

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

---



Agronomická  
fakulta

Mendelova  
univerzita  
v Brně



**Sledování antioxidační aktivity u laboratorního potkana při  
zkrmování barevné pšenice Konini**  
Diplomová práce

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

*Vypracovala:*  
Bc. Veronika Holeková

---

Brno 2015



# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Veronika Holeksová**  
Studijní program: Zootecnika  
Obor: Krmivářství  
Název tématu: **Sledování antioxidační aktivity u laboratorního potkana při zkrmování barevné pšenice Konini**  
Rozsah práce: 50 – 60 stran

## Zásady pro vypracování:

1. V přehledu literatury shrňte dosavadní poznatky o využití pšenice ve výživě hospodářských zvířat, pojednejte o nových odrůdách s netradičním zabarvením.
2. Pojednejte o problematice antioxidační aktivity a o možnostech jejího vlivnění.
3. Provedte krmný pokus na laboratorních potkanech s použitím barevné odrůdy pšenice.
4. Odeberte vzorky tkáně a proveďte stanovení antioxidační aktivity.
5. Získaná data zpracujte do tabulek a grafů a statisticky vyhodnoťte.



Seznam odborné literatury:

1. ZIMOLKA, J. – HŘIVNA, L. – JÁNSKÝ, J. – MAREČEK, J. – RICHTER, R. *Pšenice – pěstování hodnocení a využití zrna*. 1. vyd. Praha: Profi Press s.r.o., 2005. 180 s. ISBN 80-86726-09-6.
2. MÍŠEK, I. – KNOTEK, Z. a kol. *Chov a využití pokusných zvířat – 2. díl: Základy morfologie laboratorních zvířat*. 1. vyd. Brno: Společnost pro vědu o laborat.zvířatech, 1999. 136 s. ISBN 80-85114-69-0.
3. PRUGAR, J. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha: TISKAP, 2008. ISBN 80-86576-28-0.
4. KACEROVSKÝ, O. a kol. *Zkoušení a posuzování krmiv*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. 213 s. ISBN 80-209-0098-5.
5. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. ISSN 0021-8561.
6. J. Sochor, M. Ryvolova, O. Krystofova, P. Salas, J. Hubalek, V. Adam, L. Trnkova, L. Havel, M. Beklova, J. Zehnalek, I. Pro vaznik and R. Kizek, "Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: Advantages and disadvantages", *Molecules*, 2010, pp. 8618-8640.
7. JEBAVÝ, L. a kol. *Chov laboratorních zvířat*. 1. vyd. Praha: ČZU. ISBN 978-80-213-2176-2.
8. NATIONAL RESEARCH COUNCIL: *Nutrient requirements of laboratory animals*. 4th ed., Washington DC, USA, National Academy Press, 1995. ISBN 0-309-05126-6

Datum zadání diplomové práce: říjen 2012

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2015

**Bc. Veronika Holeksová**  
Autorka práce



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

**doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.**  
Vedoucí ústavu

**doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.**  
Děkan ÁF MENDELU

## ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

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

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

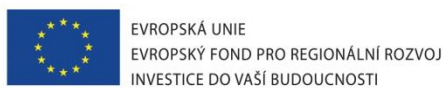
Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to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

V Brně dne:.....

.....  
podpis



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



## **PODĚKOVÁNÍ**

Děkuji vedoucí práce Mgr. Ing. Evě Mrkvicové, za trpělivost, pomoc, odborné vedení a cenné rady při zpracování této diplomové práce. Dále děkuji Ústavu chemie za pomoc s vyhodnocením vzorků. Děkuji také všem z Ústavu výživy zvířat a pícninářství za vytvoření příznivých podmínek ke studiu a obětavou pomoc při realizaci pokusů i zpracování výsledků. V neposlední řadě bych zde chtěla poděkovat ostatním přátelům a známým, kteří se podíleli na úspěšném absolvování mého studia.

Projekt byl realizován v rámci programu TP IGA 1/2014

## ABSTRACT

V pokusu jsme sledovali vliv zkrmování barevné pšenice Konini s purpurovým zbarvením zrna na antioxidační aktivitu v játrech a v krvi potkanů. K pokusu jsme použili 64 samců laboratorního potkana kmene Wistar albino ve věku čtyř až šesti týdnů. Pokus probíhal čtyři týdny. Pokusnou skupinu (n=32) potkanů jsme krmili pouze barevnou pšenicí Konini. Purpurová pšenice Konini (14,01 mg/g antokyanů). Kontrolní skupinu (n=32) jsme krmili klasickou pšenicí Bohemia smíchanou s lepkem pro doplnění obsahu dusíkatých látek jako u Konini (16%). Během pokusu jsme sledovali ve třídních intervalech přírůsteky a denně vážili spotřebu krmiva. Antioxidační aktivitu jsme měřili metodami DPPH, FR, FRAP a ABTS. Výsledky měření antioxidační aktivity v játrech vyšly neprůkazné u všech použitých metod. Pouze Výsledky FR a FRAP u krve vyšly průkazné. U kontroly FR mg/l  $297,35 \pm 23,94$  a u Konini  $215,57 \pm 12,16$ . U FRAP mg/l kontrola  $28,78 \pm 1,35$  a Konini  $23,86 \pm 1,28$ . Ostatní metody u krve vyšly neprůkazné stejně jako u jaterní tkáně. Zjistili jsme, že hmotnost jater potkanů krmených pšenicí Konini byla o 7 % nižší než u kontrolní skupiny potkanů. Výsledky jsme zpracovali ANOVOU statistickou metodou za použití Scheffeho testu.

**Klíčová slova:** Pšenice, Konini, Antokyan, Potkan, Antioxidační aktivita, DPPH, FR, FRAP, ABTS

## **ABSTRACT**

In the experiment, we observed how it affects feeding colored wheat grains with purple color on the antioxidant activity in the liver and in the blood of rats. For the experiment, we used 64 male rats Wistar albino four to six weeks. The experiment was performed four weeks. Experimental group (n=32) rats fed the only color wheat Konini. Purple wheat Konini (14.01 mg/g of anthocyanins). The control group (n=32) are fed conventional wheat Bohemia mixed with gluten to supplement the crude protein content as Konina (16%). During the experiment, we looked at three day intervals additions and weighed daily feed consumption. Antioxidant activity was measured by methods DPPH, FR, FRAP and ABTS. Results of measurement of antioxidant activity in the liver appeared inconclusive for all the methods. Only the results of the FR and FRAP with blood appeared conclusive. At control FR mg/l  $297,35 \pm 23,94$  and Konini  $215,57 \pm 12.16$ . FRAP mg/l control  $28,78 \pm 1,35$  and  $23.86 \pm 1.28$  Konin. Other methods for blood came out inconclusive as well as in the liver. We found that liver weight in rats fed wheat Konin was 7% lower than in control rats. The results were processed using a statistical method ANOVA Scheffe test.

**Key Words:** Wheat, Konin, Anthocyanins, Rat, Antioxidant activity, DPPH, FR, FRAP, ABTS



## SEZNAM SKRATEK

<b>O</b>	=	Ocas (použito při značení zvířat)
<b>PP</b>	=	Pravá přední noha (použito při značení zvířat)
<b>PZ</b>	=	Pravá zadní noha (použito při značení zvířat)
<b>LP</b>	=	Levá přední noha (použito při značení zvířat)
<b>LZ</b>	=	Levá zadní noha (použito při značení zvířat)
<b>H</b>	=	Hlava (použito při značení zvířat)
<b>Z</b>	=	Záda (použito při značení zvířat)
<b>BEZ</b>	=	Bez označení (použito při značení zvířat)
<b>FRAP</b>	=	Ferric Reducting Antioxidant Potencial, metoda stanovení antioxidační aktivity
<b>DPPH</b>	=	Radikál, 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, metoda stanovení antioxidační aktivity
<b>ABTS</b>	=	2,2 –azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát), metoda stanovení antioxidační aktivity
<b>FR</b>		Metoda stanovení volných radikálů
<b>R</b>	=	Radikál
<b>TAC</b>	=	Total Anthocyanin Content (celkový obsah antokyanů)
<b>t-BHP</b>	=	Terc-butylhydroperoxid
<b>GSH</b>	=	Redukovaný glutathion
<b>GSSG</b>	=	Oxidovaný glutathion
<b>ALT</b>	=	Alaninaminotransferáza
<b>LDH</b>	=	Laktát dehydrogenáza
<b>GAE</b>	=	Kyselina gallová
<b>MMP</b>	=	Matrixmetaloproteázy

# Obsah

1 ÚVOD .....	12
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED. ....	13
2.1 Pšenice .....	13
2.2 Barevné pšenice .....	13
2.2.1 Původ .....	13
2.2.2 Specifické vlastnosti .....	14
2.2.3 Purpurové zbarvení zrna .....	14
2.3 Antokyany a jejich antioxidační účinky .....	16
2.3.1 Antokyanidy .....	18
2.3.2 Flavonoidy .....	19
2.3.3 Antokyany v Konini .....	19
2.4 Antioxidanty-látky s antioxidačními účinky .....	20
2.4.1 Volné radikály .....	21
2.4.2 Mechanismus působení antioxidantů .....	22
2.5 Vliv barevné pšenice na zdraví .....	22
2.5.1 Antioxidační obranný systém jaterních buněk .....	24
2.5.2 Interakce s léky .....	25
2.6 Využití barevné pšenice .....	25
2.6.1 Využití v pěstitelství .....	25
2.6.2 Využití v potravinářství .....	26
2.6.3 Funkční potravina .....	26
2.7 Laboratorní potkan .....	27
3 CÍL PRÁCE .....	28
4 MATERIÁL A METODIKA .....	29
4.1 Metodický postup .....	29
4.1.1 Krmné směsi .....	30
4.2 Příprava vzorku k chemické analýze .....	31
4.3 Chemická analýza vzorku jater .....	32
4.3.1 Stanovení antioxidační kapacity pomocí DPPH testu .....	32
4.3.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou volnými radikály (FR) .....	33
4.3.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP .....	33
4.3.4 Stanovení antioxidační aktivity ABTS testem .....	33
4.4 Chemické analýza vzorku krve .....	34

4.4.1 Stanovení celkové bílkoviny .....	34
4.4.2 Stanovení hladiny metalothioneinu .....	35
5 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	36
5.1 Příjem krmiva .....	36
5.2 Přírůstky živé hmotnosti.....	37
5.3 Výsledky antioxidační aktivity-Játra.....	39
5.3.1 Hmotnost jater potkana .....	39
5.3.2 Výsledky chemické analýzy jaterní tkáně potkana.....	41
5.4 Výsledky antioxidační aktivity v krvi potkana .....	42
6 ZÁVĚR.....	44
7 SEZNAM TABULEK A GRAFŮ.....	45
7.1 Seznam tabulek .....	45
7.2 Seznam grafů.....	45
8. OBRÁZKY .....	46
8.1 Seznam obrázků .....	46
9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	50

## 1 ÚVOD

Obilniny jsou nedílnou součástí výživy hospodářských zvířat i člověka na celém světě. Pšenice je v tomto ohledu nejvyužívanější a nejvíce pěstovanou obilninou v České republice i ve světě. Je čím dál více kladen důraz nejen na množství a cenu pěstované suroviny, ale i na její kvalitu a nutriční hodnotu. Zvyšování nutriční hodnoty pšenice vede k lepší konkurenceschopnosti zemědělských podniků a zlepšení zdravotního stavu chovaných zvířat i produktů z nich získaných. To může vést ke zvýšení nebo zachování vysoké užitkovosti při nižších nákladech na chov a výživu zvířat. A dále při nižších nákladech na přidaná barviva a doplňkové látky.

Pšenice Konini je specifická vyšším obsahem antokyanů a odlišným zbarvením obilky. Zvýšený obsah antokyanů s antioxidačním účinkem by mohl vést ke zlepšení výživy a zdravotního stavu zvířat ale i ke zlepšení nutriční hodnoty pekárenských výrobků vyrobených z celozrnné mouky pšenice Konini. Produkty s vyšším obsahem antokyanů by se mohly považovat za potravinu s příznivým účinkem na zdraví člověka.

První zmínky o purpurové pšenici zaznamenal Ludwig Wittmack roku 1879. Zrna shromáždil botanik Johann Maria Hildebrandt během cesty do východní Afriky v letech 1872 až 1873 a předal je zemědělskému muzeu v Berlíně.

V této práci se zabýváme zkrmováním pšenice Konini a sledováním, zda tento vyšší obsah antokyanů v pšenici má vliv na antioxidační status laboratorního potkana.

## **2 LITERÁRNÍ PŘEHLED.**

### **2.1 Pšenice**

Pšenice setá je jednou z nejrozšířenějších plodin na světě i u nás. Zaujímá téměř čtvrtinu orné půdy a polovinu ploch obilnin (ZIMOLKA et al., 2008). Český statistický úřad (2015) uvádí, že v roce 2014 se sklídilo 8,7 milionů tun obilnin. Z toho pšenice 5,4 milionů tun. Osevní plocha byla 1,4 milionů hektarů obilovin s průměrným výnosem 6,23 t/ha a pšenice z toho zabírala 836 tisíc ha s výnosem 6,5 t/ha. To odpovídá více než polovině sklizené plochy obilnin.

### **2.2 Barevné pšenice**

#### **2.2.1 Původ**

Purpurovým pšenicím se začali věnovat už v roce 1980 výzkumní pracovníci na Novém Zélandu a krmné hodnotě prvních kulturních kultivarů purpurové pšenice v krmné dávce brojlerů už v roce 1976 (GEORGIO et al., 1976). Většina kulturních druhů pšenice (hexaploidní pšenice se 42 chromozomy, tetraploidní pšenice) se vyskytuje s bílým zbarvením (s nízkým obsahem antokyanů) a červeným zbarvením zrna. Jiná zbarvení jsou vzácná. Zbarvení je řízeno jednou až třemi dominantními alelami. R-A1b (na chromozomu 3AL), R-B1b (na 3BL) a R-D1b (na 3DL), (SHERMAN et al., 2008).

ABDEL-AAL a HUCL (1999) publikovali první zmínky o barevných pšenicích a obsahu antokyanů v nich. Zjistili 155,6 mg / kg antokyanů v linii modré jarní pšenice a střední obsah antokyanů 104 mg/kg. u purpurové jarní pšenice Konini. Později, ABDEL-AAL et al. (2006) zjistili průměrný obsah antokyanů 106-153 mg / kg a 13 - 139 mg / kg u odrůdy modré a purpurové odrůdy pšenice. VARGA et al., (2013) uvádí u bílé pšenice HRWW v letech 2009 až 2011 obsah antokyanů od 3,8-9,4 mg/kg.

### 2.2.2 Specifické vlastnosti

Barevné pigmenty se nacházejí v obalových vrstvách zrna neboli otrubách (KEQUAN et al., 2006). Pro využití specifických vlastností antokyanů v pšenici je nezbytné používat celozrnnou mouku. Otruby z červeně zbarvené pšenice obsahují vyšší koncentraci antokyanů a felurové kyseliny (KEQUAN et al., 2006). V jemně mleté bílé mouce je obsah antokyanů nízký nebo žádný (VARGA et al., 2013). Otruby z červené pšenice obsahují vyšší koncentraci kyseliny felurové, což může vést ke zhoršení chuťových vlastností celozrnné mouky a její trvanlivosti, i ke snížení kvality vlastních pekárenských výrobků. Obsah fenolických kyselin, sinapové kyseliny je ovlivněn genetikou a prostředím, ve kterém byla pšenice pěstována (LIU et al., 2010).

Felurové kyseliny jsou přírodní antioxidanty, které jsou v otrubách a také v pšeničném zrně. Felurové kyseliny jsou vázány v nerozpustné formě (LIYANA-PATHIRANA a SHAHIDI, 2006).

Křížením mezi barevnými pšenicemi a klasickými pšenicemi docházelo k přenosu genů pro odolnost k chorobám, otužilost, vytrvalost a komponenty výnosů (ZEVEN, 1991).

### 2.2.3 Purpurové zbarvení zrna

Zrno purpurové pšenice obsahuje antokyaniny v povrchové vrstvě, perikarpu (oplodí), (ABDEL-AAL A HUCUL, 2003). Geny pro purpurové zbarvení pocházejí z tetraploidních a hexaploidních pšenic pocházejících z Etiopie (COPP, 1965). Purpurová barva je způsobena antokyaniny nahromaděnými v oplodí, zatímco modrá barva je způsobena nahromaděním antokyanů v aleuronové vrstvě zrna pšenice (ZEVEN 1991). Pigment obílek pšenice s modrým aleuronem a purpurovým perikarpem je tvořen deriváty katechinu a taninu, které se syntetizují při syntéze flavonoidů (HIMI a NODA, 2003).

Bylo zjištěno, že purpurová barva v tetraploidní pšenici se dědí jako monofaktoriální dominantní znak (CLARK et al, 1936, SHARMAN, 1958; COPP, 1965). A McINTOSH a BACKER,(1967) zjistili dva geny s případným doplňkovým účinkem. Dva dominantní doplňkové geny pro purpurové obilí byly také identifikovány

na hexaploidní úrovni (BOLTON, 1968, PIĚCH a EVANS, 1979). Geny byly mapovány, pomocí molekulárních markerů (NELSON et al., 1995; McINTOSH et al., 2003; KHLESTKINA et al., 2002).

ZEVEN (1991) publikoval podrobnou recenzi o purpurově a modře zbarvené pšenici. Odrůdy pšenice s barevným zrnem se vyskytují v krajových rázech ve východní Africe na Novém Zélandu v Kanadě v Číně i v Rakousku (ZEVEN 1991). Je dobře známo, že antokyany v bylinách působí jako antioxidanty a kromě toho mají také antibakteriální a antikarcinogenní účinky. (ABDEL-AAL a HUCL, 1999, 2003; DYKES a ROONEY, 2007; SIEBENHANDL et al., 2007, HOSSEINIAN et al. 2008). VARGAN et al., (2013) prováděli pokusy v Maďarsku, kde sledovali obsah antokyanu u jarní a ozimé pšenice a jejich purpurových a modrých kříženců. Pokusy prováděli tři roky a zjistili rozdíly mezi bílou moukou a celozrnnou moukou.

U kříženců Konini byly detekovány pouze čtyři barevné frakce: světle hnědá, tmavě purpurová, černohnědá, a černá nebo modrá. Potomstvo s tmavší barvou zrna obsahovalo více antokyanů. U potomků kříženců modrých a purpurových kombinací, což byli jedinci s tmavě hnědým a černým zrnem, byla pozorována vyšší hladina antokyanů než u jejich rodičů (BARON et al., 2012). Hodnoty antokyanů byly uváděny v TAC (celkový obsah antokyanů).

*Tabulka č. 1: Hodnoty TAC u kříženců Konini (VARGA et al., 2013).*

<b>Genotyp</b>	<b>Barva</b>	<b>TAC (mg/kg)</b>
Uc 66049/Konini	světle hnědá	20,1
Uc 66049/Konini	tmavě purpurová	46,5
Uc 66049/Konini	černohnědá	56,1
Uc 66049/Konini	černá-tmavě modrá	84,1

## 2.3 Antokyany a jejich antioxidační účinky

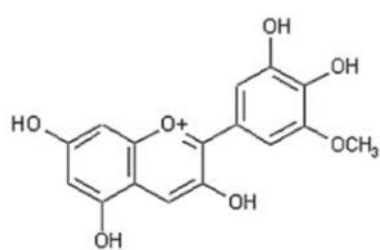
První antokyany byly objeveny u rostliny modrá chrpa (SCHWINN a DAVIES, 2004). Antokyany jsou přírodní barviva vyskytující se u různých druhů vyšších rostlin (JARÁBKOVÁ, PŠENÁKOVÁ, 2004). Funkcí antokyanů v rostlinách je ochrana proti chorobám, škůdcům a stresu. Dále ovlivňují dormanci a klíčivost obilí (LACHMAN et al., 2003). Jedná se o ve vodě rozpustné pigmenty, které jsou zodpovědné za různé barvy, jako červená, modrá, žlutá a fialová, u květin, zeleniny, ovoce a zrn obilovin (WANG; STONER 2008; HE; GIUSTI, 2010). Antokyany mají synergický vliv na vitamín C (DUTHIE et al., 2006; MANACH et al., 2005). Antokyany zařazujeme mezi flavonoidy, mají širokou škálu biologických účinků. Působí preventivně proti degradaci lipidů oxidací, prevence vzniku rakoviny a onemocnění kardiovaskulárního systému, inhibují LDL cholesterol (JARÁBKOVÁ, PŠENÁKOVÁ, 2004). Antokyany se nacházejí v rostlinách v glykosylovaných formách, většinou spojených s glukosou, galaktosou, arabinosou, xylózou a fruktózou (HOSSEINIAN a BETA, 2007).

Pozitivní účinky antokyanů by mohly vést ke zlepšení zdraví zvířat, dlouhověkosti, reprodukci a ke zvýšení kvality a nutriční hodnoty živočišných produktů (VARGA et al., 2013).

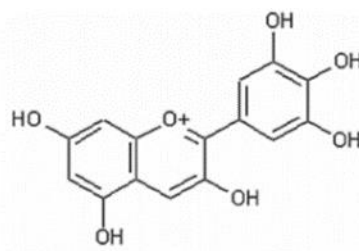
Bylo popsáno více než 600 látek ze skupiny antokyanů (CASTANEDA-OVANDO et al., 2009). Ty jsou klasifikovány v závislosti na počtu a poloze hydroxylových a methoxylových skupin. V přírodě se nejčastěji vyskytuje šest antokyanů: kyanidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin a malvidin. Další variace se vyskytují acylací skupin cukru (MAZZA, 2007). Jejich přítomnost v rostlinách, je prospěšná, přitahují zvířata, a tím napomáhají při opylování a šíření semen, chrání rostlinu před poškozením, nemocemi a stresem (HARBORNE a WILLIAMS, 2001), stejně jako ochraňují rostlinu proti poškození ultrafialovými paprsky (MAZZA a MINIATI, 1993).



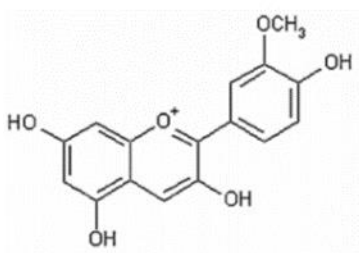
Obrázek č. 1: Chemická struktura antokyanů



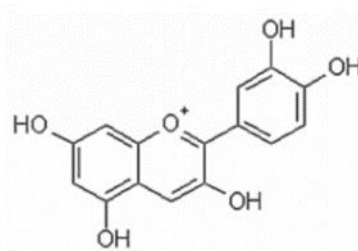
**PETUNIDIN**



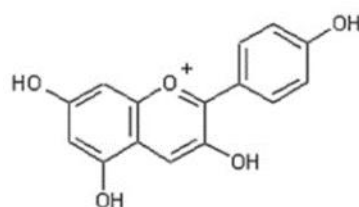
**DELPHINIDIN**



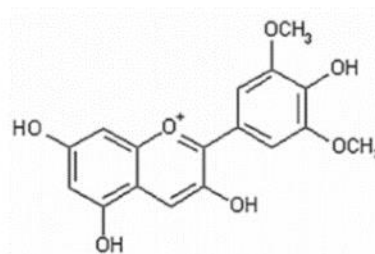
**PEONIDIN**



**CYANIDIN**



**PELARGONIDIN**



**MALVIDIN**

(KAMENICOVA et al., 2013)

### *Kyanidin*

Kyanidin-3-glukosid se nachází hlavně v ovoci, v různých bobulích například v černém rybízu, zelenině a v červené a černé rýži, kukuřici a purpurovém oplodí pšenice (ESCRIBANO-BAILON et al., 2004).

## *Delfinidin*

Nejvíce zastoupeným antokyanem u modré pšenice je delfinidin-3-glukosid (TROJAN et al., 2014). Je to nejúčinnější angiogenní inhibitor mezi antokyany, může být užitečný při prevenci a léčbě rakoviny (LAMY et al., 2006). Delfinidin je také účinný při inhibici tumorogeneze (HOU et al., 2004). Lékařský slovník vysvětluje angiogenezi jako proces novotvorby cév. Důležitý proces během vývoje organismu, při zánětu, ale i při růstu nádoru.

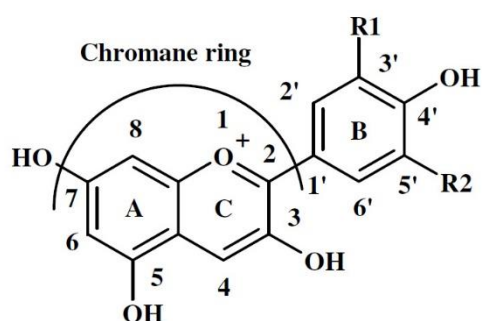
## *Pelargonidin*

Pelargonidin způsobují spolu s kyanidinem fialové a červené zbarvení rostlin (ABDEL-AAL el & HUCL, 2003; LEE, DURST a WROLSTAD, 2005, MAZZA et al, 2004).

### 2.3.1 Antokyanidy

Z chemického hlediska se molekula antokyanů skládá z části necukerné (aglykonu), která se nazývá antokyanidin a jednoho nebo více cukerných zbytků. Antokyanidiny se samostatně v přírodě prakticky nevyskytují, vyskytují se pouze v jejich glykosylované formě, která se nazývá antokyan. Antokyany se v rostlinných buňkách nacházejí ve vakuolách a barví rostlinu. Tyto sloučeniny jsou mnohem rozpustnější ve vodě a celkově stabilnější než antokyanidiny, což je důsledek jejich glykosylace (ANDERSEN a AMARKHAM, 2006, CASTANEDA-OVANDO et al., 2009).

Obrázek č. 2: Společná struktura antokyanů a odpovídajících antokyanidů



<u>Antokyanidy</u>	<u>R1</u>	<u>R2</u>	<u>barva</u>
Cyanidin (Cy)	OH	H	červená
Peonidin (Pn)	OCH3	H	modro-fialová
Pelargonidin (Pg)	H	H	oranžovo-červená
Malvidin (Mv)	OCH3	OCH3	purpurová
Delphinidin (Dp)	OH	OH	purpurová
<u>Petunidin (Pt)</u>	<u>OCH3</u>	<u>OH</u>	<u>purpurová</u>

(HOSSEINAN et al., 2008)

Chromanový prstenec zobrazený na obrázku číslo 2 je společný pro všechny jednotlivé antokyany. Jedná se o necukernou část aglykon. Od sebe se navzájem liší počtem a postavením R1 a R2 navázaných na cukerný zbytek.

### 2.3.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou látky, které se nacházejí v rostlinách (VELÍŠEK, 1999c). Mají funkci jako lapače volných radikálů. Pohlcojí UV-A záření a mají protizánětlivou aktivitu. Flavonoidy působí in vitro jako antioxidanty (EVANS a JOHNSON, 2010; ŠTÍPEK, 2000).

### 2.3.3 Antokyany v Konini

Obsah antokyanů v pšenici je rozdílný v různých částech obilky. Proto je jiný obsah antokyanů v mouce a jiný v otrubách (ABDEL-AAL A HUCUL, 2003). Hladiny antokyanů jsou ovlivněny i výnosem zrna, povětrnostními podmínkami, prostředím ve kterém je pšenice pěstována, množstvím srážek během vegetačního období a úrovni hnojení pšenice na poli (GARRIDO.-LESTACHE et al., 2004).

ABDEL-AAL a HUCL, (2003) analyzovali antokyany v pšenicích s purpurovým zrnem kultivaru Konini a modrým zrnem kultivaru Purendo ve třech po sobě jdoucích letech. Množství antokyanů se v jejich výsledcích meziročně pohybovalo u pšenice

s modrým zrnem od 139,3 do 143,9 mg/kg a u pšenice s purpurovým zrnem od 61,3 do 153,3 mg/kg.(ABDEL-AAL a HUCL 2003) uvádějí jako hlavní antokyany v purpurové pšenici kyanidin-3-glukosid, pelargonidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid a peonidin-3-rutinosid. Kyanidin-3-glukosid a peonidin-3-rutinosid byly detekovány i ve vzorku pšenice s modrým zrnem. A o pět let později ABDEL-AAL et al.,(2008) ještě uvádějí rozdílné výsledky. Autoři detekovali u purpurové pšenice čtyři hlavní antokyany: Delfinidin-3-glukosid, kyanidin-3-glukosid, delfinidin-3-rutinosid a kyanidin-3-rutinosid.

## 2.4 Antioxidanty-látky s antioxidačními účinky

Dle DURČÁKOVÉ, (1998) lze z chemického hlediska označit jako antioxidanty ty látky, které mají schopnost zabránit oxidaci jiné sloučeniny tím, že se samy oxidují.

Antioxidanty dělíme podle původu na přírodní a syntetické nebo podle struktury na fenolové, endioly a jiné (MURRAY et al., 2002).

Dle SURAI, (2003) dále dělí přírodní antioxidanty **podle způsobu ochrany**:

1. **Primární** skupina působící jako prevence vzniku volných radikálů (glutathionperoxidáza, kataláza).
2. **Sekundární** skupina antioxidantů, které likvidují zformované řetězce volných radikálů (vitamín A, E, C, karotenoidy, glutation, kyselina močová).
3. **Terciální** skupina antioxidantů, která poškozenou část molekuly oddělí a opraví (lipázy, peptidázy, proteázy, transferázy).

Dle STRAKOVÁ,(2008) **Podle struktury**:

1. **Fenolové sloučeniny** delokalizují nepárový elektron (tokoferoly, galáty).
2. **Sloučeniny s konjugovaným systémem dvojných vazeb**, umožňující delokalizaci přijatého elektronu (karoteny a xantofyly).
3. **Kombinované** antioxidanty (kurkuma, resveratrol).

V živém organismu se nacházejí reaktivní formy kyslíku a dusíku (reactive oxygen species - ROS) a (reactive nitrogen species - RNS) (ŠTÍPEK, 2000). Při aerobním dýchání se v mitochondriích uvolňuje energie při redukci molekulárního kyslíku na vodu. Při tomto procesu se vytváří malé množství částečně redukovaných forem kyslíku. Tyto formy kyslíku jsou velice reaktivní a nazýváme je volnými radikály. V případě vzniku velkého množství kyslíkových radikálů v organismu dochází vlivem oxidačního stresu k poškození buněk a tkání. Oxidační stres může doprovázet různá onemocnění organismu (VOKURKA a HUGA, 2003). Například rakoviny, kornatění cév, artritidy a může hrát roli i v neurodegenerativních onemocněních a stárnutí. (HOLEČEK, 2005). U člověka je přítomnost volných radikálů v mozku spojována s Alzheimerem a Parkinsonem (ZÁBRANSKÝ, 2006).

#### **2.4.1 Volné radikály**

Volné radikály mají v organismu jak pozitivní vliv, jako prostředky přenosu energie, faktory imunitního systému a signální molekuly buněčné regulace, tak i vlivy patologické. Volné radikály mohou být pro organismus toxické. V organismu reagují s mastnými kyselinami, lipidy, aminokyselinami, proteiny a nukleovými kyselinami a s nízkomolekulárními metabolity, koenzymy a dalšími biologickými sloučeninami. Procesy v oxidačním řetězci jsou regulovány regulačními mechanismy. Proto se v této oblasti provádí intenzivní lékařský výzkum (ŠTÍPEK, 2000).

Volné radikály mohou vznikat různými způsoby. Buď v organismu vznikají působením enzymů a biologickými procesy nebo do organismu vnikají z vnějšího prostředí jako ionizační záření, silné sluneční záření, intoxikace jedy, léky apod. (MATOUŠ a MATOUŠOVÁ, 2008).

V organismu volné radikály vznikají odejmutím nebo přijetím elektronu z elektronového orbitalu (ŠTÍPEK, 2000). Důvodem je roztržení kovalentní vazby (VOKURKA a HUGO, 2003). V orbitalech se elektrony nacházejí v párech. Většina biomolekul má plně obsazeny orbitaly a proto nejsou volnými radikály. Pokud je jeden elektron z páru odejmut molekula se stává volným radikálem (ŠTÍPEK, 2000).

Volný radikál reaguje s kyslíkem. Kyslík se naváže na místo volného elektronu a vzniká peroxylový radikál. Dochází k řetězové reakci, když se peroxylový radikál snaží získat chybějící elektron a doplnit si tak orbital z jiné sloučeniny. Proces se ukončí, pouze pokud spolu reagují dva radikály nebo radikál reaguje s antioxidantem. Nejznámější vznik volných radikálů probíhá v dýchacím řetězci. Oxidací vzdušným kyslíkem vzniká energie a jako vedlejší produkty volné radikály superoxid a volný hydroxylový radikál (HOLEČEK, 2005).

Do skupiny volných radikálů řadíme superoxid  $O_2\bullet$ , hydroxylový radikál  $HO\bullet$ , peroxy  $ROO\bullet$ , alkoxy  $RO\bullet$ , a hydroperoxy  $HO_2\bullet$ .

#### **2.4.2 Mechanismus působení antioxidantů**

Biologický efekt volných radikálů je kontrolován antioxidačním systémem. Antioxidační systém se skládá z antioxidantů liposubilních (vitamíny A, E, karotenoidy) a antioxidantů hydrosubilních (kyselina askorbová), antioxidačních enzymů (glutathion peroxidáza) a thioredoxinu. Jednotlivé složky antioxidačního řetězce na sebe navazují a navzájem se doplňují (SURAI, 2002).

Vitamín E (tokoferol) reaguje s volnými radikály a mění je na hydroperoxy. Sám je oxidován na tokoferylchinon a v tomto stavu ztrácí antioxidační účinnost a stává se neaktivním. Vitamín C (kyselina askorbová) regeneruje tokoferylchinon na tokoferol-opět aktivní. Oxidovaný vitamín C (kyselina dehydroaskorbová) je regenerována glutathionem. Z toho vzniká hydroxyglutathion, který se napravuje glutathionreduktázou. Na začátku vzniklé hydroxyperoxy jsou nadále toxické pro organismus. V této části antioxidačního řetězce se zapojí glutathion peroxidáza (GSH-Px), která obsahuje selen (SURAI, 2002). Antioxidanty zabraňují znehodnocení potravin oxidací. Jako je žluknutí tuků a olejů (VELÍŠEK, 2002).

### **2.5 Vliv barevné pšenice na zdraví**

Barevná pšenice obsahuje mnoho živin, které jsou prospěšné pro lidské zdraví (MILDER et al. 2005; HOSSEINAN a BETA, 2007; LI a BETA, 2011). LI et al.,

(2003) zjistili, že celkové zastoupení bílkoviny esenciálními aminokyselinami a celkovými aminokyselin u černé pšenice pěstované v Číně bylo vyšší než v odrůdě bílé pšenice. LI et al., (2003) a NING, (2003) zjistili, že purpurová pšenice „Qinhei No 1“ má vyšší hladinu železa, zinku, manganu, mědi, selenu, magnesia, draslíku, fosforu a některých aminokyselin například lysinu, methioninu, isoleucinu a kyseliny glutamové.

Dále je purpurová pšenice charakteristická nízkým obsahem sodíku a tuků. Organického chromu bylo v barevné pšenici „03Z4-439“ zjištěno čtyřnásobné množství oproti klasické pšenici. Toto zjištění by mohlo být využito k léčbě diabetu. Američtí vědci zjistili, že divoké dvouzrné pšenice jsou bohatší na železo a zinek, a mají zvýšený obsah bílkovin, zinku a železa. Hodnoty naměřené u hybridů křížených s divokými pšenicemi byly o 10-15 % vyšší než u klasické pšenice (REUTES, 2006).

V poslední době se klade velký důraz na ochranu biologických funkcí přirozeně se vyskytujících antioxidantů v biologických systémech, a na mechanismy jejich působení. Fenolické sloučeniny, které jsou distribuovány v rostlinách, hrají důležitou roli jako dietní antioxidanty pro prevenci poškození oxidací v živých systémech (BLOCK, 1992., HERTOOG a FESKENS, 1993)

Výzkumy vyzdvihly další roli polyfenolických složek, které mohou působit jako antioxidanty nebo působí jiným způsobem přes jiné mechanismy (HO, 1992, HUANG a FERRANO, 1992; NEWMARK, 1992). Antokyany jsou fenolické přírodní pigmenty, které se používaly v lidovém léčitelství proti hypertenzi, (HARBORNE a ŠEDIVĚJŠÍ, 1988). Bylo zjištěno, že antokyany mají prokazatelnou antioxidační aktivitu v lipozomálním systému (TSUDA et al., 1996). Nicméně, biologická aktivita antokyanů v neporušené buňce a v in vivo systémech není dosud dostatečně prozkoumána.

Játra se brání toxickým vlivům metabolickými pochody spojenými s oxidačním stresem (BREIMER, 1990, CERUTTI, 1985). Významnou roli v těchto procesech hraje terc-Butylhydroperoxidu (t-BHP). Ten může být metabolizován na meziprodukty volných radikálů cytochromem P-450 (v hepatocytech) nebo hemoglobinem (v erytrocytech), které mohou následně iniciovat peroxidaci lipidů, ovlivnit integritu buněk a vytvářet kovalentní vazby. Toto může vést k poškození buněk (RUSH et al., 1985).

CHAU- JONG et al.,(2000) ve výzkumu zjistili, že antokyany obsažené v ibišku měly ochranný vliv na primární hepatocyty v játrech potkanů. Jejich studie in vivo ukázaly, že t-BHP snižuje hladinu (GSH) redukovaného glutathionu v játrech potkanů. Je dobře známo, že GSH je nejdůležitější biomolekulou ochrany proti chemické indukované cytotoxicitě. Existují dvě odlišné dráhy metabolismu t-BHP, jedna je přes cytochrom P- 450, a druhá GSH-peroxidázou která převádí t-BHP na terc-butanol a oxiduje GSH (JOYEUX et al, 1990.; RUSH et al. 1985). Výsledky této studie ukazují, že pigmenty v ibišku vykazovaly antihepatotoxický účinek proti t-BHP-indukované cytotoxicity, pravděpodobně prostřednictvím jejich schopností zhaset volné radikály. CHAU- JONG et al., (2000) dále zjistili, že t-BHP zvyšuje oxidaci lipidů. Výsledky této studie ukázaly, že antokyany v ibišku byly schopny chránit hepatocyty a játra potkanů před oxidačním poškozením způsobeným t- BHP.

### **2.5.1 Antioxidační obranný systém jaterních buněk**

Antioxidační obranný systém jaterních buněk můžeme sledovat podle různých látek v krvi (nebo v různých tkáních). Mezi jinými to může být glutathion, mastné kyseliny a methalotionein.

#### *Glutathionu*

Glutathion je jedním z nejdůležitějších tkáňových antioxidantů u savců (SCHNEIDEROVÁ, 2008). V organismu se vyskytuje ve dvou formách. V redukované formě (GSH) a ve formě oxidované (GSSG). Obě formy přecházejí ve tkáních jedna ve druhou a tvoří tak důležitý redoxní systém (JINDRA et al., 1966). Při snížení hladiny GSH jsou játra citlivá na poškození chemikáliemi, které jsou při normální hladině GSH v játrech spojeny s GSH (MURRAY et al., 2002). Poměr (GSH/GSSG) je indikátorem buněčného zdraví. Dojde-li k oxidačnímu stresu, GSSG se hromadí v játrech a poměr GSH/GSSG se sníží (ANONYM, 2010).

#### *Mastné kyseliny*

Syntéza mastných kyselin probíhá v játrech a ledvinách jako reakce na přítomnost dvojmocných kovových iontů. Ionty těsně váže a tím působí detoxikačně (VOKURKA a HUGO, 2003). Mastné kyseliny jsou tak součástí antioxidačního obranného systému



jaterních buněk (HAIDARA et al., 1999) Prokázalo se, že exprese a indukce mastných kyselin je spojena s oxidačním stresem a apoptózou buněk (SAVKUR a OLSON, IN REJTHAR, 2007).

### *Methalotioneinu*

Methalotionein je protein bohatý na aminokyselinu cystein, která obsahuje síru. Syntetizuje se v játrech a ledvinách. Metalothionein zajišťuje homeostázu. Působí detoxikačně proti těžkým kovům a váže ionty kovů (VOKURKA a HUGO, 2003). Eliminuje hydroxylové radikály a chrání organismus před oxidačním stresem (LIU a THIELE, 2013).

## **2.5.2 Interakce s léky**

Metabolismus cizorodých látek, včetně léků, může být ovlivněn přítomností druhého xenobiotika (v tomto případě antokyanem), dochází k takzvanému fenoménu lékové interakce. Léky a antokyanany se mohou ovlivňovat dvěma způsoby. Prvním způsobem je, že lék inhibuje metabolismus enzymů nebo soutěží o enzym s antokyanem. Druhým způsobem je, že přímo inaktivuje enzymy. Mnoho přírodních a syntetických xenobiotik pochází z potravy (KUME et al. 2012). HENDRYCHOVA et al. (2011) zkoumali účinky antokyanidinů v potravě na společné účinky léků s antokyanany. KAMENICOVÁ et al., (2013) zjistili, že interakce antokyanů přijímaných ve formě potravinových doplňku je minimální nebo žádná.

## **2.6 Využití barevné pšenice**

### **2.6.1 Využití v pěstitelství**

Barevné pšenice s purpurovými a modrými i žlutými znaky mohou být využity pro produkci hybridního osiva s geny rezistence vůči chorobám. Nové odrůdy pšenice rozšiřují stávající nabídku pšenice na trhu a dávají větší možnost výběru nejvhodnějšího druhu pro cílené využití (ZEVEN, 1991). Pro šlechtění se využívají metody křížení a genetických markerů.

## 2.6.2 Využití v potravinářství

U barevných odrůd pšenice s modrým aleuronem a purpurovým perikarpem (ZEVEN, 1991), je z hlediska využití pro potravinářství důležitá jejich technologická a nutriční kvalita. Technologickou kvalitu ovlivňuje technologie a způsob zpracování obilí, hrubost mletí a šetrné zpracování. Na tomto závisí množství a směr uplatnění. V tomto ohledu hraje významnou roli genotyp vybrané pšenice (KLIMUSHINA et al., 2013). Mouka a výrobky z ní, jako je pečivo, jsou denní součástí jídelníčku, šroty krmných dávek hospodářských zvířat. Jedná se o krmné mouky, otruby, celá zrna. Navzdory zájmu výrobců pro získání celozrnné potravin a specialit s potenciálem pro výrobu funkčních potravin, je věnována jen okrajová pozornost hodnocení výkonnosti barevných pšenic v průběhu zpracování a výroby pekárenských výrobků (LI et al., 2007). Jako vhodný kandidát pro přidání funkční potravin do jídelníčku se jeví sušenky, protože patří mezi populární pekařské výrobky a mají dlouhou trvanlivost. Sušenky jsou na rozdíl od ostatních potravin s antioxidačním účinkem jako brusinky, červená řepa a borůvky denní součástí jídelníčku člověka (LI et al., 2007).

## 2.6.3 Funkční potravina

V České republice ani v Evropské Unii neexistuje žádný oficiální dokument, který by „funkční potravina“ definoval a uváděl pravidla a podmínky pro výrobu „funkční potravin“. Existuje však řada předpisů, které ačkoli přímo neuvádějí pojem „funkční potravina“, s potravinami tohoto druhu úzce souvisejí. Jedná se zejména o předpisy týkající se označování potravin (vyzivaspol.cz).

Nařízení (ES) č. 1924/2006 se zabývá pojmy zdravotní tvrzení. Jedná se o: zdravotní tvrzení podle čl. 13 (tzv. „tvrzení funkční“) – tj. zdravotní tvrzení jiná než tvrzení odkazující na snížení rizika onemocnění a na rozvoj a zdraví dětí. O tvrzení tohoto typu se jedná, pokud popisuje nebo odkazuje na:

- význam živiny nebo jiné látky pro růst a vývoj organismu a jeho fyziologické funkce
- psychologické a behaviorální funkce
- snižování nebo kontrolu

(KALÁČ, 2003) definuje funkční potravinu jako potravinu, která kromě výživové hodnoty má i příznivý vliv na zdraví konzumenta, jeho fyzický či duševní stav. Jedná se o potravinu vyrobenou z přirozených složek. Konzumace těchto potravin prokazatelně posiluje obranné mechanismy proti škodlivým vlivům prostředí, působí preventivně proti nemocem, zpomaluje proces stárnutí

Barevné odrůdy pšenice mohou být v potravinářském průmyslu využity jako funkční potraviny. Jsou zdrojem antokyanů. Antokyaniny se vyskytují v obilninách v různém množství a v různých pletivech (ESCRIBANO-BAILON et al., 2004).

## **2.7 Laboratorní potkan**

Laboratorní potkan je prvním zvířetem chovaným pro laboratorní účely. Pro tyto účely byla vyšlechtěna varianta *Rattus norvegicus alba* (KRINKE, 2000). Potkan bývá využíván hlavně ve farmakologii, toxikologii a onkologii. Potkan má své místo i v oblasti experimentální chirurgie. Každé zvíře je nosičem bakterií, virů a parazitů. Proto se používají pro výzkumné účely potkani vyprodukovaní v tzv. SPF a GF chovech. Jedná se o chovy prosté specifikovaných patogenních organismů (Specified pathogen free) a chovy prosté zárodků (Germ free). Zvířata musí být evidovaná a jsou chráněna zákonem proti týrání zvířat (JEBAVÝ, 2011).

Laboratorní potkan je jedním z nejpoužívanějších laboratorních zvířat. Mezi jeho přednosti patří jednoduchá manipulace a snadný chov (BAKER et al., 1980). Jedná se o druh savce, který je dostatečně prostudovaný fyziologicky, anatomicky i farmakologicky (CLARAC et al., 1998).

### **3 CÍL PRÁCE**

Cílem diplomové práce bylo shrnout dosavadní informace o barevných pšenících a zjistit vliv zkrmování purpurové pšenice Konini na antioxidační aktivitu u laboratorního potkana.

## 4 MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Metodický postup

Pokus jsme zahájili ve věku potkanů 7 týdnů, kdy jsme dovezli a naskladnili laboratorní potkany. K pokusu jsme použili 64 samců laboratorního potkana outbreedního kmene Wistar albino, které jsme nakoupili z konvenčního chovu BioTest s.r.o. Konárovice. Pokus jsme provedli v pokusných prostorách ústavu výživy zvířat a pícninářství.

Pokusu předcházelo navykací období, které trvalo 5 dnů, kdy se potkani krmili kompletní granulovanou krmnou směsí BIOSTAN pro hlodavce. Směs obsahovala pšenici, ječmen setý, oves setý, proso seté, vojtěškovou moučku, kukuřici a slunečnici. Chemické složení bylo následující: 92,8 % sušiny, z toho 6,22 % popela, 26,88 % NL, 4,14 % tuku a 3,96 % vlákniny.

64 potkanů jsme rozdělili po 8 kusech do plastových klecí, které byly vybaveny rošty. Průměrná hmotnost potkanů při naskladnění byla 243 g. Potkany jsme rozdělili do 8 skupin tak aby byly skupiny váhově vyrovnané. Individuální hmotnosti potkanů jsou uvedeny v tabulce číslo 3. Součástí klece byly filtrační papíry, krmítka a napáječky o objemu 500 ml. Pod napáječkou byla umístěna Petriho miska, která sloužila k zachycení odkapávající vody. Klece jsme umístili do stojanů. Dvě klece Konini a dvě klece kontroly na každou stranu místnosti.

*Tabulka č. 2: Rozdělení potkanů do skupin*

Skupina	1 kontrola	2 kontrola	3 Konini	4 Konini	5 kontrola	6 kontrola	7 Konini	8 Konini
PP	1	9	17	25	33	41	49	57
LP	2	10	18	26	34	42	50	58
PZ	3	11	19	27	35	43	51	59
LZ	4	12	20	28	36	44	52	60
Z	5	13	21	29	37	45	53	61
O	6	14	22	30	38	46	54	62
H	7	15	23	31	39	47	55	63
BEZ	8	16	24	32	40	48	56	64

Každého potkana jsme označili vyholením na těle a přiřadili mu číslo podle tabulky číslo 2. Klece s potkany jsme rozdělili na kontrolní skupiny (4 klece) a experimentální skupiny (také 4 klece).

*Tabulka č. 3: Hmotnost potkanů při naskladnění*

Skupina	1 kontrola	2 kontrola	3 Konini	4 Konini	5 kontrola	6 kontrola	7 Konini	8 Konini
O	232,7	217	267,7	262,7	245,7	263,4	253	199,7
LP	231,2	268,7	269,2	272	270,3	239,1	211	255,1
LZ	216,3	244,1	245	220	263,2	241,3	253,6	259,3
PP	190,8	263,6	247,5	238	265,5	269,7	255,4	246,3
PZ	220,5	237,6	222,6	240,5	227,2	207,2	269,8	270,8
HL	195,1	215	255,5	251,3	241,6	243,5	225	223,6
Z	225	274,2	213,3	242	209,1	261,8	253,5	265,3

Kontrolní skupinu jsme krmili klasickou kontrolní pšenicí Bohemia a pokusnou skupinu jsme krmili pšenicí Konini (barevnou pšenicí).

Průměrná teplota dosahovala 23,5 ° C a vlhkost 55,7 %. Světelný režim byl nastaven na 16 hodin světla a 8 hodin tmy. Intenzita světla byla maximálně 200 lx.

#### 4.1.1 Krmné směsi

Pro pokus jsme použili purpurovou pšenici Konini s obsahem NL 14,34 %. Pro kontrolní krmivo jsme použili běžnou pšenici odrůdy Bohemia s obsahem NL 11.6 %. Obsah NL byl vyrovnán na stejnou úroveň přidáním lepku (926,2 g pšenice + 0,74 g lepku). VACULOVÁ et al., (2010) uvádějí obsah lepku v Konini 40,5 % v sušině. Lepek pro náhradu nebo doplnění dusíkatých látek u potkanů požíval v pokusech už (GRAY, 1963). Chemické složení krmiva je uvedeno v tabulce číslo 4. Experimentální skupinu potkanů jsme krmili pouze barevnou pšenicí Konini. Metodiku jsme vybrali z důvodu eliminace vlivů jiných antioxidantů, jako jsou vitamíny a některé minerální látky.

Pošrotovanou pšenici Konini jsme smíchali s vodou. Ze vzniklého těsta jsme připravili tyčinky o délce 15 cm a šířce 4 cm. Naskládali jsme je na děrované sušící

rošty a vysušili při teplotě 48 C° po dobu 24 hodin. Stejným způsobem bylo připraveno i krmivo pro kontrolní skupinu. Vychlazené krmivo jsme použili ke krmení. Každý den v osm hodin ráno jsme zvážili nezkrmené zbytky krmiva v krmítkách z předešlého dne a navázili jsme nové krmivo. Krmivo bylo zakládáno do krmítek v ad libitním množství. Denně se navažovalo přibližně 300g ± 20g krmiva.

Tabulka č. 4: Složení krmných dávek

Skupina	Původní sušina %	Popel	Dusíkaté látky	Tuk	Vláknina	Brutto energie
kontrola	89,07	1,79	16,99	1,61	2,39	17,56
Konini	89,11	2,08	15,16	1,83	2,56	17,61

Během pokusu jsme potkany vážili každý 2. den. Potkanům jsme přestýlali 3x týdně. Pokus trval 21 dnů. V den ukončení pokusu jsme potkany zvážili. Každé zvíře jsme uspali anestetikem (isofluran) a odebrali jsme krev punkcí srdce pomocí vakuových heparinových zkumavek. Po provedení odběru jsme potkany usmrtili předávkováním anestetika a odebrali z těla játra. Játra jsme zvážili a polovinu dali do plastických sáčků. Po zvážení jsme játra vložili do označených obalů a zamrazili na -80 C°.

U vzorku jater jsme následovně provedli homogenizaci a přípravu vzorku pro změření antioxidační aktivity. Následovala laboratorní analýza na ústavu chemie a biochemie MENDELU v Brně

## 4.2 Příprava vzorku k chemické analýze

Pro stanovení antioxidační aktivity u laboratorních potkanů jsme použili jaterní tkáň, která byla odebrána a zamrazena při ukončení pokusu. Játra jsme vyjmuli z mrazáku po jednotlivých sáčcích. Jeden plastický sáček obsahoval 8 půlek jater, každá játra byla označena číslem potkana. Vzorky jsme umístili do předem označených

kádinek a ponechali jsme je při laboratorní teplotě do rozmrznutí. Během celé přípravy jsme vzorky chladili a přenášeli na drceném ledě.

Do kádinek jsme přidali jednu lžičku tekutého dusíku. Ten se odpařil a zchladil vzorek. Vzorek v kádince jsme homogenizovali pomocí homogenizátoru (HEIDOLPH DIAX 900). Z takto rozmělněné hmoty jsme odvážili vzorek o hmotnosti 0,2 g do mikrozkušavek Eppendorf (obsah 1,5 ml). Poté jsme do Eppendorfovy zkumavky mikropipetou odměřili 1 ml nově připraveného fosfátového pufru pH 7 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  9.078 g/l +  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  11.876 g/l) vzorek jsme upravili pomocí ultrazvukové jehly (BANDELIN SONOPULS). Pulzy působily 2 minuty. Pomocí pulzů došlo k ještě důkladnějšímu rozbití buněk.

Takto připravené vzorky jsme po 24 kusech vkládali do třepačky (VORTEX-GENIE) na dobu 15 minut v chlazené místnosti (teplota vzduchu 10 °C). Po uplynutí doby jsme zkumavky vyjmuli a přenesli do centrifugy Centrifuge 5417 R a při 4 °C a 25000 rpm (otáčkách) a 30 minut centrifugovali. Ve vzorku se oddělila suspenze od supernatanu. Po centrifugaci jsme odebrali 10 µl supernatantu. K supernatanu jsme přidali 990 µl fosfátového pufru o pH 7 (PBS). Vzorek byl následně denaturován pomocí termoboxu při 99 °C po dobu 20 minut. Po denuraci jsme vzorek opět centrifugován při 4 °C a 25000 rpm po dobu 20 minut. Po centrifugaci jsme odebrali supernatant a podrobili analýze pomocí Autolabu (Methrom).

### **4.3 Chemická analýza vzorku jater**

#### **4.3.1 Stanovení antioxidační kapacity pomocí DPPH testu**

Test DPPH je základní metoda posouzení antiradikálové aktivity. Je založena na schopnosti reakce testované látky se stabilním radikálem difenylpikrylhydrazylem – DPPH (1, 1-difenyl-2-(2, 4, 6-trinitrofenyl) hydrazyl) a s donory vodíku, kdy se radikál redukuje za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). V tomto testu dojde při reakci k odbarvení vzorku. Reakce se měří spektrofotometricky při 517 nm.



$\text{DPPH} \cdot + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH} \cdot -\text{H} + \text{A} \cdot$ ,  $\text{DPPH} \cdot + \text{R} \cdot \rightarrow \text{DPPH} \cdot -\text{R}$  (PAJERO, 2000).

Tato metoda je velmi jednoduchá a rychlá i pro manuální použití. (DOBEŠ, 2012; SOCHOR et al., 2010; ŠULC et al., 2007)

#### 4.3.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou volnými radikály (FR)

Tato metoda je založena na schopnosti chlorofylinu (sodnoměďnaté soli chlorofylu) přijmout a odevzdávat elektrony za stabilní změny maximální absorpce. Metoda vyžaduje alkalické prostředí a přidání katalyzátoru (VORTUBA, 1997). Určovat množství naměřených hodnot absorpce je umožněno kalibrací, která je založena na schopnosti iontů železa přecházet z dvojmocných forem na trojmocné a to v alkalickém prostředí. (DOBEŠ, 2012).

#### 4.3.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP

Podle (SOCHOR, 2010): je FRAP metoda založena na redoxní reakci komplexů 2,4,6-tripyridyl-s-triazin (TPTZ) s hexahdrátem chloridu železitého ( $\text{FeCl}_3 + 6\text{H}_2\text{O}$ ), který je téměř bezbarvý, a nakonec se lehce zbarví dohněda. Tato metoda má svá omezení, a to zejména v měření podle nefyziologických hodnot pH (3,6). Metoda FRAP ukazuje pouze schopnost látek redukovat ion  $\text{Fe}^{3+}$  a proto s celkovou antioxidační aktivitou vzorku nemusí pozitivně korelovat, kromě toho, tato metoda není schopna detekovat pomalu reaktivní polyfenolické sloučeniny a thioly.

#### 4.3.4 Stanovení antioxidační aktivity ABTS testem

ABTS metoda je jednou z nejvíce používaných testů pro stanovení koncentrace volných radikálů. Je založena na neutralizaci radikálových-kationtů vyplývající z oxidace elektronového syntetického chromoforu 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonové kyseliny)

$(\text{ABTS}) \cdot + \text{ABTS} \cdot - \text{e} - \text{ABTS} \cdot +$ .

Tato reakce se sleduje spektrofotometriky změnou absorpčního spektra. Výsledky získané z této metody jsou obvykle přepočteny na koncentraci Trolox® a jsou popsány jako "Trolox® Equivalent antioxidant capacity" (TEAC). Pro chemicky čisté sloučeniny, TEAC je definována jako mikromolární koncentrace Trolox® ekvivalentů prokazující stejnou antioxidační aktivitu jako testované sloučeniny (1 mmol • L<sup>-1</sup> concentration) (Free Radic. Biol. Med, 1999).

Data byla zpracována pomocí aplikace Microsoft Excel (USA) a STATISTICA.CZ verze 10.0 (Česká republika).

#### **4.4 Chemické analýza vzorku krve**

Stanovení antioxidační aktivity krve jsme u metod FR, ABTS, DPPH a FRAP prováděli stejně, jako je popsáno u kapitoly stanovení antioxidační aktivity u jaterní tkáň. Navíc jsme u krve stanovovali celkovou bílkovinu v krvi a metalothionein.

##### **4.4.1 Stanovení celkové bílkoviny**

Stanovení celkové bílkoviny jsme prováděli spektrofotometriky pomocí (BS-400 MINDRAY) s využitím pyrogallové červeně. Podstatou stanovení je vazba pyrogallové červeně s molybdenanem sodným na makromolekulu bílkovin. K vazbě dochází v prostředí jantarového pufru o pH 2,5. Zde dochází k posunu absorpčního maxima z  $\lambda = 460$  nm (čínidlo) na  $\lambda = 600$  nm (komplex činidla s bílkovinou).

Do plastových kyvet jsme napipetovali 150  $\mu$ l směsi reagensů složené z 50 mM kyseliny jantarové; 3,47 mM benzoanu sodného; 0,06 mM molybdenanu sodného; 1,05 mM šťavelanu sodného a 0,07 mM pyrogallové červeně v poměru 1:1. Poté jsme přidali 8  $\mu$ l stanovovaného vzorku). Pro výpočet bylo použito hodnoty absorbance samotné reagensie a hodnoty absorbance po 10 minutové inkubaci se vzorkem.

#### 4.4.2 Stanovení hladiny metalothioneinu

Metalothionein (MT) jsme stanovili pomocí metody diferenční pulzní voltametrie (DPV) s využitím přístroje 694 VA Stand. (METROHM) připojeného k autolab. analyzátoru (ECOCHÉMIE), který pracuje v klasickém zapojení tří elektrod. Jako pracovní elektrodu jsme použili visící rtuťovou kapkovou elektrodu (HMDE) s plochou kapky 0,4 mm<sup>2</sup>. Za pomocnou elektrodu jsme zvolili platinový drátek a referenční elektrodou byla v našem případě argentochloridová elektroda (Ag/AgCl/3M KCl)

Analyzované vzorky jsme před samotným měřením zbavili kyslíku probubláním argonem (99,999%) po dobu 120 sekund. Burdičkův roztok (1mM Co (NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>Cl<sub>3</sub> a 1M amonný pufr (NH<sub>3</sub>(aq) + NH<sub>4</sub>Cl, pH = 9.6), který jsme použili jako základní elektrolyt a vyměňovali jsme ho po každém stanovení. Parametry metody byly následující: počáteční potenciál -0,4 V, koncový potenciál -1.75 V, modulační čas 0,057 s, časový interval 0,2 s, krokový potenciál 2 mV, amplituda 250 mV, objem dávkovaného vzorku 10 μl, celkový objem měřicí cely 2 ml (10 μl vzorku + 1990 μl Brdičkova elektrolytu).

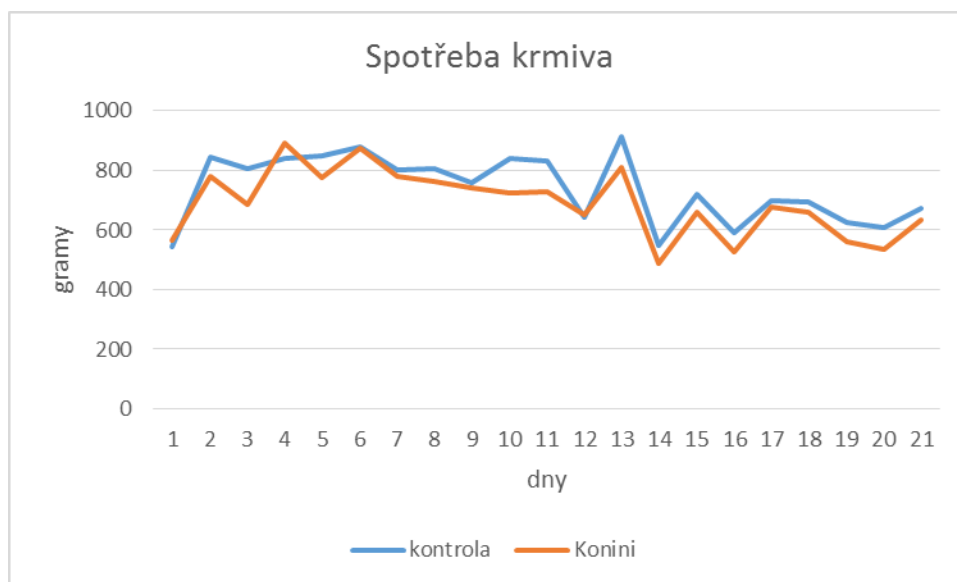
## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Příjem krmiva

Během pokusu jsme zkrmili kontrolní skupině potkanů (n=32) 15,52 kg krmné směsi a pokusné skupině krmené pouze purpurovou pšenicí Konini (n=32) 14,52 kg krmné směsi. Krmítka jsme vážili každý den. Pokusná skupina krmená pšenicí Konini tedy spotřebovala o 1 kg krmné směsi méně, což je o 6,44 % méně.

Denní průměrná spotřeba krmné směsi za celý pokus (21 dnů) činila u pokusné skupiny 691,3 g a u kontrolní skupiny 739,21 g. Denní spotřeba obou skupin je znázorněna v grafu číslo 1.

Graf č.:1 Denní spotřeba krmných směsí



Spotřeba pokusné krmné směsi Konini byla každý den nižší než u kontrolní skupiny. Pouze 4. den spotřebovala pokusná skupina více krmiva a 12. den se spotřeba krmné směsi skoro vyrovnala. Spotřeba krmiva se ke konci pokusu nepatrně snižovala u pokusné skupiny krmené pšenicí Konini i u kontrolní skupiny.

## 5.2 Přírůstky živé hmotnosti

Hmotnost potkanů jsme zaznamenávali vážením každý 2. den. V tabulce číslo 5 jsou zaznamenány průměrné živé hmotnosti pokusných skupin v gramech.

Tabulka č. 5: Průměrná živá hmotnost v gramech

Věk ve dnech	42	44	46	48	50	52	54	56	58	60	62
kontrola	259,1	262,4	271,3	277,2	281,0	287,3	291,6	292,2	301,2	298,9	300,1
Konini	264,4	268,5	274,1	278,0	282,2	288,8	290,0	286,9	299,6	294,4	294,7

Potkani v kontrolní skupině byli na konci pokusu těžší v průměru o 5,38 gramů

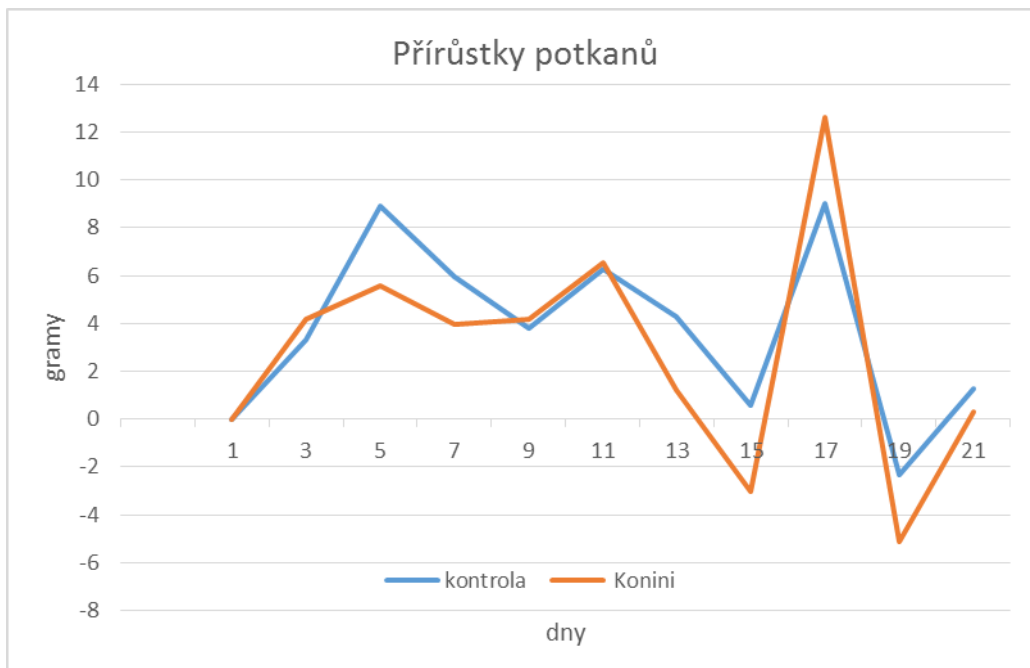
Tabulka č. 6: Přírůstky potkanů během pokusu

Dny pokusu	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
kontrola	0,00	3,32	8,90	5,93	3,82	6,26	4,29	0,58	9,03	-2,33	1,26
Konini	0,00	4,17	5,56	3,94	4,18	6,53	1,20	-3,03	12,64	-5,14	0,33

Tabulka číslo 6 uvádí průměrné přírůstky pokusné skupiny a kontrolní. Skupiny v grafu číslo 2 jde vidět, že pokusná skupina Konini měla během pokusu nižší přírůstky. Změna nastala 17. den, kdy přírůstky pokusné skupiny prudce stouply. Z obou tabulek (5 a 6) vyplývá, že kontrolní skupina měla vyšší přírůstky i vyšší konečnou hmotnost. To odpovídá i vyššímu příjmu krmné směsi.

Nižší přírůstky a celková spotřeba krmiva v našem pokusu mohou být ovlivněny pravděpodobně horší chutností barevné pšenice, kvůli obsahu kyseliny felurové a antokyanů v otrubách. (KEQUAN et al., 2005)

Graf č. 2: Přírůstky u potkanů během pokusného období



Výkyvy přírůstků kopírují výkyvy v příjmu krmné směsi s dvou denním posunem.

## 5.3 Výsledky antioxidační aktivity-Játra

### 5.3.1 Hmotnost jater potkana

Po usmrcení potkanů jsme vypreparovali játra, jejichž hmotnost je zaznamenána v tabulce číslo 7.

Tabulka č. 7: Hmotnost jater

skupina	1	2	3	4	5	6	7	8
PP	1	9	17	25	33	41	49	57
váha	11,2	10,58	7,88	9,79	11,25	11,87	9	8,5
LP	2	10	18	26	34	42	50	58
váha	11,27	9,4	10,61	12,9	11,27	8,2	10,99	7,57
PZ	3	11	19	27	35	43	51	59
váha	9,62	9,61	10,15	10,6	7,5	9,38	9,76	8,35
LZ	4	12	20	28	36	44	52	60
váha	10,09	9,4	11,18	8,24	12,3	9,92	9,41	8,58
Z	5	13	21	29	37	45	53	61
váha	12,88	10,88	9,66	10,22	10,43	9,4	9,96	10,2
O	6	14	22	30	38	46	54	62
váha	12,11	11,74	8,98	11,33	9,79	11,33	9,11	6,45
H	7	15	23	31	39	47	55	63
váha	10,53	9,24	9,7	10,65	10,35	9,51	8,43	9,81
BEZ	8	16	24	32	40	48	56	64
váha	10,14	9,69	9,44	9,64	10,51	8,55	9,8	9,51

V tabulce číslo 7 jsou zaznamenány hmotnosti jednotlivých jater potkanů odebraných při ukončení pokusu v gramech.

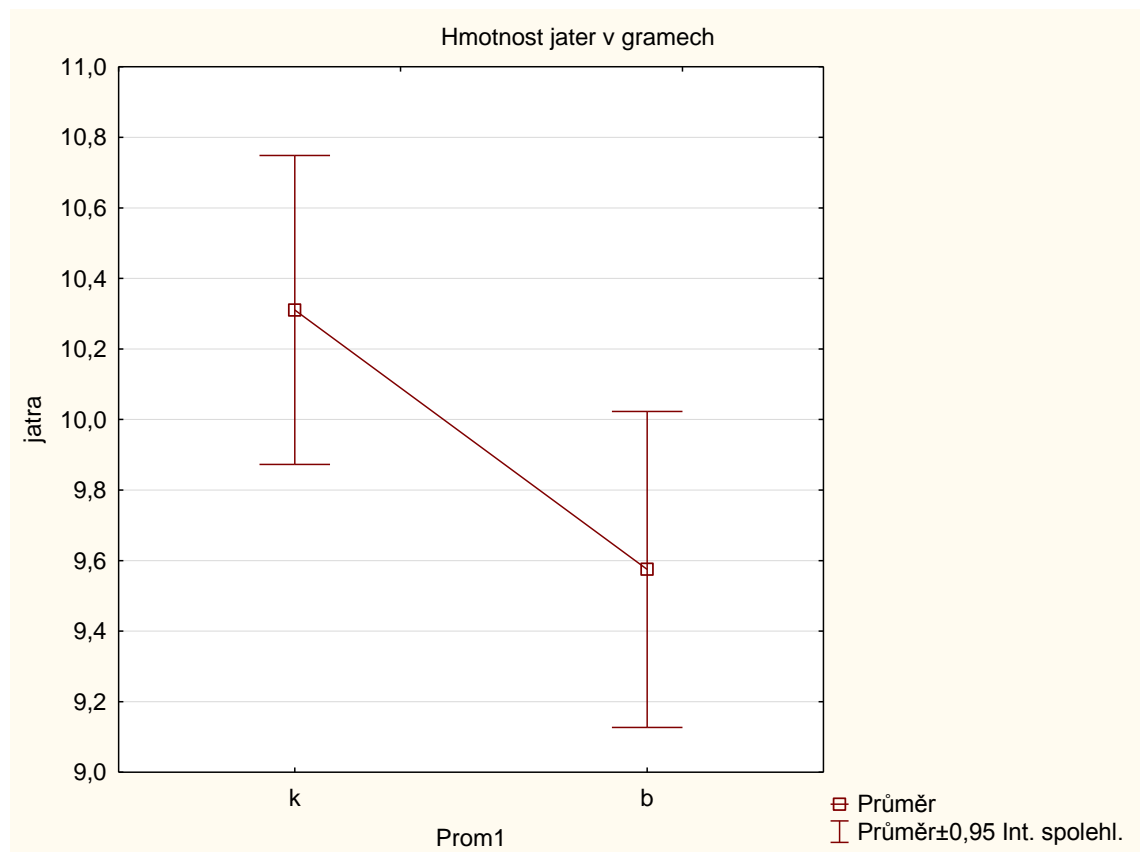
Tabulka č. 8: Průměrná hmotnost jater potkanů

	Průměr	směrodatná chyba
kontrola	10,31 ±	0,21
Konini	9,58 ±	0,22

Průměrná hmotnost jater potkanů krměných pšenicí Konini je o 0,74 g menší než hmotnost jater potkanů krměných klasickou pšenicí. Z toho vyplývá, že játra potkanů krměných barevnou pšenicí byly o 7 % menší než u kontrolní skupiny. V rozdílech hmotnosti jater mezi skupinou Konini a kontrolní skupinou jsou statisticky průkazné rozdílné ( $P < 0,05$ ) při použití Sheffeho testu hodnocením jednofaktorové analýzy variace.

Nižší hmotnost jater je pravděpodobně způsobena ochranným účinkem antokyanů na jaterní buňky. Ochranné účinky na játra potkanů potvrzují také (FANGI HOU et al., 2013) u otrub černé rýže a u ibišku (CHAU JONG et al., 2000).

Graf č. 3: Hmotnost jater



Graf číslo 3 znázorňuje rozdíly průměrných hodnot hmotnosti jater potkanů. V grafu je označena písmenem (k) pokusná skupina a písmenem (b) kontrolní skupina.



### 5.3.2 Výsledky chemické analýzy jaterní tkáně potkana

Antioxidační aktivitu jsme měřili u jater pomocí metod DPPH, FR, FRAP a ABTS. Hodnoty měření jsou uvedeny v tabulce číslo 9. DPPH je vyjádřena v procentu inhibice; FR, FRAP a ABTS hodnoty jsou vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny galové. Sérum/tkán/ měla celkově takový antioxidační potenciál jako koncentrace kyseliny galové. Jednotky jsou v  $\mu\text{g/g}$ . Hodnoty naměřené u purpurové pšenice Konini jsou u všech měření nepatrně vyšší. Výsledky jsou však neprůkazné ( $P < 0,05$ ). Z výsledků vyplývá, že zkrmování barevné pšenice Konini nemělo průkazný vliv na antioxidační aktivitu jater, ale mělo vliv na konečnou hmotnost jater u potkana.

KARÁSEK, (2014) na rozdíl od nás uvádí u barevné pšenice Citrus prokazatelné rozdíly u metody volných radikálů u vykrmovaných brojlerů v jaterní tkáni. Je možné, že potkani na barevné pšenice reagují odlišně než drůbež.

Tabulka č. 9: Výsledky biochemického rozboru jaterní tkáně laboratorních potkanů

	Kontrola		Konini		Průkaznost
	Průměr	Směrodatná chyba	Průměr	Směrodatná chyba	
BIURET g/l	23,11 ±	0,4226	23,14 ±	0,3277	Neprůkazné
DPPH % Inhibice	9,54 ±	0,3486	9,72 ±	0,2376	Neprůkazné
FR mg/l	509,55 ±	19,3356	516,78 ±	22,0329	Neprůkazné
FR/Protein mg/g	21,89 ±	0,5757	22,20 ±	0,7648	Neprůkazné
FRAP mg/l	38,04 ±	0,8917	38,26 ±	0,9246	Neprůkazné
FRAP/Protein mg/g	1,65 ±	0,0283	1,65 ±	0,0249	Neprůkazné
ABTS mg/l	450,87 ±	3,0099	453,27 ±	4,0420	Neprůkazné
ABTS/Protein mg/g	19,66 ±	0,2904	19,67 ±	0,2357	Neprůkazné

## 5.4 Výsledky antioxidační aktivity v krvi potkana

Hodnoty antioxidační aktivity z krve laboratorních potkanů jsme měřili stejnými metodami jako hodnoty u jaterní tkáně. Výsledky jsou zapsány v tabulce č. 10. Jednotky zůstávají také stejné. V tomto případě jsou už některé výsledky průkazné. Metoda FR a FR přepočítaná na gram proteinu a také FRAP a FRAP přepočítaná na gram proteinu vyšly průkazně odlišné ( $P < 0,05$ ). Hodnoty naměřené pomocí FR jsou u Konini vyšší o 27,5 % ( $297,35 \pm 23,94 / 215,57 \pm 12,16$ ) a FR přepočteno na gram proteinu o 25,9 %. Hodnoty naměřené metodou FRAP jsou o 17,1 % vyšší u pokusné skupiny krmené purpurovou pšenicí Konini ( $28,78 \pm 1,35 / 23,86 \pm 1,28$ ) a po přepočtu na gram proteinu o 15,7 %. Hodnota samotného Biuretu je u kontrolní skupiny mírně vyšší, ale neprůkazná. Procento inhibice je u Konini mírně vyšší. Tyto hodnoty společně s ABTS hodnotami vyšly neprůkazné. U vyšetření krve jsme navíc stanovovali metalothionein. Rozdíly mezi skupinami však nebyly statisticky průkazné ( $P < 0,05$ ).

BENDOVIÁ, (2014) zjišťovala antioxidační aktivitu u potkanů krměných pšenicí Citrus a nezjistila také jako my prokazatelné rozdíly v játrech potkanů, ale v krvi uvádí prokazatelné rozdíly stejně jako my. Na rozdíl od Konini však pšenice Citrus měla o 18 % nižší antioxidační aktivitu.

Tabulka č. 10: Výsledky biochemického rozboru krve laboratorních potkanů

	Kontrola		Konini		Průkaznost
	Průměr	Směrodatná chyba	Průměr	Směrodatná chyba	
BIURET g/l	55,13 ±	0,6176	54,38 ±	0,5094	Neprůkazné
DPPH % Inhibice	4,82 ±	0,3838	5,16 ±	0,3347	Neprůkazné
<b>FR mg/l</b>	<b>297,35 ±</b>	<b>23,9352</b>	<b>215,57 ±</b>	<b>12,1645</b>	<b>Průkazné</b>
<b>FR/Protein mg/g</b>	<b>5,31 ±</b>	<b>0,3652</b>	<b>3,94 ±</b>	<b>0,1939</b>	<b>Průkazné</b>
<b>FRAP mg/l</b>	<b>28,78 ±</b>	<b>1,3453</b>	<b>23,86 ±</b>	<b>1,2819</b>	<b>Průkazné</b>
<b>FRAP/Protein mg/g</b>	<b>0,52 ±</b>	<b>0,0244</b>	<b>0,44 ±</b>	<b>0,0251</b>	<b>Průkazné</b>
ABTS ml	426,98 ±	3,7974	424,58 ±	2,5254	Neprůkazné
ABTS/Protein mg/g	7,75 ±	0,0443	7,82 ±	0,0522	Neprůkazné
Metalothionein ug/mg	36,44 ±	0,9034	34,92 ±	0,8966	Neprůkazné

V tabulce číslo 10 jsou zvýrazněny statisticky významné rozdíly.

## 6 ZÁVĚR

V diplomové práci jsme zkoumali, zda má vliv zkrmování purpurové pšenice Konini na antioxidační aktivitu u laboratorního potkana kmene Wistar albino. Dále srovnání purpurové pšenice Konini s běžnou pšenicí odrůdy Bohemia. Krmný pokus probíhal po dobu čtyř týdnů v prostorách Ústavu výživy zvířat a pícninářství. Potkani, kmení kontrolní pšenice, měli nepatrně vyšší přírůstky živé hmotnosti. Konečná hmotnost byla vyšší a i celková spotřeba krmné směsi byla vyšší. Pro chemickou analýzu jsme odebrali vzorky jater a krve. Hodnoty antioxidační analýzy jsme měřili metodami DPPH, FR, FRAP, ABTS. Hodnoty měřené z jater potkanů krmných pšenicí Konini byly sice mírně vyšší, ale rozdíly nebyly průkazné. Z hodnot krve u metody FR a dále FRAP byly průkazné rozdíly. Hodnoty FR jsou u Konini vyšší o 27,5 % a FR přepočteno na gram proteinu o 25,9 %. Hodnoty naměřené metodou FRAP jsou o 17,1 % vyšší u pokusné skupiny krmné purpurovou pšenicí Konini a po přepočtu na gram proteinu o 15,7 % vyšší. Játra potkanů krmných pšenicí Konini byly průkazně o 7 % lehčí než játra kontrolní skupiny. U rozborů krve se antioxidační aktivita barevné pšenice potvrdila.

## **7 SEZNAM TABULEK A GRAFŮ**

### **7.1 Seznam tabulek**

Tabulka č. 1: Hodnoty TAC u kříženců Konini

Tabulka č. 2: Rozdělení potkanů do skupin

Tabulka č. 3: Hmotnost potkanů při naskladnění

Tabulka č. 4: Složení krmných dávek

Tabulka č. 5: Přírůstky živé hmotnosti v gramech

Tabulka č. 6: Přírůstky potkanů během pokusu

Tabulka č. 7: Hmotnost jater

Tabulka č. 8: Průměrná hmotnost jater potkanů

Tabulka č. 9: Výsledky biochemického rozboru jaterní tkáně laboratorních potkanů

Tabulka č. 10: Výsledky biochemického rozboru krve laboratorních potkanů

### **7.2 Seznam grafů**

Graf č. 1: Denní spotřeba krmných směsí

Graf č. 2: Přírůstky potkanů

Graf č. 3: Hmotnost jater v gramech

## 8. OBRÁZKY

### 8.1 Seznam obrázků

- Obrázek č. 1: Chemická struktura antokyanů (zdroj: KAMENICOVÁ et al., 2013)
- Obrázek č. 2: Společná struktura antokyanů a odpovídajících antokyanidů (zdroj: HOSSEINAN et al., 2008)
- Obrázek č. 3: Krmivo Konini a pšenice Bohemia (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 4: Vážení potkana (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 5: Klec (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 6: Barvy zrna u kříženců Konini (zdroj: Cereal Research Communications 41, 2013)
- Obrázek č. 7: Homogenizátor HEIDOLPH DIAX 900 (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 8: Třepačka VORTEX-GENIE (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 9: Ultrazvuková jehla BANDELIN SONOPULS (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 10: Chlazení vzorků (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 11: Centrifuga 5417 R (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 12: Oddělení supernatanu (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)
- Obrázek č. 13: Ependorfovy zkumavky se vzorky (zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)

Obrázek č. 3: Krmivo Konini a pšenice Bohemia



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)

Obrázek č.:4. Vážení potkana



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)

Obrázek č. 5: Klec



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)

Obrázek č. 6: Barvy zrna u kříženců Konini



(zdroj: Cereal Research Communications 41, 2013)

*Obrázek č. 7: Homogenizátor HEI-DOLPH DIAX 900*



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová,  
Ph.D.)

*Obrázek č. 9: Ultrazvuková jehla BANDELIN SONOPULS*



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová,  
Ph.D.)

*Obrázek č. 8: Třepačka VORTEX-GENIE*



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová,  
Ph.D.)

*Obrázek č. 10: Chlazení vzorků*



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová,  
Ph.D.)



Obrázek č. 11: Centrifuga 5417 R



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.)

Obrázek č. 12: Oddělení supernatanu



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová,  
Ph.D.)

Obrázek č. 13. Ependorfovy zkumavky se  
vzorky



(zdroj: Mgr. Ing. Eva Mrkvicová,  
Ph.D.)

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ABDEL-AAL, E. S. M.; ABOU-ARAB, A. A.; CAMEL, T. H.; HUCL, P.; ZOUNY, J. C.; RABALSKI, I.: *Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties*. J. Agric. Food Chem., 2008, 56:11171-11177.
2. ABDEL-AAL, E. S. M.; HUCL, P.: *A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats*. Cereal Chem., 1999, 76:350–354.
3. ABDEL-AAL, E. S. M.; HUCL, P.: *Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat*. J. Agric. Food Chem., 2003, 51:2174–2180.
4. ABDEL-AAL, E. S. M.; YOUNG, J. C.; RABALSKI, I.: *Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains*. J. Agric. Food Chem. 2006, 54:4696–4704.
5. ANDERSEN, O. M.; MARKHARM, K. R.: *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. 1.vyd., Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis, 2006, 1197 s.
6. ANONMY: *Velký lékařský slovník*, dostupný na <http://lekarske.slovníky.cz/>, [cit. 2014-04-22].
7. BAKER, H.; LINDSEY, R.; WEISBROTH, S.: *The Laboratory Rat*. New York: Academic Press, Inc., 1980, ISBN 0-12-074902-5.
8. BARON, J.; SIEBENHANDL-EHN, S.; SYED JAAFAR, S. N. B.; BÖHMDORFER, S.; ROSENAU, T.; GRAUSGRUBER, H.: *Steigerung des Anthocyangehaltes in Blaukorn- × PurpurweizenKreuzungen (Purple wheat – how about more colour? Increase of the anthocyanin content in the crosses of blue and purple coloured wheats)*. 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs. (Proc. of the meeting of plant breeders and seed distributors). Gumpenstein, Austria, 2012, pp.87–90.
9. BLOCK G.: *The data support a role for antioxidants in reducing cancer risk*. Nutrition Reviews, 1992, 50, 207±213.
10. BOLTON, F. E.: *Inheritance of blue aleurone and purple pericarp in hexaploid wheat*. Diss Abstracts. 1968, :19 order No 68-13089: p. 844B Abstract Plant Breeding Abstracts 40 (1970) No 2684

11. CASTANEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M.; L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRIGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A.: *Chemical studies of anthocyanins: A review. In Food Chemistry*. 2009, vol. 113, p. 859-871.
12. CLARAC, F. L.; VINAY, CAZALETS, J.; FADY, J.; JAMON, J.: *Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat*. Brain Research Reviews. 1998, 28(1-2), 35-43. ISSN 0165-0173.
13. CLARK, J. A.: *Improvement of wheat. US Dept. Agric. Yearbook*. 1936, 207–302.
14. COPP, L. G. L.: *Purple grainin hexaploid wheat. Wheat Information Service*. 1965, 18,; 19-20.
15. Český statistický úřad. Odhady sklizně 2014 [online]. Dostupný na [www.czso.cz/csu/czso/odhady-sklizne-operativni-zprava-k-1592014-jlyoga5g8z](http://www.czso.cz/csu/czso/odhady-sklizne-operativni-zprava-k-1592014-jlyoga5g8z)
16. DOBEŠ, J.; *Stanovení biologicky aktivních substancí v rostlinném materiálu*. Dizertační práce, Brno: MENDELU, v Brně, 2012, 106 s.
17. DURČÁKOVÁ, Z.: 2008. *Volné radikály a antioxidanty v medicíně (I)*. Slovak Academic Press. 1998, s. 174. ISBN 80-88908-11-6.
18. DUTHIE, S. J.; JENKINSON, A. M.; CROZIER, A.; MULLEN, W.; PIRIE, L.; KYLE, J.; et al.: *The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers. European Journal of Clinical Nutrition*. 2006, 45(2), 113–122.
19. DYKES L.; ROONEY, L. W: *Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits*. Cereal Foods World, 2007, 52:105–111s.
20. ESCRIBANI-BAILON, M. T.; SANTOSO-BUELAGA C.; RIVAS-GONZOLO, J. C.: *Anthocianins in cereals. Journal of chromatography A*, 1054, 2004:129-141.
21. EVANS, J. A.; JOHNSON, E. J.: *The role of phytonutrients in skin health, Nutrients*. 2, 2010, p. 903-928.
22. FANGLI HOU, RUIFEN, Z.; MINGWEI, Z.; DONGXIAO, S.; ZHENCHENG, W.; YUANYUAN, D.; YAN, Z.; JIANWEI, C.; XIAOJUN, T.: *Hepatoprotective and antioxidant activity of anthocyanins in black rice bran on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. J. of functional Food.*, 5 (2013) 1705-1713.
23. GARRIDO-LESTACHE, E.; LOPEZ-BELLIDO, R. J.; LOPEZ-BELLIDO, L.: 2004, *Field Crops Res.* 85:213-236.

24. GEORGIO, R. J.; BRISSON, G. J.; STLAURENT, G. J.; BELZINE, R. J.; 1976, Canadian J. Cereal Sci. 22: 45-51.
25. GRAY, I.: *Lysine deficiency and host resistance to anthrax*. J. Exper. Med., 1963, 117: 497-508.
26. HARBORNE, J. B.; GRAYER, R. J.: *The anthocyanins*. In *The Flavonoids*, ed. J. B. Harborne. 1988, pp. 1±20. Chapman & Hall, London.
27. HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A.; *Anthocyanins and other flavonoids*. Nat Prod Rep 2001, 18:310–333
28. HAIDARA, K.; MOFFATT, P.; DENIZEAU, F.: *Metallothionein induction attenuate the effects of glutathione depletors in rat hepatocytes*. Toxicol Sci. [Online]. 1999, 49(2): 297-305. [cit. 2013-02-11]. Dostupné na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10416275>.
29. HE, J. A.; GIUSTI, M. M.: *Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties*. Annu. Rev. Food Sci. Technol, 2010, 1,163–187.
30. HENDRYCHOVA, T.; ANZENBACHEROVA, E.; HUDECEK, J.; SKOPALIK, J.; LANGE, R.; HILDEBRANDT, P.; OTYEPKA, M.; ANZENBACHER, P.: *Flexibility of human cytochrome P450 enzymes: molecular dynamics and spectroscopy reveal important function-related variations*. Biochim. Biophys. Acta, 2011, 1814, 58–68.
31. HERTOOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.: *Dietary anti-oxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study*. Lancet, 1993, 342, 1007±1011.
32. HIMI, E.; NODA, K.: 2004. J Exp Bot., 55: 365-375.
33. HO, C. T.: *Phenolic compounds in food: an overview*. In *Phenolic compounds in Food and Health II: Anti-oxidants and Cancer Prevention*, ed. M. T. Huang C. T. Ho and C. Y. Lee. American Chemical Society Symposium Series . 1992, 507, pp. 2±7, American Chemical Society, Washington, DC.
34. HOLEČEK, V.: *Volné radikály a antioxidanty*. Celostatnimedicina.cz [Online]. 2005, [cit. 2012-03-12]. Dostupné na: <http://www.celostnimedicina.cz/volne-radikaly-a-antioxidanty-mudr-vaclav-holecek-csc.htm>
35. HOSSEINIAN, F. S.; BETA, T.: *Saskatoon and wild blueberries have higher anthocyanin contents than other Manitoba Berries*. J. Agric. Food Chem., 2007, 55:10832-10838.

36. HOSSEINIAN, F. S.; LI, W.; BETA, T.: *Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. Food Chem.* 2008, 109:916–924.
37. HOU, D. X.; FUJII, M.; TERAHARA, N.; YOSHIMOTO, M.: *Molecular mechanisms behind the chemopreventive effects of anthocyanidins. J Biomed Biotechnol.*, 2004, :321–325.
38. HUANG, M. T.; FERRANO, T.: *Phenolic compounds in food and cancer prevention. In Phenolic Compounds in Food and Health II: Antioxidants and Cancer Prevention, ed. M. T. Huang C. T. Ho C. Y. Lee. American Chemical Society Symposium Series, 1992, 507, pp. 8±34, American Chemical Society Washington, DC.*
39. CHAU-JONG, WANG.; JIN-MING, WANG1.; WEA-LUNG, LIN.; CHIA-YIH, CHU.; FEN-P, CHOU.; TSUI-HWA, TSENG.: *Protective Effect of Hibiscus Anthocyanins Against tert-butyl Hydroperoxide-induced Hepatic Toxicity in Rats.* 2000. *Food and Chemical Toxicology*, 38 (2000) 411±416.
40. JARÁBKOVÁ, Z.; PŠENÁKOVÁ, I.: *Izolácia endofytických mikroorganizmov ako producentov antokyánov.* *Nova Biotechnologica*, 2004, 4/1, s. 199-208.
41. JEBAVÝ, L.: *Chov laboratorních zvířat: [učební text pro vyučovaný předmět Chov laboratorních zvířat]. Vyd. 1. Praze:Česká Zemědělská univerzita, 2011 s. 50. ISBN 978-80-213-2178-6.*
42. JINDRA, A.; SIPAL, Z.; KOVÁCS, P.: *Učebnice biochemie pro farmaceuty. 1. vyd. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství. 1966, ISBN 08-061-66. 39, 64 s.*
43. JOYEUX, M.; ROLLAND A.; FLEURENTIN, J.; MORTIER, F.; DORFMAN, P.: *Tert-Butyl hydroperoxide-induced injury in isolated rat hepatocytes: a model for studying antihepatotoxic crude drugs. Planta Medica.* 1990, 56, 171±174.
44. KALAČ, P.: *Funkční potraviny: kroky ke zdraví. České budějovice. DONA, 2003, 130 s. ISBN 80-7322-029-6.*
45. KAMENICKOVA,A.; ANZENBACHEROVA, E.; PAVEK,P, A A.; SOSHILOVD, M. S.; DENISON, ANZENBACHER, P.; DVORAKA, Z.; *Pelargonidin activates the AhR and induces CYP1A1 in primary human, Toxicology Letters.* 218 (2013) 253– 259.
46. KARÁSEK, F.: *Zkrmování pšenice Citrus u brojlerů.* Diplomová práce 2014, MENDELU.

47. KAUME, L.; HOWARD, L. R.; DEVAREDDY, L. *The blackberry fruit: areview on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits*. J. Agric. Food Chem., 2012, 60, 5716–5727.
48. KEQUAN Z.; PARRY J. W.; YU L.: *In: Shahidi F., Ho C. T. (Eds,) American Chemical Society*. Washington, 2005, 10-18.
49. KHLESTKINA, E. K.; PESTSOVA, E. G.; ODER, M. S. R.; ORNER, B.; *Molecular mapping, phenotypic expression and geographical distribution of genes determining anthocyanin pigmentation of coleoptiles in wheat (Triticum aestivum L.)*. Theor Appl Genet, 2002, 104: 632–637.
50. KLIMUSHINA, M. V.; DIVASHUK, M. G.; MOHAMMED, T. K.; SEMENOV, O. G.; KARLOV, G. I.: 2013, Russ. J. Genet. 49:530-538.
51. KRINKE, G. J.; *The Laboratory Rat*. London: Academic Press, 2000, ISBN 0-12-426400-X.
52. LACHMAN, J; DUJDAK, J.; ORSÁK, M.; PIVEC, V.: *Plant Soil Environ*. 200349:1-7.
53. LAMY, S.; BLANCHETTE, M.; MICHAUD-LEVESQUE, J.; LAFLEUR, R.; DUROCHER, Y.; MOGHRABI, A.; BARRETTE, S.; GINGRAS, D.; BELIVEAU, R.: *Delphinidin, a dietary anthocyanidin, inhibits vascular endothelial growth factor receptor-2 phosphorylation*. Cancerogenesis, 2006, 27:989–996.
54. LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E.: *Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study*. Journal Association of Official Analytical Chemists International, 2005, 88(5), 1269–1278.
55. LIU Q.; QIU Y.; BETA T.: J. Agric. Food. Chem. 2010, 58:9235-9241.
56. LIU, X. D.; THIELE, D. J.: *Oxidative stress induced heat shock factor phosphorylation and HSF-dependent activation of yeast metallothionein gene transcription*. *Genes & Dev*. [Online]. 1996, 10: 592-603. [cit. 2013-02-11]. Dostupné na: <http://genesdev.cshlp.org/content/10/5/592.short>
57. LIYANA-PATHIRANA, C. M.; SHAHIDI, F.: *Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006,54(4), 1256–1264.
58. LI, W. D.; BETA, T.: *Flour and bread from black-, purple-, and blue colored whears*. *In Preedy, V.R.,, Watson, RR., Patel, V. (eds), Flour and Breads and*

- their Fortification in Health and Disease. Academic Press, London, UK, 2011, pp. 59-67.*
59. LI, W.; PICKARD, M. D.; BETA, T.: *Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran.* Food Chemistry, 2007, 104, 1080–1086.
  60. LI, X. P.; LAN, S. Q.; LIU, Y.P.: *Study on pigment and its related physiobiochemical properties of blue or purple grain wheat.* Acta Agr. Simica 2003, 29:157-158. (in Chinese).
  61. MARNE, L.; SHERMAN, DAVID, D.: *Barnum, Erik Nyberg and Adam Buhman-Wiggs.* (Psychological Services, 2008,[Nov], Vol 5[4], 332-340) <http://psycnet.apa.org/index.cfm?fa=search.displayRecord&uid=2008-16478-003>.
  62. MATOUŠ, I.; MATOUŠOVÁ, M.: *Volné radikály a antioxidanty.* Empatia.cz. [Online]2008.[cit.2012-03-12].Dostupné na <http://aquarion.empatia.cz/prekyseleni/radikaly.htm>.
  63. MAZZA, G.; MINIATI, E.; 1993, *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains.* CRC Press Incorporation J Chromatogr, Boca Raton
  64. MAZZA, G.; CACACE, J. E.; KAY, C. D.: *Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids.* Journal Association of Official Analytical Chemists International, 2004, .87(1), 129–145.
  65. MAZZA, G.; *Anthocyanins and heart health.* Annali dell’Istituto Superiore di Sanita 2007, 43:369–374
  66. MCINTOSH, R. A. Y.; YAMAZAKI, K. M.; DEVOS, J.; DUBCOVSKY, J.; ROGERS, R.; APPELS,: 2003. *Catalogue of Gene Symbols for Wheat.* <http://www.grs.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/>.
  67. MILDER, I .E.; ARTS, I. C.; PUTTE, V.; VENEMA, D. P.; HOLLMAN, P. C.: *Lignan contents of Dutch plant foods: A database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matiaresinol.* 2005, Brit. J. Nutr., 93:393-402.
  68. MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W.: *Harperova Biochemie. 4. české vyd. Praha: H&H, 2002, ISBN: 80-7319-013-3. 216, 122, 156, 157, 624, 636, 704 s.*
  69. NELSON, J. C. M. E.; SORRELLS, A. E.; VAN-DEYNZE, Y .H.; LU, M. ATKINSON, M.; BERNARD, P.; LEROY, J .D.; FARIS, ANDERSON, J. A.:

- Molecular mapping of wheat. Major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7.* 1995, *Genetics*, 141: 721–731.
70. NEWMARK, H. L.: *Plant phenolic compounds as inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. In Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II: Anti-oxidants and Cancer Prevention, ed. M. T. Huang C. T. Ho C. Y. Lee.* American Chemical Society Symposium Series, 1992, 507, pp. 48±52, American Chemical Society, Washington, DC.
71. PAREJO, L. et. al., *Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH center dot (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay.*, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 2000, 44, pp. 507-512.
72. PIECH, J.; EVANS, L.E.; *Monosomic analysis of purple grain colour in hexaploid wheat. Z Pflanzenzuchtg.* 1979,82: 212–217.<http://www.vyzivaspol.cz/clanky-casopis/funkcni-potraviny-a-legislativa.html>.
73. REUTERS, W. D.: *Wheat takes a walk ant he wild side.* *Science*, 2006, 11.24.
74. RE, R., et. al.; *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radic. Biol. Med.,*1999, 26, pp. 1231-1237. SOCHOR, J., et. al., *Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages, Molecules,* 2010, 15, p. 8618-8640, ISSN: 1420-3049.
75. RUSH, G. F.; GORSKI, J. R.; RIPPLE, M. G.; SOWINSKI, J.; BUGELSKI, P.; HEWITT, W. R.: *Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes.* *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1985, 78, 473±483.
76. SCHNEIDEROVÁ, P.: *Metionin je u brojlerů silným antioxidantem. Feed Mix.* [Online]. 2008, 16 (2): 10-12.[cit. 2012-03-05]. Dostupné na:
77. SCHWINN, K. E.; DAVIES, K. M.: *FLAVONOIDS. IN: K. M. DAVIES (ED), Plant Pigments and Their Manipulation.* 2004, 92—149. Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
78. SHARMAN, B. C.; *Purple pericarp': A monofactorial dominant in tetraploid wheats.* *Nature* ,1958, 181: 929.
79. SIEBENHANDL, S.; GRAUSGRUBER, H.; PELLEGRINI, N.; DEL RIO, D.; FOGLIANO, V.; PERNICE, R.; BERGHOFER, E.. *Phytochemical profile of*



- main antioxidants in different fractions of purple and blue wheat, and black barley.* J. Agric. Food Chem., 2007, 55:8541–8547.
80. SOCHOR J., et. al., *Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages*, *Molecules*, 2010, 15, pp. 8616 – 8640. ISSN: 1420-3049.
  81. SURAI, P. F.: *Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*. 1.vyd. Nottingham University Press, 2002, ISBN 1-897676-95-6. 5, 280 s.
  82. ŠTÍPEK, S. et al., *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. Praha: Grada, 2000, 314 s., ISBN: 80-7169-704-4.
  83. STRAKOVÁ, P.; *Stanovení fenolických látek a antioxidační aktivity v různých druzích vín*. Diplomová práce, Brno: MENDELU, v Brně, 2008, 71 s.
  84. ŠULC, M.; LACHMAN, J.; HAMOUZ, K.; ORSÁK, M.; DVOŘÁK, P.; HORÁČKOVÁ, V.: *Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor*. Chem. Listy, 2007, 101, 584-591.
  85. TROJAN, V.; MUSILOVÁ, M.; VYHNÁNEK, T.; KLEJDUS B.; HANÁČEK, P.; HAVEL, L.: *Chalcone synthase expression and pigment deposition in wheat with purple and blue colored caryopsis*. J Cereal Sci., 2014, 59:48–55.
  86. TSUDA, T.; SHIGA, K.; OHSHIMA, K.; KAWAKISH, S.; OSAWA, T.: *Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from Phaseolus vulgaris L.* Biochemical Pharmacology, 1999, 52, 1033±1039.
  87. VACULOVÁ, K.; JIRSA, O.; MARTINEK, P.; BALOUNOVÁ, M.: *Hodnocení kvality zrna vybraných vzorků netradiční pšenice a bezpluchého ječmene*. Obilnářské listy, 3/2010.
  88. VARGA, M. J.; BÁNHIDY, L.; CSEUZ, MATUZ, J.: *The Anthocyanin Content of Blue and Purple Coloured Wheat Cultivars and their Hybrid Generations*. Cereal Research Communications 2013, 41(2), pp. 284–292.
  89. VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin, 3. díl*, OSSIS Tábor, 1999, 342 s., ISBN: 80-902391-5-3.
  90. VOKURKA, M.; HUGO, J.: *Velký lékařský slovník. 3. vyd.* Praha: Maxdorf, 2003, .ISBN: 978-80-7345-166-0. 25, 105, 552, 639, 737 s.  
s.<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=1&typ=1&val=81116&ids=123>.

91. VOTRUBA, M.; et. al.: *A simple method for quantitative estimation of free radicals in serum*, *Klin. Biochem. Met.*, 1999, 7, PP. 96-101.
92. WANG, L. S.; STONER, G. D. *Anthocyanins and their role in cancer prevention*. *Cancer Lett.*, 2008, 269, 281–290.
93. ZÁBRANSKÝ, T.: *Objeven pravděpodobný mechanismus poškození mozku metamfetaminem (pervitinem)*. *Adiktologie.cz*. [Online]. 2006. [cit. 2012-04-16]. Dostupné na: <http://www.adiktologie.cz/cz/articles/detail/78/550/Objeven-pravdepodobny-mechanismus-poskozeni-mozku-metamfetaminem-pervitinem>.
94. ZEVEN, A. C.: *Wheats with purple and blue grains: a review*, *Euphytica*, 56 (3), 1991, p. 243-258.
95. ZIMOLKA, J.; et al.: *Speciální produkce rostlinná- rostlinná výroba: (polní a zahradní plodiny, základy pícninářství)*. 2. nezm. vyd. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita Brno, .2008, 245 s.