

Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici na Moravě
Ústav Vinohradnictví a vinařství



Vliv podnoží révy na obsah fenolických látek

DIPLOMOVÁ PRÁCE

VEDOUCÍ PRÁCE

Ing. Kamil Prokeš

AUTOR PRÁCE

Bc. Mgr. Miroslav Čapka

LEDNICE 2016

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem

prací: Vliv podnoží révy na obsah fenolických látek

vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona . 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

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

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, 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:

.....

Podpis studenta

„Dobré víno je jako dobrý aforismus. Obojímu je třeba napřed porozumět, neboť teprve pak jej lze správně vychutnat.“

Zdeňka Ortová

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá vlivem podnoží na obsah fenolických látek ve víně. Fenolické látky jsou biologicky aktivní látky v rostlině, které rovněž pohlcují volné radikály a mají výrazné antioxidační účinky. Fenolické látky jsou zmiňovány v souvislosti s příznivými účinky na lidské zdraví. V diplomové práci je popsán vliv u nás nejvíce používaných podnoží na obsah fenolických látek ve víně z bílé odrůdy Hibernál a modrých odrůd Marlen a Cerason. Část diplomové práce popisuje vznik a vývoj fenolických látek, jejich působení v rostlině a také pozitivní zdravotní účinky. Součástí práce je praktické vyhodnocení vlivu jednotlivých podnoží na obsah fenolických látek, kde je bezesporu tento vliv prokázán.

Klíčová slova:

Fenolické látky, podnože, antioxidanty, volné radikály,

ABSTRACT

This thesis deals with the influence of grapevine rootstock on the content of phenolic compounds in-knows them. Phenolic compounds are biologically active substances in the plant, which also, indicate Pohl-free radicals and have strong antioxidant effects. Phenolic compounds are mentioned in connection with beneficial effects on human health. The thesis describes the impact on our most used rootstock for the content of phenolic compounds in wine from white grapes and red varieties Hibernál, Marlen and Cerason. Part of the thesis describes the origin and evolution of phenolic compounds and their effects on plant and positive health effects.

The work includes a practical assessment of the impact of various rootstocks content of phenolics, which is undoubtedly the influence proved.

Keywords:

Phenolic compounds, grapevine rootstock, antioxidants, free radicals

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucímu diplomové práce Ing. Kamilu Prokešovi za odborné vedení, za věnovaný čas při posuzování, za doporučení při výběru studijního materiálu, za poskytnutí mnoha cenných rad a za zodpovězené otázky týkající se dané problematiky.

OBSAH

1	ÚVOD.....	- 8 -
2	CÍLE PRÁCE.....	- 11 -
2.1	Cíle práce	- 11 -
3	TEORETICKÁ VÝCHODISKA.....	- 12 -
3.1	Fenolické látky	- 12 -
	Stanovení fenolických látek.....	- 15 -
3.1.1	Rozdělení fenolických látek.....	- 15 -
3.2	Neflavonoidní látky.....	- 17 -
3.2.1	Hydroxybenzoové kyseliny	- 19 -
3.2.2	Hydroxyskořicové kyseliny	- 19 -
3.2.3	Kumariny	- 19 -
3.2.4	Jiné deriváty	- 20 -
3.3	Flavonoidní látky	- 20 -
3.3.1	Flavan-3-oly.....	- 22 -
3.3.2	Stilbeny	- 23 -
3.3.3	Flavonoly	- 26 -
3.3.4	Antokyany.....	- 26 -
3.4	Vznik fenolických látek	- 30 -
3.4.1	Fenolické látky v révě vinné.....	- 31 -
3.4.2	Funkce fenolických látek v rostlině.....	- 33 -
3.4.3	Rozvoj fenolických látek v bobulích révy vinné	- 34 -
3.4.4	Vliv fenolických látek na sensorický projev vína	- 35 -
3.5	Antioxidanty.....	- 36 -
3.5.1	Mechanismus účinku antioxidantů	- 36 -

3.5.2	Výskyt antioxidantů a faktory působící na jejich obsah.....	- 38 -
3.5.3	Využití antioxidantů	- 39 -
3.5.4	Doporučená denní dávka antioxidantů	- 40 -
3.5.5	Nové výzkumy vlivu antioxidantů na rychlost stárnutí	- 40 -
3.5.6	Antioxidanty ve víně.....	- 41 -
3.6	Volné radikály.....	- 41 -
3.6.1	Vznik volných radikálů.....	- 42 -
3.6.2	Funkce volných radikálů.....	- 42 -
3.6.3	Nemoci způsobené oxidací volnými radikály.....	- 43 -
3.7	Stanovení fenolických látek	- 44 -
4	MATERIÁLY A METODY	- 47 -
4.1	Popis podnoží, stanoviště, odrůd a stanovení látek.....	- 47 -
4.1.1	Popis stanoviště.....	- 47 -
4.1.2	Popis podnoží.....	- 47 -
4.1.3	Základní vlastnosti podnoží	- 48 -
4.2	Popis sledovaných podnoží	- 48 -
4.2.1	AMOS „AM“	- 48 -
4.2.2	BERLANDIERI x RIPARIA KOBER 5BB „K 5 BB“	- 49 -
4.2.3	BERLANDIERI x RIPARIA SO-4 „SO-4“	- 50 -
4.2.4	BERLANDIERI x RIPARIA CRACIUNEL 2 „Cr 2“	- 50 -
4.2.5	BERLANDIERI x RIPARIA TELEKI 5C „T 5 C“	- 51 -
4.2.6	BERLANDIERI x RIPARIA 125 AA „125 AA“	- 52 -
4.2.7	BÖRNER „Na 5153-54“	- 53 -
4.3	Popis sledovaných odrůd.....	- 53 -
4.3.1	Hibernal – HIB.....	- 53 -
4.3.2	MARLEN.....	- 56 -

4.3.3	Cerason	- 57 -
4.4	Stanovení celkových flavanolů	- 58 -
4.4.1	Stanovení antiradikálové aktivity (Antiradical Activity; A_{AR}).....	- 59 -
5	PRAKTICKÁ ČÁST	- 60 -
	ZÁVĚR	- 69 -
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	- 71 -

1 ÚVOD

V mnoha zemích, podle současných statistik se jedná o větší počet než třicet, se jednotlivci i týmy zabývají strukturou, kvalitou a rozličným použitím polyfenolických látek v hroznech a následně i ve vínech. Pokud v souvislosti s polyfenolickými látkami odhlédneme od "francouzského paradoxu", o kterém bylo již napsáno mnoho, pak najdeme v literatuře s odbornou tematikou zmínky o tom, že tyto látky budily pozornost už od starověku.

Fenolové sloučeniny jsou antioxidanty, které působí proti volným radikálům a tak mají velký význam i na poli lékařské vědy. Jsou známy výzkumy, které zkoumají vliv přiměřené konzumace vína na lidské zdraví zejména na srdeční choroby. Je prokázáno, že v zemích s tradicí každodenní konzumace vína je zásadně méně úmrtí na infarkt myokardu, než v zemích, kde víno není kulturním nápojem. Mimo jiné se prokazuje pozitivní vliv polyfenolových sloučenin na zpomalení stárnutí a prevenci Alzheimerovy choroby.

Ale pojďme na začátek. Všechno to začalo fenoménem nazvaným „Francouzský paradox“. Tímto termínem je popisována skutečnost, že lidé žijící ve Francii trpí relativně nízkým výskytem akutních srdečních příhod a to přes relativně nezdravý způsob života. Tento fenomén není nijak nový, i když samotný název vznikl mnohem později, v odborném článku jej popisoval irský lékař Samuel Black už v roce 1819.

Později, v roce 1991, jej zmínil profesor Serge Renaud v oblíbeném americkém televizním pořadu „Šedesát minut“, kde hovořil o zdravotních účincích v souvislosti s konzumací alkoholu, obzvláště červeného vína. Uváděl, že mírná konzumace alkoholu snižuje výskyt srdečně cévních onemocnění až o 50 %. Morley Safer, později upozornil na fakt, že Francouzi snědí o 30 % tuku více

než Američané, více kouří a méně cvičí, přesto trpí menším výskytem infarktů. Řekl: „Jestliže tedy jste průměrným Američanem středního věku, je u vás třikrát větší pravděpodobnost úmrtí na infarkt, než jakou má stejně starý Francouz. A tak je zřejmé, že Francouzi dělají něco správného, co Američané a jiné národy nedělají“. (Jones, 1995)

Sir Richard Doll, emeritní profesor Oxfordské univerzity, v roce 2001 pronesl na kongresu v australském Sydney tato slova: „Soudím, že muži i ženy, kteří pravidelně pijí malé množství alkoholu, jsou méně náchylní k nemocím a mají menší úmrtnost na srdeční onemocnění a vůbec menší úmrtnost ze všech příčin než ti, kdo trvale abstinují.“ Slova tohoto v té době osmaosmdesátiletého vědce si nikdo netroufal zpochybnit, neboť právě tento muž, je váženou autoritou v oboru medicíny a mimo jiné nezvratně prokázal souvislost kouření a rakoviny plic. (Šmidrkal a kol.,2001)

Mnoho výzkumů v oblasti medicíny ukazuje na to, že mírné pití alkoholických nápojů, zejména vína, může mít příznivý vliv na délku a kvalitu života. Podle různých studií je u lidí, kteří užívají v pravidelných a mírných dávkách víno, je menší pravděpodobnost, že budou postiženi srdeční nebo mozkovou příhodou. Význam zdravotních účinků vína se začal skloňovat v mnoha pádech, poté co byla zveřejněna americká studie, která porovnávala úmrtnost na infarkt v 18 průmyslových zemích. Výsledkem studie byl jev nazvaný „Francouzský paradox“. Málo se také ví o tom, že víno se až do konce 19. století užívalo jako oficiálně schválený lék.

Pití vína se jako prevence uplatňovalo tehdy, kdy byly zdroje pitné vody znečištěné a obsahovaly nebezpečné bakterie infekčních chorob jako úplavice, tyfus a cholera. Nápoje připravené kvašením se tak stávaly mnohem bezpečnějšími nápoji pro lidské zdraví. Kromě toho mělo víno značnou výživnou hodnotou.

Je ovšem nezbytné mýt na mysli, že stejně jako u léků, je i u vína nutné dodržovat určitá pravidla. Tedy alespoň co se týká vhodného dávkování a pravidelnosti. Rozhodně se nedoporučuje vypít láhev v průběhu jednoho večera. Lékaři, kteří se věnují vlivu alkoholických nápojů na zdraví člověka, doporučují konzumovat sklenku vína denně. V případě žen je tomu skutečně tak, denně by měly vypít asi dvě deci vína. Muž si naproti tomu může dovolit deci čtyři.

Příznivý zdravotní vliv na organismus člověka je přisuzován celé řadě sloučenin. Jednou z nich jsou fenolické látky obsažené v rostlinách a bobulích révy vinné. Ve své práci se chci věnovat právě fenolickým látkám a jejich možnému vlivu na zdraví. Fenolické látky jsou obsaženy v rostlinách, kde působí jako antioxidanty, přispívají k metabolismu rostlin, mají vliv na jejich růst a zároveň se významně podílí na ochraně rostliny při napadání mikroorganismy, a to zejména plísňového původu. Fenolické sloučeniny rovněž plní funkci přírodních barviv, mají antioxidační účinky a ovlivňují chuť potravin. Složením a obsahem fenolických látek je různě ovlivněna chuť u bílých a červených vín. Fenolické látky jsou dnes v centru pozornosti vědeckých pracovníků z mnoha ohledů a jejich vliv na zdraví člověka je stálým předmětem diskusí odborné i laické veřejnosti.

2 CÍLE PRÁCE

2.1 Cíle práce

Cílem této diplomové práce je prostudovat dostupné zdroje týkající se fenolických látek ve víně. Analyzovat získané vzorky a vyhodnotit obsah fenolických látek ve víně s ohledem na podnože, na kterých jsou pěstovány. Práce je zaměřena především na obsah fenolických látek odrůdy Hibernál pěstované na podnožích Amos, Kober 5BB, SO-4, Cr-2, Teleki 5C a konečně Börner.

Pro lepší srovnání jsem svou práci pak zaměřil na vliv stejných podnoží na obsah fenolických látek i u moštových modrých interspecifických odrůd Marlen a Cerason, abych tak mohl lépe posoudit případný význam konkrétní podnože na obsah fenolických látek ve víně.

3 TEORETICKÁ VÝCHODISKA

3.1 Fenolické látky

Fenolické látky hrají významnou roli ve vinohradnictví, vinařství a rovněž i marketinku vín. Ve složení fenolických látek a jejich obsahu v hroznech a vínech existuje významný rozdíl mezi odrůdami určenými pro výrobu bílých a červených vín. Zmíněné látky jsou zodpovědné za mnoho důležitých charakteristik vína, a to především barvu, hořký a tříslovitý chuťový projev a za antioxidační vlastnosti. Jsou rovněž důležitou složkou, která působí jako ochrana rostliny před bakteriálními, virovými nebo houbovými chorobami.

Dnes víme, z různých odborných prací, že fenolické látky jsou součástí rostlinné říše jako celku a vyskytují se zde v silných koncentracích. Fenolické látky vykazují výraznou proměnlivost ve struktuře a rozdělují se na flavonoidy a neflavonoidy. Hydroxyskořicové kyseliny jsou hlavními fenolickými sloučeninami bílých odrůd. Jedná se o bezbarvé látky, které snadno podléhají oxidaci a následně žloutnou nebo hnědnou. U bílých moštů a vín mohou způsobovat hnědnutí, u červených bývají důležité pro „kopigmentaci“. V bobulích se vyskytují jako estery kyseliny vinné ve vakuolách buněk ve slupce a dužnině. Hydroxybenzoové kyseliny se vyskytují ve víně minoritně. V hroznech se nacházejí hlavně ve formě glykosidů a esterů. Kyselina gallová je nejvýznamnější a jediná hydroxybenzoová kyselina, která se nalézá přímo v hroznech, a to v pevných částech bobule. Stilbeny se řadí mezi fytoalexiny, nízkomolekulární látky, které mají antimikrobiální vlastnosti a jsou výsledkem vzájemného působení mezi rostlinou a mikroorganismy. Vyznačují se také pozitivními zdravotními účinky. Flavonoidy zastupují nejvýznamnější skupinu fenolických látek u révy vinné. V hroznech a víně se vyskytují tři hlavní

skupiny flavonoidů – antokyany, flavonoly a flavanoly. Mezi významné flavonoly vína se řadí kaempferol, kvercetin, myricetin a isorhamnetin. V bobulích révy vinné se vyskytují v podobě glukosidů a glukoronidů. Flavonoly mají schopnost působit jako ochrana před UV zářením (Pavloušek, 2011).

Antokyanová barviva se nalézají především u modrých odrůd – zpravidla ve vakuolách buněk ve slupce, u odrůd zvaných barvířky je možné najít zbarvenou také dužninu. Struktura antokyanů v hroznech a víně byla popsána v roce 1959 a malvidin-3-glukosid byl objeven jako hlavní antokyanové barvivo (Ribéreau-Gayon, 1959).

Antokyany se vytvářejí v průběhu zrání hroznů a jejich obsah v bobulích bývá ovlivněn ročníkem, pěstitelskými podmínkami a extrakcí během výroby vína (Kennedy, Saucier a Glories, 2006).

Taniny (třísloviny) se ve víně rozdělují na dvě skupiny – hydrolyzovatelné a kondenzované. První z nich pochází zpravidla ze dřeva sudů a nemají původ v hroznech. Pro pěstitele révy vinné jsou důležitější kondenzované taniny, které se nachází ve slupkách bobulí, semenech a třápinách. Pro kvalitu vína bývají podstatné zejména senzorycké vlastnosti taninů. Hořké tóny bývají spojeny s flavan-3-oly ze semen a tříslovité s flavan-3-oly ze slupek (Kennedy, Saucier a Glories, 2006).

Fenolické látky patří do široké skupiny antioxidantů, tedy látek, jejichž molekuly omezují aktivitu kyslíkových radikálů. Záměrně se proto přidávají do potravin, kde svým oxidačním působením prodlužují jejich stálost. Hlavní význam fenolických látek spočívá v tom, že působí jako prevence proti koronárním chorobám, snižují riziko rakovinových onemocnění a působí proti virům (Slanina a Táborská, 2004).

Fenolické látky jsou přírodními antioxidanty a můžeme je proto najít v přírodě. Nachází se v různých částech rostlin, např. kořeny, listy, plody. Podle struktury rozdělujeme fenolické látky do několika skupin (Škeříková a kol., 2004). První skupinu tvoří flavonoly odvozené od heterocyklického flavanu a další skupinu tvoří aromatické hydroxykyseliny (Velíšek, 2002).

Jedná se o skupinu sloučenin, které spolu tvoří až 85 % flavonoidních látek – kvercetin, katechin a antokyany, zbytek jsou látky neflavonoidní. Obsah fenolických látek je, jak již bylo zmíněno, vyšší u červených vín (800 – 4000 mg.l⁻¹), u bílých vín je obsah podstatně nižší (200 – 500mg.l⁻¹). Kvercetin má silné antioxidační účinky. Má schopnost rozpouštět krevní sraženiny a také má protizánětlivé vlastnosti. Katechin stejně jako epikatechin má rovněž silné antioxidační účinky. Z celkového množství fenolických látek se vyskytuje v největším poměru. Fenolické látky jsou obsaženy i v jiných potravinách, ale řada z nich není rozpustná ve vodě a organismus je získává složitým procesem, navíc mohou být znehodnoceny nevhodným způsobem skladování a také při přípravě pokrmů. Ve víně jsou látky rozpuštěny v alkoholu a chráněny ostatními přítomnými látkami Množství kvercetinu v hroznech révy vinné je závislé na intenzitě slunečního svitu. Katechin stejně jako epikatechin má také velmi výrazné antioxidační působení. Vyskytuje se ve fenolických sloučeninách ve vyšším poměru oproti ostatním flavonoidním látkám. Fenolické látky jsou obsaženy v různých potravinách. Celá řada z nich není rozpustná ve vodě a pro lidský organismus pak složitě přijatelná. Velmi důležitý je způsob skladování a následná příprava pokrmů. Ve víně jsou látky rozpuštěny v alkoholu a chráněny ostatními přítomnými látkami (www.vinoazdravi.cz, látkové složení vína).

Fenolické látky, které mají rozličné chemické složení. Je jich ve víně celá řada. Asi nejzajímavější je resveratrol, který se objevuje v izomerech *trans-*, *cis-* a *transcis-* (www.vinoazdravi.cz, látkové složení vína).

Stanovení fenolických látek

Pro stanovení fenolických látek se v posledních letech začalo využívat vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s coulometrickým detektorem. Coulometrická detekce s elektrodovým polem je velmi citlivý způsob detekce, ve které je využita série 4-16 průtočných coulometrických cel, ve kterých dochází k elektrochemické přeměně analytu. Na každou celu je vložen jiný, ale konstantní potenciál a každá látka se oxiduje, nebo redukuje, při jiném potenciálu, ten je pak nazýván tzv. dominantním potenciálem (Marcaníková a Beňová, 2010).

CoulArray detektor, používaný v této práci, je coulometrický multielektrodový detektor, který byl zkonstruován pro použití v HPLC a který se používá pro detekci elektroaktivních látek. Umožňuje charakterizaci látek na základě poměru odezvy signálu velkého počtu kanálů (Marcaníková a Beňová, 2010).

3.1.1 Rozdělení fenolických látek

Vína vděčí za barvu a strukturu právě fenolovým sloučeninám. Tedy sloučeninám, jejichž molekula obsahuje jedno nebo více fenolových jader. Fenolové sloučeniny se velmi obtížně izolují a jejich výzkum netrvá dlouho, započal v šedesátých letech minulého století.

Fenolické látky mají rozhodující roli ve vlivu na barvu vína a také působí na organoleptické vlastnosti vín. Stejně tak jsou významné na charakter vína po jeho ležení a zrání. Ovlivňují rovněž i hořkost, tzv. svíravost. Tyto substance byly dlouho zatřídovány pod pojem "taninové - tříslovinové látky".

Nyní se třídí do čtyř druhů:

- fenolové kyseliny;
- třísloviny (taniny);
- flavony a flavonoly;
- antokyany;

Průměrné koncentrace fenolických látek ve víně jsou ovlivňovány :

- klimatologií ročníku vinifikace;
- typem a způsobem vinifikace;
- charakteristikou odrůdy
- zdravotním stavem sklizených hroznů

Fenolické látky obsažené ve rozdělujeme dvou hlavních skupin. Neflavonoidní a flavonoidní (obsažené zvláště v červených vínech) povahy.

Dalším rozdělením je třídění podle HARBORNA (Tab. 1) (HARBORN, 1989 in ESCARPA, GONZALEZ, 2001), který při klasifikaci vycházel z uhlíkové kostry sloučenin.

Tab. 1: Klasifikace polyfenolů podle Harborna

STRUKTURA	TŘÍDA
C_6	Fenoly
$C_6 - C_1$	Hydroxybenzoové kyseliny
$C_6 - C_2$	Acetofenoly a fenolyoctové kyseliny
$C_6 - C_3$	Hydroxyskořicové kyseliny, kumariny, izokumariny, chromony
$C_6 - C_4$	Naftochinony

$C_6 - C_1 - C_6$	<i>Benzofenony, xantony</i>
$C_6 - C_2 - C_6$	<i>Stilbeny, antrachinony</i>
$C_6 - C_3 - C_6$	<i>Falvonoidy: flavanony, flavonoly, anthokyanidy, chakony, flavanoly, aurony, flavony a izoflavony</i>
$(C_6 - C_3)_2$	<i>Lignany</i>
$(C_6 - C_3 - C_6)_2$	<i>Biflavonoidy, biflany</i>
$(C_6 - C_3)_n$	<i>Ligniny</i>
$(C_6 - C_3 - C_6)_n$	<i>Proanthokyanidiny (kondenzované taniny)</i>

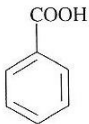
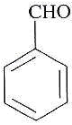
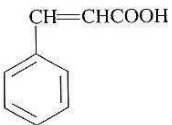
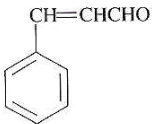
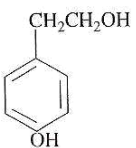
(MATIECIUCOVÁ, 2014)

3.2 Neflavonoidní látky

Tato skupina zahrnuje hydroxybenzoové (C_6-C_1) a skořicové (C_6-C_3) kyseliny jejich deriváty a stilbeny ($C_6-C_2-C_6$). Hmotnostní množství fenolových kyselin je od 0,1 do 0,2 g/l v červených a jen 1-10 mg/l ve vínech bílých. Původ těchto kyselin je třeba hledat v hroznech, kde jsou vázány nejčastěji v esterech kyseliny vinné. Ale lze je nalézt i vázané na třísloviny nebo dokonce cukry. Během vinifikace i uchovávání vín nastává pomalá hydrolyza uvedených složitých sloučenin, při které se fenolové kyseliny odštěpují a zůstávají ve volném stavu. Jsou však inertní z chuťového pohledu.

Zástupci těchto látek jsou vedeni v Tab. 2.

Tab. 2: Hlavní zástupci neflavonoidních látek ve víně a jejich původ

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

3.2.1 Hydroxybenzoové kyseliny

Hydroxybenzoové kyseliny se ve víně vyskytují ve velmi nízkých koncentracích. Nacházejí se v hroznech ve formě glykosidů a esterů – gallové a elagické taniny. Kyselina gallová, jako jediná hydroxybenzoová kyselina, se nachází v hroznech, v pevných částech bobule..

3.2.2 Hydroxyskořicové kyseliny

Hydroxyskořicové kyseliny jsou hlavními fenolickými látkami u bílých odrůd. Jde o bezbarvé látky, které snadno podléhají oxidaci a následně žloutnou a hnědnou. U bílých vín a moštů mohou způsobovat hnědnutí, u červených tzv. "kopigmentaci" – anthokyaniny jsou stabilizovány tvorbou komplexů s ostatními flavonoidy. Mikroorganismy, zejména kvasinky, jsou schopné dekarboxylovat kyselinu ferulovou a vinylguajakol a kyselinu p-kumarovou na vinylfenol. Pokud jdou tyto dvě vinylové sloučeniny obsaženy ve vyšší koncentraci, poznáme to, zejména u bílých vín podle „farmaceutického“ pachu vína.

Fenolové kyseliny jsou z hlediska vůně neutrální. Jsou považovány za sloučeniny, které nepřinášejí žádné změny ani do chuťových charakteristik vína. Avšak po jejich transformaci na těkavé fenoly přinášejí příjemné tóny do vína. Při nízké koncentraci pod jejich čichovým prahem zaznamenáváme synergický efekt vůně, která může být příjemná. A naopak, při vyšších koncentracích vystávají do popředí spíše rušivé tóny.

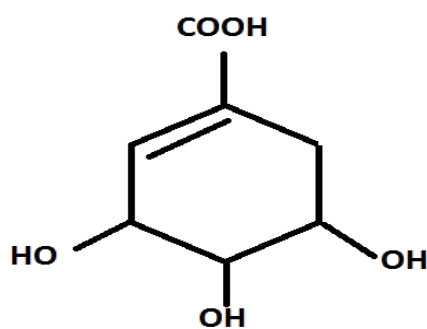
3.2.3 Kumariny

Mezi fenolové kyseliny a jejich deriváty patří i kumariny. Tyto sloučeniny nebyly identifikovány v hroznech, ale pocházejí pravděpodobně ze dřeva

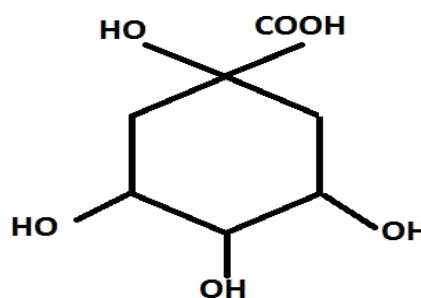
dubových sudů. I když se vyskytují v malé koncentraci řádově mikrogramů, stačí to, aby do vína přinesly hořkost, neboť kumariny mají velmi nízký chuťový práh vnímání.

3.2.4 Jiné deriváty

V mošttech a ve vínech byla potvrzena přítomnost dvou cyklohexanových kyselin, které úzce souvisejí s fenolovými kyselinami. Jde o kyselinu šikimovou, která je prekurzorem fenolových kyselin, a kyselinu chinovou. Kyselina chinová se ve víně nevyskytuje volná, nýbrž vázaná ve formě sloučenin s fenolovými kyselinami odvozenými z kyseliny skořicové. V mošttech a ve vínech je ve velmi malé koncentraci ve stopovém množství.



KYSELINA ŠIKIMOVÁ



KYSELINA CHINOVÁ

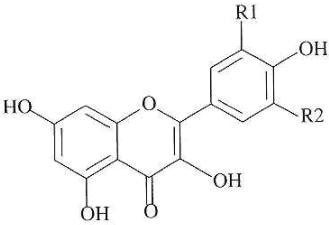
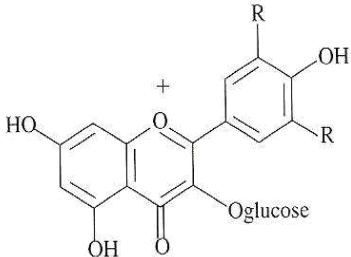
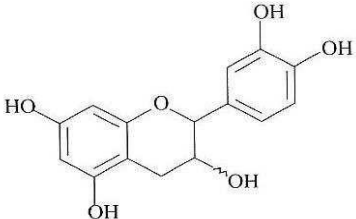
(MICHLOVSKÝ, 2014)

3.3 Flavonoidní látky

Flavonoidy jsou nejvýznamnější skupinou fenolických látek u révy vinné. V hroznech a víně lze najít tři hlavní skupiny flavonoidů – anthokyany, flavonoly a flavanoly. Významnými flavonoly jsou kaempferol, quercetin, myricetin a isorhamnetin. V bobulích révy vinné se vyskytují v podobě glukosidů, galatoxidů a glukuronidů. Flavonoly mají schopnost působit jako ochrana před UV zářením (PAVLOUŠEK, 2011).

Flavonoidní látky jsou i sloučeniny, které obsahují centrální skelet se sumárním vzorcem C₆-C₃-C₆. Flavonoidy jsou často vázány s jednou nebo více molekulami glukózy do sloučenin, které se nazývají glykosidy. Přítomnost glukózových jednotek zajišťuje větší rozpustnost flavonoidů v alkalickém prostředí, jakým je víno. Flavonoidy způsobují ve vínu hořkost.

Tab. 3: Hlavní zástupci flavonoidních látek ve víně a jejich zdroj

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

(MATIECIUCOVÁ, 2014)

3.3.1 Flavan-3-oly

Flavan-3-oly a jejich polymery mají zásadní význam pro chuťové vlastnosti a strukturu vína, jsou označovány jako taniny (trísloviny) – proantokyanidiny. Jednoduché flavan-3-oly jsou obsaženy v semenu a slupce hroznů. Flavan-3-oly v průběhu dozrávání hroznů polymerizují do formy taninů. Stupeň polymerizace ovlivňuje chuťové vlastnosti hroznů a vína. Taniny se ve víně

rozdělují na dvě skupiny – hydrolyzovatelné a kondenzované. První z nich tvoří kyselina gallová, elagová a malý podíl hydroxyskořicových kyselin vázaných na glukózu. Tyto ve většině případů pochází z dřevěných sudů. Z tohoto pohledu jsou důležitější taniny kondenzované, které se nachází ve slupkách bobulí, semenech a třapínách. Pro kvalitu vína mají význam sensorické vlastnosti taninů. (PAVLOUŠEK, 2011).

3.3.2 Stilbeny

Kromě už uvedených fenolových sloučenin byly v hroznech a ve víně zjištěny i další polyfenoly. To je zvláště případ trans-resveratrolu, který je neflavonoidním difenolem patřícím ke skupině stilbenů.

Stilbeny jsou fytoalexiny, nízkomolekulární látky, které mají antimikrobiální vlastnosti a vznikají na základě vzájemného působení mezi rostlinou a mikroorganismem. Mají pozitivní zdravotní účinky.

Tato fenolická sloučenina vykazuje antioxidační vlastnosti a z tohoto pohledu pak i pozitivní vliv zdraví, a to díky působení (+) katechinu a (-)epikatechinu, souboru polyfenolových sloučenin a zejména však trans-resveratrolu. Trans-resveratrol může působit jako antikarcinogen, tj. působit proti vzniku a vývoji rakovinových nádorů. Trans-resveratrol je substance, kterou vylučuje réva vinná na svou ochranu proti útokům některých mikroorganismů a zejména proti houbám vyvolávajícím hnilobu hroznů. Koncentruje se ve slupce bobulí a může být i v semenech. Zvláštností tohoto antioxidantu jsou jednak jeho vyšší výskyt v severních klimatických podmínkách.

Nejvýznamnějším zástupcem této skupiny je trans-resveratrol. Trans-resveratrol jako přirozená ochrana proti plísňovým chorobám révy. Kromě fungicidní funkce slouží rostlině i jako ochrana před UV zářením a jako antioxidant. Resveratrol patří do skupiny fenolických látek, které vznikají ve

slupkách bobulí jako ochranná látka proti plísním. Množstvím resveratrolu čelí stresovým situacím, jako je například napadení plísní *Botrytis cinerea*, proti škodlivému účinku ultrafialového záření, vlivu chladnějšího počasí a také chrání rostlinu proti škodlivému vlivu aktivních forem kyslíku. Jeho obsah ve víně je ovlivněn zvolenou technologií výroby a školením vína. Pohybuje se v rozmezí 0,1 – 8 mg.l⁻¹. V procentuálním vyjádření obsahují slupky modrých odrůd více resveratrolu a fenolických látek než odrůdy bílé. Roli v obsahu fenolických látek hrají půdní podmínky, délka slunečního svitu a vliv stresových podmínek. Nesmíme však zapomenout vzít do úvahy ani odrůdu, dobu sklizně hroznů a další faktory, které obsah resveratrolu ve víně ovlivňují (Kyseláková a kol.,2003).

V červených vínech je střední koncentrace resveratrolu 2 – 6 mg.l⁻¹, v bílých pak je koncentrace nižší, a to od 0,2 do 0,8 mg.l⁻¹. Ve výsledku to znamená, že 1 mg resveratrolu je obsažen v 0,17 – 0,50 l červeného vína (Šmidrkal, 2001). Z tohoto pohledu je možné považovat červené víno za významný zdroj polyfenolických sloučenin v lidské výživě. 0,2 l červeného vína obsahují asi 0,6 mg resveratrolu. Kyseláková a kol. porovnávali sedm modrých odrůd ve čtyřech vinařských oblastech (Velké Pavlovice, Strážnice, Znojmo, Brno) ve třech ročnících 1999 – 2001. Obsah resveratrolu v moravských červených vínech se pohyboval v některých ročnících a oblastech v rozmezí mezi 2 – 3 mg.l⁻¹ a je nejen srovnatelný, ale v některých případech vyšší než uvádějí zahraniční prameny. (Kyseláková kol., 2003)

Důvodem, proč je v červeném víně více antioxidantů, je skutečnost, že se při výrobě červeného vína nechává slupka hroznů po určitou dobu fermentovat a je to právě vinná slupka, která je zdrojem flavonoidů. Bílé víno nezůstává při fermentaci na slupkách, a proto v něm flavonoidy scházejí. Množství flavonoidů ovšem nezávisí pouze na barvě vína a technologii zpracování

hroznů, je rovněž ovlivněno půdou a na dalších faktorech jako je např. filtrace vína. Filtrací vína se může odstranit 50 – 70 % flavonoidů. Je prokázáno, že suchá vína obsahují více flavonoidů, než vína ostatní. Resveratrol je jedním z mnoha bioaktivních polyfenolů. K dalším patří kvercetin, který disponuje kromě antioxidačních, také protizánětlivými a protisrážlivými účinky, katechin, genistein, apigenin, luteolin a další mnohdy neprozkoumané látky (Pavloušek, 2011). Resveratrol patří k látkám s antioxidačním účinkem, potlačuje LDL cholesterol a zvyšuje podíl HDL cholesterolu, má protinádorové účinky (www.vinoazdravi.cz).

Komplexnější poznatky o resveratrolu byly získány v osmdesátých letech minulého století, kdy přístrojové vybavení (zejména HPLC) umožnilo sledování jeho výskytu a koncentrace ve vinné révě, *Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*). Obecně platí, že rostlinné polyfenoly jako sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi inhibují zhoubné nádorové bujení. Kromě toho je resveratrol patrně jednou z hlavních složek rostlinných extraktů, které jsou využívány v orientální medicíně k léčení srdečních a nádorových onemocnění (Šmidrkal a kol., 2001).



Obr. 3 *Strukturní vzorce resveratrolu a piceidu*

Resveratrol byl poprvé izolován z podzemní části Kýchavice velkokvěté, *Veratrum grandiflorum*. Resveratrol byl dále nalezen ve více než 72 rostlinných

druzích, které patří systematicky do 31 rodů a 12 čeledí. Postupným zdokonalováním analytických metod a získaných poznatků se počet rostlinných druhů, které obsahují resveratrol, zvyšuje. Mnoho z těchto rostlin je běžnou součástí lidské potravy, např. vinné hrozny a víno, mnoho druhů zeleniny a ořechy (např. arašídů). Poměrně bohatým a rozšířeným zdrojem resveratrolu jsou právě hrozny révy vinné.

3.3.3 Flavonoly

Jsou to žluté pigmenty přítomné ve slupkách modrých i bílých hroznů. Vždy se vyskytují ve formě glykosidu, tj. jako sloučeniny kamferolu, kvercitinu, myricitinu a isoramnetinu s cukernými jednotkami. Glykosidy myricitinu však dosud nebyly ve slupkách bílých hroznů potvrzeny. Glykosidy jsou během vinifikace rozloženy, hydrolyzovány na cukerné jednotky a centrální strukturu (tzv. aglykon). V hotovém víně nalézáme již jen volné flavonolové aglykony; v červených vínech v množství mezi 20 až 100 mg/l, v bílých vínech jen ve stopovém množství 1 až 3 mg/l. Flavonoly se nepodílejí na barvě bílých vín. Zdá se, že původ barvy tohoto typu vín je třeba hledat ve slučování železa s některými fenolovými sloučeninami, například tříslovinami, nebo dokonce s organickými kyselinami. (MICHLOVSKÝ, 2014)

Minoritní skupinou flavonoidních sloučenin, které lze najít ve víně, jsou flavony. Vznikají odvozením ze struktury flavonolů. Ve víně je jich velmi málo a svůj původ mají zřejmě ve slupkách hroznů a v listech *Vitis vinifera*.

3.3.4 Antokyany

Jsou to červené pigmenty hroznů, ale vyskytují se i v jiném ovoci anebo listech rostlin. V mladých červených vínech nacházíme ve volném stavu od 200 do 500mg/l antokyanů, ale jen stopové množství v bílých vínech.

Z hlediska názvosloví se termín antokyany všeobecně používá na označení:

- **antokyanidinů**, tj. centrální struktury (tzv. aglykony) bez navázaných cukerných jednotek
- **antokyaninů**, tj. sloučenin antokyanidinů s různým počtem cukerných jednotek.

Antokyanidiny vyskytující se ve víně (kyanidin, peonidin, delphinidin, malvidin, petunidin) pocházejí z hroznů, kde se tvoří od zaměkání bobulí. Maximum antokyanů se zřejmě v hroznech nachází stejně jako maximum aromatických látek ještě před dosažením optimální cukernatosti hroznů. Toto pravidlo není rigidní, rychlost vytváření a množství syntetizovaných antokyanů je ovlivňováno klimatickými podmínkami (zvláště dostatek slunečního záření), výnosem hroznů, stejně jako charakteristikou odrůdy.

Z pěti antokyanidinů prokázaných ve víně bylo identifikováno v jednotlivých odrůdách až sedmáct různých červených pigmentů, antokyaninů, sloučenin s cukernými jednotkami.

Od skončení procesu vinifikace jsou antokyany většinou ve volném stavu a z toho postupně vyplyne dvojitý jev:

- **zvýšené slučování antokyanů s tříslovinami** - vína přírodně bohatá na třísloviny nebo v nichž se obsah tříslovin zvýší umělým doplněním, mají stabilnější barvu vyplývající z jen mírné ztráty antokyanů
- **stálý pokles množství volných antokyanů** - kumulované ztráty antokyanů v prvních třech měsících ležení vína mohou dosáhnout 10 až 50%. Tak červené víno ztrácí pravidelně každoročně množství svých volných antokyanů, až se nakonec stabilizuje asi na 10 až 20mg/l.

3.3.4.1 Taniny – látky fenolické povahy

Třísloviny hroznů a vína tvoří různorodou skupinu sloučenin většinou vzniklou kondenzací katechinů. Ze zdravotního hlediska snižují katechiny hladinu cholesterolu v krvi, rozšiřují cévy, ale zřejmě také podporují migrény. Proto by lidé trpící migrénami neměli konzumovat taninová, hutná červená vína (např. Bordeaux, australský Shiraz, italské Barollo a Barbaresco, moravský Cabernet Sauvignon), ale spíše moravský Pinot noir. Třísloviny ve spojení s histaminem způsobují v těle reakce projevující se bolestmi hlavy.

- **monomery** - katechiny neboli katecholy jsou flavanoly vyskytující se v hroznech ve strukturách (+) katechinů a (-)epikatechinů. Ve formě monomeru to nejsou třísloviny v pravém slova smyslu, ale spíše prekurzory kondenzovaných tříslovin. Nacházejí se v mladých červených vínech v koncentraci kolem 50 až 100 mg/l. V hroznech a ve víně kromě flavanolů v monomerním stavu se vyskytují také kondenzované formy těchto sloučenin. To jsou katechinové třísloviny v pravém slova smyslu.

-**kondenzace** - v mladých vínech se většinou setkáváme s tříslovinami, které mají průměrně dvě až tři jednotky flavanolů. V důsledku následných kondenzací dosahují ve starých vínech řetězce tříslovin řádu až desítek jednotek. Kondenzované třísloviny se vyskytují ve všech částech hroznů: v třápině, semenech a slupce. Kromě těchto katechinů existuje ve víně i jiná, minoritní forma kondenzovaných tříslovin, tzv. leukoantokyanidiny. Ty, na rozdíl od katechinů, existují v hroznech a víně jen ve formě kondenzované.

Hlavní původ tříslovin můžeme hledat v semenech hroznů. Jak ve slupkách, tak i v semenech se vyskytují třísloviny na bázi katechinů a epikatechinů, přičemž 5 až 15 % jich je kondenzovaných do velmi dlouhých řetězců a 70 až

85% do kratších oligomerů. Průměrný stupeň kondenzace je asi 10% u tříslovin ze semen a 30% u tříslovin ve slupkách.

Kromě katechinu a epikatechinu se vyskytuje další základní monomer tříslovin hroznů, apikatechingalát v podílu 20 až 40%, v semenech 1 až 10%.

Podle odrůdy, stupně zralosti, podmínek pěstování a zdravotního stavu hroznů, z nich bylo vyrobeno, může mladé víno obsahovat 2 až 5 g/l převážně kondenzovaných tříslovin.

Ze stejné suroviny závisí množství a kvalita tříslovin na způsobech a metodách vinifikace: na teplotě fermentace, době macerace, kontaktu moštu s matolinami, podporované počtem a délkou remontáží, na koncentraci etanolu a na každém jevu, který by ulehčoval extrakci tříslovin. Například vyšší teplota fermentace a dlouhá doba macerace podporují extrakci maxima tříslovin. Víno s vysokým obsahem tříslovin je však svíravé, adstringentní a nevyrované, když je ještě mladé. Podobný způsob vinifikace je vyhrazen pro hrozny z kvalitních odrůd, v plné zralosti a s cílem získat víno na delší vyzrávání a ležení. Množství a kvalita tříslovin jsou významnými faktory, které podmiňují konstituci vína a jeho schopnost vyzrávat.

Sloučení několika základních molekul katechinů mezi sebou navzájem, nebo s prokianidiny, dává flavonové oligomery prakticky bezbarvé nebo žluté - podle stupně jejich polymerizace. Pojmy barvy a tříslovin jsou ale často nevhodně spojovány. Vyplývá to ze skutečnosti, že třísloviny se mohou kondenzovat s jinými molekulami nebo makromolekulami, zejména s volnými antokyany a tvořit kondenzované pigmenty, jejichž barva je časově stabilnější a stabilnější vůči změnám pH a oxidu siřičitému.

Je dobře známé, že přírůstek obsahu tříslovin ve vínech, včetně exogenního přídatku, se projeví lepším zachováním barvy. Tento stabilizující účinek je výsledkem kondenzací mezi tříslovinami a antokyany.

Kromě schopnosti slučovat se s antokyany mají třísloviny další chemické vlastnosti:

- slučování tříslovin a bílkovin, která může vysrážením vyvolat vyčiření vína;
- slučování se železem a vytvoření nerozpustné sloučeniny (železitý zákal);
- tvorba komplexů tříslovina-polysacharid, zejména během termovinifikace;
- slučování s různými substancemi, např. s kyselinou vinnou a cukry.

Je nutno zdůraznit antioxidační a ochrannou činnost tříslovin v červených vínech. Tato důležitá vlastnost vyplývá ze skutečnosti, že třísloviny oxidací uvolňují vodík a transformují se na chinony a melaniny (hnědé pigmenty složitých struktur)- Jiné složky vína jsou tak chráněné před případnou pozdější oxidací, která by mohla být osudná pro dobré uchovávání vína.

3.4 Vznik fenolických látek

Rostliny syntetizují široké spektrum sekundárních metabolitů, z velké části se jedná právě o látky fenolické povahy (CROZIER et al., 2006a). Fenolické látky a flavonoidy se hromadí v rostlinách a podílí se na mnoha funkcích životního cyklu rostlin (ochrana pletiv, atraktant pro opylovače a zvířata, ochrana před UV zářením (GOULD, 2004; JAGANATH, CROZIER, 2010). Vznikají biogeneticky ze dvou hlavních syntetických cest: šikimátové a acetátové. Vzniká extrémně široká a komplexní skupina látek (BRAVO, 1998). Z biochemického hlediska vychází syntéza polyfenolických látek z aminokyseliny fenylalaninu, respektive tyrosinu, kdy přes hydroxyskořicové kyseliny vede až k flavonoidním látkám. Výjimkou je ve víně hojně zastoupená kyselina gallová,

jejíž syntéza vychází z kyseliny šikimové (KUMŠTA, 2006). Méně častá je polyacetátová biosyntéza vedoucí ke vzniku polyketoesterů. Touto cestou vznikají polycyklické sloučeniny chromony, isokumariny, orcinoly, xanthony a chinony (MÍKA et al, 2001, COSTA et al, 2003). V letech 1970-2000 byl výzkum metabolických drah především té fenylypropanové, v popředí zájmu. O tom svědčí i výzkumy Hahlbrocka, Ebela a Hellera (HAHLBROCK, GRISEBACH, 1975; EBEL, HAHLBROCK, 1982; HELLER, FORKMANN, 1988 in JAGANATH, CROZIER, 2010).

3.4.1 Fenolické látky v révě vinné

Výzkum chemického složení révy vinné je v zájmu vědců nejméně od 70. let minulého století. Rozborům jsou podrobovány ovocné kyseliny, taniny, barviva a další látky zodpovědné za chuť, barvu a vůni vína. Teprve ovšem na počátku 20. století se větší zájem přenesl na polyfenolické látky např. flavonoidy (LARDOS, KREUTER, 2000). Réva vinná a z ní vyráběné víno se stalo populárním materiálem pro výzkum fenolických látek. VILLAÑO et al, (2006) považuje víno za bohatý zdroj antioxidantů především díky přítomnosti právě řady fenolických látek. Polyfenolické látky dávají vínu kromě barvy i odlišnou chuť. Ta je založena na rozdílném profilu fenolických látek bílých a modrých hroznů, ale především celkovým množstvím. Zatímco obsah fenolických látek v bílých vínech tvoří zhruba 0,01 %, u červených vín je tento obsah řádově vyšší, pohybuje se okolo 0,2 % (MATTIVI et al, 2006, LIPPI et al, 2010). Složení hroznů je analyzováno během období dozrávání a je tak postupně stanoveno optimální datum sklizně. Sleduje se obsah cukrů, titrovatelných kyselin, organických kyselin – jablečné a vinné, aminokyselin a anthokyaninů a taninů, které jsou důležité pro kvalitu červeného vína (NADAL, 2010). Bylo prokázáno, že celkový obsah fenolů v hroznech se pomalu zvyšuje během dozrávání, zhruba 1 - 2 týdny před sklizní obsahují hrozny maximální koncentraci fenolických látek. Tato hodnota je závislá na

odrůdě, klimatických podmínkách, půdě (GONZÁLEZ et al, 1990; CACHO et al, 1992; JORDAO et al, 1998; VIVAS DE GAULEJAC et al, 2001; DOWNEY et al, 2006; RIBEREAU-GAYON et al, 2006).

Resveratrol působí jako přirozená ochrana proti plísňovým chorobám révy. Kromě fungicidní funkce slouží rostlině i jako ochrana před UV zářením a jako antioxidant. Resveratrol patří do skupiny fenolických látek, které vznikají ve slupkách bobulí jako ochranná látka proti plísním. Množstvím resveratrolu čelí stresovým situacím, jako je například napadení plísní *Botrytis cinerea*, vlivu chladnějšího počasí a také chrání rostlinu proti škodlivému vlivu aktivních forem kyslíku. Jeho obsah ve víně je ovlivněn zvolenou technologií výroby a školením vína. Pohybuje se v rozmezí 0,1 – 8 mg.l⁻¹. V procentuálním vyjádření obsahují slupky modrých odrůd více resveratrolu a fenolických látek než odrůdy bílé. (Kyseláková a kol., 2003).

Resveratrol se vyskytuje v celé rostlině - kořenech, listech, semenech, třapínách, ale největší množství je ve slupkách plodů, které obsahují cca 50 - 100 µg.g⁻¹. Jeho obsah je spjat s výskytem plísňových infekcí. Ty jsou běžnější v chladnějším a vlhčím podnebí, proto mají hrozny pěstované v chladnějších oblastech vyšší obsah resveratrolu. Resveratrol je svou strukturou 3,4,5 – trihydroxystilben (I). Z jeho struktury je zřejmé, že mohou existovat dva geometrické isomery, *trans-cis*-. V rostlinném materiálu se obvykle vyskytuje směs obou isomerů, většinou převažuje *trans*. Resveratrol se vyskytuje rovněž ve formě glukosidů¹, β- glukosyloxy skupina je vázána buď v poloze 3 nebo v poloze 4, od obou typů je znám *trans* – i *cis* – isomer.

Kromě toho jsou v rostlinném materiálu přítomny oligomery resveratrolu, tzv. konstitutivní stilbeny, dimer resveratrolu ε-viniferin a trimer α-viniferin. Uvedené oligomery resveratrolu nejsou jediné, v poslední době byla popsána

čínskými autory řada analogických oligomerů resveratrolu, amuresiny H a G z podzemní části révy amurské, *Vitis amurensis* Rupr. (*Vitaceae*).

Amuresin byl připraven H oxidací resveratrolu chloridem železitým. Je možné, že analogicky při izolaci těchto sloučenin z rostlin, kde jsou obvykle přítomny v katalytickém množství železité ionty, dochází k oxidaci resveratrolu na některé z výše uvedených dimerů a trimerů (Šmidrkal a kol., 2001).

Výše uvedené dimery a trimery jsou tedy oxidační produkty resveratrolu. Otázkou však je, zda vznikají oxidací resveratrolu v rostlině, jestli jsou obsahovou látkou rostliny, nebo zda některé z nich vznikly až oxidací resveratrolu během zpracování rostlinného materiálu, a jsou tedy artefakty.

3.4.2 Funkce fenolických látek v rostlině

Resveratrol lze zařadit mezi fytoalexiny, což jsou sekundární metabolity rostlin, které se začínou tvořit nebo ve zvýšené míře jsou reakcí na stres (mechanické poškození, UV záření, ozon) nebo po napadení rostliny nepatogenními nebo avirulentními bakteriemi, viry či houbami. Některé fytoalexiny mají antibakteriální nebo antifungální účinnost, jiné jsou pro danou infekci neúčinné; nejsou tedy ekvivalentní protilátkám, které vyšší organismy tvoří po infekci (Barlass a kol., 1987).

Fyziologická funkce resveratrolu v rostlinách není stále zcela jasná. Tvorba fytoalexinů (*trans*-resveratrolu a ϵ -viniferinu) je jedním z mechanismů rezistence buňky. Při napadení révy vinné plísněmi (např. *Botrytis cinerea* či *Plasmopara viticola*) nebo po expozici UV zářením se začínou rychle tvořit a akumulovat fytoalexiny, maximální koncentrace *trans*-resveratrolu je dosaženo po 24 – 96 hodinách od expozice, poté jeho koncentrace klesá a po cca 16 dnech se ustálí na původním stavu.

Při napadení hroznu révy vinné plísní *Botrytis cinerea* lze pozorovat, jak rostlina vytváří bariéru okolo napadeného místa. V místě napadení je koncentrace resveratrolu nízká, je možné, že plíseň rozkládá fytoalexin, jehož působení je vystavena. Maximální koncentrace resveratrolu (cca 4x vyšší než v napadeném místě) je v sousední zóně se zvyšující se vzdáleností od centra napadení pak koncentrace zvolna klesá. Podobná bariéra se rovněž vytváří kolem napadeného místa listu révy vinné (Langcake a McCarthy, 1979).

Je pravděpodobné, že ve zralých hroznech je syntéza *trans*-resveratrolu nebo jeho glykosidu nějakým způsobem iniciována. Kromě výše uvedených faktorů i mechanické poškození slupky bobulí indikuje i u neinfikovaných hroznů syntézu fytoalexinů, zřejmě jako preventivní ochranu před napadením plísně. Předpokládá se, že zdrojem *trans*-resveratrolu ve víně (jako nápoji) jsou polyfenolické sloučeniny (konstitutivní stilbeny, tedy viniferiny), extrahované ze slupek bobulí, zbytků třapin a stonků, ze kterých vzniká *trans*-resveratrol během dalších procesů (Šmidrkal a kol., 2001).

3.4.3 Rozvoj fenolických látek v bobulích révy vinné

V průběhu zrání hroznů dochází ke změnám obsahu polyfenolických látek. Krátce po zaměkání bobulí, uvádí se zpravidla 5-7 dnů, dochází k tvorbě antokyanů. Na produkci antokyanů mají přímý vliv cukry, které se ukládají ve slupce. Množství antokyanů se postupně zvyšuje až po dosažení plné zralosti hroznů. Při přezrávání hroznů se může obsah antokyanů postupně snižovat. Pokles obsahu antokyanů může být zapříčiněn praskáním buněčných stěn slupky nebo napadením hroznů hnilobami. Po zaměkání se také zvyšuje obsah taninů ve slupce a postupně se snižuje jejich podíl v semenech. Pokud je tedy hrozen nevyzrálý nebo málo vyzrálý, pak je podíl taninů ve slupkách nízký, u semen je naopak vyšší. Pokud hrozny kvalitně

dozrají, poměry se mění. Při vyšším stupni zralosti hroznů je taninová chuť méně výrazná, než je tomu u nedozrálých hroznů, kdy tzv. tříslovitost poměrně výrazná. Zejména u červených vín hraje vyzrállost hroznů, tedy podíl mezi taniny ve slupkách a semenech, významnou roli. Pokud je vyšší podíl taninů ze slupek a nižší ze semen je červené víno u sensoricky vnímatelných vlastností mnohem kvalitnější.

Pro tvorbu červených barviv je také velmi žádoucí důležité přímé osvětlení sluncem. Bobule vystavené slunečnímu svitu vyzrávají rychleji a kvalitně se vybarvují, oproti těm mimo sluneční expozici. Akumulace anthokyanů trvá přibližně 60-70 dnů a začíná cca při 60 g.l⁻¹ cukrů v dužnině. Tvorbu barviv negativně ovlivňuje nedostatek vody v půdě, přebytek přijatelného dusíku. (FARKAŠ, 1980; JORDANO et al, 1998).

Modré odrůdy obsahují mnohem více fenolických látek než bílé odrůdy, platí to i pro obsah resveratrolu (JACKSON, 2008). Některé modré odrůdy obsahují více resveratrolu než jiné, obsah zásadně ovlivňuje pěstitelská oblast.

3.4.4 Vliv fenolických látek na sensorický projev vína

Je známo, že kvalita i množství fenolických látek se rodí ve vinici a není tomu tak v důsledku nakvášení, které ovlivňuje extrakci těchto látek z bobulí a slupek do moštu a vína. Změna obsahu a složení fenolických látek v hroznech je významně ovlivněna odrůdou, klimatickými podmínkami lokality a agrotechnikou ve vinici. U modrých odrůd se 30-40 % celkových fenolických látek nachází ve slupce a 60-70% v semenech. Taniny ve slupkách dávají vínu hladké tóny bez vysokého podílu hořkých a trpkých chutí. (PAVLOUŠEK, 2011). Taniny se nachází nejvíce v obalech semene a jsou velmi reaktivní, s anthokyaniny tvoří polymerizací stabilní komplexy barviv. Jsou také odpovědné za strukturu a tělo červeného vína. Nezralá semena mají světle

zelenou barvu a hořkou chuť, fenolicky zralá semena mají tmavohnědou barvu a jemně tříslovitou neagresivní chuť (PAVLOUŠEK, 2006, CHRISTMAN, FREUND, 2010).

3.5 Antioxidanty

Vědecké výzkumy a studie se intenzivně snaží zjistit, čím je alkohol, resp. víno, tak zvláštní, že vykazuje příznivé zdravotní účinky. Jaká látka ve víně způsobuje, že má víno žádoucí účinky pro předcházení kardiovaskulárním chorobám.

Vědecké bádání v posledních několika letech prokázalo, že mnoho lidských nemocí, mezi něž patří rakovina nebo i samotný proces stárnutí, způsobují nebo podporují chemické látky, které nazýváme „volné radikály“. Částice volných radikálů napadají stěny zdravých buněk, čímž dochází k oxidaci. Ke zpomalení či potlačení nežádoucího oxidačního děje dochází za přítomnosti antioxidačních látek, antioxidantů.

Oxidace je chemická reakce, při které dochází k přenosu elektronů z látky na oxidační činidlo. Ačkoliv tato reakce je velmi důležitá pro život, vytváří se při ní veškerá energie potřebná pro naše tělo, mohou se při ní produkovat volné radikály, které odstartují řetězové reakce poškozující buňky (Sies, 1997).

K nežádoucí oxidaci dochází v organismu vlivem znečištěného vzduchu, vody, potravin, kouření, bifenylů a dalších karcinogenních látek, kterých je kolem nás mnoho. Proto je nutné látky s antioxidačními účinky přijímat stravou v přirozené formě, případně jejich obsah doplňovat potravinovými doplňky (Youngson, 1995).

3.5.1 Mechanismus účinku antioxidantů

Mechanismus účinku antioxidantů spočívá přednostně v tom, že poskytují atomový vodík k reakci s peroxidovými nebo jinými radikály, které vznikají

jako meziprodukty řady oxidačních procesů znehodnocující potraviny (Jordán V., 2001). Volný radikál antioxidantu je poměrně málo reaktivní a není schopen vyvolat další řetězovou reakci. Místo toho se deaktivuje buď spojením s dalším radikálem, nebo se disproportionuje na původní antioxidant a odpovídající chinon (Vodrážka, 2002). Je však třeba si uvědomit, že ne každý antioxidant dokáže odstranit každý volný radikál.

Rozeznáváme tři základní skupiny antioxidantů (Šípek, 2000):

1. **Enzymové antioxidanty** – superoxiddismutáza, glutathionperoxidáza, kataláza atd. Superoxiddismutáza katalyzuje přeměnu superoxidu. Ten je přeměněn na peroxid vodíku a na následné odstranění je v těle více mechanismů, např. glutathionperoxidáza, která jej zredukuje.

2. **Hydrofilní antioxidanty** - vitamin C, kyselina močová, selen, bioflavonoidy atd. Tyto antioxidanty rozpustné ve vodě účinkují zejména v extracelulární tekutině.

3. **Hydrofobní antioxidanty** – vitamin E, ubichinon (koenzym Q 10), b-karoten. V tuku rozpustné antioxidanty pronikají buněčnou membránou a mohou tedy účinkovat intracelulárně.

Nízké hladiny antioxidantů nebo inhibice antioxidantních enzymů mohou způsobit oxidační stres a mohou být příčinou poškození nebo smrti buňky. Oxidační stres neboli převaha volných radikálů nad antioxidanty, hraje důležitou roli u mnoha lidských nemocí, použití antioxidantů ve farmakologii je proto intenzivně studováno (Sies, 1997).

3.5.2 Výskyt antioxidantů a faktory působící na jejich obsah

Antioxidační účinek byl prokázán například u tokoferolů, kyseliny L-askorbové, flavonoidních barviv derivátů kávové kyseliny, thiaminu, katalasy, pektinů a mnoho dalších (Hoza a Kramářová, 2006).

Antioxidant	Potravina
Vitamín A - karotenoidy	mrkev, dýně, brokolice, sladké brambory, rajčata, kapusta, broskve, meruňky
Vitamín C	citrusy (pomeranče a limetka), zelené papriky, brokolice, listová zelenina, jahody a rajčata
Vitamín E	ořechy a semena, celozrnné potraviny, listová zelenina
Selen	ryby, červené maso, vejce, česnek, celozrnné potraviny
Flavonoidy	sója, hroznové víno, granátová jablka, brusinky
Lykopen	rajčata a výrobky z rajčat
Lutein	kapusta, brokolice, kiwi, špenát
Lignan	lněná semínka, ovesné vločky, ječmen, žito

Tab. 4: Antioxidanty a jejich výskyt v potravinách (www.agronavigator.cz).

Antioxidanty jsou obsaženy v potravinách v různých množstvích. Některé antioxidanty mohou být však zničeny dlouhodobým skladováním nebo varem, jako například lykopen (Šípek, 2000). Rovněž při zpracování a skladování karotenoidů dochází ke ztrátám, hlavní příčinou je oxidace nenasycených vazeb. Polyfenolické antioxidanty jsou naopak velmi stabilní, jsou obsaženy například v obilí a čaji a je jim prisuzován významný vliv na zdraví člověka. Fenolické kyseliny obsažené v cereáliích mají vysokou antioxidační aktivitu a to již v koncentracích, které získáme běžnou konzumací obilovin, a pravidelná konzumace čaje vede k významnému zvýšení antioxidační kapacity krve, která vypovídá o schopnosti bránit se působení volných radikálů (Odstrčil, 2006).

3.5.3 Využití antioxidantů

Antioxidanty jsou hojně využívány jako doplňky stravy při prevenci takových nemocí jako rakovina a srdeční onemocnění. Kromě použití antioxidantů v lékařství mají tyto sloučeniny i řadu průmyslových využití. V potravinářském průmyslu se nejčastěji používají k ochraně tuků a jiných lipidů nebo látek povahy terpenů před autooxidací (Odstrčil, 2006). Část potravin je na přírodní antioxidanty natolik bohatá, že je jimi nejen chráněna, ale může dokonce chránit ve směsích i potraviny, které vlastní antioxidanty postrádají. V řadě případů je však třeba obsah antioxidantů v potravinách zvyšovat jejich přidávkem. Antioxidanty izolované z přírodních materiálů však většinou nemají konstantní složení, jsou obvykle málo účinné a dosti drahé. Proto se potraviny častěji stabilizují antioxidanty syntetickými, z nichž se používají téměř výhradně fenoly (Vodrážka, 2002).

Antioxidanty své uplatnění nacházejí také v kosmetickém průmyslu pro jejich schopnost zabránit předčasnému stárnutí, dále jako stabilizátory v palivech a

mazadlech a jako látky zabraňující degradaci polymerů jako například gumy, plastů apod. (Youngson, 1995).

3.5.4 Doporučená denní dávka antioxidantů

Lidský organismus je vybaven ochrannými antioxidantními systémy, které mohou reaktivní radikály pohlcovat nebo jejich tvorbu brzdit. Mezi tyto systémy patří antioxidantní enzymy, pro jejichž tvorbu a funkci je zapotřebí dostatečné množství některých vitaminů, minerálů, stopových prvků a dalších látek s antioxidantními účinky, které systémy podporují. Tělo si vytváří vlastní antioxidanty, ale vitaminy, minerály a sloučeniny známé jako fotochemické látky (např. flavonoidy), které přijímáme potravou, jich poskytují víc.

Velmi důležité je podávání antioxidantů jedincům oslabeným po nemoci, případně starším nebo nezdravě a jednostranně se stravujícím lidem, protože jejich organismus produkuje těchto látek méně.

Podávání antioxidantů má své opodstatnění i v případě obyvatel velkoměst, sportovců a osob náchylných k nádorovému onemocnění. Dávkování jednotlivých antioxidantů je individuální a konzultace s lékařem je nezbytná. Dávkování preventivní je nižší, dávkování při nemoci nebo při nesprávné stravě je vyšší. Antioxidanty užívané dlouhodobě preventivně zabraňují dalšímu progresivnímu rozvoji aterosklerózy (Jordán, 2001).

3.5.5 Nové výzkumy vlivu antioxidantů na rychlost stárnutí

Podstatou stárnutí je neschopnost bránit se oxidačnímu poškození a obnovovat pro život důležité makromolekuly neomezeně dlouho. Lidské tělo je schopné z vhodných prekurzorů vytvořit nebo opravit jakoukoliv svoji strukturu. Kdyby systémy antioxidantní ochrany, odbourávání nepotřebných proteinů a opravy DNA byly zcela perfektní, byli bychom nesmrtelní. Tyto systémy však v sobě mají zakódovanou maximální (potenciální) délku našeho života (Pazourek J., 2001).

V roce 1956 byla zveřejněna studie, která dokazovala vliv velkého množství volných radikálů v těle na stárnutí organismu. Proto byly antioxidanty začleněny do nejrůznějších krémů a přípravků, stejně jako do dietních pilulek a doplňků stravy. V posledních letech byly provedeny nové výzkumy, které zpochybňují tuto studii o volných radikálech. Například v Institutu HealthyAgeing na University College London (UCL) se prováděly pokusy na háďátku obecném (*Caenorhabditiselegans*). Jedná se o červa z kmene hlístic. Háďátka žije v půdě po celém světě a je významným modelovým organismem a nástrojem molekulární a vývojové biologie. Hlístice dostaly velké množství volných radikálů, což podle starší teorie mělo zkrátit jejich život. Místo toho však žily stejně dlouho jako běžné hlístice. To dovedlo vědce k závěru, že působení volných radikálů nemusí být hlavní příčinou stárnutí (www.agronavigator.cz).

3.5.6 Antioxidanty ve víně

Zájem o sledování výskytu antioxidantů ve víně byl podmíněn právě existencí tzv. „francouzského paradoxu“. Konzumace vína byla totiž jedním z faktorů, kterým bylo možno vysvětlit nízkou úmrtnost na onemocnění kardiovaskulárními chorobami. Tato skutečnost vedla k domněnce, že požívání vína může působit proti účinkům diety s vysokým obsahem tuků, a omezit tak možnost vzniku a rozsah onemocnění věnčitých tepen a zároveň preventivně působit proti stárnutí.

3.6 Volné radikály

V organismu běžně vzniká řada reaktivních forem kyslíku a reaktivních forem dusíku. Tyto látky mají značný fyziologický i patogenní význam, proto se staly předmětem intenzivního lékařského výzkumu a vědomosti o nich se postupně uplatňují v lékařské praxi. Jedná se o látky, které mohou být produkovány s

cílem zabezpečit určité biologické funkce, jako je například funkce mikrobicidní ve fagocytech, jsou významnými prostředníky přenosu energie a signálními molekulami buněčné regulace, za určitých okolností však působí jako toxické látky, které jsou schopné organismus poškodit (Šípek, 2000).

Nejdůležitější reaktivní formy kyslíku a dusíku jsou uvedeny v tabulce 1. Pouze některé z níže popsanych reaktivních forem kyslíku nebo dusíku patří mezi volné radikály, tedy látky s nepárovým elektronem (Youngson, 1995).

3.6.1 Vznik volných radikálů

Volné radikály vznikají z molekul trojím způsobem:

1. **homolytickým štěpením kovalentní (dvouelektronové) chemické vazby**, kdy každý fragment získá jeden nepárový elektron. K homolytickému štěpení je zapotřebí velké množství energie, získané například vysokou teplotou, ultrafialovým nebo ionizujícím zářením.
2. **redukcí** - přidáním jednoho elektronu k molekule.
3. **oxidací** - naopak ztrátou jednoho elektronu.

V biologických systémech volné radikály vznikají energeticky snadnějším způsobem – odejmutím nebo přijetím elektronu.

Radikály mohou být neutrální částice nebo záporně či kladně nabitě ionty. To záleží na tom, zda počet protonů v atomových jádrech radikálu odpovídá počtu elektronů v orbitalech, či nikoli. Vzorce, příp. symboly radikálů se vždy označují tečkou, indikující nepárový elektron, a jsou-li popisované částice zároveň ionty, je vzorec doplněn podle počtu a typu náboje symboly plus nebo minus (Šípek, 2000).

3.6.2 Funkce volných radikálů

Volné radikály plní v našem organismu řadu důležitých fyziologických funkcí.

Bez radikálových reakcí by se dnešní formy života nevyvinuly, neboť tak velké množství energie, jaké je třeba k jejich výstavbě a funkcím, lze za daných podmínek uvolnit pouze přenosem elektronů ze živin na kyslík. Reaktivní formy kyslíku jsou rovněž součástí enzymových mechanismů a některé z nich jsou významnými signálními molekulami v buněčném informačním systému (Šípek, 2000). Volné radikály jsou tedy běžné produkty aerobního metabolismu, ale vlivem patofyziologických podmínek mohou být tvořeny ve zvýšené míře (Sies, 1997).

Tvoří-li se v nadměrném množství nebo nejsou-li dostatečně rychle likvidovány, stávají se pro svou reaktivitu nebezpečné, narušují buněčné membrány a mohou být příčinou rozvoje závažných patologických projevů (Youngson, 1995; Jordán, 2001).

Dochází tak k urychlení procesu degenerace a stárnutí buněk, narušení přirozené obranyschopnosti organismu, případně poškození genetického vybavení buňky, a tím k poruchám mnohdy vedoucím k nastartování velmi složitého a doposud intenzivně vědecky zkoumaného procesu nádorového zvratu v buňce. Rozmnoží-li se takto změněné buňky v důsledku nemoci, stárnutí nebo nadměrného působení slunečního záření, způsobí velké škody na funkci orgánů a zdraví organismu (Jordán, 2001).

3.6.3 Nemoci způsobené oxidací volnými radikály

Oxidační stres byl implikován v patogenezi valné většiny, ne-li všech lidských chorob. I když se přidržíme mírné skepse doporučované vedoucími autoritami na poli biologie a medicíny kyslíkových radikálů, stále to znamená, že reaktivní formy kyslíku hrají významnou úlohu v rozvoji tak závažných a rozšířených onemocnění, jako je ateroskleróza, diabetes mellitus, hypertenze, chronické střevní záněty, některé typy rakoviny, ischemicko-reperfuzní poškození srdce a

jiných orgánů, mozkové trauma/ischemie, Parkinsonova nemoc, Alzheimerova nemoc atd. I podstatou fyziologického stárnutí zřejmě není nic jiného než akumulace malých chyb systémů antioxidační ochrany a údržby tělesných struktur (www.solen.cz).

Oxidace cholesterolových částic v krvi může způsobit ukládání oxidovaných tukových látek ve stěnách tepen, což může postupně vést k srdečnímu infarktu a cévní mozkové příhodě. Jestliže volné radikály oxidují DNA v buněčném jádru, vyvolávají buněčné mutace, které mohou být počátkem rakoviny (Jordán, 2001).

3.7 Stanovení fenolických látek

Pro stanovení fenolických látek se v posledních letech začalo využívat vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s coulometrickým detektorem. Coulometrická detekce s elektrodovým polem je velmi citlivý způsob detekce, ve které je využita série 4-16 průtočných coulometrických cel, ve kterých dochází k elektrochemické přeměně analytu. Na každou celu je vložen jiný, ale konstantní potenciál a každá látka se oxiduje, nebo redukuje, při jiném potenciálu, ten je pak nazýván tzv. dominantním potenciálem (Marcaníková a Beňová, 2010).

CoulArray detektor, používaný v této práci, je coulometrický multielektrodový detektor, který byl zkonstruován pro použití v HPLC a který se používá pro detekci elektroaktivních látek. Umožňuje charakterizaci látek na základě poměru odezvy signálu velkého počtu kanálů (Marcaníková a Beňová, 2010).

HPLC je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (angl. *high-performance liquid chromatography*) – chromatografická technika sloužící k separaci složek vzorku

za účelem stanovení jejich přítomnosti i koncentrace ve vzorku, popř. i k izolaci jednotlivých složek směsi (tzv. preparativní chromatografie). Na rozdíl od běžné, tedy sloupcové chromatografie, je součástí HPLC aparatury výkonné vysokotlaké čerpadlo, které umožňuje průtok mobilní fáze kolonou menších rozměrů, v níž je stacionární fáze vázaná na částice o velikosti pouze několik mikrometrů. Díky tomuto uspořádání dosahuje HPLC vyšší účinnost separace látek za kratší dobu ve srovnání s klasickou sloupcovou chromatografií.

Chromatografický systém zahrnuje tři základní prvky - mobilní fázi, složky vzorku a stacionární fázi. Mobilní fáze unáší složky vzorku ložiskem stacionární fáze. Pojmem stacionární fáze se rozumí ta část chromatografického systému, která splňuje alespoň jednu z těchto vlastností:

- fyzikálně-chemicky adsorbuje nebo absorbuje složky vzorku z mobilní fáze
- na povrchu probíhá proces iontové výměny
- má pórovitou strukturu, která umožňuje separaci složek vzorku na základě efektivních rozměrů jeho molekul

Podle typu mobilní fáze můžeme chromatografické techniky rozdělit na chromatografii plynovou, fluidní, plasmovou a kapalinovou.

Kapalinovou chromatografií můžeme dále dělit na:

- adsorpční chromatografií, kdy se separace uskutečňuje specifickými interakcemi částice s povrchem adsorbentu – adsorpční chromatografie (liquid-solid chromatography) – LSC nebo se stagnující kapalnou stacionární fází nanesenou na nosiči – rozdělovací (adsorpční) chromatografie (liquid-liquid chromatography) – LLC.
- gelovou (permeační) chromatografií (GPC), kdy se separace uskutečňuje na základě velikosti částic a velikosti pórů gelu

- ionexová chromatografie (ion-exchange chromatography, IEC), kdy dochází k separaci iontů na základě specifických interakcí s nabitým nosičem
- speciální chromatografii – afinitní, chirální aj.
(<http://cs.wikipedia.org/wiki/HPLC>)

4 MATERIÁLY A METODY

4.1 Popis podnoží, stanoviště, odrůd a stanovení látek

4.1.1 Popis stanoviště

Vzorky byly odebrány v genofondové vinici na Mendelu v areálu Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici. Jedná se o suchou, teplou oblast s mírnými zimami. Průměrná teplota dle dlouhodobého průměru dosahuje 9 °C a roční úhrn srážek činí 519,8 mm. Pozemek je rovinný, mírně svažité na jihozápad. Půda je hlinitopísčité s obsahem 20-24% jílovitých částic.

Spon použitý při výsadbě je 2,20 x 1 m, řez je veden na jeden tažeň o 8 až 10 očkách.

4.1.2 Popis podnoží

Réva vinná se rozmnožuje generativním a vegetativním způsobem. Generativně se množí v procesu šlechtění nových odrůd. Z každého semene, které vzniklo spontánním nebo cíleným opylováním, může potenciálně vzniknout nová odrůda. V praxi se už od počátků domestikace révy vinné využívá vegetativní rozmnožování (Pavloušek, 2011).

Před zavlečením révokazu do Evropy ve 2. polovině 19. století se réva vinná pěstovala buď pravokořenná, nebo se jedna odrůda roubovala na druhou. Chybějící keře ve vinici se často nahrazovaly hřížením nebo potápěním, nové keře révy byly vždy pravokořenné. Po zavlečení révokazu a úspěšném vyšlechtění rezistentních podnoží se réva vinná rozmnožuje téměř výhradně roubováním na rezistentní podnože. (Pavloušek, 2011)

4.1.3 Základní vlastnosti podnoží

Odolnost k napadení révkou je důležitou, ne však jedinou, požadovanou vlastností podnožových odrůd pro révu vinnou.

Základní požadavky kladené na podnože:

- Odolnost vůči révkou
- Intenzita růstu
- Kompatibilita a afinita s naštěpovanou odrůdou
- Schopnost zakořeňování
- Adaptace na podmínky stanoviště (odolnost vůči suchu, proti obsahu vápna v půdě, adaptace na půdní podmínky)

4.2 Popis sledovaných podnoží

4.2.1 AMOS „AM“

Původ: Vinařská oblast Morava, kříženec (Malingre x *Vitis amurensis*) x (*Vitis riparia* x *Vitis rupestris*).

Podnož byla vyšlechtěna Ing. Václavem Křivánkem a Ing. Aloisem Tománkem na Šlechtitelské stanici vinařské Polešovice křížením odrůd Severnyj x Schwarzmann.

Rok zápisu do státní odrůdové knihy: 1990

Růst: Zvyšuje výnos hroznů naštěpovaných odrůd a zkracuje nástup jejich plodnosti. Dává vysoké výnosy řízků v podnožové vinici, dobře koření.

Odolnost: Vůči mrazu odolná, krátkodobě odolává i suchu. Zkušenosti s rezistencí proti révkou jsou dobré. Vápník v půdě snáší až do obsahu 10 %.

Afinita: Dobrá s většinou u nás pěstovaných odrůd.

Adaptace: lehčí půdy, v těžkých uléhavých půdách dávají podnože lepší výsledky.

Využití: Náhrada odrůdy Schwarzmann.

4.2.2 BERLANDIERI x RIPARIA KOBER 5BB „K 5 BB“

Původ: Rakousko, kříženec *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*

Odrůda vznikla počátkem 20. století v Klosterneuburgu, kde ji vyselekoval F. Kober. V severních vinohradnických oblastech patří k nejrozšířenějším podnožím. Nejvíce se používá v Rakousku, Německu, Maďarsku, na Slovensku a v České republice.

Rok zápisu do státní odrůdové knihy: 1979

Růst: Bujný v podnožové vinici i po naštěpování ušlechtilých odrůd. Kořeny tvoří intenzívně, polohluboce.

Odolnost: Proti révokazu i háďátkům je odolná, proti vyššímu obsahu vápníku je odolná jen na sušších půdách s nižším obsahem aktivního vápníku. Odolnost proti suchu je střední, k nepříznivým účinkům zasolení půdy je odrůda náchylná. Proti poškození mrazy je méně odolná.

Afinita: Je velmi dobrá s úrodnými odrůdami, které nejsou náchylné ke sprchávání. Především s Ryzlinkem vlašským, Müllerem Thurgau, Modrým Portugalem, André, Rulandským bílým. Není vhodná pro Neuburské, Veltlínské červené rané a Sauvignon. Omezeně je možné podnož použít pro Veltlínské zelené a Ryzlink rýnský.

Adaptace: Vhodná do půd méně živných a skeletových, nesnáší extrémní sucho. Nejlepší výsledky má na mírně vlhkých, hlinitých a sprašových půdách. Nesnáší vyšší množství aktivního vápníku (nad 10 %). Vhodné jsou velké tvary keřů.

Využití: Patří s podnoží „Teleki 5 C“ k nejrozšířenějším podnožím u nás. Ideální je pro půdy s neutrální až kyselější reakcí.

4.2.3 BERLANDIERI x RIPARIA SO-4 „SO-4“

Původ: Německo, kříženec *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*.

Odrůda byla vyšlechtěna Rodrianem v Oppenheimu selekcí podnože „Teleki 4“. Nejvíce je rozšířena v Německu a Rakousku.

Rok zápisu do státní odrůdové knihy: 1979

Růst: Střední až slabší. Révoví v podnožové vinici vyžívá brzy a dobře, podnož urychluje i vyžívání hroznů a dřeva naštěpovaných odrůd. Koření dobře ve středních hloubkách.

Odolnost: proti napadení révokazem a háďátkům je podnož odolná. Proti vyššímu obsahu vápníku v půdě je středně odolná až odolná (snáší až 20 % aktivního vápníku). Není odolná vůči zasolení a suchu.

Afinita: Nejlepší je s většinou jakostních odrůd a s odrůdami náchylnými na sprchávání např. Ryzlink rýnský, Neuburské, Sylvánské zelené, Veltlínské zelené, Alibernet a Svatovavřínecké.

Adaptace: Je omezena na humóznější, stejnoměrně vlhké, hlinité půdy bez vápna i s vyšším obsahem vápníku. Není vhodná pro lehké a málo úrodné půdy, ani pro půdy silnější vysychavé. Ideální je střední vedení.

Využití: Podnož má slabší vzrůst. Omezuje sklon některých odrůd ke sprchávání. Je vhodná především pro střední vedení.

4.2.4 BERLANDIERI x RIPARIA CRACIUNEL 2 „Cr 2“

Původ: Rumunsko, kříženec *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*.

Odrůda vznikla v polovině 20. století ve Výzkumné stanici vinohradnické v Craciunel jako selekce podnože „Kober 5 BB“. Je rozšířena v severních částech Rumunska, na Slovensku a v České republice.

Rok zápisu do státní odrůdové knihy: 1983

Růst: Stejně jako „Kober 5 BB“ je růst bujný a bujně rostou i naštěpované odrůdy. Vyzrávání dřeva je dobré.

Odolnost: Proti napadení réwokazem, plísní révovou a padlím révovým je odrůda odolná. Proti vyššímu obsahu vápníku v půdě je středně odolná.

Afinita: Je nejlepší s plodnými odrůdami, ale i s většinou jakostních odrůd. Velmi dobré jsou výsledky s odrůdou Neuburské.

Adaptace: S ohledem na vyšší odolnost proti suchu je vhodná pro půdy lehké, písčité až štěrkovité, a stejně tak i na sprašovitě, hlinitě a uléhavě půdy. Nesnáší těžké slíny. Je odolná vůči vyššímu obsahu vápníku v půdě.

Využití: Dosahuje vyšší výtěžnosti prvotřídních sazenic ve školce, vysokých výnosů naštěpovaných odrůd a menšího sprchávání. Podnož má vyšší odolnost vůči suchu a vápníku. Nedostatkem je kolísavý výnos v podnožové vinici.

4.2.5 BERLANDIERI x RIPARIA TELEKI 5C „T 5 C“

Původ: Maďarsko, kříženec *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*.

Odrůdu vyseletoval počátkem 20. století Teleki. Nejvíce je rozšířena v Německu, Maďarsku, na Slovensku, v Rakousku a v České republice. Patří k našim nejrozšířenějším podnožím.

Rok zápisu do státní odrůdové knihy: 1983

Růst: v Podnožové vinici je bujný. Naštěpované odrůdy mají slabší růst. Kořeny vytváří ve středních hloubkách.

Odolnost: Proti napadení réwokazem je odrůda odolná. Proti suchu a vyššímu obsahu vápníku v půdě je méně odolná.

Afinita: Při vhodných podmínkách na stanovišti je dobrá s téměř všemi odrůdami.

Adaptace: Hlinité půdy, snáší v nich i vyšší obsah aktivního vápníku. Nesnáší studené a vlhké půdy, stejně jako půdy písčité. Je vhodná pro střední vedení.

4.2.6 BERLANDIERI x RIPARIA 125 AA „125 AA“

Původ: Rakousko, kříženec *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*

Odrůda vznikla počátkem 20. století v Klosterneuburgu, kde ji vyselekoval F. Kober z materiálu pocházejícího od maďarského šlechtitele Telekiho. Nejvíce je rozšířena v Rakousku, Německu, Maďarsku, na Slovensku a v České republice.

Rok zápisu do státní odrůdové knihy: 1983

Růst: Velmi bujný v podnožové vinici, naštěpované odrůdy rostou středně bujně až bujně. Intenzívně koření ve středních hloubkách. Vytváří hrozny se zelenohnědými bobulemi.

Odolnost: Proti napadení réwokazem a vyššímu obsahu vápníku je odolná. Proti suchu je méně odolná, stejně jako proti poškození kořenů mrazy.

Afinita: Je velmi dobrá se všemi u nás používanými odrůdami. Je vhodná jak pro velmi plodné, tak i pro jakostní odrůdy.

Adaptace: Je omezena především vláhou. Snáší pouze stejnoměrně vlhké a dostatečně hluboké půdy. Nesmí se vysazovat do půd mělkých a na suchá stanoviště. Je vhodná do půd hlinito-písčitých, hlinitých a do těžkých slínů. Dáva dobré výsledky i na spraších. Nejvhodnější jsou velké tvary keřů.

Využití: její význam roste. Na vysokých tvarech zlepšuje sklizně naštěpovaných odrůd. Pro střední tvary v intenzivním hospodaření se nehodí, je příliš bujná.

4.2.7 BÖRNER „Na 5153-54“

Původ: Německo, *Vitis riparia* 183G x *Vitis cinerea* Arnold

Podnož vyseletoval Helmut Becker v Geisenheimu z naumburských semenáčů po Carlu Börnerovi

Růst: Bujný, naštěpované odrůdy rostou středně bujně až bujně. Koření velmi dobře a hustě.

Odolnost: Proti mrazu je většinou dobrá, révoví vyžívá dobře. Má největší odolnost vůči révokazu ze všech dosud používaných podnoží. I vzdornost k háďátkům je velmi dobrá, brání tak přenosu virových onemocnění.

Afinita: Je dobrá se všemi uznanými odrůdami. Je vhodná jak pro plodné odrůdy, které nemají příliš bujný růst, např. Irsai Oliver, Ryzlink vlašský, Muškát Ottonel, Neuburské, André, Cabernet Sauvignon, Zweigeltrebe, aj.

Adaptace: Je nenáročná na půdy a má i dobrou suchovzdornost. Snáší přibližně 22 % aktivního vápníku v půdě. Není vhodná pro nízké tvary a bujně rostoucí odrůdy. Hodí se pro vyšší způsoby vedení.

4.3 Popis sledovaných odrůd

4.3.1 Hibernál – HIB

Synonyma: Gm 322-58 (Geisenheim 322-58)

Zapsána do Státní odrůdové knihy v roce 2004

Bílá moštová odrůda pochází z mezidruhového křížení Seibel 7053 (*Chancellor*) x Ryzlink rýnský, klon 239 Gm F-2 zjednodušeně uvedeno (Seibel 7053 x RR, klon 239 Gm) x (Seibel 7053 x RR, klon 239 Gm). Byla vyšlechtěna v roce 1944 v Ústavu pro šlechtění révy vinné v Geisenheimu v oblasti Rheingau v Německu

profesorem Dr. Helmutem Beckerem. Název odrůdy vychází z latinského slovesa „hibern“ a má demonstrovat její odolnosti vůči mrazům.

Genetický profil odrůdy : 78,9 % *Vitis vinifera*, 5,1 % *Vitis labrusca*, 13,3 % *Vitis rupestris*, 2 % *Vitis riparia*, 0,8 % *Vitis lincecumii*. (*Michael Striem, 2010*)

Seibel 7053 (Chancellor) je interspecifická odrůda vypěstovaná francouzským šlechtitelem Albertem Seibelem na začátku 19. století. Od roku 1950 byla odrůda vysazována ve Francii až do zákazu pěstování hybridních odrůd pro výrobu jakostních vín, kdy byly osazené plochy významně zredukovány. Tato odrůda, kromě své oblíbenosti na východním pobřeží Spojených států Amerických, je také často využívána při šlechtění nových odrůd, například *Breidecker* a *Cabernet Cantor* v Německu, *Villard Noir* a *Chambourcin* ve Francii.

Rašení odrůdy je středně pozdní, sklizňové zralosti dosahuje v první polovině října. Odrůda je velmi dobře odolná proti padlí révovému (*Uncinula necator*) a plísni révové (*Plasmopara viticola*), středně odolná až odolná proti plísni šedé (*Botrytis cinerea*). Zatížení střední. Snáší vyšší obsah vápníku v půdě. Víno je extraktivní s příjemnou aromatickou vůní a jemnými tříslovými tóny. Toto vysoce kvalitní obsahuje kyseliny typu Ryzlinku rýnského.

Proti poškození mrazy je odrůda velmi odolná a je schopná odolávat jak zimním, tak i jarním mrazům a to až do -28 °C. Podnože volíme podle typu půd a tvaru keře. Vhodné jsou K 5BB, T 5C a SO-4. *Hibernal* je vhodný pro různé typy vedení a může být veden dlouhým i krátkým řezem. Výnosy jsou středně vysoké, to je 10 t/ha, dosahuje cukernatosti moštu 19-24 °NM a obsah kyselin 8,5-12 g/l.

S ohledem na délku vegetační doby je náročnější na stanoviště a lépe prosperuje na svazích s vyšší expozicí slunečního záření. Na složení půdy není odrůda

nijak náročná a dobře snáší i vyšší obsah vápníku, ideální jsou písčité až hlinitopísčité, s velmi dobrým obsahem živin a dostatkem vody.

Réva vinná, odrůda *Hibernal* je jednodomá dřevitá liána, která může dorůst do výšky několika metrů. Kmen je pokrytý světlou borkou, která se loupe v pásech. Úponky se mohou zachytávat na okolních pevných předmětech a dosahovat středně bujný až bujný růst se vzpřímenými letorosty. Vrcholky letorostů jsou otevřené, se slabým pigmentováním antokyaniny. Nové listy jsou světle zelené se slabým bronzovým nádechem. Jednoletá réva je žlutavě hnědá.

List je středně velký až velký, tří- až pětilaločný s mělkými horními bočními výkroji. Tvar čepele je srdcovitý, vrchní strana čepele je tmavozelená, lehce vrásčitá, zvlněná, středně puchýřnatá. Řapíkový výkroj je úzce otevřený, ve tvaru písmene V, až mírně překrytý, řapík je středně dlouhý, zelený, s ojedinělými štětinkami, žilnatina listu je takřka bez pigmentace.

Oboupohlavní květy v hroznovitých květenstvích jsou žlutozelené, samosprašné. Plodem je malá až středně velká (14 mm), kulatá bobule, jejíž slupka je žlutozelená, u přezrálých hroznů až růžovošedá, dužnina je bez zbarvení, řídká až mírně sliznatá, sladké, neutrální až jemně kořenité chuti. Hrozen je malý až středně velký (112 g), válcovitě-kuželovitý, středně hustý až hustý, mírně křídlatý, se středně dlouhou stopkou.

Hibernal je předurčen k výrobě vysoce kvalitních přívlastkových vín. Svým charakterem víno nezapře příbuznost s *Ryzlinkem rýnským*, ale stejně tak nám může podle oblastí, kde je pěstován připomínat *Sauvignon*, *Neuburské* nebo třeba *Rulandské šedé*. Hrozny se hodí pro produkci vín technologií sur lie. Za použití kvašení moštu za nízkých teplot (15°C) rozpoznáváme ve víně příjemné ovocité a květinové aroma. Víno má zelenožlutou barvu, vůně je silná příjemně ovocitá po broskvi, jablku, ananasu, meruňce. V chuti oceníme plné tělo s typickou minerálností a kořenitostí.

4.3.2 MARLEN

Marlen je interspecifická moštová odrůda, která byla vyšlechtěna ještě v bývalém Československu kolektivem šlechtitelů sdružení Resistant Velké Bílovice (později Vinselekt Perná). Šlechtiteli byli Doc. Ing. Miloš Michlovský, CSc., Ing. František Mádl, Prof. Ing. Vilém Kraus, CSc., Lubomír Glos a Vlastimil Peřina. Vlastní křížení bylo provedeno v roce 1985 a selekce postupně probíhala v Lednici, v Břeclavi a v Perné. Odrůda vznikla křížením odrůd *Merlan* (*Merlot* x *Seibel 13666*) x *Fratava* (*Frankovka* x *Svatovavřínecké*).

Odrůda *Marlen* je zapsána do Státní odrůdové knihy České republiky od roku 2014 pod číslem odrůdy VIT08151, v katalogu VIVC je zapsána pod šlechtitelským označením Mi 5-26.

Réva odrůdy *Marlen* je jednodomá dřevitá liána, dorůstající v kultuře až několika metrů. Kmen je pokryt světlou borkou, která se loupe v pásech. Úponky se mohou zachytávat na okolních pevných předmětech a dosahovat středně bujný až bujný růst, révoví je středně silné, jednoleté révoví je rýhované, žlutavě hnědé.

List je středně velký až velký, okrouhlý, nečleněný až třílaločný s mělkými výkroji, slabě puchýřnatý, zvlněný, na rubu jemně plstnatý. Oboupohlavní pětičetné květy v hroznovitých květenstvích jsou žlutozelené, samosprašné. Hrozen je středně velký až velký, křídlatý, cylindrický, bobule středně velká až velká, kulatá, ojíňená, tmavomodrá, dužina je slabě zabarvená antokyaniny.

Révoví vyžívá dobře. Zaměkání bobulí nastává ve druhé polovině až koncem srpna, zrání je středně pozdní až pozdní. Odolnost vůči chorobám je dobrá až zvýšená, plodnost je střední až vysoká, pro zvýšení kvality moštu je třeba redukce výnosů. Vína jsou kvalitní, plná, harmonická, jemně aromatická, temně červená, ovocité vůně a jemně kořenité chuti, mohou připomínat vína odrůdy *André*. Odrůda není příliš náročná na půdy, na polohu je průměrně náročná.

Název odrůdy je přesmyčkou jedné z rodičovských odrůd, konkrétně odrůdy *Merlan*. Zároveň je i ženským jménem, německou obdobou francouzského jména Marlène. Obě jména jsou jednou z mnoha verzí biblického jména Marie, které vychází z hebrejského Miriam.

4.3.3 **Cerason**

Cerason (zkratka **Ce**) je interspecifická moštová odrůda, která byla vyšlechtěna v bývalém Československu, kolektivem šlechtitelů sdružení Resistant Velké Bílovice (později Vinselekt Perná). Šlechtiteli byli Doc. Ing. Miloš Michlovský, CSc., Ing. František Mádl, Prof. Ing. Vilém Kraus, CSc., Lubomír Glos a Vlastimil Peřina. Vlastní křížení bylo provedeno roku 1985, selekce postupně proběhla v Lednici, v Břeclavi a v Perné. Odrůda vznikla křížením odrůd *Merlan* (*Merlot* × *Seibel 13 666*) × *Fratava* (*Frankovka* × *Svatovavřínecké*) pod šlechtitelským označením Mi-5-100. Název odrůdy vychází z latinského slova „*cerasus*“, v překladu „třešeň, višně“.

Do Státní odrůdové knihy České republiky byla odrůda zapsána roku 2008. Zatím se pěstuje pouze na Moravě, v pokusných výsadbách a mezi malopěstiteli.

Réva odrůdy *Cerason* je jednodomá dřevitá liána, dorůstající v kultuře až několika metrů. Kmen je pokryt světlou borkou, která se loupe v pásech. Úponky se mohou zachytávat na okolních pevných předmětech a dosahovat středně bujný až bujný růst, révoví je středně silné, jednoleté révoví má hnědou barvu.

List je středně velký až velký, okrouhlý, třílaločný s mělkými výkroji až celokrajný, slabě puchýřnatý, zvlněný, na rubu jemně plstnatý. Řapíkový výkroj je mírně otevřený až lehce překrytý s průsvitem, s ostrým dnem, vzácněji zcela překrytý, řapík je středně dlouhý, narůžovělý.

Oboupohlavní pětičetné květy v hroznovitých květenstvích jsou žlutozelené, samosprašné. Plodem jsou malé až středně velké, okrouhlé bobule, které jsou ojínné, tmavomodré až modročerné barvy, dužina je řídká, plné chuti, slabě zabarvená antokyaniny. Hrozny jsou středně velké (168 g), kuželovitě-válcovité, husté, s křidélkem.

Révoví dobře vyzrává. Odrůda není příliš náročná na stanoviště a půdy, hodí se pro většinu vedení, vhodné jsou středně dlouhé tažně a podnože SO-4, T 5C, Cr 2 a 125 AA. Výnos je vyšší, 10 t/ha při cukernatosti moštu 18-20 °NM a aciditě 8-10,5 g/l.

Rašení i květ je středně pozdní, bobule zaměkají ve druhé polovině srpna, sklizňové zralosti dosahuje tato pozdní až velmi pozdní odrůda v polovině října až začátkem listopadu.

Při pěstování pod fungicidní ochranou je odrůda středně odolná vůči napadení plísní šedou (*Botrytis cinerea*), odolná vůči napadení plísní révovou (*Plasmopara viticola*) a padlím révovým (*Uncinula necator*).

Vína bývají kvalitní, plná, harmonická, jemně aromatická, temně červená, ovocité vůně a kořenité chuti, někdy svou až travnatou příchutí mohou připomínat vína odrůdy *Cabernet Sauvignon*.

4.4 Stanovení celkových flavanolů

Koncentrace celkových flavanolů byla stanovena pomocí metody založené na reakci s p-dimethylaminocinnamaldehydu (DMACA) (4). Při této metodě na rozdíl od široce používané reakci s vanilinem nedochází k interferenci s anthokyaniny. Navíc poskytuje vyšší citlivost a selektivnost. Do 1,5 ml eppendorfky s 980 µl roztoku činidla (0,1% DMACA a 300 mM HCl v MeOH) bylo přidáno 20 µl vzorku, protřepáno a necháno reagovat 12 minut při laboratorní teplotě. Poté byla změřena absorbance při 640nm proti slepému pokusu připravenému stelným způsobem, kdy vzorek byl nahrazen ředicím

pufrém. Koncentrace celkových flavanolů byla vypočítána z kalibrační křivky za použití catechinu jako standartu (10-200 mg/l). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mg/l ekvivalentů catechinu.

Stanovení redukční síly (Reducing Power; P_R): pro stanovení redukční schopnosti vína byla upravena metoda založená na redukci železitých iontů (ferric reducing/antioxidant power; FRAP). V 1,5 ml eppendorfce bylo smíšeno 50 μ l roztoku železitých iontů (3 mM $FeCl_3$ v 6 mM kyselině citronové) s 20 μ l vzorku a směs byla 30 minut inkubována při 37°C v termobloku. Poté bylo přidáno 930 μ l roztoku 1mM (31,233mg/100ml) TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazin) v 50 mM HCl, protřepáno a po 12 minutách byla změřena absorbance při 620 nm proti slepému vzorku. Redukční síla byla vypočítána z kalibrační křivky za použití kyseliny gallové (GA), nebo askorbové (AA) jako standard. Výsledky jsou vyjádřeny ve formě $mg.l^{-1}$ ekvivalentů kyseliny gallové, nebo mM kyseliny askorbové. (5)

4.4.1 Stanovení antiradikálové aktivity (Antiradical Activity; A_{AR})

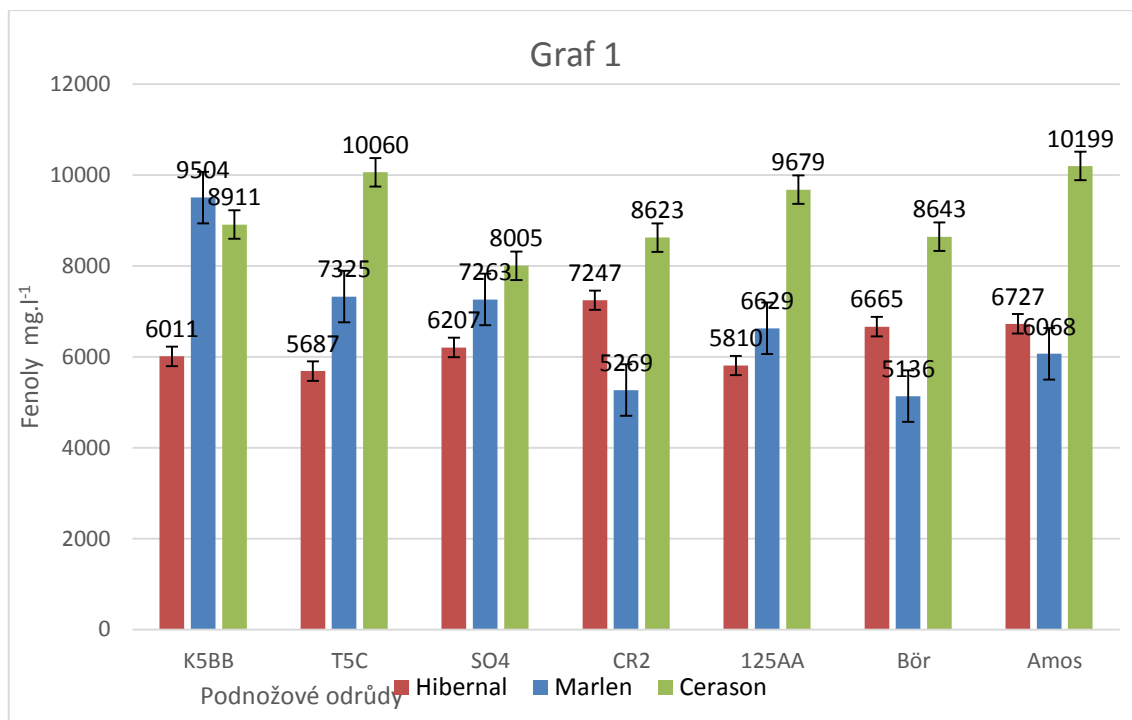
Metoda je založena na deaktivaci komerčně dostupného 2,2-difenyl- β -pikrylhydrazylového radikálu (DPPH) projevujícího se úbytkem absorbance při 515 nm (6). K 980 μ l roztoku DPPH v methanolu (200 μ M; 7,9 mg/100ml) bylo přidáno 20 μ l vzorku, protřepáno a po 30 minutách změřena absorbance při 515nm v porovnání s demineralizovanou vodou. K stanovení antiradikálová aktivita byl použit rozdíl absorbací slepého pokusu (ředicí pufr) a vzorku. Antiradikálová aktivita byla vypočítána z kalibrační křivky, za použití kyseliny gallové(GA) nebo 6-yydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-karboxylové kyseliny (Trolox) jako standartu. Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mg/l antiradikálových ekvivalentů kyseliny gallové, nebo mM Trolox ekvivalentů.

5 PRAKTICKÁ ČÁST

Odrůda	Podnož	mg/l	mg/l	mg/l	mM	mg/l	mg/l	mM
		GA						
		Σ	Σ	Σ	DPPH	DPPH	Redukční	Redukční
		Fenoly	Flavanoly	Anthokyany	Trolox	GA	síla GA	síla AA
		- Folin	(katechiny)					
Hibernal	K5BB	6011	1959,4	35,2	21,731	1002,8	714,7	10,76
Hibernal	T5C	5687	1625,3	48	19,534	901,4	690,8	10,4
Hibernal	SO4	6207	1766,9	41,6	22,896	1056,5	804,7	12,11
Hibernal	CR2	7247	2646,9	35,2	27,576	1272,5	894,7	13,47
Hibernal	125AA	5810	1777,1	36,8	20,589	950,1	718,9	10,82
Hibernal	Bör	6665	2214,3	35,2	25,181	1162	821,6	12,36
Hibernal	Amos	6727	2013,8	41,6	25,972	1198,5	866,6	13,04
Marlen	K5BB	9504	2391	2608	39,991	1845,4	1755,7	26,42
Marlen	T5C	7325	1633,2	1891,2	29,4	1356,7	1387,1	20,88
Marlen	SO4	7263	1905,1	1382,4	28,609	1320,2	1126,9	16,96
Marlen	CR2	5269	1791,8	481,6	23,291	1074,8	959,5	14,44
Marlen	125AA	6629	1987,8	1849,6	28,301	1306	1316,8	19,82
Marlen	Bör	5136	1143,9	1505,6	20,764	958,2	987,6	14,86
Marlen	Amos	6068	1809,9	819,2	25,994	1199,5	1086,1	16,34
Cerason	K5BB	8911	2270,9	2880	40,54	1870,7	1809,2	27,23
Cerason	T5C	10060	2704,7	3467,2	45,659	2107	2003,3	30,15
Cerason	SO4	8005	1807,7	3177,6	36,607	1689,2	1779,6	26,78
Cerason	CR2	8623	1465,6	4299,2	39,419	1819	2041,3	30,72
Cerason	125AA	9679	2486,1	3812,8	43,352	2000,5	1994,9	30,02
Cerason	Bör	8643	2188,2	2851,2	37,727	1740,9	1713,5	25,79
Cerason	Amos	10199	2482,7	3641,6	44,693	2062,4	1990,7	29,96

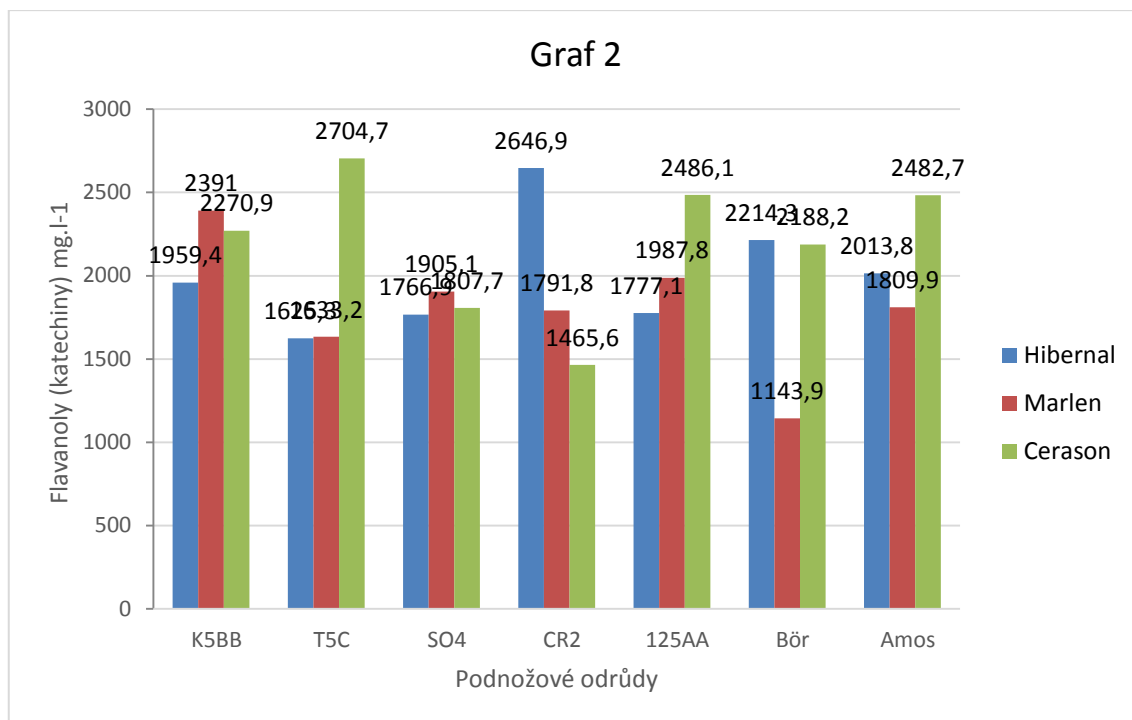
Tab. 5: Základní tabulka se vzorky získanými v říjnu 2010

Hodnoty pro vyhodnocení vlivu podnoží jsem získal v laboratoři Zahradnické fakulty v Lednici. Hrozny byly vypěstovány ve vinicích v areálu pracoviště Mendeleum v Lednici. Vyhodnocení získaných moštů provedl Ing. Michal Kumšta.



Graf 1: Obsah fenolů v závislosti na odrůdě podnože a révy

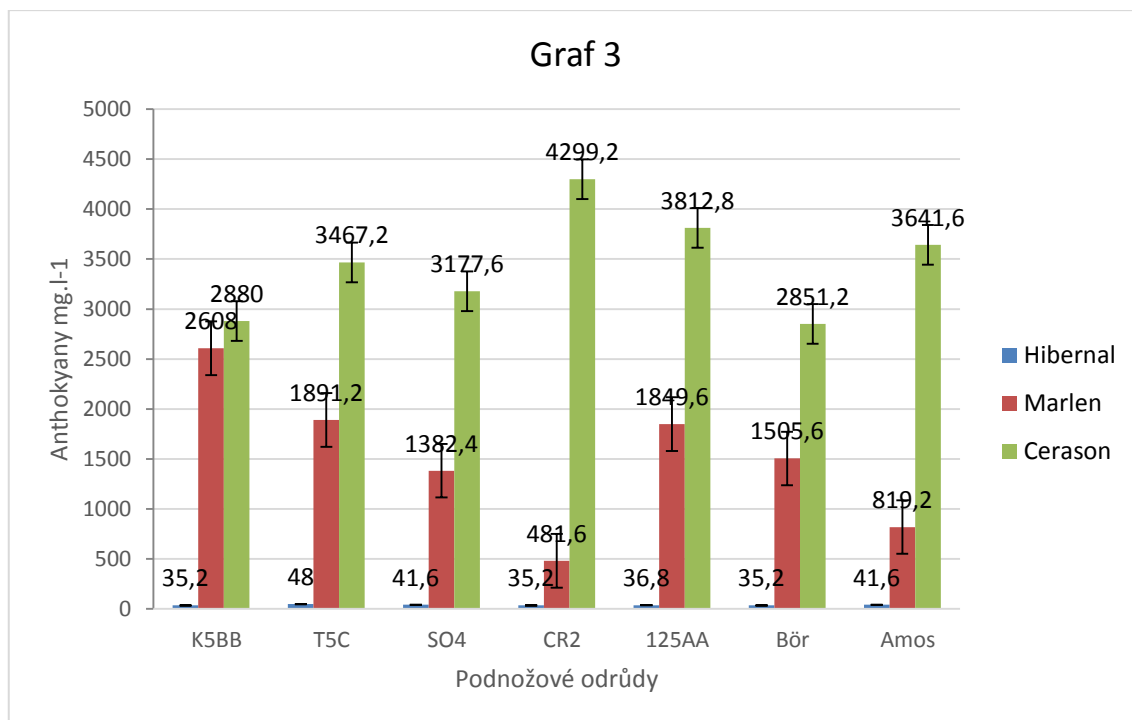
Na tomto grafu je znázorněn rozdíl mezi obsahem fenolů podle vybrané podnože a odrůdy. Odrůda Hibernal dosahuje u všech podnoží podobných hodnot a to s ohledem na směrodatnou odchylku. Významný rozdíl mezi Hibernalem a modrými odrůdami je zejména u podnože K5BB. Na podnoži CR2 dosahuje Hibernal nejlepšího výsledku, který je srovnatelný s obsahem fenolů u modrých odrůd.



Graf 2: Obsah flavanolů (katechinů) podle vybrané podnože a odrůdy révy vinné.

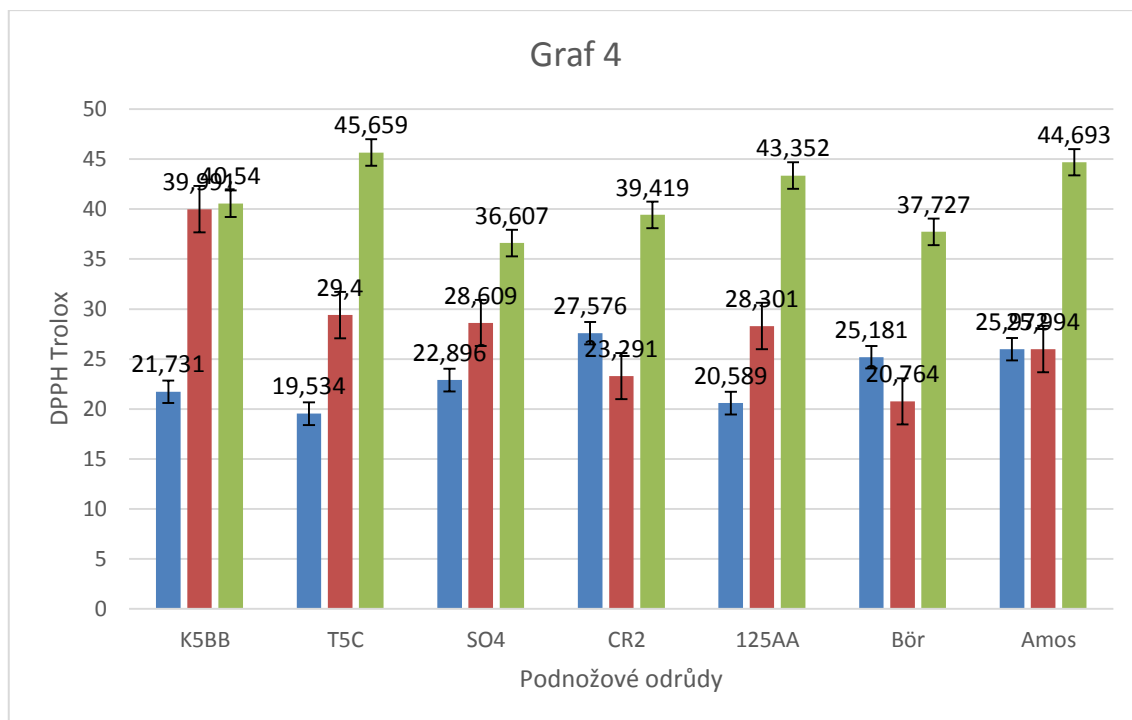
Graf znázorňuje podíl flavanolů (katechinů). Katechiny jsou hlavními zástupci polyfenolických látek. Konkrétně se vyskytují v pecičkách hroznů. Více polyfenolů lze tedy očekávat u odrůd, které mají menší plody, to platí zpravidla pro červená vína.

Z grafu je zřejmé, že výše zmíněné pravidlo neplatí bez výjimky a zejména u odrůdy CR2 dosahuje bílá odrůda Hibernal výrazně vyšších hodnot než obě odrůdy modré.



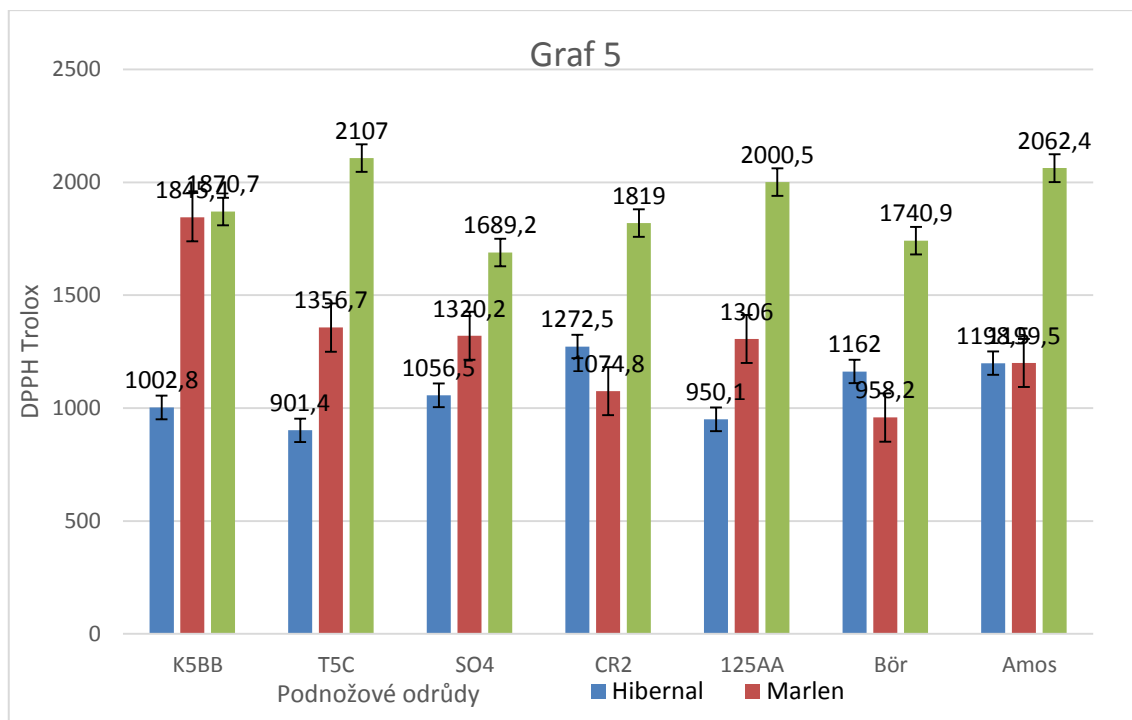
Graf 3: Obsah anthokyanů v závislosti na odrůdě révy a vybrané podnože.

Na grafu je jednoznačně vidět rozdíl mezi odrůdou Hibernal a modrými odrůdami Marlen a Cerason, neboť anthokyany jsou barviva, která dodávají vínu karmínovou, modrofialovou až purpurovou barvu v závislosti na pH prostředí. Významné rozdíly vidíme i modrých odrůd v závislosti na zvolené podnoži. Nejmarkantnější rozdíl je u podnože CR2.



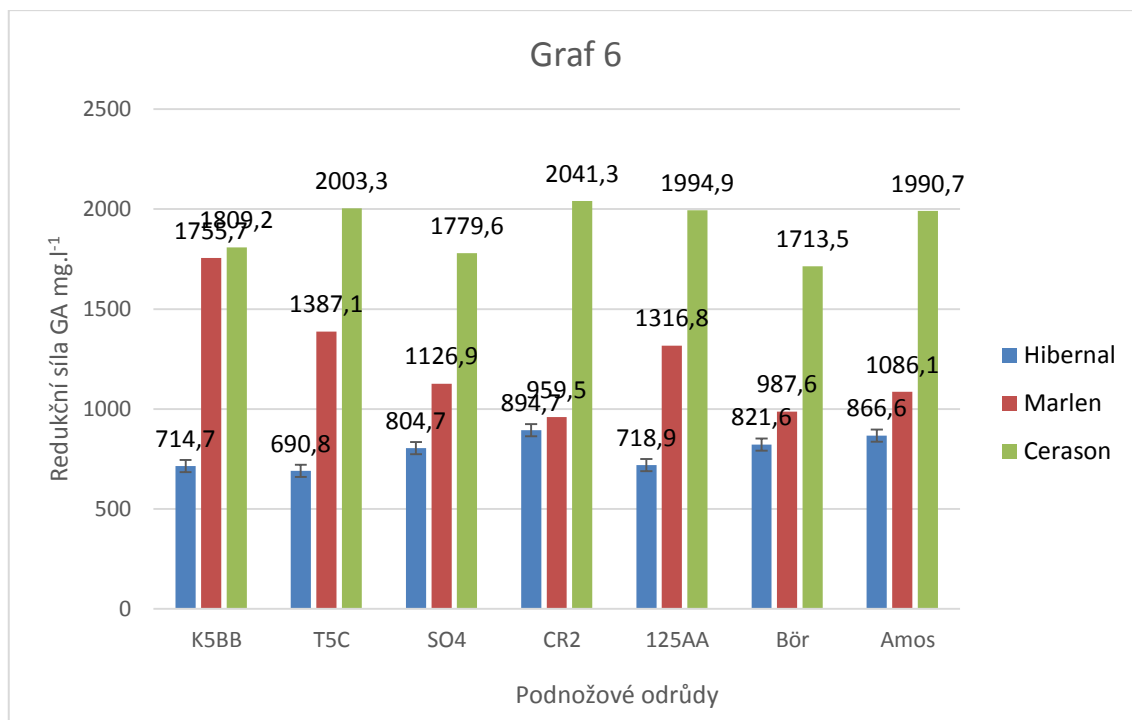
Graf 4: Rozdíl odrůd a podnoží v závislosti antiradikálové aktivity

Na grafu je znázorněn rozdíl antiradikálové aktivity v závislosti na odrůdě révy a zvolené podnoží. Je vidět, že rozdíly na odrůdě Hibernal jsou nevýznamné, případně v rozmezí chybové odchylky. Nadprůměrné hodnoty antiradikálové aktivity vykazuje odrůda Cerason a to zejména na podnožích T5C a Amos.



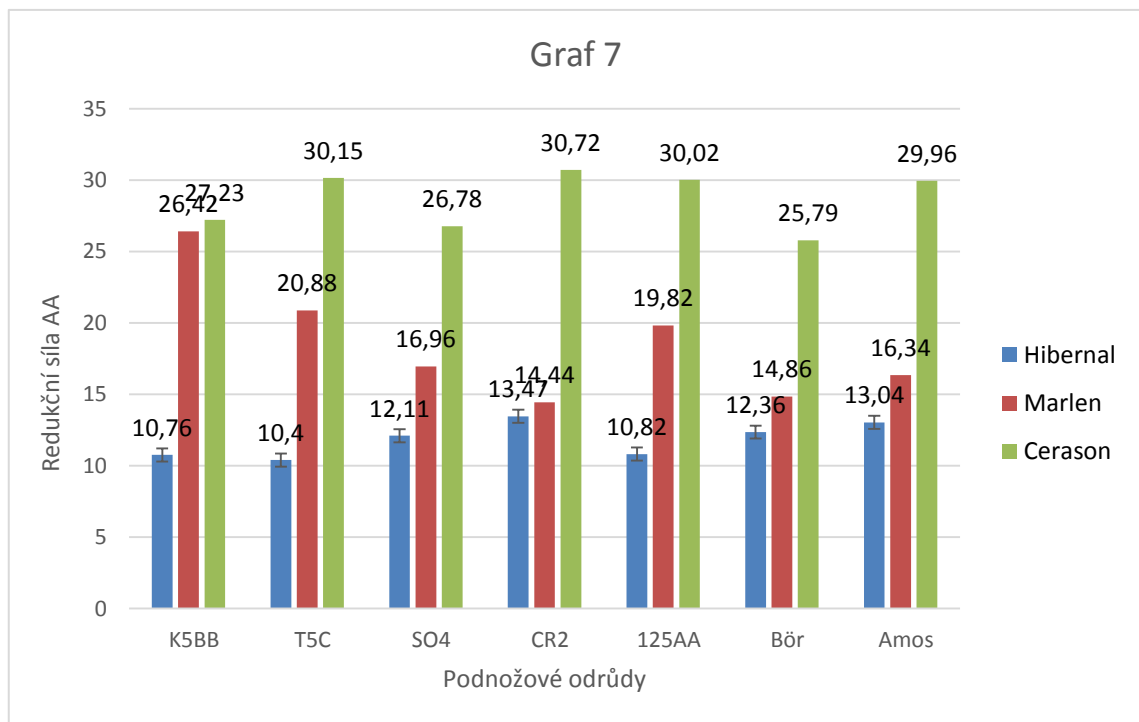
Graf 5: Rozdíl odrůd a podnoží v závislosti antiradikálové aktivity DPPH GA

Na grafu je znázorněn rozdíl antiradikálové aktivity v závislosti na odrůdě révy a zvolené podnoži. Je vidět, že rozdíly na odrůdě Hibernal jsou rovněž jako u předešlého grafu nevýznamné, případně v rozmezí chybové odchylky. Nejlépe vychází výsledky odrůdy Cerason, i když ne tak významně jako u předchozího grafu, avšak i zde jsou vyšší hodnoty antiradikálové aktivity zejména na podnožích T5C a Amos.



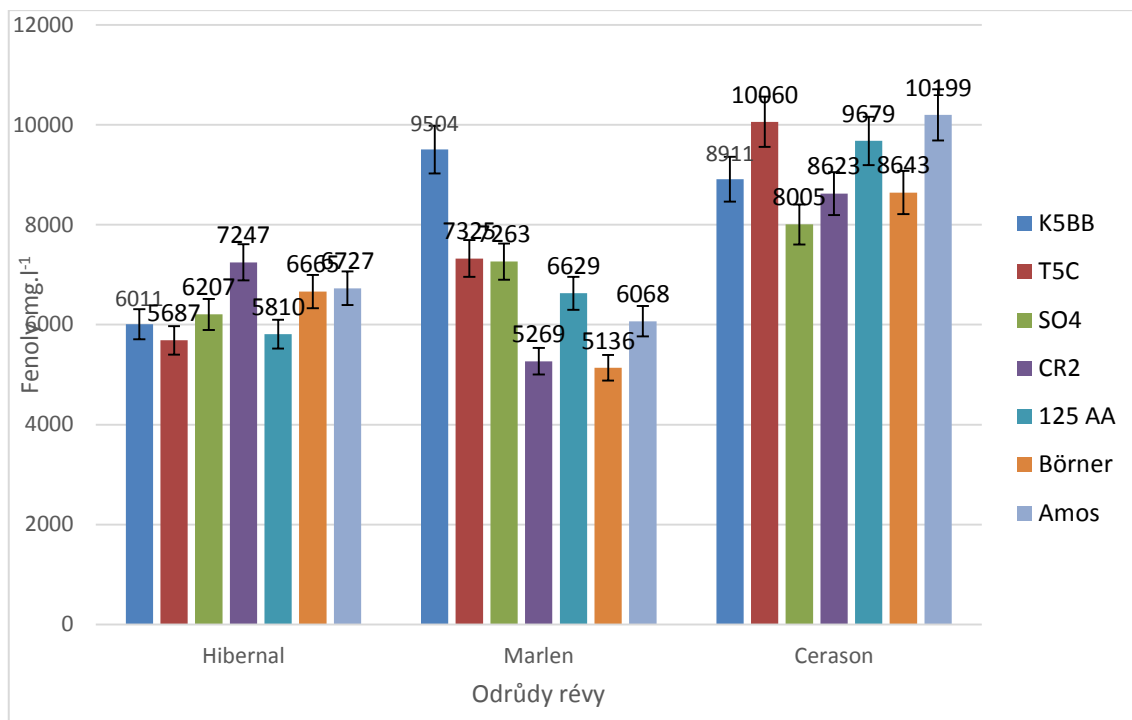
Graf 6: Hodnocení redukční síly GA mg.l⁻¹

Graf znázorňuje rozdíly v redukční síle, která je u Hibernalu v rámci chybové odchylky a vykazuje nižší hodnoty než je tomu u obou modrých odrůd. V případě použití podnoží SO4, CR2, Börner a Amos jsou rozdíly mezi Hibernalem a Marlen v rámci chybové odchylky nebo v nevýznamném rozdílu. Oproti tomu Odrůda Cerason vykazuje výrazně vyšší odchylky oproti Hibernalu.



Graf 7: Hodnocení redukční síly AA

Graf znázorňuje rozdíly v redukční síle, která je u Hibernalu, stejně jako v předchozím případě, v rámci chybové odchylky a vykazuje nižší hodnoty než je tomu u obou modrých odrůd. V případě použití podnoží SO4, CR2, Börner a Amos jsou opět rozdíly mezi Hibernalem a Marlen v rámci chybové odchylky nebo v nevýznamném rozdílu. Oproti tomu Odrůda Cerason vykazuje vždy výrazně vyšší odchylky oproti Hibernalu.



Graf č. 8: Podíl fenolů podle odrůdy révy vinné azvolené podnože

Na grafu jsou znázorněny hodnoty fenolů u tří zvolených odrůd révy vinné na různých podnožích. Z grafu je zřejmé, že odrůda Hibernal dosahuje srovnatelných hodnot u všech podnoží, tedy, že rozdíly jsou v rámci chybové odchylky nebo zcela nevýznamné. Nejlépe pak vychází hodnoty Hibernalu na podnoži CR2. Odrůda Marlen vykazuje nejvyšší hodnoty na podnoži K5BB, u ostatní jsou hodnoty podobné. Nejvyšší podíl fenolických látek zaznamenáváme u odrůdy Cerason a to zejména u podnoží T5C a Amos.

ZÁVĚR

Diplomovou práci jsem především zaměřil na posouzení významu jednotlivých u podnoží révy, které jsou u nás nejvíce rozšířeny, na obsah fenolických látek ve víně. Hlavním cílem bylo prostudovat dostupné zdroje týkající se fenolických látek, ale také jejich vliv na zdraví člověka. Nejdříve ze všeho jsem vyhodnocoval zdroje, které se zabývají vlivem fenolických látek na zdraví, rovněž jsem se zaměřil na vznik a vývoj fenolických látek a v neposlední řadě na jejich vliv na sensorický projev vína. V rámci této práce jsem se zabýval odrůdami podnoží révy vinné, jejich původem, odolností proti chorobám a škůdcům, afinitou a také odolností v různém prostředí.

Pro posouzení vlivu podnoží na obsah jednotlivých fenolických látek ve víně jsem získal analytické podklady v laboratoři Zahradnické fakulty v Lednici od Ing. Michala Kumšty, hrozny pro závěrečnou analýzu byly vypěstovány v areálu pracoviště Mendeleum v Lednici a sbírány v říjnu 2010.

Práci jsem zaměřil především na obsah fenolických látek odrůdy Hibernál pěstované na podnožích Amos, Kober 5BB, SO-4, Cr-2, Teleki 5C a konečně Börner.

Pro lepší srovnání jsem svou práci pak zaměřil na vliv stejných podnoží na obsah fenolických látek i u moštových modrých interspecifických odrůd Marlen a Cerason, abych tak mohl lépe posoudit případný význam konkrétní podnože na obsah fenolických látek ve víně.

Provedeným vyhodnocením se jednoznačně prokázal vliv různých podnoží jak na obsah fenolů, katechinů, anthokyanů tak i antiradikálové aktivity zkoumaných vzorků a také významných rozdílů při hodnocení redukční síly. U jednotlivě posuzovaných odrůd révy vinné pěstovaných na různých typech

podnoží jsou zjištěny hodnotové rozdíly, které jsou navzájem více či méně významné, avšak v případě katechinů je vliv jednotlivých podnoží na obsah v mg.l^{-1} zcela patrné a zjištěné rozdíly natolik zásadní, že nelze pochybovat o vlivu podnoží na množství látky obsažené ve víně.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Amaya, R.: Food carotenoids: analysis, composition and alterations during storage and processing of foods, p. 35-37, 2003
- Beňová, B., Marčaníková, K.: Využití coulometrického detektoru pro analýzu fenolických látek. Chem. Listy 104, s. 27-30, 2010
- Víno a zdraví, historie léčitelství vínem. 2003 – 2004 [cit. 2011-11-25].
Dostupné na: <http://www.vinoazdravi.cz/index.php?soubor=historie>
- Víno a zdraví, látkové složení vína. 2003–2004 [cit. 2011-11-25]. Dostupné na: http://www.vinoazdravi.cz/index.php?soubor=latkove_slozeni_vina
- Využití HPLC při stanovení rostlinných metabolitů, pdf dokument [cit. 2011-10-23]. Dostupné na:
<http://orion.sci.muni.cz/virtuallab/dokumenty/pdf/HPLC.pdf>
- Pláteník, J.: Volné radikály, antioxidanty a stárnutí, Interní Med. 2009; 11(1): s. 30-33. Dostupné na: <http://www.solen.cz/pdfs/int/2009/01/06.pdf>
- Novák, J. A.: Trpká chuť zázračného vína. Magazín Víkend příloha Hospodářských novin, č.7/17. února 2012. Praha, Europrint a.s. Dostupné na: <http://life.ihned.cz/c1-54762800-trpka-chut-zazracneho-vina>
- HORNSEY, I S. The chemistry and biology of winemaking. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2007. 457 s. ISBN 978-0-85404-266-1.
- Hoza, I., Kramářová, D.: Potravinařská biochemie II., 1. vyd. Zlín: UTB, 2006, ISBN 80-7318-395-1

- Johnson, H.: PocketWineGuide. MitchelBeazley, London 1997
- Jones, F.: Víno Každý den sklenku vína pro zdraví, Knižní klub v Praze 1998, 240 s. ISBN 80-7176-756-5
- Jordán, V., Hemzalová, M.: Antioxidanty zázračné zbraně, 1 vyd. Brno, nakladatelství Jota, 2001, 153 s. ISBN 80-7217-156-9
- Kennedy, J. A., Saucier, C., Glories, Y.: Grape and Winephenolics: History and perspective. American Journal of Enology and Viticulture, 57: p. 239-248, 2006.
- Kolouchová, I., Melzoch, K., Šmidrkal, J., Filip, V.: Laboratorní přístroje a postupy. Obsah resveratrolu v zelenině a ovoci. Chem. Listy 99, s. 492-495, 2005.
- Kraus, V., Kuttelvašer, Z., Vurm, B.: Encyklopedie českého a moravského vína, Praha, Melantrich 1997, ISBN 80-7023-250-1
- Barlass, M., Miller, R. M., Douglas, T. J.: Development of methods for screening grapevines for resistance to infection by Downy mildew. II. Resveratrol production. Am. J. Enol. Viticult, p. 65-68, 1987
- Moreno-Mañas, M., Pleixats, R.: An. Quim, Ser. C 81, 1991
- Michlovský, M.: Lexikon chemického složení vína, 1 vyd., Hradec Králové: Garamon s.r.o., 2014, ISBN 978-80-905319-2-5
- Odstrčil, J., Odstrčilová, M.: Chemie potravin, 1. vyd., Brno: Mikadapress s.r.o, 2006, 164 s. ISBN 80-7013-435-6

- Pavloušek, P.: Pěstování révy vinné. Moderní vinohradnictví. Vyd. V Praze: GradaPublishing, a.s., 2011, 336 s. ISBN 978-80-247-3314-2
- POLO, C M. -- MORENO-ARRIBAS, V M. Wine chemistry and biochemistry. 1. vyd. New York: Springer, 2008. 735 s. ISBN 978-0-387-74116-1.
- RIBÉREAU-GAYON, P.: Recherches sur les antocyanes des végétaux. Application au genre vitis. Librairie générale de l'enseignement. Paris, 1959.
- RIBÉREAU-GAYON, P. -- TRADUCTION, A. Handbook of enology : The chemistry of wine stabilization and treatments. Volume 2. Chichester: John Wiley & Sons, 2003. 404 s. ISBN 0-471-97363-7.
- RIBÉREAU-GAYON, P. -- BRANCO, J M. a kol. Handbook of enology : The microbiology of wine and vinifications. Volume 1. 2. vyd. Chichester: John Wiley & Sons, 2005. 497 s. ISBN 0-470-01034-7.
- Robinson, J.: Vines, grapes and Wines, London 1994
- Sies, H.: Oxidative stress: Oxidants and antioxidants, p. 291 – 295, 1997
- Slanina, J., Táborská E.: Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka. Chem. Listy 1998, s.239-245, 2004. Dostupné na: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_05_02.pdf
- Soleas, G. J., Diamandis, E. P., Goldberg, D. M.: Clin. Biochem. 30, 1997
- Šamánek, M., Urbanová, Z.: Víno na zdraví, Agentura Lucie, spol. s r.o., 2010, 169 s., ISBN 978-80-87138-17-5

- Šípek, S. a kol.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci, 1 vyd. Praha 7: GradaPublishing, spol. s.r.o., 2000. 320 s. ISBN 80-7169-704-4
- Škeříková, V., Grynová, L., Jandera, P.: Využití coulometrického detektoru Coularray pro analýzu přírodních antioxidantů. Chem. Listy 98, 343 -348, 2004. Dostupné na : http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_06_05.pdf
- Šmidrkal, J., Filip, V., Melzoch, K., Hanzlíková, I., Buckiová, D., Křísa, B.: Resveratrol. Chem. Listy 95, 602-609, 2001
- Velíšek, J.: Chemie potravin 3., Osis, Tábor 2002, 331 s., ISBN 80-86659-17-8
- Vodrážka, Z.: Biochemie. 2 vyd. Praha 2: Academia, 2002. 191 s. SBN 80-200-0600-1
- Youngson, R. M.: Antioxidanty cesta ke zdraví, 1. vyd. Brno, nakladatelství JOTA, 1995. 144 s. ISBN 80-85617-56-0