M. Witwit, Potential effectiveness of essential oil as natural food preservatives compared with chemical Journal of Global Pharma Technology, 10 (3) (2018), pp. 462-470.
- [21] Solomon Koření králů. <https://www.korenikralu.cz/rozmarnyn> (accessed April 13, 2022)
- [22] KORBELÁŘ, Jaroslav; ENDRIS, Zdeněk. 1974. Naše rostliny v lékařství. 4., rozš. a zcela přeprac. vyd. Ilustroval Jindřich KREJČA. Praha: Avicenum.
- [23] JANČA, Jiří; ZENTRICH, Josef Antonín. 2008. Herbář léčivých rostlin. 1. díl, A-D. Praha: Eminent. ISBN 978-80-7281-365-0.

- [24] Vaříme s Marcelou. <https://www.varimesmarcelou.cz/kucharska-abeceda/oregano-neboli-dobromysl-obecna-chutny-doplnek-do-polevek-a-na-maso.html> (accessed April 14, 2022).
- [25] SKOUFOGIANNI, E., SOLOMOU, A. D., & DANALATOS, N. G. (2019). Ecology, Cultivation and Utilization of the Aromatic Greek Oregano (*Origanum vulgare* L.): A Review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(3), 545-552. <https://doi.org/10.15835/nbha47311296>
- [26] LINCOVÁ, Dagmar a Hassan FARGHALI. Základní a aplikovaná farmakologie. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2007. ISBN 978-80-7262-373-0.
- [27] Józef Kula , Teresa Majda , Albena Stoyanova & Evgenij Georgiev (2007) Chemical Composition of *Origanum vulgare* L. essential Oil from Bulgaria, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10:3, 215-220, DOI: 10.1080/0972060X.2007.10643545
- [28] Wikipedia. <https://cs.wikipedia.org/wiki/Thymol> (accessed May 02, 2022).
- [29] HOSKOVEC, L. Veškeré druhy rostlin České republiky. *Botany.cz*, 2008. [cit. 23. března 2022] Dostupné na World Wide Web: <http://botany.cz/cs/kvetena-ceske-republiky/>
- [30] KOCIÁN, P. Lamiaceae – hluchavkovité. Květena ČR.. [cit. 23. března 2022] Dostupné na World Wide Web: <http://www.kvetenacr.cz/celed.asp?IDceled=6>
- [31] John Coccimiglio, Misagh Alipour, Zi-Hua Jiang, Christine Gottardo, Zacharias Suntres, "Antioxidant, Antibacterial, and Cytotoxic Activities of the Ethanolic *Origanum vulgare* Extract and Its Major Constituents", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2016, Article ID 1404505, 8 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1404505>
- [32] D. Vokou, S. Kokkini, J.M. Bessiere Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils *Biochemical Systematic & Ecology*, 21 (1993), pp. 287-295
- [33] Wikipedia. <https://cs.wikipedia.org/wiki/Karvakrol> (accessed May 02, 2022).
- [34] Hotel IONI. <https://hotelioni.gr/origanum-vulgare/-doplnek-do-polevek-a-na-maso.html> (accessed April 15, 2022).
- [35] Solomon koření králů. <https://www.korenikralu.cz/oregano> (accessed April 15, 2022).
- [36] Velíšek, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999. 368 s. ISBN 80-902391-5-3.

- [37] Buřičová, L.; Réblová, Z. Czech Journal Plants as Possible Sources of Antioxidants.. Czech Journal of Food Sciences 2008, 26, 132–138.
- [38] Yashin A, Yashin Y, Xia X, Nemzer B. Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. Antioxidants. 2017; 6(3):70. <https://doi.org/10.3390/antiox6030070>
- [39] Kozłowska M, Laudy AE, Przybył J, Ziarno M, Majewska E. CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME MEDICINAL PLANTS FROM LAMIACEAE FAMILY. Acta Pol Pharm. 2015 Jul-Aug;72(4):757-67. PMID: 26647633.
- [40] Stratil, P., Klejdus, B. & Kuban, V. (2007) Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. Talanta, 71(4), 1741-1751.
- [41] Stratil, P., Kuban, V. & Fojtova, J. (2008) Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. Czech Journal of Food Sciences, 26(4), 242-253).
- [42] Gorbatoeva, J., T. Lougas, R. Vokk & M. Kalijurand (2007) Comparison of the contents of various antioxidants of sea buckthorn berries using CE. Electrophoresis, 28, 4136-4142.
- [43] Chrpová D., Kouřimská L., Gordon M.H., Heřmanová V., Roubíčková I., Pánek J. (2010): Antioxidant activity of selected phenols and herbs used in diets for medical conditions. Czech J. Food Sci., 28: 317-325.
- [44] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. Chemické listy. Praha, ČR: Česká společnost chemická, 2004, roč. 98, č. 4, s. 174-179. ISSN 0009-2770.
- [45] wikimedia commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DPPH_radical.svg (accessed March 15, 2022).
- [46] Karabín, M.; Dostálek, P.; Hofta, P. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. Chem. Listy 2004, 98, 174–179.
- [47] W.M. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity LWT - Food Science and Technology, 28 (1) (1995), pp. 25-30

[48] Re R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICEEVANS C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization Assay, *Free Radical Biology and Medicine* 26, 1231–1237.

[49] ZEMÁNKOVÁ, Denisa. Změny obsahu polyfenolických látek a antioxidační aktivity v extraktech máty [online]. Zlín, 2017 [cit. 2022-04-19]. Dostupné z: <https://theses.cz/id/uum71n/>. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.

[50] VLKOVÁ, Nikola. Charakteristika rostlin z čeledi hluchavkovité a analýza jejich antioxidačních vlastností. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2020, 60 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/49183>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Škrovánková, Soňa.

[51] Ozlem Yesil-Celiktas, Pinar Nartop, Aynur Gurel, Erdal Bedir, Fazilet Vardar-Sukan, Determination of phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained from *Rosmarinus officinalis* calli, *Journal of Plant Physiology*, Volume 164, Issue 11, 2007, Pages 1536-1542, ISSN 0176-1617, <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.05.013>.

[52] Kaurinovic B, Popovic M, Vlasisavljevic S, Trivic S. Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts. *Molecules*. 2011; 16(9):7401-7414. <https://doi.org/10.3390/molecules16097401>

[53] Aneta Wojdyło, Jan Oszmiański, Renata Czemerys, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chemistry*, Volume 105, Issue 3, 2007, Pages 940-949, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>.

[54] Ahmed Akrouf, Hafedh Hajlaoui, Hédi Mighri, Hanene Najjaa, Hajer El Jani, Slah Zaidi & Mohamed Neffati (2010) Chemical and Biological Characteristics of Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* Cultivated in Djerba, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13:4, 398-411, DOI: 10.1080/0972060X.2010.10643841

[55] SZAROWSKÁ, Eva. Hodnocení antioxidační aktivity vybraných aromatických rostlin. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2012, 95 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/23409>.

[56] Nizar Tlili, Walid Elfalleh, Hedia Hannachi, Yassine Yahia, Abdelhamid Khaldi, Ali Ferchichi & Nizar Nasri (2013) Screening of Natural Antioxidants from Selected Medicinal

Plants, International Journal of Food Properties, 16:5, 1117-1126, DOI: 10.1080/10942912.2011.576360

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	Antioxidační aktivita
AAPM	Metoda s 4-aminoantipyrinem
ABTS	2,2-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)
DPPH	Difenylpikrylhydrazyl
FCM	Metoda s využitím Folin-Ciocalteuova činidla
HPLC	High-performance liquid chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
IC ₅₀	Hodnoty inaktivace pro koncentraci 50 %
MS	Mass spektrometry (Hmotnostní spektrometrie)
ORAC	Metoda hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů
PBM	Metoda Price a Butlera
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity (Ekvivalent antioxidační kapacity Troloxu)
TPC	Total phenol content (celkový obsah polyfenolů)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: <i>Rosmarinus officinalis</i> [5].....	12
Obrázek 2: Rozmarýn pěstovaný v květináči [10].....	13
Obrázek 3: Vzorec karnosolu [17].....	15
Obrázek 4: Sušený rozmarýn jako koření [21]	16
Obrázek 5: <i>Origanum vulgare</i> [24]	17
Obrázek 6: Vzorec thymolu [28].	18
Obrázek 7: Vzorec karvakrolu [33].	19
Obrázek 8: Sušené oregano jako koření [35].....	20
Obrázek 9: Struktura DPPH [45].	23
Obrázek 10: Kalibrační křivka kyseliny gallové	31
Obrázek 11: Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH	33
Obrázek 12: Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS	36
Obrázek 13: Porovnání TPC u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce.....	37
Obrázek 14: Porovnání TPC u vzorků oregana při různé teplotě extrakce	39
Obrázek 15: Porovnání AA metodou DPPH u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce	40
Obrázek 16: Stanovení hodnoty IC ₅₀ u vzorku RS1 při teplotě 80 °C	42
Obrázek 17: Stanovení hodnoty IC ₅₀ u vzorku RS1 při teplotě 95 °C	44
Obrázek 18: Porovnání hodnot IC ₅₀ rozmarýnu při extrakci o teplotě 80 °C a 95 °C.....	46
Obrázek 19: Porovnání AA metodou DPPH u vzorků oregana při různé teplotě extrakce.	47
Obrázek 20: Stanovení hodnoty IC ₅₀ u vzorku OS1 při teplotě 80 °C	48
Obrázek 21: Stanovení hodnoty IC ₅₀ u vzorku OS1 při teplotě 95 °C	50
Obrázek 22: Porovnání hodnot IC ₅₀ oregana při extrakci o teplotě 80 °C a 95 °C	52
Obrázek 23: Porovnání AA metodou ABTS u vzorků rozmarýnu při různé teplotě extrakce	53
Obrázek 24: Porovnání AA metodou ABTS u vzorků oregana při různé teplotě extrakce.	55

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Analyzované vzorky rozmarýnu</i>	27
<i>Tabulka 2: Analyzované vzorky oregana</i>	28
<i>Tabulka 3: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků rozmarýnu extrahovaných při teplotě 80 °C</i>	42
<i>Tabulka 4: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků rozmarýnu extrahovaných při teplotě 95 °C</i>	44
<i>Tabulka 5: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků oregana extrahovaných při teplotě 80 °C</i>	49
<i>Tabulka 6: Rovnice regrese a hodnota IC_{50} u všech vzorků oregana extrahovaných při teplotě 95 °C</i>	51

