LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

POROVNÁNÍ METOD STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY V OVOCNÝCH A ZELENINOVÝCH ŠŤÁVÁCH

MARIE HOLASOVÁ a VLASTA FIEDLEROVÁ

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 7, Praha 10
m.holasova@vupp.cz

Došlo 23.3.11, přijato 5.4.11.

Klíčová slova: antioxidanty, polyfenoly, ovocná šťáva, zeleninová štáva

Úvod

Civilizační vývoj sebou přináší zvýšenou expozici organismu volným radikálům a následně i zvýšenou pozornost věnovanou hodnocení antioxidační aktivity jednotlivých potravinových zdrojů a příjmu antioxidantů. Jako významné přirozené dietární zdroje antioxidantů jsou obecně označovány ovoce, zelenina, obiloviny, čaje, vína a koření[1]. Mezi přirozené antioxidanty patří především karotenoidy, tokoferoly, kyselina askorbová, kyselina lipoová a polyfenoly[2–4].

Pro stanovení antioxidační aktivity (AOA) existuje řada analytických metod. Většina používaných metod[5–7] je založena na eliminaci radikálů generovaných v reakční směsi – metody DPPH, TEAC, ORAC, PCL, nebo na přímém hodnocení redoxních vlastností – metody FRAP, voltametrie, HPLC-ECD. Při hodnocení AOA je posuzováno působení látek různé chemické povahy s odlišnými reakčními mechanismy a používají se metody založené na různém principu. Výsledky stanovení AOA jednotlivými metodami jsou proto považovány za odhad AOA, který závisí na řadě faktorů, jako je typ použitého radikálu, matrice vzorku, iniciátor, přítomnost přechodných kovů, komplexita reakční kinetiky, použitý standard[8–10].

Hodnocení ovoce a zeleniny, jako jednoho z hlavních přírodních zdrojů antioxidantů, se z hlediska obsahu antioxidantů a AOA věnovala řada laboratoří. Většina literárních údajů obsahuje stanovení celkových, případně individuálních polyfenolových látek, kyseliny askorbové a hodnocení AOA několika metodami. Autoři, kromě hodnocení absolutních hodnot, obvykle diskutují srovnatelnost nebo korelaci metod. Jen několik prací však uvádí mezi aplikovanými postupy měření AOA metodu PCL – komerčně dostupný měřící systém užívající zařízení Photochem. Systém zahrnuje fotochemickou generaci superoxidových radikálů. Tyto radikály jsou ze vzorku částečně eliminovány reakcí s antioxidanty přítomnými ve vzorku. Zbývající radikály jsou detegovány s použitím chemiluminiscence. Jako fotosenzibilní i detekční činidlo zbylých radikálů slouží luminol[8,11]. Zařízení nabízí dva protokoly – měření hydrofilní antioxidační aktivity (ACW) a lipofilní antioxidační aktivity (ACL). Luminiscenční signál je měřen po určitý časový interval. V době, kdy jsou antioxidanty vyčerpány, dochází k nárůstu radikálů ve vzorku, až detegovaný signál dosáhne maxima. V protokolu ACW je trvání lag fáze kritériem obsahu antioxidantů. V protokolu ACL je kritériem pro obsah antioxidantů integrál pod signální křivkou. Kvantifikace je založena na kalibračních křivkách kyseliny askorbové (AK) nebo 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylové kyseliny (Trolox). Pro oba protokoly jsou dodávány komerční soupravy. PCL metoda je velmi citlivá, použitelná i při analýzách antioxidační aktivity na hladině nanomolů[7,12].

Balogh[8] použila při hodnocení souboru vzorků bobulového ovoce kromě luminiscenční metody ACW a ACL rovněž metody FRAP, DPPH a stanovení celkových polyfenolů (CP) a nalezla významnou korelaci mezi všemi metodami s výjimkou dvojice CP a ACW. Významnou závislost mezi metodami ACW, DPPH a CP uvádí Cejpek a spol.[13] dokonce na vzorcích různé matrice. Naopak z výsledků publikovaných Bušič[14] vyplývá, že při hodnocení 10 vzorků anthokyanů izolovaných z višní metodami DPPH a ACW nebyly získány korelující hodnoty. Aplikaci PCL pro měření AOA v paprikách uvádí Remenyik[15] a v rostlinných extraktech Apati[16] a Pegg[12]. Schlesier[7] publikoval výsledky srovnání sedmi metod, včetně PCL s použitím čtyř různých standardních antioxidantů a nalezl rozdíly v hodnocení AOA jednotlivých standardů. Zatímco kyselina gallová (GA) byla ve všech metodách nejsilnějším antioxidantem, u ostatních byly shledány rozdíly.

Předmětem prezentované práce bylo hodnocení AOA zeleninových a ovocných šťáv a zjištění korelace použitých metod. Hodnocení souboru zeleninových a ovocných šťáv bylo provedeno dvěma přímými redukčními metodami CP a FRAP a dvěma metodami hodnotícími eliminaci radikálů DPPH a PCL.

Experimentální část

Suroviny a chemikálie

V práci bylo použito 8 vzorků zeleniny a 7 vzorků ovoce. Vzorky byly zakoupeny v tržní síti jako čerstvé – mrkev, bílé a červené zelí, okurky, červená řepa, celer,

brokolice, rajčata, jahody, jablka, hrušky, růžové hrozny a zmrazené – maliny, borůvky a višně. Dále byly použity tyto látky: 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (Sigma); 2,4,6-tri (2-pyridyl)-s-triazin (Sigma); souprava ACW a ACL (Analytik Jena AG); 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina (Trolox) (Sigma); AK (Merck); GA monohydrát (Sigma); Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma); methanol p.a. (Lach-ner); methanol pro HPLC (Merck); deionizovaná voda.

Použité přístroje

Lis CHAMPION (Mipam bio s.r.o., ČR), přístroj PHOTOCHEM (Analytik Jena AG, SRN), spektrofotometr Helios α (Thermo Spectronic, Velká Británie).

Příprava vzorků

Suroviny byly částečně rozmraženy, případně omyty, oloupány, odpeckovány a nakrájeny na kousky a lisovány. Vylisované šťávy byly skladovány v sáčcích PA/PE při –40 °C. AOA bylo stanoveno po rozmražení šťáv ve vodných a methanolových extraktech. 1–3 g šťávy byly doplněny do 10 ml deionizovanou vodou nebo methanolem, třepány po dobu 10 min, odstředěny (7000 ot/min, 10 min, 5 °C) a případně filtrovány (0,45 μm). Jako vodný extrakt byly v případě nízkých obsahů antioxidantů použity přímo odstředěné šťávy.

Analytické metody

Pro měření AOA byly použity metody DPPH, FRAP a PCL. Výsledky jsou vyjádřeny jako μmol AK (v případě vodného extraktu) a μmol Troloxu (v případě methanolového extraktu) v 1 g šťávy, které by měly stejnou AOA jako analyzovaný vzorek.

Metoda DPPH

Byla použita upravená metoda dle cit.[17,18]. Ke 4 ml methanolového roztoku DPPH o koncentraci 0,0275 mg ml^{-1} bylo přidáno 100 μl vodného nebo methanolového extraktu a po reakční době 2 h byl měřen pokles absorbance při 515 nm proti methanolu.

Metoda FRAP

Použitá metoda vycházela z cit.[19,20]. Činidlo FRAP bylo připraveno smísením 100 ml 300mM octanového pufru (pH 3,6), 10 ml 10mM TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazin) ve 40 mM HCl a 10 ml 20mM $FeCl_3$. Ke 4 ml činidla bylo přidáno 100 μl extraktu a po reakční době 30 min při 37 °C byl měřen nárůst absorbance při 593 nm proti octanovému pufru.

Metoda PCL

AOA bylo měřeno podle odpovídajícího protokolu souprav ACW (cit.[21]) a ACL (cit. [22]) s použitím vodných nebo methanolových extraktů ředěných tak, aby dávkovaný objem extraktu činil 10–40 μl.

Stanovení celkových polyfenolů

Šťávy byly extrahovány podle cit.[23,24]. Vzorek šťáv (2–5 g) po rozmražení byl doplněn na 50 ml 80% methanolem (s přídavkem 1% HCl), třepán 2 h za laboratorní teploty a po filtraci a případném naředění následovalo vlastní spektrofotometrické stanovení s Folin-Ciocalteauovým činidlem, upravené podle cit.[25]. Výsledky jsou vyjádřeny v mg $GA.10^{-2}.g^{-1}$.

Stanovení celkových anthokyanů

Pro stanovení celkových anthokyanů byla použita spektrofotometrická pH-diferenční metoda podle cit.[26]. Metoda je založena na změně absorpčního spektra anthokyanů v závislosti na pH. Výsledky jsou vyjádřeny v $mg.10^{-2}.g^{-1}$ jako kyanidin-3-glukosid (pro maliny, višně, červené zelí), malvidin-3-glukosid (pro borůvky a růžové hrozny) a pelargonidin-3-glukosid pro jahody. Forma vyjádření pro jednotlivé druhy vzorků byla volena s ohledem na dominantní anthokyanidin v daném vzorku. Pro stanovení byl používán stejný extrakt jako pro stanovení CP.

Statistické hodnocení

Všechna stanovení byla opakována 3krát, včetně extrakce. V tabulkách jsou uvedeny průměry a směrodatné odchylky. Výsledky byly statisticky hodnoceny Studentovým t-testem ($\alpha = 0,05$). Korelace mezi výsledky metod byla zjišťována regresní analýzou (Excell Microsoft).

Výsledky a diskuse

Výsledky získané měřením vodných extraktů 18 vzorků ovocných a zeleninových šťáv metodami DPPH, FRAP a PCL (ACW) jsou uvedeny v tab. I. Hodnoty AOA jsou vyjádřeny jako μmol $AK.g^{-1}$ šťávy. Tab. II obsahuje výsledky získané metodami DPPH, FRAP, PCL (ACL) zjištěné v methanolových extraktech a vyjádření AOA je v μmol $Troloxu.g^{-1}$ šťávy. Uvedené jednotky odpovídají formátům metody PCL, resp. ACW a ACL. Tab. I a II obsahují výsledky stanovení CP, které jsou vyjádřeny v mg GA $10^{-2}.g^{-1}$ šťávy.

Porovnání metod

Metodou regresní analýzy byla zjišťována korelace mezi výsledky AOA získanými jednotlivými metodami a korelace mezi hodnotami AOA a obsahem CP ve vodných i methanolových extraktech. Hodnoty korelačních koeficientů (R) pro vodné extrakty jsou uvedeny v tab. III. Z výsledků je patrné, že ve vodných extraktech byla nalezena velmi těsná korelace mezi metodami DPPH a FRAP a PCL (ACW). Korelace metod DPPH a FRAP s CP je rovněž těsná. Méně těsně koreluje metoda PCL (ACW) s CP. Podobný závěr uvádí i Balogh[8]. Při hodnocení sou-

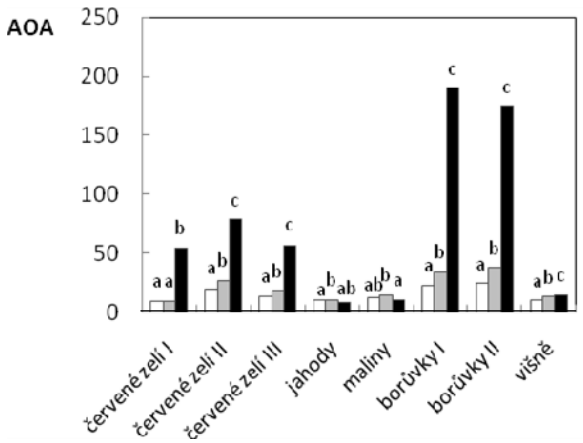
Tabulka I
Antioxidační aktivita vodných extraktů a obsah celkových polyfenolů

Vzorek	DPPH[a]	FRAP[a]	ACW[a]	CP[b]
Mrkev	0,17±0,02	0,32±0,02	0,06±0,01	23,4±0,23
Bílé zelí	0,55±0,03	1,01±0,03	4,48±0,64	68,6±3,18
Jablka	0,37±0,03	0,37±0,01	0,35±0,01	45,7±1,07
Hrušky	0,53±0,02	0,71±0,02	0,39±0,04	37,5±0,15
Okurky	0,10±0,01	0,20±0,02	0,21±0,04	19,0±1,27
Červená řepa	3,60±0,15	5,01±0,21	5,21±0,50	88,0±2,43
Celer	0,31±0,02	0,42±0,02	0,04±0,01	47,8±0,08
Brokolice	1,20±0,03	3,25±0,12	2,72±0,11	89,6±1,15
Rajčata	1,63±0,01	1,41±0,07	2,53±0,38	33,5±0,18
Červené zelí I	8,32±0,51	9,04±0,02	19,77±1,37	164,7±15,70
Červené zelí II	16,74±0,03	23,06±0,77	40,60±3,27	406,9±1,13
Červené zelí III	10,74±0,04	12,79±0,20	22,40±2,18	243,7±1,84
Jahody	6,61±0,57	6,82±0,12	5,18±0,33	198,0±1,13
Maliny	7,54±0,09	9,36±0,13	8,11±0,99	235,1±5,02
Borůvky I	12,10±1,42	16,25±0,34	21,74±2,77	512,3±21,21
Borůvky II	15,50±0,26	19,83±0,06	14,10±1,18	596,2±4,38
Višně	7,28±1,03	9,10±0,23	15,41±0,92	240,1±0,21
Hrozny růžové	0,94±0,01	0,89±0,01	0,34±0,02	66,9±3,13

[a] μmol AK.g^{-1} ± SD; [b] mg GA.10^{-2}.g^{-1}±SD, n = 18

boru vzorků bobulového ovoce stejnými metodami rovněž nalezla významnou korelaci mezi všemi metodami s výjimkou dvojice CP a ACW. Stejně jako v prezentované práci byla vysoká korelace mezi metodami DPPH a ACW zjištěna i na souboru zahrnujícím referenční antioxidanty a různé nápoje[13].

Z tab. II je zřejmé, že absolutní hodnoty AOA získané metodou PCL (ACL) v methanolových extraktech jsou u některých šťáv s vysokým obsahem polyfenolů násobně (až 8krát) vyšší ve srovnání s výsledky metod spektrometrických. Graficky je tato skutečnost znázorněna na obr. 1. Jedním z důvodů rozdílů může být skutečnost, že metody DPPH, FRAP patří do skupiny metod založených na přenosu elektronu, zatím co u PCL metody se jedná o přenos vodíkového atomu[8]. Vzhledem k tomu, že však mezi metodami DPPH, FRAP i PCL ve vodných extraktech nebyly zjištěny (mimo bílé zelí) takto vysoké rozdíly, zdroj rozdílů bude pravděpodobně v odezvě látek preferenčně extrahovaných do methanolu. V případě zeleninové a ovocné matrice se pravděpodobně tímto způsobem projeví především polyfenolové látky, resp. anthokyany. Obsah anthokyanů je uveden v tab. II. U methanolových extraktů byla proto hledána korelace výsledků jednotlivých metod AOA separátně pro skupinu vzorků s a bez vyšších hladin anthokyanů (1. a 2. část tab. II). Výsledky jsou uvedeny v tab. IV a V. U obou skupin byly nalezeny těsné korelace mezi výsledky všech tří metod (R = 0,880–0,990).



Obr. 1. **Antioxidační aktivita (μmol Troloxu.g^{-1}) stanovená třemi metodami pro 8 vzorků šťáv; 2. část tab. II;** [a,b,c] hodnoty AOA získané metodami □DPPH, ■FRAP a ■ACL pro jednotlivé vzorky a označené různými písmeny se statisticky významně liší (P < 0,05)

V případě šťáv s anthokyany existuje těsná korelace všech tří metod i s obsahem CP (R = 0,909–0,991). U methanolových extraktů skupiny šťáv bez anthokyanů je korelace

Tabulka II
Antioxidační aktivita methanolových extraktů, obsah celkových polyfenolů a antokyanů

Vzorek	DPPH[a]	FRAP[a]	ACL[a]	CP[b]	Anthokyany[c]
Mrkev	0,30±0,01	0,38±0,03	0,33±0,01	23,4±0,23	nest.
Bílé zelí	1,12±0,06	1,33±0,07	0,73±0,07	68,6±3,18	nest.
Jablka	0,71±0,05	0,83±0,01	1,28±0,07	45,7±1,07	nest.
Hrušky	0,54±0,02	0,87±0,06	1,01±0,07	37,5±0,15	nest.
Okurky	0,24±0,02	0,43±0,01	0,06±0,01	19,0±1,27	nest.
Červená řepa	4,50±0,30	5,65±0,24	3,57±0,13	88,0±2,43	nest.
Celer	0,41±0,04	0,57±0,01	0,18±0,02	47,8±0,08	nest.
Brokolice	2,38±0,06	5,30±0,50	2,46±0,04	89,6±1,15	nest.
Rajčata	1,88±0,01	2,51±0,04	2,09±0,06	33,5±0,18	nest.
Červené zelí I	9,18±0,48	9,37±0,79	54,07±0,25	164,7±15,70	107,22±0,62
Červené zelí II	19,84±0,16	26,40±0,23	78,54±3,88	406,9±1,13	195,73±0,56
Červené zelí III	13,02±0,03	18,32±0,12	56,51±2,10	243,7±1,84	106,88±0,52
Jahody	10,17±0,07	10,58±0,07	8,48±0,96	198,0±1,13	26,80±0,18
Maliny	12,06±0,18	14,21±0,14	10,33±0,15	235,1±5,02	44,23±0,39
Borůvky I	22,71±1,78	33,54±2,66	190,07±0,66	512,3±21,21	358,31±6,35
Borůvky II	24,37±0,77	37,44±0,82	174,92±4,67	596,2±4,38	390,48±12,94
Višně	10,51±0,02	13,15±0,07	14,70±0,55	240,1±0,21	45,42±0,86
Hrozny růžové	2,01±0,01	1,66±0,05	2,02±0,09	66,9±3,13	2,65±0,15

[a] μmol Troloxu.g^{-1} ± SD; [b] mg GA.10^{-2}. g^{-1} ± SD; [c] mg antokyanů.10^{-2}. g^{-1} ± SD, n=18,
nest. – nestanoveno, předpokládán nulový obsah

Tabulka III
Korelační koeficienty (R) metod stanovení antioxidační aktivity a celkových polyfenolů, vodné extrakty, n=18

	DPPH	FRAP	ACW
DPPH	1		
FRAP	0,993	1	
ACW	0,893	0,902	1
CP	0,931	0,937	0,734

Tabulka IV
Korelační koeficienty (R) metod stanovení antioxidační aktivity a celkových polyfenolů, methanolové extrakty. 1. část tab. II, n=9

	DPPH	FRAP	ACL
DPPH	1		
FRAP	0,936	1	
ACL	0,950	0,929	1
CP	0,769	0,832	0,721

Tabulka V
Korelační koeficienty (R) metod stanovení antioxidační aktivity a celkových polyfenolů, methanolové extrakty. 2. část tab. II, n=9

	DPPH	FRAP	ACL
DPPH	1		
FRAP	0,990	1	
ACL	0,880	0,914	1
CP	0,982	0,991	0,909

jednotlivých AOA metod s CP méně těsná (R = 0,721 až 0,832). Výsledky ACL korelují těsně s obsahem anthokyanů (R = 0,989).

Na základě zjištěných dat je možno konstatovat, že v ověřených zeleninových a ovocných matricích existuje těsná korelace mezi výsledky metod DPPH, FRAP a PCL (ACW i ACL) ve vodných i methanolových extraktech. Korelace PCL s CP je obecně méně těsná. Avšak pro matrice s vysokým obsahem anthokyanů koreluje významně metoda PCL (ACL) i s obsahem CP a anthokyanů.

Vliv extrakčního činidla

Hodnotíme-li výsledky jednotlivých metod z hlediska extrakčního činidla, lze konstatovat, že u metod DPPH, resp. FRAP existuje těsná korelace výsledků získaných v methanolových i vodných extraktech (R = 0,970, resp. 0,950). Pro metody ACW (vodný extrakt) a ACL (methanolový extrakt) však korelace nebyla nalezena (R = 0,629). Důvodem může být odlišná extrahovatelnost do vody a methanolu, případně odlišná odezva metody PCL na některé polyfenolové látky. Vodná extrakce může vést i k hydrolýze glykosidových derivátů polyfenolů a vzniku sloučenin se změněnou AOA a tím ovlivnit korelaci výsledků ACW a ACL[8]. Remenyik[15] prezentoval data ACW a ACL získaná při hodnocení 5 odrůd papriky. I tyto výsledky lze hodnotit jako nekorelující. Na rozdíl od toho Pegg[12] uvádí korelaci ACW a ACL pro jeden ze studovaných rostlinných extraktů.

Porovnání jednotlivých šťáv z hlediska AOA

Porovnání jednotlivých šťáv vychází z výsledků jednotlivých metod v methanolovém extraktu (tab. VI). Výsledkům každé metody AOA v jednotlivých šťávách byla přiřazena pořadová čísla (1 – nejvyšší AOA, 18 – nejnižší AOA). Konečné pořadí pak reflektuje součet všech tří ohodnocení. AOA šťáv klesala v pořadí borůvky > červené zelí > maliny > višně > jahody > červená řepa. Do skupiny s nejnižší AOA patří celer, mrkev a okurka. Pořadí AOA zjištěné jednotlivými metodami i konečné pořadí vypočtené na základě pořadí všech tří metod se zásadně neliší, pro porovnání v rámci zeleninové a ovocné matrice jsou metody DPPH, FRAP a PCL zastupitelné. Pro získání úplné informace o AOA jednotlivých potravin je však nutné použít více metod sledujících specifický antioxidační účinek.

Závěr

Antioxidační aktivita souboru zeleninových a ovocných šťáv byla hodnocena metodami DPPH, FRAP a PCL (ACW a ACL) ve vodných a methanolových extraktech. Byla zjišťována korelace mezi výsledky jednotlivých metod navzájem a mezi výsledky těchto metod a obsahem CP a anthokyanů. V ověřených zeleninových a ovocných matricích existuje těsná korelace mezi výsledky metod DPPH, FRAP a PCL (ACW i ACL) ve vodných i methanolových extraktech. Korelace PCL s CP je obecně méně těsná. Avšak pro matrice s vysokým obsahem anthokyanů

Tabulka VI
Výsledky hodnocení pořadí ovocných a zeleninových šťáv podle klesající antioxidační aktivity

Vzorek	DPPH[a]	DPPH pořadí	FRAP[a]	FRAP pořadí	PCL[a]	PCL pořadí	Součet pořadí	Konečné pořadí
mrkev	0,30	17	0,38	18	0,33	16	51	17
bílé zelí	1,12	13	1,33	13	0,73	15	41	13
Jablka	0,71	14	0,83	15	1,28	13	42	14
Hrušky	0,54	15	0,87	14	1,01	14	43	15
Okurky	0,24	18	0,43	17	0,06	18	53	18
Červená řepa	4,50	9	5,65	9	3,57	9	27	9
Celer	0,41	16	0,57	16	0,18	17	49	16
Brokolice	2,38	10	5,30	10	2,46	10	30	10
Rajčata	1,88	12	2,51	11	2,09	11	34	11
Červené zelí I	9,18	8	9,37	8	54,07	5	21	7
Červené zelí II	19,84	3	26,40	3	78,54	3	9	3
Červené zelí III	13,02	4	18,32	4	56,51	4	12	4
Jahody	10,17	7	10,58	7	8,48	8	22	8
Maliny	12,06	5	14,21	5	10,33	7	17	5
Borůvky I	22,71	2	33,54	2	190,07	1	5	2
Borůvky II	24,37	1	37,44	1	174,92	2	4	1
Višně	10,51	6	13,15	6	14,70	6	18	6
Hrozny růžové	2,01	11	1,66	12	2,02	12	35	12

[a] μmol Troloxu.g^{-1}

koreluje významně metoda PCL (ACL) i s obsahem CP a anthokyanů. Metody DPPH a FRAP poskytují korelující výsledky stanovené ve vodných a methanolových extraktech. Pro metody ACW (vodný extrakt) a ACL (methanolový extrakt) však korelace nebyla nalezena. Pro získání úplné informace o AOA jednotlivých potravin je však nutné použít více metod sledujících specifický antioxidační účinek.

Seznam použitých zkratek

ACL	lipofilní antioxidační aktivita měřená na přístroji Photochem
ACW	hydrofilní antioxidační aktivita měřená na přístroji Photochem
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
FRAP	ferric reducting antioxidant potential – schopnost antioxidantů redukovat železité ionty
HPLC-ECD	HPLC s elektrochemickou detekcí
ORAC	oxygen radical absorbance capacity – schopnost inaktivovat kyslíkové (resp. peroxylové) radikály
PCL	fotochemiluminiscenční metoda
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity

Tato práce vznikla za podpory Ministerstva zemědělství ČR, výzkumný záměr č. 0002702202.

LITERATURA

1. Buřičová L., Réblová Z.: Czech J. Food Sci. *26*, 132 (2008).
2. Prakash D., Gupta K. R.: The Open Nutraceuticals J. *2*, 20 (2009).
3. Fidler M., Kolářová L.: Chem. Listy *103*, 232 (2009).
4. Nádaský P., Šmogrovičová D.: Chem. Listy *104*, 838 (2010).
5. Buenger J., Ackermann H., Jentzsch A., Mehling A., Pfitzner I., Reiffen K. A., Schroeder K. R., Wollenweber U.: Int. J. Cosmet. Sci *28*, 135 (2006).
6. Paulová H., Bochořáková H., Táborská E.: Chem. Listy *98*, 174 (2004).
7. Schlesier K., Harwat M., Böhm V., Bitsch R.: Free Rad. Res. *36*, 177 (2002).
8. Balogh E., Hegedüs A., Stefanovits-Bányai E.: Sci. Hortic. *125*, 332 (2010).
9. Pajero I., Codina C., Petrakis C., Kefalas P.: J. Pharmacol. Toxicol. Methods *44*, 507 (2000).
10. Böhm V., Schlesier K., Harwat M., Bitsch R. v knize: *Biologically-Active Phytochemicals in Food* (Pfannhauser W., Fenwick G. R., Khokhar S., ed.), str. *296*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2001.
11. Popov I. N., Levin G.: Free Rad. Biol. Med. *17*, 267 (1994).
12. Pegg R. B., Amarowicz R., Naczk M., Shahidi F., v knize: *Antioxidant Measurement and Applications* (Shahidi F., Chi-Tang Ho, ed.), kap. 11. American Chemical Society, Washington 2007.
13. Cejpek K., Maloušková I, Holasová M., Fiedlerová V., Velíšek J.: *XL. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin, Skalský Dvůr, 3.-5.5.2010*, Sborník přednášek (Holasová M., Fiedlerová V., Špicner J., ed.), str. 186. VÚPP, Praha 2010.
14. Bušič V., Kovač S., Gašo-Sokač D., Lepeduš H.: Acta Aliment. *37*, 391 (2008).
15. Remenyik J., Ledó H., Dudás L., Veres Z., Fári M.: Cereal Res. Commun. *36*, 1759, Part 3, Suppl. S (2008).
16. Apáti P., Szentmihályi K., Kristó Sz.T., Papp I., Vinkler P., Szoke É., Kéry Á.: J. Pharm. Biomed. Anal. *32*, 1045 (2003).
17. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C.: Lebensm.-Wiss.Technol. *28*, 25 (1995).
18. Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., Saura-Calixto F.: J. Sci. Food Agric. *76*, 270 (1998).
19. Benzie I. F. F., Strain J. J.: Anal. Biochem. *239*, 70 (1996).
20. Dudonné S., Vitrac X., Coutière P., Woillez M., Mérillon J.-M.: J. Agric. Food Chem. *57*, 1768 (2009).
21. ACW – Kit for the Determination of Antioxidative capacity of the Water Soluble Compounds with PHOTOCHEM, Analytik Jena AG, 2005.
22. ACL – Kit for the Determination of Antioxidative capacity of the Lipid Soluble Compounds with PHOTOCHEM, Analytik Jena AG, 2005.
23. Velioglu Y. S., Mazza G., Gao L., Oomah B. D.: J. Agric. Food Chem. 4*6*, 4113 (1998).
24. Martínez-Valverde I., Periago M. J., Provan G., Chesson A.: J. Sci. Food Agric. *82*, 323 (2002).
25. Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. H.: Methods Enzymol. *299*, 152 (1999).
26. Giusti M. M. and Wrolstad R. E.: Current Protocols in Food Analytical Chemistry F1.2.1-F1.2.13 (2001).

M. Holasová and V. Fiedlerová *(Food Research Institute, Prague, Czech Republic):* **Application and Comparison of Methods of Antioxidant Activity Determination in Fruit and Vegetable Juices**

Antioxidant activity of 18 fruit and vegetable juices was determined using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FRAP (ferric reducing antioxidant potential), PCL (photochemiluminiscence) methods. Correlations between the results of individual methods and the total phenolics and anthocyanin contents were evaluated. Water and methanol extracts were applied in the determinations. In both water and methanol extracts, a significant correlation between the results of all the three methods was found. However, the correlation between the results of PCL and total phenolics content is poor. No correlation

between the results of ACW and ACL was found. Antioxidant activity in the tested juices decreased in the order: blueberry > red cabbage > raspberry > sour cherry > strawberry > beetroot. Celery, carrot and cucumber are poor sources of antioxidants. The orders found by various methods do not differ significantly; DPPH, FRAP and ACL methods are interchangeable for this purpose. For complete information on antioxidant activity, application of more methods following different effects is necessary.