



Screeningová metodika pro stanovení antioxidační aktivity u meruněk



Ing. Jiří Sochor, Ph.D.
Ing. Pavlína Šobrová
Mgr. Ondřej Zítka
Dr. Ing. Zdeněk Havlíček
RNDr. Vojtěch Adam, Ph.D.
doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.
doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D.
prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.
doc. Ing. René Kizek, Ph.D.
prof. Dr. Ing. Boris Krška

Mendelova univerzita v Brně

Screeningová metodika pro stanovení antioxidační aktivity u meruněk

Ing. Jiří Sochor, Ph.D., Ing. Pavlína Šobrová, Mgr. Ondřej Zítka,
Dr. Ing. Zdeněk Havlíček, RNDr. Vojtěch Adam, Ph.D., doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.,
doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D., prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.,
doc. Ing. René Kizek, Ph.D., prof. Dr. Ing. Boris Krška

Metodika stanovení antioxidační aktivity u meruněk

(metodická pomůcka pro zemědělskou praxi)

Lektorovali: RNDr. Michal Masařík, Ph.D. – Masarykova univerzita

Ing. Jiří Kolouch – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno

Tato publikace vznikla z výsledků řešení grantu QI91A032 „Výběr rezistentních genotypů meruněk k PPV s tržní kvalitou plodů“ financovaného národní agenturou pro zemědělský výzkum (NAZV) a výsledků infrastrukturního projektu CZ.1.05/1.1.00/02.0068 „CEITEC - Středoevropský technologický institut, centrum excelentní vědy“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Doporučená citace:

Sochor, J., Šobrová, P., Zítka, O., Havlíček, Z., Adam, V., Skládanka, J., Hubálek, J., Provazník, I., Kizek, R., Krška, B. Screeningová metodika pro stanovení antioxidační aktivity u meruněk. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2011, 36 s. ISBN 978-80-7375-575-1

ISBN: 978-80-7375-575-1

© Mendelova univerzita v Brně

Zemědělská 1, 613 00 Brno

2012

Obsah	
Abstrakt	3
Úvod	4
I. Cíl metodiky	6
II. Vlastní popis metodiky	6
2.1. Experimentální vzorky	6
2.2. Příprava vzorků meruněk	8
2.3. Stanovení antioxidační aktivity	9
2.3.1. Stanovení antioxidační aktivity pomocí DPPH• testu	9
2.3.2. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody ABTS	10
2.3.3. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody FRAP	10
2.3.4. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody DMPD	11
2.3.5. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody Free Radicals	11
2.3.6. Stanovení antioxidační aktivity pomocí Blue CrO ₅ metody	11
2.4. Bioinformatické zpracování získaných dat	12
2.4.1. Kombinace analýzy hlavních komponent – PCA	13
2.4.2. Shluková analýza	13
2.5. Rozdělení českého genofondu meruněk dle antioxidační aktivity	15
III. Srovnání novosti postupů	27
IV. Popis uplatnění metodiky	27
V. Ekonomické aspekty	28
VI. Seznam použité související literatury	29
VII. Seznam publikací, které předcházely metodice	34
VIII. Dedikace a poděkování	34

Abstrakt

Předložená metodika si klade za cíl podat vhodným a originálním způsobem návod, jak stanovit biologickou hodnotu meruněk. V rámci metodiky bylo analyzováno 243 hybridů meruněk, u kterých byla stanovena biologická hodnota pomocí antioxidační aktivity. Plody byly vypěstovány na experimentálním genofondovém pracovišti Mendelovy univerzity v Brně v roce 2010. Antioxidační aktivita byla, vzhledem k zajištění objektivnosti získaných výsledků, a také ve snaze o komparaci jednotlivých technik, stanovena pomocí šesti metod současně. Pomocí DPPH testu, metodami ABTS, FRAP, DMPD, Free Radicals a blue CrO₅. Dalším z cílů bylo předložit způsob, jakým takto velký soubor dat zpracovat. K tomu bylo využito metod statistického zpracování více parametrických dat. K názorné grafické prezentaci výsledků byla použita kombinace analýzy hlavních komponent a shlukové analýzy.

Klíčová slova: meruňky, antioxidační aktivita, analýza hlavních komponent, shluková analýza

Abstract

The aims of the suggested methodology are to give an appropriate and original instruction how to determine the biological value of apricots. Two hundreds forty three hybrids of apricots were analysed and the biological value of antioxidant activity was determined. The fruits were grown on an experimental gene resources centre at Mendel University in Brno in 2010. Antioxidant activity was due to ensuring the objectivity of the results obtained, and also in pursuit of a comparison of different techniques, determined using six methods simultaneously. DPPH test, ABTS methods, FRAP, DMPD, Free Radicals and blue CrO₅ were used. Moreover, the other aim was to present the way how process such a large data set. For this purpose, several parametric statistical processing approaches of data were used. To illustrate graphic presentation of the results a combination of principal components analysis and cluster analysis was used.

Keywords: apricot, antioxidant activity, principal component analysis, cluster analysis

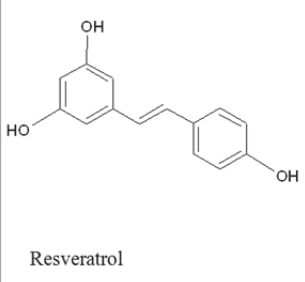
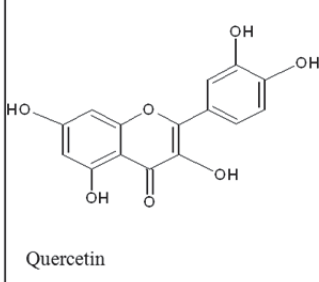
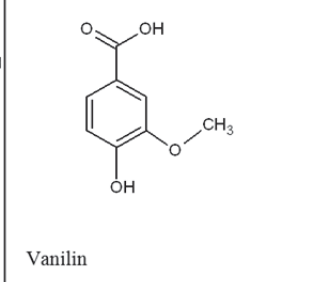
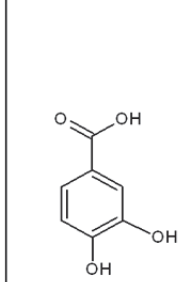
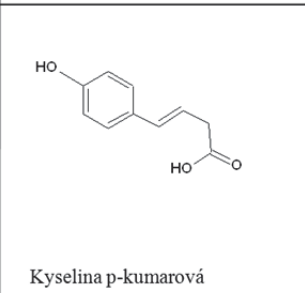
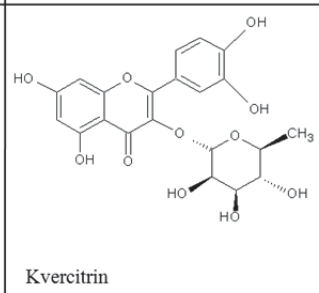
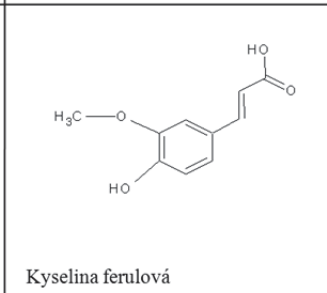
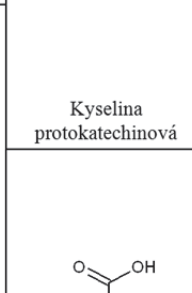
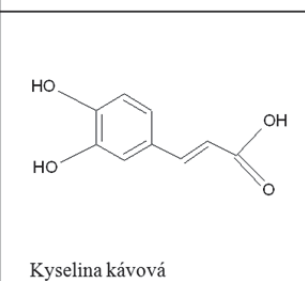
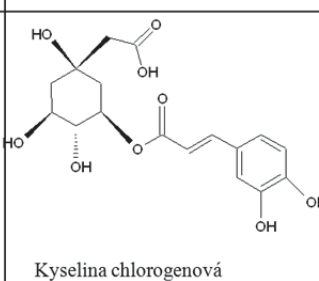
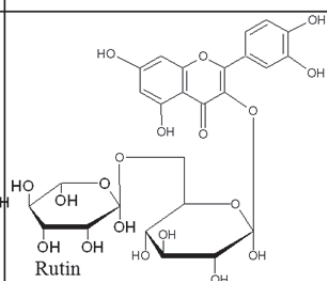
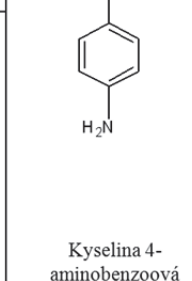
Úvod

Antioxidační aktivita a volné radikály jsou pojmy velmi často skloňované jak v současném medicínském výzkumu, tak mezi veřejností zajímající se o zdravý životní styl. Stále intenzivněji je studována role volných radikálů v patogenezi kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění a u skupiny onemocnění označovaných jako civilizační choroby. Jedná se o choroby, které jsou spojeny s životním stylem moderní doby a větších měst (Choi, a kol., 2008). Příčinami jsou především průmyslová velkovýroba znečišťující životní prostředí, příjem a nadbytečná konzumace kaloricky bohatých potravin tučných a slaných jídel z živočišných zdrojů, a konzumace slazených potravin a nápojů (Mozaffarian, a kol., 2011). Dále významný úbytek fyzické aktivity, konzumace alkoholu, cigaret a zvýšený stres (Choi, 2006, Choi, a kol., 2005, Choi, a kol., 2008). Tyto příčiny způsobují nahromadění volných radikálů, které urychlují rozvoj mnoha chorob. Mezi takové choroby patří ateroskleróza (Azizova, 2002), rakovina (Cao, a kol., 2011), infarkt myokardu (Howell, 2011), diabetes mellitus (Martensen a Jones, 1997), deprese (Walter a Thomas, 2009) nebo také předčasné stárnutí (Chen, a kol., 2007). Pozornost v této souvislosti je věnována přispění přírodních antioxidantů k ochraně proti těmto procesům (Block, a kol., 1992, Horvathova, a kol., 2001, Wicki a Hagmann, 2011).

Meruňky jsou považovány za bohatý zdroj polyfenolických sloučenin (Akin, a kol., 2009, Madrau, a kol., 2009, Ruiz, a kol., 2006, Sochor, a kol., 2010), organických kyselin, vitamínů, barviv a minerálních prvků (Akin, a kol., 2009, Dragovic-Uzelac, a kol., 2007, Elsayed a Luh, 1965, Hegedus, a kol., 2010, Madrau, a kol., 2009, Munzuroglu, a kol., 2003, Saracoglu, a kol., 2009, Sochor, a kol., 2010, Williams a Wender, 1953). Polyfenolické látky jsou obsaženy prakticky ve všech rostlinách, jsou označovány jako sekundární metabolity (Jimenez, a kol., 2005, Ram, a kol., 2004). Druh a typ těchto látek jsou pro jednotlivé druhy rostlin charakteristické, zajímavé jsou díky jejich antioxidačním vlastnostem (Sochor, a kol., 2011). Mezi typické antioxidanty ovoce patří flavonoidy a fenolické kyseliny, tokoferoly, karotenoidy, fosfatidy, polyfunkční organické kyseliny, kyselina askorbová, některé stopové prvky a enzymy (Fernandez, a kol., 2008, Flodin, 1997, Gilca, a kol., 2007, Ruiz, a kol., 2006, Saracoglu, a kol., 2009). Strukturální vzorce polyfenolických sloučenin se silnými antioxidačními účinky jsou ukázány na Obr. 1. Většina těchto látek vykazuje antioxidační aktivitu (Du, a kol., 2009). Bylo prokázáno, že antioxidační aktivita kolísá v závislosti na typu fenolických sloučenin přítomných v ovoci, a že některé typy fenolických sloučenin vykazují vyšší antioxidační aktivitu než ostatní (Fu, a kol., 2011). Předpokládá se, že na protektivním

účinku se podílí schopnost rostlinných polyfenolických sloučenin zhašet reaktivní kyslíkové radikály, jež jsou schopny generovat vysoce reaktivní hydroxylové radikály.

Obrázek 1. Strukturální vzorce polyfenolických sloučenin se silnými antioxidačními účinky.

 Resveratrol	 Quercetin	 Vanilin	
 Kyselina p-kumarová	 Kvercitrin	 Kyselina ferulová	 Kyselina protokatechinová
 Kyselina kávová	 Kyselina chlorogenová	 Rutin	 Kyselina 4-aminobenzoová

Vzhledem k chemické diversitě antioxidačních komponent přítomných v ovoci není dosud obsah jednotlivých látek nikde k dispozici. Detekce terapeuticky aktivních složek v biologické matici bývá často komplikovaná, zjištěné kvantitativní hodnoty se v mnohých studiích liší a mnohdy dochází k situaci, že přítomná látka není detekována ani s využitím efektivních separačně-analytických metod (Mozaffarian, a kol., 2011, Onate-Jaen, a kol., 2006). Kromě toho množství jednotlivých antioxidantů v jednotlivých druzích nemusí nutně vyjadřovat celkovou antioxidační kapacitu. Stanovení antioxidační aktivity je jednou z možností pro vyjádření biologické a nutriční hodnoty ovoce (Sochor, a kol., 2010). Tato veličina kolísá v závislosti na typu polyfenolických sloučenin přítomných v ovoci, a také na tom, že některé typy fenolických sloučenin vykazují vyšší antioxidační aktivitu než ostatní (Wang, a kol., 1996). Metody jejího stanovení se nejčastěji zakládají na přímé reakci studované látky s radikály (zhašení nebo naopak jejich vychytávání) nebo na reakci s přechodnými kovy (Sochor, a kol., 2010). Hodnota antioxidační aktivity udává míru

potenciální inhibice nepříznivých účinků volných radikálů. Nejpoužívanějšími metodami stanovení antioxidační aktivity u ovoce a potravin jsou metody spektrofotometrické. Mají velmi jednoduchý postup stanovení, cenovou nenáročnost, jednoduchou aplikovatelnost, nevyžadují specializované přístroje ani pracovníky (Sochor, a kol., 2010, Sochor, a kol., 2010).

I. Cíl metodiky

Cílem metodiky je vyjádřit kvalitu meruněk pomocí antioxidační aktivity. Antioxidační aktivita byla, vzhledem k zajištění objektivnosti získaných výsledků, a také ve snaze o komparaci jednotlivých technik, stanovena pomocí šesti metod současně. Pomocí metod DPPH, ABTS, DMPD, FRAP, Free Radicals a blue CrO₅. Byly vyjádřeny vzájemné vztahy mezi jednotlivými metodami. Matematicky jsme hodnotili souvislosti mezi sledovanými hybridy.

II. Vlastní popis metodiky

2.1. Experimentální vzorky

K experimentu bylo využito 239 hybridů meruněk (*Prunus armeniaca* L.). Rostliny byly pěstovány v České republice, Jihomoravském kraji, v katastru obce Lednice, klimatické oblasti T4 (Obr. 2). Lokalita se nachází v nadmořské výšce 180 m. n. m., průměrná roční teplota dosahuje 9 °C, průměrný roční úhrn srážek je 517 mm, půda je hlinitopísčítá. Analýza půdní chemie (Mehlich III): pH - 6,02, fosfor - 152,4 mg·kg⁻¹, draslík – 289,4 mg·kg⁻¹, vápník – 2648 mg·kg⁻¹, hořčík – 365,8 mg·kg⁻¹. Plody byly sklizeny ručně, při konzumní zralosti v době od 1. července do 15. srpna roku 2010. Zatížení plodů se pohybovalo od 10 do 50 kg na strom. Agrotechnika: 15. 3. 2010 - hnojivo *Yarakomplex*, typ NPK, dávka 120 kg·ha⁻¹; 1. 4. 2010 -hnojivo *Bortrac*, typ hnojení borem, dávka 200 g·ha⁻¹; 30. 5. 2010 - hnojení močovinou, dávka 300 kg·ha⁻¹; 5. 6. 2010 - hnojivo *Zintrac*, dávka 1.5 kg·ha⁻¹, 10.6, 10.7, 10.8 hnojivo *Sampi*, dávka 15 kg·ha⁻¹. Dekádní úhrny srážek a průměrná teplota v období od 1. 5. 2010 do 20. 8. 2010 jsou uvedeny v Tab. 1.

Obrázek 2.: Fotografie genofondu.



Tabulka 1. Dekádní úhrny srážek a průměrná teplota v období od 1. 5. 2010 do 20. 8. 2010.

Dekáda	Dekádní úhrn srážek (mm)	Průměrná dekádní teplota (°C)
10. 5. 2010	44	15
20. 5. 2010	50	12
30. 5. 2010	39	16
10. 5. 2010	40	19
20. 6. 2010	41	19
30. 6. 2010	1	20
10. 6. 2010	5	22
20. 7. 2010	58	25
30. 7. 2010	45	20
10. 8. 2010	39	20
20. 8. 2010	23	21

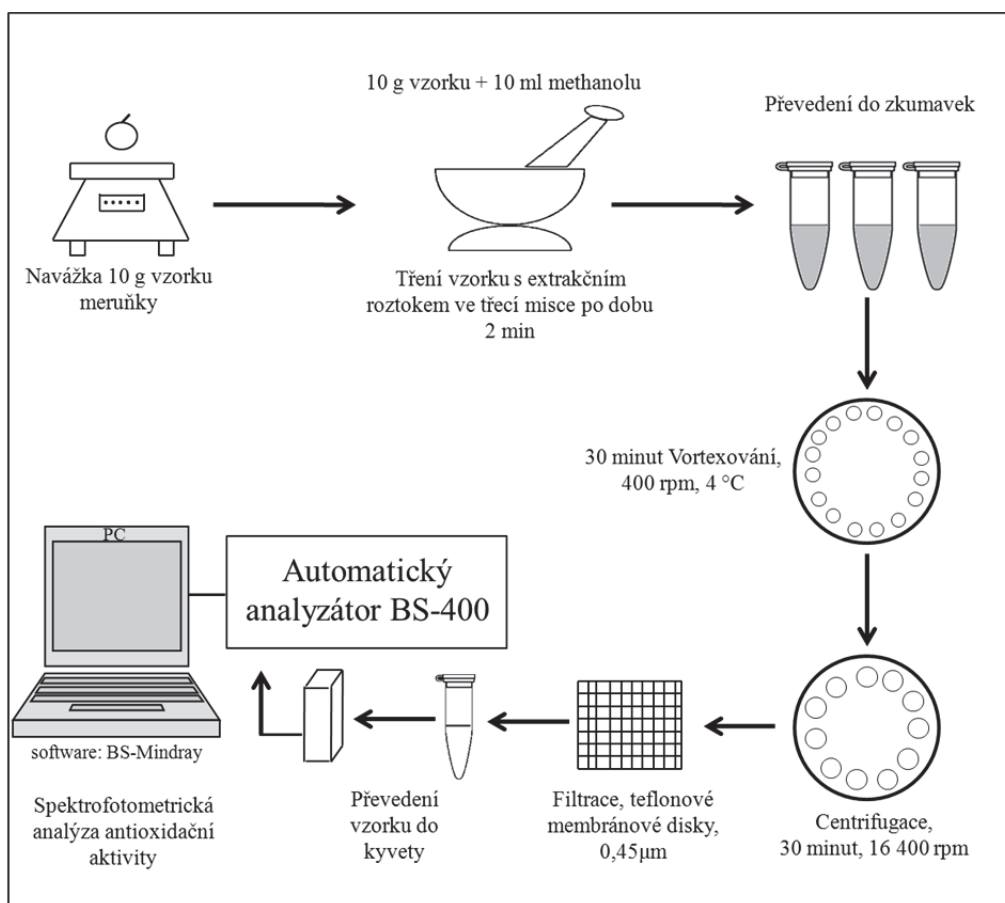
Hybridy zařazené do studie: (5-8-8, 5-17-103, 6-10-45A, Abu Talibu, Ackermann, Agat, Achrori, A-II 25/65, Alfred, Amos, Ananasnyj Čjuripinskij, Ansu, Antonio Erani, Apricos von nansy, Arzam. Aromatnyj, Aurora, Aviator, Bai-Gon, Beliana, Bergeron A114, Blenheim, Blenheim Orange, C4R8T22, California, Cegledi Bilbor, Cegledi Biror, Cocov, Colomer Nativ, Colov 19, Curtis, Čačansko zlato, Čína, Čudovnys, Dacia, DA-YU-BADA, Docteyr Maccle, Doc. Blatný, Early Blush, Early Gold, Early Ryl, Efekt-22/7, Exherova, Farmingdale, Favorit, Festivalna, Forum, Fruhe von Kitsee, Gergana, Goldcot, Goldrich,

Goldtropfen, Goliaš, Gulia, Gvardějskyj, H-14/25, Hacihaliloglo, Harcot, Harglow, Hargrand, Harval, Helena de Rousilion, Hendersen, H-I-9149, H-II 16/1, H-II 19/40, H-II 45/26, Chersonskij, Churmai, Chvang sin, Chvan-Shi-Cong, I 51/00, In-Bez-Sin, Iskra, Ivone Liverani, Jubilejnyj, Julskij, Jvan-Sin, Keczli Mete Rosen, Klosterneuburger, Konzervnyj pozdnyj, Kospotěnskij, Kostinskij, Kostuřenskyj, Krasnošč Nikitskij, Krupnoploda, Krupnoplodá II, Krymsk Medunec, Labert in 4NO, Lajcot, Lakanyj, LE-1075, LE-11/91, LE-1402, LE-2267, LE-3204, LE-3709, LE-4725, LE-5306, LE-5500, LE-5832, LE-5854, LE-6016, LE-6283, LE-7150, LE-7463, LE-858, LE-8711, LE-946, LE-982, LE-985, LE-994, LE-995, Leala, Lebeza, Ledana, Lefreda, LE-831, Lefrosta, Legolda, Lejara LE -386, Lameda, Lenova, Lepana, Leronda, Lerosa, Leskora, Ligeti Orias, Litoral, Ljotčik, Luizet, M 47, M 56, maďarská235C, Magiar Kajszi, Machová, Mai-Huang, Mamaia, Manicot, Marena, Markulesti, Marlen, Martina Bassi, Melitopolskij, Merculešti 17/2, Merkurij, MK 132 Visus Foe, Moi-Schva-Sin, Mold Olimpik, Moldavský krup, Mongold, Murfatlar, Murgab, Nachodská Krajová, Náchodský zázrak, Nansy Aprikose, Nikitskij, NJA-1, NJA-2, NJA-35, NJA-55, Nugget, Orange red, Oranževo Krasnyj, Pacov, Pastyrik, Pentagon, Perfection, PLM.78FIŠR, Poirat, Polgocvetna, Poljus Južnyj, Polonais, Posjolok, Poyer, Pozdní chrámová, Pretendent, Priusaděbnyj, Reliable, Reumberto, Riland, Rival, Rodina, Rotmaler, Rouge de Fournier, Rouge de Rive Saltes, Rouge de Sarnhac. Roxana, Ružová Ranná, Sabinovská LE-220, Saldcot, Scana, Scout, Sem Badem Eric, SEO, SEO-104, Seo-105, SEO-111, SEO-116, SEO-31, SEO-36, SEO-40, SEO-41, SEO-74, SEO-94, Sosed, Stelar, Strepet, Sundrop, Sungiant, Sunglo, Sungold, Šalah, Štepnjak Oranževyj, Tabu, TDB, Tilton, Užgorod, Vardaguin, Vagdaas, Vebama, Veecot, Velikyj, Velita, Velvaglo, Veselka 74/14, Vesna, Vesprima, Vinoslivij, Vivagold, Vnuk Krasnoščokogo, Volšebnyj, Voskij, VP-LE-118, VP-LE-12/6, VP-LE1212, VS22/23, VS-23/164, Vyndrop, Wenatchee, Zard, Zorkij.

2.2. Příprava vzorků meruněk

Z jednotlivých plodů byly, pomocí otevřené vzorkovací trubice, metodou náhodného vzorkování o pěti odběrech, odebrány reprezentativní vzorky o navážce 10 g (Obr. 3). Tyto byly dále převedeny do třecích misek, zamraženy dusíkem a při teplotě 4 °C homogenizovány s 10 ml 99 % metanolu. Homogenizované vzorky byly kvantitativně převedeny do zkumavek a za stejných laboratorních podmínek byly ponechány 30 minut na vortexu (VORTEX Genius 3, IKA, Germany), 400 rpm, 4 °C. Následovala centrifugace (Eppendorf 5804R, Německo) po dobu 30 minut při 16 400 otáček · min⁻¹. Supernatanty byly filtrovány přes teflonové membránové disky (0,45 μm), (Metachem, Torrance, CA, USA).

Obrázek 3. Schéma přípravy vzorků meruněk.



2.3. Stanovení antioxidační aktivity

K analýzám byl použit automatický spektrofotometr BS-400 (Mindray, Čína), který se skládá z kyvetového prostoru (temperovaný na $37 \pm 0,1$ °C), reagenčního prostoru s karuselem pro reagentie a přípravu vzorků (temperovaný na 4 ± 1 °C) a optického detektoru. Zdrojem světla je halogeno-wolframová žárovka. Přenos vzorků a reagentů zabezpečuje robotické rameno s dávkovací jehlou. Obsah kyvet je promíchán automatickým míchadlem ihned po přidání činidla nebo vzorku o objemu 2-45 µl. Kontaminace je minimalizována díky proplachování jak dávkovací jehly, tak míchadla MilliQ vodou. Pro detekci bylo možné využít vlnových délek: 340, 380, 412, 450, 505, 546, 570, 605, 660, 700, 740, 800 nm. Zařízení je plně kontrolováno softwarem BS400 (Mindray, Čína). Výsledek antioxidační aktivity byl vyjádřen jako ekvivalent kyseliny galové. Meruňky měly celkově takový antioxidační potenciál jako množství kyseliny galové (u metody Blue CrO_5 δ tokoferolu) v 1 kg tohoto ovoce v čerstvém stavu.

2.3.1. Stanovení antioxidační aktivity pomocí DPPH[•] testu

Principem DPPH testu je schopnost stabilního volného radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku. DPPH[•] vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. Při tomto

testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem (R^\bullet) roztok odbarví dle následující reakce: $DPPH^\bullet + AH \rightarrow DPPH-H + A^\bullet$, $DPPH^\bullet + R^\bullet \rightarrow DPPH-R$ (Parejo, a kol., 2000).

Do plastových kyvet bylo pipetováno 150 μ l reagensie R1 (0,095 mM 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl- DPPH $^\bullet$), následně bylo přidáno 15 μ l měřeného vzorku. DPPH $^\bullet$ test je založen na schopnosti stabilního volného radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku. DPPH $^\bullet$ vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. Absorbance byla měřena 12 minut při $\lambda = 505$ nm. Dle kalibrační křivky byla absorbance přepočítána na ekvivalentní obsah kyseliny galové. Kalibrační závislost je ukázána na Obr. 4A.

2.3.2. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody ABTS

ABTS metoda je jedním z nejvíce používaných testů na stanovení koncentrace volných radikálů. Princip stanovení je založen na neutralizaci radikálkationtu vzniklého jednoelektronovou oxidací syntetického chromoforu ABTS $^\bullet$ (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu) na radikál $ABTS^\bullet - e^- \rightarrow ABTS^{+\bullet}$. Tato reakce je monitorována spektrofotometricky, měří se změna absorbance (Re, a kol., 1999).

Do plastových kyvet bylo pipetováno 150 μ l reagensie R1 (7 mM ABTS $^\bullet$ (2,2'-azinobis 3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina a 4,95 mM peroxodisíran draselný), následně bylo přidáno 3 μ l vzorku. Absorbance byla měřena při $\lambda = 660$ nm po dobu 12 minut. Dle kalibrační křivky byla absorbance přepočítána na ekvivalentní obsah kyseliny galové. Kalibrační závislost je ukázána na Obr. 4B.

2.3.3. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody FRAP

Metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) je založena na redukci železitých komplexů TPTZ (2,4,6-tripyridyl-S-triazin) s chloridem železitým ($FeCl_3$), které jsou téměř bezbarvé (popř. slabě nahnědlé) a po redukci tvoří modře zbarvený železnatý komplex. Metoda má své limity spočívající v tom, že měření probíhá při nefyziologicky nízké hodnotě pH (3,6) a nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky a thioly (Benzie a Strain, 1996).

Příprava reagensie: 1. 10 mM roztok TPTZ, doplnit po rysku 40 mM kyselinou chlorovodíkovou (HCl); 2. roztok 20 mM $FeCl_3$; 3. acetátový pufr 20 mM, pH 3,6; tyto tři roztoky se smíchají v poměru TPTZ: $FeCl_3$: acetátový pufr – 1:1:10. Reagencie je použitelná týden při uskladnění v temném prostředí a teplotě 4 °C. Do plastových kyvet bylo pipetováno 150 μ l reagensie a následně bylo přidáno 3 μ l vzorku. Absorbance byla měřena 12 minut při $\lambda = 605$ nm. Dle kalibrační křivky byla absorbance přepočítána na ekvivalentní obsah kyseliny galové. Kalibrační závislost je ukázána na Obr. 4C.

2.3.4. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody DMPD

Sloučenina DMPD (N,N-dimethyl-1,4-diaminobenzen) je působením železité soli v roztoku převedena na relativně stabilní a barevnou radikálovou formu $\text{DMPD}^{+\cdot}$. Sloučeniny s antioxidační aktivitou jsou schopny $\text{DMPD}^{+\cdot}$ radikály zhaset a tím dochází k odbarvení roztoku a poklesu absorbance (Fogliano, a kol., 1999).

Do plastových kyvet bylo pipetováno 160 μl reagentie R1 (200 mM N, N-dimethyl-p-fenylendiamin-DMPD, 0,05 M FeCl_3 , 0,1 M acetátový pufr pH 5,25), následně bylo přidáno 4 μl měřeného vzorku. Absorbance byla měřena 12 minut při $\lambda = 505 \text{ nm}$. Dle kalibrační křivky byla absorbance přepočítána na ekvivalentní obsah kyseliny galové. Kalibrační závislost je ukázána na Obr. 4D.

2.3.5. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody Free Radicals

U této metody je využíváno schopnosti chlorofylinu (sodno-mědnatá sůl chlorofylu) přijímat a odevzdávat elektrony za současné stabilní změny absorpčního maxima. Tento děj je podmíněn alkalickým prostředím a přidavkem katalyzátoru. Do plastových kyvet bylo pipetováno 150 μl reagentie R1 (0,1 M HCl , extrakt chlorofylinu, reakční pufr, katalyzátor) a následně bylo přidáno 6 μl vzorku. Absorbance byla měřena 12 minut při $\lambda = 450 \text{ nm}$. Dle kalibrační křivky byla absorbance přepočítána na ekvivalentní obsah kyseliny galové. Kalibrační závislost je ukázána na Obr. 4E.

2.3.6. Stanovení antioxidační aktivity pomocí Blue CrO_5 metody

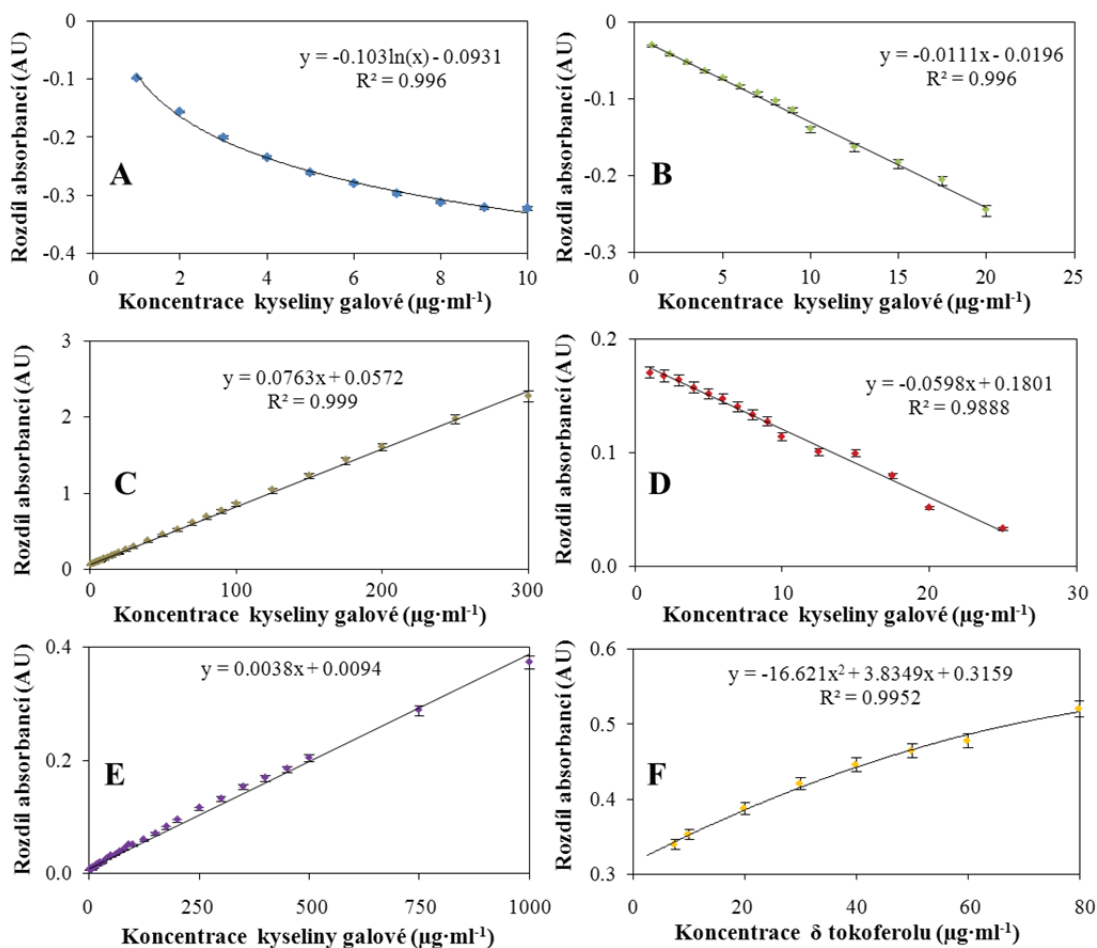
Chrom (VI) peroxid je silný pro-oxidant, který vzniká reakcí dichromanu amonného v kyselém prostředí v přítomnosti H_2O_2 . Jedná se o tmavě modrou silnou oxidační sloučeninu, mísitelnou a relativně stabilní v polárních organických rozpouštědlech, která je spektrofotometricky snadno měřitelná (Charalampidis, a kol., 2009).

Příprava reagentie: 1 roztok: 1a) 10 ml roztoku 0,025 M kyseliny sírové: 13,4 μl 98,8 % kyseliny sírové zředit ACS vodou na 10 ml. 1b) 10 ml roztoku 0,02 M dichromanu amonného: 0,0504 g dichromanu amonného doplnit ACS vodou. 1c) 30 ml 99,5 % DMSO. Tyto tři roztoky se smíchají v poměru 1 (roztoku kyseliny sírové) : 1 (roztok dichromanu amonného) : 3 (DMSO). 2 roztok: 1,6 M peroxid vodíku.

Do plastových kyvet bylo pipetováno 400 μl roztoku č. 1 a následně přidáno 4 μl vzorku. Proběhla inkubace v délce tří minut a byla změřena první absorbance (A_1). Následně bylo pipetováno 40 μl reagentie č. 2, proběhla opět inkubace v délce tří minut a byla zaznamenána druhá hodnota absorbance (A_2). Měření probíhalo při $\lambda = 546 \text{ nm}$. Výsledná absorbance byla vypočtena dle vzorce: $A = A_2 - A_1$ a přepočítána na ekvivalentní obsah kyseliny galové dle

kalibrační křivky. U této metody byla antioxidační aktivita přepočtena na ekvivalentní obsah antioxidantu δ tokoferol. Kalibrační závislost je ukázána na Obr. 4F.

Obrázek 4. Kalibrační křivky jednotlivých metod pro stanovení antioxidační aktivity. (A) DPPH test, (B) ABTS test, (C) FRAP metoda, (D) DMPD metoda, (E) Free radicals metoda a (F) Blue CrO₅ metoda.



2.4. Bioinformatické zpracování získaných dat

Vzhledem ke složení komplexu antioxidantů v daném biologickém materiálu bylo nutné vybrat soubor vhodných metod. Značná část autorů stanoví antioxidační aktivitu však pouze jednou metodou, v naší metodice byla antioxidační aktivita stanovena pomocí šesti principiálně rozdílných metod – je použito šest rozdílných komplexů s volnými radikály. Každá metoda je založena na jiném principu a zhasí nebo vycytává jiné antioxidanty (Sochor, a kol., 2010). Proto jsou hodnoty, které jsme získali, rozdílné a v jiném rozsahu.

Protože analyzujeme soubor meruněk na základě 6 měřených metod, pro další zpracování dat bylo nezbytné použít metody statistického vyhodnocení více parametrických dat. K názorné grafické prezentaci výsledků se nám jevila nejvýhodnější kombinace analýzy hlavních

komponent (Principal Component Analysis - PCA) a shlukové analýzy (Cluster Analyse CA). Protože výsledky ani jedné analýzy nejsou stoprocentní, navzájem se obě metody doplňují a jak ukazují výsledky, se i kontrolují.

2.4.1. Kombinace analýzy hlavních komponent - PCA

PCA pracuje na principu zjednodušení vzájemně lineárně závislých parametrů na nové nekorelované proměnné nazývané se hlavní komponenty. Výsledné hlavní komponenty jsou seřazeny dle důležitosti podle klesajícího rozptylu tak, aby nesly informaci o variabilitě vstupních dat. První hlavní komponenta je takovou lineární kombinací vstupních znaků, která má největší rozptyl mezi všemi ostatními lineárními kombinacemi.

Využití PCA vyžaduje, aby každý parametr ovlivňoval výsledné hlavní komponenty stejnou měrou. Reprezentace rozptylů jednotlivých parametrů, znázorněný na Obr. 5A, ukazuje, že obor hodnot u jednotlivých metod antioxidační aktivity se značně liší. Proto před aplikací PCA bylo třeba normalizovat parametry pomocí středních hodnot výsledků antioxidační aktivity tak, aby měly všechny stejný vliv. Normalizované hodnoty parametrů jsme přepočítaly na hodnoty hlavních komponent tak, abychom co nejvíce snížili dimenzi dat (Obr. 5B). Krabicové grafy na obrázcích 5A a B ukazují, jaký vliv na výsledné hlavní komponenty mají jednotlivé metody před a po normalizaci s využitím standardizace směrodatné odchylky měření. Přestože minimalizace z šesti parametrů na tři hlavní komponenty se jeví redundantní, při použití PCA jsme zjistili, že se jeví značně efektivní. Reprezentaci celého měření jsme převedli do dvourozměrného prostoru, protože dvě získané hlavní komponenty reprezentují 92% výsledků měření, jak ukazuje Obr. 5C).

2.4.2. Shluková analýza

Ke konstrukci dendrogramu byl využit statistický toolbox v programu Matlab 7.9.0 (R2009b). Výpočet byl proveden pomocí Wardovy metody. Volba této metody se ukazuje jako výhodná zejména v našem případě, kdy mají všechny proměnné stejný rozměr. Pracuje na principu spojování dvou podobných objektů do shluků na základě „kritéria kvality rozkladu na součet čtverců odchylek objektů od vektoru průměrů příslušnému shluku“. Na začátku máme tedy matici vektorů šesti změřených hodnot pro všechny genotypy meruněk = objekty. Z ní vypočítáme matici vzdáleností mezi všemi páry objektů na základě Euklidovské vzdálenosti podle vztahu:

$$Q_E(X_r; X_s) = \sqrt{\sum_{j=1}^p (X_{rj} - X_{sj})^2}$$

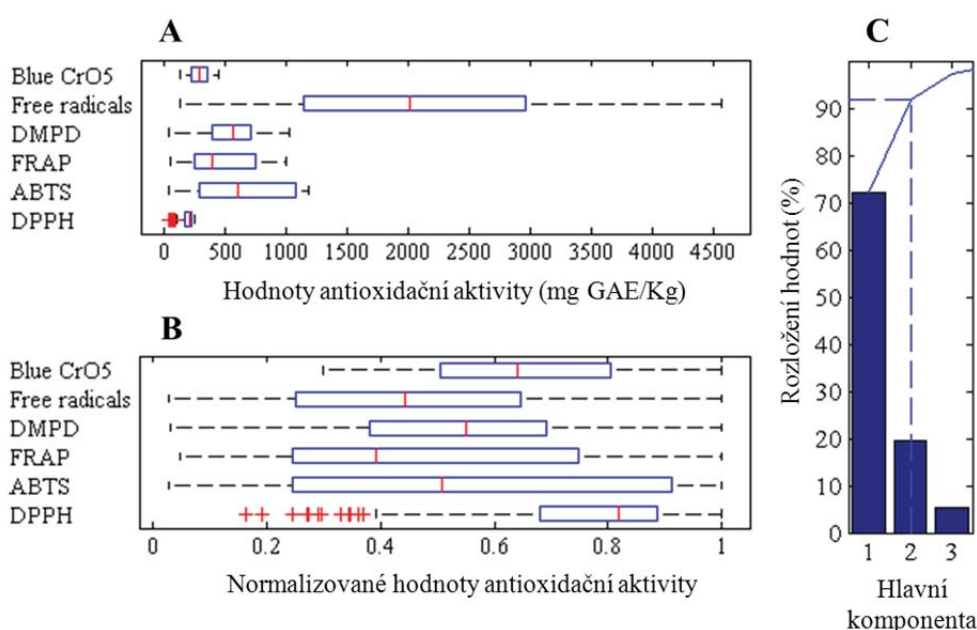
kde $x_{r,s}$ jsou dva změřené vektory příslušných objektů a j značí prvek ve vektoru ($p = 3$). Matice vzdáleností se minimalizuje na základě spojování objektů do shluků, kdy vybereme vzájemně si podobné objekty z matice podle minima vzdáleností a dopočítáme jejich vektor průměrů tj. uzel jejich spojení jako minimum součtu čtverců odchylek od shlukovaného průměru. Zjednodušený aritmetický vztah pro určení součtu čtverců v obou zanikajících shlucích je dán:

$$\Delta C = \frac{n_A n_B}{n_A + n_B} \sum_{j=1}^p (\bar{x}_{aj} - \bar{x}_{bj})^2$$

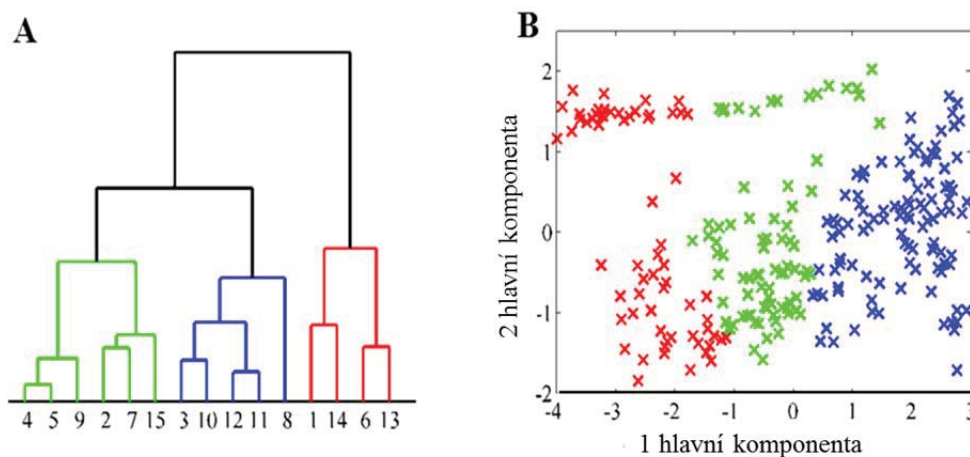
Obecně se jedná o součin Euklidovské vzdálenosti mezi uzly daných shluků A a B, spojovaných v jeden nový shluk C, závisující na počtu objektů v daných shlucích $n_{A,B}$. V každém kroku tak provádíme spojení minimalizací kritéria ΔC a celá metoda má tendenci tvořit malé shluky shodné velikosti, což se jeví jako optimální.

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny a metody mezi sebou korelovány. Dále jsme vytvořili klastry s rozdělením hybridů dle hodnot antioxidační aktivity. Výhodnost převedení měření na analýzu dvou hlavních komponent se ukázala výhodná i při srovnání shlukové analýzy (Obr. 6A) s vykreslením distribuce hodnot PCA (Obr. 6B). Barevné odlišení odpovídajících shluků v distribuci dvou primárních komponent nám vyšlo téměř geometricky přesně oddělené.

Obrázek 5. Krabicové grafy ukazují poměr rozptylů jednotlivých metod: (A) pro původní změřené hodnoty, (B) pro normalizované hodnoty podle směrodatné odchylky, (C) zastoupení získaných hlavních komponent.



Obrázek 6. (A) Statistické seskupení sledovaných hybridů meruněk podle hodnot jejich antioxidační aktivity. Všechny hybridy meruněk byly rozděleny do tří skupin. (B) Třídimenzionální rozložení jednotlivých hybridů na základě jejich vzájemných vztahů.



2.5. Rozdělení českého genofondu meruněk dle antioxidační aktivity

Všechny hybridy byly, dle hodnot obsahu antioxidační aktivity, rozděleny do 15 skupin. Tyto skupiny jsou rozděleny dle jejich vzájemného vztahu na základě obsahu látek, které mají antioxidační účinky. Vysvětlení tohoto jevu, získaného shlukovými technikami, můžeme dosáhnout pomocí sledování závislostí mezi jednotlivými metodami. Protože PCA vychází z vyhledání lineárních závislostí mezi vstupními parametry, je vhodné vyjít z korelogramů pro jednotlivé parametry. Dendrogram shlukové analýzy sledovaných genotypů meruněk byl sestavován na základě hodnot antioxidačních aktivit, získaných na základě měření metodami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS, DMPD, FRAP, Free Radicals, Blue CrO₅).

Hodnoty antioxidační aktivity u jednotlivých hybridů a rozdělení těchto hybridů do skupin dle obsahu antioxidační aktivity

Skupina 1: Arzam, Aromatnyj, Harcot, H-II 19/40, In-Bez-Sin, Krymsk Medunec, LE-1402, LE-2267, LE-4725, LE-5500, Legolda, Litoral, M 56, Moi-Schva-Sin, Rival, SEO-116, Veselka 74/14, Vivagold.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
Arzam.						
Aromatnyj	114	322	203	326	1547	144
Harcot	214	1064	683	259	2769	156
H-II 19/40	212	974	616	382	2624	198
In-Bez-Sin	192	547	332	508	1585	312

Krymsk	184	531	308	442	1511	148
Medunec	213	982	591	526	2857	258
LE-1402	198	577	367	450	1706	259
LE-4725	216	1144	856	387	3541	254
LE-5500	214	1123	864	410	3373	263
Legolda	217	1153	888	370	3534	357
Litoral	217	1115	804	371	3200	357
M 56	216	1133	916	495	3840	321
Moi-Schva-Sin	191	574	537	444	1880	259
Rival	220	1141	1000	312	3992	159
SEO-116	218	1145	880	326	3824	354
Veselka 74/14	151	431	257	458	1223	412
Vivagold	216	1123	916	398	3507	423

Skupina 2: Antonio Erani, Bai-Gon, Forum, LE-6016, LE-7150, MK 132 Visus Foe, NJA-2, VP-LE-12/6.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
Antonio Erani	214	972	592	395	2621	358
Bai-Gon	213	872	592	536	2960	369
Forum	119	280	207	382	629	324
LE-6016	214	900	585	444	2613	259
LE-7150	221	1148	952	281	3938	258
MK 132 Visus Foe	218	1140	956	234	3947	159
NJA-2	216	1154	992	262	4060	369
VP-LE-12/6	217	1024	742	424	3419	258

Skupina 3: 5-17-103, Aviator, Colov 19, DA-YU-BADA, Exherova, Gvardějskyj, Harglow, I 51/00, Krupnoploda, LE-3709, LE-6283, LE-858, Ledana, Lenova, Ljotčik, M 47, Machová, Martina Bassi, Melitopolskij, Merkurij, Nansy Aprikose, NJA-35, NJA-55, Nugget, Poirat, Poyer, Priusaděbnyj, Reliable, Reumberto, Riland, Sem Badem Eric, SEO-111, SEO-74, Sungiant, Šalah, Štepnjak Oranževyj, Velvaglo, Vnuk Krasnoščokogo, VP-LE1212.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
5-17-103	216	1133	800	394	3616	159

Aviator	196	677	434	374	1793	421
Colov 19	217	1071	809	329	3189	412
DA-YU- BADA	213	1124	881	567	3999	145
Exherova	216	998	647	363	2998	148
Gvardějskýj	180	480	345	351	1504	178
Harglow	213	744	497	491	2260	159
I 51/00	122	220	163	529	906	369
Krupnoploda	219	1129	60	281	2626	358
LE-3709	217	921	556	376	2649	269
LE-6283	209	696	482	392	2095	213
LE-858	217	1139	964	325	4007	222
Ledana	215	1139	956	419	4055	152
Lenova	104	208	305	529	892	132
Ljotčik	211	770	502	491	2443	325
M47	81	116	100	558	284	410
Machová	218	1120	908	368	2870	321
Martina Bassi	217	1088	809	553	2788	357
Melitopolskij	216	1121	908	479	3176	269
Merkurij	216	1123	820	270	3119	248
Nansy	220	1128	968	445	3464	287
Aprikose	213	699	447	623	1704	231
není popis	213	699	447	623	1704	231
NJA-35	217	1065	802	527	2679	157
NJA-55	218	1122	816	596	3125	198
Nugget	217	1139	816	483	3063	185
Poirat	219	895	607	436	1974	163
Poyer	215	1019	824	641	2893	285
Priusaděbnyj	218	1127	804	526	3172	274
Reliable	217	1091	812	393	2693	263
Reumberto	209	598	393	590	1598	324
Riland	174	371	255	470	861	357
Šalah	220	1117	804	512	2701	391
Sem Badem	215	979	636	481	2170	408
Eric	215	979	636	481	2170	408
SEO-111	207	637	423	524	1601	215
Seo-74	218	1072	787	692	2810	211
Štepnjak	195	510	263	741	1469	209
Oranževyj	195	510	263	741	1469	209
Sungiant	216	1076	773	519	2553	208

Velvaglo	114	197	135	556	500	325
Vnuk						
Krasnoščokogo	219	1098	789	561	2850	348
VP-LE1212	219	1134	984	540	3437	375
5-17-103	216	1133	800	394	3616	159
Aviator	196	677	434	374	1793	421
Colov 19	217	1071	809	329	3189	412
DA-YU- BADA	213	1124	881	567	3999	145
Exherova	216	998	647	363	2998	148
Gvardějskyj	180	480	345	351	1504	178
Harglow	213	744	497	491	2260	159

Skupina 4: Achrori, Early Blush, H-I-9149, Klosterneuburger, Lepana, Ligeti Orias, Markulesti, Marlen, Murfatlar, Murgab, Polonais, Roxana.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
Achrori	225	1139	980	500	3236	159
Early Blush	225	1078	742	593	2627	342
H-I-9149	225	1105	804	517	2679	400
Klosterneuburger	225	1123	812	437	2725	391
Lepana	222	527	454	463	1414	351
Ligeti Orias	185	401	335	447	1046	364
Markulesti	198	434	276	645	1280	286
Marlen	225	1076	759	524	3460	274
Murfatlar	212	481	388	598	1780	219
Murgab	223	1126	804	684	4002	238
Polonais	200	361	327	596	1350	152
Roxana	222	878	520	671	2782	178

Skupina 5: Blenheim, Goldcot, Kostuřenskyj, Lakanyj, Polgocvetna, Rouge de Fournier, Scout, Vinoslivij.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
Apricos von nansy	211	333	346	580	1424	196
Blenheim	225	1041	638	607	3246	321
Goldcot	224	1128	840	566	4360	351
Kostuřenskyj	223	1128	840	495	4110	375
Lakanyj	212	451	284	773	1429	398
Polgocvetna	223	796	487	614	2236	286

Rouge de Fournier	226	1126	804	726	3504	279
Scout	200	441	278	716	2067	264
Vinoslivij	229	1136	812	528	4563	231

Skupina 6: 6-10-45A, Abu Talibu, Ananasnyj Čjuripinskij, Bergeron A114, Goliaš, Churmai, Chvan-Shi-Cong, LE-946, LE-994, Lefrosta, Lejara LE -386, maďarská235C, Moldavský krup, Pacov, Vesprima, Voskij.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
LE-994	224	1122	856	516	3259	222
6-10-45A	227	1134	964	867	3553	352
Abu Talibu	210	513	318	772	1574	361
Ananasnyj Čjuripinskij	229	1138	812	1024	3566	298
Bergeron A114	222	1145	816	578	3171	245
Churmai	213	673	456	797	2220	401
Chvan-Shi-Cong	226	1140	864	854	3642	325
Goliaš	225	1134	804	661	3301	368
LE-946	224	1127	856	663	3088	397
Lefrosta	224	1126	860	716	3647	371
Lejara LE -386	181	289	166	761	1411	248
maďarská235C	225	1127	864	888	3634	268
Moldavský krup	222	1054	695	749	2726	259
Pacov	223	1110	816	785	3131	257
SEO-104	219	584	341	588	1917	213
Vesprima	226	1141	812	887	3327	194
Voskij	217	673	418	622	1901	163

Skupina 7: Amos.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
Amos	96	113	68	800	639	182

Skupina 8: Aurora, Cegledi Bilbor, Curtis, Early Ryl, Festivalna, Gulia, Hacihaliloglo, Hendersen, H-II 45/26, Krasnošč Nikitskij, LE-3204, Náchodský zázrak, Oranžovo Krasnyj,

PLM.78FIŠR, Pozdní chrámová, Rotmaler, Sabinovská LE-220, Saldcot, Seo, Sosed, Sunglo, Užgorod, Vardaguin Vagdaas, Vebama, Velikyj, Velita, Wenatchee, Zorkij.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
Aurora	224	1128	840	887	3583	176
Cegledi	211	504	489	689	1657	289
Bilbor						
Curtis	227	1134	824	905	3613	294
Early Ryl	227	1134	860	573	3145	156
Festivalna	225	1129	864	711	3413	187
Gulia	221	839	617	785	2593	186
Hacihaliloglo	220	803	748	716	2552	192
Hendersen	225	1134	804	716	3398	265
H-II 45/26	225	1143	800	641	3322	238
Krasnošč						
Nikitskij	223	1005	812	706	2972	248
LE-3204	223	864	537	633	2261	279
Náchodský zázrak	156	262	213	671	834	245
Oranževo						
Krasnyj	130	118	170	584	412	199
PLM.78FIŠR	132	138	137	807	913	175
Pozdní chrámová	200	515	300	599	1375	163
Rotmaler	191	397	245	709	1400	245
Sabinovská LE-220	212	581	342	723	1667	289
Saldcot	159	247	167	779	1147	276
Seo	214	829	465	638	2208	234
Sosed	201	516	308	688	1642	325
Sunglo	215	642	352	731	1813	384
Užgorod	100	110	160	845	807	412
Vardaguin						
Vagdaas	177	337	229	664	1289	403
Vebama	214	850	509	614	2205	444
Velikyj	184	370	275	527	1038	328
Velita	202	497	325	640	1609	369
Wenatchee	214	773	421	701	2014	215
Zorkij	158	220	192	757	990	402

Skupina 9: A-II 25/65, Alfred, Apricos von nansy, Blenheim Orange, California, Cocov, Čína, Čudovnys, Dacia, Docteyr Maccele, Fruhe von Kitsee, Goldrich, H-14/25, Hargrand, Harval, Ivone Liverani, Jvan-Sin, Keczli Mete Rosen, LE-11/91, LE-5306, LE-7463, Lebeza, Lefreda LE-831, Magiar Kajszi, Manicot, Mold Olimpik, Nikitskij, Pastyrik, Pentagon, Poljus Južnyj, Rouge de Sarnhac, Ružová Ranná, SEO-104, SEO-40, SEO-41, SEO-94, Stelar, VS22/23, VS-23/164, Zard.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
A-II 25/65	175	354	252	586	1121	357
Alfred	209	513	324	662	1350	395
Apricos von nansy	150	100	120	769	763	248
Blenheim Orange	192	491	329	642	1543	159
California	208	578	350	604	1608	168
Čína	244	521	312	684	1571	354
Cocov	166	299	201	714	1120	365
Čudovnys	212	643	379	626	2056	348
Dacia	203	1032	683	551	2915	397
Docteyr Maccele	209	1109	668	525	2619	405
Fruhe von Kitsee	199	307	218	714	1211	404
Goldrich	198	635	361	722	1707	187
H-14/25	212	960	608	499	2529	175
Hargrand	145	127	174	766	668	162
Harval	194	920	534	557	2401	284
Iskra	195	884	523	632	2438	375
Ivone Liverani	205	1177	931	585	3498	159
Jvan-Sin	196	749	418	710	2148	358
Keczli Mete Rosen	203	1122	734	557	3021	348
Krosnošč Nikitskij	192	321	228	730	1126	319
LE-11/91	193	564	381	510	1456	346
LE-5306	197	439	294	734	1386	3879
LE-7463	171	249	212	785	1089	354
Lebeza	197	318	233	729	1076	258
Lefreda LE-	198	809	424	710	2054	267

831						
Magiar	199	854	496	707	2383	248
Kajszi						
Manicot	194	295	213	706	1142	193
Mold						
Olimpik	196	416	279	710	1275	163
Nikitskij	195	1149	1000	716	3343	324
Pastyrik	183	299	210	761	1318	358
Pentagon	142	156	159	758	866	391
Poljus Južnyj	170	248	184	733	1252	328
Rouge de Sarnhac	203	706	381	622	2576	319
Ružová						
Ranná	177	235	206	752	1241	259
SEO-104	192	568	357	705	2158	236
SEO-40	160	229	211	811	1259	408
SEO-41	193	509	316	709	2194	182
SEO-94	180	1159	651	671	4062	249
Stelar	125	126	168	747	925	348
VS22/23	165	218	236	473	990	185
VS-23/164	103	105	171	646	811	354
Zard	100	100	128	105	423	403

Skupina 10: 5-8-8, Ackermann, Ansu, Čačansko zlato, Early Gold, Farmingdale, Helena de Rousilion, Chersonskij, Kospotěnskij, Kostinskij, Mai-Huang, Posjolok, Pretendent, TDB, Tilton, Vyndrop.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
5 - 8 - 8	216	808	458	87	2726	400
Ackermann	90	232	102	111	122	300
Ansu	219	968	477	114	3116	352
Čačansko zlato	216	764	401	102	2339	205
Chersonskij	47	90	50	96	487	269
Chersonskij	40	80	50	193	345	278
Early Gold	85	275	67	147	304	159
Farmingdale	60	80	52	161	467	287
Helelna de rousilion	85	88	72	124	399	234
Kospotěnskij	66	86	46	36	545	268

Kostinskij	200	693	491	114	2834	369
Mai-Huang	114	61	147	84	457	348
Posjolok	106	67	120	31	542	375
Pretendent	67	87	85	127	513	289
TDB	127	111	122	103	567	409
Tilton	150	197	141	42	607	167
Vyndrop	201	523	273	108	1893	236

Skupina 11: Colomer Nativ, Gergana, Leronda, Tabu, Vesna.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
LE-5500	169	343	206	59	702	256
Colomer	218	1033	539	123	2311	245
Nativ						
Gergana	173	400	385	114	1145	215
Leronda	150	256	304	111	693	285
Leronda	159	287	305	108	712	345
Tabu	196	573	475	114	1860	356
Vesna	197	608	428	111	1726	163

Skupina 12: Agat, Doc. Blatný, Favorit, H-II 16/1, Krupnoplodá II, LE-5832, LE-995, Lameda, Lerosa, Luizet, Nachodská Krajová, Orange red, SEO-31, SEO-36.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
H-II 16/1	139	212	245	117	382	194
Agat	182	426	344	114	1161	258
Doc. Blatný	81	187	154	111	546	269
Favorit	168	320	283	108	735	247
Krupnoplodá II	143	222	235	105	386	236
LE-5832	85	97	160	99	487	214
LE-995	122	176	206	111	360	321
Lameda	186	495	339	111	1452	365
Lerosa	84	34	132	117	563	348
Luizet	101	71	154	105	364	375
Nachodská Krajová	129	202	210	96	362	296
Orange red	114	141	174	99	415	284
SEO-31	72	43	139	111	315	275
Seo-36	175	477	322	114	1318	326

Skupina 13: Celgledi Biror, Goldtropfen, Iskra, Jubilejnyj, Konzervnyj pozdnyj, Labert in 4NO, LE-985, Leala, Mamaia, Marena, Merculešti 17/2, Perfection, SEO-105, Sungold, Veecot, Volšebnyj, VP-LE-118.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
LE-985	71	42	138	111	345	354
Celgledi	88	64	139	908	1006	315
Biror						
Goldtropfen	167	365	326	731	1945	406
Iskra	127	161	252	883	1346	428
Jubilejnyj	168	346	318	833	2026	429
Konzervnyj pozdnyj	88	38	174	723	574	443
Labert in 4NO	199	663	425	846	2873	358
Leala	203	782	458	827	3104	394
Mamaia	96	63	184	706	732	365
Marena	116	112	170	690	880	375
Merculešti 17/2	146	235	252	854	1516	342
Perfection	181	430	332	711	2057	315
Seo-105	177	359	317	858	2077	286
Sungold	179	413	325	705	2082	249
Veecot	201	864	538	802	3491	271
Volšebnyj	126	127	274	616	847	269
VP-LE-118	178	395	366	755	2345	248

Skupina 14: Beliana, C4R8T22, Chvang sin, Julskij, LE-1075, LE-982, Leskora, Mongold, NJA-1, Rodina, Scana, Strepet, Sundrop.

	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
NJA-1	204	823	555	757	3284	291
Beliana	201	583	391	828	2731	234
C4R8T22	202	688	452	699	2978	356
Chvang sin	116	156	224	568	1170	394
Julskij	196	733	502	549	2745	387
LE-1075	197	1045	761	189	2253	315
LE-982	196	805	539	526	2995	268
Leskora	66	87	221	679	756	249
Mongold	200	803	516	514	2651	275
Rodina	199	831	568	552	3261	219

Scana	152	273	352	513	1492	164
Strepet	206	1079	691	105	2797	187
Sundrop	181	434	386	537	1925	408

Skupina 15: Efekt-22/7, Lajcot, LE-5854, LE-8711, Rouge de Rive Saltes.

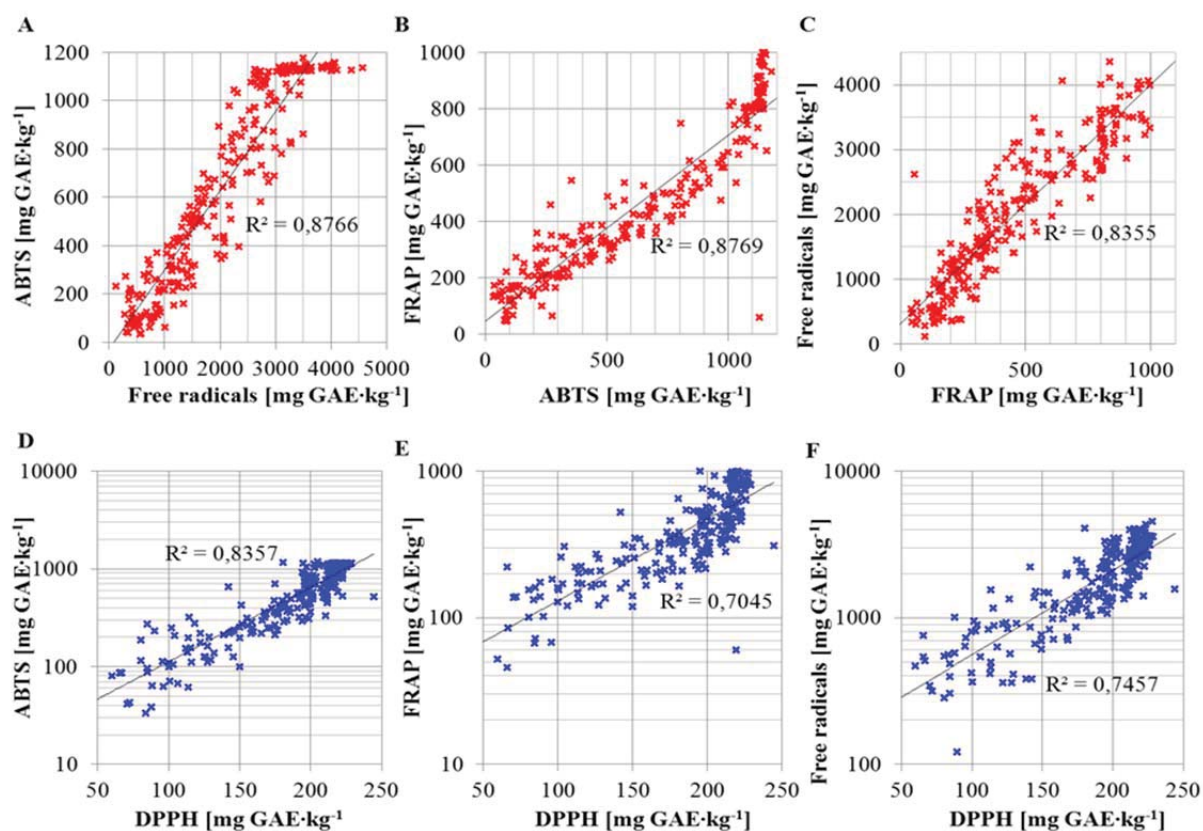
	DPPH	ABTS	FRAP	DMPD	Free radicals	Blue CrO ₅
Efekt-22/7	175	702	356	562	2478	426
Lajcot	142	651	526	578	2230	435
LE-5854	112	154	221	596	838	325
LE-8711	175	213	359	524	1149	297
Merkurij	155	315	346	469	1478	246
Mold						
Olimpik	102	248	259	657	954	235
Rouge de rive saltes	175	267	459	621	1409	197

Dále byl stanoven stupeň vzájemné korelace jednotlivých metod. Bylo zjištěno, že tři z nich, ABTS, FRAP a Free radicals, mají mezi sebou výraznou lineární závislost. Jejich stupeň korelace je vždy nad 80% (jejich korelogramy jsou znázorněny v Tab. 2 a na Obr. 5A, B a C. Hodnoty těchto tří metod navíc vykazují závislost na změřených hodnotách DPPH. Na obrázcích 5D, E a F jsou korelogramy vykreslené pro logaritmické měřítko osy hodnot DPPH. Stupeň korelace mezi těmito čtyřmi metodami rovněž neklesá pod 70%. Použité měřicí metody DMPD a Blue CrO₅ nemají žádnou závislost vzhledem k ostatním. Stupeň korelace je velmi nízký (od 0,108 do 0,458 GAE). Přesto vysoký stupeň korelace čtyř použitých metod z šesti potvrzuje kvalitu výsledků PCA analýzy antioxidační aktivity. Fotografie zástupců analyzovaných druhů meruněk jsou zobrazeny na Obr. 8.

Tabulka 2. Hodnoty korelačních koeficientů mezi jednotlivými metodami.

	ABTS	DMPD	FRAP	Blue CrO ₅	Free Radicals
DPPH	0,835	0,290	0,705	0,311	0,746
ABTS	x	0,108	0,877	0,287	0,877
DMPD		x	0,110	0,211	0,221
FRAP			x	0,296	0,836
Blue CrO ₅				x	0,458

Obrázek 7. Nejvýznamnější korelogramy (korelace nad 70%) mezi jednotlivými metodami pro stanovení antioxidační aktivity. (A) ABTS × Free radicals; (B) FRAP × ABTS; (C) Free radicals × FRAP; (D) ABTS × DPPH; (E) FRAP × DPPH and (F) Free radicals × DPPH.



Obrázek 8. Fotografie 21 nově vyšlechtěných hybridů českého genofondu: LE-1402 (a), LE-806 (b), LE-3190 (c), LE-985 (d), LE-2927 (e), LE-3709 (f), LE-3239 (g), LE-3247 (h), LE-2267 (i), LE-3276 (j), LE-9299 (k), LE-3241 (l), LE-3255 (m), LE-8561 (n), LE-994 (o), LE-3187 (p), LE-3228 (q), LE-8175 (r), LE-3204 (s), LE-2527 (t), LE-10278 (u).



III. Srovnání novosti postupů

Metodika přináší nové postupy v souladu s §2, odst. 1, písm. a) bod 2 zákona č. 130/2002 Sb. Popsaných metodických postupů bylo dosaženo systematickou tvůrčí prací v aplikovaném výzkumu, kterým byly experimentální a teoretické práce prováděné s cílem získání nových poznatků zaměřených na budoucí využití v praxi. Postupy screeningu antioxidační aktivity u meruněk uvedené v metodice jsou originální a nelze je jako celek srovnávat s žádnou jinou metodikou, protože podobná metodika nebyla dosud vydána u nás ani v zahraničí. Představovaná metodika přináší přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity u meruněk, jako je test DPPH, metoda ABTS, DMPD, FRAP, Free Radicals a blue CrO₅. V naší metodice byla antioxidační aktivita stanovena u 239 hybridů meruněk pomocí šesti principiálně rozdílných metod, které jsou založeny na stanovení rozdílných komplexů s volnými radikály. Každá metoda je založena na jiném principu a zhasí nebo vychytává jiné antioxidanty. Proto jsou hodnoty, které jsme získali, rozdílné a v jiném rozsahu. V této metodice jsou nadále vyjádřeny vzájemné vztahy mezi jednotlivými metodami včetně jejich vzájemných korelací a statistického zpracování dat. Metodika nadále rozděluje hybridy meruněk dle hodnot antioxidační aktivity.

IV. Popis uplatnění metodiky

Navržená metodika stanovení antioxidační aktivity je určena pro ovocnářské/sadařské podniky, pěstitele ovoce či samotné odběratele, kteří mají zájem o vyjádření biologické hodnoty ovoce. Mohou ji využít odborníci v oblasti výživy, nutriční specialisté a dietologičtí poradci.

Pro šlechtění

Metodika je významná pro šlechtitele nových odrůd s cílem hledání nových vlastností. Mohou, díky stanovení antioxidační aktivity, snadno zjistit, která z odrůd je významná pro charakterizaci nových novošlechtění a hybridů. Tímto můžeme šlechtitelskou činnost usměrnit k požadovaným antioxidačním vlastnostem.

Pro potravinářský průmysl

Metodika je využitelná pro průmyslové hodnocení antioxidačních vlastností výrobků z meruněk, jako jsou marmelády, džemy, kompoty, džusy, výživa pro děti a sušené ovoce.

Pro výživu

Díky stanovení antioxidační aktivity je možnost vyjádřit nutriční hodnotu z hlediska hodnotných obsahových látek. Takto mohou být nalezeny kvalitní odrůdy pro výrobu speciálních potravinových doplňků a nutraceutik.

Pro zemědělskou praxi

Bude využitelná pro Ministerstvo zemědělství ČR, Státní rostlinolékařskou správu, šlechtitele a školkaře jako konkrétní metodický postup pro charakterizaci českých i zahraničních odrůd a klonů meruněk, pro charakterizaci nových novošlechtění a hybridů. V neposlední řadě je předložená metodika určena jak pro velkovýrobce, tak i pro drobné pěstitele a zahrádkáře, kteří díky ní mohou zhodnotit kvalitu vypěstovaných plodů.

Dostupnost a uplatnění

Metodika bude dostupná všem uživatelům v elektronické podobě ze stránek http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/index.php. Publikace bude dále vydána v počtu 300 ks v tištěné podobě. Metodika bude uplatněna „Smlouvou o uplatnění certifikované metodiky“ uzavřenou mezi Mendelovou univerzitou v Brně a Metrohm Česká republika s.r.o.

V. Ekonomické aspekty

Nutriční (výživová) hodnota potraviny vyjadřuje pomocí údajů o množství obsažených látek, do jaké míry je potravina pro výživu člověka významná, a do jaké míry je prospěšná či nežádoucí. Z tohoto důvodu jsou stále hledány způsoby jak nutriční hodnoty u potravin lépe hodnotit a zahrnout do těchto hodnocení i látky nově objevené. Mezi jednou z velmi důležitých charakteristik je antioxidační aktivita, která je, jak se ukazuje, jedním s hlavních markerů příznivých biologických účinků potravin na zdraví člověka. Zavedení metodiky přispěje k rozšíření možností jak hodnotit nutriční hodnotu ovocných plodů z hlediska jejich antioxidační aktivity. Zavedení postupů popsaných v metodice je možné vyčíslit sumou 20 000 Kč. Uplatnění výsledků umožní zvýšit prodejní cenu potravin v řádu několika desetin koruny na 1 kg a dále tím, že uživatelé získají další možnost jak hodnotit potravinu, kterou kupují, může dojít i ke zvýšení prodeje a tím pádem i zisku.

VI. Seznam použité související literatury

- AKIN, E. B.; KARABULUT, I.; TOPCU, A. Some compositional properties of main Malatya apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties (vol 107, pg 939, 2008). *Food Chemistry*, 2009, roč. 116. č. 3, s. 819-819. ISSN 0308-8146.
- AZIZOVA, O. A. Role of free radical processes in the development of atherosclerosis. *Biologicheskie Membrany*, 2002, roč. 19. č. 6, s. 451-471. ISSN 0233-4755.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 1996, roč. 239. č. 1, s. 70-76. ISSN 0003-2697.
- BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit, vegetables, and cancer prevention - A review of the epidemiologic evidence. *Nutrition and Cancer-An International Journal*, 1992, roč. 18. č. 1, s. 1-29. ISSN 0163-5581.
- CAO, Y.; DEPINHO, R. A.; ERNST, M.; VOUSDEN, K. Cancer research: past, present and future. *Nature Reviews Cancer*, 2011, roč. 11. č. 10, s. 749-754. ISSN 1474-175X.
- DRAGOVIC-UZELAC, V.; LEVAJ, B.; MRKIC, V.; BURSAC, D.; BORAS, M. The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food Chemistry*, 2007, roč. 102. č. 3, s. 966-975. ISSN 0308-8146.
- DU, G. R.; LI, M. J.; MA, F. W.; LIANG, D. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*, 2009, roč. 113. č. 2, s. 557-562. ISSN 0308-8146.
- ELSAAYED, A. S.; LUH, B. S. Polyphenolic compounds in canned apricots. *Journal of Food Science*, 1965, roč. 30. č. 6, s. 1016-1020. ISSN 0022-1147.
- FERNANDEZ, V.; DEL RIO, V.; PUMARINO, L.; IGARTUA, E.; ABADIA, J.; ABADIA, A. Foliar fertilization of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) with different iron formulations: Effects on re-greening, iron concentration and mineral composition in treated and untreated leaf surfaces. *Scientia Horticulturae*, 2008, roč. 117. č. 3, s. 241-248. ISSN 0304-4238.
- FLODIN, N. W. The metabolic roles, pharmacology, and toxicology of lysine. *Journal of the American College of Nutrition*, 1997, roč. 16. č. 1, s. 7-21. ISSN 0731-5724.
- FOGLIANO, V.; VERDE, V.; RANDAZZO, G.; RITIENI, A. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, roč. 47. č. 3, s. 1035-1040. ISSN 0021-8561.
- FU, L.; XU, B. T.; XU, X. R.; GAN, R. Y.; ZHANG, Y.; XIA, E. Q.; LI, H. B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 2011, roč. 129. č. 2, s. 345-350. ISSN 0308-8146.
- GILCA, M.; STOIAN, I.; ATANASIU, V.; VIRGOLICI, B. The oxidative hypothesis of senescence. *Journal of Postgraduate Medicine*, 2007, roč. 53. č. 3, s. 207-213. ISSN 0022-3859.
- HEGEDUS, A.; ENGEL, R.; ABRANKO, L.; BALOGH, E.; BLAZOVICS, A.; HERMAN, R.; HALASZ, J.; ERCISLI, S.; PEDRYC, A.; STEFANOVITS-BANYAI, E. Antioxidant and Antiradical Capacities in Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Fruits: Variations from Genotypes, Years, and Analytical Methods. *Journal of Food Science*, 2010, roč. 75. č. 9, s. C722-C730. ISSN 0022-1147.
- HORVATHOVA, K.; VACHALKOVA, A.; NOVOTNY, L. Flavonoids as chemoprotective agents in civilization diseases. *Neoplasma*, 2001, roč. 48. č. 6, s. 435-441. ISSN 0028-2685.
- HOWELL, J. D. Coronary Heart Disease and Heart Attacks, 1912-2010. *Medical History*, 2011, roč. 55. č. 3, s. 307-312. ISSN 0025-7273.
- CHARALAMPIDIS, P. S.; VELTSISTAS, P.; KARKABOUNAS, S.; EVANGELOU, A. Blue CrO(5) assay: A novel spectrophotometric method for the evaluation of the antioxidant and oxidant capacity of various biological substances. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, roč. 44. č. 10, s. 4162-4168. ISSN 0223-5234.
- CHEN, J. H.; HALES, C. N.; OZANNE, S. E. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? *Nucleic Acids Research*, 2007, roč. 35. č. 22, s. 7417-7428. ISSN 0305-1048.
- CHOI, B. C. K. Health and social consequences in the quest for comfort, convenience and pleasure. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 2006, roč. 60. č. 11, s. 922-922. ISSN 0143-005X.
- CHOI, B. C. K.; HUNTER, D. J.; TSOU, W.; SAINSBURY, P. Diseases of comfort: primary cause of death in the 22nd century. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 2005, roč. 59. č. 12, s. 1030-1034. ISSN 0143-005X.
- CHOI, B. C. K.; MCQUEEN, D. V.; PUSKA, P.; DOUGLAS, K. A.; ACKLAND, M.; CAMPOSTRINI, S.; BARCELO, A.; STACHENKO, S.; MOKDAD, A. H.; GRANERO, R.; CORBER, S. J.; VALLERON, A. J.; SKINNER, H. A.;

- POTEMKINA, R.; LINDNER, M. C.; ZAKUS, D.; DE SALAZAR, L. M.; PAK, A. W. P.; ANSARI, Z.; ZEVALLOS, J. C.; GONZALEZ, M.; FLAHAULT, A.; TORRES, R. E. Enhancing global capacity in the surveillance, prevention, and control of chronic diseases: seven themes to consider and build upon. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 2008, roč. 62. č. 5, s. 391-397. ISSN 0143-005X.
- JIMENEZ, J. B.; OREA, J. M.; MONTERO, C.; URENA, A. G.; NAVAS, E.; SLOWING, K.; GOMEZ-SERRANILLOS, M. P.; CARRETERO, E.; DE MARTINIS, D. Resveratrol treatment controls microbial flora, prolongs shelf life, and preserves nutritional quality of fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, roč. 53. č. 5, s. 1526-1530. ISSN 0021-8561.
- MADRAU, M. A.; PISCOPO, A.; SANGUINETTI, A. M.; DEL CARO, A.; POIANA, M.; ROMEO, F. V.; PIGA, A. Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. *European Food Research and Technology*, 2009, roč. 228. č. 3, s. 441-448. ISSN 1438-2377.
- MARTENSEN, R. L.; JONES, D. S. Diabetes mellitus as a 'disease of civilization'. *Jama - Journal of the American Medical Association*, 1997, roč. 278. č. 4, s. 345-345. ISSN 0098-7484.
- MOZAFFARIAN, D.; HAO, T.; RIMM, E. B.; WILLETT, W. C.; HU, F. B. Changes in Diet and Lifestyle and Long-Term Weight Gain in Women and Men. *New England Journal of Medicine*, 2011, roč. 364. č. 25, s. 2392-2404. ISSN 0028-4793.
- MUNZUROGLU, O.; KARATAS, F.; GECKIL, H. The vitamin and selenium contents of apricot fruit of different varieties cultivated in different geographical regions. *Food Chemistry*, 2003, roč. 83. č. 2, s. 205-212. ISSN 0308-8146.
- ONATE-JAEN, A.; BELLIDO-MILLA, D.; HERNANDEZ-ARTIGA, M. P. Spectrophotometric methods to differentiate beers and evaluate beer ageing. *Food Chemistry*, 2006, roč. 97. č. 2, s. 361-369. ISSN 0308-8146.
- PAREJO, L.; CODINA, C.; PETRAKIS, C.; KEFALAS, P. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH center dot (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2000, roč. 44. č. 3, s. 507-512. ISSN 1056-8719.
- RAM, L.; GODARA, R. K.; SHARMA, R. K.; SIDDIQUE, S. Primary and secondary metabolite changes of Kinnow Mandarin fruits during different stages of maturity.

- Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2004, roč. 41. č. 3, s. 337-340. ISSN 0022-1155.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, roč. 26. č. 9-10, s. 1231-1237. ISSN 0891-5849.
- RUIZ, D.; EGEA, J.; GIL, M. I.; TOMAS-BARBERAN, F. A. Phytonutrient content in new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. In: ROMOJARO, F.; DICENTA F.; MARTINEZGOMEZ P., eds. Proceedings of the XIIIth International Symposium on Apricot Breeding and Culture. Leuven 1: International Society Horticultural Science, 2006.
- SARACOGLU, S.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Evaluation of trace element contents of dried apricot samples from Turkey. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, roč. 167. č. 1-3, s. 647-652. ISSN 0304-3894.
- SOCHOR, J.; RYVOLOVA, M.; KRYSTOFOVA, O.; SALAS, P.; HUBALEK, J.; ADAM, V.; TRNKOVA, L.; HAVEL, L.; BEKLOVA, M.; ZEHNALÉK, J.; PROVAZNIK, I.; KIZEK, R. Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molecules*, 2010, roč. 15. č. 12, s. 8618-8640. ISSN 1420-3049.
- SOCHOR, J.; SALAS, P.; ZEHNALÉK, J.; KRŠKA, B.; ADAM, V.; HAVEL, L.; KIZEK, R. An assay for spectrometric determination of antioxidant activity of a biological extract. *Listy Cukrovarnické a Reparské*, 2010, roč. 126. č. 11, s. 416-417. ISSN 1210-3306.
- SOCHOR, J.; SKUTKOVA, H.; BABULA, P.; ZITKA, O.; CERNEJ, N.; ROP, O.; KRŠKA, B.; ADAM, V.; PROVAZNIK, I.; KIZEK, R. Mathematical Evaluation of the Amino Acid and Polyphenol Content and Antioxidant Activities of Fruits from Different Apricot Cultivars. *Molecules*, 2011, roč. 16. č. 9, s. 7428-7457. ISSN 1420-3049.
- SOCHOR, J.; ZITKA, O.; SKUTKOVA, H.; PAVLIK, D.; BABULA, P.; KRŠKA, B.; HORNA, A.; ADAM, V.; PROVAZNIK, I.; KIZEK, R. Content of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity in Fruits of Apricot Genotypes. *Molecules*, 2010, roč. 15. č. 9, s. 6285-6305. ISSN 1420-3049.
- WALTER, M.; THOMAS, G. Severe depression : cultural and social factors. *Encephale-Revue De Psychiatrie Clinique Biologique Et Therapeutique*, 2009, roč. 35. č. 7, s. S286-S290. ISSN 0013-7006.

- WANG, H.; CAO, G. H.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, roč. 44. č. 3, s. 701-705. ISSN 0021-8561.
- WICKI, A.; HAGMANN, J. Diet and cancer. *Swiss Medical Weekly*, 2011, roč. 141. č., s. ISSN 1424-7860.
- WILLIAMS, B. L.; WENDER, S. H. Isolation and identification of quercetin and isoquercitrin from apricots (*Prunus-armeniaca*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1953, roč. 43. č. 2, s. 319-323. ISSN 0003-9861.

VII. Seznam publikací, které předcházely metodice

- SOCHOR, J.; RYVOLOVA, M.; KRYSTOFOVA, O.; SALAS, P.; HUBALEK, J.; ADAM, V.; TRNKOVA, L.; HAVEL, L.; BEKLOVA, M.; ZEHNALÉK, J.; PROVAZNIK, I.; KIZEK, R. Fully automated spectrometric protocols for determination of an antioxidant activity: Advantages and disadvantages. *Molecules*, 2010, roč. 15. č. 12, s. 8618-8640. ISSN 1420-3049. IF 1.988
- SOCHOR, J.; SALAS, P.; ZEHNALÉK, J.; KRSKA, B.; ADAM, V.; HAVEL, L.; KIZEK, R. An assay for spectrometric determination of antioxidant activity of a biological extract. *Listy Cukrov. Reparske*, 2010, roč. 126. č. 11, s. 416-417. ISSN 1210-3306. IF 0.645
- SOCHOR, J.; SKUTKOVA, H.; BABULA, P.; ZITKA, O.; CERNEI, N.; ROP, O.; KRSKA, B.; ADAM, V.; PROVAZNIK, I.; KIZEK, R. Mathematical evaluation of content of amino acids and polyphenols and antioxidant activities of fruits from apricot cultivars. *Molecules*, 2011, roč. 16. č.9, s. 7428-57. ISSN 1420-3049. IF 1.988
- SOCHOR, J.; ZITKA, O.; SKUTKOVA, H.; PAVLIK, D.; BABULA, P.; KRSKA, B.; HORNA, A.; ADAM, V.; PROVAZNIK, I.; KIZEK, R. Content of phenolic compounds and antioxidant capacity in fruits of selected genotypes of apricot with resistance against Plum pox virus. *Molecules*, 2010, roč. 15. č. 9, s. 6285-6305. ISSN 1420-3049. IF 1.988

VIII. Dedikace a poděkování

Tato publikace vznikla z výsledků řešení grantu QI91A032 „Výběr rezistentních genotypů meruněk k PPV s tržní kvalitou plodů“ financovaného národní agenturou pro zemědělský výzkum (NAZV) a výsledků infrastrukturního projektu CZ.1.05/1.1.00/02.0068 CEITEC - Středoevropský technologický institut, centrum excelentní vědy“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Poznámky:

Název titulu: Screeningová metodika pro stanovení antioxidační aktivity u meruněk

Autoři: Ing. Jiří Sochor, Ph.D. ^{1,2}, Ing. Pavlína Šobrová ¹, Mgr. Ondřej Zítka ¹,
Dr. Ing. Zdeněk Havlíček ³, RNDr. Vojtěch Adam, Ph.D. ^{1,2},
doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D. ³, doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D. ^{2,4},
prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D. ^{2,5}, doc. Ing. René Kizek, Ph.D. ^{2,4},
prof. Dr. Ing. Boris Krška ⁶

Adresy: ¹ Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v
Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno, Česká republika

² Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně,
Technická 3058/10, CZ-613 00 Brno, Česká republika

³ Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat, Agronomická fakulta,
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno, Česká republika

⁴ Ústav mikroelektroniky, Fakulta elektrotechniky a komunikačních
technologií, Vysoké učení technické v Brně, Údolní 53, CZ-602 00 Brno,
Česká republika

⁵ Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních
technologií, Vysoké učení technické v Brně, Kolejní 4, CZ-612 00 Brno, Česká
republika

⁶ Ústav ovocnictví, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně,
Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno, Česká republika

Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně

Texty prošly jazykovou úpravou

Vydání: první 2012

Počet stran 36

Náklad: 300 ks

ISBN: 978-80-7375-575-1