

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
PEDAGOGICKÁ FAKULTA
KATEDRA APLIKOVANÉ CHEMIE A UČITELSTVÍ CHEMIE

**OBSAH VYBRANÝCH FENOLICKÝCH LÁTEK
V KOŘENINOVÝCH ROSTLINÁCH**

Zuzana Beranová

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Eva Dadáková, Ph.D.**

České Budějovice 2013

Ráda bych poděkovala vedoucí práce doc. Ing. Evě Dadákové, Ph.D. za cenné rady, připomínky, trpělivost a porozumění, s nímž mě při této práci vedla.

Dále děkuji Ing. Tamaře Pelikánové za pomoc při zpracování vzorků a RNDr. Naděždě Vrchotové, CSc. za poskytnutí výsledků z HPLC.

Děkuji i všem ostatním, kteří se jakýmkoli způsobem podíleli na dokončení této práce.

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci na téma Obsah vybraných fenolických látek v kořeninových rostlinách jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

.....

V Českých Budějovicích

Dne 16. 8. 2013

1. OBSAH

1. OBSAH	4
SEZNAM ZKRATEK	7
SOUHRN	8
SUMMARY	9
2. ÚVOD	10
3. TEORETICKÁ ČÁST	11
1. ROSTLINNÉ METABOLITY	11
1.1 Sekundární metabolity	11
1.2 Fenolické látky	11
1.3 Fenolické kyseliny	12
2. FLAVONOIDY	13
2.1 Biosyntéza flavonoidů	13
2.2 Chemická stavba flavonoidů	14
2.3 Rozdělení a výskyt flavonoidů	14
2.4 Vlastnosti flavonoidů.....	17
2.5 Význam flavonoidů	18
2.5.1 Účinky flavonoidů na člověka	19
2.6 Výživové zdroje flavonoidů	19
2.6.1 Ovoce a zelenina.....	20
2.6.2 Nápoje.....	20
2.6.3 Pohanka	21
2.6.4 Zelené koření	21
3. ALLIACEAE – ČESNEKOVITÉ.....	22
3.1 Charakteristika čeledi	22
3.1.1 Asparagales.....	22
3.1.2 Alliaceae	22
3.2 Pažitka čínská	23
3.3 Cibule zimní sečka.....	24
3.4 Cibule červená – Tropeana lunga	25

4.	LAMIACEAE – HLUCHAVKOVITÉ	26
4.1	Charakteristika druhu	27
4.1.1	Lamiales.....	27
4.1.2	Lamiaceae	27
4.2	Bazalka pravá - Ohře	28
4.3	Bazalka pravá červenolistá – Red rubin	29
5.	APIACEAE – MĚŘÍKOVITÉ.....	30
5.1	Charakteristika druhu	31
5.1.1	Apiales	31
5.1.2	Apiaceae	31
5.2	Petržel hladkolistá – Festival 68.....	32
5.3	Petržel kadeřavá.....	33
5.4	Celer naťový	34
6.	ANALYTICKÉ METODY	35
6.1	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)	35
4.	CÍLE PRÁCE.....	37
5.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	38
1.	ODBĚR ROSTLINNÉHO VZORKU	38
2.	ÚPRAVA ROSTLINNÉHO MATERIÁLU	39
3.	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A STANDARDY	39
4.	LABORATORNÍ SKLO A PŘÍSTROJE	39
5.	STANOVENÍ FLAVONOIDNÍCH AGLYKONŮ V LYOFILIZOVANÉM MATERIÁLU	40
5.1	Měření flavonoidních aglykonů.....	41
6.	METODIKA STANOVENÍ FENOLICKÝCH LÁTEK METODOU HPLC.....	41
6.	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	43
1.	STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH FENOLICKÝCH LÁTEK METODOU HPLC	43
1.1	Analýza fenolických látek v čeledi Lamiaceae	44
1.1.1	Bazalka zelená velkolistá.....	44
1.1.2	Bazalka červená	45

1.2	Analýza fenolických látek v čeledi Apiaceae	47
1.2.1	Petržel kadeřavá.....	47
1.2.2	Petržel hladkolistá.....	49
2.	STANOVENÍ FLAVONOIDNÍCH AGLYKONŮ METODOU HPLC	50
2.1	Stanovení obsahu celkového kemferolu	54
2.2	Stanovení obsahu celkového kvercetinu.....	55
2.3	Stanovení obsahu celkového apigeninu.....	56
2.4	Stanovení obsahu celkového luteolinu	57
7.	ZÁVĚR	58
8.	SEZNAM LITERATURY.....	59
9.	PŘÍLOHY.....	62

Seznam zkratek

DAD	detektor s diodovým polem
HPLC	vysokoučinná (vysokotlaká) kapalinová chromatografie (High – Performance (Pressure) Liquid Chromatography)
LDL	lipoproteiny s nízkou hustotou
UV	ultrafialové spektrum
VIS	viditelné spektrum (bílé světlo)
SPE	extrakce tuhou fází (Solid phase extraction)

Souhrn

Práce se věnuje obsahu vybraných fenolických látek v některých zástupcích čeledi *Alliaceae*, *Lamiaceae* a *Apiaceae*. Fenolické látky se v rostlinách vyskytují v širokém zastoupení a ve vysokých koncentracích. Flavonoidy jsou jednou z menších skupin fenolických látek, ale poměrně významnou. Konzumací potravin obsahujících flavonoidy se předchází výskytu některých onemocnění, jako je ateroskleróza, kardiovaskulární a nádorová onemocnění. Pro výjimečné biologické účinky byla pozornost věnována pěti flavonoidům: kemferolu, kvercetin, myricetin, apigenin a luteolin.

Pro stanovení obsahu fenolických látek byla použita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Analyzováni byli tři zástupci čeledi *Alliaceae*, dva zástupci čeledi *Lamiaceae* a tři zástupci čeledi *Apiaceae*. K analýze byly použity jen jedlé části rostlin a porovnávaly se obsahy fenolických látek jednotlivých druhů rostlin pěstovaných na záhoně a ve skleníku.

Metodou HPLC se nejdříve zjistilo kvalitativní zastoupení fenolických látek. Výsledkem jsou chromatografické profily, z kterých byly vypočítány obsahy jednotlivých fenolických látek.

Poté se metodou HPLC stanovil obsah celkového kemferolu, kvercetin, myricetin, apigenin a luteolin. Nejvyšší obsah celkového kemferolu byl stanoven u petržele hladkolisté pěstované na záhoně (588 mg/kg čerstvé hmoty) a ve skleníku (340 mg/kg čerstvé hmoty). Nejvyšší obsah kvercetin byl zjištěn u cibule červené pěstované ve skleníku (773 mg/kg čerstvé hmoty) a u bazalky zelené velkolisté pěstované na záhoně (535 mg/kg čerstvé hmoty). Nejvyšší obsah celkového apigenin byl stanoven u petržele hladkolisté pěstované ve skleníku (1790 mg/kg čerstvé hmoty) a u petržele kadeřavé pěstované na záhoně (3690 mg/kg čerstvé hmoty).

Klíčová slova: fenolické látky, flavonoidy, kemferol, kvercetin, myricetin, apigenin, luteolin, vysokoúčinná kapalinová chromatografie, *Alliaceae*, *Lamiaceae*, *Apiaceae*

Summary

This work concerns the amount of certain phenols in some of the representatives of families Alliaceae, Lamiaceae and Apiaceae. Phenols in plants are widely represented and highly concentrated. Flavonoids are one of the smallest, yet quite significant classes of phenols. Ingestion of food containing flavonoids can prevent certain diseases such as Arteriosclerosis, cardiovascular and tumor diseases. This work focuses, for their special biological effects, on five flavonoids: Kaempferol, Quercetin, Myricetin, Apigenin and Luteolin.

For determining the content of phenols a method of High-performance liquid chromatography (HPLC) was used. Three representative of the family Alliaceae, two representatives of the family Lamiaceae and three representatives of the family Apiaceae were analysed. Only edible parts of the plants were used for the analysis and the amount of phenols was compared in certain plants planted in beddings to the plants planted in greenhouses.

At first, the qualitative representation of phenols was ascertained by the HPLC method. The result is chromatographic profiles, which were then used in calculating the amount of particular phenols.

Then the total amounts of kaempferol, quercetin, myricetin, apigenin and luteolin were found out thanks to HPLC method. The biggest amount of total kaempferol was determined in petroselinum hortense planted in beddings (588 mg/kg of fresh sample) and in a greenhouse (340 mg/kg of fresh sample). The biggest amount of quercetin was determined in red onion planted in a greenhouse (773 mg/kg of fresh sample) and in ocimum basilicum planted in beddings (535 mg/kg of fresh sample). The biggest amount of apigenin was determined in petroselinum hortense planted in a greenhouse (1790 mg/kg of fresh sample) and in petroselinum crispum planted in beddings (3690 mg/kg of fresh sample).

Key words: phenols, flavonoids, kaempferol, quercetin, myricetin, apigenin, luteolin, high-performance liquid chromatography, Alliaceae, Lamiaceae, Apiaceae

2. ÚVOD

Čeledi česnekovité (*Alliaceae*), hluchavkovité (*Lamiaceae*) a miříkovité (*Apiaceae*) patří do skupiny zeleného koření. Většinu z nich najdeme běžně pěstované na každé zahrádce. Používají se jako dochucovadla do jídel a to v čerstvém nebo sušeném stavu. Ví se, že se v těchto rostlinách nachází vyšší množství fenolických látek, které jsme se pokusili kvantitativně i kvalitativně stanovit.

Pro tuto práci jsme si vybrali jako analytickou metodu vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC). Tato metoda se pro stanovení fenolických látek a flavonoidů používá velmi často. HPLC je metoda velmi citlivá, přesná a můžeme analyzovat i vzorky malých koncentrací.

Fenolické látky patří do skupiny sekundárních metabolitů rostlin. Jsou pro rostliny zdrojem specifických biologických účinků a vlastností. Mají například funkci informační, ochranou a slouží při vysledování příbuznosti rostlin.

Významnou skupinou fenolických látek jsou flavonoidy, hlavně díky svým pozitivním účinkům na zdraví člověka. Některé studie již potvrdily tento pozitivní vliv flavonoidů. Konzumace potravin s vysokým obsahem flavonoidů se používá jako prevence při léčbě rakoviny a chrání před aterosklerózou.

3. TEORETICKÁ ČÁST

1. Rostlinné metabolity

Rostliny syntetizují velké množství sloučenin, které se podle funkce dělí na primární a sekundární metabolity. Primární metabolity souvisejí bezprostředně se základními funkcemi organismu, jsou to hlavně nukleové kyseliny, bílkoviny, lipidy a sacharidy. Sekundární metabolity nemají důležitost pro udržení života organismu, ale přesto je jejich funkce důležitá. Svými účinky zajišťují udržení biologického druhu (Atwell, 1999).

1.1 Sekundární metabolity

Sekundární metabolity mají funkci informační, ochrannou a ekochemickou, fungují jako regulátory růstu a modulátory exprese genů. Hrají velmi důležitou roli v odpovědi rostlin na stresové podmínky (teplotní změny, mikrobiální patogeny). Některé metabolity fungují jako pigmenty. Důležitá je i nová role v procesu předávání informací. Určité specifické metabolity slouží k vysledování příbuznosti rostlin (chemotaxonomie) (Atwell, 1999).

Do této skupiny patří terpenické látky, alkaloidy, fenolické látky a polyamidy.

1.2 Fenolické látky

Fenolické látky tvoří velmi početnou skupinu sekundárních metabolitů. Do fenolických látek z části patří flavonoidy.

Celou skupinu rostlinných fenolů můžeme rozdělit na tyto důležité podskupiny:

- hydroxybenzoové a hydroxyskořicové kyseliny a jejich deriváty
- hydroxykumariny
- katechiny (flavanoly)
- leukoanthokyanidiny a leukoanthokyaniny
- anthokyanidiny a anthokyaniny
- flavony a flavonoly
- flavanony a flavanonoly
- isoflavony
- chalkony a aurony
- ligniny a třísloviny

Poslední uvedená skupina označuje komplexní skupinu látek ne zcela jasného složení, ale příbuzností s ostatními rostlinnými fenoly. Flavonoidní látky jsou vývojově starou skupinou látek. První cévnaté rostliny je syntetizovaly jako filtr proti intenzivnímu UV záření (Atwell,1999).

Fenolické látky vytvářejí početně velmi rozsáhlou a strukturně pestrou skupinu přírodních látek. Jenom rostliny a mikroorganismy mají schopnost syntetizovat aromatické jádro. Biosyntéza fenolických látek vychází ve většině případů z aromatických aminokyselin.

Metabolismus aromatických sloučenin patří do sekundárního metabolismu. Reakční pochody sekundárního metabolismu probíhají ve specifické vazbě na rostlinné rody a druhy. Výchozí látkou pro syntézu fenolických látek je kyselina skořicová, která poskytuje tzv. fenylpropanovou strukturu ($C_6 - C_3$). Pomocí metabolických procesů vznikají z této látky flavonoidy.

Flavonoidní látky se obvykle vážou na molekulu sacharidu a vytvářejí tak sloučeniny označované jako glykosidy. Necukerná součást je nazývána aglykonem. Mimo flavonoidy se ve formě glykosidů vyskytuje mnoho dalších přírodních látek. Molekula navázaného sacharidu zajišťuje lepší rozpustnost ve vodě, nezanedbatelná je i stabilizace molekuly aglykonu vlivem rezonance (Kindl, Weber, 1981).

1.3 Fenolické kyseliny

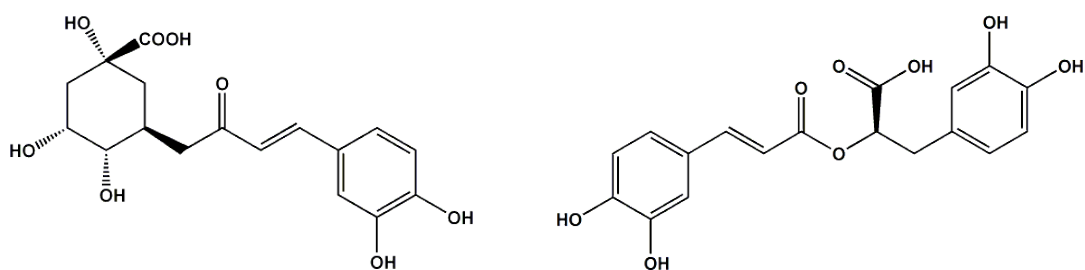
Fenolické kyseliny najdeme v řadě potravin (ovoce, obilí, vínu a pivu). Především jsou v potravinách fenolické kyseliny zastoupeny hydroxyskořicovými kyselinami. Nejčastěji jde o kyselinu kávovou, a její estery, a kyselinu ferulovou.

Obrázek 1. Vzorce fenolických kyselin



Běžným esterem kávové kyseliny je kyselina chlorogenová (5-kaffeoylchinová kyselina), přítomná v řadě druhů ovoce a zeleniny a v kávě. Šálek kávy obsahuje 50-150 mg kyseliny chlorogenové. Najdeme ji také v bramborách, jablkách, hruškách (Trnka, Táborská). Další významným esterem je kyselina rozmarýnová ([3-(3,4-dihydroxyfenyl)-1-oxo-2E-propenyl]-3,4-dihydroxybenzenpropanová kyselina). Je esterem kyseliny kávové a 3,4-dihydroxyfenylmléčné kyseliny (Jirovský, 2007). U této kyseliny bylo zjištěno značné množství farmakologicky zajímavých vlastností, významné antioxidační a chemoprotektivní funkce (Petersen, 2013). Najdeme ji v rozmarýnu lékařském, bazalce vonné, meduňce lékařské a v dalších bylinkách (Sobková, 2009).

Obrázek 2. Vzorec chlorogenové a rozmarýnové kyseliny



2. Flavonoidy

Flavonoidy jsou fenolické látky známé pro své antioxidační účinky. Strukturou se jedná o aromatické látky s benzenovým kruhem, které si člověk ani zvířata nejsou schopni syntetizovat. Musí je tedy přijímat potravou.

2.1 Biosyntéza flavonoidů

Flavonoidy jsou látky vznikající ze sacharidů dvěma základními mechanismy. Jde o syntézu z acetátových jednotek uplatňující se při tvorbě fenolů typu orcinolu a dalších, které najdeme u nižších rostlin. Druhým je šikimátový cyklus, který se podílí na tvorbě fenolů u vyšších rostlin. Oba se společně podílejí na tvorbě složitějších polyfenolických látek, jako jsou flavonoidy.

Flavonoidy jsou deriváty 1,3-difenylypropanu, resp. 1,2-difenylypropanu. Obsahují dva benzenové cykly, první kruh (A) vzniká z acetátových jednotek a druhý kruh (B) cyklem šikimátovým (Obrázek 3). Syntéza probíhá tak, že se triacetyl-CoA přeneše působením specifického proteinového nosiče na příslušnou transferázu, na které se sloučí s p-hydroxyfenylpyruvát. Vznikne uzavřený triketomethylenový kruh, který

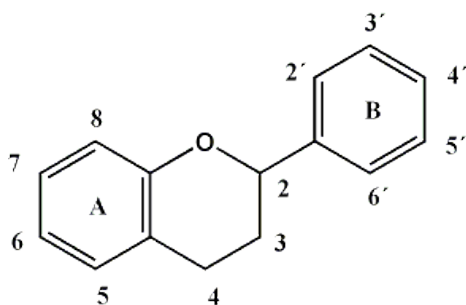
pak přechází tautomerně na kruh floroglucinový. Konečným produktem je molekula prekurzoru flavonoidů, tzv. chalkon (Pavel, 1988).

2.2 Chemická stavba flavonoidů

Flavonoidy jsou chemické sloučeniny patřící do skupiny rostlinných fenolů. Základem struktury je flavan (Obrázek 3), který je tvořený dvěma benzenovými jádry (A, B) spojenými heterocyklickým 2-fenylbenzopyranem (C). Na základní strukturu se substituují hydroxylové nebo keto skupiny, umožňující rozlišení jednotlivých skupin flavonoidů.

Přírodní flavonoidy se převážně vyskytují ve formě O-glykosidů, jejich molekula je tvořena cukernou částí a částí necukernou (aglykonem). Vazbou s cukrem se auxochromní skupiny flavonoidů inaktivují, takže jsou v rostlině někdy tyto glykosidy bezbarvé a zbarvení se projeví až po hydrolýze (Pavel, 1988).

Obrázek 3. Vzorec flavanu



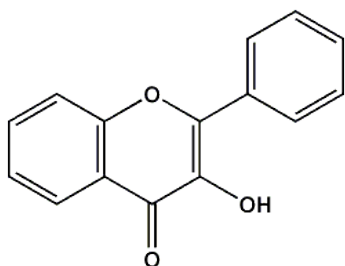
2.3 Rozdělení a výskyt flavonoidů

Flavonoidy můžeme rozdělit podle stupně oxidace kyslíkového heterocyklu (C) na šest podtříd:

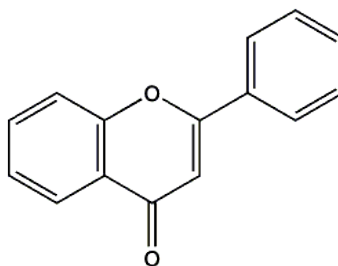
1. Flavonoly (obr. 4a)
2. Flavony (obr. 4b)
3. Isoflavony (obr. 4c)
4. Flavanony (obr. 4d)
5. Anthokyanidiny (obr. 4e)
6. Flavanoly – katechiny a proanthokyanidiny (obr. 4f) (Mandelová, 2006)

Obrázek 4. Chemické struktury podtříd flavonoidů

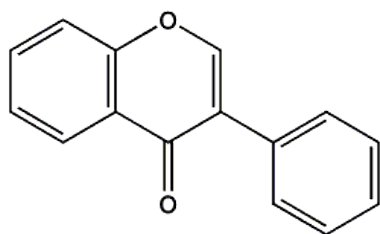
a) flavonoly



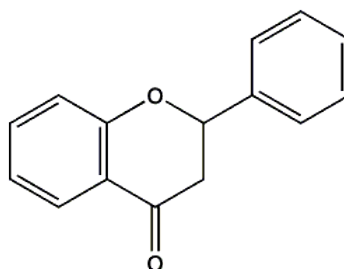
b) flavony



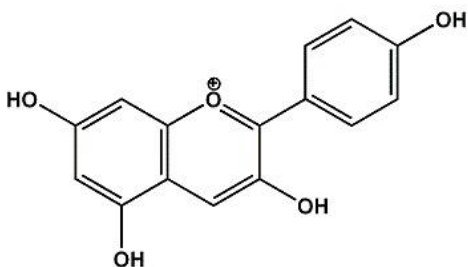
c) isoflavony



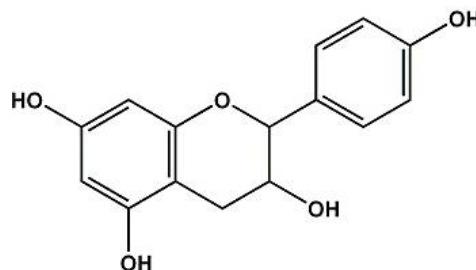
d) flavanony



e)anthokyanidiny



f) flavanoly

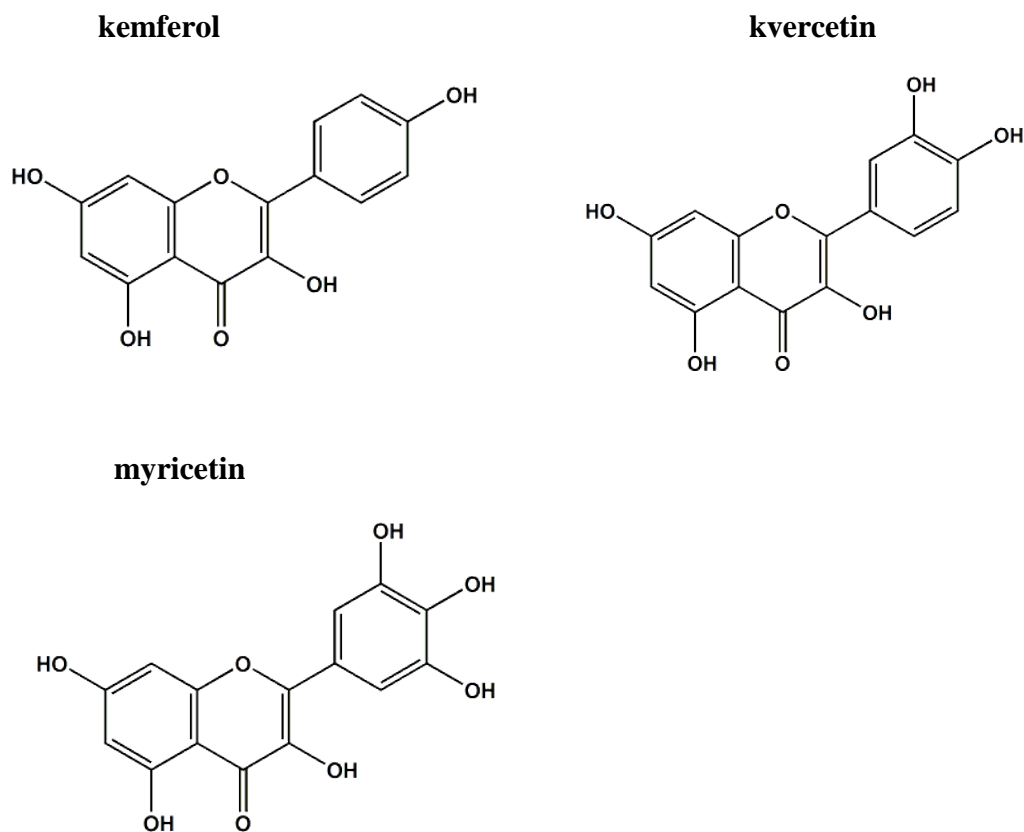


Nejvýznamnější flavonoidy jsou flavony, izoflavony, anthokyanidiny a katechiny, které se v rostlinách vyskytují jako glykosidy.

Mezi známé zástupce **flavonolů** patří kemferol, kvercetin a myricetin. Dominantní flavonoid v potravě člověka je flavonol **kvercetin**. Kvercetin najdeme ve vysokých koncentracích v potravinách běžně přijímaných, jako je cibule (300 mg/kg čerstvé váhy), jablka (21-72 mg/kg), kapusta (100 mg/kg), červené víno (4-16 mg/l)

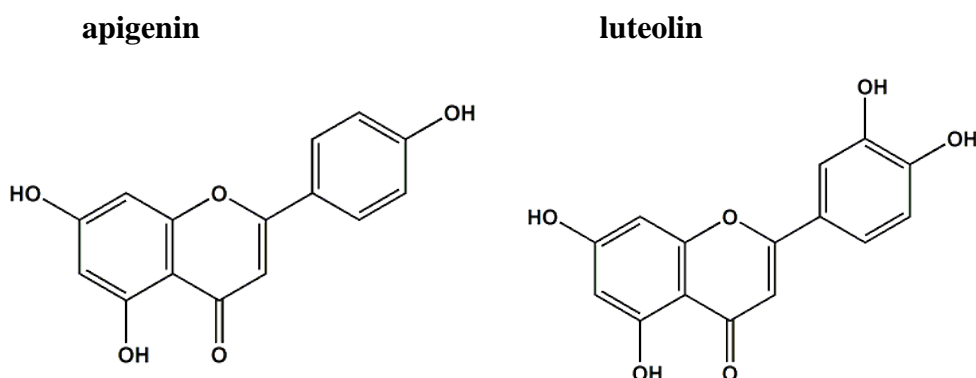
nebo zelený a černý čaj (10-25 mg/l) (Trnka, Táborská). V těchto potravinách se nachází ve formě volné nebo vázané s cukernými jednotkami, např. jako kvercetin-3-O-glukosid, kvercetin-4'-O-glukosid, kvercetin-3-O-rhamnosid. **Rutin** (kvercetin-3-O-rhamnoglukosid) je látka používaná jako součást léků nazývaných venofarmaka. Snižuje permeabilitu a fragilitu kapilár (Trnka, Táborská).

Obrázek 5. Zástupců flavonolů



Další skupinou jsou **flavony** spolu s flavonoly, ty tvoří žluté pigmenty rostlin. Hlavními zástupci jsou glykosidy apigenin a luteolin, které najdeme především v bylinkách (petržel), červené paprice a celeru (Mandelová, 2006).

Obrázek 6. Zástupci flavonů



Mezi flavonové deriváty patří **antoxantiny**. V rostlinách je najdeme volné nebo vázané jako diglykosidy. Vázané jsou na glukosu přes hydroxyl v poloze 3,5 popř. na galaktosu, rhamnosu, rutinosa apod. Patří sem např. rutin, rhamnoglukosid kvercetin. Při jejich nedostatku v potravě klesá pružnost cév a jejich pružnost.

Antokyany jsou modrá, fialová a červená barviva květů, plodů i jiných částí rostlin. Jejich aglykony jsou antokyanidiny, deriváty γ -pyranu.

Izoflavony jsou deriváty 1,2-difenylpropanu. Významnou látkou je zde např. genistein (5,7,4-trihydroxyizoflavon) z některých odrůd jetele, který má vlastnosti proestrogenu, neboť z něho v těle živočichů vzniká látka s hormonální aktivitou.

Katechiny jsou bezbarvé, jedná se o prekurzory některých tříslovin. Katechiny přecházejí snadno v amorfni floroglucinové taniny.

Taniny jsou směsí glykosidů odvozených od derivátů kyseliny gallové a jiných aromatických hydroxy kyselin, jejichž estery jsou nazývány depsidy.

Katechininy, depsidy a taniny tvoří třídu **tříslovin** (Pavel, 1988)

2.4 Vlastnosti flavonoidů

Flavonoidy mají charakter antioxidantů, jsou totiž schopné likvidovat volné organické radikály vzniklé např. oxidací mastných kyselin a radikály kyslíku. Vznikající fenolické radikály jsou poměrně stabilní díky rezonanci a nevyvolávají další vznik radikálů (Lachman, 1999). Mohutnost antioxidačních schopností závisí na struktuře molekuly – poloze a počtu hydroxylových skupin, přítomnosti a druhu cukerné složky glykosidu (Cook, Samman, 1996). Ze všech flavonoidních látek jsou jako neúčinnější antioxidanty označovány flavonoly, které jsou rozšířenou skupinou flavonoidů v rostlinném materiálu (Suschetet, 1998).

Funkce flavonoidů jako antioxidantů se projevuje při ochraně krevních lipidů, zejména frakce LDL, před oxidací. Pokud totiž potrava obsahuje dostatečné množství přirozených antioxidantů z ovoce a zeleniny, je úroveň oxidace krevních lipidů výrazně snížena. Což příznivě působí na snížení rizika vzniku onemocnění srdce a cév. U mnohých flavonoidních látek byla zjištěna schopnost ovlivňovat aktivitu některých enzymů. Flavonoidy mohou přímo ovlivňovat expresi příslušného genu, častěji přímo zvyšují nebo snižují aktivitu příslušného enzymu. Vedle těchto nejdůležitějších vlastností flavonoidů je možno zmínit ještě účinky protialergické a protivirové a imunomodulační (Middleton, Kandaswami, 1993).

Je nutné si uvědomit, že každý materiál obsahuje kromě fenolických látek ještě velké množství dalších sloučenin, což se může projevit zvýšením jejich účinnosti na základě synergie.

2.5 Význam flavonoidů

Flavonoidy a ostatní fenolické látky jsou součástí vyšších rostlin. Z hlediska vývoje jsou flavonoidy skupinou látek vyvinutých jako ochrana proti UV záření v době, kdy se vytvářela ozónová vrstva. Mnohé látky z velkého množství sekundárních metabolitů, mezi nimi především flavonoidy, slouží rostlinám pro ochranu proti vnějšímu napadení. Některé sekundární metabolity mohou sloužit produkční rostlině k inhibici růstu rostliny jiné. Tato situace je označována jako alelopathie (Procházka, 1998, Berhow a Vaughn, 1999). K vzájemnému ovlivňování dochází prostřednictvím fenolických látek. Například flavonoidy se vylučují kořeny nebo se uvolňují z opadu a inhibují klíčení semen nebo růst kořenů konkurenční rostliny.

Také živočichové živíci se rostlinami, získávají mimo potřebných sloučenin ještě určité množství rostlinných sekundárních metabolitů. Konzumace většiny z nich se nijak neprojevuje, některé mají na metabolismus výrazný vliv. Určité sekundární metabolity se syntetizují cíleně, k omezení požeru býložravcem. Patří sem flavonoidy, především izoflavony, flavony a flavonoly. Slouží rostlině jako přirozeně ochranný prostředek proti býložravému hmyzu. Flavonoidy a ostatní fenolické látky mívají svíravou nebo hořkou chuť, ovlivňují tím množství rostliny zkonzumované zvířetem. Lignin, který zpevňuje rostlinná pletiva, způsobí tuhost rostlin. Isoflavony, patřící mezi flavonoidy, mají estrogení účinky (Kalač, Míka, 1997).

2.5.1 Účinky flavonoidů na člověka

Flavonoidní látky vykazují u člověka zajímavé fyziologické účinky. Už od počátku jejich výzkumu byla zaznamenána jejich schopnost snižovat fragilitu cévní stěny (Holmann, Hertog, Katan, 1992) a zejména rutin a jeho deriváty se už dlouho používají pro léčbu defektů cév a krvácivých stavů. Významná je antioxidační schopnost flavonoidních látek. Reagují s volnými radikály, vznikajícími při oxidaci lipidů nebo reakcích vitamínu C v přítomnosti Fe^{3+} (Fentonova reakce) (Hässig, 1999). Volné radikály jsou velmi reaktivní a mohou způsobit poškození nejrůznějších biologických makromolekul a buněčných struktur. Poškození DNA může vést ke vzniku nádorů. Do procesu zasahují flavonoidy jak svou aktivitou antioxidační, tak schopností ovlivňovat aktivitu mnohých enzymů a to i těch, které vystupují v procesu karcinogeneze (Suschetet, 1998). Flavonoidy a ostatní přírodní antioxidanty v krvi zamezují oxidaci části krevních lipidů (LDL – lipidy s nízkou hustotou), což představuje důležitý mechanismus zabraňující vzniku aterosklerózy. Tyto příznivé schopnosti přírodních flavonoidů, byly potvrzeny skrze výsledky několika epidemiologických studií.

Přírodní flavonoidy snižují nadměrný tonus cév a tím působí na snižování krevního tlaku, především při stresových stavech. Byly popsány též protizánětlivé, imunomodulační a hepatoprotektivní účinky přírodních flavonoidů (Middleton, Kandaswami, 1993). Tyto příznivé vlastnosti převážně souvisí s intenzivní antioxidační aktivitou flavonoidních sloučenin.

Při hodnocení vlivu flavonoidů na fyziologické děje je třeba si uvědomit, že nejsou zdaleka zcela prozkoumány všechny vlastnosti všech složek potravin. Každý přírodní materiál představuje komplexní systém, ve kterém existuje nejrůznější synergické i antagonistické ovlivňování jednotlivých zastoupených látek.

2.6 Výživové zdroje flavonoidů

Flavonoidy jsou látky výhradně rostlinného původu. Vyskytují se nejen v čerstvém ovoci a zelenině, ale také v obilninách a potravinách vyráběných z rostlinných surovin. Obsah je však nejvyšší v čerstvém materiálu, zpracováním a skladováním obvykle klesá. Nejvyšší koncentrace flavonoidních látek se obvykle nacházejí v povrchových částech plodů (slupky), směrem do středu plodu koncentrace klesá (Davídek, 1983).

Flavonoidy se v materiálech vyskytují v pestrých směsích, málokdy převažuje jedna nebo několik málo sloučenin. Jako aglykon flavonoidních glykosidů se vyskytuje poměrně málo látek. Nejrozšířenějším je flavonol kvercetin, mezi dalšími flavonoly kemferol a myricetin a dále flavony apigenin a luteolin. Nejběžnějším glykosidem kvercetinu je rutin (kvercetin – 3-O-D- rutinosid).

2.6.1 Ovoce a zelenina

Jedlé plody a části rostlin jsou všeobecně a hojně konzumovanou skupinou rostlinných potravin. Jedí se v čerstvém stavu, konzervované nebo kuchyňsky opracované. Barva materiálu je tvořena několika pigmenty (anthokyaniny a ostatní flavonoidy, karotenoidy, betalainy, chlorofyl). Výsledná barva je ovlivňována všemi barevnými složkami.

Anthokyaniny patří mezi flavonoidní pigmenty. Najdeme je u řady čeledí, jako čeleď růžovitých, kam patří ovoce – třešně, jablka, švestky, maliny, ostružiny a jiné. Čeleď révovité poskytuje ovoce i suroviny pro výrobu révového vína – hrozny révy vinné. Drobné bobulovité ovoce, jako borůvky, brusinky, klikva patří do čeledi vřesovcovitých.

Katechiny jsou flavonoidní látky vyskytující se prakticky ve všech rostlinných materiálech. Spolu s estery kyseliny gallové jsou, označované jako třísloviny. Jsou nositeli trpké a svíravé chuti. Další flavonoidní látky v ovoci a zelenině jsou flavonoly a flavony. Flavonol kvercetin je dominantní aglykogen, následující flavonoly kemferol a myricetin a flavony apigenin a luteolin. V citrusovém ovoci jsou flavonony narigin, hesperidin a neohesperidin mající hořkou chuť. Zelenina vykazuje proti ovoci větší obsah kemferolu (Davídek, 1983).

2.6.2 Nápoje

Velmi bohatým zdrojem přírodních fenolických látek je čaj (*Camelia sinensis*) a to jak zelený, tak fermentovaný černý. Čerstvé listy čaje obsahují až 20% katechinů ve formě esterů s kyselinou gallovou, počítáno na sušinu (Davídek, 1983). Dalším bohatým zdrojem anthokyanů a dalších flavonoidů jsou plody révy vinné (*Vitis vinifera*). Plody vinné révy obsahují flavonoidní látky také ve slupce. Obsah flavonoidů se výrazným způsobem liší u červeného a bílého révového vína díky rozdílné technologii výroby. Révová vína obsahují také katechiny, fenolové kyseliny a flavonoly kvercetin a myricetin (Ritchey, 1999).

2.6.3 Pohanka

Velký obsah fenolických látek najdeme v pohance, jak v seté, tak i v pohance tatarce. Pohanka získává významné postavení jako alternativní zemědělská plodina. Z agronomického hlediska jde o cennou plodinu a její obecná nenáročnost na pěstování, krátká vegetační doba a odolnost proti biotickým stresům je výhodou. Má vysokou nutriční hodnotu, pro nepřítomnost lepku se hodí pro výživu nemocných celiakií, známá jako jedinečný zdroj přírodního rutinu (Holasova, 2002, Lachman, 2000). Její bílkovina má velmi příznivé aminokyselinové složení a spolu s vysokým obsahem rutinu a katechinů v materiálu působí na snižování hladiny cholesterolu v krvi (Li, 2001).

Pohanka setá (*Fagopyrum esculentum Moench.*) pochází z Asie a pěstuje se v několika odrůdách (Li, 2001). Je nejstarší rostlinou obsahující rutin, která byla systematicky zkoumána (Couch, 1945). Rutin obsahují všechny části rostliny v různé koncentraci. Obsah rutinu je odlišný podle části rostliny a závisí na odrůdě a vegetační době (Minami, 1998, Kreft, 1999).

2.6.4 Zelené koření

Jedná se o zvláštní skupinu rostlin, které zlepšují chuť, aroma a také výrazně ovlivňují zažívání a trávení celým komplexem obsahových látek, jako jdou silice, hořčiny a třísloviny, minerální látky a v čerstvém stavu i vitamíny, fytoncidy, enzymy aj. Na rozdíl od běžného koření se používá obvykle ve větším množství a v čerstvém stavu.

Některé druhy koření jsou léčivé, ovlivňují chuť k jídlu a zvyšují tvorbu trávicích šťáv nebo působí na činnost zažívacího traktu. Patří sem rostliny z čeledi hluchavkovitých (meduňka, dobromysl, máta, šalvěj), ale i miříkovitých (kopr, bedrník, kerblík) a dalších, jako je pažitka, brotan a jiné. Některé působí proti nadýmání a křečím (koriandr, saturejka, majoránka, máta, bazalka a další). Proti průjmům působí druhy obsahující větší množství tříslovin (tymián, yzop, saturejka, majoránka, dobromysl, máta, bedrník, meduňka). Zelené koření se používá i u nemocných, kteří musí dodržovat dietu bez běžného koření. Pomáhá vylepšit chuť jídla, aniž by ubližovalo (Lánská, 1991).

Mnoho rostlin používaných jako zelené koření, vedle typických vonných a chuťových látek obsahují i flavonoidní sloučeniny. V běžných bylinkách (bazalka, koriandr, máta, rozmarýn, petržel, dobromysl a další) byly nalezeny zejména kvercetin, kemferol, apigenin a luteolin (Justesent, 2001). Nejsou nicméně známé informace o vlivu podmínek pěstování na obsah flavonoidů.

3. Alliaceae – česnekovité

Tato čeleď patří do třídy jednoděložných rostlin (*Liliopsida*). Jedná se o jednu z nejstarších linií krytosemenných rostlin s 52 000 druhy. Zastupuje asi 20% všech krytosemenných rostlin. Dnes podle úpravy systému spadá tato čeleď česnekovitých (*Alliaceae*) do řádu chřestotvarých (*Asparagales*) (Pavol Mártonfi, 2006).

3.1 Charakteristika čeledi

3.1.1 Asparagales

Řád je tvořen 25 čeleděmi a asi 26 800 druhy. Zástupci jsou velmi variabilní v habitu, jde především o trvalé byliny a keře. Převážně mají podzemní cibule, oddenky či hlízy. Nejvýznamnějším znakem chřestotvarých (*Asparagales*) jsou charakteristická semena, mají venkovní epiderm a osemení je redukované nebo přítomné a obsahuje inkrustovaný pigment fyto melanin. Přítomnost fyto melaninu není známá u žádné jiné skupiny jednoděložných rostlin (Pavol Mártonfi, 2006).

3.1.2 Alliaceae

Jedná se převážně byliny s cibulemi a zatahovacími kořeny, stonky mají redukované. V rostlinách jsou vyvinuté mléčnice, obsahující steroidní saponiny a látky s cibulovým či česnekovým aroma obsahující síru – allylsulfidy, propanthiol a vinyldisulfid. Listy mají střídavé převážně v přízemní růžici, ale jednoduché, celokrajné s rovnoběžnou žilnatinou. Květy jsou oboupohlavné podepřené listeny, květenství připomíná okolík, ale jedná se o šroubel, která je okolíkovitě stažená. Okvětních lístků je 6, jsou volné nebo srostlé (Pavol Mártonfi, 2006).

Zástupci této čeledi najdeme v mírném a tropickém pásu, často ve stepních až polopouštních oblastech. Čeleď zahrnuje 19 rodů a 645 druhů. U nás jsou hlavně známy zástupci rodu *Allium*. Jedná se o druh, který je rozšířen v Evropě, Asii, Severní

Americie. V ČR je původních asi 12 druhů, pěstují se jako užitkové, najdeme však i plané, ohrožené i zvláště chráněné druhy (Novák, Skalický, 2008).

Mezi známé zástupce rodu, patří cibule kuchyňská (*Allium cepa*), česnek kuchyňský (*Allium sativum*), pór zahradní (*Allium ampeloprasum*) a pažitka pobřežní (*Allium schoenoprasum*) používající se hlavně v kuchyni při přípravě pokrmů. Najdeme tu i zástupce pěstované v parcích jako okrasné rostliny např. česnek medvědí (*Allium ursinum*). Ale i zvláště chráněné a ohrožené druhy, jako česnek hranatý (*Allium angulosum*) (Pavol Mártonfi, 2006).

3.2 Pažitka čínská

Allium tuberosum

Jde o vytrvalou cibulovitou rostlinu, která vytváří bohaté trsy útlých dutých listů. Květy jsou uspořádané ve vrcholičnatém květenství, asi 2 cm široké. Vypěstovat se dají ze semen, ze sadby nebo dělením starších trsů. Raší brzy na jaře. Pěstuje se v květenstvích či truhlících, ale i na záhonech.

Jako zelené koření se používají mladé listy, čerstvé popřípadě mražené. Používá se od polévek, salátů a pomazánek. Pažitka obsahuje vitamín C (až 100 mg/ 100 g), vitamín B₁, B₂, silice, karoten, Ca, K, atd. Díky svému obsahu podporuje chuť k jídlu a tvorbu trávicích šťáv. Mírně snižuje krevní tlak a působí proti střevním parazitům (Lánská, 1991)

Obrázek 7. Pažitka čínská (*Allium tuberosum*)



3.3 Cibule zimní sečka

Allium fistulosum L.

Patří mezi vytrvalou zeleninu. Místo květenství vytváří vzdušné pacibulky načervenalé barvy. Cibule je odolná proti mrazu, na jaře se využívají listy i pacibulky. Vytváří v zemi nepravé cibule. Pěstuje se na záhonech hnojených kompostem. Sečku rozmnožujeme semenem, dělením starších trsů.

Využívá se hlavně nať, přidává se do salátů, vaječných pokrmů, polévek. Nať cibule obsahuje velké množství vitamínů C (až 200 mg /100g), kromě toho ještě cukry, vitamín B₁, B₂, kyselinu pantotenovou a nikotinovou, K, Ca a provitamín A. Najdeme u ní také velký obsah štiplavého alylsulfidy (Lánská, 1991).

Obrázek 8. Cibule zimní sečka (*Allium fistulosum* L.)



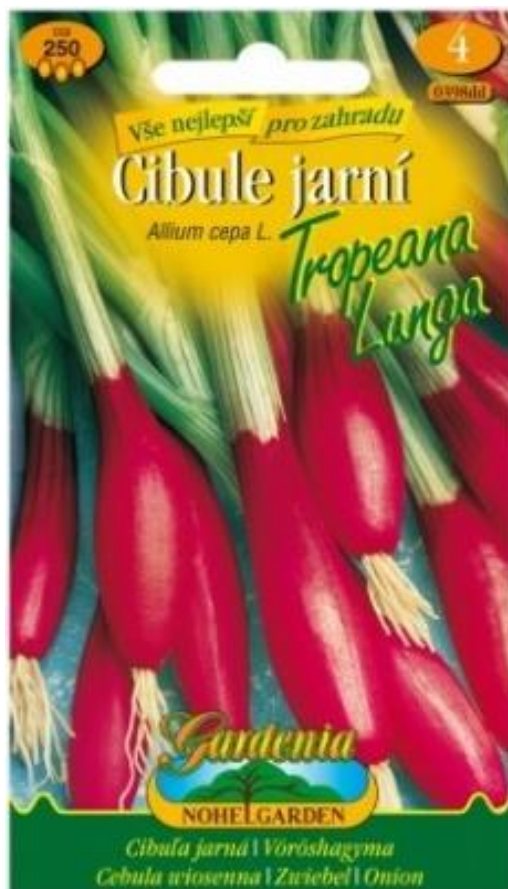
3.4 Cibule červená – Tropeana lunga

Allium cepa L.

Patří mezi jednu z odrůd cibule kuchyňské. Tato cibule je dvouletá, poloraná bylina. Tvoří hruškovité cibulky připomínající „žárovky“. Obaly jsou červené na vnější straně a růžovo – bílé na vnitřní straně.

Využívá se k přímé konzumaci například do salátů.

Obrázek 9. Cibule červená –Tropeana lunga (*Allium cepa* L.)



4. Lamiaceae – hluchavkovité

Čeleď patří do třídy pravých dvouděložných rostlin (*Rosopsida*). Jedná se o asteridovou větev, patří do skupiny *Lamiidy* (*Euasterid I*) – pravé asteridy I. U této skupiny jsou listy často vstřícné, květenství jsou vrcholičnatá (cymózní) a vajíček mají více. Čeleď hluchavkovitých (*Lamiaceae*) patří podle dnešní systematiky pod řád hluchavkotvaré (*Lamiales*) (Pavol Mártonfi, 2006).

4.1 Charakteristika druhu

4.1.1 Lamiales

Zástupci tohoto řádu mají převážně protistojné listy. Květy jsou často souměrné, mají většinou různé typy dvojpyské koruny vzniklé charakteristickým srůstem 5 korunních lístků. Typické pro tento řád je redukce tyčinek na 4 didynamické (2 delší, 2 kratší) nebo na 2 tyčinky. Tato skupina je tvořena asi z 21 čeledí a 1100 rodů, 18 000 druhů (Pavol Mártonfi, 2006).

4.1.2 Lamiaceae

Zástupce tvoří byliny, keře nebo stromy, mají často čtyřhranný stonek. Rostliny obsahují iridoidy a fenolické glykosidy. Listy většinou protistojné, křížmo protistojné, někdy v přeslenech. Jsou jednoduché, celistvé nebo dělené, někdy jsou dlanitě nebo zpeřeně složené. Okraje listů bývají celokrajné až zubaté. Květenství je úžlabní nebo vrcholové. Květy jsou oboupohlavné, souměrné. Kališních lístků je většinou 5, jsou srostlé, kalich může být pravidelný nebo souměrný, více méně trupkovitý nebo zvonkovitý. Pět korunních lístků je srostlých do dvojpyské koruny, někdy může být horní pysk zakrnělý, vzácnější je koruna téměř pravidelná. (Pavol Mártonfi, 2006).

Čeleď je tvořena 250 rody a 6 900 druhy, jedná se o kosmopolitní skupinu. Hojně jsou zastoupeny např. ve Středomoří, ale najdeme je na všech kontinentech. Hluchavkovité rostou v teplém sezónním klimatu, často je najdeme na otevřených skalných stanovištích, v křovinách, podél vodních toků, v tropech a především v horách (Novák, Skalický, 2008)

Hospodářský význam jednotlivých zástupců čeledě spočívá především v produkci éterických olejů. Některé z nich jsou využívány ve farmacii a v kosmetice. Jako levandule (*Lavandula angustifolia*), rozmarýna (*Rosmarinus officinalis*), máta (*Mentha*), meduňka (*Melisa officinalis*), mateřídouška (*Thymus*), šalvěj (*Salvia*) apod. Významné využití mnohých aromatických druhů je v potravinářství, jako koření. Jedná se např. o bazalku (*Ocimum basilicum*), tymián (*Thymus vulgaris*), majoránka zahradní (*Majorana hortensis*), hluchavka (*Lamium*).

4.2 Bazalka pravá - Ohře

Ocimum basilicum L.

Jednoletá bylina s přímou, větvenou lodyhou až 40 cm vysokou. Má křížmostojné listy, s krátkými řapíky a vejčitou někdy zvlněnou zelenou naběhlou čepelí. Většinou jsou lysé či řídce chlupaté. Květy mají bílou, žlutavou, růžovou nebo červenou korunu. Plodem je drobná červenohnědá tvrdka. Pěstuje se ze semen, vysívají se do květináčů či truhlíků. Předpěstované 10 cm vysoké sazenice se vysazují po 2 kusech do volné půdy. Vyžadují kypré, lehčí, humózní půdy. Daří se jim na teplých, slunných stanovištích. Nať sklízíme v době květu, asi 10 cm nad zemí, aby rostlina obrazila.

Mladé listy se sklízí podle potřeby a používáme je čerstvé. Nať můžeme sušit a skladovat v tmavých lahvích. Bazalková nať obsahuje silice s výraznou vůní s methylchavikolem a linaloonem, také třísloviny, saponiny, flavonoidy, minerální soli. V čerstvém stavu i vitamín C a karoten. Bazalka podporuje chuť k jídlu a usnadňuje trávení. Působí proti nadýmání a proti křečím zažívacího traktu. Osvědčila se při poruchách trávení vyvolaných dlouhodobým používáním léků (Lánská, 1991).

Obrázek 10. Bazalka pravá – Ohře (*Ocimum basilicum* L.)



4.3 Bazalka pravá červenolistá – Red rubin

Ocimum basilicum L.

Jednoletá bylina s pevným purpurovým listem, květy podobné levanduli. Rostlina je vysoká přibližně 40 cm a silně aromatická. Květy se pravidelně zaštipují k docílení bohatého větvení, a aby si bazalka zachovala svoje aroma.

Používá se stejně jako bazalka pravá (*Ocimum basilicum*) sušená či čerstvá. Přidává se do salátů, polévek, jako koření na pizzu apod. (Lánská, 1991).

Obrázek 11. Bazalka pravá červenolistá – Red rubin (*Ocimum basilicum* L.)



5. Apiaceae – miříkovité

Čeď patří do třídy pravých dvouděložných rostlin. Jedná se o asteridovou větev, patří do skupiny *Campanulidy* (*Euasterid II*) – pravé asteridy II. Typické pro tuto skupinu je, že listy jsou často střídavé, květenství hroznovitá (racemózní) a mají jedno vajíčko. Čeď miříkovité (*Apiaceae*) patří dnes podle systému do řádu miříkotvaré (*Apiales*) (Pavol Mártonfi, 2006).

5.1 Charakteristika druhu

5.1.1 Apiales

Monofyletická skupina, charakteristickým znakem je koruna s volnými korunními lístky (sekundárně získaný znak). Skupinu charakterizuje přítomnost sekrečních kanálků s obsahem éterických olejů a dalších sekundárních metabolitů (Pavol Mártonfi, 2006).

5.1.2 Apiaceae

Zástupci jsou převážně byliny až liány, aromatické se sekrečními kanálky, které obsahují éterické oleje. Byliny mají kořen vřetenovitý, válcovitý nebo kuželovitý nebo se může vytvořit hypokotylní hlíza či bulva. Stonek je většinou s dutými internodiemi. Listy mají střídavé s velkou pochvou, čepel je zpeřeně dlanitá. Okraj listů je celokrajný až zubatý. Květenství je tvořeno většinou z okolíků, které jsou jednoduché nebo složené v podobě klasu. Okrajové květy tvořené z plochých složených okolíků bývají větší než ve středu, čímž se vytváří útvar nazývaný „biologický květ“. Složené okolíky mohou být podepřeny listeny – obaly, u okolíčků – obalíčky. Přítomnost listenů je často významným taxonomickým znakem. Květy jsou převážně oboupohlavné, někdy jednopohlavné, ale pravidelné a poměrně malé. Kališních lístků je 5, jsou volné a velmi redukované. Korunních lístků je také 5, příležitostně více, jsou volné (jde o sekundárně získaný znak) (Pavol Mártonfi, 2006).

Čeleď je tvořena 460 rody a 4250 druhy. Rozšířeny jsou od tropického pásu po mírný pás. Některým zástupcům se v květech tvoří nektar, který láká velkou škálu opylovačů. Miříkovité obsahují pryskyřice, glykosidy, aromatické silice a někteří i prudce jedovaté alkaloidy (Novák, Skalický, 2008).

Z praktického hlediska mají miříkovitý význam jako koření nebo kořenová zelenina používaná v kuchyních. Např. celer nařový (*Apium graveolens*), mrkev obecná (*Daucus carota*), petržel zahradní (*Petroselinum crispum*), kmín kořený (*Carum carvi*), fenykl obecný (*Foeniculum vulgare*), bedrník anýz (*Pimpinella anisum*) a kopr voňavý (*Anethum graveolens*). Najdeme zde i skupinu jedovatých zástupců, jako je bohlelav plamatý (*Conium maculatum*) (Pavol Mártonfi, 2006).

5.2 Petržel hladkolistá – Festival 68

Petroselinum crispum

Petržel je dvouletá okoličnatá rostlina, v druhém roce vykvétá. Má slabý rozvětvený kořen. Méně náročná na půdu, semena pomalu klíčí, proto se vysévají už v březnu. Nikdy nesmějí vyschnout. Můžeme je pěstovat i na záhoně, v truhlících i květináčích.

Nejrozšířenější zelené koření denní potřeby. Nať petržele má nejvíce vitamínu C (100 – 300 mg/100 g). Ve 100 g nati je průměrně 81 – 82 g vody, 108 mg K, 23 mg Ca, 12 mg P, 5,2 mg Mg, 1 mg Fe aj. Najdeme zde dále kyselinu nikotinovou, sacharidy vlákninu, karoten a vitamín B₁. Všechny části rostliny obsahují silice s apiolem, který ve velkém množství dráždí ledviny. Petržel povzbuzuje chuť k jídlu a zlepšuje trávení. Používáme ji čerstvou, sušenou a mraženou. Působí proti nadýmání a odvádí z těla tekutiny. Má příznivý vliv na vodnatost a neduhy močového měchýře a ledvin, také na revmatické potíže (Lánská, 1991).

Obrázek 12. Petržel hladkolistá – Festival 68 (*Petroselinum crispum*)



5.3 Petržel kadeřavá

Petroselinum crispum

Jedná se o dvouletou nařovou bylinu se silným kořenovým systémem. Květy jsou nevýrazně bělavé. Vytváří sytě zelenou růžici, ze složených řapíkatých listů. Listy jsou na okrajích zkadeřené.

Používá se stejně jako hladkolistá petržel, sušená či čerstvá, jako koření do polévek, salátů a pomazánek (Lánská, 1991).

Obrázek 13. Petržel kadeřavá (*Petroselinum crispum*)



5.4 Celer naťový

Apium graveolens

Vytváří mnoho jemných, velmi aromatických listů. Hlízu tvoří malou, pro ni se nepěstuje. Naťový celer má jemnou a vysokou nať, až půl metru. Na rostlině se vytváří i několik desítek řapíků s hladkou nebo kadeřavou čepelí. Pěstujeme ho ze sazenic, z únorových výsevů do květináčů. Semeno dlouho vzhází, drobné vzešlé rostliny přepichujeme a ven vysazujeme po 15. květnu. Na záhonech můžeme pěstovat v řádcích 30 cm vzdálených. Nať sklízíme podle potřeby.

List celeru je bohatý na karoten, má až 100 mg vitamínu C ve 100 g, hodně K, Na, Ca, P a Fe, mnoho silice a flavonoidů. Celer působí močopudně, podporuje trávení. Používají ho revmatici a diabetici a příznivě působí na nervovou soustavu (Lánská, 1991).

Obrázek 14. Celer naťový (*Apium graveolens*)



6. Analytické metody

6.1 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)

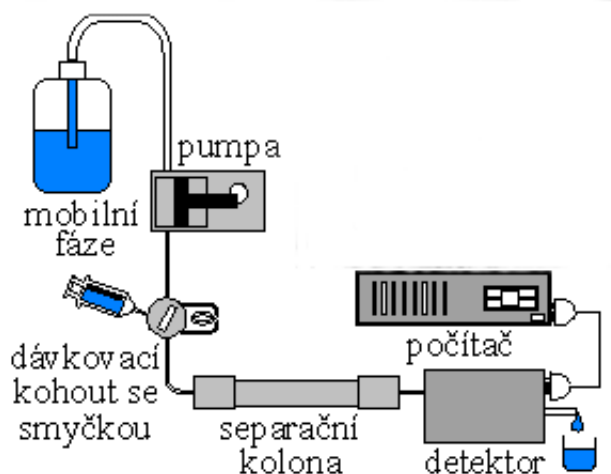
Chromatografie patří mezi separační metody, založené na různém rozdělení složek směsi mezi dvěma fázemi, fází mobilní a stacionární. Touto metodou je možné stanovit velké množství organických i anorganických látek. Fáze procházející kolonou je označovaná jako mobilní (plyn nebo kapalina), fáze stacionární neboli nepohyblivá, také jinak sorbent. Může být tvořen částicemi tuhé fáze o velikosti jednotek až stovek mikrometrů nebo kapalinou umístěnou na povrchu inertního nosiče či film kapaliny na vnitřní stěně kapiláry. Mobilní fáze prochází kolonou, která je naplněna sorbentem, a sebou unáší vzorek. Mezi stacionární fází, mobilní fází a dělenými látkami vzorku dochází k vzájemným interakcím, které rozhodují o průběhu separačního procesu.

Kapalinová chromatografie zahrnuje všechny chromatografické způsoby separace, kdy je mobilní fáze kapalná. S ohledem na experimentální uspořádání hovoříme o kapalinové chromatografii v otevřeném systému (papírová a tenkovrstvá chromatografie) a v uzavřeném systému (dnes zejména vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC).

HPLC je nejvíce používaná metoda pro stanovení flavonoidních látek. Byla využívána pro stanovení těchto látek v ovoci, zelenině (Merken, 2000, Sakaribara, 2003, Karakaya, 1999, Crozier, 1997, Justesen, 1998, Hertog, 1992) a v léčivých i jiných rostlinách (Liang, 1996, Justesen, 2001, Trichopoulou, 2000).

Mobilní fáze je při isokratické eluci vedena ze zásobníku přes odplyňovač do vysokotlakého čerpadla. Při gradientové eluci se jednotlivé části mobilní fáze nejdříve přivedou ze zásobníku do směšovače, kde se mísí ve zvoleném poměru a teprve pak postupují do čerpadla. Převažujícím způsobem nástřiku vzorku je použití tzv. šesticestného kohoutu s dávkovací smyčkou. Smyčka o známém konstantním objemu se nejprve naplní vzorkem, poté se kohout přepne do druhé polohy, kdy eluent protéká smyčkou a vnese vzorek do kolony. Kolony používané pro HPLC jsou rovné o délce 10 – 100 cm s vnitřním průměrem od 0,2 do 2 cm. Velikost zrn sorbentu se pohybuje mezi 3 – 50 μm . U přírodních vzorků se doporučuje před vlastní kolonu zařadit ochrannou předkolonku. Zabráníme tak předčasnému znehodnocení kolony zachycením balastních látek (Drbal a Křížek, 1999).

Obrázek 15. Schéma HPLC sestavy



K detekci je velmi rozšířen průtokový fotometrický či fluorometrický detektor. Eluát protéká měrnou celou malého objemu s velkou optickou délkou (obvykle $V = 5 - 10 \mu\text{l}$, $1 - 10 \text{ nm}$). Při vhodně volené vlnové délce je registrována absorbance eluátu. Moderní přístroje jsou vybaveny detektory s proměnlivou a programově měnitelnou vlnovou délkou či tzv. diode array detektorem, schopným proměřit ve zvoleném okamžiku celé UV/VIS spektrum složky. Získané informace jsou důležitým kvalitativním údajem o sledované složce (Drbal a Křížek, 1999). Pro kvalitativní analýzu je určeno použití hmotnostního detektoru.

4. CÍLE PRÁCE

Z provedené rešerše vyplynulo, že kořeninové rostliny mohou být výživovým zdrojem fenolických látek (fenolických kyselin, flavonoidů atd.). Mezi těmito látkami, svými biologickými účinky, vynikají flavony se zástupci apigeninem a luteolinem, a také flavonoly s kemferolem, kvercetinem a myricetinem. Tyto látky mají intenzivní antioxidační účinky a mohou tedy přispět k prevenci civilizačních onemocnění (onemocnění srdce a cév, rakoviny).

Čeledi česnekovité (*Alliaceae*), hluchavkovité (*Lamiaceae*) a miříkovité (*Apiaceae*) patří mezi specifickou skupinu rostlin, jejichž požitkem je způsob využití. Přidávají se do pokrmů pro obohacení chutě a vůně. Používají se převážně v čerstvém stavu jako tzv. zelené koření.

Pro zastoupení jednotlivých fenolických látek a pro určení celkového obsahu kemferolu, kvercetinu, myricetinu, apigeninu a luteolinu byla použita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

K řešení byly stanoveny tyto cíle:

- stanovit kvalitativní zastoupení fenolických látek ve vybraných druzích
- stanovit celkový obsah kemferolu, kvercetinu, myricetinu, apigeninu a luteolinu ve vybraných druzích
- porovnat obsahy těchto sloučenin u vybraných druhů v závislosti na podmínkách pěstování (skleník, záhon)

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Pro vypracování diplomové práce byla použita analytická metoda. Metoda HPLC použitá pro kvalitativní stanovení fenolických látek a kvantitativní stanovení celkového kvercetinu, kemferolu, apigeninu a luteolinu ve vzorcích zeleného koření.

K analýzám byly použity tři zástupci čeledi česnekovitých, dva zástupci čeledi hluchavkovitých a tři zástupci čeledi miříkovitých. Tyto rostliny patří do skupiny zeleného koření, které jsou běžně pěstované. Pro srovnání obsahu fenolických látek byly všichni zástupci pěstováni na dvou stanovištích, ve skleníku a na záhoně.

Tabulka 1. Odebrané vzorky (záhon i skleník)

Pažitka čínská	<i>Allium tuberosum</i>
Cibule zimní sečka	<i>Allium fistulosum L.</i>
Cibule červená - Tropeana lunga	<i>Allium cepa L.</i>
Bazalka pravá - Ohře	<i>Ocimum basilicum L.</i>
Bazalka pravá červenolistá - Red rubin	<i>Ocimum basilicum L.</i>
Petržel hladkolistá - Festival 68	<i>Petroselinum crispum</i>
Petržel kadeřavá	<i>Petroselinum crispum</i>
Celer naťový	<i>Apium graveolens</i>

1. Odběr rostlinného vzorku

Z těchto vybraných druhů se k analýze používaly části rostlin, které se konzumují. Vzorky kořeninových rostlin uznaných odrůd byly vypěstovány v roce 2012 na pokusném pozemku ZF (Č. Budějovice, kampus JU, N 48°58'29.528'', E 14°26'52.057''). Bylo použito osivo z maloobchodní sítě. Osiva byla od firem Semo Smržice u Prostějova, Seva Seed Valtice, Nohel Garden Dobříš. Všechny testované odrůdy byly pěstovány jednak na volné ploše, jednak ve skleníku. Sklizeň proběhla zhruba po čtyřech měsících od osevu.

Materiál byl odebírán u každého druhu minimálně z pěti exemplářů, což zajistilo dostatečně velký průměrný vzorek. Ze všech druhů bylo odebráno minimálně 25 g rostlinného materiálu. Materiál se odebíral v dopoledních hodinách bez srážek a po oschnutí ranní rosy.

2. Úprava rostlinného materiálu

Odebraný materiál byl do dvou hodin po odběru na pozemku zpracován v laboratoři. Části rostlin použité pro analýzu byly podle potřeby očištěny, zváženy a zmrazeny v polyethylenových sáčcích při teplotě -16 °C. Zmražený materiál byl lyofilizován do jednoho měsíce od odběru při teplotě -50 °C a tlaku 0,1 mbar po dobu 24 hodin. Lyofilizovaný materiál byl zhomogenizován na laboratorním mlýnku a do analýzy skladován v plastových vzorkovnicích při teplotě -18 °C.

3. Použité chemikálie a standardy

Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a., pokud není uvedeno jinak. Pro přípravu roztoků byla použita demineralizovaná voda, připravená na zařízení firmy Premier (USA).

kyselina chlorovodíková (Lachema ČR)

hydrogenuhličitan sodný (Lachema ČR)

α -naftyloctová kyselina (Lachema ČR)

L-askorbová kyselina (Merck, Německo)

methanol (LiChrosolv Reag. Ph. Eur, Merck)

acetonitril (LiChrosolv Reag. Ph Eur, Merck)

chlorogenová kyselina (Sigma Chemicals, USA)

kávová kyselina (Sigma Chemicals, USA)

rozmarýnová kyselina (Sigma Chemicals, USA)

kvercetin (Sigma Chemicals, USA)

myricetin (Extrasynthese, Francie)

kemferol (Extrasynthese, Francie)

luteolin (Extrasynthese, Francie)

apigenin (Extrasynthese, Francie)

4. Laboratorní sklo a přístroje

Sada laboratorního skla (Fisher Scientific, Pardubice, ČR)

Analytická váha AB 204 (Mettler Toledo, Švýcarsko)

Technické váhy Kern (Německo)

Lyofilizátor Alpha 1-4 (Christ, Německo)

Kombinovaná lednička s chladničkou (Bosch Cooler, Německo)
Teplovzdušná sušárna UML (Memmert, Německo)
SPE izolační jednotka (vývojové dílny JU, ČR)
Vodní lázeň termostatická míchaná EL-20 R (Kavalier, ČR)
Pipety automatické, objem 20-200 μ l a 100-1000 μ l Transferpette (Treff AG, Švýcarsko)
Dávkovač kapalin 5 ml (Sklo Union, ČR)
Odstředivka Sigma 2-5 (Sigma Laborzentrifugen, Německo)
pH-metr Inolab-1, s elektrodou SenTix 61 (WTW, Německo)
SPE kolonky RP-18 (Merck, Německo)
Filtreační papír Filtrak (Filtrak GmbH, Německo)
Filtry ze skleněných vláken GF/C (Whatman, Velká Británie)
Centrifuga 5810 R (Eppendorf)
Kapalinový chromatograf Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC System (Agilent Technologies, USA), detektor DAD UV VIS (Agilent), kolona: Zorbax SB-C18, 1,8 μ m, 4,6 x 50 mm (Agilent Technologies)
Kapalinový chromatograf Hewlett Packard HP 1050 (USA), detektor DAD – G1315B (Agilen), kolona: Luna C18, 3 μ m, 150 x 2 mm (Phenomenex, USA)

5. Stanovení flavonoidních aglykonů v lyofilizovaném materiálu

Touto metodou se stanovil celkový obsah některých flavonoidních aglykonů, které se uvolnily z lyofilizovaného materiálu kyselou hydrolyzou. Takto bylo možno stanovit obsah flavonolů kvercetin, myricetin a kemferol a flavonů luteolin a apigenin.

Směs přesně asi 0,25 g lyofilizovaného homogenního materiálu, 80 mg kyseliny askorbové, 7,5 ml destilované vody, 5 ml 6M HCl a 12,5 ml methanolu se hydrolyzovala pod zpětným chladičem 2 hodiny na vodní lázni při teplotě 90° C. Po vychlazení se obsah baňky zneutralizoval 2 g NaHCO₃ (vypočtené množství), převedl do odstředivací kyvety pomocí 12,5 ml methanolu a vody a postupně se třikrát odstředil (15 minut, 1000 otáček/minutu). Spojené supernatanty v kádince 600 ml se doplnily vodou na 200 ml a pH se upravily na hodnotu 3 pomocí nasyceného roztoku NaHCO₃. Takto upravený roztok byl filtrován přes filtr ze skleněných vláken za sníženého tlaku. Filtrát se kvantitativně převedl do 500 ml odměrné baňky. Podle

obsahu kvercetinu se tento roztok ředil pomocí připraveného 5% roztoku methanolu o hodnotě pH 3,5. Takto připravený roztok byl použit pro sorpci na tuhé fázi (SPE). Použily se kolonky RP-18 (Merck), kondicionované promytím 10 ml methanolu a 10 ml vody. Po promytí vzorku byla kolonka promyta 10 ml vody a sušena 15 minut procházejícím vzduchem. Zachycené látky byly eluovány 1,4 ml methanolu do měrné vialky. K eluátu v měrné vialce byl přidán roztok vnitřního standardu (kyselina α -naftyloctová 2 mg/ml) v množství 100 μ l.

5.1 Měření flavoidních aglykonů

Všechny vzorky byly naměřeny na kapalinovém chromatografu Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC System s připojením na DAD UV VIS detektor. Byla použita chromatografická kolona Zorbax SB-C18 (4,6 x 50 mm, zrnitost sorbentu 1,8 μ m).

Mobilní fáze byla tvořena acetonitrilem, vodou a kyselinou mravenčí. Obě složky byly namíchány do dvou typů roztoků:

A: 5% acetonitril, 0,1% kyselina mravenčí ve vodě

B: 0,1% kyselina mravenčí v 100% acetonitrilu

K analýze byl použit gradient následujícího složení (v % fáze B):

0-1 minuta: 20-25% B, 1-5 minuta: 25-30% B, 5-7 minuta: 30-50% B, 7-9 minuta: 50-20% B. Následovala 6 minut kondicionace kolony při počátečním složení mobilní fáze (20% B). Nastříkovalo se 5 μ l vzorku. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 1ml/min. Analýza probíhala při 25°C, odezvy analyzovaných látek byly čteny při 270 nm. Obsahy aglykonů byly spočítány pomocí kalibračních závislostí, jako analytická odezva byl použit poměr odezvy píku analyzované látky a vnitřního standardu.

6. Metodika analýzy dalších fenolických látek metodou HPLC

Tato metoda sloužila zejména ke studiu dalších fenolických sloučenin, hlavně fenolických kyselin. K přípravě extraktu z lyofilizovaných rostlin bylo použito 0,25 g rozemletého homogenizovaného materiálu. Vzorek byl extrahován 3 ml 50% methanolu po dobu 30 minut při laboratorní teplotě za neustálého protřepávání. Poté byly vzorky centrifugovány při teplotě 20°C, 3000 otáčkách 10 minut. Ze zkumavek byl odebrán supernatant a sediment byl resuspendován ještě dvakrát v 1 ml 50% methanolu.

Všechny supernatanty byly spojeny a byl odečten objem extraktu. Supernatanty byly přelity do vialek a připraveny k analýze.

Všechny extrakty byly naměřeny na kapalinovém chromatografu s připojením na DAD detektor. K analýze byla použita kolona Phenomenex Luna C18 (2), 3 μm , 2 x 150 mm.

Mobilní fáze se skládala z acetonitrilu, vody a kyseliny fosforečné. Složky byly smíchány do dvou typů roztoků:

A: 5% acetonitril a 0,1% kyseliny fosforečné

B: 80% acetonitril a 0,1% kyseliny fosforečné

Použitý gradient byl ve složení:

0 minut: 2% B, 0 - 40 minut: 42% B, 42 - 44 minut: 80% B. Pokaždé analýze byla kolona 10 minut promyta mobilní fází o složení 2% B. Průtok při analýze byl 0,25 ml/min a pracovní teplota byla 25°C. Objem nástřiku vzorku byl 5 μl . Při analýze bylo měřeno spektrum všech látek v rozsahu 190 – 600 nm, detekce látek probíhala při 220 nm. Sledované fenolické látky byly identifikovány srovnáním retenčního času a naměřeného spektra se standardy (chlorogenová kyselina, kávová kyselina, rozmarýnová kyselina, rutin, kvercetin).

6. VÝSLEDKY A DISKUSE

K získání experimentálních dat o obsahu fenolických látek v rostlinách čeledi *Alliaceae*, *Lamiaceae* a *Apiaceae* byla použita analytická metoda kapalinové chromatografie (HPLC). Stanovení fenolických látek v rostlinném materiálu, bývá složité, protože většinou chybí standardy ke kvantifikaci. Metoda HPLC sloužila k stanovení jednotlivých fenolických látek a jejich zařazení, ale i k celkovému stanovení některých flavonolů a flavonů.

1. Stanovení jednotlivých fenolických látek metodou HPLC

Zastoupení jednotlivých fenolických látek v rostlinách čeledi *Lamiaceae* a *Apiaceae* bylo zjištěno metodou HPLC s připojením na DAD detektor. Fenolické látky byly určeny srovnáním retenčního času neznámé látky a standardu a pomocí naměřeného spektra se spektrem standardu.

Chromatografické profily analyzovaných rostlin ukazují zastoupení některých fenolických látek ve studovaných rostlinách. Jednotlivé chromatografické záznamy jsou řazeny podle druhu rostliny. Další tabulka zahrnuje přehled identifikovaných fenolických látek a abecedním označením jejich píků na chromatogramu (Tabulka 2).

Je vidět, že jen některé sloučeniny byly určeny přesně. Jsou to ty, u kterých byly k dispozici jejich standardy. Byla to kyselina rozmarýnová. Ostatní látky byly řazeny do skupin podle jejich spektra. Látky, jejichž spektrum odpovídalo spektru flavonolu, jsou zřejmě glykosidy kvercetinu, myricetinu, kemferolu. Látky odpovídající spektru flavonu, jsou luteolin a apigenin.

Tabulka 2. Fenolické látky určené metodou HPLC

označení píků	fenolické sloučeniny
A	látky se spektrem odpovídajícím flavonu nebo flavonolu
B	látky se spektrem podobným kávové kyselině
C	rozmarýnová kyselina
E	barviva
R	rutin

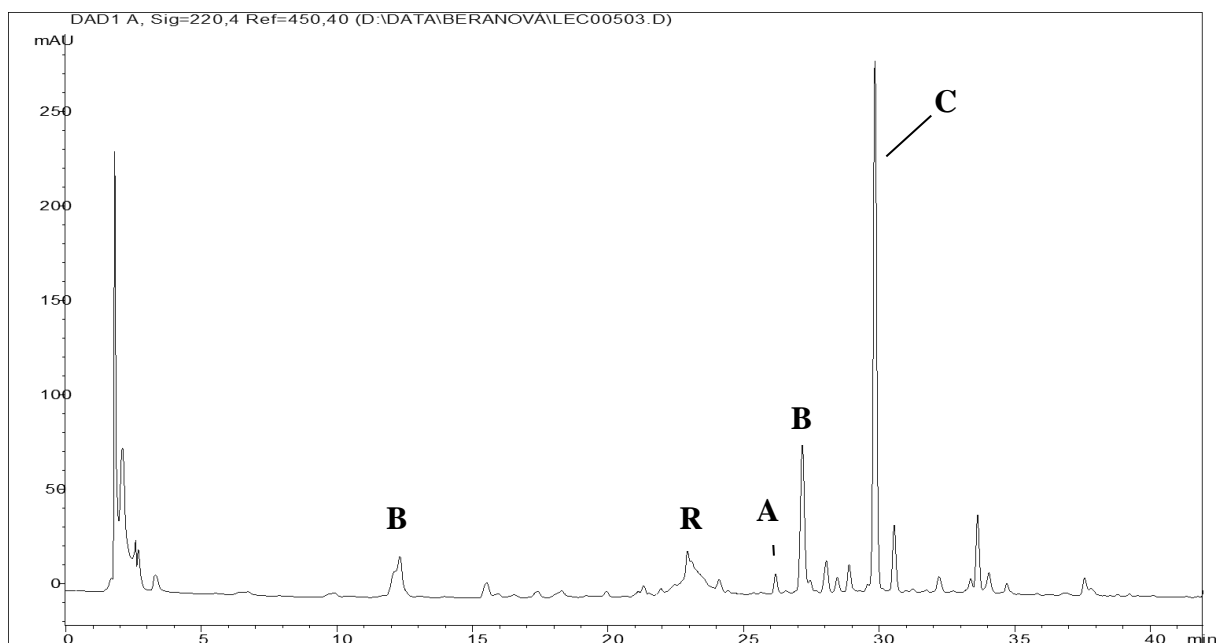
1.1 Analýza fenolických látek v čeledi Lamiaceae

1.1.1 Bazalka zelená velkolistá

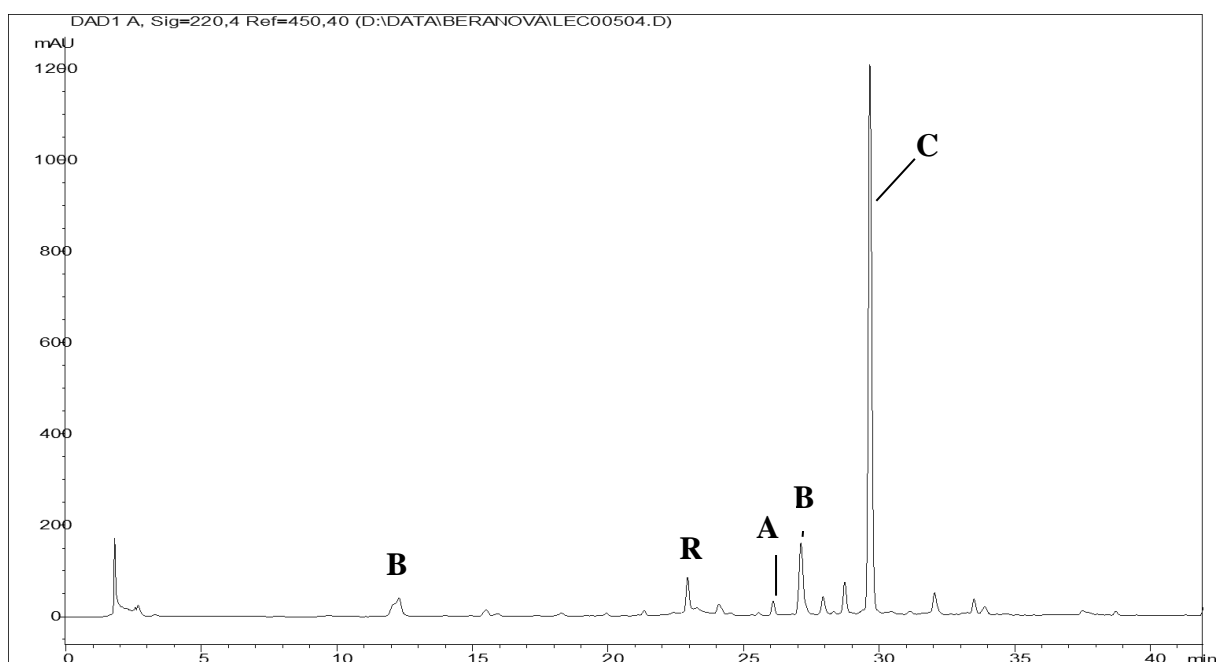
Ve všech zkoumaných vzorcích bazalky zelené velkolisté pěstované na záhoně a ve skleníku byla zjištěna rozmarýnová kyselina (pík C). Také byly nalezeny látky se spektrem podobným kávové kyselině (pík B) a látky se spektrem odpovídajícím flavonu nebo flavonolu (pík A).

Obrázek 16. Záznam z analýzy HPLC

Bazalka zelená velkolistá - skleník



Bazalka zelená velkolistá - záhon



Tabulka 3. Množství fenolických látek

bazalka zelená velkolistá	derivát kávové kyseliny				rozmarýnová kyselina	
	t_r 12,3		t_r 27,2		t_r 29,7	
	skleník	záhon	skleník	záhon	skleník	záhon
mg/kg sušiny	1140	2230	2100	3930	11000	46600
mg/kg čerstvé hmoty	223	431	409	760	2130	9000

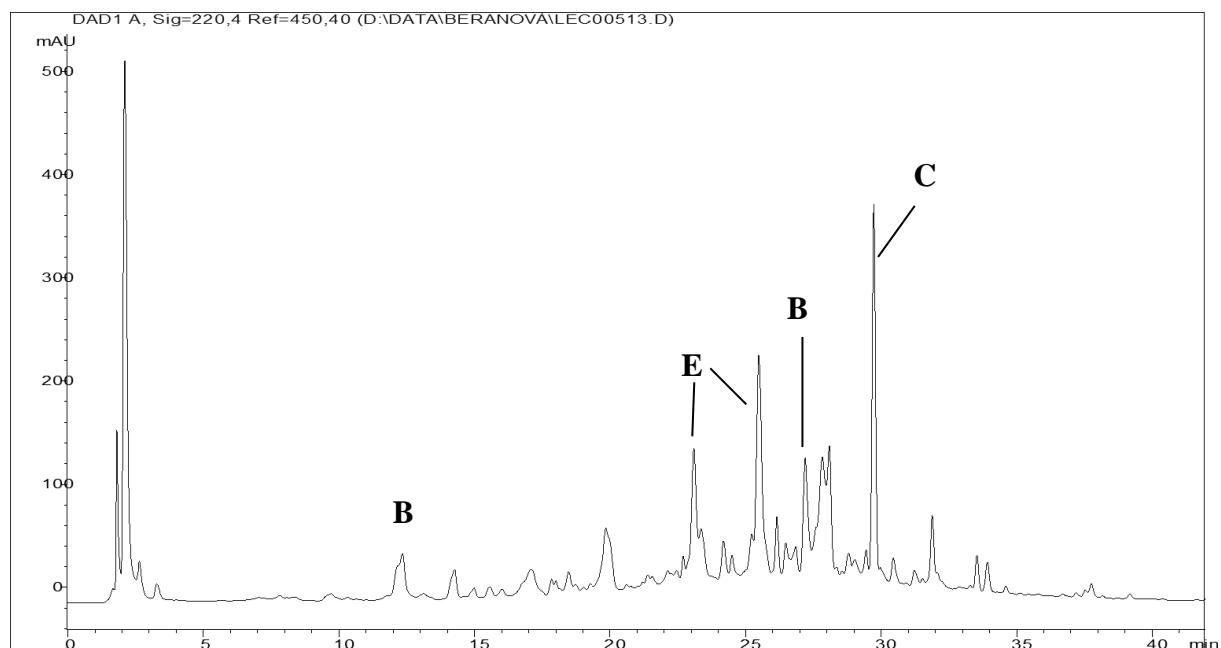
Jak je vidět ze získaných výsledků, obsah sledovaných fenolických sloučenin je v bazalce pěstované běžným způsobem na záhoně podstatně vyšší, než v rostlině pěstované ve skleníku.

1.1.2 Bazalka červená

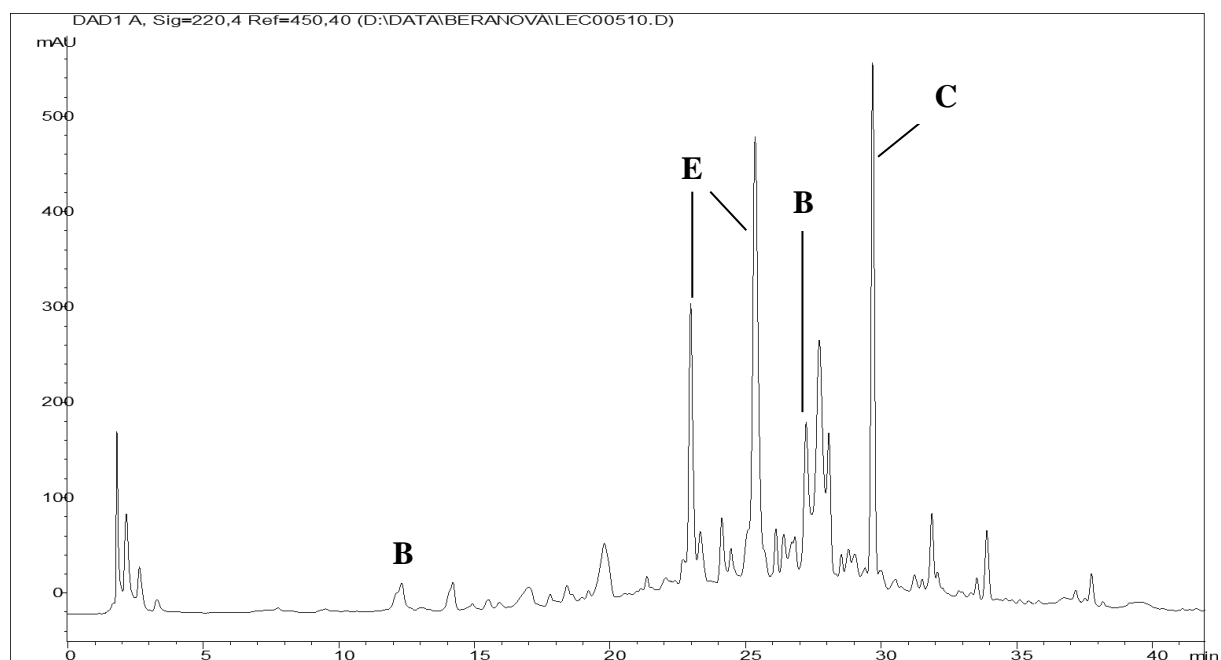
U bazalky červené pěstované na záhoně i ve skleníku byla zjištěna ve všech vzorcích přítomnost rozmarýnové kyseliny (pík C). Také byla zaznamenána přítomnost látek se spektrem podobným kávové kyselině (pík B).

Obrázek 17. Záznam z analýzy HPLC

Bazalka červená – skleník



Bazalka červená – záhon



Tabulka 4. Množství fenolických látek

bazalka červená	derivát kávové kyseliny				rozmarýnová kyselina	
	t _r 12,3		t _r 27,4		t _r 29,8	
	skleník	záhon	skleník	záhon	skleník	záhon
mg/kg sušiny	1140	751	1740	2280	6740	10200
mg/kg čerstvé hmoty	190	150	289	456	1110	2040

Z výsledků vyplývá, že největší obsah rozmarýnové kyseliny byl nalezen v bazalce zelené velkolisté pěstované na záhoně. Stejně tak tomu bylo i u látek podobných kávové kyselině.

Kyselina rozmarýnová patří mezi přírodní antioxidanty, které najdeme obsažené v buněčné membráně rostlin. Byla u ní zjištěna nejlepší antioxidační aktivita ze všech hydroxyskořicových kyselin, které byly testovány ve studii **Bayrasy et al., 2013**. Tato kyselina je známá pro své široké spektrum léčebných vlastností v onemocnění diabetes, zánětů nebo Alzheimerovi choroby.

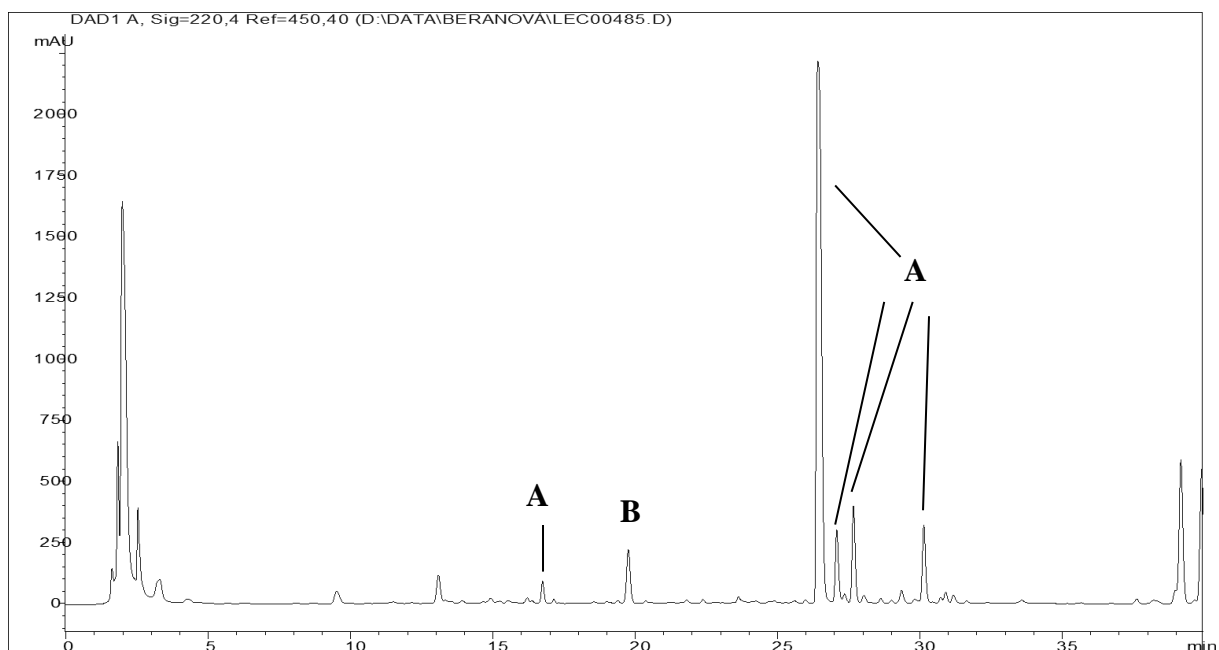
1.2 Analýza fenolických látek v čeledi Apiaceae

1.2.1 Petržel kadeřavá

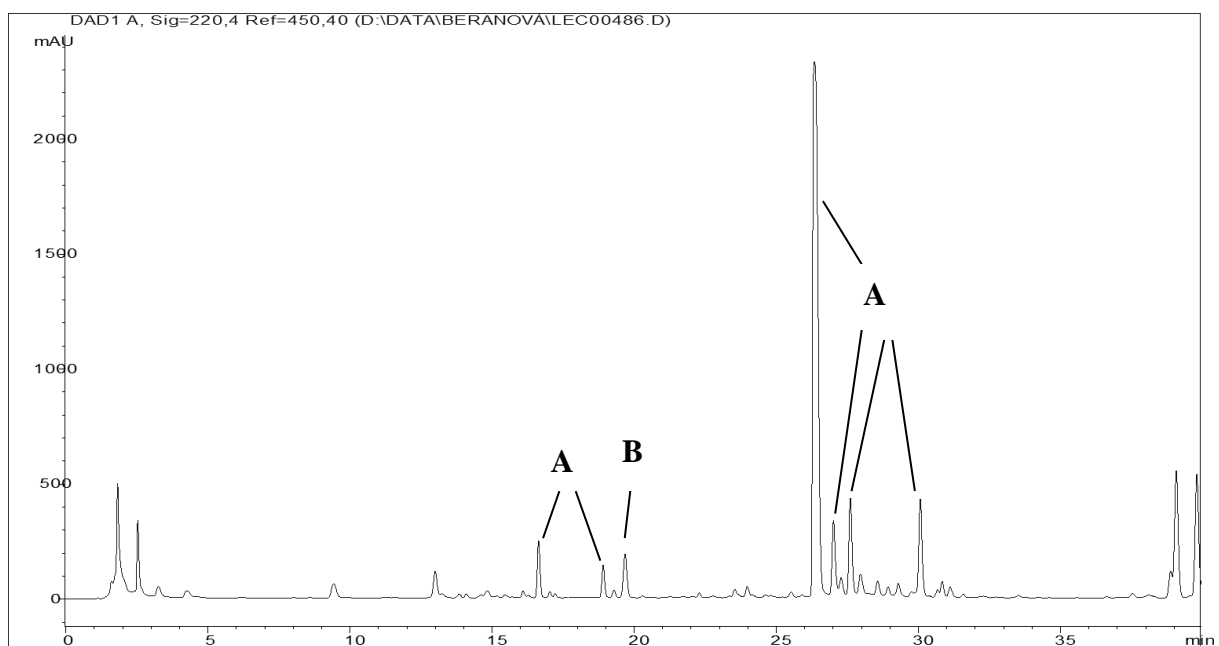
Ve vzorcích petržele kadeřavé pěstované na záhoně a ve skleníku byly zjištěny látky se spektrem odpovídajícím flavonu nebo flavonolu (pík A). Také zde byla přítomna látka se spektrem podobným kávové kyselině (pík B).

Obrázek 18. Záznam analýzy z HPLC

Petržel kadeřavá – skleník



Petržel kadeřavá – záhon



Tabulka 5. Množství fenolických látek

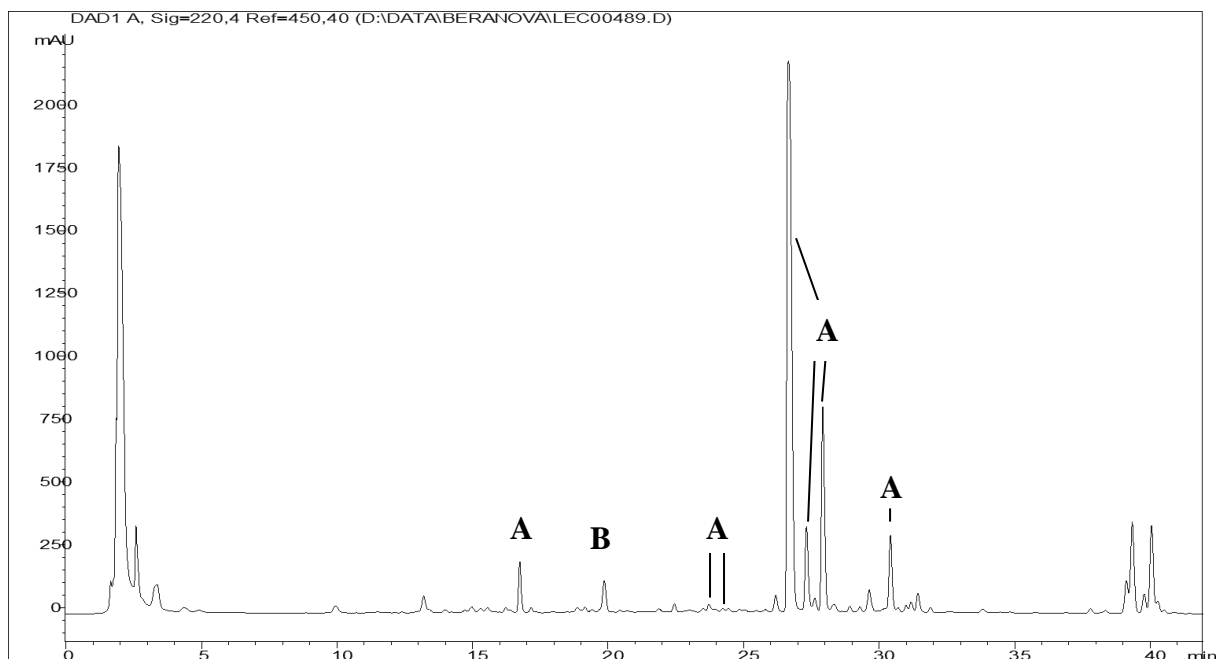
petržel kadeřavá	derivát kávové kyseliny	
	t_r 19,7	
	skleník	záhon
mg/kg sušiny	325	284
mg/kg čerstvé hmoty	66,6	74,3

1.2.2 Petržel hladkolistá

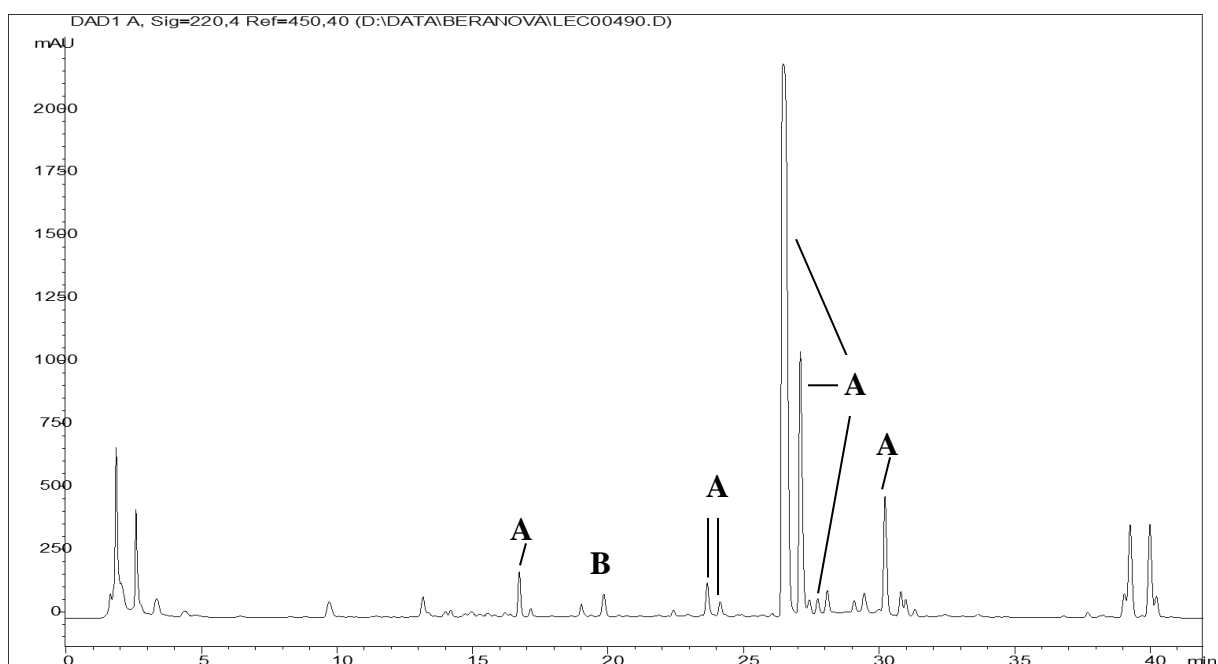
U petržele hladkolisté pěstované na záhoně a ve skleníku byly přítomny látky se spektrem odpovídajícím flavonu a flavonolu (pík A). Dále byla zjištěna látka se spektrem podobným kávové kyselině (pík B).

Obrázek 19. Záznam analýzy z HPLC

Petržel hladkolistá – skleník



Petržel hladkolistá – záhon



Tabulka 6. Množství fenolických látek

petržel hladkolistá	derivát kávové kyseliny	
	t _r 19,8	
	skleník	záhon
mg/kg sušiny	181	133
mg/kg čerstvé hmoty	44,4	35,4

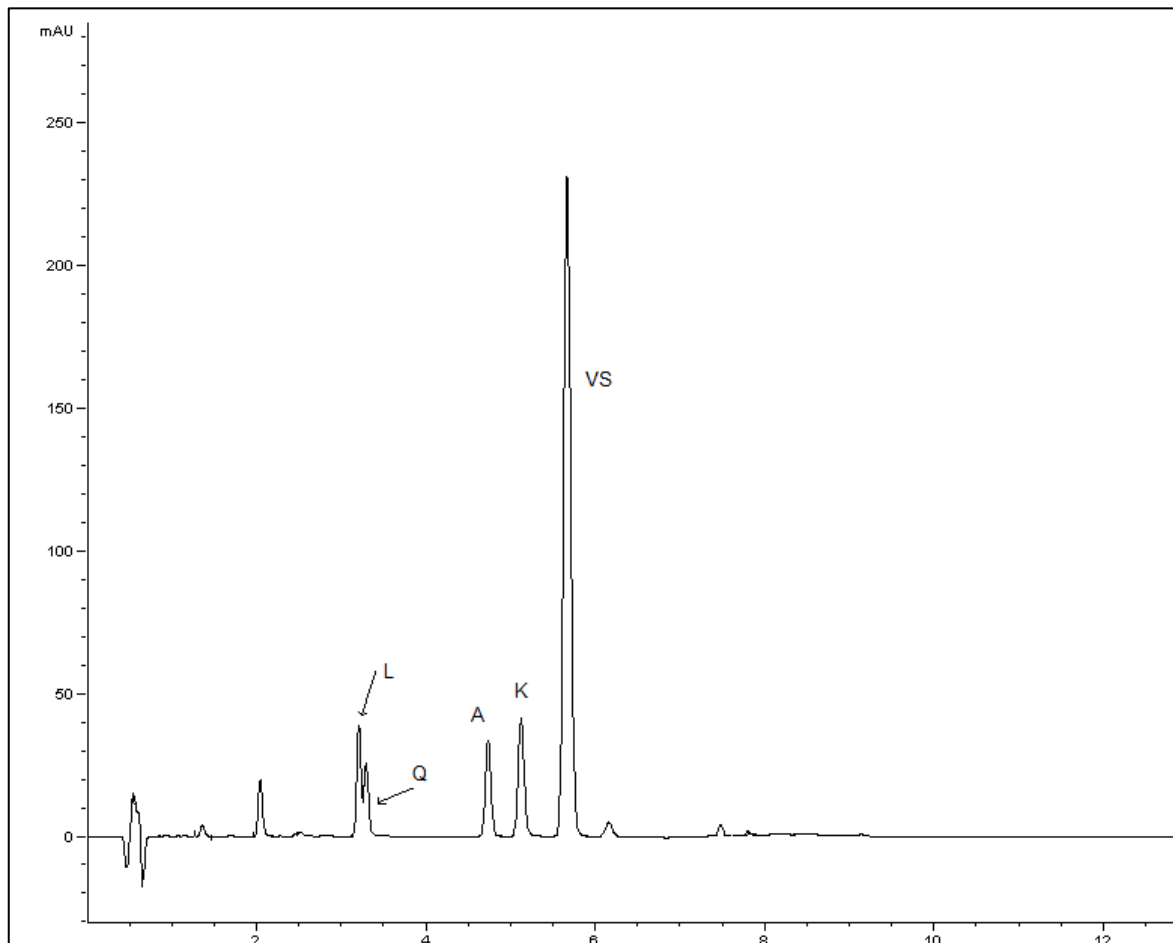
Podle výsledků byl největší obsah látky podobné kávové kyselině zjištěn v petrželi kadeřavé pěstované ve skleníku.

2. Stanovení flavonoidních aglykonů metodou HPLC

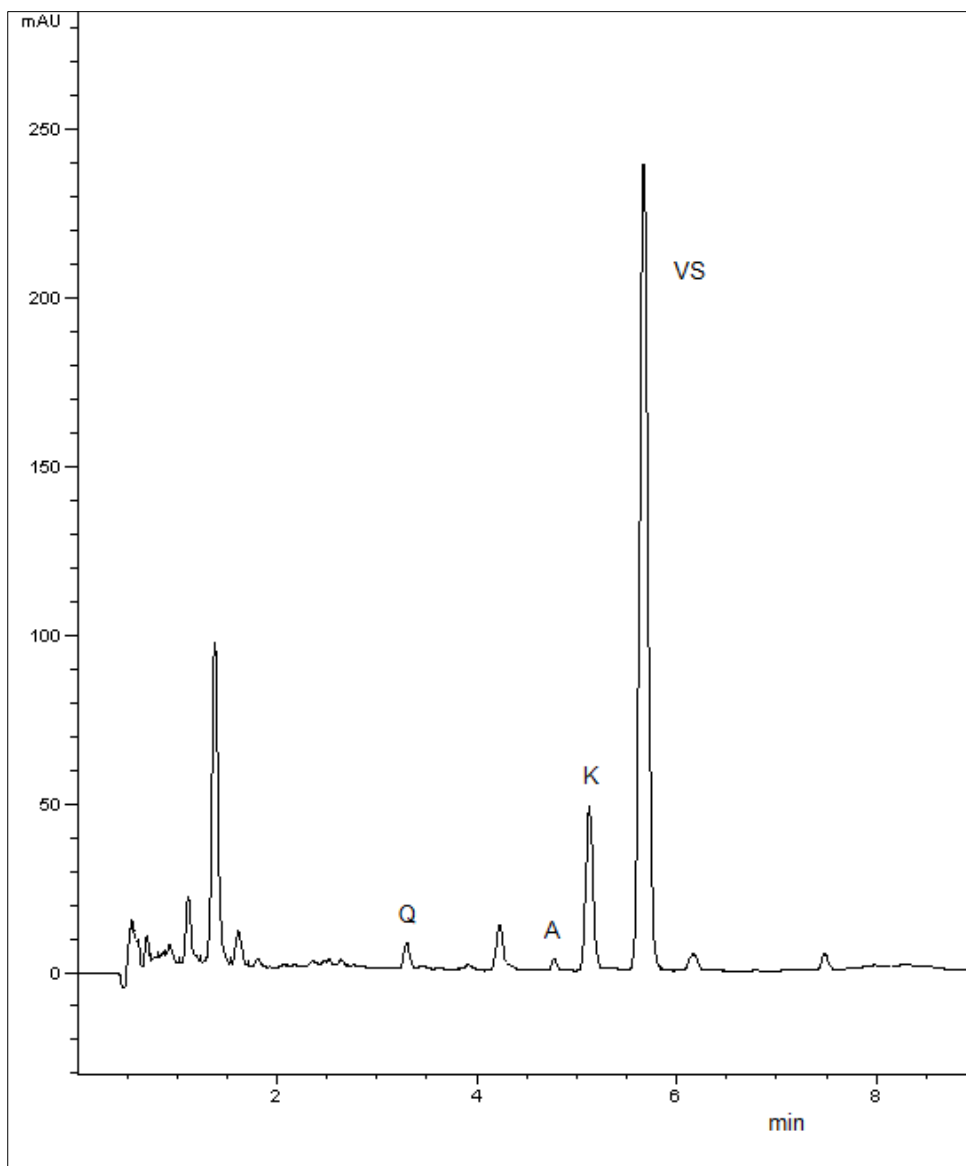
Tato metoda umožní zjistit obsah celkového množství flavonoidního aglykonu, který je v rostlinném materiálu vázán na sacharidické složky a tvoří tak glykosid. Stanovení obsahu jednotlivých glykosidických forem není mnohdy proveditelné. Analýze byly podrobeny tři druhy čeledi *Alliaceae*, dva druhy čeledi *Lamiaceae* a tři druhy čeledi *Apiaceae*. Každý druh byl pěstován na dvou stanovištích a to ve skleníku a na záhoně.

Při analýze byly zjištěny u vybraných druhů rostlin obsahy flavonolu kemferolu (pík K), kvercetinu (pík Q) a flavonu apigeninu (pík A) a luteolinu (pík L). Výsledky analýzy byly sestaveny do tabulek (Tabulka 3, 4, 5, 6).

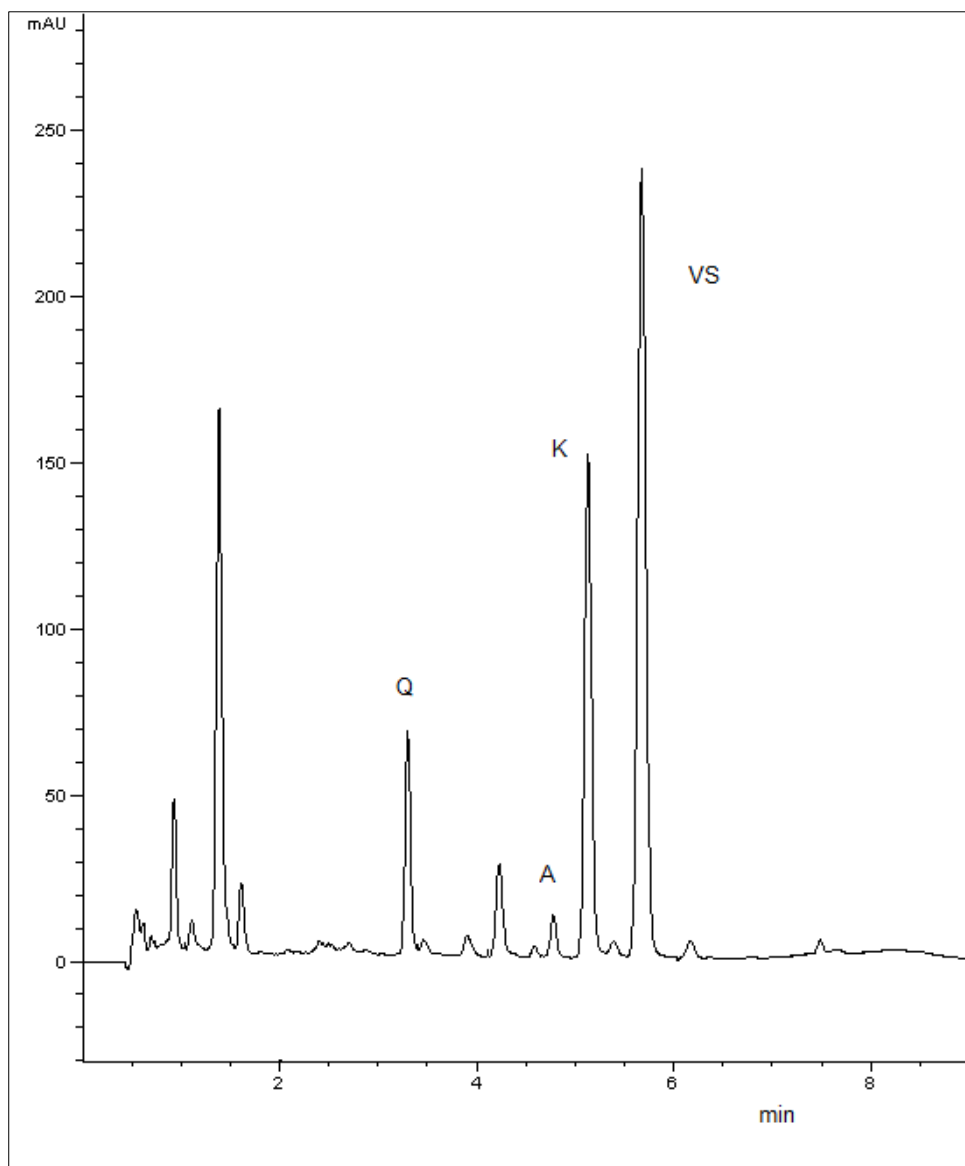
Obrázek 20. Záznam analýzy HPLC – standard (pík VS)



Obrázek 21. Záznam analýzy z HPLC pažitky čínské – skleník



Obrázek 22. Záznam analýzy z HPLC pažitky čínské - záhon



Z příkladu záznamů analýzy pažitky čínské pěstované ve skleníku a na záhoně je vidět, jak se liší obsahy vybraných aglykonů. Obsah všech tří sledovaných látek (kvercetin, apigenin a kemferol) je u pažitky ze záhonu mnohem větší.

2.1 Stanovení obsahu celkového kemferolu

Tabulka 7. Obsah celkového kemferolu - skleníku

rostlinný druh	pěstované ve skleníku		
	sušina	obsah celkového kemferolu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Pažitka čínská	9,5	451	42,8
Cibule bílá zimní	8,8	143	12,6
Cibule červená jarní	12,4	157	19,5
Bazalka zelená	19,4	112	21,7
Bazalka červená	16,6	273	45,3
Petržel kadeřavá	20,5	665	136
Petržel hladkolistá	24,6	1380	339
Celer listový	17,6	623	110

Tabulka 8. Obsah celkového kemferolu – záhon

rostlinný druh	pěstované na záhoně		
	sušina	obsah celkového kemferolu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Pažitka čínská	10,8	1410	152
Cibule bílá zimní	14,1	57,5	8,1
Cibule červená jarní	13,1	61,5	8,1
Bazalka zelená	19,3	178	34,4
Bazalka červená	20	153	30,6
Petržel kadeřavá	26,2	1690	443
Petržel hladkolistá	26,6	2210	588
Celer listový	20,1	701	141

Nejvyšší hodnoty celkového kemferolu ve vybraných druzích pěstovaných ve skleníku a na záhoně dosahuje petržel hladkolistá.

Nejméně kemferolu u druhu pěstovaného ve skleníku obsahuje cibule bílá zimní a pěstované na záhoně cibule bílá zimní a cibule červená jarní.

Naměřené hodnoty kemferolu u pažitky pěstované na záhoně byly 152 mg/kg čerstvé hmoty. Hodnoty jsou vyšší, než uvádí studie **Justensen (2001)**, kde u pažitky naměřili 120 mg/kg čerstvé hmoty. A ve studii **Trichopoulou (2000)** bylo naměřeno u pažitky 125 mg/kg čerstvé hmoty.

2.2 Stanovení obsahu celkového kvercetinu

Tabulka 9. Obsah celkového kvercetinu - skleníku

rostlinný druh	pěstované ve skleníku		
	sušina	obsah celkového kvercetinu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Pažitka čínská	9,5	154	14,6
Cibule bílá zimní	8,8	102	9
Cibule červená jarní	12,4	6230	773
Bazalka zelená	19,4	857	166
Bazalka červená	16,6	1270	211

Tabulka 10. Obsah celkového kvercetinu – záhon

rostlinný druh	pěstované na záhoně		
	sušina	obsah celkového kvercetinu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Pažitka čínská	10,8	1180	127
Cibule červená jarní	13,1	2260	296
Bazalka zelená	19,3	2770	535
Bazalka červená	20	2010	402

Největší množství kvercetinu ve vybraných druzích pěstovaných ve skleníku dosahuje cibule červená a pěstovaných na záhoně dosahuje bazalka zelená.

Nejmenších hodnot u druhů pěstovaných ve skleníku dosahuje cibule bílá zimní a pěstovaných na záhoně pažitka čínská.

Naměřené výsledky u pažitky pěstované na záhoně byly 127 mg/kg čerstvé hmoty. Hodnoty jsou vyšší, než uvádí studie **Trichopoulou (2000)**, kde naměřili u pažitky 104 mg/kg čerstvé hmoty. Výsledky u cibule červené pěstované na záhoně byly 296 mg/kg čerstvé hmoty. Hodnoty jsou nižší, než uvádí **Nuutila (2002)**, kteří naměřili 348 mg/kg čerstvé hmoty. Podle studie **Patil et al. (1995a)**, kde uvádějí hodnoty u cibule červené v rozmezí 54 - 286 mg/kg čerstvé hmoty, jsou naše výsledky vyšší. U cibule bílé zimní hodnoty kvercetinu nebyly naměřeny, z důvodu malé koncentrace. Tento výsledek odpovídá studii **Patil et al. (1995a)**.

2.3 Stanovení obsahu celkového apigeninu

Tabulka 11. Obsah celkového apigeninu - skleníků

rostlinný druh	pěstované ve skleníku		
	sušina	obsah celkového apigeninu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Pažitka čínská	9,5	45,6	4,3
Bazalka červená	16,6	252	41,8
Petržel kadeřavá	20,5	7950	1630
Petržel hladkolistá	24,6	7300	1790
Celer listový	17,6	4530	797

Tabulka 12. Obsah celkového apigeninu – záhon

rostlinný druh	pěstované na záhoně		
	sušina	obsah celkového apigeninu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Pažitka čínská	10,8	216	23,3
Bazalka červená	20	316	63,2
Petržel kadeřavá	26,2	14100	3690
Petržel hladkolistá	26,6	13000	3450
Celer listový	20,1	5800	1160

Největší obsah apigeninu u druhů pěstovaných ve skleníku dosahuje petržel hladkolistá a pěstované na záhoně dosahuje petržel kadeřavá.

Nejmenší množství u druhů pěstovaných ve skleníku a na záhoně dosahuje pažitka čínská.

Výsledky u celeru pěstované ve skleníku byly 797 mg/kg čerstvé hmoty. Hodnoty přibližně odpovídají studii **Justensen (1998)**, kde hodnoty u celeru byly 750 mg/kg čerstvé hmoty. Výsledky u petržele pěstované na záhoně byly 3690 mg/kg čerstvé hmoty u kadeřavé a 3450 mg/kg čerstvé hmoty u hladkolisté. Hodnoty jsou nižší, než uvádí studie **Justensen (2001)**, kde naměřili u petržele 5100 – 6300 mg/kg čerstvé hmoty.

2.4 Stanovení obsahu celkového luteolinu

Tabulka 13. Obsah celkového luteolinu - skleník

rostlinný druh	pěstované ve skleníku		
	sušina	obsah celkového luteolinu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Celer listový	17,6	2380	419

Tabulka 14. Obsah celkového luteolinu – záhon

rostlinný druh	pěstované na záhoně		
	sušina	obsah celkového luteolinu	
	%	mg/kg sušiny	mg/kg čerstvé hmoty
Celer listový	20,1	5610	1120

Výsledky naměřené u celeru pěstovaného ve skleníku byly 419 mg/kg čerstvé hmoty. Hodnoty jsou vyšší, než u studie **Justensen (1998)**, kde naměřili 200 mg/kg čerstvé hmoty.

Ze všech zjištěných výsledků vyplývá, že hodnoty flavonolů a flavonů jsou vyšší u rostlin pěstovaných na záhoně, než u rostlin pěstovaných ve skleníku.

7. ZÁVĚR

Obsah celkového kemferolu, kvercetinu, apigeninu a luteolinu bylo stanoveno ve třech zástupcích čeledi *Alliaceae* (pažitka čínská, cibule zimní sečka, cibule červená), dvou zástupcích *Lamiaceae* (bazalka zelená velkolistá, bazalka červená) a třech zástupcích *Apiaceae* (petržel hladkolistá, petržel kadeřavá, celer nat'ový). Analyzované byly jedlé části rostlin. Množství fenolických látek se porovnávalo u vybraných druhů pěstovaných na záhoně a ve skleníku.

Nejvyšší obsah celkového kemferolu byl stanoven u petržele hladkolisté pěstované na záhoně (588 mg/kg čerstvé hmoty) a (340 mg/kg čerstvé hmoty). Nejvyšší obsah kvercetinu byl zjištěn u cibule červené pěstované ve skleníku (773 mg/kg čerstvé hmoty) a u bazalky zelené velkolisté pěstované na záhoně (535 mg/kg čerstvé hmoty). Nejvyšší obsah celkového apigeninu byl stanoven u petržele hladkolisté pěstované ve skleníku (1790 mg/kg čerstvé hmoty) a u petržele kadeřavé pěstované na záhoně (3690 mg/kg čerstvé hmoty). Vyšší obsah celkového luteolinu byl zjištěn u celeru řapíkatého pěstovaného na záhoně (1120 mg/kg čerstvé hmoty).

Fenolické látky (fenolické kyseliny, flavonoidy), které byly určeny v čeledi *Lamiaceae* a *Apiaceae* metodou HPLC byly deriváty kávové kyseliny, rozmarýnová kyselina a flavony a flavonoly. Kávová kyselina byla u rostlin pěstovaných ve skleníku v rozmezí 44 – 409 mg/kg čerstvé hmoty a u rostlin pěstovaných na záhoně 35 – 760 mg/kg čerstvé hmoty. Rozmarýnová kyselina byla určena jen v čeledi *Lamiaceae*, hodnoty byly 1110 mg/kg čerstvé hmoty a 2130 mg/kg čerstvé hmoty ve skleníku. Na záhoně byly hodnoty 2040 mg/kg čerstvé hmoty a 9000 mg/kg čerstvé hmoty. Rozmarýnová kyselina je velmi významná z hlediska svých antioxidačních vlastností, které mají vliv na léčbu některých onemocnění (záněty, diabetes atd.).

Z výsledků vyplývá, že větší obsahy celkových fenolických látek byly zjištěny u rostlin pěstovaných na záhoně. Ze studií je zjištěno, že na obsah fenolických látek má vliv UV záření, což výsledky potvrzují.

Výjimkou byla cibule červená pěstovaná ve skleníku, která vykazovala vyšší množství celkového kvercetinu (773 mg/kg čerstvé hmotnosti). A to může vést k dalším výzkumům v této oblasti.

8. SEZNAM LITERATURY

1. Atwell B., Kridemann P., Turnbull C. (1999): *Plants in Action*. Mac Milan Education, South Yarra, 1999.
2. Bayrasy Ch., Chabi B., Laguerre M., Lecomte L., Jublanc É., Villeneuve P., Wrutniak-Cabello Ch., Cabello G. (2013): *Boosting Antioxidants by Lipophilization: A Strategy to Increase Cell Uptake and Target Mitochondria.*, 2013.
3. Berhow M.A., Vaughn S.F. (1999): *Principles and Practises of Plant Ecology*. CrC Press. Illinois, USA., 1999.
4. Cook N.C., Samman S. (1996): *J. Nutr. Biochem.*, 7, 66-76, 1996.
5. Couch J.F., Naghski J., Krewson Ch.F. (1945): *Science*, 103 (2668), 197-198, 1945.
6. Crozier A., Jensen E., Laen M.E.J, Mc Donald M.S.(1997): *J.Chrom.A.*, 761, 315-321, 1997.
7. Davídek J., Janíček G., Pokorný J. (1983): *Chemie potravin*. SNTL Praha, 1983.
8. Drbal K., Křížek M. (1999): *Analytická chemie*. ZF JU České Budějovice. ISBN 80-7040-352-7.
9. Hässig A., Liang W.X., Schwabl H., Stampfli K. (1999): *Med. Hypotheses*, 52 (5), 479-481, 1999.
10. Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Venema D.P. (1992): *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1591-1598, 1992.
11. Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vavreinova S. (2002): *Food Res. International.*, 35, 207-211, 2002.
12. Hollman P.C.H., Hertog M.G.L., Katan M.B. (1992): *J. Agric Food Chem.*, 40, 2379-2383, 1992.
13. Jírovský D. (2007): *Vysokoúčinné separační techniky v analýze fyziologicky významných látek*. Dostupné na internetu:
http://www.upol.cz/fileadmin/user_upload/PrF-dokumenty/Vedecka_rada/Habilitace_a_profesury/ukon_hab_prof/Jirovsky_David/Jirovsky_habilitacni_prace.pdf. Staženo 12. 5. 2013
14. Justesen U., Knuthsen P., Leth T. (1998): *J.Chrom.A.*, 799, 101-110, 1998.
15. Justesen U., Knuthsen P. (2001): *Food Chem.*, 732, 245-250, 2001.
16. Kalač P., Míka V. (1997): *Přírozené škodlivé látky v rostlinných krmivech*. ÚZPI, Praha 1997.
17. Karakaya S., El S.N. (1999): *Food Chem.*, 66, 289-292, 1999.

18. Kindl H., Wöber G. (1981): *Biochemie rostlin*. Academia Praha 1981.
19. Kreft S., Knapp M. Kreft I. (1999): *J. Agric. Food Chem.*, 47 (11), 4649-4652, 1999.
20. Lachman J., Orság M., Pivec. (1999): *Hort. Sci.* 26 (4), 125-134, 1999.
21. Lachman J., Orság M., Pivec V., Faustusová E. (2000): *Sci. Agric. Bohem.*, 31, 89-99, 2000.
22. Lánská D. (1991): *Zelené koření*, Zemědělské nakladatelství Brázda, Praha, 1991.
23. Li S., Zhang Q.H. (2001): *Critic. Rew. Food Sci. Nutr.*, 41(6), 451-464, 2001.
24. Liang H.-R., Sirén H., Riekkola M.-L., Vuorela P., Vuorela H., Hiltunen R. (1996): *J. Chrom A.* 746, 123-129, 1996.
25. Mandelová L. (2006): *Antimutagenní aktivita obsahových látek v zelenině a ovoci*. Dostupné na internetu:
http://is.muni.cz/th/20828/lf_d/Antimutagenni_aktivita_obsahovych_latek_v_zelenine_a_ovoci.pdf. Staženo 16. 5. 2013
26. Mártonfi P. (2006): *Systematika cievnatých rastlin.*, UPJŠ v Košiciach, 96-97, 171-172, 177-180, 2006.
27. Middleton E., Kandaswami Ch. (1993): *The Flavonoids: Advances in research since 1986*. Edited by J.B. Harborne. Chapman and Hall, London, 1993.
28. Minami M., Kitabayashi H., Ujihara A (1998): *J.Fac. Agric. Shinshu University.*, 34(2), 91-92, 1998.
29. Merken H.M., Beecher G.H. (2000): *J. Chrom. A.*, 897, 177-184, 2000.
30. Novák J., Skalický M. (2008): *Botanika, cytologie, histologie, organologie a systematika.*, PB tisk s.r.o, Praha, 256-257, 271-273,283, 2008.
31. Nuutila A.M., Kammiovirta K., Oksman-Caldentey K.-M. (2002): *Food Chem.*, 76, 519-525, 2002.
32. Pavel J. (1988): *Biochemie rostlin I.*, VŠZ, Brno, 1988.
33. Patil B.S., Pike L.M., Yoo K.S. (1995a): *Variation in the quercetin content in different colored onions (Allium cepa L.)*, *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 120, 909-913, 1995.
34. Petersen M., Simmonds M.S.J. (2003): *Phytochemistry* 62, 121-125, 2003.
35. Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. a kolektiv (1998): *Fyziologie rostlin*. Academia, Praha, 1998.
36. Ritchey J.G., Waterhouse A.L. (1999): *Am. J.Enol. Vitic.*, 50 (1), 91-100, 1999.

37. Sakakibara H., Honda Y., Nakagawa S., Ashida H., Kanazawa K. (2003): *J. Agric. Food Chem.*, 51, 571-581, 2003.
38. Sobková K. (2009): *Antibakteriální účinky přírodních látek.*, Univerzita Pardubice, 2009. Dostupné na internetu:
http://dspace.upce.cz/bitstream/10195/33854/1/SobkovaK_Antibakterialni%20ucinky_JM_2009.pdf. Staženo 12. 5. 2013
39. Suschetet M., Siest M.-H., Le Bon A.-M., Canivenc- Lavier M.-C. (1998): *Polyphenols 96*, Edited by INRA, Paris, 1998.
40. Trichopoulou A., Vasilopoulou E., Hollman P., Chamalides Ch., Foufa E., Kaloudis Tr., Krombout D., Miskaki Ph., Petrochilou I., Poulima E., Stafilakis K., Thephilou D. (2000): *Food Chem.*, 70, 319-323, 2000.
41. Trnka J., Táborská E. (2002): *Přírodní polyfenolické antioxidanty*. Dostupné na internetu: www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf. Staženo 12. 5. 2013

9. PŘÍLOHY

Příloha 1. Zdroje použitých obrázků

Pažitka čínská

<http://osiva-semena.cz/listove-zeleniny/1428-pazitka-cesnekova-allium-tuberosum-semena-pazitky-1-gr.html>

Cibule zimní sečka

<http://www.prirodnizahrada.cz/Cibule.htm>

Cibule červená Tropeana lunga

<http://obchod.pestovani.in/cz/zelenina-semena/15460-cibule-j-aterv-tropeana-lunga-8590811083627.html>

Bazalka pravá

<http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id55653/?taxonid=41173>

Bazalka pravá červená

<http://www.sepo.wbl.sk/Bylinkova-zahrada.html>

Petržel hladkolistá

<http://www.studuju.cz/obrazek-113>

Petržel kadeřavá

<http://tvojeprincezna.blog.cz/en/1106/petrzenal-kaderava>

Celer naťový

https://facultystaff.richmond.edu/~jhayden/wjh_ur_courses/lab_manual_taxa_photos/apium_graveolens_%27golden_self_blanching%27_UBC_01s.JPG