

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BRNO 2016

KRISTÝNA PAVELICOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav chemie a biochemie



Agronomická
fakulta

Mendelova
univerzita
v Brně



**Analýza biologicky aktivních látek ve funkčních
potravinách – flavonoidní látky**

Bakalářská práce

Vedoucí práce:
Prof. RNDr. Bořivoj Klejdus, PhD.

Vypracovala:
Kristýna Pavelicová

Brno 2016

ZADÁNÍ

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci:.....

.....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

PODĚKOVÁNÍ

Dovoluji si tímto poděkovat Prof. RNDr. Bořivoji Klejdusovi, Ph.D za příkladné vedení, pomoc při vyhledávání odborné literatury, cenné rady a připomínky, které mi pomohli při vypracování této práce.

ABSTRAKT

Bakalářská práce s tématem Analýza biologicky aktivních látek ve funkčních potravinách – flavonoidní látky se zabývá charakteristikou funkčních potravin, jejich hlavními aspekty, zástupci a vlivu na zdraví člověka. Dále popisuje flavonoidy, jak z hlediska chemické struktury, tak výskytu a pozitivního účinku na lidský organismus. Poslední kapitola pojednává o metodách používaných k analýze flavonoidních látek.

Klíčová slova

Funkční potraviny, flavonoidní látky, isoflavonoidy, analýza flavonoidů

ABSTRACT

Bachelor thesis entitled Analysis of biologically active compounds in functional foods - flavonoid substances deals with the characterization of functional foods, their main aspects, agents and impact on human health. It also describes how flavonoids in terms of chemical structure, so the occurrence of a positive effect on the human body. The last chapter discusses the methods used for the analysis of flavonoid compounds.

Keywords

Functional foods, flavonoid compounds, isoflavones, flavonoids analysis

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	CÍL PRÁCE	10
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	11
3.1	Funkční potraviny	11
3.1.1	Historie	11
3.1.2	Současnost	11
3.2	Významné účinné složky funkčních potravin	12
3.2.1	Probiotika, prebiotika a synbiotika.....	13
3.2.1.1	Probiotika	13
3.2.1.2	Prebiotika	13
3.2.1.3	Synbiotika	13
3.2.1.4	Antikarcinogeny	14
3.2.1.5	Vláknina	14
3.2.1.6	Polynenasycené mastné kyseliny	14
3.2.1.7	Peptidy a proteiny	15
3.2.2	Antioxidanty	15
3.2.2.1	Antioxidační systém.....	16
3.2.2.2	Významné antioxidanty	17
3.3	Významné funkční potraviny	18
3.3.1	Pšeničné otruby	18
3.3.2	Rýžové otruby	18
3.3.3	Olej z rýžových otrub	18
3.3.4	Ovesné výrobky.....	18
3.3.5	Lněná semena	19
3.3.6	Česnek a cibule.....	19
3.3.7	Čaj.....	19
3.3.8	Mléko.....	20
3.3.9	Vejce.....	20
3.3.10	Alternativní plodiny.....	21
3.3.10.1	Amarant.....	21
3.3.10.2	Quinoa	21
3.3.10.3	Pohanka	21
3.4	Flavonoidy.....	22
3.4.1	Rozdělení flavonoidů.....	24
3.4.2	Isoflavonoidy	28
3.5	Výskyt flavonoidních látek v potravinách	29
3.5.1	Ovoce.....	30
3.5.2	Zelenina	31
3.5.3	Nápoje.....	32
3.6	Vliv flavonoidních látek na zdraví člověka	33
3.6.1	Antioxidační účinek.....	34
3.6.2	Prevence kardiovaskulárních onemocnění	34
3.6.3	Prevence rakoviny	35

3.6.4	Prevence osteoporózy	36
3.7	Analýza flavonoidních látek	36
3.7.1	Extrakce	37
3.7.1.1	Extrakce kapalinou	38
3.7.1.2	Extrakce tuhou fází - SPE	38
3.7.1.3	Superkritická fluidní extrakce – SFE	38
3.7.1.4	Mikrovlnná extrakce – MAE	39
3.7.2	Separace flavonoidních látek.....	39
3.7.2.1	Plynová chromatografie - GC	40
3.7.2.2	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – HPLC	40
3.7.3	Detekce	41
3.7.3.1	UV/Vis spektroskopie	41
3.7.3.2	Hmotnostní spektrometrie – MS	43
3.7.3.3	Nukleární magnetická rezonance – NMR.....	43
4	ZÁVĚR	44
5	SEZNAM ZDROJŮ	45
6	SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK	49
7	SEZNAM ZKRATEK.....	50

1 ÚVOD

Flavonoidní látky patří mezi sekundární metabolity rostlin s velice významnými účinky. Jsou stále zkoumanou a diskutovanou skupinou produktů, přirozeně se objevujících v rostlinných materiálech. Vyskytují se jak ve formě volné, tak ve formě glykosidů. Jejich pozitivní účinky na lidský organismus již byly prokázány, ačkoliv jsou stále předmětem výzkumu. Zvyšující se zájem o funkční potraviny v posledních letech dostal flavonoidy do podvědomí široké veřejnosti. Důvodem je především prevence civilizačních onemocnění a boj s volnými radikály zabraňující takzvanému rychlému stárnutí organismu. První část mé bakalářské práce je zaměřena na problematiku funkčních potravin. Od obecného shrnutí sklouzává k významným složkám funkčních potravin, jako jsou probiotika, vláknina, antikarcinogenní složky a především antioxidanty. Právě látky s antioxidačním účinkem zahrnují i skupinu polyfenolových sloučenin, jakými jsou flavonoidní látky. Dnes žijeme v době nárůstu zdravého stravování, kdy se zdravé potraviny stávají alespoň nepatrnou součástí jídelníčku části populace. Proto nejvýznamnější funkční potraviny nejsou pro nikoho jistě novinkou. Snad jen kromě alternativních plodin, jež mohou být stále pro někoho neznámé. V druhé části se dostáváme konkrétně k flavonoidním látkám. Je popsána jak jejich chemická struktura, tak i základní rozdělení do sedmi hlavních tříd. Tyto významné sloučeniny nalezneme v ovoci, zelenině a nápojích. Tedy především v jablkách, červené cibuli, ovocných šťávách, čaji a vínu. Jejich pozitivní účinky na lidský organismus byly již několikrát prokázány v několika oblastech. Jedná se zejména o antioxidační účinek, prevenci srdečně cévních onemocnění, rakoviny a osteoporózy. Poslední část popisuje důležitou analýzu flavonoidů, která se neobejde bez extrakce, chromatografických metod a následné detekce.

2 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem mé bakalářské práce bylo vypracovat literární rozbor zahrnující charakteristiku funkčních potravin, jejich významných funkčních složek a samotné důležité funkční potraviny. Druhá část je založena na významných fenolických antioxidantech – flavonoidních látkách. Podrobně jsem popsala jejich chemickou strukturu, výskyt v potravinách a vliv na zdraví člověka. V poslední řadě literární rešerše je rozebrána analýza flavonoidů obsažených v potravinách.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Funkční potraviny

3.1.1 Historie

Konec 20. století přinesl ve výživě obyvatelstva vyspělých zemí novou situaci. Poprvé v celé historii došlo ke kvantitativnímu nasycení a podařilo se téměř u všech jednotlivců zajistit také kvalitativní stránku výživy (Kalač, 2003).

Dříve byly studie spíše zaměřeny na negativní souvislosti mezi chorobami a jednotlivými potravinami. Poukazovaly na to, čeho je třeba se vyvarovat či co může vést k poškození zdraví. Postupem času lidstvo přesouvalo zájem k opačnému pohledu – které potraviny a jejich složky pozitivně ovlivňují zdraví? Jako první přišli s koncepcí vývoje zdravotně prospěšných potravin Japonci v 80. letech (Kalač, 2003).

3.1.2 Současnost

Funkční potraviny jsou produkty obohacené o biologicky aktivní látky (například vitamíny) nebo se sníženým obsahem škodlivých látek v porovnání s obvyklými potravinami (Chelombitko aj., 2008). Poskytují značné zdravotní výhody jako správný růst a vývoj, regulaci metabolických pochodů, ochranu proti oxidativnímu stresu, podporu gastrointestinální fyziologie, pozitivní ovlivnění kognitivních funkcí, dobrou fyzickou výkonnost a nesčetně dalších oblastí přínosu (Tur, Bibiloni, 2016).

Komprda (2007) označuje potravinu jako funkční, splňuje-li některé z následujících kritérií:

- obsahuje takovou složku (může to být živina, ale i jiná složka), jež cíleně pozitivním způsobem ovlivňuje jednu nebo více funkcí lidského organismu
- má fyziologický či psychologický účinek nad rámec tradičního nutričního účinku

Kromě základních živin by měly navíc obsahovat látky, jež významně ovlivňují metabolické pochody a především jsou zdravotním přínosem v prevenci vůči nemocem (Bulková, 2011).

Podle Bulkové (2011) mají mít při konzumaci specifické funkce:

- posílení biologických obranných procesů a preventivní působení
- zamezení určitých onemocnění a procesu stárnutí

Mezi složky, díky nimž jsou potraviny funkční, patří nepostradatelná makro-živina s fyziologickým účinkem (n-3 PUFA), mikro-živina konzumovaná v množství přesahujícím denní doporučené množství, složka neklasifikována ohledně své nutriční hodnoty jako nepostradatelná a rovněž složka bez nutriční hodnoty (Komprda, 2008).

3.2 Významné účinné složky funkčních potravin

Zvýšení biologické hodnoty stravy lze dosáhnout zařazením funkčních přísad (účinných složek). Postup obohacování běžných potravin funkčními přísadami nazýváme fortifikace (Bulková, 2011).

Účinnými látkami ve funkčních potravinách jsou například inulin a oligofruktóza, jež upravují metabolickou rovnováhu, posilují imunitní systém, zlepšují využitelnost živin a stabilizují mikroflóru tlustého střeva (Komprda, 2007).

Látkami s předpokládaným účinkem jsou dále polynenasycené mastné kyseliny řady n-3. Uplatňují se především v prevenci kardiovaskulárních onemocnění. Fenolické látky s antioxidačním účinkem a fytoosteroly rovněž patří mezi biologicky aktivní látky (Komprda, 2007).

Především v potravinách rostlinného původu najdeme mnoho účinných složek. Zvláště v rostlinných olejích, ořechách, luštěninách, ovoci a zelenině (Komprda, 2007).

Tabulka č. 1: *Příklady biologicky aktivních látek* (Bulková, 2011)

Bioaktivní ochranné látky	Nejdůležitější zdroje v rostlinné potravě
Vláknina a příbuzné látky	Všechny druhy zeleniny, ovoce, brambory, luštěniny, obiloviny
Fenoly	Hrozny, maliny, jahody
Flavonoidy	Černý rybíz, pažitka, kopr, cibule, česnek, paprika, aronie, jahody, šípky, citrusové ovoce
Fytoosteroly	Kukuřice, sója, slunečnicové a řepkové semeno, skořápkové ovoce

3.2.1 Probiotika, prebiotika a synbiotika

3.2.1.1 Probiotika

Patří mezi základní složky střevní mikroflóry, které představují bariéru proti adhezí patogenů na střevní sliznici (Roselli aj., 2003).

Význam slova probiotika je charakterizován jako živé mikrobiální přísady do potravin, především mléčných výrobků, které mají příznivý vliv na lidské zdraví. Jedná se o pozitivní účinek zvláště na mikroflóru tlustého střeva, kde se rychlost průchodu potravin podstatně snižuje (Kalač, 2003).

Přítomné bakterie tedy mají možnost štěpit složky potravy, které prošly v nestráveném stavu tenkým střevem. Jsou pro ně zároveň zdrojem energie a živin souhrnně označeným jako substrát (Kalač, 2003).

Mikroorganismy tlustého střeva o substráty vzájemně soutěží. Cílem přísady vhodného probiotika je zvýšit četnost takových mikroorganismů, jež jsou přínosem pro lidské zdraví (Kalač, 2003).

Mezi nejvíce používané probiotické mikroorganismy patří bakterie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus* (*acidophilus*, *bulgaricus*, *casei*), *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, ovšem celkový počet je mnohem pestřejší (Kopřiva aj., 2014).

3.2.1.2 Prebiotika

Slouží jako pomocníci při vyřešení problémů probiotik. Jedná se zejména o potíže se schopnostmi přežít průchod žaludkem a tenkým střevem a dlouhodobě se usídlit v tlustém střevě vzhledem ke konkurenci přirozené mikroflóry (Kalač, 2003).

Patří mezi ně nestravitelné oligosacharidy, polysacharidy, fruktany a další látky (Bulková, 2011).

3.2.1.3 Synbiotika

Pojem má jednoduché vysvětlení. Jedná se o přísadu prebiotik a probiotik současně do jednoho produktu. Princip spočívá v tom, že vhodná bakterie má k dispozici substrát, který bude moci selektivně fermentovat v tlustém střevu. Tím dochází ke zlepšení jejich šancí prosadit se v konkurenci s přirozenou mikroflórou (Kalač, 2003).

3.2.1.4 Antikarcinogeny

Antikarcinogenní složky obsahuje strava především rostlinného původu. Mluvíme zde o ovoci, zelenině, ale rovněž o luštěninách a celozrnných obilovinách.

Tabulka č. 2: *Vliv příjmu ovoce a zeleniny na prevenci nádorových onemocnění* (Kalač, 2003)

ORGÁN	ZELENINA	OVOCE
Ústní dutina	+++	+
Hltan	+	+
Žaludek	+	+
Tlusté střevo	+++	+++
Slinivka	+	+
Játra	+	+
Plíce	+	+++
Ledviny	+++	+
Močový měchýř	+	+++
Prs	+	+
Vaječníky	+	+
Prostata	+	+

3.2.1.5 Vlákna

Do vlákniny zahrnujeme všechny polysacharidy, které nejsou využitelné v trávicím traktu. Jedná se o přirozené polysacharidy konkrétní potraviny rostlinného původu i nevyužitelné sacharidy, které se přidávají do mnoha potravinářských výrobků pro úpravu konzistence (Kalač, 2003).

Vlákna, jakožto funkční účinná látka může být například vláknina obilí, jablečná a řepná vláknina, guarová a xantalová guma, pektinové látky a karagenany (Bulková, 2011).

3.2.1.6 Polynenasycené mastné kyseliny

Vyskytují se v olejích mořských ryb a tuku velryb, nejsou zastoupeny v tucích jiných živočichů ani rostlinných olejích. Všechny tyto kyseliny patří svojí strukturou mezi žádoucí n-3 kyseliny. Jejich řetězec má 20 i 22 atomů uhlíku a čtyři až šest

dvojných vazeb. Mnoha studiemi je dokázán pozitivní účinek n-3 kyselin na srdečně cévní systém (Kalač, 2003).

Řadíme zde kyselinu eikosapentaenovou (EPA), dokosahexaenovou (DHA), linolovou, arachidonovou, alfa a gama-linolenovou (Bulková, 2011).

3.2.1.7 Peptidy a proteiny

Bílkoviny se řadí mezi polymerní látky skládající se z aminokyselin. V lidském organismu plní mnoho důležitých funkcí (Komprda, 2009).

Ve výživě člověka jsou zdrojem esenciálních aminokyselin, jež si lidský organismus nedokáže sám syntetizovat. Posléze se stávají důležitou složkou stavby vlastních bílkovin. Pro dospělého člověka je esenciálních osm aminokyselin – valin, leucin, izoleucin, fenylalanin, tryptofan, threonin, methionin a lysin. Pro děti jsou nezbytné navíc arginin a histidin (Kalač, 2003).

Zdroje bílkovin je možno rozdělit mezi živočišné a rostlinné. Přičemž živočišné zdroje mají příznivý poměr esenciálních aminokyselin a jsou hodnotnější než rostlinné (Burdychová, 2009).

3.2.2 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky schopné zpomalit nebo zabránit oxidacím jiných molekul (Komprda, 2008).

Podle Bulkové (2011) rozlišujeme:

1. Hydrofilní antioxidanty
 - a) intracelulární
 - enzymové
 - neenzymové
 - b) extracelulární
 - vysokomolekulární
 - nízkomolekulární
2. Lipofilní antioxidanty
 - vitamin E
3. Amfofilní antioxidanty

Antioxidanty patří mezi látky, které prodlužují údržnost potravin tak, že je chrání před znehodnocením způsobeného oxidací, jejímž projevem může být žluknutí tuků

a dalších, snadno oxidujících látek. Tak je chrání před negativními změnami, které ovlivňují jejich výživovou, senzickou a hygienicko-toxikologickou hodnotu (Velíšek a Hajšlová, 2009).

3.2.2.1 Antioxidační systém

Oxidační stres je proces, při němž dochází k nerovnováze mezi produkcí a eliminací volných radikálů ve prospěch jejich produkce, v jehož důsledku dochází k poškození biologických systémů či potravin vlivem volných radikálů (Kopřiva aj., 2014).

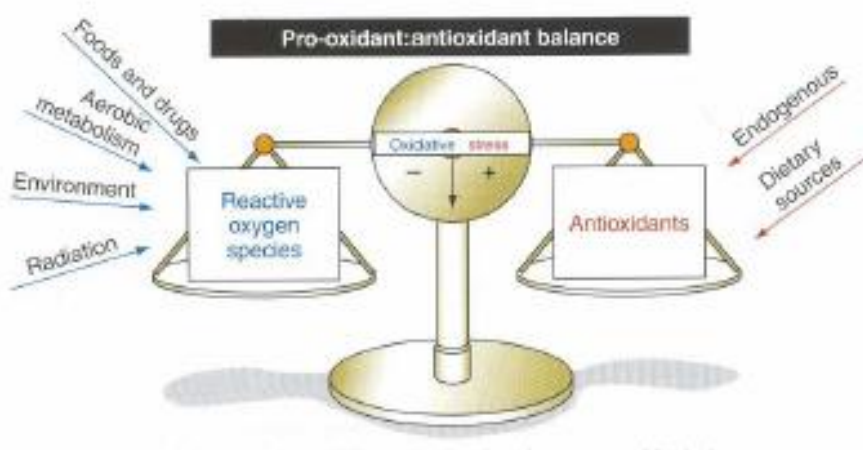
Volné radikály jsou nestálé reaktivní částice s oxidačním účinkem, nesoucí volný nepárový elektron (Kalač, 2003). Jestliže se ionty tvoří heterolytickým štěpením, kdy jeden z reakčních produktů získává celý elektronový pár, volné radikály se tvoří homolytickým štěpením původní kovalentní vazby. Přičemž každému z obou reakčních produktů zůstává jeden nepárový elektron (Komprda, 2007):

Heterolytické štěpení: $A-B \rightarrow A:^- + B^+$

Homolytické štěpení: $A-B \rightarrow A\bullet + B\bullet$

Volné radikály, jež obsahují molekulu kyslíku, nazýváme reaktivní kyslíkaté částice – ROS, z anglického Reactive Oxygen Species (Kopřiva aj., 2014).

V potravinách jsou díky působení volných radikálů znehodnocovány důležité složky jako polynenasycené mastné kyseliny lipidů nebo aminokyseliny bílkovin. Dochází tak ke snížení jakosti potravin (Kopřiva aj., 2014).



Obrázek č. 1: Oxidativní stres - nerovnováha mezi ROS a antioxidanty (Komprda, 2008)

3.2.2.2 Významné antioxidanty

Vitamíny

Jsou látky pro člověka nepostradatelné, neboť zajišťují životně důležité funkce (Komprda, 2009).

Vitamin E tedy osm isomerů tokoferolu, patří mezi významné lipofilní antioxidanty (Kopřiva aj., 2014).

Nejznámější látka s účinkem vitamínu E je alfa tokoferol. Jeho dostatečný příjem snižuje riziko kardiovaskulárních chorob, šedého očního zákalu, a také degenerativních onemocnění mozku (Komprda, 2009).

Karotenoidy patří mezi účinné antioxidanty, které vytváří rostliny, řasy, houby a mikroorganismy. Jejich nejznámější skupinou jsou karoteny, z nichž nejrozšířenější je beta-karoten jako prekursor vitamínu A (Kalač, 2003).

Jejich antioxidační vlastnosti se uplatňují především v prevenci degenerativních onemocnění (Kopřiva aj., 2014).

Kyselina L-askorbová neboli vitamin C představuje účinné redukční činidlo, zabráňující poškozování organismu vlivem reaktivních částic (Komprda, 2009). Nejvhodnější forma denní potřeby vitamínu C je častá konzumace ovoce a zeleniny, nejlépe v pěti denních dávkách (Bulková, 2011).

Je velice citlivý na dlouhodobé skladování a tepelnou úpravu (Burdychová, 2009).

Fenolické antioxidanty

Chemicky pestrá skupina rostlinných látek s antioxidační schopností tvoří sloučeniny, které se vyznačují přítomností několika fenolických skupin. Nachází se zde některé fenoly, fenolické kyseliny a jejich estery a glykosidy, lignany, flavonoidy, katechiny a některé třísloviny (Kalač, 2003).

Působení v organismu člověka dle Komprdy (2008):

- Vychytávání volných radikálů
- Antikarcinogenní působení

Nejzákladnější dělení dle Komprdy (2008):

- Flavonoidy
- Fenolické monomery

3.3 Významné funkční potraviny

3.3.1 Pšeničné otruby

Jsou tvořeny především polysacharidy, které patří do nerozpustné vlákniny. Z celkové vlákniny 15–24 % tvoří celulóza a 5–10 % lignin. Tyto složky jsou nestravitelné a nepodléhají fermentaci v tlustém střevu. Vláknina je stravitelná z jedné třetiny (Kalač, 2003).

Předpokládané účinky podle Komprdy (2008):

- Prevence zácpy
- Prevence rakoviny tlustého střeva
- Prevence rakoviny prsu

3.3.2 Rýžové otruby

Jsou dosud omezeně využívaným vedlejším produktem mlýnských úprav rýže. Obsah živin je vyšší než v bílé rýži. Otruby obsahují 11–17 % bílkovin, 13–30 % oleje, 6–31 % vlákniny, 8–17 % minerálních látek a 10–55 % škrobu (Kalač, 2003).

Funkčními složkami tedy jsou proteiny a vláknina (Komprda, 2008).

3.3.3 Olej z rýžových otrub

Mezi funkční složky patří fytoosteroly, oryzanoly - estery triterpenických alkoholů s kyselinou ferulovou (Komprda, 2008). Obsahuje především kyselinu palmitovou, olejovou a linolovou v poměru 1:2:2. Nenasycené mastné kyseliny působí pozitivně například na krevní hladinu celkového a LDL cholesterolu (Kalač, 2003).

3.3.4 Ovesné výrobky

Tedy mouka, vločky a otruby, jsou prvými potravinami, jež bylo povoleno ve Spojených státech označovat na etiketách jejich zdravotním přínosem – snížením rizika srdečně cévních chorob (Kalač, 2003).

Mezi jejich zdravotně přínosné účinky patří snižování celkového plazmatického a LDL cholesterolu a snižování glykémie. Hlavní příčinou pozitivních účinků jsou beta glukany (Komprda, 2008).

3.3.5 Lněná semena

Funkční složky dle Komprdy (2008):

- Alfa linolenová kyselina
- Slizy
- Lignany
- Tokoferoly
- Flavonoidy

Účinky na lidský organismus dle Komprdy (2008):

- Snižování celkového plazmatického cholesterolu
- Estrogenní účinky lignanů – zmírnění projevů klimakteria
- Snižování hladiny LDL cholesterolu
- Snížení rizika osteoporózy
- Snížení rizika rakoviny prsu a prostaty

3.3.6 Česnek a cibule

Jsou významnými druhy zeleniny, jejichž použití v lidové medicíně je odhadováno na více než čtyři tisíce let (Kalač, 2003).

Jejich nejdůležitějšími látkami z hlediska funkčních potravin jsou flavonoidy a sírné sloučeniny (Komprda, 2008).

Sírné sloučeniny (disulfidy – dialyldisulfid, dialliltrisulfid) – allicin a další látky snižují hypertenzi, hladinu LDL cholesterolu, snižují riziku kardiovaskulárních onemocnění, trombózy a mohou působit preventivně proti nádorovým onemocněním (Bulková, 2011).

3.3.7 Čaj

Z rituálního nápoje se postupem času stal druhý nejrozšířenější nápoj na světě. Tradičně byl spojován s příznivými účinky na lidský organismus, avšak teprve v minulých letech se prokázaly jeho antioxidační účinky (Kalač, 2003).

Tabulka č. 3: *Obsah funkčních složek v čaji* (Kalač, 2003)

SLOŽKY	ČERNÝ ČAJ	ZELENÝ ČAJ
Katechiny	10–12	30–40
Theaflaviny	3–6	
Thearubigeny	12–18	
Theogallin		2–3
Flavonoidy	6–8	5–10

Preventivní účinky se nacházejí především v oblasti snížení rizika nádorového bujení, snížení rizika srdečně cévních chorob a v posílení zdraví chrupu (Komprda, 2008).

3.3.8 Mléko

Funkční složky dle Komprdy (2008):

- Vápník
- Vitamin D
- Bakterie mléčného kvašení
- Konjugovaná linolová kyselina
- Syrovátkové bílkoviny bohaté na cystein a methionin

Z hlediska prevence jsou nejdůležitější poznatky o vztahu mezi mlékem a mléčnými výrobky a třemi významnými chorobami (Kalač, 2003).

- Kardiovaskulární onemocnění
- Vysoký krevní tlak
- Rakovina tlustého střeva

I když mléko je díky nasyceným mastným kyselinám a cholesterolu možným zdravotním rizikem, stále u něj převažují složky s ochrannými účinky (Kalač, 2003).

3.3.9 Vejce

Ačkoliv jsou vejce potravinou s vysokým obsahem cholesterolu, může se v nich díky řízené výživě nosnic vyskytovat řada látek považována za funkční složky (Kalač, 2003).

Mezi funkčně účinné látky vajec dle Komprdy (2008) řadíme:

- Alfa linolenovou kyselinu, EPA a DHA
- Alfa tokoferol
- Selen

Vejce jsou obohacena o PUFA n-3 kyseliny a nadějně se jeví možnost obohacovat vejce selenem, vitamínem E a karotenoidy. Při denní spotřebě jednoho až dvou vajec takového typu se zlepšuje složení mastných kyselin v krevních lipidech (Kalač, 2003). Dochází tedy k ochraně před kardiovaskulárními onemocněními (Komprda, 2008).

3.3.10 Alternativní plodiny

3.3.10.1 *Amarant*

Neboli laskavec se řadí mezi pseudocereálie, neboť botanicky nepatří mezi obiloviny, ale jeho použití je obdobné. Z výživového hlediska mají semena amarantu vysoký obsah bílkovin, oproti obilovinám je vysoký především obsah esenciální aminokyseliny lysinu (Kalač, 2003).

Funkčními složkami jsou beta-glukany, skvalen (lineární triterpen) a alfa tokoferol. Z hlediska prevence dochází ke snižování celkového plazmatického a LDL cholesterolu (Komprda, 2008).

3.3.10.2 *Quinoa*

Je vhodnou potravinou především pro celiaki, neboť neobsahuje lepek. Podobně jako laskavec je zde značný obsah hodnotných bílkovin. Ve vnější vrstvě obalu obsahuje hořké saponiny, jež mohou poškozovat střevní stěnu. Jsou ovšem rozpustné ve vodě, proto se dají vyluhovat do namáčecí vody či odstranit leštěním (Kalač, 2003).

3.3.10.3 *Pohanka*

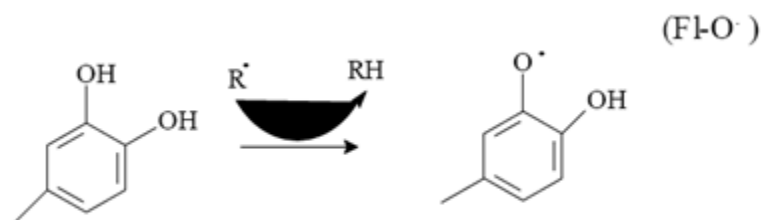
Díky svému složení je pohanka dobrým antioxidantem. Obsahuje flavonoidy, bílkoviny a vitaminy B₁ a B₂. Hlavním flavonoidem semen je rutin, méně zastoupený je isovitexin. Patří mezi vyhledávané suroviny u celiaků, neboť její bílkoviny neobsahují lepek (Kalač, 2003).

3.4 Flavonoidy

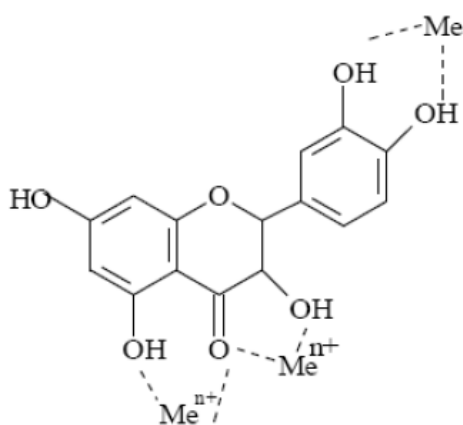
Flavonoidní látky náleží mezi rostlinné sekundární metabolity, jež působí často antioxidačně (Komprda, 2009). Řadí se mezi rostlinné fytochemikálie, jež nemohou být syntetizovány lidmi a nenajdeme je v živočišných produktech (Peterson, 1998). Množství všech flavonoidních látek se dnes odhaduje přibližně na pět tisíc a stále jsou nacházeny nové sloučeniny (Velíšek, 2009). Vykazují se silným antioxidačním účinkem inhibicí enzymů působících v produkci superoxidového radikálu (Kopřiva aj., 2014).

Podle Kalače (2003) mají flavonoidy dva typy antioxidačního účinku:

- reakce s volnými radikály
- vázání rizikových kovů do neúčinných komplexů



Obrázek č. 2: Antioxidační aktivita polyfenolů - flavonoidních látek (Schönová, 2011)



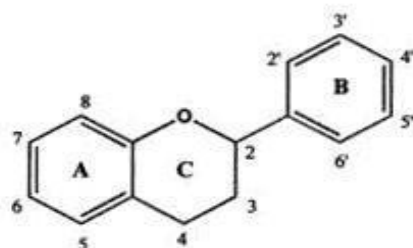
Obrázek č. 3: Vazebná místa kovů v molekule flavonoidních látek (Schönová, 2011)

Některé z jejich zástupců jsou důležitá přírodní rostlinná barviva, své místo zde mají i látky významné pro svoji chuť (trpké a hořké látky či jejich prekurzory) i pro

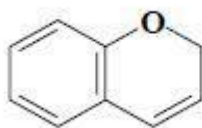
biologické účinky (Velíšek, 2009). Flavonoidní látky mají antibakteriální, antivirové, antialergické a vazodilatační účinky (Bulková, 2011).

Mnoho flavonoidů je snadno rozpoznatelných jako ve vodě rozpustné květinové pigmenty většiny krytosemenných rostlin (kvetoucích), které samy o sobě poskytují hlavní zdroj rostlin určených k výživě – ovoce, zelenina a obilí (Velíšek, Cejpek, 2008). Asi jen 60 zástupců flavonoidních látek vykazuje pozitivní vliv na organismus člověka, především na cévní systém (Komprda, 2009). Z hlediska výživy nejsou pro život nezbytné, významně se však podílejí na podpoře zdraví, a proto je lze považovat za semiesenciální složku potravy (Stratil, 1993).

Flavonoidy jsou rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů, jež ve svých molekulách obsahují dva benzenové kruhy (kruh A a B) spojené tří uhlíkovým řetězcem. U většiny flavonoidů je B3 řetězec součástí heterocyklického kruhu odvozeného od 2H pyranu (kruh C). Flavonoidní látky jsou tedy odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny 2H-chromenu, substituovaného v poloze B-2 fenylovou skupinou, jež se nazývá flavan (Velíšek, 2009).



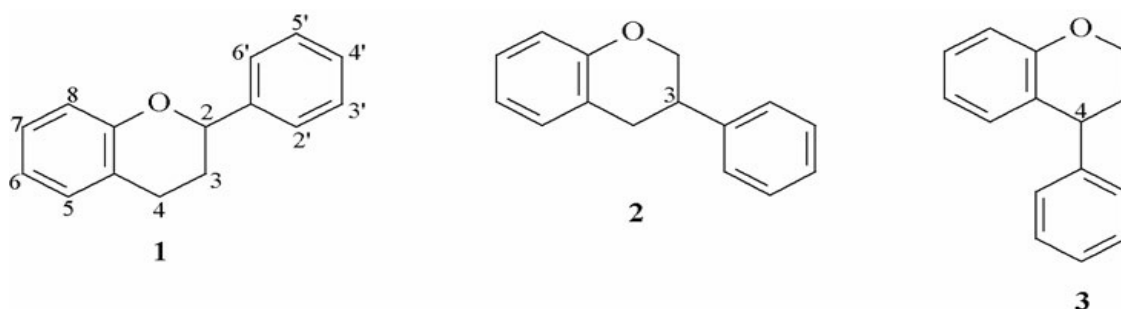
Obrázek č. 4: *Flavan* (Komprda, 2007)



Obrázek č. 5: *Chromen* (Komprda, 2007)

Zahrnují širokou kolekci přírodních produktů, jež obsahují C6-C3-C6 uhlíkovou kostru či více specifickou fenylobenzopyranovou funkci. V závislosti na poloze vazby aromatického kruhu s benzopyrano (chromano) zbytkem, mohou být tyto látky rozděleny do tří tříd (Grotewold, 2006):

1. flavonoidy (2-fenylbenzo-pyrany)
2. isoflavonoidy (3-benzopyrany)
3. bioflavonoidy (4-benzopyrany)



Obrázek č. 6: *Struktura flavonoidních látek* (Grotewold, 2006)

3.4.1 Rozdělení flavonoidů

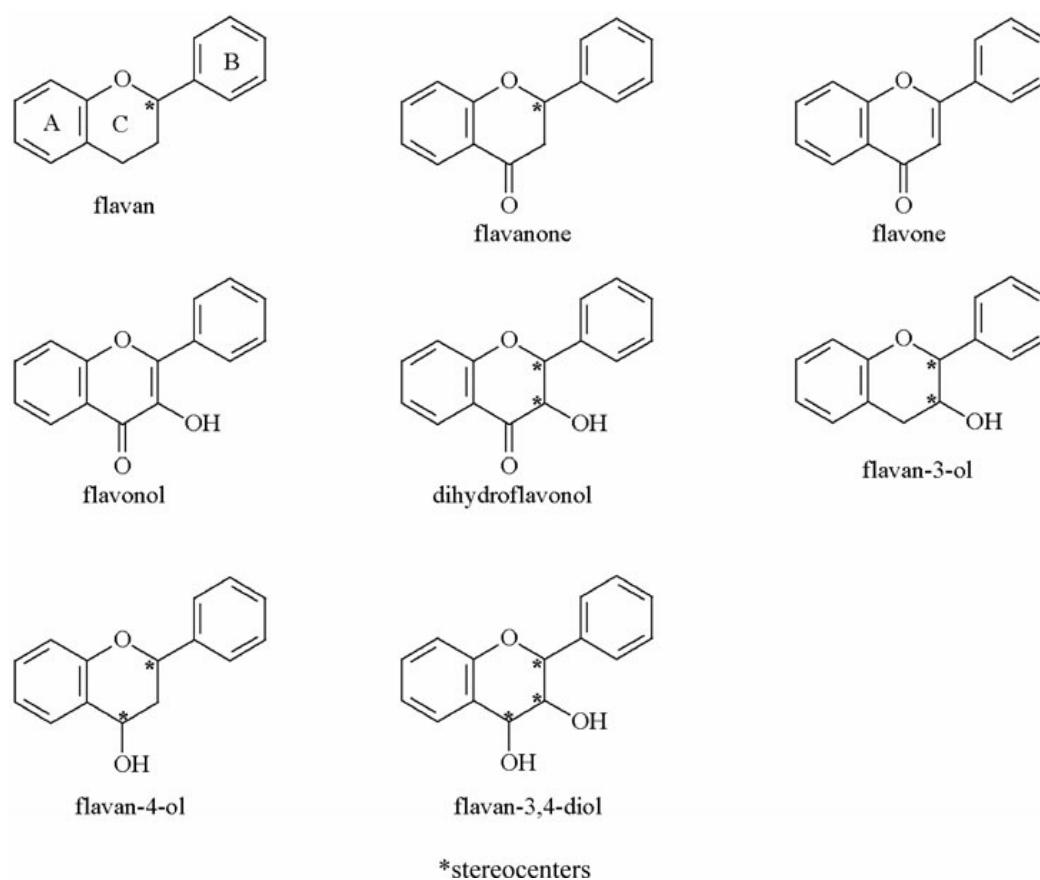
Tyto skupiny látek obvykle sdílejí společný prekurzor, a proto jsou biogeneticky a strukturně příbuzné (Grotewold, 2006). Je identifikováno více než 4000 různých flavonoidních látek, jež byly rozděleny do několika tříd zahrnující flavonoly, flavony, flavanony, katechiny, anthokyaniny, isoflavony a chalkony (Cook, Samman, 1996).

Další rozdělení je možné dle stupně oxidace C3 řetězce a jeho substituce (Velíšek, 2009):

1. Katechiny (flavan-3-oly) se nacházejí převážně v čerstvých listech čaje, hlavně v zeleném, kde jsou nejdominantnější z řady přítomných polyfenolů. V čaji nalezneme především epigallokatechin-3-*O*-gallát a epikatechin-3-*O*-gallát (Volf, Andrs, 2014). Jsou bezbarvými sloučeninami podléhajícími enzymovému hnědnutí, kdy dochází ke vzniku hnědých pigmentů. Jsou přítomny tedy jako barviva některých potravin (Velíšek, 2009).
2. Leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly) jako bezbarvé sloučeniny, mohou být prekurzory pro vznik anthokyanidinů, při zpracování zeleniny či ovoce v kyselém prostředí. Podobně jako katechiny podléhají enzymovému hnědnutí (Velíšek, 2009). Jsou syntetizovány cestou flavanonolů a následnou redukcí ketoskupiny na C4 (Vermerris, Nicholson, 2006).

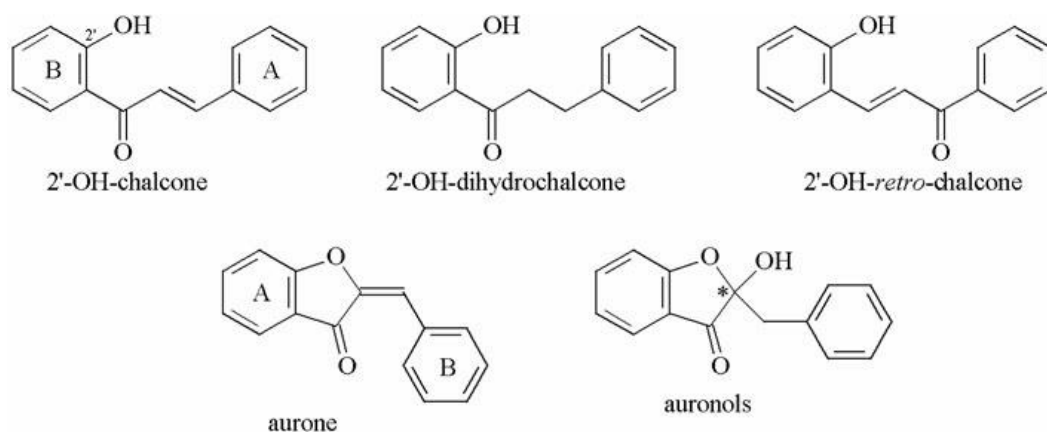
3. Flavanony patří mezi bezbarvé až světle žluté látky. Jejich kostru tvoří glykosidy odvozené od 5,7-dihydroxyflavanonů, jejich (2*S*)-isomerů, jež se liší substituenty kruhu C. Jejich výskyt v potravinách je poměrně malý, mohou však být významnými hořkými látkami u grapefruitů (Velíšek, 2009). Je to naringenin (5,7,4 – trihydroxy-flavanon), hesperetin (4'- methoxy-3', 5,7-trihydroxyflavon) v pomeranči a eriodictol (5,7, 3', 4'- tetrahydroxyflavanon) v citronech (Volf, Andrs, 2014).
4. Flavanonoly jsou látky světle žluté až žluté barvy, jejichž výskyt je hlavně ve formě glykosidů (Davídek aj., 1991). Typickým flavanonolem je dihydrokvercetin neboli taxifolin, vyskytující se ve větší míře v oříšcích podzemnice a jako složka pylů. Ostatní rostlinné materiály je ve vyšších koncentracích neobsahují (Velíšek, 2009).
5. Flavony patří mezi nejrozšířenější žluté pigmenty rostlin. Flavony přítomné v potravinách jsou běžně substituované na B-5 a B-7, méně často v poloze B-6 kruhu A a v poloze B-4' kruhu C (Velíšek, 2009). Jde o apigenin, luteolin a dále polymethoxylované flavony – tangeretin a nobiletin, jež jsou obsažené v citrusových plodech a v oranžádových šťávách (Volf, Andrs, 2014). Například apigenin najdeme zejména v naťové zelenině jako je kopr a nať petržele (Bulková, 2011).
6. Flavonoly (dihydroflavony) jsou v přírodě nejvíce rozšířené a to především jako *O*-glykosidy. Často dochází k substituci v poloze 3-B- kruhu, ale i v jiných polohách - 5,7, 4', 3', 5' (Volf, Andrs, 2014). Patří k nejrozšířenějším žlutým pigmentům rostlinných materiálů a vysoce účinným přirozeným antioxidantům (Velíšek, 2002). Jejich nejvýznamnější zástupci jsou kvercetin, myricetin a kemferol. Vyskytují se zvláště ve formě glykosidů (Davídek aj., 1991).
7. Anthokyany jsou řazeny do třídy fenolů. Chemicky jsou heteroglykosidy, jejichž aglykony anthokyanidiny jsou podobné hydroxyderivátu flavonu (Bulková, 2011). Jedná se o červená, fialová až modrá, ve vodě rozpustná barviva (Davídek aj., 1991).

Jsou odpovědné za barvu květů a plodů - například v malinách, jahodách - pelargonidin, kyanidin v ostružinách, malvidin, delphinidin . V přírodě se vyskytují vesměs vázané na cukry jako glykosidy – anthokyaniny (Volf, Andrs, 2014). Doposud jsou nejrozšířenější skupinou rostlinných barviv s identifikací asi 300 různých anthokyanů v přírodních zdrojích. Chemicky se jedná o glykosidy různých aglykonů, jež se nazývají anthokyanidiny. Tyto látky jsou odvozeny od základní struktury flavyliového kationtu (Velíšek, 2009).



Obrázek č. 7: *Struktura jednotlivých skupin flavonoidů* (Grotewold, 2006)

Mezi flavonoidy se také řadí látky minoritního charakteru. Jedná se o chalkony, dihydrochalkony a auronony. Obsahují 2'-hydroxychalkony, 2'-OH-dihydrochalkony, 2'-OH-retro-chalkony, auronony a auronoly (Grotewold, 2006).



*stereocenters

Obrázek č. 8: *Minoritní skupiny flavonoidů* (Grotewold, 2006)

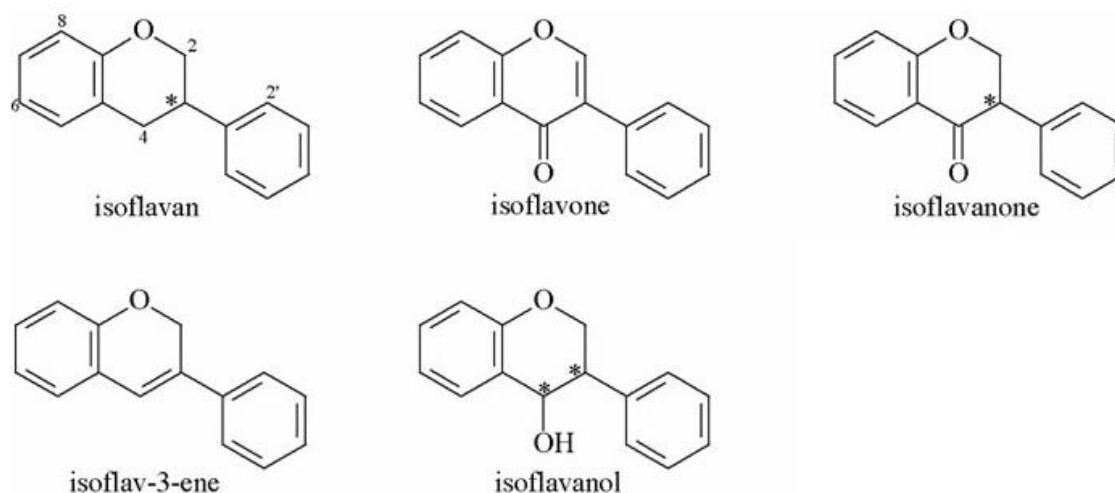
1. Chalkony a dihydrochalkony obsahují lineární C3 řetězec, jež spojuje oba kruhy. U chalkonů obsahuje dvojnou vazbu, u dihydrochalkonů je nasycený (Vermerris, Nicholson, 2006). V potravinářsky významných materiálech nejsou příliš zastoupeny, avšak mají značný význam jako barviva květů rostlin. Nejběžnějším chalkonem je butein, přičemž jeho 4-glukosid se nazývá koreopsin, 4,3'-diglukosid je isobutrin. Zmiňované glykosidy najdeme jako barviva u bobovitých rostlin, které se používají k barvení potravin (Velíšek, 2009). Typickým zástupcem dihydrochalkonů je floretin, přičemž jeho glykosidem je floretin-6-*O*- β -D-glukosid neboli floridzin (Velíšek, 2009). Některé zástupce dihydrochalkonů je v potravinářství využito jako náhradních sladidel (Davídek, 1991).
2. Aurony patří do malé třídy rostlinných flavonoidů, které v glykosylovaných formách poskytují jasně žlutou barvu některých okrasných květin. Jejich stěžejními prekurzory jsou již zmiňované chalkony (Velíšek, Cejpek, 2008). Jejich vznik probíhá na základě cyklizace chalkonů, kdy *m*-hydroxylová skupina reaguje s α -uhlíkem a vznikne heterocyklická část (Vermerris, Nicholson, 2006).

Z uvedených skupin flavonoidů řadíme mezi nutričně významné především katechiny, leukoanthokyanidiny, anthokyanidiny, flavonoly, flavanonoly, flavony, flavanony (Stratil, 1993).

3.4.2 Isoflavonoidy

Patří mezi méně běžné sloučeniny odvozené od isoflavanu, kdy je kruh C spojen s pyranovým kruhem B v poloze B-3 (Velíšek, 2009). Vykazují se jako fytoestrogeny, přičemž zástupci genistein a daidzein jsou přítomné hlavně v sóji a v luštěninách jako aglykony i glukosidy. Isoflavony napodobují působení hormonu estradiolu. Respektive jeho vazbu na receptory buněk, díky podobné struktuře potlačují růst nádorů prostaty (Volf, Andrs, 2014).

Jsou charakteristickou skupinou flavonoidních látek s fenylochromanovou kostrou. Jsou biogeneticky odvozeny od 1,2-arylu. Vzhledem k jejich omezené distribuci v říši rostlin, jsou isoflavonoidy velmi různorodé. Vyplývá to také z různých úrovní oxidace a přítomnosti dalších heterocyklických kruhů. Isoflavonoidy jsou rozděleny do malých podskupin (Grotewold, 2006):



Obrázek č. 9: Skupiny isoflavonů (Grotewold, 2006)

Jestliže dojde ke spojení s pyranovým kruhem v poloze B-4 místo B-3, nazýváme příslušné sloučeniny neoflavonoidy. Mohou se vyskytovat i pod názvy 4-fenylykumariny, 5,6-benzo-2-pyrony či 1,1-diarylpropany (Velíšek, 2009). Obsahují 4-aryl kumariny, 3,4-dihydro-4-aryl kumariny, a neoflaveny (Grotewold, 2006).

3.5 Výskyt flavonoidních látek v potravinách

Ačkoliv bylo již popsáno více než čtyři tisíce individuálních sloučenin flavonoidních látek, vytvořit komplexní databázi těchto látek je více než náročné. Všechny potraviny rostlinného původu totiž potenciálně obsahují flavonoidy (Andersen, Markham, 2006).

Obsah flavonoidů v potravinách kolísá v závislosti na řadě důležitých složek. Jejich syntéza v rostlinných materiálech závisí především na intenzitě slunečního záření. To vysvětluje, proč je ve skleníkové zelenině obsah flavonoidů nižší než ve stejných druzích pěstovaných v polních podmínkách (Kalač, 2003).

V současné době byly flavonoidní látky identifikovány v 35 druzích ovoce, 31 druzích zeleniny, 26 nápojích, osmi různých džemech, třech druzích čokolády a 12 bylinách (Andersen, Markham, 2006).

Tabulka č. 4: *Výskyt některých flavonoidních látek v potravinách v mg/kg* (Volf, Andrs, 2014)

FLAVONOID	ZDROJ	OBSAH
genistein	tofu	159-306
Delfinidin	Červené víno, jahody	-
Coumestrol	Výhonek vojtěšky	47
Apigenin, luteolin	Proso	150 A, 350 L
Katechiny	Zelený čaj, víno	
Kvercetin	Cibule	284-486
	Jablko	21-72
	Kapusta	110
	Černý/zelený čaj	10-20
	Červené víno	4-16
Isoflavony	Sója – mléko, oříšky	-

Celkový příjem flavonoidů v Evropě je 0 – 200 mg/den (Komprda, 2008):

- Černý čaj: polovina celkového příjmu
- Česnek: čtvrtina
- Jablka: desetina

Isoflavony genistein a dandzein (Komprda, 2008):

- Příjem v Evropě < 1 mg/den, Japonsko 35 mg/den
- Fyziologický účinek je pozorovatelný při příjmu 60 – 100 mg/den

Každopádně denní příjem flavonoidů by měl činit alespoň 100 mg/den, což samozřejmě záleží na stravovacích návycích každého jednotlivce (Vrhovsek, 2001).

3.5.1 Ovoce

Katechiny, flavonoly a proanthokyanidiny jsou hlavními flavonoidy ovoce. Flavanony a flavony jsou omezeny na citrusové plody, naopak flavonoly jsou přítomné hlavně ve slupce jablek. Loupání ovoce tedy snižuje jejich obsah, na rozdíl od katechinů, které jsou přítomny v dužnině. V celkovém měřítku jsou katechiny nejhojnější flavonoidy ovoce (Andersen, Markham, 2006).

Množství katechinů se obvykle pohybuje v jednotkách až stovkách mg/kg potravin. Jablka a hrušky obsahují z flavan-3-olů (+)katechin a (-)epikatechin (Velíšek, 2009). Největší obsah katechinů z ovoce mají jahody, kdy celkový obsah katechinů je 75% a z toho 18% epikatechingallátu, 5% epigallokatechinů a 3% gallokatechinů (Andersen, Markham, 2006).

V potravinářství nejběžnějšími proanthokyanidiny jsou proanthokyanidiny typu B. V hroznech a brusinkách převládá proanthokyanidin B₁, v jablkách a višních B₂, B₃ v jahodách a B₄ v borůvkách a malinách (Velíšek, 2009).

Kvercetin patří mezi nejčastější flavonoly v ovoci. Bezinky obsahují až 17,0 mg / 100 g a brusinky 13,0 mg / 100 g. Rybíz obsahuje kemferol a myricetin (Andersen, Markham, 2006). Ve slupkách cibule a kaštanech najdeme flavonoid spiraein (Velíšek, 2009).

Tabulka č. 5: *Obsah flavonoidů v požitelných částech ovoce v mg/kg* (Kalač, 2003)

DRUH	KVERCETIN	KEMFEROL
Jahody zahradní	8,6	12
Jablka	36	-
Hrušky	6,4	-
Třešně	15	-
Červený rybíz	13	-
Meruňky	25	-
Švestky	9	-
Hroznové víno	13,5	-

3.5.2 Zelenina

Bohatými zdroji flavonoidů jsou především cibule, brukvovitá zelenina, salát a rajčata. Zvláště na flavonoidy kvercetin a kemferol (Andersen, Markham, 2006). Červená paprika obsahuje 13-32 mg/kg luteolinu, bobové lusky až 26 mg/kg myricetinu. Vůbec nejvyšší obsah flavonoidních látek je ve slupkách červených odrůd cibule: 25 000 – 65 000 mg/kg (Kalač, 2003).

Košťálová zelenina jako brokolice, kapusta, zelí a růžičková kapusta obsahuje komplexní směs flavonoidních látek. Například v kapustě se nachází kvercetin v množství 11,5 mg/100 g a kemferol v 34,1 mg/100g. Luštěniny obsahují hlavně flavonoly a katechiny. V bobech se jedná o epikatechin (30 mg/100g), katechin (14,5 mg/100g), gallokatechin (4,8 mg/100g) a kvercetin, kemferol a myricetin (Andersen, Markham, 2006).

Další skupiny flavonoidních látek byly dosud analyzovány v různých druzích zeleniny: flavony v celeru, sladkých paprikách, katechiny a prokyanidiny typu B v luštěninách. Jediná zelenina, ve které se nachází naringenin a hesperidin, je rajče (Andersen a Markham, 2006).

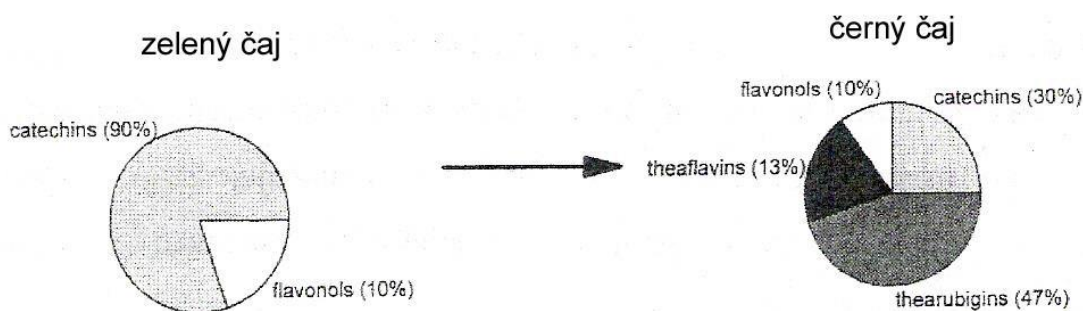
Tabulka č. 6: *Průměrný obsah flavonoidů v požitelných částech zeleniny v mg/kg* (Kalač, 2003)

DRUH	KVERCETIN	KEMFEROL
Kapusta	110	211
Kapusta konzervovaná	45	184
Brokolice	30	30
Štěrбак	-	46
Pór	-	30
Cibule	347	-
Fazolové lusky	39	12
Fazolové lusky konzervované	17	3,8

3.5.3 Nápoje

Mezi nejčastější flavonoidy nápojů patří katechiny. Najdeme je v ovocných šťávách, čaji a vínu. Často se jedná o komplexní směsi jednoduchých katechinů a jejich esterů (Andersen, Markham, 2006).

Čaj patří mezi jedny z nejbohatších zdrojů flavonoidů (Velíšek, 2009). Jejich složení se výrazně mění během fermentace čajových lístků při přípravě černého čaje (Kalač, 2003). Zelený čaj obsahuje především flavonoly a katechiny na rozdíl od černého čaje, kdy jsou katechiny během fermentace kondenzovány na theaflaviny (Grotewold, 2006). Podle Kalače (2003) se ve výluhu čaje nachází 10-25 mg/kg flavonolu kvercetinu. Katechiny a jejich galláty tvoří 80-90% fenolových látek listů čaje a 25-35% jejich sušiny. Mezi hlavní katechiny se řadí epigallokatechin-gallát se 7-13%, epigallokatechin s 3-6%, epikatechin-gallát s 3-6%, epikatechin s 1-3% a katechin s 1-3% sušiny (Velíšek, 2009).



Obrázek č. 10: Konverze flavonoidů během fermentace čaje a jejich obsah v čaji (Volf, Andrs, 2014)

Ovocné šťávy mají ve svém obsahu jak katechiny, tak flavonoly. Jablečná šťáva je velmi bohatá na katechiny s obsahem 6,3 mg/100 ml (-)epikatechinů a 0,8 mg/ 100 ml katechinů. V kontrastu brusinková šťáva obsahuje nejvíc flavonolů. Ve formě kvercetin - 17,5 mg/100 ml a myricetinu - 4,7 mg/100 ml (Andersen, Markham, 2006).

Víno je směs různých flavonoidů - kvercetin, myricetin aj. flavonoly, anthokyanidiny, resveratrol tj., derivát stilbenu 3, 5, 4' trihydroxystilben či jeho dehydrodimer - ϵ viniferin (Volf, Andrs, 2014). Obsahuje katechiny, flavonoly, proanthokyanidiny a flavanony. Přičemž červené víno obsahuje více flavonoidních látek nežli víno bílé a růžové. Proanthokyanidiny zastupují téměř polovinu obsahu flavonoidů v červeném vínu, následovány katechiny s 37% (Andersen, Markham, 2006). Kalač (2003) uvádí, že v červeném vínu se nachází 4-16 mg/kg kvercetin.

3.6 Vliv flavonoidních látek na zdraví člověka

Flavonoidy společně s vitaminy tvoří základní skupiny antioxidantních látek působících v rámci prevence různých onemocnění. Jsou chemicky pestrá a četná skupina, často se vyskytující jen v malých koncentracích. Jejich účinky a stabilita jsou stále předmětem výzkumu (Kalač, 2003). Staly se atraktivní skupinou přírodních látek v rámci léčby rakoviny, oxidativního stresu, kardiovaskulárních chorob, zánětů a eliminaci patogenních bakterií (Koirala aj., 2016).

Fyziologická účinnost flavonoidních látek je dána především jejich antioxidantní aktivitou vedoucí k potlačení nadbytečných ROS nebo ovlivněním signálních cest v buňce. Tedy při ochraně zdraví, kardioprotektivní ochraně či s věkem spjatými chorobami jako jsou neurodegenerativní poruchy (Volf, Andrs, 2014). Zároveň mají

tyto přírodní látky hypocholesterolemické účinky, stabilizují kosti a inhibují hemolýzu (Komprda, 2008).

V současné době roste zájem o studium těchto přírodních látek. Například zvýšená konzumace červeného vína, jež je zvláště bohaté na flavonoidní látky, je pravděpodobným vysvětlením takzvaného „francouzského paradoxu“, tedy nízkou úmrtností na srdečně cévní choroby ve Francii, navzdory vysokému obsahu tuku v potravě (Slanina, Táborská, 2004).

3.6.1 Antioxidační účinek

Korelace mezi antioxidačním účinkem a obsahem flavonoidních látek v potravinách je pozitivní stejně jako fakt, že flavonoidní látky tvoří velkou část celkového obsahu fenolických látek v ovoci a zelenině (Sabularse, 2009). Nikoliv jednotlivé druhy flavonoidů, ale hlavně ovoce a zelenina – směs obsahující celou škálu antioxidantů, je schopná příznivě ovlivnit zdraví v nejširším smyslu (Volf, Andrs, 2014).

Během normální aerobního metabolismu v těle jsou tvořeny reaktivní kyslíkaté částice, které mohou poškodit buněčnou strukturu DNA, lipidů a proteinů. Tomu zabraňují přírodní antioxidanty (Grotewold, 2006). Podle Komprdy (2008) závisí antioxidační působení flavonoidů na počtu a poloze OH-skupin, inhibici lipoxygenázové aktivity a tvorbě komplexů s kovy. Většina flavonoidů funguje jako účinný lapač volných radikálů. Kromě toho jsou některé schopny vázat do komplexů ionty přechodných kovů a tím měnit jejich dostupnost jako katalyzátorů redukčně-oxidačních reakcí (Protivová, 2006).

3.6.2 Prevence kardiovaskulárních onemocnění

Kardiovaskulární choroby patří ve vyspělých zemích k příčinám až poloviny všech úmrtí (Komprda, 2007). V České republice zůstávají druhou nejčastější příčinou (Kalač, 2003).

Hlavním důvodem srdečně cévních onemocnění je arterioskleróza - kornatění tepen. Jedná se o špatnou funkci endotelu - buněčné výstelky cév, endoteliálních buněk, tedy bariéry mezi krví a stěnou cév. Klasicky ji doprovází zúžení tepen a je spjata se zánětlivými pochody endotelu (Volf, Andrs, 2014). Ke kornatění tepen dochází v různých místech cév, především v největší tepně lidského těla, aortě (Andersen, Markham, 2006).

Ateroskleróza je často spojována s hladinou cholesterolu v krvi. Tato informace nám však poukazuje na ne zcela spolehlivou informaci. Důležité je, v jakých formách se cholesterol vyskytuje a jak je transportován. V krvi se vyskytují dva základní typy lipoproteinů. LDL cholesterol neboli *low density lipoproteins*, obsahuje lipoproteiny o nízké hustotě. Naproti tomu HDL cholesterol čili *high density lipoproteins* o hustotě vysoké. Čím je hustota nižší, tím je obsah lipidů vyšší. Z toho nám jasně plyne, že LDL cholesterol je označován jako „špatný“ (Kalač, 2003).

Výživová role je v tomto směru klíčovou záležitostí. Modifikuje poměr mezi LDL a HDL cholesterolem. LDL přenášejí cholesterol v krevním oběhu z jater do tkání, kde se ukládá. HDL transportují cholesterol do jater, kde dochází k recyklaci a posléze jeho vyloučení z organismu. Hlavní rozdíl mezi nimi je také v tom, že LDL částice snadno podléhají oxidaci (Komprda, 2007).

Proto je velký význam připisován látkám s antioxidačním účinkem, tedy i flavonoidům (Kalač, 2003). Flavonoidní látky chrání proti onemocněním cév blokadí enzymů vytvářející ROS nebo zabraňují řetězové reakci způsobenou radikály. Taktéž brání peroxidaci LDL částic, vstupují do signálních cest buněk a mohou být chelátory kovových iontů (Volf, Andrs, 2014).

3.6.3 Prevence rakoviny

Flavonoidy vykazují v biologických systémech ochranné účinky, jež jsou připisovány jejich kapacitě k přenášení volných radikálů elektrony či chelátů kovových katalyzátorů. Rovněž aktivují antioxidační enzymy a inhibují oxidázy (Grotewold, 2006).

Složité procesy vzniku a vývoje rakovinového bujení je vyvolaný vysokým počtem faktorů, z nichž je řada stále nejasných (Kalač, 2003). Rakovina je způsobena maligním nádorem, pro něhož je typický nekontrolovatelný růst s ničením okolní tkáně a zakládání dceřiných ložisek – metastáz. Karcinogeneze probíhá ve třech fázích: iniciace, promoce a progres. Při iniciaci mohou buňky zůstat ještě dlouho v klidovém stavu do působení vnějších faktorů. Zaznamenává prvotní mutaci buněk. Při promoci dochází k dělení nádorových buněk a vzniku nádoru. Konečná fáze progresu spočívá v nekontrolovatelném šíření nádoru do okolí (Komprda, 2007).

Studie zabývající se prevencí rakoviny zkoumaly vliv flavonoidů na jednotlivá stadia karcinogeneze. Flavonoidní látky mohou působit inhibičně na molekulární úrovni

u všech tří etap (Grotewold, 2006). Mechanismus, díky němuž flavonoidy prokazují protinádorové vlastnosti je široký. Zahrnuje protizánětlivé účinky, deaktivaci volných radikálů a modulaci proliferační cesty. Je samozřejmě ovlivněn velikostí aplikovaných dávek, trváním choroby a druhem nádoru. U nádorů tlustého střeva a konečníku je prokázán ochranný účinek zeleného čaje či flavonolových aglykonů kvercetinu a kemferolu (Volf, Andrs, 2014).

Isoflavony sójových bobů genistein a dandzein prokazují preventivní účinky v rámci rakoviny prsu, prostaty a kůže (Grotewold, 2006). Navíc spotřeba sójových potravin snižuje riziko rakoviny tlustého střeva (Andersen, Markham, 2006).

3.6.4 Prevence osteoporózy

Osteoporóza vzniká díky nerovnováze mezi tvorbou a vstřebáváním kostní hmoty. Dochází ke sníženému množství kostní hmoty na jednotku objemu, přičemž její složení zůstává neměnné (Komprda, 2007).

Starší ženy jsou zlomeninami ohroženy mnohem více v Evropě než v zemích Dálného východu. Studie nasvědčují tomu, že příjem isoflavonů redukuje riziko odvápnování kostí, tedy osteoporózy, především po přechodu (Kalač, 2003).

Flavonoidní látky vykazují preventivní účinky také v oblasti neurodegenerativních onemocnění, jako jsou Alzheimerova, Parkinsonova a Huntingtonova choroba či amyotrofní laterální skleróza. Flavonoidy nepůsobí pouze jako antioxidanty, ale mohou ovlivňovat i kalciovou homeostázu – dynamickou rovnováhu důležitou pro aktivaci proteinkináz. Rovněž napomáhají inhibici agregace proteinů a tvorbě A β plátů u Alzheimerovy choroby v raném stádiu (Volf, Andrs, 2014).

3.7 Analýza flavonoidních látek

Nezbytnou součástí studia flavonoidních látek je preparativní či analytická separace a izolace. Důležitou oblastí výzkumů detekce je stanovení jejich metabolitů v tělních tekutinách a tkáních. Jejich analýza je jednou z nejpodstatnějších oblastí analytických metod pomáhajících v oblasti přírodních a lékařských věd. Pro charakterizaci flavonoidů je užíváno mnoho analytických metod. Pro přesné určení neznámých látek je často nutná nukleární magnetická rezonance. Používají se také instrumentální metody, jako ultrafialová, infračervená a hmotnostní spektrometrie (Grotewold, 2006),

jež mohou poskytnout cenné informace o chemické struktuře sledovaných metabolitů (Klejdus aj., 2003).

Identifikace biologicky aktivních látek hraje strategickou roli ve výzkumu fytochemikálií. Do rychlých technik patří především chromatografie (Klejdus aj., 2003). Oproti dřívější době, kdy separačním technikám vládla tenkovrstvá chromatografie, polyamidová chromatografie a papírová elektroforéza, dnes je využívána především kvalitativní a kvantitativní kapalinová chromatografie pro svoji vysokou výkonnost (Andersen, Markham, 2006). Rovněž je hojně používána plynová chromatografie, kapilární elektroforéza a micelární elektrokinetická chromatografie (Klejdus aj., 2003).

Již zmiňované techniky vyžadují pečlivou předběžnou separaci jednotlivých metabolitů (Klejdus aj., 2003). Postupy pro extrakci a izolaci flavonoidů lze podle Klejduse aj. (2003) rozdělit do následujících tříd:

- extrakce kapalinou
- kyselá hydrolýza
- enzymatická hydrolýza
- extrakce na tuhé fázi (SPE)
- extrakce kapalinou v nadkritickém stavu (SFE)

3.7.1 Extrakce

Nejlepší volbou je použití suchého lyofilizovaného či suchého vzorku, neboť flavonoidy mohou být v čerstvém a nevysušeném materiálu degradovány enzymy. Obecně platí, že se suché vzorky rostlinného materiálu posléze rozemílají na prášek. Pro extrakci je důležité rozpouštědlo, které se volí v závislosti na typu jednotlivých flavonoidů. Důležitou roli zde hraje polarita zkoumaných látek. Isoflavony, flavanony, metylové flavony a flavonoly jsou látky s menší polaritou a jsou extrahovány chloroformem, dichlormethanem, diethyletherem či ethylacetátem. Glykosidy flavonoidů a více polární aglykony se extrahují za přídavku alkoholu nebo jeho směsi s vodou (Andersen, Markham, 2006). Směs alkoholu a vody je použita v různých poměrech pro extrakci flavonoidních látek z pevných biologických materiálů, jako jsou rostlinné tkáně a výrobky z potravin (Grotewold, 2006).

3.7.1.1 Extrakce kapalinou

Tato metoda je považována za méně selektivní a účinnou. Jako rozpouštědlo může být použito několik látek. Nejčastěji to je methanol, ethanol či acetonitril. Extrakce je závislá na několika faktorech – druh vzorku a extrakční kapaliny, teplotě, postupu, intenzitě třepání a době extrakce (Klejdus aj., 2003).

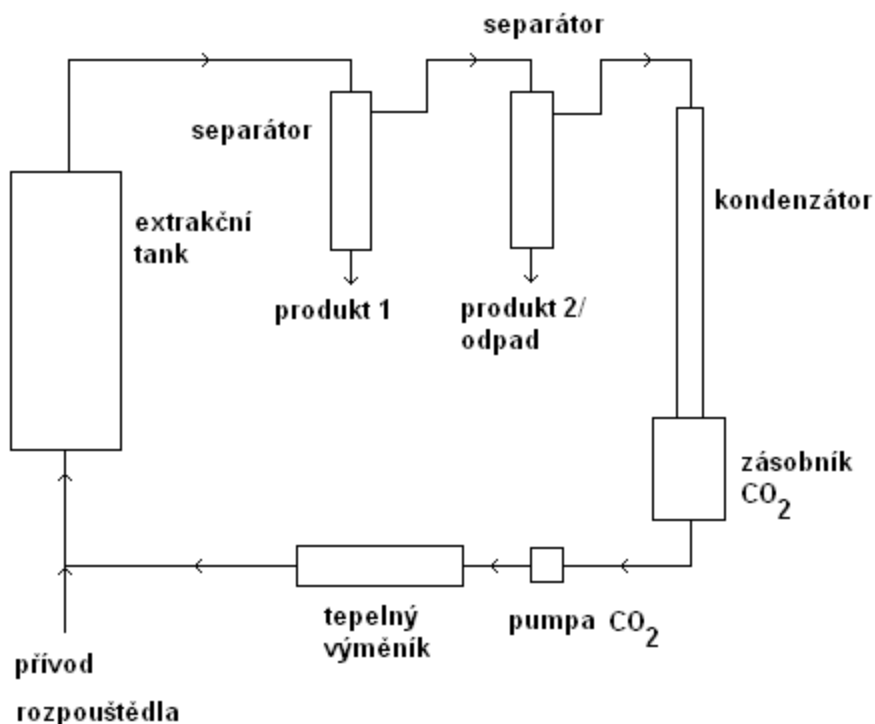
3.7.1.2 Extrakce tuhou fází - SPE

Prvním krokem SPE (Solid Phase Extraction) je digesce rozpouštědlem (Klejdus aj., 2003). Princip tkví ve stanovení sledovaných analytů na sorbentu (Štěrbá aj., 2011). Extrakci tuhou fází lze podle Štěrbá (2011) popsat čtyřmi kroky:

- kondicionace sorbentu
- aplikace vzorku
- promytí
- selektivní desorpce pomocí rozpouštědla

3.7.1.3 Superkritická fluidní extrakce – SFE

Již z názvu je patrné, že se metoda opírá o solubilizační techniky nadkritických tekutin (Andersen, Markham, 2006). SFE (Supercritical Fluid Extraction) probíhá za účasti superkritického oxidu uhličitého, za superkritické teploty a tlaku (Štěrbá aj., 2011). Metoda je vhodná pro extrakci aglykonů isoflavonů, kde se setkáme s dobrými výsledky. Při extrakci glykosidů isoflavonů je velmi úspěšná (Klejdus aj., 2003). Jak již bylo zmíněno, jako superkritické tekutiny je nejčastěji použito oxidu uhličitého. Jeho výhody jsou především v nízké viskozitě (proniká tedy rychle přes vzorek), netoxicitě, bezpečnosti a dostupné ceně. Je ideální pro analyty, jež jsou dále analyzovány instrumentálními metodami. SFE patří na rozdíl od klasických vícehodinových extrakcí mezi rychlé metody, kdy se čas zkracuje na minuty až desítky minut (Klouda, 2003).



Obrázek č. 11: Schéma SFE; 1 - extrakční tank, 2,3 - separátor, 4 - kondenzátor, 5 - zásobník CO₂, 6 - pumpa CO₂, 7 - tepelný výměník (Štěrbá aj., 2011)

Výhodami této metody je nižší spotřeba rozpouštědla, kontrolovatelná selektivita a menší tepelná či chemická degradace (Andersen, Markham, 2006).

3.7.1.4 Mikrovlnná extrakce – MAE

Patří mezi jednoduché techniky, která může být dokončena během několika minut. Princip spočívá v působení mikrovlnné energie na vzorek rozpuštěný v rozpouštědle, buď v uzavřené nádobě, nebo v otevřené baňce (Štěrbá aj., 2011).

3.7.2 Separace flavonoidních látek

Separční metody slouží k oddělení složky našeho zájmu od doprovodných složek a samozřejmě její následné identifikaci (Sobotníková aj., 2010). Pro stanovení flavonoidních látek je nejčastěji použito chromatografických metod (Klejduš aj., 2003). Tyto víceetapové metody jsou nezbytnou součástí izolace jednotlivých složek rostlinných látek (Grotewold, 2006). Principem chromatografie je separace složek obsažených ve vzorku. Jde o metody kvalitativní a kvantitativní analýzy vzorku

(Klouda, 2003). Dochází při tom k dělení mezi dvě nemísitelné fáze – stacionární fázi a mobilní. Přičemž dle stacionární fáze dělíme chromatografii na sloupcovou, papírovou a tenkovrstvou. Mobilní fáze ji rozděluje na plynnou, kapalinovou a fluidní (Sobotníková aj., 2010).

3.7.2.1 Plynová chromatografie - GC

I když byla navržena později než kapalinová chromatografie a je možné ji využít k separaci užšího okruhu látek, její vývoj byl značně bouřlivý oproti chromatografii kapalinové (Sobotníková aj., 2010). Metoda je značně citlivá a k analýzám jsou většinou použity extrakty rostlinných látek (Pospíšil, 1968).

Daný vzorek je dávkován do proudu nosného plynu, kterým je vodík, dusík, helium či argon. Do proudu plynu se vzorek dostává pomocí dávkovače, kterým je většinou injekční stříkačka. Hovoříme tedy o nástřiku vzorku. Nástřik může být v několika variantách: do kolony, pomocí děliče toku nebo bez děliče toku. Nejčastějším je nástřik do kolony. Dávkuje se 1 – 10 µl vzorku. Horní část kolony je zahřívána na teplotu o 10 až 30 °C nižší než je teplota varu rozpouštědla. Zde dochází k separaci složek na základě schopnosti poutat se ke stacionární fázi. Složky opouštějící kolonu jsou indikovány pomocí detektoru. Jeho signál se vyhodnocuje a z časového průběhu a intenzity signálu je určen druh a zastoupení složek (Klouda, 2003). Obecně je GC nepraktická, neboť mnoho ze sloučenin flavonoidních látek je málo těkavá, a proto je nutné připravit jejich deriváty (Andersen, Markham, 2006).

3.7.2.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – HPLC

Metoda HPLC (High-Pressure-Liquid-Chromatography) se stává zdaleka nejžádanější technikou pro separaci flavonoidních látek a to jak v preparativním, tak i v analytickém měřítku. Je dobrou volbou jak pro kvalitativní tak pro kvantitativní analýzu a byla použita již na všechny třídy flavonoidů. (Andersen, Markham, 2006). Důvodem pomalejšího rozvoje než u GC je především větší náročnost separace v kapalně fázi a výběr vhodné aparatury. Postupem času docházelo ke zmenšování částic stacionární fáze a použití bezpulzních vysokotlakých čerpadel (Sobotníková aj., 2010).

K základnímu vybavení patří čerpadlo, dávkovač vzorku, kolona a detektor. Systém je uzavřený a čerpadlo dodává mobilní fázi na kolonu pod určitým tlakem (Komprda, 2003). Při HPLC se nejčastěji užívá uspořádání s reverzní fázi na alkylovaných

silikagelech. Dělení probíhá pomocí gradientové nebo izokratické eluce mobilní fáze, kterou tvoří směs methanolu, acetonitrilu, propanolu či ethanolu s příslušnými tlumiči. Ty mohou být ve formě kyseliny octové, mravenčí, octanu amonného nebo fosfátového pufru (Klejduš aj., 2003). V současné době je metoda HPLC užívána k přibližně 80% všech izolací flavonoidních látek (Andersen, Markham, 2006).

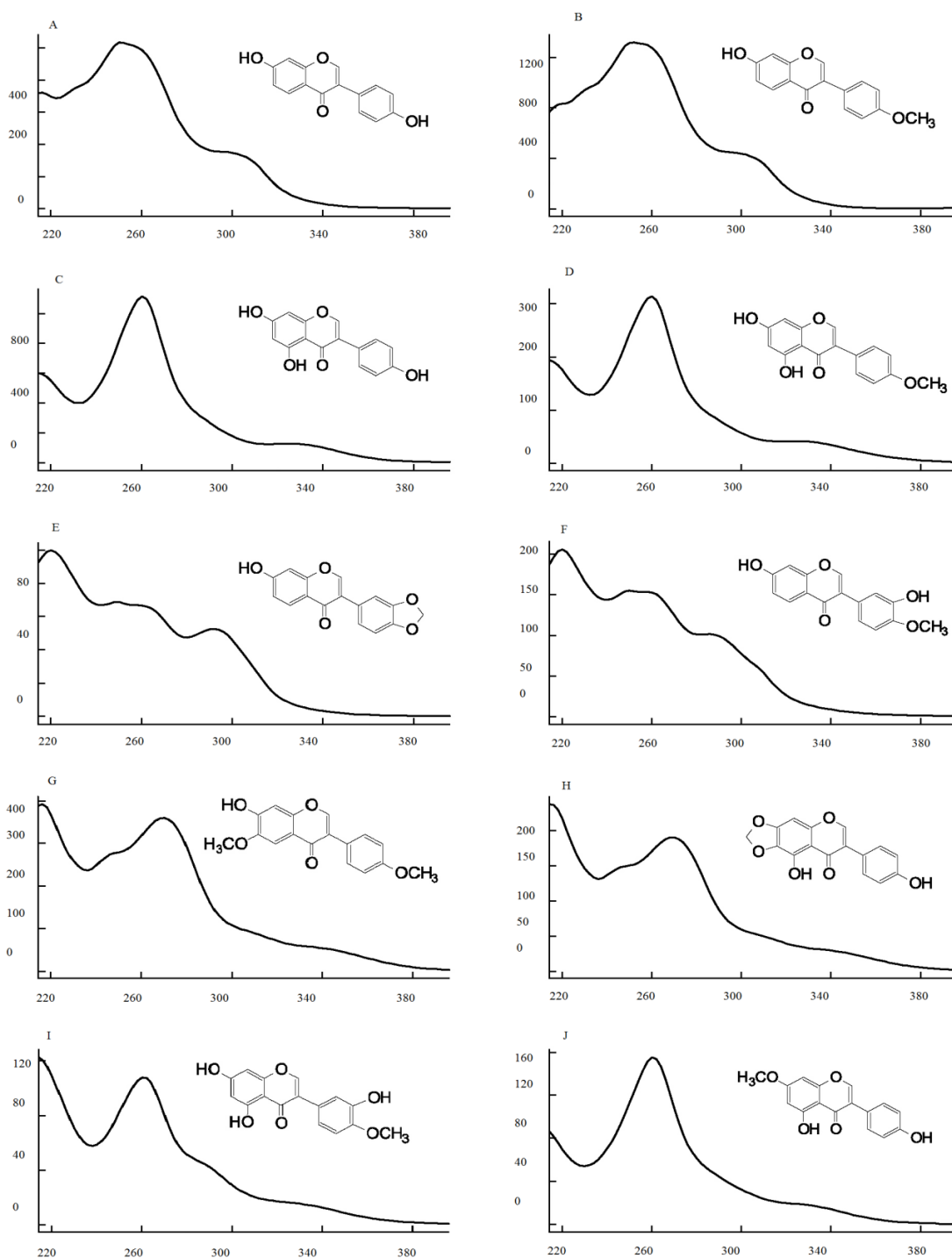
3.7.3 Detekce

3.7.3.1 UV/Vis spektroskopie

UV/Vis spektroskopie je metoda užívaná pro analýzu flavonoidů již několik let. Tyto sloučeniny odhalují své dva typické absorpční pásy s maximy v rozmezí 240 až 285 a 300 až 550 nm. Díky tomu mohou být jednotlivé třídy flavonoidních látek rozeznávány dle svých UV spekter (Andersen, Markham, 2006). Podstatou ultrafialové a viditelné spektroskopie je absorpce ultrafialového a viditelného záření (200-400 nm). Valenční elektrony molekulových orbitalů jsou při absorpci excitovány. Dochází k měření zářivého toku (Klouta, 2003).

Flavonoidy výborně absorbují v UV oblasti, a proto je UV/Vis detektor nejvíce používán při HPLC (Komprda, 2003).

Raritou mezi flavonoidy jsou isoflavonoidy, jež se podstatně liší svými absorpčními spektry od ostatních flavonoidních látek, neboť mají B kruh připojený na uhlík C3. Toto postavení B kruhu brání konjugaci s karbonylovou skupinou ve struktuře isoflavonoidů. Na UV spektrech se to projeví nízkou intenzitou v oblasti 300-330 nm. Uvedením detektoru diodového pole – DAD do analýzy došlo za poslední dvě desetiletí k výraznému zlepšení výsledků UV/Vis spektroskopie. Toto spojení umožňuje ukládání snímaných UV/Vis spekter, jejich porovnání s identifikací podtřídy flavonoidních látek. Ve spojení s HPLC je v analýze potravin využita i pro kvantitativní účely. Kvantifikace je umožněna nahráváním chromatogramů při různých vlnových délkách, následuje detekce při vlnové délce maxima dané složky (Anderson a Markham, 2006). Charakteristiky spekter v UV/Vis oblasti často nejsou jednoznačným kritériem pro identifikaci jednotlivých flavonoidních látek (Klejduš aj., 2003), a proto se pro přesnou strukturální analýzu využívá metoda MS a NMR (Andersen, Markham, 2006).



Obrázek č. 12: UV spektra isoflavonů; *a*-daidzen, *b*-formononetin, *c*-genistein, *d*-biochanin A, *e*-pseudobaptigenin, *f*-kalykosin, *g*-afrormosin, *h*-irilon, *i*-pratensein, *j*-prunetin (upraveno podle Klejduse aj., 2003)

3.7.3.2 Hmotnostní spektrometrie – MS

MS je jednou z velmi citlivých analytických metod používaných k identifikaci flavonoidů (Grotewold, 2006). Hmotnostně spektrometrické metody se skvěle hodí pro analýzu flavonoidů, protože mají velký potenciál k získávání informací o molekulové hmotnosti, struktuře i množství látek. Účelem techniky MS je detekce nabitých molekulárních iontů separovaných dle molekulové hmotnosti. Vazba mezi HPLC a MS není přímá. Provozní podmínky hmotnostního spektrometru, ke kterým patří vysoké vakuum, vysoká teplota, plynná fáze vzorku a nízká rychlost toku, jsou odlišné od těch použitých při HPLC. U HPLC se jedná o vysoký tlak, vysokou rychlost toku a relativně nízkou teplotu. Z tohoto důvodu musí existovat rozhraní, vyvinuté za účelem zvládat všechny faktory přechodu mezi HPLC a MS. Rozhraní musí vykonat rozprašení a ionizaci vzorku, odstranění par rozpouštědla a extrakci iontů do hmotnostního analyzátoru (Andersen, Markham, 2006). Flavonoidy mohou být ionizovány elektronovou ionizací (EI) nebo chemickou ionizací atmosférickým tlakem - ACPI (Grotewold, 2006).

3.7.3.3 Nukleární magnetická rezonance – NMR

Atomová jádra některých prvků mají nenulový magnetický moment, a pokud jsou vloženy do magnetického pole, orientují se do poloh odpovídajících určitým energetickým hladinám. Nenulový magnetický moment nesou jen jádra s nenulovým celkovým jaderným spinem, který souvisí s počtem protonů a neutronů v jádře (Kluda, 2003). Metoda NMR je dobrou a nejčastěji užívanou technikou pro identifikaci struktury přírodních látek (Grotewold, 2006). I když je NMR omezena špatnou citlivostí, pomalým průtokem a nesnadnou analýzou směsí, patří k důležitým nástrojům objasnění úplné struktury flavonoidních látek. Vazba s předchozí HPLC je přímá, odpadá tedy potíž se stanovením rozhraní, jako při MS detekci (Andersen, Markham, 2006). Jak uvádí Andersen a Markham (2006), nejlepší volbou je kombinace několika způsobů detekce – UV, MS s NMR.

4 ZÁVĚR

Flavonoidní látky patří do jedné z nejvýznamnějších tříd polyfenolových sloučenin. Při zpracování bakalářské práce jsem se dozvěděla mnoho nových a podnětných informací. Flavonoidy patří do skupiny látek v potravinách, které bychom měli pravidelně konzumovat. Především pro jejich antioxidační účinek, jež souvisí se stárnutím organismu a celkovým zdravím. Jejich pozitivní vliv byl zjištěn i u neurodegenerativních onemocnění, které mají ve většině případů fatální následky. Proto bylo pro mne velmi příjemným zjištěním, že konzumací flavonoidů můžeme přispět buď k oddálení propuknutí nemoci, nebo zmírnění průběhu. Tyto sloučeniny jsou stále předmětem výzkumu, pro který je zdaleka nejpodstatnější identifikace flavonoidních látek. Ta se provádí nejčastěji pomocí chromatografických metod, přičemž dnes je nejrozšířenější metoda vysokotlaké kapalinové chromatografie. Samozřejmostí je i následná detekce, jež je prováděna na základě UV/Vis spektroskopie, hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetické rezonance. Celkově je třeba zvýšit v populaci konzumaci funkčních potravin. Mnoho lidí ani netuší, jak důležité pro ně mohou být. Mají široké spektrum účinků, od antikarcinogenních vlastností po prevenci kardiovaskulárních onemocnění.

5 SEZNAM ZDROJŮ

ANDERSEN M., MARKHAM K. R., 2006: *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. Taylor & Francis, Boca Raton, 1237 s. ISBN 08-493-2021-6.

BULKOVÁ V., 2011: *Rostlinné potraviny*. Vyd. 1. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 162 s. ISBN 978-80-7013-532-7.

BURDYCHOVÁ R., 2009: *Preventivní výživa*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 113 s. ISBN 978-80-7375-280-4.

COOK N. C., SAMMAN S., 1996: *Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources*. The Journal of Nutritional Biochemistry, roč. 7, č. 2, s. 66-76. Online [cit. 2016-04-12]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286395001689>

DAVÍDEK J., MARKHAM K. R., 1991: *Chemie potravin: určeno pro posl. fak. potravinářské a biochemické technologie*. 2. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. Učební texty vysokých škol. ISBN 80-708-0097-6.

GROTEWOLD E., MARKHAM K. R., 2006: *The science of flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. New York: Springer. ISBN 978-038-7288-215.

CHELOMBITKO M., GURSKAYA G., 2008: *Production of functional foodstuffs is a new direction in food technologies*. Online [cit. 2016-02-15]. Dostupné z: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BY2008001113>

KALAČ P., 2003: *Funkční potraviny: kroky ke zdraví*. České Budějovice: Dona, 130 s. ISBN 80-7322-029-6.

KLEJDUS B. a kol., 2003: *Identifikace a charakterizace isoflavonů v rostlinných extraktech za použití kombinace HPLC s hmotnostním detektorem a detektorem s diodovým polem (HPLC-DAD-MS)*. Chemické listy, 97, 530-539 s.

KLOUDA P., 2003: *Moderní analytické metody*. Ostrava, 132s. ISBN 80-863-6907-2.

KOIRALA N. aj., 2016: *Methylation of flavonoids: Chemical structures, bioactivities, progress and perspectives for biotechnological production*. The Journal of Enzyme and Microbial Technology, roč. 86, s. 103-116. Online [cit. 2016-04-12]. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022916300175>

KOMPRDA T., 2003: *Hygiena potravin - cvičení*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 49 s. ISBN 80-715-7709-X.

KOMPRDA T., 2007: *Základy výživy člověka*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 162 s. ISBN 80-7157-655-7.

KOMPRDA T., 2008: *Funkční potraviny: cyklus přednášek*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, CD-ROM. ISBN 978-80-7375-219-4.

KOMPRDA T., 2009: *Výživou ke zdraví*. Vyd. 1. Velké Bílovice: TeMi CZ, 110 s. ISBN 978-80-87156-41-4.

KOPŘIVA V., 2014: *Vybrané kapitoly z biochemie potravin*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 200 s. ISBN 978-80-7305-677-3.

PETERSON J., DWYER J., 1998: *Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity*. Online [cit. 2016-03-8]. Dostupné z:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0271531798001699>

POSPÍŠIL J., KAHOVEC J., 1968: *Antioxidanty*. 1. vyd. Praha: Academia, 273 stran.

PROTIVOVÁ V., 2006: *Flavonoidy a jejich role ve vývoji rostlin*. Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Brno, 39 s.

ROSELLI M., FINAMORE A., BRITTI M., VIGNOLINI S., MENGHERI E., 2005: *Protection effects on intestine by probiotics against damages induced by a pathogen*. Online [cit. 2016-02-15]. Dostupné z: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IT2005600113>

SABULARSE V., 2009: *Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content of some fruits and vegetables*. Online [cit. 2016-03-9]. Dostupné z: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PH2011000365>

SCHÖNOVÁ M., 2011: *Analýza biologicky aktivních látek ve funkčních potravinách – flavonoidní látky*. Bakalářská práce, Mendelova univerzita, Brno, 71s.

SLANINA J., TÁBORSKÁ E., 2004: *Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných látek u člověka*. Chemické listy, 98, 239-245 s.

SOBOTNÍKOVÁ J. a kol., 2010: *Historie, současnost a perspektivy analytických separačních metod na katedře analytické chemie přírodovědecké fakulty univerzity Karlovy v Praze*. Chemické listy, 104, 1226-1231 s.

STRATIL P., 1993: *A B C zdravé výživy - Díl I*. Brno, 345 s. ISBN 80-900-0298-6.
ŠTĚRBA K. a kol., 2011: *Moderní postupy využívané při přípravě vzorků pro stanovení alkoholů, esterů a kyselin v pivu*. Chemické listy, 105, 603-610 s.

VELÍŠEK J., 2002: *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 303 s. ISBN 80-86659-01-1.

VELÍŠEK J., CEJPEK K., 2008: *Biosynthesis of food components*. 1st ed. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-12-1.

VELÍŠEK J., HAJŠLOVÁ J., 2009: *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-17-6.

VERMERRIS W., NICHOLSON R., 2006: *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht, 276 s. ISBN 978-1-4020-5163-0.

VOLF K., ANDRS F., 2014: *Flavonoidy a jejich biologické působení*. Praha, 323 s.

VRHOVSEK, U., 2001: *Flavonoids as antioxidants*. Online [cit. 2016-03-14]. Dostupné z: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=SI2002010116>

TUR J. A., BIBILONI M. M., 2016: *Functional Foods*. Encyclopedia of Food and Health, s. 157-161. Online [cit. 2016-04-12]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472003408>

6 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek č. 1: <i>Oxidativní stres - nerovnováha mezi ROS a antioxidanty</i>	16
Obrázek č. 2: <i>Antioxidační aktivita polyfenolů - flavonoidních látek</i>	22
Obrázek č. 3: <i>Vazebná místa kovů v molekule flavonoidních látek</i>	22
Obrázek č. 4: <i>Flavan</i>	23
Obrázek č. 5: <i>Chromen</i>	23
Obrázek č. 6: <i>Struktura flavonoidních látek</i>	24
Obrázek č. 7: <i>Struktura jednotlivých skupin flavonoidů</i>	26
Obrázek č. 8: <i>Minoritní skupiny flavonoidů</i>	27
Obrázek č. 9: <i>Skupiny isoflavonů</i>	28
Obrázek č. 10: <i>Konverze flavonoidů během fermentace čaje a jejich obsah v čaji</i>	33
Obrázek č. 11: <i>Schéma SFE</i>	39
Obrázek č. 12: <i>UV spektra isoflavonů</i>	42
Tabulka č. 1: <i>Příklady biologicky aktivních látek</i>	12
Tabulka č. 2: <i>Vliv příjmu ovoce a zeleniny na prevenci nádorových onemocnění</i>	14
Tabulka č. 3: <i>Obsah funkčních složek v čaji</i>	20
Tabulka č. 4: <i>Výskyt některých flavonoidních látek v potravinách v mg/kg</i>	29
Tabulka č. 5: <i>Obsah flavonoidů v požitelných částech ovoce v mg/kg</i>	31
Tabulka č. 6: <i>Průměrný obsah flavonoidů v požitelných částech zeleniny v mg/kg</i> ...	32

7 SEZNAM ZKRATEK

ACPI - chemická ionizace atmosférickým tlakem

DAD - detektor diodového pole

DHA - dokosahexaenová kyselina

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EI - elektronová ionizace

EPA – eikosapentaenová kyselina

GC - plynová chromatografie

HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě

HPLC - vysokoúčinná kapalinová chromatografie

LDL - lipoproteiny o nízké hustotě

MAE - mikrovlnná extrakce

MS - hmotnostní spektrometr

NMR - nukleární magnetická rezonance

PUFA - polynenasycené mastné kyseliny

ROS - reaktivní formy kyslíku

SFE - superkritická fluidní extrakce

SPE - extrakce pevnou fází

UV/Vis - ultrafialové záření a záření ve viditelné oblasti