MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Zahradnická fakulta v Lednici

Studium zdraví prospěšných látek v semenech *Vitis vinifera* L.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce:

Ing. Lenka Tomášková

Vypracovala:

Lucie Popluhárová

Lednice 2016

Zahradnická fakulta

Ústav vinohradnictví a vinařství
Akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka:	**Lucie Popluhárová**
Studijní program:	Zahradnické inženýrství
Obor:	Vinohradnictví a vinařství
Název tématu:	**Studium zdraví prospěšných látek v semenech Vitis vinifera L.**
Rozsah práce:	minimálně 30 stran

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu zabývající se studiem zdraví prospěšných látek v semenech Vitis vinifera L.
2. Rešeršním způsobem zpracujte studie zabývající se danou problematikou. Pozornost zaměřte na antioxidační komponenty.

Mendelova univerzita v Brně

Seznam odborné literatury:

1. BÁBÍKOVÁ, P. – VRCHOTOVÁ, N. – TŘÍSKA, J. – KYSELÁKOVÁ, M. Analysis of several phenolic compounds in leaves of interspecific varieties of Vitis sp. by HPLC. In *Vitamins 2007 – Nutrition and Diagnostics.* University of Pardubice: 2007, s. 213–214. ISBN 978-80-7194-937-4.
2. SOCHOR, J. – JURÍKOVÁ – POKORNÁ, T. – POHANKA, M. – HELENA, Š. – BAROŇ, M. – TOMÁŠKOVÁ, L. – BALLA, Š. – KLEJDUS, B. – POKLUDA, R. – MLČEK, J. – TROJÁKOVÁ, Z. – ŠALOUN, J. Evaluation of Antioxidant Activity, Polyphenolic Compounds, Amino Acids and Mineral Elements of Representative Genotypes of Lonicera edulis. *Molecules.* 2014. sv. 19, č. 5, s. 6504–6523. ISSN 1420-3049. URL: http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=UA&search_mode=Refine&qid=7&SID=N1oar9oUC2cKVvw5LaB&page=1&doc=1
3. KUMŠTA, M. Zdraví prospěšné látky ve víně. *Vinařský obzor.* 2006. sv. 99, č. 1-2, s. 48–49. ISSN 1212-7884.
4. MIKEŠ, O. – KYSELÁKOVÁ, M. *Stanovení vybraných zdravotně prospěšných polyfenolických látek v hroznech révy vinné v podmínkách stresových faktorů : Determination of selected health promoting polyphenolic compounds in vine grapes subjected to stress factors.* Disertační práce. Brno: MZLU v Brně, 2009. 76 s.

Datum zadání bakalářské práce: leden 2015

Termín odevzdání bakalářské práce: duben 2016

L. S.

Lucie Popluhárová
Autorka práce

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

Zahradnická fakulta
Mendelova
univerzita
v Brně

Ing. Lenka Tomášková
Vedoucí práce

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

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: **Studium zdraví prospěšných látek v semenech *Vitis vinifera* L.** 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 *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, 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) 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 5. 5. 2016 ……

Podpis

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat své vedoucí bakalářské práce Ing. Lence Tomáškové za její ochotu, odborné vedení a cenné připomínky, které vedly k napsání této bakalářské práce. V neposlední řadě patří poděkování také doc. Ing. Jiřímu Sochorovi, Ph.D., za poskytnutí rad v krušných dobách. Dále bych samozřejmě ráda poděkovala své rodině za trpělivost a podporu, kterou projevovali během celého mého studia.

Seznam použitých zkratek

ABTS – 2,2´-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonová kyselina

CE – catechin equivalent (ekvivalent katechinu)

CMi – Cabernet Mitos

DM – dry matter (sušina)

DMAC – p-dimethylaminocinnamaldehyd

DPPH – 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl

FAAS metoda – Flame Atomic Absorption Spectroscopy

FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power

GAE – gallic acid equivalent (ekvivalent kyseliny gallové)

GSE – grape seed extract (extrakt z hroznových semen)

GSJ – grape seed juice

GSW – grape seed wine

HDL – High Density Lipoprotein (vysokodenzitní lipoprotein)

HPLC – high-performance liquid chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)

Ker – Kerner

Kys. – kyselina

Lem – Lemberger

MT – Müller-Thurgau

MUFA – mononenasycené mastné kyseliny

Nd - nedetekováno

NP-HPLC – Normal phase HPLC

ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity

PUFA – polynenasycené mastné kyseliny

RP-HPLC – reverse phase HPLC

Sam – Samtrot

SFA – nasycené mastné kyseliny

SFE – supercritical fluid extraction

Schw - Schwarzriesling

SM – shaking method

Spät – Spätburgunder

SPE – solid-phase extraction

s.v. – sušina vzorku

T – tokoferol

T3 – tokotrienol

TE – Trolox equivalent (ekvivalent Troloxu)

TLC – Thin Layer Chromatography (Chromatografie na tenké vrstvě)

UAE – ultrasonic-assisted extraction

VR – volné radikály

VZ – Veltlínské zelené

Zw - Zweigeltrebe

Seznam použitých obrázků a grafů

Obr. 1 Barevná stupnice zralosti hroznových semen (Pavloušek, 2011)..... 16

Obr. 2 Fenolická zralost semen (vlevo Modrý Portugal, vpravo Cabernet Sauvignon) (Pavloušek, 2011). 17

Obr. 3 Chemická struktura nejběžněji vyskytovaných flavan-3-olů (Grases et al., 2015) 19

Obr. 4 Chemická struktura nejvíce zastoupeného flavonolu, kvercetin (Kubištová, 2012) 19

Obr. 5 Chemická struktura významného antioxidantu, resveratrolu (Xia et al., 2010) .. 20

Graf 1 Stanovené antioxidační hodnoty hroznových semen u odrůd rostoucí v Ázerbájdžánu (Farhadi et al., 2016)..... 21

Graf 2 Stanovení antioxidační aktivity hroznových semen FRAP a DPPH metodou (Rockenbach et al., 2011). 22

Graf 3 Skladba tokotrienolů u odrůd Sylvánské zelené, Laurot a směsice bílých moštových odrůd (Burg, 2014). 34

Seznam použitých tabulek

Tab. 1 Obsah celkových fenolů a flavonoidů z extraktu hroznových semen (odrůda Black queen) v závislosti na použité extrakční metodě (Samavardhana et al., 2015). ... 23

Tab. 2 Obsah celkových fenolů a flavanolů z extraktu hroznových semen a slupky (Rockenbach et al., 2011) ... 24

Tab. 3 Obsah jednotlivých komponentů fenolických látek z hroznových semen u vybraných odrůd (Rockenbach et al., 2011). ... 24

Tab. 4 Obsah celkových polyfenolů z hroznových semen u vybraných odrůd (Sulc et al., 2005). ... 26

Tab. 5 Obsah antokyanů v extraktu z hroznových semen (Farhadi et al., 2016). ... 27

Tab. 6 Obsah fenolických látek v hroznových semenech (Farhadi et al., 2016). ... 27

Tab. 7 Obsah fenolických kyselin v hroznových semenech u 7 odrůd rostoucí v Jižním Německu (Maier et al., 2009). ... 28

Tab. 8 Obsah vybraných makro a mikroprvků v hroznových semenech (Burg, 2014). . 29

Tab. 9 Profil vybraných mastných kyselin z hroznových semen (Tangolar et al., 2009). ... 31

Tab. 10 Složení mastných kyselin z hroznových semen. Hodnoty uvedeny v % (v/w) (Baydar a Akkurt, 2001). ... 31

Tab. 11 Složení hlavních a esenciálních mastných kyselin v hroznových semenech různých odrůd (Lachman et al., 2015). ... 32

Tab. 12 Suma koncentrace veškerých mastných kyselin v hroznových semenech (Santos et al., 2011). ... 32

Tab. 13 Souhrn obsahu vitamínu E v hroznových semenech u různých odrůd a různých vinařských oblastí (Lachman et al., 2013). ... 34

OBSAH

1 Úvod 11

2 Cíl práce 12

3 Literární rešerše 13

3.1 Složení hroznů 13

3.1.1 Třapina 14

3.1.2 Bobule 14

3.2 Charakteristika látek obsažených v semenech *Vitis vinifera* L. 17

3.3 Studium zdraví prospěšných látek v semenech *Vitis vinifera* L. 20

3.3.1 Antioxidační aktivita 20

3.3.2 Polyfenolické sloučeniny 22

3.3.3 Minerály 28

3.3.4 Lipidy 30

3.3.5 Vitamíny 33

3.4 Metody používané pro stanovení antioxidačních komponent v semenech *Vitis vinifera* L. 35

3.4.1 Metody pro stanovení jednotlivých antioxidantů 35

3.4.2 Metody pro stanovení celkových antioxidantů 36

4 Vlastní komentář k řešené problematice 38

5 Závěr 41

6 Souhrn a Resume 42

7 Seznam použité literatury 43

1 Úvod

Réva vinná (*Vitis vinifera* L.) patří k plodinám pěstovaných člověkem od nepaměti. Její blahodárné účinky jak v tekutém (víno), tak i pevném (hrozny) stavu jsou známy taktéž staletí. Některé archeologické nálezy naznačují, že lidé vyráběli víno již někdy v době kamenné.

Zaměříme-li se na toto století, v posledních letech se stále více přemýšlí o zdravém životním stylu. Do povědomí se dostávají suroviny, u kterých by si člověk zprvu nepomyslel, že mohou být bohatým zdrojem minerálních látek, vitamínů a podobně. Jednou z takových surovin jsou semena révy vinné, která obsahují velké množství antioxidantů, jako jsou zejména fenolické látky.

Ty působí proti oxidativnímu stresu a mohou být uplatněny jako prevence vůči civilizačním onemocněním. Důležitou roli hrají vědecké studie, které se zaměřují na identifikaci jednotlivých látek obsažených v hroznových semenech. Právě tyto studie odhalují nepřeberné množství vlastností a možnosti využití hroznových semen, která se stala předmětem bližšího zkoumání. Existuje několik studií, které zkoumají účinky biologicky aktivních komponent na lidské zdraví.

Kromě antioxidačních vlastností fenolických látek se uvádí jejich protizánětlivá, antivirová, antibakteriální, antialergická, protinádorové, antihemeroidní a hepatoprotektivní vlastnosti a inhibují agregaci krevních destiček a propustnost kapilár (Ugartondo et al., 2006).

2 Cíl práce

Cílem práce bylo prostudovat literaturu zabývající se studiem zdraví prospěšných látek v semenech *Vitis vinifera* L. a následné rešeršní zpracování této problematiky s pozorností na antioxidační komponenty.

3 Literární rešerše

Literární rešerše krátce pojednává o vztahu révy vinné a člověka, popisuje složení jednotlivých částí hroznu a soustředí se zejména na studie látek obsažených v semenech révy vinné.

Jak je dobře známo, réva vinná má mezi lidstvem svou tisíciletou tradici. Naleziště, ve kterých se původní réva vyskytovala nebo pěstovala, jsou historicky svázaná se samotným vývojem lidstva. Jedná se např. o oblast podél řek v Mezopotámii. Mezi původními oblastmi k pěstování révy vinné můžeme zařadit území nacházející se na jihu Kavkazu, dále pak severozápadní oblast Turecka, severní Irák, a mimo jiné Ázerbájdžán a Gruzii. Důkaz, že se réva vinná začala pěstovat za účelem výroby vína, lze naleznout ve starém Egyptě. Ani starověké Řecko společně s Krétou nezůstávají pozadu, nálezy z období okolo 2000 let před naším letopočtem dokládají, že místní lidé se věnovali jak vinohradnictví, tak i vinařství. Velkolepý rozmach Římské říše téměř po celé Evropě pak zajistil rozšíření pěstování révy vinné (Pavloušek, 2005).

Počátky pěstování révy vinné na našem území se taktéž spojují v souvislosti s římskou kolonizací. Největšího rozmachu se dočkalo vinohradnictví a vinařství za vlády Karla IV. O rekordní číslo v počtu hektarů vinic se také zasloužil Rudolf II. Výměry dosahovaly hodnot až 40 tis. ha (Řezníček et al., 2002).

V současnosti zaujímá významné postavení vinohradnictví a vinařství nejen na „Starém kontinentu“, ale na celém světě. Státy věnující se tomuto řemeslu označujeme jako země tzv. Nového Světa. Patří sem Austrálie, Nový Zéland, Jižní Afrika, Argentina, Chile a USA (Pavloušek, 2005).

3.1 Složení hroznů

Hrozen je utvářen z květenství po procesu opylení a oplození. Jeho jednotlivé části jsou: stopka, třapina a bobule. Stopka uchycuje hrozen k letorostu (Pavloušek, 2005).

To, jak hrozen bude vypadat, je záležitost nejen genetická (dlouhý x krátký hrozen, velikost bobulí atd.), ale také agrotechnická a ekologická. Důležitou roli také hraje výskyt škůdců a chorob. Tyto faktory se podílejí na výsledném produktu, který se

dále dostane ke zpracování, např. výroba vína v případě moštových odrůd, či přímý konzum spotřebitelů u stolních odrůd (Michlovský, 2014; Pavloušek, 2011).

3.1.1 Třapina

Třapina vzniká díky změně osy květenství. Její hlavní funkcí je rozvádět vyživující látky až k bobulím. Zaujímá asi 3 – 7 % z celkové hmotnosti hroznu. Chemicky se podobá složení listu, ale roli zde také hraje odrůda. Má menší podíl cukrů a koncentrace kyselin. Naopak má vysoký podíl vody, dusíkatých a minerálních látek, fenolických látek, které procentuálně představují přibližně 20 % z celkového množství fenolických látek v hroznu. Toto složení je důvodem, proč jsou třapiny odstraňovány při výrobě vína. Macerace třapin, v důsledku vyšší koncentrace tříslovin, způsobuje ve víně nahořklou a škrablavou chuť. Avšak je-li třapina zdřevnatělá, nijak negativně se na kvalitě vyráběného vína nepodepisuje (Pavloušek, 2005; Farkaš, 1973).

3.1.2 Bobule

Jedná se o plod révy vinné. Vzniká po opylení a oplození vajíčka. Bobule mohou mít nejrůznější tvar i velikost. Tvarová různorodost je dána jak odrůdou, tak může být ovlivněna i faktorem ekologickým nebo agrotechnickým. Vyskytuje se tvar kulatý, oválný, zploštělý či podlouhlý (Pavloušek, 2005). Podle toho, jakou má daná odrůda barvu slupky, je rozdělujeme na odrůdy modré a bílé. Platí to především pro moštové odrůdy. Samotná bobule se pak člení na slupku, dužninu a semena (Pavloušek, 2011).

3.1.2.1 Slupka (exokarp)

Součástí slupky je také vosková vrstva (kutikula) chránící bobuli vůči nadměrnému vypařování či mechanickému poškození. Začíná se vyvíjet již po oplození a postupem vývoje se její tloušťka zmenšuje. Síla kutikuly je také odrůdovou vlastností. Dalšími vrstvami slupky jsou epidermis a hypodermis. Jedná se o soubor 10 – 12 vrstev buněk s funkcí mechanickou a ochrannou (Steidl, 2002).

Po chemicky obsahové stránce v slupce zaujímá 54 – 83 % voda. Dále zde můžeme naleznout dusíkaté a minerální látky, polyfenolické sloučeniny, třísloviny, organické kyseliny a cukry. Koncentrační poměr mezi cukry a kyselinami je ve

prospěch kyselin větší. Jedná se zejména o kyselinu citronovou. Ve slupce se taky nachází vyšší pH oproti dužnině (Farkaš, 1973).

Pro výrobu vína, především červeného, jsou nejdůležitější zejména sekundární metabolity v podobě anthokyanů, taninů a aromatických látek. Barevně se anthokyany rozlišují u bílých odrůd, kde jsou zastoupeny chlorofylem a flavony, a modrých odrůd, které se projevují od červeného přes fialové až tmavě modré zbarvení bobulí. Uvolňování těchto barviv je nejvíce žádoucí při výrobě červeného vína vlivem macerace nebo extrahováním ohřevem. Např. u muškátových odrůd jsou aromatické látky i ve volné formě, ostatní odrůdy mají aromatické látky ve vázané formě (Steidl, 2002; Farkaš, 1973).

Ve slupce můžeme také nalézt jisté množství minerálních látek, jako jsou draslík, bór, železo nebo měď.

3.1.2.2 Dužnina (mezokarp)

Zaujímá největší buněčnou vrstvu a až 85 % z celkové hmotnosti bobule. Je to také nejdůležitější část bobule podílející se na výsledné charakteristice kýženého produktu – vína (Steidl, 2002).

Dužnina je bohatá především na cukry, z nichž nejhlavnější jsou glukóza a fruktóza, jejich poměr se během zrání mění. Ve stopovém množství obsahuje další cukry jako L-arabinózu, D-xylózu, D-ribózu či L-rhamnózu. Ty jsou však kvasinkami metabolizovány a ve výsledné senzorice vína se nijak neprojeví. V minimálním množství zde nalezneme i sacharózu, ale ta má především funkci transportní nebo je vlivem invertázy štěpena na glukózu a fruktózu. Podíl na poměru cukrů v dužnině mají také klimatické podmínky (Pavloušek, 2011).

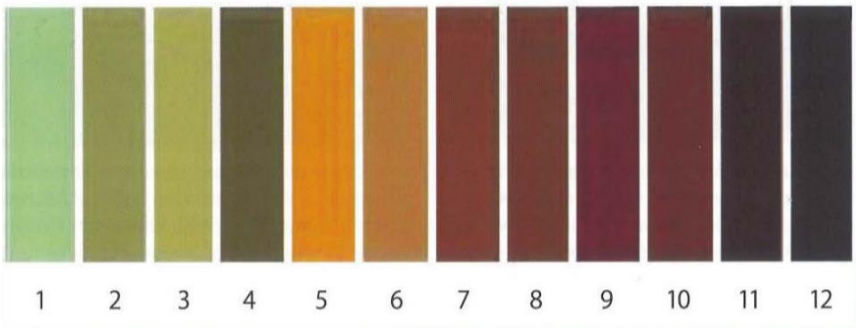
Dalším důležitým parametrem jsou kyseliny. Z organických kyselin mají nejdůležitější roli kyselina jablečná a kyselina vinná, dále pak kyselina citronová. Poměr mezi kyselinou vinnou a jablečnou se opět odvíjí od vývoje bobule a také klimatických podmínek. Senzoricky se kyselina vinná podílí na kyselé a ostré chuti v hroznech a víně. Oproti tomu kyselina jablečná způsobuje travnatou, ostrou a nezralou chuť. Z anorganických kyselin je zastoupena například kyselina fosforečná (Pavloušek, 2011).

Dále dužnina obsahuje značné množství minerálních látek, z nichž nejvýznamnější je draslík, mající schopnost podílet se na obsahu kyseliny vinné v bobuli. Následují kationty vápníku, hořčíku, sodíku a zinku. Dusík zaujímá pouze cca 25 % z celkového obsahu dusíku v bobulích. Vyskytuje se jak v anorganických, tak i organických formách. Hlavními dusíkatými látkami bývají aminokyseliny, bílkoviny a sloučeniny obsahující dusík v amonné formě. Obsah těchto látek opět závisí na odrůdě, podnoži, ročníku, klimatických podmínkách, agrotechnických zásazích a podobně (Pavloušek, 2011).

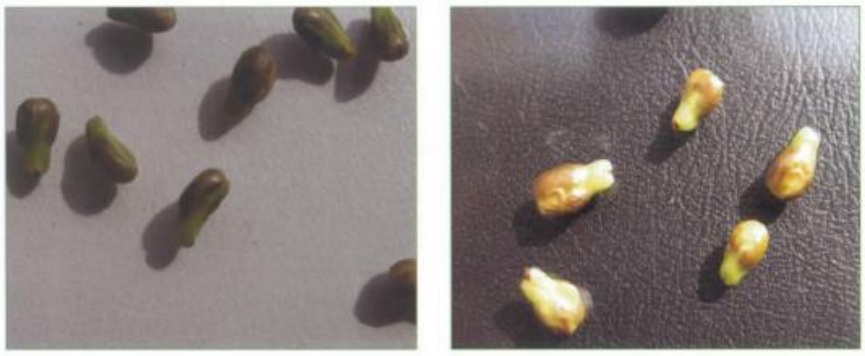
Ze sekundárních metabolitů můžeme jmenovat aromatické látky (například methoxypyraziny vyznačující se typickými tóny chřestu, zelené papriky a travnatými tóny). Samostatnou kategorií jsou barvířky (například Neronet a Rubinet), které obsahují antokyanová barviva i v dužnině. Také zde záleží na několika faktorech (ročník, agrotechnika, klimatické podmínky), jak se budou tyto látky obsahově vyvíjet (Pavloušek, 2011).

3.1.2.3 Semena

Patří k anatropnímu typu semen. Jsou hruškovitého tvaru s prodlouženým zobáčkem. Velikost semen se pohybuje okolo 3 – 8 mm na délku a 3 – 5 mm na šířku. Představují 0 – 6 % z celkové hmotnosti bobule. K rozvoji dochází po oplození vajíčka a vývoj probíhá současně s dalšími částmi bobule. To, jakou mají semena barvu, tvar, popřípadě velikost je odrůdovou vlastností. Barva semen může také sloužit jako ukazatel zralosti hroznů. Zpočátku jsou semena zelená, ale během zrání se vybarvují až dohněda, což značí jejich fyziologický stupeň zralosti (Pavloušek, 2011; Pavloušek, 2005).



Obr. 1 Barevná stupnice zralosti hroznových semen (Pavloušek, 2011).



Obr. 2 Fenolická zralost semen (vlevo Modrý Portugal, vpravo Cabernet Sauvignon) (Pavloušek, 2011).

Tak jako v dužnině jsou hlavními složkami především cukry a kyseliny, u semen hlavní a nejdůležitější složky tvoří fenolické látky (až 55 %) a oleje. Fenolické látky mají zejména význam pro výrobu červených vín, avšak u bílých vín je jejich macerace méně žádoucí. Olej představuje přibližně 10 – 20 % a je složen z glyceridů kyseliny stearové, palmitové a linolové a může mít zelené či žlutozelené zbarvení. V semenech se našel i vanilín (Farkaš, 1973).

Kromě výše zmíněných látek, semena také obsahují některé minerální látky, z nichž můžeme například jmenovat vápník, fosfor, hořčík, síru, mangan a zinek. Glukóza, fruktóza a sacharóza mají v semenech taktéž zastoupení, avšak jejich podíl je jen v malém množství. Nachází se zde také určité množství bílkovin, celulózy a uhlohydrátů (Farkaš, 1973).

3.2 Charakteristika látek obsažených v semenech *Vitis vinifera* L.

Fenolické látky zaujímají velké množství skupin látek. Všeobecně mají na svědomí barvu, hořkost a třískovitost hroznů. Ve vztahu k lidskému zdraví mohou mít zásadní vlastnost. Působí totiž jako, v dnešní době stále více prezentovaný, antioxidant (Kubištová 2012; Mikeš 2009).

Z chemického hlediska jsou považovány za sekundární metabolity a obsahují alespoň jednu hydroxylovou skupinu, která je navázána na aromatické jádro. To může být substituováno různými funkčními skupinami na různých pozicích uhlíku za vzniku mnoho isomerů. Ty se liší svými vlastnostmi (Margalit, 2012).

Obsah jednotlivých látek v bobulích se může lišit v závislosti na odrůdě a v nemenší míře na klimatických podmínkách. Koncentrace fenolických látek v semenech postupně klesá s dobou zrání bobule (Burg, 2014). Z hlediska jednotlivých

vrstev bobule, nejvíce fenolických látek je obsaženo v semenech (přibližně 65%), dále pak ve slupce (cca 30%) a nejméně pak v moštu (4 – 5%). V závislosti na enologickém postupu (délka macerace, tlak použitý při lisování apod.), a také zda se jedná o výrobu bílého nebo červeného vína, se množství fenolických látek promítne ve výsledném produktu (Margalit, 2012).

Je také známo, že fenolické látky mají větší antioxidační schopnost než vitamíny C a E, dokonce i více než 50x (LUNG et al., 2015).

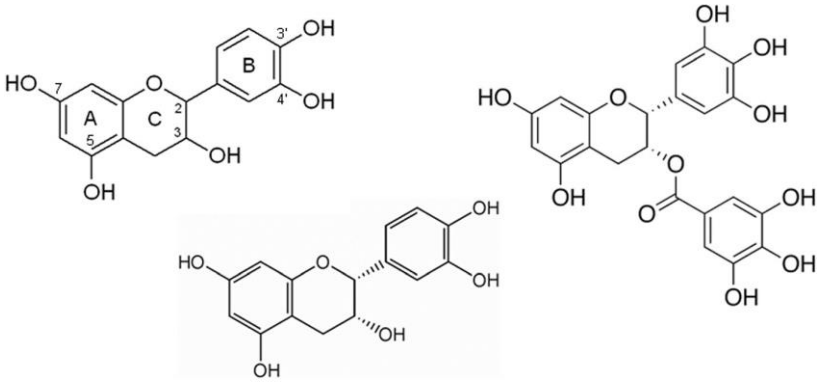
Fenolické látky můžeme rozdělit podle následujících kategorií:

1) **Neflavonoidy** (fenolické kyseliny a stilbeny) – méně častý výskyt v kyselé formě. Nejčastěji se prostřednictvím esterové vazby váží na alkoholy nebo molekuly cukru.
   a) *Hydroxybenzoové kyseliny* – pod tuto skupinu spadá i **kyselina gallová**, která se vyznačuje antiradikálovou aktivitou a vytváří estery s katechinem, v malém množství zde můžeme nalézt kyselinu vanilinovou, syringovou či protokatechovou.
   b) *Hydroxyskořicové kyseliny* – pod tuto skupinu látek patří také kyselina kumarová, kyselina kávová a kyselina ferulová.
   c) *Stilbeny* – jedná se o fytoalexiny a nejznámější látkou z této skupiny je **resveratrol**, který je z části zastoupen i v hroznech (více ve slupce než v semenech), ale nejvíce pak ve víně. Mimo jiné je to také významný antioxidant a má antimikrobiální účinky (Michlovský 2014; Margalit 2012).
2) **Flavonoidy** – jedná se skupinu látek vyznačující se dvěma fenolickými jádry, která jsou spojena tříuhlíkatým řetězcem obsahující kyslík. Flavonoidy jsou také důležité zejména proto, že jsou nejvíce zastoupeny právě v semenech. Jsou rozděleny podle své struktury, substituce C3 řetězce a stupně oxidace (Burg, 2014):
   a) *Flavan-3-oly* – v semenech se nejvíce vyskytující a zahrnuje **katechin**, **epikatechin**, **epikatechin galát** a **epigallokatechin**. Existuje také vztah mezi obsahem flavan-3-olů a zralostí semen. Tyto změny můžeme pozorovat v barvě a chuti semen. Jestliže jsou semena nezralá (zelená barva), chuť mají trpkou a hořkou, to znamená, že obsahují více taninů (třís lovin). Naopak jsou-li tmavé barvy, chuť může být jemně nasládlá až neutrální.
   b) *Flavan-3,4-dioly* (leukoantokyanidiny)
   c) *Flavanony*
   d) *Flavanonoly*

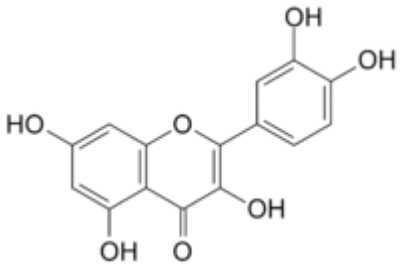
e) *Flavony*

f) *Flavonoly* (dihydroflavony) – do této skupiny flavonoidů patří **kvercetin**, který je nejvíce zastoupený a má nesmírné účinky na lidské zdraví. Dále zde patří glykosidové formy kvercetinu, jako jsou například **rutin**, avikularin, kvercitrin, hyperin nebo spiraein (Burg, 2014).

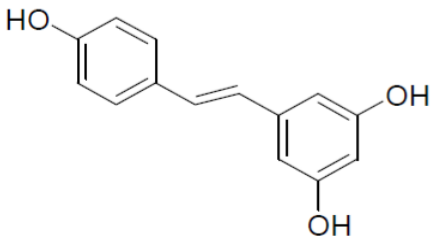
g) *Antokyanidiny* – jedná se o antokyanová barviva, která mají za příčinu barevný vjem hroznů. Největší podíl těchto barviv se nachází zejména ve slupce a v některých případech i dužnině (barvířky). Jedná se o velmi reaktivní látky, které se stabilizují pomocí cukrů (nejčastěji glukóza) a vytváří tzv. glykosidy. Pro modré odrůdy je hlavním barvivem malvidin, dále to jsou pak cyanidin, delfinidin, petunidin a peonidin. Ve spojení s glukózou následně vytváří malvidin-3-glukosid (nejčastěji vyskytující se barvivo v hroznech), cyanidin-3-glukosid, petunidin-3-glukosid atd. (Pavloušek, 2011).



Obr. 3 Chemická struktura nejběžněji vyskytovaných flavan-3-olů (Grases et al., 2015)



Obr. 4 Chemická struktura nejvíce zastoupeného flavonolu, kvercetin (Kubištová, 2012)



Obr. 5 Chemická struktura významného antioxidantu, resveratrolu (Xia et al., 2010)

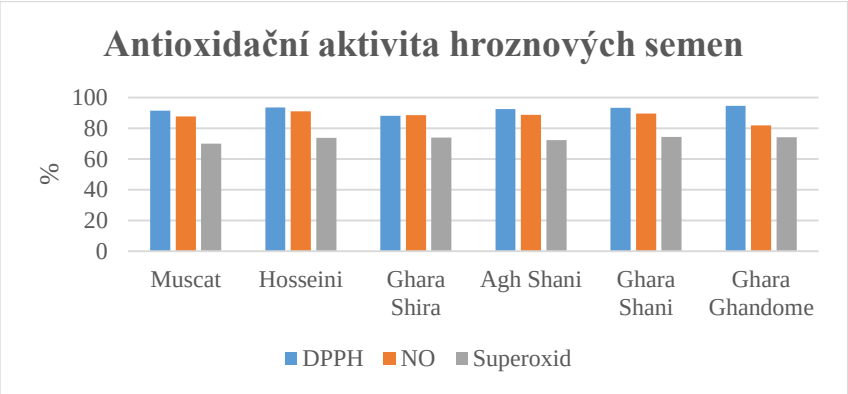
3.3 Studium zdraví prospěšných látek v semenech *Vitis vinifera* L.

3.3.1 Antioxidační aktivita

Podstatou antioxidantů je zabránění vzniku tzv. oxidačního stresu. Ten může nastat, jestliže dojde k porušení rovnováhy mezi oxidačním a antioxidačním systémem. Jeho výsledkem jsou volné radikály (VR) způsobující i závažná onemocnění. Důvodem vzniku VR mohou být jak exogenní příčiny (gama záření, UV záření, radiové frekvence, mikrovlny apod.), tak i endogenní příčiny (např. abnormální působení cytochromoxidasy v dýchacím řetězci). Aby nedocházelo k oxidativnímu stresu a následnému vzniku VR, slouží k tomuto účelu antioxidační obranný mechanismus, který zahrnuje enzymy (např. superoxiddismutasa, glutathionperoxidasa, katalasa) a další sloučeniny mající funkci tzv. lapačů (např. vitamin C, E, flavonoidy, fenoly, karotenoidy atd.) (Havelková, 2006).

Jako ochrana proti oxidativnímu stresu může být považována konzumace potravin bohatých na antioxidanty. Bobule révy vinné jich obsahují nesmírné množství. A právě semena jsou považována za zdroj antioxidantů rostlinného původu s největší účinností. Tyto vlastnosti se přičítají nejvíce flavonoidům a flavan-3-olům (katechin, epikatechin, epikatechin gallát a jeho polymery) (Grases et al., 2015).

Farhadi et al. (2016) ve své studii měřili antioxidační aktivitu pomocí DPPH metody, dále měřili aktivitu zachycení superoxidového radikálu a aktivitu zachycení dusíkového radikálu u odrůd Muscat Alexanderia, Hasseini, Ghar Shira, Agh Shani, Ghara Shani a Ghara Ghandome. Výsledky jsou znázorněné v Grafu 1 (Farhadi et al., 2016).

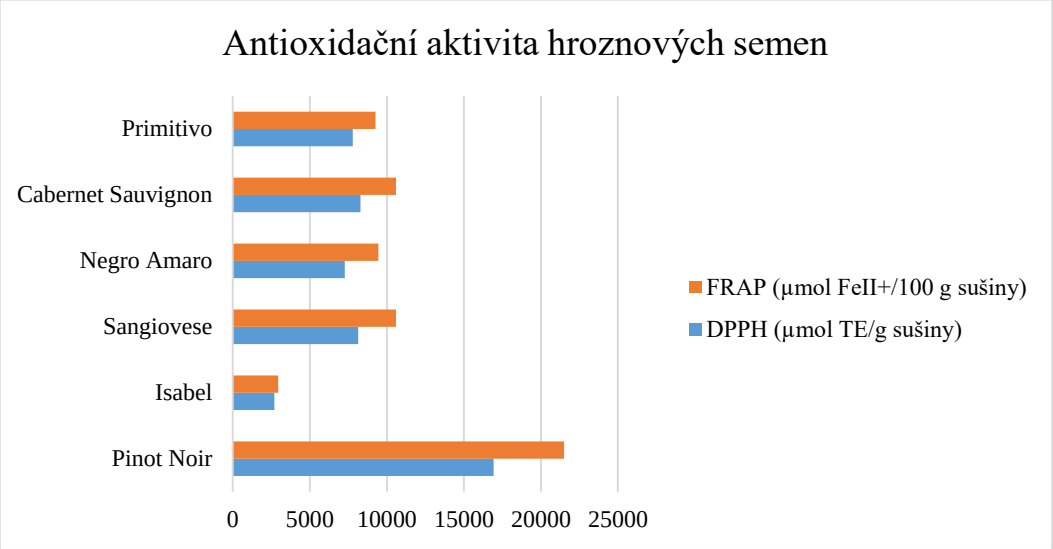


Graf 1 Stanovené antioxidační hodnoty hroznových semen u odrůd rostoucí v Ázerbájdžánu (Farhadi et al., 2016)

Samavardhana et al. (2015) stanovili antioxidační aktivitu hroznových semen u odrůdy Black queen (*Vitis vinifera* L.) rostoucí v Thajsku. Semena získali z hroznů během výroby vína (GSW; macerace 4 týdny) a separací semen od moštu (GSJ). Dále se zaměřili mimo jiné na to, zda způsob extrakce se podílí na antioxidační aktivitě (SM – shaking method, UAE – ultrasonic-assisted extraction). K jejímu měření využili DPPH metodu, která probíhala při vlnové délce 515 nm a výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalent Troloxu (analog vitamínu E). Hodnoty naměřené touto metodou dosahovaly rozmezí 121,71 – 1273,57 µmol TE.g^{-1} sušiny, přičemž těch nejvyšších bylo v případě metody UAE z GSJ. Další metodou pro měření antioxidační aktivity byla FRAP metoda probíhající při absorbanci 593 nm a výsledky jsou opět stanoveny jako ekvivalent Troloxu. Při tomto testu jednoznačně lepších výsledků dosahovala semena separovaná z moštu (1063,35 – 1153,88 µmol TE.g^{-1} sušiny) oproti GSW (119,11 – 152,64 µmol TE.g^{-1} sušiny). Poslední aplikovanou metodou ke stanovení antioxidační aktivity hroznových semen byl ABTS test o vlnové délce 734 nm, výsledky opět jako ekvivalent Troloxu. Vyhodnocené výsledky se opět ukázaly ve prospěch GSJ (UAE metoda), které činili 2064,23 µmol TE.g^{-1} sušiny. Celkově můžeme zhodnotit, že semena získaná separací z moštu vykazovala kvalitativně lepší výsledky, ať už zvolená extrakční metoda byla jakákoli (Samavardhana et al., 2015).

Rockenbach et al. (2011) v Brazílii u odrůd Pinot noir, Isabel, Sangiovese, Negro Amaro, Cabernet Sauvignon a Primitivo stanovovali antioxidační aktivitu hroznových semen a porovnávali ji s antioxidační aktivitou slupky. Za tímto účelem použili metody DPPH (absorbance 517 nm, výsledky v µmol TE.g^{-1} sušiny) a FRAP (absorbance 593 nm, výsledky v µmol Fe^{II+}/100 g sušiny). Výsledky této studie znázorňuje Graf 2.

V porovnání průměrných hodnot hroznových semen a slupky, větší antioxidační aktivitu vykazují hroznová semena (Rockenbach et al., 2011).



Graf 2 Stanovení antioxidační aktivity hroznových semen FRAP a DPPH metodou (Rockenbach et al., 2011).

Jakubcová et al. (2015) zkoumali antioxidační aktivitu pomocí DPPH metody u hroznových semen. Zjistili, že antioxidační aktivita semen použitých pro tuto studii dosahovala hodnot 7021 mg.L^{-1} GAE. Pro srovnání použili výlisky šípku, u kterého bylo naměřeno 12 mg.L^{-1} GAE, což je přibližně 585 krát méně (Jakubcova et al., 2015).

3.3.2 Polyfenolické sloučeniny

Všechny fenolické látky jsou syntetizovány z aminokyseliny fenylalanin, která je produktem šikimové cesty spojující metabolismus sacharidů s biosyntézou aromatických aminokyselin a sekundárních metabolitů (Flamini et al., 2013). Hroznová semena vykazují větší celkový obsah fenolů, než můžeme najít ve slupce a pokrutinách. Což je jedním z důvodů, proč považovat hroznová semena za hodnotný zdroj fenolických látek a především antioxidantů (Xu et al., 2010).

Samavardhana et al. (2015) provedli studii z hroznových semen odrůdy Black queen (*Vitis vinifera* L.) rostoucí v Thajsku. Použili semena získaná při maceraci (4 týdny) v procesu výroby vína (GSW) a semena, která byla separována od moštu (GSJ). Pro extrakci z těchto semen aplikovali 2 různé metody, třepací (SM – shaking method) a asistovanou ultrazvukovou metodu (UAE – ultrasonic-assisted extraction). Pro stanovení celkového obsahu fenolů z GSE (Grape Seed Extract) byla použita Folin-

Ciocalteuova metoda a absorbance měřili při vlnové délce 760 nm za využití UV-Vis spektrofotometru. Výsledky jsou stanovované jako ekvivalent kyseliny gallové v mg na gram sušiny hroznových semen (mg GAE/g DM). Zjištěné hodnoty se pohybovaly v rozsahu 18,07 – 159,95 mg GAE/g DM vzhledem k použité metodě extrakce. Jednotlivé výsledky jsou shrnuty v Tab. 1. V porovnání s jinými studiemi, které v této publikaci uvádějí, provedenými např. autory Yilmaz a Toledo (2006), byly výsledky Samavrdhanaa et al. (2015) nižší u odrůdy Black queen, než u odrůd Chardonnay, Merlot a Muscadine od Yilmaze a Toleda (2006). Celkový obsah flavonoidů zjišťovali kolorimetrickou metodou při 510 nm na UV-Vis spektrofotometru. Výsledky jsou ekvivalentem katechinu v mg na gram sušiny hroznových semen (mg CE/g DM). Aplikace extrakčních metod jako při stanovení celkového obsahu fenolů. Největší celkový obsah flavonoidů naměřen u GSJ + UAE 111,81 mg CE/g DM. Další hodnoty celkového obsahu flavonoidů uvedené v Tab. 1. Pro identifikace a kvantifikaci komponentů fenolových sloučenin použili HPLC analýzu u GSJ + UAE. Mezi determinovanými fenolovými sloučeninami byly nejvíce zastoupeny flavan-3-oly, konkrétně katechin (5,91 $mg.g^{-1}$ DM), epikatechin (1,29 $mg.g^{-1}$ DM) a prokyanidin B2 (5,76 $mg.g^{-1}$ DM). Právě tyto flavonoidní látky patří mezi nejčastější vyskytující se v hroznových semenech (Samavardhana et al., 2015).

Tab. 1 Obsah celkových fenolů a flavonoidů z extraktu hroznových semen (odrůda Black queen) v závislosti na použité extrakční metodě (Samavardhana et al., 2015).

Extrakční metoda	**Obsah celkových fenolů (mg GAE/g DM)**		**Obsah celkových flavonoidů (mg CE/g DM)**	
	GSW	***GSJ***	***GSW***	***GSJ***
SM	18,07	151,33	12,66	107,05
UAE	28,24	159,95	18,01	111,81

Rockenbach et al. (2011) analyzovali extrakt z hroznových semen, s porovnáním extraktu ze slupek, u červených odrůd používající se při výrobě vína v Brazílii. K experimentu použili odrůdy Pinot noir, Sangiovese, Negro Amaro, Cabernet Sauvignon, Primitivo (všechny odrůdy od *Vitis vinifera* L.) a odrůdu Isabel (*Vitis labrusca*). Ke stanovení celkového obsahu fenolových sloučenin aplikovali Folin-Ciocaleauovu metodu a měření probíhalo při 750 nm pomocí Ultrospec 2000 UV-Vis spektrofotometru. Výsledné naměřené hodnoty vyjádřeny jako ekvivalent katechinu v mg/100 g sušiny vzorku (s.v.). Další částí experimentu bylo stanovení obsahu

celkových flavanolů. Použili kolorimetrickou metodu, katechin použili jako standard a měřili při vlnové délce 500 nm. Vyhodnocené výsledky vztaženy k ekvivalentu katechinu v mg/100 g sušiny vzorku. Souhrn výsledků v Tab. 2 (Rockenbach et al., 2011).

Tab. 2 Obsah celkových fenolů a flavanolů z extraktu hroznových semen a slupky (Rockenbach et al., 2011)

Odrůda	Obsah celkových fenolů (mg CE/100 g s.v.)		Obsah celkových flavanolů (mg CE/100 g s.v.)	
	Slupka	***Semena***	***Slupka***	***Semena***
Pinot Noir	660	16 518	56	11 187
Isabel	1 839	2 128	156	1 188
Sangiovese	750	7 682	206	6 812
Negro Amaro	686	7 237	131	4 521
Cabernet Sauvignon	1 065	8 249	252	5 312
Primitivo	1 328	8 963	165	5 729

Tyto výsledky potvrzují, že koncentrace fenolických látek nacházející se v hroznových semenech je vyšší nežli ve slupce. Dále srovnávali pomocí RP- HPLC analýzy obsah jednotlivých fenolických komponentů. Výsledky stanovené analýzou jsou vyjádřeny v mg/100 g sušiny vzorku. Přehled vybraných odrůd s jednotlivými obsahy fenolických látek uvádí Tab. 3 (Rockenbach et al., 2011).

Tab. 3 Obsah jednotlivých komponentů fenolických látek z hroznových semen u vybraných odrůd (Rockenbach et al., 2011).

Odrůda	Pinot Noir (*Vitis vinifera L.*)		Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*)		Isabel (*Vitis labrusca)*	
	Slupka	***Semena***	***Slupka***	***Semena***	***Slupka***	***Semena***
Antokyany	385,93	Nd	934,67	Nd	456,52	Nd
Rutin	14,95	Nd	25,91	9,05	19,44	Nd
Deriváty kvercetinu (kromě rutinu)	15,19	Nd	22,86	Nd	17,96	Nd
Deriváty kaempferolu	5,18	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Katechiny	13,20	27,45	Nd	88,45	Nd	24,12
Epikatechiny	Nd	47,50	Nd	Nd	Nd	17,78
t-resveratrol	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	3,75
Kyselina chlorogenová	5,30	3,50	Nd	2,87	23,11	4,62

Pozn.: Nd - nedetekováno

Montealegre et al. (2006) se zaměřili na obsah fenolických látek v hroznových semenech u odrůd pěstovaných v teplém klimatu. Pro tuto studii použili 6 bílých odrůd (Chardonnay, Savignon blanc, Moscatel de Grano Menudo, Gewürtztraminer, Riesling a Viogner) a 4 modré odrůdy (Cencibel, Cabernet Sauvignon, Merlot a Shiraz)

pěstovaných v různých oblastech Španělska. K zjištění obsahu fenolických látek použili HPLC analýzu a přizpůsobili rozsah vlnových délek charakteristických pro každou látku: pro kyseliny benzoové a flavan-3-oly 275 nm, 320 nm pro vinné estery hydroxyskořicových kyselin a 365 nm pro flavonoly. Hlavní látky vyskytující se jak u modrých, tak i bílých odrůd byly flavan-3-oly (modré odrůdy: Cecibel 330 $mg.kg^{-1}$ čerstvého hroznu (č. h.), Cabernet Sauvignon 720 $mg.kg^{-1}$ č. h., Merlot 870 $mg.kg^{-1}$ č. h., Shiraz 500 $mg.kg^{-1}$ č. h.; bílé odrůdy: Chardonnay 1270 $mg.kg^{-1}$ č. h., Sauvignon blanc 730 $mg.kg^{-1}$ č. h., Moscatel 950 $mg.kg^{-1}$ č. h., Gewürztraminer 1340 $mg.kg^{-1}$ č. h., Ryzlink 1390 $mg.kg^{-1}$ č. h. a Viogner 560 $mg.kg^{-1}$ č. h.). Jak z výsledků vyplývá, větší obsah flavan-3-olů se nachází u bílých odrůd než u modrých. Potvrzují také, že fenolické složení hroznů může záviset na mnoha faktorech, mezi které patří klima, stupeň zralosti, velikost bobulí a odrůda révy vinné (Montealegre et al., 2006).

Šulc et al. (2005) stanovili obsah celkových polyfenolů v hroznových semenech pomocí Folin-Ciocalteaovy metody na Helios γ spektrofotometru (Spectronic Unicam, GB) při vlnové délce 765 nm, výsledek byl vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v mg (mg GAE/kg DM). Výčet jejich výsledků pro vybrané odrůdy ukazuje Tab. 4. Jejich celkové výsledky ukázaly, že obsah celkových polyfenolů byl vyšší u modrých odrůd, než u odrůd bílých. Dále stanovili obsah trans-resveratrolu v hroznových semenech použitím HPLC analýzy s izokratickou elucí na Waters™ chromatografu při absorbanci 307 nm. Jistý obsah trans-resveratrolu v hroznových semenech byl zaznamenán u odrůd Blauburgunder a Pinot noir z oblasti pěstování Kutná Hora, naměřili 0,015 $\mu g.kg^{-1}$ DM. Další odrůdy, u kterých byl zjištěn trans-resveratrol v hroznových semenech, byly bílé burgundské z mostecké podoblasti, zde naměřili 0,025 $\mu g.kg^{-1}$ DM (Sulc et al., 2005).

Tab. 4 Obsah celkových polyfenolů z hroznových semen u vybraných odrůd (Sulc et al., 2005).

Odrůda	Lokace	Obsah celkových polyfenolů (mg GAE/kg DM)
Kerner	Roudnice nad Labem	475,0
Müller-Thurgau	Roudnice nad Labem	538,7
Modrý Portugal	Roudnice nad Labem	525,7
Svatovavřinecké	Roudnice nad Labem	666,6
Hibernal	Karlštejn	553,1
Bílá Chrupka	Kutná Hora	426,9
Tramín červený	Most	440,9
Zweigeltrebe	Most	537,2
Alibernet	Most	737,9
Ryzlink Rýnský	Velké Žernoseky	862,8

Roblová et al. (2011) provedli analýzu fenolických látek různých částí révy vinné, hroznová semena, stonky a listy. Použili odrůdy Veltlínské zelené (VZ) a Zweigeltrebe (Zw). Sledovány byly tyto polyfenolické látky: trans-resveratrol, katechin + epikatechin, rutin, kyselina ferulová, kyselina p-kumarová, myricetin, kvercetin, kaempferol a kyselina gallová. Za účelem jejich extrakce použita extrakční metoda kapalina-kapalina, neboť při použití jiných metod (SPE – solid-phase extraction a SFE – supercritical fluid extraction) nedocházelo k dostatečné extrakci analytu. Hodnoty katechinu a epikatechinu byly naměřeny u obou odrůd a ve všech vzorcích, dosahovaly čísel od 27,6 $\mu g.ml^{-1}$ do 114,5 $\mu g.ml^{-1}$. Dále byla ve všech sledovaných vzorcích nalezena kyselina gallová (12,7 – 90,1 $\mu g.ml^{-1}$). Hodnoty trans-resveratrolu se ukázaly pouze ve třech případech (VZ – lehce drcená semena: 6,9 $\mu g.ml^{-1}$, VZ – hrubě mletá semena: 5,0 $\mu g.ml^{-1}$ a Zw – komerční moučka VITIS: 12,0 $\mu g.ml^{-1}$). Rutin se prokázal u odrůdy VZ (12,5 – 46,7 $\mu g.ml^{-1}$) a Zw (s jemně namletými hroznovými semeny – 15,1 $\mu g.ml^{-1}$.) V případě ostatních fenolických látek byly jejich obsahy v analytu podlimitní nebo neidentifikovatelné (Roblová et al., 2011).

Santos et al. (2011) v Brazílii zjišťovali v různých částech hroznu u čtyř odrůd (Isabel – *Vitis labrusca,* Niagara – *Vitis labrusca,* Benitaka – *Vitis vinifera* L., Brazil – *Vitis vinifera* L.) obsah fenolických látek a zaměřili se také na obsah trans-resveratrolu. Největší celkový obsah fenolických látek se nacházel v hroznových semenech u odrůdy Niagara (122,35 mg GAE g^{-1}), následováno odrůdou Isabel (117,32 mg GAE g^{-1}), Brazil (91,53 mg GAE g^{-1}) a Benitaka (89,83 mg GAE g^{-1}). Ve srovnání se slupkou (1,43 – 2,46 mg GAE g^{-1}) a dužninou (0,04 – 0,11 mg GAE g^{-1}) u kterých byl tento obsah několikanásobně nižší. Koncentrace trans-resveratrolu nacházejícího se

v hroznových semenech se pohybovala nejvíce u odrůdy Niagara (2,44 $\mu.g^{-1}$). U ostatních odrůd byly koncentrace následující: 2,35 $\mu.g^{-1}$ (Isabel), 2,11 $\mu.g^{-1}$ (Brazil) a 2,03 $\mu.g^{-1}$ (Benitaka), což bylo ve srovnání se slupkou cca 6x méně (12,96 $\mu.g^{-1}$), kdežto v dužnině trans-resveratrol nebyl detekován (Santos et al., 2011).

Farhadi et al. (2016) zkoumali u pěti odrůd typických pro Západní Ázerbájdžán (Hosseini, Ghara Shira, Agh Shani, Ghara Shani, Ghara Ghandome) a jedné mezinárodní odrůdy (Muscat Alexanderia) fenolické látky v různých částech hroznu (slupce, dužnině, semenech, třapině a listu). Výsledky jejich pozorování jsou uvedeny v následujících tabulkách, Tab. 5 a Tab. 6 (Farhadi et al., 2016).

Tab. 5 Obsah antokyanů v extraktu z hroznových semen (Farhadi et al., 2016).

Odrůda	Antokyany (mg.g[1] sušiny)
Muscat Alexanderia	1,82
Hosseini	0,72
Shara Shira	0,33
Agh Shani	0,27
Ghara Shani	2,0
Ghara Ghandome	2,4

Tab. 6 Obsah fenolických látek v hroznových semenech (Farhadi et al., 2016).

Odrůda	Muscat ($\mu g.g^{-1}$)	Hosseini ($\mu g.g^{-1}$)	Shara Shira ($\mu g.g^{-1}$)	Agh Shani ($\mu g.g^{-1}$)	Gara Shani ($\mu g.g^{-1}$)	Ghara Ghandome ($\mu g.g^{-1}$)
Kys. gallová	87	87	77	77	91	67
Katechin	143	136	122	132	156	124
Epikatechin	112	121	113	129	167	103
Kys. kávová	10	11	9,5	10,1	14,4	7,0
Rutin	16	17	11	13	18	15
Resveratrol	nd	nd	nd	nd	nd	nd
kvercetin	31	31	25	28	38	35

Pozn: nd - nedetekováno

Jakubcová et al. (2015) stanovili obsah flavonolů, hydroxyskořicové kyseliny a celkových polyfenolických látek u hroznových semen. Při stanovení flavonolů použili metodu založenou na použití DMAC (p-dimethylaminocinnamaldehyd) jako reakčního činidla. Obsah flavonolů vyskytující se v analyzovaném vzorku byl stanoven na 3070 $mg.L^{-1}$. Hydroxyskořicová kyselina se vyskytovala v poměru 6870 $g.L^{-1}$ a obsah celkových polyfenolických látek byl stanoven za pomocí Folin-Ciocalteovy metody na 7540 $mg.L^{-1}$. Pro srovnání použili šípkové výlisky, jejichž všechny naměřené hodnoty byly několikanásobně nižší v porovnání s hroznovými semeny (Jakubcová et al., 2015).

Maier et al. (2009) stanovili obsah fenolických kyselin v hroznových semenech u odrůd rostoucí v Jižním Německu. Jedná se o odrůdy Cabernet Mitos, Lemberger, Spätburgunder, Samtrot, Müller-Thurgau, Kerner a Schwarzriesling. Přehled jejich výsledků znázorňuje Tab. 7. Odrůda Müller-Thurgau neobsahovala žádnou jinou fenolickou kyselinu, pouze kyselinu gallovou. Největší obsah této kyseliny se nacházel u odrůdy Samtrot, jedná se o modrou odrůdu (Maier et al., 2009).

Tab. 7 Obsah fenolických kyselin v hroznových semenech u 7 odrůd rostoucí v Jižním Německu (Maier et al., 2009).

Odrůda	Kys. kaftarová (mg.kg^{-1} sušiny)	Kys. kutarová (mg.kg^{-1} sušiny)	Kys. fertarová (mg.kg^{-1} sušiny)	Kys. gallová (mg.kg^{-1} sušiny)	Kys. kávová (mg.kg^{-1} sušiny)	Kys. p-kumarová (mg.kg^{-1} sušiny)	Kys. ferulová (mg.kg^{-1} sušiny)
CMi	91,1	28,3	21,1	278,8	Nd	Nd	Nd
Lem	112,5	31,7	21,8	332,1	Nd	Nd	Nd
Spät	18,9	16,9	Nd	243,3	Nd	Nd	Nd
Sam	49,2	Nd	Nd	1116,5	Nd	Nd	Nd
MT	Nd	Nd	Nd	188,7	Nd	Nd	Nd
Ker	15,6	Nd	Nd	248,6	Nd	Nd	Nd
Schw	127,9	Nd	Nd	307,1	Nd	Nd	Nd

Pozn.: CMi – Cabernet Mitos, Lem – Lemberger; Spät – Spätburgunder; Sam – Samtrot, MT – Müller-Thurgau; Ker – Kerner; Schw – Schwarzriesling. Nd - nedetekováno

3.3.3 Minerály

Tangolar et al. (2009) provedli studii, ve které stanovovali koncentraci prvků v hroznových semenech těchto odrůd: Narince, Muscat of Hamburg, Horoz karasi, Razaki, Öküzgözü, Alicante Bouschet, Alphonse Lavallée, Cosmo 2 a Salt creek. Koncentrace byly měřeny pomocí emisní spektrofotometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). Zjišťovali koncentraci těchto prvků: železo, zinek, mangan, měď, dusík, fosfor, draslík, vápník a hořčík. Obsah fosforu se procentuálně pohyboval v rozmezí 0,29 – 0,44 %, nejméně měla odrůda Razaki a nejvíce Salt creek. Od 0,33 % do 0,50 % zaznamenali hodnotu draslíku, který měl druhou nejvyšší koncentraci z makroprvků. Průměrně 0,15 % byla koncentrace hořčíku. Nejméně ho měli odrůdy Narince a Razaki. Naopak nejvíce hořčíku v hroznových semenech se vyskytovalo u odrůd Öküzgözü, Alphonse Lavallée a Cosmo 2. Posledním makroprvkem byl vápník s hodnotami 0,48 – 0,79 %. Nejméně ho měla odrůda Razaki, avšak v celkovém hodnocení koncentrace makroprvků byl vápník nejvíce zastoupeným prvkem. Průměrné

koncentrace mikroprvků se pohybovali v případě zinku okolo 14,87 %, železa 21,14 %, manganu 16,93 % a mědi 10,05 % (Tangolar et al., 2009).

Lachman et al. (2013) pomocí FAAS metody (Flame Atomic Absorption Spectroscopy) detekovali vápník, hořčík, draslík, železo, zinek, měď a mangan v hroznových semenech bílých i modrých odrůdách a fosfor byl stanoven spektrofotometricky. Všechen materiál poskytnutý k této studii pocházel z různých míst, kde se pěstuje réva vinná (*Vitis vinifera* L.). Makroprvky zastoupené draslíkem, sodíkem, vápníkem, hořčíkem a fosforem dosahovaly hodnot 3,642 – 9,524 $g.kg^{-1}$ sušiny; 0,038 – 0,335 $g.kg^{-1}$ sušiny; 3,246 – 6,162 $g.kg^{-1}$ sušiny; 0,721 – 1,484 $g.kg^{-1}$ sušiny a 2,355 – 5,030 $g.kg^{-1}$ sušiny uvedené v tomto pořadí. Nejméně zastoupeným makroprvkem byl sodík a nejvíce zastoupeným byl draslík (9,524 $g.kg^{-1}$ sušiny). Obě tyto maximální i minimální hodnoty byly naměřeny u odrůdy Rulandské šedé. Mikroprvky vyhodnoceny v následujícím pořadí: železo, měď, zinek a mangan s hodnotami: 25,382 – 88,532 $mg.kg^{-1}$ sušiny; 4,990 – 10,14 $mg.kg^{-1}$ sušiny; 5,502 – 18,081 $mg.kg^{-1}$ sušiny a 7,001 – 34,573 $mg.kg^{-1}$ sušiny. Nejvíce se vyjímala hodnota 88,532 $mg.kg^{-1}$ sušiny Fe stanovená u odrůdy Pinot noir (Lachman et al., 2013).

Burg et al. (2014) stanovovali makro a mikroprvky pomocí FAAS metody z celkem 12 odrůd (Hibernal, Rulandské šedé, Müller-Thurgau, Chardonnay, Tramín červený, Ryzlink vlašský, Rulandské modré, Cabernet Sauvignon, Zweigeltrebe, Laurot, Svatovavřinecké, Neronet) z různých vinařských oblastí. Přehled vybraných makro a mikroprvků uvádí Tab. 8. Největší zastoupení ze sledovaných makroprvků měl draslík, který dosahoval u odrůdy Rulandské šedé (Karlštejn) hodnot 9524 $mg.kg^{-1}$ sušiny, nejméně zastoupeným makropvkem byl sodík s hodnotou 38,2 $mg.kg^{-1}$ sušiny taktéž u odrůdy Rulandské šedé (Karlštejn). Odrůda Chardonnay (Hustopeče) měla nejmenší obsah mědi (4,990 $mg.kg^{-1}$ sušiny). Nejvíce železa se nacházelo u odrůdy Rulandské modré (Karlštejn) (Burg, 2014).

Tab. 8 Obsah vybraných makro a mikroprvků v hroznových semenech (Burg, 2014).

Makroprvky ($mg.kg^{-1}$ sušiny)				
Draslík	**Sodík**	**Vápník**	**Hořčík**	**Fosfor**
3562 - 9524	38,2 – 335,3	3246 – 6162	720,5 – 1714	2355 – 5030
Mikroprvky ($mg.kg^{-1}$ sušiny)				
Železo	**Měď**	**Zinek**	**Mangan**	
25,38 – 88,53	4,990 – 10,14	5,502 – 18,08	7,001 – 34,57	

3.3.4 Lipidy

Hroznová semena obsahují velké množství olejů, přičemž nejvyšší podíl patří nenasyceným mastným kyselinám (až 90%), mezi které patří kyselina linolová mající 70 – 76 % zastoupení v nenasycených mastných kyselinách. Kyselina linolová v hroznových semenech má vyšší obsah ve srovnání se slunečnicovým olejem, kde její množství je přibližně 60 – 62 %, s kukuřičným olejem (52%) nebo také světlicový olej, který obsahuje 70 – 72 % kyseliny linolové. To, jaký je poměr mezi mastnými kyselinami může být ovlivněno genotypem (Burg, 2014; Tangolar et al., 2009).

Tangolar et al. (2009) použili ke své studii semena z 5 modrých odrůd (Horoz karasi, Öküzgözü, Muscat of Hamburg, Alphonse Lavallée, Alicante Bouschet) a 2 bílé odrůdy (Narince a Razaki), 2 americké podnože (Salt creek, *Vitis champinii* a Cosmo2, *Vitis berlandieri x V. riparia*). Analýzy oleje z hroznových semen byly uskutečněny Soxhletovou metodou. Složení mastných kyselin analyzovali pomocí plynové chromatografie. Obsah oleje nacházející se v jednotlivých odrůdách se pohyboval v rozmezí 10,45 – 16,73 %. Výsledky profilu mastných kyselin z hroznových semen uvádí Tab. 9, ty potvrzují, že nejvyšší obsah těchto kyselin zastává kyselina linolová. Další kyseliny např. kyselina myristová či margarová byly pouze v nízkých koncentracích. Celková suma nasycených kyselin byla v rozmezí 12,01 – 15,10 %, mononenasycených kyselin v rozmezí 18,19 – 23,29 % a polynenasycené mastné kyseliny byly v koncentraci 62,88 – 69,49 % (Tangolar et al., 2009).

Tab. 9 Profil vybraných mastných kyselin z hroznových semen (Tangolar et al., 2009).

Odrůda	Kyselina palmitová (%)	Kyselina stearová (%)	Kyselina olejová (%)	Kyselina linolová (%)
Razaki	9,53	4,41	19,06	66,40
Alphonse Lavallée	8,71	3,56	19,72	67,34
Muscat of Hambug	7,96	4,33	18,14	69,24
Öküzgözü	9,76	4,40	19,33	65,81
Horoz karasi	10,01	4,96	20,13	64,34
Narince	9,61	3,14	20,53	66,11
Alicante Bouschet	8,52	3,95	22,88	62,53
Cosmo 2	8,82	3,97	18,28	67,51
Salt creek	8,58	3,40	19,52	67,60

Baydar a Akkurt (2001) pomocí plynové chromatografie stanovili složení mastných kyselin z hroznových semen celkem na 18 odrůdách, z toho 12 odrůd používaných pro výrobu vína a 6 odrůd stolních. Odrůdy, u kterých nebyla nalezena kyselina ikosenová, byly z řad moštových i stolních, konkrétně se jednalo o odrůdu Pinot noir (moštová) a Gül üzümü (stolní). U Pinot noir nebyla také nalezena kyselina linolenová. Přehled dalších kyselin nabízí Tab. 10 (Baydar a Akkurt, 2001).

Tab. 10 Složení mastných kyselin z hroznových semen. Hodnoty uvedeny v % (v/w) (Baydar a Akkurt, 2001).

Mastné kyseliny	Moštové odrůdy	Stolní odrůdy
Palmitová	6,5 - 9,0	7,6 - 9,7
Stearová	3,5 - 9,0	4,0 - 7,3
Olejová	17,8 - 25,5	19,4 - 26,5
Linolová	60,1 - 70,1	60,7 - 67,2
Linolenová	0,00 - 0,87	0,31 - 0,75
Ikosenová	0,00 - 0,97	0,00 - 0,76
Stupeň nenasycenosti (%)	86,5 - 89,3	84,2 - 88,3

Lachman et al. (2015) analyzovali pomocí plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem celkem 23 vzorků různých odrůd za roky 2011 a 2012. Výsledky jejich práce znázorňuje Tab. 11. Jedná se o výčet hodnot v rozmezí od nejmenší naměřené hodnoty po tu největší u jednotlivých mastných kyselin (Lachman et al., 2015).

Tab. 11 Složení hlavních a esenciálních mastných kyselin v hroznových semenech různých odrůd (Lachman et al., 2015).

Hlavní a esenciální mastné kyseliny	2011 (g/100 g oleje)	2012 (g/100 g oleje)
Kyselina palmitová	5,94 – 8,02	5,98 – 8,34
Kyselina stearová	3,18 – 5,65	3,11 – 6,20
Kyselina olejová	9,97 – 16,78	10,49 – 18,00
Kyselina linolová	69,25 – 77,23	69,85 – 77,08
Kyselina α-linolová	0,31 – 0,77	0,28 – 0,48

Jak můžeme v tabulce vidět, největších hodnot dosahovala kyselina linolová. Nejvíce ze všech odrůd v roce 2011 měla odrůda Pálava, pro rok 2012 to bylo Veltlínské zelené. Nejméně byla zastoupena kyselina α-linolová, nejmenší koncentrace této kyseliny byla u odrůdy Bacchus (v roce 2011) a André (rok 2012). Po kyselině linolové, druhou nejvíce zastoupenou byla kyselina olejová, následována palmitovou a stearovou (Lachman et al., 2015).

Santos et al. (2011) u odrůd Isabel, Niagara, Benitaka a Brazil zkoumali koncentraci mastných kyselin nacházející se v hroznových semenech. Největší koncentrace detekovali u kyseliny linolové, která byla nejvíce zastoupena, dále kyseliny palmitové a olejové. V případě kyseliny linolové byla její koncentrace nejvyšší u odrůdy Benitaka (9148,93 mg 100 g^{-1}), následována odrůdou Brazil (7873,65 mg 100 g^{-1}), Niagara (6309,04 mg 100 g^{-1}) a Isabel (5890,87 mg 100 g^{-1}). Kyselina palmitová dosahovala hodnot v rozmezí 679,67 – 942,44 mg 100 g^{-1}. O něco vyšší koncentraci měla kyselina olejová, která u odrůdy Isabel dosahovala největší hodnoty – 1690,76 mg 100 g^{-1} a nejméně 1338,23 mg 100 g^{-1} u odrůdy Benitaka. Sumu celkových mastných kyselin, které se vyskytovaly v hroznových semenech, uvádí Tab. 12 (Santos et al., 2011).

Tab. 12 Suma koncentrace veškerých mastných kyselin v hroznových semenech (Santos et al. 2011).

Odrůda	Σ PUFA (mg 100 g^{-1})	Σ MUFA (mg 100 g^{-1})	Σ SFA (mg 100 g^{-1})
Isabel	5947,72	1855,53	1309,78
Niagara	6357,77	1631,64	1311,38
Benitaka	9204,27	1491,23	1267,69
Brazil	7913,60	1481,56	1041,80

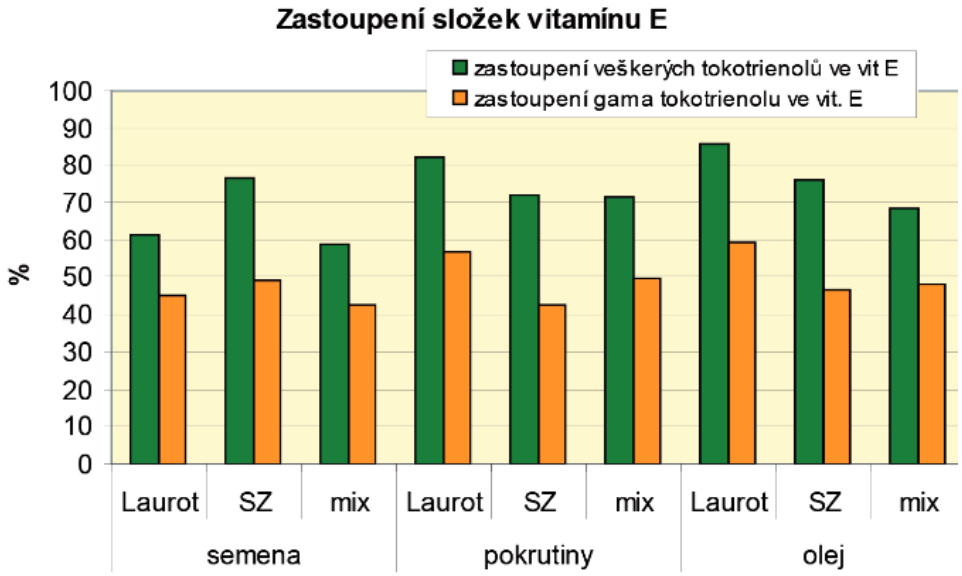
Pozn.: PUFA – polynenasycené mastné kyseliny; MUFA – mononenasycené mastné kyseliny; SFA – nasycené mastné kyseliny

3.3.5 Vitamíny

Vitamín E je v tucích rozpustná 6-hydroxychroman sloučenina vykazující biologickou aktivitu. Všeobecně se označuje jako tokoferol (T) skládající se z α-, β-, γ- a δ-T, a tokotrienol (T3) skládající se taktéž z α-, β-, γ- a δ-T3. Zastává funkci antioxidantu bojujícího proti volným radikálům a poškozením na buněčné úrovni. α-T3 bývá dokonce považován za lepšího lapače radikálů než α-T. Tokoferoly můžeme nalézt v mnoha potravinách, např. ořeších, ovoci, zelenině a běžných rostlinných olejích, zatímco tokotrienoly v palmovém oleji, oleji z rýžových otrub a některých obilných zrnech. Množství tokoferolů a tokotrienolů v hroznových semenech, vzhledem k obsahu oleje, je srovnatelné s palmovými a rýžovými oleji (Wie et al., 2009; Eitenmiller a Lee, 2004).

Wie et al. (2009) analyzovali 14 různých odrůd rostoucí v Koreji pomocí NP-HPLC. Všechny odrůdy obsahovaly α-T, γ-T, α-T3, γ-T3. Nejmenší obsah α-T byl u odrůdy SV18015 (0,7 mg/100 g sušiny), nejvíce ho měla odrůda Naples s hodnotou 2,8 mg/100 g sušiny. Nejméně, ze všech tokoferolů a tokotrienolů, bylo naměřeno γ-T (0,1 – 0,5 mg/100 g sušiny). Vyšších hodnot dosahovaly tokotrienoly, těch bylo naměřeno nejvíce. V případě α-T3 se hodnoty pohybovaly v rozmezí 0,8 – 3,6 mg/100 g sušiny, γ-T3 měly obsah v rozsahu 1,6 – 5,5 mg/100g sušiny. Celkový obsah vitamínu E se v hroznových semenech pohyboval od 4,8 mg/100 g sušiny do 9,9 mg/100 g sušiny. Nejméně celkového obsahu vitamínu E měla odrůda Baco 22A (4,8 mg/100 g sušiny) (Wie et al., 2009).

Burg et al. (2014) sledovali ve své studii spektrum a hladiny jednotlivých komponentů vitamínu E u odrůdy Sylvánské zelené a Laurot a u směsice bílých moštových odrůd. Nejvíce zastoupené byly tokotrienoly, především γ-T3, který zaujímal až 50 %. Kromě semen sledovali také pokrutiny a vinný olej. Výsledky jsou znázorněny v Grafu 3 (Burg, 2014).



Graf 3 Skladba tokotrienolů u odrůd Sylvánské zelené, Laurot a směsice bílých moštových odrůd (Burg, 2014).

Lachman et al. (2013) pomocí HPLC-FLD metody analyzovali hroznová semena na přítomnost tokoferolů a tokotrienolů u 12 odrůd (bílých i modrých) z různých vinařských oblastí (Čech i Moravy). Výsledky odhalily obsah dvou tokoferolů (α-T a γ-T) a tří tokotrienolů (α-T3, γ-T3 a δ-T3). Souhrnný přehled výsledků uveden v Tab. 13. V celkovém hodnocení obsahu vitamínu E dopadla nejlépe odrůda Müller-Thurgau. Nejvíce vitamínu E obsahoval Müller-Thurgau (MT) z vinařské obce Velké Bílovice s hodnotou 125,9 $mg.kg^{-1}$ sušiny, na druhém místě MT z Karlštejna – 111,1 $mg.kg^{-1}$ sušiny a na třetím místě MT z Mělníka – 109,6 $mg.kg^{-1}$ sušiny (Lachman et al., 2013).

Tab. 13 Souhrn obsahu vitamínu E v hroznových semenech u různých odrůd a různých vinařských oblastí (Lachman et al., 2013).

Tokoferoly (mg.kg^{-1} sušiny)		**Tokotrienoly (mg.kg^{-1} sušiny)**			**Suma tokoferolů a tokotrienolů (mg.kg^{-1} sušiny)**	
α-T	***γ-T***	***α-T3***	***γ-T3***	***δ-T3***	***Σ T***	***Σ T3***
3,595 – 22,80	1,947 – 11,57	11,59 – 38,39	29,24 – 74,99	0,319 – 1,257	5,542 – 26,09	48,41 – 99,78

Horvath et al. (2006) zkoumali akumulaci tokoferolů a tokotrienolů v semenech révy vinné (*Vitis vinifera* L. cv. Albert Lavallée) v průběhu vývoje hroznu. Tokoferoly se nacházejí homogenně rozptýlená ve všech pletivech v koncentraci okolo 20 – 100 $\mu g.g^{-1}$ sušiny. Zatímco tokotrienoly byly nalezeny pouze v endospermu semen

hromadící se esovitým způsobem během zrání v průběhu vývoje semene. Bylo zjištěno, že hladina tokotrienolu se pohybuje okolo 54 $\mu g.g^{-1}$ sušiny u 90 dní starého semene *Vitis vinifera* L. (Horvath et al., 2006).

3.4 Metody používané pro stanovení antioxidačních komponent v semenech *Vitis vinifera* L.

Hlavní podstatou látek obsažených v hroznových semenech je zejména antioxidační aktivita. Tato vlastnost například plní funkci lapače volných radikálů, zapojuje se při inhibování okysličení lipidů a na poklesu hydroperoxidu. Pro ověření použitelnosti těchto přírodních zdrojů k lékařským účelům byly použity studie jak v *in vitro,* tak i v *in vivo* prostředí, dále na zvířecích modelech nebo přímo na lidských dobrovolnících za využití extraktů z nespočtu rostlin (hrozny révy vinné (*Vitis vinifera* L.), *Lycopus lucidus*, zelený čaj, ořechy, rozmarýn, maliny, moruše, maniok jedlý (*Manihot esculenta)* atd.). Všechny tyto studie využívaly několik metod k získání extraktu z pokusných rostlin a postupy ke stanovení antioxidační aktivity. Některé z nich jsou uvedeny v následující kapitole (Li et al., 2014).

3.4.1 Metody pro stanovení jednotlivých antioxidantů

HPLC (High-performance liquid chromatography)

Metoda založená na separaci, detekci a identifikaci látek obsažených v analyzované směsi. Jak už z názvu vyplývá, jedná se o metodu chromatografickou, konkrétně kapalinovou. Chromatografické metody obsahují stacionární a mobilní fázi. V případě mobilní fáze se jedná o vysokotlaké tekuté rozpouštědlo, které je přiváděno přes kolonu. Stacionární fáze tvoří kapilární nebo plněnou kolonu se substituovanými silikagely. Tato metoda umožňuje jak kvalitativní, tak i kvantitativní stanovení analyzovaného vzorku. Nejnižší kvantum použitého vzorku dosahuje v µl objemu. Citlivost se odvíjí v závislosti na použitém detektoru. Výsledkem HPLC analýzy je chromatogram obsahující chromatografické píky (koncentrační profily). Kvalitativní část se nachází na časové ose a velikost plochy píku odpovídá kvantitě. Pro oddělení jednotlivých komponentů musí být dodrženo jistých zásad – netěkavost a stálost teploty. Tato metoda má využití na poli farmaceutiky, biochemie, potravinářského průmyslu atd. Výhodou použití této metody je vysoká účinnost separace, díky použití vysokotlakého

čerpadla také rychlost a detekce již při nízké hranici. Na druhou stranu její nevýhodou může být poměrně vyšší technická náročnost jak na separaci, tak i instrumentaci (Rusak, 2015; Schulzová, 2013; Procházka, 2013; Mikeš, 2009).

TLC (Thin Layer Chromatography)

Jedná se o poměrně technicky nenáročnou analytickou chromatografickou metodu, jejímž základem je rozdělení jednotlivých látek pomocí mobilní a stacionární fáze. Stacionární fáze je tvořena destičkou různého materiálu např. sklo, hliník či plast, která je pokryta vrstvou adsorbentu mající charakter silikagelu nebo oxidu hlinitého. Mobilní fázi představuje směsice organického rozpouštědla, která se přizpůsobuje podle analyzovaných látek. Buď může být jako mobilní fáze použit čistý etanol, nebo směsice chloroformu a etanolu (v poměru 9:1), případně chloroformu a acetonu (v poměru 85:15). Princip této metody spočívá v nanesení vzorku na stacionární fázi, přičemž musí být zřetelně označen start, a následného ponoření do mobilní fáze. Jakmile je dosaženo horního okraje destičky, zaznačí se cíl proběhlé chromatografie. Stanovené látky se stanoví pomocí retenčního faktoru (kol., 2015).

3.4.2 Metody pro stanovení celkových antioxidantů

Metod stanovující antioxidační aktivitu je nepřeberné množství, ale základem je jejich rozdělení na dvě skupiny. První skupina metod se zaměřuje na způsobilost eliminace radikálů a druhá skupina metod zhodnocuje redoxní vlastnosti antioxidačních látek (Kubištová, 2012).

Metoda ABTS (Metoda TEAC)

Tato spektrometrická analýza je nejběžněji používanou metodou určená ke stanovení antioxidační kapacity. Řadí se mezi metody zaměřující se na schopnost eliminace radikálů. Funkci radikálu plní kationt $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonová kyselina) mající zbarvení zeleno-modré a spektrofotometrem zaznamenán při vlnové délce 600 – 750 nm. $ABTS^{\bullet+}$ je vodou i organickým rozpouštědlem rozpustitelný. Proto je vhodný k měření jak hydrofilních, tak i lipofilních antioxidantů (Křenová, 2013; Kubištová, 2012).

Metoda DPPH

Spektrometrická analýza ke zjištění antioxidační aktivity eliminací stabilního dusíkového radikálu DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) mající barvu tmavě fialovou. Podstatou bývá reakce zkoušené látky s tímto radikálem, přičemž dojde k jeho redukci na DPPH-H formu (difenylpikrylhydrazin) a změně barvy na světle žlutou. Sledování procesu této barevné změny probíhá při vlnové délce 515 nm. Jistá nevýhoda spočívá v částečné odolnosti některých antioxidantů vůči DPPH, nebo může také docházet k příliš pomalé reakci. Další omezení mohou vyvstat při použití rozpouštědla, neboť DPPH se rozpouští pouze v organických rozpouštědlech (zejména alkoholy), nikoli však ve vodě (Křenová, 2013; Kubištová, 2012).

Metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Náleží mezi spektrofotometrickou analýzu, při které dochází ke vzniku kyslíkových radikálů a následně se posuzuje u dané antioxidační látky způsobilost zabránění radikálové reakce. Základem je pozorování poklesu fluorescence β-fykoeritrinu, jakmile dojde ke střetu s radikály. Jistá úskalí ale nastávají při určení antioxidační aktivity polyfenolů, zejména při využití β-fykoeritrinu (omezení fotostability). Vědci tedy provedli jistou obměnu ve formě fluoresceinu, kdy dochází jen k předání vodíkového atomu (Křenová, 2013; Kubištová, 2012).

Metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Tato metoda je založená na redoxních vlastnostech antioxidačních látek a řadí se mezi spektrofotometrickou analýzu. Podstatou při tomto stanovení je přeměna Fe^{III+} na Fe^{II+}, přičemž původní bezbarvý komplex se redukuje na modrý. Tuto barevnou změnu můžeme pozorovat při absorbanci 593 nm. Důležitou roli také hraje pH prostředí, metoda FRAP vyžaduje kyselé prostředí (pH 3,6). Nemusí také souviset s celkovou antioxidační aktivitou daných látek, ukazuje jen kapacitu redukce železitých komplexů na železnaté (Křenová, 2013; Kubištová, 2012).

4 Vlastní komentář k řešené problematice

Můžeme říci, že výše zmíněné studie zabývající se rozborem hroznových semen potvrdily jejich velký potenciál. Látky obsažené v semenech jednoznačně prokázaly svou antioxidační aktivitu. Proto je třeba využít těchto znalostí a rozšířit možnosti využití hroznových semen. Není to pouze odpad, který vznikne při zpracování hroznů. Hroznová semena mohou sloužit k výrobě oleje, kosmetických přípravků a mohou také najít uplatnění mimo jiné na poli farmaceutickém (např. jako doplňky stravy). Přidanou hodnotou může býti fakt, že se jedná o zdroj přírodních látek, které se v dnešní době těší veliké oblibě.

V této souvislosti řada vědců provedla studie věnující se použití polyfenolických sloučenin na nejrůznější civilizační choroby. Víme, že hroznová semena obsahují řadu polyfenolických látek, zejména flavan-3-oly, mezi které patří katechin, epikatechin, epikatechin galát a epigallokatechin. Hroznová semena, dle zjištění např. Šulce et al. (2005), Roblové et al. (2011), Santose et al. (2001) či Rockenbacha et al. (2011), obsahují taktéž jisté množství trans-resveratrolu, což je jeden z nejvýznamnějších antioxidantů révy vinné. Podobný efekt jako resveratrol mají například kvercetin, katechin, epikatechin a oligoproantokyanidin, kteří zvyšují produkci HDL, a v důsledku toho se může předejít vzniku kardiovaskulárních onemocnění. V souvislosti se srdečními chorobami se také hovoří o tzv. „francouzském paradoxu“. Francouzská kuchyně tuky nešetří a samotní Francouzi rozhodně víno neodmítnou. Tento fakt, týkající se konzumace vína, může nasvědčovat o antioxidačních schopnostech fenolických látek (zejména resveratrolu), neboť ve srovnání s Američany, Francouzi netrpí tolik kardiovaskulárními chorobami (Havel a Pazourek, 2001).

Farhadi et al. (2016), Samavardhana et al. (2015), Rockenbach et al. (2011) a Jakubcová et al. (2015) zkoumali antioxidační aktivitu polyfenolických látek nalezených v hroznových semenech. Jakubcová et al. (2015) zjistila, že látky obsažené v hroznových semenech mají dokonce vyšší antioxidační aktivitu ve srovnání s šípkem. K zajímavým výsledkům došli Zhang et al. (2015), kteří pomocí floroglucinolu hydrolyzovali proantokyanidiny izolované z polyfenolického extraktu hroznových semen a následně pomocí vysokorychlostní protiproudé chromatografie tyto produkty (monomerní katechiny a jejich nukleofilní deriváty) separovali. Ve finále pak měřili antioxidační aktivitu (DPPH, ABTS a FRAP metody) jak u volných forem katechinu,

tak i u floroglucinolyzovaných produktů. Výsledky ukázaly, že floroglucinolyzované produkty vykazují větší antioxidační aktivitu. Což by např. při případné aplikaci tohoto postupu mohlo ještě zvýšit antioxidační aktivitu materiálu použitého při jejím měření a antioxidační aktivita výlisků šípku by byla v porovnání vícenásobně menší (Zhang et al., 2015).

Farhadi et al. (2016) při své studii odhalili jisté množství kyseliny gallové, dále pak katechiny a epikatechiny (a další látky) v hroznových semenech. Výskyt těchto polyfenolických sloučenin dává možnost jejich využití např. při léčbě rakovinných buněk slinivky. V této souvislosti provedli Cédo et al. (2014) studii, při které použili extrakt hroznových semen, který obsahoval katechin, epikatechin, epigallokatechin, epikatechin gallát, epigallokatechin gallát a další prokyanidiny různého stupně polymerizace. Samostatný obsah katechinu a epikatechinu měl pouze lehký antiproliferační efekt a to při vysokých koncentracích. Ale jako nejefektivnější se ukázala kyselina gallová a epigallokatechin gallát (Cedó et al., 2014).

Další vědecké studie ukázaly, že řada polyfenolických sloučenin, zkoumány především proantokyanidiny, prokyanidiny, resveratrol atd., mají uplatnění na poli léčby různých typů rakoviny (prsu, prostaty, plic, tlustého střeva, kůže apod.).

Tangolar et al. (2009), Baydar a Akkurt (2001), Lachman et al. (2015) a Santos et al. (2011) stanovovali obsah mastných kyselin většinou u druhů *Vitis vinifera* L., popřípadě *Vitis labrusca*. Shiozaji a Murakami (2016) zkoumali obsah mastných kyselin u východo-asijských druhů (*Vitis coignetiae* a *Vitis ficifolia* var. g*anebu*), které mají velmi omezené využití v porovnání s ostatními druhy. Identifikovali opět 5 nejvíce zastoupených lipidů vyskytující se v hroznových semenech. Jedná se o kyselinu palmitovou, stearovou, olejovou, linolovou a linolenovou. Druh *Vitis coignetiae* obsahoval nejvíce kyseliny linolové (64,7 %), následně olejové (23,4 %), palmitové (7,3 %), stearové (4,0 %) a nejméně kyseliny linolenové (0,6 %). Druh *Vitis ficifolia* var. *ganebu* se vyznačoval následujícím složením: kyselina linolová (50,3 %), olejová (28,6 %), palmitová (15,4 %), stearová (4,7 %) a linolenová (1,0 %). Když tyto zjištěné hodnoty srovnáme např. s Tangolarem et al. (2009), u kterého byly opět dvě nejvíce zastoupenými mastnými kyselinami kyselina linolová s hodnotou v rozmezí 62,53 – 69,24 % a kyselina olejová s rozmezím 18,14 – 22,88 %, zjistíme, že obsah těchto kyselin se nijak neliší. Dokonce v případě kyseliny olejové u druhu *Vitis coignetiae* je hodnota o něco málo vyšší. Stejná situace i v případě druhu *Vitis ficifolia* var. *ganebu*.

Tyto tvrzení mohou také potvrdit hodnoty získané Baydarem a Akkurtem (2001), u kterých byla kyselina linolová zastoupena 60,1 – 70,1 % a kyselina olejová 17,8 – 25,5 % (Shiozaki a Murakami, 2016).

Zaměříme-li se na vitamín E, tak ten hraje taktéž beze sporu důležitou roli ve výživě člověka. Uplatňuje se rovněž jako antioxidant působící ve zpomalení stárnutí organismu, působí také prevenčně proti kardiovaskulárním nemocem a možnému vzniku rakovinných buněk. Ale v případě synteticky vyrobeného α-tokoferolu se u něj vyskytuje nižší biologická aktivita ve srovnání s přírodním α-tokoferolem (Velíšek, 2002).

Semena révy vinné (*Vitis vinifera* L.) jsou velice cenným zdrojem přírodních látek, které mají potenciál stát se významným faktorem v léčbě lidských nemocí. K tomu je však za potřebí dalších studií objasňující možnost a způsob využití těchto látek. Ale i teď můžeme s jistotou uvést, že už jenom samotné polyfenolické sloučeniny se vyznačují kromě antioxidační aktivity, dále protizánětlivými, antivirovými, antibakteriálními, antialergickými, protinádorovými, hepatoprotektivními vlastnostmi a inhibují agregaci krevních destiček a propustnost kapilár.

5 Závěr

Plody révy vinné (*Vitis vinifera* L.), bobule, bychom neměli brát jen jako surovinu pro výrobu lahodného nápoje, vína. Zaslouží si také pozornost z hlediska léčebných schopností. Ostatně to už naši předci věděli, jenom díky dnešní moderní technologii se otevírají další a další dveře vedoucí k nespočtu výhod.

Studie vedené několik desítek let postupně odhalují složení jednotlivých částí bobule. Za pozornost stojí hroznová semena, jakožto vedlejší produkt při výrobě vína. Všichni výše zmínění autoři, kteří se zabývali rozborem hroznových semen, se soustředili zejména na obsah polyfenolických sloučenin, jakožto nejdůležitější složku. Nejvíce zastoupenými polyfenolickými látkami byly flavan-3-oly, mezi které patří katechin a epikatechin. Ukázalo se, že hroznová semena také obsahují jisté množství kyseliny gallové patřící mezi hydroxybenzoové kyseliny. Potvrdil se také obsah hydroxyskořicové kyseliny v semenech. Dále hroznová semena obsahují mimo jiné trans-resveratrol, kvercetin (flavonol) a jeho glykosid – rutin, který se vyznačuje schopností snížit LDL cholesterol. Mají jisté množství fenolických kyselin. Kromě kyseliny gallové, se zde vyskytuje kyselina kaftarová, kutarová, fertarová, kávová, p-kumarová a ferulová. Avšak ne u všech zkoumaných odrůd se všechny kyseliny jednoznačně prokázaly.

Je také známo, že hroznová semena obsahují určité procento minerálních látek. Zaměříme-li se na makroprvky a mikroprvky, tak v některých případech u sledovaných odrůd bylo nejvíce vápníku a v případě mikroprvků nejvíce železa. Studie provedené v České republice odhalily, že nejvíce bylo v semenech draslíku a železa.

Další studie zabývající se složením hroznových semen, se blíže soustředily na to, které lipidy se zde vyskytují. Ve všech případech (zde uvedené 4 studie) se shodly, že největší obsah mastných kyselin zaujímá kyselina linolová. Druhou nejčastější byla kyselina olejová, následována palmitovou a stearovou. V některých případech byla detekována kyselina linolenová či ikosenová.

Dalším antioxidačním komponentem hroznových semen je vitamín E, zahrnující tokoferoly a tokotrienoly. Běžně se vyskytují 4 formy jak tokoferolů, tak i tokotrienolů, jedná se o α-T, β-T, γ-T, δ-T a α-T3, β-T3, γ-T3, δ-T3. Studie zabývající se tímto vitamínem ukázaly, že hroznová semena obsahují především dvě formy tokoferolů (α-T a γ-T) a v některých případech tři formy tokotrienolů (α-T3, γ-T3, δ-T3).

6 Souhrn a Resume

Studium zdraví prospěšných látek v semenech *Vitis vinifera* L.

Bakalářská práce na téma Studium zdraví prospěšných látek v semenech *Vitis vinifera* L. byla vypracována v letech 2015/2016, na Ústavu vinohradnictví a vinařství, na Zahradnické fakultě Mendelovy univerzity v Brně. Hlavním cílem bylo prostudování studií zabývající se složením látek v hroznových semenech. Pozornost pak byla kladena na antioxidační komponenty. Bylo zde popsáno složení jednotlivých částí hroznu (třapina, bobule – slupka, dužnina, semena), rozdělení fenolických látek a následně studie, které se zaměřují na antioxidační aktivitu, polyfenolické sloučeniny, minerály, lipidy a vitamíny. Byly popsány některé metody určené k analýze látek obsažených v hroznových semenech (HPLC a TLC) a některé metody pro stanovení antioxidační aktivity (DPPH, ABTS, FRAP a ORAC).

Klíčová slova

Hroznová semena, fenolické látky, antioxidační aktivita, flavan-3-oly, zdraví prospěšné látky

Study of health-promoting substances in the seeds of *Vitis vinifera* L.

This bachelor thesis with the topic „Study of healthy substances in the seeds of *Vitis vinifera* L.“has been written in the years 2015/2016 at the Department of viticulture and oenology at the Faculty of Horticulture at the Mendel University in Brno. The main purpose of this thesis was reading up some studies which are dealing with the composition of substances in the grape seeds. The attention was on the antioxidant compounds. There was described a composition of the grape (stem, berry – skin, pulp, seeds) and distribution of the phenolics. Next there was described some studies which are focusing on antioxidant activity, polyphenolics, mineral substances, lipids and vitamins. Also there was described some methods which are using for analysis of grape seeds compounds (HPLC and TLC) and some methods using for measurement of antioxidant activity (DPPH, ABTS, FRAP and ORAC).

Key words

Grape seeds, phenolics, antioxidant activity, flavan-3-ols, health-promoting substances

7 Seznam použité literatury

BAYDAR, N G a M AKKURT, 2001. *Oil Content and Oil Quality Properties of Some Grape Seeds* [online]. 2001. B.m.: Turkish Journal of Agriculture and Forestry. Dostupné z: http://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/issues/tar-01-25-3/tar-25-3-3-9909-25.pdf

BURG, Patrik, 2014. *Studium biologicky aktivních látek v semenech a letorostech révy vinné a možnosti získávání oleje ze semen*. 1st ed. Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 9788075091659.

CEDÓ, L, A CASTELL-AUVÍ, V PALLARÈS, M BLAY, A ARDÉVOL, M PINENT, A MACIÀ a M.-J. MOTILVA, 2014. Gallic acid is an active component for the anticarcinogenic action of grape seed procyanidins in pancreatic cancer cells. *Nutrition and Cancer* [online]. roč. 66, č. 1, s. 88–96. ISSN 01635581. Dostupné z: doi:10.1080/01635581.2014.851714

EITENMILLER, Ronald R a Junsoo LEE, 2004. *Vitamin E*. New York: Marcel Dekker. ISBN 9780203970140.

FARHADI, K, F ESMAEILZADEH, M HATAMI, M FOROUGH a R MOLAIE, 2016. Determination of phenolic compounds content and antioxidant activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native grape cultivars in West Azerbaijan province, Iran. *Food Chemistry* [online]. roč. 199, s. 847–855. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.12.083

FARKAŠ, Ján, 1973. *Technológia a biochémia vína*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, n. p. ISBN 63-092-73.

FLAMINI, Riccardo, Fulvio MATTIVI, Mirko De ROSSO, Panagiotis ARAPITSAS a Luigi BAVARESCO, 2013. Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. roč. 14, č. 10, s. 19651–19669. ISSN 14220067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms141019651

GRASES, Felix, Rafel M PRIETO, Rafel A FERNÁNDEZ-CABOT, Antonia COSTA-BAUZÁ, Ana M SÁNCHEZ a Marin PRODANOV, 2015. Effect of consuming a grape seed supplement with abundant phenolic compounds on the oxidative status of healthy human volunteers. *Nutrition Journal* [online]. roč. vol. 14, č. issue 1, s. -. ISSN 14752891. Dostupné z: doi:10.1186/s12937-015-0083-3

HAVEL, Josef a Jiří PAZOUREK, 2001. *Je víno zdrave? Resveratrol ano* [online]. 2001. B.m.: Vesmír. Dostupné z: http://casopis.vesmir.cz/clanky/clanek/id/4642

HAVELKOVÁ, A, 2006. *Oxidační stres, lidské choroby a biomarkery* [online]. 2006. ISSN 1210-1737. Dostupné z: http://bts.vscht.cz/sites/default /files/ Bioprospect_ 3a4.pdf#page=26

HORVATH, G, L WESSJOHANN, J BIGIRIMANA, H MONICA, M JANSEN, Y GUISEZ, R CAUBERGS a N HOREMANS, 2006. Research article. *Plant Physiology and Biochemistry* [online]. roč. 44, č. 11, s. 724–731. ISSN 09819428. Dostupné z: doi:10.1016/j.plaphy.2006.10.010

JAKUBCOVA, Z, P HORKY, L ZEMAN, L DOSTALOVA, L KALHOTKA, J SOCHOR, L TOMASKOVA a M BARON, 2015. Study of antioxidant and antimicrobial properties of grapevine seeds, grape and rosehip pressings. *Potravinarstvo* [online]. roč. 9, č. 1, s. 382–387. ISSN 13370960. Dostupné z: doi:10.5219/503

KOL., 2015. *Chromatografie na tenké vrstvě* [online]. 2015. Dostupné z: http://interaktivni-chemie.cz/wp-content/uploads/7-TLC.pdf

KŘENOVÁ, A, 2013. *Porovnání analytických metod pro stanovení antioxidační aktivity potravin*. 2013.

KUBIŠTOVÁ, V, 2012. *Studium antioxidační aktivity vína*. 2012.

LACHMAN, Jaromír, Alena HEJTMÁNKOVÁ, Kateřina HEJTMÁNKOVÁ, Štěpánka HORNÍČKOVÁ, Vladimír PIVEC, Ondřej SKALA, Martin DĚDINA a Jaroslav PŘIBYL, 2013. Towards complex utilisation of winemaking residues. *Industrial Crops* [online]. roč. 49, s. 445–453. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop. 2013.05.022

LACHMAN, Jaromír, Alena HEJTMÁNKOVÁ, Jan TÁBORSKÝ, Zora KOTÍKOVÁ, Vladimír PIVEC, Radomíra STŘALKOVÁ, Alena VOLLMANNOVÁ, Tatiana BOJŇANSKÁ a Martin DĚDINA, 2015. Evaluation of oil content and fatty acid composition in the seed of grapevine varieties. *LWT - Food Science and Technology* [online]. roč. 63, č. 1, s. 620–625. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt. 2015.03.044

LI, ZHANG, XU a Yu-Ming CHEN, 2014. Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients* [online]. roč. 6, č. 12, s. 6020–6047. ISSN 20726643. Dostupné z: doi:10.3390/nu6126020

LUNG, Mihai Lucian, Simona Laura LAZAR, Mihai LAZAR, Oana CIUZAN a Doru PAMFIL, 2015. PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM VITIS vinifera (GRAPE). *ProEnvironment Promediu* [online]. roč. 8, č. 23, s. 439–444. ISSN 18446698. Dostupné z: http://eds.a.ebscohost.com/eds/pdfviewer/pdfviewer?sid=d77f24a2-b5c3-41a5-bd4d-b1c2a8624184%40sessionmgr4005&vid=3&hid=4105

MAIER, Thorsten, Andreas SCHIEBER, Dietmar R KAMMERER a Reinhold CARLE, 2009. Residues of grape (Vitis vinifera L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry* [online]. roč. 112, č. 3, s. 551–559. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.005

MARGALIT, Yair, 2012. *Concepts in wine chemistry*. 3rd ed. San Francisco, CA: Wine Appreciation Guild. ISBN 9781935879817.

MICHLOVSKÝ, Miloš, 2014. *Bobule*. 1. vyd. Rakvice: Vinselekt Michlovský a. s. ISBN 978-80-905319-3-2.

MIKEŠ, O, 2009. *Stanovení vybraných zdravotně prospěšných polyfenolických látek v hroznech révy vinné v podmínkách stresových faktorů*. 2009.

MONTEALEGRE, R Rodriguez, R Romero PECES, J L Chacon VOZMEDIANO, J Martínez GASCUENA a E Garcia ROMERO, 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape Vitis vinifera varieties grown in a warm climate. *Journal of food composition and analysis: an official publication of the United Nations University, International Network of Food Data Systems* [online]. roč. 19, č. 6-7, s. 7. ISSN 08891575. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/ science/article/pii/S0889157505000797

PAVLOUŠEK, Pavel, 2005. *Pěstování révy vinné v zahradách*. Brno: Vydavatelství a nakladatelství CP Books, a. s. ISBN 80-251-0840-6.

PAVLOUŠEK, Pavel, 2011. *Pěstování révy vinné*. 1. vyd. Praha: Grada. ISBN 9788024733142.

PROCHÁZKA, V, 2013. *Analýza nápojů slazených extrakty Stévie cukerné*. 2013.

ROBLOVÁ, V, M BITTOVÁ a V KUBÁŇ, 2011. Anylysis of polyphenolics in viticultural material [online]. s. 9. Dostupné z: https://mnet.mendelu.cz/ mendelnet2011 / articles/30_roblova_539.pdf

ROCKENBACH, Ismael Ivan, Luciano Valdemiro GONZAGA, Viviane Maria RIZELIO, Any Elisa DE SOUZA SCHMIDT GONÇALVES, Maria Inés GENOVESE a Roseane FETT, 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (Vitis vinifera and Vitis labrusca) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International* [online]. roč. 44, č. 4, s. 897–901. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2011.01.049

RUSAK, David A, 2015. High-performance liquid chromatography (HPLC). *Salem Press Encyclopedia of Science* [online]. Dostupné z: http://eds.a.ebscohost.com/eds/detail/detail?sid=bf883e06-1f94-42b1-914c-732defa8aeec%40sessionmgr4003&vid=6&hid=4208&bdata=Jmxhbmc9Y3Mmc2l0ZT1lZHMtbGl2ZQ%3d%3d#AN=89312211&db=ers

ŘEZNÍČEK, V, P SALAŠ a J LUŽNÝ, 2002. *Historie pěstování révy vinné v Čechách a na Moravě a počátky jejího šlechtění* [online]. 2002. Dostupné z: http://czechwines.cz/lide/histvin.htm

SAMAVARDHANA, K, P SUPAWITITPATTANA, N JITTREPOTCH, K ROJSUNTORNKITTI a T KONGBANGKERD, 2015. Effects of extracting conditions on phenolic compounds and antioxidant activity from different grape processing byproducts. *International Food Research Journal* [online]. roč. 22, č. 3, s. 1169–1179. ISSN 22317546. Dostupné z: http://search.proquest.com/ docview/1692251212 / fulltext PDF/346D4021AA14424BPQ/1?accountid=28016

SANTOS, L P, D R MORAIS, N E SOUZA, S M COTTICA, M BOROSKI a J V VISENTAINER, 2011. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of Vitis labrusca and V. vinifera grapes. *Food Research International* [online]. roč. 44, č. 5, s. 1414–1418. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2011.02.022

SHIOZAKI, Shuji a Kazunori MURAKAMI, 2016. Lipids in the seeds of wild grapes native to Japan. *Scientia Horticulturae* [online]. roč. 201, s. 124–129. ISSN 03044238. Dostupné z: doi:10.1016/j.scienta.2016.01.038

SCHULZOVÁ, V, 2013. *HPLC v analýze potravin a přírodních produktů* [online]. 2013. Dostupné z: http://web.vscht.cz/~schulzov/

STEIDL, Robert, 2002. *Sklepní hospodářství*. V českém j. Valtice: Národní salon vín. ISBN 8090320104.

SULC, M, J LACHMAN, A HEJTMANKOVA a M ORSAK, 2005. Relationship between antiradical activity, polyphenolic antioxidants and free trans-resveratrol in grapes (Vitis vinifera L.). *Horticultural Science - UZPI (Czech Republic)* [online]. roč. 32, č. 4, s. 154. ISSN 0862867X. Dostupné z: https://www.researchgate.net /profile/ Alena_Hejtmankova/publication/237742271_Content_of_polyphenolic_antioxidants_and_trans-resveratrol_in_ grapes_of_different_ varieties_of_grapevine_ %28Vitis_ vinifera_L.%29/links/55a77efd08aeceb8cad62eee.pdf

TANGOLAR, Serpil Gök, Ye&#x015F:im ÖOZOĞUL, Semih TANGOLAR a Ayfer TORUN, 2009. Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. *International Journal of Food Sciences* [online]. roč. 60, č. 1, s. 32–39. ISSN 09637486. Dostupné z: doi:10.1080/09637480701581551

TOMÁŠKOVÁ, Lenka, 2014. *Studium antioxidačních látek u hroznových semen*. 2014.

UGARTONDO, V, M MITJANS, C LOZANO, J L TORRES a M P VINARDELL, 2006. Comparative Study of the Cytotoxicity Induced by Antioxidant Epicatechin Conjugates Obtained from Grape. *Journal of agricultural and food chemistry*. roč. 54, no. 18, č. 18. ISSN 00218561.

VELÍŠEK, Jan, 2002. *Chemie potravin*. Vyd. 2., u. Tábor: OSSIS. ISBN 8086659011.

WIE, AND SUNG, KIM, CHOI a LEE, 2009. Tocopherols and tocotrienols in grape seeds from 14 cultivars grown in Korea. *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. roč. 111, č. 12, s. 1255–1258. Dostupné z: doi:10.1002 /ejlt. 200900058

XIA, E.-Q., G.-F. DENG, Y.-J. GUO a H.-B. LI, 2010. *Biological Activities of Polyphenols from Grapes* [online]. 2010. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1422-0067/11/2/622

XU, Changmou, Yali ZHANG, Jun WANG a Jiang LU, 2010. Extraction, distribution and characterisation of phenolic compounds and oil in grapeseeds. *Food Chemistry* [online]. roč. 122, č. 3, s. 688–694. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/ j.foodchem.2010.03.037

ZHANG, Shuting, Yan CUI, Lingxi LI, Yuanyuan LI, Peiyu ZHOU, Lanxin LUO a Baoshan SUN, 2015. Preparative HSCCC isolation of phloroglucinolysis products from grape seed polymeric proanthocyanidins as new powerful antioxidants. *Food Chemistry* [online]. roč. 188, s. 422–429. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016 /j.foodchem. 2015.05.030