

Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta v Lednici



**Vliv zátky na obsah antioxidačních
komponent u vína**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce

doc. Ing. Jiří Sochor, Ph.D.

Vypracovala

Bc. Olga Mrázová

Lednice 2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Olga Mrázová**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Řízení zahradnických technologií
Název tématu: **Vliv zátky na obsah antioxidantních komponent u vína**
Rozsah práce: minimální rozsah 50 stran

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu zabývající se různými typy uzávěrů u vína a zpracujte na toto téma literární rešerši.
2. Založte experiment. Vybte bílé, růžové a červené víno. Vybte korkové a skleněné typy uzávěrů. Skládejte víno při dvou rozdílných teplotách.
3. Po dobu 12 měsíců sledujte v pravidelných intervalech pomocí spektrofotometrických metod obsah antioxidantních komponent.
4. Po ukončení experimentu data vyhodnoťte a zpracujte. Získané výsledky diskutujte.

Seznam odborné literatury:

1. STRATIL, P. – FOJTOVÁ, J. – KUBÁŇ, V. Comparison of Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Wines as Determined by Spectrophotometric Methods. *Czech Journal of Food Sciences*. 2008. sv. 26, č. 4, s. 242–253. ISSN 1212-1800.
2. BALÍK, J. – KYSELÁKOVÁ, M. – TRÍSKA, J. – VRCHOTOVÁ, N. – VEVERKA, J. – HÍC, P. – TOTUŠEK, J. – LEFNEROVÁ, D. The changes of selected phenolic substances in wine technology. *Czech Journal of Food Sciences*. 2008. č. 26, s. 3–12. ISSN 1212-1800.
3. KYSELÁKOVÁ, M. – VEVERKA, J. – BALÍK, J. – VRCHOTOVÁ, N. – TRÍSKA, J. Changes in polyphenolic compounds content during different grapevine treatment. In: *B. Internationales Symposium Innovations in Enology*. Stuttgart-Killesberg 20.-23.April 2007; Deutscher Weinbauverband e.V., Bonn, Germany, 2007, s. 276–281.
4. GRAINGER, K. – TATTERSALL, H. Wine production : vine to bottle. Oxford, 2007. ISBN 9780470995600, 9781405113656. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/9780470995600>.

Datum zadání diplomové práce: prosinec 2015

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2017

L.S.


Bc. Olga Mrázová
Autorka práce


doc. Ing. Mojmir Baroň, Ph.D.
Vedoucí ústavu




doc. Ing. Jiří Sochor, Ph.D.
Vedoucí práce


prof. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: Vliv zátky na obsah antioxidačních komponent u vína vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 Autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity o tom, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:30. 4. 2017

.....

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala především vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Jiřímu Sochorovi, Ph.D. za čas věnovaný odborným konzultacím a cenné rady, které mi významnou měrou pomohly k napsání mé diplomové práce. Také bych velmi ráda poděkovala své rodině za pochopení a podporu v průběhu celého studia.

Obsah

Seznam obrázků:.....	8
Seznam tabulek	9
Seznam grafů.....	9
1. Úvod	10
2. Cíl práce.....	11
3. Literární rešerše	12
3.1 Uzávěry ve vinařství.....	12
3.2 Antioxidační komponenty.....	17
3.2.1 Polyfenolické látky ve víně	19
3.2.2 Neflavonoidní fenolické látky.....	21
3.2.3 Flavonoidní fenolické látky.....	30
4. Materiál a metodika	40
4.1 Design experimentu	40
4.2 Biologické vzorky.....	40
4.3 Charakteristika vinných zátek	40
4.4 Stanovení antioxidační aktivity	42
4.5 Stanovení celkových polyfenolických sloučenin	42
4.6 Stanovení celkových flavanolů	42
4.7 Stanovení celkových anthokyanů	43
5. Výsledky.....	44
5.1 Stanovení antioxidační aktivity	44
5.1.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.....	44
5.2 Stanovení hydroxyskořicových kyselin	48
5.3 Stanovení obsahu celkových fenolických sloučenin.....	50
5.4 Stanovení obsahu flavonoidů.....	53
5.5 Stanovení obsahu flavanolů (katechinů)	56
5.6 Stanovení obsahu anthokyanů.....	58

5.7 Komentář k výsledkům experimentu	62
6. Diskuze	64
7. Závěr.....	69
8. Souhrn	71
Použitá literatura	72

Seznam obrázků:

Obrázek č. 1 List korkového dubu

Obrázek č. 2 Přírodní korkový uzávěr

Obrázek č. 3 Aglomerovaný uzávěr

Obrázek č. 4 Syntetický uzávěr

Obrázek č. 5 Skleněný uzávěr

Obrázek č. 6 Strukturní vzorec kyseliny gallové

Obrázek č. 7 Strukturní vzorec kyseliny benzoové

Obrázek č. 8 Strukturní vzorec kyseliny kávové

Obrázek č. 9 Strukturní vzorec kyseliny kaftarové

Obrázek č. 10 Strukturní vzorec kyseliny p-kumarové

Obrázek č. 11 Strukturní vzorec kyseliny ferulové

Obrázek č. 12 Strukturní vzorec tyrosolu

Obrázek č. 13 Strukturní vzorec stilbenů ve víně

Obrázek č. 14 Strukturní vzorec kaempferolu

Obrázek č. 15 Strukturní vzorec kvercetinu

Obrázek č. 16 Strukturní vzorec myricetinu

Obrázek č. 17 Strukturní vzorec anthokyanů

Obrázek č. 18 Strukturní vzorec kyanidinu

Obrázek č. 19 Strukturní vzorec delfinidinu

Obrázek č. 20 Strukturní vzorec petunidinu

Obrázek č. 21 Strukturní vzorec malvidinu

Obrázek č. 22 Strukturní vzorec peonidinu

Obrázek č. 23 Strukturní vzorec flavan-3-olu

Obrázek č. 24 Strukturní vzorec katechinu

Obrázek 25: Znárodnění systému VINOLOK

Obrázek 26: A) VinolokHigh Top 18,2 (VL-S (starý typ))

Obrázek 26: B) VinolokHigh Top 18,5 (VL-N (nový typ))

Seznam tabulek

Tabulka č. 1 Základní rozdělení fenolických sloučenin v hroznech a víně

Tabulka č. 2 Hlavní zástupci neflavonoidních látek ve víně a jejich zdroj

Tabulka č. 3 Hlavní zástupci flavonoidních látek ve víně a jejich zdroj

Tabulka č. 4 Hlavní zástupci anthokyanů v révě vinné

Seznam grafů

Graf č. 1A, 1B Stanovení antioxidační aktivity v bílém víně

Graf č. 2A, 2B Stanovení antioxidační aktivity v růžovém víně

Graf č. 3A, 3B Stanovení antioxidační aktivity v červeném víně

Graf č. 4A, 4B Stanovení hydroxyskořicových kyselin v bílém víně

Graf č. 5A, 5B Stanovení hydroxyskořicových kyselin v růžovém víně

Graf č. 6A, 6B Stanovení hydroxyskořicových kyselin v červeném víně

Graf č. 7A, 7B Stanovení celkových polyfenolických sloučenin v bílém víně

Graf č. 8A, 8B Stanovení celkových polyfenolických sloučenin v růžovém víně

Graf č. 9A, 9B Stanovení celkových polyfenolických sloučenin v červeném víně

Graf č. 10A, 10B Stanovení obsahu flavonoidů v bílém víně

Graf č. 11A, 11B Stanovení obsahu flavonoidů v růžovém víně

Graf č. 12A, 12B Stanovení obsahu flavonoidů v červeném víně

Graf č. 13A, 13B Stanovení obsahu flavanolů (katechinů) v bílém víně

Graf č. 14A, 14B Stanovení obsahu flavanolů (katechinů) v růžovém víně

Graf č. 15A, 15B Stanovení obsahu flavanolů (katechinů) v červeném víně

Graf č. 16A, 16B Stanovení obsahu anthokyanů v bílém víně

Graf č. 17A, 17B Stanovení obsahu anthokyanů v růžovém víně

Graf č. 18A, 18B Stanovení obsahu anthokyanů v červeném víně

1. Úvod

Réva vinná (*Vitis vinifera*) patří v současné době mezi významné kulturní plodiny. Pěstování révy vinné je historicky doloženo již z období neolitu. Původně byla réva vinná planou rostlinou, kterou člověk postupně začal domestikovat. Postupem doby staří Řekové, ale hlavně Římané začínají rozvíjet moderní techniky pěstování a zpracování révy vinné. Z počátku bylo víno určeno pouze vyvoleným osobám, například v období starého Egypta bylo víno určeno pouze pro faraona, kněze a vysoké státní úředníky, v období středověku byla réva vinná pěstována pouze na církevních pozemcích a byla určena pouze pro kněze a panovníka. Postupným vývojem se pěstování révy vinné rozšířilo i mezi ostatní občany státu v oblastech příznivých pro pěstování révy vinné. V současné době se réva vinná pěstuje nejen pro účely výroby vína, ale je známo její další mnohostranné využití, které zahrnuje například výrobu oleje z hroznových semen.

V posledních letech stoupá zájem odborníků o studium antioxidantních komponent obsažených ve víně. Tento zájem byl vyvolán tzv. „francouzským paradoxem“, kdy bylo prokázáno, že obyvatelé Středomoří trpí nižším výskytem kardiovaskulárních onemocnění než ostatní obyvatelé Evropy. Díky moderním laboratorním metodám můžeme tyto látky podrobně zkoumat a výsledky analyzovat. Velký zdravotní význam je přisuzován fenolickým látkám, jež ve své chemické struktuře obsahují benzenové jádro a na něj navázanou hydroxylovou skupinu. Fenolické sloučeniny jsou přirozenou součástí rostlin, u nichž plní významnou funkci v obranyschopnosti proti houbovým chorobám, účastní se metabolismu rostlin a jsou antioxidanty.

Réva vinná obsahuje vysoké množství fenolických látek, které dodávají vínům barevnost a charakteristické chuťové vlastnosti dané odrůdy. Obzvláště červená vína obsahují vyšší množství fenolických látek, což je dáno odlišnou technologií zpracování hroznů.

2. Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo prozkoumat vliv různých typů uzávěrů a teploty uskladnění u třech typů vína, a to bílého, růžového a červeného na obsah antioxidačních komponent u vína.

3. Literární rešerše

3.1 Uzávěry ve vinařství

Zátka, můžeme říci také uzávěr nebo špunt je předmět, který nám slouží k uzavření nejen láhve, ale také jiných předmětů, například sudů. Současné vinařské podniky mají možnost volby jaký typ uzávěru zvolit na jimi produkované lahve s vínem, neboť mají na výběr širokou škálu možností. Před rokem 1989 byla volba uzávěru velmi jednoduchá, vinaři prakticky neměli jinou možnost, než použít přírodní korkový uzávěr, a to jak pro vína určená ke zrání a archivaci, tak také pro vína určená ke konzumaci v průběhu roku. V současnosti si vinaři spíše kladou otázku a musí se správně rozhodnout, jaký typ uzávěru vybrat pro dané víno. Na výběr mají nejen klasické korkové uzávěry, které jsou velmi dobrou bariérou pro migraci těkavých látek ze vzduchu (Pereira et al., 2013), ale také nové typy uzávěrů, mezi které patří skleněné a šroubovací uzávěry, které oceňují především zákazníci díky jejich možnosti opět uzavřít již otevřenou láhev vína původním uzávěrem, a které mají také vysoké estetické vlastnosti.

Korkové uzávěry

Používání korkových uzávěrů sahá hluboko do historie, kdy již ve starověkém Řecku byl korek používán k uzavírání nádob s vínem. Typickou oblastí pro pěstování korkového dubu (*Quercus suber*), z jehož kůry jsou korkové zátky vyráběny, je oblast Středomoří, zejména Pyrenejský poloostrov (Sierra-Perez et al., 2015). Korkový dub je stálezelený strom, který dorůstá výšky okolo 20 metrů. Strom kvete v dubnu až květnu, květenstvím jsou jehnědy a plodem jsou nažky. V současnosti se korkový dub pěstuje na zemědělských farmách, ale jeho historickým výskytem jsou lesní vápenité půdy. Přírodní korek se získává loupáním borky, a to v rozmezí 8 až 12 let. První sklizeň je prováděna nejdříve po 25 letech od výsadby, podmínkou první sklizně je minimální obvod kmenu, který činí 70 centimetrů. První tři sklizně korku nejsou používány na výrobu korkových zátek, neboť jeho kvalita není dostačující pro výrobu zátek. Struktura těchto korků je příliš nepravidelná a porézní (Jackson, 2008). Kůra, která dosahuje patřičné kvality pro výrobu korkových uzávěrů, je tedy sklizena nejdříve

po 75 letech od výsadby stromu. Kůra je sklizena velmi šetrně, aniž by byl při sklizni poškozen strom, nebo byla ohrožena biodiverzita (Sierra-Perez et al., 2015).



Obrázek č. 1 List korkového dubu (Köhler, 1897)

Ve vinařských provozech České republiky je korek tradiční prostředek používaný k uzavření lahví s vínem. Korkové uzávěry jsou vyráběny z přírodního materiálu a tím jsou také šetrné k našemu životnímu prostředí. Přestože jak známo má korek nízkou propustnost pro kapaliny a plyny, dobré mechanické vlastnosti a pružnost (Lagorce-Tachon et al., 2015) byla v minulosti známá vada vína „pachut’ po korku“, která je způsobena působením 2,4,6 - trichloranisolu (TCA) na víno. Díky praktickým zkušenostem z vinařství existuje několik nepředvídatelných zdrojů kontaminace 2,4,6 – trichloranisolu, která může proniknout až několik milimetrů do hloubky (Chatonnet et al., 2010).

Typy uzávěrů na víno

Přírodní korkový uzávěr

Přírodní korkové uzávěry jsou běžně zařazeny do jakostních tříd podle homogenity vnějšího povrchu (Oliveira et al., 2015) a primárně jsou určeny pro dlouhodobou archivaci a zrání červených vín. Jsou doporučovány především pro kvalitnější vína, která dlouhou dobu zrají v lahvi a doba archivace je do 10 – ti let (Steidl, 2010). Tento typ uzávěru na víno je z historického pohledu již tradičním uzávěrem používaným vinaři celého světa.



Obrázek č. 2 Přírodní korkový uzávěr (Jelínek, 2010).

Aglomerovaná zátka

Aglomerovaný korek je směs přírodního korku a organického pojiva (Sanchez-Saez et al., 2015) a je výrazně levnější variantou přírodního korku. Protože jsou aglomerátové zátky vyrobeny chemickou cestou za použití lepidla, je nutné zajistit bezpečnost spotřebitelů, aby nedošlo k vyloučení nežádoucích látek, jako jsou ftaláty do nápojů (Sendon et al., 2012). Aglomerovaná zátka se používá u lahví určených k rychlé spotřebě do jednoho roku.



Obrázek č. 3 Aglomerovaný uzávěr (Jelínek, 2010).

Korková zátka na šampaňské

Korkové zátky na šampaňské jsou vyrobeny z přírodního korku. Každá zátka se skládá z těla vyrobeného z aglomerovaného korku a dvou plošek vyrobených z přírodního korku (Rives et al., 2012). V roce 2009 bylo 60% světové produkce korkových zátek vyrobeno v Katalánsku (Rives et al., 2012).

Syntetický uzávěr

V současné době roste zájem o syntetické uzávěry jako alternativě ke korkovým uzávěrům vinných lahví (Giunchi et al., 2008). Již v roce 1990 začalo mnoho výrobců plastových hmot vyrábět syntetické uzávěry vinných lahví (Silva et al., 2003). První výrobky nesplňovaly požadované parametry a bylo nutné provést další výzkum na specifikaci materiálů používaných pro výrobu syntetických zátek (Silva et al., 2003). Výhodou syntetických uzávěrů je jejich neutrální chuť a ve víně nezanechávají nežádoucí pachů. Tyto uzávěry jsou také propustné pro kyslík (Pavloušek, 2010).



Obrázek č. 4 Syntetický uzávěr (Jelínek, 2010).

Šroubovací uzávěry

Šroubovací uzávěry se na vinném trhu poprvé objevují v roce 1959, přesto jejich obliba není tak velká jako u jiných náhrad přírodních korkových uzávěrů. Vína uzavřená šroubovacím uzávěrem udržují největší koncentraci oxidu siřičitého, kyseliny askorbové a mají nejpomalejší tempo stárnutí (Godden et al., 2001).

Skleněný uzávěr VINO – LOK

Tento nový, zcela moderní typ uzávěru na víno je vyráběn od roku 2003. Skleněné uzávěry mají vysoce estetický vzhled, chuťovou neutrálnost a mezi jejich velké přednosti patří opakovatelná možnost použití. Skleněné uzávěry jsou opatřeny těsnícím kroužkem Vinolok, díky němuž jsou láhve s vínem dobře uzavřeny. U skleněných uzávěrů jsou lepší výsledky skladování pro bílá a růžová vína, protože chrání víno proti nežádoucí oxidaci (Prokes et al., 2015).



Obrázek č: 5 Skleněný uzávěr (Jantač, 2014).

Korunkový uzávěr

Korunkové uzávěry zná většina spotřebitelů jako uzávěr piva nebo minerálních vod. Ve vinařství se korunkové uzávěry z větší části využívají ve výrobním procesu šumivých vín, kdy jsou láhve korunkovým uzávěrem uzavřené v procesu druhotného alkoholového kvašení. Nicméně byla prokázána vlastnost vína rozpouštět hliník v korunkovém uzávěru (Larroque et al., 1994).

Výhody a nevýhody jednotlivých uzávěrů

Korek zůstává dominantním uzávěrem na víno (Goode, 2010). Jde o typ uzávěru, který je vysoce oblíbený nejen u výrobců vína, ale i u spotřebitelů. Jeho předností je, že se jedná o zcela přírodní materiál, ovšem může dojít k jeho kontaminaci 2,4,6-trichloranisolem (TCA) – vada vína pachout' po korku.

Syntetické uzávěry mají jednu velkou přednost a tou je jejich úplná odolnost vůči TCA. Syntetické uzávěry mohou představovat alternativu ke korku a láhve s vínem uzavřené syntetickým uzávěrem jsou určeny ke středně až dlouhodobému zrání (Guaita et al., 2013).

Šroubovací uzávěry jsou velmi praktické z důvodu jejich snadného otevření, a přestože jsou známy již delší dobu, doposud nebyly kladně přijaty. Problémy se vyskytují s jejich nepříjemností hlavně u spotřebitelů, i když jejich podíl v celosvětovém měřítku stále narůstá (Pavloušek, 2010).

Skleněné uzávěry jsou nové typy uzávěrů na víno, které mají nejen estetický design, ale jejich velkou předností před ostatními uzávěry je jejich opětovná možnost použití. Skleněné zátky mají nejnižší propustnost pro oxid siřičitý a chrání vína proti nežádoucí oxidaci (Prokes et al., 2015).

Korunkové uzávěry se ve vinařských provozech používají velmi omezeně, převážně u vinařů zabývajících se výrobou sektů. Mezi předností korunkového uzávěru patří jeho přijatelná cena a odolnost proti TCA. Nevýhodou korunkového uzávěru je nutnost používat speciální lahve. Korunkové uzávěry také mohou způsobit vážné poranění oka při vynaložení velkého množství energie na jejich otevření (Viestenz et al., 2002).

3.2 Antioxidační komponenty

Antioxidanty označujeme všechny látky, přírodní i syntetické, které svou přítomností zpomalují, až potlačují nežádoucí oxidační děje (Sies, 1997). V běžné praxi mluvíme o látkách, které ochraňují lidský organismus před nadměrným hromaděním volných radikálů v lidském těle. Za zvýšený zájem o antioxidanty v posledních letech je zodpovědné propojení vývoje řady lidských onemocnění s oxidačním stresem (Lopez et al., 2001).

Oxidace je chemickou reakcí, při které dochází k přenosu elektronů. Molekula, které chybí jeden nebo více elektronů útočí na jinou molekulu, aby jí tento elektron odebrala. Nerovnováha mezi oxidanty a antioxidanty ve prospěch oxidantů bývá označována jako „oxidační stres“ a může vést k poškození (Sies, 1997). Antioxidanty mají schopnost darovat volný elektron, aniž by u nich došlo ke změně na volný radikál. Rostliny a zvířata mají schopnost určité antioxidanty vytvářet ve svém těle, např. glutathion, který je schopen zabránit poškození buněk působením reaktivních kyslíkových radikálů (Pompella et al., 2003). Lidské tělo, ale určité množství oxidantů potřebuje, neboť právě ony mají schopnost podporovat náš imunitní systém a my jsme potom více odolní vůči různým nemocem.

Volné radikály mohou indikovat buněčné stárnutí (Storz, 2005) a v organismu vznikají působením kyslíku. Z chemického hlediska je volný radikál atom, molekula nebo iont, který má nepárové valenční elektrony (Hayyan et al., 2016). Tvorba volných radikálů v savčích buňkách ovlivňuje mnoho důležitých buněčných funkcí a absence

účinných buněčných mechanismů, které detoxikací odstraňují tyto radikály, může vést ke vzniku onemocnění (Storz, 2005). V lidském organismu vznikají volné radikály jak přirozenými procesy, tak také vlivem patologických procesů, ale také působením okolního prostředí. Nejznámějšími volnými radikály vznikající v lidském těle vlivem přirozených procesů jsou oxid dusný, který vzniká z aminokyseliny argininu a oxid uhelnatý, který je odpadním produktem vznikajícím degradací hemoglobinu. Další cestou vzniku volných radikálů jsou patologické stavy organismu, kdy se volné radikály stávají účinným nástrojem imunitního systému. Volné radikály nejsou jen produktem lidského organismu, ale vyskytují se také v zevním prostředí a do lidského těla pronikají díky záměrnému používání lidskou populací. Mezi tyto látky patří například cigaretový kouř, používání chemických pesticidů a herbicidů a další látky.

Určité antioxidanty je lidský organismus schopen vytvářet, ale většinu antioxidantů musíme přijímat v potravě. Mezi nejznámější antioxidanty patří vitaminy C a E a beta-karoten. Také flavonoidy, které mimo jiné funkce působí jako antioxidanty (Ramiro-Puig et al., 2009), vyskytující se ve víně jsou významnými antioxidanty a jejich účinek je dokonce výrazně vyšší než vitamínu E.

Rozdělení antioxidantů

Antioxidanty můžeme rozdělit podle různých kritérií:

- 1) Podle prostředí ve kterém působí (Clarkson et al., 2000)
 - hydrofilní,
 - lipofilní,
 - amfofilní
- 2) Podle způsobu účinku (Urso et al., 2003)
 - neenzymatické antioxidanty – do této skupiny patří např. vitaminy C a E, flavonoidy, glutathion, karoteny
 - enzymatické antioxidanty – do této skupiny patří např. kataláza
- 3) Podle původu (Urso et al., 2003)
 - přírodní
 - umělé

Tato diplomová práce se bude vzhledem ke svému zadání podrobně zabývat přírodními antioxidanty, které se běžně nacházejí ve víně. Konzumace přírodních antioxidantů je odborníky upřednostňována více, než konzumace uměle vyrobených antioxidantů, které, jak bylo odborníky prokázáno, mohou zvýšit úmrtnost (Bjelakovic et al., 2013). Mezi antioxidanty nacházející se ve víně patří přírodní fenolické látky.

3.2.1 Polyfenolické látky ve víně

Polyfenoly jsou sekundární metabolity produkované vyššími rostlinami, a mají příznivé zdravotní účinky na lidský organismus, především jako antioxidanty, antialergické, protizánětlivé, antinádorové a antimikrobiální látky (Daglia, 2012).

Polyfenolické látky obsažené ve víně jsou zodpovědné za důležité charakteristiky vína, jde především o barvu, hořkou nebo tříslovitou chuť vína a antioxidační vlastnosti (Pavloušek, 2010). Ve vínech, ale také v hroznech existují výrazné rozdíly ve složení a obsahu polyfenolických látek nejen v různých odrůdách révy vinné, ale velkou odlišnost polyfenolických látek mají vína mladá a starší, bílá a červená. Některé fenolické látky (hydroxyskořicové kyseliny) mají vliv na hnědnutí moštů a bílých vín (Pavloušek, 2010). Polyfenolické látky ve víně rozdělujeme do dvou základních skupin, flavonoidy a neflavonoidy, které se dále dělí. Rozdělení flavonoidů a neflavonoidů je znázorněno v tabulce č. 1. Obsah fenolických látek ve víně záleží nejen na kvalitě hroznů, ale také na technologickém postupu výroby vína, převážně na maceraci. U modrých odrůd révy vinné obsahuje 30-40% všech fenolických látek slupka, 60-70% semena (Pavloušek, 2010).

Polyfenoly jsou látky rozpustné ve vodě, reaktivní vůči oxidaci (Santos et al., 2005). Polyfenoly vznikají dvěma různými syntetickými drahami, šikimátovou a polyketidovou. Dnešní výzkumy již prokázaly 8 000 fenolických látek u rostlin. Rostlinné polyfenoly klasifikujeme jednak podle počtu uhlíků a jejich vzájemných vazeb. Další rozdělení polyfenolů je podle počtu aromatických kruhů a způsobu vazby mezi kruhy do čtyř základních skupin: fenolové kyseliny, lignany, flavonoidy a stilbeny.

Fenolické látky mají velký význam jako signální molekuly, barviva, chuťové i vonné látky, pro rostliny je významná i funkce ochrany před napadením hmyzem,

houbovými infekcemi, bakteriemi nebo viry (Vermerris et al., 2008). Fenolické sloučeniny hrají klíčovou roli i v enologii (Ribéreau-Gayon et al., 2006), právě jim vděčíme za rozdíly mezi bílými a červenými víny. Fenolické sloučeniny jsou přirozenou součástí réвовého keře, ale jejich poměr je rozdílný v různých částech rostliny.

Polyfenoly mají pro lidské tělo velmi důležitou úlohu, neboť jsou pro nás velmi důležitými antioxidanty. Protože živočichové nejsou producenty fenolických látek, dostávají se do organismu sekundárně, jejich příjem v potravě (Shahidi et al., 2003). Jako antioxidanty v lidském těle přispívají polyfenoly k prevenci rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění, Parkinsonovy nemoci, Alzheimerovy nemoci a příznivě působí na hladinu cholesterolu. Z rostlinných druhů jsou významným zdrojem polyfenolických látek především hrozny, rybíz, lesní plody, brokolice a cuketa (Ubeda et al., 2011). Doporučená denní dávka polyfenolů by měla činit asi 1 g (Alanon et al., 2011).

Tabulka č. 1: Základní rozdělení fenolických sloučenin v hroznech a víně (Zdroj: (Pavloušek, 2011).

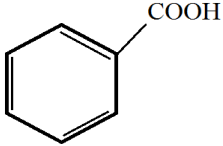
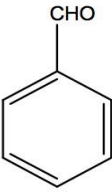
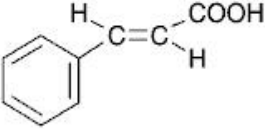
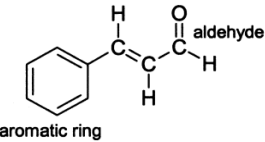
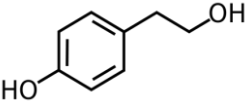
Neflavonoidní fenolické látky	Hydroxybenzoové kyseliny	Kyselina gallová, vanilová, protokatechová, swingová
	Hydroxyskořicové kyseliny	Kyselina kávová, ferulová, kumarová, kaftarová,
	Stilbeny	Trans a cis – resveratrol, piceid, piceatannol
Flavonoidní fenolické látky	Anthokyany	Mavidin-3-glukosid, cyanidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid
	Flavan-3-oly	Katechin, epikatechin
	Flavonoly	Kvercetin, myricetin, rutin, kaempferol

3.2.2 Neflavonoidní fenolické látky

Do skupiny hlavních neflavonoidních fenolických látek patří hydroxybenzoové kyseliny, hydroxyskořicové kyseliny, a stilbeny. Obsah fenolových kyselin ve víně se pohybuje v rozmezí 0,1–0,2 g/l u červených vín a 1–10 mg/l u bílých vín. Původ fenolových kyselin je v bobulích révy vinné, kde jsou vázány v esterech kyseliny vinné. Fenolické látky u odrůd révy vinné se nacházejí v třapíně, v dužnině, ve slupce bobulí i v semenech (Pavloušek, 2010).

Fenolické kyseliny jsou bezbarvé, ovšem vlivem oxidace se zbarvují do žluta. Fenolické kyseliny jsou sloučeniny bez zápachu a chuti, ovšem jsou prekurzory těkavých fenolů vznikajících činností některých mikroorganismů (bakterie a kvasinky rodu *Brettanomyces*). Díky činnosti těchto mikroorganismů dochází v červených vínech vlivem působení ethylfenolů ke vzniku živočišných tónů, v bílém víně dochází ke tvorbě lékařenských tónů, za které nesou odpovědnost vinylfenoly. Bylo prokázáno, že tyto sloučeniny, jsou výsledkem rozkladu (dekarboxylace a redukce) kyseliny felurové a p-kumarové (Chatonnet et al., 1995).

Tabulka č. 2. Hlavní zástupci neflavonoidních látek ve víně a jejich původ (Ribéreau-Gayon, 1965a).

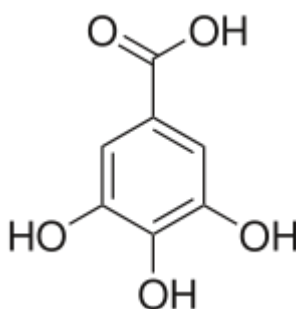
Neflavonoidní látky	Chemická struktura	Zástupci	Zdroj
Kyselina benzoová a její deriváty		Kyselina benzoová Kyselina vanilová Kyselina gallová Kyselina protokatechuová Hydrolyzovatelné taniny	Hrozny, sud Sud Hrozny, sud Hrozny, sud Hrozny
Benzaldehyd		Benzaldehyd Vanilin Syringaldehyd	Hrozny, sud Kvasinky Sud
Kyselina skořicová		Kyselina p-kumarová Kyselina felurová Kyselina chlorogenová Kyselina kávová	Hrozny, sud Hrozny, sud Hrozny Hrozny
Cinamátaldehyd		Koniferaldehyd Sinapaldehyd	Sud Sud
Tyrosol		Tyrosol	Kvasinky

Hydroxybenzoové kyseliny

Výskyt hydroxybenzoových kyselin ve víně je v malém měřítku a patří k nejjednodušším fenolickým látkám ve víně. Celkem bylo popsáno sedm benzoových kyselin. V hroznech se tyto kyseliny nacházejí jako sloučeniny s cukry ve formě glykosidů, ze kterých se uvolňují kyselou hydrolyzou a ve formě esterů jako gallové a elagické taniny, které je možno převést na volnou formu alkalickou hydrolyzou. Výskyt volných forem je častější v červených vínech a to vlivem hydrolyzy a tepelných reakcí, hojně jsou zvláště anthokyaniny vznikající rozpadem anthokyanů (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Kyselina gallová

Nejvýznamnější kyselinou této skupiny je kyselina gallová ($C_7H_6O_5$), která je jedinou hydroxybenzoovou kyselinou, která se nalézá přímo v hroznech, a to sice v pevných částech bobule (Pavloušek, 2011). Kyselina gallová má napojené na benzenové jádro hydroxylovou a karboxylovou skupinu, díky čemuž může vytvářet estery. Kyselina gallová, extrahovaná z hroznových semen inhibuje možné příčiny vzniku Alzheimerovy a Parkinsonovy nemoci (Liu et al., 2013; Wang et al., 2009). Kyselina gallová se také nachází v různých druzích dubu (Mammela et al., 2000), také mnoho potravin obsahuje kyselinu gallovou, zejména ovoce (včetně jahod, hroznů, banánů) a čaje (Pandurangan et al., 2015).

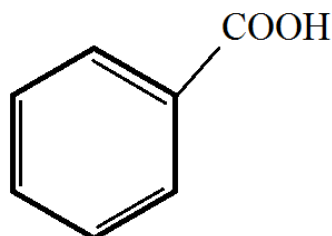


Obrázek č. 6 Strukturální vzorec kyseliny gallové

Kyselina benzoová

Kyselina benzoová (C_6H_5COOH), od níž celá skupina kyselin nese svůj název, je pevná, bezbarvá krystalická látka, která se v přírodě běžně vyskytuje u celé řady

roślin. V potravinářském průmyslu je kyselina benzoová využívána jako konzervační prostředek, neboť inhibuje růst plísní, kvasinek a některých bakterií (Warth et al., 1991).



Obrázek č. 7 Strukturální vzorec kyseliny benzoové

Kyselina protokatechuová

Kyselina protokatechuová ($C_7H_5O_4$) se vyskytuje u většiny vyšších rostlin. Kyselina protokatechuová je přírodní látka s vysokou antioxidační kapacitou (Safaeian et al., 2016), která působí na kmenové buňky.

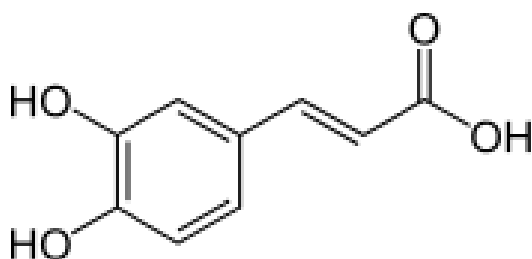
Hydroxyskořicové kyseliny

Deriváty skořicové kyseliny, které můžeme nalézt ve víně, jsou kyselina kávová, ferulová, kumarová a kaftarová. Tyto deriváty byly v malém množství identifikovány ve volné formě, převážně se ale vyskytují jako vázané, tvořící estery zejména s kyselinou vinnou (Ribéreau-Gayon, 1965b). Estery s kyselinou vinnou, zvláště kyselina kaftarová a kumarová, jsou snadno oxidovatelné, čímž způsobují hnědnutí moštu (Cheynier et al., 1989; Cheynier et al., 1995).

Hydroxyskořicové kyseliny jsou hlavní fenolické látky v bílých odrůdách vína. Jsou přítomny v celé rostlinné říši například v jablcích (*Malus sp.*), datlích (*Phoenix dactylifera*), mrkvi (*Daucus carota*), kávových zrnech (*Coffea arabica*) (Clifford, 2000).

Kyselina kávová

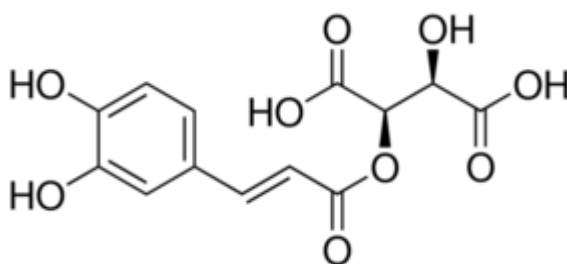
Kyselina kávová ($C_9H_8O_4$) je organická sloučenina, která obsahuje fenolovou a akrylovou skupinu. Kyselina kávová je hlavním zástupcem hydroxyskořicových kyselin, kdy její obsah u určitých druhů ovoce může činit až 75-100% obsahu všech hydroxyskořicových kyselin. Ve víně je tato kyselina zastoupena v největším množství. Kyselina kávová se nachází ve všech rostlinách, protože je klíčovým meziproduktem při biosyntéze ligninu, který je jednou z hlavních složek rostlinné biomasy a jejich zbytků (Boerjan et al., 2003). Kyselinu kávovou řadíme mezi antioxidanty *in vitro* a také *in vivo* (Olthof et al., 2001).



Obrázek č. 8 Strukturální vzorec kyseliny kávové

Kyselina kaftarová

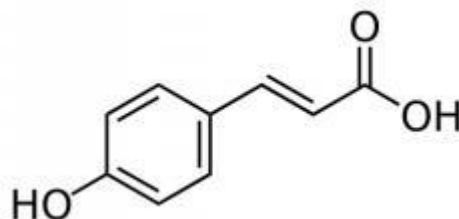
Kyselina kaftarová patří do skupiny hlavních antioxidantů bílých vín, její koncentrace jsou v bílých vínech 30–120 mg/l a v červených vínech 100–300 mg/l (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Díky působení kyseliny kaftarové dochází k enzymatické oxidaci moštu a rmutu.



Obrázek č. 9 Strukturální vzorec kyseliny kaftarové

Kyselina p - kumarová

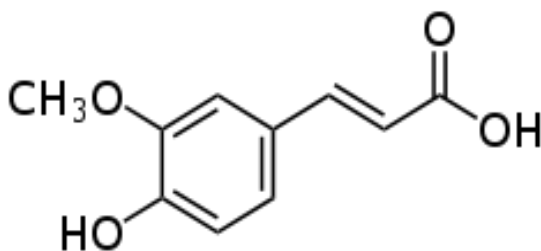
Kyselina p – kumarová ($C_9H_8O_3$) je nejběžněji se vyskytujícím derivátem kyseliny skořicové. Nejvíce je tato kyselina obsažena v hroznech révy vinné a ve víně, kde působí svým antioxidačním účinkem. Kyselina p–kumarová je velmi snadno oxidovatelná, čímž způsobuje hnědnutí moštu (Cheynier et al., 1989).



Obrázek č. 10 Strukturní vzorec kyseliny p-kumarové

Kyselina ferulová

Kyselina ferulová ($C_{10}H_{10}O_4$) je zodpovědná za vznik vinylfenolů, kdy bylo jasně prokázáno, že tyto sloučeniny jsou výsledkem rozkladu (dekarboxylace a redukce) kyseliny ferulové a p–kumarové (Chatonnet et al., 1995), a díky tomu vzniku lékařských tónů v bílých vínech.

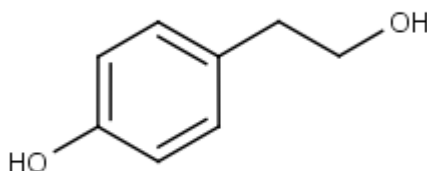


Obrázek č. 11 Strukturní vzorec kyseliny ferulové

Tyrosol

Tyrosol ($C_8H_{10}O_2$) je fenolická sloučenina přítomná ve dvou tradičních složkách středomořské stravy: víně a panenském olivovém oleji (Covas et al., 2003). Tyrosol se nachází jak v bílých, tak také v červených vínech. I když tyrosol není tak účinný jako jiné antioxidanty (Miro-Casas et al., 2003), bylo prokázáno, že tyrosol svým

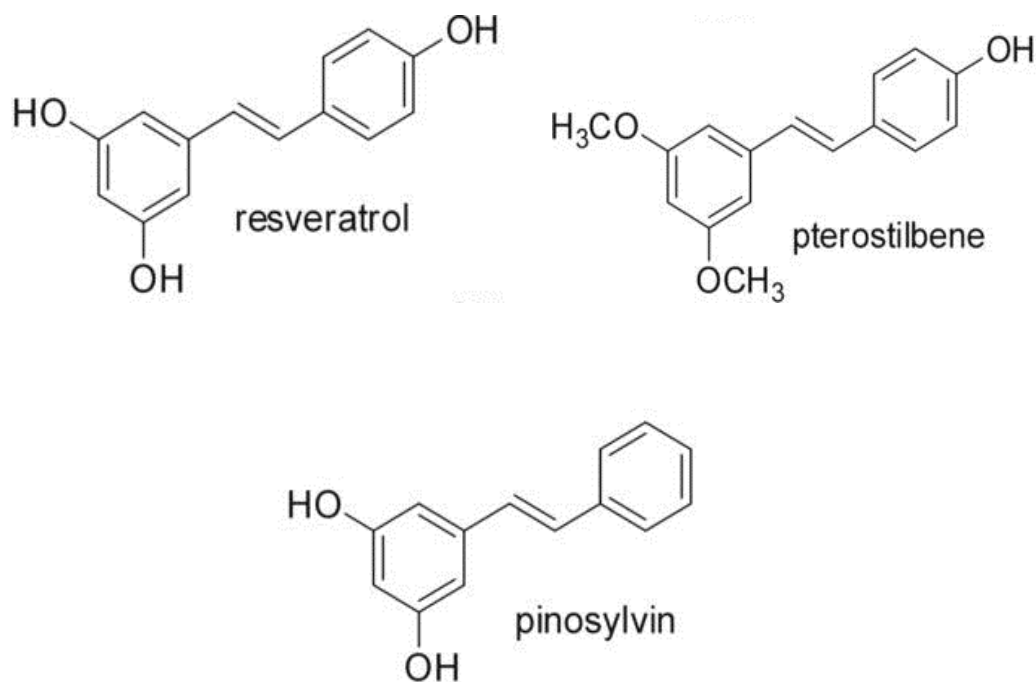
antioxidačním účinkem snižuje hyperglykémii (Chandramohan et al., 2015). Tyrosol vzniká činností kvasinek v průběhu alkoholové fermentace syntézou aminokyseliny tyrozinu. Bývá doprovázen dalšími nefenolickými alkoholy, jako tryptofolem (0-1 mg/l) a fenylethanolem (10–75 mg/l) (Ribéreau-Gayon, 1965b).



Obrázek č. 12 Strukturální vzorec tyrosolu

Stilbeny

Stilbeny ($C_6C_2C_6$) jsou hydroxylované deriváty stilbenu, a patří do skupiny fenylypropanoidů a jejich biosyntéza vychází z fenylalaninu. Všechny vyšší rostliny jsou schopné syntetizovat malonyl-CoA a estery derivátů kyseliny skořicové, ale jen omezené množství rostlin je schopno produkovat stilbeny (Paldrychová, 2015). Stilbeny se nacházejí u mnoha druhů rostlin, mezi něž patří právě réva vinná (*Vitis vinifera*) a mezi nejvýznamnější zástupce této skupiny látek patří resveratrol, pterostilben a pinosylvin (Chong et al., 2009). Někdy se u těchto látek můžeme setkat s označením fytoalexiny – podílejí se na obraně proti rostlinným patogenům (Daglia, 2012).



Obrázek č. 13 Strukturální vzorce stilbenů ve víně

Resveratrol

Resveratrol (3,4,5 trihydroxystilben) je látka vyskytující se u rostlin ve formě dvou geometrických izomerů E (*trans*) a Z (*cis*), přičemž převažuje *trans* izomer (Filip et al., 2003). *Trans*-resveratrol má protinádorový účinek, kdy vyvolává apoptózu nádorových buněk (ElAttar et al., 1999). Dále při pokusech *in vitro* bylo prokázáno, že *trans*-resveratrol inhibuje agregaci destiček, snižuje hladinu triacylglycerolů a chrání játra před oxidací tuků (Shan et al., 1990). *Cis*-izomer rovněž jako *trans*-resveratrol má též potencionální protirakovinnou aktivitu při inhibici protein tyrosin kynáz a také má antikoagulační vlastnosti, avšak tyto vlastnosti nebyly zatím předmětem širších studií (RomeroPerez et al., 1996). Resveratrol není běžnou látkou, která se vyskytuje u rostlin, nicméně se vyskytuje u poměrně širokého spektra zeleniny a ovoce (Soleas et al., 2001). Jedná se o hrozny, borůvky, maliny a moruše (Jasinski et al., 2013).

Resveratrol byl poprvé izolován z rostliny kýchavice velkokvěté (*Veratrum grandiflorum*) v roce 1940 (Delmas et al., 2006) a v současné době je mu věnována zvýšená pozornost v souvislosti s tzv. „francouzským paradoxem“. Bylo zjištěno, že v některých částech Francie je úmrtnost způsobená onemocněním koronárních tepen

nižší i přes relativně vysoký podíl tuků ve stravě a konzumace vína je jedním z faktorů, které tuto nízkou úmrtnost vysvětlují (Filip et al., 2003). Také u rostlin je funkce resveratrolu nezanedbatelná, u hroznů působí *trans*-resveratrol jako fytoalexin proti růstu houbových patogenů plísně šedé (*Botrytis cinerea*) (Favaron et al., 2009).

Resveratrol je přírodní fenol a fytoalexin, přirozeně produkován 72 druhy rostlin (Soleas et al., 1997). U révy vinné dochází při napadení houbou *Botrytis cinerea* k syntéze resveratrolu v listové epidermis a slupce bobule (Catalgol et al., 2012). Obsah resveratrolu se výrazně liší v bílých a červených vínech, což je dáno odlišností výroby těchto vín. Při výrobě červených vín, u kterých dochází k dlouhodobé maceraci rmutu a současnému procesu fermentace je obsah resveratrolu výrazně vyšší než u vín bílých. Střední koncentrace resveratrolu v červených vínech je cca 2-6 mg/l, v bílých vínech je jeho koncentrace nižší cca 0,2-0,8 mg/l (Velíšek et al., 2009). Výskyt resveratrolu v bobulích révy vinné je závislý na mnoha faktorech, mezi něž patří počasí, výskyt houby *Botrytis cinerea* nebo vliv UV záření. Maximální koncentrace *trans*-resveratrolu je dosaženo po 24–96 hodinách od napadení houbou *Botrytis cinerea*, poté jeho koncentrace klesá a přibližně po 16–ti dnech se ustálí na původní hodnotu (Smidrkal et al., 2001).

Původním prekurzorem pro biosyntézu (Soleas et al., 1997) resveratrolu jsou glykosidy, ze kterých vzniká nejprve shikimátovou cestou fenylalanin (Smidrkal et al., 2001). Dále dochází působením amoniom-lyasy na fenylalanin ke tvorbě kyseliny skořicové, která je dále oxidována na kyselinu 4-hydroxyskořicovou. Z této skořicové kyseliny vzniká působením CoA ligasy 4 – hydroxy cinnamoyl – CoA, ze kterého se za působení resveratrol synthasy v řadě druhů čeledi *Vitaceae* syntetizuje resveratrol, přičemž se uvolňují čtyři molekuly oxidu uhličitého (Smidrkal et al., 2001).

V současné době jsou účinky resveratrolu na lidské zdraví intenzivně studovány a zkoumány. Odborníky na zdravý životní styl je konzumace potravin obsahující resveratrol, jedná se hlavně o zeleninu, v současné době doporučována ještě více než v době kdy nebyl objeven resveratrol v těchto potravinách. Určitým pokrokem nepochybně je, že na základě výsledků řady studií se ukázalo pití vína v rozumném množství spíše zdravé než škodlivé (Smidrkal et al., 2001). Obsah všech derivátů resveratrolu, jejichž příjem při pití bílého vína je asi 3,5 krát vyšší než koncentrace *trans*-resveratrolu, je pro růžová vína až 5,2 krát vyšší (RomeroPerez et al., 1996).

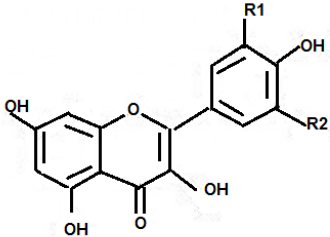
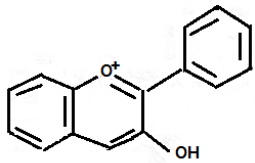
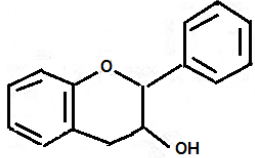
3.2.3 Flavonoidní fenolické látky

Flavonoidy jsou sekundární rostlinné metabolity, jejichž funkce je ochrana před UV zářením a působí též jako signální látky pro nitrifikační bakterie (McDonald et al., 1998). Flavonoidy jsou žluté rostlinné pigmenty (převzato z latiny *flavus* znamená žlutý) a patří mezi nejvýznamnější skupinu fenolických látek obsažených ve víně. Z chemického pohledu obsahují flavonoidy 15 uhlíků, které jsou spojeny ve dva aromatické kruhy propojené jedním 3uhlíkovým mostem. Základem chemické struktury flavonoidů je flavon nebo také izoflavon. Podle modifikací na benzenovém jádře (kruhu) je lze rozdělit na další skupiny a to flavonoly, flavony, flavan-3-oly, flavanony isoflavanony a anthokyanidiny (Manach et al., 2004).

Za objevitele flavonoidních látek považujeme maďarského biochemika a fyziologa Alberta Szent – Györgyi von Nagrapolt (1893 – 1986), držitele Nobelovy ceny za fyziologii a lékařství v roce 1937. Tento vědec v roce 1927 izoloval vitamin C ($C_6H_8O_6$) jako první na světě z kůry nadledvinek skotu a tuto látku nazval kyselina hexuronická. Později se mu tuto látku podařilo izolovat i z ovoce a zeleniny. V současné době bylo popsáno již více než 6 000 různých flavonoidů a jejich počet díky výzkumu stále roste (Crozier et al., 2009).

Flavonoidy jsou běžnou součástí potravin a strava bohatá na ovoce a zeleninu může snížit výskyt kardiovaskulárních chorob, diabetes, rakoviny a cévní mozkové mrtvice (Crozier et al., 2009). Flavonoidy, někdy také označovány pod souhrnným názvem vitamin P, jsou rostlinné pigmenty a mezi nejdůležitější zdroje flavonoidů v potravě patří ovoce, zelenina a zelený čaj. Pro rostliny mají flavonoidy nepostradatelnou úlohu, neboť jsou přírodními pigmenty a díky nim získávají rostliny barevné zbarvení, které slouží přirozeným opylovačům k orientaci. U révy vinné jsou flavonoidy nejvýznamnější skupinou fenolických látek, v hroznech a víně se vyskytují anthokyaniny, flavonoly a flavan-3-oly.

Tabulka č. 3: Hlavní zástupci flavonoidních látek ve víně a jejich zdroj (Ribéreau-Gayon, 1965a)

Flavonoidní látky	Chemická struktura	Zástupci	Zdroj
Flavonoly		Kvercetin Kaempferol Myricetin	Hrozny Hrozny Hrozny
Anthokyaniny		Kyanidin Delfinidin Petunidin Malvidin Peonidin	Hrozny Hrozny Hrozny Hrozny Hrozny
Flavan – 3 oly		Katechin Epikatechin Gallokatechin Prokyanidiny Kondenzované taniny	Hrozny Hrozny Hrozny Hrozny Hrozny

Flavonoly

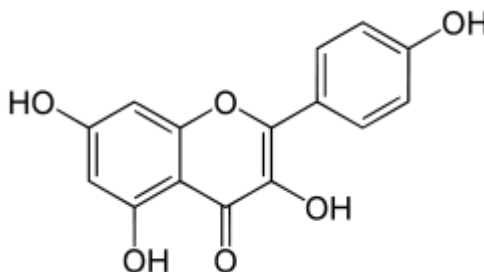
Flavonoly jsou skupinou nejrozšířenějších flavonoidních látek, obsahují žluté pigmenty s různou intenzitou zbarvení, které jsou u révy vinné přítomné ve slupkách bobulí u modrých i bílých odrůd. V moštích a vínech se flavonoly nacházejí v glykosidické formě. Flavonoly se od sebe odlišují substituenty navázanými na bočním benzenovém jádře. Podle počtu a umístění skupin OH je rozlišujeme na kaempferol

(1 OH), kvercetin (2 OH) a myricetin (3 OH). Všechny tři pigmenty se nacházejí ve slupce bobulí modrých odrůd, zatímco bobule bílých odrůd obsahují první dva pigmenty (Ribéreau-Gayon, 1965b). Tyto látky se nachází v červených vínech jako aglykony, v průběhu alkoholového kvašení se glykosidy hydrolyzují na volné aglykony.

V bobulích révy vinné jsou přítomny také flavanonoly, které jsou ale zastoupeny v mnohem menším měřítku a mají výrazně světlejší barvu. Nejčastějším zástupcem flavanonolů ať již v hroznech nebo víně je dihydrokvercetin nazývaný též taxifolin (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Kaempferol

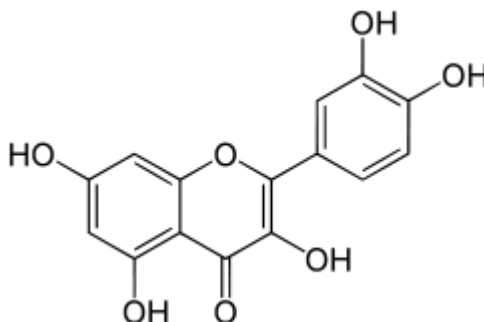
Kaempferol ($C_{15}H_{10}O_6$), je sekundární metabolit ze skupiny flavonolů, který můžeme najít v celé řadě rostlin a potravin rostlinného původu (Calderon-Montano et al., 2011). Kaempferol je pevná krystalická látka žlutého zabarvení, velmi dobře rozpustný v horkém ethanolu, naopak těžce rozpustný ve vodě. Celkový průměrný příjem flavonolů a flavonů v běžné stravě je stanoven na 23 mg/ den, na kterém se kaempferol podílí přibližně 17% (Liu, 2013).



Obrázek č. 14 Strukturní vzorec kaempferolu

Kvercetin

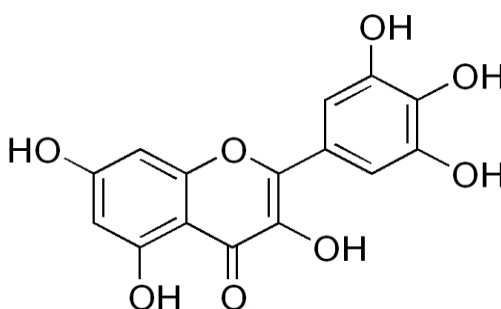
Kvercetin ($C_{15}H_{10}O_7$) je látka ze skupiny flavonolů, která byla nalezena u mnoha druhů ovoce a zeleniny. V současné době je kvercetin považován za významný antioxidant, neboť bylo zjištěno, že inhibuje oxidaci jiných molekul (Russo et al., 2014).



Obrázek č. 15 Strukturální vzorec kvercetinu

Myricetin

Myricetin ($C_{15}H_{10}O_8$) je flavonoidní látka v hojné míře nalezená v zelenině, ovoci, ořechách, bobulích a čaji (Ross et al., 2002) a je také nalezena v červeném víně (Basli et al., 2012). Myricetin má významné antivirové, antitrombotické a antikarcinogenní účinky a průměrný denní příjem myricetinu by měl činit 23 g/den (Hollman et al., 1999).

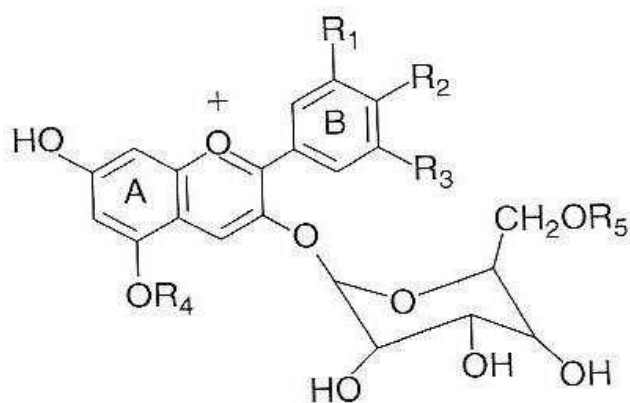


Obrázek č. 16 Strukturální vzorec myricetinu

Anthokyan

Anthokyan jsou přírodní pigmenty široké barevné škály od červené přes modrofialové až modré barvy, které vykazují celou řadu ochranných účinků s možnými

přínosy pro lidské zdraví v souvislosti s jejich antioxidačními účinky. Název anthokyanů pochází z řeckých slov *ánthos* (květ) a *kyanos* (ocelově modrý). Ve vyšších rostlinách jsou anthokyaniny přítomny ve všech tkáních, včetně listů, květů, stonků, plodů a kořenového systému. Anthokyaniny se v přírodě nejčastěji vyskytují ve formě glykosidů. V rostlinách mají anthokyaniny významnou antioxidační funkci, kde působí proti reaktivním formám kyslíku v důsledku abiotických stresů, jako je nadměrné působení UV záření. Na anthokyaniny jsou značně bohaté bobule, a tyto sloučeniny mají vliv na kvalitu vína. Nicméně tyto pigmenty jsou přítomné pouze u barevných bobulí (Niu et al., 2017). Bylo prokázáno, že místem anthokyaninové absorpce je žaludek, nicméně osud anthokyaninů v tenkém střevě zůstává neznámý (Talavera et al., 2004). Mezi nejvýznamnější anthokyaniny v hroznech patří malvidin a jeho glykosidy (malvidin-3-glukosid a malvidin-3,5-diglukosid). V révě vinné a hroznech je zastoupeno pět anthokyaninů, které se od sebe navzájem liší umístěním substituentů na jádře.



Obrázek č. 17 Strukturální vzorec anthokyaninů

Tabulka č. 4 Hlavní zástupci anthokyanů v révě vinné

Anthokyan	R1	R2	R3
Cyanin	OH	OH	OH
Peonin	OCH ₃	OH	H
Delfinin	OH	OH	OH
Petunin	OCH ₃	OH	OH
Malvin	OCH ₃	OH	OCH ₃

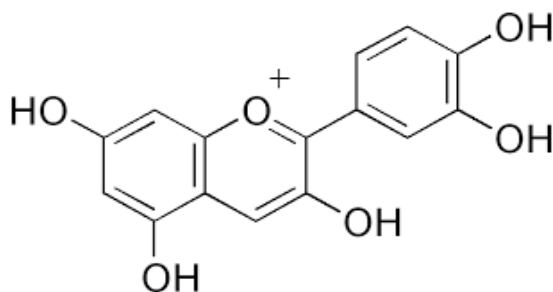
R4: H: monoglukosidy,

glukóza: diglukosidy

R5: acetyl, p-kumarolyl, caffeoyl

Kyanidin

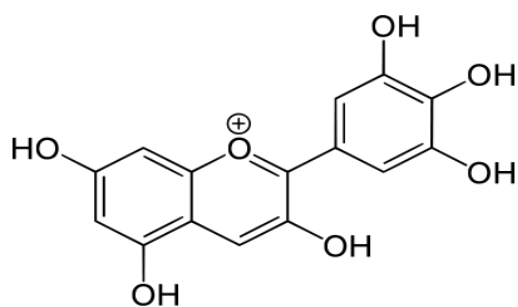
Kyanidin (C₁₅H₁₁O₆⁺) je přírodní pigment, který je součástí bobulí mnoha druhů ovoce. Mezi nejvýznamnější zástupce patří réva vinná, ostružiny, borůvky. Kyanidin, stejně jako ostatní zástupci anthokyanů má výrazné antioxidační účinky, nicméně jeho pravidelný přísun v potravě může bránit také rozvoji obezity (Rie et al., 2007). V červeném víně se nachází kyanidin-3,5-O-diglukosid (He et al., 2012).



Obrázek č. 18 Strukturní vzorec kyanidinu

Delfinin

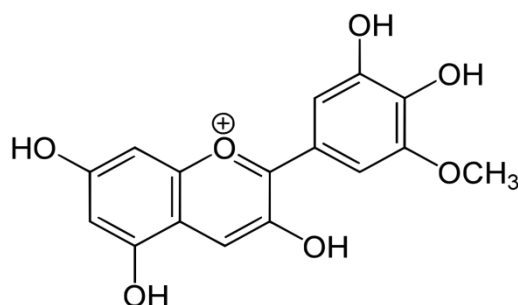
Delfinin (C₁₅H₁₁O₇⁺) je anthokyan, který způsobuje modré zbarvení květin rodu *Viola*. U hroznů odrůdy Cabernet–Sauvignon způsobuje jejich modro–červenou barvu. Delfinin patří mezi hlavní anthokyany a má řadu ochranných účinků vůči patologickým stavům, včetně rakoviny, zánětům a svalové atrofii (Murata et al., 2017).



Obrázek č. 19 Strukturální vzorec delfinidinu

Petunidin

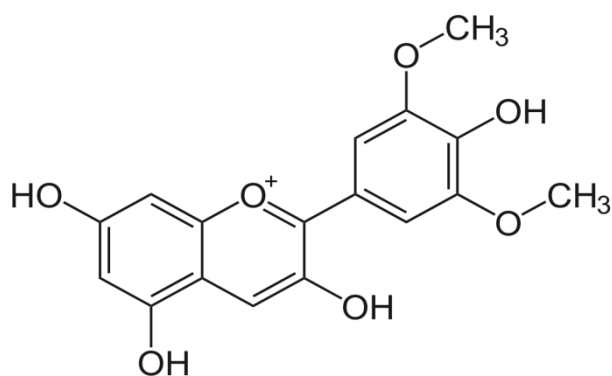
Petunidin ($C_{16}H_{13}O_7^+$) patří mezi základní anthokyanová barviva, která se přirozeně vyskytují ve vyšších rostlinách. Petunidin je tmavočervené nebo fialové ve vodě rozpustné barvivo, a jehož název je odvozen od petunií, rostlin u nichž byl poprvé tento pigment identifikován ve květech.



Obrázek č. 20 Strukturální vzorec petunidinu

Malvidin

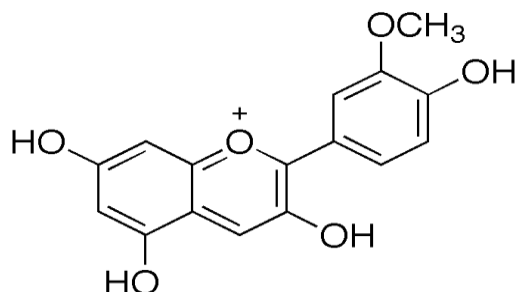
Malvidin ($C_{17}H_{15}O_7^+$) je nejhojněji zastoupeným pigmentem v hroznech révy vinné. Jeho obsah činí 50–90% všech anthokyanů zastoupených v hroznech. Malvidin byl objeven v roce 1959 Ribéreau–Gayonem jako hlavní anthokyanové barvivo v bobulích révy vinné (Pavloušek 2011).



Obrázek č. 21 Strukturální vzorec malvidinu

Peonidin

Peonidin ($C_{16}H_{13}O_6^+$) je purpurově červený pigment zastoupený ve vyšších rostlinách. Peonidin, stejně jako mnohé další anthokyany má silné inhibiční účinky na rakovinné buňky *in vitro*, zejména na lidské buňky rakoviny prsu (Kwon et al., 2007). V potravě je peonidin nejhojněji zastoupen v brusinkách, kdy je jeho obsah 42 mg v 100 g ovoce.

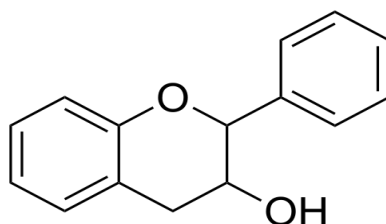


Obrázek č. 22 Strukturální vzorec peonidinu

Flavan-3-oly

Flavan-3-oly ($C_{15}H_{14}O_2$) a jejich polymery označované jako taniny (třísloviny) – proanthokyanidiny mají význam pro chuťové vlastnosti vína (Pavloušek, 2011). Skupina flavan-3-olů je součástí nejběžnějších potravin a mezi jejich typické vlastnosti, které potravinám dodávají, patří hořkost a svíravost. Flavan-3-oly, někdy také nazývané katechiny se nacházejí v semenech a jsou hořké (Harbertson, 2007), čímž způsobují hořkou chuť ve vínech. Flavan-3-oly rozlišujeme podle jejich struktury na dvě skupiny.

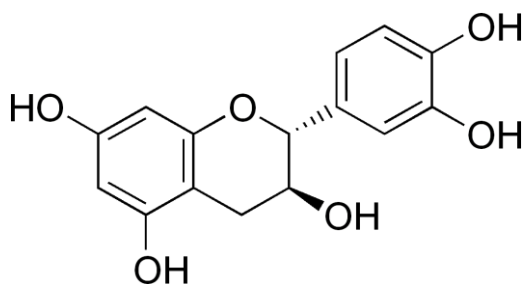
Skupina, která zahrnuje monomer 2,3-trans-(+)-katechin a jeho izomer 2,3-cis-(-)-epikatechin. Polymerací flavonových jednotek vznikají kondenzované taniny.



Obrázek č. 23 Strukturální vzorec flavan-3-olu

Katechin a epikatechin

Katechin (+) a epikatechin (-) ($C_{15}H_{14}O_6$), patří do skupiny flavan-3-olů, a jsou druhem přírodního fenolu a přírodní antioxidanty. Oba dva jsou přirozenou součástí vyšších rostlin a jejich výskyt v potravinách je velmi bohatý. Katechin je v potravinách zastoupen ve vysoké míře v zeleném čaji nebo broskvích. Katechin působí příznivě na cévní funkce lidského organismu, ale má pozitivní působení také v rostlinné říši, kde například katechin působí jako faktor inhibice infekce jahodníku (Yamamoto et al., 2000). V kakau můžeme nalézt katechin i epikatechin, v arganovém oleji jsou hlavními zástupci přírodních fenolů.



Obrázek č. 24 Strukturální vzorec katechinu

Taniny

Taniny jsou nejhojněji zastoupená skupina fenolických látek v hroznech a jsou převládajícími determinanty trpkosti v červených vínech (Adams et al., 1999). Rozlišujeme dvě skupiny taninů, první skupinou jsou nehydrolyzovatelné (kondenzované) taniny, ve druhé skupině jsou taniny hydrolyzovatelné.

Kondenzované taniny jsou přirozenou součástí hroznů a v průběhu vinifikace se extrahují do vína. Tyto taniny jsou polymery flavan-3-olů, základní strukturní jednotkou kondenzovaných taninů je (+)-katechin a (-)-epikatechin. Základními, ve víně se vyskytující se taniny jsou: (+)-katechin, (+)-gallokatechin, (-)-epikatechin, (-)-epigallokatechin a epikatechin-3-O-gallát (Pavloušek, 2010).

Hydrolyzovatelné taniny nejsou přirozenou součástí hroznů, jejich přítomnost ve víně je podmíněna přidáváním taninových přípravků do vína, nebo používáním dřevěných sudů a svůj původ mají v kyselině gallové a elagové. Hydrolyzovatelné taniny jsou získávány z různých druhů rostlin, např. kaštanové dřevo, nebo dubové dřevo, které je používáno k výrobě vinných sudů. Hydrolyzovatelné taniny vykazují antibakteriální účinky proti *Helicobacter pylori* (bakterie přítomná v žaludku) (Funatogawa et al., 2004).

V průběhu zrání hroznů dochází k polymerizaci flavan-3-olů a vzniku taninů (proanthokyanidinů). Chuťové vlastnosti vína významným způsobem ovlivňuje stupeň polymerizace. Taniny (třísloviny) významně ovlivňují kvalitu vína a také jsou často přidávány do vína při jeho výrobě. Přísady taninů a jejich dopad na víno zatím nejsou dostatečně prozkoumány, přesto je prokazatelné, že používání nadbytečného množství taninových přísad má pro víno negativní vliv na kvalitu (Harbertson et al., 2012).

4. Materiál a metodika

4.1 Design experimentu

V předloženém experimentu byl studován postupný vývoj tří druhů vína – bílé, červené a růžové. Víno bylo uskladněno v lahvích, které byly uzavřeny čtyřmi rozdílnými typy uzávěru na víno (přírodní korek, lepený korek, starý a nový skleněný uzávěr). Délka sledování experimentu byla dvanáct měsíců, po celou dobu experimentu bylo víno uskladněno v čirých lahvích při rozdílných teplotách, které činily 13 °C a 22 °C. Po ukončení, ale i v průběhu experimentu byl sledován a studován obsah významných antioxidantů. Cílem experimentu bylo ověřit výhody a nevýhody používání jak korkových zátek, tak také skleněných uzávěrů a z výsledků získaných z průběhu celého experimentu zjistit a vyhodnotit vliv použitého uzávěru na vývoj významných antioxidantů přítomných v lahvi vína.

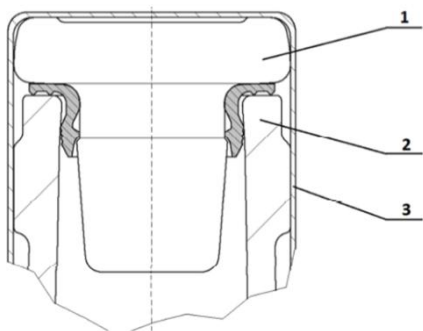
U lahví, které obsahovaly bílé a rosé víno byly použity dva typy skleněných uzávěrů (nový a starý Vino-lok), přírodní korek a lepený korek. Láhve s červeným vínem byly uzavřeny pouze jedním typem skleněné zátky (nový Vino-lok), přírodním korkem a lepeným korkem.

4.2 Biologické vzorky

Vína, která byla v experimentu testována, byla vína odrůd Pálava (bílá) a Frankovka (růžová a červená) ročníku 2012. Láhve, které obsahovaly bílé a růžové víno byly uzavřeny dvěma různými typy skleněných zátek (nový a starý Vino-lok), dále pak přírodním korkem a lepeným korkem. Láhve s červeným vínem byly uzavřeny pouze novým typem skleněných zátek, (Vino-lok), přírodním korkem a lepeným korkem.

4.3 Charakteristika vinných zátek

- a) Korková zátka - granulát 38 x 24 mm
- b) Celokorková zátka - 38 x 24 mm
- c) Skleněná zátka - Skleněná zátka VINOLOK je součástí systému, který tvoří láhev, skleněná zátka a fixační kapsle. Utěsnění zátky v lahvi zajišťuje těsnicí kroužek. Těsnění je zhotoveno z materiálu Elvax 550A + 2% Elvax CE 9619-1.

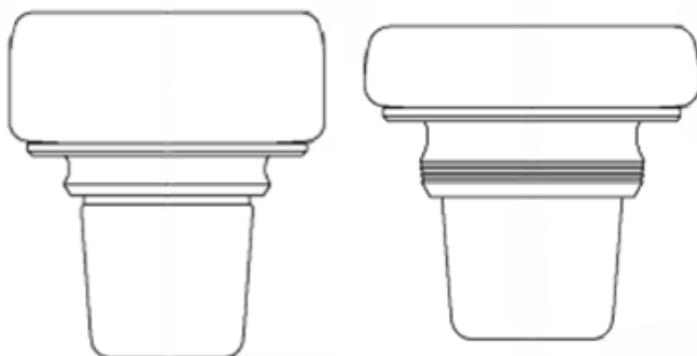


Obrázek 25: Znárodnění systému VINOLOK (1. zátka, 2. lahev, 3. fixační kapsle)

Pro experiment byly použity 2 typy skleněných uzávěrů a to HIGH TOP 18,2 Obr. 26 A) a novější verze HIGH TOP 18,5 Obr. 26 B).

A)

B)



Obrázek 26:A) Vinolok High Top 18,2 (VL-S (starý typ)), **26 B)** Vinolok High Top 18,5 (VL-N (nový typ))

4.4 Stanovení antioxidační aktivity

Příprava roztoku

Bylo naváženo $m = 9,35$ mg radikálu DPPH[•]. Toto množství bylo převedeno do 250 ml odměrné baňky a následně doplněno methanolem.

Spektrometrická analýza

Do kyvety (3 ml) bylo napipetováno 2000 μ l roztoku DPPH[•] a následně bylo přidáno 40 μ l vzorku. Směs byla inkubována za pokojové teploty po dobu 25 min a po této době byla změřena absorbance při 505 nm. Antioxidační aktivita byla vypočítána z kalibrační křivky za použití kyseliny gallové jako standardu (10-200 mg \cdot l⁻¹). Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové.

4.5 Stanovení celkových polyfenolických sloučenin

Pro stanovení celkových polyfenolických sloučenin byla použita Folin-Ciocalteova metoda (citace). Všechny vzorky byly proměřeny třikrát, výsledná hodnota byla získána jako průměr z těchto měření.

Vzorek o objemu 40 μ l byl napipetován do kyvety (3 ml) a zředěn 1960 μ l destilované vody. Následně bylo do kyvety přidáno 50 μ l Folin-ciocalteova činidla, směs byla pečlivě protřepána a po 3 minutách bylo přidáno 300 μ l 20% roztoku dekahydrátu NaCO₃. Reakční směs byla opět protřepána a inkubována při 22 °C po dobu 120 minut. Po této době byla změřena absorbance (SPECORD 210, Carl-Zeiss Jena, Germany) při $\lambda = 750$ nm proti slepému vzorku. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové.

4.6 Stanovení celkových flavanolů

Princip: Koncentrace celkových flavanolů byla stanovena pomocí metody založené na reakci s p-dimethylaminocinnamaldehydu (DMACA). Při této metodě na rozdíl od široce používané reakci s vanilinem nedochází k interferenci s anthokyaniny. Navíc poskytuje vyšší citlivost a selektivnost.

Přístroje a pomůcky: Automatický biochemický analyzátor MIURA ONE

Chemikálie a roztoky: 0,1% DMACA, 300 mM HCl v MeOH

Postup: K 240 μ l činidla (0,1% DMACA a 300 mM HCl v MeOH) bylo přidáno 10 μ l vzorku, doba reakce byla 600 sekund. Poté byla změřena absorbance při 620nm. Koncentrace celkových flavanolů byla stanovena na základě kalibrační křivky za použití epikatechinu jako standardu (10-200 mg.l⁻¹). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mg.l⁻¹ ekvivalentů katechinu. (Li, Y.-G et al., 1996)

4.7 Stanovení celkových anthokyanů

Přístroje a pomůcky: Automatický biochemický analyzátor MIURA ONE

Chemikálie a roztoky: Roztok 1,1 M HCl, roztok 0,1 M K₂S₂O₅ s 0,2 M kyselinou citronovou.

Postup: Měření bylo provedeno SO₂ metodou. Bylo použito diferenciální měření mezi dvěmi činidly. Objem vzorku 30 μ l, objem činidla 220 μ l. Činidlo 1 bylo 1,1 M HCl. Činidlo 2 bylo 0,1M K₂S₂O₅ s 0,2M kyselinou citronovou (SO₂). Po 600 sekundách inkubace byly změřeny absorbance při 520nm. (Somers et al., 1977, Zoecklein et al., 1990)

Výpočty: Celkové anthokyany (mg.l⁻¹) = 166,7 * [A(HCl)₅₂₀ - (5/3)*A(SO₂)₅₂₀]

5. Výsledky

Víno, jako přírodní produkt, je velmi bohaté na antioxidační komponenty, což potvrzují nemnohé vědecké studie. Proto také studium antioxidačních komponent u vína je v posledních letech velmi diskutovanou záležitostí, nicméně ve studiích je studován obsah, vliv a přínos antioxidantů ve víně vzhledem k lidskému zdraví. Studium obsahu antioxidačních komponent vlivem skladovací teploty a vlivem použitého uzávěru je v současnosti velmi řídké.

V předloženém experimentu byl po dobu dvanácti měsíců studován vývoj tří druhů vína. Víno bylo skladováno při dvou rozdílných teplotách 13 °C a 22 °C a uzavřeno rozdílnými typy uzávěru, skleněným a korkovým uzávěrem. Po celou dobu trvání experimentu byl sledován vývoj významných antioxidačních komponent. Antioxidační aktivita byla stanovena metodou DPPH.

5.1 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita je jednou z metod využívaných ke stanovení celkových antioxidačních komponent. Neexistuje jednoduchá a univerzální metoda, kterou by mohla být antioxidační aktivita posouzena správně a kvantitativně (Frankel et al., 2000).

5.1.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita byla měřena metodou DPPH, která je nejstarší a zároveň základní metodou (používá se od 50. let 20. století) a dodnes patří k nejvíce využívaným metodám ke stanovení antioxidační aktivity vzorků. Její podstatou je reakce testované látky se stabilním radikálem, kdy dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Metoda DPPH patří mezi jednoduché metody a je možné použít ji i u vzorků, které vykazují nízkou koncentraci aktivních látek. Je založena na neutralizaci radikálu DPPH[•] antioxidanty poskytující vodík (Fogliano et al., 1999).

DPPH[•] se v prostředí methanolu zabarvuje do fialova. Pokud jsou přítomné antioxidanty, dochází k odbarvení fialového zbarvení roztoku. Podmínkou je,

aby sledované vzorky měly neutrální pH a byly sledovány ve stejném čase. Ke změně reakce dochází vlivem pH a času. Jako standard se používá kyselina gallová (Sanchez-Moreno et al., 1999). Metoda DPPH je nejrozšířenější, jednoduchá, cenově nenáročná a dobře reprodukovatelná.

Výsledky byly přepočítány na standardní látku, kyselinu gallovou. Lze tedy říci, že daných antioxidačních komponent ve víně bylo tolik, jako ekvivalentní množství antioxidantu kyseliny gallové.

Legenda označování vzorků

Modře – uzávěr korkový

Červeně – uzávěr lepený korek

Zeleně – uzávěr vino-lok nový

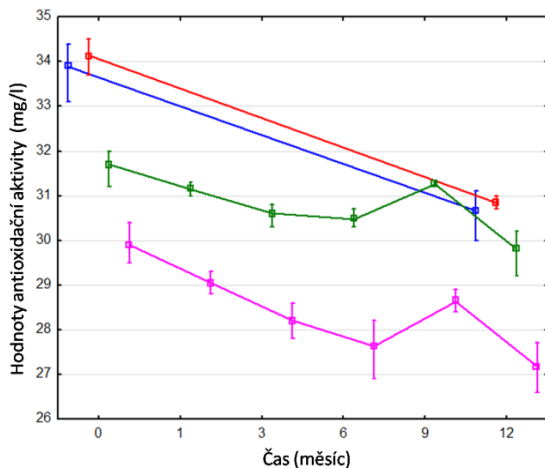
Růžově – uzávěr vino-lok starý

Bílé víno

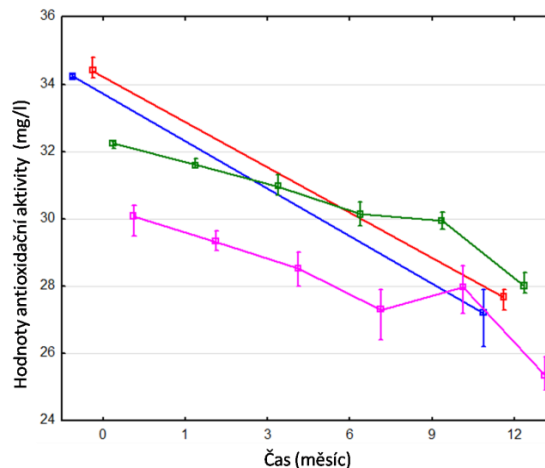
U lahví s bílým vínem byly v průběhu experimentu znatelné rozdíly antioxidační aktivity mezi lahvemi uzavřenými korkovými uzávěry a skleněnými uzávěry. U obou variant uskladnění byla antioxidační aktivita vína na začátku experimentu vyšší u lahví, které byly uzavřeny korkovými uzávěry. Průběh změny antioxidační aktivity byl lineárně klesající. V průběhu doby, kdy víno zrál pod korkovými uzávěry, docházelo ke snižování antioxidační aktivity z průměrných 34 mg/l na 30 mg/l. Vyšší pokles antioxidační aktivity (pod 30 mg/l) byl zaznamenán u vín, která byla uskladněná při teplotě 13 °C. Víno, které bylo uzavřené skleněnými zátkami, vykazovalo výrazně pokles, a to 2-3 mg/l kyseliny gallové.

Graf 1A, 1B : Stanovení antioxidační aktivity v bílém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C pomocí metody DPPH

A)



B)

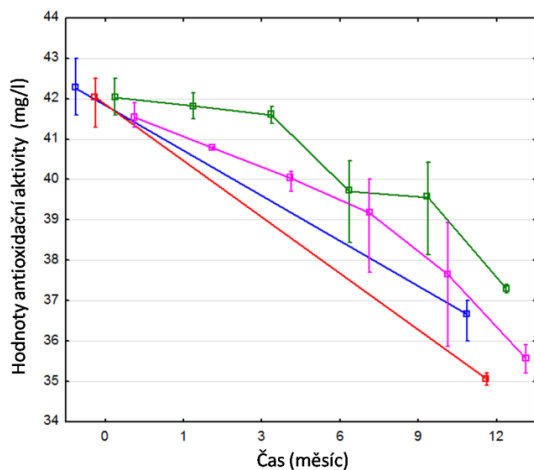


Růžové víno

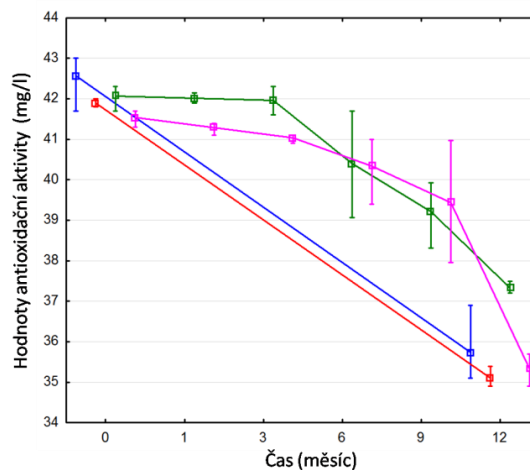
Na počátku experimentu vykazovalo růžové víno vyšší antioxidační aktivitu než víno bílé. Hodnoty na začátku experimentu se pohybovaly v průměru okolo 42 mg/l kyseliny gallové. I u růžového vína byl trend antioxidační aktivity klesající. Vína, která byla uzavřena korkovými uzávěry, měla průběh antioxidační aktivity v průběhu experimentu lineární, kdežto vína uzavřená skleněnými zátkami vykazovala vyšší výkyvy. Pokles antioxidační aktivity u vín uzavřených korkovými uzávěry činil v průměru 6 mg/l. Vyšší pokles vykazovala vína, která byla uskladněných při nižší teplotě. Nejnižší pokles antioxidační aktivity vykazovala vína uzavřená novými skleněnými zátkami.

Graf 2A, 2B : Stanovení antioxidační aktivity v růžovém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C pomocí metody DPPH

A)



B)

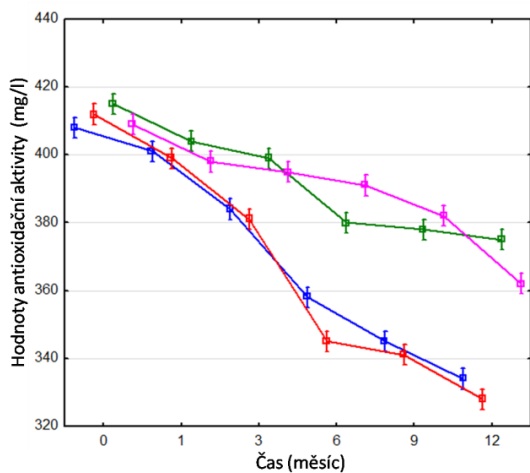


Červené víno

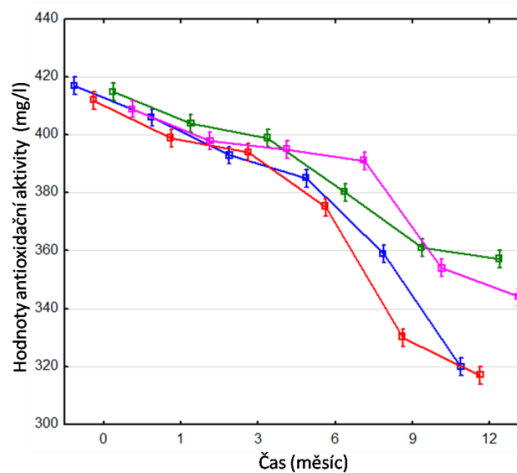
U červeného vína byl pohyb antioxidační aktivity ve výrazně vyšších hodnotách, než jak vykazovala vína bílá a růžová. Tento vyšší pohyb antioxidační aktivity je dán vyšším obsahem anthokyanových barviv, kterých obsahuje červené víno více. Hodnoty antioxidační aktivity se na počátku experimentu pohybovaly v průměru okolo 400 mg/l kyseliny gallové. Podobně jako tomu bylo u bílého a růžového vína byl také u červeného vína trend antioxidační aktivity klesající.

Graf 3A, 3B : Stanovení antioxidační aktivity v červeném víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C pomocí metody DPPH

A)



B)



Komentář

Antioxidační aktivita je schopnost látek, které omezují aktivní činnost volných kyslíkových radikálů. Platí přímá úměra, čím více antioxidačních sloučenin víno obsahuje, tak tím vyšší je i jeho antioxidační aktivita. Víno patří mezi materiály, ve kterém bez přestávky probíhají biochemické procesy, a současně s nimi se také neustále mění obsah těchto látek. Obsah těchto sloučenin je u bílého a růžového vína až 100 krát nižší než u vín červených. Lze tedy shrnout, že vyšší pokles antioxidační aktivity vykazovala vína, která byla uzavřena korkovými uzávěry.

5.2 Stanovení hydroxyskořicových kyselin

Legenda označování vzorků

Modře – uzávěr korkový

Červeně – uzávěr lepený korek

Zeleně – uzávěr vino-lok nový

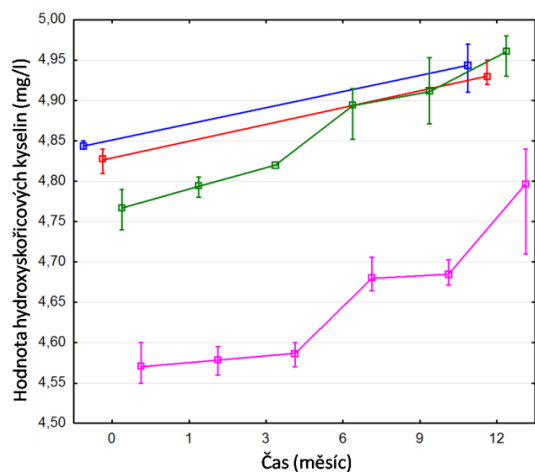
Růžově – uzávěr vino-lok starý

Bílé víno

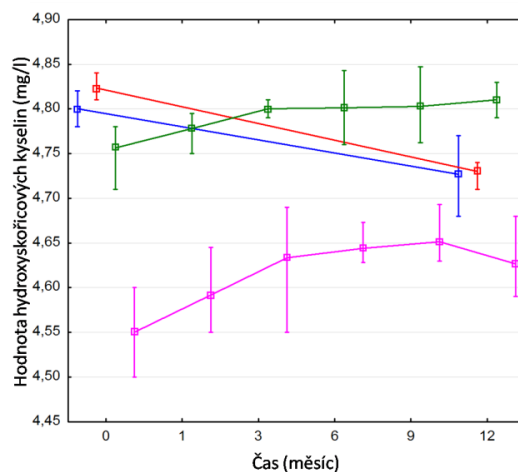
U bílého vína lahve, které byly uskladněny při teplotě 22 °C, vykazovaly stoupající trend obsahu hydroxyskořicových kyselin. Opakem byly lahve uskladněné při teplotě 13 °C, u kterých obsah hydroxyskořicových kyselin mírně poklesl. Také byl výrazný vliv teploty na obsah těchto sloučenin. Víno, které bylo uskladněno při vyšší teplotě, průměrně vykazovalo vyšší obsah hydroxyskořicových kyselin. Nejvyšší obsah hydroxyskořicových kyselin vykazovalo víno uzavřené novými skleněnými zátkami.

Graf 4A, 4B: Stanovení hydroxyskořicových kyselin v bílém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

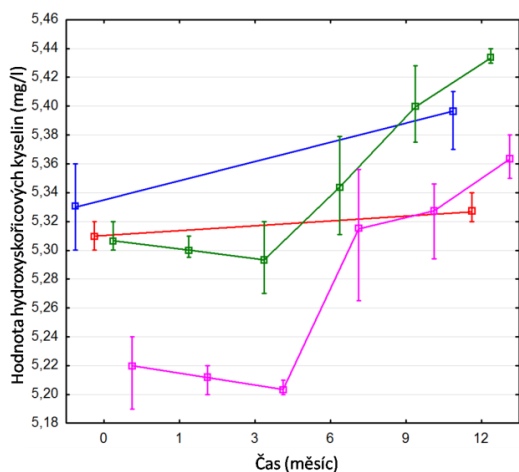


Růžové víno

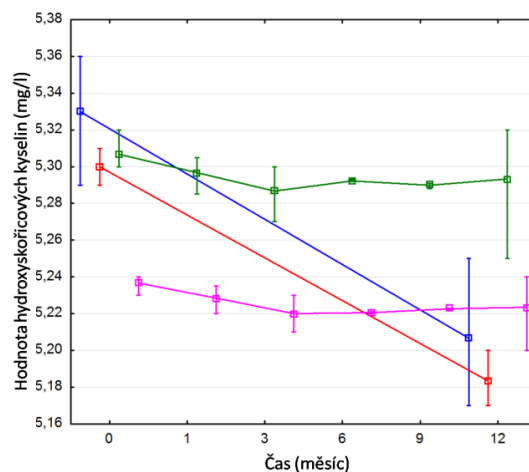
Obsah hydroxyskořicových kyselin měl u růžového vína také pozorovatelný stoupající trend u vín, která byla uskladněná při vyšší teplotě. Vína uskladněná při nižší teplotě vykazovala snížení obsahu hydroxyskořicových kyselin. Víno, které bylo uzavřené novými skleněnými uzávěry a uskladněné při teplotě 22 °C vykazovalo nejvyšších hydroxyskořicových kyselin.

Graf 5A, 5B: Stanovení hydroxyskořicových kyselin v růžovém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

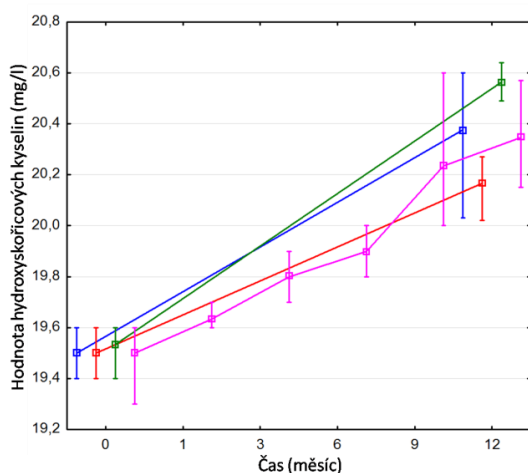


Červené víno

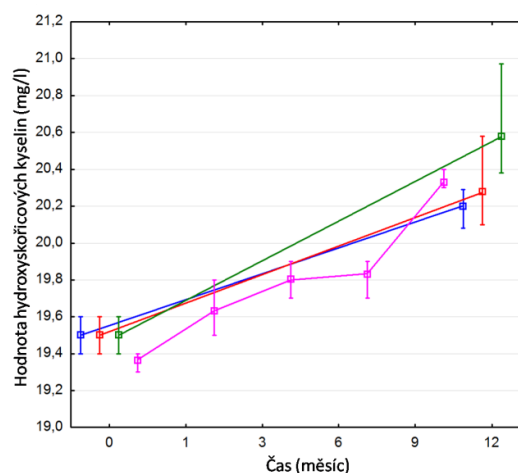
V porovnání bílého, růžového a červeného vína vyšší obsah hydroxyskořicových kyselin vykazovalo červené víno. Vývoj hydroxyskořicových kyselin byl stoupající se zvyšující se teplotou.

Graf 6A, 6B: Stanovení hydroxyskořicových kyselin v červeném víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)



Komentář

V provedeném experimentu měli teplota, tak také typ použité zátky vliv na obsah hydroxyskořicových kyselin ve vínech. Obecně lze konstatovat, že obsah hydroxyskořicových kyselin roste se zvyšující se teplotou uskladnění. Lahve uzavřené skleněnými uzávěry a uskladněné při teplotě 22 °C vykazovaly nejvyšší obsah hydroxyskořicových kyselin.

5.3 Stanovení obsahu celkových fenolických sloučenin

Legenda označování vzorků

Modře – uzávěr korkový

Červeně – uzávěr lepený korek

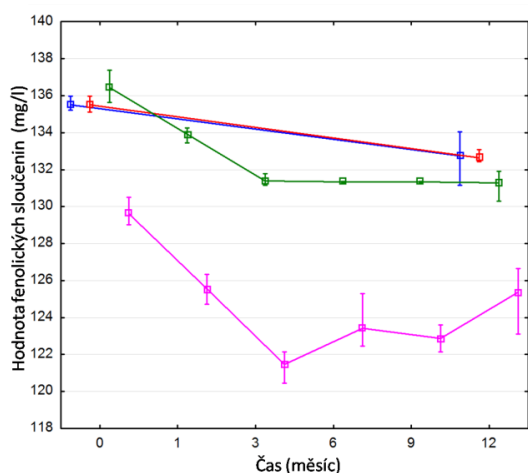
Zeleně – uzávěr vino-lok nový

Bílé víno

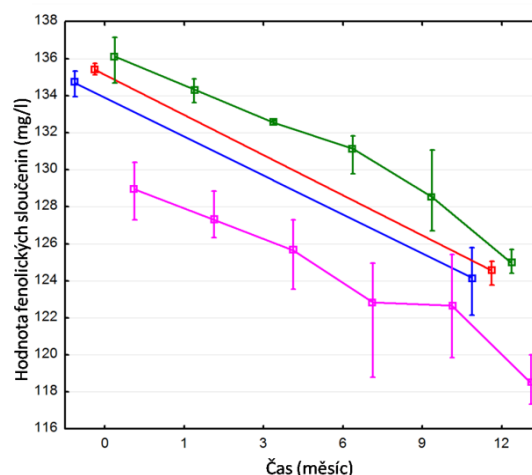
Bílé víno vykazovalo klesající trend fenolických látek. Obsah těchto látek byl ovlivněn teplotou, vína, která byla uskladněna při nižší teplotě, vykazovala vyšší pokles fenolických látek než vína, která byla uskladněna při teplotě 22 °C. Na počátku experimentu měla nejvyšší obsah fenolických sloučenin bílá vína uzavřená novým typem skleněného uzávěru, tato vína měla také na konci experimentu nejmenší úbytek fenolických látek.

Graf 7A, 7B: Stanovení obsahu fenolických sloučenin v bílém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

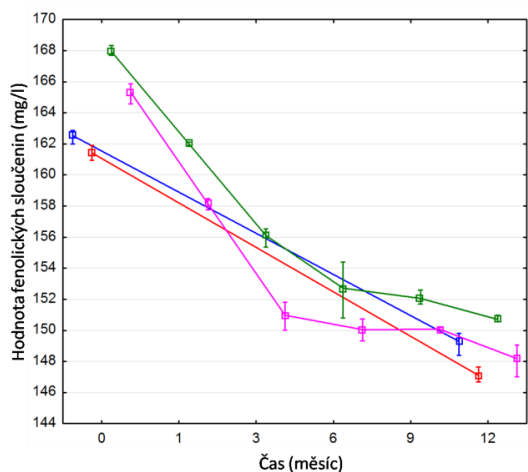


Růžové víno

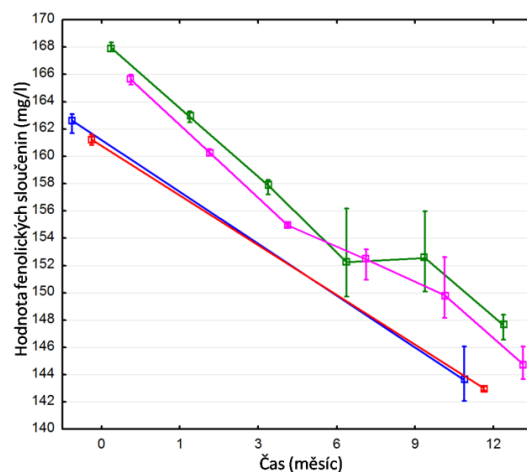
Na počátku experimentu vykazovala růžová vína vyšší obsah fenolických kyselin (průměrně 170 mg/l), než vína bílá (průměrně 136 mg/l). V průběhu zrání vína bylo možné pozorovat pokles fenolických sloučenin, na který neměla u růžových vín tak výrazný vliv teplota, tak jako tomu bylo u bílých vín.

Graf 8A, 8B: Stanovení obsahu celkových fenolických sloučenin v růžovém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

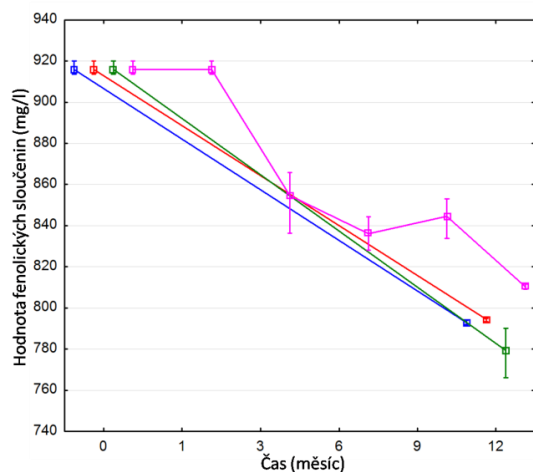


Červené víno

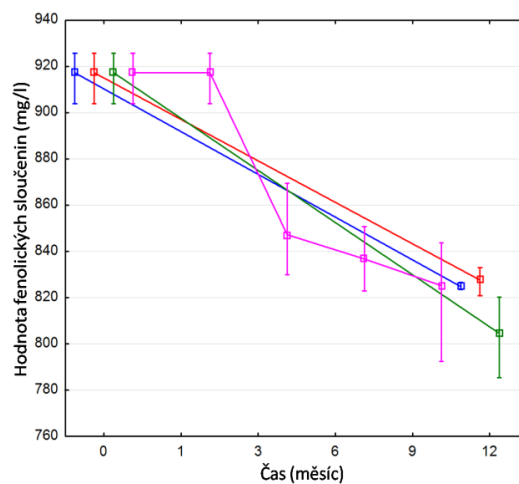
Obsah fenolických sloučenin je obecně u červených vín vyšší než u vín bílých a růžových. Tento rozdíl je dán rozličným složením látek, které jsou přítomné u vína. Obsah fenolických látek v červeném víně se na počátku experimentu pohyboval v průměru okolo 900 mg/l. Tento obsah fenolických látek je až 8 krát vyšší než u vín bílých a růžových. V průběhu experimentu zrání vína v láhvi došlo také u červených vín k poklesu fenolických látek.

Graf 9A, 9B: Stanovení obsahu celkových fenolických sloučenin v červeném víně uskladněné při A) 2 °C, B) 13 °C

A)



B)



Komentář

Fenolické sloučeniny patří mezi významné složky vína. Obsah těchto látek je rozlišný u červených a bílých vín. Více těchto látek obsahují vína červená oproti vínům bílým a růžovým. Obsah fenolických látek měl u všech sledovaných typů vína v průběhu skladování klesající trend, přičemž teplota uskladnění neměla závažný vliv na obsah těchto látek u žádné varianty.

5.4 Stanovení obsahu flavonoidů

Legenda označování vzorků

Modře – uzávěr korkový

Červeně – uzávěr lepený korek

Zeleně – uzávěr vino-lok nový

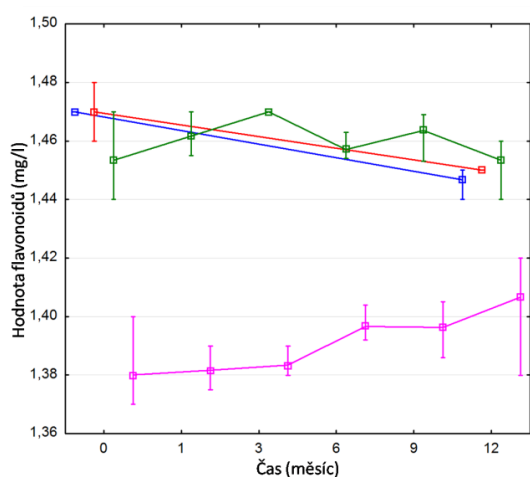
Růžově – uzávěr vino-lok starý

Bílé víno

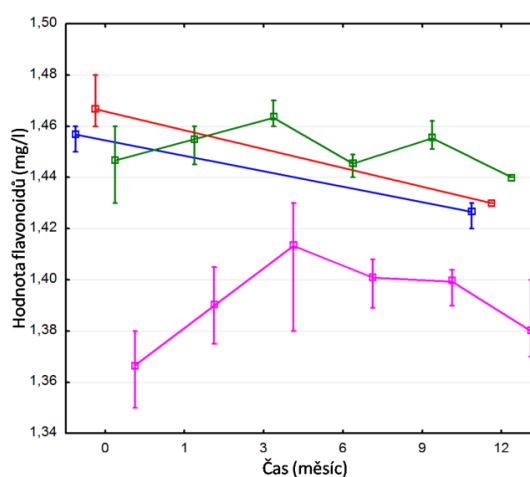
Zvolený typ uzávěru se projevil na obsahu flavonoidů v bílém víně. Víno, které bylo uzavřené korkovými uzávěry, vykazovalo pokles těchto sloučenin, oproti vínu, které bylo uzavřené skleněnými zátkami, kdy bylo zaznamenáno mírné navýšení těchto látek. V bílých vínech neměla teplota vliv na obsah flavonoidů.

Graf 10A, 10B: Stanovení obsahu flavonoidů v bílém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

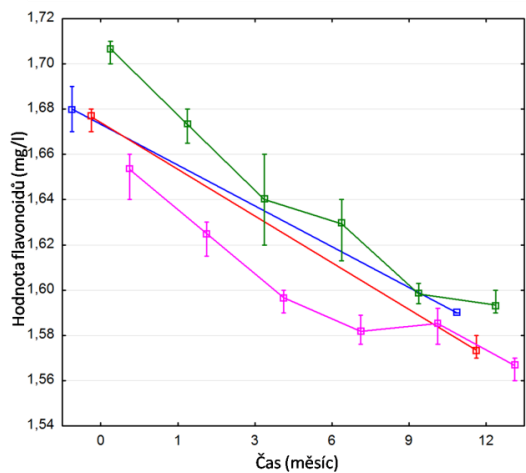


Růžové víno

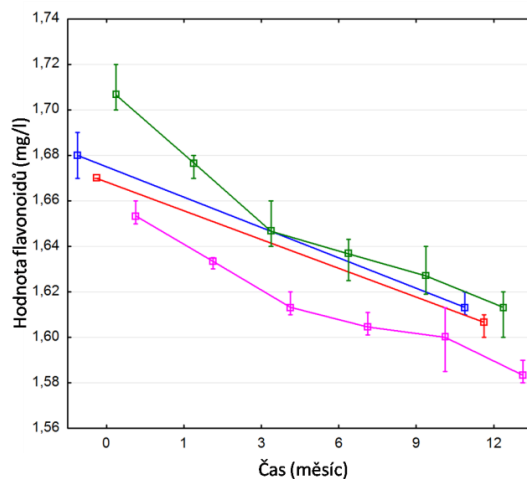
V růžových vínech měl obsah flavonoidů u všech variant klesající trend. Ani u jedné varianty nebyl znatelný vliv teploty na uskladnění vína.

Graf 11A, 11B: Stanovení obsahu flavonoidů v růžovém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

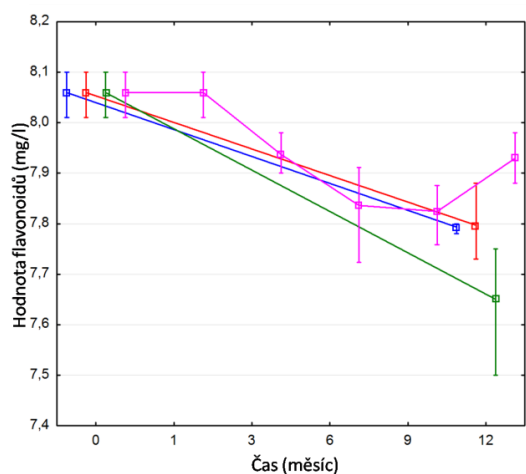


Červené víno

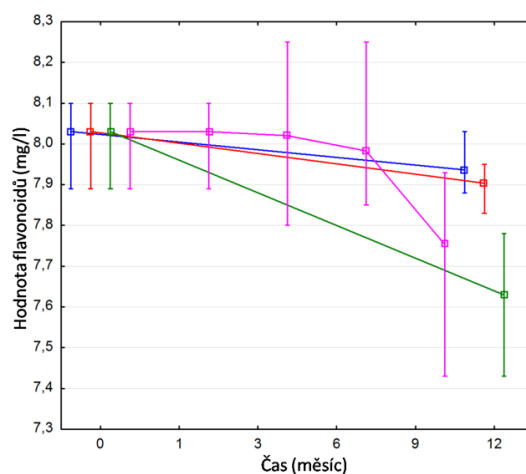
Obsah flavonoidů v červeném víně byl až 7 krát vyšší než ve víně bílém a růžovém. V průběhu zrání vína v lahvi došlo také ke snížení obsahu těchto látek, přičemž teplota skladování na obsah flavonoidů ve víně neměla výrazný vliv.

Graf 12A, 12B: Stanovení obsahu flavonoidů v červeném víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)



Komentář

V průběhu experimentu byl u všech variant pozorován pokles flavonoidů. Tento pokles, ale nebyl výrazně ovlivněn ani zvoleným typem uzávěru ani zvolenou teplotou skladování vína.

5.5 Stanovení obsahu flavanolů (katechinů)

Legenda označování vzorků

Modře – uzávěr korkový

Červeně – uzávěr lepený korek

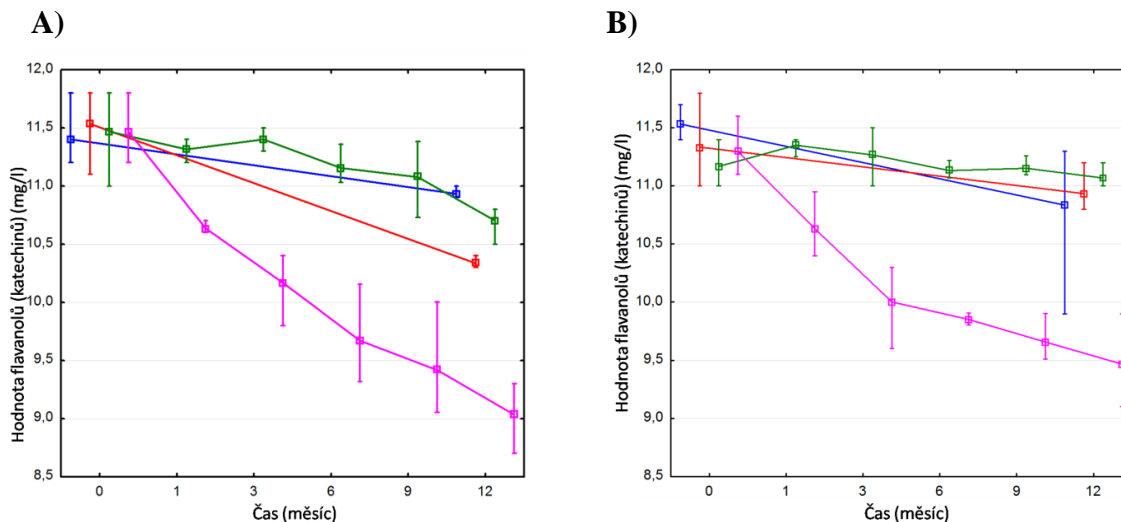
Zeleně – uzávěr vino-lok nový

Růžově – uzávěr vino-lok starý

Bílé víno

U bílého vína byl po celou dobu zrání znatelný pokles katechinů, který se projevil u všech variant. Nejnižší hodnotu katechinů vykazovaly lahve, které byly uzavřeny starými skleněnými uzávěry, tato hodnota činila 9 mg/l. Vliv teploty na uskladněné lahve nebyl významný pro konečný obsah flavanolů ve víně.

Graf 13A, 13B: Stanovení obsahu flavanolů (katechinů) v bílém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

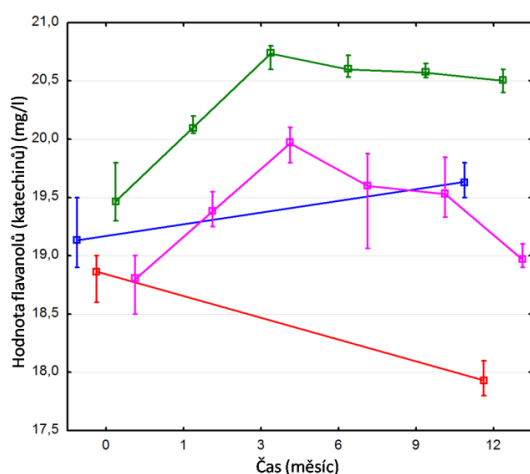


Růžové víno

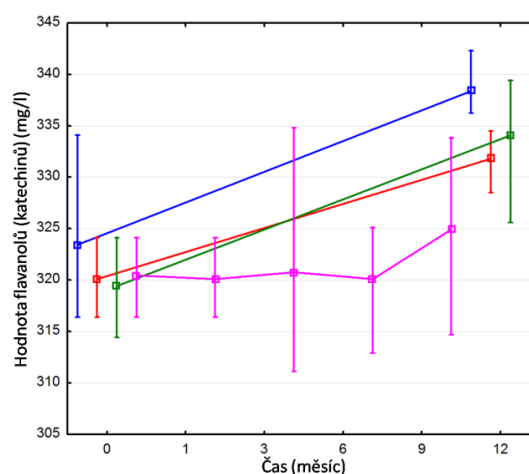
U růžových vín byl znát obsah flavanolů, který se odlišoval nejen typem uzávěru, ale také vlivem skladování při různé teplotě. Vína, která byla uzavřena a zrála pod skleněnými typy zátek, vykazovala stoupající tendenci flavanolů. Vína, která zrála pod korkovými typy uzávěrů, měla klesající tendenci těchto sloučenin. Vína uzavřená lepeným korkem vykazovala nejnižší obsah flavanolů, naopak vína uzavřená novým skleněným uzávěrem vykazovala nejvyšší obsah flavanolů.

Graf 14A, 14B: Stanovení obsahu flavanolů (katechinů) v růžovém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

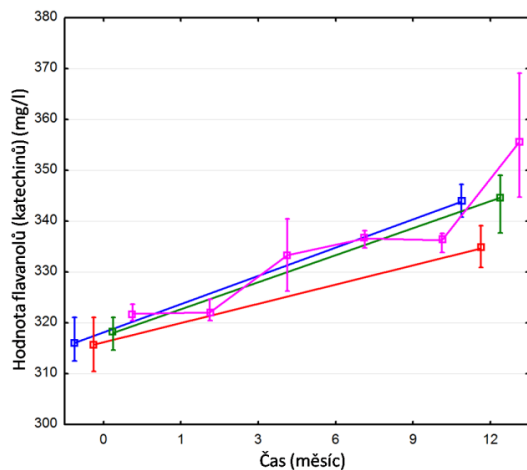


Červené víno

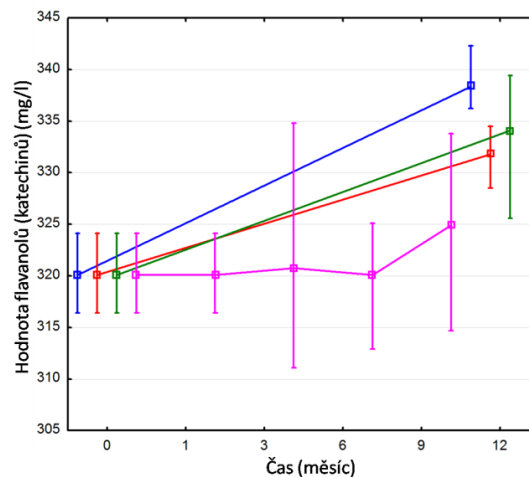
Obsah flavanolů byl u červených vín 300 krát vyšší než u vín bílých a růžových. Lze tedy obecně říci, že flavanoly u červených vín měly stoupající trend. Vliv teploty na obsah těchto sloučenin byl nevýznamný.

Graf 15A, 15B: Stanovení obsahu flavanolů (katechinů) v červeném víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)



Komentář

Obsah flavanolů byl rozdílný a lišil se dle typu vína. Bílá vína vykázala pokles flavanolů, naopak obsah flavanolů v červených vínech vykázal stoupající trend. Teplota, při které byly lahve uskladněny, neměla významný vliv na obsah flavanolů přítomných ve víně.

5.6 Stanovení obsahu anthokyanů

Legenda označování vzorků

Modře – uzávěr korkový

Červeně – uzávěr lepený korek

Zeleně – uzávěr vino-lok nový

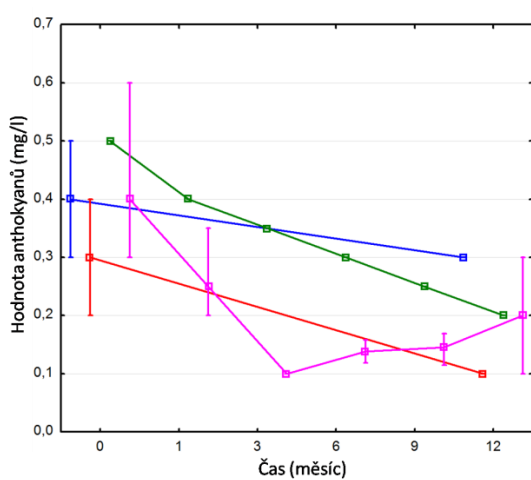
Růžově – uzávěr vino-lok starý

Bílé víno

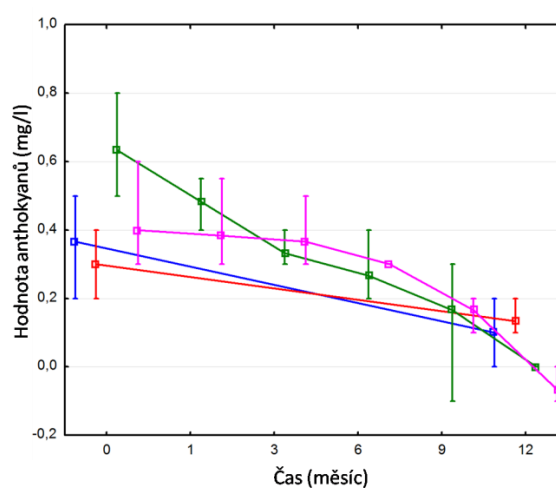
U bílého vína po celou dobu uskladnění vykázal obsah anthokyanů pokles, který byl patrný u všech variant. Nejvyšší pokles anthokyanů byl zaznamenán u lahví, které byly uzavřeny starým skleněným uzávěrem. Vliv teploty uskladnění bílých vín neměl výrazný vliv na obsah anthokyanů.

Graf 16A, 16B: Stanovení obsahu anthokyanů v bílém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

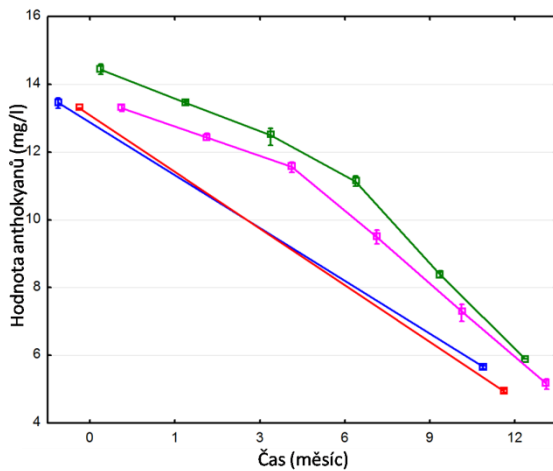


Růžové víno

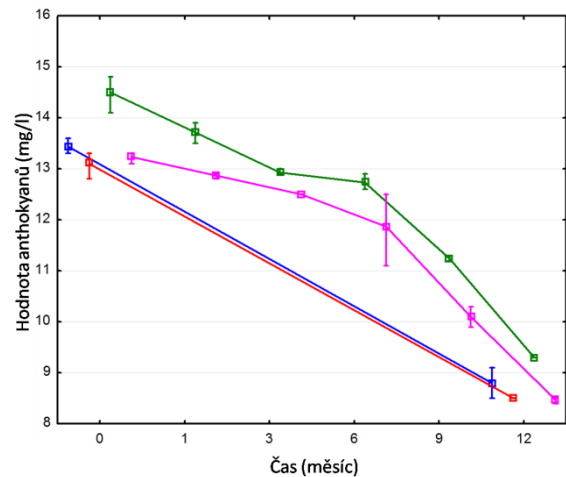
Také u růžových vín byl pozorován pokles anthokyanů v průběhu experimentu. Obsah anthokyanů u růžových vín je rozlišný v porovnání s bílými víny, což je dáno odlišnou technologií. Použité rozdílné typy uzávěrů neměly výrazný vliv na obsah anthokyanů, naopak byl pozorován vliv teploty skladování. Vína skladovaná při vyšší teplotě vykázala vyšší pokles anthokyanů než vína, skladovaná při nižší teplotě. U růžových vín má teplota uskladnění velký vliv na obsah a stabilitu barviv.

Graf 17A, 17B: Stanovení obsahu anthokyanů v růžovém víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)

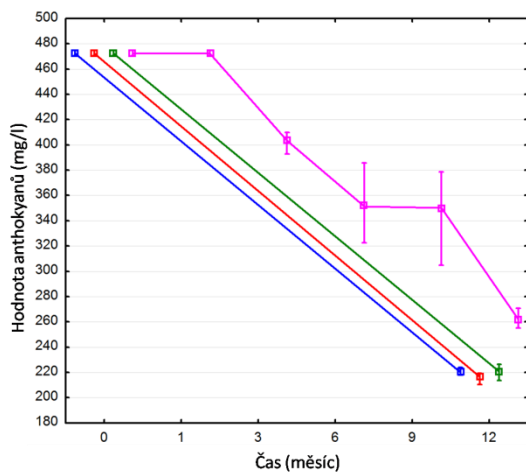


Červené víno

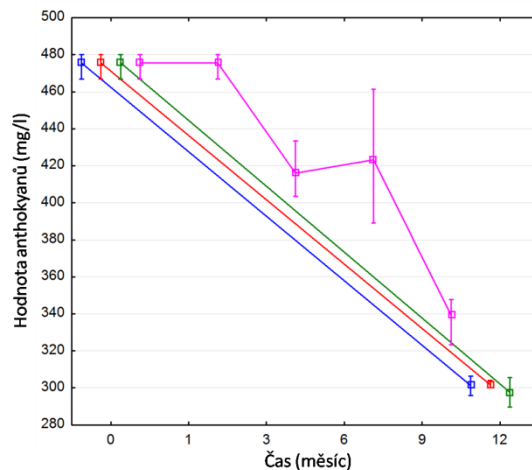
Obsah anthokyanů u červeného vína je až 500 vyšší než jejich obsah u bílých a červených vín. Toto je dáno obsahem anthokyanových barviv, které se nachází především ve slupce. V průběhu experimentu byl zaznamenán pokles anthokyanů u červeného vína.

Graf 18A, 18B: Stanovení obsahu anthokyanů v červeném víně uskladněné při A) 22 °C, B) 13 °C

A)



B)



Z

Komentář

Anthokyaniny jsou významným antioxidantem ve víně, jejich obsah je výrazný především v červeném víně. Po dobu uskladnění bylo zaznamenáno snížení obsahu anthokyaninových barviv, a to u všech pozorovaných variant. Použitý uzávěr neměl výrazný vliv na obsah těchto látek. U bílých vín nebyl pozorován znatelný vliv teploty na stabilitu barviv, naopak vína růžová a červená vykazala citelný rozdíl. Vína, která zrála při vyšší teplotě, vykazala větší úbytek anthokyaninů než vína, která byla uskladněna při sklepní teplotě.

5.7 Komentář k výsledkům experimentu

V experimentu byly studovány tři různé typy vína Pálava (bílé) a Frankovka (růžové a červené), všechny vzorky byly stejného ročníku 2012. Vína byla uskladněna v čirých lahvích po období 12 měsíců při dvou rozdílných teplotách, a sice 13 °C a 22 °C. Vzorky bílého a růžového vína byly uzavřeny dvěma typy skleněných zátek (starý a nový typ), přírodním korkem a lepeným korkem, vzorek červeného vína byl uzavřen novým typem skleněného uzávěru, přírodním a lepeným korkem.

V průběhu experimentu byly studovány významné antioxidanty přítomné ve víně. Předmětem studia byla antioxidační aktivita, hydroxyskořicové kyseliny, stanovení obsahu celkových fenolických látek, obsah flavonoidů, flavanolů (katechinů) a obsah anthokyanů. Každá lahev vína byla testována na obsah těchto antioxidačních látek jak v průběhu experimentu, tak také po ukončení experimentu.

Antioxidační aktivita vykazovala u bílého vína v průběhu experimentu výrazné rozdíly mezi lahvemi uzavřenými korkovými uzávěry a skleněnými uzávěry. Na počátku experimentu byla antioxidační aktivita vyšší u lahví uzavřených korkovými uzávěry. Pokles antioxidační aktivity byl lineární. V průběhu zrání docházelo ke snižování antioxidační aktivity, vyšší pokles byl zaznamenán u lahví uskladněných při 13 °C. Růžové víno na počátku experimentu vykazovalo vyšší antioxidační aktivitu oproti bílému vínu a v průběhu experimentu došlo k poklesu antioxidační aktivity. Vína uzavřená korkovými uzávěry, měla pokles antioxidační aktivity lineární, vína uzavřená skleněnými uzávěry vykazovala vyšší výkyvy. Vyšší pokles vykazovala vína uskladněná při nižší teplotě. Nejnižší pokles byl u lahví uzavřených skleněnými zátkami. U červeného vína byl zaznamenán vyšší pohyb antioxidační aktivity, což je dáno vyšším obsahem anthokyanových barviv. Také u červeného vína byl zaznamenán pokles antioxidační aktivity. U antioxidační aktivity platí přímá úměra, čím více antioxidačních sloučenin víno obsahuje, tím je jeho antioxidační aktivita vyšší. U bílého a červeného vína je obsah antioxidačních komponent výrazně nižší než u vína červeného. Vyšší pokles antioxidační aktivity byl zaznamenán u vín uzavřených korkovými uzávěry.

Hydroxyskořicové kyseliny u bílého vína uskladněného při 22 °C vykazovaly stoupající trend oproti lahvím uskladněným při 13 °C, kde byl zaznamenán naopak pokles. Nejvyšší obsah hydroxyskořicových kyselin vykazalo víno uzavřené skleněnými zátkami. Podobný stoupající trend v obsahu hydroxyskořicových kyselin vykazala

také růžová vína, přičemž nejvýše hydroxyskořicových kyselin vykazalo víno uskladněné při teplotě 22 °C a uzavřené skleněným uzávěrem. U červeného vína měl vývoj hydroxyskořicových kyselin stoupající ráz se zvyšující se teplotou. Lze konstatovat, že nejvyšší obsah hydroxyskořicových kyselin vykazovaly lahve uzavřené skleněnými uzávěry uskladněné při teplotě 22 °C.

Celkový obsah fenolických sloučenin v bílém víně byl významně ovlivněn teplotou skladování. Vína uskladněná při nižší teplotě vykazala vyšší pokles fenolických sloučenin, přičemž nejmenší pokles byl zaznamenán u lahví uzavřených novým typem skleněného uzávěru. Růžová vína na počátku experimentu vykazovala vyšší obsah fenolických látek než vína bílá a v průběhu experimentu došlo k jejich poklesu. Oproti bílým vínům nebyl zaznamenán vliv teploty. Také u červeného vína byl zaznamenán klesající trend fenolických sloučenin. Závěrem lze tedy shrnout, že všechna vína měla v průběhu sledování pokles obsahu fenolických látek, nicméně teplota uskladnění na tento jev neměla vliv.

Obsah flavonoidů v bílém víně již byl ovlivněn zvoleným typem uzávěru. Víno uzavřené korkovými uzávěry vykazovalo pokles těchto látek, naopak víno uzavřené skleněnými zátkami vykazovalo navýšení těchto látek. Teplota u bílých vín neměla vliv na obsah flavonoidů. U růžových a červených vín měl obsah flavonoidů klesající trend, přičemž nebyl prokázán vliv teploty.

Obsah flavanolů v bílém víně vykazoval po celou dobu znatelný pokles a to u všech sledovaných variant. Nejnižší hodnotu katechinů vykazala vína uzavřená starým skleněným uzávěrem. Vliv teploty na obsah katechinů v bílém víně nebyl významný. U růžových vín byl zaznamenán jak vliv použitého uzávěru, tak také teplota skladování. Vína uzavřená korkovými uzávěry měla pokles těchto sloučenin, naopak vína uzavřená skleněnými typy uzávěrů vykazala stoupající trend těchto látek. U červených vín byl zaznamenán stoupající obsah flavanolů bez vlivu teploty.

Obsah anthokyanů vykazal u všech sledovaných vzorků pokles. U bílého vína byl nejvyšší pokles zaznamenán u lahví uzavřených starým skleněným uzávěrem, přičemž vliv teploty nebyl u bílých vín patrný. Oproti tomu u růžových a červených vín měla teplota výrazný vliv na obsah anthokyanů, nikoli však uzávěr. Vína uskladněná při vyšší teplotě vykazala vyšší pokles anthokyanů než vína uskladněná při nižší teplotě.

6. Diskuze

Studiu antioxidantních komponent je v posledních letech věnována zvýšená pozornost a to nejen z řad odborníků, ale také mezi laickou veřejností je zvýšený zájem o výsledky těchto studií. Vědci se zabývají studiem jednotlivých antioxidantních komponent obsažených ve víně a jejich pozitivními účinky na lidské zdraví. Mnoho vědeckých studií se také zabývá studiem teploty a použitého uzávěru a jejich vlivu na zrání vína. V diskuzi jsou uvedeny vědecké práce, které studovaly obsah antioxidantních komponent ve víně.

Vliv různých typů zátek na zrání bílého vína odrůdy Ryzlink a Chardonnay po dobu pěti let zkoumal Skouroumounis et al. (Skouroumounis et al., 2005). Vína, která byla podrobena experimentu, byla uzavřena korkovou zátkou, šroubovacím uzávěrem a syntetickou zátkou a uložena do vertikální, ale také do horizontální polohy. Po ukončení experimentu, byla vína podrobena sensorické analýze a jako nejlepší zátka byl vyhodnocen šroubovací uzávěr. Vína, uzavřená šroubovacím uzávěrem, vykazala nejlepší uchování kvality. Naopak vína uzavřená syntetickým uzávěrem byla po sensorické stránce vyhodnocena jako nejhorší.

Han et al. (Han et al., 2015) zkoumali vliv uzávěru lahve odrůdy Cabernet Sauvignon 2007 za použití různých typů syntetického uzávěru. Do vína nebyl v průběhu celého experimentu přidán přípravek PVPP (látka, která má vysoký adsorpční účinek jak jednoduchých polyfenolů, tak i taninů) ani použito mikro-okysličení. U bílých vín způsobuje snížení intenzity žlutých odstínů, u červených vín způsobuje redukci barvy. Fenolické látky byly zkoumány pomocí kapalínové chromatografie, na základě jejichž výsledů bylo vyhodnoceno, že typ uzávěru ovlivňuje fenolické látky, převážně quercetin.

Hopfer et al. (Hopfer et al., 2013) se zabývali studiem vlivu teploty, skladování a balení na smyslové, chemické a fyzikální vlastnosti odrůdy Cabernet Sauvignon. Víno, pocházející z Kalifornie, bylo skladováno po dobu šesti měsíců při třech různých konstantních teplotách. Skleněné lahve byly uzavřeny přírodním korkovým uzávěrem, syntetickým uzávěrem a šroubovacím uzávěrem. Sensorickým hodnocením byly prokázány výrazné změny ve vůni, chuti a barvě. Také použitím testu na obsah polyfenolických sloučenin byly zjištěny patrné změny. Výsledkem experimentu dospěli k závěru, že změny byly výrazné při různých teplotách uskladnění. Se zvyšující teplotou uskladnění se projevoval výraznější rozdíl. Závěrečné výsledky experimentu prokázaly,

že čím je vyšší teplota skladování, dochází ke ztrátě anthokyanů a snížení koncentrace celkových polyfenolických sloučenin, zatímco celkové třísloviny, stupeň ionizovaných anthokyanů a hustota barvy se zvyšují.

Del Caro et al. (Del Caro et al., 2014) ve svém výzkumu zkoumali vliv skladování lahví na barvu, fenolické a těkavé látky odrůd Malvasia a muškátových odrůd vypěstovaných na Sardinii. Barva byla hodnocena UV-VIS spektrofotometrickou metodou, polyfenoly byly analyzovány pomocí spektrofotometrické metody UV-VIS a technikou HPCL-DAD. Po osmnácti měsících skladování byly vyhodnoceny výsledky experimentu. Barva byla intenzivnější u muškátových odrůd. Významné snížení celkových polyfenolických sloučenin bylo pozorováno u odrůdy Malvasia.

Arapitsas et al. (Arapitsas et al., 2014b) zkoumali vliv skladování na „chemický věk“ červených ví. Vína byla uložena po dobu dvou let do dvou různých teplotních podmínek – sklep a dům a analyzována každých šest měsíců. Výsledky prokázaly, že podmínky a doba skladování mají značný vliv na kvalitu vína. Vína, která byla uložena ve sklepě, vykazovala jen minimální změny a to i po dvou letech skladování. Vína uložena při pokojové teplotě vykazovala čtyřikrát rychlejší změnu ve složení, tzn. podobné složení po šesti měsících skladování jako víno uskladněné ve sklepě po dobu dvou let. Víno uskladněné při pokojové teplotě vykazovalo zrychlený pokles anthokyanů.

Avizcuri et al. (Avizcuri et al., 2016) se zabývali experimentem, ve kterém zkoumali změnu barvy a obsahu polyfenolů v průběhu skladování. Šestnáct komerčních červených vín bylo skladováno při teplotě 25 °C po dobu šesti měsíců. Změna barvy a obsahu anthokyanidů, byla vyhodnocena pomocí propustnosti spektra. Výsledky prokázaly obecné pravidlo ve vývoji vín. Vína s vyšším obsahem polyfenolů měla pomalejší vývoj, zatímco vína s nižším obsahem polyfenolů vykazovala rychlejší vývoj a větší variabilitu.

Fernandez et al. (Fernandez et al., 2012) ve své studii hodnotili antioxidační aktivitu a celkové polyfenolické sloučeniny v červeném, bílém a růžovém víně po třech měsících skladování metodou zhášení radikálového kationtu ABTS+ (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát) a UV-viditelné spektrofotometrické metody. Výsledky na obsah antioxidační aktivity a fenolických sloučenin ve víně byly v pořadí: červené > růžové > bílé. Po třech měsících skladování byl vyšší celkový obsah polyfenolů i antioxidační aktivita.

Marquez et al. (Marquez et al., 2014) se zabývali výzkumem vlivu doby skladování lahví na barvu, fenolické složení a sensorické vlastnosti sladkých červených vín. Experimentu byly podrobeny sladká červená vína odrůd Merlot, Syrah a Tempranillo, které byly uskladněny po dobu dvanácti měsíců. Pro účely experimentu byly měřeny barevné parametry vína, koncentrace anthokyanů, flavan-3-olů a flavonolů. Víno bylo podrobena také sensorickému hodnocení. Po dobu skladování došlo ke snížení odstínu červené barvy, a to zejména v prvních třech měsících. Koncentrace nízkomolekulárních flavan-3-olů se časem snižuje v důsledku účinku jejich přeměnou na taniny s vysokou molekulovou hmotností. Glykosylované flavonoly byly sníženy hydrolyzou na aglykony. Výsledky experimentu prokázaly, že koncentrace fenolických sloučenin se v průběhu skladování výrazně snížila, zatímco antioxidační aktivita zůstala po celou dobu experimentu konstantní.

Mattivi et al. (Mattivi et al., 2015) se zabývali studiem vlivu skladovacích podmínek na složení červených vín. Červené víno zrál po dobu dvou let při dvou různých teplotách skladování – sklep a domácí podmínky. Výsledky vícerozměrné analýzy jasně prokázaly, že víno uložené ve sklepě se změnilo jen málo a to i po dvou letech skladování, zatímco víno uskladněné v domácích podmínkách se měnilo 3-4 krát rychleji. Stárnutí vína v domácích podmínkách mělo zrychlený pokles anthokyanů. Výsledek experimentu prokázal, že je důležitá znalost vlivu teploty na chemické složení vína. Nevhodné skladování pravděpodobně zkracuje životnost a kvalitu vína.

Mekinic et al. (Mekinic et al., 2016) zkoumali anthokyanidiny u původních dalmatských červených vín odrůd Babica, Ljutun, Crljenak a kinetiku jejich degradace za různých podmínek skladování. Vína byla uskladněna po dobu sedmdesáti dnů za různých teplotních podmínek – při pokojové teplotě vystavené slunečnímu záření, při pokojové teplotě ve tmě a při teplotě +4 °C, chráněné před světlem. Výsledek experimentu prokázal, že nejvyšší degradace anthokyanů probíhala u lahví vystavených světlu a to u všech odrůd. Nejvyšší stupeň anthokyanové stability vykazala vína uskladněná při +4 °C ve tmě, kdy degradace těchto sloučenin byla pouze 5-8%.

Xing et al. (Xing et al., 2016). se zabývali studiem vlivu různých typů uzávěrů na evoluci sensorických a fenolických vlastností v průběhu skladování bílého vína odrůdy Chardonnay. Lahve suchého bílého vína byly uzavřeny šesti různými typy uzávěrů a skladovány po dobu osmnácti měsíců. Složení fenolických sloučenin bylo analyzováno a prokázalo, že na vývoj fenolických sloučenin má významný vliv doba stárnutí vína, nikoli použitý typ uzávěru. Většina fenolických sloučenin

po osmnácti měsících skladování vymizela, naopak senzoričkou analýzou bylo prokázáno, že senzoričké vlastnosti se výrazně zlepšily po patnácti měsících stárnutí láhve. V průběhu zrání vína došlo ke snížení derivátů hydroxyskořicových kyselin a flavan-3-olů. Tato studie prokázala, že je nutné, aby producenti vína zvolili vhodnou dobu skladování lahvového bílého vína.

Mitic et al. (Mitic et al., 2010) stanovovali antioxidační aktivitu a obsah polyfenolů v chorvatských bílých vínech. Obsah celkových fenolických látek a celkových flavonoidů byl stanoven kolorimetrickými metodami, celková antioxidační aktivita byla stanovena pomocí metody DPPH. Pro stanovení jednotlivých polyfenolických sloučenin byla použita vysoce účinná kapalinová chromatografie. Výsledky experimentu prokázaly vysokou a významnou korelaci mezi antioxidační aktivitou a celkovým obsahem polyfenolických sloučenin. Většinu polyfenolů v bílém víně představovali hydroxyskořicové kyseliny.

Galanakis et al. (Galanakis et al., 2015) studovali obsah fenolických sloučenin a antioxidační aktivitu dvanácti vzorků (deset červených, jedno sladké červené a jedno bílé) vín kyperských odrůd pomocí zachycovačů radikálů a železité redukční schopnosti. Odrůdy Maratheftiko a Lefkada měli vyšší koncentraci derivátů hydroxyskořicových kyselin, flavonolů a anthokyanů v porovnání s jinými kultivary. Výsledky studie ukázaly, že vyšší koncentrace polyfenolů ne vždy odpovídají vyšší antioxidační aktivitě, pravděpodobně v důsledku antagonistického účinku mezi deriváty hydroxyskořicových kyselin, flavonoly anthokyanu. Interakce omezuje uvolňování antiradikálové aktivity flavonolů ve víně.

Recamales et al. (Recamales et al., 2006) studovali vliv podmínek skladování na obsah fenolických sloučenin a barvu bílého vína po dvanácti měsících skladování. Vína zrála za tří různých podmínek uskladnění – láhve byly vystaveny působení světla a různým teplotám. V průběhu skladování došlo ke změně barvy a byl zjištěn významný pokles fenolických sloučenin. Výsledky studie prokázaly, že významnější pokles vykázala vína podrobená vyšší teplotě než vína uskladněná při konstantní teplotě.

Jak ukazují studie zahraničních odborníků, na celkový obsah fenolických látek v bílém víně má významný vliv teplota skladování. Autoři Galvin a Glories (Galvin et al., 1993) jako možnou příčinu snížení množství flavanolů a zvýšení obsahu celkových fenolických látek uvádějí hydrolyzu a termický rozklad komplexních prekurzorů fenolických kyselin. Naopak Recamales et al. (Recamales et al., 2006) po dvanácti měsících skladování bílého vína pozorovali pokles obsahu celkových fenolických látek.

Tento pokles byl vyšší u vín, která byla uskladněna při vyšší teplotě. Recamales et. al (Recamales et al., 2006) dále pozorovali růst koncentrace jednodušších fenolických sloučenin, jako jsou tyrosol a volné fenolické kyseliny. Také Hernanz et al. (Hernanz et al., 2009) potvrzují celkový úbytek fenolických sloučenin v průběhu skladování bílých vín.

Studie o použití uzávěru se významně rozcházejí. Autoři studie Xing et al. (Xing et al., 2016) potvrdily svým výzkumem prokazatelný úbytek fenolických sloučenin zapříčiněný dobou skladování vína, nikoli použitého uzávěru. Naopak autoři Han et al. (Han et al., 2015) vyhodnotily, že použitý uzávěr významně ovlivňuje fenolické látky, převážně quercetin.

Zahraniční studie také prokázaly, že teplota skladování má výrazný vliv nejen na obsah anthokyanů ve víně, ale také polyfenolických sloučenin. Jak prokázal výzkum autorů Hopfer et al. (Hopfer et al., 2013), čím je vyšší teplota uskladnění dochází ke ztrátě anthokyanů a snížení koncentrace celkových polyfenolických sloučenin. Trend poklesu anthokyanů u lahví vína uskladněných při vyšší teplotě prokázala také studie autorů Arapitsas et al. (Arapitsas et al., 2014a), kteří u vína uskladněného při pokojové teplotě prokázaly zrychlený pokles anthokyanů. Experimenty prováděné různými autory prokázaly shodné závěry vlivu teploty skladování na obsah anthokyanů ve víně. Jednoznačně výsledky rozdílných studií ukazují na výrazný pokles anthokyanů u lahví skladovaných při vyšších teplotách a působení světla.

7. Závěr

Tato práce se zabývala studiem vlivu zátky na obsah antioxidačních komponent u vína. Studium antioxidačních komponent ve víně je v posledních letech spojován s jejich příznivými zdravotními účinky a to převážně v souvislosti s tzv. „francouzským paradoxem“.

Předmětem studia byly tři druhy vína – bílé (Pálava), růžové a červené (Frankovka) ročníku 2012, uzavřené různým typem uzávěru a uskladněné při rozdílných teplotách. Bílá a růžová vína byla uzavřena přírodním a lepeným korkovým uzávěrem a dvěma typy skleněných uzávěrů – starý a nový Vino-lok. Červené víno bylo uzavřeno oběma typy korkového uzávěru a novým typem Vino-lok. Poté byly lahve uskladněny při rozdílných teplotách, a to při 13 °C a 22 °C a skladovány po dobu jednoho roku. Po dvanácti měsících byla vína podrobena analýze na obsah sledovaných antioxidačních komponent.

V provedeném experimentu byla sledována celková antioxidační aktivita, obsah hydroxyskořicových kyselin, fenolických sloučenin, flavonoidů, flavanolů a anhtokyanů.

Bílá vína uskladněná při teplotě 13°C a uzavřená skleněnými uzávěry vykazovala vyšší pokles antioxidační aktivity. Obsah hydroxyskořicových kyselin u bílých vín byl ovlivněn teplotou, i zvoleným typem uzávěru. Víno uskladněné při vyšší teplotě a uzavřené novým skleněným uzávěrem vykazovalo nejvyšší obsah hydroxyskořicových kyselin. Obsah fenolických látek v bílém víně byl ovlivněn teplotou, kdy vyšší pokles těchto látek vykazala vína uskladněná při nižší teplotě. Nejmenší úbytek fenolických látek zaznamenala vína uzavřená novým typem skleněného uzávěru. Teplota u bílých vín neměla vliv na obsah flavonoidů, oproti vlivu použitého uzávěru. Víno uzavřené korkovými uzávěry vykazalo pokles flavonoidů, víno uzavřené skleněnými zátkami vykazalo navýšení flavonoidů. Obsah flavanolů v bílém víně ovlivnil typ zátky, kdy nejnižší hodnotu katechinů měly lahve uzavřené starým skleněným uzávěrem. Vliv teploty na obsah flavanolů nebyl patrný. Teplota uskladnění neměla u bílého vína vliv na obsah anthokyanů, naopak se projevil vliv uzávěru, kdy nejvyšší pokles byl zaznamenán u lahví uzavřených starým skleněným uzávěrem.

U růžového vína byl zaznamenán vliv teploty i typ zátky u antioxidační aktivity. Vína uzavřená korkovými zátkami měla průběh antioxidační aktivity lineární, vína uzavřená novými skleněnými zátkami vykazala nejnižší pokles. Vyšší pokles

byl zaznamenán u vín uskladněných při nižší teplotě. Také u hydrxyskořicových kyselin byl patrný vliv použitého uzávěru a teploty. Víno uskladněné při vyšší teplotě a uzavřené novým typem skleněného uzávěru vykazalo nejvyšší obsah hydroxyskořicových kyselin. Obsah fenolických látek a flavonoidů v růžovém víně měl klesající tendenci bez vlivu teploty a použitého typu uzávěru. Obsah flavanolů v růžovém víně byl ovlivněn teplotou skladování i zvoleným typem uzávěru. Vína uzavřená skleněnými uzávěry vykazala stoupající trend flavanolů, oproti vínům uzavřeným korkovým uzávěrem, kdy byl zaznamenán pokles těchto látek. Vliv zátky nebyl patrný na obsah anthokyanů, naopak byl pozorován vliv teploty. Vína uskladněná při vyšší teplotě vykazala vyšší pokles anthokyanů.

U červeného vína byl patrný vliv teploty na vývoj hydroxyskořicových kyselin, naopak teplota neměla vliv na obsah flavonoidů a flavanolů.

Obecně lze shrnout, že u bílého vína byl znát vliv použitého uzávěru na obsah antioxidačních komponent. Největší vliv na obsah těchto látek měl skleněný uzávěr. Také u růžových byl znát vliv použitého uzávěru. Zde nelze jednoznačně označit pouze jeden typ uzávěru, který má vliv na antioxidační komponenty. U červeného vína nebyl zaznamenán významný vliv použité zátky, naopak se projevil vliv teploty.

8. Souhrn

Předložená diplomová práce je zaměřena na studium vlivu různých druhů zátek a podmínek skladování na obsah antioxidačních komponent ve vínech. Pro experiment bylo vybráno bílé (Pálava), růžové (Frankovka) a červené víno (Frankovka), které bylo skladováno po dobu 12 měsíců při rozdílných teplotách (13 °C a 22 °C) a pod čtyřmi rozdílnými typy uzávěrů (přírodní korek, lepený korek, starý a nový typ Vino lok). Spektrofotometricky byla sledována antioxidační aktivita, obsah hydroxyskořicových kyselin, flavonoidů, flavanolů a anthokyanů. a anthokyanů.

Vína uzavřená skleněnou zátkou vykázala nejvyšší obsah fenolických látek i po dvanácti měsících skladování. Použitá zátka neměla vliv na vývoj červeného vína, u kterého byl však patrný vliv teploty, kdy červená vína vykázala při vyšší teplotě výrazný pokles anthokyanů. Z experimentů lze vyvodit závěr, že pro bílé a růžové víno se jako ideální, díky svým inertním vlastnostem, jeví skleněný uzávěr. Pro vína červená byla, díky žádoucí mikrooxidaci, vhodná korková zátka.

Resume

This thesis is focused on the study of various kinds of plugs and storage conditions of antioxidant components in wines. For the experiment were selected white (Pálava), rose (Lemberger) and red wine (Lemberger) which had been stored for 12 months at different temperatures (13 °C and 22 °C) and under four different types of closure (natural cork, glued cork, old and new Vino - lok). Spectrophotometry was monitored antioxidant activity, contents of hydroxycinnamic acids, flavonoids, anthocyanins and flavanols.

Wines sealed with glass plug showed the highest content of phenolics even after twelve months of storage. The type of plug did not affect the development of red wine, for which, however, evident the influence of temperature, when the red wine at a high temperature showed a significant decrease of anthocyanins. From the experiment can be concluded that for the white and rose wine is ideal glass plug due to its inert properties. For red wine was due to desirable microoxidation suitable cork.

Použitá literatura

ADAMS, D. O. AND J. F. HARBERTSON *Use of alkaline phosphatase for the analysis of tannins in grapes and red wines*. American Journal of Enology and Viticulture, 1999, 50(3), 247-252.

ALANON, M. E., L. CASTRO-VAZQUEZ, M. C. DIAZ-MAROTO, M. H. GORDON, et al. *A study of the antioxidant capacity of oak wood used in wine ageing and the correlation with polyphenol composition*. Food Chemistry, Oct 2011, 128(4), 997-1002.

ARAPITSAS, P., G. SPERI, A. ANGELI, D. PERENZONI, et al. *The influence of storage on the "chemical age" of red wines*. Metabolomics, Oct 2014a, 10(5), 816-832.

AVIZCURI, J. M., M. P. SAENZ-NAVAJAS, J. F. ECHAVARRI, V. FERREIRA, et al. *Evaluation of the impact of initial red wine composition on changes in color and anthocyanin content during bottle storage*. Food Chemistry, Dec 2016, 213, 123-134.

BASLI, A., S. SOULET, N. CHAHER, J. M. MERILLON, et al. *Wine Polyphenols: Potential Agents in Neuroprotection*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2012.

BJELAKOVIC, G., D. NIKOLOVA AND C. GLUUD *Meta-Regression Analyses, Meta-Analyses, and Trial Sequential Analyses of the Effects of Supplementation with Beta-Carotene, Vitamin A, and Vitamin E Singly or in Different Combinations on All-Cause Mortality: Do We Have Evidence for Lack of Harm?* Plos One, Sep 6 2013, 8(9).

BOERJAN, W., J. RALPH AND M. BAUCHER *Lignin biosynthesis*. Annual Review of Plant Biology, 2003, 54, 519-546.

CALDERON-MONTANO, J. M., E. BURGOS-MORON, C. PEREZ-GUERRERO AND M. LOPEZ-LAZARO *A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol*. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, Apr 2011, 11(4), 298-344.

CATALGOL, B., S. BATIREL, Y. TAGA AND N. K. OZER *Resveratrol: French paradox revisited*. Frontiers in Pharmacology, 2012, 3.

CHANDRAMOHAN, R., L. PARI, A. RATHINAM AND B. A. SHEIKH *Tyrosol, a phenolic compound, ameliorates hyperglycemia by regulating key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin induced diabetic rats*. Chemico-Biological Interactions, Mar 5 2015, 229, 44-54.

CHATONNET, P. AND D. DUBOURDIEU. *Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne* Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d 'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne. 1995.

CHATONNET, P., D. DUBOURDIEU AND J. N. BOIDRON *The influence of Brettanomyces/Dekhera sp yeasts and lactic acid bacteria on the ethylphenol content of red wines*. American Journal of Enology and Viticulture, 1995, 46(4), 463-468.

CHATONNET, P., A. FLEURY AND S. BOUTOU *Identification of a New Source of Contamination of Quercus sp. Oak Wood by 2,4,6-Trichloroanisole and Its Impact on the Contamination of Barrel-Aged Wines*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Oct 2010, 58(19), 10528-10538.

- CHEYNIER, V., N. BASIRE AND J. RIGAUD *Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Jul-Aug 1989, 37(4), 1069-1071.
- CHEYNIER, V., H. FULCRAND, S. GUYOT, J. OSZMIANSKI, et al. *Reactions of enzymatically generated quinones in relation to browning in grape musts and wines*. Enzymatic Browning and Its Prevention, 1995, 600, 130-143.
- CHONG, J., A. POUTARAUD AND P. HUGUENEY *Metabolism and roles of stilbenes in plants*. Plant Science, Sep 2009, 177(3), 143-155.
- CLARKSON, P. M. AND H. S. THOMPSON *Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?* American Journal of Clinical Nutrition, Aug 2000, 72(2), 637S-646S.
- CLIFFORD, M. N. *Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism*. Journal of the Science of Food and Agriculture, May 2000, 80(7), 1033-1043.
- COVAS, M. I., E. MIRO-CASAS, M. FITO, M. FARRE-ALBADALEJO, et al. *Bioavailability of tyrosol, an antioxidant phenolic compound present in wine and olive oil, in humans*. Drugs under Experimental and Clinical Research, 2003, 29(5-6), 203-206.
- CROZIER, A., I. B. JAGANATH AND M. N. CLIFFORD *Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health*. Natural Product Reports, 2009, 26(8), 1001-1043.
- DAGLIA, M. *Polyphenols as antimicrobial agents*. Current Opinion in Biotechnology, Apr 2012, 23(2), 174-181.
- DEL CARO, A., P. PIOMBINO, A. GENOVESE, L. MOIO, et al. *Effect of Bottle Storage on Colour, Phenolics and Volatile Composition of Malvasia and Moscato White Wines*. South African Journal of Enology and Viticulture, 2014, 35(1), 128-138.
- DELMAS, D., A. LANCON, D. COLIN, B. JANNIN, et al. *Resveratrol as a chemopreventive agent: A promising molecule for fighting cancer*. Current Drug Targets, Apr 2006, 7(4), 423-442.
- ELATTAR, T. M. A. AND A. S. VIRJI *The effect of red wine and its components on growth and proliferation of human oral squamous carcinoma cells*. Anticancer Research, Nov-Dec 1999, 19(6B), 5407-5414.
- FAVARON, F., M. LUCCHETTA, S. ODORIZZI, A. T. P. DA CUNHA, et al. *The role of grape polyphenols on trans-resveratrol activity against botrytis cinerea and of fungal laccase on the solubility of putative grape proteins*. Journal of Plant Pathology, Nov 2009, 91(3), 579-588.
- FERNANDEZ, V., M. BERRADRE, B. SULBARAN AND J. ORTEGA *Antioxidant activity evaluation and its relationship to total polyphenolic content of red, rose and white wines*. Revista De La Facultad De Agronomia De La Universidad Del Zulia, Oct-Dec 2012, 29(4), 611-623.
- FILIP, V., M. PLOCKOVA, J. SMIDRKAL, Z. SPICKOVA, et al. *Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness*. Food Chemistry, Dec 2003, 83(4), 585-593.
- FOGLIANO, V., V. VERDE, G. RANDAZZO AND A. RITIENI *Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Mar 1999, 47(3), 1035-1040.

- FRANKEL, E. N. AND A. S. MEYER *The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants*. Journal of the Science of Food and Agriculture, Oct 2000, 80(13), 1925-1941.
- FUNATOGAWA, K., S. HAYASHI, H. SHIMOMURA, T. YOSHIDA, et al. *Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against Helicobacter pylori*. Microbiology and Immunology, 2004, 48(4), 251-261.
- GALANAKIS, C. M., A. KOTANIDIS, M. DIANELLOU AND V. GEKAS *Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Cypriot Wines*. Czech Journal of Food Sciences, 2015, 33(2), 126-136.
- GALVIN, C. AND Y. GLORIES. *Etuda de certaines reakcích de degradaci des anthocyanes et de leur kondenzace avec les flavonoly: result sur la couleur des vins*. Université de Bordeaux, 1993.
- GIUNCHI, A., A. VERSARI, G. P. PARPINELLO AND S. GALASSI *Analysis of mechanical properties of cork stoppers and synthetic closures used for wine bottling*. Journal of Food Engineering, Oct 2008, 88(4), 576-580.
- GODDEN, P., L. FRANCIS, J. FIELD, M. GISHEN, et al. *Wine bottle closures: physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillon wine - 1. Performance up to 20 months post-bottling*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2001, 7(2), 62-105.
- GOODE, J. *Alternatives to cork in wine bottle closures*. Managing Wine Quality, Vol 2: Oenology and Wine Quality, 2010, (192), 255-270.
- GUAITA, M., M. PETROZZIELLO, S. MOTTA, F. BONELLO, et al. *Effect of the Closure Type on the Evolution of the Physical-Chemical and Sensory Characteristics of a Montepulciano d'Abruzzo Rose Wine*. Journal of Food Science, Feb 2013, 78(2), C160-C169.
- HAN, G. M., M. UGLIANO, B. CURRIE, S. VIDAL, et al. *Influence of closure, phenolic levels and microoxygenation on Cabernet Sauvignon wine composition after 5 years' bottle storage*. Journal of the Science of Food and Agriculture, Jan 2015, 95(1), 36-43.
- HARBERTSON, J. *Grape and Wine Phenolics* 2007. Available from Internet:<<http://wine.wsu.edu/research-extension/2007/07/grape-and-wine-phenolics-a-primer/>>.
- HARBERTSON, J. F., G. P. PARPINELLO, H. HEYMANN AND M. O. DOWNEY *Impact of exogenous tannin additions on wine chemistry and wine sensory character*. Food Chemistry, Apr 2012, 131(3), 999-1008.
- HAYYAN, M., M. A. HASHIM AND I. M. ALNASHEF *Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications*. Chemical Reviews, Mar 2016, 116(5), 3029-3085.
- HE, F., N. N. LIANG, L. MU, Q. H. PAN, et al. *Anthocyanins and Their Variation in Red Wines I. Monomeric Anthocyanins and Their Color Expression*. Molecules, Feb 2012, 17(2), 1571-1601.
- HERNANZ, D., V. GALLO, A. F. RECAMALES, A. J. MELENDEZ-MARTINEZ, et al. *Effect of storage on the phenolic content, volatile composition and colour of white wines from the varieties Zalema and Colombard*. Food Chemistry, Mar 2009, 113(2), 530-537.

HOLLMAN, P. C. H. AND M. B. KATAN *Health effects and bioavailability of dietary flavonols*. *Free Radical Research*, 1999, 31, S75-S80.

HOPFER, H., P. A. BUFFON, S. E. EBELER AND H. HEYMANN *The Combined Effects of Storage Temperature and Packaging on the Sensory, Chemical, and Physical Properties of a Cabernet Sauvignon Wine*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Apr 2013, 61(13), 3320-3334.

JACKSON, R. S. *Wine science: principles and applications* Wine science: principles and applications. In.: Amsterdam: Elsevier / Academic Press,, 2008.

JANTAČ, F. "">Korek, šroubovací uzávěr, sklo či polyethylen. 2014. Available from Internet:<<http://press.aspen.pr/global-wines/tiskove-zpravy/korek-sroubovací-uzaver-sklo-ci-polyethylen-v-cem-se-lisi-uzavery-lahvi-vina/>>.

JASINSKI, M., L. JASINSKA AND M. OGRODOWCZYK *Resveratrol in prostate diseases - a short review*. *Central European journal of urology*, 2013 2013, 66(2), 144-149.

JELÍNEK, K. Edtion ed., 2010

KWON, J. Y., K. W. LEE, H. J. HUR AND H. J. LEE *Peonidin inhibits phorbol-ester-induced COX-2 expression and transformation in JB6 P+ cells by blocking phosphorylation of ERK-1 and -2*. *Signal Transduction Pathways, Pt C: Cell Signaling in Health and Disease*, 2007, 1095, 513-520.

KÖHLER, F. E. *Quercus suber* *Quercus suber* In., 1897.

LAGORCE-TACHON, A., T. KARBOWIAK, D. CHAMPION, R. D. GOUGEON, et al. *Mechanical properties of cork: Effect of hydration*. *Materials & Design*, Oct 2015, 82, 148-154.

LARROQUE, M., J. C. CABANIS AND L. VIAN *Determination of aluminum in wines by direct graphite-furnace atomic-absorption spectrometry*. *Journal of Aoac International*, Mar-Apr 1994, 77(2), 463-466.

LIU, R. H. *Health-Promoting Components of Fruits and Vegetables in the Diet*. *Advances in Nutrition*, May 2013, 4(3), 384S-392S.

LIU, Y. Q., T. L. PUKALA, I. F. MUSGRAVE, D. M. WILLIAMS, et al. *Gallic acid is the major component of grape seed extract that inhibits amyloid fibril formation*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Dec 2013, 23(23), 6336-6340.

LOPEZ, M., F. MARTINEZ, C. DEL VALLE, C. ORTE, et al. *Analysis of phenolic constituents of biological interest in red wines by high-performance liquid chromatography*. *Journal of Chromatography A*, Jul 2001, 922(1-2), 359-363.

MAMMELA, P., H. SAVOLAINEN, L. LINDROOS, J. KANGAS, et al. *Analysis of oak tannins by liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, Sep 2000, 891(1), 75-83.

MANACH, C., A. SCALBERT, C. MORAND, C. REMESY, et al. *Polyphenols: food sources and bioavailability*. *American Journal of Clinical Nutrition*, May 2004, 79(5), 727-747.

- MARQUEZ, A., M. P. SERRATOSA AND J. MERIDA *Influence of bottle storage time on colour, phenolic composition and sensory properties of sweet red wines*. Food Chemistry, Mar 2014, 146, 507-514.
- MATTIVI, F., P. ARAPITSAS, D. PERENZONI AND G. GUELLA *Influence of Storage Conditions on the Composition of Red Wines*. Advances in Wine Research, 2015, 1203, 29-49.
- MCDONALD, M. S., M. HUGHES, J. BURNS, M. E. J. LEAN, et al. *Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Feb 1998, 46(2), 368-375.
- MEKINIC, I. G., D. SKROZA, B. RISTOVSKI, I. LJUBENKOV, et al. *Anthocyanidins in Babica, Ljutun and Crljenak Kastelanski grapes, and kinetics of their degradation under different storage conditions*. Journal of Food and Nutrition Research, 2016, 55(4), 294-302.
- MIRO-CASAS, E., M. I. COVAS, M. FITO, M. FARRE-ALBADALEJO, et al. *Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans*. European Journal of Clinical Nutrition, Jan 2003, 57(1), 186-190.
- MITIC, M. N., M. V. OBRADOVIC, Z. B. GRAHOVAC AND A. N. PAVLOVIC *Antioxidant Capacities and Phenolic Levels of Different Varieties of Serbian White Wines*. Molecules, Mar 2010, 15(3), 2016-2027.
- MURATA, M., H. NONAKA, S. KOMATSU, M. GOTO, et al. *Delphinidin Prevents Muscle Atrophy and Upregulates miR-23a Expression*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Jan 2017, 65(1), 45-50.
- NIU, S., F. HAO, H. MO, J. JIANG, et al. *Phenol profiles and antioxidant properties of white skinned grapes and their coloured genotypes during growth*. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2017 2017, 31(1), 58-67.
- OLIVEIRA, V., S. KNAPIC AND H. PEREIRA *Classification modeling based on surface porosity for the grading of natural cork stoppers for quality wines*. Food and Bioproducts Processing, Jan 2015, 93, 69-76.
- OLTHOF, M. R., P. C. H. HOLLMAN AND M. B. KATAN *Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans*. Journal of Nutrition, Jan 2001, 131(1), 66-71.
- PALDRYCHOVÁ, M. *Stilbeny – fytoalexiny se širokým potenciálem*. In *Bioprospect*. 2015, p. s. 85-89.
- PANDURANGAN, A. K., N. MOHEBALI, M. E. NORHAIZAN AND C. Y. LOOI *Gallic acid attenuates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in BALB/c mice*. Drug Design Development and Therapy, 2015, 9, 3923-3934.
- PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. Edtion ed.: Grada Praha, 2010. ISBN 978-80-247-3487-3.
- PAVLOUŠEK, P. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Edtion ed. Praha: Grada, 2011. ISBN ISBN 978-80-247-3314-2.

- PEREIRA, B., P. LOPES, J. MARQUES, M. PIMENTA, et al. *Sealing effectiveness of different types of closures towards volatile phenols and haloanisoles*. Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin, Apr-Jun 2013, 47(2), 145-157.
- POMPELLA, A., A. VISVIKIS, A. PAOLICCHI, V. DE TATA, et al. *The changing faces of glutathione, a cellular protagonist*. Biochemical Pharmacology, Oct 2003, 66(8), 1499-1503.
- PROKES, K., B. NADENICKOVA, J. TETHAL, M. KUMSTA, et al. *A study on the sulphur concentration and sensory properties of wine in bottles with cork and glass stoppers*. Mitteilungen Klosterneuburg, 2015, 65(2), 94-102.
- RAMIRO-PUIG, E., G. CASADESUS, H. G. LEE, X. W. ZHU, et al. *Neuroprotective effect of cocoa flavonoids on in vitro oxidative stress*. European Journal of Nutrition, Feb 2009, 48(1), 54-60.
- RECAMALES, A. F., A. SAYAGO, M. L. GONZALEZ-MIRET AND D. HERNANZ *The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine*. Food Research International, 2006, 39(2), 220-229.
- RIBÉREAU-GAYON, P. AND D. DUBOURDIEU *Handbook of enology Handbook of enology*. Edition ed.: NJ: John Wiley, 2006. ISBN 0-4700-1037-1.
- RIBÉREAU-GAYON, P. *Les sklada phénoliques du raisin et du vin*. In.: Paris:Institut national de la recherche agronomique, 1965a.
- RIBÉREAU-GAYON, P. *Les sklada phénoliques du raisin et du vin* Les sklada phénoliques du raisin et du vin. In.: Paris:Institut national de la recherche agronomique, 1965b.
- RIE, S., N. NISHIMURA, H. HOSHINO, I. YASUKA, et al. *Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and, insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding protein 4 expression in diabetic mice*. Biochemical Pharmacology, Dec 2007, 74(11), 1619-1627.
- RIVES, J., I. FERNANDEZ-RODRIGUEZ, J. RIERADEVALL AND X. GABARRELL *Environmental analysis of the production of champagne cork stoppers*. Journal of Cleaner Production, Apr 2012, 25, 1-13.
- ROMEROPEREZ, A. I., R. M. LAMUELARAVENTOS, A. L. WATERHOUSE AND M. C. DELATORREBORONAT *Levels of cis- and trans-resveratrol and their glucosides in white and rose Vitis vinifera wines from Spain*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Aug 1996, 44(8), 2124-2128.
- ROSS, J. A. AND C. M. KASUM *Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety*. Annual Review of Nutrition, 2002, 22, 19-34.
- RUSSO, G. L., M. RUSSO, C. SPAGNUOLO, I. TEDESCO, et al. *Quercetin: A Pleiotropic Kinase Inhibitor Against Cancer*. Advances in Nutrition and Cancer, 2014, 159, 185-205.
- SAFAEIAN, L., V. HAJHASHEMI, S. H. JAVANMARD AND H. S. NADERI *The Effect of Protocatechuic Acid on Blood Pressure and Oxidative Stress in Glucocorticoid-induced Hypertension in Rat*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, Win 2016, 15, 83-91.
- SANCHEZ-MORENO, C., J. A. LARRAURI AND F. SAURA-CALIXTO *Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents*. Food Research International, 1999, 32(6), 407-412.

- SANCHEZ-SAEZ, S., S. K. GARCIA-CASTILLO, E. BARBERO AND J. CIRNE *Dynamic crushing behaviour of agglomerated cork*. *Materials & Design*, Jan 2015, 65, 743-748.
- SANTOS, M. M., J. L. B. VENCESLADA, A. M. MARTIN AND I. G. GARCIA *Estimating the selectivity of ozone in the removal of polyphenols from vinasse*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Apr 2005, 80(4), 433-438.
- SENDON, R., A. SANCHES-SILVA, J. BUSTOS, P. MARTIN, et al. *Detection of migration of phthalates from agglomerated cork stoppers using HPLC-MS/MS*. *Journal of Separation Science*, Jun 2012, 35(10-11), 1319-1326.
- SHAHIDI, F. AND M. NACZK *Phenolics in food and nutraceuticals*. Edtion ed. Boca Raton: CRC Press, 2003. ISBN ISBN 1587161389.
- SHAN, C. W., S. Q. YANG, H. D. HE, S. L. SHAO, et al. *Influences of 3,4,5-trihydroxystibene-3-beta-mono-d-glucoside on rabbits' platelet-aggregation and thromboxane-b2 production invitro*. *Acta Pharmacologica Sinica*, Nov 1990, 11(6), 527-530.
- SIERRA-PEREZ, J., J. BOSCHMONART-RIVES AND X. GABARRELL *Production and trade analysis in the Iberian cork sector: Economic characterization of a forest industry*. *Resources Conservation and Recycling*, May 2015, 98, 55-66.
- SIES, H. *Oxidative stress: Oxidants and antioxidants*. *Experimental Physiology*, Mar 1997, 82(2), 291-295.
- SILVA, A., M. LAMBRI AND M. D. DE FAVERI *Evaluation of the performances of synthetic and cork stoppers up to 24 months post-bottling*. *European Food Research and Technology*, Jun 2003, 216(6), 529-534.
- SKOUROUMOUNIS, G. K., M. J. KWIATKOWSKI, I. L. FRANCIS, H. OAKEY, et al. *The impact of closure type and storage conditions on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years' storage*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2005, 11(3), 369-384.
- SMIDRKAL, J., V. FILIP, K. MELZOCH, I. HANZLIKOVA, et al. *Resveratrol*. *Chemicke Listy*, 2001, 95(10), 602-609.
- SOLEAS, G. J., E. P. DIAMANDIS AND D. M. GOLDBERG *Resveratrol: A molecule whose time has come? And gone?* *Clinical Biochemistry*, Mar 1997, 30(2), 91-113.
- SOLEAS, G. J., E. P. DIAMANDIS, D. M. GOLDBERG AND A. AICR *The world of resveratrol. Nutrition and Cancer Prevention: New Insights into the Role of Phytochemicals*, 2001 2001, 492, 159-182.
- STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. Edtion ed.: Valtice:Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978-80-903201-9-2.
- STORZ, P. *Reactive oxygen species in tumor progression*. *Frontiers in Bioscience*, May 2005, 10, 1881-1896.
- TALAVERA, S., C. FELGINES, O. TEXIER, C. BESSON, et al. *Anthocyanins are efficiently absorbed from the small intestine in rats*. *Journal of Nutrition*, Sep 2004, 134(9), 2275-2279.

- UBEDA, C., C. HIDALGO, M. J. TORIJA, A. MAS, et al. *Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes*. *Lwt-Food Science and Technology*, Sep 2011, 44(7), 1591-1596.
- URSO, M. L. AND P. M. CLARKSON *Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation*. *Toxicology*, Jul 2003, 189(1-2), 41-54.
- VELÍŠEK, J. AND J. HAJŠLOVÁ *Chemie potravin* *Chemie potravin*. Edition ed. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN ISBN 978-80-86659-16-9.
- VERMERRIS, W. AND R. NICHOLSON *Phenolic compound biochemistry* *Phenolic compound biochemistry*. Edition ed. London: Springer, 2008. ISBN 978-1-4020-5164-7.
- VIESTENZ, A. AND M. KUCHLE *Ocular contusions from flying bottle caps: a retrospective study using the Erlangen ocular contusion registry (EOCR)*. *Ophthalmologie*, Feb 2002, 99(2), 105-108.
- WANG, Y. J., P. THOMAS, J. H. ZHONG, F. F. BI, et al. *Consumption of Grape Seed Extract Prevents Amyloid-beta Deposition and Attenuates Inflammation in Brain of an Alzheimer's Disease Mouse*. *Neurotoxicity Research*, Jan 2009, 15(1), 3-14.
- WARTH, A. D. AND K. W. NICKERSON *Mechanism of action of benzoic-acid on zygosaccharomyces-bailii - effects on glycolytic metabolite levels, energy-production, and intracellular pH*. *Applied and Environmental Microbiology*, Dec 1991, 57(12), 3410-3414.
- XING, R. R., D. LIU, Z. LI, Y. TIAN, et al. *Impact of different types of stoppers on sensorial and phenolic characteristics evolution during a bottle storage time of a white wine from Chardonnay grape variety*. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, Nov 2016, 53(11), 4043-4055.
- YAMAMOTO, M., S. NAKATSUKA, H. OTANI, K. KOHMOTO, et al. *(+)-catechin acts as an infection-inhibiting factor in strawberry leaf*. *Phytopathology*, Jun 2000, 90(6), 595-600.