

Západočeská univerzita v Plzni

Fakulta pedagogická

Bakalářská práce

**Rozdíly v hodnotách vybraných ukazatelů
antioxidačního potenciálu v různých částech plodů
ovoce a zeleniny**

Martina Bártová

Plzeň 2012

Prohlašuji, že jsem práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

V Plzni, 2012

.....

Poděkování

Ráda bych touto větou poděkovala panu doc. Ing. Zdeňku Zlochovi, CSc. za výborné vedení, odborné znalosti, ochotu a trpělivost, které mi byly při psaní této práce poskytnuty.

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martina BÁRTOVÁ**
Osobní číslo: **P09B0033P**
Studijní program: **B1001 Přírodovědná studia**
Studijní obor: **Chemie se zaměřením na vzdělávání**
Název tématu: **Rozdíly v hodnotách vybraných ukazatelů antioxidačního potenciálu v různých částech plodů ovoce a zeleniny**
Zadávací katedra: **Katedra chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :


1. Seznámit se s hypotézou oxidačního stresu, s jeho předpokládanými patogenními účinky a s možnostmi jejich prevence antioxidanty.
2. Prakticky si osvojit laboratorní metody stanovení celkové antioxidační kapacity ovoce a zeleniny dvěma alternativními metodami, celkového obsahu fenolových látek a kyseliny askorbové.
3. Vybrat přibližně 5 druhů ovoce a 5 druhů čerstvé zeleniny a provést jejich analýzu jejich různých částí (jedlých i nejedlých) v rozsahu uvedeném v ad 2.
4. Interpretovat získané výsledky a zhodnotit nutriční hodnotu vyšetřovaných potravin z hlediska jejich antioxidačních vlastností.
5. Zhodnotit rozdíly v antioxidační kapacitě různých částí analyzovaného ovoce a zeleniny.

Rozsah grafických prací:
Rozsah pracovní zprávy: 40 stran
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná
Seznam odborné literatury:

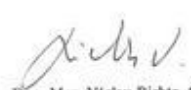
- Štípek S a kol.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publ., Praha 2000, 314 s.
Racek J.: Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, Praha 2003.
Astley S.B.: Dietary antioxidants - past, present and future? Trends in Food Sci. Technol. 2003, 14: 93-98.
Stratil P., Klejdus B., Kubáň V.: Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables - evaluation of spectrophotometric methods. J. Agric. Food Chem. 2006, 54: 607-616.
Stratil P., Klejdus B., Kubáň V.: Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. Talanta 2007, 71: 1741-1751.
Behrendt I., Krawinkel M.: Antioxidanzien in der Onkologie - Nutzen oder Risiko? Ernähr. Umsch. 2007, 54: 314-317.
Halliwell B.: Biochemistry of oxidative stress. Biochem. Soc. Transact. 2007, 35(5): 1147-1150.
Sun T., Tanumihardjo S. A.: An integrated approach to evaluate food antioxidant capacity. J. Food Sci. 2007, 72(9): R 159 R 165.

Vedoucí bakalářské práce: Doc. Ing. Zdeněk Zloch, CSc.
Katedra chemie

Datum zadání bakalářské práce: 17. října 2011
Termín odevzdání bakalářské práce: 30. dubna 2012


Doc. PaedDr. Jana Coufalová, CSc.
děkanka




Doc. Mgr. Václav Richta, CSc.
vedoucí katedry

V Plzni dne 17. října 2011

OBSAH

1	ÚVOD	1
2	TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1	Celková antioxidační kapacita (Total antioxidant capacity)	2
2.2	Vitamin C	6
2.3	Fenolové látky	7
2.4	Flavonoidy.....	8
2.5	Karotenoidy	9
2.6	Vitamin E	10
2.7	Význam ovoce a zeleniny v potravě	11
3	PRAKTICKÁ ČÁST	13
3.1	Stanovení celkové antioxidační kapacity	13
3.1.1	Metoda FRAP (Ferric reduction ability of plasma)	13
3.1.2	Metoda DMPD.....	14
3.2	Stanovení celkového obsahu fenolových látek.....	15
3.3	Stanovení celkového obsahu vitamínu C	16
3.4	Fotografická dokumentace	17
3.5	Charakteristika spektrofotometrické metody	19
3.6	Výsledky a diskuse	20
3.6.1	Stanovení celkového množství fenolových látek.....	20
3.6.2	Stanovení celkového obsahu vitamínu C	23
3.6.3	Stanovení celkové antioxidační kapacity metodou FRAP.....	25
3.6.4	Stanovení celkové antioxidační kapacity metodou DMPD	28
3.7	Korelační grafy	31
4	ZÁVĚR	36
5	SEZNAM LITERATURY	37
6	RESUMÉ	39

1 ÚVOD

S rozvojem vědy a společnosti dochází k postupné změně přístupu k lidskému zdraví a jeho ochraně. Lidská společnost si začíná uvědomovat důležitost antioxidantů v boji proti volným radikálům, které mohou za mnohé nemoci. Velmi prospěšné je sledování výživových hodnot u různých druhů ovoce a zeleniny, zejména těch, které souvisejí s jejich tzv. celkovou antioxidační aktivitou. Za zmínění stojí obsah fenolových látek a obsah vitamínu C, které se společně s karotenoidy na celkové antioxidační kapacitě potravin podílejí. Právě na tyto ukazatele se budeme v této práci zaměřovat. Naším cílem je zjistit, jak se liší jednotlivé druhy zeleniny a ovoce množstvím antioxidačních látek navzájem, ale také i v různých částech jednoho druhu. Získané poznatky by měly umožnit přesnější rozlišení výživových hodnot u různých částí těchto potravin. Velmi zajímavé je také sledování různých studií, které se tímto problémem zabývají. Jejich výsledky se v mnohém navzájem liší, v mnohém se shodují. Značné rozdíly najdeme i v používaných laboratorních postupech.

Celková antioxidační kapacita (TAC) potravin vyjadřuje celkový obsah antioxidačně aktivních látek, které, jsou-li požitý, společně potlačují negativní vlivy volných radikálů a jiných reaktivních, oxidačně působících látek, které vznikají v organismu a mohou ho poškozovat. Jako příklad škodlivých volných radikálů můžeme uvést oxidující látky, mezi něž patří reaktivní formy kyslíku (ROS – superoxid kyslíku, peroxid vodíku, hydroxylový radikál) nebo reaktivní formy dusíku (RNS - oxid dusnatý, peroxydusitan). Poměr antioxidantů a volných radikálů v těle je u každého člověka jiný. Toto množství je ovlivňováno mnoha faktory. Závisí na zdravotním stavu člověka, na životním prostředí, na kvalitě potravin, ale také i na samotném přístupu ke svému zdraví. Prevence oxidačního stresu organismu (tj. převahy oxidantů nad antioxidační kapacitou a z toho vyplývajícího rizika oxidačního poškození) je z velké části závislá na velikosti příjmu potravin rostlinného původu a na jejich kvalitě.

Tato práce má přispět k poznání těchto kvalitativních vlastností vybraných druhů ovoce a zeleniny a jejich rozlišení v těch částech potravin, které se běžně konzumují od těch, které nijak využívány nejsou.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Celková antioxidační kapacita (Total antioxidant capacity)

„Antioxidační ochrana organismu je složitý komplex mechanismů, které pracují ve vzájemné souhře, doplňují se a mnohdy i potencují, navíc musejí být v rovnováze s prooxidačními látkami, tedy s produkcí volných radikálů.“(cit. 1) Po dlouhou dobu byly volné radikály považovány za pouhé fragmenty molekul, které jsou schopny se účastnit chemických reakcí. Jestliže atom nebo molekula obsahuje orbital s jedním nepárovým elektronem, tak můžeme mluvit o volném radikálu. Většina molekul má ale plně obsazené orbitaly. Z této věty tedy vyplývá, že nejsou zmiňovanými volnými radikály. Volné radikály mají zpravidla malou stabilitu a vysokou reaktivitu, protože se snaží svůj chybějící elektron doplnit. Touto snahou však vyvolají řetězovou reakci, která vede k poškození dalších molekul. Tyto reakce mohou probíhat jak v lidském těle, zejména v jeho tukových tkáních, tak v těle rostlinném. Se zvýšeným výskytem volných radikálů v lidském těle dochází k oslabení imunitního systému. S volnými radikály souvisí řada dalších nemocí, které mohou postihnout každého člověka. Uvést můžeme onemocnění kardio- a cerebrovaskulárních systémů, rakovinu, diabetes mellitus nebo aterosklerosu. Za normálních podmínek jsou antioxidanty a volné radikály v organismu v rovnováze, ke které přispívají významně potraviny rostlinného původu a u části populace také kupované preparáty. Vnější podmínky, skladování těchto potravin, druh ovoce či zeleniny, způsob pěstování zásadně ovlivňují celkovou antioxidační kapacitu².

BHT (butylovaný hydroxytoluen) a BHA (butylovaný hydroxyanisol) jsou zástupci syntetických antioxidantů. Také ony hrají významnou roli v antioxidační ochraně, jsou využívány ke zvýšení stability tuků v různých potravinách. Setkáváme se s nimi v průmyslu, v potravinách, kosmetice a lékařských produktech. BHT (E 321) patří mezi nejvíce využívané antioxidanty v jídlech. Obě tyto látky a jejich metabolity si uchovávají svou antioxidačnou aktivitu i po požití^{3,4}.

Organismus může ohrozit jak převaha volných radikálů, tak i převaha antioxidantů. Volné radikály mají jak negativní, tak i příznivý vliv na organismus (HClO, NO). V posledních letech probíhá jejich intenzivní zkoumání. Po dlouhých a složitých výzkumech vědci dospěli k závěru, že v lidském těle vzniká řada reaktivních forem kyslíku (reactive oxygen species – ROS) a reaktivních forem dusíku (reactive

nitrogen species – RNS), které zahrnují jak radikálové, tak neradikálové látky. Často se setkáváme s pojmem oxidační stres. Pod tímto názvem si představme porušení rovnováhy mezi vznikem a odstraňováním reaktivních forem kyslíku a dusíku. Tyto látky mají jak fyziologické, tak i patologické účinky na organismus². Ideálem je proto přiměřený příjem potravin, které zajišťují rovnováhu mezi uvedenými oxidanty, a tím také zajišťují antioxidační ochranu organismu.

Tabulka 1 **Reaktivní formy kyslíku a dusíku** (převzato z literatury²)

Reaktivní formy kyslíku	
<i>Volné radikály</i>	<i>Látky, které nejsou volnými radikály</i>
superoxid, O ₂ [*]	peroxid vodíku, H ₂ O ₂
hydroxylový radikál, HO [*]	kyselina chlorná, HOCl
peroxyl, ROO [*]	ozon, O ₃
alkoxyl, RO [*]	singletový kyslík, ¹ O ₂
hydroperoxyl, HO ₂ [*]	

Reaktivní formy dusíku	
<i>Volné radikály</i>	<i>Látky, které nejsou volnými radikály</i>
oxid dusnatý, NO [*]	nitrosyl, NO ⁺
oxid dusičitý, NO ₂ [*]	kyselina dusitá, HNO ₂
	oxid dusitý, N ₂ O ₃
	oxid dusičitý, N ₂ O ₄
	nitronium, NO ₂ ⁺
	peroxydusitan, ONOO ⁻
	alkylperoxydusitan, ROONO ⁻

Po chemické stránce antioxidanty v potravinách představují látky polyfenolického charakteru jako jsou flavonoidy, anthokyany, kumariny, ale také vitamin C, E, karotenoidy a některé stopové prvky⁵. Jsou všeobecně rozšířeny, zejména v ovoci, zelenině, čaji, luštěninách. Antioxidanty (AO) se dělí podle různých kritérií, neboť se jedná o různorodou skupinu látek. Díky tomu jejich dělení není vůbec lehké a jednoznačné.

Schéma 1 **Rozdělení antioxidantů** (převzato z literatury¹)

Podle ovlivnění tvorby volných radikálů:

- a. Primární (*chain - breaking antioxidants*) - brání vzniku VR, účinné ve velmi nízkých koncentracích, inhibitory NADPH-oxidasy či xantinoxidasy (tyto enzymy generují ROS)
- b. Sekundární (preventivní) - likvidace už vzniklých VR, látky s redukčním účinkem, další antioxidační enzymy (superoxid dismutasa)
- c. Terciární – oprava či eliminace molekul poškozených VR, enzymy zajišťující opravu poškozené DNA

1. Podle původu

- a. Endogenní – tvorba v organismu (redukováný glutation GSH, kyselina močová, albumin aj.)
- b. Exogenní – přijímány zvenčí (přirozené – antioxidační vitaminy, umělé – léky, např. Allopurinol, Meftogamma)

2. Podle rozpustnosti ve vodě či tucích

- a. Hydrofilní – rozpustné ve vodě, pronikají rychle do těla, nepronikají dobře přes buněčnou membránu do buněk ani do centrální nervové soustavy
- b. Lipofilní – rozpustné v tucích, na místo účinku se dostávají pomaleji (vitamin E, karotenoidy, ubichinon (koenzym Q₁₀), estrogeny)
- c. Amfofilní – spojují vlastností i hydrofilních a lipofilních AO – kyselina lipoová, melatonin, bioflavonoidy

3. Podle lokalizace v buňce či mimo buňku

- a. Extracelulární
- b. Intracelulární – rozhodující význam

4. Podle velikosti molekuly

- a. Vysokomolekulární (bílkoviny) - (albumin, transferin, hemopexin)
- b. Nízkomolekulární – (vitamin C, kyselina močová, bilirubin, fenolové kyseliny)

5. Podle mechanismu účinku

- a. Katalyzátory (enzymy, metaloproteiny) – v reakci se nespotebouvají
- b. Chelatační látky – váží přechodné kovy (Fe, Cu, Ni), a tím inhibují jimi katalyzované oxidační reakce
- c. Inhibitory enzymů
- d. Ostatní

6. Podle typu VR, na které působí a antioxidanty, které je likvidují

- a. Superoxid – superoxidodismutasa (SOD), která přeměňuje superoxidový radikál na $H_2O_2 + O_2$
- b. Hydroxylový radikál – albumin, cholesterol, manitol, dopamin
- c. Singletový kyslík – histidin, vitamin E, C, β - karoten
- d. HClO – sulfasalamin, histidin, methionin
- e. H_2O_2 – aminoguanidin

Přirozené antioxidanty jsou látky, které se zapojují do metabolismu v organismu, ve kterém vznikly nebo do kterého byly dopraveny. Člověk je přijímá v potravě nebo si je sám vytváří v těle. Mnohé z nich jsou rostlinného původu a nachází se v různých částech rostlinného organismu. Jako příklad můžeme uvést rostlinné fenoly (jednoduché fenoly, flavonoidy, třísloviny), karotenoidy, vitamin A (karoteny, xantofyly), vitamin E, vitamin C a další. Za umělé antioxidanty můžeme považovat celou řadu léků. Patří sem i přirozené látky, které jsou určitým způsobem modifikovány¹. Existuje velké množství antioxidantů, jejichž význam pro organismus není stejný. Antioxidantům z přirozených zdrojů bylo věnováno hodně pozornosti. Záměr je jednoduchý. Přirozené antioxidanty by měly nahradit antioxidanty syntetické. Většina antioxidantů je do těla přijímána ve formě složitých směsí. Jednotlivé antioxidanty se mohou navzájem ovlivňovat. Jestliže se volné radikály tvoří převážně extracelulárně (chronické záněty, diabetes mellitus) je vhodné podat do těla antioxidanty rozpustné ve vodě (vitamin C, manitol). V případě intracelulárního vzniku (intoxikace) je vhodné podávání v tučích rozpustných antioxidantů (vitamin E, β -karoten, koenzym Q₁₀). Smíšená strava dokáže u zdravého člověka zajistit přívod dostatečného množství antioxidantů a stopových prvků, avšak při ohrožení nemocí (vlivem infekčních nebo chemických agens, při nadměrné tělesné nebo psychické zátěži

apod.) je vhodné zesílit příjem antioxidantů zvýšeným příjmem jejich potravních zdrojů nebo jejich farmaceutickými preparáty, popř. potravinovými doplňky^{1,2}.

Celková antioxidační kapacita se v těle člověka často stanovuje v plazmě (extracelulární tekutina). Je to souhrnná aktivita všech látek s antioxidačním účinkem v této tekutině obsažených¹. Ke zjištění kapacity se používá několik metod, které se navzájem liší druhy činidel a výsledky, jež antioxidační kapacitu detekují.

2.2 Vitamin C

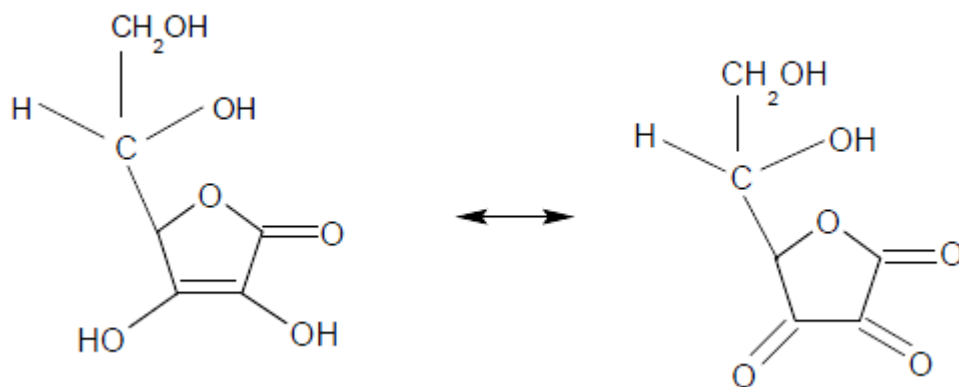
Vitamin C (kyselina L-askorbová) je jedna z nejsledovanějších látek v ovoci a zelenině. V jednotlivých druzích se však liší množstvím. Je rozpustná ve vodě, přispívá udržení tělesného zdraví a nezbytná pro život. V těle plní řadu důležitých funkcí. Denní dávka tohoto vitamínu v EU je 60 až 200 mg/den. Většina zvířat a rostlin je schopna vlastní syntézy. Pouze člověk, některé druhy primátů, morčata, indiští netopýři a několik dalších druhů jsou závislí na dodávání této látky z vnějších zdrojů. Kyselina askorbová se snadno slučuje s kyslíkem a díky tomu tak ztrácí svoji účinnost. Tvoří 90 % podílu vitamínu C, 10 % je oxidovaná forma vitamínu C, kyselina dehydroaskorbová⁶. Oxidovaná forma vitamínu C má plnou vitaminovou hodnotu, protože in vivo je redukována na kyselinu askorbovou. Je možné, že fenoly a polyfenoly tuto redukci usnadňují, a to neenzymatickým způsobem.

Při tepelném zpracování potravin dochází k rozkladu vitamínu C. Při vaření se ničí až 60 %, při sušení až 50 %. Za nejšetrnější způsob úpravy je považování mražení⁶.

Účinky na organismus jsou zřejmé. Je aktivní ve všech tělesných tkáních, posiluje vlasečnice a buněčné stěny. Chrání před srdečními chorobami a rakovinou, před pohmožděninami a krevními výrony, podporuje hojení a udržuje dobrý stav vaziva⁷. Uplatňuje se při biosyntéze kolagenu, tvorbě karnitinu, glykosaminoglykanu, noradrenalinu. Je účastníkem metabolismu cholesterolu. Jeho koncentrace v plazmě se pohybuje v rozmezí 30-150 $\mu\text{mol/l}$. Nízké koncentrace vitamínu C v krevní plazmě i v různých orgánech mohou být způsobeny zvýšenou zátěží díky účinkům volných radikálů. Mezi takto omezené osoby se řadí kuřáci, pacienti s těžkými infekcemi, osoby s pankreatitidou nebo s hypertenzí. Vitamin C má schopnost stimulovat obranyschopnost proti infekcím, zvyšovat aktivitu fagocytů a zároveň chránit jejich membrány před poškozením. Jeho dalším významným úkolem je redukce železitého kationtu na železnatý v trávicím traktu. Právě v podobě železnatého kationtu je železo

ve střevě vstřebatelné¹. Zvýšená spotřeba se projevuje při mimořádných situacích jako je těhotenství, úraz, psychický stres, zvýšená tělesná námaha při práci nebo sport⁶.

Zaměříme-li se na projevy nedostatku, můžeme jmenovat zpomalený růst, narušenou stavbu kostí v dětství, která se označuje jako osteomalacie. Za další příznaky se považuje neodolnost lidského organismu proti infekcím, žaludeční problémy a únava. Skorbut (kurděje) označují avitaminózu. Ta se projevuje chudokrevností (anémií), dále zvýšenou krvácivostí, otoky kloubů a dásní nebo žaludečními vředy. Podání vysoké dávky vitamínu C je celkem neškodné. Přebytek vitamínu C se vylučuje močí⁸.



Obrázek 1 **Strukturní vzorec kyseliny askorbové a kyseliny dehydroaskorbové**

2.3 Fenolové látky

Fenolové antioxidanty jsou určitou specifickou skupinou sekundárních metabolitů, které hrají významnou roli v ochraně organismu proti škodlivým radikálům. V lidském těle jsou tyto látky po vstřebání a metabolických přeměnách z velké části účinné jako prevence mnohých degenerativních a nedegenerativních onemocnění, zejména tím myslíme aterosklerózu, rakovinu nebo zrychlené stárnutí. Fenolové látky mají široké spektrum působení⁹. Jsou to látky protialergické, protizánětlivé, protimikrobiální nebo kardioprotektivní. V rostlinách se vyskytují fenolové látky různého původu i funkce. Fenolové látky jsou obsaženy v léčivých rostlinách, ovoci, zelenině, obilí, luštěninách. Mnoho z nich právem náleží k základním, biologicky aktivním látkám v potravinách rostlinných zdrojů. Fenolové látky jsou zodpovědné za

barvu a za smyslové charakteristiky. V dnešní době je o fenolových látkách známo stále málo informací⁵.

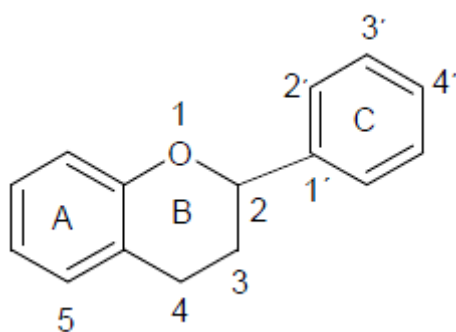
Chemicky se jedná o jedno nebo více aromatických či heterocyklických jader, které nesou různý počet hydroxylových substituentů. Vyskytují se vázané ve formě glykosidů, cukerná složka je vázaná s jednou nebo více fenolovými skupinami. Mezi fenolové látky patří celá řada fenolových kyselin (např. odvozených od kyseliny skořicové) a jejich derivátů, dále třísloviny, flavonoidy, isoflavonoidy, deriváty kumarinu, deriváty stilbenu, ligniny a další⁵.

2.4 Flavonoidy

Flavonoidy jsou látky, které bývaly označovány za vitamin P. Jedná se o velkou skupinu látek. V současnosti je z potravin rostlinného původu izolováno přes 4500 různých flavonoidů a stále jsou objevovány další. Flavonoidy jsou po náš organismus postradatelné, pokud však dochází k pravidelnému dodávání, mají preventivní účinky nebo pomáhají léčbě specifických onemocnění. Velmi pozitivně působí na cévy a cévní systém. Uplatňují se také jako antioxidanty. Čisté flavonoidy jsou barevné krystaly, které se špatně rozpouští v horké vodě a v rozpouštědlech mísitelných s vodou⁶.

Chemicky jsou flavonoidy odvozeny od heterocyklické sloučeniny flavanu. Ten je tvořen dvěma benzenovými jádry spojenými heterocyklickým pyranem. Pro výživu člověka jsou důležité skupiny flavonoidů jako flavanoly, flavanony, flavony, flavonoly, anthokyaniny, katechiny a isoflavonoidy. Mají převážně barvu žlutou, červenou nebo modrou⁶. Jejich hlavním úkolem je zabraňovat peroxidaci lipidů, likvidovat volné kyslíkové radikály nebo vázat a inaktivovat prooxidační kovové ionty jako železo nebo měď. Flavonoidy se v přírodě vyskytují vázané na cukry (ve vodě rozpustné glykosidy). Můžeme je najít ve všech druzích ovoce a zeleniny, ale nejvíce v červeném víně, v zeleném a černém čaji².

Flavonoidy bývají spojovány s tzv. „francouzským paradoxem“. Jedná se o sníženou mortalitu na kardiovaskulární nemoci u lidí, kteří žijí ve Francii, pijí červené víno, a to nezávisle na skutečnosti, že zároveň mívají velkou spotřebu červeného masa a velký příjem cholesterolu. V červeném víně se vyskytuje velké množství fenolových látek, např. resveratrolů a quercetin obsažený v několika druzích glykosidů. Tyto látky mají antisklerotické účinky, kdy dochází k antioxidační ochraně LDL-částic. Záleží však na odrůdě vína, na době sklizně, vinařské oblasti a na klimatických podmínkách².



Obrázek 2 **Strukturní vzorec flavanu**

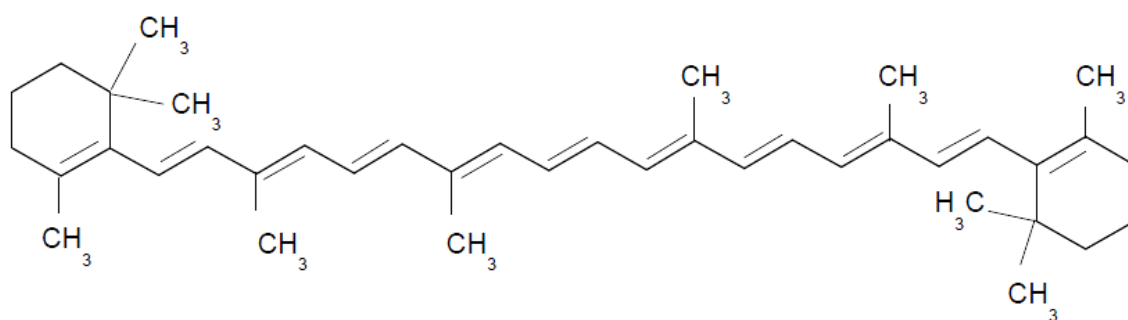
2.5 Karotenoidy

Karotenoidy jsou přírodní pigmenty nacházející se jak v rostlinné, tak i v živočišné říši¹¹. Patří svou chemickou strukturou mezi terpeny (izoprenové sloučeniny obsahující 40 uhlíků). Jejich nejvyšší výskyt je zaznamenán v listové zelenině, v mrkvi v meruňkách, ve švestkách, rajčatech aj. Protože se jedná o lipofilní látky, jsou pro jejich vstřebávání v tenkém střevě nutné žlučové kyseliny¹. V dnešní době je zaznamenáno téměř 800 druhů karotenoidních barviv, ze kterých pouze šest jsou lidským organismem využitelné jako prekurzory vitamínu A. Mezi nejdůležitější karotenoidy patří β -karoten, α -karoten, lutein, zeaxantin, lykopen a kryptoxantin. Tato barviva dávají ovoci a zelenině červenou, oranžovou nebo žlutou barvu⁶.

Z lékařského hlediska mohou snižovat riziko rakoviny postaty, plic, ústní dutiny, jícnu, žaludku nebo prsu. Toto tvrzení však lékařské studie plně nepotvrdily. Karotenoidy jsou pávem řazeny do skupiny antioxidantů. Na antioxidantním podkladu chrání lidský organismus před srdečními chorobami a zvyšují celkovou imunitu. Karotenoidy jsou si svým složením velice podobné, ale každý z nich působí na specifickou tkáň⁶.

Karoteny patří mezi nejznámější skupinu karotenoidů. Můžeme sem zařadit β -karoten. Právě z jednoho β -karotenu vznikají v organismu dvě molekuly vitamínu A (retinol). Retinol se v sítnici přeměňuje na retinal, který je důležitý pro stav sítnice a celkové vidění. Tento provitamin A je zastoupený v mrkvi nebo i v červené paprice. α -karoten se nachází v mrkvi a dýni. Lykopen je červeným barvivem rajských jablíček. Xantofyly jsou kyslíkovými deriváty karotenoidů (alkoholy, ketony, karboxylové kyseliny a jejich estery). Lutein je derivátem α -karotenu a zároveň nejrozšířenějším

karotenoidním barvivem vůbec. Kryptoxantin má své zastoupení v mangu, pomeranči, meruňkách nebo broskvích. Obsah karotenoidních látek v ovoci a zelenině je velice proměnlivý. Za toto množství jsou zodpovědné klimatické podmínky, odrůda nebo druh^{2,10}.

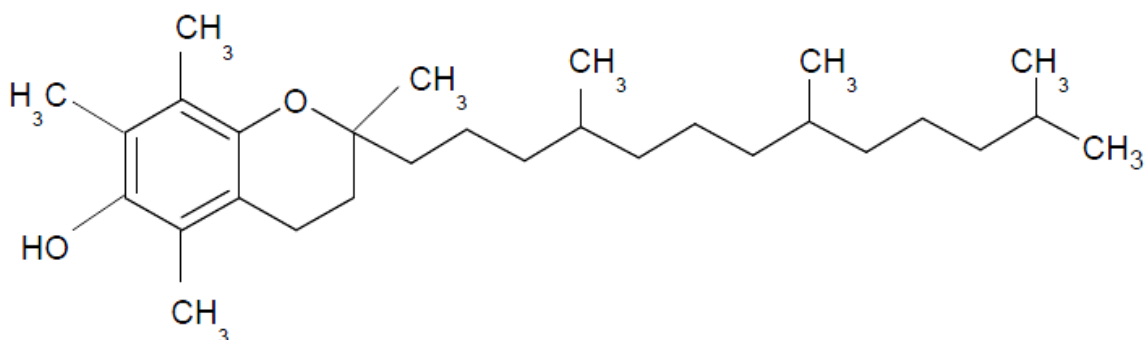


Obrázek 3 **Strukturní vzorec β -karotenu**

2.6 Vitamin E

α -tokoferol je biologicky nejúčinnější z osmi izomerů tokoferolu, které se souhrnně označují jako vitamin E. Tato látka se nerozpouští ve vodě, má tedy lipofilní charakter. Patří mezi typické membránové antioxidanty, protože se uplatňuje v antioxidační ochraně lipoproteinových částic plazmy a v ochraně lipidů biologických membrán. Při reakci vitaminu E s volnými radikály vzniká tokoferoxylový radikál. Za určitých podmínek tento radikál může sám o sobě působit jako oxidant a poškozovat další molekuly. K regeneraci vitaminu E slouží kyselina askorbová. Ta se sama mění na askorbátový radikál (semidehydroaskorbát), který je redukován glutathionem nebo koenzymem Q¹.

Vitamin E se vyskytuje v obilných klíčcích, rostlinných olejích, žlutcích, vnitřnostech nebo v mléce. Má přímý vliv na růst lidského organismu, hojení ran a jeho nedostatek má za následek až snížení plodnosti. Zejména u novorozenců se může vyskytnout anémie. Doporučená denní dávka se pohybuje v rozmezí 10-20 mg/den. Nedostatek vitaminu E se často projevuje zhoršenou schopností vstřebávání nebo distribuce tuků⁸.



Obrázek 4 **Strukturní vzorec vitaminu E (α-tokoferol)**

2.7 Význam ovoce a zeleniny v potravě

Ovoce a zelenina dnes patří k velmi zdravotně významným a lékaři doporučovaným zdrojům výživy lidského organismu. Svým složením napomáhají člověku udržovat si zdravou kondici, slouží jako prevence před některými chorobami (rakovina zažívacího traktu, srdeční onemocnění, obezita), navíc jejich množství je tak pestré, že si každý člověk zajisté vybere. Samozřejmě bychom měli konzumovat všechny druhy ovoce a zeleniny bez výjimky, protože každý kus je svým způsobem jedinečný a dodává nám látky, které ostatní druhy neobsahují. Kdybychom konzumovali pouze to, co nám chutná, byli bychom ochuzeni o důležité látky a naše tělo by se tak nemohlo bránit útokům cizorodých činitelů díky oslabené imunitě.

Z chemického hlediska se jedná o potraviny, které neobsahují cholesterol, obsahují minimum tuků a sodíku. Lidskému tělu dodávají dostatek vitamínů, esenciálních, minerálních látek, rostlinných bílkovin a vlákniny. Nejčastěji se jedná u zeleniny o provitamin A (rajčata, mrkev, špenát), vitamin B₁ (hrášek, cibule, rajčata, košťálová zelenina), vitamin B₂ (špenát, fazolové lusky, hrášek, květák), vitamin B₆ (salát, kapusta, hrášek), vitamin C (paprika, kapusta, kedlubna, listové zelenina, zelí). Z minerálních látek najdeme v zelenině vápník, draslík, síru, hořčík, měď, zinek a další. U ovoce se stává nejvýznamnějším vitamin C (šípky, rakytník, angrešt, černý rybíz, jahody, ostružiny, kiwi, pomeranč, citron). Z minerálních látek v ovoci nalézáme draslík, hořčík, železo, mangan, měď nebo zinek. U některých druhů ovoce můžeme považovat za nevýhodu vysoké množství cukru (fruktosa), dále organické kyseliny nebo aromatické látky, které mohou stát za vznikem alergií¹¹.

Zabarvení ovoce a zeleniny má svůj význam a to buď lákat konzumenty a jejich prostřednictvím zajišťovat rozmnožování, nebo se naopak chránit před nechtěným poškozením až smrtí. V mnoha případech rostliny tvoří tzv. vedlejší fyziologické produkty metabolismu, které působí na chemoreceptory opylovačů, a rostliny si tak zajišťují další přežití. Mezi těmito přírodními látkami rostlinného původu zaujímá výjimečné postavení početná skupina fenolů a polyfenolů¹¹.

3 PRAKTICKÁ ČÁST

TAC u ovoce a zeleniny se stanovuje různými metodami. Základem každé metody je správné zpracování vzorků potravin, připravení roztoků o příslušné koncentraci. Ovoce a zelenina, které zkoumáme v těchto metodách, byly zakoupeny v českých obchodních řetězcích. K testování bylo použito 5 druhů zeleniny a 7 druhů ovoce. Každý kus rostlinného materiálu se musel skládat ze dvou dobře oddělitelných částí, který byly dále použity pro laboratorní měření. Porovnávali jsme naměřené hodnoty v různých částech plodů. U ovoce bylo oddělování mnohem jednodušší, zelenina sebou přinášela více problémů, neboť pečlivé oddělení bylo mnohem těžší. Celková antioxidační kapacita byla zjišťována pomocí metody FRAP, metody DMPD, dále jsme zkoumali celkový obsah fenolových látek a obsah vitamínu C. Nejdříve bylo nutné připravit z těchto částí extrakt, který byl použit ve čtyřech laboratorních metodách. Protože jsme používali metody spektrofotometrické, provádělo se ve finální části analýzy měření absorbance reakčního roztoku na spektrofotometru. Měření každé části probíhalo dvakrát, kdy pro výpočet výsledků bylo užito jejich průměrné hodnoty. Výsledné hodnoty byly zpracovány do tabulek a grafů, ze kterých bylo možné následně vyvodit závěry.

Testované vzorky se očistily nerezovým náčiním, rozkrájely na menší kousky a rozmixovaly se ve výkonném mixéru během několika vteřin v poměru 20 g potravin (mandarinka 16,8 g) a 80 ml extrakčního roztoku. Extrační roztok tvoří methanol s vodou v poměru 1:1. Homogenát byl následně přefiltrován přes papírový filtr. V případě stanovení obsahu vitamínu C bylo užito jiné extrakční činidlo, kdy jsme mixovali 20 g (mandarinka 16,8) vzorku s 80 ml 5% roztoku kyseliny trichloroctové (TCA) a poté zfiltrovali.

3.1 Stanovení celkové antioxidační kapacity

3.1.1 Metoda FRAP (Ferric reduction ability of plasma)

(Převzato z literatury⁵.)

Při této reakci dochází k redukcí železitého komplexu ferrikyanidu na ferrokyanid. Po jeho reakci se železitou solí, event. po reakci s dalším činidlem se vytváří barevný produkt, v prvním případě berlínská modř. Intenzita zbarvení jejího

roztoku je přímo úměrná velikosti antioxidačního (v tomto případě redukčního) účinku extraktu vzorku. Tento antioxidační účinek se porovnává s antioxidační účinností standardního roztoku kyseliny gallové.

Pracovní roztoky:

0,2 M fosfátový pufr (pH 6,5), 1% roztok ferrikyanidu draselného v destil. vodě, 10% roztok kyseliny trichloroctové v destil. vodě, 0,1% roztok chloridu železitého v destil. vodě, standardní roztok kyseliny gallové (10 mg/100 ml destil. vody - vždy čerstvý).

Pracovní postup:

Do plastových zkumavek postupně dávkujeme 0,95 ml pufru, 50 µl vzorku, 0,5 ml roztoku ferrikyanidu draselného. V paralelním stanovení se místo vzorku použije stejný objem roztoku kyseliny gallové (= standardní vzorek). Zahříváme 20 min při teplotě 50 °C. Poté přidáme 0,245 ml roztoku TCA a 0,5 ml vody. Dobře promícháme, nadávkuje 0,2 ml roztoku chloridu železitého, opět promícháme a fotometrujeme při 700 nm (SPEKOL 11). Současně provádíme slepý pokus, kdy se použije místo vzorku 50 µl vody.

Při výpočtech bylo užito následujícího vzorce:

$$\frac{50 * \Delta E}{E_{\text{stand.}} - E_{\text{slep.vz}}} = \text{mg KG}/100 \text{ g vzorku}$$

Kde ΔE je rozdílem absorbance vzorku a absorbance slepého vzorku, **E stand.** je absorbancí standardu (kyselina gallová, KG) a **E slep. vz.** je absorbancí slepého vzorku. Pro mandarinku platí koeficient 60 (menší navážka vzorku).

3.1.2 Metoda DMPD

(Převzato z literatury⁵.)

Sloučenina DMPD se v roztoku převádí na svou radikálovou formu působením železité soli. Ta je poměrně stabilní a barevná. Jestliže se k tomuto roztoku přidá vzorek rostlinného extraktu, radikál je zhášen a tím odbarvován, a to v míře, která je přímo úměrná antioxidační účinnosti vzorku.

Pracovní roztoky:

0,1 M acetátový pufr (pH 5), roztok hexahydrátu chloridu železitého v destil. vodě, roztok DMPD (N, N – dimethyl – p - fenylendiamin, vždy čerstvý) v destil. vodě, standardní roztok kyseliny gallové v destil. vodě

Pracovní roztok musí být vždy čerstvý (30 ml acetátového pufru + 1,5 ml roztoku chloridu železitého + 1,5 ml roztoku DMPD).

Pracovní postup:

Do umělohmotných zkumavek pipetujeme 2 ml pracovního roztoku a 30 μ l zředěného vzorku (standardu), dobře promícháme, ponecháme 10 min v temnu při laboratorní teplotě, poté fotometrujeme proti vodě při 505nm (SPEKOL 11).

Při výpočtech bylo užito následujícího vzorce:

$$\frac{50 * B}{E \text{ slep.vz.} - E \text{ stand.}} = \text{mg KG}/100 \text{ g vzorku}$$

Kde **B** je rozdílem absorbance slepého vzorku a absorbance vzorku ovoce (zeleniny), **E stand.** je absorbcí standardu a **E slep. vz.** je absorbcí slepého vzorku. Pro mandarinku platí koeficient 1,2 (menší navážka vzorku).

3.2 Stanovení celkového obsahu fenolových látek

(Převzato z literatury⁵.)

Celkový obsah fenolových látek v potravinách rostlinného původu se provádí všeobecně známou metodou s Folin - Ciocalteuovým (roztok fosfomolybdenanu amonného) činidlem.

Pracovní roztoky:

Folin-Ciocalteuovo činidlo (komerční výrobek), nasycený roztok uhličitanu sodného v destil. vodě, standardní roztok kyseliny gallové v destil. vodě

Pracovní postup:

Do umělohmotných zkumavek postupně dávkujeme 1 ml vody, 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 50 μ l vzorku (standardu, vody). Dobře promícháme, po 5 min

stání přidáme 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Opět promícháme, po 15 min fotometrujeme při 750 nm (SPEKOL 11).

Při výpočtech bylo užito následujícího vzorce:

$$\frac{10 * \Delta E * b}{a * E \text{ stand.}} = \text{mg KG}/100 \text{ g vzorku}$$

Kde **a** je navázkou vzorku v gramech, **b** objemem rozmixovaného vzorku v ml, **ΔE** rozdílem absorbance vzorku a absorbance slepého vzorku, **E stand.** absorbancí standardního roztoku. Pro mandarinku platí koeficient 1,2 (menší navážka vzorku).

3.3 Stanovení celkového obsahu vitamínu C

(Převzato z literatury¹².)

Kyselina askorbová přítomná ve vzorku se oxiduje noritem na kyselinu dehydroaskorbovou. Ta reaguje s 2,4 - dinitrofenylhydrazinem a tvoří s ním příslušný barevný osazon. Po jeho rozpuštění v roztoku kyselin se měří absorbance tohoto roztoku, která je úměrná koncentraci askorbátu.

Pracovní roztoky:

5% roztok kyseliny trichloroctové v destil. vodě, norit (práškové aktivní uhlí), roztok kyseliny sírové (25 ml konc. kyseliny sírové + 50 ml destil. vody), roztok 2, 4-dinitrofenylhydrazinu v roztoku kyseliny sírové (2g/75 ml), směs kyseliny fosforečné a dusičné (50 ml kys. trihydrogenfosforečné konc. + 25 ml kys. dusičné konc.), standardní roztok kyseliny askorbové (50 ml kyseliny askorbové (KA) + 5 ml 5% kys. trichloroctové + 95 ml destil. vody, 2 ml tohoto roztoku + destil. voda do 100 ml).

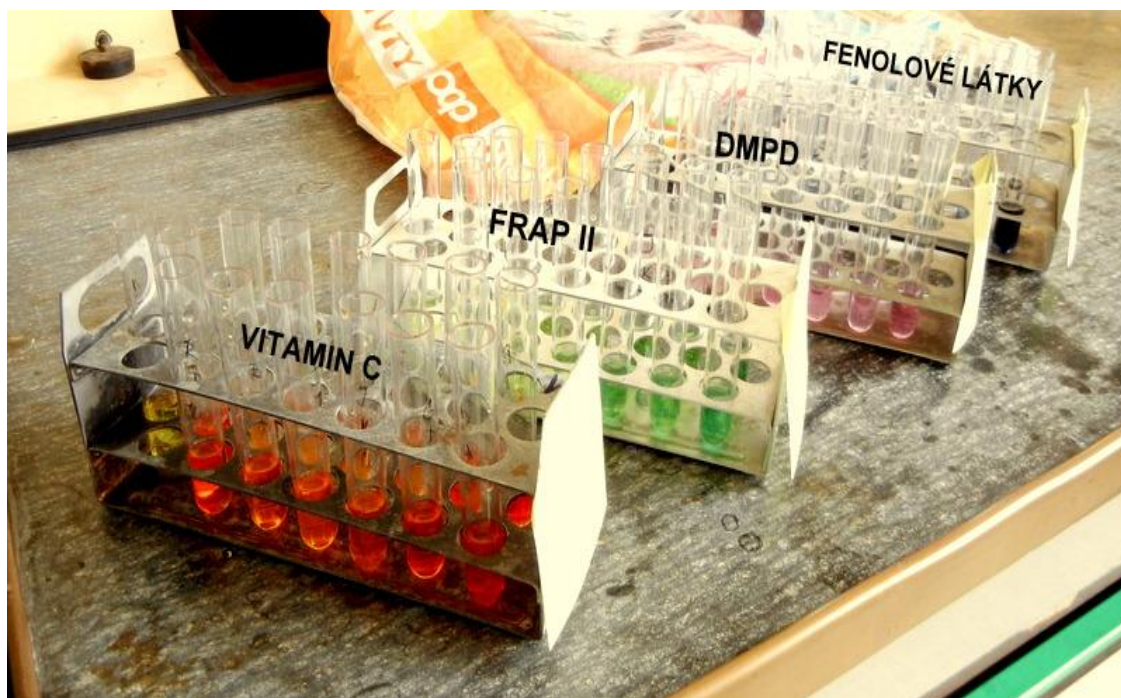
Pracovní postup:

Nejdříve musíme připravit vzorek. 20 - 50 g vzorku mixujeme s 80 -150 ml 5% TCA a zfiltrujeme. K 5 ml filtrátu přidáme norit (oxidační prostředek), protřepeme a následně norit odfiltrujeme. Do zkumavek pipetujeme 1 ml oxidovaného extraktu (paralelně standardního roztoku kyseliny askorbové), vody (slepý vzorek), 0,25 ml roztoku DFH. Promícháme, vložíme do vodní lázně teplé 40 °C na 2 hodiny. Po této době zkumavky ochladíme, přidáme 2 ml směsi kyseliny fosforečné a dusičné, dobře protřepeme a fotometrujeme při 520 nm (SPEKOL 11).

Při výpočtech bylo užito následujícího vzorce:

$$\frac{5 * \Delta E}{E \text{ stand.} - E \text{ slep.vz.}} = \text{mg KA}/100 \text{ g vzorku}$$

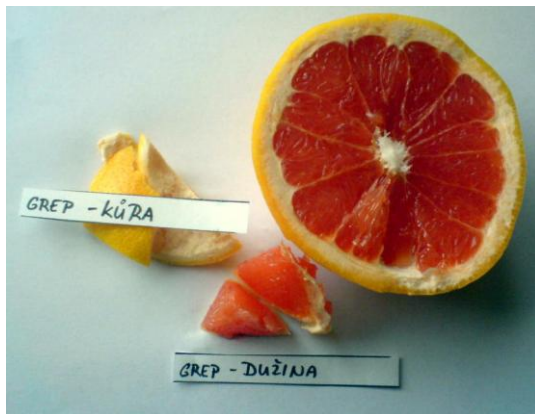
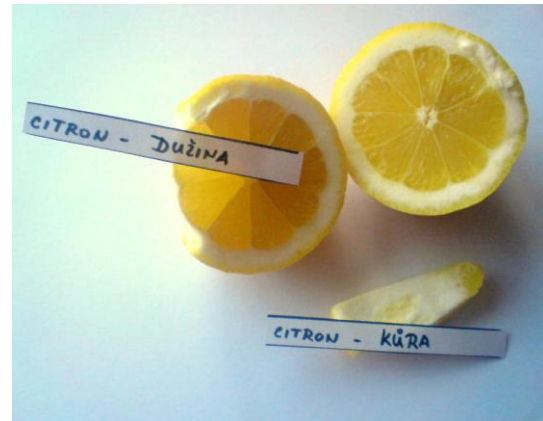
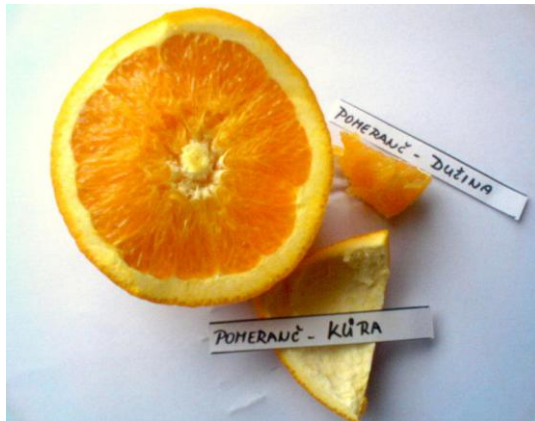
Kde ΔE je rozdílem absorbance vzorku a absorbance slepého vzorku, **E stand.** je absorbancí standardu a **E slep. vz.** je absorbancí slepého vzorku. Pro mandarinku platí koeficient 1,2 (menší navážka vzorku).

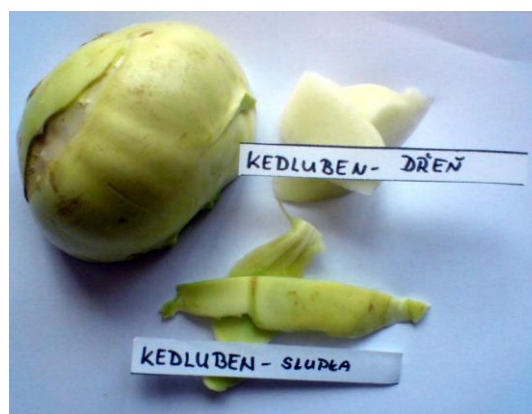
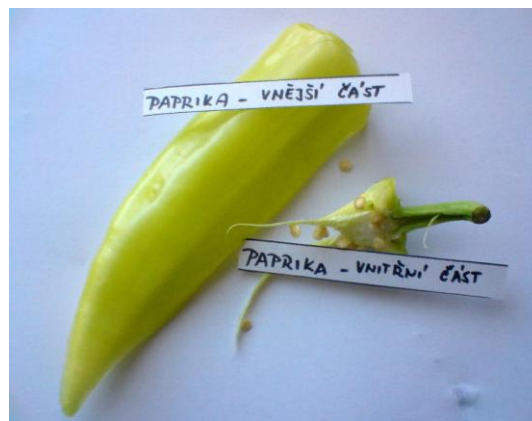


Obrázek 5 Metody užití v praxi

3.4 Fotografická dokumentace

Na fotografiích jsou názorně vyznačeny ty části ovoce a zeleniny, které byly v daných metodách použity. Citrusy byly pečlivě rozděleny na kůru a dužinu, banán, kiwi a jablko na slupku a dřeň. Zelenina byla při oddělování značně komplikovanější. Rajče se rozdělilo na slupku a dřeň. Z brokolice a květáku se použily „růžičky“ a košťál, ze zelené papriky vnější masitá část a vnitřní část. Nejproblematičtějším druhem zeleniny byl kedluben, ze kterého se použila tvrdá slupka a dřeň.





3.5 Charakteristika spektrofotometrické metody

„Spektrofotometrie je optická metoda stanovení látek absorbujících elektromagnetické záření především z oblasti ultrafialové a viditelné, řidčeji z oblasti infračervené. Její pomocí lze analyzovat plynné a kapalně vzorky. Spektrofotometrie využívá pro stanovení koncentrace látek Lambertova - Beerova zákona v podmínkách jeho platnosti.“(cit. 13) Pokud se vlnové délky více absorbujících látek v jednom vzorku značně liší, lze toto stanovení pomocí spektrofotometrie stanovit¹³.

Spektrofotometry jsou složeny ze stejných stavebních prvků jako u absorpčních spektrometrů, tj. zdroj záření, pomocná optika, monochromátor a detektor. Jsou cenově mnohem dostupnější než spektrometry, které se skládají ze stejných dílů, ale mají navíc složitější zařízení pro automatickou změnu vlnové délky záření během měření. Spektrofotometry nemívají zapisovač a nejsou klimatizovány. Vodíková výbojka se používá při měření v ultrafialové oblasti, žárovka s wolframovou spirálou je zdrojem pro viditelné záření. V ultrafialové oblasti jsou monochromátor i ostatní aparatura křemenné, ve viditelné oblasti skleněné¹³.

„Pro ultrafialovou i viditelnou oblast se užívají detektory, jejichž funkce je založena na fotoelektrickém jevu. Jsou to fotoelektrické násobiče, hradlové články, fotonky a odpory. Velikost napětového nebo proudového signálu poskytovaného detektorem se po zesílení odečítá na ručičkových přístrojích nebo na přístrojích s číslicovým displejem, udávajících buď absorpenci, nebo transmitanci.“ (cit.13)

3.6 Výsledky a diskuse

V tabulce 2 a 3 jsou zaznamenány země původu a obchodní řetězce jednotlivých testovaných druhů ovoce a zeleniny. Jednotlivé druhy byly zakoupeny v českých prodejnách přibližně ve stejnou dobu.

Tabulka 2 Testované vzorky ovoce

Ovoce	Země původu	Obchodní řetězec
Pomeranč	Itálie	Albert
Citron	Turecko	Albert
Grep	Turecko	Albert
Banán	Kostarika	Albert
Mandarinka	Španělsko	Penny
Kiwi	Chile	Tesco
Jablko	Česká republika	Tesco

Tabulka 3 Testované vzorky zeleniny

Zelenina	Země původu	Obchodní řetězec
Rajče	Maroko	Albert
Brokolice	Itálie	Albert
Paprika	Řecko	Albert
Květák	Francie	Tesco
Kedluben	Německo	Tesco

3.6.1 Stanovení celkového množství fenolových látek

Tabulka 4 obsahuje výsledné hodnoty množství fenolových látek v různých částech ovoce vyjádřených v mg kyseliny gallové na 100 g vzorku. Z tabulky vyplývá, že nejvyšší množství fenolových látek je obsaženo v kůře bílého grepu, mandarinky a citronu. Dřeně u ovoce jsou oproti kůře zjevně na tento obsah mnohem chudší. Nejnižší obsah se vyskytuje u dřeně banánu, dřeně jablka a dřeně kiwi. Srovnáme-li kůry

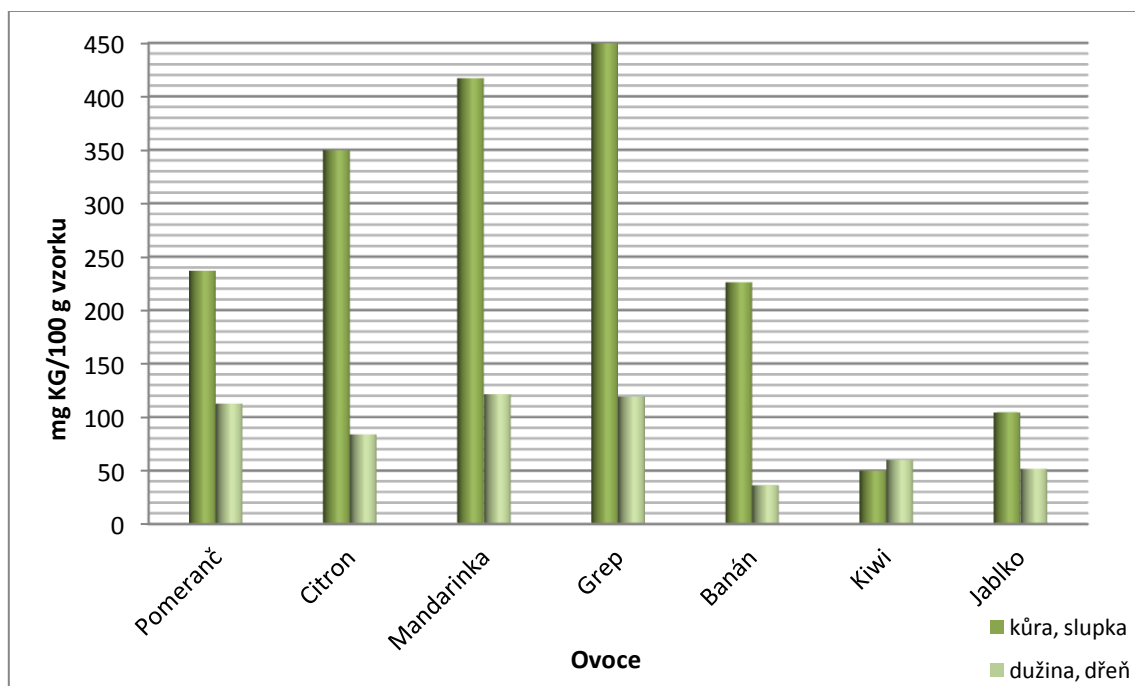
(slupky) u ovoce a příslušnou vnitřní část ovoce, dojdeme k závěru, že v kůrách (slupkách) je ve většině případů mnohonásobně více obsahu fenolových látek než ve dřeni. Nejvyšší rozdíl v jednotlivých částech můžeme zaznamenat u bílého grepu, citronu a mandarinky.

Tabulka 4 **Množství fenolových látek v ovoci**

Ovoce	Fenolové látky (mg KG/100 g)	Ovoce	Fenolové látky (mg KG/100 g)
Pomeranč (kůra)	236,8	Pomeranč (dužina)	112,7
Citron (kůra)	349,6	Citron (dužina)	83,9
Mandarinka (kůra)	417,0	Mandarinka (dužina)	121,4
Grep (kůra)	449,5	Grep (dužina)	119,1
Banán (slupka)	226,1	Banán (dřeň)	36,2
Kiwi (slupka)	49,8	Kiwi (dřeň)	59,9
Jablko (slupka)	104,4	Jablko (dřeň)	51,6

Graf 1 názorně zaznamenává srovnání jednotlivých částí ovoce podle hodnot, které jsme získali v tabulce 4. Jak bylo již jednou zmíněno, nejvyšší rozdíly obsahu fenolových látek najdeme u bílého grepu, mandarinky a citronu. Naopak nejnižší obsahové rozdíly zaznamenáváme u kiwi a jablka.

Graf 1 **Porovnání obsahu fenolových látek u jednotlivých částí ovoce**



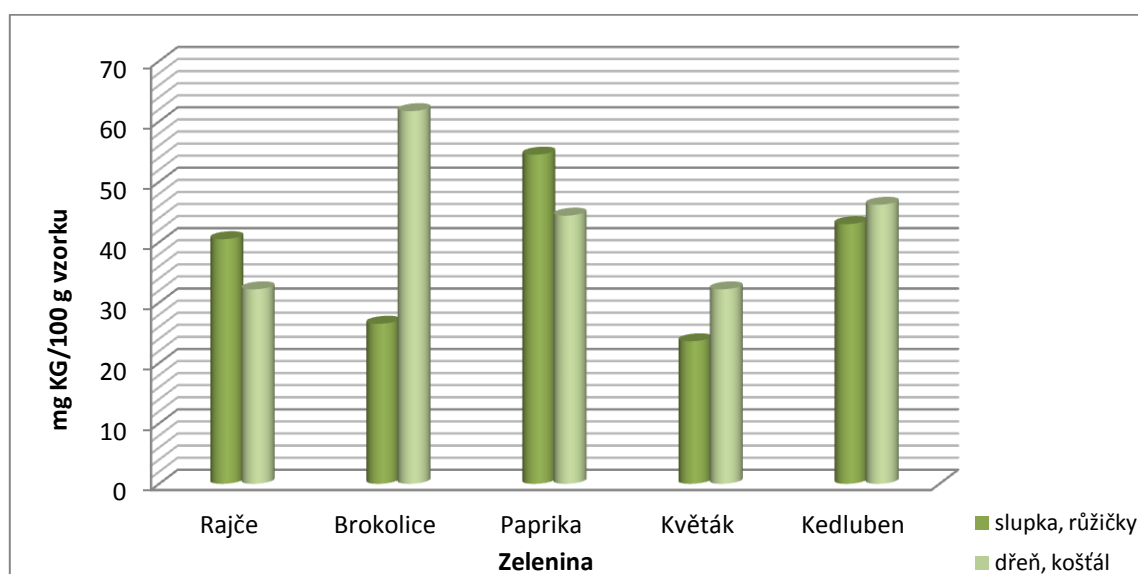
V tabulce 5 je zaznamenán obsah fenolových látek v různých částech zeleniny v mg kyseliny gallové na 100 g vzorku. Rozdíly hodnot mezi jednotlivými částmi a zároveň i ve srovnání s ovocem jsou na první pohled podstatně nižší. Obsahy u jednotlivých částí se navzájem o velké hodnoty neliší. Nejvyšší obsahy jsou zaznamenány u košťálu brokolice a u vnější části papriky. Naopak nejnižší hodnoty byly naměřeny u „růžiček“ květáku a brokolice.

Tabulka 5 **Množství fenolových látek v zelenině**

Zelenina	Fenolové látky (mg KG/100 g)	Zelenina	Fenolové látky (mg KG/100 g)
Rajče (slupka)	40,5	Rajče (dužina)	32,2
Brokolice („růžičky“)	26,5	Brokolice (košťál)	61,7
Paprika (vnější část)	54,5	Paprika (vnitřní část)	44,4
Květák („růžičky“)	23,6	Květák (košťál)	32,2
Kedluben (slupka)	43,0	Kedluben (dřeň)	46,2

V grafu 2 názorně vidíme srovnání obsahu fenolových látek v zelenině. Při srovnání jednotlivých částí dojdeme k závěru, že nejvyšší rozdíl se vyskytuje u brokolice, kde právě košťál vykazuje nejvyšší hodnoty oproti „růžičkám“. Paradoxem je, že zrovna košťál není u dnešní společnosti hojně využíván, i když je na obsah fenolových látek mnohem bohatší než zmiňovaná druhá část. U rajčete a papriky nacházíme srovnatelné rozdíly, kdy hodnoty slupky rajčete a vnější části papriky převyšují hodnoty dřeně rajčete a vnitřní části papriky.

Graf 2 **Porovnání hodnot fenolových látek v jednotlivých částech zeleniny**



3.6.2 Stanovení celkového obsahu vitamínu C

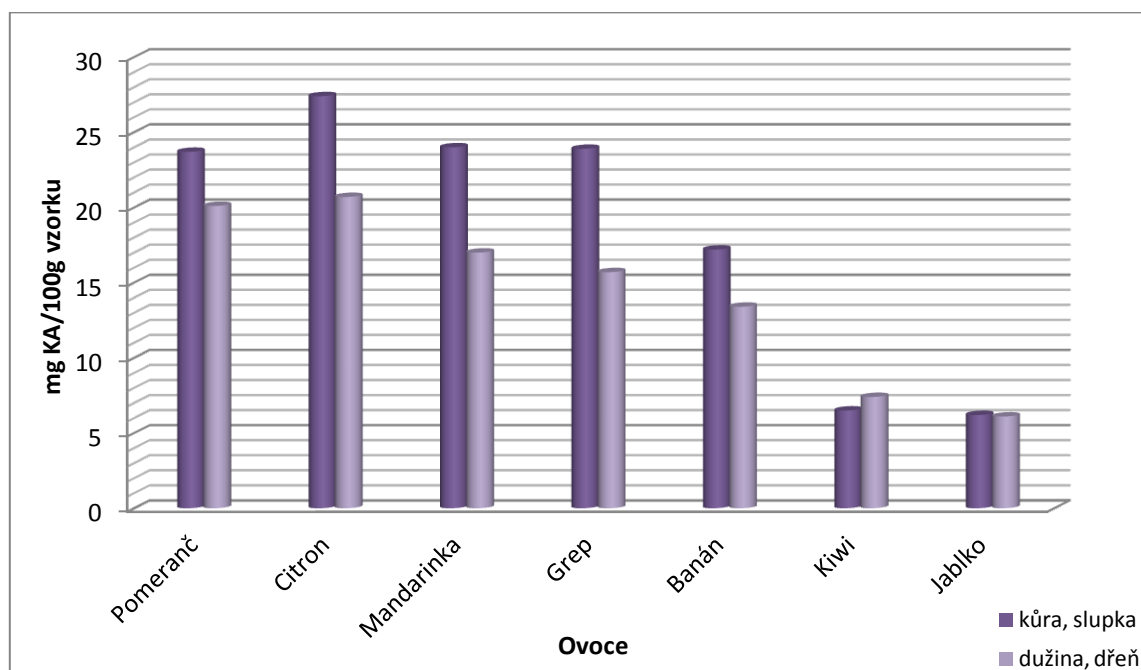
Tabulka 6 zaznamenává výsledné hodnoty obsahu vitamínu C v mg kyseliny askorbové na 100 g vzorku u ovoce. Na první pohled je zřejmé, že kůry a slupky ovoce obsahují mnohem vyšší množství vitamínu C než jejich příslušné druhé části. Nejvyšší množství vitamínu C vidíme u kůry citronu a mandarinky, dále kůry pomeranče. Srovnatelné hodnoty nalézáme u kůry mandarinky a kůry grepu. Naopak nejnižší množství se podle tabulky vyskytuje u obou částí jablka a slupky kiwi.

Tabulka 6 Výsledné hodnoty obsahu vitamínu C u ovoce

Ovoce	Vitamin C (mg KA/100 g)	Ovoce	Vitamin C (mg KA/100 g)
Pomeranč (kůra)	23,7	Pomeranč (dužina)	20,1
Citron (kůra)	27,4	Citron (dužina)	20,7
Mandarinka (kůra)	24,0	Mandarinka (dužina)	17,0
Grep (kůra)	23,9	Grep (dužina)	15,7
Banán (slupka)	17,2	Banán (dřeň)	13,4
Kiwi (slupka)	6,5	Kiwi (dřeň)	7,4
Jablko (slupka)	6,2	Jablko (dřeň)	6,1

Graf 3 názorně porovnává celkový obsah vitamínu C v ovoci. Jak na první pohled vidíme, ve většině případů obsah v kůrách převyšuje množství této látky v dužinách. Za výjimku lze považovat kiwi, u něhož dřeň obsahuje o nepatrně vyšší množství vitamínu C než u slupky. Velmi malé rozdíly nalézáme i u jablka. Kůra ovoce patří opět mezi části, které nejsou výrazně využívány v potravinářství. Podle následujících výsledků by bylo velmi zajímavé zařazení těchto částí ovoce do potravinářských výrobních procesů.

Graf 3 Porovnání obsahu vitamínu C u ovoce



Tabulka 7 zaznamenává výsledné hodnoty obsahu vitamínu C v zelenině v mg kyseliny askorbové na 100 g vzorku. Na první pohled je patrné, že zelenina vykazuje oproti ovoci výrazně nižší obsah vitamínu C. Nejvyšší hodnoty se nachází u tvrdé slupky a vnitřní části kedlubnu. Skoro srovnatelný obsah se vyskytuje u košťálu brokolice, kde je opět zajímavé, že košťál, který v potravě lidské společnosti málokdy nacházíme, obsahuje dvakrát více vitamínu C než „růžičky“. Nejnižší množství vidíme u dřene a slupky rajčete. Vnější část papriky a růžičky "květáku" vykazují při těchto výpočtech stejné hodnoty.

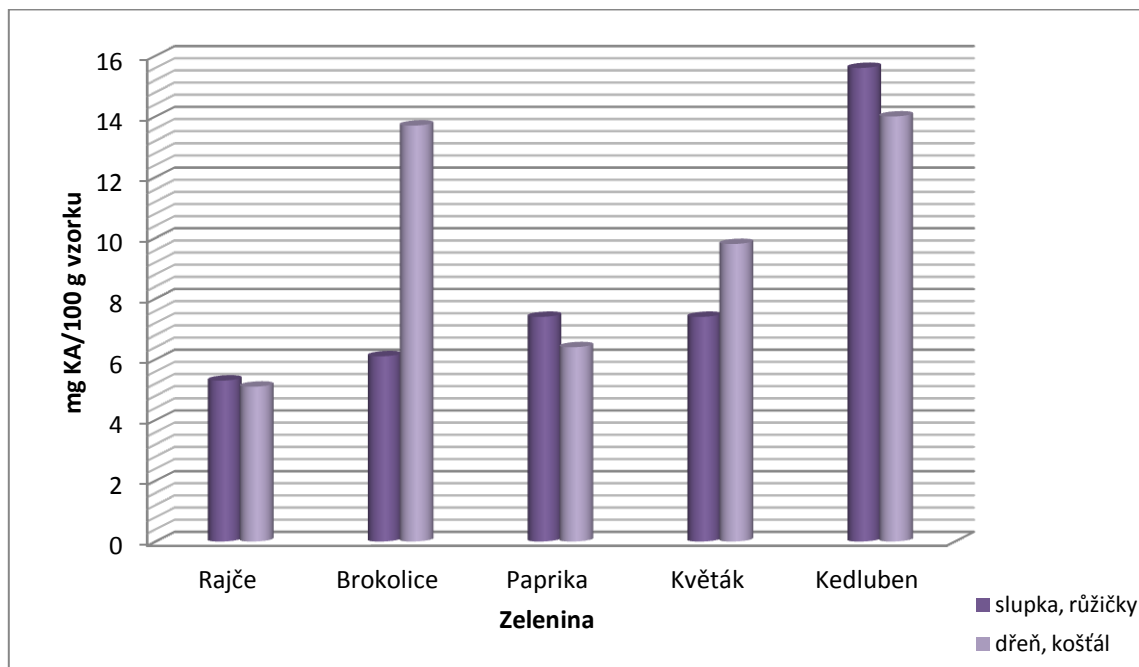
Tabulka 7 Výsledné hodnoty obsahu vitamínu C u zeleniny

Zelenina	Vitamin C (mg KA/100 g)	Zelenina	Vitamin C (mg KA/100 g)
Rajče (slupka)	5,3	Rajče (dřeň)	5,1
Brokolice („růžičky“)	6,1	Brokolice (košťál)	13,7
Paprika (vnější část)	7,4	Paprika (vnitřní č.)	6,4
Květák („růžičky“)	7,4	Květák (košťál)	9,8
Kedluben (tvrdá slupka)	15,6	Kedluben (dřeň)	14,0

Graf 4 porovnává obsah vitamínu C v příslušných částech jednotlivých druhů zeleniny. Jak můžeme vidět, nejvyšší rozdíl mezi obsahy vitamínu C je zobrazen u košťálu a „růžiček“ brokolice, kde hodnoty košťálu výrazně převyšují již zmiňované

„růžičky“. Za zmínku stojí uvést rozdíl košťálu a „růžiček květáku, kdy košťál udává opět vyšší hodnoty. Absolutně nejvyšší hodnoty nalézáme u tvrdé slupky kedlubnu.

Graf 4 Porovnání obsahu vitamínu C u zeleniny



3.6.3 Stanovení celkové antioxidační kapacity metodou FRAP

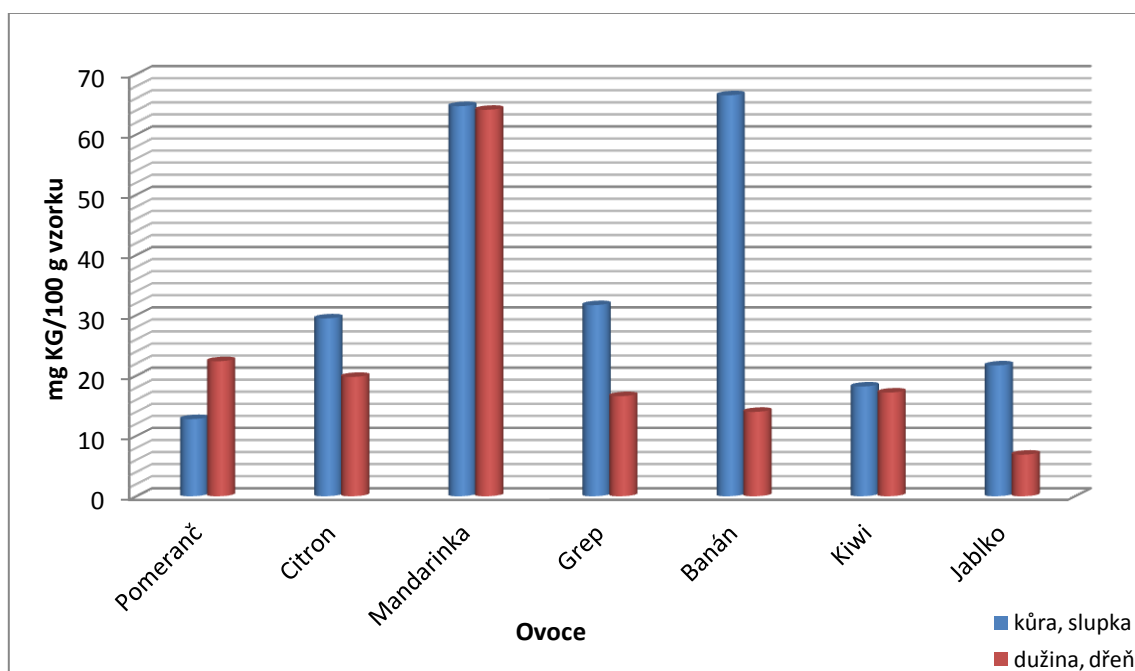
Tabulka 8 udává již vypočtené výsledné hodnoty celkové antioxidační kapacity metody FRAP u ovoce v mg kyseliny gallové na 100 g vzorku. Jak bylo již zmíněno, celková antioxidační kapacita hraje významnou roli v boji proti volným radikálům. Zahrnuje všechny látky s antioxidačním účinkem, které jsou v použitých experimentálních podmínkách oxidovatelné ferrikyanidem. Působí proti negativním oxidačním jevům, a tak ochraňují lidský organismus. Podíváme-li se do tabulky, zjistíme, že nejvyšší hodnoty vykazuje slupka banánu a srovnatelné hodnoty kůry a dužiny mandarinky. Nejnižší hodnoty nalézáme u dřeně jablka, která je v naší zeměpisné šířce velice často lidskou populací požívána.

Tabulka 8 Výsledné hodnoty metody FRAP u ovoce

Ovoce	FRAP (mg KG/100 g)	Ovoce	FRAP (mg KG/100 g)
Pomeranč (kůra)	12,8	Pomeranč (dužina)	22,4
Citron (kůra)	29,5	Citron (dužina)	19,8
Mandarinka (kůra)	64,7	Mandarinka (dužina)	64,1
Grep (kůra)	31,7	Grep (dužina)	16,6
Banán (slupka)	66,5	Banán (dřeň)	14,0
Kiwi (slupka)	18,2	Kiwi (dřeň)	17,2
Jablko (slupka)	21,7	Jablko (dřeň)	6,9

Graf 5 porovnává hodnoty získané metodou FRAP u jednotlivých částí ovoce. Veliký hodnotový rozdíl je možné vidět u banánu. Hodnota slupky banánu několikanásobně převyšuje hodnotu dřene. Tento rozdíl je opět důkazem, že lidmi nevyužívané části plodu mají větší význam, než za normálních podmínek konzumovaná dřev. Ve většině případů jsou hodnoty slupek a kůr u ovoce vyšší než hodnoty dužiny a dřev. Za výjimku můžeme považovat kůru pomeranče, která má nižší hodnotu oproti pomerančové dužině. Výsledné hodnoty obou částí mandarinky můžeme považovat za víceméně srovnatelné.

Graf 5 Porovnání jednotlivých částí ovoce u metody FRAP



Tabulka 9 zobrazuje výsledné hodnoty celkové antioxidační kapacity zjištěné metodou FRAP u zeleniny v mg kyseliny gallové na 100 g vzorku. V porovnání s

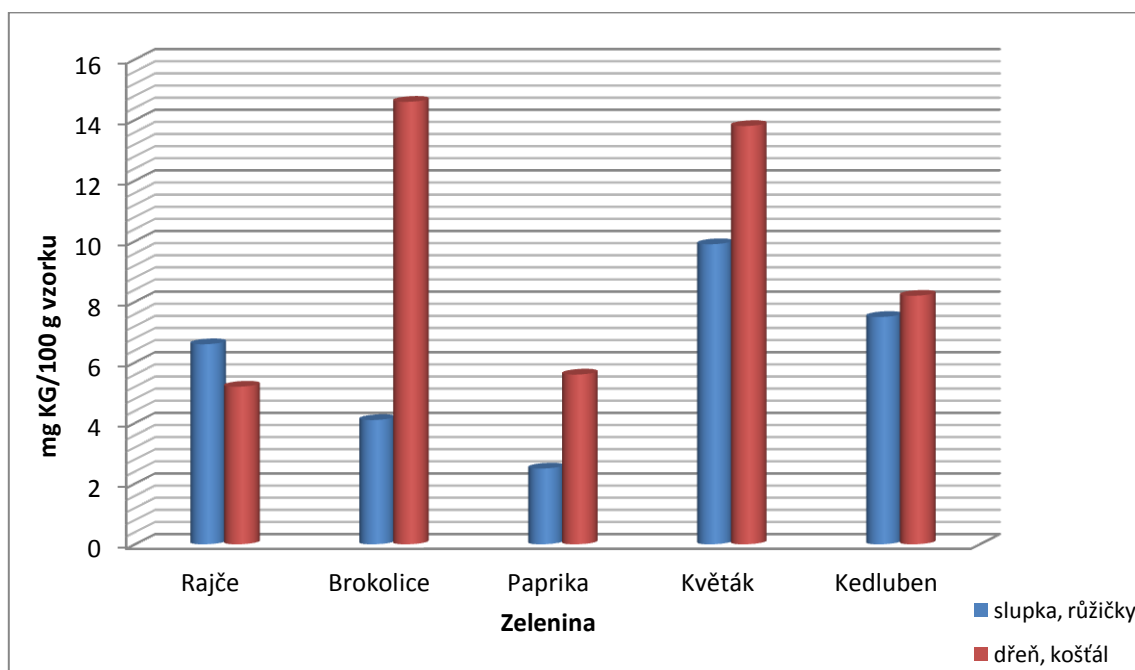
ovocem jsou tyto hodnoty značně nižší. Nejvyššího obsahu dosáhl košťál brokolice a košťál květáku, následují „růžičky“ květáku. Naopak nejnižší hodnoty vykazuje vnější část papriky a následně „růžičky“ brokolice.

Tabulka 9 Výsledné hodnoty metody FRAP u zeleniny

Zelenina	FRAP (mg KG/100 g)	Zelenina	FRAP (mg KG/100 g)
Rajče (slupka)	6,6	Rajče (dřeň)	5,2
Brokolice („růžičky“)	4,1	Brokolice (košťál)	14,6
Paprika (vnější část)	2,5	Paprika (vnitřní část)	5,6
Květák („růžičky“)	9,9	Květák (košťál)	13,8
Kedluben (tvrdá slupka)	7,5	Kedluben (dřeň)	8,2

V grafu 6 jsou zobrazeny výsledné hodnoty získané metodou FRAP u jednotlivých částí zeleniny. I zde je možné na první pohled vidět velké rozdíly v celkových antioxidačních kapacitách. Zaměříme-li se na brokolici, zjistíme, že košťál má několikanásobně vyšší hodnoty než „růžičky“. Téměř všechny druhy zeleniny mají vyšší celkovou antioxidační kapacitu u dřeně nebo košťálu. Výjimkou je pouze rajče, u něhož se hodnoty slupky a dřeně jen nepatrně liší.

Graf 6 Porovnání jednotlivých částí zeleniny u metody FRAP



3.6.4 Stanovení celkové antioxidační kapacity metodou DMPD

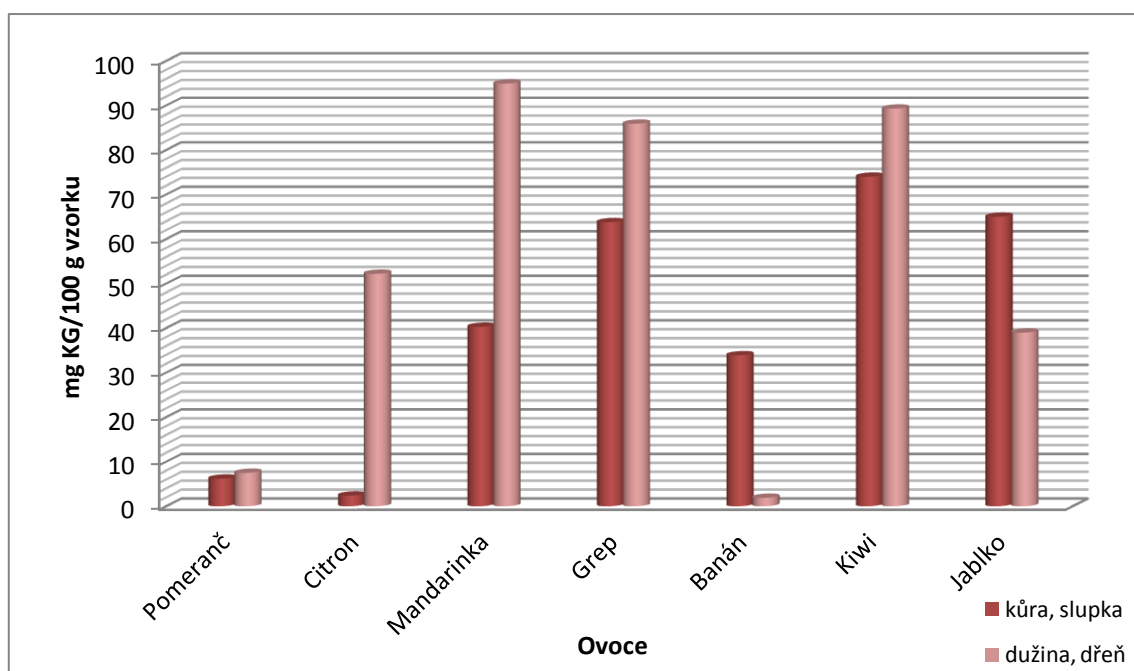
Tabulka 10 udává výsledné hodnoty celkové antioxidační kapacity stanovené metodou DMPD u ovoce v mg kyseliny gallové na 100 g vzorku. Podíváme-li se podrobněji do tabulky, uvidíme značné rozdíly. Čím menší absorbance byly u ovoce při laboratorní práci naměřeny, tím vyšší hodnoty kyseliny gallové byly při výsledných výpočtech získány. Tato metoda již není tak přesná jako metoda FRAP, a proto je v laboratořích méně využívána. Nejvyšších hodnot antioxidační kapacity dosahuje dužina mandarinky, dřeň kiwi a dužina grepu. Naopak nejnižší hodnoty jsou patrné u dřeně banánu, kůry citronu, kůry a dužiny pomeranče.

Tabulka 10 Výsledné hodnoty metody DMPD u ovoce

Ovoce	DMPD (mg KG/100 g)	Ovoce	DMPD (mg KG/100 g)
Pomeranč (kůra)	6,2	Pomeranč (dužina)	7,5
Citron (kůra)	2,4	Citron (dužina)	52,2
Mandarinka (kůra)	40,3	Mandarinka (dužina)	94,9
Grep (kůra)	63,8	Grep (dužina)	85,9
Banán (slupka)	33,9	Banán (dřeň)	1,9
Kiwi (slupka)	74,0	Kiwi (dřeň)	89,3
Jablko (slupka)	65,0	Jablko (dřeň)	39,0

Graf 7 názorně porovnává výsledné hodnoty antioxidační kapacity metody DMPD u jednotlivých částí ovoce. Nejvyšší rozdíl je na první pohled vidět u citronu. Antioxidační kapacita kůry citronu značně zaostává za antioxidační kapacitou citronové dužiny. Naopak banánová slupka výrazně převyšuje hodnotu banánové dřeně. Podobné hodnoty celkových antioxidačních kapacit jsou v grafu znázorněny u pomeranče.

Graf 7 Porovnání výsledných hodnot metody DMPD u ovoce



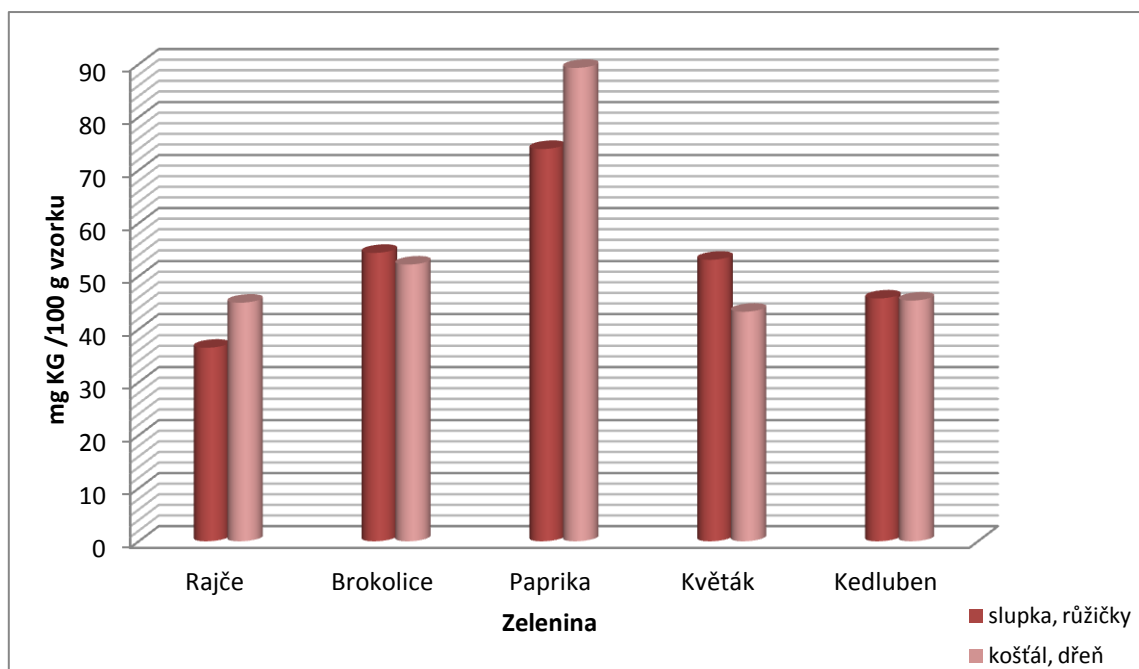
Tabulka 11 zobrazuje výsledné hodnoty celkové antioxidační kapacity metody DMPD u zeleniny v mg kyseliny gallové na 100 g vzorku. Nejvyšší hodnoty získala zelená paprika. Vnitřní část papriky obsadila ve výsledných hodnotách první místo, vnější část papriky místo druhé. Další hodnoty jsou si navzájem podobné a oproti ovoci nevykazují příliš velké rozdíly.

Tabulka 11 Výsledné hodnoty metody DMPD u zeleniny

Zelenina	DMPD (mg KG/100 g)	Zelenina	DMPD (mg KG/100 g)
Rajče (slupka)	36,5	Rajče (dřeň)	45,0
Brokolice („růžičky“)	54,4	Brokolice (košťál)	52,2
Paprika (vnější část)	74,0	Paprika (vnitřní část)	89,3
Květák („růžičky“)	53,1	Květák (košťál)	43,3
Kedluben (tvrdá slupka)	45,8	Kedluben (dřeň)	45,4

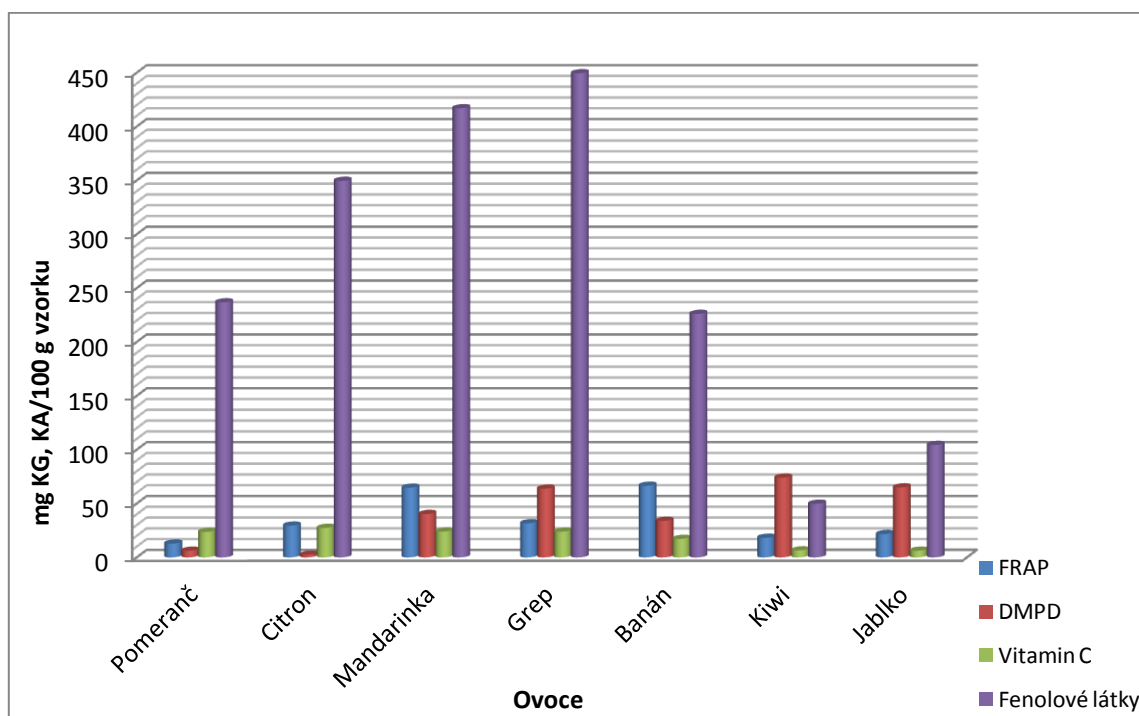
Následující graf 8 porovnává celkovou antioxidační kapacitu stanovenou metodou DMPD u jednotlivých částí zeleniny. Jednotlivé části jsou si množstvím značně podobné. Srovnatelné množství zaznamenáváme u „růžiček“ a košťálu brokolice, u tvrdé slupky kedlubnu a vnitřní dřeň kedlubnu. Výraznější rozdíly jsou patrné mezi vnitřní částí zelené papriky a příslušnou vnější částí. Za zmínění stojí i „růžičky“ a košťál květáku, kde se tyto části také liší o vyšší hodnotu.

Graf 8 Porovnání výsledných hodnot metody DMPD u zeleniny



Graf 9 porovnává souhrnně výsledky získané metodami FRAP, DMPD a koncentrace vitamínu C a fenolových látek u méně využívaných částí ovoce. Jedná se o kůru pomeranče, citronu, mandarinky, grepu a o slupku banánu, kiwi a jablka. Slupka i dřeň jablka jsou v dnešní době lidskou populací běžně požívány.

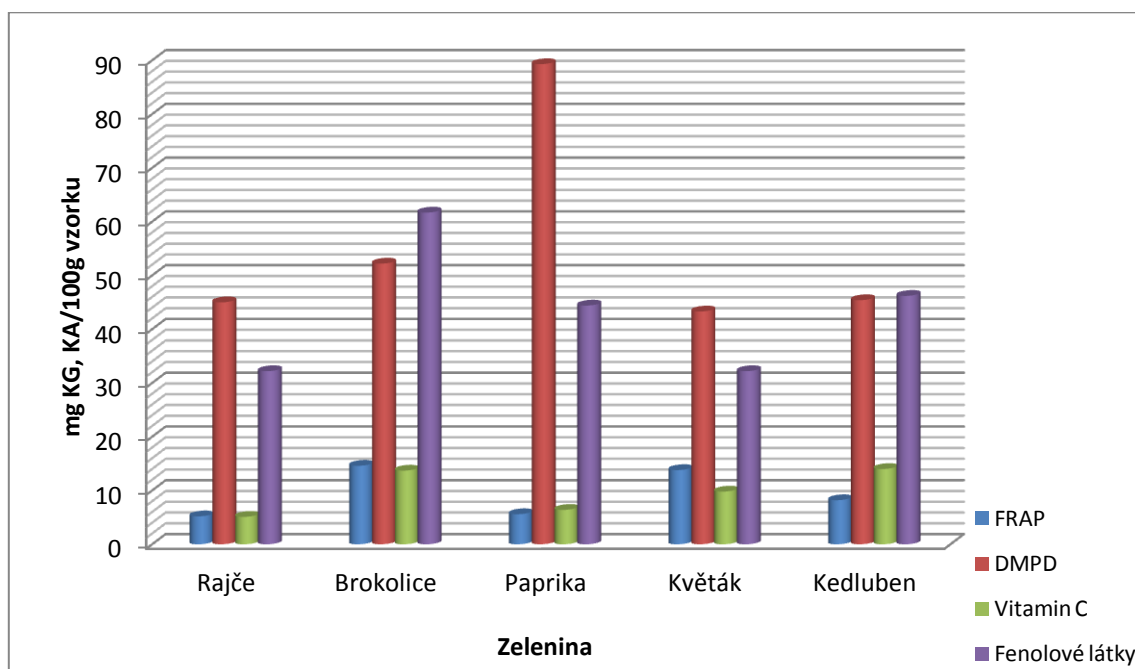
Graf 9 Metoda FRAP, DMPD, vitamin C a fenolové látky u svrchních částí ovoce



Graf 10 srovnává výsledné hodnoty metod FRAP, DMPD a koncentrace vitamínu C a fenolových látek u vnitřních částí zeleniny. Jedná se o dřeň rajčete, košťál brokolice a květáku, vnitřní část papriky a dřeň kedlubnu. Dřeň rajčete a kedlubnu jsou v dnešní době společností využívána a požívána.

Grafy 9 a 10 mají umožnit snazší orientaci ve všech analytických výsledcích, jež byly prezentovány v předchozích grafech a obrázcích a vytvořit si názorně představu o velikostních rozdílech a vztazích mezi nimi.

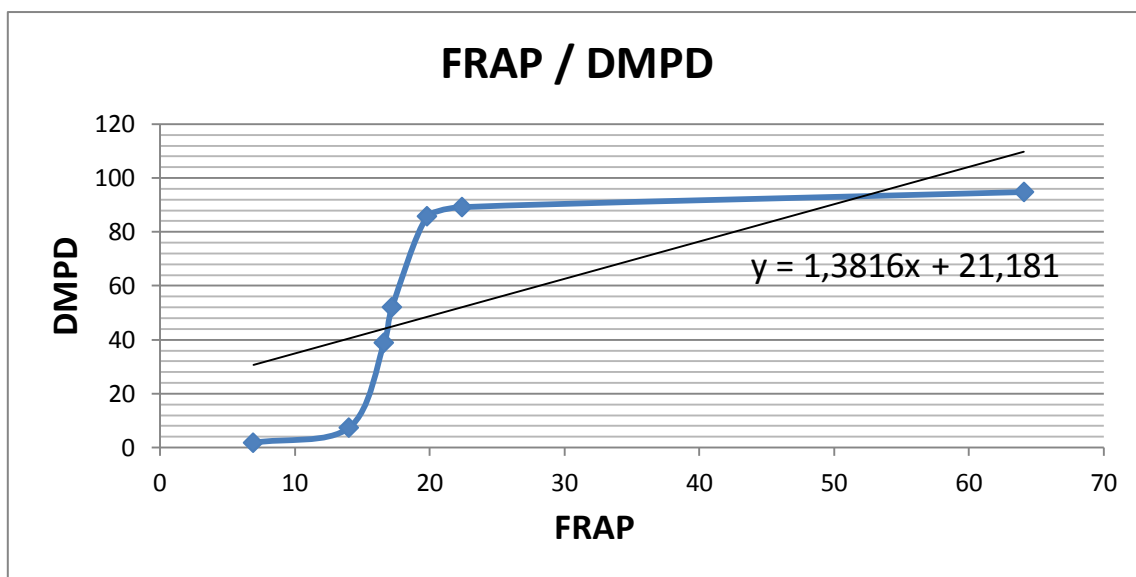
Graf 10 Metoda FRAP, DMPD, vitamin C a fenolové látky u vnitřních částí zeleniny



3.7 Korelační grafy

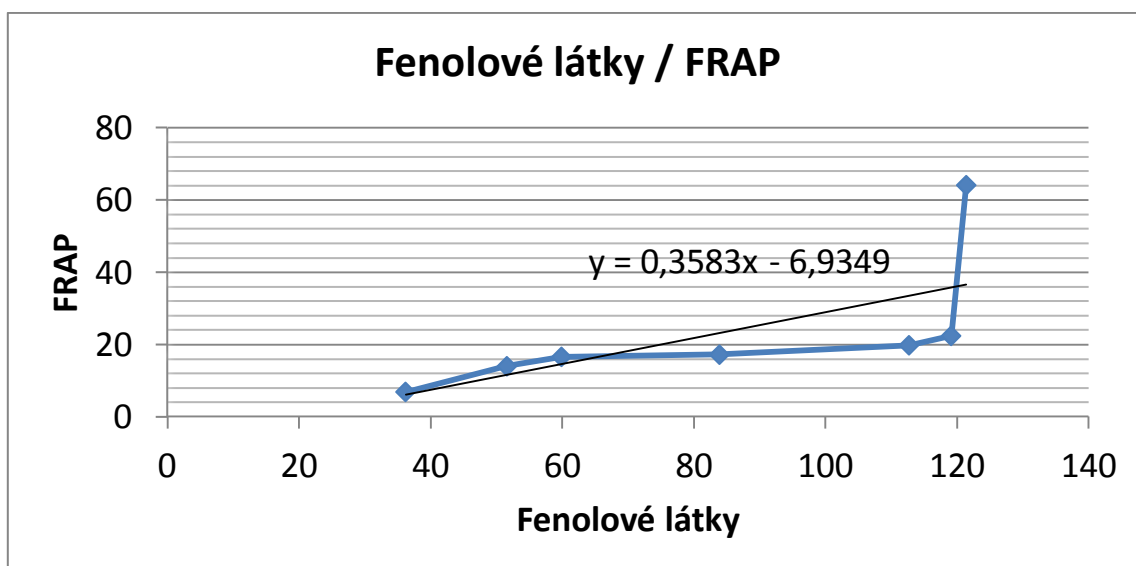
Graf 11 udává korelační závislost celkové antioxidační kapacity metody FRAP na metodě DMPD u dřeně ovoce. Hodnoty byly seřazeny vzestupně. Vztah mezi sledovanými hodnotami udávají statistická data a to *korelační koeficient*, který má hodnotu $0,668423304$ a *statistická pravděpodobnost* $P = 0,037254148$. Jedná se o statisticky významný vztah, jelikož hodnota statistické pravděpodobnosti je nižší než $0,05$.

Graf 11 FRAP / DMPD dřene ovoce



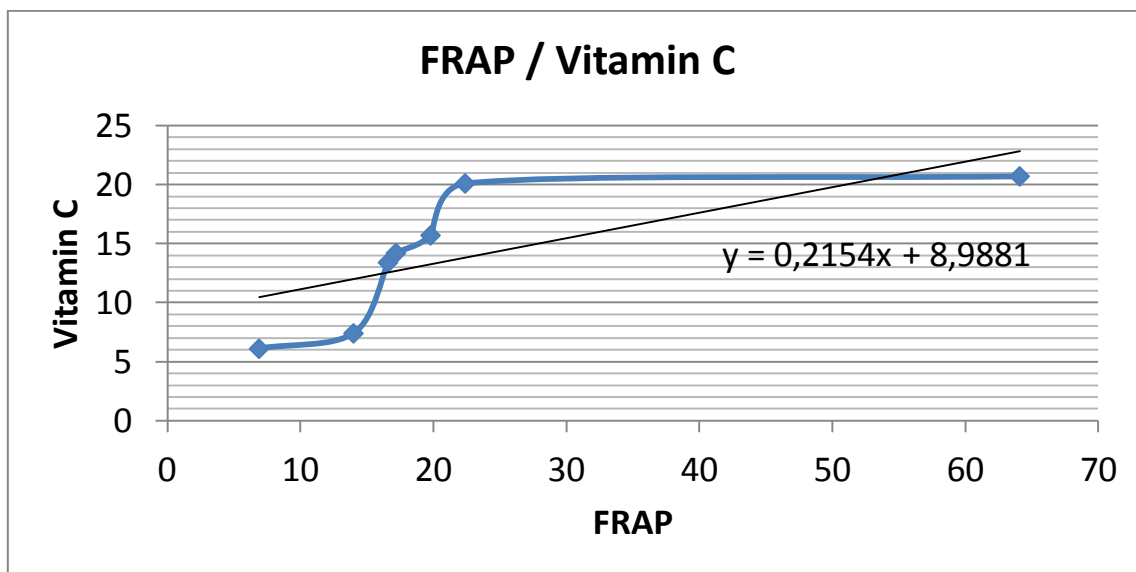
Stanoví-li se v grafu 12 korelační závislost obsahu fenolových látek a celkové antioxidační kapacity zjištěné metodou FRAP u dřene ovoce, dojde se k závěru, že pouze na prvním úseku s rostoucím obsahem fenolových látek roste i celková antioxidační kapacita zjišťovaná metodou FRAP, což vyjadřuje korelační přímka v grafu. Další závislost není už tak zřejmá, jelikož statistická data ukazují *korelační koeficient 0,668867565 a statistickou pravděpodobnost $P = 0,000921437$* .

Graf 12 Fenolové látky / FRAP dřene ovoce



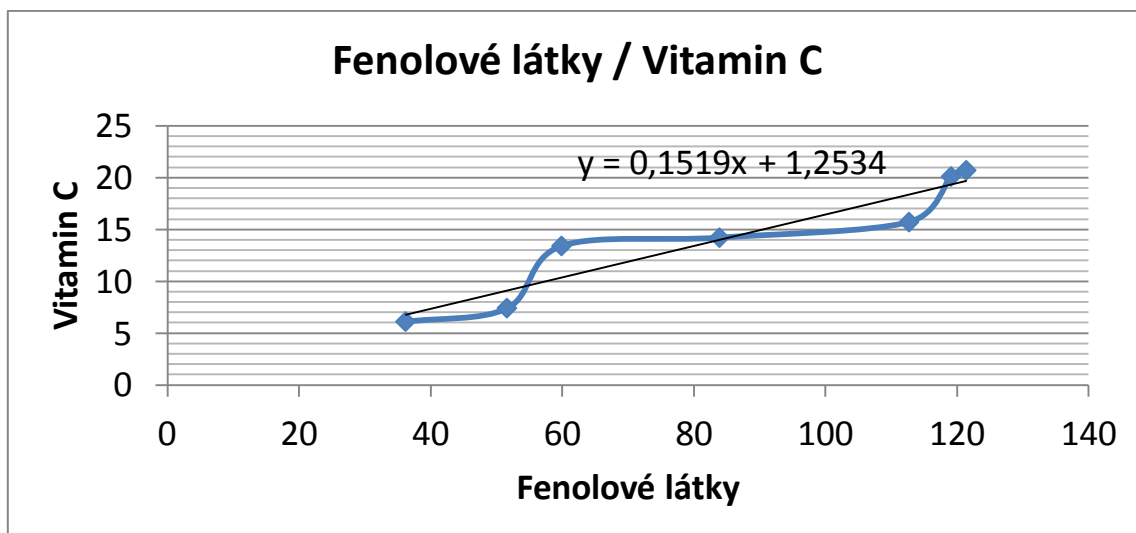
Graf 13 popisuje korelační závislost celkové antioxidační kapacity zjištěné pomocí metody FRAP na obsahu vitamínu C u dřeně ovoce. *Statistická pravděpodobnost* $P = 0,167096577$ a *korelační koeficient* má hodnotu $0,716161067$. Díky těmto vyjádřeným hodnotám můžeme tuto korelační závislost prohlásit za značně nevýznamnou.

Graf 13 FRAP / Vitamin C dřeně ovoce



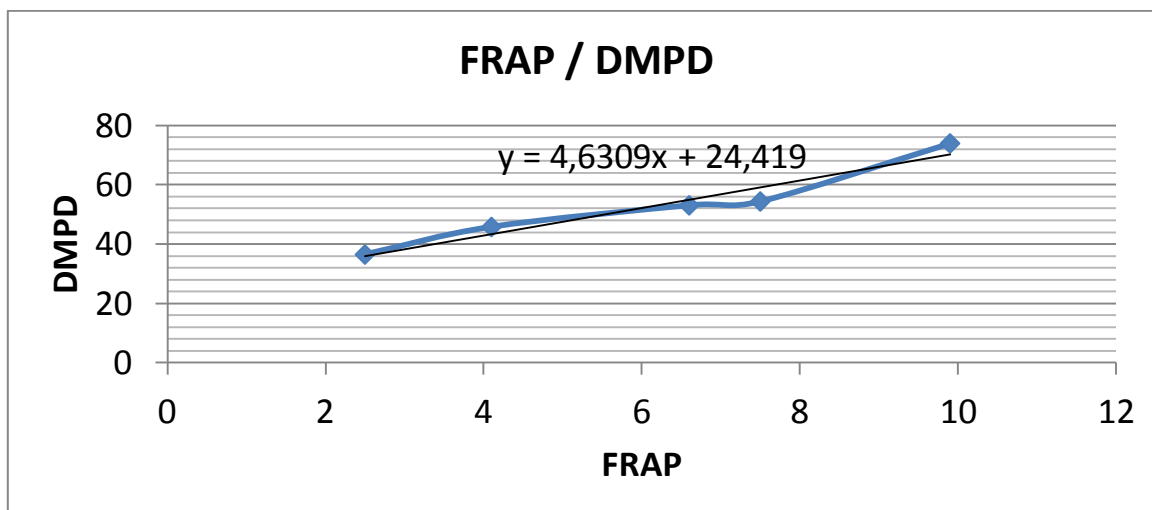
Korelační graf 14 udává závislost obsahu fenolových látek na obsah vitamínu C u dřeně ovoce. V příslušném grafu je na první pohled patrná významná statistická závislost. Tuto závislost dokazují i příslušná statistická data, kde *korelační koeficient* nabývá hodnoty $0,942583533$ a *statistická pravděpodobnost* $P = 0,000823154$.

Graf 14 Fenolové látky / Vitamin C dřeně ovoce



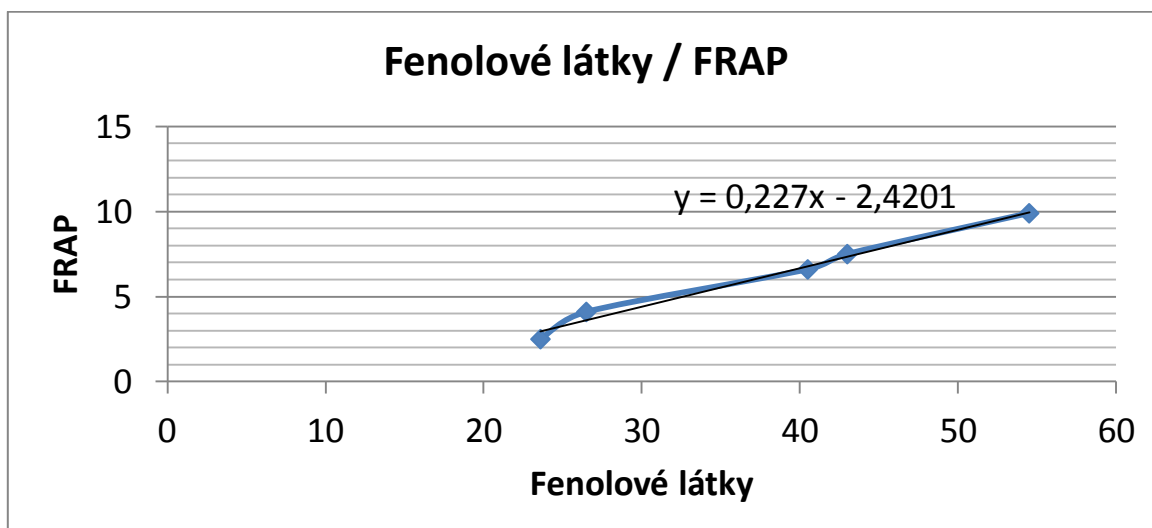
Srovnání celkových antioxidačních kapacit u vnitřních částí zeleniny zjištěných metodami FRAP a DMPD je přehledně znázorněno v korelačním grafu 15. Na první pohled je vidět vzájemná přímá závislost, což potvrzují i statistická data. *Korelační koeficient* nabývá hodnoty 0,969504932 a *statistická pravděpodobnost P* = 0,000704701.

Graf 15 **FRAP / DMPD vnitřních částí zeleniny**



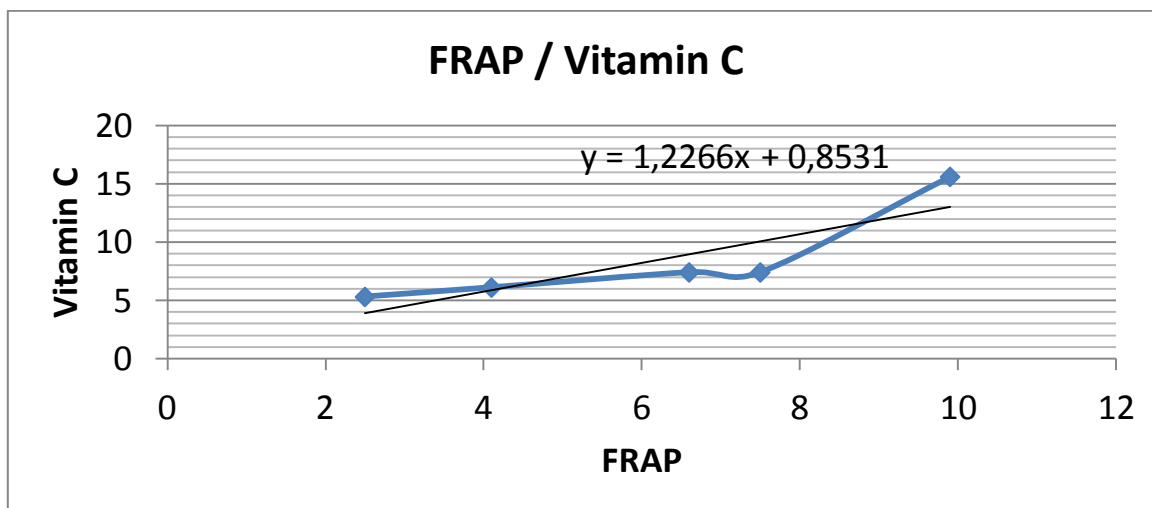
Graf 16 je jeden z dalších grafů, který zaznamenává korelační závislost u vnitřních částí zeleniny mezi obsahem fenolových látek a celkovou antioxidační kapacitou, která byla zjištěna metodou FRAP. Významná závislost je potvrzena i pomocí statistických dat. *Korelační koeficient* má hodnotu 0,99247797 a *statistická pravděpodobnost P* = 0,001986957.

Graf 16 **Fenolové látky / FRAP vnitřních částí zeleniny**



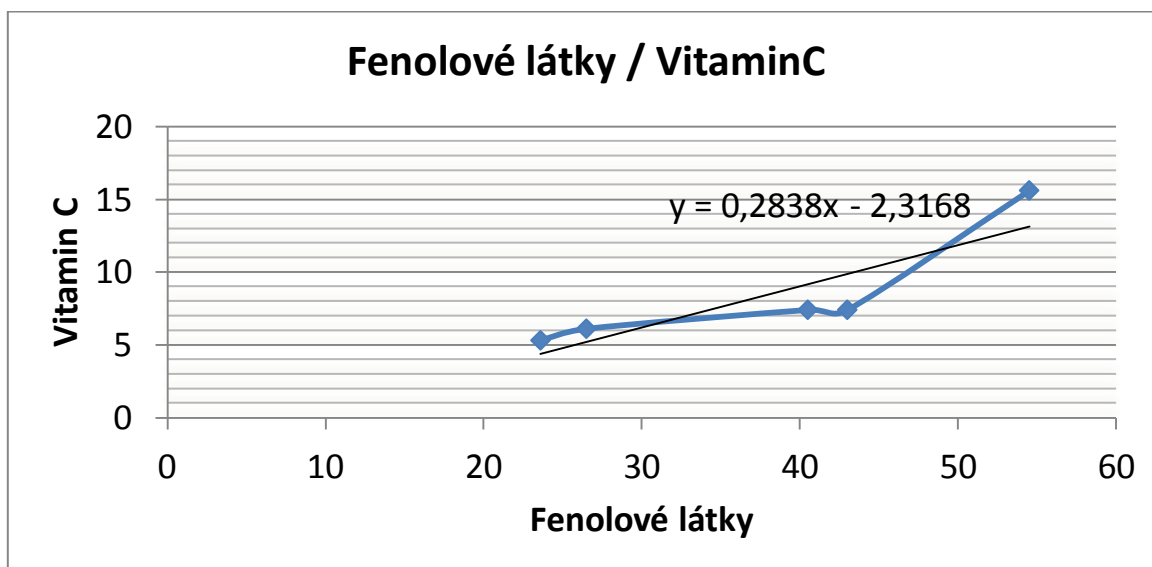
Graf 17 zobrazuje korelační závislost celkové antioxidační kapacity zjištěné pomocí metody FRAP na obsahu vitamínu C. *Korelační koeficient* odpovídá hodnotě 0,857727441 a *statistická pravděpodobnost P* = 0,088027345. Díky hodnotě statistické pravděpodobnosti můžeme tuto korelační závislost považovat za statisticky nevýznamnou.

Graf 17 **FRAP / Vitamin C** vnitřních částí zeleniny



Graf 18 udává statisticky významnou korelační závislost mezi obsahem fenolových látek a obsahem vitamínu C u vnitřních částí zeleniny. Ke *korelačnímu koeficientu* je přiřazena hodnota 0,867644502 a *statistická pravděpodobnost P* = 0,002157503.

Graf 18 **Fenolové látky / Vitamin C** vnitřních částí zeleniny



4 ZÁVĚR

Tato práce měla za úkol objasnit vzájemné vztahy mezi ukazateli celkové antioxidační kapacity, která se zjišťovala pomocí metody FRAP a DMPD, obsahem fenolových látek a obsahem vitamínu C v různých částech ovoce a zeleniny. Shrňeme-li výsledky, dojdeme k určitým, někdy i překvapivým, závěrům.

Z velkého počtu dílčích laboratorně stanovených hodnot obsažených v obrázcích a v grafech č. 1 - 18, které jsou dosti různorodé (což koresponduje s výsledky jiných autorů zabývajících se hodnocením antioxidačních vlastností potravin rostlinného původu), je možno vybrat a zdůraznit několik velmi výrazných výsledků a jejich vzájemných vztahů, zejména:

U dření ovoce je zpravidla celková antioxidační kapacita stanovená metodou FRAP jen nevýznamně závislá na obsahu vitamínu C i na obsahu fenolových látek (graf 12, 18). Může být odrazem snížené citlivosti aplikovaného oxidačního činidla (ferrikyanid) na tyto redukující látky v ovoci nebo obsahem a účinkem jiných přírodních látek v analyzovaném materiálu.

Obsah vitamínu C a obsah fenolových látek ve dřeních ovoce je na sobě statisticky významně závislý (graf 14). Výklad tohoto vztahu by se měl opírat o fyziologické funkce a snad také o biosyntetické dráhy obou těchto skupin přírodních látek, což ale není cílem této práce.

Vzájemná korelace hodnot TAC v jedlých částech zeleniny získaných oběma metodami (FRAP a DMPD) je statisticky velmi významná (graf 15).

Podobně je statisticky významný (přímo úměrně) vztah mezi obsahem vitamínu C a fenolovými látkami ve vnitřních částech zeleniny (graf 18).

Za zásadní výsledek svých analýz považuji zjištění, že ty části plodů ovoce a povrchových částí zeleniny, které se potravinářsky zpravidla nevyužívají, mají často pozoruhodnou biologickou hodnotu reprezentovanou vysokým obsahem fenolových látek nebo vitamínu C (často je zde také velký obsah vlákniny). Domnívám se, že jejich využití pomocí vhodného způsobu zpracování na formu požitelných potravních produktů by bylo schůdnou cestou vedoucí k nezanedbatelnému efektu nutričnímu a také ekonomickému.

5 SEZNAM LITERATURY

1. Racek J.: Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, Praha 2003, 90 s.
2. Štípek S. a kol.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci. Grada Publishing, Praha 2000, 314 s.
3. Emulgátory, <http://www.emulgatory.cz/>, staženo 20. 4. 2012.
4. Li P., Huo L., Su W., Lu R., Deng Ch., Liu L., Denk Y., Guo N., Lu Ch., He Ch.: Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. In: *Journal of the Serbian Chemical Society*, **2011**, 76 (5), s. 709-717, JSCS-4152.
5. Martinec M.: Vliv vybraných sorbentů na specifickou stanovení fenolových látek a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu. Bakalářská práce. Plzeň 2009.
6. Bímová P.: Vliv alternativních organických hnojiv na obsah vybraných antioxidačních látek u hospodářsky významných druhů zeleniny. Disertační práce. Lednice 2010.
7. Ma X., Wu H., Liu L., Yao Q., Wang S., Zhan R., Xing S., Zhou Y.: Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. In: *Scientia Horticulturae*, **2011**, 129, s. 102-107.
8. Müllerová D.: Zdravá výživa a prevence civilizačních nemocí. Triton 2003, 99 s.
9. Stratil P., Klejdus B., Kubáň V.: Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables – evaluation of spectrophotometric methods. In: *Journal of agricultural and food chemistry*, **2006**, 54: 607-616.
10. Pacák J.: Stručné základy organické chemie. SNTL, Praha 1975, 472 s.
11. Význam ovoce a zeleniny, <http://www.hellmanns.cz/download/tiskove-zpravy/cz/vyznam-ovoce-a-zeleniny-v-nasi-strave.pdf>, staženo 21. 4. 2012.

12. Roe H. J., Mills B. M., Oesterling J. M., Darmon Ch. M.: The determination of diketo – L – gulonic acid, dehydro – L – ascorbic acid in the same tissue extract by the 2,4 – dinitrophenylhydrazine method. In: *J. Biol. Chem.* **1948**, 174, s. 201 – 208.
13. Vondák O., Vulterin J.: *Analytická chemie*. SNTL, Praha 1985, 264 s.

6 RESUMÉ

As the antioxidant components of foods, esp. those of plant origin, support the defense of a man against oxidatively conditioned diseases, the sufficient and regular intake of foods rich in antioxidant is desirable.

Our laboratory analysis of different parts of fruit and vegetables regarding the true content of some antioxidants as well as the total antioxidant capacity revealed that the unused parts such as fruit peels and surface layers and stalks of vegetables may contain higher levels of vitamin C and polyphenols and may exhibit more favourable value of total antioxidant capacity than the usually parts do.

Therefore, a greater use of bark, peels and stalks during food processing can bring a significant both nutritional and economic benefit.