

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
**Ústav výživy zvířat a pícninářství**

---



**Sledování antioxidační aktivity u brojlerových kuřat při  
zkrmování pšenice s netradičním zabarvením**

Diplomová práce

*Vedoucí práce:*

Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.

*Vypracovala:*

Bc. Lenka Zindulková

---

Brno 2015

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Lenka Zindulková, DiS.**  
Studijní program: Zootechnika  
Obor: Krmivářství  
Název tématu: **Sledování antioxidační aktivity u brojlerových kuřat při zkrmování pšenice s netradičním zabarvením**  
Rozsah práce: ca 50 stran

Zásady pro vypracování:

1. V přehledu literatury shrňte dosavadní poznatky o využití pšenice ve výživě drůbeže, pojednejte o nových odrůdách s netradičním zabarvením.
2. Shrňte dosavadní poznatky o antioxidačních enzymech, antioxidační aktivitě a o jejich významu pro živočišný organismus. Pojednejte o ovlivnění antioxidační aktivity příjmem různých látek.
3. Proveďte krmný pokus s brojlerovými kuřaty s použitím barevné odrůdy pšenice.
4. V živočišných vzorcích proveďte stanovení antioxidační aktivity.
5. Získaná data zpracujte do tabulek a grafů a statisticky vyhodnoťte.

Seznam odborné literatury:

1. ZIMOLKA, J. – HRIVNA, L. – JÁNSKÝ, J. – MAREČEK, J. – RICHTER, R. *Pšenice – pěstování hodnocení a využití zrna*. 1. vyd. Praha: Profi Press s.r.o., 2005. 180 s. ISBN 80-86726-09-6.
2. PRUGAR, J. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha: TISKAP, 2008. ISBN 80-86576-28-0.
3. KACEROVSKÝ, O. a kol. *Zkoušení a posuzování krmiv*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. 213 s. ISBN 80-209-0098-5.
4. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. ISSN 0021-8561.
5. ZELENKA, J. *Výživa a krmení drůbeže*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005. 88 s. ISBN 80-7157-853-3.
6. *British Poultry Science*. ISSN 0007-1668.
7. *Poultry Science*. ISSN 0032-5791.
8. J. Sochor, M. Ryvolova, O. Krystofova, P. Salas, J. Hubalek, V. Adam, L. Trnkova, L. Havel, M. Beklova, J. Zehnalek, I. Provaznik and R. Kizek, "Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: Advantages and disadvantages", *Molecules*, 2010, pp. 8618-8640.
9. NATIONAL RESEARCH COUNCIL: Nutrient requirements of laboratory animals. 4th ed., Washington DC, USA, National Academy Press, 1995. ISBN 0-309-05126-6

Datum zadání diplomové práce: říjen 2012

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2015

  
**Bc. Lenka Zindulková, DiS.**  
Autorka práce



  
**Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.**  
Vedoucí práce

  
**prof. MVDr. Ing. Petr Doležal, CSc.**  
Vedoucí ústavu

  
**prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.**  
Děkan AF MENDELU

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Sledování antioxidační aktivity u brojlerových kuřat při zkrmování pšenice s netradičním zabarvením vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....  
podpis



Výzkum popsáný v této diplomové práci byl realizován v laboratořích podpořených z projektu SIX; registrační číslo CZ.1.05/2.1.00/03.0072, operační program Výzkum a vývoj pro inovace.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala Mgr. Ing. Evě Mrkvicové, Ph.D. za odborné vedení a poskytnutí souhrnných dat pro tento pokus. Dále za její trpělivý přístup a cenné rady. Děkuji také mojí rodině a kamarádům za podporu při celém studiu.

Diplomová práce vznikla na základě řešení projektu TP IGA MENDELU v Brně 1/2014.

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce se zabývá vlivem zkrmování pšenice Konini s vyšším obsahem anthokyanů na antioxidační aktivitu u brojlerových kuřat. Pro pokus byla zvířata rozdělena do dvou skupin po 32 kusech a pro každou skupinu byla sestavena krmná směs.

Pro pokusnou skupinu byla použita pšenice Konini, pro kontrolní skupinu byla zařazena obyčejná pšenice, ve které byl obsah dusíkatých látek vyrovnán pšeničným lepem. Denně byla sledována spotřeba krmiva. Během pokusu byli kohoutci krmeni výhradně monodietou, aby byl jasně prokázán vliv sledovaného krmiva na antioxidační aktivitu. Po ukončení experimentu byla odebrána krev a vzorky jater.

Antioxidační aktivita byla zjišťována metodami DPPH, FRAP, FR a ABTS. Aktivita jaterních enzymů byla měřena z krve (ALT, AST, ALP a GMT).

U kohoutků, kteří byli krmeni pšenicí Konini, byly prokázány významně odlišné hodnoty u metod DPPH, FR a ABTS. Kohoutci krmeni pšenicí Konini měli obecně nižší aktivitu jaterních enzymů, až na aktivitu GMT, kde byla výrazná odlišnost v krvi kohoutků. Výsledky dokazují, že zkrmování vyššího obsahu anthokyanů zlepšuje antioxidační aktivitu a stav jaterní tkáně.

**Klíčová slova:** antioxidační aktivita, pšenice Konini, anthokyany, brojlerová kuřata

## **ABSTRACT**

The aim of the diploma thesis is the influence of feeding purple wheat Konini with the higher contents of anthocyanins on the antioxidant activity measured in hybrid male chickens. For experiment were the animals divided into two groups of 32 each. Feed mixtures were prepared for each group.

For the experimental group the wheat Konini was used. For the control group the common wheat was used, in which the protein content was increased by the wheat gluten. The feed consumption was daily monitored. The male chickens were fed exclusively by mono diet during the experiment in order to clearly demonstrate the influence of the monitored feed on the antioxidant activity. After the experiment blood and liver samples were taken.

The antioxidant activity was measured by the methods DPPH, FRAP, FR and ABTS. The liver enzyme activities were measured from blood (ALT, AST, ALP and GMT).

Significantly different values for methods DPPH, and ABTS, FR were proved by male chickens that were fed by the wheat Konini. The male chickens fed by the wheat Konini generally had lower activity of liver enzymes, but significant difference was in GMT activity in the male chicken's blood. The results show that the feeding of the higher content of anthocyanins improves the antioxidant activity and the condition of the liver tissue.

**Keywords:** antioxidant activity, wheat Konini, anthocyanins, male chickens



## Obsah

1	ÚVOD .....	10
2	PŘEHLED LITERATURY .....	11
2.1	Pšenice jako nenahraditelná složka .....	11
2.1.1	Krmné hodnoty proteinu zrna pšenice .....	12
2.2	Netradiční zabarvení pšenice .....	15
2.3	Antioxidační aktivita .....	18
2.3.1	Volné radikály .....	18
2.4	Antioxidační ochranný systém .....	20
2.4.1	Antioxidační enzymy .....	20
2.4.2	Vysokomolekulární antioxidanty .....	22
2.4.3	Nízkomolekulární antioxidanty .....	23
2.4.4	Polyfenolické sloučeniny .....	25
2.4.5	Stanovení jaterních enzymů .....	27
2.4.6	Stanovení antioxidační aktivity .....	29
3	CÍL PRÁCE .....	30
4	MATERIÁL A METODIKA .....	31
4.1	Charakteristika pokusu .....	31
4.1.1	Příprava vzorků z krve .....	34
4.1.1	Příprava vzorků z jaterní tkáně .....	34
4.2	Metody stanovení antioxidační aktivity .....	35
4.2.1	Stanovení antioxidační aktivity metodou používající ABTS .....	35
4.2.2	Stanovení antioxidační aktivity metodou používající DPPH .....	36
4.2.3	Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody FR .....	36
4.2.4	Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody FRAP .....	36
5	VÝSLEDKY A DISKUSE .....	38
5.1	Spotřeba krmiva .....	38
5.2	Přírůstky hmotnosti .....	38
5.3	Výsledky antioxidační aktivity .....	41
6	ZÁVĚR .....	44
7	SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ .....	46
8	LITERATURA .....	47

# 1 ÚVOD

Nejvýznamnějším faktorem, který limituje užitečnost a rentabilitu chovu, je bezpochyby výživa. Můžeme říci, že zdravé a dobře živěné zvíře, je základním předpokladem pro dosažení jak intenzivní produkce v konvenčním chovu, tak základem dlouhověkosti u zvířat chovaných doma.

Poznatky o výživě drůbeže jsou podstatně rozsáhlejší než u kterýchkoliv jiných druhů hospodářských zvířat. Tím, že kuřata rychle rostou a dobře se s nimi manipuluje, jsou velmi vhodná pro studium a provádění výzkumů.

Je neuvěřitelné, když si uvědomíme, že roku 1946 v proslulém brojlerovém testu (USA) dosahovala hmotnost nejlepších kuřat po desetidenním výkrmu sotva 1,2 kg, a že takřka vypilované technologie 21. století, nám nabízejí brojlerová kuřata s průměrnou hmotností přes 2 kilogramy a časem potřebným na jejich výkrm okolo 35 dnů.

Jelikož pokrok nemůžeme zastavit a nové technologie jdou neustále kupředu, je snahou přispívat i malou měrou k tomuto úsilí.

## 2 PŘEHLED LITERATURY

### 2.1 Pšenice jako nenahraditelná složka

Historie pěstování pšenice je datována někdy v období neolitu, zhruba 8000 až 5000 let před naším letopočtem, ve kterém se namísto dosavadního lovu a sběru stává hlavním zdrojem obživy zemědělství. Archeologické nálezy z tohoto období dokazují pěstování pšenice jednozrnky (*Triticum monococcum*) a pšenice dvouzrnky (*Triticum dicoccum*). V 6. století před naším letopočtem se už začala pěstovat pšenice obecná (*Triticum aestivum*), (GAJDOŠOVÁ, ŠTURDÍK, 2004). Po všechna tato tisíciletí, až dodnes, patřily a patří obiloviny k hlavním energetickým a z nezanedbatelné části i bílkovinným zdrojům lidské obživy. V minulých dobách, kdy nebyl v Evropě všeobecný dostatek potravy a nebyly známy ani brambory ani cukr, byly totiž hlavními zdroji energie obiloviny a tuk (ČEPIČKA a kol., 1995).

Ve výživě zvířat plní pšenice nepostradatelnou roli, protože je nositelkou velké části dusíkatých látek rostlinného původu a zejména pak, hlavním zdrojem energie ve formě škrobu, který se podílí na stavbě jejích zrn (ZEMAN, 2006). Je to nejvýznamnější plodina mírného pásma, která se využívá jak v potravinářství, tak k průmyslovým účelům a v krmivářství. V Česku je pšenice nejdůležitější hospodářskou obilninou, je součástí každodenního jídelníčku a pro hospodářská zvířata má nepostradatelný význam. V globálním měřítku zabírá více osevních ploch než pšenice pouze rýže (ZIMOLKA, 2005).

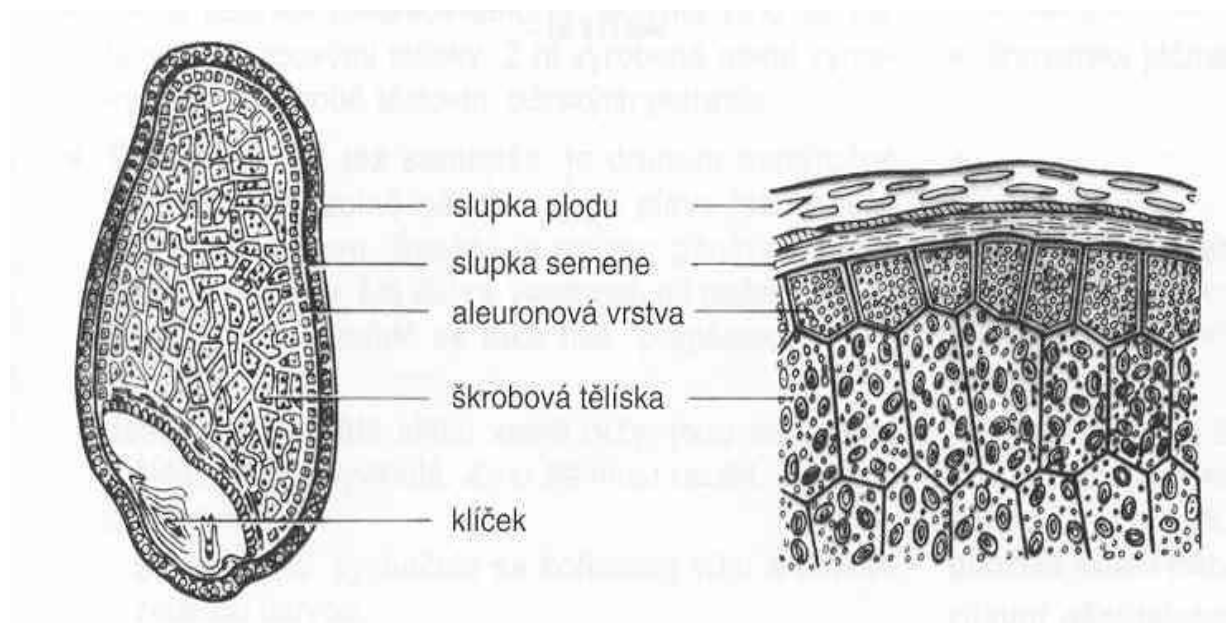
Pšenice určená ke krmným účelům by měla splňovat následující parametry, a to sušinu, která by měla být minimálně 86 %, hektolitrovou hmotnost alespoň 72 kg, vlastním rozborem stanovit obsah dusíkatých látek, které jsou v pšeničném zrně velmi variabilní, a měly by se pohybovat v hodnotách mezi 11 a 14 %. Ve směsi se doporučuje podíl pšenice do 20 – 25 %, ovšem za použití enzymů, může jít její hodnota až na 50 %. Desetiprocentní zastoupení jemně šrotované pšenice přispívá ke zlepšení pevnosti granulí (ZELENKA, 2014). Výživová hodnota pšenice je ovlivňována jak geneticky, tak i agrotechnickými vlivy (JEDLIČKA, 2012), snahou je zaměřit se především na snížení obsahu vlákniny, zvýšit energetickou hodnotu zrna, eliminovat nekvalitní proteinové frakce, zlepšit stravitelnost proteinu, vytvářet odrůdy se sníženým obsahem fytátů, zvýšit obsah a aktivitu enzymů upravujících stravitelnost a věnovat zvýšenou pozornost odrůdám s vyšším obsahem dusíkatých látek a esenciálních aminokyselin (ZIMOLKA, 2005).

### 2.1.1 Krmné hodnoty proteinu zrna pšenice

Živinové složení pšeničného zrna bezprostředně souvisí s hmotnostními podíly jeho jednotlivých částí. Tabulka 1 uvádí látkové složení v jednotlivých částech zrna, hodnoty jsou uvedeny v % sušiny. Obecně lze říci, že obalové vrstvy jsou převažujícím zdrojem vlákniny, aleuronové buňky – vlákniny a bílkovin, endosperm je složen, kromě zásobních proteinů, zejména ze škrobu a zárodek je do určité míry depem tuků, minerálních látek, bílkovin a vitamínů (HUČKO a kol., 2010). Na obrázku 1 je znázorněn podélný řez pšeničným zrnem. Obalové vrstvy jsou určeny k ochraně zrna před mechanickým poškozením a krátkodobými účinky vody a škodlivých látek. Patří sem oplodí (perikarp), které je tvořeno z jednovrstevné pokožky a osemení (testa), nacházející se pod oplodím, kde jsou barviva určující vnější vzhled zrna. Vnitřní jádro (endosperm) je tvořeno vrstvou aleuronových buněk, samotný endosperm je tvořen buňkami se škrobovými zrny. Zárodek (embryo, klíček) je cenným zdrojem tuků a vitamínů.

*Obrázek 1: Složení pšeničného zrna. Zdroj:*

<http://www.ssss.cz/files/kpucebnice/p/pv/1/druhyobilovi.htm>



Bez ohledu na pšeničný druh, užitkový směr, systém pěstování či odrůdu, převažující živinovou skupinou, tvořící zrna, jsou sacharidy (700 – 750 g/kg zrna). Jde o velice různorodou skupinu strukturálních a zásobních látek s velice kontrastní energetickou hodnotou. Nejpočetněji je zastoupen škrob, který spolu s jednoduchými cukry je nejlépe stravitelný. Ve

srovnání s tím organický bezdusíkatý zbytek a vláknina jsou reprezentovány především neškrobovými polysacharidy, které představují pro většinu zvířat pouze obtížně využitelný substrát. Do této skupiny živin patří i lignin, považovaný za hlavní inhibitor stavitelnosti živin. Škrob obvykle obsahuje 20 – 30 % amylozy a 70 – 80 % amylopektinu (ZELENKA, 2014). Obiloviny všeobecně jsou hlavním zdrojem energie ve formě škrobu a řadíme je do skupiny glycidových krmiv (ZEMAN, 2006).

Po sacharidech, do energetické hodnoty zrna, nejvíce zasahují dusíkaté látky. Pro krmivářské účely nejčastěji označovány jako N \* 6,25 (resp. pro pšenici N \* 5,7). Jejich obsah bývá ze všech živin nejvíce rozkolísaný, což je výsledkem genetických, agrotechnických a environmentálních vlivů (KŮST, 2013). Můžeme hovořit o protoplazmatických (strukturálních) a zásobních bílkovinách. Ty první, reprezentované albuminy a globuliny, plní v obilce především metabolické a strukturální funkce, tzn. že, jsou součástí enzymů, enzymových inhibitorů, buněčných stěn, membrán a ribosomálního aparátu. Z nutričního hlediska je důležité, že jejich aminokyselinové složení je z pohledu potřeb nepřežvýkavých zvířat příznivější, než zásobních bílkovin. Strukturální bílkoviny jsou pod silnou genetickou kontrolou a jejich obsah se agrotechnickými zásahy nedá prakticky ovlivnit (PRUGAR, 2008).

Zásobní bílkoviny jsou tvořeny ze dvou hlavních frakcí gliadinů a gluteninů. Z nutričního hlediska mohou, zejména u nepřežvýkavých, způsobovat problémy zpomalením pasáže tráveniny a zhoršením resorpce živin v zažívacím traktu. Obsah a poměr zásobních bílkovin bývá velice variabilní, přičemž je výrazně ovlivňován hnojením, agrotechnikou, zralostí i geneticky. Míra využití bílkovin pšeničného zrna je závislá nejenom na celkovém množství aminokyselin, vybalancovanosti vzájemných poměrů, ale i na jejich stravitelnosti (PRUGAR, 2008).

Menší část komplexu dusíkatých živin, asi jednu desetinu z obsahu, představují dusíkaté látky nebílkovinné povahy, reprezentované nejčastěji nitráty, aminocukry, amidy, amidickými solemi, aminy, volnými aminokyselinami apod. Jedná se o dusíkatou frakci, která je sice zvířaty dobře stravitelná, ovšem pro nepřežvýkavá zvířata téměř nedostupná, s minimální energetickou hodnotou, zatěžující navíc detoxikační mechanismy organismu. Nepříznivou roli na dostupnost živin pro organismus sehrávají i bílkoviny typu hemaglutenu, inhibitorů amyláz a proteáz, alfa-gliadinových bílkovin a dalších bílkovin antinutriční povahy (HUČKO a kol., 2010).

Obsah tuku v pšeničném zrně, kolem 20 g/kg zrna, je velmi nízký a tato živina výrazně do energetické hodnoty zrna nezasahuje. Přibližně stejné množství zaujímají také minerální

látky, které se stejně jako vitamíny, nacházejí zejména v klíčku a v obalové vrstvě zrna (ZEMAN, 2006). Z hlediska nutriční hodnoty, jsou tedy klíčky velmi cenné. Z celkového chemického složení zrna obsahují klíčky větší podíl sacharidů, bílkovin bohatých na esenciální aminokyseliny a tuků. Klíčky jsou zdrojem celého souboru biologicky vysoce hodnotných látek a obsahují všechny vitaminy skupiny B, vitaminy A, C, D a E. Olej z pšeničných klíčků má obzvláště vysoký obsah vitamínu E, který má vlastnosti antioxidantů a chrání buněčné membrány (PRUGAR, 2008).

*Tabulka 1: Obsah živin v pšeničné dietě (100 % sušina) Zdroj: [is.mendelu.cz/eknihovna/opory/download.pl?objekt=6377](http://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/download.pl?objekt=6377)*

Složka	Popel	Bílkoviny	Tuky	Celková vláknina	Pentosany	Škrob
<b>Oplodí a osemení</b>	3,4	6,9	0,8	50,9	46,6	-
<b>Aleuronová vrstva</b>	10,9	31,7	9,1	11,9	28,3	-
<b>Klíček</b>	5,8	34	27,6	2,4	-	-
<b>Endosperm</b>	0,6	12,6	1,6	0,6	3,3	80,4

Zrna obilovin jsou všeobecně chudá na minerální látky. Obzvláště nízký je obsah vápníku a fosfor je zase vázaný ve formě kyseliny fytové. Komplexy některých prvků s kyselinou fytovou se nazývají fytáty. Aby mohl být fosfor zvířaty z této vazby využit, musí být uvolněn enzymatickou hydrolýzou, a jelikož zvířata nemají enzym fytázu, potřebný k uvolnění z této vazby, je pro ně tak méně využitelný, ovšem záleží na konkrétním druhu zvířete. Následkem nevyužitelnosti, se fosfor dostává výkaly do půdy a působením půdních mikroorganismů, zde dochází k jeho uvolňování. Hrozí riziko vyplavení do vod a následné ekologické problémy ve vodních nádržích spojených s eutrofizací (ZEMAN a kol., 2006). Fytázy se proto vyrábějí pomocí mikroorganismů a přidávají do krmných směsí. Vyšší využití fosforu z rostlin vede ke sníženému vylučování fosforu v exkrementech až o 50 %, a tím se značně omezí zátěž životního prostředí (ZELENKA, 2014).

U některých druhů obilovin, je jejich nutriční hodnota negativně ovlivněna přítomností různých neškrobových polysacharidů (NSP), zejména beta – glukanů a arabinoxylanů. NSP jsou jen omezeně stravitelné nebo nestravitelné vůbec a u zvířat mají negativní vliv na užitkovost, protože pro jejich hydrolýzu nevytvářejí zvířata potřebné enzymy. Specifickou vlastností těchto látek, je jejich částečná vodorozpustnost, která v trávicím traktu vede k tvorbě

viskózních gelů (ZELENKA, 2014). Zvýšení viskozity omezuje promíchávání chymu, narušuje činnost trávicích enzymů, zpomaluje pasáž tráveniny a způsobuje vylučování lepivého trusu. Důsledkem těchto vlivů je snížen příjem krmiva, zvyšuje se spotřeba vody, dochází ke snížené stravitelnosti živin a využitelnosti energie, dále k poklesu hmotnostních přírůstků, zvětšuje se trávicí trakt a snižuje se jatečná výtěžnost (ZELENKA, 2014). Tyto negativní účinky se dají eliminovat přidáním enzymů do krmné dávky, glukonázy a xylanázy, a tím snížit jejich antinutriční aktivitu. Hlavním efektem enzymatických přípravků je snížení schopnosti viskózních NSP vázat ostatní komponenty tráveniny, což vede k lepšímu trávení a zvyšuje se metabolizovatelná energie krmiva. Zároveň se snižuje množství trusu, zlepšuje se kvalita podestýlky a zmenšuje se množství uvolňovaného amoniaku, což napomáhá zlepšit mikroklima v hale a zachovat tak dobrý zdravotní stav zvířat (ZELENKA, 2014).

## **2.2 Netradiční zbarvení pšenice**

Snaha o zvýšení nutriční hodnoty potravin, krmiv a výrobků z nich, je celosvětovým trendem. Využívání nejrůznějších surovin se zvýšeným obsahem nutričně významných složek potravy, umožňuje vyvíjet stále širší sortiment výrobků s pozitivními zdravotními účinky na lidský organismus, a má proto velký vliv na rozšíření konzumace takto obohacených produktů mezi spotřebiteli různých věkových skupin (ROMERO – BARANZINI a kol., 2007).

Vyšší obsah a odlišné složení bílkovin, různé zastoupení vitamínů i látek s antioxidačními účinky (zejména ze skupiny flavonoidů) mají i jiné typy pšenice (špalda, dvouzrnka a další) nebo některé specifické genetické zdroje pšenice seté (ABDEL – AAL a kol., 2006, MARTINEK a kol., 2006; PENNINGTON, 2002).

Zahraniční publikace s výsledky využití netradičních zrnin k přípravě cereálních výrobků s příznivým vlivem na prevenci diabetu, kardiovaskulárních a dalších civilizačních chorob se začaly výrazněji objevovat v posledních 20 letech. Současný přehled původních prací potvrzuje, že toto téma začíná nabývat významu i v tuzemsku (GAVURNÍKOVÁ a kol., 2010; ŠVEC a HRUŠKOVÁ; 2010, MARTINEK a kol., 2010).

Pšenice setá (ozimá i jarní forma) může disponovat různou barvou zrna. Nejvíce vyskytované je červené (červenohnědé) zbarvení, které je způsobeno přítomností anthokyanů a dalších fenolických sloučenin v osemeni a oplodí (MARTINEK a kol., 2010). Je zde nižší

aktivita hydrolytických enzymů a vyšší zastoupení fenolických látek, ty omezují volné radikály a fungují jako nespecifické inhibitory (LACHMAN a kol., 2003).

Existují i genotypy, jejichž obilky vykazují i jiné zbarvení a to purpurové či modré, kde jsou zastoupeny ve formě glykosidů anthokyaniny nebo rutinosidy cyanidin a delphinidin. Anthokyaniny fungují jako antioxidanty a mají protirakovinový účinek (VARGA a kol., 2013). U purpurového zbarvení převládá jako aglykon cyanidin, u modrého zbarvení se více vyskytuje delphinidin (FARAH a kol., 2008; ABDEL – ALL a kol., 2008). Produkce těchto pigmentů je podmíněna určitými biochemickými drahami, které jsou řízeny skupinou genů, jež byly pomocí klasických genetických metod detekovány a lokalizovány na chromozomy. Bylo prokázáno, že distribuce uvedených barviv je v obilce přesně lokalizována. U purpurového zbarvení obilky se pigmenty ukládají do perikarpu (např. odrůdy Konini, Purple, Purple Feed, Abissinskaja Arrasajta), zatímco u modrého zbarvení jdou do aleuronové vrstvy (odrůdy Tschermaks, Sommerweizen), (TROJAN a kol., 2010; MOLTON, CORNISH, 1995; DIXON, STELLE, 1999).

Žluté zrna, je dáno obsahem luteinu, zeaxantinu a zejména obsahuje vyšší obsah beta – karotenů, které se kumulují do endospermu (odrůdy Citrus, Luteus, Bona Dea, Yellow, Carotti). Bílé zrna obsahuje méně hořkých fenolických látek a nenachází se v něm polyfenol oxidasa (odrůda Novosibirskaja 67) (MARTINEK a kol., 2011).

Genotypy, lokalizované na chromozomech, lze navzájem různě kombinovat a vytvářet tak odrůdy s vyšší antioxidační aktivitou (MARTINEK a kol., 2011). Právě látky s antioxidačním účinkem, ovlivňují specifické zbarvení zrna. Dá se tedy předpokládat, že jejich dlouhodobější užívání hospodářskými zvířaty, by mohlo mít příznivý vliv na jejich zdraví, potažmo na zdraví lidí (POKORNÝ, 2001; KNIEVEL, 2009). V tabulce 2 jsou zobrazeny různé genotypy jednotlivých barevných odrůd pšenice.















#### *Novozélandská odrůda Konini*

Pšenice s purpurovým perikarpem, má vyšší obsah anthokyanů (14,1 mg/g zrna) zastoupených především ve formě kyanidin-3-glykosidu, kyanidin-3-rutinosidu a peonidin-3-glukosidu (KNIEVEL a kol., 2009). Anthokyaniny mají výrazné antioxidační účinky a působí příznivě na zdraví lidí i zvířat. Zmírňují riziko oxidačního poškození, zvyšují schopnost vazby těžkých kovů nebo mohou působit preventivně proti kardiovaskulárním onemocněním (WALLACE, 2011).



Tabulka 2: Netradiční genotypy barevných odrůd pšenice. Zdroj:

[www.davidpublishing.com/DownLoad/?id=8042](http://www.davidpublishing.com/DownLoad/?id=8042)

Varieta pšenice	původ	odrůda	Varieta pšenice	původ	odrůda
Blue aleuron 48M	Czech Republic		Purple pericarp ANK 28A	Czech Republic	
Blue aleuron UC 66049	Czech Republic		Purple pericarp ABISSINSKAJA ARRASAJTA	Czech Republic	
Blue aleuron RU 440-6	Czech Republic		Purple pericarp KONINI	Czech Republic	
Yellow endosperm CITRUS	Czech Republic		Red grain FEDERER	Czech Republic	
Yellow endosperm BONA DEA	Czech Republic		Yellow endosperm BONA DEA	Slovak Republic	
Yellow endosperm LUTEUS	Czech Republic		Yellow endosperm BONA VITA	Slovak Republic	
Brown IS CORVINUS	Slovak Republic		Brown HANA	Slovak Republic	

## 2.3 Antioxidační aktivita

V živých systémech mají reakce antioxidantů a volných radikálů určitý průběh a rychlost. Taková reakce se označuje pojmem antioxidační aktivita (KOPŘIVA, 2011). Celková antioxidační aktivita (total antioxidant activity) je parametrem, který určuje množství kapacity vzorku biologického materiálu eliminovat radikály (PAULOVÁ a kol., 2004).

Jednou z možností, jak chránit organismus před vlivem exogenních i endogenních volných radikálů, je působení antioxidantů. Podle definice jsou antioxidanty molekuly, které jsou-li přítomny v malých koncentracích, mohou zabraňovat nebo omezovat destrukci organismu. Některé volné radikály jsou běžnou součástí zdravého metabolismu, některé se objevují nebo se jejich množství zvyšuje v průběhu nemoci, psychické a fyzické zátěže (PAULOVÁ a kol., 2004).

### 2.3.1 Volné radikály

Jako radikál nebo volný radikál se ve fyziologii označuje chemický radikál, který zvyšuje oxidativní charakter vnitřního prostředí organismu (krve, tkání, orgánů, buněk), snižuje hladinu antioxidantů (antioxidační rezistenci) vnitřního prostředí organismu a stává se tak radikálem biologickým (KOPŘIVA, 2011).

Můžeme říci, že některé oxidanty mají původ v potravě a životním prostředí a jiné jsou odpadními produkty metabolických procesů, jako je dýchání a obranné reakce organismu. Některé oxidační procesy jsou proto potřebné a kontrolu nevyžadují. Ale mnoho oxidantů pochází z okolního prostředí, nebo vlivem okolního prostředí stoupá jejich produkce v těle a má ničivé účinky. Mezi tyto činitele patří UV a další ionizující (ionizační) záření, látky znečišťující ovzduší, toxické průmyslové chemikálie, pesticidy, kontaminované potraviny, cigaretový kouř a drogy. Také stres je jednou z mnoha příčin snižování hladiny antioxidantů v lidském těle v moderní době (obrázek 2). Tyto faktory přispívají k nemocnosti a stárnutí většinou skrze proces, kdy kyslík reaguje s jistými sloučeninami a vytváří volné radikály kyslíku (ŠTÍPEK, 2000).

Volné radikály vznikají při různých metabolických procesech, které neustále probíhají v organismu, jako vedlejší produkt látkové výměny v buňkách. Jsou to vlastně molekuly nebo atomy, v jejichž elektronovém obalu jeden elektron chybí. To způsobuje jejich nestabilitu a potřebu tento chybějící elektron získat z okolních struktur. Vzniká tak umělá řetězová reakce: volný radikál ukradne chybějící elektron z nejbližší oběti a ta se zas okamžitě snaží vzít si to,

co jí bylo vzato, z něčeho dalšího poblíž. A tak se vytvářejí další a další radikály s lichým elektronem (ŠTÍPEK, 2000).

Volným radikálům se v současnosti věnuje velká pozornost a sleduje se jejich negativní působení na organismus při řadě onemocnění. Jde především o reaktivní kyslíkové radikály (ROS – reactive oxygen species) a dusíkové radikály (RNS – reactive nitrogen species), reaktivní formy kyslíku a dusíku jsou uvedeny v tabulce 3. Tyto radikály působí na biologicky významné sloučeniny, především lipidy, bílkoviny a nukleové kyseliny, pozměňují jejich strukturu a tím přetvářejí jejich funkci (VALKO a kol., 2007). Tento sled reakcí, vyvolaný radikály, vede k následným změnám ve struktuře buněk, k poškození celých tkání, orgánů a důležitých funkcí v organismu. Je-li vznik reaktivních forem kyslíku a dusíku větší než jejich odstraňování, dojde ke vzniku nerovnováhy nazývané oxidační stres (LÍZALOVÁ, 2010).

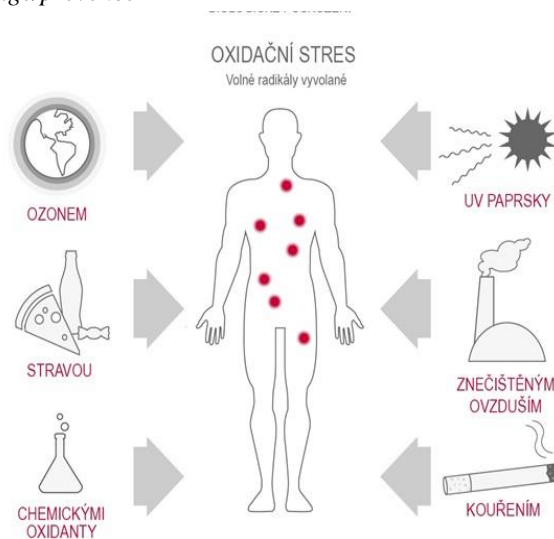
Organismy na jedné straně volné radikály využívají ve svůj prospěch – k ničení fagocytovaných mikroorganismů, při ovulaci a oplodnění vajíčka, apod. Na druhé straně mohou volné radikály organismus závažně poškodit. Proto byly vyvinuty účinné mechanismy obrany proti těmto volným radikálům, obecně hovoříme o antioxidační ochraně (ŠTÍPEK, 2000).

Kromě endogenních nízkomolekulárních antioxidantů, jako je glutation, kyselina močová, koenzym Q a další, se v poslední době do centra pozornosti řadí mnoho látek přírodního původu, které se do organismu dostávají společně s potravou. Některé potraviny rostlinného původu tak vedle své nutriční a energetické hodnoty mají důležitou roli jako zdroj antioxidantů (PAULOVÁ a kol., 2004).

### **Oxidační stres**

Pod pojmem oxidační stres si můžeme představit nerovnováhu organismu ve prospěch vysoce reaktivních forem radikálů (reaktivních kyslíkových nebo dusíkatých částic) nebo zpomalení antioxidačních mechanismů buňky. Oxidanty jsou buňkami imunitního systému organismu využívány k odstranění patogenů nebo vznikají jako produkt mitochondriálního dýchání. Ve vysoké koncentraci v organismu ovšem způsobují oxidaci základních stavebních jednotek buňky, což vede k patologickým změnám ve fyziologii.

Obrázek 2: Faktory přispívající ke vzniku oxidačního stresu. Zdroj: <http://www.eucerin.cz/indikace/anti-age/prevence>



Tabulka 3: Reaktivní formy kyslíku a dusíku. Zdroj: ŠTÍPEK, 2000

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU	
<i>Volné radikály</i>	<i>Látky, které nejsou volnými radikály</i>
superoxid, O <sub>2</sub> •	peroxid vodíku, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
hydroxylový radikál, HO•	kyselina chlorná, HOCl
peroxyl, ROO•	ozon, O <sub>3</sub>
alkoxyl, RO•	singletový kyslík O <sub>2</sub>
hydroperoxyl, HO <sub>2</sub> •	
REAKTIVNÍ FORMY DUSÍKU	
<i>Volné radikály</i>	<i>Látky, které nejsou volnými radikály</i>
oxid dusnatý, NO <sub>2</sub> •	nitrosyl, NO <sup>+</sup>
oxid dusičitý, NO <sub>2</sub> •	nitroxid, NO
	kyselina dusitá, HNO <sub>2</sub>
	oxid dusitý, N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
	oxid dusičitý, N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>

## 2.4 Antioxidační ochranný systém

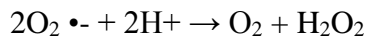
Obrana organismu je realizována pomocí 3 možných typů ochrany: nejbezpečnějším způsobem je odolávat tvorbě nadměrného množství reaktivních forem kyslíku a dusíku, například regulací aktivity enzymů, které je tvoří. Druhá možnost je zachycení a odstranění radikálů, které se již vytvořily, můžeme pro ně použít označení „scavengers“ neboli vychytávače či zametače. Selžou-li první dva mechanismy, uplatní se reparační mechanismy poškozených biomolekul (ŠTÍPEK, 2000).

### 2.4.1 Antioxidační enzymy

Antioxidační enzymy jsou velmi důležitou složkou obrany proti oxidačnímu stresu. Mezi nejdůležitější se řadí superoxid dismutáza, kataláza, glutathion peroxidáza a glutathion reduktáza (ŠTÍPEK, 2000).

#### *Superoxid dismutáza (SOD)*

Hlavní antioxidační enzym, katalyzující přeměnu superoxidu na peroxid vodíku, který může být dále rozkládán katalázou. Superoxidový aniont má oxidační i redukční vlastnosti. Působí zde dismutace, při které jedna z jeho molekul poskytne elektron druhé, takže superoxid se zároveň redukuje i oxiduje. Produkty reakce jsou kyslík a peroxid vodíku:

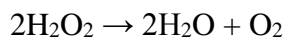


Reakce probíhá automaticky ve vodném prostředí a v biologických systémech ji urychluje enzym superoxid dismutáza, který katalyzuje proces přeměny superoxidu na peroxid vodíku a kyslík. U savců existují tři formy superoxid dismutáza, a to SOD 1, která se nachází v cytoplazmě, SOD 2 v mitochondriích a SOD 3 v extracelulárním prostoru. První a třetí forma obsahuje měď a zinek, zatímco druhá forma obsahuje mangan. Superoxid dismutáza snižuje oxidační stres a tím zamezuje poškození DNA, RNA, proteinů a lipidů (CALETKOVÁ, 2010).

### ***Kataláza (KAT)***

Zrychluje heterolytické štěpení dvou molekul peroxidu vodíku za vzniku kyslíku a vody. Katalázy mají základní společnou reakci dismutace peroxidu vodíku:

KAT



Tento enzym je schopný peroxid vodíku redukovat i oxidovat, čímž se odlišuje od peroxidáz. Kataláza se vyskytuje takřka u všech aerobních organismů. Její hlavní funkce spočívá v ochraně buněk před reaktivními molekulami s peroxidickou vazbou, které vznikají jako vedlejší produkty katabolismu. V eukaryotických buňkách je kataláza typickým zástupcem peroxisomů. Působením peroxisomálních oxidáz vzniká velké množství peroxidu vodíku, který je díky působení peroxisomální katalázy odstraňováno (GRITZOVÁ, 2010).

Katalázy a peroxidázy představují nepostradatelnou výbavu buněk při zdolávání škodlivých účinků oxidačního stresu.

### ***Glutation peroxidáza (GPx)***

Peroxidy vodíku uvnitř buněk jsou odstraňovány glutacion peroxidázou, která ho přeměňuje na neškodnou vodu a molekulární kyslík. Glutacion, ve spojitosti s enzymy glutacion peroxidázou a glutacion S-transferázou, hraje významnou roli v detoxikaci chemoterapeutických léčiv a řadí se k nejvýznamnějším činitelům antioxidačního obranného systému buňky. Glutacion peroxidázy mají důležitou roli v ochraně před jejich lipidovou peroxidací (CALETKOVÁ, 2010). Ke své aktivaci potřebuje malé množství selenu. Produkty této reakce jsou alkoholy a voda:

GPx



Jsou známy čtyři druhy glutation peroxidáz: cytosolová, gastrointestinální, plasmatická a fosfolipid hydroperoxidová. Všechny tyto druhy odstraňují pomocí redukovaného glutationu peroxidy, a proto mají antioxidační funkci (LÍZALOVÁ, 2010).

### ***Glutation reduktáza (GR)***

Zabezpečuje zpětnou redukci oxidované formy glutationu na glutation. Také se podílí na udržování fyziologického poměru v buňkách glutation/oxidovaná forma (10:1). Glutation reduktáza katalyzuje přeměnu oxidovaného glutationu na redukovaný glutation za spotřeby NADPH. Aktivita glutation reduktázy je stanovována na základě úbytku množství NADPH v reakci (GRITZOVÁ, 2010).

GR



## **2.4.2 Vysokomolekulární antioxidanty**

Proteiny schopny vázat přechodné prvky (železo a měď) a měnit jejich oxidoredukční vlastnosti tak, aby přestaly katalyzovat radikálové reakce (LÍZALOVÁ, 2010).

### ***Transferin, laktoferin***

Transportní bílkoviny pro železo, které ho pevně vážou ve formě Fe (III), a to nemůže vstupovat do Fentonovy reakce (ŠTÍPEK, 2000). Transferin se nachází v plazmě, kde zabezpečuje transport železa do tkání.

### ***Feritin***

Zásobní bílkovina obsahující železo, která má antioxidační účinky. Feritin odděluje železo v buňce a udržuje ho v oxidovaném stavu díky feroxidázové aktivitě (ŠTÍPEK, 2000).

### ***Haptoglobin, hemopexin***

Haptoglobin je plasmatický glykoprotein, který se tvoří v játrech a velmi pevně váže molekulu hemoglobinu. Hemopexin je plasmatická bílkovina, která váže hem (ŠTÍPEK, 2000).

### ***Ceruloplazmin***

Je to významný protein plazmy, který váže měď. Kromě transportu mědi dále brání vzniku nebezpečného hydroxilového radikálů tzv. Fentonovu reakcí, která katalyzuje oxidaci  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$ . Umožňuje uvolnění železa z buněk a jeho předání transferinu (ŠTÍPEK, 2000).

### ***Albumin***

Váže ion  $\text{Cu}^{2+}$ , který se oxiduje peroxidem vodíku na Cu (III) a v této formě poškozují sousedící struktury albuminu. Molekuly albuminu se vlastně obětují, neboť jsou degradačními procesy odstraněny (ŠTÍPEK, 2000).

### ***Chaperony***

Proteiny, jejichž funkce je zabezpečovat správnou prostorovou strukturu proteinů a bránit tak vzniku nesprávných vazeb. Syntézou chaperonů se tedy buňka brání denaturačním účinkům stresových faktorů (PLÁTENÍK, 2011).

## **2.4.3 Nízkomolekulární antioxidanty**

### ***Vitamín C (kyselina askorbová)***

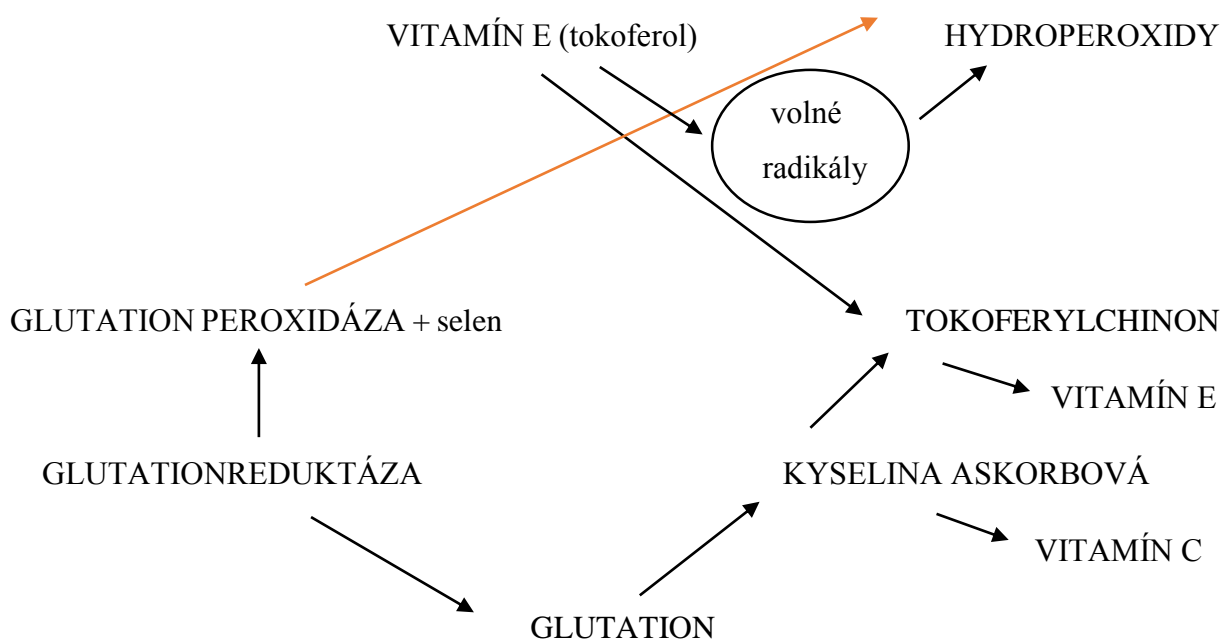
Vitamín C je potřebný jako kofaktor enzymů při syntéze kolagenu a při přeměně dopaminu na noradrenalin. Řadí se také mezi důležitá redukční činidla. Redukuje Fe (III) na Fe (II) a Cu (II) na Cu (I). Tím umožňuje vstřebávání železa ze střeva a využití dalších prvků v aktivním centru hydroxyláz. Jeho antioxidační účinek spočívá v redukcí anorganických i organických radikálů (ŠTÍPEK, 2000). Účastní se oxidoredukčních procesů a přispívá také k využití vápníku (ZELENKA, 2014). Všeobecně se tvrdí, že kyselina askorbová regeneruje tokoferylový radikál. Při této reakci ztratí elektron a změní se na askorbylový radikál, který vykazuje mnohem menší reaktivnost.

### ***Vitamín E (tokoferol)***

V organismu slouží jako důležitý antioxidant, chrání buněčné membrány před poškozením volnými radikály. Je tvořen složkou osmi izomerů, z nichž biologicky nejúčinnější je alfa tokoferol. V mitochondriích se při aerobním dýchání uvolňuje redukcí molekulárního kyslíku na vodu energie. Při tomto procesu se vytvářejí redukované formy kyslíku, které se nazývají volné radikály (ZELENKA, 2014). Biologický efekt volných radikálů je kontrolován antioxidačním systémem, v němž má vitamín E nezastupitelnou roli, znázorňuje obrázek 3.

Vitamín E (tokoferol) přemění volné radikály na hydroperoxydy. Sám je přitom oxidován na tokoferylchinon, přičemž ztratí svou aktivitu. Zpět na tokoferol ho regeneruje kyselina askorbová (vitamín C), tím je sama oxidována, glutation ji přemění zpět na vitamín C. Redukovaný glutation je napraven glutationreduktázou. Hydroperoxydy lipidů, vzniklé na začátku, jsou nadále toxické, ovšem jejich detoxikaci vykoná enzym glutation peroxidáza obsahující selen (ZELENKA, 2014).

Obrázek 3: *Specifický antioxidační systém vitamínu E. Zdroj: přepracováno podle ZELENKA, 2014*



### ***Koenzym Q (ubichonon)***

Je významným antioxidantem, který chrání organismus před nebezpečnými volnými radikály a zvyšuje jeho celkovou obranyschopnost. Ve spolupráci s tokoferolem tlumí radikálové reakce. Jako ubichinon pomáhá při regeneraci vitamín E z tokoferolových radikálů (KOPŘIVA, 2011).

### ***Karotenoidy***

V antioxidační ochraně se karotenoidy uplatňují při odstraňování radikálů centrovaných na uhlík a alkylperoxylových radikálů v lipidech. Dále mají význam v prevenci před degenerativními procesy a také jako antikarcinogenní látky (VELÍŠEK, 1999). Odstraňují volné radikály vznikající z ultrafialového záření na sítnici oka.



### ***Thioly a disulfidy***

Významnou měrou zasahují do ochrany proti radikálovým reakcím. Thioly (redukovaný glutation GSH) a disulfidy (oxidovaný glutation GSSG). Glutation je obsažen ve všech savcích buňkách, je jedním z nejvýznamnějších redoxních pufrů buňky, neboť se snadno oxiduje a s další molekulou glutationu vytváří glutationdisulfid. Jeho úkolem je odstraňovat redukované formy kyslíku, udržovat v redukované formě sulfhydrylové skupiny proteinů, cysteinu a regenerovat tokoferol a askorbát (ŠTÍPEK, 2000).

### ***Kyselina močová***

Nejhojnější antioxidant plazmy. Lidský organismus s ní účelně hospodář, v tubulech se jí převážná většina reabsorbuje. Antioxidační schopnosti spočívají ve vychytávání volných radikálů a ve vazbě železa a mědi do formy, která nepodporuje radikálové reakce (MURRAY, 1998).

### ***Bilirubin***

Látka, vznikající rozpadem hemu. Jeho antioxidační význam je jako volný, tak vázaný na albumin a jiné proteiny. Tyto formy pigmentů inhibují peroxidaci lipidů tím, že regenerují tokoferol obsažený v lipoproteinech (MURRAY, 1998).

### ***Selen***

Je znám pro své působení s vitamínem E. Při jeho deficitu je v organismu narušena antioxidační systém a vzniká svalová dystrofie. V selenocysteinu je součástí glutation peroxidáz. Do organismu se dostává z rostlin ve formě selenomethioninu, kde je ale blokován pro tvorbu glutation peroxidáz. Při předávkování je toxický (ZELENKA, 2014).

## **2.4.4 Polyfenolické sloučeniny**

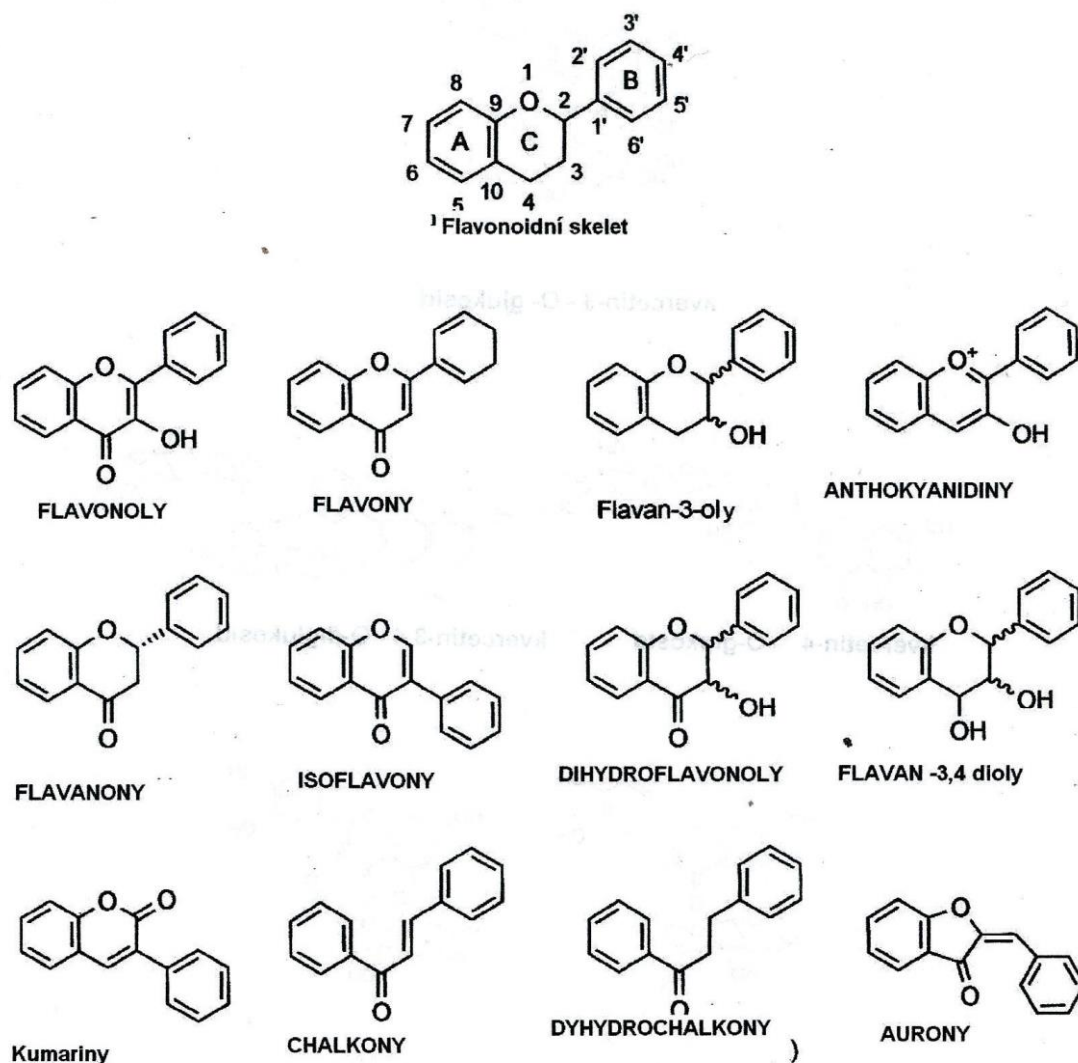
Polyfenolické látky jsou látky přírodního původu, které jsou přítomny v každé vyšší rostlině a v každém jejím orgánu jako sekundární metabolity. Struktura a typ těchto látek jsou charakteristické pro jednotlivé druhy rostlin a představují mnoho typů sloučenin jako např. flavonoidy (obrázek 4), které lze dále dělit na flavony, flavonoly, isoflavony, chalkony, aurony, redukované flavanoly, dále pak fenolkarboxylové kyseliny a s nimi úzce spojené kumariny, anthokyanová bariva a jejich redukované formy leukoanthokyanidiny. V poslední době je těmto látkám věnována značná pozornost z hlediska odborníků na výživu a zdraví člověka. Obecně

se má za to, že polyfenolické sloučeniny pomáhají lidskému organismu bojovat proti tzv. civilizačním chorobám a významně se podílejí na jeho detoxikaci. Je proto nabíledni, že je třeba provést výzkum zaměřený na obsah těchto látek v jednotlivých zemědělských plodinách (LACHMAN a kol., 1999).

Flavonoidy jsou silnými antioxidanty, které zachycují volné radikály (scavenging effect). Pokud se jedná o konzumaci semen, jsou obsaženy hlavně v obalových vrstvách – slupkách a osemení (LACHMAN a kol., 1999).

Obrázek 4: Přehled flavonoidů. Zdroj:

<http://www.juwital.cz/Upload/Documents/FLAVONOIDY.pdf>



### ***Anthokyany (anthokyaniny)***

Řadí se do početně velmi rozsáhlé skupiny rostlinných barviv, kam patří kyanidin, delphinidin, pelargonidin, malvidin, peonidin a petunidin (HAVRLENTOVÁ a kol., 2014). Anthokyany zapříčiňují zbarvení purpurových a modrých pšenic. Nejvíce zastoupený v zrna pšenice s purpurovým perikarpem je kyanidin-3-glykosid, u modré pšenice je dominantní delphinidin-3-glykosid. V rostlinách plní antioxidační funkce a účastní se na tvorbě rezistence proti různým onemocněním v organismu. Je vědecky doloženo, že mají kladný vliv na zdraví a snižují riziko chronických onemocnění organismu.

V potravinových surovinách, kam patří i barevné odrůdy pšenice, můžou značně ovlivnit nutriční hodnotu u finálních potravinářských produktů (CHABINOVÁ a kol., 2011).

Obsah anthokyanů v potravinách prokázal, že jejich konzumací dochází ke snížení kardiovaskulárních chorob, také eliminují riziko vzniku oxidačního stresu, chrání DNA před poškozením a vykazují protizánětlivé účinky (HRNČIŘÍKOVÁ, 2011)

### **2.4.5 Stanovení jaterních enzymů**

V rámci antioxidační aktivity hodnotíme jaterní testy, které jsou laboratorním vyšetřením, jejichž výsledky nás informují o stavu jater. Při poruše cytoplazmatické membrány dochází ke zvýšení její propustnosti a do extracelulárního prostoru jsou uvolňovány enzymy, které se vyskytují v cytoplazmě. Odběr se provádí z venózní krve a následně jsou stanoveny plazmatické resp. sérové koncentrace 4 enzymů a bilirubinu (MASOPUST, 1998). Nejcitlivějším indikátorem porušení membrány hepatocytu je zvýšený únik alaninaminotransferázy (ALT) do oběhu. Dalšími enzymy, které pronikají z hepatocytů do cirkulace, je cytoplazmatický enzym aspartátaminotransferáza (AST). Vyšší aktivita cytoplazmatických enzymů v séru je známkou reverzibilního poškození hepatocytu (MASOPUST, 1998).

### ***Alaninaminotransferáza (ALT)***

ALT je enzym nejvíce obsažený v játrech, v jiných orgánech je její aktivita mnohem nižší. Na rozdíl od AST je lokalizována pouze v cytoplazmě. Stanovení ALT je citlivým a relativně specifickým testem pro poškození jaterních buněk. Již při malém poškození

hepatocytů se její aktivita v séru zvyšuje. Toto poškození je způsobeno zvýšenou propustností cytoplazmatické membrány (RACEK, 2000).

### ***Aspartátaminotransferáza (AST)***

AST se ve větší míře vyskytuje v řadě orgánů – v játrech, myokardu, kosterním svalstvu, ledvinách, pankreatu a v erytrocytech. Existuje ve dvou formách – mitochondriální izomer, který je přítomen v mitochondriích a představuje asi 70 %, a cytoplazmatický izomer, který je lokalizovaný v cytoplazmě a je zastoupen asi z 30 %. Cytoplazmatická frakce se uvolňuje do oběhu snadno i při mírném poškození hepatocytů, a to při narušení permeability jejich buněčné membrány. Mitochondriální frakce se dostává do krve až při rozpadu jaterní buňky. Výrazné zvýšení aktivity AST v séru je proto známkou rozpadu hepatocytů, neboť do cirkulace se uvolňují oba izoenzymy (MASOPUST, 1998).

### ***Alkalická fosfatáza (ALP)***

ALP se vyskytuje výhradně v cytoplazmatických membránách – v epitelu vývodových cest žlučových, játrech, kostech, střevech, placentě, srdci a v plicích (RACEK, 2000).

### ***Glutamyltransferáza (GGT, GMT – dřívější označení)***

GGT je klíčovým enzymem  $\gamma$ -glutamylového cyklu, ten zabezpečuje transport některých aminokyselin a peptidů přes buněčnou membránu z extracelulární tekutiny do buněk. Je ochráncem organismu před oxidačním stresem (odstraňuje peroxidu vodíku). Obnovuje se reakcí katalyzovanou glutathionreduktasou (SCHNEIDERKA, 2004). Zvýšené koncentrace gammaglutamyltransferázy (GGT) a alkalické fosfatázy (ALP) značí poruchu odtoku žluči z jater.

## 2.4.6 Stanovení antioxidační aktivity

### **ABTS**

Tato metoda je jednou ze základních a nejvíce používaných metod pro stanovení volných radikálů a celkové antioxidační aktivity. Princip metody testuje schopnost vzorku či látek neutralizovat kationt – radikál vzniklý jedno elektronovou oxidací syntetického chromoforu ABTS<sup>•</sup> (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu) na radikál ABTS<sup>•</sup> – e-ABTS<sup>•+</sup>. Tato reakce se sleduje spektrofotometricky, na základě měření absorpčního spektra ABTS<sup>•+</sup> (PELLEGRINI a kol., 1999).

### **DPPH**

DPPH považujeme za jednu ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. Metoda spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylem), kdy při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H. Při tomto testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem (R<sup>•</sup>) roztok odbarví dle následující reakce  $DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\bullet}$ ,  $DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow DPPH-R$  (PAREJO a kol., 2000).

### **FR**

Metoda využívá schopnosti chlorofylinu (sodno-mědnatá sůl chlorofylu) přijímat a odevzdávat elektrony za současné stabilní změny absorpčního maxima. Tento děj je podmíněn alkalickým prostředím a přidávkem katalyzátoru (SOCHOR a kol., 2010, TURKOVÁ, 2013).

### **FRAP**

Metoda FRAP (ferric reducing antioxidant potential) je založena na redukci železitých komplexů TPTZ (2,4,6-tripyridyl-S-triazin) s chloridem železitým (FeCl<sub>3</sub>), které jsou téměř bezbarvé (popř. slabě nahnědlé) a po redukci tvoří modře zbarvený železnatý komplex. Metoda má své limity spočívající v tom, že měření probíhá při nefyziologicky nízké hodnotě pH (3.6) a nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky a thioly (SOCHOR a kol., 2010, TURKOVÁ, 2013).

### **3 CÍL PRÁCE**

Cílem diplomové práce bylo zjistit vliv zkrmování pšenice Konini, která je charakteristická vyšším obsahem anthokyanů, na antioxidační aktivitu brojlerových kuřat, která byla měřena v krvi a játrech různými metodami (DPPH, FR, FRAP a ABTS).

## 4 MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Charakteristika pokusu

Pokus byl uskutečněn v akreditovaných stájích pro chov drůbeže ústavu výživy zvířat a pěstování Mendelovi univerzity v Brně. Byli použiti kohoutci hybridní kombinace COBB 500 (obrázek 5). Zvířata byla rozdělena do dvou skupin, a to na pokusnou (Konini) a kontrolní skupinu. Kohoutci hybridní kombinace COBB 500 byli na začátku experimentu v počtu 64 kusů rozděleni do dvou skupin ve věku 39 dnů s průměrnou živou hmotností  $2472,7 \pm 180,48$  g. Experiment trval 15 dní. Pro pokusnou skupinu byla použita purpurová pšenice Konini, která je charakterizovaná vyšším obsahem anthokyanů (celkový obsah anthokyanů 41,70 mg/kg). Pro kontrolní skupinu byla zařazena obyčejná pšenice (odrůda Bohemia).

Během pokusu byli kohoutci krmeni výhradně monodietou, aby byl jasně prokázán vliv sledovaného krmiva na antioxidační aktivitu. Obsah živin v krmných směsích je uveden v tabulce 4.

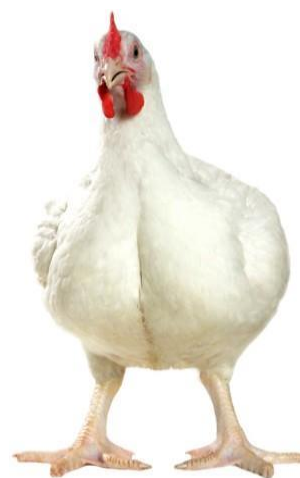
Tabulka 4: Živiny v krmné směsi

	NL	Tuk	Vláknina	Popel	Brutto E (MJ/kg)
<b>Kontrola</b>	16,98	1,61	2,39	1,79	17,56
<b>Konini</b>	16,15	1,83	2,56	2,08	17,6

#### COBB 500

Představuje jednu z nejrozšířenějších hybridních kombinací brojlerových kuřat na světě. Dosahuje výborných parametrů užitkovosti a to jak vysoké intenzity růstu, nízké spotřeby krmiva na kilogram přírůstku a vysokého podílu prsní svaloviny tak i v závislosti na podmínkách prostředí nízkého úhynu.

Obrázek 5: COPBB 500. Zdroj: [www.visciukai.lt](http://www.visciukai.lt)



Pokusná skupina (n = 32) byla krmena pouze šrotovanou purpurovou pšenicí Konini (100 % pšenice v dietě). Kontrolní skupina (n = 32) byla krmena běžnou šrotovanou pšenicí (odrůda Bohemia), která byla doplněna pšeničným lepem, aby byl ve směsi zachován podobný obsah dusíkatých látek, jako byl u pšenice Konini.

Zvířata byla krmena *ad libitum* a denně byla sledována spotřeba směsi. Kohoutci byli ustájeni v bilančních klecích (obrázek 6) o rozměrech 85 x 100 cm, délka hrany krmítka byla 96 cm a k dispozici měla kuřata plovákové napáječky. Místnost s klecemi byla uspořádána tak, aby vyhovovala jak potřebám zvířat, tak pokusným účelům. Byla měřena teplota a vlhkost a světelný režim byl stanoven na 16 hodin světla a 8 hodin tmy.

Obrázek 7: Bilanční klece.

Zdroj: [web2.mendelu.cz](http://web2.mendelu.cz)



Během výkrmu před naším experimentem (od 20. do 39. dne) byla kuřatům podávána krmná směs, která obsahovala 78 % běžné pšenice u kontrolní skupiny a 78 % pšenice Konini u kontrolní skupiny. Složení krmných směsí je uvedeno v tabulce 5.



Tabulka 5: Složení krmné směsi.

	<b>KONINI</b>	<b>KONTROLA</b>
<b>pšenice Konini</b>	78 %	0 %
<b>obyčejná pšenice + lepek</b>	0 %	78 %
<b>sójová moučka</b>	13,10 %	13,10 %
<b>pšeničný škrob</b>	0,60 %	0,60 %
<b>monokalciumfosfát</b>	0,70 %	0,70 %
<b>mletý vápenec</b>	0,30 %	0,30 %
<b>řepkový olej</b>	4 %	4 %
<b>premix *</b>	3,3 %	3,3 %

\* *lyzin 60 g, methionin 75 g, methionin + cystein 75 g, vápník 195 g, fosfor 55 g, sodík 46 g na kg, měď 4 mg, zinek 3,7 mg, tokoferol 1,5 mg, biotin 6 mg na kg, retinol 450 a kalciferol 166,7*

Pro pokus byly tedy sestaveny dvě krmné dávky, ze kterých byly odebrány vzorky dle zákona o krmivech č. 91/1996 Sb. a v laboratoři byl stanoven obsah základních živin. Chemické složení a analýzy vzorku byly provedeny podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 124/2001 Sb., která stanovuje požadavky na odběr vzorků.

Krmivo bylo předkládáno vždy ve stejnou dobu. Ráno po příchodu, byla do sešitu zapsána teplota a vlhkost. Byly zváženy zbytky krmiv a naváženo krmivo nové, dále byl posbíráán trus. Následně se zkontrolovala funkčnost a čistota napáječek a celkový stav zvířat. Každý třetí den bylo prováděno kontrolní vážení a byl sledován hmotnostní nárůst kohoutků.

Na konci pokusu, 54. den, byli kohoutci zváženi. Z krční žíly jim byla odebrána krev, která byla vložena do heparinových zkumavek, potom byla zvířata usmrcena a vykuchána. Z každého těla byla vyjmuta játra a odebrána jejich část, která byla umístěna do označených sáčků a zamražena na -72 °C. Vzorky byly předány na ústav Chemie a biochemie Mendelovy univerzity v Brně, kde byly provedeny analýzy jaterních enzymů a antioxidační aktivity DPPH, FR, FRAP a ABTS. Pro úpravu vzorků byla použita metodika podle SOCHOR a kol., 2010.

#### **4.1.1 Příprava vzorků z krve**

Pro stanovení byly vybrány následující enzymy: Glutamyltransféáza (GGT), Aspartátaminotransferáza (AST), Alaninaminotransferáza (ALT) a Alkalická fosfatáza (ALP), které byly měřeny pomocí chemického analyzátoru Mindray BS 400.

##### ***Stanovení aspartátaminotransferázy (AST)***

Činidlo R1 v objemu 150  $\mu$ l se napipetovalo do plastové kyvety s následným přidáním 15  $\mu$ l vzorku. Směs se inkubovala po dobu 270 s. Následně se přidalo 30  $\mu$ l činidla R2 a směs se opět inkubovala po dobu 90 s. Změřila se absorbance.

##### ***Stanovení alaninaminotransferázy (ALT)***

Činidlo R1 150  $\mu$ l se smíchalo s 15  $\mu$ l vzorku a inkubovalo se po dobu 270 s. Následně se 30  $\mu$ l činidla R2 přidalo ke směsi a proběhla inkubace po dobu 90 s. Aktivita ALT se vypočítala z poklesu absorbance.

##### ***Stanovení Alkalické fosfatázy (ALP)***

Činidlo R1 o objemu 150  $\mu$ l se smíchalo se 3  $\mu$ l vzorku do jednorázové plastové kyvety. Směs se nechala 270 s inkubovat. Následně se přidalo 30  $\mu$ l činidla R2 a roztok se inkuboval po dobu 90 s. Po inkubaci byla měřena absorbance při 405 nm po dobu 180 s. Průměrné zvýšení absorbance za minutu se vypočítalo a použilo se pro test ALP.

##### ***Stanovení GGT enzymu***

Reakční činidlo o objemu 150  $\mu$ l R1 se napipetovalo do plastové kyvety s následným přidáním 7,5  $\mu$ l vzorku. Tato směs se inkubovala po dobu 270 sekund. Následně se 30  $\mu$ l činidla R2 přidalo ke směsi a proběhla inkubace po dobu 90 s. Byla změřena absorbance v délce 180 sekund. Průměrné zvýšení absorbance za minutu se vypočítalo a použilo pro stanovení GGT.

#### **4.1.1 Příprava vzorků z jaterní tkáně**

Antioxidační aktivity byla stanovena z jaterní tkáně. Játra se nechala rozmrazit a uložila se do předem připravených a označených kádinek. Do nachystaného vzorku byl přidán tekutý dusík a pomocí homogenizátoru byla provedena důkladná homogenizace. Za stálého chlazení, bylo z jater naváženo 0,2 g vzorku tkáně do eppendorfky. Následně se přidal 1 ml fosfátového pufru pH 7 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  9.078 g/l +  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  11.876 g/l) a do celého vzorku se na 2 minuty

vložila ultrazvuková jehla, která rozrušila buňky. Po tomto procesu byly eppendorfky vloženy do třepačky po dobu 15 minut, než došlo k homogenizaci suspenzí. Dále byly vzorky 30 minut centrifugovány při teplotě 4 °C a 25 000 otáčkách. Po skončení centrifugace se odebral supernatant (tekutina nad sedimentem), ke kterému se přidalo 990 µl fosfátového pufru o pH 7 a následně byl vzorek denaturován pomocí termoboxu při teplotě 99° po dobu 20 minut. Po denuraci byl vzorek opět centrifugován při 4 °C a 25000 rpm po dobu 20minut. Po této centrifugaci, byl supernatant odebrán, a následně využit k analýze pomocí přístroje Autolab.

Statistické vyhodnocení všech dat bylo provedeno v programu MS Excel a Statistika 10 za použití jednofaktorové analýzy variance s následnou kontrolou Sheffeho testu a  $P < 0,05$  byl považován, jako statisticky významný rozdíl.

## **4.2 Metody stanovení antioxidační aktivity**

### **4.2.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou používající ABTS**

ABTS metoda je jednou ze základních a nejvíce používaných metod pro stanovení volných radikálů a celkové antioxidační aktivity. Princip metody testuje schopnost vzorku či látek neutralizovat kationt – radikál vzniklého jedno elektronovou oxidací syntetického chromoforu ABTS<sup>•</sup> (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu) na radikál ABTS<sup>•</sup> – e-ABTS<sup>•+</sup>. Tato reakce se sleduje spektrofotometricky, na základě měření absorpčního spektra ABTS<sup>•+</sup> (PELLEGRINI a kol., 1999).

#### ***Metoda ABTS***

Do plastových kyvet se napipetovalo 150 µl reagentie R1 (7 mM ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina) a 4.95 mM peroxodisíran draselný), následně byly přidány 3 µl vzorku. Absorbance byla měřena při 660 nm po dobu 12 minut. Pro výpočet bylo použito hodnot absorbance po přidání vzorku (2. minuta měření) a hodnot absorbance po 12 minutách měření (DOBEŠ, 2012; KARABÍN a kol., 2006; SOCHOR a kol., 2010).

#### 4.2.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou používající DPPH

Tato metoda je považována za jednu ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. Metoda spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylem), kdy při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H. Při tomto testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem ( $R^{\bullet}$ ) roztok odbarví dle následující reakce  $DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\bullet}$ ,  $DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow DPPH-R$  (PAREJO a kol., 2000).

##### *Metoda DPPH*

Do plastových kyvet bylo napipetováno 150  $\mu$ l reagentie R1 (0.095 mM 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl-DPPH $^{\bullet}$ ), následně bylo přidáno 15  $\mu$ l měřeného vzorku. Absorbance byla měřena 12 minut při  $\lambda$  505 nm. Pro výpočet bylo použito hodnot absorbance samotné a hodnot absorbance po 12 minutách.

#### 4.2.3 Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody FR

U této metody volných radikálů je využíváno schopnosti chlorofylinu (sodno-mědnatá sůl chlorofylu) přijímat a odevzdávat elektrony za současné stabilní změny absorpčního maxima. Tento děj je podmíněn alkalickým prostředím a přidávkem katalyzátoru (SOCHOR a kol., 2010, TURKOVÁ, 2013).

##### *Metoda Free Radicals*

Do plastových kyvet bylo napipetováno 150  $\mu$ l reagentie R1 (extrakt chlorofylinu, reakční pufr, katalyzátor) a následně bylo přidáno 6  $\mu$ l vzorku. Absorbance byla měřena 12 minut při  $\lambda$  450 nm. Pro výpočet bylo použito poslední hodnoty měření (DOBEŠ, 2012).

#### 4.2.4 Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody FRAP

Metoda FRAP (ferric reducing antioxidant potential) je založena na redukci železitých komplexů TPTZ (2,4,6-tripyridyl-S-triazin) s chloridem železitým ( $FeCl_3$ ), které jsou téměř bezbarvé (popř. slabě nahnědlé) a po redukci tvoří modře zbarvený železnatý komplex. Metoda má své limity spočívající v tom, že měření probíhá při nefyziologicky nízké hodnotě pH (3.6)

a nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky a thioley (SOCHOR a kol., 2010, TURKOVÁ, 2013).

### ***Metoda FRAP***

Příprava reagensie: 1. 10 mM roztok TPTZ, doplnit po rysku 40 mM kyselinou chlorovodíkovou (HCl); 2. roztok 20 mM FeCl<sub>3</sub>; 3. acetátový pufr 20 mM, pH 3.6; tyto tři roztoky se smíchaly v poměru TPTZ: FeCl<sub>3</sub>: acetátový pufr – 1:1:10. Reagencie je použitelná týden při uskladnění v temném prostředí a teplotě 4°C. Do plastových kyvet bylo napipetováno 150 µl reagensie a následně bylo přidáno 3 µl vzorku. Absorbance byla měřena 12 minut při λ 605 nm. Pro výpočet bylo použito hodnot absorbance samotné a hodnot absorbance po 12 minutách.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 5.1 Spotřeba krmiva

V experimentu byla kuřata každý den vážena a byla zaznamenávána spotřeba krmiva. Zvířatům byla v rámci přesnějšího stanovení antioxidační aktivity předkládána pouze monodieta. Celková spotřeba krmiva za 15 dní byla v kontrolní skupině 57,86 kg a 60,40 kg dosahovala spotřeba ve skupině Konini (Tabulka 6). Z tabulky je zřejmé, že nepatrně vyšší spotřeby dosahovala skupina, které byla zkrmována pokusná pšenice Konini.

Tabulka 6: Celková spotřeba krmiva.

	dní	celková spotřeba KS (kg)
Kontrola	15	57,86
Konini	15	60,4

### 5.2 Přírůstky hmotnosti

V pokusu byly pravidelně sledovány přírůstky živé hmotnosti. Vážení probíhalo každý 3. den po dobu 15 dní. Podrobný přehled o průběhu vážení poskytují tabulky 8 a 9. V grafu 1 jsou porovnány průměrné hmotnosti v daných dnech vážení u skupiny kontrola a Konini. Přestože experimentální skupina měla o 2,54 kg vyšší celkovou spotřebu krmné směsi (KS), jejich průměrná hmotnost byla o cca 300 g nižší.

Na začátku sledování, 39. den, byla průměrná živá hmotnost kuřat  $2472,7 \text{ g} \pm 180,48 \text{ g}$ . Na konci experimentu, 54. den, byla průměrná živá hmotnost kuřat  $2602,67 \pm 328,76 \text{ g}$  ve skupině kontrola a  $2315,50 \pm 371,73 \text{ g}$  ve skupině Konini, přehled uvádí tabulka 7. Kuřata ve skupině Konini, vykazovala na konci pokusného období nižší živou hmotnost než na začátku. Tento úbytek hmotnosti je způsoben zkrmováním monodiety.

Tabulka 7: Průměrná hmotnost na začátku a na konci pokusu.

	dní	průměrná hmotnost 39. den (g)	průměrná hmotnost 54. den (g)
Kontrola	15	$2472,7 \pm 180,48$	$2602,67 \pm 328,76$
Konini	15		$2315,50 \pm 371,73$

Tabulka 8: Hmotnosti kuřat v kontrolní skupině.

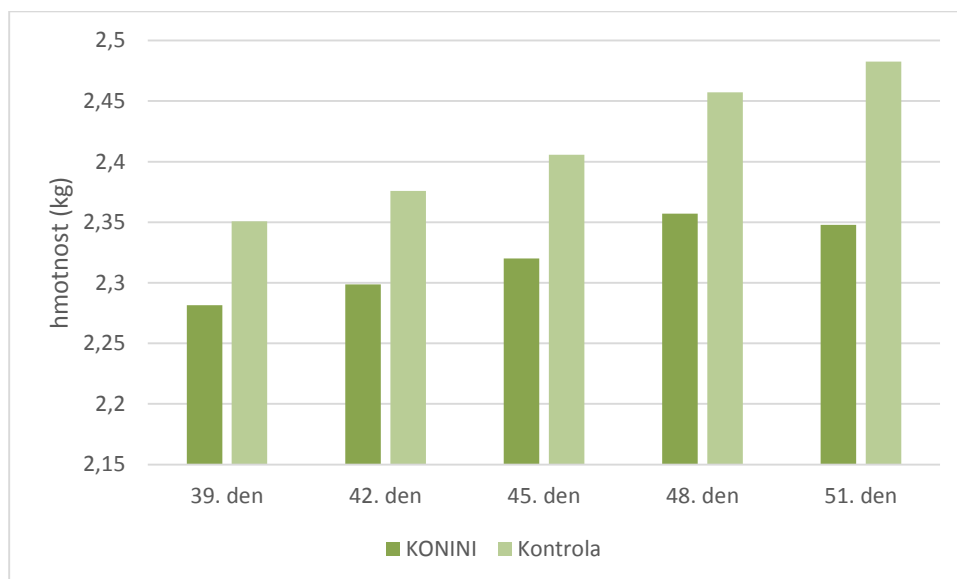
<b>KONTROLA</b>	39. den	42. den	45. den	48. den	51. den	54. den
kuře	1.5.2014	4.5.2014	7.5.2014	10.5.2014	13.5.2014	zabíjení
1	2,50	2,53	2,53	2,55	2,67	2,71
2	2,51	2,56	2,60	2,66	2,76	2,75
3	2,37	2,41	2,40	2,44	2,50	2,49
4	2,43	2,54	2,56	2,66	2,57	2,58
5	2,72	2,71	2,77	2,80	2,82	2,81
6	2,15	2,18	2,20	2,24	2,29	2,30
7	2,56	2,51	2,55	2,62	2,60	2,62
8	2,49	2,48	2,50	2,55	2,58	2,57
9	2,73	2,67	2,82	2,88	2,93	2,92
10	2,31	2,36	2,35	2,43	2,44	2,43
11	2,27	2,33	2,36	2,42	2,49	2,46
12	2,19	2,22	2,27	2,35	2,38	2,37
13	2,09	2,16	2,21	2,29	2,31	2,31
14	2,23	2,29	2,28	2,33	2,39	2,39
15	2,23	2,21	2,22	2,26	2,26	2,29
16	2,72	2,71	2,71	2,79	2,81	2,79
17	2,25	2,32	2,31	2,20	2,08	2,15
18	2,28	2,30	2,34	2,38	2,33	2,38
19	2,03	2,05	2,10	2,16	2,16	2,14
20	2,15	2,16	2,18	2,26	2,30	2,32
21	2,49	2,56	2,52	2,67	2,72	2,66
22	2,37	2,36	2,44	2,51	2,54	2,53
23	1,94	1,98	1,91	1,98	1,96	1,94
24	2,31	2,33	2,39	2,45	2,49	2,40
25	2,29	2,28	2,31	2,35	2,36	2,36
26	2,45	2,44	2,46	2,52	2,55	2,55
27	2,21	2,29	2,34	2,32	2,55	2,33
28	2,08	2,12	2,17	2,20	2,22	2,22
29	2,91	2,94	3,02	3,08	3,11	3,12
31	2,36	2,41	2,46	2,48	2,44	2,56
32	2,19	2,29	2,35	2,43	2,44	2,43
průměr	2,31	2,34	2,37	2,40	2,40	2,48

Tabulka 9: Hmotnosti kuřat ve skupině Konini.

<b>KONINI</b>	39. den	42. den	45. den	48. den	51. den	54. den
kuře	1.5.2014	4.5.2014	7.5.2014	10.5.2014	13.5.2014	zabíjení
1	2,124	2,158	2,145	2,202	2,185	2,197
2	2,388	2,34	2,279	2,272	2,282	2,218
3	2,272	2,292	2,29	2,326	2,381	2,387
4	2,394	2,406	2,463	2,504	2,551	2,535
5	2,872	2,94	2,985	3,02	3,16	3,14
6	2,076	2,062	2,099	2,125	2,178	2,181
7	2,136	2,178	2,227	2,249	2,293	2,25
8	2,341	2,36	2,384	2,174	2,428	2,406
9	2,22	2,236	2,245	2,274	2,279	2,25
10	2,218	2,308	2,283	2,332	2,394	2,39
11	2,678	2,776	2,774	2,8	2,859	2,845
12	2,844	2,912	2,976	3,09	3,053	2,983
13	2,244	2,194	2,173	2,331	2,217	3,313
14	2,13	2,114	2,002	1,718	1,496	úhyn
15	2,22	2,166	2,233	2,256	2,277	2,27
16	2,33	2,368	2,378	2,405	2,425	2,415
17	2,254	2,32	2,387	2,408	2,48	2,439
18	2,018	2,004	2,043	2,081	2,119	2,071
19	2,298	2,28	2,346	2,369	2,418	2,398
20	2,294	2,29	2,334	2,962	2,402	2,363
21	2,126	2,134	2,19	2,218	2,238	2,218
22	2,562	2,622	2,695	2,711	2,712	2,732
23	2,822	2,778	2,778	2,795	2,851	2,83
24	2,238	2,274	2,24	2,267	2,321	2,341
25	1,796	1,828	1,857	1,906	1,893	1,905
26	2,332	2,354	2,412	2,431	2,339	2,392
27	2,278	2,352	2,385	2,4	2,36	2,43
28	2,18	2,208	2,217	2,25	2,261	2,291
29	1,78	1,808	1,854	1,903	1,797	1,786
30	1,886	1,9	1,915	1,944	1,925	1,904
31	2,808	2,772	2,829	2,849	2,759	2,807
32	1,85	1,828	1,826	1,856	1,801	1,835
průměr	2,28153	2,29881	2,32013	2,35713	2,34794	2,403935



Graf 1: Porovnání průměrných hmotností pokusných a kontrolních kuřat.



### 5.3 Výsledky antioxidační aktivity

V živočišných vzorcích, v našem případě krev a jaterní tkáň, byla stanovena antioxidační aktivita. Použity byly čtyři metody, hodnotící antioxidační aktivitu, a to DPPH, FRAP, FR a ABTS.

Při stanovení antioxidační aktivity z krve brojlerových kuřat byly naměřeny prokazatelně vyšší hodnoty ( $P < 0,05$ ) u kuřat krměných pšenicí Konini, měřené metodami DPPH a ABTS, stejně jako v případě stanovení antioxidační aktivity z jater.

Tabulka číslo 10 zobrazuje výsledky měření antioxidační aktivity z krve brojlerů, zde jsou prokazatelné rozdíly u metody DPPH a ABTS ve skupině Konini. Ostatní měření nebylo průkazné.

Tabulka 10: Stanovení antioxidační aktivity – krev.

<i>Krev</i>	<b>Kontrola</b>	<b>Konini</b>
<b>N</b>	31	31
	<i>Průměr ± sm.ch.</i>	<i>Průměr ± sm.ch.</i>
<b>DPPH (% inhibice)</b>	0,126 ± 0,014 *	0,176 ± 0,020 *
<b>FR ( GAE mg/g bílkovin)</b>	3,649 ± 0,236	3,683 ± 0,203
<b>FRAP (GAE mg/g bílkovin)</b>	0,811 ± 0,032	0,811 ± 0,032
<b>ABTS (GAE mg/g bílkovin)</b>	11,206 ± 0,124 *	11,718 ± 0,186 *

Mezi hodnotami označenými symbolem \* jsou průkazné rozdíly ( $P < 0,05$ ).

U metod stanovujících antioxidační aktivitu z jater, byly naměřeny prokazatelně vyšší hodnoty ( $P < 0,05$ ) u kuřat krmených pšenicí Konini. Konkrétně u metod DPPH a ABTS. Naproti tomu, nižší hodnoty byly zjištěny, metodou FR. Tabulka 11 poskytuje srovnání metod stanovujících antioxidační aktivitu u kontrolní skupiny a skupiny Konini. Průkazné rozdíly u metody DPPH a ABTS byly ve prospěch pokusné skupiny Konini. Nižší hodnoty byly naměřeny u FR metody, zde převažovala hodnota u kontrolní skupiny.

Tabulka 11: Stanovení antioxidační aktivity – játra.

<i>játra</i>	<b>Kontrola</b>	<b>Konini</b>
<b>n</b>	32	32
	<i>průměr ± Sm. Ch.</i>	<i>průměr ± Sm. Ch.</i>
<b>DPPH (% inhibice)</b>	8.41 ± 0.60*	10.01 ± 0.52*
<b>FR (GAE mg/g bílkovin)</b>	28.50 ± 0.93*	26.13 ± 0.71*
<b>FRAP (GAE mg/g bílkovin)</b>	1.50 ± 0.04	1.45 ± 0.04
<b>ABTS (GAE mg/g bílkovin)</b>	18.66 ± 0.78*	21.01 ± 0.82*

Mezi hodnotami označenými symbolem \* jsou průkazné rozdíly ( $P < 0,05$ ).

Je zajímavé, že v pokusu (KARÁSEK, 2014), při zkrmování pšenice Citrus brojlerovým kuřatům, která má také pozitivní vliv na antioxidační status, vyšly průkazné rozdíly na stanovení antioxidační aktivity metodou FR ve skupině Citrus. FR = \* mg/l 983,12 ± 69,0725 u obyčejné pšenice a 833,29 ± 44,0325 u skupiny Citrus. Ve srovnání s naším pokusem, kde

byla metoda FR u výsledků měřených z jater průkazně dokázána pro skupinu kontrolní, tak u stanovení aktivity z krve, kde nebyla její průkaznost prokázána vůbec.

Při hodnocení antioxidační aktivity metodami DPPH a ABTS lze konstatovat, že zkrmování pšenice Konini s vyšším obsahem anthokyanů (41,70 mg/kg), působí příznivě na antioxidační aktivitu organismu.

Jiný náhled nám nabízí srovnávání pokusu, (ŠTASTNÍKA a kol., 2014), kde bylo rozděleno 64 krysíků samců na dvě skupiny jako v našem pokusu a byla jim zkrmována purpurová pšenice Konini, přijímaná jednou polovinou a druhou polovinou byla krmena skupina Kontrola. Zde vyšly výsledky odlišně. Experimentální skupina dosahovala hodnot ( $10,06 \pm 0,26$ ;  $543,88 \pm 23,61$ ;  $39,56 \pm 1,01$ ;  $458,76 \pm 3,58$ ) oproti kontrolní skupině ( $9,20 \pm 0,31$ ;  $482,46 \pm 15,56$ ;  $36,73 \pm 0,72$ ;  $445,38 \pm 3,13$ ) v tomto pořadí měření DPPH, FR, FRAP a ABTS. Rozdíly byly významné ( $P < 0,05$ ) a průkaznost tak byla stanovena pro skupinu Konini.

Z tohoto srovnání vyplývá, že purpurová pšenice Konini má vyšší obsah antioxidačních látek, které tak přispívají k navýšení antioxidačního statutu organismu.

Pro doplnění zdravotního stavu pokusných zvířat byly v krvi stanoveny jaterní enzymy (ALT, AST, ALP a GMT). Zvířata, kterým byla předkládána pšenice Konini, měla většinou nižší aktivitu jaterních enzymů. Hodnoty jaterních enzymů nebyly prokazatelně průkazné, až na významnou odchylku (GMT) glutamyltransferázy, která byla u kontrolní skupiny značně navýšená ( $P < 0,05$ ), přehled je uveden v tabulce 12.

Tabulka 12: Výsledky jaterních enzymů.

<i>krev</i>	<b>Kontrola</b>	<b>Konini</b>
<b>n</b>	31	31
	<i>průměr ± Sm. Ch.</i>	<i>průměr ± Sm. Ch.</i>
<b>ALT (μkat/l)</b>	$0.08 \pm 0.003$	$0.09 \pm 0.004$
<b>AST (μkat/l)</b>	$3.76 \pm 0.077$	$3.62 \pm 0.09$
<b>ALP (μkat/l)</b>	$27.21 \pm 1.783$	$26.05 \pm 1.36$
<b>GMT (μkat/l)</b>	$0.28 \pm 0.014^*$	$0.22 \pm 0.01^*$

Mezi hodnotami označenými symbolem \* jsou průkazné rozdíly ( $P < 0,05$ ).

## 6 ZÁVĚR

Předmětem diplomové práce bylo zjistit, zda má zkrmování purpurové pšenice Konini s vyšším obsahem anthokyanů vliv na antioxidační aktivitu u brojlerových kuřat.

Pro tento pokus byli použiti kohoutci hybridní kombinace COBB 500. Tito kohoutci byli na začátku experimentu v počtu 64 kusů rozděleni do dvou skupin ve věku 39 dnů s průměrnou živou hmotností  $2472,7 \pm 180,48$  g. Experiment trval 15 dní. Pro pokusnou skupinu byla použita purpurová pšenice Konini, která je charakterizovaná vyšším obsahem anthokyanů (celkový obsah anthokyanů 41,70 mg/kg). Pro kontrolní skupinu byla zařazena obyčejná pšenice (odrůda Bohemia), která byla doplněna pšeničným lepem, aby byl zachován poměr dusíkatých látek v dietě.

Během pokusu byli kohoutci krmeni výhradně monodietou, aby byl jasně prokázán vliv sledovaného krmiva na antioxidační aktivitu.

Kuřata byla umístěna v bilančních klecích, kde byla denně sledována teplota, vlhkost a celkový stav zvířat. Krmivo bylo předkládáno *ad libitně* a každý třetí den bylo prováděno kontrolní vážení a byl sledován hmotnostní nárůst kohoutků.

Na konci pokusu, 54. den, byli kohoutci zváženi. Z krční žíly jim byla odebrána krev, která byla vložena do heparinových zkumavek, následně byla zvířata usmrcena a vykuchána. Z každého těla byla vyjmuta játra a odebrána jejich část, která byla umístěna do označených sáčků a zamražena na  $-72$  °C. Vzorky byly předány na ústav Chemie a biochemie Mendelovy univerzity v Brně, kde byly provedeny analýzy jaterních enzymů a antioxidační aktivity.

Pro stanovení antioxidační aktivity byly použity následující metody: DPPH, FR, FRAP a ABTS, které byly naměřeny z krve a jaterní tkáně. Také bylo provedeno měření na stanovení jaterních enzymů GGT, AST, ALT, ALP z krve kohoutků.

Sledována byla i celková spotřeba krmiva, která byla za 15 dní v kontrolní skupině 57,86 kg a 60,40 kg dosahovala spotřeba ve skupině Konini. Nepatrně vyšší spotřeby, bylo dosaženo u pokusné skupiny, které byla zkrmována pšenice Konini.

Přírůstky živé hmotnosti byly zaznamenávány každé tři dny. Na začátku sledování, 39. den, byla průměrná živá hmotnost kuřat  $2472,7$  g  $\pm$  180,48 g. Na konci experimentu, 54. den, byla průměrná živá hmotnost kuřat  $2602,67 \pm 328,76$  g ve skupině kontrola a  $2315,50 \pm 371,73$  g ve skupině Konini. Kuřata ve skupině Konini, vykazovala na konci pokusného období nižší

živou hmotnost než na začátku. Tento úbytek hmotnosti je způsoben zkrmováním monodiety. Přestože experimentální skupina měla o 2,54 kg vyšší celkovou spotřebu krmné směsi (KS), jejich průměrná hmotnost byla o cca 300 g nižší.

Výsledky antioxidačního statusu měřené z krve a jater, byly vyhodnoceny následovně: při stanovení antioxidační aktivity z krve brojlerových kuřat byly naměřeny prokazatelně vyšší hodnoty ( $P < 0,05$ ) u kuřat krmených pšenicí Konini, zkoušené metodami DPPH a ABTS. Ostatní měření nebylo průkazné. U metod stanovujících antioxidační aktivitu z jater, byly také naměřeny prokazatelně vyšší hodnoty ( $P < 0,05$ ) u kuřat krmených pšenicí Konini. Konkrétně u metod DPPH a ABTS ale naproti tomu, nižší hodnoty byly zjištěny, metodou FR, kde vycházely lépe pro kontrolní skupinu.

Pro doplnění zdravotního stavu pokusných zvířat byly v krvi stanoveny jaterní enzymy (ALT, AST, ALP a GMT). Zvířata, kterým byla předkládána pšenice Konini, měla většinou nižší aktivitu jaterních enzymů. Hodnoty jaterních enzymů nebyly prokazatelně průkazné, až na významnou odchylku (GMT) glutamyltransferázy, která byla u kontrolní skupiny značně navýšená ( $P < 0,05$ ).

Závěrem můžeme shrnout, že sledovaná antioxidační aktivita u brojlerových kuřat, kterým byla předkládána monodieta pšenice Konini s vyšším obsahem anthokyanů, byla díky zkrmování této odrůdy vyhodnocena jako prokazatelně vyšší. U skupiny Koniny byla také naměřena nižší aktivita jaterních enzymů. Výsledky dokládají, že zkrmování pšenice Konini s vyšším obsahem anthokyanů zlepšuje antioxidační aktivitu a působí pozitivně na jaterní parenchym.

## 7 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

<i>Tabulka 1: Obsah živin v pšeničné dietě v %</i> .....	14
<i>Tabulka 2: Barevné pšenice</i> .....	17
<i>Tabulka 3: Reaktivní formy kyslíku a dusíku</i> .....	20
<i>Tabulka 4: Živiny v krmné směsi</i> .....	32
<i>Tabulka 5: Složení krmné směsi</i> .....	33
<i>Tabulka 6: Celková spotřeba krmiva</i> .....	38
<i>Tabulka 7: Průměrná hmotnost na začátku a konci pokusu</i> .....	38
<i>Tabulka 8: Průměrné přírůstky – kontrola</i> .....	39
<i>Tabulka 9: Průměrné přírůstky – Konini</i> .....	40
<i>Tabulka 10: Stanovení antioxidační aktivity – krev</i> .....	41
<i>Tabulka 11: Stanovení antioxidační aktivity – játra</i> .....	42
<i>Tabulka 12: Stanovení jaterních enzymů z krve</i> .....	43
<i>Obrázek 1: Řez pšeničným zrnem</i> .....	12
<i>Obrázek 2: Faktory působící na oxidační stres</i> .....	19
<i>Obrázek 3: Antioxidační ochranný systém</i> .....	24
<i>Obrázek 4: Flavonoidy</i> .....	26
<i>Obrázek 5: COBB 500</i> .....	31
<i>Obrázek 6: Bilanční klece</i> .....	32

## 8 LITERATURA

- ANONYM, 2012: *Rostlinné fenolové látky a flavonoidy*. Databáze online [cit. 2015-04-10]. Dostupné na: <http://web.vscht.cz/~koplkr/Rostlinn%C3%A9%20fenoly%20a%20flavonoidy.pdf>
- ABDEL -AAL, E-S., YOUNG, J. C., RABALSKI, I. (2006). *Anthocyanin composition in black, blue, pink, and red cereal grains*. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 4696–4704
- ABDEL-AAL E. S. M., ABOU-ARAB A. A., GAMEL T. H., HUCL P., YOUNG J. C., RABALSKI I. (2008): *Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23): 11171–11177
- BUREŠOVÁ I., PALÍK S., SEDLÁČKOVÁ I. (2010). *Kvalita pšenice a žita sklizně 2009*. *Obilnářské listy*, XVIII, 1: 19–21
- CALETKOVÁ, J., *Stanovení fenolových látek a antioxidační aktivity v bobulích různých odrůd hroznů*, Diplomová práce, Brno: MENDELU, v Brně, 2010, 78 s.
- ČEPIČKA J. *Obecná potravinářská technologie*. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 1995. 246 s. ISBN 80-7080-239-1
- DOBEŠ, J., *Stanovení biologicky aktivních substancí v rostlinném materiálu*, Dizertační práce, Brno: MENDELU, v Brně, 2012, 106 s.
- GAJDOŠOVÁ, A.; ŠTURDÍK E., *Biologické, chemické a nutrično - zdravotné charakteristiky pekářských cereálií*. *Nova Biotechnologica*. 2004, IV-1, s. 133-139. ISSN 1337-8783
- GAVURNÍKOVÁ S., MENDEL L., HAVRLETOVÁ M., ZIRKELBACHOVÁ K., BIELIKOVÁ M., BOJŇANSKÁ K., 2010. *Pekářská kvalita a reologické vlastnosti ječmennopšeničných múk*. *Potravinářstvo*, 1, 4: 16–20
- GRITZOVÁ, J., *Stanovení fenolových látek a antioxidační aktivity v zelenině a ovoci a jejich šťávách pěstovaných bio a tradičně*, Diplomová práce, Brno: MENDELU, v Brně, 2010, 58 s.
- HORÁKOVÁ, V., DVOŘÁČKOVÁ, O., MEZLÍK, T., *Obiloviny a luskoviny*, 2013, Brno: GILL, 2013, 202 s., ISBN: 978-80-7401-074-3

CHŇAPEK M., GÁLOVÁ Z., TOMKA M., RÜCKSCHLOSS L., 2010. *Nutriční a technologická kvalita farebných genotypov pšenice letnej formy ozimnej (Triticum aestivum L.)* Potravinárstvo, 1, 4: 16–20

KARÁSEK, *Zkrmování pšenice Citrus u brojlerů*, Diplomová práce, Brno: MENDELU, v Brně, 2014

KARABÍN, M.; DOSTÁLEK, P.; HOFTA, P., *Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarství*, Chemické listy, 2006, 100, 184-189 s.

KNIEVEL, D. C.; ABDEL-AAL, E. S. M.; RABALSKI, I.; NAKAMURA, T.; HUCL, P., *Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and purple pericarp in spring wheat (Triticum aestivum L.)*, J. Cereal Sci., 50(1), 2009, p. 113-120

KNIEVEL, D. C., ABDEL -AAL, E-SM., RABALSKI, I., NAKAMURA, T., HUCL, P. *Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and 94 purple pericarp in spring wheat (Triticum aestivum L.)*. Journal of Cereal Science, 50, 2009, 113-120

KOPŘIVA, V., *Antioxidační kapacita potravin – doplňkový studijní materiál*, Kód aktivity 2110/4-4up, 2011, Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/ivbp/wpcontent/uploads/2011/07/ANTIOXIDAČNÍ-KAPACITA-POTRAVIN.pdf>

KŮST, F., *Produkce pšenice v České republice*, Krmivářství, 4, 2013, 32-36 s., ISSN: 12129992

LACHMAN J., PIVEC V., ORSÁK M., HOSNEDL V., PROKINOVÁ E., LAPČÍK O. *Polyfenolické sloučeniny - antioxidanty ovlivňující biologickou kvalitu osiva*, 1999

LACHMAN, J.; DUDJAK, J.; ORSÁK, M.; PIVEC, V.; *Effect of accelerated ageing on the content and composition of polyphenolic complex of wheat (Triticum aestivum L.) grains*, Plant, Soil Environ., 49 (1), 2003, p. 1-7

LÍZALOVÁ, M., *Aplikace vybraných metod k analýze oxidačního stresu*, Dizertační práce, Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2010, 115 s.

MATOUŠKOVÁ M., RUTTKAY-NEDECKÝ B., KIZEK R., 2014: *Antioxidační enzymy - biochemické markery oxidačního stresu*. Databáze online [cit. 2015-04-07]. Dostupné na: [http://web2.mendelu.cz/af\\_239\\_nanotech/J\\_Met\\_Nano/0314/pdf/jmn3-13.pdf](http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/J_Met_Nano/0314/pdf/jmn3-13.pdf)



- MARTINEK P., COUFALOVÁ O., KUREČKA R., NOVÁKOVÁ E., MIKULCOVÁ J. (2006). *Netradiční barva obilek pšenice (Triticum aestivum, L.), její genetická podmíněnost a možnost využití v potravinářství. In Nové poznatky z genetiky a šlechtění polnohospodářských rostlin. Zborník z 13. vedeckej konferencie, Piešťany, VURV, s. 95–98*
- MARTINEK, P.; VYHNÁNEK, T.; PODHORNÁ, J.; NOVOTNÁ, P.; VACULOVÁ, K.; KADLÍKOVÁ, M.; JIRSA, O.; KUREČKA, R.; *Pšenice s odlišným zabarvením zrna a možnost jejich využití v potravinářství, Úroda 12, 2011, vědecká příloha, 117 s.*
- MASOPUST, J., *Klinická biochemie: požadování a hodnocení biochemických vyšetření. 1. vydání. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-7184-650-3*
- MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ. *Katalog krmiv. Multimediální prezentace ústavu výživy zvířat a pícninářství. (online). Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/krmiva/page.php?lang=cze&id=1](http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/krmiva/page.php?lang=cze&id=1)*
- MOLTON T. A., CORNISH E. C. (1995): *Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. 7: 1071-1083*
- MURRAY R. K., GRANNER D. K., MAYES P. A., et al. *Harperova biochemie. 2. vydání. Praha: H&H, 1998. 872 s. ISBN 80-85787-38-5*
- MUSILOVÁ M., TROJAN V., VYHNÁNEK T., HAVEL L. (2011): *The variability of wheat genetic resources usable in breeding for functional foods. Potravinářství 5, (suppl.): 70-73*
- PAULOVÁ H., BOCHOŘÁKOVÁ H., AND TÁBORSKÁ E, 2004, *In vitro Methods for Estimation of the Antioxidant Activity of Natural Compounds*, ,(Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno) *Chemické Listy 98, 174 – 179*
- PAREJO, L.; CODINA, C.; PETRAKIS, C.; KEFALAS, P., *Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH center dot (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 2000, 44, 507-512*
- PELLEGRINI, R., PROTEGGENTE N., PANNALA, A., YANG A., RICE-EVANS M., C., 1999, *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26, 1231-1237*

Pears Health Cyber, s. r. o. *Laboratorní hodnoty – Ordinace.cz* [online]. ©2010. Poslední revize 2010-04-14, [cit. 2007-07-27]. <<http://www.ordinace.cz/laboratorni-hodnoty/>>.

PENNINGTON J. A. T. (2002). *Food composition databases for bioactive food components*. *J. Food Comp. Anal.*, 15: 419–434

PLÁTENÍK, Jan. *Reaktivní formy kyslíku v lidském těle Antioxidační ochran* [přednáška k předmětu Patobiochemie, obor LEK, 1.LF UK]. Praha. 2011

PRUGAR, J., *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, 2008, 327 s., [13] s. barev. obr. příl. ISBN 978-80-86576-28-2

RACEK, J, a kol., *Klinická biochemie*. První vydání. Praha: Galén – Karolinum, 2000. ISBN 80-7262-023-1

ROMERO-BARANZINI A. L., FLORES R., RAYAS-DUARTE P., ONWULATA C., GARCIA R. A, YAÑEZ-FARIAS G. A., FALCON-VILLA M. R. (2007). *Dietary fiber and beta-glucan contents of extruded products prepared from barley blends with plantago and wheat bran*. AACC International Annual Meeting, October 7–10, 2007. *Cereal Foods World* 52: A62

RÜCKSCHLOSS L., MATUŠKOVÁ, K., HANKOVÁ, A., JANČÍK, D., 2010: *Vliv pšenice s purpurovou farbou zrna na parametre užítkovosti nosnic a kvalitu vajec*. *Potravinářství*. 4: 231-235

SCHNEIDERKA, Petr, a kol., *Kapitoly z klinické biochemie*. 2. vydání. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0678-X

SOCHOR, J., a kol., *Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages*, *Molecules*, 2010, 15, p. 8618-8640, ISSN: 1420-3049

ŠTÍPEK, Stanislav. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. 1. vyd. Praha: Grada, 2000, 314 s., ISBN 80-7169-704-4

ŠVEC I., HRUŠKOVÁ M. (2010). *Evaluation of wheat bread features*. *J. Food Eng.*, 99, 4: 505–510

TROJAN V. MUSILOVÁ M., VYHNÁNEK T., HAVEL L. (2010): *Studium genetické variability kolekce pšeníc s nestandardním zabarvením obilí*. MendelNet 2010 Proceedings of International Ph.D. Students Conference. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, s. 845-851

VALKO, M.; LIEBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T., MAZUR, M.; TELSER, J., 2007, *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39, p. 44-84

VARGA, M., J. BÁNHIDY, L. CSEUZ a J. MATUZ. *The anthocyanin content of blue and purple coloured wheat cultivars and their hybrid generations*, *Cereal Res. Commun.*, 41 (2), 2013, p. 284-292. DOI: 10.1556/CRC. Dostupné z: <http://www.akademiai.com/>

WALLACE, T.C. 2011. *Anthocyanins in Cardiovascular Disease*. *Advance in Nutrition*, 2, 2011, 1-7

ZELENKA, Jiří. *Výživa a krmení drůbeže*. 1. vyd. Olomouc: Agriprint, 2014, 145 s. ISBN 978-80-87091-53-1

ZEMAN, Ladislav. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Profi Press, c2006, 360 s. ISBN 80-86726-17-7

ZIMOLKA, Josef. *Pšenice: pěstování, hodnocení a užití zrna*. 1. vyd. Praha: Profi Press, c2005, 179 s. ISBN 80-86726-09-6