

ENZYM SUPEROXID DISMUTASA V ZRNU JEČMENE A SLADU

N. Belcrediová, J. Ehrenbergerová, P. Havlová

Došlo: 28. února 2006

Abstract

BELCREDIOVÁ, N., EHRENBARGEROVÁ, J., HAVLOVÁ P.: *Enzyme superoxide dismutase in grain of barley and malt*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2006, LIV, No. 2, pp. 7–14

The aim of the work was modification of superoxide dismutase enzyme (SOD, EC 1.15.1.1) activity analysis in barley grain and identical malts with using of the Ransod set. This set from company Randox were used for enzyme determination in blood samples. This method employs xanthine and xanthine oxidase to generate superoxide radicals, which react with tetrazolium chloride to form a red formazan dye. SOD is classified as natural antioxidants and enzyme plays a significant role at detoxication of products of molecular oxygen degradation. The largest rate of SOD occurs in embryo of barley grain. Its presence in barley grain and malt thus inhibits rancidity of grain during storage and undesirable beer flavour. The line Wabet x Washonubet (in grain-104,93 and malt 152,42 U/g dry matter) and the variety Annabell (104,65 a 147,21 U/g dry matter) had the highest activity of SOD in grain and malt of barley while the lowest activity was measured in the line KM 1910 (73,15 a 88,16 U/g dry matter) and variety Tolar (74,34 a 96,44 U/g dry matter).

superoxide dismutase, SOD, Ransod, barley, malt

Volné kyslíkové radikály vznikaly na naší planetě spolu se vznikem kyslíkové atmosféry. Kyslík je nezbytný pro život, ale je třeba si uvědomit také jeho roli při tvorbě nebezpečných volných radikálů. Na druhé straně tyto radikály nejsou jen škodlivé toxické látky, ale je stále zřejmější, že v organismu mají i řadu fyziologických funkcí. Volné radikály jsou molekuly, atomy nebo ionty, které mají ve valenční sféře jeden nebo více nepárových elektronů dávajících radikálům jejich vysokou reaktivitu a tím i nestabilitu. Tím způsobují oxidační stres buněk a tkání a to ve dvou situacích – při jejich zvýšené tvorbě a při nedostatečné antioxidační ochraně organismu (Halliwell, 1991; Zima et al., 1996).

Termínem oxidační stres se označuje zvýšená přítomnost reaktivních forem kyslíku nebo volných radikálů, která následně vede u postiženého organismu k poruše tkáně či orgánu. Za normálních podmínek je

tvorba reaktivních forem kyslíku v rovnováze s mechanismy, které vedou k jejich odstraňování tzv. scavengerovým (zametačovým) systémem. Ten zajišťuje, že reakce probíhají ve fyziologickém rozmezí a organismus neohrožují. Důležité jsou, nejenom v zrně, především enzymové scavengery, mezi něž patří enzymy jako je superoxid dismutasa, katalasa a peroxidasa (Clarkson et al., 1992), které likvidují některé reaktivní formy kyslíku, z nichž může vznikat reaktivnější hydroxylový radikál (Škrha, 1998), který je schopen atakovat všechny typy biologicky významných molekul lipidů, proteinů a DNA. Jestliže se vytvoří tento radikál, reaguje s většinou molekul *in vivo*, je velmi škodlivý na místě vzniku a nemigruje mimo buňku (Greguška, 1997).

V roce 1969 objevili McCord a Fridovich (McCord and Fridovich, 1969) vysoce aktivní obranný systém proti působení volných kyslíkových radikálů,

a to metaloenzym superoxid dismutasu (SOD, E.C. 1.15.1.1) správně nazývaný jako superoxid/superoxid oxidoreduktasa (Fridovich, 1986), který byl do této doby pouze předmětem mnoha výzkumů ve všech oblastech biologie (Bowler et al., 1994).

Superoxid dismutasa byl nalezen téměř u všech organismů, které poutají kyslík (McCord et al., 1971), v některých aerotolerantních anaerobech (Tally et al., 1977) a obligátních anaerobech (Hewitt and Morris, 1975).

SOD katalyzuje následnou reakci: $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ (Bensinger and Johnson, 1981; Fridovich, 1995; Hasan and Fridovich, 1981; Packer, 2002). Při této reakci SOD vychytává superoxidový radikál a vyvolává vznik kyslíku a peroxidu vodíku dle předešlé reakce. Zatímco peroxid vodíku je odstraněn katalasami a peroxidasami, superoxid dismutasa zabráňuje převedení superoxidového radikálu na OH (Hasan and Fridovich, 1981). Tato spontánní reakce je při pH 7 velmi rychlá a přesto ji příroda urychlila tímto enzymem o další čtyři řády (rychlostní konstanta je pak $2 \cdot 10^9 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) (Mališková, 2004).

Enzym SOD obsahuje ve své struktuře mangan (MnSOD), železo (FeSOD) nebo měď a zinek (CuZnSOD) (Bowler et al., 1992; Hasan and Fridovich, 1981; Zima et al., 1996). Enzymy SOD obsahující ionty Fe a Mn jsou strukturálně velmi podobné, na rozdíl od CuZnSOD, která s nimi strukturálně nesouvisí. Mechanismus katalýzy je pro všechny typy stejný, v podstatě zahrnuje proteinovou strukturu ohraničenou kladně nabitými zbytky aminokyselin, jež vytvářejí elektrostatický pokles pro přitažlivost superoxidových radikálů k aktivnímu místu. Kov přítomný v aktivním místě enzymu pak provede transport mezi dvěma superoxidovými radikály a podstoupí oxidačně-redukční reakci (Bowler et al., 1994). Přítomnost SOD v rostlinách je může opětovně chránit proti nepříznivým okolním podmínkám (Bowler et al., 1992, 1994; Gupta et al., 1993).

FeSOD má strukturu dimeru a obsahuje dvě identické subjednotky. Ve srovnání se zvířaty, kde chybí, byl nalezen v několika rostlinných druzích a studie ukázaly, že pokud je přítomen, vyskytuje se v chloroplastu.

MnSOD, prozatím prostudovanější než FeSOD, se objevuje v mitochondriální matrix všech doposud studovaných rostlin. Enzym je složen ze stejných subjednotek buď jako dimer, či tetrametr.

CuZnSOD byl stanoven v širokém spektru organismů včetně kvasinek, léčivých rostlin (Campanella et al., 2003), ze zelenin např. mrkvi, špenátu, zelí aj. (Aga et al., 1998), obilninách nebo i v krvi skotu (Bensinger and Johnson, 1981) či člověka.

Enzym je dimer, který je složen ze dvou identic-

kých subjednotek, vyskytující se v cytosolu nebo ve stroma chloroplastu nebo tetramer nalezený v tkáních člověka (Fridovich, 1986), CuZnSOD také ve stroma chloroplastu (Bowler et al., 1994).

Počet jednotlivých isoenzymů se liší od rostliny k rostlině. V zelených listech převládá především chloroplastová SOD, zatímco u klíčících rostlin a oslabeném materiálu SOD mitochondriální a cytoplasmatická. Toto rozmístění podle všeho odráží změny vyskytující se v subcelulárních místech vytváření oxiradikálů, a to během fotosyntetických reakcí, které převládají v buněčném metabolismu; proto je důležitá potřeba zvýšených SOD v chloroplastech (Bowler et al., 1994).

SOD je v zrně ječmene nejvíce lokalizována v embryu, ale menší množství se nachází v aleuronové vrstvě. V zrně a v zeleném sladu je poměrně tepelně stabilní, ale ničí se rmutováním. Množství superoxid dismutasy v zrně ječmene se mění v závislosti na odrůdě a lokalitě (Bamforth, 1983; Havlová, 1999). Její aktivitu je možné ovlivnit změnou podmínek při sladování, ale také teplotou při klíčení a stupněm domočení. S počtem dnů klíčení roste aktivita enzymu až do čtvrtého a pátého dne klíčení a šestý den se již hodnoty aktivit nemění, nebo dochází k mírnému poklesu (Bamforth, 1983; Havlová, 1994, 1999; Havlová et al., 1996).

Aktivita SOD je stimulována zvýšenou tvorbou superoxidu, což se může projevit například při změnách parametrů oxidace (Zima et al., 1996). Přítomnost superoxidového anionového radikálu v pivu může mít vliv na peroxidaci lipidů, degradaci polysacharidů a inaktivaci enzymů. V zrně ječmene a sladu zabráňuje žluknutí během skladování a nežádoucím příchutím piva (Havlová, 1999).

MATERIÁL A METODIKA

Aktivita enzymu superoxid dismutasy byla sledována v zrně a sladu celkem u dvaceti odrůd a linií ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.) (Tab. I), z toho pět odrůd bylo sladovnického typu, sedm linií vzniklo křížením sladovnických typů a waxy typů amerického původu na Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství MZLU v Brně a osm bezpluchých forem (označených dále KM) bylo vyšlechtěno v Zemědělském výzkumném ústavu Kroměříž, s.r.o.

Odrůdy a linie ječmene byly pěstovány ve dvou pokusných systémech pěstování:

- s chemickým ošetřením (konvenční systém pěstování, tj. hnojeno minerálními hnojivy a použity pesticidy)
- bez chemického ošetření.

I: Seznam odrůd a linií ječmene jarního

Odrůdy sladovnického typu	Bezpluché linie	Pluchaté linie	Použitá označení
Amulet	KM 17701	Kompakt x Krona	Ko x Kr
Tolar	KM 1910	Krona x Kompakt	Kr x Ko
Kompakt	KM 2001	Kompakt x Wabet	Ko x Wb
Annabell	KM 2074	Wabet x Kompakt	Wb x Ko
Jersey	KM 2084	Krona x Wanubet	Kr x Wnb
	KM 2092	Wanubet x Krona	Wnb x Kr
	KM 2283	Wabet x Washonubet	Wb x Wsnb
	KM 2387		

Aktivita enzymu byla ve výše uvedeném rostlinném materiálu hodnocena pomocí soupravy Ransod. Tato souprava, vyráběná anglickou firmou Randox, je určena pro analýzu aktivity SOD ve vzorku krve. Bylo tedy nutné přizpůsobit jednotlivé fáze metodiky, zvláště vlastní přípravu vzorků, pro analyzovaný rostlinný materiál, v našem případě na zrno a slad. Podrobný popis modifikované metodiky včetně důležitých parametrů bude publikován v časopise Chemické listy.

Princip metody je založen na využití xanthinu a xanthin oxidasy, které vytvářejí superoxidový radikál, který reaguje s tetrazoliovou solí na červeně zbarvený formazán. Aktivita SOD je měřena stupněm inhibice této reakce, ke které dochází při teplotě 37 °C a absorpční 505 nm. Hodnoty absorpční u jednotlivých vzorků byly naměřeny po 30 sekundách (A_1) a po třech minutách (A_2). Na základě kalibrační křivky,

vytvořené pomocí analýzy standardu, byla vypočtena aktivita SOD v U/g sušiny, tj. jednotky SOD na gram sušiny vzorku zrna ječmene i sladu.

Získané experimentální výsledky byly zpracovány pomocí programu UNISTAT 5.1 vícefaktorovou analýzou variance s následným testováním rozdílů průměrných hodnot LSD – testem ($P \leq 0,05$).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Zpracování experimentálních výsledků analýzou variance (Tab. II) potvrdilo statisticky velmi vysoce významný vliv odrůd na aktivitu SOD v zrně ječmene i sladu. Systém pěstování a interakce odrůd a linií se systémem pěstování ovlivnil aktivitu SOD v zrně také velmi vysoce významně, zatímco aktivita SOD sladu byla ovlivněna interakcí odrůd a linií se systémem pěstování jen významně.

II: Analýza variance aktivity enzymu superoxid dismutasy v zrně a sladu

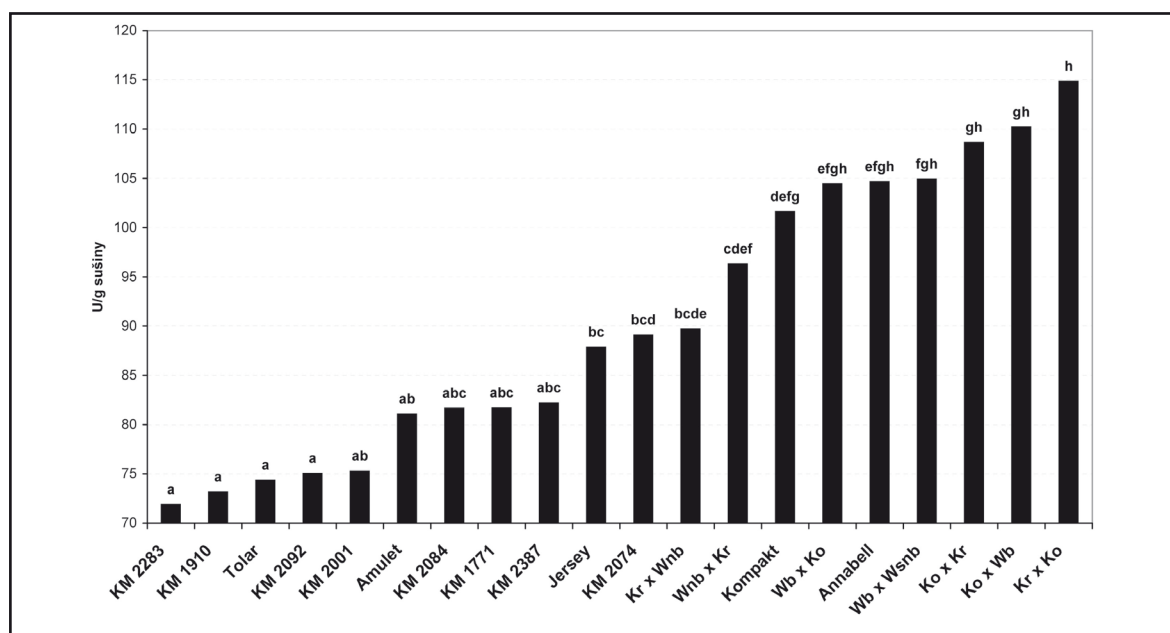
Zdroj proměnlivosti	d. f.	MS _{Zrno}	MS _{Slad}
Odrůdy a linie	19	2432,30***	2432,300***
Systém pěstování	1	576,66***	576,655
Interakce:			
Odrůdy a linie × systém pěstování	18	378,998***	356,922*
Chyba	77	59,710	192,862
Celkem	115	303,750	626,847

Pozn.: * $P \leq 0,05$; *** $P \leq 0,001$

Aktivita superoxid dismutasy v zrně ječmene

Nejvyšší průměrné aktivity superoxid dismutasy (Graf 1) dosáhla linie Krona x Kompakt, a to 114,84 U/g sušiny, nelišila se ale aktivitou statisticky významně

od dalších linií Kompakt x Wabet (110,19 U/g sušiny), Kompakt x Krona (108,63 U/g sušiny), Wabet x Washonubet (104,93 U/g sušiny), Wabet x Kompakt (104,42 U/g sušiny) a sladovnické odrůdy Annabell (104,65 U/g sušiny).



1: Průměrné hodnoty aktivit enzymu superoxid dismutasy v zrně

Pozn.: Odlišná písmena v grafu označují statisticky významně odlišné průměrné hodnoty při $P \leq 0,05$

Vysv.: Ko x Kr = Kompakt x Krona

Kr x Ko = Krona x Kompakt

Ko x Wb = Kompakt x Wabet

Wb x Ko = Wabet x Kompakt

Kr x Wnb = Krona x Wanubet

Wnb x Kr = Wanubet x Krona

Wb x Wsnb = Wabet x Washonubet

Naopak nejnižší aktivity SOD 71,87 U/g sušiny byly detekovány u linie KM 2283, která se ale statisticky významně nelišila od ostatních kroměřížských linií (73,15–82,19 U/g sušiny), kromě linie KM 2074 (89,08 U/g sušiny), ale ani od sladovnických odrůd Tolar a Amulet (74,34 a 81,08 U/g sušiny).

Linie z reciprokých křížení odrůd Kompakt x Krona a Krona x Kompakt (108,63, resp. 114,84 U/g sušiny) i Kompakt x Wabet a Wabet x Kompakt (110,19, resp. 104,42 U/g sušiny) měly vyšší aktivitu než rodičovská odrůda Kompakt (101,62 U/g sušiny). Statisticky významné zvýšení aktivity SOD oproti rodičovské odrůdě Kompakt bylo však zjištěno pouze u linie Krona x Kompakt.

Aktivita superoxid dismutasy ve sladu

Ve sladu byla nejvyšší aktivita enzymu SOD (Graf 2) zjištěna u linie Krona x Wanubet (153,67 U/g sušiny), která se statisticky významně nelišila od linií Wabet x Washonubet (152,42 U/g sušiny), Wanubet x Krona (142,33 U/g sušiny) a sladovnických odrůd Kompakt, Jersey a Annabell (136,95, 146,13 a 147,21 U/g sušiny).

U kroměřížských linií KM 1910, KM 1771, KM 2084, KM 2283 (88,16–100,29 U/g sušiny) byla stanovena nejnižší aktivita SOD a také, jako v případě zrna ječmene, u sladovnických odrůd Tolar a Amulet (96,44 a 105,12 U/g sušiny).

Další skupina linií kroměřížské provenience KM 2092, KM 2074, KM 2001, KM 2387 se od sebe ani

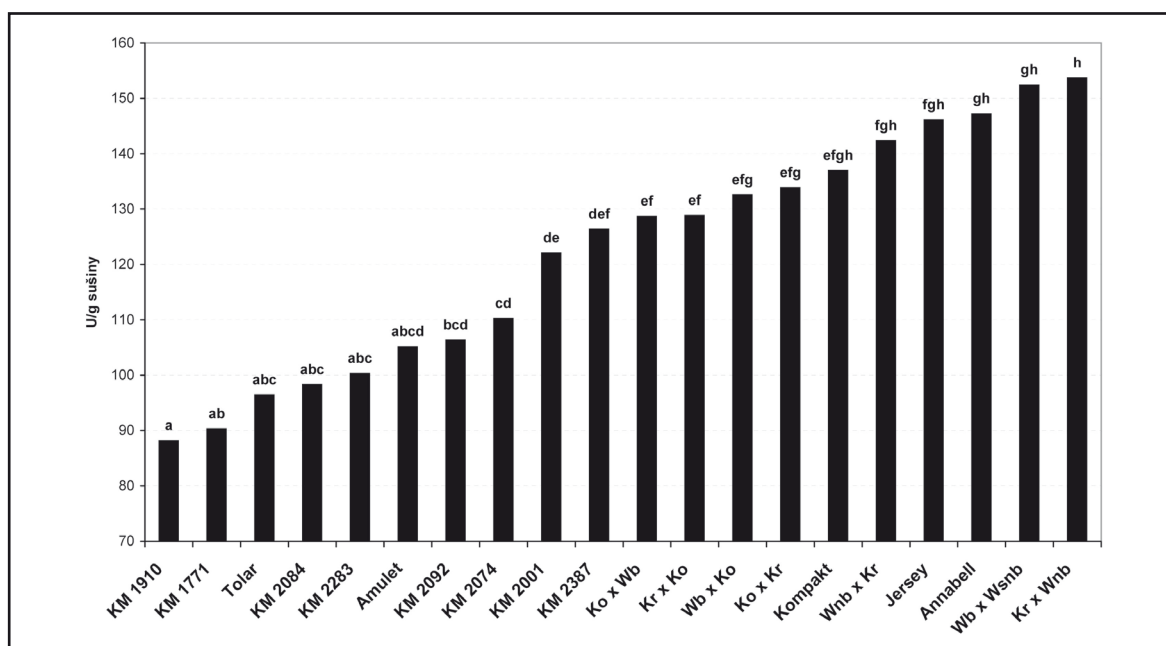
od odrůdy Amulet aktivitou ve sladu významně nelišila (106,33–126,35 U/g sušiny). Sladovnická odrůda Kompakt (136,95 U/g sušiny) měla vyšší aktivitu enzymu, ne však statisticky významně vyšší, než linie (128,68–133,84 U/g sušiny), které měly tuto odrůdu v rodičovské pozici, což byl opačný výsledek než v případě zrna.

V průměru všech odrůd byla statisticky významně vyšší aktivita SOD stanovena ve sladu (Graf 3), a to 122,96 U/g sušiny oproti aktivitě SOD v zrně (91,56 U/g sušiny). Tímto byly potvrzeny i výsledky Boivina (Boivin, 2001; Boivin et al., 1993), který zjistil vždy vyšší antioxidační aktivitu u sladu a podle jeho výsledků se aktivita SOD pohybuje v rozmezí 96–187 U/g sušiny, což s našimi výsledky koresponduje.

Aktivita superoxid dismutasy v zrně ječmene a sladu z odlišných způsobů pěstování

Průměrná hodnota SOD zrna byla u vzorků z chemického ošetření 94,91 U/g sušiny a bez chemického 88,70 U/g sušiny. Průměrná aktivita SOD ve sladu zrna z porostu chemicky ošetřeného byla 121,94 U/g sušiny a 123,84 U/g sušiny u vzorků z porostu bez chemického ošetření.

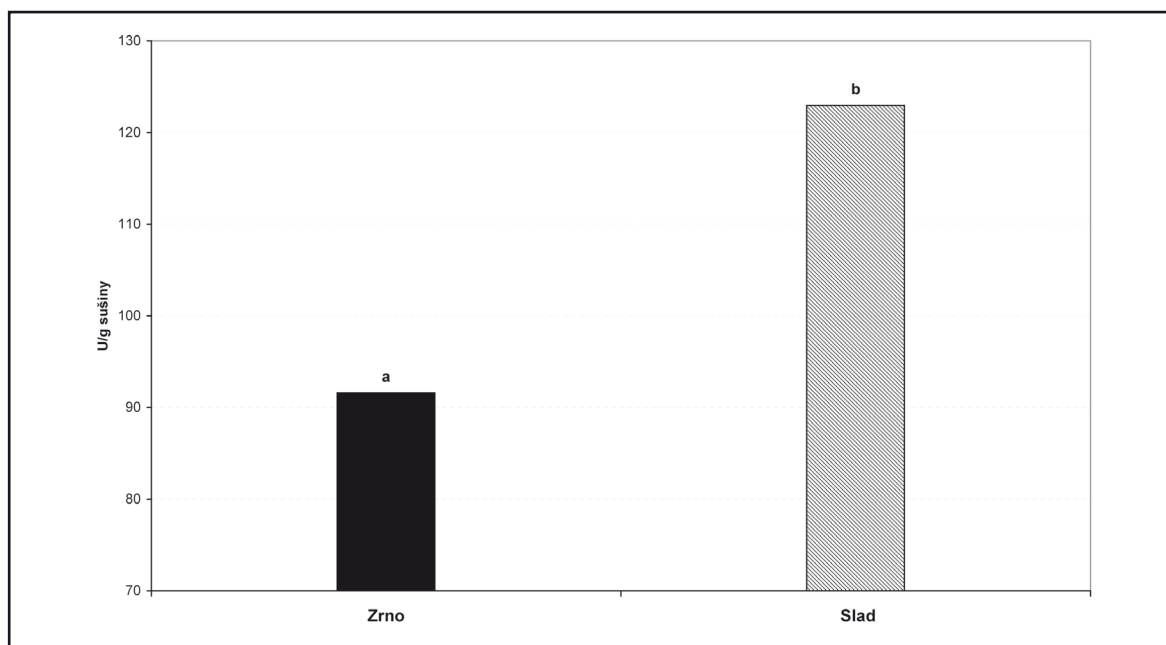
Porovnáním uvedených systémů pěstování (Graf 4) bylo zjištěno, že způsob ošetření neměl vliv na stanovenou aktivitu enzymu SOD, neboť průměrné hodnoty SOD v zrně ani ve sladu se od sebe statisticky významně nelišily.



2: Průměrné hodnoty aktivit enzymu superoxid dismutasy ve sladu

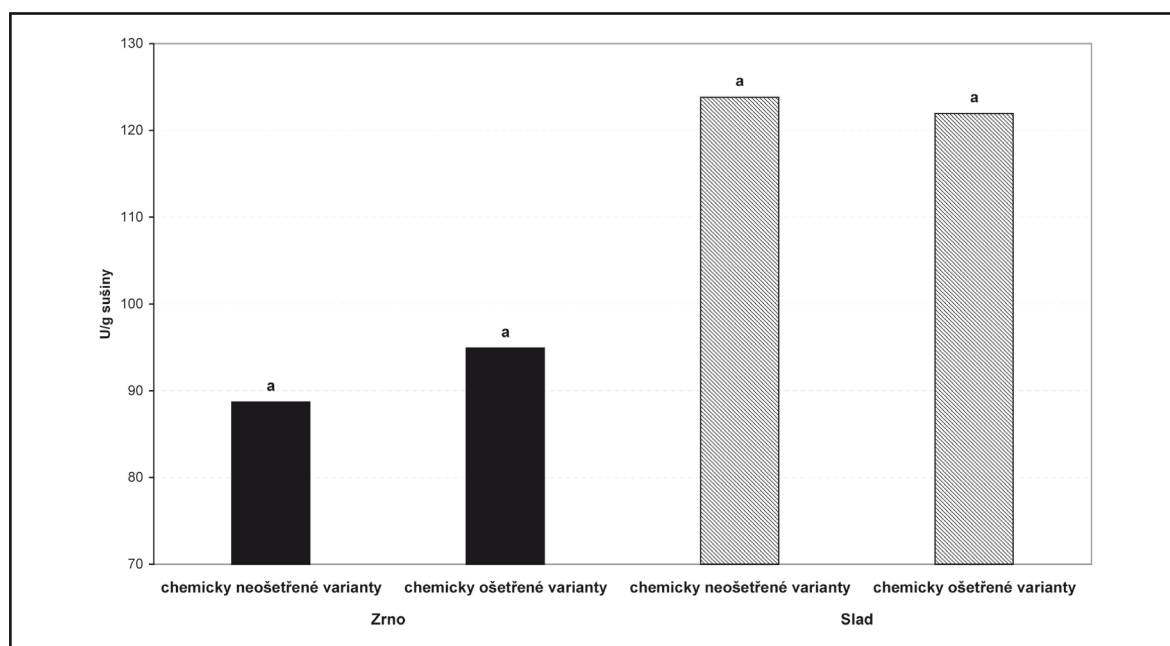
Pozn.: Odlišná písmena v grafu označují statisticky významně odlišné průměrné hodnoty při $P \leq 0,05$

Vysv.: Ko x Kr = Kompakt x Krona Kr x Ko = Krona x Kompakt Ko x Wb = Kompakt x Wabet
 Wb x Ko = Wabet x Kompakt Kr x Wnb = Krona x Wanubet Wnb x Kr = Wanubet x Krona
 Wb x Wsnb = Wabet x Washonubet



3: Průměrná aktivita enzymu superoxid dismutasy v zrnú a sladu

Pozn.: Odlišná písmena v grafu označují statisticky významně odlišné průměrné hodnoty při $P \leq 0,05$



4: Porovnání aktivit enzymu superoxid dismutasy zrna a sladu u odlišných systémů pěstování

Pozn.: Odlišná písmena v grafu označují statisticky významně odlišné průměrné hodnoty při $P \leq 0,05$

SOUHRN

Cílem práce byla modifikace stanovení aktivity enzymu superoxid dismutasa (EC 1.15.1.1) (SOD) pomocí soupravy Ransod na vzorky zrna ječmene a sladu. SOD patří do skupiny přírodních antioxidantů a má významnou funkci při detoxikaci produktů rozpadu molekulárního kyslíku. Největší podíl SOD se vyskytuje v embryu zrna ječmene. Jeho přítomnost v zrně a sladu zabraňuje žluknutí během skladování, ale také nežádoucím přichutím v pivu.

Souprava Ransod je určena pro stanovení SOD ve vzorku krve a doposud nebyla využita pro stanovení aktivity SOD v rostlinném materiálu, resp. v zrně a sladu; jednalo se tedy o první aplikaci soupravy Ransod pro stanovení SOD v zrně a sladu. Podstata této soupravy spočívá v reakci xantinu a xanthin oxidasy, které vytvoří superoxidový radikál reagující s tetrazoliovou solí na červené zbarvení. Touto metodou byla stanovena aktivita enzymu ve vzorcích zrna a sladu u 20 odrůd a linií ječmene ze dvou systémů pěstování, a to s chemickým ošetřením a bez chemického ošetření.

Bylo prokázáno, že statisticky významně vyšší aktivita SOD byla ve sladu oproti zrně ječmene, naopak nebyl potvrzen rozdíl v aktivitách tohoto enzymu mezi zvolenými systémy pěstování. Nejvyšší aktivita SOD v zrně i sladu byla zjištěna u linie Wabet x Washonubet (v zrně 104,93 a sladu 152,42 U/g sušiny) a sladovnické odrůdy Annabell (104,65 a 147,21 U/g sušiny), zatímco nejnižší aktivitu měla bezpluchá linie KM 1910 (73,15 a 88,16 U/g sušiny) a odrůda Tolar (74,34 a 96,44 U/g sušiny).

superoxid dismutasa, SOD, Ransod, ječmen, slad

Předložené výsledky byly získány v rámci řešení projektu FRVŠ 420/2005/G4 a Výzkumného centra MŠMT 1M6215648902.

LITERATURA

AGA, H., SHIBUYA, T., CHAEN, H., FUKUDA, S., KURIMOTO, M.: Stabilization by trehalose of superoxide dismutase-like activity of various vegetables. *Journal of the Japanese Society for Food*

Science and Technology, 1998, 45, 3: 210–215. ISSN 1341–027X.

BAMFORTH, C. W.: Superoxide-dismutase in barley. *Journal of the Institute of Brewing*, 1983, 89, 6: 420–423. ISSN 0046-9750.

- BENSINGER, R. E., JOHNSON, C. M.: Luminol assay for superoxide-dismutase. *Analytical Biochemistry*, 1981, 116, 1: 142–145. ISSN 0003-2697.
- BOIVIN, P.: Pro- and anti-oxidant enzymatic activity in malt. *Cerevisia*, 2001, 26, 2: 109–115. ISSN 0770-1713.
- BOIVIN, P., ALLAIN D., CLAMAGIRANT V., MAILLARD M. N., CUVELIER M. E., BERSET C., RICHARD H., NICOLAS J., FORGET-RICHARD F.: Mesure de l'activité antioxygène iorge et du malt: approche multiple. *Proceedings of the 24th Congress EBC*, Oslo, 1993, p. 397.
- BOWLER, C., VANCAMP, W., VANMONTANU, M., INZE, D.: Superoxide dismutase in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1994, 13, 3: 199–218. ISSN 0735-2689.
- BOWLER, C., VAN MONTAGU, M., INZÉ, D.: Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43, 1992, 83–116. ISSN 1040-2519.
- CAMPANELLA, L., BONANNI, A., FAVERO, G., TOMASSETTI, M.: Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, APR 2003, 375, 8: 1011–1016. ISSN 1618-2642.
- CLARKSON, S. P., LARGE, P. J., BAMFORTH, C. W.: Oxygen-scavenging enzymes in barley and malt and their effects during mashing. *Journal of the Institute of Brewing*, MAR-APR 1992, 98, 2: 111–115. ISSN 0046-9750.
- FRIDOVICH, I.: Superoxide dismutases. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, 1986, 58, 61–97.
- FRIDOVICH, I.: Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 1995, 64, 97–112. ISSN 0066-4154.
- GREGUŠKA, O.: Kyslíkové radikály, oxid dusnatý a antioxidační systém v klboch postihnutých zápalom. *Rheumatologia*, 1997, 11, 3: 161–166. ISSN 1210 – 1931.
- GUPTA, A. S., HEINEN, J. L., HOLADAY, A. S., BURKE, J. J., ALLEN, R. D.: Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90, 1629–1633. ISSN 0027-8424.
- HALLIWELL, B.: Drug antioxidant effects. A basis for drug selection? *Drugs*, 1991, 42, 4: 569–605. ISSN 0012-6667.
- HASAN, H. M., FRIDOVICH, I.: Chemistry and biochemistry of superoxide dismutases. *European Journal of Rheumatology and Inflammation*, 1981, 4, 2: 160–172. ISSN: 0140-1610.
- HAVLOVÁ, P.: Hydrolytické a oxidoredukční enzymy ječného sladu. ÚZPI, Praha, 1999.
- HAVLOVÁ, P.: Výzkum nových analytických postupů na hodnocení kvality sladu. Výzkumná zpráva, VÚPS, Brno, 1994.
- HAVLOVÁ, P., ŠUSTA, J., PROKEŠ, J.: Vliv jakosti sladu na charakter piva. Výzkumná zpráva, VÚPS, Brno, 1996.
- HEWITT, J., MORRIS, J. G.: Superoxide dismutase in some obligate anaerobic bacteria. *FEBS Lett*, 1975, 50, 315–318. ISSN: 0014-5793.
- MALIŠKOVÁ, J.: Antioxidační systémy kožních buněk, jejich úloha v prevenci poškození kůže UV zářením. *Bakalářská práce*, Univerzita Palackého v Olomouci 2004.
- MCCORD, J. M., FRIDOVICH, I.: Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 1969, 244, 6049–6055.
- MCCORD, J. M., KEELE, B. B. Jr., FRIDOVICH, I.: An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: The physiological function of superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1971, 68, 1024–1027. ISSN 0027-8424.
- PACKER, L.: *Methods in Enzymology*, Volume 349 Superoxide dismutase, Elsevier Science (USA) 2002, 400 p. ISBN 0-12-182252-4.
- ŠKRHA, J.: Úloha antioxidačních v metabolismu cévní stěny. *Remedia*, 1998, 8, 6: 362–366.
- TALLY, F. P., GOLDIN, H. R., JACOBUS, N. V., GORBACH, S. L.: Superoxide dismutase in anaerobic bacteria of clinical significance. *Infection and immunity*, 1977, 16, 20–25. ISSN: 0019-9567.
- ZIMA, T., ŠTÍPEK, S., TESAŘ, V., PLÁTENÍK, J., CRKOVSKÁ J.: Volné radikály – reaktivní formy kyslíku, antioxidační látky a antioxidační terapie. *Remedia*, 1996, 6, 1: 35–58.

Adresa

Ing. Natálie Belcrediová, Doc. Ing. Jaroslava Ehrenbergerová, CSc., Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, RNDr. Pavla Havlová, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Sladařský ústav, Mostecká 7, 614 00 Brno, Česká republika

