

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ



KATEDRA FARMAKOGNOZIE

OBSAH ANTHOKYANIDINŮ A JINÝCH BARVIV
V KOMERČNĚ DOSTUPNÝCH LÉCÍCH A DOPLŇCÍCH
STRAVY

HANA KARANSKÁ

Vedoucí katedry: Doc. RNDr. Jiřina Spilková, CSc.

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Jan Martin, Ph.D.

Datum zadání: 26. 2. 2013

Datum odevzdání: 15. 5. 2015

Datum obhajoby: 4. 6. 2015

Oponent diplomové práce: PharmDr. Jana Karličková, Ph.D.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Děkuji svému školiteli PharmDr. Janu Martinovi za jeho pomoc, odborné vedení, cenné rady a trpělivost při vypracování této diplomové práce.

Hana Karanská

1. OBSAH

1.	OBSAH	5
2.	ÚVOD	7
3.	CÍL PRÁCE.....	9
4.	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
4.1.	Názvosloví a struktura	10
4.2.	Biosyntéza anthokyanidinů.....	12
4.3.	Výskyt anthokyanů a anthokyanidinů	15
4.4.	Přírodní zdroje anthokyanů, anthokyanidinů.....	15
4.4.1.	Brusnice borůvka	15
4.4.2.	Ostružiník maliník (Maliník obecný).....	16
4.4.3.	Ostružiník křovitý	17
4.5.	Biologické účinky anthokyanů a anthokyanidinů.....	18
4.5.1.	Antioxidační účinek	18
4.5.2.	Antibakteriální účinek.....	19
4.5.3.	Antikarcinogenní účinek.....	20
5.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
5.1.	Použité chemikálie a přístroje.....	22
5.1.1.	Chemikálie	22
5.1.2.	Přístroje a pomůcky	22
5.2.	Výběr přípravků a rostlinného materiálu.....	23
5.2.1.	Popis vybraných potravinových doplňků.....	23
5.2.2.	Popis ovocných šťáv a džusů.....	26
5.2.3.	Analyzovaný materiál	27
5.2.4.	Sběr a příprava	28
5.3.	Extrakce vzorků	28

5.3.1. Doplnky stravy a sušené ovoce.....	28
5.3.2. Tekuté vzorky - džusy a ovocné šťávy	29
5.3.3. Čerstvé ovoce.....	30
5.4. Metodika HPLC stanovení extraktů	31
5.4.1. HPLC analýza	31
5.4.2. Validace HPLC analýzy.....	32
5.5. Statistické zpracování výsledků.....	33
6. VÝSLEDKY	34
7. DISKUZE.....	42
8. ZÁVĚR.....	47
9. LITERATURA.....	48
10. ABSTRAKT	52
ABSTRACT	53

2. ÚVOD

Ovoce má v dnešní době významnou roli. Můžeme na něj nahlížet nejen z hlediska výživového, ale také z hlediska jeho účinků na zdraví a organismus člověka. Díky své rozmanitosti obsahových látek je vyhledávanou součástí stravy. Pro svůj obsah monosacharidů a disacharidů je zdrojem energie například pro sportovce a fyzicky pracující. Tím, že se jedná o přírodní cukry, organismus není tolik zatížen jejich odbouráváním a jsou tedy rychlým a kvalitním zdrojem energie pro tělo. Opatrnosti je však nutné dbát u lidí trpících diabetem, u kterých vysoký obsah jednoduchých cukrů ve stravě vede k rychlému zvýšení hladiny glukózy v krvi, a k případné hyperglykemii. Další důležitou částí je obsah minerálních látek, které přispívají ke správnému chodu organismu. Ovoce je rovněž vnímáno jako zásadní zdroj vitamínů, které si lidské tělo povětšinou nedokáže samo syntetizovat, a proto musí být přijímány potravou. Účinky vitamínů jsou rozmanité. V ovoci je také vysoký podíl vlákniny, která napomáhá správné funkci trávicího traktu. V dnešní době sedavého zaměstnání a stravy v podobě rychlého občerstvení je příjem vlákniny opomíjen, což přispívá k rozvoji problémů trávicího traktu a následně možným zdravotním komplikacím. V ovoci lze nalézt i řadu stopových prvků, které mají schopnosti ovlivňovat fyziologické funkce lidského těla. Látky obsažené v plodech ovocných stromů a keřů jsou proto jen těžko nahraditelnou součástí dnešních léků, a to jak moderní západní medicíny, tak i tradiční čínské.

Léčivých účinků ovoce si naši předci všimli již před tisíci lety. Ovoce tak bylo využíváno při léčbě v dobách, kdy medicína byla ještě v zárodku, nedostupná pro většinu populace a farmacie, jako taková, neexistovala. Až s nástupem chemie se vědci začali složením jednotlivých částí rostlin zabývat podrobněji. Snažili se, a i nadále se snaží, léčebné schopnosti analyzovat a identifikovat látky, které jsou za ně zodpovědné. Pokud nalezené struktury vzbudily zájem v oblasti farmacie či v různých odvětvích průmyslu, nastala snaha modifikací struktur ovlivnit jejich farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti. Přírodní látky z rostlinných částí daly základ v dnešní době vyráběným syntetickým či polosyntetickým preparátům, se kterými se denně setkáváme. Uvádí se, že za posledních 20 let až

61 % nových aktivních substancí pochází z přírodních produktů anebo jejich příprava byla těmito produkty inspirována. (1)

Rostliny mají schopnost díky stavbě a struktuře svých buněk a celého těla koncentrovat v sobě látky, které se nazývají sekundární metabolity, což jsou látky vznikající na základě specializovaných procesů probíhajících v dané rostlině, její části či buňkách. Každý taxon vyšších rostlin má zpravidla jednu skupinu chemicky příbuzných látek, která v něm převažuje a bývá doprovázena dalšími vedlejšími látkami. (1)

Tato práce se věnuje zejména anthokyanům a anthokyanidinům. Anthokyaniny jsou součástí velké nadskupiny flavonoidů. Jsou to ve vodě rozpustná, přirozeně se vyskytující barviva, která jsou pravděpodobně jedny z nejdůležitějších potravinářských barviv. Je všeobecně známo, že anthokyaniny obsažené v potravinách nemají žádné toxické, teratogenní a mutagenní vlastnosti, a to i ve vysokých dávkách. (2)

Účinky anthokyanidinových a anthokyanových barviv jsou především antioxidační. Díky tomu jsou hojně využívány při prevenci oxidačního stárnutí buněk, působení volných radikálů na organismus, a při prevenci nádorových, srdečních a zánětlivých onemocnění. Významně také podporují imunitní systém člověka. (3), (4)

Díky těmto účinkům se dnes s látkami charakteru anthokyanů a anthokyanidinů můžeme setkat i v průmyslově připravovaných substancích, které jsou distribuovány jako potravinové doplňky nebo léčivé přípravky.

3. CÍL PRÁCE

Práce s názvem „Obsah anthokyanidinů a jiných barviv v komerčně dostupných lécích a doplňcích stravy“ se zabývá zjištěním reálného obsahu anthokyanidinů a anthokyanů v ovoci, běžně dostupném v přírodě, džusech se kterými se lze setkat denně v obchodech a v potravinových doplňcích, které lze zakoupit v lékárnách či prodejnách s tímto sortimentem.

Cíl práce:

- získání materiálů pro analýzu
- úprava materiálů pro analýzu
- identifikace a kvantifikace anthokyanů a anthokyanidinů pomocí metody HPLC
- vyhodnocení dat na základě získaných údajů
- porovnání získaných hodnot u komerčně dostupných preparátů s hodnotami deklarovanými výrobcem (byly-li k dispozici)

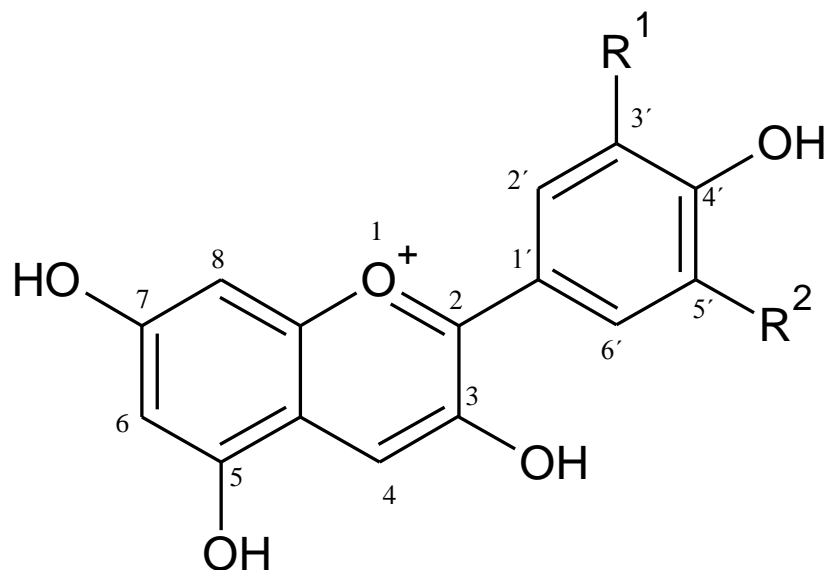
4. TEORETICKÁ ČÁST

4.1. Názvosloví a struktura

Slovo anthokyan vzniklo z řeckého *anthos*= květ a *kyaneos*= modrý. Anthokyaniny jsou též nazývány anthokyaniny. Jedná se o nejrozšířenější skupinu rostlinných barviv z nadskupiny flavonoidů. Anthokyaniny jsou glykosidy různých aglykonů (aglykon je necukerný zbytek glykosidu), které se nazývají anthokyanidiny. Dnes je již identifikováno asi 500 anthokyanů a 23 anthokyanidinů, z nichž v cévnatých rostlinách se vyskytuje šest nejčastějších. (5), (6), (7) A to je kyanidin, název vychází z latinského pojmenování chrpy (*Cyanus spp.*) a jeho barva je fialová. Dále pak pelargonidin, který je odvozen od pelargonie (*Pelargonium spp.*) a má barvu šarlatově červenou. Peonidin od pivoňky (*Paeonia spp.*) barvy fialové. Delfinidin je odvozen od stračky (*Delphinium spp.*) s barvou purpurově modrou. Petunidin s předlohou petunie (*Petunia spp.*), který je také purpurově modrého zbarvení. Malvidin odvozený od slézu (*Malva spp.*) jehož barva je purpurová. (6), (8)

Základní strukturou anthokyanidinů je flavyliový kationt, což je z chemického hlediska derivát 2 - fenylobenzopyryliových solí (viz obr. 1). (6), (8), (9) Jednotlivé anthokyanidiny se liší substitucí v polohách R1 a R2. Jednotlivé substituce základního heterocyklu jsou zaznamenány v tabulce č. 1.

Obrázek č. 1: Základní struktura anthokyanidinů



Tabulka č.: 1: Substituce základního cyklu jednotlivých anthokyanidinů.

(8)

ANTHOKYANIDIN	R1	R2
Pelargonidin	H	H
Kyanidin	OH	H
Delfinidin	OH	OH
Peonidin	OCH3	H
Petunidin	OCH3	OH
Malvidin	OCH3	OCH3

Volné aglykony anthokyanidinů se v rostlinných pletivech vyskytují jen zřídka. Jedná se o stopové produkty hydrolýzy anthokyanů nebo látky vzniklé z leukoanthokyanidinů. (6)

Další součástí struktury anthokyanů je sacharid. Je-li na struktuře jednoho aglykonu navázána jedna molekula sacharidu, hovoříme o monoglykosidech. Pokud jsou na jedné molekule aglykonu navázány dvě molekuly sacharidu, hovoříme o diglykosidech. (10) Součástí struktury anthokyanů je pět druhů: D - glukóza (nejčastější), L - rhamnóza, D - galaktóza,

D - xylóza, L - arabinóza. Tyto sacharidy jsou na základní skelet nejčastěji vázány v poloze C3. Pokud je glykosylována další hydroxylová skupina, jedná se o skupinu v poloze C5, kde bývá vázána nejčastěji glukóza nebo rhamnóza. (6)

Je-li hydroxylová skupina v poloze C3 volná bez navázaného cukru, dochází k destabilizaci cyklu, což může mít za následek rozpad molekuly či její inaktivaci a nevratnou ztrátu barvy. (6)

Sacharidy, převážně v poloze C3, často podléhají dalším modifikacím. Jednou z nich je například acylace kyselinou p - kumarovou, kávovou a ferulovou v menší míře pak kyselinou skořicovou. (11)

Pokud bychom hodnotili procentuální zastoupení již zmíněných šesti anthokyanidinů v ovoci a zelenině, je nejčastěji se vyskytujícím anthokyanidem kyanidin (50 %), následně delphinidin, pelargonidin a peonidin (všechny shodně po 12 %), a nakonec petunidin a malvidin (oba po 7 %). V přírodě jsou nejvíce rozšířené deriváty 3 - monoglykosidů dále pak 3,3 -, 3,5 - a 3,7 - diglykosidů. Výskyt 3 - glykosidových derivátů je však 2,5x častější než výskyt 3,5 - diglykosidů. Kyanidin – 3 - glykosid je nejčastěji se vyskytující anthokyan. (7)

4.2. Biosyntéza anthokyanidinů

Biosyntéza anthokyanidinů vychází ze syntézy flavonoidů. Základem je aminokyselina L - fenylalanin (případně L - tyrosin), ze které se deaminací pomocí enzymu fenylalaninaminolyázy vytvoří karboxylová kyselina. Z karboxylové kyseliny se vlivem 4 - coumaroylCoAligázy vytváří příslušné CoA - estery. Díky následujícímu enzymu, chalconsyntáze, vzniká chalkon, který prostřednictvím chalconisomerázy poskytuje flavonon.

Z flavononu vzniká účinkem flavonon – 3 - hydroxylázy dihydroflavonol, který je základním kamenem pro vznik anthokyanidu. Dihydroflavonol může být konvertován na 3 různá barviva.

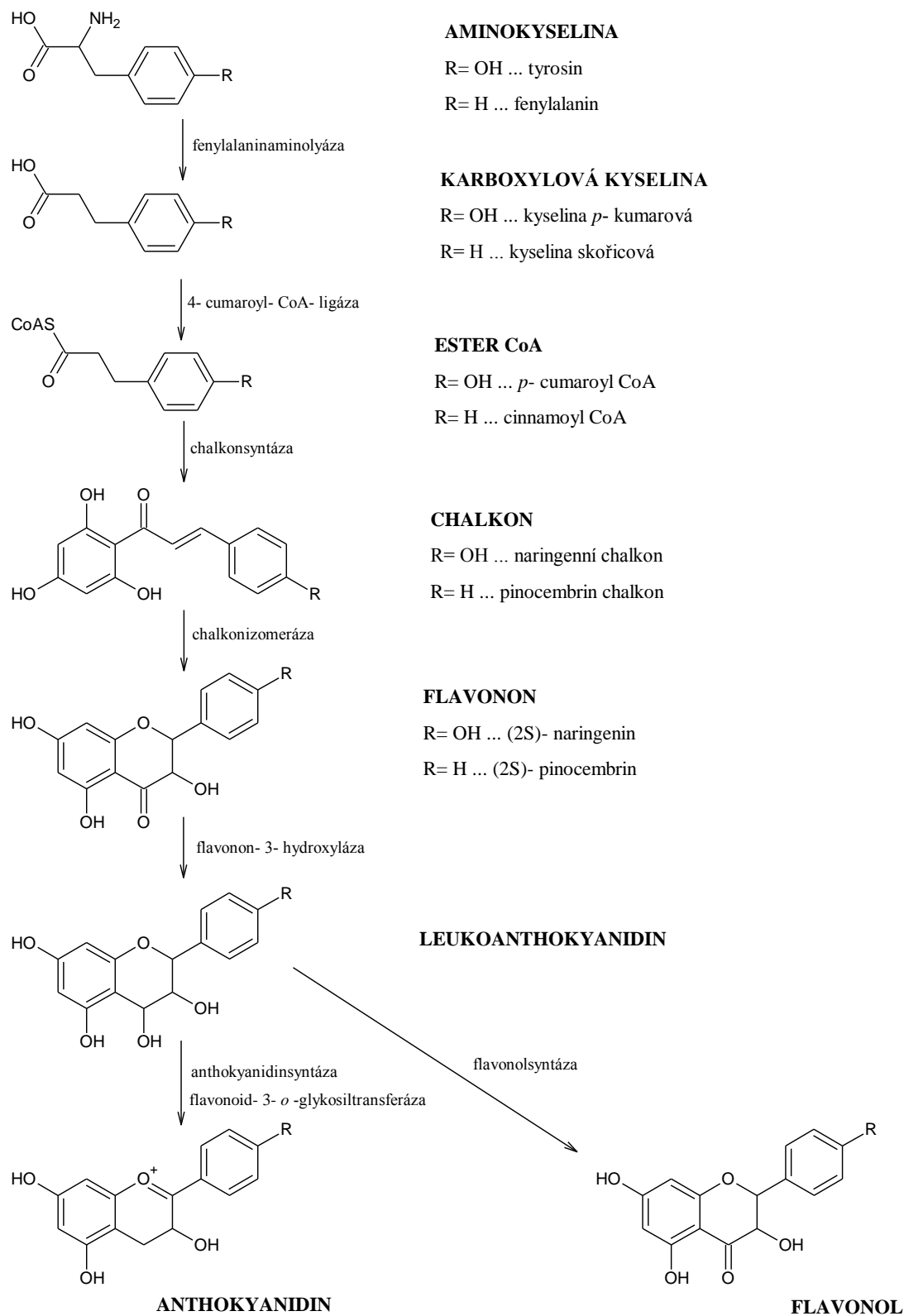
Dihydroflavonol se redukcí pomocí dihydroflavonol – 4 - reduktázy mění na leukoanthokyanidin. Díky anthokyanidinsyntáze vzniká 2 – flaven - 3,4 - diol,

který je glykosylován enzymem flavonoid – 3 – O - glykosyltransferázou a transportován do vakuol. Díky kyselému prostředí dochází ve vakuolách ke konečné přeměně na zbarvený flavyliový kation.

Anthokyanidin s navázáním cukerné složky vytváří anthokyany.

Leukoanthokyanidin spolu s flavonolem se označují také jako proanthokyanidiny. (3), (12), (13), (14), (15), (16)

Obrázek č. 2: Schéma biosyntézy anthokyanidinů



4.3. Výskyt anthokyanů a anthokyanidinů

Anthokyaniny se vyskytují zejména ve vakuolách rostlin. Dominantní postavení ve výskytu mají čeledi révovité (*Vitaceae*), růžovité (*Rosaceae*). Dále lze tyto látky nalézt v čeledi lilkovité (*Solanaceae*), lomikamenovité (*Saxifragaceae*) a vřesovité (*Ericaceae*). (17)

4.4. Přírodní zdroje anthokyanů, anthokyanidinů

4.4.1. Brusnice borůvka

Vaccinium myrtillus L., čeleď: *Ericaceae*, je opadavý keřík s okrouhlovejčítými listy, které mají kraje zoubkaté, jemně pilovité. Květy jsou jednotlivé. Plod borůvky patří mezi bobule modročerné barvy s modrofialovou dužinou.

Dle Lékopisu 2009 jsou lékopisnými drogami plody čerstvé (*Myrtilli fructus recens*), plody sušené (*Myrtilli fructus siccus*), *Myrtilli fructus recentis extractum siccum raffinatum et normatum*. Droga *Myrtilli folium* se používá jako léčivá, není však lékopisná. (1), (18), (19)

Myrtilli fructus recens a *Myrtilli fructus siccus* jsou drogy plodů borůvky, které jsou sbírány během doby své největší zralosti, od července do konce srpna. Po zbavení plodů všech nečistot se k přípravě sušené drogy používá přírodní nebo umělé teplo. Drogu je nezbytné zcela dokonale vysušit a vhodně skladovat, velmi snadno totiž váže vzdušnou vlhkost a mohlo by docházet k výskytu plísní a jiných patogenů což není vhodné. (19), (20)

Myrtilli folium, listy borůvky, se sbírají od května do září. Nejvyšší koncentrace účinných látek je v neplodících větvích v době květu. Pokud v průběhu sběru či manipulace s listy dojde k jejich poškození, během sušení zhnědnou, což není žádoucí. Sušení je třeba provést pomocí přirozeného či umělého tepla do 40°C co nejrychleji. (19), (20)

Myrtilli fructus, plody borůvky jsou bohatým zdrojem anthokyanidů. Jejich koncentrace je v čerstvých zralých plodech 0,1 - 0,5 %. Dále obsahují

flavonoly, a to především kvercetin, myricetin a kaempferol. Ve všech částech brusnice borůvky se nacházejí hydroxyskořicové kyseliny, jako je kyselina p - kumarová, kyselina kávová a ferulová. Další významnou složkou drogy je glukokinin myrtillin (delfinidin – 3 – o - glykosid) a kyselina askorbová, dále pak cukry a minerální látky - draslík, vápník, hořčík, železo a chrom. (19), (21)

Díky svým obsahovým látkám glukokininům, mají plody schopnost snižovat hladinu glukózy v krvi, čehož se využívá při terapii diabetu. Dalším účinkem těchto plodů na lidský organismus je zlepšení zraku, působí protiinfekčně, posilují imunitní systém, chrání před stařeckou demencí, zvyšují množství vyloučené moči, snižují hladinu cholesterolu v krvi, působí regeneračně na sliznice a dokonce i tlumí příznaky nikotinové abstinence u lidí, kteří přestali kouřit tím, že podporují tvorbu dopaminu. Vzhledem k obsahu flavonolů mají schopnost tlumit alergické reakce, protože snižují uvolňování histaminu z buněk. (19), (8)

4.4.2. Ostružiník maliník (Maliník obecný)

Rubus idaeus L., č.: *Rosaceae*, je trnitý keř dorůstající výšky až 2 m mající opadavé, 5 - 7mi četné lichozpeřené listy, které mají na rubové straně charakteristické hvězdicovité šedobílé trichomy. Plodem je souplodí peckoviček růžové až červené barvy. (1)

Používané léčivé drogy jsou listy (*Rubi idaei folium*) a plody (*Rubi idaei fructus*), které však nejsou součástí platného Lékopisu 2009. (1), (18)

Listy maliníku je dobré sbírat mladé, kdy ještě nemají dlouhé a pevné řapíky. Nejvyšší kvality dosahuje droga, sbírá-li se v době květu. Sušení je nejvhodnější pomocí přírodního či umělého tepla v rozmezí 40 - 50°C. Droga nesmí změnit barvu. (20)

Rubi idaei folium, listy maliníku, obsahují flavony, kyselinu hydroxyskořicovou, ellagovou, mléčnou, citronovou, askorbovou atd. Řadu minerálních látek jako je vápník, chrom, kobalt, železo, zinek a sodík. (21)

Rubi idaei fructus, plody maliníku obecného obsahují velké množství mono - a disacharidů. Obsahují také lutein, kyselinu askorbovou, β - karoten a 0,02 - 0,06 % barviv anthokyanů (v závislosti na míře zralosti a odrůdě plodů). Značné zastoupení zde mají i organické kyseliny. Pecičky jsou bohaté na oleje. (21), (22)

Drogy se využívají pro své antioxidační, cytoprotektivní, antipyretické a antiflogistické účinky. Slouží také k prevenci kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění. (20), (23)

4.4.3. Ostružiník křovitý

Rubus fruticosus L., č.: *Rocaseae*, je trnitý až 2,5m vysoký keř. Jeho listy jsou střídavé, 3 - 5tičetné vejčité a na krajích zubaté. Plodem je souplodí peckoviček tmavě modré až černé barvy. (1)

Léčivé drogy jsou listy *Rubi fruticosi folium* a plody *Rubi fruticosi fructus*, které však nejsou součástí aktuálně platného Lékopisu 2009. (1), (18)

Sbírají se mladé listy, nejlépe bez velkých řapíků. Droga obsahuje nejvyšší množství účinných látek v době květu. Suší se přírodním nebo umělým teplem (do 50°C). Droze by měla zůstat původní barva, bez zjevných změn. (18)

V listech ostružiníku lze nalézt třísloviny, flavonoly (kvercetin), kyselinu askorbovou, riboflavin, niacin a minerální prvky jako je vápník, chrom, kobalt, železo, hořčík. Plody ostružiníku jsou bohatým zdrojem sacharidů a anthokyanových barviv, které se zde vyskytují v koncentraci do 0,15 % v závislosti na stupni zralosti plodů a odrůdě. (21), (22)

Použití drog je podobné jako u maliníku obecného. Díky svým antioxidačním účinkům se používá při prevenci karcinogenních onemocnění, oxidačního stárnutí. Působí hepatoprotektivně a detoxikačně. Antioxidační síla ostružin je asi 3x vyšší než antioxidační síla malin. (20), (3)

4.5. Biologické účinky anthokyanů a anthokyanidinů

Anthokyaniny a anthokyanidiny ovlivňují propustnost kapilár, snižují jejich permeabilitu a napětí cévních stěn, čímž brání vzniku edémů. Díky své schopnosti zlepšovat funkci mikrocévního systému oka jsou hojně uplatňovány v oftalmologii. Mají také schopnost stimulovat regeneraci rhodopsinu (pigmentu, který reaguje na světlo), proto se uplatňují při terapii šerosleposti a zlepšují schopnost oka adaptovat se na šero. Působí jako prevence proti ateroskleróze, a to zejména vlivem na lipidový metabolismus (snižují hladinu LDL cholesterolu v krvi tím, že inhibují jeho oxidaci). Jejich antiulcerózní působení lze přikládat schopnosti posilovat ochranné mechanismy sliznice žaludku přímým účinkem na produkci cytoprotektivního PGE2 a nepřímo svou schopností antibakteriálního působení proti *Helicobacter pylori*. (3), (4)

4.5.1. Antioxidační účinek

Antioxidační působení je spojeno se schopností vychytávat volné radikály, což jsou látky, které ve své struktuře mají v obalu nepárový elektron. Absencí druhého párového elektronu vzrůstá reaktivita takovéto látky. Tyto vysoce reaktivní molekuly (nejčastěji kyslíkaté či dusíkaté) mají tendence svou energetickou hladinu stabilizovat (snižovat), a to tím, že si „vytrhnou“ elektron z biomolekuly. Díky tomu však dojde ke vzniku nového radikálu, tentokrát již z biomolekuly, jejíž struktura a funkce může být tímto zásahem narušena. (24)

Látkami, které by mohly inaktivovat volné radikály, aniž by došlo k poškození buňky oxidačním stresem, jsou právě anthokyaniny a anthokyanidiny. Jedná se o látky chudé na π elektrony ve své valenční vrstvě. Nedostatek π elektronů je činí vysoce reaktivními vůči volným radikálům (např. peroxidu vodíku). Spojením anthokyanidin (anthokyan) - radikál vzniká méně reaktivní až zcela nereaktivní komplex, čímž se minimalizuje či anuluje riziko poškození buňky. (15), (25), (26), (27)

Schopnost antioxidačního působení je také spojena s počtem fenolických skupin a jejich vodíků ve struktuře anthokyanidinů. Na základě této skutečnosti

lze očekávat, že antioxidační aktivita bude klesat v řadě delfinidin, kyanidin, pethunidin, malvidin, peonidin a pelargonidin. (28)

Onemocnění, která mohou být způsobena, nebo na jejichž rozvoji má své přičinění oxidativní stres působením volných radikálů jsou choroby kardiovaskulárního systému (ateroskleróza, ischemická choroba srdeční, ischemická choroba dolních končetin, infarkt myokardu, cévní mozková příhoda a jiné), karcinogenní bujení, neurodegenerativní onemocnění a autoimunitní onemocnění. (26)

4.5.2. Antibakteriální účinek

Antibakteriální účinky jsou příkládány zejména proanthokyanidinům, nicméně na komplexním efektu se podílí celá řada dalších fenolických látek, tedy i anthokyanů a anthokyanidinů. Nejvyšší účinnost se projevuje proti organismům: *Helicobacter pylori*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Bacillus*. To, že jsou anthokyaniny účinné proti těmto bakteriím, je hojně využíváno jako součást ochrany močových cest, dutiny ústní, proti žaludečním vředům, a tím v podstatě i jako prevence rakoviny žaludku. (29), (30)

Kmeny, které nejsou ničeny fenolickými látkami např. z brusinek, borůvek atd., jsou *Lactobacillus* a *Listeria spp.*

Fenolické látky (proanthokyanidiny, anthokyaniny a anthokyanidiny) potencují svůj přímý antibakteriální účinek také snižováním koncentrace kreatinu, kyseliny močové a citrátu v moči, což jsou látky, které ovlivňují pH moči (citrát). Při překročení jejich limitních hodnot způsobují tvorbu krystalků v močových cestách (kyselina močová), čímž mohou poškodit epiteliální výstelku cest a přispět tak k usnadnění rozvoje bakteriální infekce. (31) Látky fenolického charakteru svým vlivem na sliznice zvyšují jejich nepřilnavost a zlepšují kluznost. Dochází tak k snížení možnosti bakterií se přichytit a udržet v močových cestách a způsobit tak např. záněty či jiná onemocnění. (29), (30)

4.5.3. Antikarcinogenní účinek

Za normálních okolností buňky, které se vymkly kontrole, jsou mechanismy v organismu samy opraveny či odstraněny (apoptóza). V případě rakovinných buněk běžné obranné mechanismy nefungují a buňky se samovolně množí a rostou. V rámci odstranění poškozených buněk se uplatňují dvě cesty apoptózy. Vnější cesta je aktivována povrchovými receptory tzv. receptory smrti. Tyto receptory patří do skupiny TNF α (tj. tumor nekrotizující faktor α) označované jako FAS (tj. fas cell surface death receptor). Dojde-li k navázání ligandu (FASL) na receptor (FAS), aktivuje se smrtící doména v cytoplasmě a následně dojde k aktivaci kaspázové kaskády končící apoptózou. Vnitřní cesta apoptózy je aktivována poškozením DNA. Klíčovou roli zde hraje protein p53, který za normálních okolností rozpozná genetické poškození a přispěje k jeho opravě. Pokud opravit nelze, zvýší se jeho exprese a indukuje se syntéza dalších proteinů, které poškodí mitochondrie změnou membránového potenciálu což má za následek nárůst propustnosti membrány pro látky aktivující apoptózu. Uvolněné látky (cytochrom C) aktivují kaspázy a zároveň zvyšují tvorbu volných kyslíkových radikálů, kterými je mitochondrie dále poškozována a umírá. (32)

Anthokyany mají schopnost blokovat různé fáze buněčného cyklu působením na dělicí proteiny, čímž dochází k inhibici proliferace buněk. Ve studiích byl porovnán antiproliferační efekt u zdravých buněk a u buněk rakovinných. Výsledkem bylo, že anthokyany selektivně inhibují růst rakovinných buněk a buňky zdravé inhibují jen minimálně. (30)

Ve vnitřní dráze anthokyany změní membránový potenciál mitochondrie. Tak dojde k uvolnění cytochromu C a dochází k aktivaci kaspidáz s následnou apoptózou. Ve vnější dráze anthokyany zvyšují expresi FAS a FASL v rakovinné buňce. Navíc anthokyany u nádorových buněk (nikoliv u zdravých) vedou ke kumulaci ROS (reaktivní druhy kyslíku), které způsobují smrt buňky nezávisle na kaspázách. (33)

Ve studiích bylo prokázáno, že kyanidin – 3 - rutinosid indukuje akumulaci peroxidu vodíku, který se podílí na indukci apoptózy v buňkách HL - 60, což má za následek antiproliferační účinky. Také se zjistilo, že fenoly

způsobují oxidační poškození vláken DNA v přítomnosti kovových iontů (např. mědi) vygenerováním značného množství peroxidu vodíku. (34)

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1. Použité chemikálie a přístroje

5.1.1. Chemikálie

- Cyanidin chlorid, Extrasynthese, Lyon, Francie
- Cyanidin – 3 – O - glycosid, Extrasynthese, Lyon, Francie
- Cyanin chlorid, Extrasynthese, Lyon, Francie
- Delphinidin chlorid, Extrasynthese, Lyon Francie
- Destilovaná voda, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, Česká republika
- Kyselina fosforečná p. a., Lachema, Brno, Česká republika
- Kyselina chlorovodíková p. a., Lachema, Brno, Česká republika
- Malvidin chlorid, Extrasynthese, Lyon, Francie
- Methanol 100 % p. a., Lachema, Brno, Česká republika
- Pelargonidin chlorid, Extrasynthese, Lyon, Francie
- Peonidin chlorid, Extrasynthese, Lyon, Francie
- Petrolether p. a., Lachema, Brno, Česká republika

5.1.2. Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy A200S, Sartorius, Göttingen, Německo
- HPLC chromatograf Dionex Ultimate 300 (pumpa LPG 3400A, autosampler WPS 3000 TSL, termostat kolony TCC 3000 SD, diodový detektor 3000), Dionex, Sunnyvale, Kalifornie, USA
- Chromatografická kolona VARIAN Polaris 5um C18 - A 250x4,6
- Injekční jehla a stříkačka, Chirana, Brno, Česká republika
- Mikrofiltr (0,20 µm), Corning Inc., New York, USA
- Předvážky EK 1200A, A&D, Tokyo, Japonsko
- Horkovzdušný sterilizátor, Binder, Tuttlingen, Německo
- Ultrazvuková lázeň, Bandeline Sonorex, Papenburg, Německo
- Vakuová odparka Laborota 4010, Heydolph, Bayern, Německo

- Vialky, Labicom s.r.o., Olomouc, Česká republika
- Vodní lázeň GFL (DHIM 15750), Laboratorní přístroje, Praha, Česká republika

5.2. Výběr přípravků a rostlinného materiálu

5.2.1. Popis vybraných potravinových doplňků

5.2.1.1. Urosept

Výrobce: Dr. Müller Pharma s. r. o., Hradec Králové, ČR

Datum výroby: prosinec 2012

Datum spotřeby: prosinec 2015

Složení: v jedné tabletě: suchý koncentrát brusinkové šťávy 333 mg (obsahuje 7 % proanthokyanidinů = 23,31 mg proanthokyanidinů v jedné tabletě)

Přídavné látky: plnivo (sorbitol), kluzné látky (hydroxid hořečnatý, talek, stearan hořečnatý, koloidní oxid hořečnatý)

Hmotnost obsahu: 17,9 g ± 5 %

Počet tablet: 16

Doporučené dávkování: 1 - 3x denně nechte volně rozpustit v ústech jednu tabletu. Nepřekračujte doporučené dávkování. Nadměrná konzumace může vyvolat projímavé účinky. Nenahrazuje pestrou stravu. Není určeno pro děti do tří let. Ukládejte mimo dosah dětí. Skladujte na suchém místě při teplotě 5 až 25 °C.

5.2.1.2. Urofit

Název produktu: Urofit brusinka, brusinkový protein, D - mannóza

Výrobce: UniosPharma s.r.o. provoz Vitamíny č. p. 401,
Roztoky u Jilemnice 51231

Datum spotřeby: 3. 9. 2014

Složení v jedné kapsli:

brusinkový extrakt 83:1	250 mg
brusinkový protein extrakt	200 mg
D - mannóza	50 mg

Složení ve 100g:

brusinkový extrakt 83:1	35714 mg
brusinkový protein extrakt	28571 mg
D - mannóza	7143 mg

Složení: extrakt z brusinkové šťávy 83:1, brusinkový protein (extrakt z jadérek brusinky *Vaccinium macrocarpon Ait*), rýžová mouka, D - mannóza, rostlinná kapsle, nosič (rostlinný stearan hořečnatý)

Obsah: 60 kapslí

Hmotnost obsahu: 42 g

Dávkování: běžně jedna kapsle za den během jídla zapít vodou, akutně: 1 - 2 kapsle dvakrát denně před jídlem, zapít vodou, po dobu max. jednoho týdne. Dále 1 - 2 kapsle za den. Nepřekračujte uvedené dávkování. Není určeno pro děti do šesti let. Ukládejte mimo dosah dětí. Není určeno jako náhrada pestré stravy. Skladujte v suchu při teplotě do 25 °C v uzavřeném obalu.

5.2.1.3. Ostrovidky plus

Název produktu: Ostrovidky plus s luteinem

Výrobce: Noventis s.r.o., Filmová 174, Zlín 76179

Číslo šarže: 0680313

Datum spotřeby: březen 2015

Složení 1 kapsle: 6,7 mg betakarotenu, 3 mg luteinu, 1 mg anthokyanů z borůvkového extraktu

Složení: nosič sójový olej, želatina, zvlhčující látka glycerol, voda čištěná, betakaroten, lutein, zvlhčující látka sorbitol, extrakt z borůvek, barviva E160(a) a E171

Obsah: 30 měkkých želatinových kapslí

Hmotnost obsahu: 20,5 g

Dávkování: 1 - 2 kapsle denně, polykat, nekousat. Doporučené dávkování se nesmí překročit.

Upozornění: Není určeno pro děti, těhotné a kojící ženy. Ukládejte mimo dosah dětí. Není určeno jako náhrada pestré stravy. Užíváte-li jakékoliv léky nebo doplňky stravy, poraďte se ohledně užívání tohoto doplňku stravy se svým lékařem.

Skladování: Uchovávejte při teplotě od 15 do 25 °C, v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem a vlhkostí.

Deklarované účinky: zachování dobrého zraku, správná funkce sítnice

5.2.2. Popis ovocných šťáv a džusů

5.2.2.1. *Rio Ovocný nápoj z brusinek a hroznů s cukrem a sladidlem*

Výrobce: McCarter Rio, Bajkalská 25, Bratislava 82101, SR

Brusinka s přidáním extraktu ze stévie

Ovocný nápoj z brusinek a hroznů s cukrem a sladidlem

Podíl ovocné složky nejméně 15 % hm.

Složení: pramenitá voda, cukr, brusinková šťáva z koncentráту brusinkové šťávy (12 % hm.), šťáva z hroznového vína z koncentrátu (3 % hm.), regulátor kyselosti (kyselina citronová, aroma), antioxidant (kyselina askorbová), sladidlo (glykosidy steviolu), barvivo anthokyany.

Pasterováno, před otevřením protřepat, vyrobeno z koncentrátu.

Průměrné výživové hodnoty ve 100ml:

energetická hodnota	115kJ/27,5 kcal
bílkoviny	< 0,1 g
sacharidy	6,5 g
z toho cukry	6,4 g
tuky	<0,1 g
z toho nasycené MK	<0,1 g
vláknina	<0,1 g
sodík	<0,01 g

Vyrobena dle přísných norem ISO 9001 a ISO 22000

Aseptické plnění

Objem: 1 l

Min. trvanlivost: 30. 5. 2014

5.2.2.2. *Sun gold 25 % blackcurrant*

Výrobce: Sun gold 25 % blackcurrant

Prodávající: Kaufland ČR v.o.s., Pod Višňovkou 25, Praha 4,140 00

25 % černý rybíz nektar, vyrobeno z koncentrátu

Složení: pitná voda, šťáva z koncentrátu černého rybízu, cukr

Podíl ovocné složky: nejméně 25 %, pasterováno, bez chemické konzervace, vyrobeno z koncentrátu

Minimální trvanlivost: 17. 2. 2014

Země původu: ČR

Objem: 1 l

Průměrné výživové hodnoty ve 100ml:

energetická hodnota	170 kJ/40 kcal
bílkoviny	<0,1 g
sacharidy	10 g
z toho cukry	10 g
tuky	<0,1 g
z toho nasycené MK	<0,1 g
vláknina	<0,1 g
sodík	0,02 g

5.2.3. Analyzovaný materiál

Byly vybrány volně dostupné potravinové doplňky, ve kterých je deklarován nebo předpokládán obsah anthokyanů a anthokyanidinů. Do analýzy byly zařazeny i džusy ze surovin, u nichž je předpokládán výskyt těchto látek. Dále pak čerstvé a sušené ovoce známé pro svůj výskyt anthokyanů a anthokyanidinů.

Pro hodnocení ovoce byly vybrány maliny, ostružiny, borůvky, neboť jsou hojně využívány jako léčivé drogy v rámci lékopisu či lidového léčitelství. Některé části rostlin jsou lékopisnými drogami dle ČL 2009. Jedná se o běžně dostupné ovoce hojně konzumované v České republice, jak v čerstvém, tak sušeném stavu.

5.2.4. Sběr a příprava

Plody malin, borůvek a ostružin byly nasbírány dne 23. 7. 2013 v lesích v okolí Pardubic, konkrétně Poběžovic u Holic, Vysokého Chvojna a Horního Jelení. GPS souřadnice lokalit:

50°6'12.654"N, 15°59'0.825"E

50°7'11.307"N, 15°59'38.831"E

50°5'26.470"N, 15°58'45.684"E

50°6'10.672"N, 16°1'9.674"E

Část plodů byla sušena dle ČL 2009.

5.3. Extrakce vzorků

5.3.1. Doplnky stravy a sušené ovoce

Ve třence byly rozdraceny tablety potravinových doplňků nebo plody sušeného ovoce (pozn. obsah měkkých tobolek přípravku Ostrovidky plus byl vylit z obalu). Na analytických vahách bylo naváženo 0,3 - 0,5 g potravinových doplňků a v případě sušených plodů 3 - 5 g. Navážky byly vsypány (pozn. obsah tobolek Ostrovidky plus byl tekutý, čili byl vlit) do varných baněk a ke každé bylo přidáno 10 ml 80 % methanolu a 3 varné kuličky. Vše bylo vařeno na vodní lázni pod zpětným chladičem po dobu 15 minut. Po ukončení varu byl obsah varných baněk zfiltrován přes vatu do odměrného válce. Vata i s obsahem drcených potravinových doplňků a sušených plodů (popřípadě tekutých zbytků Ostrovidek plus) byla vrácena zpět do varné baňky a bylo k ní přidáno 10 ml 80 % methanolu. Vše bylo vráceno zpět na vodní lázeň a vařeno pod zpětným chladičem po dobu 15 minut. Po dokončení varu následovala filtrace přes vatu do

odměrného válce. Celý obsah byl doplněn 80 % methanolem na celkový objem 20 ml. K obsahu válce bylo přidáno 0,2 ml kyseliny fosforečné pro zvýšení stability vzorku. Obsah byl důkladně promíchán. Vzorek byl následně odebrán přes mikrofiltr 0,25 μm do stříkačky a vpraven do vialky. Každý vzorek byl takto připraven celkem třikrát.

Pro přípravu vzorků za pomoci ultrazvuku bylo na analytických vahách naváženo 0,3 - 0,5 g drceného potravinového doplňku (pozn. tekutého obsahu měkkých tobolek preparátu Ostrovidky plus). Navážené množství bylo dáno do Erlenmayerovy baňky a bylo k němu přidáno 10 ml 80 % methanolu. Baňka byla vložena do ultrazvukové lázně o teplotě 30 - 35°C na dobu 15 min. Po ukončení byl obsah baňky přefiltrován přes vatu do odměrného válce. Vata i s obsahem drceného potravinového doplňku (tekutých zbytků Ostrovidek plus) byla vrácena zpět do baňky a bylo k ní přidáno 10 ml 80 % methanolu. Následovala 15 min. ultrazvuková lázeň o teplotě 30 - 35°C. Celý obsah baňky byl poté zfiltrován přes vatu do odměrného válce a objem ve válci doplněn na celkový objem 20 ml. K vzorku bylo přidáno 0,2 ml kyseliny fosforečné pro zvýšení stability. Obsah byl důkladně promíchán. Vzorek byl následně přefiltrován pomocí mikrofiltru 0,25 μm do stříkačky a vpraven do vialky. Každý vzorek byl takto připraven celkem třikrát.

Pro zjištění množství aglykonů po hydrolyze (vázané aglykony) byly použity vzorky již připravené k analýze volných aglykonů. Z vialek obsahujících vzorky bylo odebráno 0,5 ml vzorku a bylo k němu přidáno 0,1 ml 6M HCl. Vše bylo smícháno v další vialce, která byla vložena na vodní lázeň a prohřívána 30 minut při 90 °C. Po vychladnutí byly vzorky uchovávány v lednici při teplotě do 5 °C.

5.3.2. Tekuté vzorky - džusy a ovocné šťávy

Do odměrného válce bylo odměřeno 100 ml džusu. Celý objem byl vložen do vakuové odparky s teplotou 40 °C. Teplota v odparce byla postupně zvyšována (po 5 °C) až na 60 °C. Po odpaření zhruba na množství odpovídající 25 - 33 % původního objemu a po vychladnutí na laboratorní teplotu byl vzorek přelit

do odměrného válce a celkový objem byl doplněn 100% methanolem tak, aby obsah methanolu tvořil 1/3 roztoku. Obsah byl převeden do třepací baňky a byl k němu přidán petrolether o stejném objemu jako byl objem extraktu s methanolem. Třepáním s petroletherem byly odstraněny lipofilní nečistoty. Po odstranění vrstvy petroletheru byl zbývající obsah vložen na vodní lázeň o teplotě 90 - 100 °C a 5 minut povařen, aby byly odstraněny zbytky petroletheru. Obsah byl poté převeden do odměrného válce a doplněn 100 % methanolem na původní objem. K vzorku bylo přidáno 0,2 ml kyseliny fosforečné pro zvýšení stability vzorku. Vzorek byl následně filtrován přes mikrofiltr 0,25 µm do stříkačky a skladován v lednici při teplotě do 5 °C. Každý vzorek byl takto připraven třikrát.

Pro měření množství aglykonů po hydrolýze (vázané aglykony) byly použity vzorky již připravené k analýze množství volných aglykonů. Z vialek obsahujících vzorek bylo odebráno 0,5 ml obsahu a bylo k němu přidáno 0,1 ml 6M HCl. Vše bylo promícháno v další vialce, která byla vložena na vodní lázeň a prohřívána 30 minut při 90 °C. Vzorky byly poté ponechány k vychladnutí. Následovalo uložení vzorku do lednice s teplotou do 5 °C.

5.3.3. Čerstvé ovoce

Přibližně 20 g čerstvého ovoce bylo nadrceno ve třence. Drcené ovoce bylo přeneseno do válce tak, aby objem drcené hmoty byl 20 ml. K hmotě drcených plodů byl přidán stejný objem (20 ml) 80 % methanolu. Směs byla poté rozdělena do tří varných baněk a ke každé byly přidány 3 varné kamínky. Vzorky byly vařeny pod zpětným chladičem 15 minut. Po vychladnutí byla směs přefiltrována přes vatu a vata i s obsahem byla vrácena zpět do varné baňky, do které bylo přidáno 10 ml 80 % methanolu. Celá směs byla opět vařena pod zpětným chladičem na vodní lázni po dobu 15 minut. Po ukončení varu byl obsah zfiltrován přes vatu a oba filtráty slity dohromady. Objem vzorku byl v odměrném válci doplněn 80 % methanolem na 40 ml. K roztoku bylo poté přidáno 0,2 ml kyseliny fosforečné a vše bylo důkladně promícháno. Vzorek byl následně odebrán přes mikrofiltr 0,25 µm do stříkačky, vpraven do vialky a skladován v lednici při teplotě do 5 °C.

Pro zhodnocení množství aglykonů po hydrolýze (vázané aglykony) byly použity vzorky již připravené k analýze množství volných aglykonů. Z vialek bylo odebráno 0,5 ml vzorku a bylo k němu přidáno 0,1 ml 6M HCl. Vše bylo smícháno v další vialce, která byla vložena na vodní lázeň a prohřívána 30 minut při teplotě 90 °C. Po zchladnutí byly vzorky skladovány v lednici při teplotě do 5 °C.

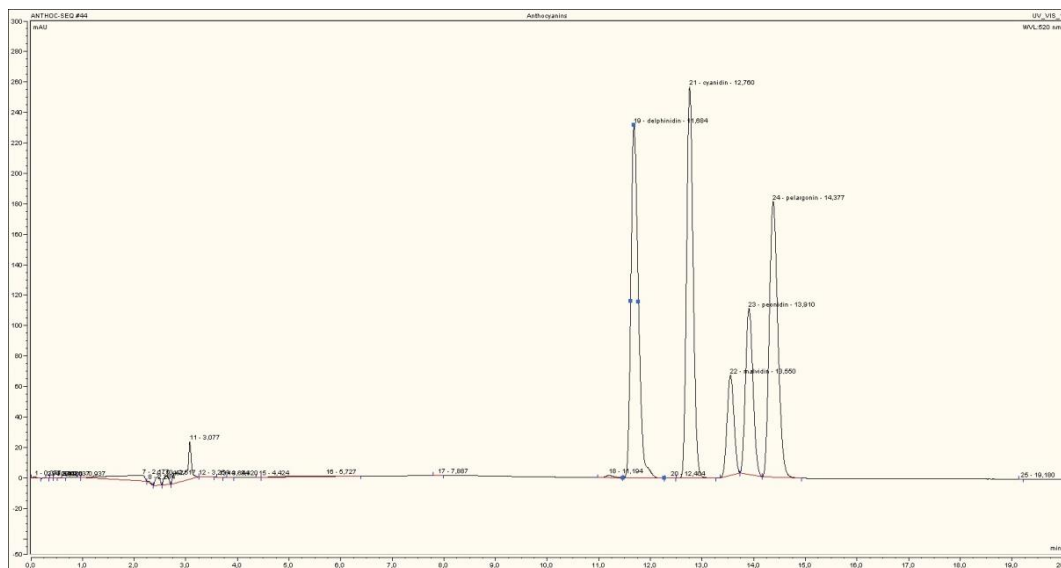
5.4. Metodika HPLC stanovení extraktů

5.4.1. HPLC analýza

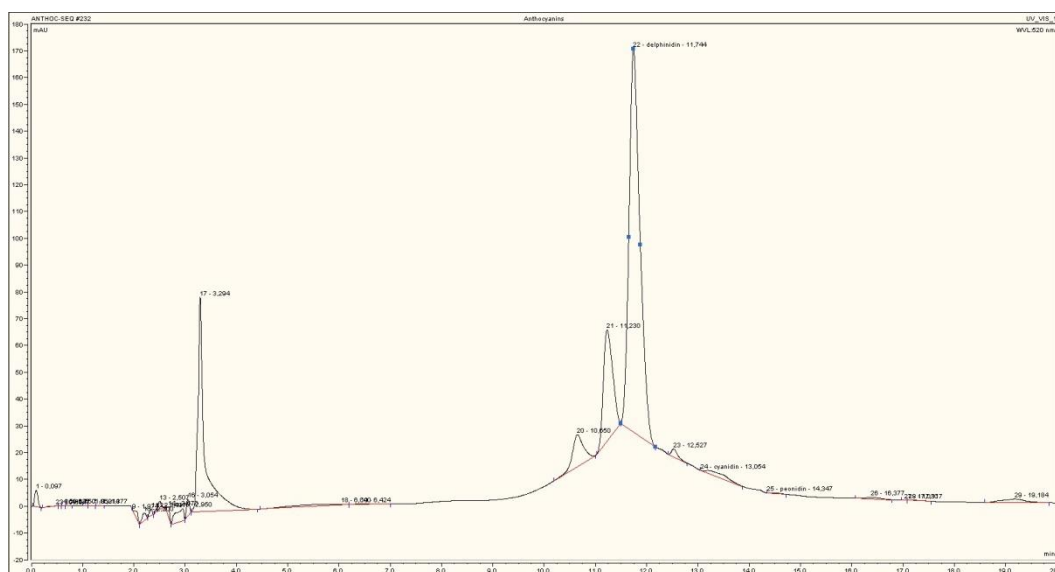
HPLC analýza byla prováděna na sestavě Dionex Ultimate 3000 (pumpa LPG3400A, autosampler WPS 3000 TSL, termostat kolony TCC 3000 SD, diodový detektor 3000). Sestava byla vybavena kolonou VARIAN Polaris 5 μ m C18 - A 250x4,6.

Nastříkovaný objem byl 20 μ l. Mobilní fázi představoval 20% methanol, 0,3% kyselina fosforečná. Isokratický průtok probíhal po dobu 20 min konstantní rychlosti 1,4 ml/min. Detekce byla prováděna pomocí DAD detektoru v rozmezí vlnových délek 200–650 nm. Obsah sledovaných anthokyanidů a anthokyanidinů byl vypočten z píků při vlnové délce 520 nm. Obsah všech látek byl kvantifikován matematickou metodou normalizace a porovnáním s kalibrační křivkou vytvořenou pomocí externě měřeného standardu téže látky.

Graf č. 1: Ukázka chromatogramu standardu



Graf č. 2: Ukázka chromatogramu vzorku



5.4.2. Validace HPLC analýzy

Instrumentální validace byla zajištěna výrobcem HPLC sestavy (Jasco) a to normou ISO 9001 (International organisation for standardiation). Způsobilst chromatografického systému byla navíc ověřena testy:

a) Test na přesnost: což je test opakovaného nástřiku, kdy dojde k šesti nástřikům téhož vzorku. Vypočtená relativní směrodatná odchylka byla vždy menší než 1,5 %.

b) Test linearity: kdy se na základě 5 různých koncentrací standardu zjistí lineární regresní analýzou hodnota korelačního koeficientu „r“. Korelační koeficient musí být větší než 0,9900.

Pro hodnocení analytického měření byly dále převzaty metody Evropského lékopisu, 3. vydání, a to: Asymetrie píku, Počet teoretických pater.

Pro hodnocení celé metody byly použity tyto validační parametry:

a) Správnost metody: což je statisticky významná rozdílnost mezi hodnotou získanou a skutečnou. Porovnání ověřených hodnot se standardem, nebo porovnáním s jinou, již osvědčenou metodou, nebo srovnáním s referenčním materiálem.

b) Kvantitativní limit: jedná se o nejmenší hodnotu, která je ještě měřitelná s přijatelnou přesností. Relativní směrodatná odchylka je menší než 15 %.

5.5. Statistické zpracování výsledků

K získání hodnot bylo použito výpočtů pomocí aritmetického průměru a směrodatné odchylky.

Aritmetický průměr: (35)

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{a}$$

x_i = naměřená hodnota

a = rozsah souboru

Směrodatná odchylka: (36)

$$x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x - x_i)^2}{a - 1}}$$

x = aritmetický průměr

x_i = naměřená hodnota

a = rozsah souboru

6. VÝSLEDKY

Výsledky analýzy jsou uvedeny ve formě tabulek. Zaznamenán je obsah volných aglykonů (měřen přímo), obsah aglykonů po hydrolýze vzorku (měřen přímo po hydrolýze) a aglykonů vázaných v glykosidech (vypočítán jako rozdíl dvou předchozích hodnot).

Veškeré výsledky hodnot jsou průměrem ze tří samostatných stanovení.

Pokud je v tabulkách uvedena hodnota 0 znamená to, že hodnota nebyla vůbec detekována. Je-li v tabulkách uvedena hodnota $<0,001$ znamená to, že hodnota byla detekována, ale výsledek byl pod kvantitativním limitem.

Zkratky použité v tabulkách:

- kyan – 3 – g = kyanidin – 3 - glykosid
- delf. = delfinidin
- kyan. = kyanidin
- malv. = malvidin
- peon. = peonidin
- pelarg. = pelargonidin

Tabulka č. 2: Ostrovidky plus

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,636	0,010	0	<0,001	0	0	0
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,078	0,003	0	0,001	0	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,558	0,007	0	0,001	0	0	0

Tabulka č. 3: Ostrovidky plus - metoda pomocí ultrazvukové lázně

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	1,191	0,002	0	0	0	0	0
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,078	0,003	0	0	0	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,558	0,007	0	0	0	0	0

Tabulka č. 4 : Urofit

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	2,943	0,044	<0,001	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky po hydrolyze [%]	0,028	0,013	0,001	0,003	<0,001	0	0
Obsah látky vázané [%]	2,915	0,031	0,001	0,003	0	0	0

Tabulka č. 5: Urofit - metoda pomocí ultrazvukové lázně

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	1,418	0,663	<0,001	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky po hydrolyze [%]	0,073	0,001	<0,001	0,001	<0,001	0	0
Obsah látky vázané [%]	1,345	0,662	0	0,001	0	0	0

Tabulka č. 6: Urosept

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,137	0,002	0	<0,001	0	0	0
Obsah látky po hydrolyze [%]	0,038	0,001	0	0,003	0	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,099	0,001	0	0,003	0	0	0

Tabulka č. 7: Urosept - metoda pomocí ultrazvukové lázně

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,100	0,005	<0,001	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky po hydrolyze [%]	0,032	0,002	<0,001	0,006	<0,001	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,068	0,003	0	0,006	0	0	0

Tabulka č. 8: Sun gold 25% blackcurrant

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	4,773	0,748	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,396	0,112	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Obsah látky vázané [%]	4,377	0,636	0	0	0	0	0

Tabulka č. 9: Rio Ovocný nápoj z brusinek a hroznů s cukrem a sladidlem

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,845	0,218	0,004	0	0	0	0
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,011	0,002	0,015	0	0	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,834	0,216	0,011	0	0	0	0

Tabulka č. 10: Maliny čerstvé

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,010	0,007	0	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,001	0,001	0	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,009	0,006	0	0	0	0	0

Výsledky čerstvých malin jsou vyjádřeny procenty vztaženými na množství čerstvých plodů.

Tabulka č. 11: Maliny sušené

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,006	0,001	0	0	0	0	0
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,038	0,012	<0,001	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,032	0,011	0	0	0	0	0

Výsledky sušených malin jsou vyjádřeny procenty vztaženými na množství sušených plodů.

Tabulka č. 12: Ostružiny čerstvé

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,143	0,007	<0,001	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,002	0,001	0,001	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,141	0,006	0,001	0	0	0	0

Výsledky čerstvých ostružin jsou vyjádřeny procenty vztaženými na množství čerstvých plodů.

Tabulka č. 13: Ostružiny sušené

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,121	0,003	0	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky po hydrolýze [%]	0,029	<0,001	0	<0,001	<0,001	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,092	0,003	0	0	0	0	0

Výsledky sušených ostružin jsou vyjádřeny procenty vztaženými na množství sušených plodů.

Tabulka č. 14: Borůvky čerstvé

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,341	0,005	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Obsah látky po hydrolyze [%]	0,001	<0,001	0	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Obsah látky vázané [%]	0,340	0,005	0	0	0	0	0

Výsledky čerstvých borůvek jsou vyjádřeny procenty vztaženými na množství čerstvých plodů

Tabulka č. 15: Borůvky sušené

	Glykosidy		Aglykony				
	kyanin	kyan-3-g	delf.	kyan.	malv.	peon.	pelarg.
Obsah látky ve vzorku [%]	0,381	0,075	0	<0,001	0	0	0
Obsah látky po hydrolyze [%]	0,015	<0,001	<0,001	0,003	0	0	0
Obsah látky vázané [%]	0,336	0,075	0	0,003	0	0	0

Výsledky sušených borůvek jsou vyjádřeny procenty vztaženými na množství sušených plodů.

7. DISKUZE

Cílem této diplomové práce bylo stanovit obsah anthokyanů a anthokyanidinů ve vybraných potravinových doplňcích, ovoci a džusech. Většina přípravků byla vyrobena v ČR nebo do ČR dovezena ze zahraničí. U některých přípravků byly anthokyany (případně polyanthokyanidiny) hlavní složkou preparátu, u některých se vyskytovaly jako doplňující složka k jiným látkám (př. Ostrovidky plus). Analyzované přípravky byly ve formě tablet nebo měkkých či tvrdých želatinových tobolek.

Celkem byly zkoumány tři doplňky stravy, tři druhy ovoce v čerstvém i sušeném stavu a dva běžně dostupné džusy.

Veškeré analyzované vzorky byly podrobeny HPLC analýze pro identifikaci a kvantifikaci složení obsahu jednotlivých anthokyanů a anthokyanidinů.

U potravinových doplňků byly použity dvě metody extrakce za tepla 80 % methanolem (na vodní lázni pod zpětným chladičem) a extrakce pomocí ultrazvukové lázně za laboratorní teploty. Ovoce (maliny, ostružiny, borůvky) a džusy byly extrahovány jednou metodou a to varem s 80 % methanolem na vodní lázni. Vyhodnocení výsledků získaných analýzou bylo značně komplikované, protože nebyly k dispozici informace o výchozích extraktech, které firmy použily pro výrobu preparátů. Kvalita výchozích materiálů tak nemohla být zcela přesně posouzena.

Hodnoty naměřené v rámci této diplomové práce byly u doplňků stravy srovnávány s údaji na etiketách, v příbalových letácích, nebo na internetových stránkách výrobce, byly-li známy. Pokud známy nebyly, byly použity hodnoty z jiných zdrojů, které informovaly o množství anthokyanů či anthokyanidinů v ovoci v čerstvém stavu, z čehož na základě výpočtů bylo hodnoceno či usuzováno o pravdivosti informací uváděných výrobcem.

Suma všech anthokyanů byla získána prostým součtem jednotlivě naměřených hodnot. Vzhledem k možnosti výskytu i jiných, méně obvyklých

anthokyanů, než jsou v této práci měřeny, mohou být výsledky ovlivněny touto skutečností.

Experiment č. 1: Maliny

V čerstvém ovoci bylo naměřeno celkem 0,017 % anthokyanů. Ve vzorku byla detekována i přítomnost anthokyanidinů kyanidinu a malvidinu avšak jejich získané hodnoty byly pod kvantitativním limitem.

V sušených plodech bylo naměřeno celkem 0,007 % anthokyanů. Ve vzorku byly detekovány i volné aglykony (delfinidin, kyanidin, malvidin) jejichž hodnoty byly pod kvantitativním limitem. Přítomnost vyššího množství kyaninu po částečné hydrolýze vzorku naznačuje možnost vyššího množství anthokyanových glykosidů s vícero cukernými jednotkami.

Obsah anthokyanů v čerstvých plodech malin je uváděn v rozmezí 0,02 - 0,06 % v závislosti na odrůdě a stupni zralosti plodů. (22) Analyzovaný vzorek v čerstvém stavu obsahoval o 0,003 % méně než je uváděna spodní hranice. Možným důvodem, proč naměřená hodnota byla nižší, byl nízký stupeň zralosti nasbíraných malin, případně hrála roli odrůda keřů, ze kterých byly plody sbírány.

Experiment č. 2: Ostružiny

V čerstvých ostružinách bylo naměřeno celkem 0,150 % anthokyanů. Byly detekovány anthokyanidiny delfinidin v hodnotě 0,001 % a kyanidin a malvidin, ale jejich hodnoty byly pod kvantitativním limitem.

V sušeném ovoci bylo stanoveno celkem 0,124 % anthokyanů. Hodnoty kyanidinu a malvidinu byly stanoveny pod kvantitativním limitem.

Množství anthokyanů ve 100 g čerstvých zralých plodů ostružin je udáváno do 150 mg (v závislosti na stupni zralosti a odrůdě). (22) Čerstvé ostružiny obsahovaly množství anthokyanů uváděných literaturou. Vzhledem

k získaným hodnotám lze říci, že posbírané plody byly ve fázi takřka maximální zralosti.

Experiment č. 3: Borůvky

V plodech čerstvých borůvek bylo naměřeno celkem 0,346 % anthokyanů. Hodnoty anthokyanidinů delfinidinu, kyanidinu, malvidinu, peonidinu a pelargonidinu byly také detekovány pod kvantitativním limitem.

V sušených plodech bylo zjištěno celkem 0,456 % anthokyanů. Hodnoty aglykonu kyaninu byly zaznamenány v hodnotě 0,003 %. Množství delfinidinu bylo detekováno pod kvantitativním limitem.

V čerstvých plodech borůvky se uvádí množství anthokyanů v rozmezí 0,1 - 0,5 % v závislosti na odrůdě a stupni zralosti plodů. (19) Množství anthokyanů v čerstvých plodech odpovídá hodnotám uváděných v literatuře. Lze předpokládat, na základě získaných hodnot, že sebrané plody byly zralé.

Experiment č. 4: Sun gold 25 % blackcurrant

Celkem bylo naměřeno 5,521 % anthokyanů. Anthokyanidiny delfinidin, kyanidin, malvidin, peonidin a pelargonidin měly hodnoty pod kvantitativním limitem. Výrobce neuvádí obsah anthokyanů v džusu, ale vzhledem k obsahu černého rybízu byl jejich výskyt předpokládán. Džus uvádí minimálně 25 % podíl ovocné složky. Ve 100 g čerstvých plodů černého rybízu je uváděné množství anthokyanů 1 - 4 %. (37) Na základě výpočtů, očekávané množství anthokyanů v džusu bylo 0,25 - 1 %. Naměřené hodnoty jsou vyšší, což je možná způsobeno použitím koncentrátů při výrobě džusu.

Experiment č. 5: Rio Ovocný nápoj z brusinek a hroznů s cukrem a sladidlem

V ovocné šťávě bylo naměřeno 1,063 % anthokyanů a 0,004% delfinidinu. Výrobce neuvádí přesné množství anthokyanů, avšak jejich přítomnost byla předpokládána vzhledem k obsahu brusinkové šťávy a šťávy z hroznového vína.

V ovocné šťávě je dle výrobce obsaženo 15 % ovocné složky (12 % brusinkové šťávy a 3 % hroznového vína). Dle literatury je ve 100 g čerstvých zralých brusinek 13,6 - 171 mg anthokyanů (0,014 - 0,171 %) (38) a v čerstvých zralých hroznech 35 - 750 mg (0,035 - 0,750 %). (39) Po výpočtu bylo očekáváno 0,002 - 0,021 % anthokyanů z brusinek a 0,001 - 0,023 % anthokyanů z hroznového vína v ovocné šťávě.

Lze předpokládat, že výrobce použil koncentrát, a proto jsou naměřené hodnoty vyšší.

Experiment č. 6: Urofit

V potravinovém doplňku bylo množství anthokyanů po extrakci vzorku varem na vodní lázni 2,987 %. Hodnota kyanidinu byla naměřena 0,003 %. Hodnoty anthokyanidinů delfinidinu a malvidinu byly stanoveny pod kvantitativním limitem. Po úpravě vzorku pomocí ultrazvukové lázně bylo stanoveno 2,081 % anthokyanů. Hodnoty aglykonů (delfinidinu, malvidinu) byly detekovány pod kvantitativním limitem. Hodnota kyanidinu byla stanovena na 0,001 %. Vzhledem k nejasné formulaci složení od výrobce nelze s určitostí stanovit, a ani vyhodnotit množství obsahových látek. Výrobce uvádí, že byl použit extrakt 83:1 brusinkové šťávy a brusinkový protein. Množství anthokyanů ve 100 g čerstvých plodů brusinek je uváděno 0,014 - 0,171 %. (38) Analýzou získané hodnoty, které jsou průměrně 98x vyšší než je obsah anthokyanů v čerstvých plodech nasvědčují tomu, že výrobce použil kvalitní extrakt, který patrně překračuje poměr zahuštění (83:1). Lze předpokládat, že účinky, které uvádí výrobce preparátu Urofit, mohou být při dodržení dávkování splněny.

Experiment č. 7: Urosept

V potravinovém doplňku Urosept, byl po úpravě varem na vodní lázni stanoven obsah anthokyanů 0,139 %. Hodnoty kyanidinu byly detekovány 0,003 %. Ve vzorku upraveném pomocí ultrazvukové lázně, bylo naměřeno 0,105 % anthokyanů. Hodnoty kyanidinu byly detekovány 0,006 % a hodnoty

aglykonů delfinidinu a malvidinu byly pod kvantitativním limitem. Naměřené hodnoty anthokyanů nelze srovnávat s polymerovanými formami (PAC), které výrobce uvádí.

Přípravek byl vybrán kvůli obsahu brusinkové šťávy, tudíž byl očekáván i obsah anthokyanů. Ve 100g čerstvých plodů brusinky bývá obsah anthokyanů 0,014 - 0,171 % (38). Množství anthokyanů v jedné tabletě přípravku Urosept tedy odpovídá přibližné dávce obsažené ve 200 – 250 g čerstvých plodů brusinek.

Experiment č. 8: Ostrovidky plus

Obsah anthokyanů, po úpravě vzorku varem na vodní lázni byl 0,646 %. Hodnota kyanidinu byla stanovena 0,001 %. Ve vzorku upraveném pomocí ultrazvukové lázně bylo množství anthokyanů 1,193 %. Výrobce udává obsah 1 mg anthokyanů v jedné tobolce (0,146 %). Naměřené hodnoty byly 4 a 8x vyšší než uvádí výrobce. K ovlivnění výsledků mohla jistou měrou přispět přítomnost ostatních látek v tobolce, které mohly ovlivnit výsledek. Nicméně i přes možné ovlivnění výsledku lze konstatovat, že obsah látky je dostatečný pro dosažení účinků uváděných výrobcem při dodržení dávkování.

Srovnání extrakčních metod

Pro přípravu vzorků potravinových doplňků byly zvoleny dvě metody extrakce. U přípravků Urofit a Urosept byla vhodnější metoda extrakce za tepla (extrakce na vodní lázni pod zpětným chladičem), kdy získané hodnoty jsou vyšší než při použití ultrazvuku. V případě přípravku Ostrovidky plus tomu bylo naopak. Důvodem může být odlišné složení pomocných látek a sám fakt, že obsah tobolek byl tekutý, lipofilní a špatně mísitelný s rozpouštědlem.

8. ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce byla zvládnuta technika přípravy extraktů s obsahem anthokyanů a anthokyanidinů z doplňků stravy, džusů a ovoce. Ze tří vybraných doplňků stravy byly vytvořeny za pomoci dvou metod extrakty. Ze tří vybraných plodů (v čerstvém a sušeném stavu) a dvou džusů pomoci jedné metody. Tyto extrakty byly následně hodnoceny dle obsahu anthokyanů (kyanin, kyanidin – 3 - glykosid) a anthokyanidinů (delfinidin, kyanidin, malvidin, peonidin, pelargonidin). Byla zvládnuta HPLC analýza pro kvantitativní a kvalitativní stanovení anthokyanů a anthokyanidinů (jmenovaných viz výše).

Kvalita potravinových doplňků je dosti různorodá a ve většině případů výrobcem uváděné hodnoty nemají dostatečně informativní charakter pro zjištění přesného obsahu látek v doplňcích stravy. Obsah anthokyanů v čerstvém ovoci vyhovoval rozmezí hodnot obecně uváděných, až na hodnotu malin, která byla naměřena pod hranicí udávanou literaturou. Obsah anthokyanů v džusech lze pokládat za neopomenutelný, avšak je nutné brát do úvahy množství sacharidů obsažených v těchto nápojích. Otázka přínosu je vzhledem k vysokému energetickému příjmu spekulativní.

Závěrem lze konstatovat, že až na jeden preparát (Ostrovidky plus), výrobci vybraných doplňků stravy neuvádějí dostatečné informace o množství účinných látek, kvalitě použitých extraktů ani kvantitě použitých látek. Avšak na základě provedené analýzy a výpočtů lze říct, že informace uváděné výrobcem nejsou klamné, a že by produkty mohly splňovat účinky, které výrobci deklarují.

Jediný preparát uvádějící množství anthokyanů v jedné tobolce jsou Ostrovidky plus. Zde použitý borůvkový extrakt je pouze minoritní obsahovou látkou potřebnou pro dosažení deklarovaného účinku, který by měl být naplněn i vlivem ostatních účinných látek. Ovšem u tohoto přípravku byly získané hodnoty vyšší než hodnoty uváděné, a proto se lze domnívat, že dávkování udávané výrobcem by mělo být dostatečné pro výsledný účinek.

9. LITERATURA

1. **Jahodář L.:** *Farmakobotanika semenné rostliny*, Praha, Karolinum, 2006
2. **Wiczkowski W., Topolska J., Honke J.:** *Journal of functional food*, Anthocyanins profile and antioxidant capacity of red cabbages are influenced by genotype and vegetation period, 2014, vol. 7, str 201 - 211
3. **Ing Šťavíková L.:** *Disertační práce*, VUT Brno, 2010
4. **Medda R. et al.:** *Microvascular Research*, Anti inflammatory and anti angiogenic effect of black raspberry extract on human esophageal and intestinal microvascular endothelial cells, 2015, vol. 97, str. 167 - 180
5. **Wallace T. C., Gusti M. M.:** *Anthocyanins in health and disease*, New York , CRP Press, 2013, str. 115 - 120
6. **Velíšek J., Hojšlová J. :** *Chemie potravin II*, Tábor, OSSIS, 2009
7. **Castañeda - Ovando A. et al.:** *Food Chemistry*, A review Chemical studies of anthocyanins, 2009, vol. 113, is. 4, str. 859 - 871
8. vscht. [Online] [Citace: 1. března 2015.]
<http://web.vscht.cz/~koplikr/Rostlinn%C3%A9%20fenoly%20a%20flavonoidy.pdf>
9. **Fangli H. et al.:** *Journal of Function Foods* 5, Hepatoprotective and antioxidant activity of anthocyanins in black rice bran on carbon, 2013, vol. 5, is. 4, str. 1705 - 1713
10. **Laho L., Minárik E., Navara A.:** *Vinárstvo: Chémia, mikrobiológia a analytika vína*, Bratislava, Príroda, 1970
11. **Davídek J., Janíček G., Pokorný J.:** *Chemie potravin*, Praha, Nakladatelství technické literatury, 1983, str. 632
12. **Hubík J., et al.:** *Obecná farmakognosie II. - sekundární látky*, Praha, SPN, 1989, str. 31

13. **Limem I. et al.:** *Process Biochemistry*, Production of phenylpropanoid compounds by recombinant microorganisms expressing plant - specific biosynthesis genes, 2008, vol. 43, is. 5, str. 463 – 479

14. **Horinouchi S.:** *Current Opinion in Chemical Biology*, Combinatorial biosynthesis of plant medicinal polyketides by microorganisms, 2009, vol 13, is. 2, str. 197 - 204

15. **Welch et al.:** *Current analytical chemistry*, Recent advance in anthocyanin analysis and characterisation, 2008, str. 75 - 101

16., **Gallian A. , Cooper - Driver:** *Phytochemistry*, Contributions of Jeffrey Harborne and co - workers to the study of anthocyanins, 2001, vol. 56, is. 3, str. 229 - 236

17. **Velíšek J.:** *Chemie potravin 3*, Tábor, OSSIS, 2002, str. 368

18. Botany : [Online] [Citace: 2. březem 2015.] www.botany.cz/cs

19. **PharmDr. Kašparová M. Ph. D.:** *Praktické lékárenství*, Borůvka černá (*Vaccinium myrtillus L.*), 2009, vol.7, is. 3, str. 143 - 145

20. **Rubcov V. G. , Beneš K.:** *Zelená lékárna*, Lidové nakladatelství vydavatelství ÚV SČSP, 1990

21. **Duke J. A.:** Duke's database. [Online] [Citace: 2. březem 2015.] <http://www.ars-grin.gov/duke/plants.html>.

22. **Bowen - Forbes C. S. , Zhang Yanjun, Muraleedharan G. N.:** *Journal of Food Composition and Analysis*, Anthocyanin content, antioxidant, antiinflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits, 2010, vol. 23, is 6, str. 554 - 560

23. **Abramovič H.:** *Coffee in health and disease prevention*, London, Victor R. Preedy, 2014

24. **Racek J. et al.:** *Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění*, Praha, Galén, 2003

25. **Denev P. et al.:** *Food Chemistry*, Solid - phase extraction of berrie's anthocyanins and evolution of their antioxidativ properties, 2010, vol. 123, is. 4, str. 1055 - 1061
26. **Kowalczyk E. et al.:** *Polish journal of pharmacology*, Anthocyanidin in medicine, 2003, str. 699 - 702
27. **Harborne J. B. , William Ch. A.:** *Phytochemistry*, Advances in avoid research since 1992, 2000, vol. 55, is. 6, str. 481 - 504
28. **Shadidi F. , Wanasundara P. K. J.:** *Critical reviews in food science and nutrition*, Phenolic antioxidants, 1992, vol. 32, is. 1, str. 67 - 103
29. **Borras - Linares I. , et al.:** *Industrial Crops and Products*, Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 vaietes od Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*), 2015, vol. 69, str. 358 - 394
30. **Côté J. et al.:** *Food Research International*, Effect of juice processing on cranberry antibacterial properties, 2011, vol.44, is. 9
31. **Stejskal D.:** [Online] [Citace: 17. duben 2015.]
<http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD/hypertext/DAACF.htm>.
32. **Prof. MUDr. Topinková E.CSc.:** *Sanquis, Apoptóza - programovaná buněčná smrt a stárnutí*. [Online] [Citace: 17. duben 2015.]
<http://www.sanquis.cz/index1.php?linkID=art752>.
33. **Bontempo V. et al.:** *Food and chemical toxicology*, Antioxidant, antimicrobial and anti - proliferative activities of *Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte, 2013, vol.55, str. 304 - 312
34. **Dai J. et al.:** *Food and Chemical Toxicology*, A comprehensive study of anthocyanin - containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms, 2009, vol.47, is. 4, str. 837 - 847

35. pb soft. [Online] [Citace: 20. březen 2015.]
<http://www.pbsoft.wz.cz/soubory/programy/statisti/help/vzorice.html>.
36. [Online] [Citace: 20. březen 2015.]
www.iscs.cz/files/documents/infocentrum/Jine/ODCHYLKA/Smerodatna-odchylka11.5.doc.
37. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. [Online] [Citace: 18. duben 2015.] <http://sun.ars-grin.gov:8080/npgspub/xsql/duke/plantdisp.xsql?taxon=878>.
38. **Blumberg J. B. et al.:** *Advances in Nutrition*, Cranberries and their bioactive constituent in human health, 2013, vol. 4, is. 6, str. 618 - 632
39. **Chiou A. et al.:** *Food Chemistry*, Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (*Vitis vinifera* L., var. Apyrena), 2014, vol. 146, str. 157 - 165
40. **Clifford M. N.:** *Journal of the science of food and agriculture*, Anthocyanins - nature, occurrence and dietary burden, 2000, str. 1063 - 1072
41. **Bishayee Anupam et al.:** *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Anthocyanin - rich black currant (*Ribes nigrum* L.) extract affords chemoprevention against diethylnitrosamine - induced hepatocellular carcinogenesis in rats, 2011, vol. 22, is. 11, str. 1035 - 1046
42. **Celik H. et al.:** *Scientia Horticulture*, Phytochemical accumulation and antioxidant capacity of four maturity stages of cranberry fruit, 2008, vol. 117, is. 4, str. 345 - 348
43. *Doktorka.cz*. [Online] [Citace: 26. březen 2015.]
<http://zdravi.doktorka.cz/ctyri-jednoduche-triky-jak-se-vyhnout-zanetum-mocovych-cest/>.

10. ABSTRAKT

Název práce: Obsah anthokyanidinů a jiných barviv v komerčně dostupných lécích a doplňcích stravy

Autor: Hana Karanská

Práce je zaměřena na stanovení anthokyanidů a anthokyanidinů v potravinových doplňcích, ovoci a džusech. Látky byly extrahovány methanolem za pomoci ultrazvukové lázně či varu na vodní lázni. Analýza byla prováděna pomocí HPLC. Z výsledků práce vyplývá, že obsah anthokyanů a anthokyanidinů je ve stanovovaných vzorcích zastoupen v různé míře. Všechny analyzované vzorky vykazovaly obsah těchto látek. Na základě informací od výrobce lze konstatovat, že přípravek Ostrovidky plus obsahoval deklarované množství anthokyanidů. Výrobci zbývajících preparátů neuvádí dostatečné informace o složení pro jednoznačné stanovení závěru, ale na základě výpočtů a úvah lze říct, že přípravky přibližně splňovaly obsah látek uváděných výrobcem. Množství anthokyanů v ovoci splňovalo hodnoty uváděné literaturou. Džusy neuváděly přesné množství anthokyanů.

ABSTRACT

Name of the work: The content of the anthocyanidines and other pigments in commercial drugs and food supplements

Author: Hana Karanská

This thesis is focused on the determination of anthocyanins and anthocyanidins in food supplements, fruits and juices. The substances were extracted with methanol using an ultrasonic bath or boiling water bath. Analysis was performed by HPLC. The results of this work show that the content of anthocyanins and anthocyanidins are in the determined samples represented in varying degrees. All the analysed samples showed the content of these substances. Based on information from the manufacturer we can say that the product Ostrovidky plus contained the declared amount of anthocyanins. Manufacturers of remaining specimens does not provide sufficient information about the composition for unambiguous determination of the result, but we can say that the products approximately satisfy the content of substances declared by the manufacturer. The amount of anthocyanins in the fruit meets the values reported in literature. Juices did not indicate the exact amount of anthocyanins.