



# Obsah

Úvod .....	7
1 Súčasný stav riešenej problematiky .....	9
1.1 Liehovarnícke kvasinky <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	9
1.2 Oxidačný stres .....	12
1.2.1 Reaktívne formy kyslíka .....	15
1.2.2 Reaktívne formy dusíka (RNS) .....	19
1.3 Antioxidačný systém .....	19
1.4 Neenzýmové antioxidanty .....	22
1.4.1 Glutatión .....	22
1.4.2 Vitamín C .....	22
1.4.3 Vitamín E .....	22
1.4.4 Karotenoidy .....	23
1.4.5 Flavonoidy .....	23
1.5 Antioxidačné enzýmy .....	23
1.5.1 Superoxiddismutázy .....	24
1.5.2 Kataláza .....	27
1.5.3 Glutatiónperoxidázy .....	29
1.6 Metódy stanovenia celkovej antioxidačnej kapacity .....	32
1.6.1 Metóda DPPH .....	34
1.6.2 Metóda ABTS .....	34
1.6.3 Metóda FRAP .....	35
1.6.4 Metóda ORAC .....	35
1.6.5 Metóda TRAP .....	35
1.7 Izolácia a purifikácia antioxidačných enzýmov .....	36

1.7.1	Dezintegrácia buniek .....	36
1.7.2	Purifikácia antioxidantných enzýmov .....	37
2	Cieľ práce .....	40
3	Materiál a metódy .....	41
3.1	Biologický materiál .....	41
3.2	Kultivácia <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	41
3.3	Rastové charakteristiky kvasiniek <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	42
3.3.1	Stanovenie sušiny gravimetricky .....	43
3.4	Dezintegrácia buniek <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	43
3.4.1	Mechanická dezintegrácia použitím sklenených guľčiek .....	43
3.4.2	French Press .....	44
3.4.3	Sonifikácia .....	44
3.5	Stanovenie celkovej antioxidantnej kapacity metódou ABTS .....	44
3.6	Stanovenie aktivity superoxidodismutázy .....	45
3.7	Stanovenie aktivity glutatiónoxidázy .....	46
3.8	Izolácia a purifikácia superoxidodismutázy .....	46
3.9	Izolácia glutatiónoxidázy .....	47
3.10	Stanovenie molekulovej hmotnosti superoxidodismutázy metódou SDS .....	47
3.11	Stanovenie pH optima a teplotného optima enzýmov .....	49
3.12	Matematicko-štatistické vyhodnotenie výsledkov .....	49
4	Výsledky a diskusia .....	50
4.1	Výber živnej pôdy pre kultiváciu liehovarníckych kvasiniek <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	50
4.1	Rastové charakteristiky <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	52
4.2	Mechanická dezintegrácia buniek kvasiniek .....	57
4.3	Celková antioxidantná kapacita kvasiniek <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	60

4.4	Produkcia superoxididismutázy liehovarnickými kvasinkami <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	62
4.5	Vplyv medi na aktivitu superoxididismutázy .....	65
4.6	Gélová chromatografia superoxididismutázy .....	68
4.7	Ionovýmenná chromatografia superoxididismutázy .....	70
4.8	Stanovenie relatívnej molekulovej hmotnosti superoxididismutázy metódou SDS-PAGE .....	71
4.9	Vplyv pH a teploty na aktivitu superoxididismutázy .....	72
4.10	Produkcia glutatiónperoxidázy liehovarnickými kvasinkami <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	74
4.11	Vplyv peroxidu vodíka na produkciu glutatiónperoxidázy .....	75
4.12	Vplyv selénu na produkciu glutatiónperoxidázy .....	79
4.13	Vplyv pH na aktivitu glutatiónperoxidázy .....	81
5	Návrh na využitie poznatkov pre ďalší rozvoj vedy a praxe .....	83
	Záver .....	84
6	Zoznam použitej literatúry .....	86