

Vliv extrakčních podmínek na antioxidační potenciál bylinných extraktů

Lucie Mišeková

Bakalářská práce
2023

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav chemie

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lucie Mišeková**
Osobní číslo: **T20332**
Studijní program: **B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin**
Specializace: **Chemie a analýza potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Vliv extrakčních podmínek na antioxidační potenciál bylinných extraktů**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Popis vybraných bylin, jejich složení a vlastnosti.

Charakteristika antioxidantů, mechanismus jejich účinku

Přehled metod využívaných pro stanovení antioxidačního potenciálu.

II. Praktická část

Stanovení antioxidačního potenciálu bylinných extraktů, připravených za různých podmínek, spektrometrickými metodami.

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

Seznam doporučené literatury:

1. Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*. 2009, 14, 2167-2180. doi: 10.3390/molecules14062167.
2. Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., Rusak, G., Likić, S., Berendik, M. Phenolic composition and antioxidant properties of some traditionally used medicinal plants affected by the extraction time and hydrolysis. *Phytochem. Anal.* 2011, 22, 172-180. DOI 10.1002/pca.1264.
3. Velíšek, Jan. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902-3912-9.

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

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 28. února 2023

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

Bakalářská práce se v teoretické části zaměřuje na charakteristiku levandule, šalvěže a hřebíčku, na jejich složení, zdravotní účinky, antioxidační aktivitu a využití těchto bylin. Také jsou v práci popsány jednotlivé antioxidanty a metody, které jsou používány ke stanovení antioxidační aktivity a celkového obsahu polyfenolických látek. Praktická část se zaměřuje na spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity pomocí metod ABTS a DPPH a stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech.

Klíčová slova: antioxidační aktivita, polyfenoly, DPPH, ABTS, bylinné extrakty

ABSTRACT

The theoretical part of the bachelor thesis focuses on the characteristics of lavender, sage and clove, their composition, health effects, antioxidant activity and the utilization of these herbs. The thesis also describes the different antioxidants and the methods used to determine the antioxidant activity and total polyphenolic content. The practical part is focused on the spectrophotometric determination of antioxidant activity using ABTS and DPPH methods, and the determination of total polyphenol content using Folin-Ciocalteu reagent, in aqueous, methanolic and ethanolic extracts.

Keywords: antioxidant activity, polyphenols, DPPH, ABTS, herbal extracts

Ráda bych poděkovala vedoucí této bakalářské práce Ing. Soni Škrovánkové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, pomoc a ochotu při zpracování této bakalářské práce.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 LEVANDULE	11
1.1 SLOŽENÍ	12
1.2 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY	13
1.3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	14
1.4 VYUŽITÍ	14
2 ŠALVĚJ	15
2.1 SLOŽENÍ	16
2.2 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY	17
2.3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	18
2.4 VYUŽITÍ	19
3 HŘEBÍČEK	20
3.1 SLOŽENÍ	21
3.2 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY	22
3.3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	23
3.4 VYUŽITÍ	24
4 ANTIOXIDANTY A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA	25
4.1 ANTIOXIDANTY	25
4.1.1 Tokoferoly	26
4.1.2 Flavonoidy.....	27
4.1.3 Karotenoidy.....	28
4.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	29
4.2.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS.....	30
4.2.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.....	31
4.3 STANOVENÍ POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	34
5 CÍLE BAKALÁŘKÉ PRÁCE	35
6 MATERIÁL A PŘÍSTROJE	36
6.1 MATERIÁL	36
6.2 POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	36
6.3 CHEMIKÁLIE.....	37
7 METODIKA STANOVENÍ	38
7.1 PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ LEVANDULE, ŠALVĚJE A HŘEBÍČKU.....	38

7.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY POMOCÍ METODY ABTS.....	38
7.2.1	Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AA metodou s ABTS	39
7.3	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY POMOCÍ METODY DPPH.....	40
7.3.1	Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AA metodou s DPPH.....	41
7.4	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN- CIOCALTEUOVA ČINIDLA.....	42
7.4.1	Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení obsahu polyfenolů	43
8	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	45
8.1	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	45
8.1.1	Hodnocení antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků levandule	45
8.1.2	Hodnocení antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků šalvěje.....	46
8.1.3	Hodnocení antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků hřebíčku.....	48
8.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	50
8.2.1	Hodnocení antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků levandule	50
8.2.2	Hodnocení antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků šalvěje.....	51
8.2.3	Hodnocení antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků hřebíčku.....	53
8.3	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ.....	55
8.3.1	Hodnocení celkového obsahu polyfenolů u vzorků levandule	55
8.3.2	Hodnocení celkového obsahu polyfenolů u vzorků šalvěje.....	57
8.3.3	Hodnocení celkového obsahu polyfenolů u vzorků hřebíčku.....	59
	ZÁVĚR	61
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	63
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	69
	SEZNAM OBRÁZKŮ	71
	SEZNAM TABULEK.....	73

ÚVOD

Levandule (*Lavandula* spp.) i šalvěj (*Salvia* spp.) se řadí do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Tyto byliny jsou využívány k přípravě bylinných výluhů a extraktů díky obsahu silic, terpenoidů a tříslovin. Kvůli těmto látkám jsou byliny hojně využívány k přípravě nápojů. V lidovém léčitelství se používají např. k podpůrné léčbě nachlazení, psychických problémů, jako dezinfekce a také v kosmetických přípravcích.

Levandule je využívána v lidovém léčitelství k tišení stavu nervového vypětí, má také analgetické účinky. Vyskytuje se ve směsích, které se běžně používají při rýmě a zánětu hltanu. Levandulová silice se využívá i ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

Šalvěj se využívá v léčitelství jako dezinfekce dutiny ústní, ve formě tinktury. Prodává se pod obchodním názvem Florsalmin. V lidovém léčitelství je využívána na léčbu úzkostných poruch. Šalvěj lze v potravinářství využít také jako dochucovadlo.

Hřebíček kořený (*Syzygium aromaticum*) se řadí do čeledi myrtovitých. Hřebíček se díky vysokému obsahu silic používá komerčně v parfémovém průmyslu. Tato bylina je využívána k léčebným účelům ve stomatologii, a to díky obsahu fenolických sloučenin (flavonoidů) a již zmíněných silic. Hřebíček je v kosmetickém průmyslu přidáván do masť s hřejivým účinkem. V potravinářském průmyslu ho lze využít i jako konzervační látku.

Všechny tři byliny vykazují antioxidační účinek.

Antioxidanty jsou látky, které zabraňují oxidačním procesům nebo je zpomalují a také zabraňují zhoršování kvality potravin. V lidském těle antioxidanty zmírňují oxidační stres, také vychytávají volné radikály, které mohou ovlivnit vznik a výskyt neurodegenerativních chorob či kardiovaskulárních chorob, které se řadí mezi civilizační onemocnění. Antioxidanty v potravinách zabraňují oxidaci lipidů, proto je výrobci potravin využívají ke stabilizaci lipidů v potravinách.

Antioxidační aktivitu lze stanovit chemickými metodami, které jsou založené na vychytávání volných radikálů. Dále metodami, které hodnotí eliminaci kyslíkových radikálů nebo metodami, které hodnotí eliminaci lipidové peroxidace. Antioxidační aktivita je ovlivněna synergickými a antagonistickými látkami. Účinky antioxidantů lze ovlivnit mnoha faktory, např. využití různých extrakčních činidel, teplota samotné extrakce a dalšími podmínkami.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LEVANDULE

Levandule (*Lavandula officinalis*) je bylina, která se řadí do čeledi hluchavkovitých neboli *Lamiaceae*, dřívější česky název pyskaté. Typický znak těchto rostlin je čtyřčetný květ s charakteristickým krajem a souměrností podle jedné osy. Tradičně se tyto rostliny vyskytují od Středomoří až po Střední Asii. Obsahují významné chemické látky, z toho důvodu se využívají jako léčivé rostliny či koření. Hluchavkovité rostliny se využívají jako okrasné, hlavně díky jejich odolnosti vůči suchu [1, 2, 3].

Levandule má mnoho druhů, a to: Levandule zoubkatá (*Lavandula dentata*), Levandule širokolistá (*Lavandula latifolia*), Levandule klasnatá (*Lavandula stoechas*), Levandule klasnatá var. *leucantha* (*Lavandula stoechas* var. *leucantha*). Tyto druhy se liší výskytem a také se od sebe mohou mírně odlišovat svým chemickým složením [4].

Původ mnoha druhů levandule je z oblasti kolem Středozemního moře a přilehajících oblastí Asie. Keřiky levandule rostou na slunečných místech, suchých svazích a kamenných stráních. Některé druhy levandule dokážou snést mráz, pro ně extrémní teploty -15 až -20 °C [2, 4].

Levandule tvoří polokeře nebo keře, které jsou silně aromatické, s celistvými celokrajnými listy a přímými dřevnatými větvemi. Kořen má hluboký a kulový. Levandule má bohatě větvený stonek a odstálé větévky. Listy bývají čárkovité, tupé, křížmostojné a s podvinutým okrajem. Květenství je složeno ze štíhlého lichoklasu, který má pýřité vřetenno. Obsahuje také 3–8 nahoře sblížených a dole oddálených lichopřeslenů. Co se týče květů, ty jsou kratičce stopkaté a souměrné, mají srostlé obaly a jsou obojaké. Kalich je zbarven šedofialově, je vejcovitě trubkovitý a obsahuje žláznaté chlupy se silicí. Koruna je zbarvena do fialové až nachové barvy. Má dvojmocné tyčinky [1, 2, 3].

Hlavními producenty této byliny je Evropa, Asie, severní Afrika a střední východ. Mezi dominantní producenty patří Bulharsko a Francie. Využívá se v kosmetickém průmyslu, také v lidovém léčitelství. Její aromatické složky, které jsou využívány pro výrobu levandulového oleje, se vyskytují převážně ve žláznatých chlupcích kalicha. Světová produkce levandulového oleje se pohybuje kolem 200 tun ročně [1, 2, 3, 5].



Obrázek 1: Levandule lékařská [6].

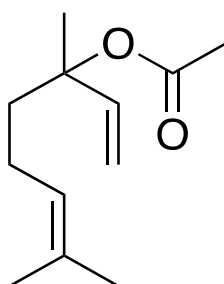
1.1 Složení

Hlavními složkami levandulové silice jsou estery linalolu, hlavně tedy linalylacetát, borneol, terpineol, 1,8-cineol a geraniol. Dále také glykosidické sloučeniny, jako je kumarin a umbeliferon, také trísloviny. Obsahuje i kafr. Složení oleje je dáno především geneticky, ale také destilačním procesem [2, 7].

Linalol, který se vyskytuje v levanduli, je acyklický monoterpenový alkohol. Vyskytuje se v silicích u více než 200 druhů dvouděložných a jednoděložných rostlin. Linalol je bezbarvá až velmi světle žlutá kapalina. Má květinovou nebo dřevitou vůni, která je podobná bergamotovému oleji. Bod tání linalolu je $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a bod tuhnutí $<-74\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tato sloučenina je chemicky reaktivní vlivem přítomnosti alkoholové funkční skupiny, která dodává linalolu polaritu. Co se týče rozpustnosti je linalol špatně rozpustný ve vodě kvůli uhlovodíkové nepolární struktuře, ale je vysoce rozpustný v organických rozpouštědlech (alkoholy, chloroform, ether). Je náchylný např. k oxidaci, esterifikaci a methylaci kvůli přítomným dvojným vazbám. U linalolu bylo prokázáno několik bioaktivních vlastností, jako je antimikrobiální, antihyperlipidemická, neuroprotektivní a antioxidační vlastnost. Díky antimikrobiálnímu účinku linalolu lze zvýšit antimikrobiální účinnost esenciálních olejů, což následně umožňuje snížení koncentrace esenciálních olejů ve výsledných produktech. U

antioxidačních vlastností bylo prokázáno, že linalol pohlcuje radikály. Tato vlastnost by z linalolu mohla učinit potenciální alternativu k syntetickým antioxidantům [8].

Mezi další složky levandule se řadí linalylacetát. Je to nekonjugovaný ester linalolu. Strukturně se liší pouze esterifikovanou hydroxylovou skupinou. Je to čirá, bezbarvá, olejovitá kapalina, která má květinově-ovocnou vůni podobnou bergamotu. Chuť má sladkou a hruškovitou. Bod varu linalylacetátu je 220 °C, bod tání je <25 °C. Je rozpustný v etheru, alkoholu a diethylfthalátu. Je identifikován jako jedna ze složek levandulového oleje, která může způsobovat alergické reakce [9, 10, 11].



Obrázek 2: Vzorec linalylacetátu.

Terpineol, vyskytující se v levanduli, je monocyklický monoterpenoidní terciální alkohol. Vyskytuje se ve čtyřech izomerech α -, β -, γ -, a δ -terpineol. V přírodních zdrojích se nejčastěji vyskytuje α -terpineol, zbylé izomery se v přírodě vyskytují zřídka. Průmyslově využívaný α -terpineol je vonná látka, která vykazuje i biologické vlastnosti, jako je antioxidační, antimikrobiální a antikarcinogenní aktivita. Izomer α -terpineol je součástí mnoha květin, bylin i listů, a to v různých koncentracích. Z těchto přírodních zdrojů je možné ho získat pomocí frakční destilace [12].

1.2 Zdravotní účinky

Léčebné účinky levandule byly vysledovány až ke starým Římanům a Řekům. V lidovém léčitelství je využívána ke snižování tlaku a má sedativní účinky. Levandule zpomaluje srdeční činnost, snižuje teplotu a otupuje vnímání. V nálevu nebo čajových směsích se používá k potlačení migrény, nespavosti, bušení srdce nebo při poruchách trávení. Zvyšuje tvorbu žluče a umožňuje jí lepší průtok žlučovými kanálky. Používá se i jako dezinfekce, protože má silné antibakteriální účinky. Je využívána také ve farmacii, parfumerii a

kosmetice. Levandulová silice je také používána k léčbě kožních onemocnění, jako jsou dermatitidy, ekzém a lupénka [2, 7, 13].

1.3 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita u levandule je pravděpodobně dána vysokou koncentrací linalolu, dále fenolickými sloučeninami, kam patří fenolové kyseliny, také flavonoidy a taniny. Antioxidační aktivita u flavonoidů a fenolických sloučenin je u rostlin jedna z nejdůležitějších vlastností. Tuto aktivitu u rostlinných extraktů je možné vysvětlit synergickým působením obsažených sloučenin i flavonoidů. V různých částech rostlin je obsah fenolických látek odlišný (listy, květy a květní pupeny). Při analýze chemického složení květů levandule bylo zjištěno, že s vývojem se zvyšuje obsah silice. Nejvíce flavonoidů je obsaženo ve květech levandule. Bylo prokázáno, že flavonoidy, které ve své struktuře obsahovaly hydroxylovou skupinu jsou silnějšími antioxidanty ve srovnání s ostatními flavonoidy [14].

1.4 Využití

Levandule působí jako antimikrobiální činidlo v potravinách a působí proti patogenům jako je *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus cereus*. U esenciálních olejů z levandule byla také prokázána fungicidní účinnost [15].

Využívá se i v lidovém léčitelství k tišení stavu nervového vypětí, usnadňuje usínání a doporučuje se užívat při depresích. Má analgetické účinky, mírní menstruační bolesti a migrény. Vyskytuje se ve směsích, které se používají při rýmě, nachlazení, zánětu hltanu a nosních dutin [13].

Díky vysokému obsahu linalolu a linalylacetátu se levandulový olej využívá ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Vysoká hladina kafru umožňuje využití této silice jako insekticid, detergent i jako průmyslový a domácí čistící prostředek [5].

2 ŠALVĚJ

Šalvěj lékařská neboli *Salvia officinalis* se řadí do čeledi hluchavkovitých. Jedná se o jednoleté, dvouleté nebo také vytrvalé polokeře vysoké 20–70 cm, které jsou silně aromatické. Tyto rostliny mají větvený hlavní kořen a listy mají řapíkaté. Lodyhy jsou přímé, olistěné rovnoměrně v celé délce a šedoplstnaté. Koruna je dvoupyská, světle fialová, růžová, modrá, žlutá někdy až bílá [1].

Mezi další druhy šalvěje se řadí: Šalvěj luční (*Salvia pratensis*), Šalvěj muškátová (*Salvia sclarea*), Šalvěj etiopská (*Salvia aethiopsis*), Šalvěj osténkatá (*Salvia spinosa*), Šalvěj lepkavá (*Salvia glutinosa*), Šalvěj rakouská (*Salvia austriaca*) [1].

Šalvěj původně pochází z jižní Evropy z okolí Středozemního moře, z teplých oblastí Španělska, Francie a jižní Itálie. Roste na suchých svazích, ve vápencových skálách a také v suti [1, 2].

Šalvěj lékařská má květenství jako všestranné lichoklasy, složené ze 6–8 lichopřeslenů po 5–10 květech. Květy jsou souměrné se srostlými obaly, samičí na různých jedincích nebo obojaké. Kalich je hluboce brázditý, žláznatě tečkovaný a trubkovitě dvoupyský [2].



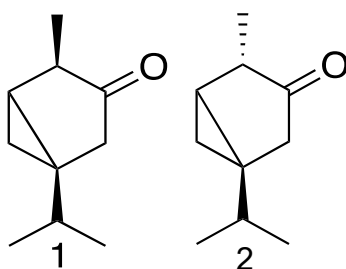
Obrázek 3: Šalvěj lékařská [16].

2.1 Složení

Hlavní účinné látky této byliny jsou silice. Obsah těchto silic se liší hlavně podle druhu šalvěje, ze které pochází. Hlavní složkou silice je thujon, toho je v silici okolo 40–60 %, jedná se tedy především o poddruhy subsp. *officinalis* a subsp. *minor*. Dále obsahuje 1,8-cineol, jehož je v rostlině cca 15 %, kafr (15 %), borneol a další složky, jako je pikrosalvin s obsahem 0,35 %. Tato bylina také obsahuje třísloviny a hořčiny [2].

Thujon, vyskytující se v šalvěji, je monoterpenketon, který je přítomen v řadě rostlin a je to také hlavní složka absintového nápoje. V případě potravin se thujon používá v masových výrobcích, ve kterých je obsažena šalvěj, ale také ve zmrzlinách a pekárenských výrobcích. Thujon je neurotoxická látka vyskytující se ve dvou formách, α -thujon a β -thujon. Forma α -thujon inhibuje kyselinu gama-aminomáselnou A ($GABA_A$). Receptor způsobuje křeče v závislosti na dané dávce. Neurotoxicita je hlavní výsledek toxicity při akutních a toxických studiích. Odhad pro povolený denní příjem thujonu ze stravy je 3-7 mg/den [17].

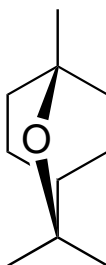
Další látka, která se vyskytuje v šalvěji, je α -thujon. Jedná se o organickou sloučeninu patřící mezi monoterpeny. Vyskytuje se v mnoha rostlinách, jako jsou pelyněk a šalvěj. Obsah α -thujon je v porovnání s β -thujonem často vyšší, ale β -thujon má nižší toxicitu. Bod varu α -thujon je 200 °C a bod tání <25 °C [18, 19].



Obrázek 4: Vzorce α -thujonu (1) a β -thujonu (2).

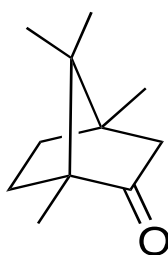
1,8-cineol, přítomen v šalvěji, je cyklický terpen a monoterpenoid, který se vyskytuje v silicích rostlin jako je *Eucalyptus*, *Salvia lavandulifolia* a *Melaleuca quinquenervia*. Jedná se o bezbarvou kapalinu s kafrovým zápachem. Má štiplavou, kořenitou a chladivou chuť. Bod varu 1,8-cineolu je 176 °C a bod tání 1,5 °C. Je rozpustný v alkoholech, chloroformu a ethyletheru. Jeho dominantní farmakologické vlastnosti jsou antioxidační a protizánětlivé účinky. Podílí se na léčbě respiračních onemocnění, bronchitidě a astmatu. Navzdory

významným farmakologickým účinkům je jeho klinické použití omezeno z důvodu jeho špatné stability [20, 21].



Obrázek 5: Vzorec 1,8-cineolu.

Kafr je monoterpenový keton, který tvoří téměř 30 % monoterpenů přítomných v listech šalvěje. Jakmile se rostlina blíží k zralosti, klesá obsah kafru zhruba na polovinu. Tuto skutečnost lze vysvětlit katabolizováním kafru v období růstu. Kafr je bílá krystalická látka, která má pronikavý zápach. Bod varu je 204 °C a bod tání kafru je 180 °C. Je rozpustný v ethanolu, olejích a ve vodě [22, 23].



Obrázek 6: Vzorec kafru.

2.2 Zdravotní účinky

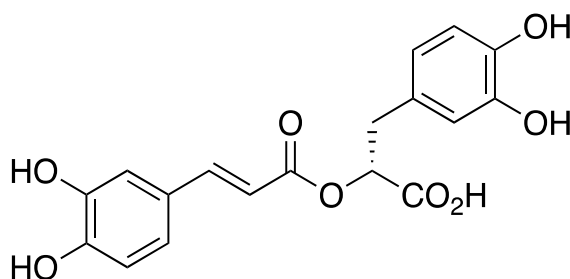
Historicky je šalvěj známá jako „rostlina spásy“. V poslední době je vynaloženo větší úsilí na určení nejlepší extrakční metody, nejlepších extrakčních podmínek a výběru částí rostlin, které mají být použity, aby byla co nejvyšší výtěžnost [24].

Šalvěj vykazuje zdravotní účinky při vnějším i vnitřním užití. U vnějšího užití se nejčastěji používá jako kloktadlo při zánětech a zraněních v dutině ústní. Také po stomatologických zákrocích i jako léčivo proti nachlazení. Využívá se i při koupelích, které slouží k dezinfekci nebo k nejrůznějším výplachům. Pro vnitřní účely se šalvěj využívá buď samotná v nálevu, nebo jako součást čajových směsí, proti nadměrnému pocení. Zlepšuje jaterní funkce a také zvyšuje chuť k jídlu a podílí se na zlepšování duševního stavu. Využívá se ke zlepšení pravidelnosti menstruačního cyklu a v menopauze ke snížení návalů horka [2, 24].

2.3 Antioxidační aktivita

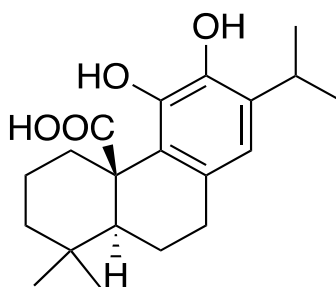
Antioxidační aktivita u šalvěže je dána převážně díky kyselině karnosové a rozmarýnové, které se řadí mezi fenolické kyseliny. Tyto kyseliny jsou obsaženy i v rozmarýnu. K dalším účinným látkám patří terpenoidy a flavonoidy. Dále se v šalvěži vyskytují oligomery kyseliny kávové, které jsou biologicky aktivní. Také jsou zde přítomny trimery, tetramery, a i vyšší oligomery, kam patří kyselina salvianolová [25].

Kyselina rozmarýnová, obsažena v šalvěži, vykazuje protizánětlivé, antivirové, antibakteriální a antioxidační účinky a má tedy prospěšný vliv na zdraví člověka. Tato kyselina má v rostlinách obranné účinky, při kterých dochází k její biosyntéze z aminokyselin jako je např. L-fenylalanin [26].



Obrázek 7: Vzorec kyseliny rozmarýnové.

Kyselina karnosová, vyskytující se v šalvěži, je fenolický diterpen. Řadí se do terpenoidů, což jsou sekundární metabolity rostlin, kterých je více než 50 000. Z důvodu obsahu fenolové skupiny se řadí mezi polyfenoly. I když je řazena do této skupiny, tak biosyntetická dráha a rozpustnost se liší od jiných polyfenolů a je podobná spíše terpenoidům. Klimatické podmínky, ve kterých se rostlina vyskytuje, mají vliv na produkci kyseliny karnosové, kdy při vyšší teplotě je produkce kyseliny vyšší. Tato kyselina vykazuje antioxidační a antimikrobiální vlastnosti [27].



Obrázek 8: Vzorec kyseliny karnosové.

2.4 Využití

Šalvěj lékařská se významně využívá ve farmaceutickém průmyslu, nejčastěji se využívají listy a natě dané byliny. Využívá se ve směsi s jinými bylinami na přípravu čajů. Extrakty získávané z listů se používají díky svým fungicidním a antiseptickým účinkům k symptomatické léčbě zánětlivých onemocnění dutiny ústní, hltanu a dásní ve formě tinktury, která je prodávána pod obchodním názvem Florsalmin. Tato bylina je hojně využívána v tradičním lidovém léčitelství. Je možné ji použít i k dezinfekčním koupelím a výplachům [1, 2].

Šalvěj lékařská je díky vysokému obsahu silice využívána i při léčbě nervových i úzkostných problémů. Používá se také při přípravě jídel, často je přidávána i do směsí kořenících přípravků, a to díky svým aromatickým vlastnostem. Jako dochucovadlo a koření dle FDA (Food and Drug Administration) je považována za GRAS (Generally Recognized as Safe). Využívá se k dochucení vepřového a drůbežího masa a také jako kořenící složka při výrobě klobás [28].

3 HŘEBÍČEK

Hřebíček neboli hřebíčkovec kořený, jehož latinský název je *Syzygium aromaticum*, se uvádí i jako *Eugenia caryophyllata*. Jedná se o strom, který může dorůst do výšky 8–12 m a řadí se do čeledi myrtovitých. Listy jsou střídavé, jednoduché, zpeřené, žilnaté, celokrajné a zřídka jsou vroubkované. Palisty bývají nenápadné a nepatrné nebo dokonce chybí. Květenství bývají axiální nebo koncová. Květy jsou oboupohlavné, ve výjimečných případech jednopohlavné, častokrát 4–5 čtné. Tyčinky bývají víceřadé, volné a čtné. Mohou být ve shlucích nebo srostlé do svazků tak, že jsou naproti okvětním lístkům. Plody jsou jako lokulicidní tobolky jedno – až mnohosemenné dužnaté bobule. Semen může být mnoho, ale také se může vyskytovat pouze jedno [29, 30].

Hřebíček pochází z ostrovů Maluku ve východní Indonésii. Pěstuje se v pobřežních oblastech v nadmořských výškách do 200 m. Vyšší nadmořské výšky nejsou pro pěstování vhodné. Hřebíček produkuje poupata, která jsou komerční částí tohoto stromu. Rostou po 4 letech od vysazení. Tato poupata se sbírají před rozkvetem, a to ve fázi zrání [29].

Historie pěstování hřebíčku sahá až do doby 400 let před naším letopočtem, kdy ho znali v Indii. Do Evropy byl dovezen z Alexandrie, kde jej prodávali arabští kupci. Hřebíček se od 9. století stal kořením bohatých rodin. První Evropan, který viděl růst hřebíčku byl Marco Polo, a to ve 13. století. V dnešní době patří mezi největší pěstitele hřebíčku Indie, Malajsie, Srí Lanka, Madagaskar, Tanzanie, Indonésie a také Brazílie [29, 31].



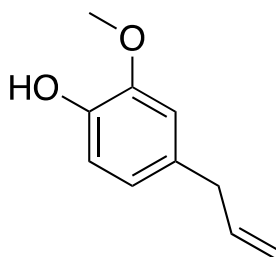
Obrázek 9: Hřebíčkovec kořený [32].

3.1 Složení

Hlavní biologicky aktivní složka hřebíčku je eugenol, mezi další složky se řadí flavonoidy a fenolové sloučeniny. Dále hřebíček obsahuje kyselinu hydroxybenzoovou a hydroxycinamovou, které se také řadí do fenolových sloučenin. Ve vyšší koncentraci obsahuje hřebíček kyselinu gallovou. Jiné deriváty, jako jsou hydrolyzovatelné taniny, jsou přítomny ve vyšší koncentraci. Mezi další flavonoidy v hřebíčku, se řadí kaempferol a kvercetin. Hřebíček dále obsahuje kyselinu ferulovou, elagovou, kávovou a salicylovou [29].

Hřebíček ve svých poupatech obsahuje až 18 % silice. Složky hřebíčku jsou eugenol, obsahově až 89 %, 5 až 15 % eugenylacetátu a β -karyofylenu a až 2,1 % α -humulenu. Mezi další složky hřebíčkové silice se řadí β -pinen, farnesol, limonen a benzaldehyd [29].

Eugenol, který má největší koncentraci v hřebíčkové silici, je aromatická sloučenina řadící se do skupiny fenolů. Tato sloučenina se vyskytuje i v silicích jiných rostlin, které jsou z čeledí *Lamiaceae*, *Lauraceae*. Jedná se o čirou, někdy až světle žlutou, olejovitou tekutinu, která má kořenité aroma. Dobře se rozpouští v organických rozpouštědlech, ale málo ve vodě. Je možné ho vyrobit synteticky nebo také biotechnologicky, kdy dochází k biotransformaci spektra mikroorganismů (*Streptomyces* spp., *Escherichia coli* a *Corynebacterium* spp.). Eugenol je poměrně málo chemicky stabilní, podléhá oxidaci. Tato látka má protizánětlivé, analgetické, antioxidační, antimutagení a antialergické účinky. Vykazuje také antimikrobní účinky proti mnoha patogenům, které působí na lidský organismus. Jedná se především o gramnegativní a grampozitivní bakterie, houby a také parazity typu *Fasciola gigantica*, *Giardia lamblia*, *Haemonchus contortus* [33].

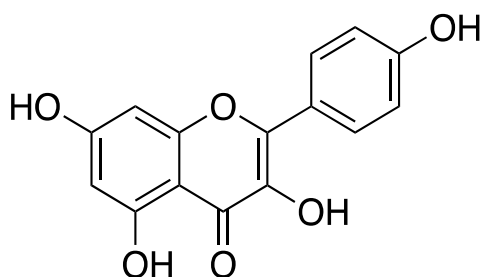


Obrázek 10: Vzorec eugenolu.

Další složkou hřebíčku, β -karyofylen, je bicyklický seskviterpen. Nejčastěji se v přírodě vyskytuje ve formě *trans*-karyofylenu. Vyskytuje se i jako oxidační derivát β -karyofylenoxid. Tato sloučenina má silný dřevěný zápach a využívá se v potravinářském

a kosmetickém průmyslu. Obě sloučeniny, jak β -karyofylen, tak β -karyofylenoxid, jsou schválené FDA (Food and Drug Administration) a EFSA (European Food Safety Authority) jako dochucovadlo. Jsou málo rozpustné ve vodě, takže biologické tekutiny brání absorpci těchto látek do buňky, ale jsou afinitní k buněčné membráně, protože interagují s lipidovou dvojvrstvou. Hlavní biologické účinky β -karyofylenu jsou analgetické, protizánětlivé, antioxidační a antimikrobiální [34].

Kaempferol, který je součástí hřebíčku, se řadí do aglykonových flavonoidů, které jsou ve formě glykosidů. Je to žlutá sloučenina tetrahydroxyflavonu, ve kterém jsou čtyři hydroxylové skupiny. Tato látka se vyskytuje v částech rostlin, jako jsou listy, plody, semena a květy. Kaempferol vykazuje antioxidační, antimikrobiální a antidiabetické vlastnosti. Bylo prokázáno, že vysoký příjem kaempferolu je spojován s nižším výskytem některých typů rakoviny, jako je rakovina kůže, tlustého střeva, slinivky, žaludku a močového měchýře, kdy tato látka inhibuje rakovinné buňky spuštěním apoptózy [35].



Obrázek 11: Vzorec kaempferolu.

3.2 Zdravotní účinky

Hřebíček má silnou antimikrobiální a antioxidační aktivitu. Hřebíčková silice se využívá k léčbě infekcí dásní a infekčních zánětů kořenů zubů. Silice se používá do prostředků využívaných k péči o dásně, z důvodu její schopnosti proniknout do zubní dřeně a dostat se tak do krevního řečiště. Také ji lze využít při léčbě popálenin, při problémech s nadýmáním, zvracením, při nevolnosti, poruchách jater, střev a žaludku. Dále stimuluje nervovou soustavu. Také je využívána k inhibici patogenů, jako jsou viry, červi a bakteriální infekce, které jsou přenášeny potravinami [36].

Mezi další účinky hřebíčku patří antimykotické a antiseptické vlastnosti. Hřebíčkovou silici lze využít i při léčbě akné, z toho důvodu je hojně využívána v kosmetickém průmyslu. Hřebíček usnadňuje vykašlávání a je doporučován k inhalaci při nachlazení, zánětech sliznic

hltnu, rýmě a zánětu dutiny ústní. Silici z hřebíčku lze využít ke koupelím, obkladům i masážím. V případě masáže a koupelí je hřebíček doporučován při revmatismu a neuralgii [13].

V případě složky silice, eugenolu, bylo zjištěno, že eugenol může způsobovat podráženi a alergie, např. alergická kontaktní dermatitida, která se projevuje jako ekzém na ruku u zubních lékařů a asistentů v důsledku používání eugenolu ve stomatologii [33].



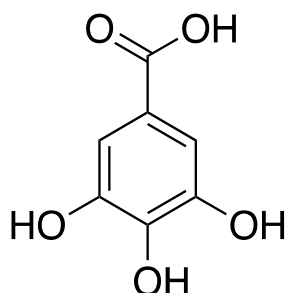
Obrázek 12: Sušený kalich s poupětem *Syzygium aromaticum* [37].

3.3 Antioxidační aktivita

Pupeny hřebíčku vykazují antioxidační aktivitu. Tato aktivita je dána převážně obsahem polyfenolů, tetraethylamonium chloridu a kyseliny gallové. Hlavní typy fenolických sloučenin jsou fenolové kyseliny (kyselina gallová), fenolické těkavé oleje (eugenol, eugenyl acetát) a taniny [29].

Kyselina gallová (kyselina 3,4,5-trihydroxybenzoová), vyskytující se v hřebíčku, je bezbarvá nebo slabě žlutá pevná krystalická látka. Teplota tání kyseliny gallové je 210 °C. Při teplotě 235 °C a 240 °C se rozkládá za vzniku oxidu uhličitého a oxidu uhelnatého. Je rozpustná v alkoholu, vodě, glycerolu a etheru, ale prakticky nerozpustná v chloroformu, benzenu a petroletheru. Jedná se o polyfenol, který se hojně vyskytuje v ovoci, čaji a ve víně. Také se nachází v dřevinách, jako je např. dub (*Quercus robur*) a kaštan (*Castanea sativa* L.). Kyselina gallová má mnoho vlastností např. antioxidační, antimutagenní, protizánětlivé a protirakovinné. Tato kyselina prokazuje selektivní cytotoxicitu pro rakovinné buňky a má velmi malou toxicitu pro buňky zdravé. Díky těmto vlastnostem je kyselina gallová

využívána jako přísada do vitaminů. Také se používá jako výživový doplněk k prevenci rakoviny [38, 39].



Obrázek 13: Vzorec kyseliny gallové.

Eugenyl acetát (4-allyl-2-methoxyfenol acetát) je derivát eugenolu, který se přirozeně vyskytuje v silici hřebíčku. Tuto silici lze získat z květů parní destilací nebo extrakcí rozpouštědlem. Eugenyl acetát je rozpustný v etheru a ethanolu, ale je nerozpustný ve vodě. Při pokojové teplotě je ve formě světle žluté kapaliny, která má jemné hřebíčkové aroma. Bod tání eugenyl acetátu je 30–31 °C. EFSA (European Food Safety Authority) považuje eugenyl acetát za bezpečný pro aplikaci v potravinářském průmyslu. Tato látka vykazuje aromatické, antimikrobiální a antioxidační vlastnosti [40, 41].

3.4 Využití

Hřebíček se komerčně používá v parfémovém průmyslu a k léčebným účelům. Potenciálně ho lze využít v potravinářském průmyslu jako konzervační látku. Především při zpracování masa, kde nahrazuje chemické konzervační látky, díky jeho antimikrobiálním a antioxidačním vlastnostem [36].

Také je využíván v kosmetickém průmyslu, kde se přidává do mastí s hřejivým účinkem, pomáhá při léčbě otrav jídlem a nadýmání. Jeho další vlastností je, že odpuzuje hmyz [13].

4 ANTIOXIDANTY A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

4.1 Antioxidanty

Oxidace lipidů je hlavní příčinou zhoršování kvality potravin. Lipidy jsou citlivé na oxidační procesy v přítomnosti katalyzátorů, jako je teplo, enzymy, metaloproteiny a světlo. To vede ke vzniku mnoha nežádoucích složek v potravinách, ztrátám vitaminů rozpustných v tucích a vzniku nepříjemných pachutí v potravinách [42].

V lidském těle jsou tyto látky příčinou oxidačního stresu a předpokládá se, že mají negativní účinky na buněčné struktury a jsou spojeny s řadou nemocí, jako jsou záněty, dále vznik aterosklerózy a také stárnutí. Oxidační stres *in vivo* má kvůli oxidaci membránových lipidů, buněčných proteinů, enzymů a DNA destruktivní účinky [42].

K oxidaci lipidů může dojít prostřednictvím fotooxidace, autooxidace, tepelné oxidace a enzymatické oxidace, kdy často vznikají volné radikály. Fotooxidace zahrnuje excitaci fotosenzibilizátoru a přenos energie lipidových molekul nebo kyslíku. Autooxidace je reakcí lipidů, mastných kyselin a vzdušného kyslíku a jde o nejběžnější proces vedoucí k oxidačnímu znehodnocení potravin. K autooxidaci lipidů dochází prostřednictvím mechanismu řetězové reakce, která probíhá ve třech krocích: iniciace, propagace a terminace. Tento proces může být zahájen vnějšími činidly, která jsou zmíněna výše [42, 43].

Primární produkty oxidace jsou lipidové hydroperoxydy a konjugované dieny (nebo trieny). Ty jsou nestabilní a rozkládají se na sekundární produkty (aldehydy, ketony, alkoholy a uhlovodíky). Mnohé z těchto látek způsobují v potravinách nepříjemný zápach [42].

Oxidace lipidů je jeden z hlavních procesů, které zhoršují jak nutriční, tak senzorickou kvalitu potravin. Vyskytuje se především při zpracování a skladování potravin a způsobuje znehodnocení, které má za následek žluknutí, a tedy zhoršení nutriční hodnoty, chuti, barvy a textury. Tento proces může vznikat u jedlých olejů i tuků, např. másla. Dochází také ke zhoršování kvality masa a masných výrobků, mléčných výrobků a dalších potravinářských produktů obsahujících tuky [42].

Antioxidanty jsou látky, které zpomalují nebo zabraňují oxidačním procesům a tím zmírňují zhoršování kvality potravin. Využití antioxidantů je jeden ze způsobů, jak ochránit potraviny před oxidací lipidů. Jedná se o neekonomičtější a neúčinnější způsob ochrany potravin. Výrobci potravin je využívají ke stabilizaci lipidů. Antioxidanty inaktivují reaktivní formy

kyslíku a odbourávají volné radikály. Mimo jiné inhibují prooxidační enzymy a produkty sekundární oxidace [42].

Dle mechanismu účinku je lze rozdělit na primární a sekundární antioxidanty. Mezi primární se řadí některé fenolické sloučeniny a tokoferoly. Ty působí jako donory vodíku nebo akceptory volných radikálů za vzniku stabilnějších látek a tím řetězovou reakci oxidace inhibují. Po inhibiční reakci vznikají stabilní produkty, které neinicují vznik dalších volných radikálů a ani nedochází k rychlé oxidaci vlivem řetězové reakce. Oproti tomu sekundární antioxidanty zpomalují nebo zabraňují oxidaci tím, že potlačí oxidační promotory, a to i kovové ionty, prooxidační enzymy, singletový kyslík a další oxidanty. Takzvané „lapače kyslíku“ působí jako redukční činidla a redukují peroxidy lipidů a jiné oxidanty pomocí redoxních reakcí. Mezi sekundární antioxidanty patří kyselina askorbová, která dokáže regenerovat primární antioxidanty doplněním atomu vodíku. Další sekundární antioxidanty absorbují UV záření a tím pak chrání lipidy před fotooxidací, která je UV-indukovaná anebo dokáže rozložit hydroperoxydy na druhy, které budou neradikálové [42].

Antioxidanty jsou přirozenou součástí mnoha rostlin, mikroorganismů a také zvířat, ale mohou být i syntetizovány chemickou cestou. V přírodních zdrojích, jako je ovoce, zelenina, byliny, koření, některé obiloviny, čaje, semena a oleje, se vyskytuje velká skupina fenolických látek jako jsou polyfenoly, tokoferoly, a jiné [42].

4.1.1 Tokoferoly

Tokoferoly patří mezi nejznámější a nejpoužívanější antioxidanty. Složky α -, β -, γ - a δ -tokoferoly se liší stupněm methylace jednotlivých složek dihydrochromanového kruhu. Antioxidační aktivita tokoferolů je dána jejich schopností darovat své fenolové hydrogeny lipidovým volným radikálům. Relativní antioxidační aktivita tokoferolů *in vivo* je v pořadí $\alpha > \beta > \gamma > \delta$. Antioxidační aktivita tokoferolů je závislá na druhu potravin, na koncentraci, ve které je použita a také na dostupnosti kyslíku, přítomnosti těžkých kovů a synergických látek. V případě synergismu je celkový antioxidační účinek přítomných látek často větší než součet jednotlivých účinků. Synergický účinek má α -tokoferol s β -karotenem. Jako antioxidant při nízkém tlaku kyslíku působí β -karoten, ale má prooxidační účinek při vysokém tlaku kyslíku. Z toho plyne, že β -karoten a α -tokoferol mohou vykazovat synergismus v systémech s nízkým tlakem kyslíku (*in vivo*), zatímco β -karoten může vést k prooxidačnímu účinku, a to v přítomnosti tokoferolu v systémech s vysokým tlakem kyslíku [44, 45].

K dosažení vyšší antioxidační aktivity se využívají i další synergické látky, jako je kyselina askorbová nebo kyselina citronová. Pokud jsou tokoferoly ve vysoké koncentraci nebo jsou přítomny měďnaté soli, mohou pak tyto antioxidanty působit jako prooxidanty [44].

4.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy, které jsou také přírodními antioxidanty, jsou přítomné v potravinách rostlinného původu. Řadí se do třídy sekundárních rostlinných metabolitů s polyfenolickou skupinou. Vyskytují se ve všech částech rostlin. Tyto látky mají antioxidační, protizánětlivé, antikarcinogenní a antimutagenní vlastnosti. Hojně se vyskytují v čaji, víně, kakau, ovoci a zelenině. Dělí se do několika podskupin, jako jsou chalkony, flavony, flavonoly, flavanony a isoflavony [46].

Flavony jsou podskupina flavonoidů. Vyskytují se v plodech, listech a květech ve formě glukosidů. Hlavní zdroj flavonů je heřmánek, červená paprika, celer, máta a petržel. Mezi složky flavonů patří tangeritin, apigenin a luteolin. Flavonoly jsou součástí i slupek citrusových plodů, kde se vyskytuje nobiletin, tangeretin a sinensetin [46].

Flavonoly jsou další podskupinou flavonoidů. Jsou to flavonoidy s ketonovou skupinou. Vyskytují se v jak v ovoci, tak v zelenině. Bohatými zdroji flavonolů jsou kapusta, cibule, hlávkový salát, jablka, rajčata, hroznové víno, čaj a také červené víno. Flavonoly mají antioxidační vlastnosti. Mezi flavonoly patří kvercetin, myrcen, kaempferol [46].

Flavanony, podskupina flavonoidů, jsou přítomny v citrusových plodech a hroznech. Stejně jako flavony mají flavanony antioxidační vlastnosti. Tyto látky zodpovídají za hořkou chuť kůry a šťávy citrusových plodů. Mezi flavanony patří eriodictyol, naringenin a hesperetin [46].

Isoflavony, řadí se do skupiny flavonoidů, jsou v rostlinné říši rozšířeny pouze v malé míře. Vyskytují se převážně v sójových bobech a jiných luštěninách. Mezi tyto látky se řadí daidzein a genistein. Ty jsou považovány za fytoestrogeny díky jejich estrogenní aktivitě na zvířecích modelech [46].

Chalkony, podtřída flavonoidů, se vyznačují nepřítomností základní struktury flavonoidního skeletu. Označují se jako flavonoidy s otevřeným řetězcem. Vyskytují se v jahodách, hruškách, rajčatech a také v pšeničných produktech. Tyto látky se vyznačují biologickými a nutričními vlastnostmi. Řadí se sem arbutin, floridzin, chalkonaringenin a floretin [46].

Katechin, patřící mezi flavonoidy, má vysokou antioxidační aktivitu a toho se využívá ke stabilizaci tuků (sádla) [44].

4.1.3 Karotenoidy

Další skupinou přírodních antioxidantů jsou karotenoidy. Patří mezi nejběžnější pigmenty a doposud bylo charakterizováno více než 600 různých sloučenin, k nejvýznamnějším patří β -karoten. Karotenoidy odpovídají za červené, oranžové a žluté zbarvení rostlin, ale také zodpovídají za barvy hmyzu, ptáků, ryb a korýšů. Rostliny, houby, řasy a bakterie jsou schopny si karotenoidy samy syntetizovat, kdežto zvířata je přijímají z potravy. V případě zvířat slouží karotenoidy jako antioxidanty a jako zdroj vitamínu A. Většina karotenoidů je odvozena ze 40-uhlíkové bazální struktury. Ta zahrnuje systém konjugovaných dvojných vazeb. Karotenoidy řadíme do dvou tříd, a to karoteny, které obsahují atomy vodíku a kyslíku a xantofyly, které obsahují alespoň jeden atom kyslíku. Uspořádání konjugovaných dvojných vazeb v polyenovém skeletu ovlivňuje antioxidační aktivitu a určuje jejich vlastnosti absorbující světlo. Karotenoidy jsou lipofilní látky a mají tendenci se hromadit v membránách nebo lipoproteinech. Tato vlastnost ovlivňuje jejich absorpci, transport a vylučování z organismu. Antioxidační aktivita karotenoidů je dána vychytáváním dvou reaktivních forem kyslíku, singletového molekulárního kyslíku a peroxylových radikálů. Interakce karotenoidů se singletovým kyslíkem závisí i na fyzikálním zhašení, to zahrnuje přímý přenos energie mezi oběma molekulami. Účinnost karotenoidů na fyzikální zhašení souvisí s počtem konjugovaných dvojných vazeb přítomných v molekule, což určuje jejich nejnižší energetickou hladinu tripletu. Tripletní energetickou hladinu blízkou k hladině singletového kyslíku, která umožňuje přenos energie, má β -karoten. Kromě β -karotenu jsou aktivní zhašeče singletového kyslíku i kryptoxantin, zeaxantin a α -karoten [47].

Mezi další přírodní antioxidanty se řadí fosfolipidy, které jsou přítomny v rostlinných olejích. Jde např. o lecitin. Ke ztrátám fosfolipidů dochází rafinací. Využívají se jako synergenty s fenolovými antioxidanty. Stabilizace fosfolipidů je pravděpodobně dána přítomností minoritních látek, jako jsou tokoferoly. Antioxidační aktivita fosfolipidů je dána schopností umožňující rozklad hydroperoxidů [44].

Účinnost antioxidantů je dána mnoha faktory, včetně koncentrace, teploty, typu oxidačního substrátu, přítomností prooxidantů, strukturních vlastností, fyzikálního stavu systému a přítomností synergentů a antagonistů [42].

4.2 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivitu lze stanovit chemickými metodami, které jsou založené na vychytávání volných radikálů. Dále metodami, které hodnotí eliminaci kyslíkových radikálů nebo metodami, které hodnotí eliminaci lipidové peroxidace. Antioxidační aktivita je ovlivněna synergickými a antagonistickými látkami. Účinky antioxidantů lze ovlivnit mnoha faktory, jako je využití různých extrakčních činidel, teplota samotné extrakce a dalšími podmínkami [42, 48].

Ke stanovení antioxidační aktivity se používají různé analytické metody. Jedny z těchto metod jsou spektrofotometrické, kde dochází k reakci radikálu, radikálového kationtu nebo komplexu s molekulou antioxidantu, která je schopna darovat atom vodíku. Mezi spektrofotometrické metody se řadí metoda DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl), ABTS (kyselina 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová)), FRAP (železitý redukující antioxidační účinek) a ORAC (kapacita absorpce kyslíkových radikálů) [48].

Dále je možné stanovovat antioxidační aktivitu fluorimetricky, kdy fluorescence je emise světla látkou, která absorbovala světlo nebo jiné elektromagnetické záření jiné vlnové délky. Fluorimetricky je možné stanovit kyselinu askorbovou, kdy stanovení je založeno na reakci kyseliny dehydroaskorbové s *o*-fenylendiaminem. Při této technice je nutné kontrolovat pH z důvodu závislosti intenzity fluorescence na hodnotě pH [48].

Pro stanovení antioxidantů a antioxidační aktivity jsou využívány i elektrochemické metody. Mezi nejrozšířenější elektrochemické metody se řadí cyklická voltametrie. Jedná se o druh potenciodynamického elektrochemického měření, kdy se potenciál pracovní elektrody lineárně zvyšuje v závislosti na čase. Další elektrochemickou metodou je amperometrická metoda, která zahrnuje měření intenzity proudu, který protéká mezi měrnou a referenční elektrodou. Měření antioxidační aktivity touto metodou je založeno na redukci DPPH• radikálu [48].

Mezi další metody stanovení antioxidační aktivity se řadí chromatografické metody. Tyto metody jsou používány k separaci a detekci antioxidantů a jsou zařazeny před spektrofotometrickým nebo elektrochemickým hodnocením antioxidační aktivity. Je zde využívána plynová chromatografie. Tato metoda se používá pro separaci a analýzu sloučenin, které lze odpařit bez rozkladu. Jako detektor při stanovení antioxidační aktivity je využíván plamenově ionizační (FID) a tepelně vodivostní (TCD) detektor. Mnohem více

je využívána HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie) s UV detekcí, DAD detektorem (detektor s diodovým polem) [48].

Spektrofotometrická metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) měří schopnost antioxidantů přerušovat radikálový řetězec, eliminovat kyslíkové radikály. Inhibuje oxidaci indukovanou peroxylovými radikály. Peroxylový radikál reaguje s fluorescenční sondou, to vede ke ztrátě fluorescence, která je zaznamenána fluorometrem. Jako standard se v této metodě používá trolox. Výsledky jsou uváděny jako ekvivalent troloxu. Tato metoda měří schopnost antioxidantů darovat atom vodíku. Toto lze automatizovat za pomoci vícekanálového systému pro manipulaci s kapalinou spojeného s fluorescenční čtečkou mikrodestiček. Jako generátory peroxylových radikálů jsou využívány azosloučeniny, např. lipofilní AIBN (α, α' -azobisisbutyronitril), AMVN (2,2'-azobis(2,4-dimethylvaleronitril)) a ABAP (2,2'-azobis(2-aminopropan)hydrochlorid) a hydrofilní AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid). K reakci tvorby peroxylových radikálů dochází tak, že azosloučenina podléhá tepelnému rozkladu za přítomnosti kyslíku. Vzniklé radikály reagují se sondou a antioxidantem. Generování radikálů je citlivé na teplo, proto je velmi důležité kontrolovat a monitorovat teplotu [42].

Pro stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin jsou používané metody, které jsou založeny na oxidačně-redukčních vlastnostech, kdy působí fenolické sloučeniny jako redukční činidlo a nabízí vodíkový radikál nebo elektron. Běžně se pro stanovení obsahu fenolických látek využívá metoda Folin-Ciocalteu (FCM). Mezi další metody se řadí ferrikyanidová metoda podle Pricea a Butlera (PBM) a metoda, která využívá 4-aminoantipyrin (AAPM) [49].

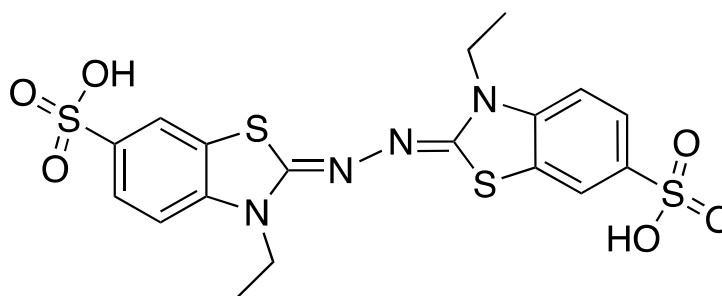
V následujících kapitolách jsou více popsány metody, které byly použity v rámci bakalářské práce.

4.2.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Jedná se o jednoduchou metodu pro stanovení celkové antioxidační aktivity. Tento test je označován jako TEAC (analýza antioxidační kapacity pomocí ekvivalentu troloxu). Měří se zde schopnost antioxidantů vylučovat radikálový kation $ABTS^{\bullet+}$. Tento chromofor má modrozelenou barvu s maximální absorpcí při 734 nm, jeho intenzita se s přítomností antioxidantů snižuje. Tento radikálový kation lze generovat z ABTS pomocí silných oxidačních činidel. Neutralizace $ABTS^{\bullet+}$ pomocí antioxidantů probíhá buď radikálovým

zhašením díky darování atomu vodíku, nebo redukcí pomocí darování elektronů, která je přímá. Rovnováha mezi těmito dvěma procesy závisí na pH prostředí a struktuře antioxidantů. Odbarvení modrozelené barvy závisí na mnoha faktorech, jako je doba trvání reakce, koncentrace vzorku a vnitřní antioxidační aktivita. Dochází tak k poklesu absorbance při 734 nm. Výsledky, které jsou získány touto metodou, jsou uváděny jako ekvivalenty pro trolox [42].

Test TEAC je jednoduchý a není pro něj potřeba specifické vybavení a může být zařazen jako rutinní analýza. Může být také ve spojení s HPLC. Tato metoda je využívána k měření antioxidační aktivity rostlinných materiálů a čistých látek. Radikálový kation lze rozpustit v lipofilních i hydrofilních médiích a nemá na něj vliv iontová síla média [42].



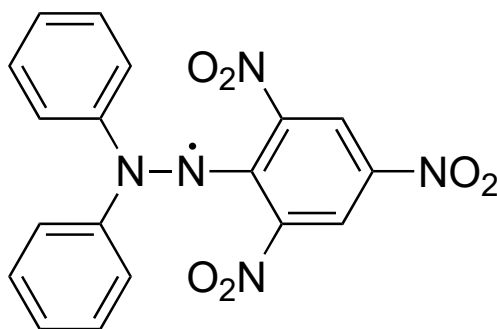
Obrázek 14: Vzorec kyseliny 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové) (ABTS).

Původně se k vytvoření ferrylmyoglobinového radikálu, který pak následně reagoval s ABTS za vzniku kation-radikálu, používal peroxid vodíku a metmyoglobin. V dnešní době se jako oxidační činidlo používá peroxodisíran draselný nebo peroxid, kdy peroxodisíran draselný je nejpoužívanější oxidační činidlo [42].

4.2.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Metoda DPPH je jedna z nejčastěji používaných metod k hodnocení antioxidační aktivity. DPPH• je tmavě fialový chromogenní radikál, který je komerčně dostupný. Dochází zde k elektronovému darování antioxidantů, aby došlo k neutralizaci DPPH•. Při reakci dochází k redukcí a k odbarvení reakční směsi, která je měřená při 517 nm. Tato změna indikuje antioxidační činnost [42].

Tento absorpční pás (517 nm) je velmi silný díky přítomnosti lichého elektronu. Při párování elektronů absorpce mizí. Odbarvení je pak dáno stechiometrií s ohledem na přijaté elektrony [50].



Obrázek 15: Vzorec DPPH•.

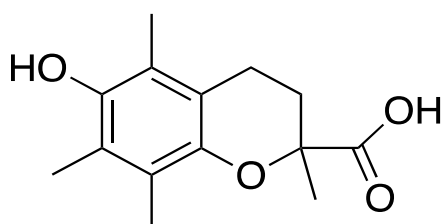
Tato metoda je široce používána, neboť je levná a jednoduchá. Měří se zde schopnost sloučenin působit jako lapače volných radikálů nebo jako donory vodíků k vyhodnocování antioxidační aktivity potravin. Může být také používána pro pevné nebo kapalně vzorky, také i v komplexních biologických systémech, kde se používá ke kvantifikaci antioxidantů. Touto metodou se zkoumá antioxidační aktivita zeleninových a ovocných šťáv, antioxidační vlastnosti zeleniny, bylin, mouky a jedlých olejů, za použití různých rozpouštědel, např. benzenu, ethanolu, vodném acetonu a methanolu [50].

Je možné ji taky využít k měření antioxidačních vlastností glutationu, kyseliny askorbové, cysteinu, polyhydroxyaromatických sloučenin např. pro ovoce, vína a džusy [50].

Výhoda této metody je, že DPPH• reaguje se vzorkem dostatečně dlouhou dobu tak, aby mohl reagovat i se slabými antioxidanty [50].

Antioxidační aktivita se vyjadřuje v jednotkách ekvivalentu standardu troloxu nebo v ekvivalentech kyseliny askorbové [51].

Standard, trolox je 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina. Jedná se o ve vodě rozpustný analog vitamínu E. Využívá se jako standard pro měření antioxidační kapacity komplexních směsí. Působí jako antioxidant, neuroprotektivní činidlo, lapač radikálů a inhibitor ferroptózy [52].



Obrázek 16: Vzorec troloxu.

4.3 Stanovení polyfenolických látek

Fenolické antioxidanty jsou specifická skupina sekundárních metabolitů, které chrání organismy před škodlivými účinky radikálů kyslíku. Obsah fenolických sloučenin v rostlinách je možno stanovit mnoha způsoby, mezi které se řadí kapalinová chromatografie (HPLC), kapilární zónová elektroforéza (CZE) a plynová chromatografie (GC). Stanovení s využitím chromatografie je přesné a má vysokou vypovídací hodnotu, ale problém je identifikovat všechny fenolické sloučeniny v daném vzorku. Využívání HPLC ke stanovování antioxidační aktivity je experimentálně náročnější [53].

Pro stanovení polyfenolů jsou využívány metody, kterými se měří změny absorpce záření pomocí Folin-Ciocalteuova (FC) činidla nebo Pruské modři. U metody Pruské modři dochází k redukci Fe^{3+} na Fe^{2+} a detekci vzniklých Fe^{2+} vytvořením chelátu hexakvanoželezitanu [54].

Při metodě FC dochází k chemické redukci činidla, jako je směs oxidu molybdenu a wolframu. Produkty, které vznikají redukcí, mají modrou barvu a velké rozpětí absorpce světla s maximem 765 nm. Sloučeniny molybdenu jsou žluté a fosfowolframany jsou v plně oxidovaném stavu bezbarvé. Tyto látky vytváří smíšené fosfowolframany-molybdenany, dochází zde k redukci jednoho nebo dvou elektronů a vznikají tak modré látky, jako jsou $(\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40})^{4-}$. Tím, že se přidá elektron k nevazebnému orbitalu dojde k redukci MoO^{4+} na modrý MoO^{3+} [55].

Nevýhodou této metody je, že je nespecifická. Tato metoda je závislá na selektivní oxidaci látek, které jsou si podobné a jsou snadno oxidovatelné. Pokud jsou tyto látky ve stanovovaném vzorku přítomny, přispívají k celkovému obsahu fenolů. Další oxidovatelné látky, mimo fenoly, jsou kyselina askorbová, aromatické aminy a oxid siřičitý [55].

Jako standard pro validaci této metody se využívá kyselina gallová [54]. Popis této sloučeniny a její chemický vzorec je uveden v kapitole 3.3.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍLE BAKALÁŘKÉ PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo zjistit vliv extrakčních podmínek na antioxidační potenciál bylinných extraktů prostřednictvím určení antioxidační aktivity dvěma různými metodami a také stanovením celkového obsahu polyfenolů.

Cílem teoretické části bylo charakterizovat vybrané rostliny, konkrétně levanduli, šalvěj a hřebíček a popsat metody využívané pro zjištění antioxidační aktivity a obsahu polyfenolů.

Cílem praktické části bylo určit antioxidační aktivitu pomocí spektrofotometrické metody s využitím jak činidla ABTS, tak DPPH a také stanovit spektrofotometrickou metodou celkový obsah polyfenolických látek za pomoci Folin-Ciocalteuova činidla, ve vodných a alkoholových extraktech vybraných bylin.

6 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

6.1 Materiál

K vytvoření extraktů a jejich následnému spektrofotometrickému měření v praktické části bakalářské práce byly použity sušené vzorky levandule, šalvěže a hřebíčku. Tyto vzorky byly zakoupeny v tržní síti a podrobné informace k nim jsou popsány v tabulce 1.

Tabulka 1: Analyzované vzorky bylin

Název rostliny	Část rostliny	Forma vzorku	Země původu	Trvanlivost vzorku
<i>Lavandula officinalis</i>	květ	sušená	Polsko	2024
<i>Salvia officinalis</i>	nať	sušená	Polsko	2024
<i>Syzygium aromaticum</i>	nerozvinutá květní poupata	sušená	Indonésie	2025

6.2 Pomůcky a přístroje

- homogenizátor vortex CHS (Argolab, Česká republika)
- laboratorní třepačka (LT2 – Kavalier, Česká republika)
- laboratorní sklo
- teploměr
- filtrační papír KA4 (LABICOM, Česká republika)
- analytické váhy Voyager PRO VP214C (OHAUS Corp., Pine Brook, USA)
- spektrofotometr WPA S1200⁺ (Bio-chrom, Velká Británie)

6.3 Chemikálie

- ABTS (Sigma Aldrich, Francie)
- DPPH (Sigma Aldrich, Francie)
- trolox (Sigma Aldrich, Francie)
- kyselina gallová (Sigma Aldrich, Francie)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Penta, Česká republika)
- octan sodný (Penta, Česká republika)
- kyselina octová (Penta, Česká republika)
- ethanol (Penta, Česká republika)
- methanol (Lancher, Česká republika)
- peroxodisíran draselný (Lancher, Česká republika)
- uhličitan sodný (Lukeš, Česká republika)
- acetátový pufr (pH = 5,5) (Lukeš, Česká republika)
- demineralizovaná voda

7 METODIKA STANOVENÍ

7.1 Příprava extraktů levandule, šalvěže a hřebíčku

Pro stanovení antioxidační aktivity dle metody ABTS a DPPH a obsahu polyfenolů bylo nejprve připraveno několik extraktů z rostlin. Tyto extrakty byly buď vodné, kde byla použita demineralizovaná voda při teplotě 80 °C a 95 °C, nebo byly extrakty methanolové či ethanolové. Stanovení bylo pro jednotlivé vzorky a extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

U vzorků, které byly extrahovány do vody, byl navážen 1,0 g vzorku na analytických vahách s přesností na 0,0001 g. Poté byl vzorek kvantitativně převeden do Erlenmayerovy baňky a následně byl extrahován 100 ml demineralizované vody o teplotě 80 °C a 95 °C, po dobu 10 min na třepačce. Jakmile se vzorek ochladil na laboratorní teplotu, proběhla jeho filtrace přes filtrační papír KA4. V případě potřeby byl vzorek naředěn a následně byl použit k analýze.

Vzorky, které byly následně extrahovány v methanolu a ethanolu, o koncentracích 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou, byly naváženy na množství 1 g s přesností na 0,0001 g na analytických vahách. Po navážení byl vzorek kvantitativně převeden do Erlenmayerovy baňky a proběhla extrakce vzorku se 100 ml methanolového nebo ethanolového činidla po dobu 15 min na třepačce. Poté byl extrakt zfiltrován přes filtrační papír KA4, dle potřeby byl vzorek ředěn a následně byl použit k samotné analýze.

7.2 Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody ABTS

Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody ABTS bylo provedeno v extraktech levandule, šalvěže a hřebíčku podle postupů popsané v kapitole 7.1.

Pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS byla využita reakční směs, která byla modifikována z publikovaných prací [56, 57] a následně ověřena experimentálně:

- roztok ABTS (3,5 mmol/l) a peroxodisíran draselný (0,06 mol/l) v poměru 50:1, roztok byl uložen ve tmě při pokojové teplotě 16 hodin
- octanový pufr s hodnotou pH 4,3 byl smíchán s roztokem vzniklého radikálu kationtu ABTS, a to v poměru 39:1

Do zkumavek bylo odpipetováno 0,1 ml extraktu levandule, šalvěže nebo hřebíčku a 8 ml reakční směsi. Vzniklá směs byla zazátkována, promíchána a nechala se reagovat při laboratorní teplotě ve tmě po dobu 30 minut. Po reakční době byla směs opět promíchána a na spektrofotometru byla změřena absorbance při vlnové délce 734 nm. Pro slepý pokus byl použitý octanový pufr.

Pro výpočet hodnoty inaktivace byla změřena hodnota absorbance reakční směsi bez obsahu vzorku. Po změření hodnoty absorbance reakční směsi bez vzorku a absorbance reakční směsi s extraktem byla spočítána hodnota inaktivace ze vztahu 1:

$$I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (1)$$

I – hodnota inaktivace [%]

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

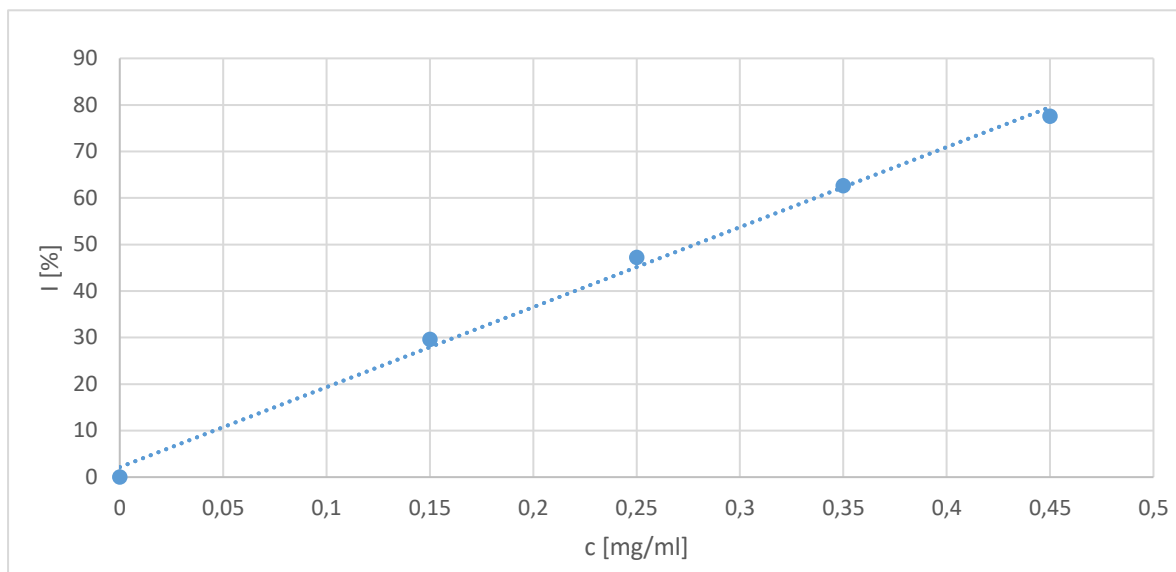
A_1 – absorbance extraktu levandule/šalvěže/hřebíčku při vlnové délce 734 nm

Z vypočtených hodnot inaktivace byla antioxidační aktivita přepočtena na standard troloxu a poté vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

7.2.1 Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AA metodou s ABTS

K vytvoření kalibrační křivky pro trolox byl připraven roztok o koncentraci 0,5 mg/ml. Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 0,45; 0,35; 0,25; 0,15 mg/ml. Příprava reakčních roztoků s kalibračními roztoky, měření jejich absorbance a výpočet inaktivace byly uskutečněny podobně jako je popsáno v kapitole 7.2.

Kalibrační křivka byla sestavena dle vypočtených hodnot inaktivace jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků troloxu. Po sestavení kalibračního grafu byly body proloženy přímkou a zjistila se rovnice lineární regrese.



Obrázek 17: Kalibrační křivka standardu troloxu pro metodu ABTS.

Rovnice pro lineární regresi, která byla stanovena z kalibrační křivky troloxu je ve tvaru:

$$y = 171,99 \cdot x + 2,1374$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace troloxu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti stanovena z kalibrační křivky troloxu má hodnotu:

$$R^2 = 0,9956$$

7.3 Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody DPPH

Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody DPPH bylo provedeno v extraktech levandule, šalvěže a hřebíčku podle postupů popsané v kapitole 7.1.

Pro stanovení antioxidační aktivity touto metodou byl využíván roztok DPPH, jehož koncentrace byla 0,2 mmol/l. Reakční směs byla modifikována dle publikovaných prací [56, 57] a experimentálně ověřena se složením:

- 1,5 ml acetátového pufru s $\text{pH} = 5,5$
- 2,75 ml roztoku DPPH
- 0,15 ml vzorku

Do zkumavek byl odpipetován roztok DPPH, vzorek a acetátový pufr. Vzniklá směs byla uzavřena zátkou, protřepána a nechala se reagovat po dobu 1 hodiny při laboratorní teplotě ve tmě. Po reakční době byla směs opět promíchána a spektrofotometricky byla naměřena absorbance při vlnové délce 517 nm proti slepému pokusu.

Slepý pokus měl stejné složení jako reakční směs, kdy místo roztoku DPPH bylo dáno stejné množství ethanolu.

Aby mohla být stanovena hodnota inaktivace, byla u kontrolního vzorku měřena absorbance při vlnové délce 517 nm o složení kontrolního vzorku:

- 1,5 ml acetátového pufru s pH = 5,5
- 2,75 ml roztoku DPPH
- 0,15 ml demineralizované vody, methanolu a ethanolu dle typu extrakce

Ze získaných hodnot absorbance kontrolního vzorku a měřeného extraktu byla spočítána hodnota inaktivace I [%] dle vztahu 2:

$$I = \frac{K-A}{K} \cdot 100 \quad (2)$$

I – hodnota inaktivace [%]

K – absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 517 nm

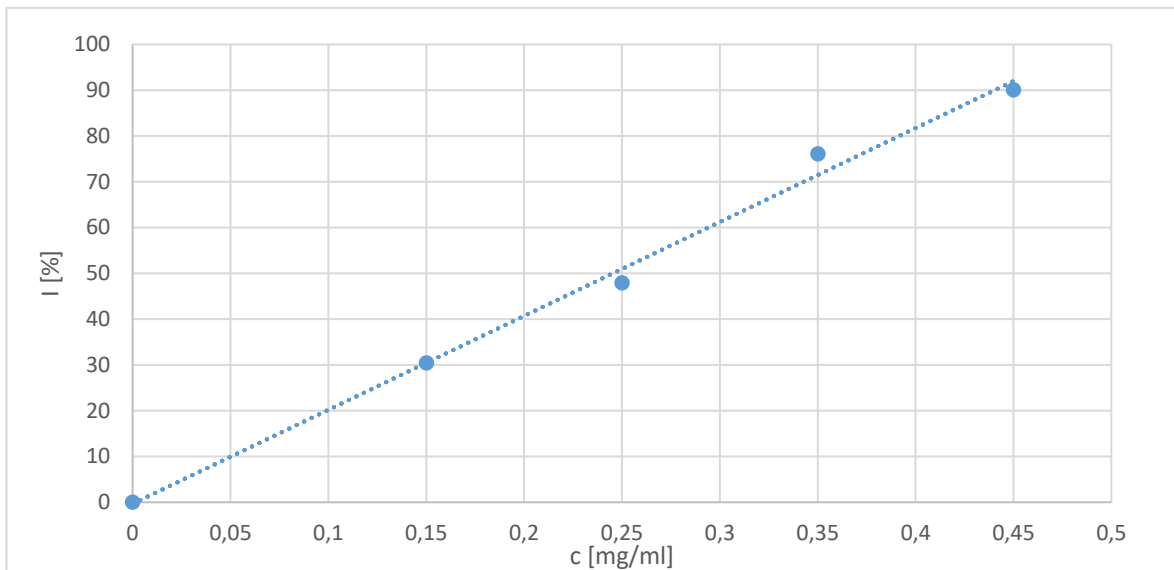
A – absorbance extraktu vzorku při vlnové délce 517 nm

Z vypočtených hodnot inaktivace byla antioxidační aktivita přepočtena na standard troloxu a poté vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

7.3.1 Kalibrační křivka troloxu pro stanovení AA metodou s DPPH

Ke stanovení kalibrační křivky byl nejprve připraven roztok troloxu o koncentraci 0,5 mg/ml. Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 0,45; 0,35; 0,25; 0,15 mg/ml. Příprava těchto roztoků, jejich měření při vlnové délce 517 nm a výpočet inaktivace byly provedeny stejným způsobem jako u vzorků, které jsou popsány v kapitole 7.3.

Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost inaktivace na koncentraci kalibračních roztoků troloxu. Body v kalibračním grafu byly proloženy přímkou a byla zjištěna rovnice pro lineární regresi.



Obrázek 18: Kalibrační křivka standardu troloxu pro metodu DPPH.

Rovnice lineární regrese, která byla stanovena z kalibrační křivky troloxu má tvar:

$$y = 205,15 \cdot x - 0,335$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace troloxu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti stanovena z kalibrační křivky troloxu má hodnotu:

$$R^2 = 0,9934$$

7.4 Stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Pro stanovení celkového obsahu polyfenolů byly použity extrakty levandule, šalvěje a hřebíčku, jejichž příprava je popsána v kapitole 7.1.

Ke stanovení celkového obsahu polyfenolů byla použita směs, která byla modifikována a experimentálně ověřena s použitím publikované práce [56]:

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

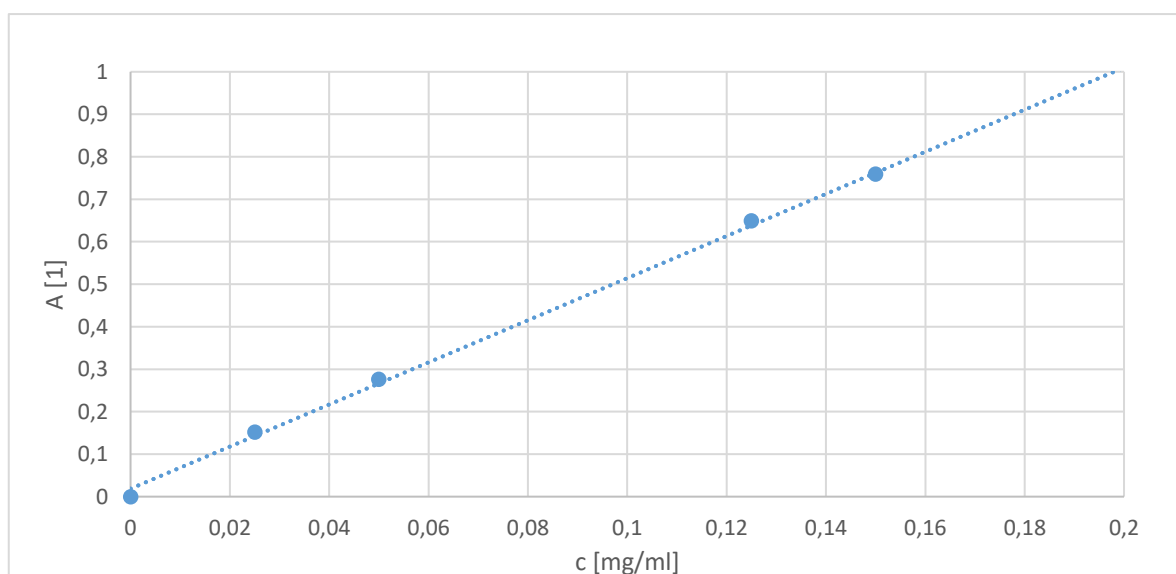
Vzorky a Folin-Ciocalteuovo činidlo byly pipetovány do zkumavek, ty byly uzavřeny zátkou a promíchány a nechaly se reagovat při laboratorní teplotě ve tmě po dobu 5 minut. Po uplynulé době byly k vzniklé reakční směsi přidány 2 ml 10% roztoku Na_2CO_3 . Vzniklá směs byla promíchána a nechala se reagovat ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 15 minut. Po reakci byla u směsi změřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm proti slepému vzorku.

Příprava slepého vzorku probíhala obdobně jako příprava reakční směsi s tím rozdílem, že místo vzorku byla použita demineralizovaná voda, methanol nebo ethanol dle typu extrakce. Po naměření byl celkový počet polyfenolů přepočítán na standard kyseliny gallové. Výsledek byl vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v miligramech na gram vzorku.

7.4.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení obsahu polyfenolů

Ke sestavení grafu kalibrační křivky byl použit zásobní roztok kyseliny gallové, který měl koncentraci 0,2 mmol/l. Zásobní roztok kyseliny gallové byl ředěn na koncentrace 0,15; 0,125; 0,05; 0,025 mmol/l, které sloužily jako kalibrační roztoky. Příprava směsi pro měření kalibračních roztoků při vlnové délce 750 nm byla provedena obdobně jako samotné měření, které je popsáno v kapitole 7.4.

Kalibrační křivka byla sestavena z naměřených hodnot jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků kyseliny gallové. Body byly následně proloženy přímkou a byla zjištěna rovnice lineární regrese.



Obrázek 19: Kalibrační křivka standardu kyseliny gallové pro stanovení celkového obsahu polyfenolů.

Rovnice lineární regrese, která byla stanovena z kalibrační křivky kyseliny gallové má tvar:

$$y = 4,9565 \cdot x - 0,0187$$

y – hodnota absorbance A [1]

x – hodnota koncentrace kyseliny gallové c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti stanovena z kalibrační křivky kyseliny gallové má hodnotu:

$$R^2 = 0,9991$$

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

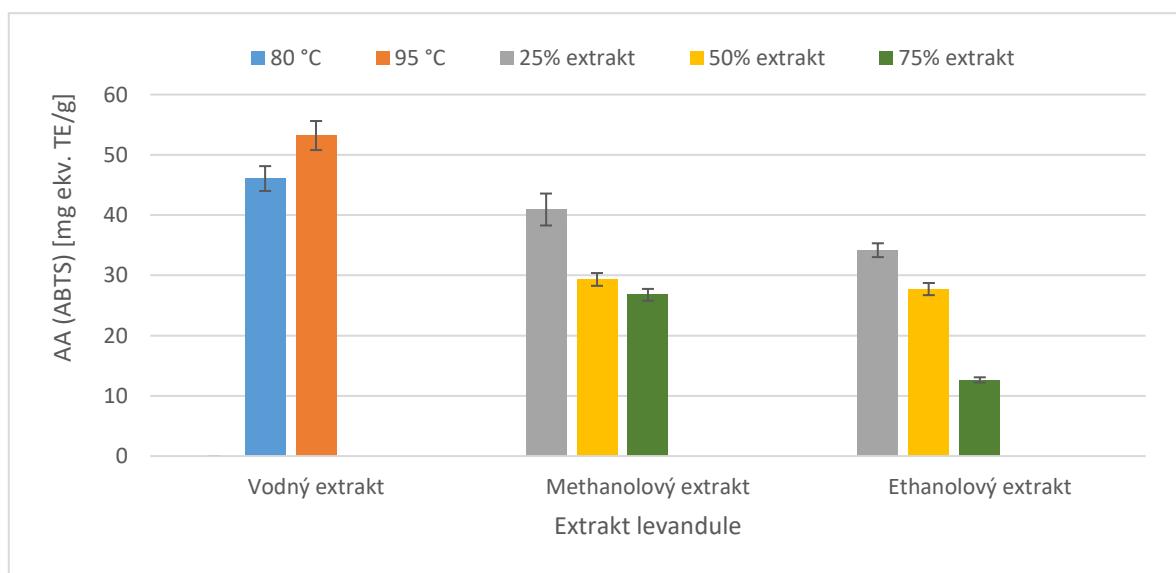
8.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Antioxidační aktivita metodou ABTS byla stanovena u extrahovaných vzorků levandule, šalvěže a hřebíčku dle postupu, který je uvedený v kapitole 7.2. Touto metodou byly spektrofotometricky měřeny vzorky extraktů levandule, šalvěže a hřebíčku u dvou různých teplot demineralizované vody a tří různých koncentracích extrakčních činidel methanolu a ethanolu. Ze získaných hodnot absorbance byla spočtena hodnota inaktivace, která byla následně převedena na standard troloxu a poté vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram samotného vzorku.

8.1.1 Hodnocení antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků levandule

Zakoupené sušené vzorky levandule byly extrahovány methanolvými a ethanolovými rozpouštědly o třech různých koncentracích, a to 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou. Dále bylo jako extrakční činidlo použita demineralizovaná voda o dvou teplotách, 80 °C a 95 °C. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát, z naměřených hodnot byl spočítán průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 20 je znázorněno hodnocení antioxidační aktivity (AA) metodou ABTS ve vodných, methanolvých a ethanolových extraktech u vzorků levandule.



Obrázek 20: Hodnocení AA metodou ABTS ve vodných, methanolvých a ethanolových extraktech vzorků levandule.

Nejvyšší zjištěnou AA metodou ABTS (Obr. 20) vykazoval vzorek levandule extrahovaný ve vodném rozpouštědle při teplotě 95 °C (53,20 mg ekvivalentu troloxu/g). Zjištěná hodnota AA při nižší teplotě extrakce činila rozdíl 13,4 %. V případě methanolového extraktu měl nejvyšší průměrnou hodnotu AA vzorek levandule extrahován při koncentraci methanolu 25% (40,92 mg/g). V porovnání s nejvyšší hodnotou vodného extraktu se tato hodnota AA liší o 23 %. Jak u methanolového rozpouštědla, tak i u ethanolového rozpouštědla je možné pozorovat klesající tendenci s rostoucí koncentrací. Při použití ethanolového rozpouštědla vykazuje tedy nejvyšší AA vzorek levandule extrahován do 25% ethanolového roztoku (34,17 mg/g). V porovnání s nejvyšší hodnotou AA (u vodného extraktu) je rozdíl AA téměř 36 %.

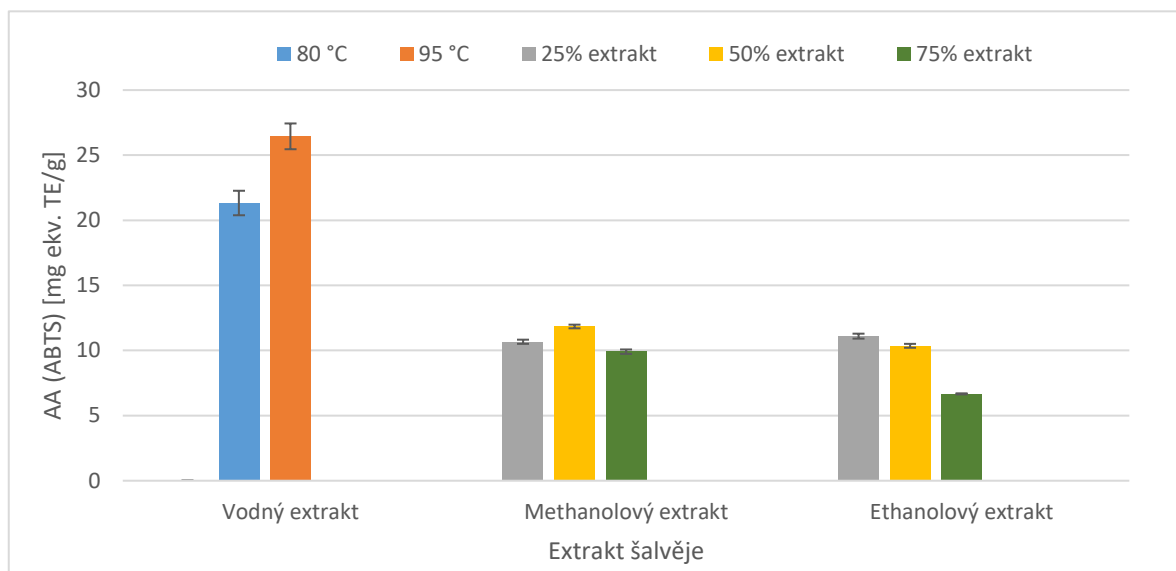
Při použití různých extrakčních činidel pro zjištění AA u vzorku levandule metodou ABTS je patrné, že demineralizovaná voda při vyšší teplotě jako extrakční činidlo byla nejefektivnější. V tomto případě byla průměrná hodnota AA vodného extraktu 49,63 mg/g. V případě methanolových a ethanolových extraktů dosahovala AA nižších hodnot (32,33 mg/g; 24,84 mg/g). Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší průměrnou hodnotou AA činí 50 %. Z toho důvodu je pro získání vyšší antioxidační aktivity výhodnější použít jako extrakční činidlo vodu o vyšší teplotě.

Falla a kol. [58] stanovovali hodnotu AA metodou ABTS u vzorku *Lavandula angustifolia* (levandule lékařská) z Itálie v oblasti Susa, Stura a Tanaro. Byliny byly extrahovány do vodného roztoku o teplotě 100 °C. Výsledné hodnoty v této práci jsou vyjádřeny v jednotkách μmol ekvivalentu troloxu na gram sušiny vzorku. Hodnoty AA vzorků v oblasti Susa byly 85,49 μmol ekv. TE/g, z oblasti Tanaro dosahovaly vyšších hodnot, 99,99 μmol ekvivalentu troloxu na gram sušiny vzorku a v oblasti Stura byly hodnoty AA nejvyšší, 112,59 μmol ekv. TE/g.

8.1.2 Hodnocení antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků šalvěže

Sušené vzorky šalvěže byly extrahovány demineralizovanou vodou při dvou různých teplotách, 80 °C a 95 °C. Také byly extrahovány s methanolovými a ethanolovými rozpouštědly při třech různých koncentracích, 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 21 je hodnocení antioxidační aktivity (AA) metodou ABTS ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků šalvěže.



Obrázek 21: Hodnocení AA metodou ABTS ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků šalvěže.

Největší AA, zjištěnou metodou ABTS (Obr. 21), vykazoval vzorek šalvěže extrahovaný s vodou při teplotě 95 °C (26,45 mg ekvivalentu troloxu/g), přičemž hodnota AA zjištěná po extrakci při teplotě 80 °C byla o téměř 20 % nižší. V methanolových extraktech měl největší hodnotu antioxidační aktivity vzorek šalvěže extrahovaný do směsi 50% methanolu, 11,85 mg/g. Tato hodnota je oproti celkové nejvyšší hodnotě poloviční. V případě ethanolových extraktů vykazoval nejvyšší AA vzorek šalvěže extrahovaný do směsi 25% ethanolu. U extrakce do ethanolových roztoků je možné pozorovat klesající tendenci AA s rostoucí koncentrací ethanolu.

Při použití různých extrakčních činidel pro zjištění antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků šalvěže je zřejmé, že voda při vyšší teplotě jako extrakční činidlo byla nejúčinnější, s průměrnou hodnotou AA 23,89 mg/g. Methanolové a ethanolové extrakty s průměrnou hodnotou (10,81 mg/g; 9,38 mg/g) dosahovaly nižších hodnot. Rozdíl mezi průměrnou hodnotou u nejúčinnějšího extrakčního činidla a nejméně účinného je 61 %. Z toho důvodu je pro dosažení vyšší antioxidační aktivity metodou ABTS ve vzorcích šalvěže výhodnější jako extrakční činidlo použít vodu při vyšší teplotě.

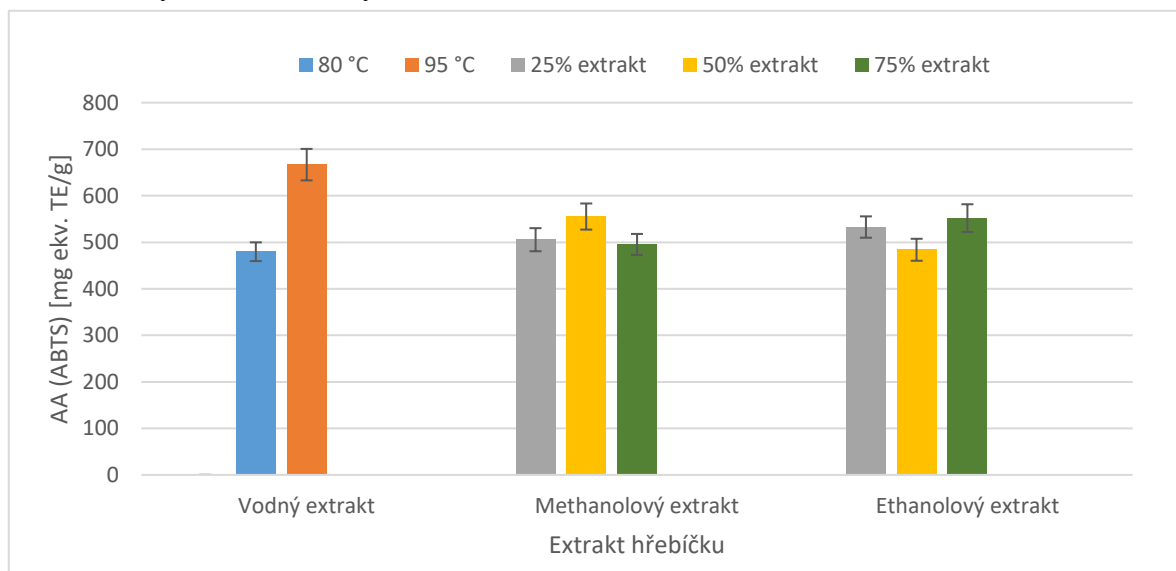
V práci Farhat a kol. [59] stanovovali hodnotu antioxidační aktivity šalvěže metodou ABTS. V této práci byly stanovovány vzorky šalvěže ze dvou různých oblastí v severním Tunisku,

a to v oblasti Bou Arada a Soliman. Antioxidační aktivita byla stanovována v různých fázích růstu šalvěže. Vzorky byly nejprve extrahovány v petroletheru, vysušeny a poté extrahovány do methanolu. Průměr AA u vzorku šalvěže ve vegetativní fázi původem z Bou Arada byl 262,12 μM ekvivalentu troloxu na mg sušiny rostliny. U rostlin z oblasti Soliman byly hodnoty AA ve vegetativní fázi šalvěže nižší, 205,04 μM ekv. TE/mg. Ve fázi květu dosahovaly hodnoty AA u vzorku šalvěže v oblasti Bou Arada 345,81 μM ekv. TE/mg a v oblasti Soliman 392,49 μM ekv. TE/mg.

8.1.3 Hodnocení antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků hřebíčku

Vzorky hřebíčku byly extrahovány ve třech různých rozpouštědlech, a to ve vodném, methanolovém a ethanolovém. V případě vodného rozpouštědla byla extrakce provedena ve dvou různých teplotách, 80 °C a 95 °C. V alkoholových extraktech byly použity tři koncentrace, 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou. Pro vodné rozpouštědlo byly připraveny dva extrakty a pro alkoholová rozpouštědla byly připraveny tři extrakty. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát, z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 22 je hodnocení antioxidační aktivity (AA) metodou ABTS ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků hřebíčku.



Obrázek 22: Hodnocení AA metodou ABTS ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků hřebíčku.

Nejvyšší AA vykazoval vzorek hřebíčku (Obr. 22) extrahovaný do vodného roztoku při vyšší teplotě (666,84 mg ekvivalentu troloxu/g). V porovnání s nižší teplotou extrakce je rozdíl AA ve vodném extraktu hřebíčku 28 %. Druhou nejvyšší hodnotu AA měl vzorek hřebíčku v 50% methanolovém extraktu (555,27 mg/g). Tato hodnota je vyšší než při extrakci do vodného roztoku o nižší teplotě (80 °C). Rozdíl mezi nejvyšší hodnotou (vodný extrakt) a druhou nejvyšší hodnotou (methanolový extrakt) je 16,7 %. U methanolového extraktu má nejnižší hodnotu AA při koncentraci 75% roztoku (495,32 mg/g). Naopak u ethanolového extraktu vykazuje nejvyšší hodnotu AA u koncentrace 75% (551,97 mg/g) a nejnižší AA při extrakci do 50% roztoku ethanolu (483,85 mg/g).

Při použití různých extrakčních činidel pro zjištění antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků hřebíčku je očividné, že voda při vyšší teplotě jako extrakční činidlo byla nejefektivnější, s průměrnou hodnotou 573,26 mg/g. Průměry u methanolových a ethanolových extraktů (518,68 mg/g; 522,85 mg/g) dosahovaly nižších hodnot. Z rozdílu nejefektivnějšího a nejméně efektivního extrakčního činidla (9,6 %), je patrné, že pro dosažení vyšší AA u vzorků hřebíčku je výhodnější vzorek extrahovat ve vodě při vyšší teplotě.

Shan a kol. [60] ve své práci stanovovali antioxidační aktivitu metodou ABTS u sušeného vzorku hřebíčku extrahovaného v 80% methanolu při pokojové teplotě po dobu 24 hodin. V této práci byla porovnávána hodnota AA u různých druhů koření. Celkovou nejvyšší hodnotu AA vykazoval hřebíček (168,66 mmol ekvivalentu troloxu/100 g sušiny koření). Naopak nejnižší hodnotu AA vykazoval mák, 0,55 mmol ekv. TE/100 g sušiny koření. Velmi silnou AA vykazovala také skořice celá, 107,7 mmol ekv. TE/100 g sušiny koření a oregano, 100,7 mmol ekv. TE/100 g sušiny koření.

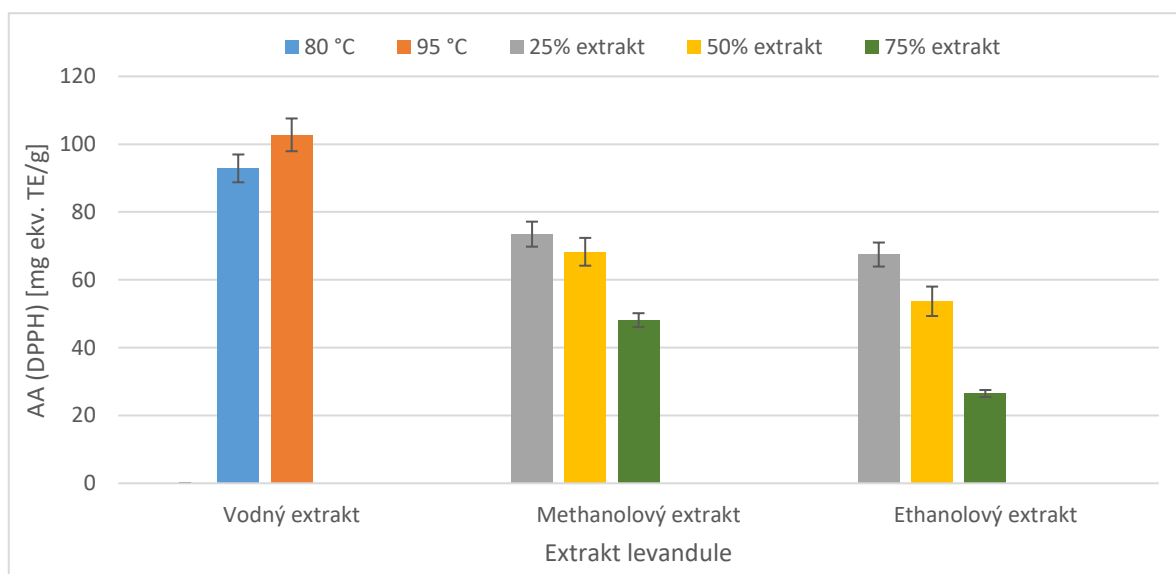
8.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita byla stanovena i metodou DPPH u vzorků sušené levandule, šalvěže a hřebíčku pomocí extrakce do vodného, methanolového a ethanolového roztoku. Postup přípravy extraktů je popsán v kapitole 7.3. Ze změřených hodnot absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace a následně převedena na standard troloxu a vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

8.2.1 Hodnocení antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků levandule

Sušené vzorky květu levandule byly extrahovány do třech různých rozpouštědel: demineralizovaná voda, methanol a ethanol. U vodného rozpouštědla byly vzorky extrahovány při dvou teplotách, 80 °C a 95 °C. V případě alkoholových extraktů se jednalo o koncentrace 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 23 je uvedeno hodnocení antioxidační aktivity (AA) metodou DPPH u vzorků levandule.



Obrázek 23: Hodnocení AA metodou DPPH ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků levandule.

Nejvyšší AA, stanovenou metodou DPPH (Obr. 23), měl vzorek levandule ve vodném extraktu při vyšší teplotě (102,77 mg ekvivalentu troloxu/g). V porovnání s nižší teplotou extrakce je rozdíl AA o necelých 10 %. V případě methanolového extraktu byla nejvyšší

průměrná hodnota AA u koncentrace 25% (73,48 mg/g). Tento rozdíl je v porovnání s vodou větší o více než čtvrtinu. Při použití methanolu jako extrakčního činidla je možné pozorovat klesající tendenci s nárůstem koncentrace. Z toho vyplývá, že nejnižší průměrnou AA vykazoval methanolvý extrakt o koncentraci 75%. U ethanolového činidla je tomu podobně, jak v případě methanolového. Nejvyšší průměrnou AA v případě ethanolového činidla má vzorek extrahovaný do roztoku ethanolu o koncentraci 25% (67,47 mg/g). Tato hodnota je v porovnání s methanolvým rozpouštědlem rozdílná při 25% koncentraci o 8 %. Také u ethanolového rozpouštědla je viditelná klesající tendence s rostoucí koncentrací. Celková nejnižší průměrná hodnota AA byla u ethanolového rozpouštědla při koncentraci 75% (26,47 mg/g).

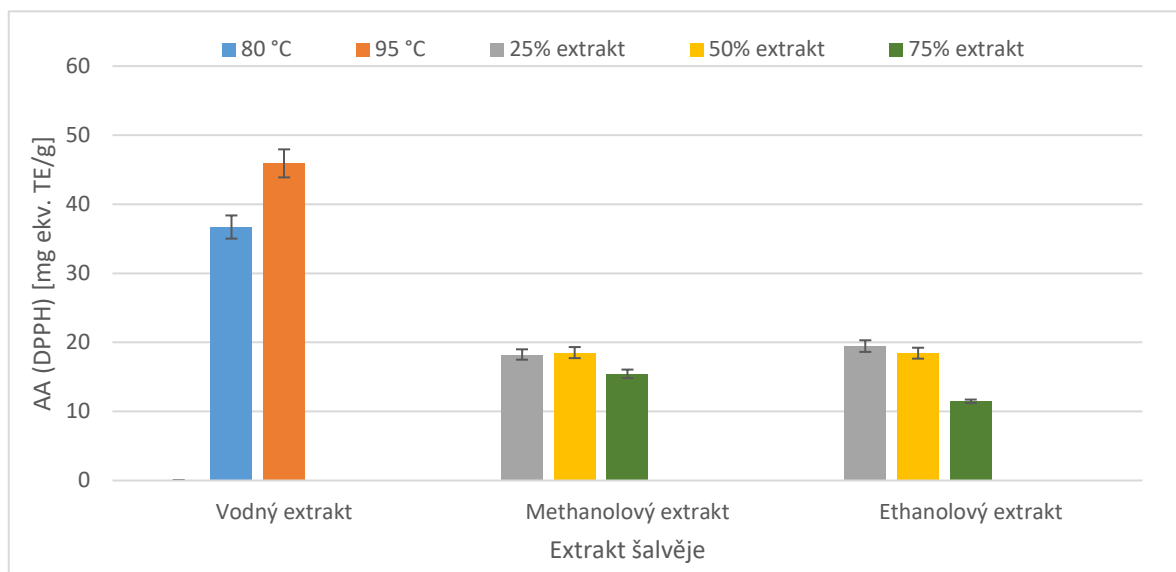
Při porovnání extrakčních činidel použitých při metodě DPPH u vzorků levandule, je zjevné, že nejefektivnějším extrakčním činidlem byla voda o vyšší teplotě. Průměrná hodnota AA vodných extraktů byla 97,83 mg/g. Methanolvé a ethanolové extrakty (průměr AA 63,29 mg/g; 49,21 mg/g) dosahovaly nižších hodnot. Pro vyšší AA u vzorků levandule je výhodnější připravovat extrakt z vodného roztoku při vyšší teplotě, z důvodu velkého rozdílu (o 50 %) mezi vodným a ethanolovým činidlem.

V práci Falla a kol. [58] stanovovali hodnotu AA levandule metodou DPPH z *Lavandula angustifolia* (levandule lékařská) z Itálie v oblastech Susa, Stura a Tanaro. Byliny byly extrahovány do vodného roztoku o teplotě 100 °C. Hodnota antioxidační aktivity stanovená metodou DPPH u vzorku levandule byla 76,10 μmol ekvivalentu troloxu na gram sušiny. V porovnání s hodnotou AA levandule z oblasti Tanaro vzrostla AA na 102,08 μmol ekv. TE/g, a v oblasti Stura dosahovaly hodnoty AA stanovené metodou DPPH 104,88 μmol ekv. TE/g.

8.2.2 Hodnocení antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků šalvěje

Sušené vzorky šalvěje byly extrahovány do třech různých rozpouštědel, do vodného rozpouštědla při teplotách 80 °C a 95 °C, a do methanolového a ethanolového při třech různých koncentracích (25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou). Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 24 je uvedeno hodnocení antioxidační aktivity (AA) metodou DPPH u vzorků šalvěže.



Obrázek 24: Hodnocení AA metodou DPPH ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků šalvěže.

Nejvyšší hodnotu AA zjištěnou metodou DPPH (Obr. 24) vykazoval vzorek šalvěže ve vodném extraktu při 95 °C (45,92 mg ekvivalentu troloxu/g), s rozdílem 20 % oproti nižší teplotě. V případě methanolového rozpouštědla vykazoval nejvyšší průměrnou hodnotu AA u vzorků levandule extrakt o koncentraci 50% (18,52 mg/g). Tato hodnota je v porovnání s vodným extraktem o více než polovinu nižší. Nejnižší průměrná hodnota AA u methanolového extraktu je u 75% methanolu (15,45 mg/g). Ethanolový extrakt má nejvyšší průměrnou hodnotu AA u koncentrace 25% (19,46 mg/g). Celková nejnižší hodnota AA u vzorků šalvěže měřenou metodou DPPH je u 75% ethanolového extraktu (11,47 mg/g). V porovnání s nejvyšší průměrnou hodnotou AA (vodný extrakt při vyšší teplotě) je rozdíl hodnot o 75 %. U ethanolového rozpouštědla je možné pozorovat s rostoucí koncentrací klesající tendenci AA.

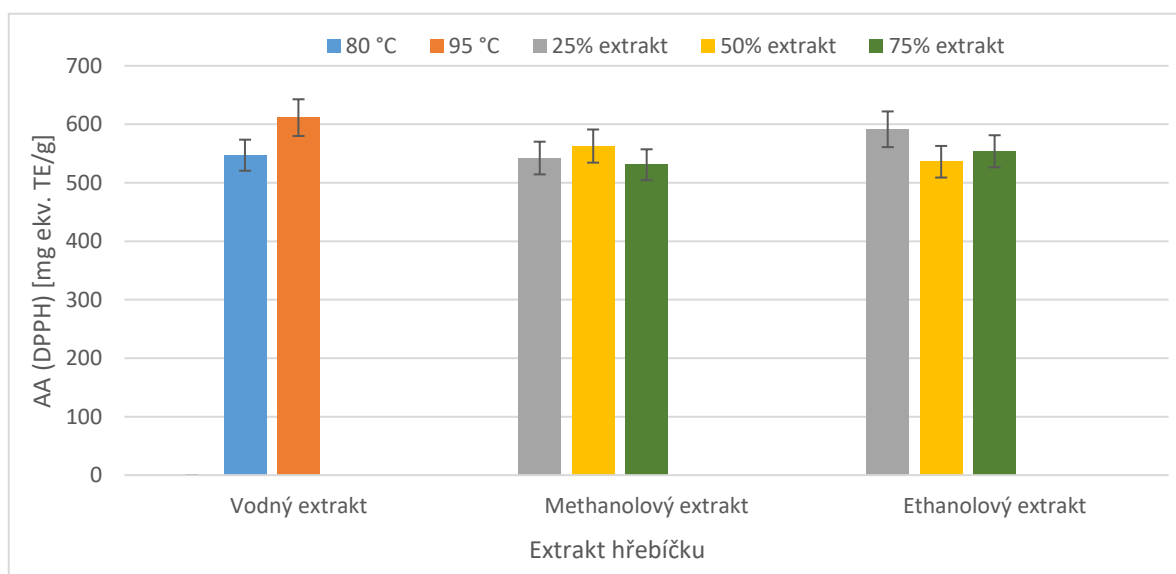
V porovnání extrakčních činidel použitých při metodě DPPH u vzorků šalvěže sejevilo jako neefektivnější extrakční činidlo demineralizovaná voda o vyšší teplotě, přičemž průměrná hodnota AA u vodných extraktů byla 41,31 mg/g. Nižších hodnot AA dosahovaly methanolové a ethanolové extrakty (průměr 17,40 mg/g; 16,45 mg/g). Rozdíl mezi nejvyšší průměrnou hodnotou a nejnižší průměrnou hodnotou je 60,2 %, a proto pro dosažení vyšší AA u vzorků šalvěže je výhodnější vzorky extrahovat v demineralizované vodě při 95 °C.

Farhat a kol. [59] ve své práci stanovovali antioxidační aktivitu metodou DPPH u šalvěže v methanolu. V této práci byly stanovovány vzorky šalvěže ze dvou různých oblastí v severním Tunisku, a to z oblasti Bou Arada a Soliman. Antioxidační aktivita byla stanovována v různých fázích růstu. Vzorky byly nejprve extrahovány v petroletheru, vysušeny a poté byly extrahovány do methanolu. Výsledná průměrná hodnota AA (IC_{50}) u vzorku šalvěže ve vegetativním stádiu s původem rostliny v Bou Arada byla $IC_{50}=46,47 \mu\text{g/ml}$ u methanolickeho extraktu. Tedy vyšší antioxidační hodnota než z oblasti Soliman $IC_{50}=57,34 \mu\text{g/ml}$. Čím je hodnota IC_{50} nižší, tím má vzorek silnější antioxidační aktivitu. Hodnota AA (IC_{50}) u vzorku šalvěže v květné fázi s původem v Bou Arada dosahuje $32,49 \mu\text{g/ml}$ a u šalvěže s původem v oblasti Soliman má nižší hodnotu IC_{50} , $29,20 \mu\text{g/ml}$, tedy vyšší AA.

8.2.3 Hodnocení antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků hřebíčku

Vzorky hřebíčku byly extrahovány ve vodném, methanolovém a ethanolovém rozpouštědle. Vodný roztok byl připraven extrakcí s demineralizovanou vodou o dvou teplotách ($80 \text{ }^\circ\text{C}$ a $95 \text{ }^\circ\text{C}$). U alkoholových rozpouštědel byly použity tři různé koncentrace, 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 25 je zobrazeno hodnocení antioxidační aktivity (AA) metodou DPPH pro vzorky hřebíčku.



Obrázek 25: Hodnocení AA metodou DPPH ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků hřebíčku.

Nejvyšší průměrnou hodnotu AA, určenou metodou DPPH (Obr. 25), vykazoval u vzorků hřebíčku vodný extrakt při vyšší teplotě (611,40 mg ekvivalentu troloxu/g). V porovnání s nižší teplotou extrakce jsou tyto hodnoty nižší o 10,5 %. Druhou nejvyšší průměrnou hodnotu antioxidační aktivity vykazoval 25% ethanolový extrakt (591,51 mg/g). Tato hodnota se od nejvyšší liší pouze o 3,3 %. U methanolového extraktu vykazuje nejvyšší průměrnou hodnotu AA 50% extrakt (562,77 mg/g). V případě methanolového extraktu se vyskytuje celková nejnižší průměrná hodnota AA, a to u 75% methanolového extraktu (530,80 mg/g). Rozdíl mezi nejvyšší (vodný extrakt o vyšší teplotě) a nejnižší (75% methanolový extrakt) průměrnou hodnotou AA je 13,2 %. V případě ethanolového činidla vykazuje nejnižší průměrnou hodnotu AA 50% extrakt (535,96 mg/g).

Při porovnání extrakčních činidel u vzorků hřebíčku metodou DPPH je patrné, že nejefektivnějším extrakčním činidlem je demineralizovaná voda o vyšší teplotě s průměrnou hodnotu AA (579,28 mg/g). V případě methanolového a ethanolového činidla byla průměrná hodnota AA nižší (545,29 mg/g; 560,44 mg/g). Rozdíl mezi průměrnou hodnotou AA u vodného a methanolového extraktu činil 6 %. Z tohoto důvodu je pro dosažení vyšší antioxidační aktivity ve vzorků hřebíčku metodou DPPH výhodnější jako extrakční činidlo použít vodu při vyšší teplotě.

El Ghallab a kol. [61] ve své práci porovnávali hodnotu AA hřebíčku metodou DPPH po extrakci se čtyřmi různými rozpouštědly s AA eugenolu. Výsledky byly vyjádřeny jako IC_{50} v jednotkách mg/ml. Čím je hodnota IC_{50} nižší, tím má vzorek silnější antioxidační aktivitu. Vzorky byly srovnávány se standardem kyseliny askorbové. Nejvyšší hodnotu AA, tedy nejnižší IC_{50} , vykazoval vzorek eugenolu (0,40 mg/ml), poté ethanolový extrakt hřebíčku (0,41 mg/ml), dále n-hexanový extrakt (0,57 mg/ml), ethylenacetátový extrakt (0,68 mg/ml) a nakonec vodný extrakt (2,26 mg/ml), který je nejméně efektivním rozpouštědlem.

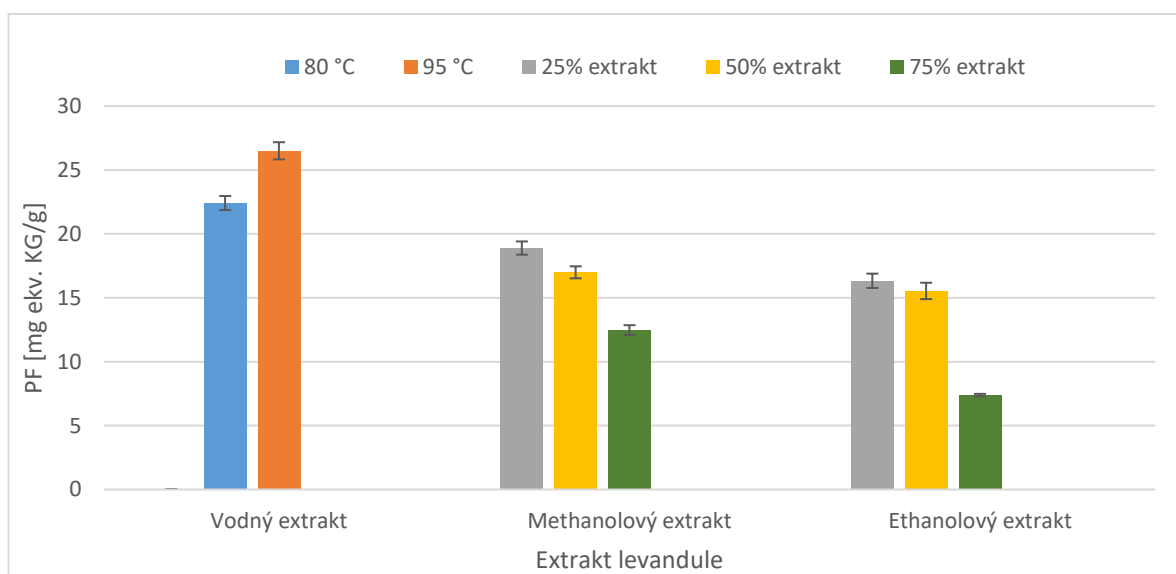
8.3 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Celkový obsah polyfenolů byl u vzorků levandule, šalvěže a hřebíčku stanovován za pomoci Folin-Ciocalteuova činidla dle postupu uvedeného v kapitole 7.4. Stanovení bylo provedeno se třemi extrakčními roztoky, a to s vodným, methanolovým a ethanolovým činidlem. Naměřené hodnoty absorbance byly přepočteny na standard kyseliny gallové a poté vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové na gram vzorku.

8.3.1 Hodnocení celkového obsahu polyfenolů u vzorků levandule

Extrakty sušených vzorků levandule byly připravovány pomocí extrakce ve třech různých rozpouštědlech, a to v demineralizované vodě o dvou teplotách 80 °C a 95 °C, methanolových a ethanolových extraktech o koncentracích 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 26 je znázorněno hodnocení celkového obsahu polyfenolů (PF) ve třech různých extraktech u vzorků levandule.



Obrázek 26: Hodnocení celkového obsahu PF ve vodném, methanolovém a ethanolovém extraktu vzorků levandule.

Z výsledků je zřejmé, že nejvyšší obsah PF (Obr. 26) vykazoval vzorek levandule extrahovaný v destilované vodě při vyšší teplotě (26,50 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g). V porovnání s nižší teplotou extrakce, která má celkovou druhou nejvyšší průměrnou hodnotu (22,41 mg/g), se tyto hodnoty liší o 15,4 %. V případě methanolového extraktu je

patrné, že nejvyšší průměrný obsah PF vykazuje 25% extrakt (18,89 mg/g). Zde je možné pozorovat klesající tendenci s rostoucí koncentrací. I v případě ethanolového extraktu dochází s rostoucí koncentrací ke klesající tendenci celkového obsahu PF. Nejvyšší celkový obsah PF u ethanolového extraktu je tedy při koncentraci 25% (16,33 mg/g). Celkový nejnižší obsah PF u vzorků levandule je v 75% ethanolovém extraktu (7,39 mg/g). Tato hodnota se od nejvyšší (vodný extrakt při vyšší teplotě) liší o 71 %.

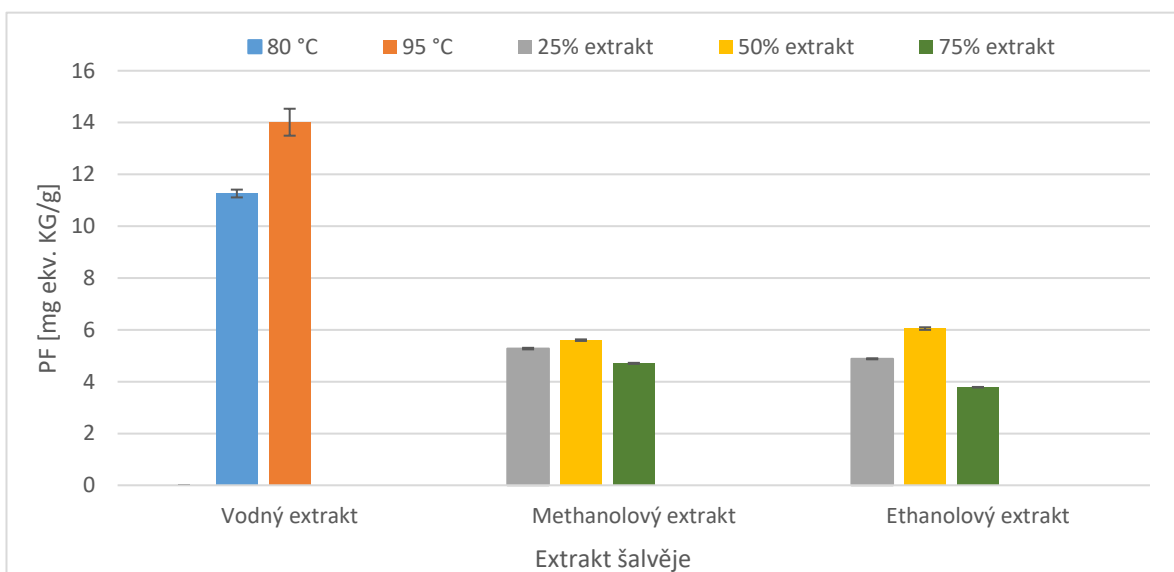
Při porovnání celkového obsahu PF u vzorků levandule je zjevné, že jako nejefektivnější extrakční činidlo se jevila voda při vyšší teplotě (průměr 24,46 mg/g). Při extrakci do methanolového a ethanolového roztoku byla průměrná hodnota nižší (16,12 mg/g; 13,09 mg/g). Rozdíl mezi nejvyšším a nejnižším průměrným celkovým obsahem PF činí 46,5 %. Z hlediska získání vyššího množství vyextrahovaných polyfenolických látek ze vzorků levandule je výhodnější připravovat extrakt z vodného roztoku při vyšší teplotě.

V práci Alasalvar a Yildirim [62] porovnávali u vzorku *Lavandula angustifolia* (levandule lékařská) různá konvenční rozpouštědla pro zhodnocení extrakce celkového obsahu PF. Hodnoty celkového obsahu PF zjištěné v dané práci klesaly v pořadí: voda (24,36 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g), methanol (10,48 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g) a ethanol (3,14 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g). Stejná klesající tendence v případě použitých rozpouštědel se vyskytuje i v naší práci. V této práci v případě využití 80% methanolu (25,47 mg ekv. KG/g) a 70% ethanolu (29,96 mg ekv. KG/g) došlo k nárůstu celkového obsahu PF ve srovnání se vzorky extrahovanými 100% rozpouštědly. Autoři tuto skutečnost vysvětlují tak, že přidávkem vody dochází k jisté mírné změně polarity u směsi rozpouštědel, což se projevuje i u námi naměřených výsledků v práci

8.3.2 Hodnocení celkového obsahu polyfenolů u vzorků šalvěže

Extraktory ze sušených vzorků šalvěže byly připraveny ze třech extrakčních činidel, z vodného roztoku o teplotě 80 °C a 95 °C, methanolového a ethanolového o 25% koncentraci, 50% koncentraci a 75% koncentraci. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočítán průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 27 je znázorněno hodnocení celkového obsahu polyfenolů (PF) ve třech různých extrakčních činidlech u vzorků šalvěže.



Obrázek 27: Hodnocení celkového obsahu PF ve vodném, methanolovém a ethanolovém extraktu vzorků šalvěže.

Z výsledků je zřejmé, že nejvyšší celkový obsah polyfenolů (Obr. 27) byl získán při extrakci vzorku šalvěže do vodného roztoku při vyšší teplotě (14,01 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g). V porovnání s nižší teplotou 80 °C je rozdíl mezi těmito hodnotami 19,6 %. U methanolového rozpouštědla byl zjištěn nejvyšší celkový obsah polyfenolů po extrakci s 50% methanolem (5,60 mg/g). V porovnání s celkovou nejvyšší hodnotou (voda při vyšší teplotě) je tato hodnota poloviční. Nejnižší hodnota v případě methanolového činidla byla při 75% koncentraci (4,71 mg/g). Nejvyšší hodnota u třetího použitého extrakčního činidla je v případě 50% ethanolu (6,05 mg/g). Stejně jako v případě methanolu, tak i u ethanolového činidla je nejnižší zjištěná hodnota PF při koncentraci rozpouštědla 75% (3,79 mg/g). U methanolového i ethanolového roztoku je možné pozorovat, že nejvyšší celkový obsah PF u vzorku šalvěže je při 50% koncentraci alkoholových extrakčních činidel a nejnižší celkový obsah PF je u 75% koncentrace.

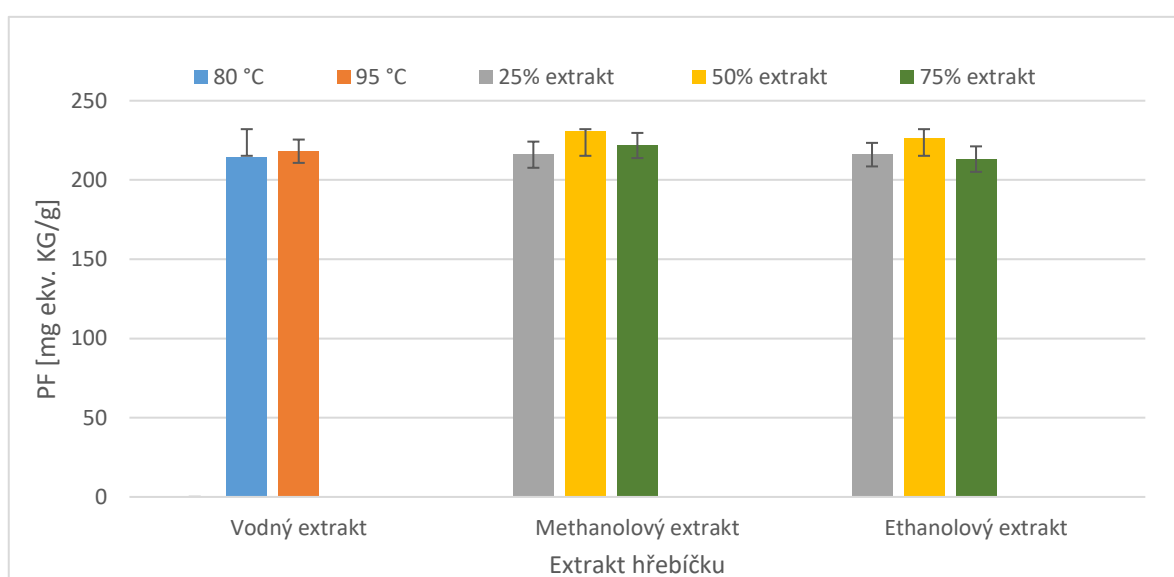
Při porovnání všech třech extrakčních činidel, které byly pro zjištění celkového obsahu PF použity, je patrné, že demineralizovaná voda při vyšší teplotě se projevovala jako nejúčinnější extrakční činidlo s průměrnou hodnotou 12,6 mg/g. V případě methanolového a ethanolového extraktu je celkový obsah PF nižší (5,2 mg/g; 4,9 mg/g). Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší průměrnou hodnotou je 61,12 %. Z hlediska získaného množství vyextrahovaných polyfenolických látek ze vzorků šalvěje je výhodnější jako extrakční činidlo použít vodu při vyšší teplotě.

Farhat a kol. [59] ve své práci stanovovali analýzou v methanolovém roztoku ze sušených vzorků šalvěje množství PF ze dvou různých oblastí v severním Tunisku, a to z oblastí Bou Arada a Soliman. Obsah PF byl stanovován v různých fázích růstu rostliny. Vzorky byly nejprve extrahovány v petroletheru, následně byly vysušeny, poté byly extrahovány do methanolu. Vzorky získané z oblasti Bou Arada ve vegetativním stádiu měly celkový obsah polyfenolů 76,65 mg ekv. KG/g. V oblasti Soliman byl celkový obsah PF vyšší, 82,15 mg ekv. KG/g. V květném stádiu dosahoval tento obsah z oblasti Bou Arada vyšších hodnot, 109,22 mg ekv. KG/g a v oblasti Soliman, 102,51 mg ekv. KG/g. Tyto hodnoty byly porovnávány s celkovým obsahem polyfenolů u vzorků šalvěje pěstovaných v Polsku, kde celkový obsah polyfenolů byl pouze 15,60 mg ekv. KG/g. Tato hodnota se blíží naší zjištěné hodnotě u vodného extraktu. V případě methanolového extraktu námi stanovená hodnota byla nižší, což mohlo být způsobeno jiným postupem při extrakci vzorků do roztoku methanolu a jinou koncentrací methanolu ve směsi.

8.3.3 Hodnocení celkového obsahu polyfenolů u vzorků hřebíčku

Na přípravu extraktů u vzorků hřebíčku byla použita tři extrakční činidla, demineralizovaná voda o teplotě 80 °C a 95 °C, methanolvý roztok a ethanolový roztok o 25% koncentraci, 50% koncentraci a 75% koncentraci. Stanovení bylo pokaždé pro jednotlivé extrakty opakováno třikrát. Z naměřených hodnot byl spočten průměr a vypočtena směrodatná odchylka.

Na obrázku 28 je zobrazeno hodnocení celkového obsahu polyfenolů (PF) ve třech různých extrakčních činidlech u vzorků hřebíčku.



Obrázek 28: Hodnocení celkového obsahu PF ve vodném, methanolvém a ethanolovém extraktu vzorků hřebíčku.

Nejvyšší celkový obsah PF (Obr. 28) u vzorků hřebíčku vykazoval 50% methanolvý extrakt (230,66 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g). Druhá nejvyšší hodnota s využitím tohoto extrakčního činidla byla při 75% koncentraci methanolu (221,75 mg/g), tudíž rozdíl těchto hodnot jsou pouze 4 %. Druhý nejvyšší celkový obsah PF byl zjištěn u 50% koncentraci ethanolu (225,98 mg/g), následovala 25% koncentraci (215,97 mg/g), s rozdílem u těchto dvou koncentrací opět jen 4 %. V obou alkoholových extraktech je nejvyšší celkový obsah PF u koncentraci 50%. U vodného extraktu je celkový obsah PF nižší. V případě teploty 95 °C (218,13 mg/g) a s použitou teplotou extrakce 80 °C je to 214,32 mg/g. Rozdíl mezi těmito stanoveními je minimální, jen 2 %.

Při porovnání třech použitých extrakčních činidel u vzorků hřebíčku pro stanovení celkového obsahu polyfenolů se jeví jako nejefektivnější methanolvá extrakce s průměrnou

hodnotou 224,78 mg/g. Voda a ethanol v tomto případě dosahovaly nižších hodnot (216,23 mg/g; 218,37 mg/g). Z výsledků vyplývá, že z hlediska množství vyextrahovaných polyfenolických látek u vzorků hřebíčku je výhodnější připravit extrakt z methanolového roztoku o 50% koncentraci. Rozdíl mezi průměrným celkovým obsahem polyfenolických látek u methanolu s nejnižší hodnotou (vodný extrakt) je jen 4 %.

Shan a kol. [60] ve své práci stanovovali celkový obsah polyfenolických látek pomocí Folin-Ciocalteuova činidla u vzorku hřebíčku extrahovaného v 80% methanolu při pokojové teplotě po dobu 24 hodin. V této práci bylo porovnáváno více druhů koření. Nejvyšší celkový obsah polyfenolů měl hřebíček, 14,38 g ekvivalentu kyseliny gallové/100 g sušiny koření. Nejnižší hodnotu celkového obsahu PF byl zjištěn u máku, 0,04 g ekv. KG/100 g. Skořice celá a oregano také měly vysokou hladinu obsahu polyfenolů (11,90 g ekv. KG/100 g; 10,17 g ekv. KG/100 g).

ZÁVĚR

Levandule, šalvěj a hřebíček jsou rostliny hojně využívané v mnoha průmyslových odvětvích, např. kosmetickém, potravinářském a farmaceutickém. Díky vysokému obsahu silic lze tyto látky využívat i v parfumářském průmyslu. V případě extraktu hřebíčku je možné jeho využití v potravinářství jako konzervační složky. Šalvěj je zase vhodná i jako dochucovadlo. Tyto byliny vykazují antioxidační vlastnosti. Jsou tedy schopny vyloučit volné radikály, které mohou znehodnocovat mnoho potravin.

Cílem této práce bylo zjistit vliv extrakčních podmínek za pomoci třech extrakčních činidel o různých teplotách nebo koncentracích na stanovení antioxidační aktivity, která byla stanovována metodami ABTS a DPPH a celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla. K vytvoření extraktů a k následnému spektrofotometrickému měření byly použity sušené vzorky levandule, šalvěje a hřebíčku. Pro samotnou přípravu extraktů byla použita tři různá extrakční činidla (voda, methanol a ethanol). V případě vody jako extrakčního činidla probíhala extrakce při dvou teplotách, a to 80 °C a 95 °C. U použití methanolu a ethanolu jako extrakčního činidla byla extrakce provedena při třech různých koncentracích, a to 25% směs s vodou, 50% směs s vodou a 75% směs s vodou.

V případě stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS a DPPH se jevílo jako nejvhodnější extrakční činidlo u levandule a šalvěje voda o vyšší teplotě extrakce (95 °C), poté voda s nižší teplotou (80 °C), následně methanol při nižší koncentraci a poté ethanol při nižší koncentraci. U hřebíčku neměly extrakční činidla na výslednou hodnotu antioxidační aktivity metodou ABTS a DPPH takový vliv jako v případě vzorků levandule a šalvěje. Celkové nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity vykazoval hřebíček, poté levandule a nejnižší antioxidační aktivitu vykazovaly extrakty šalvěje.

Při stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla byla nejvhodnějším extrakčním činidlem opět voda o vyšší teplotě (95 °C), poté voda o nižší teplotě (80 °C), dále methanol a ethanol, a to v případě šalvěje i levandule. U hřebíčku byl nejvyšší obsah polyfenolů zjištěn použitím methanolového extrakčního činidla. Celkový nejvyšší obsah polyfenolů vykazoval hřebíček, dále levandule a nejnižší obsah polyfenolických látek měly extrakty z šalvěje.

Celkově je možné konstatovat, že z použitých rozpouštědel v této práci se, jako nejefektivnější pro získání nejvyššího vyextrahovaného množství polyfenolů a také nejvyšší antioxidační aktivity, jevílo voda, poté methanol a ethanol.

V případě hodnocení výsledků analyzovaných vzorků levandule, šalvěže a hřebíčku je nutné brát v potaz podmínky pěstování byliny, podmínky sklizně a v případě sušených vzorků vzít v úvahu i průmyslové zpracování a způsob sušení. Tyto faktory pak ovlivňují v rostlinách množství antioxidantů. Po vyhodnocení výsledků byly vybrané byliny posouzeny jako dobrý zdroj antioxidantů. Z toho důvodu je jejich konzumace vhodná v podobě různých nápojů, čajů či nálevů, i jako složky potravin a pokrmů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SLAVÍK, B., J. CHRTEK a J. ŠTĚPÁNKOVÁ. *Květena České republiky*. Sv. 6. Praha: Academia, 2000, s. 693-707. ISBN 80-200-0306-1.
- [2] JIRÁSEK, V. a F. STARÝ. *Atlas léčivých rostlin*. 2. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1989, s. 45-101.
- [3] *Botanická zahrada Praha* [online]. 2023. Dostupné z: <https://www.botanicka.cz/odborna-cinnost/sbirka-rostlin/hluchavkovite>
- [4] VERMEULEN, N. *Encyklopedie bylin a koření*. 2. vyd. Čestlice: Rebo Productions CZ, 2001, s. 165-281. ISBN 80-7234-169-3.
- [5] KIVRAK, Ş. Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavender and Lavandin from western Anatolia. *Industrial Crops and Products*. 2018, 117, 88-96.
- [6] *Lavandula angustifolia / levandule lékařská* [online]. Avicenna. Dostupné z: <http://www.avicenna.cz/item/lavandula-angustifolia-levandule-lekarska> (obrázek)
- [7] DA SILVA, G. L., C. LUFTOVÁ a A. LUNARDELLI. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2015, 87, 1397-1408.
- [8] PEREIRA, I., P. SEVERINO, A. C. SANTOS, A. M. SILVA a E. B. SOUTO. Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2018, 171, 566-578.
- [9] SKÖLD, M., L. HAGVAL a A. KARLBERG. Autoxidation of linalyl acetate, the main component of lavender oil, creates potent contact allergens. *Contact Dermatitis*. 2008, 58, 9-14.
- [10] LETIZIA, C.S, J. COCCHIARA, J. LALKO a A. M. API. Fragrance material review on linalyl acetate. *Food and Chemical Toxicology*. 2003, 41, 965-976.
- [11] *PubChem Compound Summary for CID 8294, Linalyl acetate* [online]. National Center for Biotechnology Information, 2023. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Linalyl-acetate>.
- [12] SALES, A., L. FELIPE a J. L. BICAS. Production, Properties, and Applications of α -Terpineol. *Food and Bioprocess Technology*. 2020, 13, 1261–1279.

- [13] *Atlas přírodní medicíny: fytoterapie, apiterapie, aromaterapie, reflexologie, léčba dechem*. Přeložil F. KOKY. Ostrava: Bookmedia, 2019. s. 113-116. ISBN 978-80-88213-69-7.
- [14] NURZYŃSKA-WIERDAK, R. a G. ZAWIŚLAK. Chemical composition and antioxidant activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) aboveground parts. *ACTA Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 2016, 15, 225-241.
- [15] WELLS, R., F. TRUONG, A. M. ADAL, L. S. SARKER a S. S. MAHMOUD. *Lavandula* Essential Oils: A Current Review of Applications in Medicinal, Food, and Cosmetic Industries of Lavender. *Natural Product Communications*. 2018, 13, 1403-1417.
- [16] *Šalvěj lékařská* [online]. Leros. Dostupné z: <https://www.leros.cz/salvej-lekarska> (obrázek)
- [17] PELKONEN, O., K. ABASS a J. WIESNER. Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2013, 65, 100-107.
- [18] HÖLD, K. M., N. S. SIRISOMA, T. IKEDA, T. NARAHASHI a J. E. CASIDA. α -Thujone (the active component of absinthe): γ -Aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000, 97, 3826-3831.
- [19] *PubChem Compound Summary for CID 261491, alpha-Thujone* [online]. National Center for Biotechnology Information, 2023. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alpha-Thujone>
- [20] CAI, Z.-M., J.-Q. PENG, Y. CHEN, L. TAO, Y.-Y. ZHANG a L.-Y. FU. 1,8-Cineole: a review of source, biological activities, and application. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2020, 23, 938-954.
- [21] *PubChem Compound Summary for CID 2758, Eucalyptol* [online]. National Center for Biotechnology Information, 2023. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eucalyptol>
- [22] FUNK, C., A. E. KOEPP a R. CROTEAU. Catabolism of camphor in tissue cultures and leaf disks of common sage (*Salvia officinalis*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1992, 294, 306-313.

- [23] *PubChem Compound Summary for CID 2537, Camphor*. [online]. National Center for Biotechnology Information, 2023. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Camphor>.
- [24] JAKOVLJEVIĆ, M., S. JOKIĆ, M. MOLNAR, M. JAŠIĆ, J. BABIĆ, H. JUKIĆ a I. BANJARI. Bioactive Profile of Various *Salvia officinalis* L. Preparations. *Plants*. 2019, 8, 55.
- [25] LU, Y. a L. Y. FOO. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*. 2001, 75, 197-202.
- [26] PETERSEN, M. a M. S. J. SIMMONDS. Rosmarinic acid. *Phytochemistry*. 2003, 62, 121-125.
- [27] BIRTIĆ, S., P. DUSSORT, F.-X. PIERRE, A. C. BILY a M. ROLLER. Carnosic acid. *Phytochemistry*. 2015, 115, 9-19.
- [28] KAMMOUN EL EUCH, S., D.B. HASSINE, S. CAZAUX, N. BOUZOUITA a J. BOUAJILA. *Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities. *South African Journal of Botany*. 2019, 120, 253-260.
- [29] CORTÉS-ROJAS, D. F., C. R. FERNANDES DE SOUZA a W. P. OLIVEIRA. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014, 4, 90-96.
- [30] WILSON, P. G. Myrtaceae, KUBITZKI, K. *The Families and Genera of Vascular Plants: lowering Plants*. Eudicots. 10 Springer. Berlin: Heidelberg., 2010, s. 212–271. ISBN 978-3-642-14396-0.
- [31] KYBAL, J. *Naše a cizí koření*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1988, s. 110-188. Rostlinná výroba.
- [32] *Eugenia aromatica / hřebíčkovce vonný* [online]. Avicenna. Dostupné z: <http://www.avicenna.cz/item/eugenia-aromatica-hrebickovec-vonny> (obrázek)
- [33] ULANOWSKA, M. a B. OLAS. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22, 3671.

- [34] FIDYT, K., A. FIEDOROWICZ, L. STRZAŁA a A. SZUMNY. B-caryophyllene and β -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine*. 2016, 5, 3007-3017.
- [35] IMRAN, M., B. SALEHI, J. SHARIFI-RAD, et al. Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential. *Molecules*. 2019, 24, 2277.
- [36] EL-SABER BATIHA, G., L. M. ALKAZMI, L. G. WASEF, A. M. BESHBIHY, E. H. NADWA a E. K. RASHWAN. *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*. 2020, 10, 202.
- [37] *Hřebíčkovce kořený* [online]. Leros. Dostupné z: <https://www.leros.cz/hrebicek> (obrázek)
- [38] FERNANDES, F. H. A. a H. R. N. SALGADO. Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2016, 46, 257-265.
- [39] VERMA, S., A. SINGH a A. MISHRA. Gallic acid: Molecular rival of cancer. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2013, 35, 473-485.
- [40] *PubChem Compound Summary for CID 7136, Acetylugenol* [online]. National Center for Biotechnology Information, 2023. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetylugenol>
- [41] MACHADO, J. R., G. N. PEREIRA, P. dos S. DE OLIVEIRA, et al. Synthesis of eugenyl acetate by immobilized lipase in a packed bed reactor and evaluation of its larvicidal activity. *Process Biochemistry*. 2017, 58, 114-119.
- [42] SHAHIDI, F. a Y. ZHONG. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 2015, 18, 757-781.
- [43] ANTOLOVICH, M., P. D. PRENZLER, E. PATSALIDES, S. MCDONALD a K. ROBARDS. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002, 127, 183-198.
- [44] POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science & Technology*. 1991, 2, 223-227.
- [45] KAMAL-ELDIN, A. a L.-Å. APPELQVIST. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*. 1996, 31, 671-701.

- [46] PANCHE, A. N., A. DIWAN a S. CHANDRA. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 2016, 5, 1-15.
- [47] STAHL, W. a H. SIES. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*. 2003, 24, 345-35.
- [48] PISOSCHI, A. M. a G. P. NEGULESCU. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochem & Anal Biochem*. 2011, 1, 1-10.
- [49] STRATIL, P., B. KLEJDUS a V. KUBÁŇ. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*. 2007, 71, 1741-1751.
- [50] KEDARE, S. B. a R. P. SINGH. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. 2011, 48, 412–422.
- [51] PAULOVÁ, H., H. BOCHOŘÁKOVÁ a E. TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické Listy*. 2004, 98, 174-179.
- [52] *PubChem Compound Summary for CID 40634, Trolox* [online]. National Center for Biotechnology Information, 2023. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Trolox>
- [53] STRATIL, P., B. KLEJDUS a V. KUBÁŇ. Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables Evaluation of Spectrophotometric Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54, 607-616.
- [54] URIARTE PUEYO, I. a M. I. CALVO. Assay conditions and validation of a new UV spectrophotometric method using microplates for the determination of polyphenol content. *Fitoterapia*. 2009, 80, 465-467.
- [55] ROVER, M. R. a R. C. BROWN. Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin–Ciocalteu method. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2013, 104, 366-371.
- [56] ZEMÁNKOVÁ, D. Změny obsahu polyfenolických látek a antioxidační aktivity v extraktech máty [online]. Zlín, 2017. Dostupné z: <https://theses.cz/id/uum71n/>. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.

- [57] VLKOVÁ, N. Charakteristika rostlin z čeledi hluchavkovité a analýza jejich antioxidačních vlastností. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2020, 60 s. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10563/49183>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Škrovánková, Soňa.
- [58] FALLA, N. M., M. CASER, S. DEMASI a V. SCARIOT. Heat Pump Drying of Lavender Flowers Leads to Decoctions Richer in Bioactive Compounds. *Agronomy*. 2022, 12, 3162.
- [59] FARHAT, M. B., R. CHAOUCH-HAMADA, J. A. SOTOMAYOR, A. LANDOULSI a M. J. JORDÁN. Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues as affected by the harvesting time. *Industrial Crops and Products*. 2014, 54, 78-85.
- [60] SHAN, B., Y. Z. CAI, M. SUN a H. CORKE. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, 53, 7749–7759.
- [61] EL GHALLAB, Y., A. AL JAHID, J. JAMAL EDDINE, A. A. HAJ SAID, L. ZARAYBY a S. DERFOUFI. *Syzygium aromaticum* L.: phytochemical investigation and comparison of the scavenging activity of essential oil, extracts and eugenol. *Advances in Traditional Medicine*. 2020, 20, 153–158.
- [62] ALASALVAR, H. a Z. YILDIRIM. Ultrasound-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from *Lavandula angustifolia* flowers using natural deep eutectic solvents: An experimental design approach. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2021, 22, 100492.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	antioxidační aktivita
AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihydrochlorid
AAPM	4-aminoantipyrin
ABAP	2,2'-azobis(2-aminopropan) hydrochlorid
ABTS	kyselina 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová)
AIBN	α,α -azobisisbutyronitril
AMVN	2,2'-azobis(2,4-dimethylaleronitril)
CZE	kapilární zónová elektroforéza
DPPH•	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl radikál
EFSA	European Food Safety Authority (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
FC	Folin-Ciocalteuovo činidlo
FCM	Metoda s využitím Folin-Ciocalteuova činidla
FDA	Food and Drug Administration (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv)
FID	Flame ionization detector (Plamenově ionizační detektor)
FRAP	Ferric Reduction Antioxidant Power (metoda stanovující antioxidační účinek prostřednictvím redukce železitých iontů)
GABA _A	kyselina gama-aminomáselná
GC	plynová chromatografie
GRAS	Generally Recognized as Safe (všeobecně považovaný za bezpečný)
HPLC	High-performance Liquid Chromatography (vysokoučinná kapalinová chromatografie)
I	inaktivace
KG	kyselina gallová
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity (kapacita absorbance kyslíkových radikálů)
PBM	metoda podle Pricea a Butlera

PF	celkový obsah polyfenolů
TCD	Thermal Conductivity Detector (tepelně vodivostní detektor)
TE	ekvivalent troloxu
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity (antioxidační aktivita vyjádřená v ekvivalentech troloxu)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Levandule lékařská [6].....	12
Obrázek 2: Vzorec linalyacetátu.....	13
Obrázek 3: Šalvěj lékařská [16].....	15
Obrázek 4: Vzorce α -thujonu (1) a β -thujonu (2).....	16
Obrázek 5: Vzorec 1,8-cineolu.....	17
Obrázek 6: Vzorec kafru.....	17
Obrázek 7: Vzorec kyseliny rozmarýnové.....	18
Obrázek 8: Vzorec kyseliny karnosové.....	18
Obrázek 9: Hřebíčkovce kořený [32].....	20
Obrázek 10: Vzorec eugenolu.....	21
Obrázek 11: Vzorec kaempferolu.....	22
Obrázek 12: Sušený kalich s poupětem <i>Syzygium aromaticum</i> [37].....	23
Obrázek 13: Vzorec kyseliny gallové.....	24
Obrázek 14: Vzorec kyseliny 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové) (ABTS).	31
Obrázek 15: Vzorec DPPH•.....	32
Obrázek 16: Vzorec troloxu.....	32
Obrázek 17: Kalibrační křivka standardu troloxu pro metodu ABTS.....	40
Obrázek 18: Kalibrační křivka standardu troloxu pro metodu DPPH.....	42
Obrázek 19: Kalibrační křivka standardu kyseliny gallové pro stanovení celkového obsahu polyfenolů.....	43
Obrázek 20: Hodnocení AA metodou ABTS ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků levandule.....	45
Obrázek 21: Hodnocení AA metodou ABTS ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků šalvěje.....	47
Obrázek 22: Hodnocení AA metodou ABTS ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků hřebíčku.....	48
Obrázek 23: Hodnocení AA metodou DPPH ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků levandule.....	50
Obrázek 24: Hodnocení AA metodou DPPH ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků šalvěje.....	52
Obrázek 25: Hodnocení AA metodou DPPH ve vodných, methanolových a ethanolových extraktech vzorků hřebíčku.....	53
Obrázek 26: Hodnocení celkového obsahu PF ve vodném, methanolovém a ethanolovém extraktu vzorků levandule.....	55
Obrázek 27: Hodnocení celkového obsahu PF ve vodném, methanolovém a ethanolovém extraktu vzorků šalvěje.....	57

Obrázek 28: Hodnocení celkového obsahu PF ve vodném, methanolovém a ethanolovém extraktu vzorků hřebíčku. 59

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Analyzované vzorky bylin.....	36
--	----

