

Česká zemědělská univerzita v Praze  
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních  
zdrojů  
Katedra chemie

***Možnosti využití třezalky tečkované  
(Hypericum perforatum L.) pro přípravu zdraví  
prospěšných produktů***

Diplomová práce

Autor práce: Kateřina Zinková

Vedoucí práce: prof. Ing. Lachman Jaromír CSc.

2012

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma: Možnosti využití třezalky tečkované [*Hypericum perforatum* L.] pro přípravu zdraví prospěšných produktů vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

Datum:

Podpis:

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat všem, co mi s tvorbou této diplomové práce pomáhali. Tuto práci jsem vypracovala pod vedením Prof. Ing. Jaromíra Lachmana, CSc. Děkuji za pomoc s výběrem správného laboratorního postupu stanovení obsahu hypericinů, celkových polyfenolů a antioxidantů pracovníkům katedry chemie na ČZU. Zvláště pak Doc. Ing. Hejtmánkové, CSc., Ing. Pivcovi, CSc. a Ing. Příbylovi. Také děkuji za pomoc a umožnění měření vzorků v laboratořích katedry chemie na ČZU. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Dvořákovi za pomoc s překladem textu a MUDr. Josefu Zichovi, DrSc. za korekturu anglického textu.

## Souhrn

V předkládané práci jsou uvedeny výsledky stanovení množství hypericinu, pseudohypericinu, obsahu celkových polyfenolických látek a antioxidační aktivity ve vzorcích třezalkových čajů, ve dvou kulturních odrůdách třezalky: třezalka kalíškatá [*Hypericum calycinum* 'Hidcote'], třezalka nevonná [*Hypericum inodorum* 'Rheingold']. Bylo provedeno stanovení hypericinu a pseudohypericinu v jednotlivých částech plně kvetoucí rostliny třezalky tečkované [*Hypericum perforatum*], pro zjištění částí nejvýhodnějších pro sklizeň. Byla sledována změna v obsahu těchto látek u vybraných čajů v závislosti na délce skladování a stupni rozdrčení.

Třezalka tečkovaná [*Hypericum perforatum*] je vytrvalá a léčivá bylina z čeledi třezalkovité [*Hypericaceae*]. Rostlina se vyznačuje bohatým zlatožlutým květenstvím s tečkami siličných kanálků obsahujících červeně zbarvené hypericiny. Hypericiny jsou důležitou skupinou látek v třezalce, mají antidepresivní a antivirové účinky. Třezalka dále obsahuje např.: flavonoidy, třísloviny, éterické oleje a pryskyřice. Jediným pozorovaným vedlejším účinkem je u některých osob zvýšená citlivost na sluneční záření – fotosenzibilita.

Ke stanovení celkového množství hypericinu a pseudohypericinu byla použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Měření celkových polyfenolických látek v třezalkových čajích a v částech rostliny bylo provedeno spektrofotometricky s pomocí Folin-Ciocalteauova činidla. Hodnoty jsou vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny gallové. Antioxidační aktivita vzorků byla zjišťována nepřímou metodou stanovení s metanolovým roztokem 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu. Antioxidační aktivita byla vyjádřena v ekvivalentech Troloxu.

Průměrný obsah hypericinu v testovaných vzorcích byl 55,9 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny, pseudohypericinu 64,6 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny, celkových polyfenolických látek 24,5 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny. Průměrná antioxidační aktivita byla 8,3 g.kg<sup>-1</sup> sušiny. V testovaných druzích třezalka kalíškatá a třezalka nevonná nebyly hypericin a pseudohypericin určeny. Jejich obsah byl pod mezí stanovitelnosti.

Výsledky měření prokázaly, že obsah stanovovaných látek se nemění v závislosti na délce skladování, protože není statisticky průkazný rozdíl v obsahu stanovovaných látek u vzorků v době expirace a u vzorků s minimálně jedním rokem do konce expirace. Při

porovnávání sáčkových a sypaných čajů byl zjištěn statisticky významný rozdíl ve vyextrahovaném pseudohypericinu.

Klíčová slova: třezalka tečkovaná, hypericin, pseudohypericin, celkové polyfenoly, antioxidační aktivita, HPLC

## Summary

In this study there are presented the results of quantitative analyses of the content of hypericin, pseudohypericin, total polyphenols and antioxidant activity in tea samples from *Hypericum perforatum*, as well as in dried plants of two different cultivars of *Hypericum* sp. The content of hypericin was also measured in different parts of plant in the blossom phase. Changes in the content of the above mentioned substances was evaluated during the storage of samples and in samples with different level of crushing of St. John's Wort tea.

St. John's Wort [*Hypericum perforatum*] is a perennial medicinal herb from the family *Hypericaceae*. The plant has rich yellow flowers dotted with oil channels containing red-colored hypericines. Hypericines, which are an important group of substances in this herb, have antidepressant and antiviral effects. Furthermore, St. John's wort contains flavonoids, tannins, volatile oils and resins. The only observed side-effect of its use may be the increased sensitivity of some individuals to sunlight - photosensitivity.

This master thesis focuses on the determination of measuring the contents of hypericine and pseudohypericine in St. John's Wort teas and in the samples of the herbs *Hypericum perforatum*, *Hypericum inodorum* 'Rheingold' and *Hypericum calycinum* 'Hidcote'. I have used high-performance liquid chromatography (HPLC) to determine the total contents of the measured substances. I have also determined total polyphenols in the tea using spectrophotometry with the Folin-Ciocalteu reagent. All values are expressed as the gall acid equivalents. I have evaluated antioxidant activity of the St. John's Wort teas and herb samples via an indirect method using a 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl in methanol solution. Antioxidant activity was expressed in Trolox equivalents.

The average hypericin, pseudohypericin and total polyphenols contents in tested samples in dry matter was 55,9 mg.kg<sup>-1</sup>, 64,6 mg.kg<sup>-1</sup>, 24,5 mg.kg<sup>-1</sup> respectively. The average antioxidant activity was 8,3 g .kg<sup>-1</sup> dry matter. In species *Hypericum calycinum* and *Hypericum inodorum* hypericin and pseudohypericin was not determined. Hypericin and pseudohypericin contents in *Hypericum calycinum* and *Hypericum inodorum* was lower than detection limit.

The obtained results have not demonstrated any dependence of the content of the evaluated substances on the storage of the samples because there was no statistically significant difference between the samples measured at the end of the expiration period and the samples with at least one year before the expiration. It has been determined statistically significant difference in pseudohypericin extract content between tea bags and pouring tea.

Key words: St. John's wort, hypericine, pseudohypericine, total polyphenols, antioxidant activity, HPLC

# OBSAH

1	ÚVOD.....	11
2	CÍLE PRÁCE .....	12
3	LITERÁRNÍ REŠERŠE .....	13
3.1	Systematické zařazení rodu třezalka [ <i>Hypericum</i> ].....	13
3.2	Botanický popis rodu třezalka [ <i>Hypericum</i> ].....	13
3.2.1	Třezalka tečkovaná .....	14
3.2.2	Výskyt třezalky tečkované .....	14
3.2.3	Pěstební technologie třezalky tečkované.....	14
3.3	Využití třezalky v minulosti a dnes .....	16
3.4	Zpracování třezalky .....	19
3.4.1	Způsob sušení .....	19
3.4.2	Příprava čaje .....	20
3.4.3	Výroba oleje .....	20
3.4.4	Příprava tinktury .....	21
3.4.5	Třezalková šťáva.....	21
3.4.6	Další využití třezalky .....	21
3.5	Chemické složení třezalky, vlastnosti obsahových látek.....	22
3.6	Hypericiny.....	23
3.7	Polyfenolické látky.....	26
3.7.1	Deriváty fenolu .....	27
3.7.2	Flavonoidy.....	27
3.7.3	Benzofenony a xantony.....	29
3.7.4	Třísloviny .....	29
3.8	Antioxidanty.....	29
3.9	Volné radikály .....	30



3.10	Stanovení antioxidační aktivity .....	32
3.11	Chromatografie .....	33
3.11.1	Tenkvrstevná chromatografie (TLC) .....	33
3.11.2	Kolonová chromatografie .....	33
3.11.3	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	34
3.12	Základní zákonné požadavky na značení potravin .....	34
3.12.1	Zákonné ošetření značení údržnosti potravin .....	35
3.12.2	Chyby ve značení údržnosti potravin.....	36
3.12.3	Další důležitá data na etiketě .....	36
3.12.4	Zákonné požadavky na značení čajů.....	36
3.12.5	Technologické a jakostní požadavky na bylinu .....	38
4	MATERIÁL A METODY .....	39
4.1	Rostlinný materiál .....	39
4.1.1	Vzorky odebrané v přírodě.....	39
4.1.2	Prošlechtěné kulturní druhy třezalky .....	39
4.1.3	Třezalkové čaje .....	39
4.2	Chemikálie .....	40
4.3	Stanovení celkových polyfenolů (CP) .....	40
4.4	Stanovení obsahu hypericinu a pseudohypericinu .....	41
4.5	Stanovení antioxidační aktivity .....	42
4.6	Vyhodnocení vzorků.....	42
5	VÝSLEDKY .....	43
6	DISKUZE.....	48
7	ZÁVĚR .....	50
8	SEZNAM LITERATURY .....	51
9	PŘÍLOHA .....	1



# 1 ÚVOD

Třezalka tečkovaná [*Hypericum perforatum*] je bylina známá a užívaná jako léčivka už téměř 2000 let. Byla často používána na léčbu široké škály různých zranění a nemocí, ale také při různých rituálech proti čarodějnicím a ďábelským nástrahám. V letech velkého rozvoje farmakologie, kdy se léčivé rostliny téměř přestaly využívat, třezalka, jako mnoho dalších léčivých rostlin, přišla o své uplatnění. V nedávné době začali vědci více zkoumat tuto rostlinu a vědecky potvrdili antidepresivní účinky třezalky, čímž na ni obrátili pozornost veřejnosti. Extrakty z třezalky a drcená nat' byliny se začaly používat v přípravcích proti depresím, kde prokázaly stejnou účinnost jako syntetické preparáty. Jediným pozorovaným vedlejším účinkem je u některých osob zvýšená citlivost na sluneční záření – fotosenzibilita.

## 2 CÍLE PRÁCE

Hlavním cílem této práce je stanovení množství hypericinu, pseudohypericinu, obsahu celkových polyfenolických látek a antioxidační aktivity ve vzorcích třezalkových čajů. Dílčím cílem bylo porovnání obsahu hypericinu, pseudohypericinu a antioxidační aktivity v jednotlivých částech plně kvetoucí rostliny třezalky tečkované a ve dvou odrůdách třezalky. (Třezalka nevonná [*Hypericum inodorum* 'Rheingold'] a třezalka kalíškatá [*Hypericum calycinum* 'Hidcote']).

### Hypotézy

- 1) Obsah hypericinu, pseudohypericinu, celkových polyfenolů a antioxidační aktivity se liší v různých třezalkových čajích.
- 2) Různé druhy třezalky obsahují jiné množství hypericinu a pseudohypericinu a mají jinou antioxidační aktivitu.
- 3) V jednotlivých částech rostliny je jiný obsah hypericinu a pseudohypericinu.

## 3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

### 3.1 Systematické zařazení rodu třezalka [*Hypericum*]

Zařazení rodu třezalka [*Hypericum*] do botanického systému dle Hejný et Slavík (1997):

říše:	roslinná
podříše:	vyšší rostliny [ <i>Cormobionta</i> ]
oddělení:	cévnaté rostliny [ <i>Tracheophyta</i> ]
třída:	semenné [ <i>Magnoliatae</i> ]
podtřída:	dvouděložné [ <i>Magnoliidae</i> ]
řád:	čajovníkovité [ <i>Theales</i> ]
čeleď:	třezalkovité [ <i>Hypericaceae</i> ]
rod:	třezalka [ <i>Hypericum</i> L.]

### 3.2 Botanický popis rodu třezalka [*Hypericum*]

Rostliny z rodu třezalka jsou jednoleté i vytrvalé byliny až polokeře 10 až 100 cm vysoké. Kořen rostliny je vřetenovitý, dřevitý, rozvětňuje se a vyvíjí se z něj další trvalý vřetenovitý, hnědý točitý hlavní kořen. Lodyha je vystoupavá až přímá, většinou s vyniklými podélnými lištami. Listy jsou vstřícné, přisedlé až krátce řapíkaté, podlouhlé, vejčité, nebo podlouhle kopinaté, na okraji mohou být podvinuté [Příloha Obr. 9], mohou být s tečkovitými siličnými žlázkami a nádržkami [Příloha Obr. 9, Obr. 10]. Rostlina kvete od května do srpna (některé druhy i do září). Květenství je bohaté, u všech druhů vrcholové, velikost květů se u druhů liší. Květy jsou prosvítavě tečkované [Příloha Obr. 11], jednotlivé, volné, v průměru 15 až 35 mm, kališní lístky jsou trojúhelníkové nebo široce čárkovité, korunní lístky jsou 8 až 18 mm dlouhé, nesouměrné, zlatožluté a při vrcholku žláznatě tečkované. Plodem je vejcovitá, přehrádkosečná tobolka [Příloha Obr. 12, Obr. 13, Obr. 14]. Tmavohnědá až černá semena mají válcovitý tvar a síťnaté jamkaté osemení [Příloha Obr. 15]. Klíčí pouze na světle (Dostál, 1954; Zelený, 1990).

Rod *Hypericum* zahrnuje přibližně 380 druhů, které rostou převážně v subtropickém pásmu. V Čechách se vyskytují kromě třezalky tečkované [*Hypericum perforatum*] také třezalka položená [*Hypericum humifusum* L.], třezalka chlupatá [*Hypericum hirsutum* L.],

třezalka skvrnitá [*Hypericum maculatum* Cr.], třezalka čtyřkřídla [*Hypericum tetrapterum* Fr.], třezalka lepá [*Hypericum elegans* Steph.] a třezalka pěkná [*Hypericum pulchrum* L.]. Některé další známé druhy třezalky jsou uvedeny v kapitole [Příloha Tab. 8]. Větší část těchto rostlin nemá český název (Dostál, 1954).

### **3.2.1 Třezalka tečkovaná**

Třezalka tečkovaná [*Hypericum perforatum*] je rostlina z čeledi třezalkovité [*Hypericaceae*]. Třezalku tečkovanou [Příloha Obr. 7] lze odlišit od ostatních druhů pomocí těchto znaků: rostlina je 20-100 cm vysoká, zlatožlutá, má černě tečkovanou korunu, kvete od května do srpna. Listy jsou široce vejčité až vejčitě kopinaté nebo čárkovité až úzce eliptické. Třezalka tečkovaná se vyskytuje na výslunných stráních, na mezích, v křovinách, v lesích v nížinném až horském pásmu. Je to nejrozšířenější a nejznámější druh z rodu *Hypericum*. Třezalka tečkovaná patří mezi léčivé rostliny, je celosvětově velmi rozšířená, místy je považována i za plevel. Není chráněná (Dostál, 1954).

Dle Zeleného (1990) je třezalka tečkovaná velmi proměnlivý druh ve tvaru a velikosti listů, květních obalů a hustotě siličnatých kanálků.

### **3.2.2 Výskyt třezalky tečkované**

Třezalka tečkovaná se vyskytuje po celé Evropě s výjimkou jen arktických pásem, v Asii, v severní Africe a na západě USA (Bodlák, 2005). Podle Mártonfiho et Repčáka (1994) také roste na západní Sibiři, v západní Číně, v severním Íránu, v Malé Asii a v pohoří Atlasu. Druhotně se vyskytuje v mírných a subtropických pásmech celého světa. V České republice roste nejvíce od nížin do podhorských oblastí a roztroušeně se vyskytuje i ve vyšších oblastech. Vyskytuje se obzvláště na slunných stráních, mezích, pastvinách, ve světlých lesích. Nesnáší pravidelné kosení. (Bodlák, 2005).

### **3.2.3 Pěstební technologie třezalky tečkované**

Pro produkční pěstování třezalky jsou nejvhodnější lokality s možností závlahy. Půda by měla být nezaplevelená, nepřemokřená a lehčí (vzrostlá rostlina snáší i těžší půdy), (Felklová et Kocourková, 2003).

Rostlina může být pěstována z přímého výsevu, nebo z kultury založené z předpěstovaných rostlin. Výnos rostlin předpěstovaných je o 50-70 % vyšší než z rostlin z přímého výsevu. Výnos v prvním roce je 2,5 – 5,5 t/ha nati. Od druhého roku 1,5 – 7,0 t/ha.

Způsob sklizně je uzpůsoben výšce rostlin, optimálně je 0,20 m nad povrchem. Nať se sklízí žací lištou, vrcholky rostlin ručně. Sklizeň se provádí v době kvetení (v prvním roce v VII. – VIII. měsíci, od druhého roku v VI a druhá sklizeň v IX měsíci), sklízí se přibližně 70 % květů (Felklová et Kocourková, 2003).

Rostlina je napadána širokou škálou chorob (např. *Alternaria*, *Rhizictonia Fusarium*, *Phoma*, *Pythium*, *Erysiphe hyperici*, *Keisseleirella ocellata*, *Seimatosporium hypericinum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Septoria hyperici*, *Ramularia uredinis*) a škůdců (bejlmorka [*Dasineura sirotina*], mšice [*Aphis chloris*], *Fomoria septembrella*, *Calybites aurogutella*, *Chrysolina geminata*, plochuška (*Agonopteryx liturosa*, *A. hypericella*), (Ondřej et Odstrčilová, 1999).

Způsoby množení rostlinného materiálu jsou generativní i vegetativní. Generativní způsob se aplikuje přímým výsevem, nebo předpěstovanou sadbou. Přímý výsev je aplikován v X. – XI. měsíci, spotřeba osiva je 0,5 kg/ha. Šíře řádků je 0,4 m. povrch musí být pečlivě upraven a po osetí je nutno povrch uválet. Sadba se předpěstovává v II. – IV měsíci. Výsev se provádí na široko na povrch substrátu, lehce se přitlačí a chrání folií nebo sklem. První týden se udržuje se teplota 20 – 25 °C. (Nebezpečí padání klíčících rostlin). Po vzejití (za 6-9 dní) se rostliny přesazují a teplota se sníží na 12-16 °C. Výsadba probíhá od poloviny dubna. Je možno provádět ruční i mechanizovanou výsadbu na 0,4 x 0,3 m. Je nutno provádět závlahu (Felklová et Kocourková, 2003).

Vegetativní množení je využíváno jen pro pokusné pěstování. Provádí se počátkem března. Ve skleníku jsou odebrány řízky asi 50 mm dlouhé, které se ponechají pod foliovým krytem zakořenit (cca 2-3 týdny), (Felklová et Kocourková, 2003).

Třezalku tečkovanou je možné rozmnožovat buď pomocí výběžků, které na podzim vyrůstají z báze rostliny, nebo na jaře vysetými semeny. Jakmile se rostlina ujme, sama se dále rozmnožuje semeny (Rystonová, 1996).

### 3.3 Využití třezalky v minulosti a dnes

O historii využití třezalky tečkované existuje velmi výstižný článek v Mathioliho Herbáři (Mathioli, 2005) ve kterém je doslovně napsáno:

„Přirozenost, moc a účinek

Tato bylina jest přirozenosti horké a suché na třetím stupni a jemné, pronikavé podstaty; mocí svojí ztenčuje, otvírá, rozpouští, slepuje a zastavuje. Otvírá a vyředuje všechny zástavy a zbytečnosti ledvin, měchýře i matky. A toto vše působí bylina.

Vnitřní použití

Pití odvaru červeného zvonečku s květem i semenem ve víně vyhání jedovatost, vyhání také moč i ženské vlhkosti, a odstraňuje i třídenní zimnici.

Pití odvaru semene červeného zvonečku zatvrzuje život, a jest velmi dobré proti kamenům v měchýři, a užívání odvaru semene červeného zvonečku neustále po 40 dnů uzdravuje dnu svalstva čili kyčelní bolest.

Pití utlučeného semene se šťávou nebo vodou jitrocelovou pomáhá proti chrlení krve. Vodu červeného zvonečku dávají s užitkem pítí proti šlaku i proti padoucnici. Pití vody z červeného zvonečku s červeným vínem zdržuje a staví všecky přílišné stolice, když se přikládá zároveň na břicho šátek v ní namočený. Voda červeného zvonečku uzdravuje všeliké nebezpečné rány, ať bodné nebo sečné, v použití vnitřním i zevním; má se pítí ráno i večer, a kromě toho rány mají se promývatí touto vodou a obkládati šátky v ní namočenými. V Polsku mají obyčej podávati vnitřně tento květ s teplým pivem s máslem a solí lidem, kteří si uškodili velikou tíží.

Z této byliny, stejně jako i z jiných, připravují také sůl, která je znamenitým lékem pleureticis (lidem se zánětem pohrudnic). Vytlačenou šťávu z této byliny s řepíčkem vlévají koňům do hrdla proti červům.

Zevní použití

Přikládání utlučeného listí se semenem hojí spáleniny.



Kdo má běhavku, nechť si přistrojí lázeň na nohy z odvaru byliny červeného zvonečku ve vodě, a nechť si v ní myje nohy, neboť zatvrzuje a zastavuje všeliké výtoky břicha. Listí usušené a utlučené na prášek a zasypávané do zastaralých provalenin a vředů, pomáhá k jich vyhojení.

Proti třesu je dobré tříti bylinou červeného zvonečku údy dvakrát denně před jídlem. Někteří při sobě nosí bylinu červeného zvonečku proti nočním obludám, a vykuřováním touto rostlinou zahání ve svých domech zlé duchy, pročez ji nazývají *fuga daemonum*. Ženy nakuřují touto bylinou šestinedělky, z kteréžto příčiny sluje na některých místech *unser Frauenwurtzel*, asi jako kořen Matky Boží (...)" (Mathioli, 2005).

V minulosti byla třezalka řazena mezi magické byliny. I samotné jméno *Hypericum* pochází z řeckého „hyper“ a „eikon“, přesný překlad je nad obrazem. Ve středověku byla rostlina nazývána *fuga daemonum*. Tento název naznačoval, že „obrací demony na útěk“ (Paulová et al., 2004).

Paracelsus doporučoval mít třezalku stále při sobě, nosit ji pod čepicí, na prsou, jako věneček nebo v ruce, často k ní čichat, v noci si ji dát pod polštář, zasadit ji kolem domu nebo si ji zavěsit na stěnu (Paulová et al., 2004).

Třezalka byla používána jako ochranná pomůcka před ohněm, bleskem a veškerým zlem způsobeným magií zvláště o svatojánské noci. Bylina zavěšená na dveřích měla zabránit vstupu zlých duchů (Bodlák, 2005) a také chránila před demony a čarodějnicemi, které se právě o svatojánské noci slétají na každoroční setkání. Stačilo dát si pod košili třezalku a další byliny, například česnek, pelyněk nebo routu. Girlandy z třezalky (bílých lilií, břízy a fenyklu) chrání majetek, stáje, stáda a úrodu. Tradovalo se mnoho receptů na dobré zdraví, plodnost a dlouhý život. Například „svatojánská voda“ se za čarovné noci položila ven. Miska s vodou, s listy a vonnými květinami. V každém kraji se do misky vkládaly jiné směsi bylin. Nejčastěji byla používána třezalka, levandule, které se říkalo klásek sv. Jana, routa a rozmarýn (Cattabiani, 2006).

Třezalka utržená v noci na sv. Jana Křtitele, se vložila do vázy. Když pak doma vykvetla, mohla se chystat svatba. Šťáva z této byliny se také přidávala do nápojů lásky. Lidé věřili, že dokáže vyvolat lásku u milované osoby (Rystonová, 1996).

Bylina svatého Jana byla také ve středověku, bohužel, využívána k obviňování z čarodějnictví. Stávalo se, že krávy a kozy na pastvě spásly větší množství této byliny. Působením obsažených látek docházelo ke zbarvení jejich mléka do růžova. Lid snadno uvěřil, že zvířata byla očarována, uhranuta a že „dojí krev“ (Rystonová, 1996).

Prostý lid tuto rostlinu nazýval mnoha různými jmény např.: psotníkové koření, zděšenec, krevníček, třezalka, prostřelenec, arnika nervů, pupková bylina, dřavec, potratnice, krvavník, třesavice, trezalka, čarovník, červený zvoneček, zvoneček, zvonečky, zvonec sv. Jana, zvoneček svatojánský, Janův olej, svatojánská bylina, bylina sv. Jana, krev sv. Jana, kvítky pany Marie, koření matky boží, svatá bylina, křížek, láska, laskavé koření, milovníček (Bodlák, 2005; Rystonová, 1996; Mathioli, 2005).

Pomocí třezalky staré kořenářky prováděly kouzla s počasím, zaháněly černá mračna a opětovně přivolávaly slunce. Před bouřkou je obvykle velmi napjatá nálada. Pomáhalo tedy, že stařeny vykuřovaly třezalkou, která má antidepressivní účinky (Paulová et al., 2004).

Při stisknutí plátěného váčku s třezalkou začne prýštit červená barva - „krev elfů“. Pohané tuto červenou šťávu považovali za krev slunečního boha Baldra, který byl při slunovratu obětován. Symbolika byla pak přenesena na kazatele Jana Křtitele, kterému setnuli hlavu na žádost Salome, po jejím tanci se sedmi závoji. Ke spojení třezalky a letního slunovratu, se vztahuje mnoho náboženských legend. Rostlina prý vznikla po dopadu kapky krve Jana Křtitele na zem. V další legendě, která vysvětluje tmavé tečky hypericinu, se praví, že se ji ďábel snažil zničit, a tak ji tisíckrát probodl jehlou. Od těchto teček má rostlina své druhé jméno – tečkovaná [*perforatum*] (Paulová et al., 2004).

Paracelsus viděl v tečkách třezalky signaturu válečného boha Marse a věřil, že se tedy rostlina hodí k léčení sečných a bodných ran. Třezalkové obklady opravdu léčí rány a působí antisepticky (Paulová et al., 2004).

Je možnost používat třezalku i k léčení ran. Toho využívali například rytíři během křížových výprav. Doporučoval se balzám vyrobený vyloužením lístků a květů v oleji. Také byl oblíben nápoj získaný macerováním třezalky ve víně (Cattabiani, 2006). Používala se i na hadí uštknutí (Bodlák, 2005).

Adams et al. (2009) porovnává ve své práci účinnost bylin (mezi nimi i třezalku tečkovanou) tak jak je popsána v evropských herbářích z 16. až 18. století. Při léčbě

revmatických onemocněních a chronických zánětlivých a degenerativních onemocněních pohybového aparátu se prokázalo, že více než polovina sledovaných rostlin má *in vitro* i *in vivo* protizánětlivé účinky. Bylo prokázáno, že vodný a ethanolový extrakt z třezalky tečkované inhiboval tvorbu karagenanu a prostaglandinu, původce zánětů.

Mezi prokázané účinky třezalky spadají protizánětlivé a dezinfekční účinky, dále má pozitivní vliv na metabolismus, léčí žaludek a dvanáctník, ovlivňuje krevní oběh a krvetvorbu, činnost jater a žlučníku. Její zklidňující účinky se využívají při nervové vyčerpanosti, nespavosti, syndromu chronické únavy, migréně, melancholii a duševní depresi (Bodlák, 2005).

Pro kosmetické účely se třezalka také využívá. Třezalkový olej je vhodný k ošetření suché popraskané kůže a ke zvláčnění pleti (Bodlák, 2005).

### **3.4 Zpracování třezalky**

Rostlina se sbírá v době květu, v červenci a v srpnu. Sbírají se květy a svrchní části stonků odřezáním celé kvetoucí byliny, ovšem bez silných lodyžních stonků. Nať (*herba hyperici*) a květ (*flos hyperici*) se dále upravují. Mohou se sušit na výrobu čaje, louhovat v oleji, čímž vznikne třezalkový olej, použít k přípravě tinktury louhováním v lihu, nebo lisovat na přípravu třezalkové šťávy (Zhang et al., 2009).

#### **3.4.1 Způsob sušení**

Způsoby sušení dle různých autorů se od sebe velmi liší. Rostlinu je možné sušit na slunci (Hruška, 1996) nebo ve stínu (Zhang et al., 2009). Třezalku tečkovanou je nejvýhodnější sušit co nejrychleji přirozeným teplem, aby byla zachována přirozeně žlutá barva květů. Teplota by při umělém sušení neměla přesáhnout 35 °C (Szabóová, 2002). Produkční sušení je prováděno při 40–60 °C, po dobu 15–20 hod. v sušárnách nebo přirozeným prouděním vzduchu (Paulová et al., 2004).

Správně usušená třezalka si zachovává původní zbarvení, je téměř bez zápachu a má trpce nahořklou chuť (Szabóová, 2002).

### 3.4.2 Příprava čaje

Při přípravě čaje se používá sušená, nebo čerstvá rostlina, která se zalévá vařící vodou. Szabóová (2002) doporučuje dávkování 1 až 2 lžičky sušené byliny nebo hrst čerstvé rostliny na jeden hrnek. Louhuje se 10 min a poté se precedí. Užívají se 2-3 šálky denně. (Bodlák, 2005).

Čaj proti neplodnosti je vyroben ze směsi bylin. Třezalka, kopřiva, kontryhel, hluchavka bílá, květ měsíčku, řebříček. (Bodlák, 2005).

Osvěžující nápoj se vyrábí z třezalky, z brusinek (nebo rybízu či borůvek), vody a cukru (Bodlák, 2005).

Čaj na uklidnění a zahnání únavy je z kombinace třezalky a řebříčku (Bodlák, 2005).

Pro úlevu při potížích v klimakteriu se může pít třezalka v kombinaci s chmelovou šišticí a meduňkou (Rystonová, 1996).

Čaj na lepší soustředění, hlavně pro děti a studenty před zkouškami je z třezalky smíchané s meduňkou (Rystonová, 1996).

### 3.4.3 Výroba oleje

Nať a květy čerstvé rostliny se přelijí olejem (nejlépe olivovým). Vše se připraví do průhledné láhve, dobře se uzavře a nechá louhovat čtyři až šest týdnů na slunci, až olej získá jasně červenou barvu. Pokud ani po šesti týdnech tuto barvu nemá, je třeba nahradit použitou rostlinu rostlinou čerstvou. Olej se přefiltruje přes plátno a uchovává v tmavé láhvi, ve tmě a v chladu (Szabóová, 2002). Olej se používá zevně na suchou a popraskanou kůži, ke zjemnění pleti a k hojení drobných kožních zánětů (Rystonová, 1996) a vnitřně při problémech s činností zažívacího traktu a s činností žlučníku. Při zánětech žaludeční a střevní sliznice působí proti křečím (Szabóová, 2002). Olej by se neměl vnitřně užívat bez dozoru kvalifikované osoby (Lavenderová et Franklinová, 1999).

Olejové mazání na podlitiny, pohmožděnin a na kůži spálenou sluncem je z třezalky tečkované a z kostivalu (Bodlák, 2005).

Třezalková mast je smíchána z čerstvé třezalky a sádla (Bodlák, 2005).

Maska s olejem z třezalky lze použít jako zábal pro citlivou suchou pleť, pro zachování její pružnosti. Masky je složena z třezalky, žloutku, citronové šťávy a olej (Bodlák, 2005).

#### **3.4.4 Příprava tinktury**

Třezalková tinktura je řidší alkoholový výtažek. Na přípravu tinktury se používá čerstvá nebo i sušená rostlina, která se zalije 70 % alkoholem (dle Bodláka (2005) se zalije 50 % lihem). Lahvička se uzavře a obsah se nechá týden louhovat při pokojové teplotě, nesmí být na přímém slunci. Směs se několikrát denně protřepe. Na jeden díl rostliny se dává pět dílů alkoholu. Po prvním týdnu se obsah přefiltruje přes lněné plátno. Do alkoholu se přidá nová rostlina a opět se nechá louhovat. Po druhém týdnu se směs filtruje znovu přes filtrační papír. Použitým alkoholem může být ethanol, nesmí však být použit denaturovaný líh nebo methanol. Třezalková tinktura se může skladovat i několik let, protože alkohol zde působí jako konzervační prostředek (Szabóová, 2002). Při bolestech hlavy, žlučníku, nespavosti užívá 3x denně 10 kapek na lžici, případně při kašli, nervové slabosti, neklidu a přepracovanosti se kape 3x denně 10 kapek na kostku cukru (Bodlák, 2005).

V dobách, kdy je problematické použít čerstvou rostlinu je možno 25 g sušené natě vylouhovat několik dní ve 125 ml lihu (Rystonová, 1996).

#### **3.4.5 Třezalková šťáva**

Čerstvé části rostliny se ručně nebo strojově drtí a lisují. Šťáva vyrobená doma je velmi málo trvanlivá. Je nutné ji připravovat čerstvou a ihned ji spotřebovat. Třezalková šťáva se užívá jako prevence k posílení imunitního systému, k povzbuzení při únavě, depresích nebo apatii či při zánětech sliznic žaludku a střeva (Szabóová, 2002).

#### **3.4.6 Další využití třezalky**

Horké obklady mohou být účinné proti ústřelu, „na hexenšus“. Používá se čerstvá bylina (Bodlák, 2005).

Víno sv. Jana se používá proti závratím, migréně a ostatním nervovým poruchám, pro zklidnění. Vyrábí se z květů třezalky a bílého vína podobně jako olej (Bodlák, 2005).

Víno na lepší spánek se připravuje z třezalky, meduňky, levandule, chmelových šištic, a červeného vína (Bodlák, 2005).

Třezalkový med na pomoc při únavě nebo bolesti je směsí třezalky, cukru a citronu (Bodlák, 2005).

V lékárně a drogerii jsou běžně k dostání pilulky s třezalkovou drtí od Dr. Kneippa. Pilulky jsou doporučovány při úzkostných stavech a ke zmírnění stresu bez nežádoucího vzniku únavy a slabosti a jako doplněk stravy při odvykání kouření či při redukčních dietách, příznacích klimakteria. Napomáhá mužům i ženám získat zpět duševní rovnováhu. [Příloha Obr. 16]

### 3.5 Chemické složení třezalky, vlastnosti obsahových látek

Obsah jednotlivých složek v druzích třezalky je různý a plně závisí na období sklizně, sušení a způsobu skladování. V třezalce tečkované jsou obsaženy tyto látky:

Voda, bílkoviny, tuk, sacharidy, třísloviny (převážně katechinového typu), silice (a-pinen, b-pinen, limonen, myrcen, b-karyofylen, humulon, kadinen, cineol, karan, kadalen), pryskyřice, dianthrony (hypericin, pseudohypericin), flavonoidy (kvercetin – kvercitrin, hyperon, rutin; isokvercetin, hyperosid, biapigenin), organické kyseliny a jejich deriváty (palmitová kyselina, stearová kyselina, laurová kyselina, fenolkarboxylové kyseliny, ester isovalerové kyseliny, nikotinamid, chlorogenová kyselina [Příloha Obr. 24]), fluoroglucinolové deriváty (hyperforin, adhyperforin), cholin, fytosteroly (b-sitosterol), vitaminy (vitamin C, vitamin A), resiny, taniny, chlorofyl, karotenoidy (karoten, lutein, violaxantin, luteoxantin, cistrollixantin, trollichrom), saponiny, pektiny, kumariny (skopoletin), těžké kovy (kadmium, olovo), (Cakir et al., 1997).

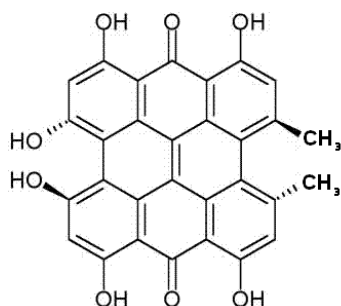
Ze sekundárních metabolitů jsou v třezalce nejvíce ceněny, pro jejich lékařskou hodnotu, pseudohypericin [Příloha **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**], hypericin [Příloha REF \_Ref319678144 \h \\* MERGEFORMAT **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**], hyperforin [Příloha Obr. 21], adhyperforin, izomery chlorogenové kyseliny, rutin, hyperosid, isokvercetin, kvercetin, biapigenin, xantony, flavonoidy a třísloviny (Kimberly et al., 2008; Mártonfi et Repčák, 1994; Zhang et al., 2009). Tyto látky vcelku dráždí žlázy trávicího ústrojí (také játra a žlučník) a tonizují krevní oběh. Mají také uklidňující účinky, a tím vhodně ovlivňují depresivní stavy. Jsou baktericidní (Cirak et al., 2008).

Důležitou skupinou látek obsažených v třezalce tečkované jsou polyfenolické látky. Z této obsáhlé skupiny se v třezalce vyskytují hlavně flavonoidy, dále pak třísloviny a xantony. Flavonoidy jsou obsaženy především v okvětních lístcích květů. Jejich obsah v rostlině je 0,5 až 1 %. Flavonoidy se vyskytují i v jiných rostlinách. Jejich účinky se využívají například při poruchách spánku a při neklidu. Tyto látky mají všeobecně stimulující vliv na imunitní systém a pozitivně ovlivňují léčení ran. Třísloviny se v současné době využívají především v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. Třísloviny zastavují krvácení a mají stahující účinky, proto také třezalka působí jako bylinný prostředek na hemoroidy. Třísloviny mají lokálně protizánětlivé účinky. Deriváty xantonu pravděpodobně působí antidepressivně a snižují i hladinu cholesterolu (Kimberly et al., 2008; Szabóová, 2002; Zhang et al., 2009).

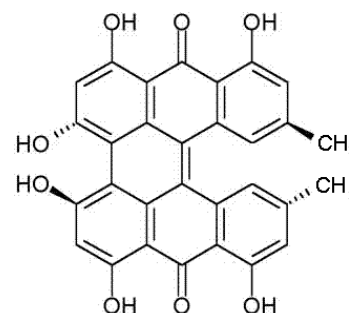
Dále jsou v třezalce obsaženy éterické oleje. Jsou to prchavé zapáchající řídké olejnaté látky a nacházejí se ve žlázkách (olejových buňkách) na listech. V třezalce jsou obsaženy pinen [Příloha Obr. 12] a cineol [Příloha Obr. 13]. Éterické oleje působí protizánětlivě a lokálně mají anestetický účinek (mírně umrtvující) a zabraňují rozmnožování bakterií. Éterické oleje se nacházejí nejen v květech, ale i v ostatních částech rostliny – v lodyze a v listech (Szabóová, 2002).

### 3.6 Hypericiny

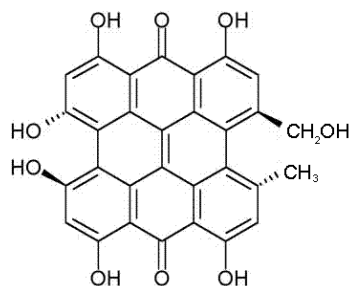
Do skupiny látek naftodiantronů se řadí hypericiny. Tímto souhrnným názvem se nazývají tyto látky: Hypericin [Obr. 1], pseudohypericin [Obr. 3], protohypericin [Obr. 2], protopseudohypericin [Obr. 4]. Dle chemického názvosloví lze hypericin pojmenovat jako 4,5,7,4',5',7'-hexahydroxy-2,2'-dimethylnaftodiantron. Sumární vzorec je  $C_{30}H_{16}O_8$ , jeho molekulární hmotnost je  $504,45 \text{ g.mol}^{-1}$ .



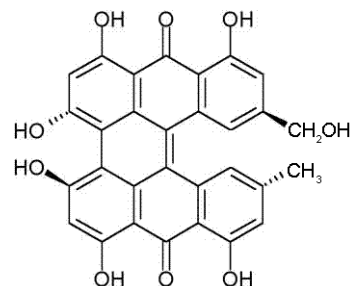
**Obr. 1: Hypericin**



**Obr. 2: Protohypericin**



**Obr. 3: Pseudohypericin**



**Obr. 4: Protoseudohypericin**

Nejtypičtější látka obsažená v třezalce je hypericin [Příloha Obr. 1 Chyba! Nenalezen droj odkazů.]. Je to derivát naftodianthronu (Pavlík et al., 2007). Tvoří jej tmavě fialové krystalky, které se při vysoké teplotě 330 °C rozpadají. Obsah hypericinu je tím větší, čím vyšší je v extraktu podíl květů a poupat a menší podíl lodyh (Szabóová, 2002). Hypericin byl z rostliny poprvé izolován v roce 1939 a tehdy byly také popsány jeho chemické vlastnosti. Prekurzory pseudohypericinu a hypericinu jsou protoseudohypericin a protohypericin (Repčák et Mártonfi, 1997).

Výsledky výzkumů z roku 1988 (Szabóová, 2002) dokazují, že látka hypericin, obsažená v třezalce, má silně antidepressivní a protivirový účinek. Hypericin a pseudohypericin jsou hlavní složky s antidepressivním účinkem a zároveň mají protivirový účinek při infekcích způsobených viry a retroviry – například viry způsobující zubní vředy, chřipku a opary. Hypericiny schopny inaktivovat viry, které po kontaktu s nimi nejsou schopny obnovit procesy transkripce, translace, nebo přenosu virových bílkovin přes buněčné membrány. Obě látky také mohou působit nepřímo na enzym polymerázu (Bombardelli et Morazzoni, 1995).

Jako prostředek stimulující imunitní systém může být podle nejnovějších studií hypericin úspěšně nasazen v první fázi onemocnění AIDS. Jednoznačně protivirově působí příjem hypericinu i na herpetické viry. Neurochirurgické oddělení univerzity v Jižní Kalifornii zaznamenalo jisté úspěchy při aplikování extraktu třezalky proti tvorbě nádorových buněk (Szabóová, 2002).

Byly zkoumány účinky několika faktorů životního prostředí na obsah hypericinů (hypericin, pseudohypericin a hyperforin). Záření UV-B (se stopami UV-C) způsobilo přechodné zvýšení všech tří sloučenin. V rostlinách pěstovaných na poli, tedy s přírodním



UV-B zářením, bylo méně sledovaných sloučenin, než v rostlinách pěstovaných ve skleníku, ale tento rozdíl není průkazný (Zhang et al., 2009).

Je také prokázán protizánětlivý účinek hypericinů. Dávka 100 mg hypericinového extraktu aplikovaného sondou myším dvakrát denně významně snížila produkci prostaglandinu, který je hlavním mediátorem zánětu (Kimberly et al., 2008).

Poměr obsahu jednotlivých hypericinů se liší v závislosti na vnějších vlivech a také je rozdílný v jednotlivých rodech třezalky. Například v rodech *Hypericum perforatum* a *Hypericum origanifolium* bylo zjištěno dvakrát až třikrát více pseudohypericinu než hypericinu (Cirak et al., 2008).

Ze své struktury představují hypericin a pseudohypericin potenciální riziko, že pokožka bude citlivá na světlo – fotosenzibilita (Szabóová, 2002). Po požití hypericinu se organismus (obzvláště albinů) stává citlivým na sluneční záření. Toto zjištění vysvětlilo záhadné hynutí bílých ovcí v povodí Eufratu a Tigridu. Dále také je možný vznik narůžovělého zbarvení mléka savců (Pejml, 1943).

Dříve byli lékaři přesvědčeni, že antidepresivní účinky má pouze hypericin, ale nové studie dokazují, že antidepresivní a euforizující vlastnosti mají i jiné látky obsažené v třezalce, hlavně hyperforin. Je dokázáno, že hypericin obsažený v třezalce má nejen antidepresivní účinky, ale má také protivirový účinek při infekcích způsobených viry a retroviry (Szabóová, 2002). Repčák et Mártonfi (1997) prokázali, že naftodianthrony (hypericin, pseudohypericin) a acylfloroglucinoly (hyperforin, adhyperforin) nejsou v rostlině přítomny zároveň v jednom okamžiku.

Hyperforin je další látka získatelná z třezalky tečkované. Izoluje se z květů, pupat a tobolek. Nejvyšší obsah byl naměřen v pestíku (7,1 %), v tyčinkách se nevyskytuje (Repčák et Mártonfi, 1997). Má antibiotické účinky a léčí rány. V čerstvých rostlinách a v třezalkovém oleji je obsaženo vysoké procento hyperforinu. Výrazně nižší koncentraci hyperforinu mají tuhé extrakty a roztoky (Szabóová, 2002).

Hypericin nebyl zatím prokázán v rostlinách jiných, než rodu třezalka. Zevakova et al. (1991) stanovovala hypericin v různých druzích třezalky pomocí metody HPLC, prokázala přítomnost hypericinu v třezalce tečkované [*Hypericum perforatum* L.], dále v *H. maculatum*

Ganz, *H. tetrapterum* Fries, *H. elegans* Steph, *H. Scabrum* L., *H. hirsutum* L., *H. ascyron* L. V rostlinách *H. Scabrum* L., *H. hirsutum* L., *H. ascyron* L. nebyl nalezen pseudohypericin.

Jediným dalším potenciálním zdrojem hypericinu je houba *Penicillium clavariaeformis*. Tato houba produkuje oxypenicillipsin, který se po ozařování přemění na hypericin. (Stickings et Raistrick, 1956).

### 3.7 Polyfenolické látky

V třezalce se hojně vyskytují sloučeniny patřící do široké skupiny polyfenolických látek.

Polyfenoly patří mezi chemické látky, které mají pozitivní účinky na organismus. Tyto v organismu působí jako antioxidanty (snižují reaktivnost volných radikálů) a antimutageny. Působí i protizánětlivě tvorbou chelátů s kationty kovů. Některé z nich působí protivirově a podporují detoxikační enzymový systém (Brouillard et al., 1997). Někteří vědci zaznamenali příznivý vliv polyfenolických látek při léčbě rakovinných onemocnění (Bianchini et Vainio, 2003), ale názory vědců na jejich využití proti rakovině se liší. Některé polyfenolické látky také dokáží snížit agregaci krevních destiček a jejich přilnavost na endotel, zvyšují obsah HDL a chrání LDL cholesterol před oxidací, čímž snižují významným způsobem riziko srdečních příhod (Lorimier, 2000). Dle Racka et al. (2001) však některé rostlinné fenoly naopak mohou i zvyšovat modifikaci LDL cholesterolu.

Rozporuplné názory vědců na prospěšnost polyfenolických látek mohou být způsobeny velmi obtížným získáváním jejich chemicky a strukturně čistých standardů, čímž je velmi ztížen jejich výzkum. Dále také synergické působení různých polyfenolických sloučenin může mít jiný antioxidační efekt než jednotlivé polyfenolické látky (Weisburger et al., 1996, Soleas et al., 1997). Pro lidský organismus jsou polyfenolické látky, obsažené například v rostlinách, přirozeným zdrojem antioxidantů.

Mezi polyfenolické látky je zařazeno mnoho chemických sloučenin, které mají společnou vlastnost. Všechny obsahují nejméně jednu fenolickou skupinu na benzenovém jádře. Mohou se vyskytovat volně, nebo vázaně se sacharidy. Většinou se vyskytují jako produkty kondenzačních či adičních reakcí. Z dosud popsanych polyfenolů jich je více jak 1000 rostlinného původu (Dey et Harborne, 1997).

Celkové polyfenolické látky se dle Winkel-Shirley (2006) rozdělují na:

Polyfenoly: Deriváty fenolu  
Fenylpropanové deriváty  
Kumariny a chromony  
Fenolkarboxylové kyseliny  
Stilbeny  
Aurony a chalkony  
Flavonoidy  
Benzofenony a xantony  
Chinony  
Lignany  
Tropolony

Třísloviny

V třezalce tečkované se vyskytují především tyto polyfenolické látky: deriváty fenolů (floroglucinol), flavonoidy (rutin, quercetin, quercitrin, izoquercitrin), benzofenony a xantony (xanton), (Mártonfi et Repčák, 1997)

### **3.7.1 Deriváty fenolu**

Do skupiny fenolů patří přirozeně se vyskytující látky produkované celou řadou rostlin a živočichů, a i člověkem vyrobené sloučeniny. Deriváty fenolu často způsobují chuť a barvu mnohých poživatin (Klouda, 2005).

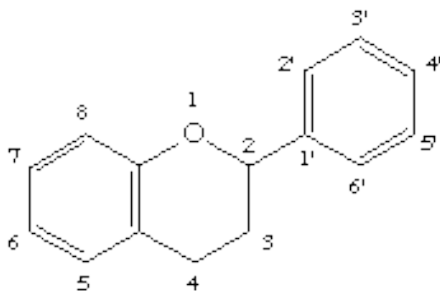
Mezi deriváty fenolu patří například benzendioly a benzentrioly (pyrokatechol, hydrochinon, resorcinol a floroglucinol), například kyselina salicylová, přírodní fenolická sloučenina, je výchozí látkou při výrobě acylpyrinu (Klouda, 2005).

### **3.7.2 Flavonoidy**

Flavonoidy byly objeveny roku 1936 Albertem Szent-Györgyi, významným maďarským biochemikem, nositelem Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu z roku 1937. První flavonoidy byly izolovány v průběhu třicátých let dvacátého století z citrusových plodů. Szent-Györgyi objevil v nadledvinkách redukující látku známou dnes jako kyselinu

askorbovou, vitamín C. prokázal existenci redukujících látek v rostlinných pletivech i živočišných tkáních (Nobelprize.org, 2012).

Základní strukturou je flavan [Obr. 5] složený z 15 uhlíkového řetězce. Skládá se ze dvou benzenových kruhů spojených tříuhlíkatým řetězcem (C6-C3-C6), který může být napojen přes kyslík na benzenový kruh a vytvořit strukturu chromanu. Na tuto kostru jsou substituovány hydroxylové a keto- skupiny odlišující jednotlivé skupiny flavonoidy (Klouda P. , 2005).



### **Obr. 5: Flavan**

Zdroj: <http://www.enzyme-database.org/reaction/phenol/glossary/flavan.gif>

Flavonoidy mají fyziologické účinky, které jsou využívány v lékařství. Uplatňují se jako rostlinná barviva. Flavony (anthoxanthiny – rutin) mají žlutou barvu, anthokyaniny v komplexu s Fe mají červenou barvu, v komplexu s Mo modrou až fialovou, s Cu, nebo Ni bílou. Barva anthokyaninů také může záviset na pH (květy hortenzie [*Hydrangea*] jsou v kyselém prostředí růžové a ve spíše zásaditém modré, je to způsobeno vznikem komplexů s např.  $\text{Ca}^{2+}$  nebo  $\text{Mg}^{2+}$ ), (Klouda P. , 2005).

Winkel-Shirley (2001) dělí bohatou skupinu flavonoidů do šesti hlavních skupin (1. – 6.) a tří menších podskupin (7. – 9.):

1. Chalkony
2. Flavony - v bylinách.
3. Flavonoly – nejrozšířenější flavonoidní látky v rostlinách. Například kvercetin
4. Flavonony - hlavně v ovoci jako například grepy, pomeranče.
5. Anthokyaniny - součást četných rostlinných pigmentů, listů, květů i plodů.
6. Taniny - v čaji, oříškách, vyskytují se i v čokoládě. Mají velmi pozitivní vliv na kardiovaskulární systém.
7. Aurony - v rostlinné říši široce rozšířené.
8. Isoflavonoidy - hlavně v luštěninách.

9. Stilbeny - úzce příbuzné s flavonoidy, byly prokázány v révě [*Vitis vinifera*], borovici [*Pinus sylvestris*] a podzemnici olejné [*Arachis hypogaea*].

### 3.7.3 Benzofenony a xantony

Benzofenony a xantony jsou skupiny látek velmi blízké flavonoidům z hlediska uspořádání fenolhydroxylových skupin. Xantony jsou například euxanton, mangostan. Benzofenony jsou například samotný benzofenon (Klouda, 2005).

### 3.7.4 Třísloviny

Třísloviny, nebo jinak taniny jsou rostlinné látky fenolického charakteru. Jejich relativní molekulová hmotnost je 500 – 20 000 g.mol<sup>-1</sup>. Většina z nich je rozpustná ve vodě. Typická schopnost taninů je vytvářet rozpustné nebo nerozpustné tanin-proteinové komplexy s bílkoviny. Vytváří sraženiny bílkovin z vodných roztoků, amorfni sraženiny s alkaloidy, a se solemi těžkých kovů. Nejčastěji jsou obsaženy v pletivech cévních svazků a v rostlinných orgánech (listy, kůra, semena a květy), (Klouda, 2005).

Základní biologickou funkcí taninů je ochrana proti býložravcům. Toho dosáhnou svíravou a trpkou chutí. Také chrání pupeny rostlin před mrazem. Dále s kovovými ionty vytvářejí charakteristické zbarvení (červené pigmenty anthokyanidinů). Třísloviny jsou rozdělovány dle jejich štěpitelnosti minerálními kyselinami na dvě základní skupiny. Na skupinu tříslovin hydrolyzovatelných, kam patří gallotaniny (estery kyseliny gallové a sacharidů), ellagotaniny (estery ellagových kyselin a sacharidů) a estery karboxylových kyselin. A na proanthokyanidiny (kondenzované taniny), třísloviny na bázi flavan-3-olů, flavan-3,4-diolů a hydroxystilbenu (Klouda, 2005).

## 3.8 Antioxidanty

Antioxidanty jsou jakékoliv přírodní nebo syntetické látky, které přidané k potravinám, přírodní či syntetické gumě, pohonným hmotám nebo jiným produktům dokáží zabránit jejich autooxidaci. Halliwellova definice uvádí, že biologické antioxidanty jsou látky znemožňující nebo předcházející radikály způsobené oxidací biomolekul, byť jich je méně než biomolekul, které mají chránit. Dle této definice lze antioxidanty rozdělit na antioxidanty preventivní, které nedovolí vzniknout radikálovým reakcím a na antioxidanty přerušující již rozběhlé radikálové reakce (Hrbáč, 2007).

Antioxidační aktivita je schopnost sloučeniny nebo směsi látek inhibovat oxidační degradaci sloučenin. Antioxidační aktivita charakterizuje počáteční dynamiku průběhu antioxidačního procesu při určité koncentraci antioxidantu. Na rozdíl od antioxidační kapacity, která poskytuje informaci o délce trvání antioxidačního účinku (Šulc et al., 2007).

### 3.9 Volné radikály

Volné radikály nebo také ROS a RNS (reactive oxygen species, reactive nitrogen species) jsou vysoce reaktivní formy kyslíku a dusíku [Příloha Tab. 10]. Jsou nejčastější příčinou poškození buněčných struktur, buněk a celých tkání (Hrbáč, 2007).

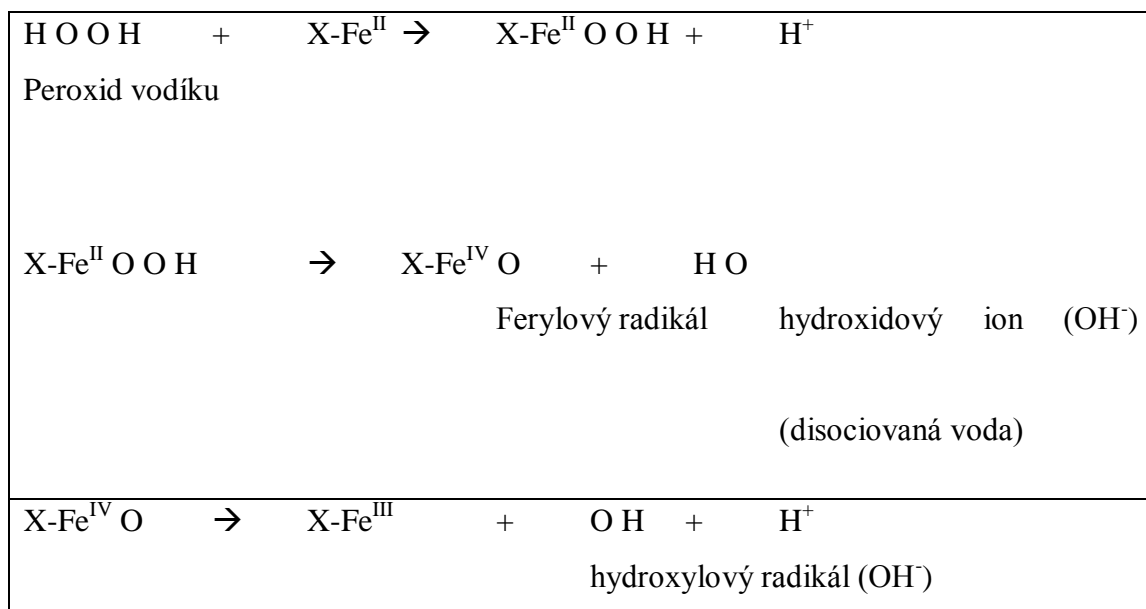
Oxidové volné radikály ROS vznikají například při respiraci. Nebo reakcí s  $\text{Fe}^{2+}$  ve Fentonově reakci. Obsahují vysoce cytotoxický hydroxylový radikál způsobující řetězové reakce, které jsou iniciovány interakcemi ROS s biomolekulami (Hrbáč, 2007).

Organismy se proti jejich působení většinou snaží ochránit pomocí enzymů a chelátů přechodných kovů či proteiny vážící kovy. K ochraně používají antioxidační vlastnosti těchto látek (Hrbáč, 2007). Antioxidační látky mohou být vytvořeny imunitním systémem pro ochranu organismu před škodlivými viry a bakteriemi (např. neutrofilní granulocyty a makrofágy používají reaktivní formy kyslíku k odstraňování zbytků mrtvých buněk a k ničení bakterií), (Hrbáč, 2007; Štípek et al., 2000).

Volné radikály jsou velmi reaktivní, čímž mohou vyvolat reakce, které negativně ovlivňují lidský organismus. Mohou dokonce vést i k poškození buněčné membrány či DNA, protože iniciují potenciálně nebezpečné reakce s řetězovým průběhem. Látky vykazující antioxidační aktivitu jsou schopné snižovat reaktivnost těchto radikálů poskytnutím vodíkového atomu ke snížení jejich reaktivnosti. Antioxidanty tedy také mají volný radikál, ale ten je méně reaktivní a deaktivuje se spojením s dalším radikálem. Dále mají vliv na produkci životně důležitých hormonů a podílejí se na aktivaci některých enzymů (Vodrážka, 1996).

V reakci polyfenolů s přechodnými kovy vznikají stabilní cheláty. Touto reakcí je zabráněno vzniku hydroxylového radikálu ve Fentonově reakci (Racek et al., 2001). [Obr. 6]

Fentonova reakce je v podstatě reakcí peroxidu vodíku s iontem přechodného kovu v nižším mocenství ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$  apod.). V reakci vzniká hydroxylový radikál, hydroxidový anion a přechodný kov se oxiduje na  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , apod.



**Obr. 6:** Fentonova reakce katalyzovaná železem vázaným na biomolekulu

Dvojmocné železo přijme peroxid vodíku, poskytne mu jeden elektron, čímž se oddělí hydroxidový ion ( $\text{OH}^-$ ) a dalším elektronem doplní vazbu se zbylým kyslíkem. Železo tím přejde na oxidační číslo IV. Další pokračování reakce závisí na reakčních podmínkách, může dojít k rozpadu na  $\text{X-Fe}^{\text{III}}$  a hydroxylový radikál. Hydroxylový radikál ( $\text{HO}^\cdot$ ) se mění na vodu odběrem dalšího elektronu od sousední struktury, nebo se na tuto strukturu připojí jako hydroxylová skupina. V druhém případě ferylová struktura jako silné oxidační činidlo si od sousedních struktur odebere elektron, aniž by předtím uvolnila  $\text{HO}^\cdot$ , a rozpadne se rovnou na  $\text{X-Fe}^{\text{III}}$  a  $\text{OH}^-$ , nebo připojí kyslík jako hydroxylovou skupinu na substrátovou strukturu (Štípek et al, 2000).

Mechanismy Fentonovy reakce jsou využívány v reaktivních centrech enzymů (např. peroxidázy, cytochromoxidáza), kdy substrát je vybrán většinou ku prospěchu organismu, bohužel může být touto reakcí poškozena biomolekula například peroxid lipidu, karboxylovaný protein nebo hydroxylovaná báze nukleové kyseliny (Štípek et al, 2000)

Při nedostatku antioxidantů v organismu dochází k oxidačnímu stresu. Dle schopnosti odolávat oxidačnímu stresu akumulací dostatečného množství antioxidantů v tkáni se stanovuje antioxidační kapacita a antioxidační aktivita (Hrbáč, 2007).

### 3.10 Stanovení antioxidační aktivity

Přímé stanovení je poměrně náročný analytický problém, proto se obsah antioxidantů stanovuje nepřímo jako tzv. celková antioxidační aktivita, která se stanovuje u potravin a u potravinových doplňků, kde je často považována za významnou nutriční hodnotu. Stanovení je možné provést velkým množstvím metod. Nejčastěji se používá stanovení metodou TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity). Výsledná hodnota je vztažena ke standardní látce, kterou je trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina). Je to ve vodě rozpustný analog vitamínu E (Hrbáč, 2007). Předpokládá se funkce flavonoidů (největší skupina látek patřící mezi polyfenoly) při regeneraci oxidované formy vitamínu E na formu redukovanou. U některých rostlinných fenolů nebyla prokázána inhibice lipoperoxidace, a existují i flavonoidy, které zvyšují nežádoucí modifikaci LDL cholesterolu (Racek et al. 2001).

Další široce využívanou metodou stanovení stabilního volného radikálu je DPPH. Je využívána pro intenzivní zbarvení způsobené difenylpicrylhydrazidem, které umožňuje spektrofotometrickou detekci (Hrbáč, 2007).

Tato metoda spočívá v hodnocení schopnosti vzorku vychtávat volné radikály. Radikály mohou být v reakční směsi generovány nebo jsou do reakční směsi přidávány. Z hlediska chemického jde o radikály kyslíkové (hydroxyl, peroxy), nebo syntetické stabilní radikály (DPPH, ABTS<sup>+</sup>, galvinoxyl), (Paulová et al., 2004).

Metoda používající syntetické stabilní radikály DPPH (difenylpicrylhydrazyl) je jedna ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. Spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem. Při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpicrylhydrazin). Reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky. Pokles absorbance při 517 nm se měří buď po uplynutí určitého konstantního času, nebo se pracuje v kinetickém režimu. U směsných vzorků se radikálová aktivita někdy vyjadřuje v ekvivalentech askorbové kyseliny nebo v jednotkách standardu Troloxu (Paulová et al., 2004).



## 3.11 Chromatografie

Chromatografie je dělicí metoda založená na různé afinitě látek k mobilní a stacionární fázi a na opakovaném ustavování rovnovah mezi těmito fázemi. Umožňuje identifikaci a kvantifikaci jednotlivých látek nejen s antioxidační aktivitou

Chromatografické metody se, dělí podle skupenství mobilní fáze na chromatografii kapalinovou (Liquid Chromatography - LC), kde mobilní fází je kapalina a na plynovou chromatografii (Gas Chromatography – GC), kde je mobilní fází plyn. Lze je dělit podle uspořádání stacionární fáze na kolonovou chromatografii (stacionární fáze je v koloně), papírovou chromatografii (Paper Chromatography – PC), stacionární fáze je součástí chromatografického papíru a tenkovrstevnou chromatografii (Thin Layer Chromatography – TLC), stacionární fáze je na pevném a plochém podkladu (např.: skleněná deska, hliníková folie). Chromatografické metody se také dělí podle povahy děje, který převládá při separaci na rozdělovací chromatografii, která závisí na rozpustnosti složek vzorku ve stacionární a mobilní fázi, adsorpční chromatografii, která využívá schopnosti některých složek poutat se (adsorbovat se) na stacionární fázi. Ionově-výměnná chromatografie je založena na působení různě velkých elektrostatických sil mezi funkčními skupinami stacionární fáze (iontoměnič) a ionty vzorku, v gelové chromatografii dochází k separaci dle velikosti molekul vzorku, afinitní chromatografie využívá schopnosti vázat určité složky ze vzorku na stacionární fázi (Klouta, 2003).

### 3.11.1 Tenkovrstevná chromatografie (TLC)

V chromatografii na tenké vrstvě se používá vrstvička pórovitého materiálu naneseného na skleněné destičce, nebo na hliníkové folii. Dělená směs se nanese na papír a vlivem vztlínání rozpouštědla se látky rozdělí a vytvoří jednotlivé skvrny [Příloha Obr. 26 **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**]. Tento způsob slouží spíše k identifikaci látek než ke kvantitativní analýze (Brdička et Dvořák, 1977).

### 3.11.2 Kolonová chromatografie

Metoda je založena na adsorpční rovnováze mezi roztokem a povrchem tuhé fáze. Při sloupcové chromatografii je skleněná trubice zakončená kohoutem, naplněna pórovitým materiálem, který je přelit rozpouštědlem. Vzorek rozpuštěný ve stejném rozpouštědle se nechá vsáknout do sloupce, a ten se pak promývá jiným rozpouštědlem [Příloha Obr. 27].

Látky se na sloupci rozdělí a postupně z něho vycházejí do jímáče frakcí (Brdička et Dvořák, 1977).

### **3.11.3 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)**

HPLC – High Performance Liquid Chromatography je v překladu vysokoučinná kapalinová chromatografie. Rozpuštěné látky jsou zadržovány stacionární fází, migrují kolonou různou rychlostí, avšak vždy nižší než je rychlost průtoku mobilní fáze (ta protéká kolonou pod vysokým tlakem). Tím se od sebe látky separují a v různých časech opouštějí kolonu. Doba zdržení se nazývá retenční čas. Podle retenčního času lze při daných podmínkách určit konkrétní složky, to umožňuje kvalitativní analýzu (Klouda, 2003).

Kapalinový chromatograf je složen z dvojčinných čerpadel, která mohou být pístová, nebo membránová a docilují žádaného plynulého průtoku, směšovacího zařízení, které při izokratické eluci udržují stálé složení mobilní fáze. Při gradientové eluci se mění složení mobilní fáze během separace. Dále je důležité dávkovací zařízení zhotovené z inertního materiálu. Může být ovládáno ručně i automaticky. Detektory v kapalinové chromatografii mohou být fotometrické, refraktometrické, fluorescenční, nebo elektrochemické. Fotometrické detektory měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony, pomocí diodového pole (diode array detektor) jsou schopny proměřit absorpční spektrum v určené oblasti vlnových délek. Spektra napomáhají při identifikaci látek. Plocha (výška) chromatografického píku je funkcí obsahu analytu ve vzorku (Klouda, 2003).

## **3.12 Základní zákonné požadavky na značení potravin**

Zákon ministerstva zemědělství č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích uvádí (§ 6), že „(1) provozovatel potravinářského podniku, který uvádí do oběhu potraviny balené ve výrobě, je povinen způsobem stanoveným vyhláškou potravinu řádně označit na obalu určeném pro spotřebitele nebo pro provozovny stravovacích služeb (...) povinnost označit výrobek a) názvem obchodní firmy a sídlem výrobce nebo dovozce, nebo prodávajícího nebo balírny, (...) U potravin se uvede země původu nebo vzniku potraviny v případech, kdy neuvedení tohoto údaje by uvádělo spotřebitele v omyl o původu nebo vzniku potraviny (...), b) názvem druhu, skupiny nebo podskupiny potravin (...) nebo názvem odvozeným od základní použité suroviny nebo technologie. C) údajem o množství výrobku (objemem plnění nebo hmotností, pokud není stanoveno jinak); u pevných potravin nacházejících se v nálevu musí být kromě celkové hmotnosti uvedena i hmotnost pevné

potravin.“ V zákoně o ochraně spotřebitele je uvedeno (§ 3), že „prodávající je povinen a) prodávat výrobky ve správné hmotnosti, míře nebo množství a umožnit spotřebiteli překontrolovat si správnost těchto údajů (...),“ V paragrafu (6) v zákoně o potravinách a tabákových výrobcích 3) je vysvětlen symbol „e“ takto: „mezinárodní symbol „e“ pro označení množství potravin lze uvést na obalu jen tehdy, pokud byly splněny požadavky stanovené zvláštním právním předpisem“ (zde je myšlena vyhláška ministerstva průmyslu a obchodu), (Dupal, 2005).

Množství se uvádí v jednotkách hmotnosti, objemu v kusech, smí být použity jen jednotky SI (Dupal et al., 2005).

Zákon o ochraně spotřebitele uvádí v (§ 10), že „prodávající musí zajistit, aby jím prodávané výrobky byly přímo viditelně a srozumitelně označeny názvem výrobku, označením výrobce nebo dovozce, popřípadě dodavatele, údaji o hmotnosti nebo množství nebo velikosti, popřípadě rozměru, dalšími údaji potřebnými podle povahy výrobku k jeho identifikaci, popřípadě užití.“

### **3.12.1 Zákoné ošetření značení údržnosti potravin**

Podle občanského zákoníku (§ 6, odst. 20) je upravena trvanlivost výrobku. „jde-li o prodej potravinářského zboží, je záruční doba osm dní, (...) je-li na prodávané věci, jejím obalu nebo návodu k ní připojeném vyznačena lhůta k použití věci (např. potraviny v souladu se zákonem o potravinách), skončí záruční doba uplynutím této lhůty.“ V zákoně o ochraně spotřebitele (§ 10) je předepsáno: „ohledně (...) potravin údaj o datu minimální trvanlivosti, jde-li o potravinářské výrobky, popřípadě údajem o datu použitelnosti, jde-li o potravinářské výrobky podléhající rychlé zkáze.“ Zákon o potravinách toto rozepisuje v paragrafu (6(1)). Je „povinnost označit výrobek d) datem použitelnosti u druhů potravin podléhajícím rychle zkáze a u druhů potravin stanovených vyhláškou, e) datem použitelnosti nebo datem minimální trvanlivosti u jiných než pod písmenem d) uvedených druhů potravin, výjimku tvoří potraviny, které podle vyhlášky nemusí být označeny datem minimální trvanlivosti.“ Mezi tyto potraviny patří například lihoviny, nápoje s obsahem alkoholu vyšším než 10 % obj. (výjimku tvoří emulzní likéry), víno, pekařské a cukrářské výrobky, které se potřebují do 24 hodin po výrobě, jedlá sůl, přírodní sladidla, ovoce, zelenina, naklíčená semena, žvýkačka a kvasný ocet (Dupal et al., 2005).

### **3.12.2 Chyby ve značení údržnosti potravin**

Nejčastější problémy v souvislosti s datem minimální trvanlivosti a datem použitelnosti jsou data zakrytá/přelepená například cenovkou, nečitelné datum nečitelně vytištěno, nebo umístěno do svaru sáčku, špatná orientace v informacích uvedených na obale zvláště u výrobků s několikajazyčnými údaji, nebezpečí záměny se slovenským „spotřebujte do“, které značí dobu minimální trvanlivosti na rozdíl od českého významu data použitelnosti (Dupal et al., 2005).

### **3.12.3 Další důležitá data na etiketě**

Na etiketě je dále povinnost uvádět způsob skladování, použití, složení potraviny, označení šarže a možnost nepříznivého ovlivnění zdraví lidí. Toto je ošetřeno zákonem o potravinách (§ 6(1)), kde je uvedeno: „f) údajem o způsobu skladování, (...) uvedou se konkrétní podmínky pro uchovávání po otevření obalu u spotřebitele, popřípadě doba spotřeby potraviny, g) údajem o způsobu použití, jde-li o potraviny, u nichž by při nesprávném použití mohla být poškozena zdravotní nezávadnost nebo jako stanovená vyhláškou nebo deklarovaná výrobcem, h) údajem o určení potraviny pro zvláštní výživu, i) údajem o složení potraviny podle použitých surovin a přídatných látek, látek určených k aromatizaci a potravních doplňků, j) značením šarže, nejde-li o potravinu označenou datem minimální trvanlivosti nebo datem použitelnosti, pokud toto datum obsahuje den a měsíc, k) údaji o možnosti nepříznivého ovlivnění zdraví lidí, stanoví-li tak zvláštní předpisy.“

Jazyk označení je ustanoven zákonem o potravinách a tabákových výrobcích v paragrafu 6) takto: „(4) Jde-li o balení určené pro tuzemské spotřebitele, musí být údaje (...) uvedeny v jazyce českém, kromě obchodního názvu potraviny a údajů, které nelze jednoznačně vyjádřit v českém jazyce.“

### **3.12.4 Zákoné požadavky na značení čajů**

Zákon o potravinách a tabákových výrobcích zahrnuje oddíl 1. zaměřený na čaje. Udává rozdělení čajů, správné označování čajů, technologické vlastnosti a fyzikální vlastnosti čajů, smyslové požadavky čajů, seznam rostlin a jejich použitelné části. Čajem se rozumí výrobek rostlinného původu sloužící k přípravě nápoje určeného k přímé spotřebě, nebo nápoj připravený z tohoto výrobku. Dle těchto požadavků bylo provedeno porovnání etiket třežalkových čajů.

Kromě údajů uvedených v zákoně a ve zvláštním právním předpise se čaje dále označují. Čaj pravý se označí názvem skupiny, ochucený, bylinný a ovocný čaj musí být označen názvem druhu. Označení „bylinný čaj“ je název pro čaj čistě bylinný, ze směsi bylin, ze směsi bylin s čajem pravým, či ve směsi se sušeným ovocem. Ve směsi musí být nejméně 50 % obsah bylin. Vedle povinného názvu čaje může být vyjmenována i určitá obsažená složka, potom však musí být uveden i podíl příslušné složky ve výrobku. U ovocných čajů, bylinných čajů a výrobků z čaje ovocného nebo bylinného se nepředpokládá, že obsahují kofein. Pokud je kofein obsažen v některé přidané složce směsi, musí být uvedeno upozornění na jeho obsah. Při použití třezalky, pohanky, nebo římského kmínu se uvede upozornění "u citlivých osob možnost fotosenzibilizace (Suková 2008). Na balení aromatizovaného čaje je v blízkosti názvu označení "aromatizovaný" a u ovoněného čaje označení "ovoněný" (Zákon o potravinách a tabákových výrobcích).

Čaj pravý je vyroben z výhonků, listů, pupenů nebo jemných částí zdřevnatělých stonků čajovníku *Camellia sinensis* (Linnaeus), popřípadě jejich kombinací. Do této kategorie patří čaj zelený, polofermentovaný a černý. Zelený čaj je technologicky odlišný od čaje černého. Zelený čaj není fermentovaný. Polofermentovaný čaj (oolong) odpovídá čaji černému, v kterém proběhla jen částečná fermentace. Černý čaj je čaj pravý, ve kterém proběhla plná fermentace. (Zákon o potravinách a tabákových výrobcích).

Výrobek získaný vodní extrakcí čaje je čajový extrakt. Slouží po rozpuštění ve vodě k přípravě nápoje. Instantní čaj v kategorii instantních výrobků, obsahuje čajový extrakt a další složky. Je určený k přípravě nápojů rozpuštěním ve vodě. Ovoněný čaj musí absorbovat požadované vůně a pachy. Ochucený čaj je směsí čaje pravého s ochucujícími částmi rostlin uvedenými v tabulce [Příloha Tab. 9], jejichž obsah nepřesahuje 50 % hmotnosti směsi. Aromatizovaný čaj obsahuje látky určené k aromatizaci. Bylinný čaj je vyroben z částí bylin nebo jejich směsí uvedených v tabulce [Příloha Tab. 9] nebo bylin s pravým čajem nebo jejich směsí s ovocem, přičemž obsah bylin musí činit minimálně 50 % hmotnosti. Ovocný čaj je vyroben ze sušeného ovoce a částí sušených rostlin uvedených v tabulce [Příloha Tab. 9], kde podíl sušeného ovoce je vyšší než 50 % hmotnosti (Zákon o potravinách a tabákových výrobcích).

### **3.12.5 Technologické a jakostní požadavky na bylinu**

K výrobě bylinných a ovocných čajů lze použít části rostlin uvedené v příloze. Jsou rozděleny podle obsahu ve hmotnosti do 3 částí. V 1. části rostliny použitelné bez omezení. V části č. 2 rostliny do výše hmotnosti 30 %. Ve 3. Části rostliny do 5 % hmotnosti. Dále jsou pro jednotlivé rostliny uvedeny části rostlin, které se mohou používat (Zákon o potravinách a tabákových výrobcích). Do 3. Kategorie patří i třezalka tečkovaná. Ve směsích bylinných čajů je povolen obsah této byliny pouze 5 % z celkového objemu všech bylin.

Správně usušená bylina je světle zelená se zlatožlutými květy. V případě zahnědlých listů nebo květů se tyto musí odstranit. Surovina by nebyla kvalitní. (Rystonová, 1996)

## 4 MATERIÁL A METODY

### 4.1 Rostlinný materiál

Pro stanovení hypericinů a antioxidační aktivity byl použit rostlinný materiál různého původu. Šlechtěný rostlinný materiál třezalka nevonná 'Rheingold' [*Hypericum inodorum* 'Rheingold'], třezalka kališkatá 'Hidcote' [*Hypericum calycinum* 'hidcote']. Třezalka tečkovaná volně rostoucí v přírodě. A třezalkové čaje [Příloha Obr. 18, Obr. 19, Obr. 20].

#### 4.1.1 Vzorky odebrané v přírodě

Sběr celých rostlin třezalky tečkované byl prováděn na louce poblíž ulice Evropská mezi zastávkami Nová Šárka a Dědina (bus 119) v Praze 6 [Příloha Mapa 1]. Sběr rostlin byl proveden 26. 7. 2009. Sběr rostliny byl prováděn pomocí nůžek a byly vždy odebrány celé nadzemní části rostlin, které byly posléze sušeny při teplotě 21 °C po dobu 2 dní. Rostliny byly po usušení rozděleny na květy s 2 cm stonku, listy se stonky do průměru 1 mm a stonky o průměru vyšším než 1 mm. Stonky byly nastříhány na menší části o délce 3 – 6 cm. Všechny vzorky byly následně zabaleny do papíru a skladovány ve tmě při pokojové teplotě.

#### 4.1.2 Prošlechtěné kulturní druhy třezalky

Rostliny byly zakoupeny dne 26. 05. 2010 v prodejně Lesů hl. m. Prahy, Práčská 1885, Praha 10. Byliny třezalka nevonná 'Rheingold' [*Hypericum inodorum* 'Rheingold'] a třezalka kališkatá 'Hidcote' [*Hypericum calycinum* 'Hidcote'] byly pěstovány v květnících na lodžii orientované jižním, jihozápadním směrem. Byly vzaty k analýze v době začátku kvetení 4. 7. 2010. Odebrána byla vrcholová část rostliny. Květ + cca 20 cm stonku s listy. Vzorek byl zamražen.

#### 4.1.3 Třezalkové čaje

Ke stanovení požadovaných látek byly vybrány třezalkové čaje od různých výrobců, volně dostupné v obchodech se zdravou výživou, v obchodech zaměřených na prodej bylin, čajů a v lékárnách [Příloha Obr. 18, Obr. 19, Obr. 20]. Pokud výrobce nabízel třezalkový čaj v sáčcích i sypaný, byly zakoupeny obě varianty a v obou byl sledován obsah hypericinů. U vybraných výrobců byly sledovány i různé šarže výrobku.

## 4.2 Chemikálie

methanol bezvodý (CH<sub>3</sub>OH) výrobce: Lachner ČR čistota: p. a.

síran železnatý (FeSO<sub>4</sub>) výrobce: Lachner ČR čistota: p. a.

dietyl ether (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) výrobce: Lachner ČR čistota: p. a.

methanol pro HPLC Super Gradient (CH<sub>3</sub>OH) výrobce: Lachner ČR

ethylacetát pro HPLC (CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) výrobce: J. T. Baker USA

kyselina fosforečná (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) výrobce: Lachner ČR čistota: p. a.

Folin-Ciocalteuovo činidlo výrobce: Penta ČR

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Výrobce: Lachner ČR čistota: p. a.

Hypericin – analytický standard z *Hypericum perforatum* pro HPLC výrobce: Sigma USA čistota 95 %

deionizovaná voda

## 4.3 Stanovení celkových polyfenolů (CP)

Pro zvýšení extrakce žádaných látek byly sbírané sušené vzorky rozmělněny na vhodnou, práškovitou jemnost a následně naváženy do extrakčních patron. Navážka byla cca 2,5 g. Třezalkové čaje se prodávají v usušené, hrubě nadrcené formě. Stupně nadrcení byly různé. Sáčkové varianty bývají jemnější a více drcené než sypané. Jednotlivé vzorky byly naváženy v hrubosti namletí dané výrobcem do extrakčních patron. U čajů balených v sáčcích byly obaly odstraněny. Navážka byla přibližně 2,5 g.

Při stanovení celkových polyfenolů byly použité vzorky extrahované přímo methanolem v odměrné baňce po dobu 24 hodin. Poté byly zfiltrvány a doplněny na 100 ml.

Pro stanovení celkových polyfenolických sloučenin byla použita modifikovaná metoda dle Lachmana et al. (2009). Alikvotní objemy methanolového extraktu byly odpipetovány do 50 ml odměrných baněk. Bylo přidáno cca 5 ml destilované vody, 2,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 7,5 ml 20 % roztoku Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Odměrná baňka byla doplněna po rysku destilovanou



vodou. Reakční směs byla ponechána stát 2 minuty. Absorbance vzorku byla měřena na spektrofotometru Heλios γ při vlnové délce  $\lambda = 765$  nm. Celkové polyfenoly jsou vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny gallové (GAE) v mg/kg sušiny.

#### 4.4 Stanovení obsahu hypericinu a pseudohypericinu

Zamražené vzorky byly před dalším laboratorním zpracováním lyofilizovány na přístroji LYOVAC GT 2. Sušené vzorky byly zpracovány stejným způsobem jako při stanovení celkových polyfenolů.

Stanovování hypericinů probíhá také v metanolovém extraktu, ale je nutné předextrahovat diethyletherem nežádoucí chlorofyly, které by mohly negativně působit na kolonu při měření na HPLC. Patrony se vzorky byly vloženy do soxhletovy aparatury [Příloha Obr. 28] v digestoři a zality cca 150 ml dietylexeru (stabilizovaného síranem železnatým, aby v něm nebyly obsaženy peroxidy, které by mohly vést k výbuchu). Teplota lázně byla 36 °C. Extrakce probíhala po dobu 24 hodin. Vysušené patrony byly dále extrahovány na soxhletově aparatuře při stejné teplotě po dobu 24 hodin cca 150 ml bezvodého methanolu. Methanolický extrakt byl doplněn methanolem na objem 250 ml.

Stanovení hypericinu a pseudohypericinu bylo provedeno na základě metody Repčáka et Martonfiho (1997) isokratickou elucí na stavebnicovém chromatografu (Waters™): Waters™ 600S plus (vysokotlaké čerpadlo), Waters™ 717 plus a Waters™ PDA 996 (detektor diodového pole).

Podmínky chromatografického stanovení:

Kolona: Watrex Separon SGX C18, zrnění 7  $\mu\text{m}$ , (250 x 4 mm)

Mobilní fáze: methanol, ethylacetát a fosfátový vodný pufr v objemovém poměru složek 4,1 : 1 : 1,058, soustava byla okyselena na pH 2,1 za pomoci  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

Průtok: 0,5 ml / min

Teplota kolony: 35 °C

Nástřík vzorku: 10  $\mu\text{l}$

vyhodnocení methanolových extraktů na obsah hypericinů probíhalo při vlnové délce 590 nm. Identifikace hypericinů byla provedena na základě jejich spekter [Příloha Obr. 29, Obr. 31, Obr. 32, Obr. 33, Obr. 34]. Obsah hypericinu a pseudohypericinu byl vyhodnocen z plochy píků z kalibrační závislosti na analytický standard hypericinu.

## **4.5 Stanovení antioxidační aktivity**

Měření antioxidační aktivity vzorků bylo prováděno v extraktech připravených pro stanovení obsahu hypericinů.

K vlastnímu stanovení antioxidační aktivity byla použita nepřímá metoda stanovení pomocí methanolového roztoku DPPH dle Lachmana et al. (2009). Stanovení antioxidační aktivity probíhalo v předextrahovaných vzorcích rostlin a bylinných čajů na přístroji Helios  $\gamma$ . Bylo použito 20  $\mu$ l extraktu vzorku a 2 ml roztoku DPPH (difenylpicrylhydrazylu). Po uplynutí 4 minut od přidání DPPH k methanolickému extraktu byla změřena absorbance vzorku. Antioxidační aktivita byla vyjádřena v jednotkách Troloxu, (tj. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylové kyseliny) jako průměr ze tří paralelních opakování.

## **4.6 Vyhodnocení vzorků**

Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno statistickým programem Statistica 10

## 5 VÝSLEDKY

Při vysokoúčinném chromatografickém stanovení obsahu hypericinu a pseudohypericinu byl použit standard hypericinu z třezalky tečkované o čistotě 95 % (výrobce Sigma USA). Na chromatogramu [Příloha Obr. 34] jsou vyznačeny plochy píků jednotlivých hypericinů. Z plochy identifikovaného píku lze vypočítat množství dané látky ve vzorku z regresní rovnice standardu [Příloha Graf 2] dosazením hodnoty plochy píku za Y.

Průměrný obsah hypericinu v třezalkových čajích byl 55,1 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny. Hodnoty obsahu hypericinu v třezalkových čajích jsou uvedeny v tabulce [Tab. 1]. Vzorek č. 1 byl v hodnotách obsahu pod mezí detekce.

**Tab. 1: Obsah hypericinu v třezalkových čajích**

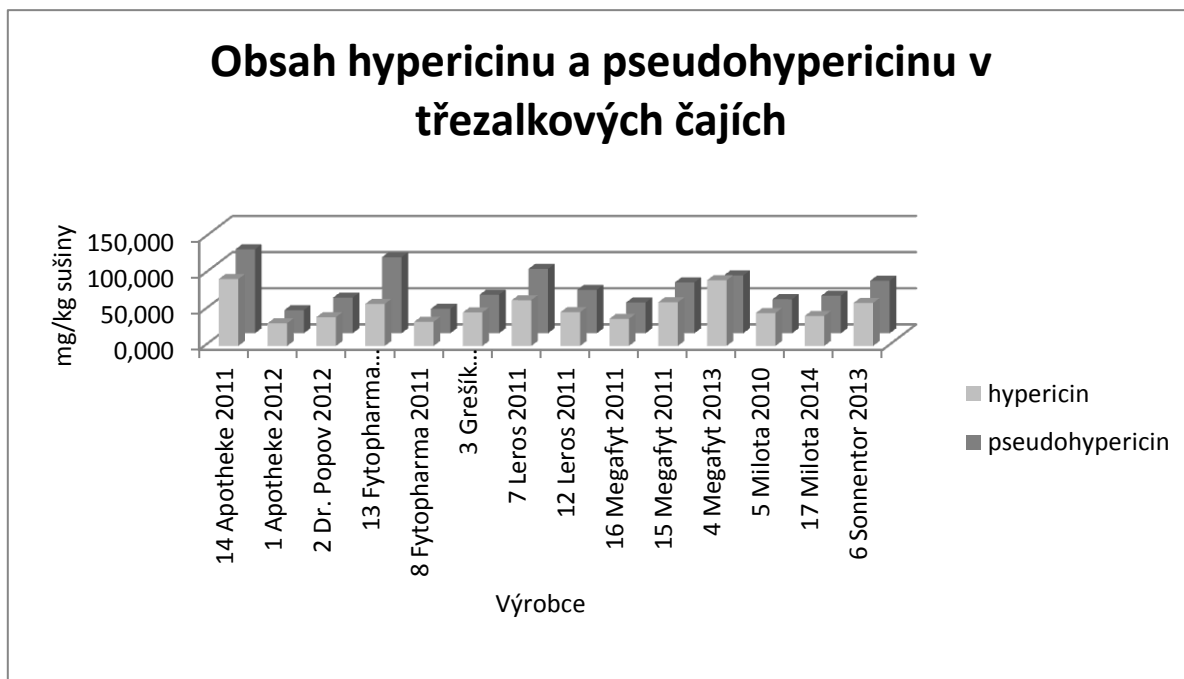
Vzorek	Značka čaje	Název výrobku	Forma	Expirace	Hypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]
1	Apotheke	třezalkový čaj	sypaný	20. 5. 2012	<31,5
2	Dr. Popov	třezalka	sypaný	16. 3. 2012	39,9
3	Grešík Valdemar	třezalka tečkovaná	sypaný	18. 8. 2013	46,5
4	Megafyt	třezalka nať	sypaný	30. 5. 2013	90,9
5	Milota	třezalka nať	sypaný	19. 10. 2014	41,5
6	Sonnentor	třezalková nať, Hyperici herba	sypaný	31. 5. 2013	59,5
7	Leros	hyperici herba Nať třezalky	sypaný	5. 11. 2011	46,8
8	Fytopharma	Ľubovníkový čaj	sáčky	1. 11. 2010	58,2
12	Leros	třezalka nať	sáčky	26. 8. 2011	63,4
13	Fytopharma	Ľubovníkový čaj sypaný	sypaný	1. 4. 2011	33,4
14	Apotheke	třezalka tečkovaná	sáčky	1. 10. 2011	92,6
15	Megafyt	třezalkový čaj	sáčky	16. 7. 2011	60,4
16	Megafyt	třezalková nať	sypaný	9. 4. 2011	37,5
17	Milota	třezalka nať	sypaný	9. 6. 2010	45,6

Obsah pseudohypericinu byl proměřován a počítám stejným způsobem jako hypericin. Hodnota plochy píku byla také přepočtena dle regresní rovnice standardu hypericinu. Vzorky třezalkových čajů obsahovaly průměrně 64,6 mg pseudohypericinu . kg<sup>-1</sup> sušiny. Další hodnoty jsou uvedeny v tabulce [Tab. 2].

**Tab. 2: Obsah pseudohypericinu v třezalkových čajích**

Vzorek	Značka čaje	Název výrobku	Forma	Expirace	Pseudohypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]
1	Apotheke	třezalkový čaj	sypaný	20. 5. 2012	32,0
2	Dr. Popov	třezalka	sypaný	16. 3. 2012	49,4
3	Grešík Valdemar	třezalka tečkovaná	sypaný	18. 8. 2013	53,4
4	Megafyt	třezalka nať	sypaný	30. 5. 2013	80,0
5	Milota	třezalka nať	sypaný	19. 10. 2014	52,1
6	Sonmentor	třezalková nať, Hyperici herba	sypaný	31. 5. 2013	72,7
7	Leros	hyperici herba Nať třezalky	sypaný	5. 11. 2011	60,1
8	Fytopharma	Ľubovníkový čaj	sáčky	1. 11. 2010	105,2
12	Leros	třezalka nať	sáčky	26. 8. 2011	89,0
13	Fytopharma	Ľubovníkový čaj sypaný	sypaný	1. 4. 2011	33,8
14	Apotheke	třezalka tečkovaná	sáčky	1. 10. 2011	116,2
15	Megafyt	třezalkový čaj	sáčky	16. 7. 2011	70,4
16	Megafyt	třezalková nať	sypaný	9. 4. 2011	42,5
17	Milota	třezalka nať	sypaný	9. 6. 2010	47,1

Vzorky většinou obsahovaly více pseudohypericinu než hypericinu. Nejmenší rozdíl v řádech desetin mg.kg<sup>-1</sup> byl zjištěn u vzorku č. 1 (Apotheke). Naopak největší zjištěný rozdíl téměř 50 mg.kg<sup>-1</sup> byl u vzorku č. 13 (Fytopharma). V grafu [Graf 1] jsou dokumentované rozdíly mezi naměřenými hodnotami pseudohypericinu a hypericinu.



**Graf 1: Obsah hypericinu a pseudohypericinu v třezalkových čajích**

Obsah celkových polyfenolů byl vypočítán z koncentrace naměřené spektrofotometrem Heλios γ, podle kalibrační křivky kyseliny gallové [Příloha Graf 3]. v třezalkových čajích byl průměrně 64,6 mg ekvivalentu kyseliny gallové . kg<sup>-1</sup> sušiny. V tabulce [Tab. 3] jsou uvedeny naměřené hodnoty.

**Tab. 3: Obsah celkových polyfenolů v třezalkových čajích**

Vzorek	Značka čaje	Název výrobku	Forma	Expirace	CP [mg.kg <sup>-1</sup> ]
1	Apotheke	třezalkový čaj	sypaný	20. 5. 2012	14,0
2	Dr. Popov	třezalka	sypaný	16. 3. 2012	27,3
3	Grešík Valdemar	třezalka tečkovaná	sypaný	18. 8. 2013	24,2
4	Megafyt	třezalka nat'	sypaný	30. 5. 2013	30,9
5	Milota	třezalka nat'	sypaný	19. 10. 2014	22,0
6	Sonnentor	třezalková nat', Hyperici herba	sypaný	31. 5. 2013	25,3
7	Leros	hyperici herba Nat' třezalky	sypaný	5. 11. 2011	23,6
8	Fytopharma	Ľubovníkový čaj	sáčky	1. 11. 2010	39,4
12	Leros	třezalka nat'	sáčky	26. 8. 2011	26,7
13	Fytopharma	Ľubovníkový čaj sypaný	sypaný	1. 4. 2011	20,6
14	Apotheke	třezalka tečkovaná	sáčky	1. 10. 2011	20,2
15	Megafyt	třezalkový čaj	sáčky	16. 7. 2011	23,6
16	Megafyt	třezalková nat'	sypaný	9. 4. 2011	28,2
17	Milota	třezalka nat'	sypaný	9. 6. 2010	16,7

Obsah celkových polyfenolických látek v třezalkových čajích je pro lepší přehlednost uveden i v grafu [Graf 5: Obsah celkových polyfenolů v třezalkových čajích].

Antioxidační aktivita byla vypočítána z koncentrace naměřené spektrofotometrem  $\text{he}\lambda\text{ios } \gamma$ , podle kalibrační křivky Troloxu [Příloha Graf 4]. V testovaných třezalkových čajích byla průměrná hodnota antioxidace vyjádřena jako mg ekvivalentu kyseliny gallové  $\cdot\text{kg}^{-1}$  sušiny. V tabulce [Tab. 4Tab. 3] jsou uvedeny naměřené hodnoty. V grafu [Příloha Graf 1] je patrný rozdíl v antioxidační aktivitě jednotlivých vzorků

**Tab. 4: Antioxidační aktivita třezalkových čajů**

Vzorek	Značka čaje	Název výrobku	Forma	Expirace	AOA [g.kg <sup>-1</sup> ]
1	Apotheke	třezalkový čaj	sypaný	20. 5. 2012	4,15
2	Dr. Popov	třezalka	sypaný	16. 3. 2012	7,87
3	Grešík Valdemar	třezalka tečkovaná	sypaný	18. 8. 2013	7,74
4	Megafyt	třezalka nať	sypaný	30. 5. 2013	13,31
5	Milota	třezalka nať	sypaný	19. 10. 2014	8,02
6	Sonnentor	třezalková nať, Hyperici herba	sypaný	31. 5. 2013	10,01
7	Leros	hyperici herba Nať třezalky	sypaný	5. 11. 2011	9,29
8	Fytopharma	ľubovníkový čaj	sáčky	1. 11. 2010	8,60
12	Leros	třezalka nať	sáčky	26. 8. 2011	9,87
13	Fytopharma	ľubovníkový čaj sypaný	sypaný	1. 4. 2011	6,71
14	Apotheke	třezalka tečkovaná	sáčky	1. 10. 2011	6,16
15	Megafyt	třezalkový čaj	sáčky	16. 7. 2011	7,95
16	Megafyt	třezalková nať	sypaný	9. 4. 2011	8,32
17	Milota	třezalka nať	sypaný	9. 6. 2010	8,80

Byl zkoumán rozdíl v obsahu hypericinu a pseudohypericinu v částech rostliny třezalky tečkované (stonky, nať, květy) a v druzích pěstovaných v okrasném zahradnictví. V tabulce [Tab. 5] je dobře pozorovatelný výrazný rozdíl v obsahu hypericinů. Ve stoncích rostlin byl příliš nízký obsah těchto látek, byl pod prahem detekce přístroje. Rozložení jednotlivých částí rostlin a obsah hypericinu v grafu [Graf 6, Příloha ].

**Tab. 5: Obsah hypericinu a pseudohypericinu v jednotlivých částech plně kvetoucí rostliny.**

Vzorek	Část rostliny	Hypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Pseudohypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]
9	Stonky	<31,6	<31,6
10	Nať	33,8	33,9
11	Květ	130,1	187,5

Také kulturní odrůdy obsahovaly příliš málo hypericinů, nebyly stanovitelné za daných podmínek [Tab. 6].

**Tab. 6: Obsah hypericinu a pseudohypericinu v kulturních druzích třezalky**

Kulturní druh třezalky	Odrůda	Hypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Pseudohypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]
třezalka nevonná	<i>Hypericum inodorum</i> 'Rheingold'	<56,146	<56,146
třezalka kalíškatá	<i>Hypericum Calycinum</i> 'Hidcote'	<44,800	<44,800

Etikety všech testovaných třezalkových čajů plní zákonem dané parametry.

Z provedených t-testů, které zjišťovaly výskyt statisticky významných rozdílů v obsahu testovaných parametrů mezi sypanými a sáčkovými čaji, vyšel statisticky průkazně vyšší rozdíl v obsahu pseudohypericinu u sáčkových čajů, na hladině významnosti  $\alpha = 0,01$ , tj. s více jak 99 % pravděpodobností byl v testovaném souboru extrahován vyšší obsah pseudohypericinu ze sáčkových čajů.

## 6 DISKUZE

Výsledky byly vyhodnoceny podle metodiky Lachman a Repčák et Mártonfi. (1997)

Z naměřených dat množství hypericinu, pseudohypericinu, celkových polyfenolů a zjištěné antioxidační aktivity jsou zřejmé rozdíly v kvalitě sledovaných parametrů různých třezalkových čajů. Nejvyšší obsah hypericinu byl stanoven ve vzorcích 14 (92,601 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 4 (90,890 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 12 (46,770 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 15 (60,411 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny). Nejvyšší obsah pseudohypericinu byl stanoven ve vzorcích 14 (116,22 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 13 (105,24 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 7 (88,98 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 4 (79,98 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny). Nejvyšší obsah polyfenolů byl stanoven ve vzorcích 13 (39,429 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 4 (30,899 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 16 (28,181 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny), 2 (27,348 mg.kg<sup>-1</sup> sušiny). Nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena ve vzorcích 4 (13,31 g.kg<sup>-1</sup> sušiny), 6 (10,01 g.kg<sup>-1</sup> sušiny), 7 (9,87 g.kg<sup>-1</sup> sušiny), 12 (9,29 g.kg<sup>-1</sup> sušiny). Jako nejkvalitnější čaj v našem testovaném souboru se jeví vzorek č. 4 (Megafyt – třezalková nat'). Vzorek čaje číslo 1 – Apotheke (třezalka tečkovaná, bylinný čaj sypaný, nat') vykazoval ve všech měřeních hodnotách nejnižší obsah látek. (hypericin – pod mezí detekce, pseudohypericin, celkové polyfenoly, antioxidační)

V jednotlivých produktech od stejných výrobců a mezi jednotlivými šaržemi u stejných produktů jsme zjistili různé hodnoty sledovaných parametrů [Tab. 7]. Je pravděpodobné, že kvalita vstupní suroviny má větší vliv na kvalitu výrobku, než značka, neboť byly zaznamenány od stejného výrobce značně odlišné hodnoty u sledovaných parametrů. Tímto byla potvrzena hypotéza č. 1. „*Obsah hypericinu, pseudohypericinu, celkových polyfenolů a antioxidační aktivity se liší v různých třezalkových čajích.*“

**Tab. 7 Vzorky třezalkových čajů výrobce Megafyt**

Číslo vzorku	výrobek	Hypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Pseudohypericin [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Celkové polyfenoly [mg.kg <sup>-1</sup> ]	AOA [g.kg <sup>-1</sup> ]
4	megafyt třezalkový čaj sypaný č. šarže 230052011	90,9	80,0	30,9	13,3
15	megafyt třezalkový čaj sáčky	60,4	70,4	23,6	8,0
16	megafyt třezalkový čaj sypaný č. šarže 206042009	37,5	42,5	28,2	8,3



Při porovnávání obsahu hypericinu, pseudohypericinu, obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity u vzorků čajů v době či po konci expirace oproti vzorkům čajů s minimálně jedním rokem do expirace, nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl (t-test).

Kromě otestování drog třezalky tečkované byl obsah hypericinu, pseudohypericinu a antioxidační aktivity zjišťován i u druhů třezalka nevonná '*Rheingold*' a třezalka kalíškatá '*Hidcote*'. Které jsou užívány v okrasném zahradnictví. Obsah hypericinu a pseudohypericinu u těchto dvou druhů byl tak nízký, že jej nešlo stanovit. U třezalky nevonné byla zjištěna též podstatně nižší antioxidační aktivita než u třezalky tečkované. Výsledky potvrzují hypotézu číslo 2: „*Různé druhy třezalky obsahují jiné množství hypericinu a pseudohypericinu a mají jinou antioxidační aktivitu.*“ Tyto okrasné druhy se proto pro léčebné účely nehodí. Ke stejnému výsledku tj. nestanovení hypericinů u třezalky kalíškaté a třezalky nevonné došel Kitanov (2001).

Při stanovení obsahu hypericinů v různých částech rostliny třezalky tečkované byly zjištěny nejvyšší obsahy hypericinů v květech, nižší byl obsah v nati a nejnižší byl zjištěn ve stoncích. Přestože se v praxi využívá jako droga kvetoucí rostlina i s listy, nejvyšší výtěžky hypericinů lze získat z květů. Tyto výsledky jsou v souladu s pracemi (Ayan et Cirak, 2008; Cirak et al., 2008). Obsah hypericinu v květech byl v našem vzorku 3,85 krát vyšší než v nati, u pseudohypericinu 5,531 krát vyšší, (standardem byl při měření hypericin). Zjištěné hodnoty potvrzují hypotézu číslo 3: „*V jednotlivých částech rostliny je jiný obsah hypericinu a pseudohypericinu.*“

Z provedených t-testů, kterými byl zjišťován výskyt statisticky významných rozdílů v obsahu testovaných parametrů mezi čaji sypanými a sáčkovými, vyšel statisticky průkazně vyšší rozdíl v obsahu pseudohypericinu u čajů sáčkových na hladině významnosti  $\alpha = 0,01$ . Tj. s více jak 99 % pravděpodobností byl v testovaném souboru extrahován vyšší obsah pseudohypericinu ze sáčkových čajů. Je pravděpodobné, že v sáčkových čajích je droga více rozdrčená a větší povrch umožňuje vyšší extrakci pseudohypericinu.

## 7 ZÁVĚR

Hypotéza 1) „*Obsah hypericinu, pseudohypericinu, celkových polyfenolů a antioxidační aktivity se liší v různých třezalkových čajích.*“ bylo na základě naměřených hodnot doloženo za pravdivé tvrzení. Byly zjištěny i značně odlišné hodnoty u sledovaných parametrů u vzorků od jednoho výrobce. Je pravděpodobné, že kvalita suroviny má větší vliv na kvalitu výrobku, než značka.

Hypotéza 2) „*Různé druhy třezalky obsahují jiné množství hypericinu a pseudohypericinu a mají jinou antioxidační aktivitu.*“ Obsah hypericinu a pseudohypericinu u těchto dvou druhů byl tak nízký, že jej nešlo stanovit. U třezalky nevonné byla zjištěna též podstatně nižší antioxidační aktivita než u třezalky tečkované. Na základě měření byla hypotéza č. 2 potvrzena.

Hypotéza 3) „*V jednotlivých částech rostliny je jiný obsah hypericinu a pseudohypericinu.*“ Při stanovení obsahu hypericinů v různých částech rostliny třezalky tečkované byly zjištěny nejvyšší obsahy hypericinů v květech, nižší byl obsah v nati a nejnižší byl zjištěn ve stoncích. Zjištěné hodnoty potvrzují hypotézu č. 3.

## 8 SEZNAM LITERATURY

1. Adams, M., Berset, C., Kessler, M., Hamburger, M. 2009. Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders – A survey of European herbals from the 16th and 17th century. *Journal of Ethno pharmacology*. 121. 343 – 359.
2. Ayan, K. A., Çirak, C. 2008. Hypericin and Pseudohypericin Contents in Some *Hypericum*. Species Growing in Turkey. 46. 288-291.
3. Bianchini, F., Vainio, H. 2003. Wine and resveratrol: mechanisms of cancer prevention?. *European journal of cancer preventiv*. 12. 417-425.
4. Bodlák, J. 2005. Byliny v léčitelství, v kosmetice a v kuchyni. Nakladatelství Poznání. Olomouc. 295 s. ISBN 80-86606-40-6.
5. Bombardelli, E., Morazzoni, P. 1995. *Hypericum perforatum* L. *Filoterapia*. 1. 43-68.
6. Brdička, R., Dvořák, J. 1977. *Základy fyzikální chemie*. Československá akademie věd. Praha. 850 s.
7. Brouillard, R., George, F., Fougousse, A. 1997. Polyphenols produced during red wine ageing. *BioFactors*, 6, 403-410.
8. Cakir, A., Duru, E., Harmandar, M., Ciriminna, R., Passannanti, S., Piozzi, F. 1997. Comparison of the volatile oils of *H. scabrum* L. and *H. perforatum* L. from Turkey. *Flavour Fragrance Journal*. 12(4). 285-287.
9. Cattabiani, A. 2006. *Florarium. Mýty, legendy a symboly spjaté s květinami a rostlinami*. Volvox globator. Praha. 783 s.
10. Çirak, C., Radušienė, J., Camas, N. 2008. Pseuhypericin and hyperforinin two Turkish *Hypericum* species: Variation among plant parts and phenological stages. *Biochemical Systematics and Ecology*. 36. 377 – 382.
11. Česko. Zákon č. 110 ze dne 24. dubna 1997 o potravinách a tabákových výrobcích. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1997. částka 38/1997. s. 2178. Dostupné také z <[http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe\\_uplna-zneni\\_zakon-1997-110-viceoblasti.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_zakon-1997-110-viceoblasti.html)>.
12. Česko. Zákon č. 634 ze dne 16. prosince 1992 1992 o ochraně spotřebitele. In *Sbírka zákonů České republiky*. 1992. Dostupné také z <<http://business-center.cz/business/pravo/zakony/spotrebitel/>>.

13. Česko. Zákon 40 ze dne 26. února 1964 občanský zákoník. In sbírka zákonů České republiky. 1964. Dostupné také z < <http://business.center.cz/business/pravo/zakony/obcanzak/> >.
14. Česko. Zákon 513 ze dne 5. listopadu 1991 Obchodní zákoník. In sbírka zákonů České republiky. 1991. Dostupné také z <http://business.center.cz/business/pravo/zakony/obchzak/>.
15. Dey, P. M., Harborne, J. B. 1997. Biochemical plant ecology in Plant Biochemistry. Academic Press. p. 554. ISBN 978-0-12-214674-9
16. Dostál, J. 1954. Klíč k úplné květeně ČSR. Československá akademie věd. Praha. 982 s.
17. Dupal, L., Michalová, I., Novák, K. 2005. Rádce spotřebitele 1. Rizika při nákupu zboží. CP Books, a. s. Brno. 254 s.
18. Felklová, M., Kocourková, B. 2003. Pěstování léčivých rostlin: (pro farmaceuty). Veterinární a farmaceutická univerzita. Brno. 100 s. ISBN 80-730-5458- (Felklová, 2003)2.
19. Hejný, S., Slavík, B. 1997. Květena České republiky, 1. Díl. Academia Praha. Praha. 557 s. ISBN 80-200-0643-5.
20. Hrbáč, J. 2007. Aplikace elektrochemických metod pro stanovení fyziologicky zajímavých látek. Olomouc. 63 s.
21. Hruška, B. 1996. Jak se léčit rostlinami. Volvox Globator. Praha. 470 s. ISBN 80-7207-027-4.
22. Kimberly, D. P. H., Hillwig, M. L., Neighbors, J. D. : Je-Sim, Young, Kohut, M. L., Wiemer, D. F., Wurtele, E. S., Birt, D. F. 2008. Pseudohypericin is necessary for the light-activated inhibition of prostaglandin E2 pathways by a 4 component system mimicking an *Hypericum perforatum* fraction. *Phytochemistry*. 69. 2354 - 2362.
23. Kitanov, G. 2001. Hypericin and pseudohypericin in some *Hypericum* species. *Biochemical Systematics and Ecology*. 29. 171-178.
24. Klouda, P. 2003. Moderní analytické metody. Nakladatelství Pavel Klouda. Ostrava. 132 s. ISBN 80-86369-0702.
25. Klouda, P. 2005. Základy biochemie. Nakladatelství Pavel Klouda. Ostrava. 144 s. ISBN 80-86369-11-0.
26. Lachman, J., Jankovský, M., Orsák, M., Pivec, V. 2006. Chemie II Organická chemie. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 224 s. ISBN 80-213-1021-9.
27. Lachman, J., Miholová, D., Orsák, M., Pivec, V., Janovská, D. 2009. Obsah polyfenolových antioxidantů a selenu a antioxidační aktivita u vybraných odrůd pšenice

- seté (*Triticum Aestivum* L.), pšenice jednozrnky (*Triticum monococcum* L.), a pšenice dvouzrnky [*Triticum dicoccum* Schuebl (Schrack)]. Úroda. 551 – 556.
28. Lavenderová, S. F., Franklinová, A. 1999. Magické rostliny aneb byliny od A do Z. Volvox globator. Praha. 460 s. ISBN 80-7207-279-X.
29. Lorimier, A. 2000. Alcohol, wine, and health Alcohol, wine, and health. The American Journal of Surgery. 180. 357–361.
30. Mártonfi, P. Repčák, M. 1994. Secondary metabolites during flower ontogenesis of *Hypericum perforatum* L. Zahradnictví. 21. 37-44.
31. Mathioli, P. O. 2005. Herbář neboli bylinář II. Levné knihy KMa. Praha. 431 - 832 .ISBN 80-7309-097-X.
32. Nobelprize.org. 2012. Albert Szent-Györgyi - Biography". Dostupné z: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1937/szent-gyorgyi-bio.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1937/szent-gyorgyi-bio.html) <http://profiles.nlm.nih.gov/WG/>
33. Ondřej, M., Odstrčilová, L. 1999. Choroby třezalky. AGRO. 8. 17-18.
34. Paulová, H., Bochořáková, H., Táborská, E. 2004. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. Chemické listy. 98. 174 – 179.
35. Pavlík, M., Vacek, J., Klejdus, B., Kubáň, V. 2007. Studium vlivu sacharosy a polyetylenglykolu na produkci hypericinu a hyperforinu v rostlinách *Hypericum perforatum* L. vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií. Chemické Listy. 101. 556 – 562.
36. Racek J., Holeček V., Trefil L. 2001. Víno jako antioxidant. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie. 55. 110-113.
37. Pejml, K. 1943. Naše léčivé rostliny. Josef R. Vilímek. Praha. 411s.
38. Repčák, M., Mártonfi, P. 1997. The localization of secondary substances in *Hypericum perforatum* flower. Biologia. 52. 91-94.
39. Rystonová, I. 1996. Byliny a jejich lidové názvy. Nakladatelství vodnář. Praha. 333 s. ISBN 80-85255-82-0.
40. Soleas J. G., Tomlinson G., Diamandis P. E., Goldberg M.D. 1997. Relative Contributions of Polyphenolic Constituents to the Antioxidant Status of Wines: Development of a Predictive Model. J. Agric. Food Chemistry. 45. 3995-4003.
41. Stickings, C. E., Raistrick, H. 1956. Chemistry of the Fungi. Review of Biochemistry. 25. 225-256
42. Suková, I. 2008. Průvodce označováním potravin. Ústav zemědělské ekonomiky a informací. Praha. 54 s. ISBN 80-7271-174-1

43. Szabóová, M. 2002. Léčíme se třezalkou: Lék pro tělo, slunce pro duši!. Ivo Železný. Praha. 73 s. ISBN 80-237-3691-4.
44. Štípek, S. Borovanský, J., Čejková, J., Homolka, J., Klener, P., Lukáš, M., Špičák, J., Tesař, V., Zeman, M., Zima, T., Žák, A. 2000. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci. Grada publishing. Praha. 314 s. ISBN 80-7169-704-4.
45. Šulc, M., Lachman, J., Hamouz, K., Orsák, M., Dvořák, P., Horáčková, V. 2007. Selection and evaluation of methods for determinativ of antioxidant aktivity of purple and red-fleshed potato varieties. Chemické listy, 101. 584-591.
46. Vodrážka, Z. 1996. Biochemie. Academia. Praha. 506 s. ISBN 80-200-0438-6.
47. Weisburger J.H., Huang, M.T., Ho, C.T, Lee, H.Ch. Am. 1992. Mutagenic, Carcinogenic, and Chemopreventive Effects of Phenols and Catechols. In Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health. Chemical Society Washington, DC USA. 10. 35-47.
48. Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiology. 126. 485-493.
49. Zelený, V. 1990. 58. Hypericaceae Juss. - třezalkovité, In Květena České republiky, 2. díl. Academia Praha. Praha. 376-389.
50. Zevakova, V. A., Glyzin, V. I., Shemeryankina, T. B., Patudin, A. V. 1991. HPLC determination of hypericines in species of St. John's Wort in Sborník Mezinárodní konference Vitamins 2003. Univerzita Pardubice. 199-204.
51. Zhang, Wen Jing, Bjoern, L. O. 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. Fitoterapia. 80. 207–218.

## **9 PŘÍLOHA**

## Obrázky

Obr. 1: Hypericin

Obr. 2: Protohypericin

Obr. 3: Pseudohypericin

Obr. 4: Protopseudohypericin

Obr. 5: Flavan

Obr. 6: Fentonova reakce katalyzovaná železem vázaným na biomolekulu

Obr. 7: Třezalka Tečkovaná

Obr. 8: Třezalka tečkovaná mladá rostlina

Obr. 9: Třezalka tečkovaná – list (líc)

Obr. 10: Třezalka tečkovaná – list (rub)

Obr. 11: Květy třezalky

Obr. 12: Zbytek rostliny na jaře - uschlé stvoly se semeníky

Obr. 13: Detail semeníky na jaře

Obr. 14: detail tobolek se semeny

Obr. 15: Detail semen třezalky tečkované

Obr. 16: Další produkty z třezalky

Obr. 17: Vzorky volně rostoucí třezalky oddělené (zleva) květy, listy a stonky

Obr. 18: Vzorky čajů

Obr. 19: Vzorky čajů

Obr. 20: Vzorky čajů

Obr. 21: Hyperforin

Obr. 22: Pinen

Obr. 23: Cineol

Obr. 24: Kys. Chlorogenová

Obr. 25: Kyselina askorbová



- Obr. 26: Tenkovrstevná chromatografie
- Obr. 27: Kolonová chromatografie
- Obr. 28: Soxhletův extraktor
- Obr. 29: Spektrum neidentifikovaného píku
- Obr. 30: Spektrum protopseudohypericin
- Obr. 31: Spektrum pseudohypericinu
- Obr. 32: Spektrum protohypericin
- Obr. 33: Spektrum hypericinu
- Obr. 34: Chromatogram vzorku listů

## ***Grafy***

- Graf 1: Obsah hypericinu a pseudohypericinu v třezalkových čajích
- Graf 2: Standard hypericinu
- Graf 3: Kalibrační křivka kyseliny gallové
- Graf 4: Kalibrační křivka Troloxu
- Graf 5: Obsah celkových polyfenolů v třezalkových čajích
- Graf 6: Rozložení obsahu hypericinu v třezalce tečkované
- Graf 7: Antioxidační aktivita třezalkových čajů

## ***Tabulky***

- Tab. 1: Obsah hypericinu v třezalkových čajích
- Tab. 2: Obsah pseudohypericinu v třezalkových čajích
- Tab. 3: Obsah celkových polyfenolů v třezalkových čajích
- Tab. 4: Antioxidační aktivita třezalkových čajů

Tab. 5: Obsah hypericinu a pseudohypericinu v jednotlivých částech plně kvetoucí rostliny.

Tab. 6: Obsah hypericinu a pseudohypericinu v kulturních druzích třezalky

Tab. 7 Vzorky třezalkových čajů výrobce Megafyt

Tab. 8: Rody *Hypericum* v Evropě

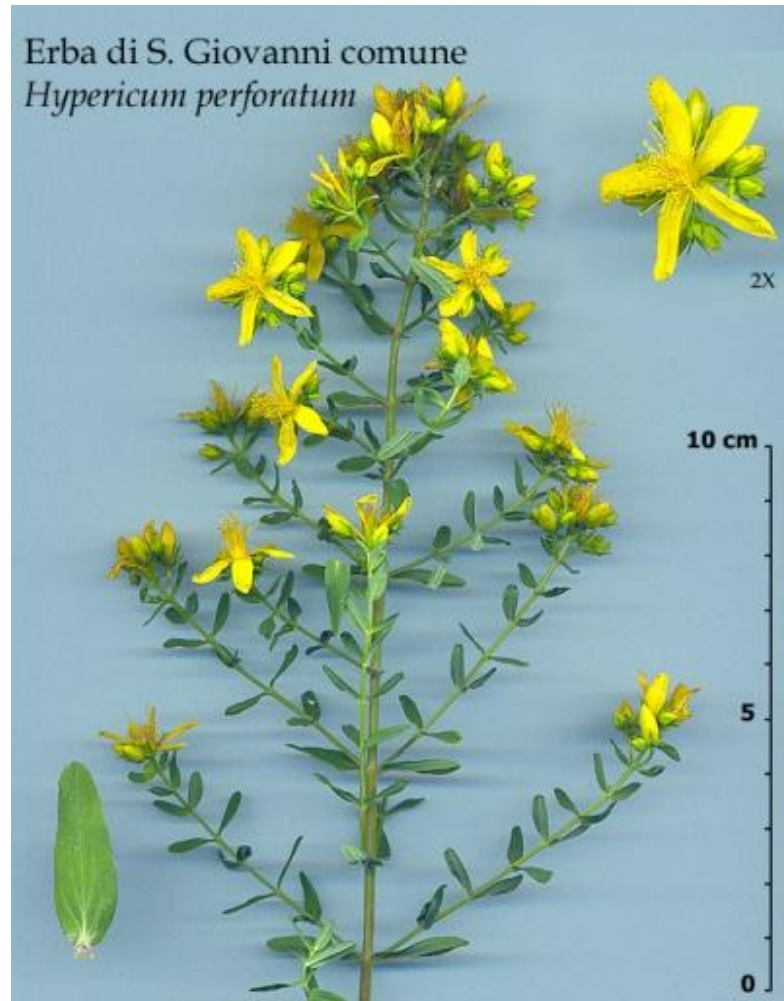
Tab. 9: Seznam rostlin a jejich částí pro výrobu ovocných a bylinných čajů

Tab. 10: reaktivní formy kyslíku a dusíku

## **Mapy**

Mapa. 1.: Lokalita sběru dělených rostlin

## OBRÁZKY



**Obr. 7: Třezalka Tečkovaná**

Zdroj: [http://www.neorurale.net/contents/diario-naturalista/italiano/cassinazza/fiori/pic02/hypericum % 20 perforatum.jpg](http://www.neorurale.net/contents/diario-naturalista/italiano/cassinazza/fiori/pic02/hypericum%20perforatum.jpg)



**Obr. 8: Třezalka tečkovaná mladá rostlina**



**Obr. 9: Třezalka tečkovaná – list (líc)**



**Obr. 10: Třezalka tečkovaná – list (rub)**



**Obr. 11: Květy třezalky**

Zdroj: [www.biolib.cz](http://www.biolib.cz)



**Obr. 12: Zbytek rostliny na jaře - uschlé stvolý se semeníky**



**Obr. 13: Detail semeníky na jaře**



**Obr. 14: detail tobolka se semeny**



Obr. 15: Detail semen třezalky tečkované



Obr. 16: Další produkty z třezalky



Obr. 17: Vzorky volně rostoucí třezalky oddělené (zleva) květy, listy a stonky



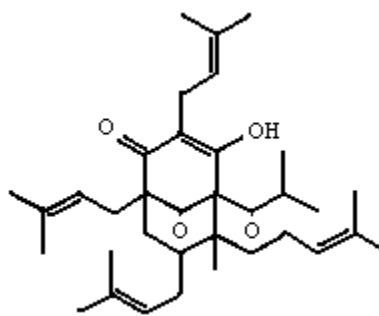
Obr. 18: Vzorčky čajů



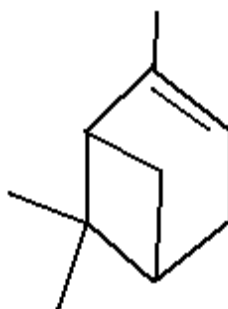
Obr. 19: Vzorčky čajů



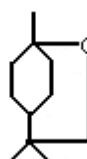
Obr. 20: Vzorčky čajů



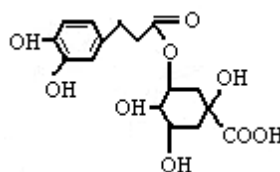
**Obr. 21: Hyperforin**



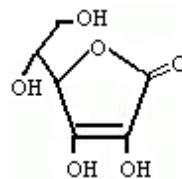
**Obr. 22: Pinen**



**Obr. 23: Cineol**

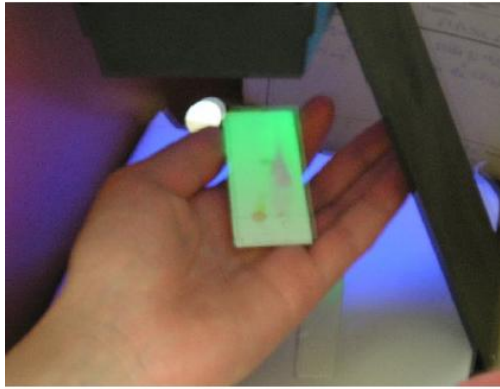


**Obr. 24: Kys. Chlorogenová**

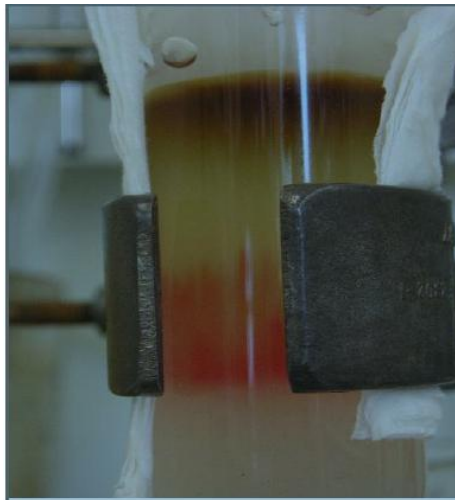


**Obr. 25: Kyselina askorbová**

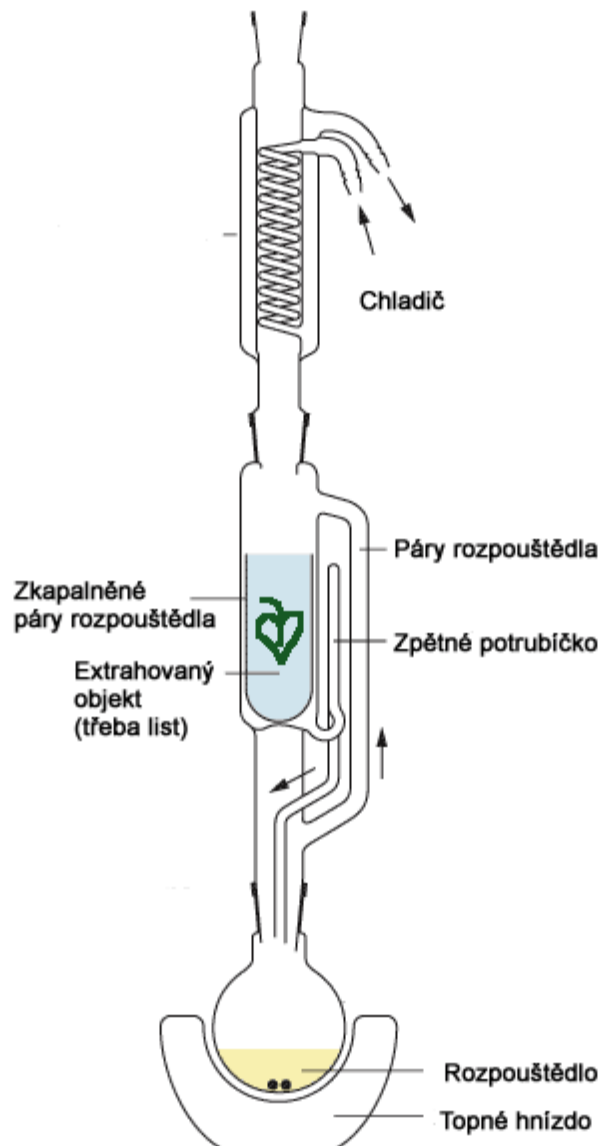




**Obr. 26: Tenkovrstevná chromatografie**

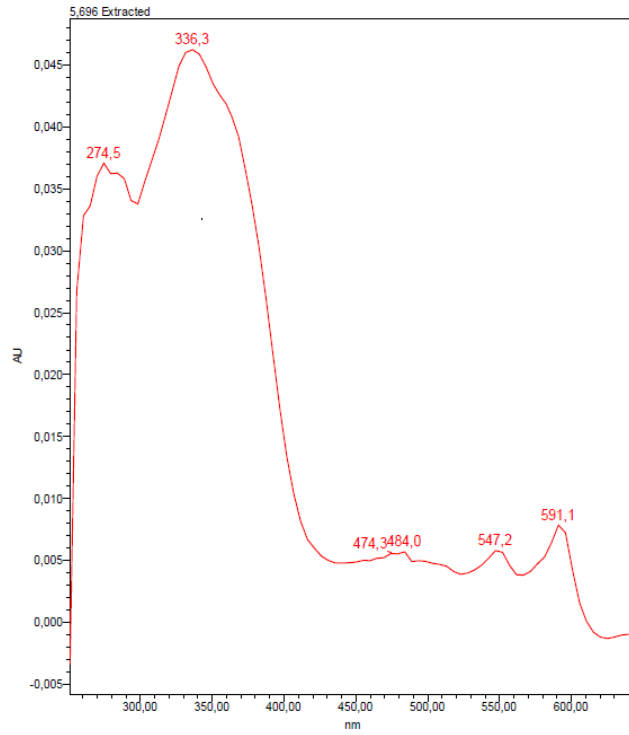


**Obr. 27: Kolonová chromatografie**

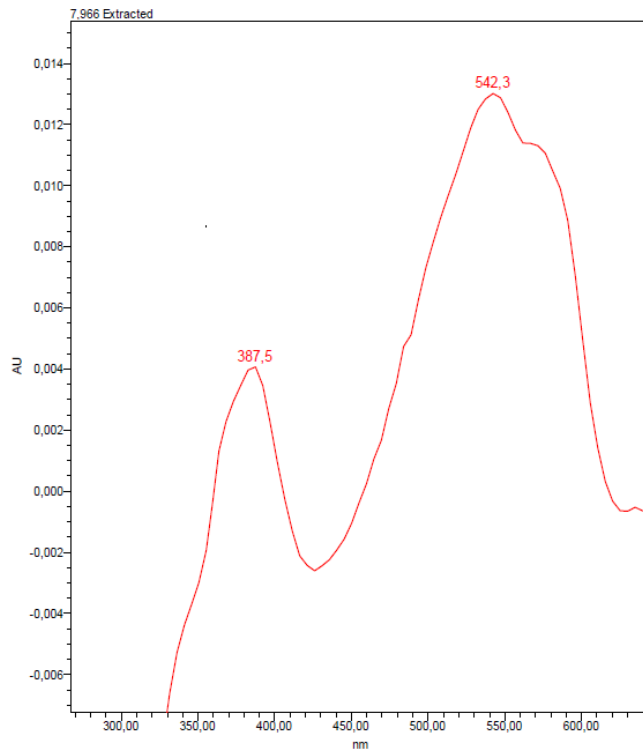


**Obr. 28: Soxhletův extraktor**

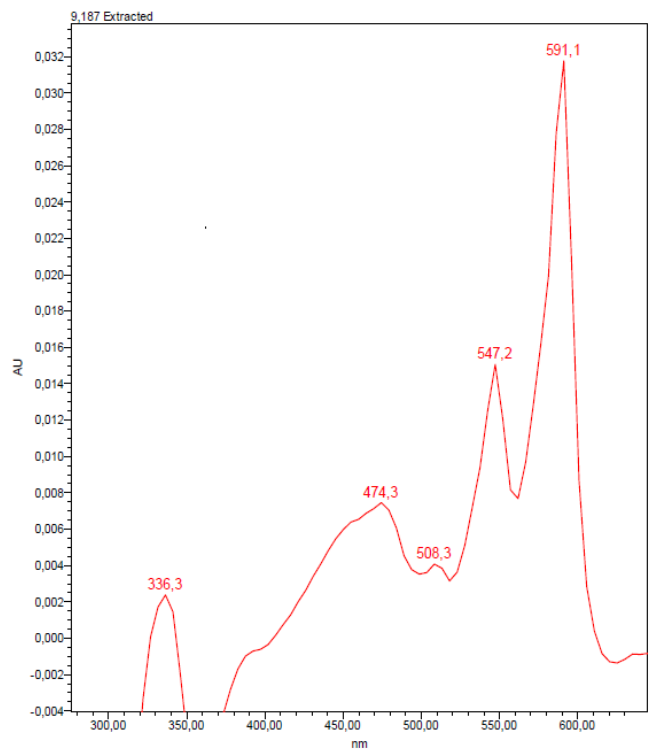
Zdroj: <http://www.pismak.cz/index.php?data=read&id=127634>



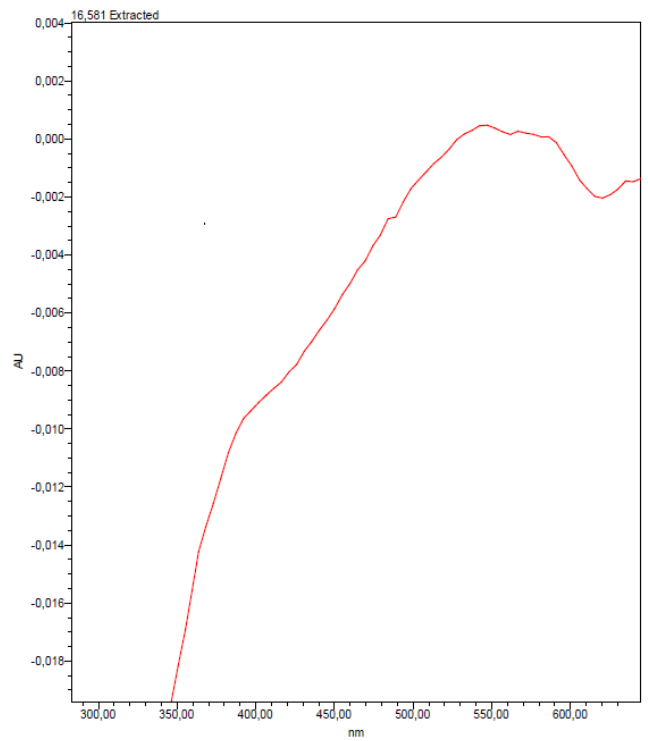
**Obr. 29: Spektrum neidentifikovaného píku**



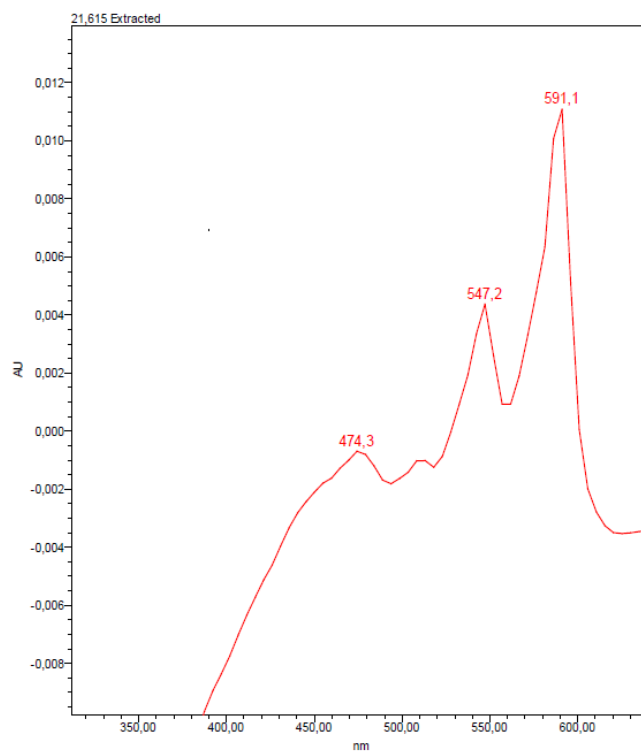
**Obr. 30: Spektrum protopseudohypericin**



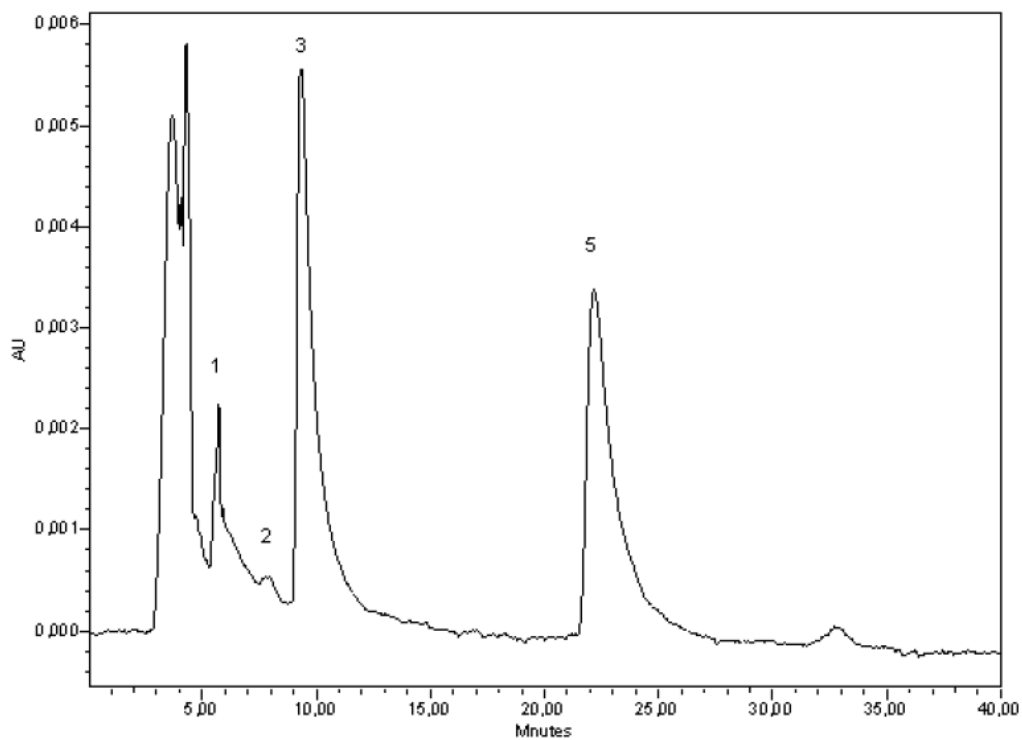
**Obr. 31: Spektrum pseudohypericinu**



**Obr. 32: Spektrum protohypericin**



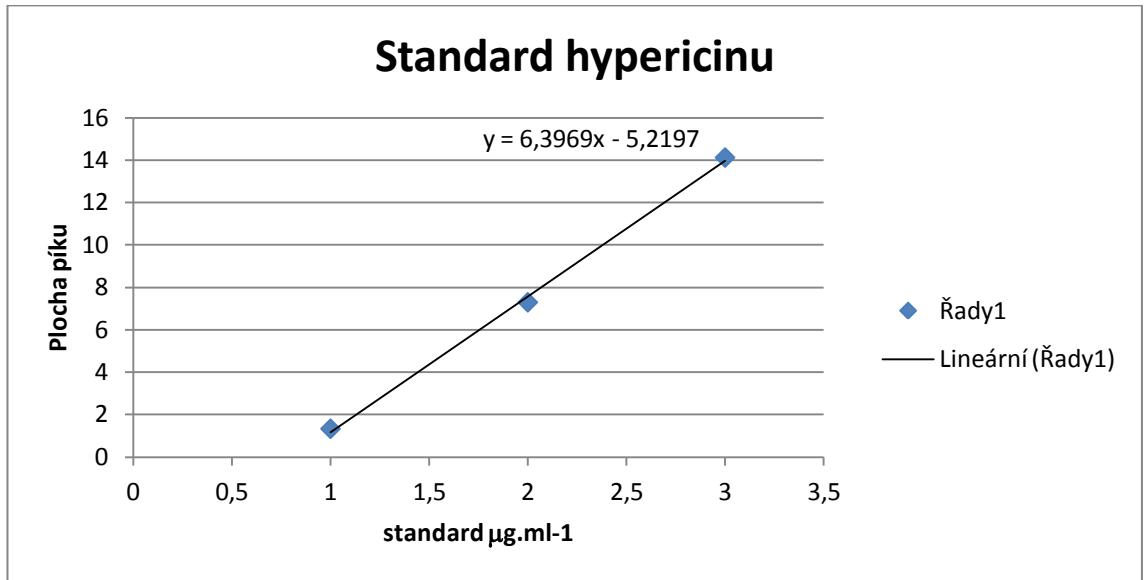
**Obr. 33: Spektrum hypericinu**



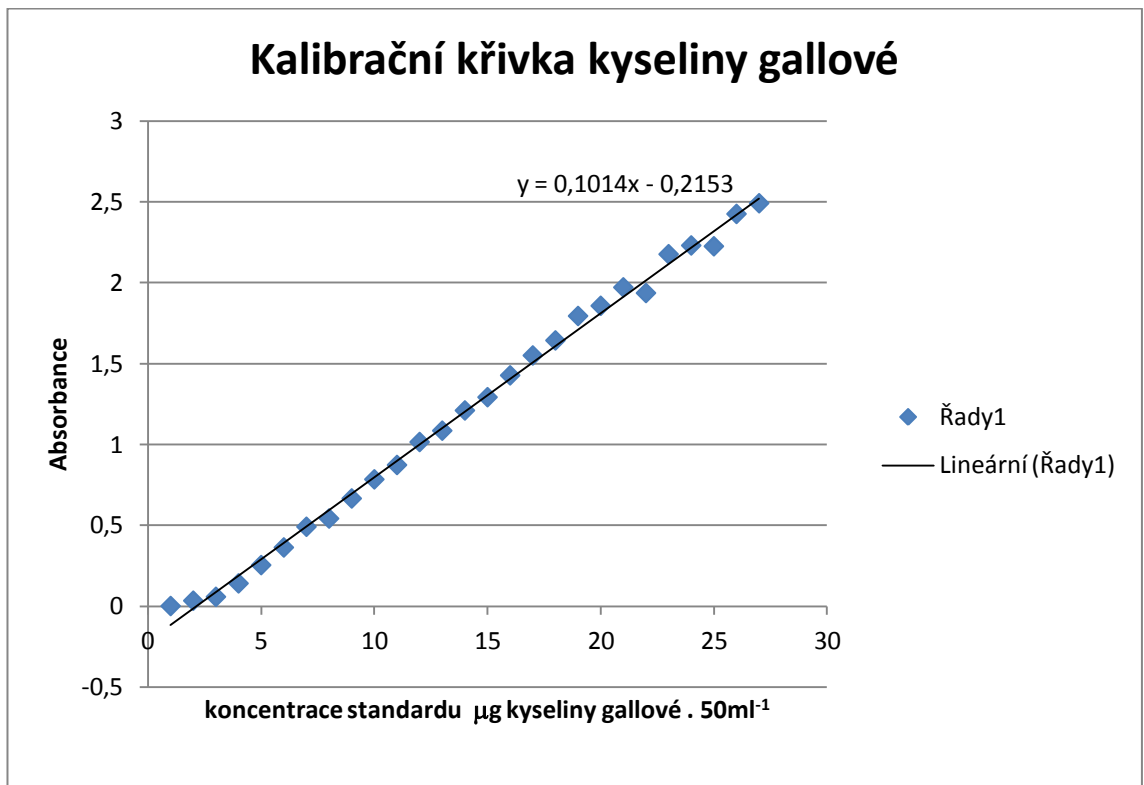
**Obr. 34: Chromatogram vzorku listů**

1 – neidentifikováno; 2 – protopseudohypericin; 3 – protohypericin; 5- hypericin

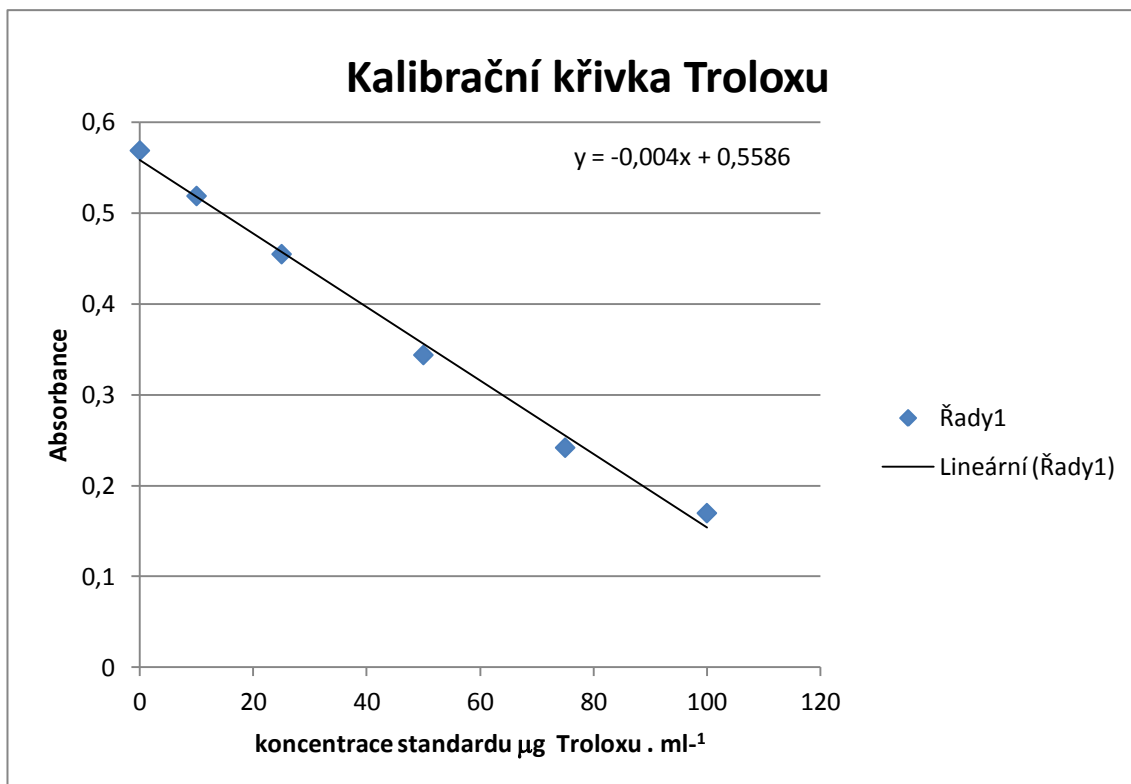
## GRAFY



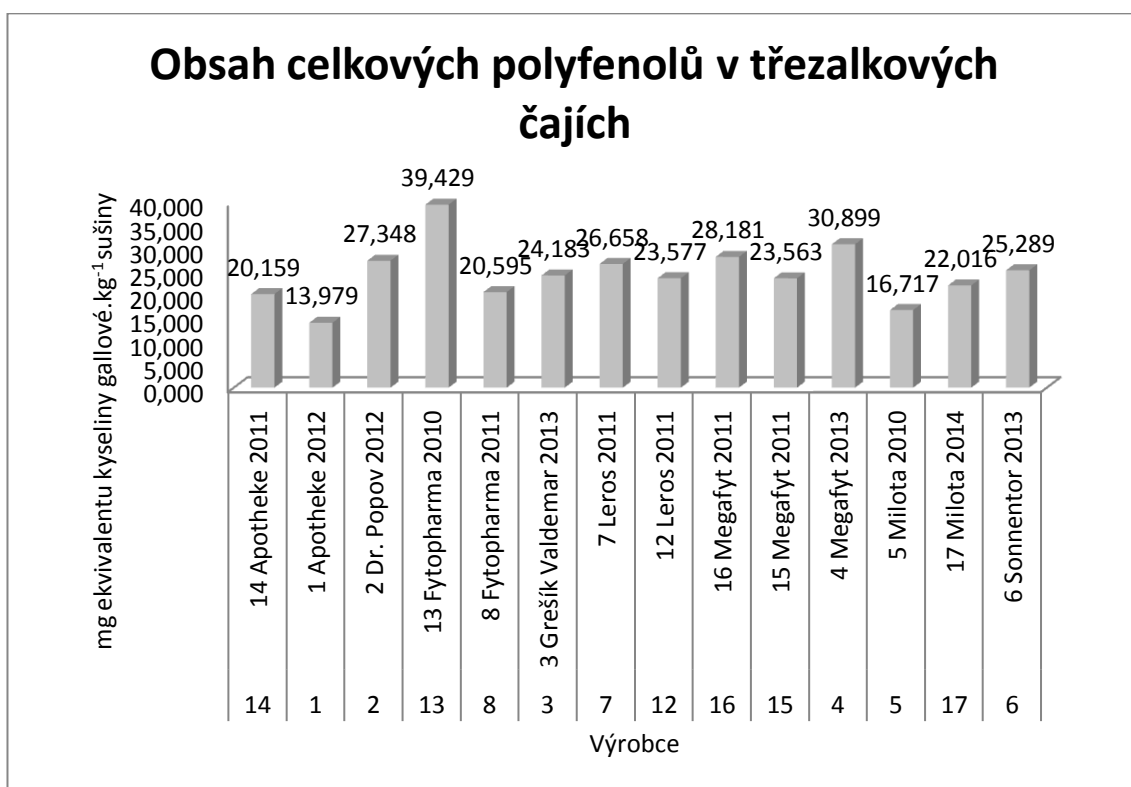
Graf 2: Standard hypericinu



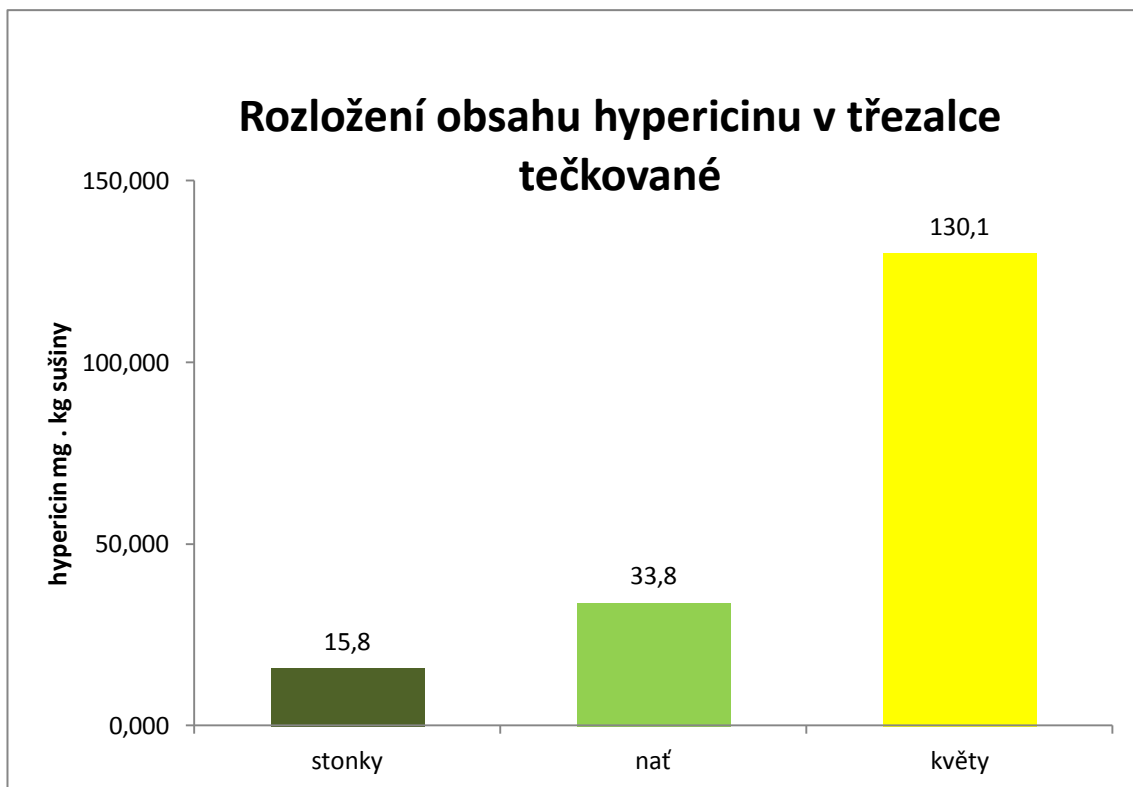
Graf 3: Kalibrační křivka kyseliny gallové



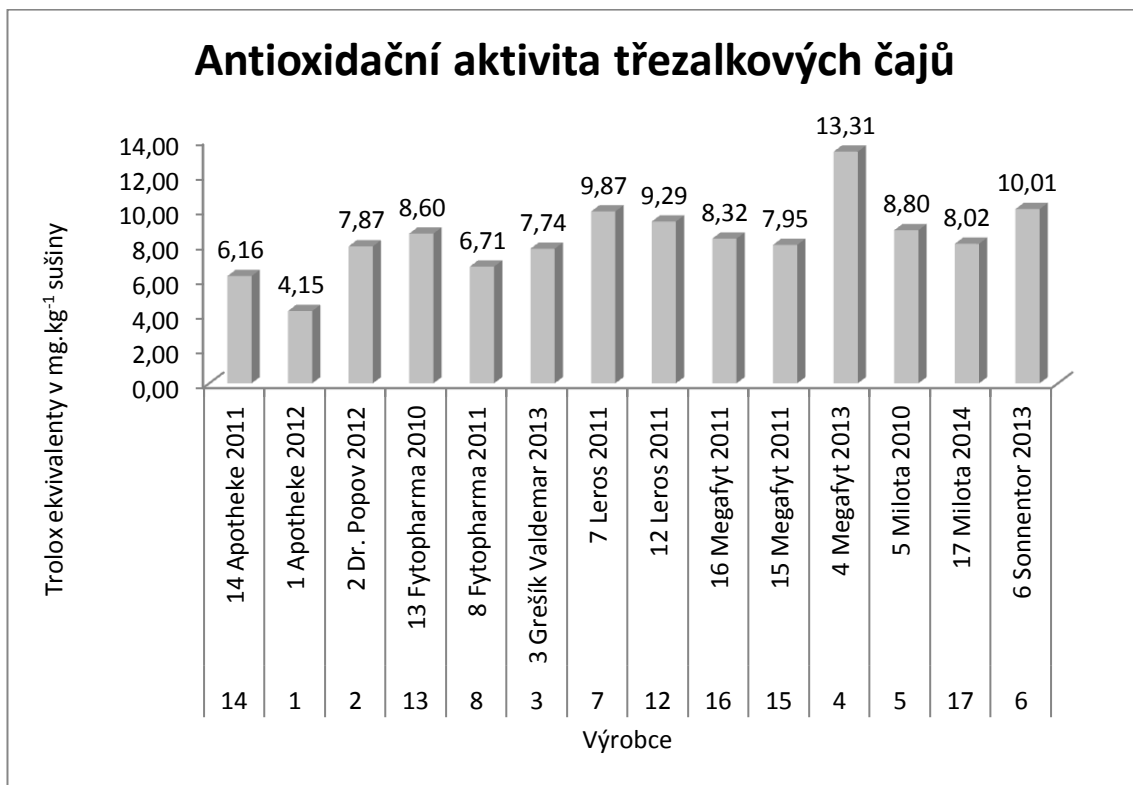
**Graf 4: Kalibrační křivka Troloxu**



**Graf 5: Obsah celkových polyfenolů v třezalkových čajích**



**Graf 6: Rozložení obsahu hypericinu v třezalce tečkované**



**Graf 7: Antioxidační aktivita třezalkových čajů**



## TABULKY

**Tab. 8: Rody *Hypericum* v Evropě**

<i>Hypericum acmosepalum</i>	
<i>Hypericum androsaemum</i>	třezalka bobulovitá
<i>Hypericum ascyron</i>	
<i>Hypericum ascyron</i> 'Vilmorinii'	
<i>Hypericum augustinii</i>	
<i>Hypericum beanii</i>	
<i>Hypericum beanii</i> 'Gold Cup'	
<i>Hypericum bellum</i>	
<i>Hypericum calycinum</i>	třezalka kalíškatá
<i>Hypericum coris</i>	třezalka jehličková
<i>Hypericum densiflorum</i>	třezalka hustokvětá
<i>Hypericum forrestii</i>	
<i>Hypericum frondosum</i>	
<i>Hypericum frondosum</i> 'Hidcote'	třezalka listnatá
<i>Hypericum hircinum</i>	třezalka kozlová
<i>Hypericum hookeranum</i>	třezalka Hookerova
<i>Hypericum hookeranum</i> 'Rogersii'	třezalka Hookerova
<i>Hypericum hookeranum</i> 'Rowallane'	třezalka Hookerova
<i>Hypericum chinense</i>	třezalka čínská
<i>Hypericum kalmianum</i>	třezalka tříkvětá
<i>Hypericum kouytchense</i>	třezalka koujtšenská
<i>Hypericum patulum</i>	třezalka rozkladitá
<i>Hypericum prolificum</i>	třezalka prorůstavá
<i>Hypericum pseudohenryi</i>	
<i>Hypericum stellatum</i>	
<i>Hypericum uralum</i>	třezalka uralská
<i>Hypericum wilsonii</i>	
<i>Hypericum x arnoldianum</i>	třezalka Arnoldova
<i>Hypericum x inodorum</i>	třezalka nevonná
<i>Hypericum x inodorum</i> 'Elstead'	třezalka nevonná Elstead
<i>Hypericum x moserianum</i>	třezalka Moserova
<i>Hypericum x moserianum</i> 'Tricolor'	třezalka Moserova Tricolor

<i>Hypericum x nothum</i>	
<i>Hypericum xylosteifolium</i>	

**Tab. 9: Seznam rostlin a jejich částí pro výrobu ovocných a bylinných čajů**

A. Části rostlin, které lze použít bez omezení	
1.	Artyčok <i>Cynara scolymus</i> L. květní lůžko <i>C. cardunculus</i> L. řapík
2.	Borůvka <i>Vaccinium myrtillus</i> L. plod
3.	Čajovník <i>Camellia sinensis</i> L. list sušený nebo fermentovaný
4.	Čekanka <i>Cichorium intybus</i> L. nať, kořen
5.	Dobromysl <i>Origanum vulgare</i> L. nať
6.	Fenykl <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. plod
7.	Granátovník <i>Punica granatum</i> L. plod
8.	Hefmánek <i>Matricaria chamomilla</i> L. květ
9.	Hefmánek římský <i>Anthemis nobilis</i> L. květ
10.	Hluchavka <i>Lamium album</i> L. květ, nať
11.	Ibišek <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. květ
12.	Jahoda <i>Fragaria vesca</i> L. list
13.	Jeřábina <i>Sorbus aucuparia</i> L. plod
14.	Lípa <i>Tilia platyphyllos</i> Scopoli, <i>Tilia cordata</i> Miller, <i>Tilia euchlora</i> Koch květ
15.	Malina <i>Rubus idaeus</i> L. listy
16.	Máta <i>Mentha</i> sp. list, nať
17.	Matéřídouška <i>Matellex paraguayensis</i> St. -Hi. list
18.	Mateřídouška <i>Thymus serpyllum</i> L. nať
19.	Meduňka <i>Melissa officinalis</i> L. nať, list
20.	Ostružina <i>Rubus fruticosus</i> L. list
21.	Rakytník <i>Hippophae rhamnoides</i> L. plod
22.	Rooibos <i>Aspalathus linearis</i> nať
23.	Růže <i>Rosa centifolia</i> L. <i>Rosa gallica</i> L. korunní lístek
24.	Šípek <i>Rosa</i> sp. L. plod
25.	Rybíz <i>Ribes nigrum</i> L. list, plod
26.	Svatojánský chléb <i>Ceratonia siliqua</i> L. plod
27.	Ostatní nejmenované sušené ovoce a jádra skořápkového ovoce
B) Části rostlin, které lze použít do výše 30 % hmotnosti	
1.	Borůvka <i>Vaccinium myrtillus</i> L. list, nať
2.	Bříza <i>Betula pendula</i> Roth. <i>B. pubescens</i> Ehrh. list
3.	Celík (zlatobýl) <i>Solidago virgaurea</i> L., <i>S. gigantea</i> Ait., <i>S. canadensis</i> L. nať
4.	Chmel <i>Humulus lupulus</i> L. šišťice
5.	Citron <i>Citrus limon</i> (L.) Burm. oplodí
6.	Černý bez <i>Sambucus nigra</i> L. květ, plod
7.	Černucha <i>Nigella sativa</i> L. semeno
8.	Fazolové lusky <i>Phaseolus vulgaris</i> L. oplodí
9.	Jasmín <i>Jasminum grandiflorum</i> L. list, květ
10.	Jestřábina <i>Galega officinalis</i> L. nať
11.	Klanopraška <i>Schizandra chinensis</i> MICHX. plod, nať
12.	Kmín římský <i>Cuminum cyminum</i> L. plod
13.	Kokoška <i>Capsella bursa-pastoris</i> L. nať
14.	Konopice <i>Galeopsis</i> sp. div. nať
15.	Kontryhel <i>Alchemilla</i> sp. div. nať
16.	Kopřiva <i>Urtica dioica</i> L. list, nať
17.	Len <i>Linum usitatissimum</i> L. semeno
18.	Lichořeřišnice <i>Tropaeolum majus</i> L. nať, plod
19.	Lomikámen <i>Saxifraga granulata</i> L. nať
20.	Lžičník <i>Cochlearia officinalis</i> L. nať
21.	Maceška <i>Viola tricolor</i> L., <i>V. arvensis</i> MURRAY květ, nať
22.	Měsíček <i>Calendula officinalis</i> L. květ

23. Oves <i>Avena sativa</i> L. nať, plod
24. Pískavice <i>Trigonella foenumgraecum</i> L. semeno
25. Pomeranč <i>Citrus aurantium</i> L. ssp. <i>aurantium</i> Engler list, oplodí, květ
26. Popenec <i>Glechoma hederacea</i> L. nať
27. Proskurník <i>Althaea officinalis</i> L. kořen, list, květ
28. Sedmikráska <i>Bellis perennis</i> L. květ
29. Sezam <i>Sezamum indicum</i> L. semeno
30. Sléz <i>Malva silvestris</i> L., <i>M. neglecta</i> L., <i>M. mauritiana</i> L. květ, list
31. Smetánka <i>Taraxacum officinale</i> Web. kořen, nať, list
32. Sporýš <i>Verbena officinalis</i> L. nať
33. Trnka <i>Prunus spinosa</i> L. květ, plod
34. Truskavec <i>Polygonum aviculare</i> L. nať
35. Voňatka <i>Cymbopogon nardus</i> (L.), W. Wats list
36. Vřes <i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hill. nať, květ
37. Ženšen <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer kořen
38. Ostatní nejmenovaná sušená zelenina a nejmenované koření.
<b>C) Části rostlin, které lze použít do výše 5 % hmotnosti</b>
1. Harphagophytum <i>procumbens</i> kořen (BURCHELI) DC.
2. Andělíka lékařská <i>Archangelica officinalis</i> HOFFM. kořen, plod
3. Badyáník pravý <i>Illicium verum</i> HOOK plod
4. Bazalka <i>Ocimum basilicum</i> L. nať
5. Bedrník větší <i>Pimpinella major</i> (L.) HUDS. kořen
6. Benedikt lékařský <i>Conicus benedictus</i> L. nať
7. Blahovičník <i>Eucalyptus</i> sp. list
8. Borovice <i>Pinus</i> sp. jehlice, vrcholky, větve
9. Borovice kleč <i>Pinus mugo</i> ssp. <i>Pumilio</i> jehlice, vrcholky, větve (HAENKE) FRANCO
10. Brusinka <i>Vaccinium vitis idaea</i> L. list
11. Celer <i>Apium graveolens</i> L. plod
12. ColaCola <i>acuminata</i> (Beauv.) Schott et End. a <i>C. nitida</i> (Vent.) Schott et E. semeno
13. Čípek objímavý <i>Ruscus aculeatus</i> L. nať
14. Divizna sápoovitá <i>Verbascum phlomoides</i> L. květ
15. Divizna velkokvětá <i>Verbascum densiflorum</i> BERTOL. květ
16. Dub letní <i>Quercus robur</i> L. kůra
17. Dub zimní <i>Quercus petraea</i> (MATTUSCH.) LIEBL. kůra
18. Galgán lékařský <i>Alpinia officinarum</i> HANCE kořen
19. Hadí kořen větší <i>Bistorta major</i> S. F. GRAY kořen
20. Hořec <i>Gentiana</i> sp. kořen
21. Chaluha bublinatá <i>Fuccus vesiculosus</i> L. stélka
22. Chrpá <i>Centaurea cyanus</i> (L.) MILLER květ
23. Jablečník obecný <i>Marrubium vulgare</i> L. nať
24. Jalovec obecný <i>Juniperus communis</i> L. dřevo, plod
25. Jehlice <i>Ononis</i> sp. kořen
26. Jetel červený <i>Trifolium pratense</i> L. květ
27. Jetel bílý <i>Trifolium repens</i> L. květ
28. Jitrocel indický <i>Plantago ovata</i> FORSK. semeno
29. Jitrocel kopinatý <i>Plantago repens</i> L. list, nať
30. Jmelí <i>Viscum</i> sp. nať
31. Kardamon léčivý <i>Eletaria cardamomum</i> (L.) plod, semeno WHITE et MASON
32. Komonice lékařská <i>Melilotus officinalis</i> (L.) PALLASnať
33. Kosateclis <i>germanica</i> L., <i>I. pallida</i> Lam., kořen florentina L.
34. Kramerie trojmužná <i>Krameria triandra</i> RUIZ et PAV kořen
35. Kuklík městský <i>Geum urbanum</i> L. kořen
36. Kukuřice <i>Zea mays</i> L. blizna
37. Kurkuma <i>Curcuma</i> sp. kořen
38. Lékořice lysá <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. kořen
39. Levandule lékařská <i>Lavandula angustifolia</i> MILLER květ
40. Libeček lékařský <i>Levisticum officinale</i> KOCH kořen
41. Líška obecná <i>Corylus avellana</i> L. list
42. Lopuch <i>Arctium</i> sp. kořen
43. Marsdenie kondurangová <i>Marschenia condurango</i> REICHB. kůra

44. Mořinka vonná <i>Galium odoratum</i> (L.) SCOP nať
45. Mochna husí <i>Potentilla anserina</i> L. nať
46. Mochna nátržník <i>Potentilla Eróta</i> (L.) RÄUSCHEL kořen
47. Mučenka <i>Passiflora</i> sp. nať
48. Muškátovník vonný <i>Myristica fragrans</i> HOUT. plod, semeno, oplodí
49. Mydlice lékařská <i>Saponaria officinalis</i> L. kořen
50. Myrtovník <i>Commiphora</i> sp. klejoprskyřice
51. Olivovník <i>Olea europaea</i> L. list
52. Oman pravý <i>Inula helenium</i> L. kořen
53. Ořešák <i>Juglans regia</i> L. list
54. Ostropestřec mariánský <i>Silybum Marianám</i> (L.) GAERTN. plod
55. Ostrožka polní <i>Consolida regalis</i> S. F. GRAY květ
56. Pelargonie <i>Pelargonium</i> sp. list
57. Pelyněk černobýl <i>Artemisia vulgaris</i> L. nať
58. Pelyněk pravý <i>Artemisia absinthium</i> nať
59. Petržel <i>Petroselinum sativum</i> Hoffm. plod
60. Petržel kadeřavá <i>Petroselinum crispum</i> (MILL.) kořen NYM ex A. W. HILL
61. Pivoňka <i>Paeonia officinalis</i> L. korunní listek
62. Plicník lékařský <i>Pulmonaria officinalis</i> L. list, nať
63. Podběl obecný <i>Tussilago fārfāra</i> L. list
64. Pohanka <i>Fagopyrum aesculentum</i> Moench.,nať, plod <i>taticum</i> (L.) Gaertn.
65. Prha <i>Arnica</i> sp. květ, kořen
66. Průtržník <i>Herniaria</i> sp. nať
67. Prvosenka jarní <i>Primula veris</i> L. kořen, květ
68. Prvosenka vyšší <i>Primula elatior</i> (L.) Hillkořen, květ
69. Přeslička rolní <i>Equisetum arvense</i> L. nať
70. Puklérka islandská <i>Cetraria islandica</i> (L.) ACH stélka
71. Puškovec obecný <i>Acorus calamus</i> L. kořen
72. Pýr plazivý <i>Elytrigia repens</i> (L.) DESV. kořen
73. Rdesno blešník <i>Persicaria lapathifolia</i> (L.) S. F. GRAY nať
74. Rdesno pepřík <i>Persicaria hydropiper</i> (L.) SPACH nať
75. Rmenec sličný <i>Camaemelum nobile</i> (L.) ALL květ
76. Rosnatka <i>Drosera</i> sp. nať
77. Rozmarýna lékařská <i>Rosmarinus officinalis</i> L. list
78. Rozrazil lékařský <i>Veronica officinalis</i> L. nať
79. Řebříček obecný <i>Achillea millefolium</i> L. nať, květ
80. Řecký horský čaj <i>Sideritis scardica</i> Griseb. nať
81. Řepík <i>Agrimonia</i> sp. nať
82. Řimbaba <i>Chrysanthemum parthenium</i> (L.) nať BERNH.
83. Slunečnice <i>Helianthus annuus</i> L. jazykový květ
84. Smil písečný <i>Helichrysum arenarium</i> L. MOENCH květ
85. Smrk <i>Picea</i> sp. jehlice, vrcholky, větve
86. Srdečník obecný <i>Leonurus cardiac</i> L. nať
87. Světlík <i>Euphrasia</i> sp. nať
88. Šalvěj lékařská <i>Salvia officinalis</i> L. list, nať
89. Topol <i>Populus</i> sp. pupen
90. Topolovka růžová <i>Alcea rosea</i> L. cv. nigrakvět
91. Toten lékařský <i>Sanguisorba officinalis</i> L. květ
92. Trnovník bílý <i>Robinia pseudo-arabica</i> L. květ
93. Trubkovec <i>Orthosiphon</i> sp. list
94. Třapatka nachová <i>Echinacea angustifolia</i> DC nať, kořen
<b>95. Třezalka <i>Hypericum</i> sp. nať</b>
96. Tužebník jilmový <i>Filipendula uimaria</i> (L.) MAXIM květ, nať
97. Tymián <i>Thymus zygis</i> L. nať
98. Vachta trojlistá <i>Menyanthes trifoliata</i> L. list
99. Vilín viržinský <i>Hamamelis virginiana</i> L. list
100. Viola trojbarevná <i>Viola tricolor</i> L. nať
101. Vítod senega <i>Polygala senega</i> L. kořen
102. Vrba <i>Salix</i> sp. kůra
103. Vrbovka <i>Epilobium</i> sp. Nať

104. Yzop lékařský *Hyssopus officinalis* L. nať

105. Zeměžluč hořká *Centarium erythraea* RAFN nať

**Tab. 10: reaktivní formy kyslíku a dusíku**

Reaktivní formy kyslíku (ROS)		Reaktivní formy dusíku (RNS)	
Volné radikály	Látky neradikálové povahy	Volné radikály	Látky neradikálové povahy
Superoxidový radikálanion O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	peroxid vodíku H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	oxid dusnatý NO	kyselina dusitá HNO <sub>2</sub>
hydroperoxylový radikál HO <sub>2</sub>	kyselina chlorná HClO	oxid dusičitý NO <sub>2</sub>	oxid dusitý N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
hydroxylový radikál OH.	singletový kyslík 1O <sub>2</sub>		peroxynitrit ONOO
peroxylový radikál ROO.	ozon O <sub>3</sub>		alkylperoxynitrit ROONO
alkoxylový radikál RO.			

## Mapa 1: Lokalita sběru vzorků



Zeměpisná délka:	14°18'42"
Zeměpisná šířka:	50°5'44"