



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**RAFINACE A CHARAKTERIZACE OLEJE ZÍSKANÉHO Z
HROZNOVÝCH JADER**

REFINERY AND CHARACTERIZATION OF GRAPE OIL

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Miroslav Prchal

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1418/2018
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Miroslav Prchal**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.**
Akademický rok: 2018/19

Název bakalářské práce:

Rafinace a charakterizace oleje získaného z hroznových jader

Zadání bakalářské práce:

1. Literární rešerše na zadané téma.
2. Získání rostlinného oleje z hroznových jader extrakcí n–hexanem pomocí Soxthermu.
3. Stanovení a porovnání obsahu a složení tuku extrahovaného oleje s komerčním olejem.
4. Rafinace oleje s cílem eliminace chlorofylu.
5. Vyhodnocení výsledků, jejich diskuze a závěr práce.

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Miroslav Prchal
student(ka)

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá tématem extrakce vinného oleje ze semen Révy vinné, rafinací extrahovaného oleje a charakterizací vinného oleje. Vinný olej byl extrahován z hroznových semen získaných ze zářijové sklizně v roce 2018 z vinařství Vavříček (Březi u Mikulova, Česká Republika). Získané výlisky byly směsí odrůd Veltlínské Zelené a Saugvinon Blanc. Olej byl extrahován ze separovaných semen použitím extrakce do kapaliny (n-hexanu). Výtěžky extrakce byly porovnány s teoretickými výtěžky získanými pomocí odlišných extrakčních metod a s výtěžky jiných olejnin. Pro rafinaci bylo zvoleno několik kroků, kde bylo hlavním cílem odstranit lipofilní barviva ze vzorku pomocí vybraných adsorbentů. Výsledky čištění byly ověřeny pomocí tenkovrstvé a vysokoúčinné chromatografie.

K charakterizaci oleje byla využita metoda plynové chromatografie, kde se porovnáním profilů mastných kyseliny zjišťoval vliv rafinace na složení oleje. V poslední řadě byly porovnány profily mastných kyselin ve vzorku získaným lisováním za studena a ve vzorku extrahovaným n-hexanem. Výsledky práce dokazují, že odpad vznikající lisováním hroznů je hodnotná surovina, kterou je možné využít například na extrakci vinného oleje a také k získávání pigmentů (chlorofyl).

Abstract

This bachelor thesis deals with the topic concerning the extraction of wine oil from grape seeds, the refining of the extracted oil and the characterization of grape oil. Grape oil was extracted from the grape seeds obtained from the harvest in September 2019 by the winery Vavricek (Brezi u Mikulova, Czech Republic). The received grape pomace was the mixture of Green Veltliner and Blanc Saugvinon. The oil was extracted from the separated seeds by using liquid extraction in n-Hexane. The extraction yields of grape oil were compared with the literature, involving the different extraction methods as well as different oil plants. For the refining of the grape oil have been applied more steps aiming for the removal of the lipophilic pigments. Different adsorbents of pigments have been applied. The purification efficiency has been proved by the investigation with the thin layer and the high-performance chromatography.

Moreover, the gas chromatography was used to characterize the composition of the oil. Finally, the composition profile of the oil obtained by the liquid extraction before and after purification has been compared with the commercial grape oil, which has been received by cold pressing. The results of the work show that the winery waste produced in South Moravia is a valuable raw material, which can be used for the production and different products, e.g., grape oil and pigments (chlorophyll).

Klíčová slova / Key words

Réva vinná, vinný olej, rafinace, HPLC, rostlinná barviva
Grapevine, grape oil, refining, HPLC, plant pigments

PRCHAL, Miroslav. *Rařinace a charakterizace oleje získaného z hroznových jader*. Brno, 2019. 42 stran. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce doc. Ing. Adriána Kovalčík Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně ocitoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT

.....

Miroslav Prchal

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucí práce doc. Ing. Adriáně Kovalčík Ph.D. a také Ing. Janě Mierne, Ing. Markovi Raptovi a Ing. Martinu Szotkowskému za odborné vedení, věnovaný čas a cenné rady.

Tato práce byla podpořena projektem SoMoPro (projekt č. 6SA18032). Projekt získal finanční prostředky z programu pro výzkum a inovace Horizont 2020 Evropské unie v rámci akcí Marie Skłodowska-Curie a je spolufinancován Jihomoravským krajem dle grantové dohody č.665860.

Poznámka: Tento materiál odráží pouze postoje autora a EU není zodpovědná za jakékoli použití prezentovaných informací.



OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2.1	POPIS RÉVY VINNÉ A SLOŽENÍ JEJICH PLODŮ (BOBULÍ)	10
2.2	POPIS TECHNOLOGICKÉHO PROCESU VÝROBY VÍNA	11
2.3	MATOLINY A JEJICH VYUŽITÍ.....	13
2.4	VINNÝ OLEJ A JEHO SLOŽENÍ	13
2.5	RAFINACE OLEJE	15
2.6	VÝZNAM HROZNOVÉHO OLEJE	16
2.7	METODY ZÍSKÁVÁNÍ HROZNOVÉHO OLEJE	18
2.8	VYUŽITÍ ODPADNÍCH SEMEN PO VYTĚŽENÍ OLEJE	20
2.9	INSTRUMENTACE CHARAKTERIZACE HROZNOVÉHO OLEJE	21
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
3.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE.....	22
3.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A MATERIÁL	22
3.3	POPIS VZORKU	23
3.4	EXTRAKCE A RAFINACE OLEJE	24
3.5	CHARAKTERIZACE VLASTNOSTÍ OLEJE.....	25
4	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	30
4.1	VÝSLEDKY EXTRAKCE	30
4.2	VÝSLEDKY ČIŠTĚNÍ.....	31
4.3	VÝSLEDKY CHARAKTERIZACE OLEJE	32
5	ZÁVĚR.....	38
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	39
7	SEZNAM OBRÁZKU	44
8	SEZNAM TABULEK	44
9	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	45

1 ÚVOD

Jižní Morava je proslulá produkcí vín a nachází se zde 96 % ploch z celkových 18 700 ha všech českých vinic. Produkce vína souvisí s velkým množstvím odpadu, které se dosud nevyužívá cíleně, ale jen částečně, např. jako hnojivo. Cílem této bakalářské práce je ukázat, že vinařský odpad tzv. matoliny je možné využít i na výrobu hodnotných produktů. Ze semínek Révy vinné (přibližně 3 hm. % celkové hmotnosti Révy vinné) je možné lisovat olej. Při světové produkci vína několik desítek milionů tun se jedná o levný a dostupný zdroj pro výrobu oleje. Vinný olej, se nejen kvůli své dostupnosti, ale hlavně kvůli svému složení stává stále více využívaný, jak v kosmetice, tak hlavně jako potravinu. Olej je bohatý zejména na polynenasycené mastné kyseliny a antioxidanty, zejména vitamín E. Výtěžnost oleje je v porovnání s jinými olejninami, například se slunečnicí nebo sezamem, poměrně nízká, a proto se pro extrakci využívají metody, u kterých je dosaženo větší výtěžnosti.

Lisovaný olej za studena se považuje za nejhodnotnější olej, kdy jsou zachovány i termolabilní látky. Protože semena Révy vinné obsahují pouze okolo 3–6 hm.% oleje, vyžaduje lisování speciální lisy. Nejdostupnější alternativou je nejspíše extrakce do rozpouštědla, ze které získáme surový olej s rostlinným pigmentem. Nevýhodou extrakční metody je velký obsah nečistot, které ovlivňují použitelnost oleje. Rafinace probíhá v několika krocích, nejčastěji se provádí odstranění organických látek sorbentem, odsazení a případně deodorace destilací vodní parou. V této bakalářské práci je porovnána kvalita komerčního oleje získaného lisováním za studena, oleje extrahovaného n-hexanem a rafinovaného oleje extrahovaného n-hexanem, jak z hlediska obsahu mastných kyselin, tak z hlediska obsahu vybraných látek, které se běžně vyskytují v hroznových olejích.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Popis révy vinné a složení jejích plodů (bobulí)

Réva vinná (*Vitis vinifera*) je jedním z nevíce pěstovaných druhů ovoce na celém světě, při produkci 58 milionů tun ročně [1]. Největším producentem je Evropa, kde se vypěstuje 70 % celkové produkce, za Evropou následuje Asie 15 %, Amerika 9 % a Afrika s 5 % [2]. V České Republice je typickou kulturní rostlinou na Jižní Moravě a v Čechách jejíž plody lidé po staletí využívají ke konzumaci čerstvých hroznů, výrobě šťáv, vína a destilátů [3]. K roku 2011 tvořila celková plocha registrovaných vinic na území České Republiky 17 198 ha, z čehož 96 % celkové plochy se nacházelo na Moravě. Dle dat Českého statistického úřadu (ČSÚ) z roku 2011 bylo sklizeno 91 253 tun Révy vinné s produkcí 390 tisíc hektolitřů vína (vinařský rok 2010/2011). ČSÚ uvádí spotřebu vína na osobu v České Republice okolo 20,1 l / rok, což je daleko za evropským průměrem (36 l na osobu a rok) [4]. Vegetativní části rostlin (listy, stopky a pecky) jsou často využívány v tradiční medicíně různých zemí jako zdroj bioaktivních látek [5].

Réva vinná se pěstuje na vinicích a vinohradech, a to většinou na svazích, které vytváří nejlepší podmínky pro celodenní proslunění. Základem vinného keře je podzemní a nadzemní část. Podzemní část představuje mohutný kořenový systém, který je schopen prorůstat do hlubších vrstev půdy, odkud získává vodu. Nadzemní část je tvořena kmínkem, plodným dřevem, letorosty, listy, hrozny a bobulemi. Plodem révy vinné je bobule, které jsou uspořádané na třapině a vytváří hrozen zobrazený na obrázku č. 1 [3].



Obrázek č. 1 Réva vinná [6]

Bobule (resp. hrozny) jsou složené z dužiny, slupky, semen a třapin.

Dužina činí průměrně 85–90 % hmotnosti hroznů. Přibližně 8 % hmotnosti zaujímají cévní svazky, zbylý podíl dužiny se nazývá mošt. Chemické složení a chuťové vlastnosti závisí především na odrůdě hroznů. Dužina obsahuje především cukry, glukózu a fruktózu. Dalšími součástmi jsou organické kyseliny, kyselina vinná a jablečná, které se v dužině vyskytují jak ve formě volné, tak ve formě solí. Kromě toho jsou v dužině také dusíkaté látky, enzymy, vitamíny a minerální látky [7].

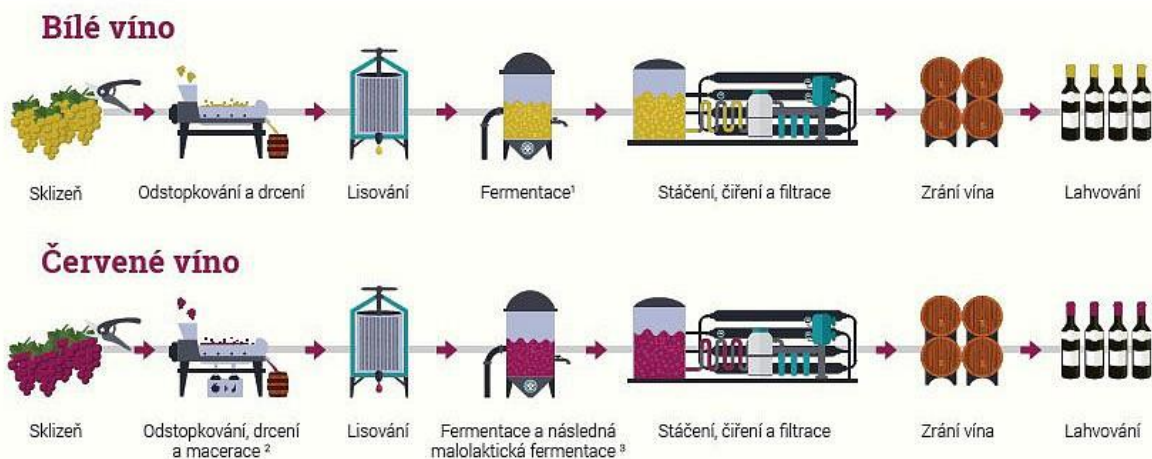
Slupka bobule činí 9–11 % celkové hmotnosti hroznů. Látky obsažené ve slupkách mají největší podíl na výsledném charakteru vína. Hlavní složkou slupky je voda, která tvoří 60–80 % hmotnosti slupky. Nejhodnotnější součásti slupek jsou barviva a aromatické látky. Slupky bílých odrůd obsahují žlutozelená barviva flavony a chlorofyl. Ve slupkách červených a modrých odrůd jsou červená barviva antokyany [7].

Semena jsou uložena v bobulích hroznů. Původně jsou zelená, při dozrávání hroznů se postupně barví do hněda. V průběhu zrání je v semenech snižován podíl vody a snižuje se jejich hmotnost. Koncem srpna je v 1 000 g bobulí 45,5 g semen, koncem září pouze 28,7 g. Hlavní složkou semen jsou třísloviny a oleje. Třísloviny činí 3–6 % hmotnosti semen a jejich vylučování do vína je podporováno u červených vín. Semena obsahují 10–20 % oleje zelené až žlutozelené barvy, který je možné využít jako stolní olej [8]. V oleji jsou obsaženy glyceridy kyseliny stearové, palmitové a linolové. V semenech některých odrůd byl objeven také vanilín. Kromě těchto látek jsou v semenech obsaženy také sacharidy, fenolické látky, bílkoviny, celulóza a minerální látky [7] [9].

Třapiny tvoří 3 až 5 % hmotnosti hroznů. Zpočátku jsou třapiny zelené a mají vyšší obsah vody, během procesu dozrávání postupně hnědnou a dřevnatí. Zdřevnatělé třapiny nemají nepříznivý vliv na kvalitu vína [7].

2.2 Popis technologického procesu výroby vína

Kvalita vína závisí na samotné kvalitě hroznů a jednotlivých kroků technologie výroby vína. Mezi důležité technologické procesy ovlivňující kvalitu a chuť vína patří odzrnění, lisování, fermentace a soubor operací, které je známe pod názvem „školení“. Patří sem mezikroky, které významně zvyšují kvalitu vína, např. čištění a filtrace [4]. Zjednodušené schéma výroby vína je zobrazeno na obrázku č. 2.



Obrázek č. 2 Schéma výroby vína [10]

Odzrnění je proces oddělení třapin od dužniny, který se provádí ihned po sklizni. Třapiny jsou odpadem a zpravidla se použijí jako hnojivo ve vinici. Odzrnění musí proběhnout šetrně, aby se nepoškodily pečičky v bobulích, ze kterých by se mohly dostávat do vína hořké látky. Takto oddělené bobule se nazývají rmut [4].

Lisováním se oddělí mošt a vylisované slupky tzv. matoliny. Výlisnost se zpravidla pohybuje od 60 % do 80 %. Po vylisování se mošt zpravidla odkaluje tak, že se oddělí usazené zbytky třapin a kalící látky. Po odkalení může následovat zvýšení cukernatosti. Pokud se cukernatost zvyšuje u červených vín, děje se to ihned po odzrnění, aby přidaný cukr kvasil spolu se rmutem [4].

Fermentace je u bílých a červených vín rozdílná. Při výrobě bílých vín kvasí mošt po vylisování, kdežto u červených vín kvasí rmut přímo se slupkami a k lisování dojde až po prokvašení rmutu. Kvašení může nastartovat samovolně díky kvasinkám, které jsou již na hroznech na vinici. V současnosti se však stále více používají speciálně selektované kmeny kvasinek. Kvašení je proces přeměny cukru na alkohol za vzniku oxidu uhličitého a tepla. Současným trendem je chlazení kvasícího moštu tak, aby jeho teplota nepřekročila 18–20 °C. Při této teplotě se ve víně uchová mnohem více přírodních aromatických látek, než kdyby mošt kvasil samovolně při vyšších teplotách. Kvasící mošt se nazývá burčák a je to, zejména v našich zemích, oblíbený nápoj. Především u červených vín se často po hlavním kvašení provádí ještě jablečno-mléčná fermentace, tedy přeměna hrubé kyseliny jablečné na hladší kyselinu mléčnou [4].

2.3 Matoliny a jejich využití

Předmětem této bakalářské práce je rafinace oleje získaného ze semene révy vinné, které jsou součástí matolin. Matoliny jsou zbytkové pevné produkty (slupky, dužina, semena a třapiny), které vznikají vylisováním hroznů révy vinné. Vinařský průmysl produkuje miliony tun matolin po celém světě, což způsobuje problém, jak využít takové velké množství odpadu. Nejčastěji se matoliny využívají k výrobě kyseliny vinné a etanolu. Využití matolin jako hnojiva je limitováno obsahem fenolických látek, které inhibují klíčení. Další využití matolin je jako krmivo pro hospodářská zvířata, kde je limitující obsah polyfenolů, který může u zvířat negativně ovlivnit trávení [11]. V přímořských státech jsou matoliny využívány také k výrobě destilátů [12].

2.4 Hroznový olej a jeho složení

Hroznový olej je rostlinný olej získávaný ze semen Révy vinné, který patří k odpadním produktům vznikajícím při výrobě vína. Největším producentem hroznového oleje je Itálie, za kterou následují Francie, Španělsko a Argentina [8]. Obsah hroznového oleje v semenech se pohybuje okolo 11,6–19,6 % v závislosti na vyzrálosti bobulí. Vyzrállost bobulí a odrůda Révy vinné má také vliv na složení mastných kyselin v oleji. Přehled nejvíce zastoupených mastných kyselin je zobrazen v tabulce č. 1. Esenciální nenasycené mastné kyseliny tvoří až 86 % oleje. Hroznový olej se vyznačuje jemnou chutí, která připomíná oříšky. Využití oleje je velmi široké, díky vysoké teplotě přepalování je využíván v teplé kuchyni, ale lze jej použít také při přípravě salátů či majonéz. V kosmetice se tento olej přidává do přípravků proti suché kůži a podrážděné kůži. Hroznový olej také obsahuje antioxidanty, které mají pozitivní vliv na zdraví lidského organismu. Bylo dokázáno, že olej může zvyšovat hladinu HDL cholesterolu, a naopak snižovat hladinu LDL cholesterolu, což napomáhá prevenci srdečních chorob [8] [13].

Tabulka č. 1 Zastoupení mastných kyselin ve hroznovém oleji [14]

Mastná kyselina	Koncentrace [hm. %]
Linoleová	0,1-0,7
Linolová	65-67
Olejová	12-28
Palmitolejová	0,1-0,5
Stearová	3-6
Palmitová	5-11

Lipidy tvoří jednu z hlavních nezbytných složek výživy organismů. Lipidy jsou definovány jako přírodní sloučeniny obsahující esterově vázané mastné kyseliny o více než třech atomech uhlíku v molekule [15].

Homolipidy jsou sloučeniny mastných kyselin a alkoholů a dále se dělí podle struktury vázaného alkoholu [15].

Heterolipidy jsou lipidy obsahující kromě mastných kyselin a alkoholu ještě další kovalentně vázané sloučeniny. Může zde být navázána kyselina fosforečná, tvořící fosfolipidy nebo například D-galaktosa tvořící glykolipidy [15].

Komplexní lipidy obsahují jak homolipidy, tak i heterolipidy. Kromě kovalentních vazeb mohou být některé složky vázány také nekovalentními vazbami, jako jsou například vodíkové můstky nebo hydrofobní interakce [15].

Mastné kyseliny jsou nejdůležitější a z hlediska výživy nejvýznamnější složkou lipidů. Podle názvosloví organické chemie se jako mastné kyseliny označují karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem. Některé mastné kyseliny jako například octová, se ale v přírodních lipidech nevyskytují, naopak některé mastné kyseliny v lipidech mohou být alicyklické nebo aromatické [15].

Nasyčené mastné kyseliny se běžně vyskytují v přírodních lipidech. Běžně obsahují 4 až 38 atomů uhlíku, které mají zpravidla nerozvětvený řetězec o sudém počtu uhlíků. Tvoří 10-40 % kyselin obsažených v běžných přírodních lipidech [16].

Nenasycené mastné kyseliny mají v molekule nejméně jednu nenasycenou (dvojnou vazbu). Esenciální nenasycené mastné kyseliny si lidský organismus nedokáže sám vytvořit a musí být přijímány potravou [17].

Volné mastné kyseliny jsou mastné kyseliny, které nejsou navázány na glycerin. Rychleji podléhají oxidativním změnám způsobeným světlem a vysokými teplotami. Tato reakce s kyslíkem se nazývá žluknutí olejů [18].

Transmastné kyseliny se běžně v rostlinných tucích nevyskytují, ale mohou vznikat při vyšších teplotách, zejména při ztužování tuků. Transmastné kyseliny jsou považovány za rizikový faktor při vzniku nemocí srdce a krevního oběhu [18].

Vitamín E (Tokoferol) jsou látky odvozené od tokolu a tokotrienolu. Je obsažen ve všech rostlinných olejích. Tento vitamín je rozpustný v tucích a zastává v rostlinách funkci ochranného faktoru tak, že chrání více nenasycené mastné kyseliny před autooxidací [18]. Jedná se o nejúčinnější látku mezi antioxidanty, které radikálně zneškodňují volné radikály. Při rafinaci část vitamínu zkapalní, často se však do olejů opět přidává [17].

Barviva

Barevné látky nebo pigmenty jsou látky, jejichž přítomnost v buňkách určuje charakteristickou barvu založenou na selektivní absorpci světla. Barviva jsou významnou skupinou sensoricky aktivních látek. Barviva mohou být klasifikována podle různých kritérií, jako je výskyt, rozpustnost nebo struktura. Podle struktury rozeznáváme:

- Dusíkaté heterocykly, kde k nejvýznamnějším zástupcům patří hemová a chlorofylová barviva odvozená od pyrrolu.
- Kyslíkaté heterocykly, kam náleží zejména flavonoidy.
- Fenoly a od nich odvozené chinony zahrnují nejrozličnější barviva jako například kurkuminoidy.
- Terpenoidy, kam se řadí zejména tetraterpeny a od nich odvozené pigmenty karotenoidy [16].

Chlorofylová barviva jsou skupinou zelených barviv, která se nacházejí v pletivech zajišťujících fotosyntézu. Vyskytují se proto ve většině rostlin a také v některých bakteriích jako tzv. bakteriochlorofyly. Základní strukturou chlorofilů je cyklický tetrapyrrol 17, 18 – dihydroporfyrin [16].

Karotenoidy jsou značně rozšířené žluté oranžové, výjimečně také žlutozelené a červené pigmenty [16]. Jejich zásadní přínos spočívá v antioxidačním působení. Chrání buňky před poškozením nestabilními molekulami kyslíku, tzv. volnými radikály. β karoten se v organismu mění na vitamín A (na vitamín A se může přeměnit alfa karoten i kryptoxantin, ale ne v takovém množství) [19]. Karotenoidy napomáhají rostlinám absorbovat světelnou energii a také to jsou významné antioxidanty deaktivující volné radikály [20].

2.5 Rafinace oleje

V poslední době roste produkce a zpracování zejména jedlých olejů jako jsou lněný, sójový, kukuřičný a podobné. Při přípravě těchto olejů je olej často získáván pomocí organického rozpouštědla, jako je například hexan. Při této přípravě je po odpaření rozpouštědla výsledkem surový olej, který obvykle obsahuje až 10 hm. % nečistot jako jsou fosfolipidy, vosky, sirné sloučeniny, barviva a podobné látky. Tyto nečistoty mají často nepříznivý vliv na použitelnost oleje a je nutné je odstranit [21]. Rafinace zahrnuje několik kroků, prvním z nich je bělení, při kterém pomocí adsorpce docílíme odbarvení a odstranění nečistot v oleji [22]. Jako alternativní metodu pro čištění je možné využít membránovou separaci [21]. Dalším krokem rafinace je odslizování, kde jsou z oleje odstraněny ve vodě rozpustné látky [23]. Posledním krokem je deodorace, která může být zahrnuta v procesu, pokud jsou v oleji obsaženy těkavé látky, které způsobují nepříjemný zápach. Deodorace se často provádí za zvýšených teplot destilací vodní parou, což způsobuje znehodnocování oleje [24].

Adsorpce nastává vždy, pokud je pevná látka v kontaktu s kapalinou nebo plynem. Je definována jako obohacení materiálu nebo zvýšení hustoty kapaliny na rozhraní pevné látky a plynu nebo kapaliny. Za určitých podmínek nastává znatelné zvýšení koncentrace na rozhraní fází a celkový efekt je závislý na míře velikosti rozhraní. Z tohoto důvodu mají všechny používané adsorbenty velký specifický povrch (obecně více než $100 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) [25].

Aktivní uhlí je vysoce porézní uhlík s mimořádně velkým vnitřním povrchem. Tvoří jej soubor grafitových destiček, jejichž vzájemná vzdálenost tvoří póry a mikropóry, kde probíhá samotná adsorpce. Existuje několik druhů aktivního uhlí závislých na materiálu, z kterého jsou vyrobeny. Výsledné produkty se liší svojí strukturou. Nejběžnější suroviny pro výrobu jsou černé uhlí, kokosové skořápky, tvrdé dřevo a dříve se také používaly zvířecí kosti [25] [26].

Amberlite XAD 4

Je polymerní adsorbent dodávaný jako bílé nerozpustné kuličky. Jedná se o neiontový zasilovaný polymer. Za své adsorpční schopnosti vděčí své patentované makroretikulární struktuře (obsahující kontinuální polymerní fázi a kontinuální porézní fázi). Tato struktura dodává Amberlite XAD 4 výbornou fyzikální, chemickou a termální stabilitu. Dle výrobce je jeho specifický povrch nejméně $750 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ [27].

Bentonit

Částice bentonitu jsou jedny z nejrozšířenějších anorganických koloidů vyskytujících se ve vodních systémech. Jsou považovány za jedny z nejlepších přírodních adsorbentů pro adsorpci znečišťujících částic, jako jsou ionty kovů a pesticidy obsažených v roztoku [28]. Pomocí aktivace je možné zvýšit specifický povrch bentonitu z 80 na $250 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ [25].

Odslizení

Odslizení neboli hydratace má za cíl odstranit všechny látky, které jsou v oleji suspendované v nerozpustné formě. Spolu s polárními látkami jsou také odstraněny rozpustné látky, které jsou v přítomnosti vody hydratovatelné, případně při zvýšení teploty mohou koagulovat. K odslizení je možné použít několik metod a to adsorpci, sedimentaci nebo hydrataci. Nejvhodnější je metoda hydratace, kdy je k oleji přidána voda a dochází k hydrataci bílkovin, slizových látek a fosfolipidů. Tyto látky koagulují za zvýšení hustoty oleje, a proto je možné je oddělit sedimentací nebo odstředováním [29].

2.6 Význam hroznového oleje

Hroznový olej je hodnotný jedlý olej, který se vyznačuje obsahem zdraví prospěšných bioaktivních látek, jako jsou tokoferoly, tokotrienoly, esenciální mastné kyseliny, polyfenoly, třísloviny a fytosteroly. Složení těchto bioaktivních látek je dáno druhem Révy vinné. Značný vliv na složení má také technika použitá k extrakci oleje, vyzrállost bobulí, poloha vinic a

celkové podmínky, v kterých byla rostlina, ze které byly získány semena, pěstována. Nejvíce zastoupenými mastnými kyselinami v hroznovém oleji jsou kyselina linolová (C18:2n6) a kyselina olejová (C18:1n9), které tvoří až 90 % zastoupených mastných kyselin v oleji [30].

Kyseliny linolová se řadí mezi esenciální mastné kyseliny, a proto je pro člověka nezbytné ji přijímat v potravě. Její další pozitivní vlastností je hypocholesteromický efekt a je dokázáno, že může snižovat obsah cholesterolu v krevní plazmě. Mezi další benefity linolové kyseliny patří snižování dopadu symptomů Crohnovy nemoci [31].

Polyfenoly jsou další významnou skupinou bioaktivních látek obsažených v oleji. V poslední době si polyfenoly získaly mnoho pozornosti v léčbě rakoviny. Jejich výhodou je méně vedlejších účinků a nízká toxicita. Přibývající důkazy nám potvrzují, že polyfenoly mají účinek ve více cílových místech v organismu a mohou využít svůj anti rakovinový potenciál skrze mnohočetné buněčné signální cesty k léčbě různých druhů rakovin [32].

Fytosteroly, také známé jako rostlinné steroly patří mezi hlavní steroly obsažené v rostlinných extraktech a olejích. Vzhledem k bioaktivitě fytosterolů bylo provedeno mnoho studií vlivu fytosterolů organismus. První z nich je prevence nemocí oběhové soustavy, kdy mají fytosteroly schopnost díky své podobné struktuře s cholesterolem absorbovat se na jeho místo a tím snižují obsah cholesterolu v krvi. Nedávné studie také poukázaly na velkou souvislost konzumace fytosterolu s prevencí rakoviny [33].

Díky hodnotnému složení a příznivým vlastnostem získává hroznový olej na popularitě v potravinářském použití, kosmetice a farmaceutickém průmyslu. Hroznový olej byl také zkoumán jako možný zdroj přírodních antioxidantů a bioaktivních látek [30].

Hroznový olej na českém trhu

V současnosti se na trhu vyskytuje stále více méně známých olejů a jejich popularita stoupá. Nejčastěji je možné zakoupit je v potravinách se zdravou výživou, ale v poslední době si nacházejí cestu i do běžných supermarketů. Zvýšení poptávky je způsobeno tím, že mnoho lidí touží po zdravém životním stylu a vyhledává nutričně hodnotné potraviny [34].

V tabulce č. 2 jsou uvedeny vybrané výrobky běžně dostupné na českém trhu, přičemž nejčastěji prodávaným výrobkem na internetových obchodech byl Extra panenský révový vinný olej 100 ml z vinařství Proqin s.r.o., Velké Němčice.

Tabulka č. 2 Přehled hroznových olejů určených k potravinářskému použití na českém trhu

Název	Výrobce	Původ	Obsah PUFA [hm. %]	Cena za 100 ml v korunách
Extra panenský révový vinný olej 100 ml ^[1]	Vinařství Proqin s.r.o., Velké Němčice	Velké Němčice	N	199,00
Olej z hroznových jader 187 ml ^[2]	Agro Boskovštejn s.r.o., Boskovštejn	Znojenské vinice	74,9	72,19
Hroznový olej OLITALIA 1000 ml ^[3]	Olitalia, Itálie	Itálie	66,30	16,42

PUFA – polynenasycené mastné kyseliny, N – neuvedeno prodejcem

^[1] [cit. 2019-04-26] <http://www.proqin.cz/proqin-revovy-vinny-olej>.

^[2] [cit. 2019-04-26] <https://www.vinovin.cz/p/olej-z-hroznovych-jader-187-ml>

^[3] [cit. 2019-04-26] <https://www.cano.cz/hroznovy-olej-olitalia-1l>

2.7 Metody získávání hroznového oleje

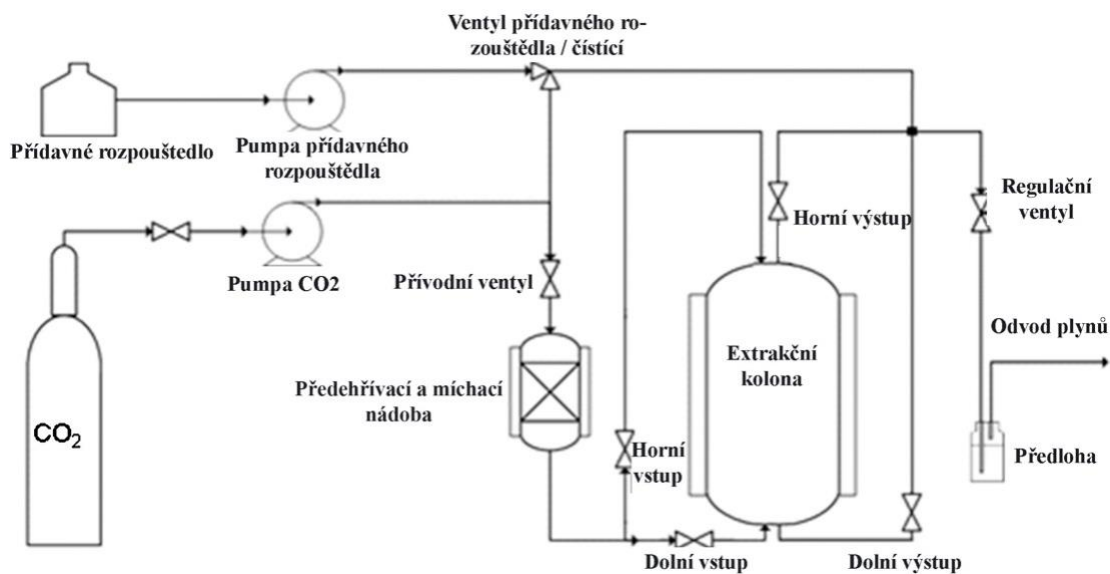
Extrakce n-hexanem je momentálně nejvyužívanější technika ke zpracování biomasy ze semen Révy vinné. Důležitým předpokladem průběhu extrakce je předúprava semen, za účelem hlubokého narušení pletiv a buněk. V narušených buňkách dochází k prosté difuzi oleje do rozpouštědla, vzniká miscela. U nenarušených buněk dochází přes buněčnou stěnu k difuzi rozpouštědla do buňky (intracelulární miscela), následně k difuzi intracelulární miscely do kapilár, vzniká kapilární miscela. Hnací silou procesu je rozdíl koncentrací oleje v intracelulární a kapilární miscelě. Dříve se jako rozpouštědlo nejčastěji využíval extrakční benzín, který měl však široké destilační rozmezí. Momentálně se nejvíce využívá n-hexan, kde ale při extrakci za normálního tlaku nemůže být překročena teplota 60 °C. Nízká teplota zapříčiňuje zvýšení koncentrace fosfolipidů v extraktu. V dnešní době je možné provádět extrakci za vyšších teplot na automatických extraktorech za zvýšeného tlaku [35]. Příkladem toho přístroje je automatický extraktor Soxterm zobrazený na obrázku č. 3. Mezi další nevýhody použití n-hexanu jako rozpouštědla, patří vysoká hořlavost a nepříznivý vliv na zdraví člověka [36].

Zvýšení výtěžku extrakce n-hexanem může být realizováno enzymatickou úpravou vzorku, kdy může dojít k navýšení výtěžku za vhodných podmínek až na 17,5 hm. % [43]. Další možností, jak zvýšit výtěžnost je aplikace ultrazvukové energie. Důležitým aspektem pro úspěšnou extrakci s asistencí ultrazvuku je vytvořit správné podmínky pro extrakci odpovídající rostlinnému materiálu. Použití ultrazvuku může mít pozitivní vliv na přenos hmoty, narušení rostlinných buněk, pronikání rozpouštědla a kapilární jevy [44].



Obrázek č. 3 Automatický extraktor Soxterm firmy Gerhart (Neměcko)

Extrakce superkritickým oxidem uhličitým (SC-CO₂) v posledních letech získala v potravinářském průmyslu mnoho pozornosti. Výtěžky získané pomocí SC-CO₂ extrakce jsou srovnatelné s extrakcí do organických rozpouštědel. Mimo jiné, na rozdíl od extrakce organickým rozpouštědlem, se jedná o extrakci netoxickým, nehořlavým a poměrně levným rozpouštědlem. Další nespornou výhodou je, že oxid uhličitý je dostupný ve velkém množství s poměrně velkou čistotou. Oxid uhličitý s kritickým tlakem 73,8 atm a kritickou teplotou 31,1 °C se jeví jako vhodné rozpouštědlo pro přírodní produkty [37]. SC-CO₂ využívá toho, že se některé látky chovají zároveň jako plyn a zároveň jako kapalina. Jejich rozpouštěcí schopnost se zvyšuje, pokud je jejich tlak a teplota zvýšena nad jejich kritický bod [38]. Na obrázku č. 4 je zobrazeno schéma extrakce SC-CO₂ použité v práci Pedro F. Martins a kol. (2016) [39].



Obrázek č. 4 Schéma extrakce superkritickým oxidem uhličitým [39]

Za studena lisovaný olej je olej získávaný z rostlinných semen lisováním šroubovým nebo hydraulickým lisem. Lisování za studena se často využívá místo extrakcí do rozpouštědla, z důvodu absence organického rozpouštědla či zahřívání. Za studena lisovaný olej si zanechává bioaktivní látky, jako jsou esenciální mastné kyseliny, polyfenoly, flavinoidy a tokoferoly. Vedlejší produkty vzniklé při lisování jsou důležitou součástí procesu kvůli obsahu zbytkového oleje, vlákniny, minerálů a dalších látek [40] [41]. Tyto vedlejší produkty mohou být využity k produkci hnojiva a substrátů [42].

Zvýšení výtěžku extrakce n-hexanem může být realizováno enzymatickou úpravou vzorku, kdy může dojít k navýšení výtěžku za vhodných podmínek až na 17,5 hm. % [43]. Další možností, jak zvýšit výtěžnost je aplikace ultrazvukové energie. Důležitým aspektem pro úspěšnou extrakci s asistencí ultrazvuku je vytvořit správné podmínky pro extrakci odpovídající rostlinnému materiálu. Použití ultrazvuku může mít pozitivní vliv na přenos hmoty, narušení rostlinných buněk, pronikání rozpouštědla a kapilární jevy [44].

2.8 Využití odpadních semen po vytěžení oleje

Semena Révy vinné po extrakci, mohou být využity pro produkci fenolických sloučenin, jako jsou kyselina gallová, katechin a epikatechin a také široké spektrum prokyanidinů. Tyto látky mají široký rozsah biologických aktivit. Nejvhodnější získávání oleje pro pozdější využití odpadu je metodou lisováním za studena. Touto metodou je možná zajistit nízké teploty, kdy nedojde ke ztrátě fenolických látek. Tuto metodu je také možné využít pro odpadní semena po extrakci n-hexanem, kde je ovšem dosaženo nižších výtěžků [45].

2.9 Instrumentace charakterizace hroznového oleje

Chromatografie všeobecně je separační metoda, při které se separují složky obsažené ve vzorku [46]. Principem separace vzorku je různá afinita složek vzorku k mobilní a stacionární fázi. Důsledkem různé afinity k fázím je různá rychlost migrace vzorku. Složky s malou afinitou vůči stacionární fázi budou putovat rychleji než složky s větší afinitou [47].

Plynová chromatografie je široce používána metoda zejména v organické chemii. V plynové chromatografii je vzorek odpařen a unášen nosným plynem, který tvoří mobilní fázi. Stacionární fází je ve většině případů netěkavá kapalina nesena inertní pevnou látkou, jako je např. křemelina. Během analýzy je vzorek injektován předehřátým injektorem do předehřáté kolony, kde dojde k okamžitému odpaření injektovanému vzorku. Do kolony je dávkováno 0,1–10 μl kapalného vzorku nebo 1–10 ml plynného vzorku. Nosný plyn tvoří chemicky inertní plyn dostupný v čisté formě. Těmito plyny mohou být například argon, helium nebo dusík [48]. Pro nutnost přeměny analytů v plyny můžeme separovat pouze takové látky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost menší než $1000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Častým postupem přípravy vzorku pro plynovou chromatografii je chemická změna analytu nevyhovujících vlastností na deriváty, které mohou být pro analýzu použitelné [46].

V kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina. Na rozdíl od plynové chromatografie rozhodují o separaci složek vzorku nejen jejich interakce se stacionární fází, ale velmi výrazně ji ovlivňuje také použitá mobilní fáze. Čas, jaký stráví v jedné nebo druhé fázi, závisí na afinitě analytu ke každé z nich. V kapalinové chromatografii je možné využít všechny možné mechanismy separace – adsorpce, rozdělování na základ rozdílné rozpustnosti, iontová výměna, efekt molekulových sít nebo specifické interakce v afinitní chromatografii. Díky možnosti pracovat za laboratorní teploty, je kapalinová chromatografie vhodná i pro separaci tepelně nestálých a netěkavých sloučenin. Nevýhodou této metody jsou vysoké tlaky (až 35 MPa), které jsou velmi náročné na vybavení [46].

Tenkovrstvá chromatografie je separační metoda, kterou můžeme ve většině případů zařadit mezi chromatografii kapalina-adsorbent. Jako stacionární fáze bývá zpravidla jemný zrnitý materiál, jako například silikagel nebo alumina, rozprostřený na skleněné nebo hliníkové destičce. Tyto destičky mohou být vytvořeny nasypáním sorbentu na desku (sypané vrstvy) nebo nalitím suspenze adsorbentu s pojivem na destičku (tmelené vrstvy). [46]

V absorpční chromatografii zvyšuje eluční sílu jejich polarita (od hexanu přes alkoholy po vodu). Jako mobilní fáze mohou být použity jedno nebo až tři rozpouštědla. Tyto rozpouštědla jsou unášeny tenkou vrstvou sorbentu a způsobují měnící se složení v závislosti vzdálenosti na desce. Výsledkem toho je škála retardačních faktorů R_f závislých na tom, jak se posunul nanosený vzorek na desce. Barevné látky mohou být detekovány pouhým okem, u bezbarvých látek musíme body na desce vizualizovat pomocí různých technik [46] [48].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité přístroje

Thermo scientific TRACE™ 1300 Gas Chromatograph

Thermo scientific AI 1310 Autosampler

VWR Digital 2 Block Heater

Soxterm Multistat / SX PC (Gerhart Německo)

Analytické váhy (BOECO Německo)

Centrifuga

Vakuová rotační odparka

3.2 Použité chemikálie a materiál

Chloroform HPLC (Penta s.r.o. Česká Republika)

n – Hexan p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Etanol p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Bentonit BA-03 (Keramost a.s. Česká Republika)

Hydroxid sodný p.a. (Lachner Česká Republika)

Amberlite XAD 4 (Dow chemicals USA)

Kyselina sírová p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Kyseliny chlorovodíková p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Kyselina octová p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Petroeter p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Izopropanol p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Metanol p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

Acetonitril p.a. (Penta s.r.o. Česká Republika)

3.3 Popis vzorku

K analýze byly použity vzorky, které vznikly jako směs dvou různých odrůd sbíraných ve stejném období.

Vzorek semen z vinařství. Jako matrice pro analýzu byla použita vysušená semena Révy vinné odrůdy Zelený Větliner a Sauvignon Blanc. Hrozny, které byly použity jako matrice, byly sklizeny v září roku 2018 ve vinařství Vavříček Březí u Mikulova. Vinice se nachází ve vinařské oblasti Morava a podoblasti Mikulov.

Komerční hroznový olej. s prodejním názvem Olej z hroznových jader 187 ml, vyrobený lisováním za studena v Agro Boskovštejn s.r.o. ve městě Hostim. Zakoupený v kamenném obchodě Vínovín v Brně. Vzhled komerčního oleje je vyobrazen na obrázku č. 5. Na etiketě vzorku bylo výrobcem uvedeno složení uvedené v tabulce č. 3. Na výrobku bylo dále uvedeno, že se jedná o silný antioxidant a že výrobek pozitivně působí na srdce a cévy.



Obrázek č. 5 Komerční olej použitý pro analýzu

Tabulka č. 3 Nutriční ukazatele komerčního hroznového oleje

Nutriční ukazatele	Složení ve 100 g výrobku
Energetická hodnota	3400 kJ (830) kcal
Bílkoviny	0 g
Sacharidy	0 g
Tuky	100 g
Nasyčené mastné kyseliny	10,8 g
Mononenasyčené mastné kyseliny	14,3 g
Polynenasycené mastné kyseliny	74,9 g
Vitamín E	16 mg

Hodnoty uvedené tabulce jsou převzaty z etikety komerčního hroznového oleje

3.4 Extrakce a rafinace oleje

Extrakce oleje ze semen

Olej je nejčastěji získáván dvěma metodami, a to lisováním nebo extrakcí do rozpouštědla. Vzhledem k nízkému obsahu oleje v semenech je vhodné semena oloupat, abychom snížili objem neolejné části. Oloupáním semen docílíme většího obsahu oleje v procentech a zvýšíme účinnost lisování.

Extrakce se provádí nejčastěji do benzenu nebo hexanu. Extrakcí do rozpouštědla získáme vzorek, který je více znečištěn než v případě lisování. Nicméně pro potravinářské použití může být brán v úvahu jen lisovaný olej [49].

Postup: Vysušená semena byla rozemleta v kávovém mlýnku a odvážena do celulosových patron asi 1,5 cm pod okraj patrony. Patrona byla ucpána vatou, aby se na vzorek při extrakci nevymílal. Vzorek v patroně byl vložen do drátěného držáku v extrakční nádobě. Nádoba se vzorkem byla doplněná asi 2 cm pod okraj hexanem a byly přidány varné kamínky. Po naplnění byla nádoba zasunuta do přístroje. Po zapnutí přístroje do elektrické sítě, bylo zapnuto chlazení a kompresor. Následně byly do počítače vloženy požadované podmínky a extrakce byla zahájena.

Použité metody rafinace oleje

Pro rafinaci extrahovaného oleje byly v bakalářské práci použity následující postupy v pořadí, jak jsou uvedeny.

1) Příprava kyselého modifikovaného bentonitu

15 g přírodního bentonitu bylo aktivováno refluxem s 200 ml zředěné kyseliny sírové ve vodě 1:1 (v/v) při teplotě 60 °C po dobu 2 hodin ve varné baňce. Suspenze byla ponechána k vychladnutí na vzduchu. Směs byla následně zředěna destilovanou vodou na 800 ml a přefiltrována. Filtrační koláč byl 3krát důkladně promyt destilovanou vodou. Aktivovaný bentonit byl sušen v sušárně při 120 °C po dobu 2 hodin. [50]

2) Odstranění barviv pomocí adsorpce

Pro adsorpci bylo vždy odváženo 5 ml extrahovaného vzorku. Následně bylo přidáno nejprve 0,1 g poté 0,5 g a 1 g sorbentu, suspenze byla míchána 20 minut na magnetické míchačce za laboratorní teploty. Suspenze byla převedena do centrifugační zkumavky a centrifugována 3 minuty při 6000 ot · min⁻¹. Supernatant byl opatrně oddělen odlitím a uchován v chladícím zařízení při teplotě 8°-10°C.

3) Odslizení

Adsorpcí očištěný vzorek byl odpipetován do centrifugační zkumavky v poměru 1:1 s vodou. Po důkladném vortexování (3–5 min) byl vzorek ponechán 5 minut stát pro oddělení fází. Následně byla odpipetována organická fáze obsahující olej, která se nacházela v horní části zkumavky.

3.5 Charakterizace vlastností oleje

Charakterizace byla provedena u extrahovaného oleje nečištěného a u komerčního vzorku. Extrahovaný olej čištěný nebyl podroben charakterizaci z důvodu velké spotřeby vzorku.

Číslo kyselosti udává obsah volných mastných kyselin v tuku a vyjadřuje se jako hmotnost hydroxidu draselného v mg potřebná k neutralizaci 1 g tuku. Vzorek se rozpustí za horka v etanolu a titruje se roztokem hydroxidu draselného podle rovnice [51].

Postup: Do malé kádinky byl na analytických vahách odvážen 1 g oleje a navážka byla kvantitativně převedena asi 100 ml etanolu neutralizovaného na fenoftalein do titrační baňky. Směs byla zahřata na elektrickém vařiči k varu, následně promíchána a poté byly přidány 3 kapky fenolftaleinu. Titrace probíhala za horka odměrným roztokem hydroxidu draselného (0,1 mol l⁻¹ v etanolu) do růžového zbarvení, které vydrželo alespoň 30 s. Zároveň byl prováděn slepý pokus se 100 ml etanolu.

Výpočet:

Číslo kyselosti se vyjadřuje jako hmotnost hydroxidu draselného v mg potřebná k neutralizaci 1 g vzorku a vypočítá se podle rovnice (1).

$$\check{C}K = \frac{(V_s - V_0) \cdot c \cdot Mr_{KOH}}{m} \quad (1)$$

ČK – číslo kyselosti, V_s – spotřeba hydroxidu draselného (KOH) na vzorek, V_0 – spotřeba KOH na slepý vzorek, c – koncentrace KOH, Mr_{KOH} – molární hmotnost KOH, m – navážka oleje pro stanovení

Číslo zmydelnění udává hmotnost hydroxidu draselného v mg potřebných k neutralizaci volných i vázaných mastných kyselin v 1 g tuku. Vzorek se zmydelňuje varem s nadbytkem hydroxidu draselného v alkoholickém roztoku. Přebytký hydroxid je stanoven titrací kyselinou chlorovodíkovou. [51]

Postup: Do malé kádinky byl na analytických vahách odvážen 1 g oleje. Navážka byla kvantitativně převedena 25 ml hydroxidu draselného do destilační baňky. Po přidání kousků pemzy se vzorem zmydelňoval pod zpětným chladičem 30 minut. Současně byl prováděn slepý pokus stejným postupem, ale bez vzorku. Do horkého roztoku byly přidány 3 kapky fenolftaleinu a roztok byl titrován odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové do odbarvení indikátoru. Stejným způsobem byl titrován také slepý pokus.

Výpočet:

Číslo zmydelnění se vypočítá jako hmotnost hydroxidu v mg potřebná k neutralizaci 1 g vzorku podle rovnice (2).

$$\check{C}Z = \frac{(V_s - V_0) \cdot c \cdot Mr_{KOH}}{m} \quad (2)$$

ČK – číslo kyselosti, V_s – spotřeba hydroxidu draselného (KOH) na vzorek, V_0 – spotřeba KOH na slepý vzorek, c – koncentrace KOH, Mr_{KOH} – molární hmotnost KOH, m – navážka oleje pro stanovení

Jodové číslo udává hmotnost jodu v gramech, která se aduje na 100 g tuku za podmínek metody. Je měřítkem celkového obsahu dvojných vazeb v tuku a slouží k posouzení jeho čistoty, k identifikaci neznámých tuků a k posouzení použitelnosti tuku pro různé účely [51].

Postup: Nejprve byl připraven roztok jodmonobromidu rozpuštěním 12,7g jodu ve 100 ml ledové kyseliny octové, přidáním 2,6 ml bromu a doplněním na 1000 ml ledovou kyselinou octovou. Do malé kádinky bylo naváženo asi 0,4 g vzorku oleje, vzorek byl převeden do

zábrusové Erlenmeyerovy baňky s 10 ml chloroformu. Do roztoku bylo napipetováno 25 ml jodmonobromidového roztoku a baňky byly uzavřeny zábrusovými zátkami navlhčenými roztokem 10% jodidu draselného. Obsah baňky byl promíchán a ponechán hodinu stát bez přístupu světla. Po hodině byly zátky opláchnuty destilovanou vodou do baňky a bylo přidáno 25 ml 10% jodidu draselného. Po 2 minutách bylo přidáno 100 ml vody a roztok byl titrován roztokem tiosíranu sodného ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$), do žlutého zbarvení. Poté byly přidány 3 ml škrobového roztoku a roztok titrován do odbarvení. Souběžně je paralelně připravován slepý vzorek bez navážky oleje.

Výpočet:

Ze spotřeby tiosíranu sodného na slepý pokus se vypočítá celkové látkové množství jodu v reakční směsi a ze spotřeby tiosíranu sodného na titraci vzorku se vypočítá látkové množství nezreagovaného jodu. Z rozdílu těchto dvou hodnot se vypočítá látkové množství a posléze hmotnost adovaného jodu v gramech a přepočítá se na 100 g vzorku dle rovnice (3).

$$J\check{C} = \frac{(V_s - V_0) \cdot c \cdot Mr_{I_2}}{m} \cdot 100 \quad (3)$$

$J\check{C}$ – jodové číslo, V_s – spotřeba thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), V_0 – spotřeba $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na slepý vzorek, c - koncentrace $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, Mr_{I_2} – molární hmotnost jódu, m – navážka oleje pro stanovení

Peroxidové číslo je měřítkem stupně oxidace tuků, udává množství peroxidů v tuku, které jsou schopny oxidovat jodid na jod za podmínek metody. Vyloučený jód je pak stanoven titrací roztokem tiosíranu sodného [51].

Postup: Do malých kádinek bylo odváženo 1–3 g tuku. Navážky byly kvantitativně převedeny do 50 ml směsi kyseliny octové a chloroformu 3 : 2 (v/v) do zábrusových Erlenmeyerových baněk. Do každé baňky bylo přidáno 1 ml roztoku jodidu draselného a směs byla promíchána. Baňky byly uzavřeny a ponechány stát ve tmě. Po uplynutí 20 minut bylo do každé baňky přidáno 100 ml vody a směs byla titrována tiosíranem sodným do žlutého zbarvení. Poté bylo přidáno 1 ml škrobového mazu a směs byla titrována do odbarvení roztoku. Stejným způsobem, ale bez přidání tuku byl připraven slepý vzorek.

Výpočet:

Ze spotřeby odměrného roztoku tiosíranu se vypočítá látkové množství peroxidů ve vzorku: $n(-\text{O}-\text{O}-) = n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) / 2$. Od této hodnoty se odečte látkové množství peroxidů ve slepém pokusu a výsledek se přepočítá na μg peroxidového kyslíku v 1 g tuku. Celý výpočet se provede dle rovnice (4).

$$P\check{C} = \frac{(V_s - V_0) \cdot c \cdot Mr_o}{m} \cdot 1000 \quad (4)$$

PČ – peroxidové číslo, Vs – spotřeba tiosíranu sodného (NaS₂O₃), V0 – spotřeba NaS₂O₃ na slepý vzorek, c - koncentrace NaS₂O₃, Mr_o – molární hmotnost kyslíku, m – navážka oleje pro stanovení

Stanovení rostlinných barviv pomocí chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

Na chromatografické desce SIGMA-ALDRICH (60778-25EA, 50 A medium pore diameter), asi 1 cm od spodního okraje, byla obyčejnou tužkou naznačena linie startu. Na tuto linii byl kapilárou 3x nanesen vyextrahovaný vzorek a chromatogram byl nechán zaschnout. Byla připravena vyvíjecí směs o obsahu 50 ml petroeteru, 5 ml izopropanolu a 0,125 ml destilované vody. Chromatografická směs byla vylita do chromatografické komory. Byla do ní ponořena chromatografická deska ve svislé poloze a komora byla uzavřena. Jakmile směs dostoupila asi 2 cm od horního okraje, obyčejnou tužkou bylo označeno čelo chromatogramu. Po vyschnutí chromatogramu byly odečteny jednotlivé retardační faktory barevných zón.

Stanovení rostlinných barviv pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC)

Příprava vzorku pro HPLC. Vyextrahovaný vzorek rozpuštěný v hexanu byl odpařen na vakuové rotační odparce. Olej byl rozpuštěn v acetonitrilu pro HPLC a byl vytvořen odměrný roztok o objemu 25 ml. Vzorek byl přefiltrován a převeden do vialky 1,8 ml.

Podmínky analýzy. Na HPLC analýzu byla použita analytická kolona Kinetex Core Shell C18 (150 mm, 5µm). Jako mobilní fáze A byla použita směs acetonitril : metanol : TrisHCl pufr pH = 8 (84:2:14, v/v). Mobilní fází B byla směs metanol a etylacetát (60:40, v/v) při průtoku mobilních fází 1 ml min⁻¹. Detekce byla prováděna PDA detektorem se snímáním 3D pole s třemi kanály 285, 445, 455 nm. Pro stanovení byl použit eluční program dle tabulky č. 4 trvající 19 minut.

Tabulka č. 4 Eluční program pro HPLC analýzu

Čas [min]	MF A [%]	MF B [%]
0,0	100	0
10,0	0	100
14,0	0	100
15,3	100	0
19,0	100	0

MF A – mobilní fáze A, MF B mobilní fáze B

Stanovení profilu mastných kyseliny pomocí plynové chromatografie (GC)

Příprava vzorku pro GC Extrakty vzorků byly odpařeny na vakuové rotační odparce a převedeny na odměrný roztok 25 ml rozpuštěním v chloroformu pro HPLC na koncentraci asi 10 mg l⁻¹. Roztok byl následně transesterifikován transesterifikační směsí o složení 15 % H₂SO₄ v metanolu (v/v) a 0,5 mg C₁₇ (interní standard). Do kryptovací vialky bylo napipetováno 1 ml vzorku v chloroformu a ke vzorku bylo přidáno 0,8 ml transesterifikační směsi. Takto připravené vialky byly zakrymlovány a inkubovány v termobloku po dobu 2 hodin při 85 °C. Po vychladnutí volně na stole byly vialky odkrymlovány. Do 4 ml vialek bylo napipetováno 0,5 ml 0,05 M roztoku NaOH, do kterého byl převeden celý obsah transesterifikované směsi z vialky. Ke směsi byl přidán 1 ml hexanu a směs byla intenzivně protřepána na multipozičním vortexu. Po oddělení fází bylo z horní hexanové fáze odebráno 0,1 ml a směs byla převedena do čisté vialky pro GC s 0,9 ml hexanu.

Podmínky stanovení. Stanovení bylo prováděno na koloně Zebron ZB – FAME: 7HG-G033-10 (30 m × 0,25 mm × 20 μm) při konstantním průtoku 1 ml min⁻¹. Jako nosný plyn byl použit vodík. Nástřik probíhal při teplotě 250 °C při split ratio 10:1. Analýza probíhala dle teplotního programu uvedeného v tabulce č. 5. Jako detektor byl použit plamenový ionizační detektor (FID).

Tabulka č. 5 Teplotní program pro plynovou chromatografii

Regenerační čas [min]	Poměr [°C/min]	Cílová hodnota teploty [°C]	Hold time [min]
0,000	Run	-	-
1,000	0	80	1
5,000	15	140	0
21,667	3	190	0
21,467	25	260	1
25,467	StopRun	-	-

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Výsledky extrakce

Olej byl extrahován n-hexanem z vysušených a rozemletých jader, získaných z matolin Révy vinné odrůdy Green Vetliner a Sauvignon Blanc. Výtěžky oleje po extrakci v přístroji Soxterm jsou uvedeny v tabulce č. 6.

Statistické zpracování: Ze 3 naměřených hodnot byl vytvořen průměr a směrodatná odchylka $7,3 \pm 1,8$ hm. %.

Tabulka č. 6 Výsledky výtěžku extrakce oleje z hroznových jader

Navážka semen [g]	Hmotnost oleje [g]	Obsah [hm. %]
49,30	2,61	5,29
94,35	8,36	8,86
98,09	7,52	7,67
Průměr		$7,3 \pm 1,8$

Výtěžek oleje z vinných semínek je v porovnání s jinými rostlinnými oleji poměrně nízký, ale očekávaný vzhledem k olejnatosti semen Révy vinné. U slunečnicového oleje se výtěžek

pohybuje okolo 50 % z celkové hmotnosti, což je více jak pětinasobek oproti semenům Révy vinné. Při porovnání s méně běžnými oleji jako je sezamový olej (okolo 35 %), lněný olej (35 – 45 %) [52], nebo olej ze Světlice barvířské (20 - 25 %) je výtěžek méně než poloviční [53]. Rombaut a kol. (2015) se své práci optimalizovali výtěžky hroznového oleje lisováním za studena. V závislosti od druhu semen a zvolených parametrů lisování (teplota a čas přehřátí semen v extrudu, otáčky extrudu, rozměry šneku a výtlačné hlavice) získali 13 – 15 % oleje [38]. Když srovnáme výsledky výtěžku oleje metodou extrakcí n-hexanem s uvedenou literaturou, je získání oleje pomocí extrakce n-hexanem méně účinné. Podle Ming-Hsun Cheng (2019) je extrakce n-hexanem oproti získávání oleje lisováním výhodnější, jak z hlediska ekonomického, tak z hlediska většího výtěžku [55]. Tento rozdíl mohl nastat použitým kultivarem vinné révy, oblastí pěstování nebo počasím v období růstu. Je třeba podotknout, že extrakcí n-hexanem se do oleje dostávají také pigmenty a barviva, například chlorofil, který nemusí být žádoucí. Proto jsme v bakalářské práci přistoupili k rafinaci oleje.

4.2 Výsledky čištění

V tabulce č. 7 jsou zobrazeny výsledky čištění pomocí adsorpce. U sorbentů je zobrazen nejlepší dosažený výsledek. Ze všech sorbentů modifikovaný bentonit jako jediný zcela vyčistil vzorek.

Tabulka č. 7 Použité adsorbenty pro rafinaci oleje

Aktivní uhlí	Bentonit	Kysele modifikovaný bentonit	XAD4
Beze změny	Mírné vyčištění vzorku	Odbarvený vzorek	Beze změny

Vzorek po extrakci byl značně zabarven nečistotami, proto byla zvolena rafinace adsorpcí. Jako adsorbenty byly vybrány látky s velkým měrným povrchem, které se běžně využívají k adsorpci. Při aplikaci aktivního uhlí nenastala žádná změna při žádném z přidávaných množství. U použitého aktivního uhlí nebyla definována jeho struktura, proto se mohlo jednat o aktivní uhlí s nízkým měrným povrchem. Stejně výsledky byly pozorovány také u sorbentu XAD4. V případě bentonitu nebyly při aplikaci 0,1 g sorbentu žádné změny u vzorku. Při aplikaci 0,5 g sorbentu bylo při porovnání s nečištěným vzorkem pozorováno mírné odbarvení. V posledním vzorku s přídatkem 1 g sorbentu byla pozorována světlejší barva než u předešlého. V důsledku postupného čištění se zvyšujícím se přídatkem, byl ke vzorku po odstředění ještě dvakrát přidán 1 g bentonit. Ani po opakovaném čištění nebylo docíleno úplného odbarvení vzorku. Při aplikaci kyselého modifikovaného bentonitu došlo po přídatku 0,1 g k úplnému vyčištění vzorku. Ke zvýšení účinnosti došlo v důsledku kyselého aktivace bentonitu, při které se několikanásobně zvětší specifický povrch bentonitu [25].

4.3 Výsledky charakterizace oleje

Tabulka č. 8 Titračně stanovená tuková čísla

Vzorek	ČK	ČZ	JČ	PČ
Komerční hroznový olej	$2,79 \pm 0,03$	154 ± 3	72 ± 5	92 ± 2
Extrahovaný hroznový olej nečištěný	$5,2 \pm 0,4$	133 ± 1	$91,9 \pm 0,8$	34 ± 3

ČK – číslo kyselosti, ČZ – číslo zmydlnění, JČ – jodové číslo, PČ – peroxidové číslo

Statistické zpracování: Všechny titraci byly provedeny nejméně 3krát (dokud nebylo dosaženo třech vzájemně blízkých hodnot). Odchylka byla stanovena pomocí funkce SMODCH.VYBER v programu MS Excel.

Číslo kyselosti (ČK) je měřítkem obsahu volných mastných kyselin. Při porovnání hodnot ČK naměřených u vzorků s Elena Kardash a Yakov I. Tur'yan (2005) u rostlinných olejů, kukuřičným (0,223) a sójovým (0,6) je stanovené hodnota nekolinásobně vyšší [56]. Nicméně u rafinovaných tuků jsou zpravidla hodnoty ČK nižší než u surových tuků, kde se ČK pohybuje v rozmezí hodnot 1-10 [51].

Číslo zmydlnění (ČZ), udává celkový počet mastných kyselin, je ve srovnání s G.Toscano a kol., 2012, kde bylo stanoveno pro vinný olej jako 192,0, velmi odlišné zejména u extrahovaného vzorku [57]. Vzhledem k malé navážce oleje, měly v případě stanovení ČK a ČZ velký vliv nečistoty obsažené v extrahovaném oleji.

Hodnoty jodového čísla (JČ) poukazují na zvýšený výskyt násobných vazeb v mastných kyselinách. Při porovnání výsledků s G.Toscano a kol., 2012, pro vinný olej (130,8) bylo JČ podstatně vyšší než u obou vzorků, což mohlo být způsobeno obdobím sběru, který má velký vliv na obsah oleje v semenech [57]. Dalším aspektem mohla být odrůda Révy vinné nebo počasí v sezóně, kdy byla plodina pěstována.

Vyšší hodnoty peroxidového čísla (PČ) poukazují na částečnou oxidaci vzorků, a to zejména u komerčního. Při porovnání (SihamBezzi a kol., 2008) panenského (11-16), lněného (8,9) a slunečnicového oleje (2,3) [58] jsou hodnoty PČ u obou vzorků značně zvýšené, a to zejména u komerčního vzorku. Rozdíly u jak u JČ, tak u PČ jsou pravděpodobně způsobeny blízkým datem minimální trvanlivosti komerčního vzorku. U extrahovaného vzorku mohla být vyšší hodnota PČ způsobena skladováním v chladničce, případně použitým n-hexanem na extrakci.

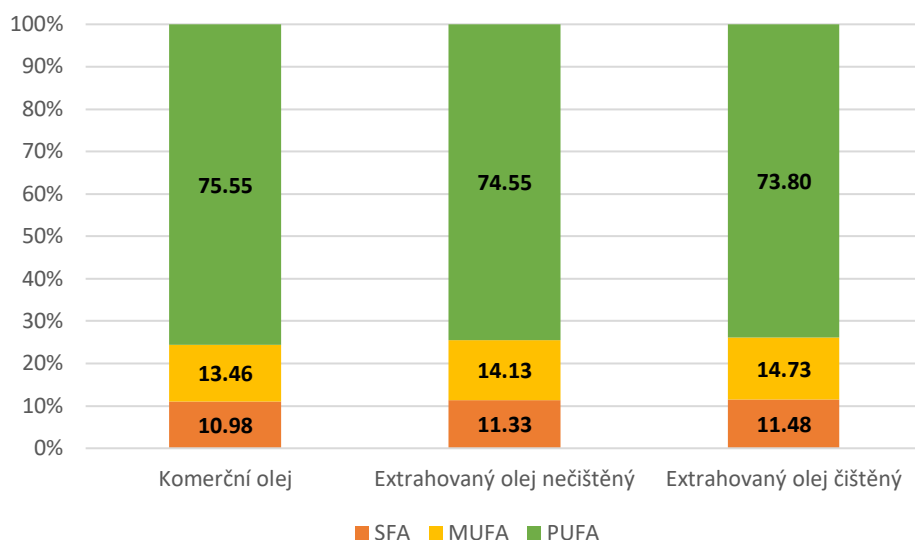
Výsledky charakterizace olejů jsou zobrazeny v tabulce č. 8. Výsledky tukových čísel ukazují na to, že oba oleje podlehly částečné degradaci vlivem času či působení prostředí. Nicméně JČ a ČK poukazují na to, že se jedná o nutričně hodnotný olej. Celkové složení hroznových semen může být ovlivněno použitou odrůdou Révy vinné, z které jsou semena získávána a nemalý vliv na složení má také stupeň vyzrállosti hroznů.

Profil mastných kyselin stanovený pomocí GC

Tabulka č. 9 Mastné kyseliny obsažené v olejích

Mastná kyselina	Triviální název	Obsah [hm.%]		
		Komerční hroznový olej	Extrahovaný olej nečištěný	Extrahovaný olej čištěný
C:16	palmitová	7,19	7,35	7,34
C:18	stearová	3,63	3,71	3,85
C:16:1	palmitolejová	0,16	0,23	0,23
C:18:1c	olejová	13,11	13,76	14,3
C:18:2t	trans-linolová	0,23	0,24	0,23
C:18:2c	linolová	74,98	70,71	73,4
C:18:3d3	a linoleová	0,39	3,14	0,52

V tabulce č. 9 jsou vyobrazeny výsledky stanovení obsahu mastných kyselin pomocí GC. Tabulka obsahuje hodnoty mastných kyselin přesahující obsah 1 hm. %. Do tabulky jsou také zahrnuty výsledky další významných mastných kyselin s obsahem pod 1 hm. %. Nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou ve všech vzorcích byla kyselina linolová. Výsledky byly porovnány s profilem mastných kyselin hroznového oleje získaných extrakcí n-hexanem z práce José P.Coelho a kol. (2018), kde byly vybrány kyselina linolová (64,52 hm. %), olejová (20,64 hm. %) a palmitová (8,13 hm. %) [36]. Pořadí zastoupených kyselin se s touto prací shoduje. Jiné procentuální zastoupení je dáno rozdílnou odrůdou Révy vinné. Vzhledem k vysokému obsahu nenasycených mastných kyselin se jedná o nutričně hodnotné rostlinné oleje. Trans-mastné kyseliny byly v oleji zastoupeny pouze v podobě kyseliny trans-linolové, kde její zastoupení v olejích nepřekročilo 0,24 hm. %.



Obrázek č. 6 Procentuální zastoupení mastných kyselin v oleji

Nasyčené mastné kyseliny (Saturated fatty acids, SFA), Mononenasyčené mastné kyseliny (Monounsaturated fatty acids, MUFA), Polynenasycené mastné kyseliny (Polyunsaturated fatty acids, PUFA)

Z grafu na obrázku č. 6 je patrné, že největší podíl v mastných kyselinách (MK) zaujímají polynenasycené mastné kyseliny (PUFA). Nejvíce PUFA se nacházelo v komerčním vzorku a nejméně ve vzorku čištěném. Pro extrahovaný a čištěný vzorek byla použita stejná matrice. Rozdíly v podílu MK byly pravděpodobně způsobeny degradací oleje v průběhu rafinačního procesu, kde byly oxidovány dvojně vazby PUFA. Na Grafu č. 1 můžeme pozorovat nárůst obsahu mastných kyselin, na které byly degradovány PUFA. Nicméně se jedná o velmi malý rozdíl, který nějak nebrání v používání metody rafinace. Výsledky mohly být také ovlivněny nečistotami v extrahovaném vzorku. Zastoupení mastných kyselin v komerčním oleji uvedených v tabulce č. 9 se od hodnot uvedených výrobcem neliší více jak 1,5 %.

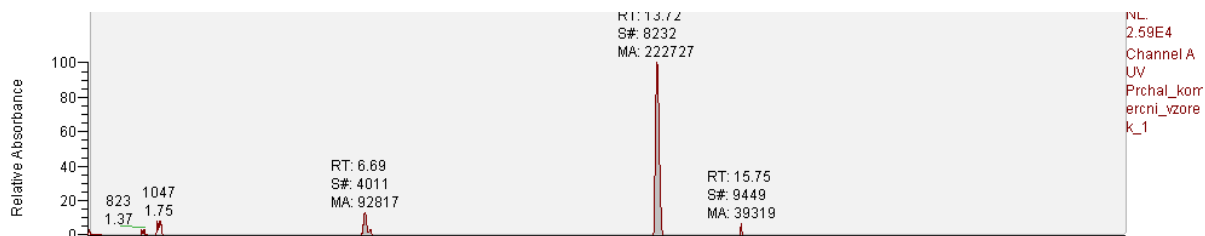
Výsledky kvalitativního stanovení rostlinných barviv



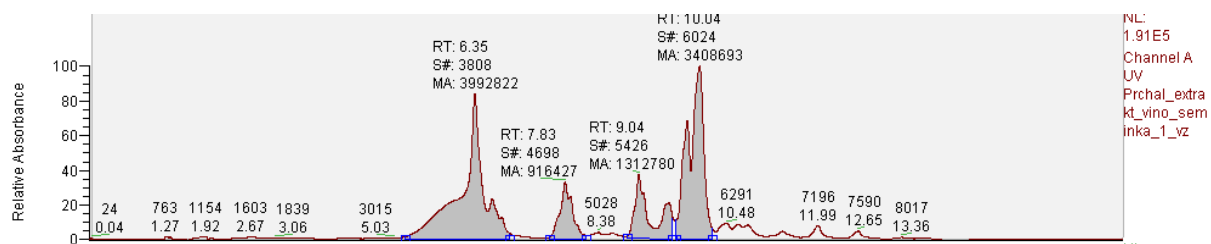
Obrázek č. 7 Chromatogram stanovení rostlinných barviv pomocí tenkovrstvé chromatografie

Po vyvinutí, nebyly u komerčního ani extrahovaného čištěného vzorku pozorovány žádné změny na chromatogramu, a to z důvodu nízké koncentrace rostlinných barviv v oleji. V případě aplikace nečištěného extrahovaného vzorku bylo pozorováno několik bendů rostlinných barviv na chromatogramu vyobrazených na obrázku č. 7. Na základě těchto výsledků byly stanoveny rostlinná barviva pomocí HPLC.

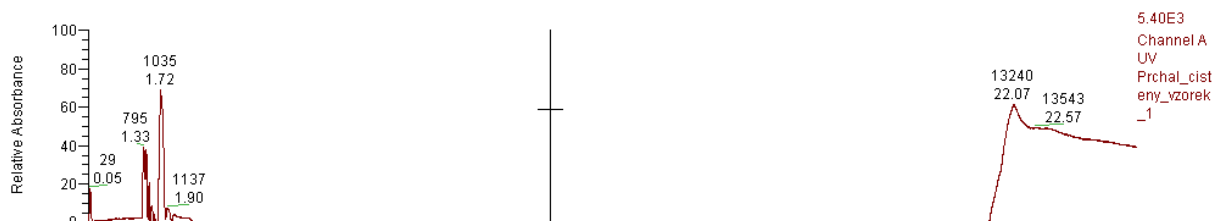
Výsledky kvantitativního stanovení rostlinných barviv



Obrázek č. 8 Chromatogram komerčního hroznového oleje



Obrázek č. 9 Chromatogram extrahovaného hroznového oleje nečištěného



Obrázek č. 10 Chromatogram extrahovaného hroznového oleje čištěného

Na obrázcích č. 8, 9 a 10 jsou zobrazeny chromatogramy jednotlivých vzorků. Z obrázku č. 8 je patrné, že byly detekovány pouze dva měřitelné peaky, β karotenu a celkových karotenoidů. Na obrázku č. 9 je možné pozorovat, že extrahovaný vzorek obsahoval velké množství barviv. Z těchto barviv byly kvantifikovány chlorofyly, β karoten a celkové karotenoidy. Na obrázku č. 10 je dokázáno úplné vyčištění vzorku rafinací. Výsledky kvantitativního stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Tabulka č. 10 Obsah rostlinných barviv v hroznových olejích

	Extrahovaný vzorek nečištěný	Komerční vzorek	Extrahovaný vzorek čištěný
	m [$\mu\text{g}/100 \text{ g}$ oleje]		
chlorofyly	9028	x	x
β karoten	93	6	x
karotenoidy	227	8	x

Nečištěný extrahovaný vzorek obsahoval poměrně velké množství chlorofylu a karotenoidů z nichž byl nejvýznamněji zastoupen β karoten v množství $227 \mu\text{g} / 100 \text{ g}$. V porovnání s hodnotami uvedenými v práci Mariana A. Andrade a kol. (2019), kde bylo ve dvou kultivarech Révy vinné obsaženo vždy $39 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, je v extrahovaném vzorku více jak dvojnásobný obsah β karotenu [59]. Rozdíly jsou dány použitou odrůdou Révy vinné. β karoten je významným antioxidantem, jehož přítomnost v potravinách zvyšuje jejich hodnotu.

Pro potravinářské využití je vhodnější metoda extrakce superkritickým CO₂ (SC – CO₂), při které nejsou použita žádná organická rozpouštědla. Při extrakci pomocí SC – CO₂ je podle práce Hatem Ben Mohamed a kol. (2016) dosaženo většího výtěžku karotenoidů a tokoferolů v porovnání s extrakcí n-hexanem. Nicméně obsah fenolů a chlorofylů není druhem extrakce ovlivněn [60].

Všechny metody chromatografického stanovení byly provedeny pouze jednou z důvodu jejich vysoké přesnosti a náročnosti.

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo charakterizovat hroznový olej extrahovaný n-hexanem a navrhnout postup jeho rafinace.

V této práci byly použity tři vzorky, a to hroznový olej (lisovaný za studena) zakoupený na českém trhu, hroznový olej extrahovaný na přístroji Soxterm do n-hexanu a stejný extrahovaný hroznový olej, který byl podroben rafinaci.

Nejlepších výsledků v procesu rafinace bylo dosaženo pomocí modifikovaného bentonitu, který dokázal vzorek dokonale vyčistit už při aplikaci nízké koncentrace 0,1 g na 5 ml. Metodu by bylo možné optimalizovat regenerací použitého bentonitu. Čistota vzorku byla ověřena pomocí tenkovrstvé a kapalinové chromatografie. Při tomto stanovení bylo také dokázáno, že při aplikaci extrakce n-hexanem bylo uvolněno více rostlinných barviv do oleje než v případě komerčního vzorku připraveného lisování za studena.

Charakterizací hroznových olejů byla zjištěna přítomnost velkého množství hodnotných polynenasycených mastných kyseliny, které poukazují na velmi hodnotné nutriční složení hroznového oleje.

Z celkového měření vyplývá, že hroznový olej má díky svému složení velký potenciál pro další využití ve výživě, nicméně je zapotřebí optimalizovat jeho přípravu pro průmyslovou výrobu, zejména z ekonomického hlediska.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] CHIDAMBARA MURTHY, Kotamballi N., Ravendra P. SINGH a Guddadarangavvanahally K. JAYAPRAKASHA. Antioxidant Activities of Grape (*Vitis vinifera*) Pomace Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, **50**(21), 5909-5914. DOI: 10.1021/jf0257042. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0257042>
- [2] KANELLIS, A. K. a K. A. ROUBELAKIS - ANGELAKIS. Grape. *Biochemistry of Fruit Ripening*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1993, 189-234. DOI: 10.1007/978-94-011-1584-1_6. ISBN 978-94-010-4689-3. Dostupné také z: http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-94-011-1584-1_6
- [3] Réva vinná a víno. Vše, co byste měli vědět o víně: --a nemáte se koho zeptat. Druhé vydání. Praha: Grada, 2015, s. 11-12. ISBN 978-80-247-4351-6.
- [4] *Vína z Moravy, vína z Čech* [online]. Brno: Vinařský fond, 2004 [cit. 2019-01-25]. Dostupné z: <https://www.wineofczechrepublic.cz>
- [5] KEDRINA-OKUTAN, Olga, Vittorino NOVELLO, Thomas HOFFMANN, Johannes HADERSDORFER, Andrea OCCHIPINTI, Wilfried SCHWAB a Alessandra FERRANDINO. Constitutive Polyphenols in Blades and Veins of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Healthy Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018, **66**(42), 10977-10990. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b03418. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.8b03418>
- [6] VITIS VINIFERA L. – réva vinná / vinič hroznorodý. In: *BOTANY:CZ* [online]. Praha: Ladislav Kovář, 2008 [cit. 2019-03-16]. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/vitis-vinifera/>
- [7] FARKAŠ, Ján. Technologie a biochemie vína. Praha, 1980, s.47-54.
- [8] GUNSTONE, Frank D. *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011, s. 317-319. ISBN 978-1-444-33991-8. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=lnk2tdo8_P4C&pg=PA317&dq=grape+oil&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwj52Y7utPrgAhUBmbQKHdkGBPwQ6AEIKTAA#v=onepage&q=grape%20oil&f=false
- [9] CVINER, Petr, Karolína PÁDROVÁ a Irena KOLOUCHOVÁ. MODERNÍ MOŽNOSTI VYUŽITÍ ODPADNÍCH SUROVIN ZE ZPRACOVÁNÍ VINNÝCH HROZNŮ. *Chemická listy*. Praha, 2016, (111), 103-108. ISSN 1213-7103.
- [10] VÝROBA VÍNA KROK ZA KROKEM: Vinné listy. In: *Vínovníci* [online]. Brno: Jakub Pernica, 2016 [cit. 2019-01-25]. Dostupné z: <https://www.vinovnici.cz/clanek/30-vyroba-vina-krok-za-krokem>
- [11] MEINI, María-Rocío, Ignacio CABEZUDO, Carlos E. BOSCHETTI a Diana ROMANINI. Recovery of phenolic antioxidants from Syrah grape pomace through the optimization of an enzymatic extraction process. *Food Chemistry*. 2019, **283**, 257-264. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.01.037. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619301050>
- [12] BORDIGA, Matteo, Emmanuelle MEUDEC, Pascale WILLIAMS, Rosa MONTELLA, Fabiano TRAVAGLIA, Marco ARLORIO, Jean Daniel COÏSSON a Thierry DOCO. The impact of distillation process on the chemical composition and potential prebiotic activity of different oligosaccharidic fractions extracted from grape seeds. *Food Chemistry*. 2019, **285**, 423-430. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.01.175. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461930264X>

- [13] YU, Jianmei a Mohamed AHMEDNA. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science and Technology*. 2013, **48**(2), 221-237. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x. ISSN 09505423. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x>
- [14] SEDLÁČEK, Milan. Hroznový olej. *Znalec vín: Encyklopedie vína, vinařství a vinohradnictví* [online]. Valtice, 2006 [cit. 2019-03-11]. Dostupné z: <http://www.znalecvin.cz>
- [15] *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-86494-02-0.
- [16] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [17] BULKOVÁ, Věra. *Nauka o poživatinách*. 1999. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1999-. ISBN 80-7013-293-0.
- [18] IBURG, Anne. *Lexikon octů a olejů: původ, chuť, použití, recepty*. Dobřejoyice: Rebo Productions, 2004. ISBN 80-723-4382-3.
- [19] Celostní medicína. *Celostní Medicína: Karotenoidy* [online]. Praha: PharmDr.Tomáš Arndt, 2015 [cit. 2019-02-10]. Dostupné z: <https://www.celostnimedicina.cz>
- [20] *Live science* [online]. Washington: Jessie Szalay [cit. 2019-01-23]. Dostupné z: <https://www.livescience.com/52487-carotenoids.html>
- [21] LA MONICA, David A. *Method of refining oil*. 1996. U.S. 5,545,329 Metod. Uděleno 8.5.1995. Zapsáno 13.8.1996.
- [22] ACQUAH, Caleb, Lau SIE YON, Zarina TUAH, Ngu LING NGEEN a Michael K. DANQUAH. Synthesis and performance analysis of oil palm ash (OPA) based adsorbent as a palm oil bleaching material. *Journal of Cleaner Production*. 2016, **139**, 1098-1104. DOI: 10.1016/j.jclepro.2016.09.004. ISSN 09596526. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652616313452>
- [23] NUR SULIHATIMARSYILA, A.W., Harrison L.N. LAU, K.M. NABILAH a I. NUR AZREENA. Refining process for production of refined palm-pressed fibre oil. *Industrial Crops and Products*. 2019, **129**, 488-494. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.12.034. ISSN 09266690. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018310860>
- [24] APARICIO-RUIZ, Ramón, Inmaculada ROMERO, Diego L. GARCÍA-GONZÁLEZ, Celia OLIVER-POZO a Ramón APARICIO. Soft-deodorization of virgin olive oil: Study of the changes of quality and chemical composition. *Food Chemistry*. 2017, **220**, 42-50. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.176. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616315746>
- [25] Jean Rouquerol, Françoise Rouquerol, Philip Llewellyn, Guillaume Maurin a Kenneth S.W. Sing. *Adsorption by powders and porous solids: principles, methodology and applications*. 2nd ed. Oxford: Elsevier, 2014, s. 1. ISBN 978-0-08-097035-6.
- [26] *UHLÍKOVÉ FILTRAČNÍ A SORPČNÍ MATERIÁLY VE VODÁRENSTVÍ* [online]. Líbeznice: Jako, 2003 [cit. 2019-02-10]. Dostupné z: <https://www.smv.cz/res/archive/015/001805.pdf?seek=1429083261>
- [27] *Product data sheet* [online]. [cit. 2019-04-29]. Dostupné z: http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_097e/0901b8038097ef0b.pdf?filepath=liquidseps/pdfs/noreg/177-02319.pdf&fromPage=GetDoc
- [28] YANG, Haiyan, Meiping TONG a Hyunjung KIM. Influence of Bentonite Particles on Representative Gram Negative and Gram Positive Bacterial Deposition in Porous Media. *Environ. Sci. Technol.* 2012, **46**(21), 11627-11634. DOI: 10.1021/es301406q. ISSN 0013-936X. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/es301406q>

- [29] DRDÁK, Milan. *Základy potravinářských technologií: spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. 1996. Bratislava: Malé Centrum, 1996. ISBN 80-967-0641-1.
- [30] AKIN, Gönül, Şükriye Nihan KARUK ELMAS, Fatma Nur ARSLAN, İbrahim YILMAZ a Adnan KENAR. Chemometric classification and quantification of cold pressed grape seed oil in blends with refined soybean oils using attenuated total reflectance–mid infrared (ATR–MIR) spectroscopy. *LWT*. 2019, **2019**(vol. 100), 126-137. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.10.046. ISSN 00236438. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643818308922>
- [31] CHENG, Lilin, Xiao ZHU, Bruce R. HAMAKER, Hui ZHANG a Osvaldo H. CAMPANELLA. Complexation process of amylose under different concentrations of linoleic acid using molecular dynamics simulation. *Carbohydrate Polymers*. 2019, (vol. 216), 157-166. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.04.013. ISSN 01448617. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861719303972>
- [32] YI, Juanjuan, Shubin LI, Chao WANG, Nana CAO, Hang QU, Cuilin CHENG a WANG. Potential applications of polyphenols on main ncRNAs regulations as novel therapeutic strategy for cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019, (vol. 113). DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108703. ISSN 07533322. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332219300010>
- [33] GOMES SILVA, M., V.S. SANTOS, G.D. FERNANDES, G.A. CALLIGARIS, M.H.A. SANTANA, L.P. CARDOSO a A.P.B. RIBEIRO. Physical approach for a quantitative analysis of the phytosterols in free phytosterol-oil blends by X-ray Rietveld method. *Food Research International*. 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.04.006. ISSN 09639969. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996919302297>
- [34] Martina. Rostlinné oleje v každodenním jídelníčku: Který z nich je nejzdravější? . In: *Superzdrave.cz* [online]. 2019, 2019 [cit. 2019-04-26]. Dostupné z: <https://superzdrave.cz/rostlinne-oleje-v-kazdodennim-jidelnicku-ktery-z-nich-je-nejzdravejsi/>
- [35] FIPIL, Vladimír. Získávání rostlinných olejů a tuků. KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. 2007. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, s. 90-94. ISBN 80-7080-510-2.
- [36] COELHO, José P., Rui M. FILIPE, M. Paula ROBALO a Roumiana P. STATEVA. Recovering value from organic waste materials: Supercritical fluid extraction of oil from industrial grape seeds. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2018, (vol. 141), 68-77. DOI: 10.1016/j.supflu.2017.12.008. ISSN 08968446. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844617306514>
- [37] Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: a comparison with conventional solvent extraction. *The Chemical Engineering Journal*. 1996, (vol.61), 227-231. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0923046795030409>
- [38] MERCER, Paula a Roberto E. ARMENTA. Developments in oil extraction from microalgae. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2011, **113**(5), 539-547. DOI: 10.1002/ejlt.201000455. ISSN 14387697. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ejlt.201000455>
- [39] MARTINS, Pedro F., Marcelo M.R. DE MELO, Pedro SARMENTO a Carlos M. SILVA. Supercritical fluid extraction of sterols from *Eichhornia crassipes* biomass using pure and modified carbon dioxide. Enhancement of stigmaterol yield and extract concentration. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2016, (vol. 112), 441-449. DOI:

- 10.1016/j.supflu.2015.09.027. ISSN 08968446. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844615301406>
- [40] CHENG, Ming-Hsun, Bruce S. DIEN a Vijay SINGH. Economics of plant oil recovery: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019, **18**. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101056. ISSN 18788181. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878818118307564>
- [41] MOSLAVAC, Tihomir, Stela JOKIĆ, Drago ŠUBARIĆ, Krunoslav ALADIĆ, Josipa VUKOJA a Nikolina PRCE. Pressing and supercritical CO₂ extraction of *Camelina sativa* oil. *Industrial Crops and Products*. 2014, (vol. 54), 122-129. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.01.019. ISSN 09266690. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669014000260>
- [42] FERRARI, Valdecir, Silvio R. TAFFAREL, Eduardo ESPINOSA-FUENTES, Marcos L.S. OLIVEIRA, Binoy K. SAIKIA a Luis F.S. OLIVEIRA. Chemical evaluation of by-products of the grape industry as potential agricultural fertilizers. *Journal of Cleaner Production*. 2019, **208**, 297-306. DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.10.032. ISSN 09596526. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652618330403>
- [43] PASSOS, Cláudia P., Sule YILMAZ, Carlos M. SILVA a Manuel A. COIMBRA. Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chemistry*. 2009, **115**(1), 48-53. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.064. ISSN 03088146. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608014040>
- [44] TOMA, Maricela, M VINATORU, L PANIWNKYK a T.J MASON. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2001, **8**(2), 137-142. DOI: 10.1016/S1350-4177(00)00033-X. ISSN 13504177. Dostupné také z:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135041770000033X>
- [45] MAIER, Thorsen, Andreas SCHIEBER, Dietmar R. KAMMERER a Reinhold CARLE. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*. 2009, (vol. 112), 551-559.
- [46] Chromatografie. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016, s. 12-44. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [47] Kolónová chromatografie v systémech kvapalina - tuhá fáza a kvapilina - kvapalina. VLÁČIL, František a Stanislav KOTRLÝ. *Praktiku z analytické chemie*. 1. Bratislava: Alfa, 1989, s. 219-222. ISBN 80-05-00000-X.
- [48] Chromatographic methods. GARY D., Christian. *Analytical chemistry*. 5th ed. New York: Wiley, c1994, s. 505-556. ISBN 0-471-59761-9.
- [49] RABAK, Frank. Grape-Seed Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1921, **13**(10), 919-921. DOI: 10.1021/ie50142a020. ISSN 0095-9014. Dostupné také z:
<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie50142a020>
- [50] A.Safa Özcan a Adnan Özcan. Adsorption of acid dyes from aqueous solutions onto acid-activated bentonite. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004, (Volume 276, 1), 39-46. ISSN 0021-9797.
- [51] HRSTKA, Miroslav a Lenka SOMROVÁ. *Praktikum z analytické chemie potravin: VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA CHEMICKÁ*. Brno, 2017.
- [52] AHMAD, Tanweer, Mohammed DANISH, Pradeep KALE, Belete GEREMEW, Samuel B. ADELOJU, Maniruddin NIZAMI a Muhammad AYOUB. Optimization of process variables for biodiesel production by transesterification of flaxseed oil and produced biodiesel characterizations. *Renewable Energy*. 2019, **139**, 1272-1280. DOI: 10.1016/j.renene.2019.03.036.

- ISSN 09601481. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960148119303416>
- [53] EBRAHIMIAN, Elnaz, Seyyed Mohammad SEYYEDI, Ahmad BYBORDI a Christos A. DAMALAS. Seed yield and oil quality of sunflower, safflower, and sesame under different levels of irrigation water availability. *Agricultural Water Management*. 2019, **218**, 149-157. DOI: 10.1016/j.agwat.2019.03.031. ISSN 03783774. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378377419305773>
- [54] ROMBAUT, Natacha, Raphaëlle SAVOIRE, Brigitte THOMASSET, Jérémie CASTELLO, Elisabeth VAN HECKE a Jean-Louis LANOISELLÉ. *Industrial Crops and Products*. 2015, **63**, 26-33. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.10.001. ISSN 09266690. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669014006062>
- [55] CHENG, Ming-Hsun, Bruce S. DIEN a Vijay SINGH. Economics of plant oil recovery: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019, **18**. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101056. ISSN 18788181. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878818118307564>
- [56] KARDASH, Elena a Yakov I. TUR'YAN. Acid Value Determination in Vegetable Oils by Indirect Titration in Aqueous-alcohol Media. *Original Scientific Paper*. 2005, (78), 99-103. ISSN 0011-1643.
- [57] TOSCANO, G., G. RIVA, E. FOPPA PEDRETTI a D. DUCA. Vegetable oil and fat viscosity forecast models based on iodine number and saponification number. *Biomass and Bioenergy*. 2012, **46**, 511-516. DOI: 10.1016/j.biombioe.2012.07.009. ISSN 09619534. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0961953412002905>
- [58] BEZZI, S, S LOUPASSAKI, C PETRAKIS, P KEFALAS a A CALOKERINOS. Evaluation of peroxide value of olive oil and antioxidant activity by luminol chemiluminescence. *Talanta*. 2008, **77**(2), 642-646. DOI: 10.1016/j.talanta.2008.07.019. ISSN 00399140. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003991400800516X>
- [59] ANDRADE, Mariana A., Vasco LIMA, Ana SANCHES SILVA, Fernanda VILARINHO, Maria Conceição CASTILHO a KHWALDIA. Pomegranate and grape by-products and their active compounds: Are they a valuable source for food applications?. *Trends in Food Science & Technology*. 2019, (vol. 86), 68-64. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.02.010. ISSN 09242244. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224418308690>
- [60] BEN MOHAMED, Hatem, Kurabachew Simon DUBA, Luca FIORI a Hamada ABDELGAWED. Bioactive compounds and antioxidant activities of different grape (*Vitis vinifera* L.) seed oils extracted by supercritical CO₂ and organic solven. *LWT*. 2016, **74** (vol. 74), 557-562. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.08.023. ISSN 00236438. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643816305096>

7 SEZNAM OBRÁZKU

OBRÁZEK Č. 1	RÉVA VINNÁ [6].....	10
OBRÁZEK Č. 2	SCHÉMA VÝROBY VÍNA [10].....	12
OBRÁZEK Č. 3	AUTOMATICKÝ EXTRAKTOR SOXTERM FIRMY GERHART (NEMĚCKO).....	19
OBRÁZEK Č. 4	SCHÉMA EXTRAKCE SUPERKRITICKÝM OXIDEM UHLIČITÝM [39]	20
OBRÁZEK Č. 5	KOMERČNÍ OLEJ POUŽITÝ PRO ANALÝZU	23
OBRÁZEK Č. 6	PROCENTUÁLNÍ ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN V OLEJI.....	34
OBRÁZEK Č. 7	CHROMATOGRAM STANOVENÍ ROSTLINNÝCH BARVIV POMOCÍ TENKOVRSŤVÉ CHROMATOGRAFIE	35
OBRÁZEK Č. 8	CHROMATOGRAM KOMERČNÍHO OLEJE.....	35
OBRÁZEK Č. 9	CHROMATOGRAM EXTRAHOVANÉHO OLEJE NEČIŠTĚNÉHO	36
OBRÁZEK Č. 10	36
OBRÁZEK Č. 11	CHROMATOGRAM EXTRAHOVANÉHO OLEJE ČIŠTĚNÉHO	36

8 SEZNAM TABULEK

TABULKA Č. 1	ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN VE VINNÉM OLEJI [14]	13
TABULKA Č. 2	PŘEHLED HROZNOVÝCH OLEJŮ URČENÝCH K POTRAVINÁŘSKÉMU POUŽITÍ NA ČESKÉM TRHU 18	
TABULKA Č. 3	NUTRIČNÍ UKAZATELE KOMERČNÍHO HROZNOVÉHO OLEJE.....	24
TABULKA Č. 4	ELUČNÍ PROGRAM PRO HPLC ANALÝZU	29
TABULKA Č. 5	TEPLOTNÍ PROGRAM PRO PLYNOVOU CHROMATOGRAFIÍ.....	30
TABULKA Č. 6	VÝSLEDKY VÝTĚŽKU EXTRAKCE OLEJE Z HROZNOVÝCH JADER.....	30
TABULKA Č. 7	POUŽITÉ ADSORBENTY PRO RAFINACI OLEJE	31
TABULKA Č. 8	TITRAČNĚ STANOVENÁ TUKOVÁ ČÍSLA	32
TABULKA Č. 9	MASTNÉ KYSELINY OBSAŽENÉ V OLEJÍCH.....	33
TABULKA Č. 10	OBSAH ROSTLINNÝCH BARVIV V OLEJÍCH	36

9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

Zkratka	Význam
HLD	lipoprotein s vysokou hustotou
LDL	lipoprotein s nízkou hustotou
GC	plynová chromatografie
HPLC	kapalinová chromatografie
TLC	tenkovrstvá chromatografie
ČSÚ	Český statistický úřad
SC-CO ₂	superkritická extrakce pomocí oxidu uhličitého
PDA	detekce pomocí diodového pole
FID	plamenový ionizační detektor
MK	mastné kyseliny
ČK	číslo kyselosti
ČZ	číslo zmýdelnění
JČ	jodové číslo
PČ	peroxidové číslo
SFA	nasyčené mastné kyseliny
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny