

Metody stanovení antioxidantů

- Nezbytné pro udržení redoxní rovnováhy
- Zabraňují vzniku oxidačního stresu, oddalují nebo inhibují oxidační poškození substrátů (oxidovatelných látek)
- Inhibují, zneškodňují volné kyslíkové (ROS) a dusíkové radikály (NOS) spárují se s volnými radikály a zastaví tak nebezpečnou řetězovou reakci.

Vznik ROS a NOS v lidském těle

Z chemických reakcí, při kterých tyto molekuly vznikají, např.

při fagocytóze, v místech intenzivního aerobního metabolismu, při zánětu, vlivem záření apod

Enzymatické a neenzymatické antioxidanty

Enzymatické – zneškodnění volných radikálů

- SOD superoxid dismutáza
- CAT cataláza
- GPX glutathion peroxidáza
- Rozklad superoxidu na peroxid vodíku a kyslík
- Rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík
- Oxidace GSH a tvorba vody, meziprodukt glutathion je redukován

Sekundárně enzymatickými antioxidanty

- Příklad: Glutathion reduktáza

neenzymatické

- Vitamíny (AEC)
- Kofaktory enzymů
- dusíkaté sloučeniny – kys. močová
- peptidy a další součeniny– melatonin, flavonoidy, karotenoidy, flavonové sloučeniny z rostlin

Slouží jako redukční činidlo pro volné radikály

Oxidační stres – nemoci kardiovaskulárního systému, rakovina atd

Metody stanovení celkové antioxidační kapacity

- Je třeba je kombinovat
- **TAEC Trolox equivalent antioxidant capacity** – spektrofotometrické měření, tmavě modrý oxidant ABTS vzniká oxidací kyseliny sulfonové persulfátem draselným. Tmavě modrý produkt je naředěn a následně je k němu přidám vzorek či standardy Troloxu. Podle změny absorbance 1mM roztoku Troloxu je stejná koncentrace vzorku považována za TAEC – stejná antioxidační kapacita jako Trolox
- **FRAP Ferric reducing ability of plasma** – spektrofotometrické, využívá redukčního potenciálu antioxidačních látek v působení na tripyridiltriazin železitý Fe(III), který je redukován na železnatou formu Fe (II)- modré zbarvení, výsledky porovnávány proti změně oxidace standardu roztoku železnaté Fe (II) formy, kdy 1 FRAP jednotka je redukce 1 mol změny Fe(III) na Fe(II)
- **ORAC Oxigen radical absorbance capacity** – fluorescenční na měření celkové antioxidační kapacity. Jde o měření vychytávání peroxylového radikálu antioxidanty ze vzorku, radikál je indukován hydrochloridem ABAP, zbylé radikály, které nejsou odstraněny antioxidanty dále oxidují fluorescenční пробу–kdy se snižuje její fluorescenční hodnota, která je zachycovaná přístrojem. Porovnávají se křivky vzorků s křivkami standardu a platí: čím vyšší koncentrace Troloxu a vyšší vychytávání radikálů, tím nižší křivka a nižší fluorescenční signál

- **Total radikal – trapping antioxidant parameter TRAP** – celkové luminometrické měření antioxidační kapacity u biologických vzorků (krev, plasma, rostlinné extrakty apod). Jde o měření vychytávání peroxylového radikálu antioxidanty ze vzorku, radikál je indukován hydrochloridem ABAP. Peroxidový radikál je oxidován luminolem, který produkuje luminiscenční signál zachycovaný luminometrem. Do reakce je přidán vzorek nebo standardy Troloxu a ty vychytávají antioxidanty do jeho vyčerpání. Pak luminiscenční signál skokově naroste. Pro hodnocení se odečítá čas potřebný k dosažení nejvyššího bodu reakční křivky. Antiox. Kapacita vzorku se vypočítá odpovídající koncentrace troloxu v nmol/l.