

## ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI STABILIZOVANÝCH POLYFENOLOV ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STABILIZED POLYPHENOLS

**Máriássyová Magda**

GetWell, a.s., Kolíňany

### Summary

Stabilized polyphenols, ascorbic acid, colloidal zinc and their combination were evaluated for scavenging of free radical. All tested composition showed higher antioxidant activity than individual tested compounds. Composition with polyphenols and colloidal zinc was the most active as determined by DPPH method. Addition of ascorbic acid increased the total antioxidant activity of composition in proportion to the amount of added ascorbic acid (KA) – from 46.02 % to 50.09 % (125 mg.l<sup>-1</sup> KA), 51.56 (250 mg.l<sup>-1</sup> KA) and 53.39 % (500 mg.l<sup>-1</sup> KA).

**Key words:** polyphenols, ascorbic acid, antioxidant activity

### ÚVOD

Antioxidanty, voľné radikály a mechanizmy ich účinku na zdravie človeka sú celosvetovo jednou z najčastejších tém výskumu tak v medicíne ako i v oblasti potravinárskej chémie a technológie. Sú známe základné mechanizmy oxidačných procesov pri trávení potravín, vzniku a pôsobenia voľných radikálov i antioxidantov v jednoduchých systémoch. Je však nutné objektívne poznanie oxidačných vlastností potravín a ich zložiek pred samotnou produkciou potravín s antioxidačnými účinkami.

Z prírodných antioxidantov sú významné vitamíny E, C, karotenoidy, flavonoidy, fenolické kyseliny a iné. Polyfenolické látky sú antioxidanty, ktoré zabraňujú pôsobeniu voľných radikálov viacerými spôsobmi - priamou elimináciou radikálov, interakciou s enzýmami a chelatickou väzbou kationov kovov.

Chránia makromolekuly, ako sú bielkoviny, lipidy a DNA, pred oxidačnou degradáciou. Príjem potravín s vyšším obsahom polyfenolov znižuje riziko chronických ochorení ako sú srdcové choroby (Auger et al., 2004, Chong et al., 2010, Leifert 2008a,b, Olas et al., 2008) a rakovina (Cilla et al., 2009, 2010, Thomasset et al., 2006, Yi et al., 2001, Singletary et al., 2003), rovnako ako neuro-degeneratívnych chorôb, napr. Parkinsonova a Alzheimerova choroba. Navyše tieto látky majú v závislosti od štruktúry vysokú schopnosť lapať voľné radikály (Goupy et al., 2003, Netzel et al., 2007, Sprager, 2008, Xia et al., 2010).

Hrozno predstavuje jeden zo zdrojov polyfenolov. Obzvlášť bohaté na polyfenoly sú hroznové výlisky, vznikajúce pri spracovaní hrozna na víno. Majú vysoký obsah flavonoidov a polyfenolov s antioxidačnou aktivitou, ako sú rutín, kvercetín, resveratrol, katechíny, epikatechíny a diméry, triméry a tetraméry prokyanidínov (Leifert, 2008a,b, Singletary et al., 2003, Xia et al., 2010, Yi et al., 2001). Tieto látky pôsobia aj ako antimutagénne a antivirálné činidlá. Kvercetín chráni DNA a vyhladáva voľné radikály jeho účinok bol pozitívne dokázaný pri ochrane organizmu pred mozgovou porážkou, vydrží skladovanie a nerozkladá sa ani pri vyšších teplotách. Polyfenoly obsiahnuté v šupkách treba chápať ako celok, pretože každý antioxidant sa v zmenených podmienkach správa inak.

Vzhľadom na zdravotné účinky polyfenolov sa rozvíja výskum v oblasti vývoja nových potravín s ich obsahom. V tomto smere majú veľký potenciál najmä nápoje. Je dôležité skúmať faktory, ktoré ovplyvňujú celkovú antioxidačnú aktivitu a stabilitu nápojov. Medzi tieto faktory patrí koncentrácia samotných antioxidačne pôsobiacich látok, teplota, pH, obsah kyseliny askorbovej, skladovacie podmienky, svetlo a ďalšie. Antioxidanty v určitých

podmienkach môžu pôsobiť prooxidačne (Cao et al., 1997, Gonzales a Nazareno, 2011, Spranger et al., 2008).

Stopový prvok zinok je nutný pre ľudský organizmus. Zúčastňuje sa v procese tvorby enzýmov, hormónov, zvyšuje imunitu a brzdí proces starnutia (Kim et al., 2011, Sreenivasulu et al., 2010). V organizme spolupôsobí s inými biologicky aktívnymi látkami, najmä polyfenolmi (Cilla et al., 2010, Quesandra et al., 2011). Samotný zinok nemá podľa Liewa et al. (2003) antioxidantné vlastnosti. Je to pravdepodobne v dôsledku toho, že zinok tvorí komplex s DPPH radikálom pri pH 10,9-12,14 (Vasilikiotis a Alexaki-Tzivanidou, 1981). Zistilo sa však, že zinok zvyšoval antioxidantné pôsobenie kyseliny galovej (Liew et al., 2003).

Cieľom práce bolo sledovať antioxidantný účinok polyfenolov hrozna v zmesi s kyselinou askorbovou a koloidným zinkom, ich vzájomné pôsobenie na celkovú antioxidantnú aktivitu v jednotlivých zmesiach počas skladovania a vytvorenie optimálnej kompozície ako základu pre funkčné nápoje.

## MATERIÁL A METÓDY

### Materiál

Koncentrát stabilizovaných polyfenolov bol pripravený z výliskov tmavých odrôd hrozna, ako druhotnej suroviny z výroby červeného vína. Úprava zahŕňala alkalické vylúhovanie, neutralizáciu, frakčné delenie, viacnásobné premývanie izopropylalkoholom a rozpustenie vo vodnom roztoku amoniaku, ktorý sa odstránil pri zahusťovaní extraktu na koncentrát s obsahom sušiny najmenej 4 %. Výrobný postup je v patentovom konaní. Koncentrát je schválený ako výživový doplnok.

Merala sa antioxidantná aktivita koncentráta polyfenolov v rôznych kombináciách s kyselinou askorbovou (KA) (prídavok KA 125, 250 a 500 mg.l<sup>-1</sup>) a s koloidným zinkom:

1 ml koncentráta polyfenolov + 49 ml koloidného zinku (1-49Zn)

2 ml koncentráta polyfenolov + 48 ml koloidného zinku (2-48Zn)

3 ml koncentráta polyfenolov + 47 ml koloidného zinku (3-47Zn)

Uvedené kombinácie boli navrhnuté na základe odporúčaných denných dávok jednotlivých testovaných substancií.

Vzorky boli skladované pri (5 ± 2) °C a (25 ± 2) °C. V určených časových intervaloch bol sledovaný obsah polyfenolov a antioxidantná aktivita metódou DPPH.

### Stanovenie antioxidantnej aktivity

Antioxidantnú aktivitu sme stanovovali modifikovanou metódou DPPH podľa Brand-Williamsa et al. (1995) a Sánchez-Moreno et al. (1998). Princípom metódy je redukcia stabilného radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) v metanolickej roztoku v prítomnosti antioxidantov, ktorá sa prejavuje poklesom absorbancie pri 515 nm.

Do kyvety na meranie sa napipetovalo presne 3,9 ml DPPH (0,025 g.l<sup>-1</sup> DPPH v metanole), odčítala sa hodnota absorbancie (A<sub>0</sub>) na UV/VIS spektrofotometri (UV-1601, Shimadzu, Tokyo, Japonsko). Následne sa pridalo 0,1 ml vzorky, roztok v kyvete sa premiešal 2-krát pomocou miešadla s nožičkou a spustilo sa meranie. Zaznamenávala sa závislosť Absorbancia = f (t) pri 515 nm v 5-sekundových intervaloch po dobu 30 minút.

Antioxidantná aktivita je vyjadrená ako % inhibície DPPH radikálu.

$$\% \text{ inhibície} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$$

kde A<sub>0</sub> je absorbancia kontroly v čase t = 0 min (roztok DPPH<sup>•</sup>),

A<sub>t</sub> je absorbancia v prítomnosti antioxidantu v čase t min.

alebo ako hodnota EC<sub>50</sub>, ktorá predstavuje množstvo v mg.l<sup>-1</sup> (v prípade kyseliny askorbovej) a riedenie (r) (v prípade koncentráty polyfenolov a koloidného zinku) potrebné na 50 %-nú inhibíciu DPPH. Antioxidačná aktivita vzoriek s koloidným zinkom sa merala priamo, vzorky koncentráty s kyselinou askorbovou boli pred meraním riedené 25, resp. 50-krát.

### Stanovenie polyfenolov

Folin-Ciocalteu činidlo reaguje s polyfenolmi za vzniku modrého komplexu. Intenzita modrého sfarbenia je úmerná obsahu polyfenolov (Singleton et al., 1999).

Vzorka sa zriedila 25-krát. 0,5 ml takto zriedenej vzorky sa odpipetovalo do 50 ml odmernej banky, pridalo sa 0,5 ml Folin-Ciocalteu činidla, po premiešaní 5 ml 20% roztoku Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a doplnilo destilovanou vodou po značku. Po dôkladnom premiešaní sa po 30 minútach zmerala absorbancia sfarbených roztokov na spektrofotometri (UV-1601, Shimadzu, Tokio, Japonsko) pri 700 nm oproti slepému pokusu (namiesto vzorky sa pipetovalo 0,5 ml destilovanej vody). Z kalibračnej krivky závislosti absorbancie od koncentrácie polyfenolov sa odčítal obsah polyfenolových zlúčenín v mg.l<sup>-1</sup> vyjadrených ako kyselina galová a získaný výsledok sa násobil riedením. Kalibračná krivka sa získala meraním štandardných roztokov s obsahom 5 až 50 mg kyseliny galovej v 100 ml.

Všetky merania sa uskutočnili trikrát, štatistické hodnotenie údajov sa robilo pomocou programu StatgraphicS 5. Výsledky meraní sú vyjadrené ako priemer a štatistická odchýlka.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

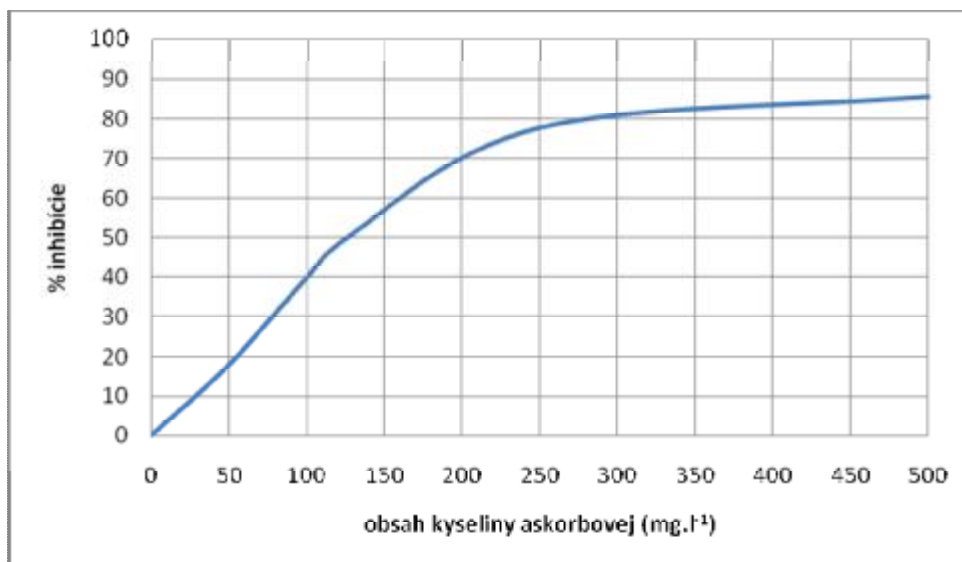
Koncentrát polyfenolov mal nasledovné zloženie - obsah polyfenolov 6835 mg.l<sup>-1</sup>, obsah pektínu 3,82 %, pH 6,5, sušina 4,2 %. Roztok koloidného zinku obsahoval 20 mg.l<sup>-1</sup> zinku a 200 mg.l<sup>-1</sup> kyseliny askorbovej. V tab. 1 sú zhrnuté výsledky stanovenia antioxidačnej aktivity jednotlivých komponentov a pripravených kompozícií.

**Tab. 1 Antioxidačná účinnosť (% inhibície) základných roztokov**

	antioxidačná účinnosť (% inhibície)	
	riedenie 25	riedenie 50
Koloidný zinok	26,89 ± 1,34	15,05 ± 0,89
Koncentrát polyfenolov	46,02 ± 2,09	27,50 ± 1,22
Koncentrát + 125 mg.l <sup>-1</sup> KA	50,09 ± 1,49	37,76 ± 1,30
Koncentrát + 250 mg.l <sup>-1</sup> KA	51,56 ± 1,83	39,19 ± 1,36
Koncentrát + 500 mg.l <sup>-1</sup> KA	53,39 ± 1,94	40,82 ± 1,85
Kyselina askorbová 125 mg.l <sup>-1</sup>	2,29 ± 0,54	
Kyselina askorbová 250 mg.l <sup>-1</sup>	5,23 ± 0,77	
Kyselina askorbová 500 mg.l <sup>-1</sup>	9,09 ± 0,83	
	neriedené	
1 ml koncentráty + 49 ml koloidného Zn	76,59 ± 2,05	
2 ml koncentráty + 48 ml koloidného Zn	70,63 ± 2,12	
3 ml koncentráty + 47 ml koloidného Zn	63,79 ± 1,95	
Koloidný zinok	83,23 ± 1,71	
Kyselina askorbová 125 mg.l <sup>-1</sup> vo vode	49,65 ± 0,62	
Kyselina askorbová 250 mg.l <sup>-1</sup> vo vode	77,81 ± 0,38	
Kyselina askorbová 500 mg.l <sup>-1</sup> vo vode	85,74 ± 0,45	

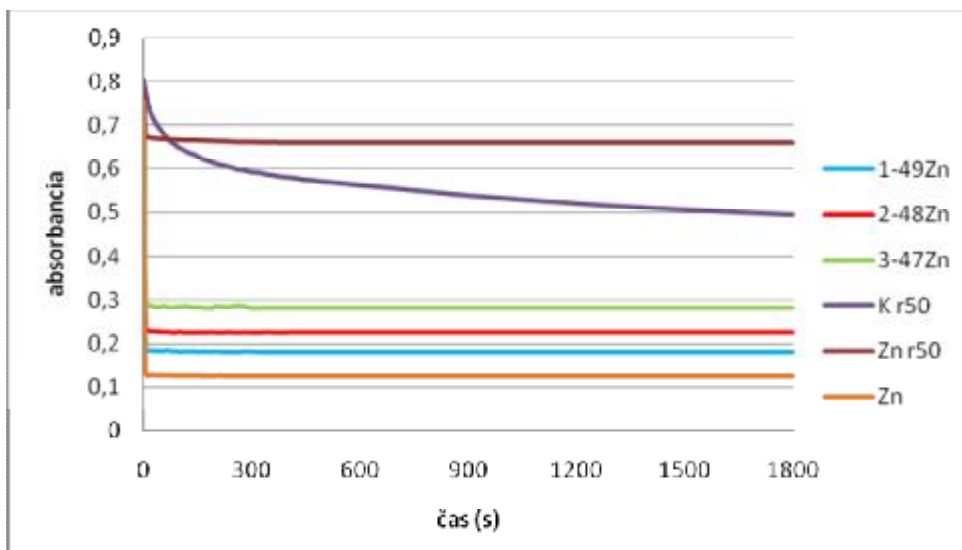
KA - kyselina askorbová, Zn - zinok

Hodnoty EC<sub>50</sub> – koloidný zinok - riedenie 2,5, koncentrát polyfenolov - riedenie 20, kyselina askorbová (125 ± 1,46) mg.l<sup>-1</sup> (obr. 1).



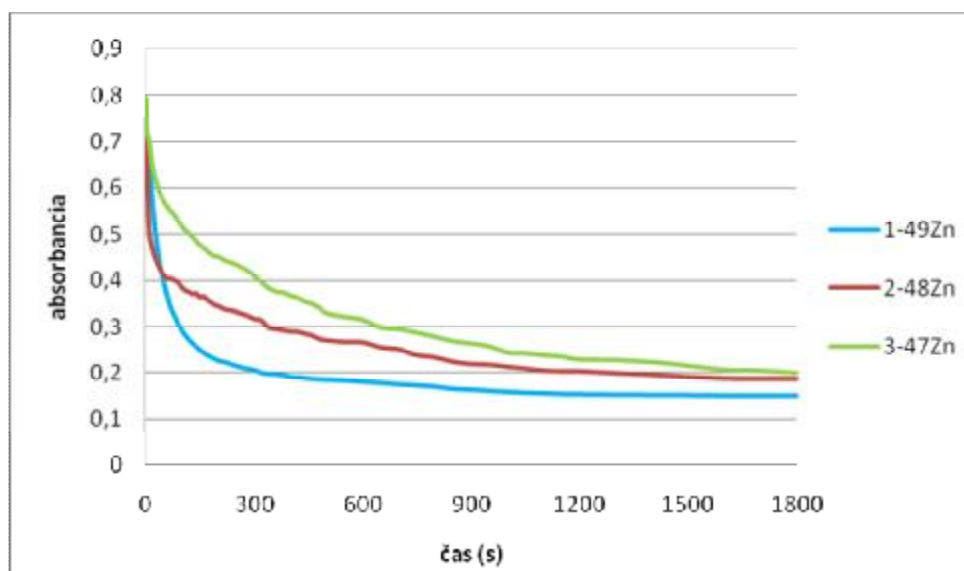
Obr. 1 Antioxidačná aktivita kyseliny askorbovej vo vode

Koloidný zinok s kyselinou askorbovou pôsobí synergicky. Zatiaľ čo antioxidačná aktivita vodného roztoku s obsahom kyseliny askorbovej 250 mg.l<sup>-1</sup> bola 77,81 ± 0,96 %, roztok koloidného zinku s obsahom kyseliny askorbovej 200 mg.l<sup>-1</sup> dosiahol antioxidačnú aktivitu 83,23 ± 1,71 %. Prídavkom koncentráту polyfenolov do roztoku koloidného zinku sa celková antioxidačná aktivita kompozície znížila (tab. 1). Zníženie bolo úmerné pridanému množstvu polyfenolov. Je to pravdepodobne v dôsledku vzniku chelatickej väzby polyfenol-zinok. Týmto sa zablokovali niektoré aktívne – OH skupiny, prítomnosť ktorých je základnou podmienkou, aby polyfenoly pôsobili ako zhášače radikálov (Cao et al., 1997, Spranger et al., 2008).



Obr. 2 Priebeh eliminácie DPPH radikálu na začiatku skladovania koncentráту polyfenolov s koloidným zinkom pri 5°C

1-49Zn, 2-48Zn, 3-47Zn - pomer koncentrátu polyfenolov a koloidného zinku v ml, K r50 - koncentrát polyfenolov riedený 50-krát, Zn r50 - koloidný zinok riedený 50-krát, Zn - neriedený koloidný zinok



**Obr. 3** Priebek eliminácie DPPH radikálu po 56 dňoch skladovania koncentrátu polyfenolov s koloidným zinkom pri 5°C

1-49Zn, 2-48Zn, 3-47Zn - pomer koncentrátu polyfenolov a koloidného zinku v ml

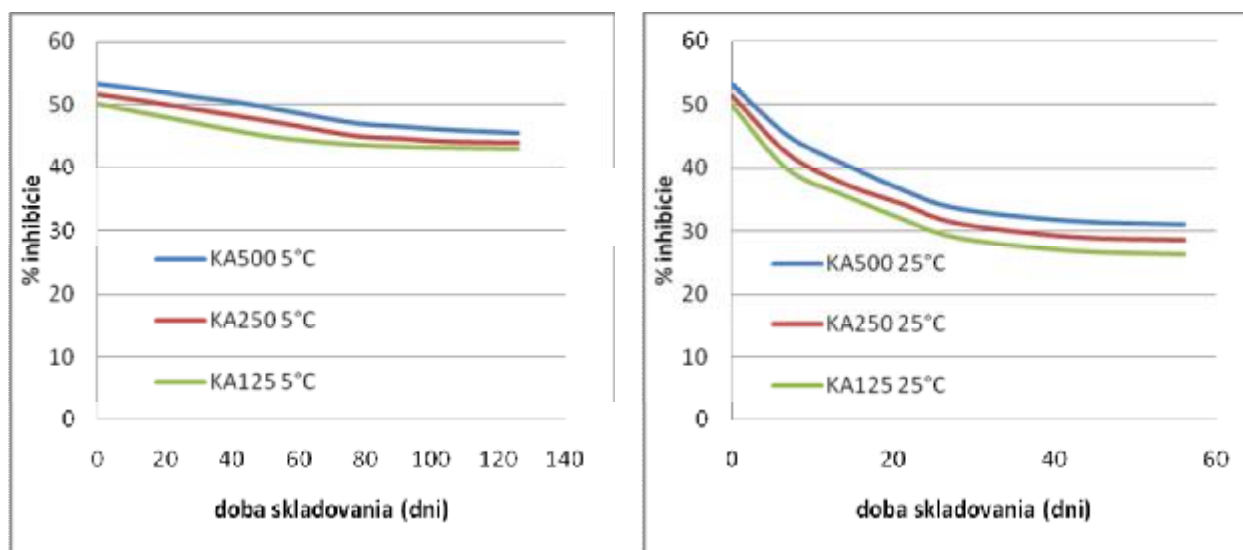
Súčasne s tým sa pravdepodobne znížila koncentrácia voľného zinku v roztoku a zoslabil sa synergický účinok s KA. Viaceré výskumy však dokázali, že polyfenolické látky zvyšujú biodostupnosť zinku (Cilla et al., 2010, Kim et al., 2011, Quesandra et al., 2011, Sreenivasulu et al., 2010).

Zmeny celkovej antioxidačnej aktivity (vyjadrené ako % inhibície DPPH radikálu) kompozícií polyfenolov s koloidným zinkom po 56 dňoch skladovania pri 5 °C v tme boli nepatrné. Pri prídavku 1 ml koncentrátu boli rozdiely v rámci chyby merania (pokles z hodnoty  $76,59 \pm 2,05$  % na  $76,42 \pm 1,98$  %), pri prídavku 2 ml koncentrátu poklesla hodnota antioxidačnej aktivity zo  $70,63 \pm 2,12$  % na  $67,05 \pm 1,52$  %. Obdobný pokles sme zaznamenali v kompozícii s prídavkom polyfenolov 3 ml – z pôvodných  $63,79 \pm 1,95$  % na  $59,58 \pm 1,64$  %.

Z obr. 2 a 3 však vidieť výraznú zmenu v kinetike eliminácie DPPH radikálu. V čerstvých vzorkách dochádza k pohlcovaniu radikálov kyselinou askorbovou, ktorá patrí medzi rýchle lapače radikálov (Brand-Williams et al., 1995, Goupy et al., 2003, Sánchez-Moreno et al., 1998)). Prejavuje sa to okamžitým poklesom absorbancie a ustálením reakčnej rovnováhy v priebehu 5 až 10 sekúnd. Po 56 dňoch skladovania DPPH radikál pohlcujú najmä polyfenoly, ktoré patria medzi pomalé lapače radikálov. Prejavuje sa to pozvoľným poklesom absorbancie a ustálením reakčnej rovnováhy až po 30 minútach.

Antioxidačná aktivita kompozícií koncentrátu polyfenolov s prídavkom kyseliny askorbovej bola meraná v zriedených roztokoch, nakoľko intenzívna hnedá farba koncentrátu rušila meranie v neriedených vzorkách. Porovnaním hodnôt inhibície DPPH radikálu 25-krát riedeného koncentrátu polyfenolov ( $46,02 \pm 2,09$  %) s rovnako riedenými vzorkami s prídavkom kyseliny askorbovej vidíme, že prídavkom kyseliny askorbovej (KA) sa celková antioxidačná aktivita kompozícií zvýšila (tab. 1). Zvýšenie je úmerné množstvu pridanej KA. Eliminácia DPPH radikálu prebiehala vo všetkých kompozíciách s KA pomaly. Reakčná

rovnováha sa ustálila až po 30 minútach merania vo všetkých vzorkách počas celej doby skladovania pri 5 °C aj 25 °C, podobne ako u vzoriek s koloidným zinkom na konci skladovania. Znamená to, že sa prejavilo predovšetkým antioxidantné pôsobenie polyfenolických látok. Po 120 dňoch skladovania (obr. 4) pri 5 °C poklesla antioxidantná aktivita vzoriek s prídavkom KA 500 mg.l<sup>-1</sup> z 53,39 ± 1,94 % na 45,55 ± 1,08 %, s prídavkom KA 250 mg.l<sup>-1</sup> z pôvodných 51,56 ± 1,83 % na 44,12 ± 1,11 % a s prídavkom KA 125 mg.l<sup>-1</sup> z hodnoty 50,09 ± 1,49 % na 43,01 ± 0,97 %. Prídavok kyseliny askorbovej neovplyvnil počas skladovania pri 5 °C výrazne antioxidantnú aktivitu sledovaných kompozícií. Výraznejšie sa znížila celková antioxidantná aktivita kompozícií s KA počas skladovania pri 25 °C. Pôvodné hodnoty antioxidantnej aktivity uvedené vyššie sa po 56 dňoch skladovania znížili na hodnoty 31,21 ± 1,16 % (KA 500 mg.l<sup>-1</sup>), 28,57 ± 0,87 % (KA 250 mg.l<sup>-1</sup>) a 26,34 ± 1,24 % (KA 125 mg.l<sup>-1</sup>).



**Obr. 4** Zmena antioxidantnej aktivity počas skladovania koncentrátov polyfenolov s obsahom kyseliny askorbovej pri 5°C a 25°C (25-násobné riedenie vzoriek) KA 500, KA250, KA125 – obsah kyseliny askorbovej v mg.l<sup>-1</sup>

Počas skladovania vzoriek poklesol aj obsah polyfenolov z pôvodnej hodnoty 6835 mg.l<sup>-1</sup> na hodnoty uvedené v tab. 2.

**Tab. 2** Obsah polyfenolov (mg.l<sup>-1</sup>) v kompozíciách s kyselinou askorbovou na konci skladovania

	teplota skladovania	
	5 °C (120 dní)	25 °C (56 dní)
Koncentrát	6318 ± 19	5783 ± 16
Koncentrát + 125 mg.l <sup>-1</sup> KA	6348 ± 25	5825 ± 19
Koncentrát + 250 mg.l <sup>-1</sup> KA	6393 ± 31	5894 ± 22
Koncentrát + 500 mg.l <sup>-1</sup> KA	6492 ± 28	5919 ± 27

Obsah polyfenolov vo vzorkách s prídavkom KA skladovaných pri 5 °C poklesol v priemere o 6 %, vo vzorkách skladovaných pri 25 °C bol pokles približne 14 %. Prídavok a množstvo pridanej kyseliny výraznou mierou neovplyvnilo stabilitu polyfenolov počas skladovania pri oboch teplotách.

Zvýšená teplota skladovania sa prejavila poklesom celkového obsahu polyfenolov, čo malo za následok aj pokles celkovej antioxidačnej aktivity (obr. 4). Hroznové extrakty predstavujú potenciálny hodnotný zdroj polyfenolických antioxidantov, ktoré môžu mať technologické využitie ako potravinové aditíva a taktiež ako možné výživové doplnky, ktoré by znižovali riziko srdcovo-cievnych ochorení, istých druhov rakoviny.

## ZÁVER

Sledované kompozície polyfenolov s prídavkom kyseliny askorbovej a koloidného zinku vzhľadom na svoje antioxidačné vlastnosti môžu byť základom pre funkčné nápoje. Kompozície polyfenolov s kyselinou askorbovou môžu redukovať oxidačný stres in vivo (Netzel et al., 2007). Vyššiu antioxidačnú aktivitu mali prípravky na báze koloidného zinku aj napriek nižšiemu obsahu kyseliny askorbovej a polyfenolov. Ich nevýhodou však je vznik zrazeniny v dôsledku chelatickej väzby polyfenol – zinok. Odstránenie tohto nedostatku bude predmetom ďalšieho výskumu.

„Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. VMSP-II-0011-09“

## LITERATÚRA

1. AUGER, C. et al. 2004. Phenolics from commercialized grape extracts prevent early atherosclerotic lesions in hamsters by mechanisms other than antioxidant effect. In *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 52, 2004, p. 5297–5302.
2. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activities. In *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, vol. 28, 1995, p. 25-30.
3. CAO, G., SOFIC, E., PRIOR, R.L. 1997. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. In *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 22, 1997, p. 749-760.
4. CILLA, A. et al. 2009. Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to in vitro gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. In *Food Chemistry*, vol. 114, 2009, p. 813–820.
5. CILLA, A. et al. 2010. Polyphenolic profile and antiproliferative activity of bioaccessible fractions of zinc-fortified fruit beverages in human colon cancer cell lines. In *Nutritional Hospitalaria*, vol. 25, 2010, no. 4, p. 561-571.
6. CHONG, M. F. F., MACDONALD, R., LOVEGROVE, J. A. 2010. Fruit polyphenols and CVD risk: a review of human intervention studies. In *British Journal of Nutrition*, vol. 104, 2010, p. S28–S39.
7. GONZALES, E., NAZARENO M.A. 2011. Antiradical action of flavonoid–ascorbate mixtures. In *LWT-Food Science and Technology*, vol. 44, 2011, no. 2, p. 558-564.
8. GOUPY, P. et al. 2003. Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the stable DPPH radical. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, 2003, p. 615-622.
9. LEIFERT, W.R., ABEYWARDENA, M.Y. 2008a. Cardioprotective actions of grape polyphenols In *Nutritional Research*, vol. 28, 2008a, p.729-737.
10. LEIFERT, W.R., ABEYWARDENA, M.Y. 2008b. Grape seed and red polyphenol extracts inhibit cellular cholesterol uptake, cell proliferation and 5-lipoxygenase activity. In *Nutritional Research*, vol. 28, 2008b, no. 12, p. 842-850.

11. LIEW, P.C., LEONG, L.P., BETENS, R. 2003. Effect of salt (zinc chloride) on antioxidant activity of gallic acid. [cit. 2011-07-22]. Dostupné na internete: [http://www3.ntu.edu.sg/eee/urop/Congress2003/Proceedings/abstract/NUS\\_FoS/Chemistry/Liew%20Pei%20Chin.pdf](http://www3.ntu.edu.sg/eee/urop/Congress2003/Proceedings/abstract/NUS_FoS/Chemistry/Liew%20Pei%20Chin.pdf)
12. NETZEL, M. et al. 2007. Biological antioxidant activity of a beverage containing polyphenols and ascorbic acid. In *Ernährung/Nutrition*, vol. 31, 2007, no. 3, p. 102-109.
13. KIM, E-Y., PAI, K-T., OKHEE HAN, O. 2011. Effect of Bioactive Dietary Polyphenols on Zinc Transport across the Intestinal Caco-2 Cell Monolayers. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, 2011, no. 8, p. 3606–3612.
14. OLAS, B. et al. 2008. Comparative antiplatelet and antioxidant properties of polyphenol-rich extracts from: berries of *Aronia melanocarpa*, seeds of grape and bark of *Yucca schidigera* in vitro. *Platelets*, vol. 19, 2008, no. 1, p. 70–77.
15. QUESANDRA, I.M., BUSTOS, M., BLAY, M. et al. 2011. Dietary catechins and procyanidins modulate zinc homeostasis in human HepG2 cells. 2011. In *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 22, 2011, no. 2, p. 153-163.
16. SÁNCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J. SAURA-CALIXTO, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, In *Journal of Science and Food Agriculture*, vol. 76, 1998, no. 2, p. 270-276.
17. SINGLETARY, K.W. et al. 2003. Inhibition of rat mammary tumorigenesis by concord grape juice constituents. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, 2003, p. 7280–7286.
18. SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R. M. 1999. Analysis of total polyphenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology*, vol. 299, 1999, p. 152-178.
19. SPRANGER, I. et al. 2008. Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. In *Food Chemistry*, vol. 108, 2008, p. 519–532.
20. SREENIVASULU, K., RAGHU, P., NAIR, K.M. 2010. Polyphenol-Rich Beverages Enhance Zinc Uptake and Metallothionein Expression in Caco-2 Cells. In *Journal of Food Science*, vol. 75, 2010, no. 4, p. H123–H128.
21. THOMASSET, S. C. et al. 2006. Dietary polyphenolic phytochemicals—Promising cancer chemopreventive agents in humans? A review of their clinical properties. In *International Journal of Cancer*, vol. 120, 2006, p. 451-458.
22. VASILIKIOTIS, G.S., ALEXAKI-TZIVANIDOU, H. 1981. A spectrophotometric study of the color reaction of zinc with 2,2'-dipyridyl-2-pyridylhydrazone (DPPH). In *Microchemical Journal*, vol. 26, 1981, no. 4, p. 519-526.
23. XIA, E.Q., DENG, G.F., GOU, Y. J., LI, B.H. 2010. Biological activities of polyphenols from grape. In *International Journal of Molecular Science*, vol. 11, 2010, p. 622-646.
24. YI, W.G., FISCHER, J., AKOH, C.C. 2005. Study of anticancer activities of muscadine grape phenolics in vitro. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 8804–8812.

**Kontaktná adresa:**

Ing. Magda Máriássyová, CSc., GetWell, a.s., Hlavná 561, 951 78 Kolíňany, e-mail: [mariassy.magda@gmail.com](mailto:mariassy.magda@gmail.com)