

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE

FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV

Katedra agrochémie a výživy rastlín

**Regulácia antioxidačnej a antiradikálovej
aktivity bobuľovín ich predzberovým ošetrením**

Autoreferát dizertačnej práce
na získanie vedecko-akademickej hodnosti philosophiae doctor
vo vednom odbore: 6.1.12
Výživa

Ing. Radka Kochanová

Nitra 2009

Dizertačná práca bola vypracovaná v dennej forme doktorandského štúdia na Katedre agrochémie a výživy rastlín, Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre.

Doktorand: **Ing. Radka Kochanová**
Katedra agrochémie a výživy rastlín
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Školiteľ: **prof. Ing. Jozef Hudec, CSc.**
Katedra agrochémie a výživy rastlín
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Oponenti: **doc. RNDr. Alžbeta Hegedúsová, PhD.**
Katedra chémie
Fakulta prírodných vied
Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre

prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

doc. Ing. Stanislav Šilhár, CSc.
Biocentrum Modra
Výskumný ústav potravinársky v Bratislave

Autoreferát bol odoslaný dňa

Stanovisko k dizertácii vypracovala Katedra agrochémie a výživy rastlín, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.

Obhajoba doktorandskej dizertácie sa koná dňa o h pred komisiou pre obhajobu dizertačnej práce vedného odboru 6.1.12 Výživa, na Fakulte agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre.

Miesto konania:
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

Miestnosť:
S dizertačnou prácou sa možno oboznámiť na dekanáte Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov.

Predseda komisie pre obhajoby vo vednom odbore 6.1.12

prof. Ing. Daniel Bíro, PhD.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

ABSTRAKT

Predmetom nášho výskumu boli drobné bobuľoviny (arónia čiernoplodá, čierne ríbezle a modré odrody viniča hroznorodého). Cieľom tejto práce bolo zvýšenie kvality bobúľ z hľadiska ich vyššej antioxidačnej kapacity s využitím regulátorov rastu. Použili sme inhibítor ornitín-dekarboxylázy (O-fosfoetanolamín, KF), karboxymetyl chitín-glukán (CCHG), Pentakeep-G, chitosan a TEMPO. V extraktoch sme stanovili antioxidačnú a antiradikálnu aktivitu, obsah celkových fenolov a ich profil (antokyaníny, flavonoly, hydroxybenzoové kyseliny, hydroxyškoricové kyseliny, proantokyanidíny a flavonoidy), obsah vybraných fenolických zložiek, obsah niektorých voľných polyamínov, vplyv extraktov na inhibíciu oxidácie LDL a zmenu intenzity farby červených vín Svätovavrinské (SV), André (AD) a Alibernet (AL).

Najvyššiu antioxidačnú aktivitu (IP) extraktov kontrolných bobúľ zo všetkých plodín, meranú ako inhibíciu peroxidácie mali bobule čiernych ríbezlí. Po dvojnásobnej aplikácii KF (KF_{1-2x}) sa zvýšila IP v bobuliach arónie čiernoplodej 1,80-násobne (2007). Aplikácia regulátorov rastu výrazne zvýšila IP bobúľ hrozna odrôd SV a AD. Regulátory rastu prakticky nezmenili antiradikálnu aktivitu (ARA) bobúľ arónie čiernoplodej a čiernych ríbezlí. Vyššia aplikovaná dávka CCHG zvýšila obsah voľného kvercetínu v bobuliach arónie o 108,3 % v porovnaní s kontrolou.

Najvyšší obsah celkových fenolov v kontrolných bobuliach mali bobule AL 232,15 mg.100 g⁻¹ čerstvej hmoty (2007) a 264,7 mg.100 g⁻¹ čerstvej hmoty (2008). Pomer obsahu antokyanínov/flavonolov najvýraznejšie vzrástol v prípade bobúľ AL na hodnotu 17,23 po ošetrení s TEMPOM. Inhibítor ornitín-dekarboxylázy preferuje a stimuluje tvorbu antokyanínov, karboxymetyl chitín-glukán tvorbu flavonolov. Obsah polyamínov sa znížil po aplikácii všetkých regulátorov, najviac v bobuliach SV (1,58-17,16 násobne). Po aplikácii KF₁ a CCHG₂ mali vína vyššiu kvalitu než kontrolné vína. Aplikácia regulátora TEMPO najviac redukovala intenzitu farby vína AL, napriek tomu toto víno degustátory vyhodnotili ako najkvalitnejšie. Celkovo, všetky extrakty preukázali slabý inhibičný účinok na oxidáciu LDL.

Kľúčové slová: bobuľoviny, obsah celkových fenolov a ich profil, inhibítor ornitín-dekarboxylázy (KF), karboxymetyl chitín-glukán (CCHG), polyamíny, intenzita farby vín, inhibícia LDL oxidácie

ABSTRACT

The subject of our research were small berries (black chokeberry, black currant and blue varieties of wine grape). The aim of this study was the increase of berries quality on the part their higher antioxidant capacity with using of growth regulators. We used an ornithine decarboxylase inhibitor (O-phosphoethanolamine, KF), carboxymethyl chitin-glucan (CCHG), Pentakeep-G, chitosan and TEMPO. We determined the antioxidant and antiradical activity in extracts, the total content of phenolics and their profile (anthocyanins, flavonols, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, proanthocyanidins and flavonoids), the content of chosen phenolic compounds, the content of some free polyamines, the influence of extracts on inhibition of LDL oxidation and on the color intensity change of red wines Saint Laurent (SV), André (AD) and Alibernet (AL).

The highest antioxidant activity (IP) of control berries extracts of all crops measured as inhibition of peroxidation had black currant berries. After the double application of KF (KF_{1-2x}) IP in black chokeberry berries was increased by 1.80-fold (2007). Application of growth regulators markedly increased IP of SV and AD berries. The growth regulators practically did not change antiradical activity (ARA) of black

chokeberry and black currant berries. The higher applied dose of CCHG increased the content of free quercetin in aronia berries by 108.3% compared to the control.

The highest total content of phenolics in control berries had AL berries 232.15 mg100 g⁻¹ fresh weight (2007) and 264.7 mg100 g⁻¹ fresh weight (2008). The ratio between anthocyanins and flavonols was the most markedly increased in the case of AL berries on value 17.23 after treatment with TEMPO. An ornithine decarboxylase inhibitor prefers and induces the formation of anthocyanins, carboxymethyl chitin-glucan the formation of flavonols. The content of polyamines was increased after application of all regulators, the most in SV berries (1.58-17.16-fold). After application of KF₁ and CCHG₂ wines had higher quality then control wines. The application of TEMPO the most reduced the color intensity of AL wine, although this wine was evaluated as the best by evaluators. Overall, all extracts showed a weak inhibitory effect on the oxidation of LDL.

Key words: berries, total content of phenolics and their profile, ornithine decarboxylase inhibitor (KF), carboxymethyl chitin-glucan (CCHG), polyamines, color intensity of wines, inhibition of LDL oxidation

POUŽITÉ OZNAČENIE

AD- odroda André

AL- odroda Alibernet

ALK- kyselina 5-aminolevulová

AOA- antioxidačná aktivita

ARA- antiradikálová aktivita

CCHG- karboxymetyl chitín-glukán

DNA- kyselina deoxyribonukleová

DPPH- 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl

HPLC- vysokoúčinná kvapalinová chromatografia

CHIT- chitosan

IP- inhibícia peroxidácie

KF- O-fosfoetanolamín

LDL- lipoproteidy s nízkou hustotou

PENTA-G- Pentakeep G

SV- odroda Svätovavrinecké

TEMPO- 2, 2, 6, 6-tetrametylpiperidín-1-oxyl, stabilný radikál

UV-VIS- spektroskopia v ultrafialovej a viditeľnej oblasti

OBSAH

ÚVOD	5
1 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	6
1.1 Voľné radikály	6
1.2 Antioxidanty.....	6
1.3 Polyfenoly a fenolické zlúčeniny	6
1.4 Použité regulátory rastu.....	7
2 CIEĽ PRÁCE	7
3 MATERIÁL A METÓDY	7
3.1 Použitý biologický materiál	7
3.2 Aplikácia regulátorov	7
3.3 Použité analytické metódy	8
3.4 Matematicko-štatistické vyhodnotenie výsledkov	9
4 SÚHRN VÝSLEDKOV	9

5	ZÁVER	13
6	NÁVRH NA VYUŽITIE VÝSLEDKOV	15
7	POUŽITÁ LITERATÚRA	15
8	ZOZNAM PUBLIKOVANÝCH PRÁC	18

ÚVOD

Posledné desaťročia priniesli nový pohľad na vznik mnohých ochorení. Ukázalo sa, že niektoré zdanlivo úplne rozdielne ochorenia (infarkt myokardu, náhla mozgová príhoda, rakovina pľúc, očný zákal, diabetes a mnohé ďalšie), majú podobnú príčinu - pri ich vzniku hrajú rozhodujúcu úlohu voľné radikály.

Voľné radikály sú molekuly, ktoré obsahujú jeden alebo viacero nespárených elektrónov a následkom toho sú chemicky extrémne reaktívne. Tvorja sa v tele pri dýchaní, aj počas normálneho metabolizmu, ale vznikajú aj pod vplyvom cudzorodých látok, nadbytku slnečného a iného žiarenia, ako aj pri vdychovaní cigaretového dymu a výfukových splodín. Sú normálnou súčasťou látkovej premeny a prostredníctvom niektorých svojich foriem, napr. oxidu dusnatého, NO, prenášajú rad životne dôležitých informácií do buniek a sú tiež významnou súčasťou imunitných systémov. Voľné radikály, prítomné v organizme v nadbytku, môžu narušovať prenos genetickej informácie a poškadzujú aj štrukturálne bielkoviny a enzýmy. Hlavným terčom kyslíkových radikálov sú fosfolipidy, ktoré vytvárajú membrány vnútrobunkových štruktúr (mitochondrie, endoplazmatické retikulum a iné). Vytvárajú reťazové reakcie, ktoré vedú k vážnemu ohrozeniu normálnych fyziologických procesov.

Organizmus si sám vytvára rad ochranných mechanizmov, ktoré likvidujú voľné radikály tým, že ich viažu alebo priamo rozkladajú (napr. rôzne antioxidantné enzýmy). Na zvýšenie obranyschopnosti organizmu je nevyhnutné prijímať v potrave antioxidanty.

Antioxidanty sú molekuly, ktoré môžu bezpečne vstupovať do interakcie s voľnými radikálmi a ukončiť reťazovú reakciu skôr, než sa poškodia životne dôležité molekuly. Majú schopnosť predísť oxidatívne poškodeniu v tele. Oxidačný stres je všeobecný výraz používaný na popis stavu poškodenia, zníženej funkcie antioxidantných obranných mechanizmov v organizme, ktorý je zapríčinený voľnými radikálmi.

Prirodzene sa antioxidanty vyskytujú takmer vo všetkých rastlinách, mikroorganizmoch, hubách a dokonca aj v živočíšnych tkanivách. Medzi účinné prírodné antioxidanty, ktoré sú súčasťou našej potravy, patrí β -karotén, vitamín C, vitamín E a veľká skupina látok označovaných ako polyfenoly. Úvahy o ich využití v antioxidantnej terapii sa do popredia dostávajú ešte len v posledných rokoch. Sú to najrozšírenejšie zlúčeniny s redukčnými účinkami v našej strave.

Na základe epidemiologických štúdií sa demonštrovalo, že príjem potravín bohatých na antioxidanty, hlavne ovocia a zeleniny, cereálií a niektorých prírodných olejov, zvyšuje koncentráciu týchto antioxidantov v krvi a je spojený s poklesom úmrtnosti a niektorých chronických ochorení. Nízka spotreba antioxidantov je asi jednou z príčin zlého zdravotného stavu obyvateľov strednej a východnej Európy. Zvýšený prísun môže teda tiež znížiť riziko mnohých ochorení, obzvlášť kardiovaskulárnych, niektorých onkologických ochorení, Alzheimerovej choroby a poruchy zraku (katarakty).

1 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

1.1 Voľné radikály

Voľné radikály definujeme ako vysoko reaktívne látky s nespáreným elektrónom na orbitále, ktoré atakujú makromolekuly bielkovín, sacharidov, lipidov, nukleových kyselín- meniac tak ich štruktúru a funkciu (Daniška, 1999). V organizme vznikajú počas viacerých fyziologických reakcií, ako medzi produkty metabolizmu kyslíka. Na ich vzniku sa podieľa UV žiarenie, ďalej nežiaduce produkty výfukových plynov, ozónu a fajčenia (Béderová, 2000; Liba, 2002). Voľné radikály atakujú a deštruuujú najmä lipidy, proteíny a DNA (Jakuš, Lopuchová, 1999). Oxidované častice LDL pôsobia toxicky na bunky cievnej steny a ukladajú sa do ciev vo forme penových buniek replnených cholesterolom (Czuka, 2004). Enzýmy, ktoré vo svojej štruktúre obsahujú proteínovú zložku sa preto pôsobením voľných radikálov postupne inaktivujú (Suhaj, 2000). Poškodená DNA napríklad poskytuje zlú genetickú informáciu, vedie k vzniku mutácií a spôsobuje tak rakovinu (Papas, 2001).

Napriek negatívnym účinkom, ktoré spôsobujú, majú aj svoj pozitívny význam. Sú súčasťou imunitného systému. Pri ochrane hostiteľa proti patogénnym mikroorganizmom dochádza k zvýšenej tvorbe kyslíka (Kyselovič, 2002). Tvorba a účinok voľných radikálov vo fyziologických procesoch musí byť kontrolovaná, resp. eliminovaná pomocou ochranných tzv. antioxidantných systémov.

1.2 Antioxidanty

Antioxidant je definovaný ako látka, ktorá ak je prítomná v nízkej koncentrácii v porovnaní s oxidovateľným substrátom, významne znižuje, alebo inhibuje oxidáciu tohto substrátu. Antioxidanty vo všeobecnosti chránia biologické štruktúry pred účinkom voľných radikálov (Daniška, 1999).

Pri vysokom príjme antioxidantov sa môže ich preventívne pôsobenie zmeniť na pravý opak- začnú pôsobiť ako prooxidanty, teda zvyšovať úroveň oxidačného poškodenia buniek (Kalač, 2003).

1.3 Polyfenoly a fenolické zlúčeniny

Predstavujú jednu z najpočetnejších a najviac zastúpených rastlinných metabolitov a tvoria neoddeliteľnú súčasť stravy ľudí a zvierat (Croteau et al., 2000). Fenolické kyseliny a ich deriváty vykazujú účinky primárnych antioxidantov. V rastlinných potravinách sú väčšinou prítomné vo viazanej forme (Mattila et al., 2006). Vo všeobecnosti sú aktívnejšími antioxidantami hydroxyškoricové kyseliny (Velíšek, 2002).

Dnes je známych viac ako 4000 flavonoidných zlúčenín rastlinného pôvodu a tento počet ešte nie je konečný (Vollmannová et al., 2004)

Antokyaníny sú konečným produktom tvorby flavonoidov v sekundárnom metabolizme rastlinných buniek, sú tvorené v cytoplazme a transportované cez tonoplast do vakuol, kde sa zhromažďujú (Delpech, 2000). Už v 60-tych rokoch sa dokázal antimikrobiálny účinok antokyanínových farbív. V súčasnosti nachádzajú stále väčšie uplatnenie v medicíne (Máriássyová et al., 1996). Antokyaníny môžu preventívne účinkovať proti srdcovo-cievnyim ochoreniam. Za prítomnosti glukózy môžu inhibovať respiráciu a množenie baktérií rodu *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Lactobacillus* a pod. (Sulárová, 2003; Šimko et al., 2007). Podľa Jarábkovej a Pšenákovej (2004) spomaľujú oxidačnú degradáciu lipidov, zohrávajú preventívnu úlohu vo vývoji rakoviny, vystupujú vo funkcii redukčných činidiel,

podporujú inhibíciu oxidácie LDL cholesterolu a lipozómovú inhibíciu, majú antimutagénne účinky.

1.4 Použité regulátory rastu

O-fosfoetanolamín (KF) pôsobí ako inhibítor ornitíndekarboxylázy, inhibítor biosyntézy polyamínov, ale aj ako inhibítor glutamátdekarboxylázy (nešpecifický enzymatický inhibítor). Inhibítor ornitín dekarboxylázy (KF) znižuje hladinu polyamínov najmä putrescínu a spermínu (Kobidová, 2005). Podľa Vandera et al. (1998) karboxymetyl chitín-glukán (CCHG) je stimulátorom biosyntézy fenolov. Chitosan je jeho deacetylovaným produktom, ktorý nie je iba zložkou živočíšnych druhov, ale je hlavným stavebným biopolymérom bunkových stien plesní (rody *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*) (WU et al., 2005). Tempo sa používa ako lapač radikálov, reakčné činidlo v organickej syntéze, oxidačný katalyzátor alkoholov na aldehydy a ketóny, iniciátor a regulátor molekulovej hmotnosti v polymérnej chémii, ako antioxidant a antiiozonant (Šeršen et al., 2006). Pentakeep G je dusíkaté kvapalné hnojivo, ktoré je zmiešané s kyselinou 5-aminolevulovou (ALK), ktorá podporuje rastlinnú fotosyntézu.

2 CIEĽ PRÁCE

Na základe zoštudovania širokého spektra domácej a zahraničnej literatúry, v nadväznosti na výskum katedry, Projekt VEGA č.1/3448/06: „Zmeny antioxidačnej a antiradikálovej aktivity potravinových zdrojov iniciované regulátormi rastu”, stanovili sme nasledovné ciele práce:

1. Determinovať podmienky optimálneho predzberového ošetrenia bobuľovín vo vzťahu k vysokej antioxidačnej a antiradikálovej aktivite surovín,
2. Charakterizovať zmeny v antioxidačnej aktivite bobuľ vybraných bobuľovín po aplikácii regulátorov tvorby fenolických zlúčenín,
3. Stanovenie inhibície oxidácie lipoproteidov s nízkou hustotou (LDL) extraktami bobuľ v in vitro testoch.

3 MATERIÁL A METÓDY

3.1 Použitý biologický materiál

Predmetom nášho experimentu boli bobule a listy arónie čiernoplodej (odroda Nero), čiernych ríbezlí (odroda Otelo) a modrých sort viniča hroznorodého Svätovavrincecké, André, Alibernet a ich víno. Antioxidačná a antiradikálová aktivita, obsah flavonoidov, celkových fenolov a ich profil, stanovenie proantokyanidínov, intenzita farby červených vín, a in vitro inhibícia oxidácie ľudského LDL bola stanovená použitím UV-VIS spektrofotometra, model Mini 1240, Shimadzu Corp., Japonsko. Celkové kyseliny muštu hrozna sa stanovili titračne. Niektoré biogénne amíny (spermín, spermidín a putrescín), kyselina galová, kyselina chlorogenová, kyselina kávová, rutín, kyselina škoricová a kvercetin sa stanovili HPLC metódou s použitím Water Breeze systému.

3.2 Aplikácia regulátorov

Arónia čiernoplodá. V roku 2007 a 2008 boli kríky v celkovej dávke 400 l.ha⁻¹ foliárne ošetrené regulátormi rastu. Aplikované boli nasledujúce dávky regulátorov (varianty 1-6):

1. Kontrola, porast bol ošetrený vodou v dávke 1,5 l na 3 kríky,
2. KF₁ (O- fosfoetanolamín) v dávke 21 mg/3 kríky/1,5 l (5,6 g.ha⁻¹),
3. KF₂ (O- fosfoetanolamín) v dávke 210 mg/3 kríky/1,5 l (56 g.ha⁻¹),

4. CCHG₁ (karboxymetyl chitín-glukán) v dávke 18,6 mg/3 kríky/1,5 l (5,0 g.ha⁻¹),
5. CCHG₂ (karboxymetyl chitín-glukán) v dávke 130,2 mg/3 kríky/1,5 l (50 g.ha⁻¹),
6. KF₁ aplikovaný 2-krát, druhé ošetrenie 15 dní pred zberom, v rovnakej dávke na 3 kríky ako v 2. variante (dvojnásobná dávka na variant).

Čierne ríbezle. V roku 2007 a 2008 boli kríky foliárne ošetrené s regulátormi rastu v celkovej dávke 500 l.ha⁻¹. Čierne ríbezle boli ošetrené týmito regulátormi rastu (varianty 1-6):

1. Kontrola, porast bol ošetrený vodou v dávke 0,75 l na 3 kríky,
2. KF₁ (O- fosfoetanolamín) v dávke 10,5 mg/3 kríky/0,75 l (7 g.ha⁻¹),
3. KF₂ (O- fosfoetanolamín) v dávke 105 mg/3 kríky/0,75 l (70 g.ha⁻¹),
4. CCHG₁ (karboxymetyl chitín-glukán) v dávke 9 mg/3 kríky/0,75 l (6 g.ha⁻¹),
5. CCHG₂ (karboxymetyl chitín-glukán) v dávke 630 mg/3 kríky/0,75 l (420 g.ha⁻¹),
6. KF₁ aplikovaný 2-krát, druhé ošetrenie 15 dní pred zberom, v rovnakej dávke na 3 kríky ako v 2. variante (dvojnásobná dávka na variant).

Vinič hroznorodý. V rokoch 2007 a 2008 boli analyzované všetky 3 odrody. Tieto boli v celkovej dávke 500 l.ha⁻¹ foliárne ošetrené regulátormi rastu. Celkom bolo do variantu zaradených 6 koreňov, čiže každý variant mal 3 opakovania. Všetky strapce z každých dvoch koreňov/opakovanie variantu boli odobrané na spracovanie a výrobu vína.

Modré sorty hrozna boli foliárne ošetrené týmito regulátormi rastu (varianty 1-8):

1. Kontrola, porast bol ošetrený vodou v dávke 1,5 l na 6 koreňov,
2. KF₁ (O- fosfoetanolamín) v dávke 21 mg/6 koreňov/1,5 l vodného roztoku (7 g.ha⁻¹),
3. KF₂ (O- fosfoetanolamín) v dávke 210 mg/6 koreňov/1,5 l (70 g.ha⁻¹),
4. CCHG₁ (karboxymetyl chitín-glukán) v dávke 18 mg/6 koreňov/1,5 l (6 g.ha⁻¹),
5. CCHG₂ (karboxymetyl chitín-glukán) v dávke 1260 mg/6 koreňov/1,5 l (420 g.ha⁻¹),
6. KF₁ aplikovaný dvakrát, druhé ošetrenie 15 dní pred zberom v rovnakej dávke na 6 koreňov ako v 2. variante (dvojnásobná dávka na variant),
7. PENTAKEEP G v dávke 1,5 ml/6 koreňov/1,5 l (500 ml.ha⁻¹),
8. TEMPO v dávke 120 mg/6 koreňov/1,5 l (40 g.ha⁻¹),
9. CHITOSAN v dávke 18 mg/6 koreňov/1,5 l (6 g.ha⁻¹).

V roku 2007 boli do experimentu zaradené varianty 1 až 8 a v roku 2008 boli doplnené o 9. variant, aplikáciu chitosanu. Všetky extrakcie bobúľ a listov z každého opakovania variantu a odbery z vína boli robené dvojnásobne (celkovo 6 analýz/variant).

3.3 Použité analytické metódy

- Stanovenie antioxidačnej aktivity metódou inhibície peroxidácie (metóda podľa Pratta, 1992),
- Stanovenie antiradikálovej aktivity (metóda podľa Lee et al., 1998),
- Stanovenie celkových fenolov (metóda podľa Singleton, Rossi, 1965),
- Stanovenie profilu fenolických zlúčenín (metóda podľa Romani et al., 1996),
- Stanovenie obsahu celkových flavonoidov (metóda podľa Zhishen et al., 1999),
- Inhibícia LDL oxidácie (metóda podľa Esterbauer et al., 1989),

- Stanovenie obsahu voľných polyamínov (metóda podľa Torrigiani et al., 1987),
- Stanovenie intenzity farby vína (metóda podľa Wrolstad, 1976; Mazza et al., 1999),
- Stanovenie obsahu proantokyanidínov (metóda podľa Isabelle et al., 2008)

3.4 Matematicko-štatistické vyhodnotenie výsledkov

Vzorky listov a bobúľ boli extrahované a analyzované s dvojnásobným opakovaním z koncentrovaných extraktov. Výsledky antioxidantnej a antiradikálovej aktivity sa hodnotili s použitím štatistických metód a vyjadrili sa ako priemerná hodnota \pm priemerná smerodajná odchýlka na vzorku. Ďalšie získané údaje sa štatisticky vyhodnotili jednofaktorovou analýzou rozptylu s testovaním rozdielu priemerných hodnôt testom LSD (low significant differences) pri hladine významnosti P (0,05). Vzájomný vzťah medzi obsahom celkových fenolov a AOA alebo ARA bol vypočítaný s použitím analýzy rozptylu (ANOVA test).

4 SÚHRN VÝSLEDKOV

Význam priamej konzumácie bobúľ a produktov ich spracovania (džús, sirupy, džem, prírodné farbivá atď.) uvedených bobuľovín z hľadiska výživy je nepopierateľný. Zvýšenie kvality dopestovaných bobúľ z hľadiska ich vyššej antioxidantnej kapacity s využitím regulátorov viacerých biosyntéznych dráh pôsobiacich v rastlinnom organizme na molekulovej úrovni bolo cieľom tejto práce. V prípade modrých odrôd viniča hroznorodého je častejšie konzumovaným produktom konečný produkt ich fermentácie- červené víno. V tomto prípade je konzumentmi, ale aj producentmi a ich obchodnými partnermi okrem buketu najsledovanejším ukazovateľom intenzita farby.

Antioxidačná aktivita. Ovocné extrakty, vrátane bobúľ preukázali vo viacerých štúdiách vysoký antioxidačný potenciál (Wang et al., 1996; Heinonen et al., 1998). Najvyššiu antioxidačnú aktivitu (IP) extraktov kontrolných bobúľ (2007), mali bobule čiernych ríbezlí (53,23 %). V nasledujúcom roku najvyššiu IP plodín sme stanovili opäť v bobuliach čiernych ríbezlí (58,33 %).

Regulátory KF a CCHG výrazne zvyšovali IP bobúľ a listov *arónie čiernoplodej*. Inhibitor polyamínov (O-fosfoetanolamín-KF) zvýšil IP v bobuliach 1,71 násobne po aplikácii nižšej dávky (KF₁), kým po ošetrení s CCHG₁ 1,74 násobne a po dvojnásobnej aplikácii nižšej dávky KF (KF₁-2x) najvýraznejšie zvýšil IP, 1,80 násobne. V ďalšom roku sa potvrdil pozitívny vplyv nižšej dávky regulátora KF na IP bobúľ, kde zvýšenie bolo 1,26 násobné v porovnaní s kontrolným variantom. Maximálne zvýšenie IP v bobuliach arónie čiernoplodej bolo zo 46,67 % na 84,01 % po dvojnásobnej aplikácii nižšej dávky KF (KF₁-2x) a v ďalšom roku bolo maximálne zvýšenie z 55,94 % na 70,63 % po jednorazovej aplikácii nižšej dávky KF. Z hľadiska kvality bobúľ, nižšia aplikovaná dávka oboch regulátorov je výhodnejšia.

V bobuliach *čiernych ríbezlí* mala pozitívny účinok na zvýšenie IP v oboch rokoch iba aplikácia nižšej dávky CCHG.

Obidva regulátory výrazne zvýšili IP bobúľ viniča odrôd *SV* a *AD*. Po aplikácii vyššej dávky KF (KF₂) sa zvýšila IP v bobuliach SV 1,39 násobne, 1,12 násobne po aplikácii CCHG₂ a 1,29 násobne po ošetrení s PENTA-G. V ďalšom roku zvýšili IP 1,66 násobne (KF₂), 1,66 násobne (CCHG₂) a 1,54 násobne po ošetrení s PENTA-G. V bobuliach AD regulátory zvýšili IP 1,73 násobne po aplikácii s KF₂, 2 násobne (CCHG₂) a 1,63 násobne po použití PENTA-G. V roku 2008 zvýšili IP 1,77 násobne (KF₂), 2,05 násobne (CCHG₂) a 1,68 násobne (PENTA-G). V roku 2008 mala aplikácia KF₁-2x pozitívny účinok na zvýšenie IP u všetkých troch odrôd, pričom zvýšenie bolo u SV 1,70 násobné, AD 1,88 násobné a AL 2,17 násobné v porovnaní s kontrolným

variantom. Regulátory TEMPO a CHIT rovnako zvyšovali IP bobúľ, ale v menšej miere v porovnaní s KF a CCHG. Výsledky potvrdzujú pozitívny vplyv vyšších dávok oboch regulátorov na zvýšenie IP bobúľ viniča hroznorodého, na rozdiel od arónie a čiernych ríbezlí, pri ktorých bola vhodnejšia nižšia aplikovaná dávka regulátorov.

IP bola dramaticky zmenená vo **vínach** všetkých odrôd viniča hroznorodého po fermentácii. Čím väčšie zvýšenie IP bobúľ bolo zistené po ošetrení s obidvoma regulátormi, tým bol dosiahnutý väčší úbytok IP vín. Hrozno po ošetrení s regulátormi rastu poskytlo vína (vo všetkých prípadoch, 2007) s nižšou IP než kontrolné vína. V nasledujúcom roku mali vína opäť nižšiu IP než kontrolné vína.

Antiradikálová aktivita. Regulátory rastu prakticky nezmenili ARA bobúľ **arónie** a **ríbezlí** na rozdiel od listov. Po aplikácii vyšších dávok regulátorov sa IP znížila a ARA bobúľ sa zvýšila v porovnaní s nižšou aplikovanou dávkou regulátorov. Tento inverzný vzťah medzi IP a ARA môžeme vidieť u oboch druhov bobúľ a môže byť interpretovaný tým, že mnohé antioxidanty ktoré rýchlo reagujú s peroxylovými radikálmi môžu reagovať pomaly alebo dokonca môžu byť inertné voči DPPH. Podľa Jouberta et al. (2005) tento nesúlad môže byť vysvetlený prooxidáciou koncentrovaných extraktov, kvôli vysokej koncentrácii flavonoidov, dihydrochalkónov a celkových fenolov.

Regulátory prakticky nezmenili ARA bobúľ a listov **viniča** s výnimkou bobúľ odrody SV po ošetrení s CCHG. Pozitívny účinok regulátorov na značne vyššiu IP a prevažne mierne nižšiu ARA bobúľ bol negovaný fermentáciou.

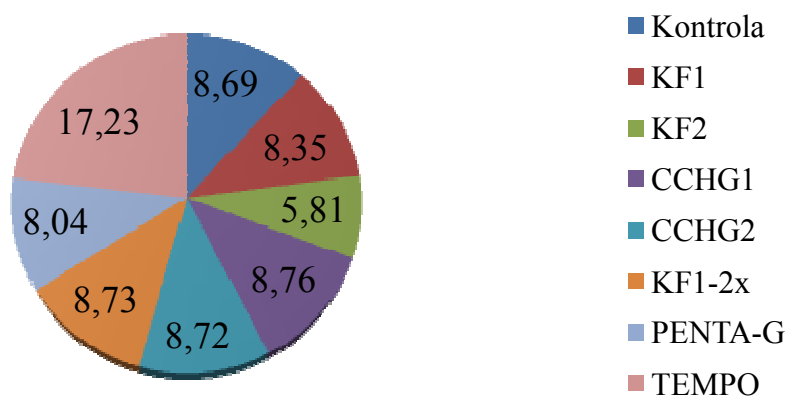
Obsah celkových fenolov a fenolický profil. Obidva regulátory, KF nepriamo (Hudec et al., 2006) a CCHG priamo stimulujú akumuláciu fenolických zložiek. Zvýšili obsah celkových fenolov v bobuliach **arónie čiernoplodej** 1,49-násobne po aplikácii s KF₁, v ďalšom roku 1,20-násobne a 1,31-násobne po ošetrení s CCHG₂ a následne v roku 2008 1,14-násobne. V poslednom experimentálnom roku najviac ovplyvnila obsah celkových fenolov jednorázová aplikácia nižšej dávky CCHG a to 1,33 násobne. Celkové obsahy fenolov boli v priamom vzťahu so zvýšenými obsahmi antokyanínov, hydroxybenzoových kyselín a hydroxyškoricových kyselín len v bobuliach. Nižšie dávky oboch regulátorov zvyšovali obsah antokyanínov v bobuliach arónie výraznejšie než ich vyššie aplikované dávky. Obsah antokyanínov bol v ich bobuliach po aplikácii nižšej dávky KF 3329,2 mg.100 g⁻¹ suchej hmoty, po aplikácii CCHG₁ 3287,6 mg.100 g⁻¹ suchej hmoty, v nasledujúcom roku po aplikácii KF₁ 2813,4 mg.100 g⁻¹ suchej hmoty a CCHG₁ 3211,3 mg.100 g⁻¹ suchej hmoty. Dvojnásobná aplikácia nižšej dávky KF (KF₁-2x) zvýšila obsah všetkých analyzovaných fenolických frakcií v bobuliach arónie v porovnaní s jednorázovou aplikáciou nižšej dávky KF (2007). Dvojnásobná aplikácia nižšej dávky KF (KF₁-2x) zvýšila obsah hydroxybenzoových kyselín 1,22-násobne, hydroxyškoricových kyselín 1,07-násobne, flavonolov 1,27-násobne a antokyanínov až 2,55-násobne v porovnaní s kontrolnými bobuľami. Uvedené výsledky súvisia so skutočnosťou, že KF výraznejšie preferuje syntézu a akumuláciu antokyanínov v arónii čiernoplodej.

Kontrolné bobule **čiernych ríbezlí** mali nižší obsah celkových fenolov než bobule arónie. Obsah celkových fenolov v listoch čiernych ríbezlí v jednotlivých rokoch bol približne rovnaký. V r. 2007 najviac ovplyvnili obsah antokyanínov v bobuliach čiernych ríbezlí vyššie dávky aplikovaných regulátorov, kým v nasledujúcom roku to boli ich nižšie dávky. Najvýraznejšie zvýšenie ich obsahu v bobuliach sme zaznamenali po použití nižších dávok oboch regulátorov a v prípade listov to bolo po aplikácii KF₁ a CCHG₂. V bobuliach čiernych ríbezlí mala výraznejší vplyv na zvýšenie obsahu

proantokyanidínov aplikácia CCHG na rozdiel od bobúľ arónie, kde ich obsah pozitívnejšie ovplyvňoval KF.

Priemerný celkový obsah fenolov v kontrolných bobuliach viniča *SV*, *AD*, *AL* bol 139,44; 86,31 a 232,15 mg.100 g⁻¹ čerstvej hmoty, teda najvyšší v najkvalitnejšom kultivare Alibernet. V nasledujúcom roku obsahy fenolov dosahovali hodnoty v kontrolných bobuliach SV, AD, AL 99,8; 200,1 a 264,7 mg.100 g⁻¹ čerstvej hmoty. Odroda André bola najcitlivejšou odrodou vo vzťahu k aplikovaným regulátorom. Obsah celkových fenolov, antokyanínov, flavonolov, ale aj hydroxyškoricových kyselín a hydroxybenzoových kyselín sa zvýšil iba v jej bobuliach po ošetrení s KF₁, KF_{1-2x} a CCHG. Všetky regulátory mali pozitívny účinok na obsah proantokyanidínov v bobuliach odrody SV, najvýraznejšie po ošetrení s KF_{1-2x} a PENTA-G. V bobuliach odrôd AD a AL regulátory nepôsobili pozitívne na obsah proantokyanidínov, v prípade odrody AD sa zvýšenie ich obsahu dosiahlo len po aplikácii KF₁ a u odrody AL po ošetrení s PENTA-G. Pomer obsahu antokyanínov/flavonolov po aplikácii KF a CCHG klesal s výnimkou bobúľ Alibernetu, ošetrených s KF_{1-2x} a s CCHG₁ (Graf 1). Tento pomer, napriek poklesu obsahu antokyanínov v porovnaní s kontrolnými bobuľami, výrazne vzrástol po ošetrení viniča stabilným radikálom TEMPO, v prípade Alibernetu na hodnotu 17,23 a v prípade bobúľ odrody Svätovavrinecké na hodnotu 10,92 (kontrolné bobule 8,13). Odroda André na jeho aplikáciu nereagovala pozitívne.

Antokyaníny/Flavonoly



Graf 1 Pomer obsahu antokyanínov/flavonolov v bobuliach AL (2007)

Fermentačný proces významne ovplyvnil nie len základné ukazovatele kvality *vína*, najmä intenzitu farby, ale aj jeho celkovú kvalitu. Počas fermentácie a starnutia červených vín polymerizačné, kondenzačné a kopigmentačné reakcie môžu formovať nové štruktúry s vyššou alebo nižšou farebnou intenzitou, s vyššou alebo nižšou antioxidačnou aktivitou, ktoré nemusia mať rovnaké antioxidačné vlastnosti s monomérnymi antokyanínmi. Degradácia monomérnych antokyanínov nebola sprevádzaná znižovaním intenzity farby vína, takže syntéza nových štruktúr bola pravdepodobne dôvodom významného zníženia obsahu antokyanínov. S výnimkou vín AL, aplikácia KF a CCHG napriek nižšiemu obsahu celkových fenolov a antokyanínov v bobuliach SV vytvorila podmienky pre tvorbu nových štruktúr počas fermentácie, ktoré spolupôsobili pri tvorbe vyššej intenzity farby tých vín, ktoré majú nižšiu geneticky danú intenzitu farby (SV a AD). Zistili sme pomerne úzky vzťah medzi intenzitou farby vín stanovenou hodnotiacimi degustátormi a intenzitou stanovenou prístrojom. Rovnakým ošetrením hrozna (KF₁ a CCHG₂) u každej odrody sa zistilo

(podľa senzorického hodnotenia vín), že vína mali vyššiu kvalitu než kontrolné vína. Aplikácia regulátora TEMPO mala v r. 2007 pozitívny účinok len na intenzitu farby vína odrody SV. V prípade odrody AL tento regulátor najvýraznejšie redukoval intenzitu farby vína, ale napriek tomu toto víno bolo degustátormi hodnotené ako najkvalitnejšie. V nasledujúcom roku intenzita farby vína odrody SV nebola zvýšená aplikovanými regulátormi. Výraznejšie zvýšenie sme zaznamenali iba po aplikácii KF₁ a TEMPO vo vínach z ďalších dvoch odrôd. Po aplikácii našich regulátorov nemali vždy vína s vyšším obsahom celkových fenolov aj vyššiu intenzitu farby. To predpokladá vytváranie nových štruktúr s vyššou antioxidačnou aktivitou po aplikácii regulátorov v bobuliach.

Polyamíny v bobuliach červeného hrozna- HPLC. Všetky regulátory významne znížili obsah putrescínu, spermidínu a spermínu vo všetkých odrodách hrozna, ale veľmi výrazne v bobuliach SV (1,58-17,16 násobne). Najväčšie zníženie voľných alifatických polyamínov sme stanovili po ošetrení s vyššou dávkou KF a nižšou dávkou CCHG. V prípade KF to nebolo prekvapivé, pretože KF je inhibítorom ornitíndekarboxylázy a teda inhibítor putrescínu, aj keď podľa Bauza et al. (2007) hlavná cesta biosyntézy voľných polyamínov v hrozne je cez arginín. Na druhej strane, ktorá z dvoch biosyntetických dráh (z ornitínu alebo z arginínu) je dominantná, závisí na druhoch a na štádiu vývoja v daných druhoch (Bauza et al., 2007). Použitím regulátora TEMPO boli najviac ovplyvnené obsahy putrescínu a spermidínu v bobuliach SV, obsah spermínu v bobuliach AD a obsah putrescínu v AL.

HPLC analýzou sme stanovili obsah významnejších fenolických zlúčenín, konkrétne kyseliny galovej, kyseliny chlorogénovej, kyseliny kávovej, rutínu, kyseliny škoricovej a kvercetínu v bobuliach arónie čiernoplodej a čiernych ríbezlí. KF vo vyššej dávke najvýraznejšie zvýšil obsah rutínu o 40,7 % v porovnaní s kontrolou, voľnej kyseliny škoricovej o 20,6 % v bobuliach arónie čiernoplodej a voľnej kyseliny kávovej o 67,2 % v bobuliach čiernych ríbezlí, ale znížil obsah voľného kvercetínu o 25 %. Dvojnásobná aplikácia nižšej dávky KF (KF_{1-2x}) najvýraznejšie zvýšila obsah kyseliny chlorogénovej o 29,9 % v arónii čiernoplodej, voľnej kyseliny kávovej o 51,7 % a voľnej kyseliny škoricovej o 33,3 % v čiernych ríbezliach. Po aplikácii nižšej dávky CCHG sa zvýšil obsah voľnej kyseliny kávovej o 26,9 % v arónii a o 89,7 % v čiernych ríbezliach, obsah rutínu a voľného kvercetínu o 32,2 % a 80,6 % oproti kontrole v arónii čiernoplodej. Po aplikácii vyššej dávky CCHG bol obsah kvercetínu najvýraznejšie ovplyvnený o 108,3 % v arónii čiernoplodej.

Inhibícia LDL oxidácie. In vitro peroxidácia ľudskeho lipoproteidu s nízkou hustotou (LDL) bola použitá na pozorovanie poškodenia biologických membrán stimulovaného voľnými radikálmi a súčasne ochranný účinok extraktov arónie čiernoplodej, čiernych ríbezlí a modrých odrôd viniča SV, AD, AL. Antioxidačný účinok sa výraznejšie prejavil v arónii, než v čiernych ríbezliach a najvýraznejšie v odrode hrozna AD po ošetrení s KF₂. Extrakty bobúľ po použití oboch regulátorov predĺžili indukčný čas LDL oxidácie iba v prípade čiernych ríbezlí, v SV po ošetrení s KF₂, v AD po ošetrení s CCHG₂ v porovnaní s kontrolnou skupinou bobúľ, ale celkovo všetky extrakty preukázali slabý inhibičný účinok na oxidáciu LDL. Veľmi nízka koncentrácia aktívnych látok použitých v našom LDL teste skreslila skutočný účinok extraktov bobúľ.

5 ZÁVER

Foliárnym ošetrením porastov bobuľovín arónie čiernoplodej, čiernych ríbezlí a troch modrých odrôd viniča hroznorodého regulátormi biosyntézy fenolov, polyamínov a sacharidov, sa dosiahli tieto podstatné zmeny v kvalite bobuľ a červených vín:

Arónia čiernoplodá (odroda Nero).

- Aplikované regulátory, O-fosfoetanolamín (KF) a karboxymetyl chitín-glukán (chitínový derivát) výrazne zvýšili antioxidačnú aktivitu meranú ako inhibíciu peroxidácie (IP) bobuľ a listov arónie čiernoplodej. Inhibícia peroxidácie bobuľ sa v r. 2007 najvýraznejšie zvýšila (1,80-násobne) po dvojnásobnej aplikácii nižšej dávky O-fosfoetanolamínu. V nasledujúcom roku sa potvrdil pozitívny vplyv nižšej dávky regulátora O-fosfoetanolamínu na inhibíciu peroxidácie bobuľ. Z hľadiska kvality bobuľ je výhodnejšia nižšia aplikovaná dávka oboch regulátorov. V listoch sa inhibícia peroxidácie najvýraznejšie zvýšila po ošetrení s vyššou dávkou karboxymetyl chitín-glukánu (4,13-násobne), v r. 2008 sa inhibícia peroxidácie výraznejšie nezmenila.
- Obsah celkových fenolov v bobuliach arónie bol pozitívnejšie ovplyvnený aplikáciou regulátorov v r. 2007, kde sa ich obsah zvýšil 1,49-násobne po ošetrení s nižšou dávkou O-fosfoetanolamínu a 1,73-násobne po dvojnásobnej aplikácii nižšej dávky O-fosfoetanolamínu.
- Nižšie dávky oboch regulátorov zvyšovali obsah hlavnej fenolickej frakcie, antokyanínov v bobuliach arónie, výraznejšie, než ich vyššie aplikované dávky (v oboch sledovaných rokoch). Najvýraznejšie zvýšenie sme zaznamenali po dvojnásobnej aplikácii nižšej dávky O-fosfoetanolamínu až 2,55-násobné v porovnaní s kontrolnými bobuľami (2007). Ošetrenie s nižšou dávkou O-fosfoetanolamínu, aplikovanej dvakrát, významne zvýšilo aj obsah všetkých ostatných fenolických frakcií v bobuliach.
- Po aplikácii vyššej dávky O-fosfoetanolamínu sa najvýraznejšie zvýšil obsah rutínu o 40,7 % v porovnaní s kontrolou. Nižšia aplikovaná dávka chitínového derivátu zvýšila obsah voľného kvercetínu o 80,6 % a jeho vyššia aplikovaná dávka o 108,3 % oproti kontrole.

Čierne ríbezle (odroda Otelo).

- Najvyššiu inhibíciu peroxidácie extraktov kontrolných bobuľ zo všetkých plodín mali bobule čiernych ríbezlí a to v oboch experimentálnych rokoch.
- Regulátory rastu prakticky nezmenili antiradikálovú aktivitu bobuľ čiernych ríbezlí a arónie čiernoplodej. Zaznamenali sme inverzný vzťah medzi inhibíciou peroxidácie a antiradikálovou aktivitou u oboch plodín po aplikácii vyšších dávok O-fosfoetanolamínu a chitínového derivátu.
- Kontrolné bobule ríbezlí mali nižší obsah celkových fenolov než bobule arónie. Obsah celkových fenolov v listoch čiernych ríbezlí v jednotlivých rokoch bol približne rovnaký. Po ošetrení s obidvoma regulátormi bol obsah celkových fenolov v tesnejšom vzájomnom vzťahu s antiradikálovou aktivitou než s inhibíciou peroxidácie v oboch plodinách, viac v listoch ako v bobuliach.
- V r. 2007 najviac ovplyvnili obsah antokyanínov v bobuliach čiernych ríbezlí vyššie dávky aplikovaných regulátorov, kým v nasledujúcom roku to boli ich nižšie dávky.
- Inhibitor ornitíndekarboxylázy, O-fosfoetanolamín, preferuje a stimuluje biosyntézu antokyanínov, kým stimuluje biosyntézu fenolov (chitínový derivát) tvorbu flavonolov.

- Najvýraznejšie zvýšenie obsahu flavonoidov v bobuliach čiernych ríbezlí sme zaznamenali po použití nižších dávok oboch regulátorov.
- V bobuliach ríbezlí mala výraznejší vplyv na zvýšenie obsahu proantokyanidínov aplikácia chitínového derivátu, na rozdiel od bobúľ arónie, kde na ich obsah pozitívnejšie pôsobil O-fosfoetanolamín.
- Obsah voľnej kyseliny kávovej sa v bobuliach čiernych ríbezlí zvýšil po aplikácii vyššej dávky O-fosfoetanolamínu o 67,2 % a po ošetrení s nižšou dávkou chitínového derivátu o 89,7 %.

Vinič hroznorodý (modré odrody: Alibernet, André, Svätovavrinecké).

- Regulátory výrazne zvýšili inhibíciu peroxidácie bobúľ odrôd Svätovavrinecké a André. V prípade bobúľ odrody Svätovavrinecké priaznivo pôsobili na zvyšovanie inhibície peroxidácie vyššie dávky O-fosfoetanolamínu, chitínového derivátu a regulátora Pentakeepu G v oboch sledovaných rokoch. V roku 2008 mala pozitívny účinok na zvýšenie inhibície peroxidácie všetkých troch odrôd dvojnásobná aplikácia nižšej dávky O-fosfoetanolamínu, pričom zvýšenie bolo v odrode Svätovavrinecké 1,70-násobné, v André 1,88-násobné a v Alibernet 2,17-násobné.
- Najvyšší obsah celkových fenolov v kontrolných bobuliach mali bobule odrody Alibernet 232,15 mg.100 g⁻¹ čerstvej hmoty (2007) a 264,7 mg.100 g⁻¹ čerstvej hmoty (2008). Obsah celkových fenolov, antokyanínov, flavonolov, hydroxyškoricových kyselín a hydroxybenzoových kyselín sa zvýšil iba v bobuliach André po ošetrení s chitínovým derivátom, jednorázovou a dvojnásobnou aplikáciou nižšej dávky O-fosfoetanolamínu.
- Pomer obsahu antokyanínov/flavonolov najvýraznejšie vzrástol v prípade bobúľ odrody Alibernet na hodnotu 17,23 po ošetrení s TEMPO.
- Všetky regulátory mali pozitívny účinok na obsah proantokyanidínov v bobuliach odrody Svätovavrinecké, najvýraznejšie po dvojnásobnej aplikácii nižšej dávky O-fosfoetanolamínu a Pentakeepu G.
- Obsah putrescínu, spermidínu a spermínu sa významne znížil po aplikácii všetkých regulátorov, najmä v bobuliach Svätovavrinecké (1,58-17,16 násobne).

Víno.

- Fermentačný proces, ktorého výsledným produktom bolo červené víno, značne zmenil kvalitu produktov a rozdiely medzi nimi. Najvýraznejšou zmenou je značná strata antioxidantnej aktivity vína zo všetkých ošetrených porastov (koreňov). Čím väčšie zvýšenie inhibície peroxidácie bobúľ bolo zistené po ošetrení s regulátormi, tým bol dosiahnutý väčší úbytok inhibície peroxidácie vín.
- S výnimkou vín Alibernetu, aplikácia O-fosfoetanolamínu a chitínového derivátu napriek nižšiemu obsahu fenolov a antokyanínov v bobuliach odrody Svätovavrinecké vytvorili podmienky pre tvorbu nových štruktúr počas fermentácie, ktoré spolupôsobili pri tvorbe intenzívnejšej farby vín odrôd Svätovavrinecké a André.
- Ošetrenie hrozna (s nižšou dávkou O-fosfoetanolamínu a vyššou dávkou chitínového derivátu) každej odrody zvýšilo kvalitu vína v porovnaní s kontrolnými vínami.

LDL oxidácia.

- Extrakty bobúľ po použití regulátorov O-fosfoetanolamínu a chitínového derivátu predĺžili indukčný čas LDL oxidácie iba v prípade čiernych ríbezlí, v bobuliach odrody Svätovavrinecké po ošetrení s vyššou dávkou O-

fosfoetanolamínu a v bobuliach André po aplikácii vyššej dávky chitínového derivátu. Celkovo všetky extrakty preukázali slabý inhibičný účinok na oxidáciu LDL.

Samotné bobule všetkých bobuľovín získané po ošetrení s testovanými regulátormi najmä bobule čiernych ríbezlí a arónie čiernoplodej sú bohatším zdrojom antioxidantných a nutričných látok než bobule neošetrené. Sú preto cennejšie nielen z hľadiska výživy a prevencie viacerých civilizačných ochorení, ale aj pre spracovanie a izoláciu rastlinných pigmentov než bobule neošetrené.

6 NÁVRH NA VYUŽITIE VÝSLEDKOV

Bobule všetkých bobuľovín použitých v experimente, sú bohatým zdrojom antioxidantných a nutričných látok. Sú cenné z hľadiska výživy a prevencie viacerých civilizačných ochorení.

Použité regulátory výrazne ovplyvnili jednotlivé sledované parametre a prejavila sa rozdielna odrodová reakcia. Výsledky sú dôležité z pohľadu využitia v praxi, kde by ošetrené bobule mohli byť potenciálnymi zdrojmi vyššieho preventívneho efektu antioxidantov a tiež z dôvodu vyššieho množstva farbív využiteľných v potravinárskom, farmaceutickom a kozmetickom priemysle.

Produkcia umelých farbív je lacnejšia a tieto farbivá sú stabilnejšie než prírodné, ale spotrebiteľia čoraz viac dávajú prednosť prirodzeným látkam. Nevýhodou prírodných farbív je malá stálosť voči svetlu, teplu, zmenám pH. V súčasnosti sa výskum zameriava na zvýšenie ich stálosti aj tým spôsobom, že sa zapájajú do časti iných prirodzených zložiek potravín.

Aplikované regulátory (KF a CCHG) napriek nižšiemu obsahu celkových fenolov a antokyanínov v bobuliach viniča vytvorila podmienky pre tvorbu nových štruktúr počas fermentácie. Tie spolupôsobia pri tvorbe vyššej intenzity farby tých vín, ktoré majú nižšiu geneticky danú intenzitu farby (SV a AD). Intenzívnejšia farba červených vín je lákadlom nie len pre spotrebiteľov, ale aj pre výrobcov.

O-fosfoetanolamín (KF) bol už syntetizovaný v poloprevádzkových podmienkach, pre jeho použitie v rozsiahlejších experimentoch. CCHG zatiaľ nebol produkovaný vo veľkých množstvách, ale jeho príprava vo väčšom objeme je bezproblémová.

Naše pokusy sa uskutočnili pomerne na malej ploche. Odporúčame overiť výsledky vo väčšom rozsahu, na väčšej ploche s použitím verifikovanejšieho, väčšieho počtu jedincov, taktiež zväčšiť objem vyprodukovaných vín a po potvrdení výsledkov, realizovať ich v praxi.

7 POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BAUZA, T. – KELLY, M. T. – BLAISE, A. 2007. Study of polyamines and their precursor amino acids in Grenache Noir and Syrah grapes and wine of the Rhone Valley. In: *Food Chem.*, vol. 105, 2007, p. 405-413.
2. BÉDEROVÁ, A. 2000. Antioxidanty v prevencii. In: *Výživa a zdravie*, roč. 45, 2000, č. 11, s. 65-66.
3. CROTEAU, R. – KUTCHAN, T. M. – LEWIS, N. G. 2000. Natural products (secondary metabolites). In: *Biochemistry and molecular biology of plants*, 2000, p. 1250-1318.
4. CSUKA, J. 2004. Význam stanovenia oxidovanosti tukov vo výžive. In: *Výživa a potraviny pre tretie tisícročie*. Nitra : SPU, 2004, s. 94-97.

5. DANIŠKA, J. 1999. Fyziologicko-nutričné aspekty výživy v prevencii a v liečbe: habilitačná práca. Nitra : SPU, 1999, 85 s.
6. DELPECH, R. 2000. The importance of red pigments to plant life: experiments with anthocynins. In: *Journal of Biological Education*, vol. 34, 2000, no. 4, p. 206-210.
7. ESTERBAUER, H. – STRIEGL, G. – PUHL, H. et al. 1989. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. In: *Free Radical Res. Comm.*, vol. 6, 1989, p. 67-75.
8. HEINONEN, I. M. – MEYER, A. S. - FRANKEL, E. N. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 46, 1998, p. 4107–4112.
9. HUDEC, J. – BAKOŠ, D. – MRAVEC, D. et al. 2006. Content of phenolic compounds and free polyamines in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) after application of polyamine biosynthesis regulators. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, 2006, p. 3625-3628.
10. ISABELLE, M. – LEE, B. L. – ONG, CH. N. et al. 2008. Peroxyl radical scavenging capacity, polyphenolics and lipophilic antioxidant profiles of mulberry fruits cultivated in southern China. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, 2008, p. 9410-9416.
11. JAKUŠ, V. – LOPUCHOVÁ, M. 1999. Úloha voľných radikálov, oxidačného stresu a antioxidantných systémov pri ochoreniach pečene. In: *Bratislavské lekárske listy*, roč. 100, 1999, č. 10, s. 548-559.
12. JARÁBKOVÁ, Z. – PŠENÁKOVÁ, I. 2004. Izolácia endofytických mikroorganizmov ako producentov antokyánov. In: *Nová biotechnologica* [online]. 2004, cit. [2006-03-09], s. 199-208.
Dostupné na internete: <http://pc55.ucm.sk/FPV/dokumenty/nb/nb_iv_2004/14_Jarabkova.pdf>
13. JOUBERT, E. – WINTERTON, P. – BRITZ, T. J. et al. 2005. Antioxidant and pro-oxidant activities of aqueous extracts and crude polyphenolics fractions of rooibos (*Aspalathus linearis*). In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, 2005, p. 10260-10267.
14. KALAČ, P. 2003. Také príjem antioxidantu má své horní meze. In: *Výživa a potravin*, roč. 58, 2003, č. 3, s. 66-67.
15. KOBIDOVÁ, R. 2005. Úroda a kvalita sóje po ošetrení kvapalnými prípravkami s morforegulačnými účinkami : autoreferát dizertačnej práce. Nitra : SPU, 2005, 37 s.
16. KYSELOVIČ, J. 2002. Biochémia výživy. Nitra : SPU, 2002. 121 s. ISBN 80-8069-096-0.
17. LEE, S. K. – MBWAMBO, Z. H. – CHUNG, H. S. et al. 1998. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. In: *Combin. Chem. High Throughput Screen.* vol. 1, 1998, p. 35-46.
18. LIBA, J. 2002. Výchova k zdraviu a prevencia drogových závislostí. Prešov : Metodicko- pedagogické centrum, 2002. 121 s. ISBN 80-8045-271-7.
19. MÁRIÁSSYOVÁ, M. – KINTLEROVÁ, M. – ŠILHÁR, S. 1996. Čo skrýva paleta prírody?. In: *Rolnícke noviny*, roč. 67, 1996, č. 177, s. 4.
20. MATTILA, P. – HELLSTRÖM, J. – TÖRRÖNEN, R. 2006. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, 2006, No. 8, p. 7193-7199.

21. MAZZA, G. – FUKUMOTO, L. – DELAQUIS, P. et al. 1999. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, 1999, p. 4009-4017.
22. PAPAS, A. 2001. Vitamín E: zázračný antioxidant při prevenci a léčbě srdečních chorob, rakoviny a stárnutí. Praha : Pragma, 2001. 380 s. ISBN 80-7205-773-1.
23. PRATT, D.E. 1992. Natural antioxidants from plant material. In: *Phenolic compounds in food and their effect on health II : Antioxidants and cancer prevention*. Huang, M. – T., Lee, C.Y., (eds). Washington, D.C.: Am. Chem. Soc., 1992, s. 54-71.
24. ROMANI, A. – MANCINY, P. – TATTI, S. et al. 1996. Polyphenols and polysaccharides in Toscan grapes and wines. In: *Ital. J. Food Sci.*, vol. 1, 1996, p. 13-24.
25. SINGLETON, V. L. – ROSSI, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. In: *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 16, 1965, p. 144-158.
26. SUHAJ, M. 2000. Voľné radikály, antioxidanty a potraviny. In: *Trendy v potravinárstve*, roč. 7, 2000, č. 4, s. 10-11.
27. SULÉROVÁ, M. 2003. Potravinárske farbivá a ich použitie vo výrobkoch : diplomová práca. Nitra : SPU. 2003, 75 s.
28. ŠERŠEN, F. – SIGMUNDOVÁ, I. – CIGÁŇ, M. 2006. Deriváty styrylbezotiazolu a ich amóniové soli ako producenti singletového kyslíka. In: *Chem. Listy*, vol. 100, 2006, p. 994-997.
29. ŠIMKO, J. – MATUŠKOVIČ, J. – POKORNÁ-JURÍKOVÁ, T. 2007. Jedlé zemlezy- nový hodnotný zdroj antokyanínov. In: *8. vedecká konferencia doktorandov a mladých vedeckých pracovníkov*, Nitra : UKF, 2007, s. 106-110.
30. TORRIGIANI, P. – ALTAMURA, M. M. – PASQUA, G. et al. 1987. Free and conjugated polyamines during de novo floral and vegetative bud formation in thin cell layers of tobacco. In: *Physiol. Plant.*, vol. 70, 1987, p. 453-460.
31. VANDER, P. – VÄRUM, K. M. – DOMARD, A. et al. 1998. Comparism of the ability of partially N-acetylated chitosans and chitoooligosaccharides, to elicit resistance reactions in wheat leaves. In: *Plant. Physiol.*, vol. 118, 1998, p. 1353-1359.
32. VELÍŠEK, J. 2002. Chemie potravin 3. 2. vyd. Tábor : Osis, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-02-X.
33. VOLLMANNOVÁ, A. et al. 2004. Príjem vybraných bioflavonoidov výživou. In: *Výživa a potraviny pre tretie tisícročie*. Nitra : SPU, 2004, s. 246-248.
34. WANG, H. – CAO, G. – PRIOR, R. L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 44, 1996, p. 701-705.
35. WROLSTAD, R. E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products : Agricultural experiment station bulletin. Oregon State University : Corvallis, 1976, 120 p.
36. WU, T. – ZIVANOVIC, S.- DRAUGHON, F. A. et al. 2005. Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, 2005, p. 3888-3894.
37. ZHISHEN, J. – MENGCHENG, T. – JIANMING, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. In: *Food Chem.*, vol. 64, 1999, p. 555-559.

8 ZOZNAM PUBLIKOVANÝCH PRÁČ

1. HUDEC, J. – BURDOVÁ, M. – **KOCHANOVÁ, R.** –TURIANICA, I. 2006. Zmeny antioxidačnej a antiradikálovej aktivity žihľavy dvojdomej (*Urtica Dioica*) po aplikácii stimulátora fenylalanín amoniak-lyázy. In: *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín, 2. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou : Zborník abstraktov, Nitra 9. november 2006*. Nitra : SPU, 2006, s. 40. ISBN 80-8069-766-3.
2. HUDEC, J. – BURDOVÁ, M. – **KOCHANOVÁ, R.** –TURIANICA, I. 2006. Zmeny antioxidačnej a antiradikálovej aktivity žihľavy dvojdomej (*Urtica Dioica*) po aplikácii stimulátora fenylalanín amoniak-lyázy. In: *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín : Zborník vedeckých prác z 2. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou, Nitra 9. november 2006 (elektronický zdroj)*. Nitra : SPU, 2006, s. 168-173. ISBN 80-8069-767-1.
3. HUDEC, J. – BURDOVÁ, M. – KOBIDA, Ľ. – KOMORA, L. – MACHO, V. – KOGAN, G. – TURIANICA, I. - **KOCHANOVÁ, R.** – LOŽEK, O. – HABÁN, M. – CHLEBO, P. 2007. Antioxidant capacity changes and phenolic profile of *Echinacea purpurea*, nettle (*Urtica dioica* L.), and dandelion (*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. In: *J. Agric. Food. Chem.*, vol. 55, 2007, p. 5689-5696.
4. BURDOVÁ, M. – HUDEC, J. – TURIANICA, I. – **KOCHANOVÁ, R.** 2007. Carboxymethyl chitin glucan changes the antioxidant activity and phenolic profile of *Echinacea purpurea*. In: *Vitamins 2007 : nutrition and diagnostic : the abstract book, Prague Czech Republic, September 19-21, 2007*. Pardubice : Univerzita Pardubice, 2007, p. 201-202, ISBN 978-80-7194-937-4.
5. BURDOVÁ, M. – HUDEC, J. – TURIANICA, I. – **KOCHANOVÁ, R.** 2007. Carboxymethyl chitin glucan changes the antioxidant activity and phenolic profile of *Echinacea purpurea*. In: *Vitamins 2007 (elektronický zdroj)*. Pardubice : Univerzita Pardubice, 2007, p. 1-11.
E: \Final_programme_07_version4.htm
6. HUDEC, J. – BURDOVÁ, M. – KOBIDA, Ľ. – **KOCHANOVÁ, R.** – HABÁN, M. 2007. RP- HPLC analysis of hydroxycinnamic acid derivatives from *Echinacea purpurea*. In: *1st Int. Sc. Conf. Medical, Aromatic and Spice Plants*. Nitra : SPU, 2007, p.153-155, ISBN 978-80-8069-973-4.
7. BURDOVÁ, M. - HUDEC, J. - TURIANICA, I. - **KOCHANOVÁ, R.** – ROSTOKA, L. 2007. Carboxymethyl chitin glucan changes the antioxidant activity and phenolic profile of *Echinacea purpurea*. In: *Aktual'ni teoretični ta klinični aspekti fitoterapii : Materiali mižnarodnoj naukovo-praktičnoj konferencii : 19-21 kvitnja 2007, Užgorod. - Užhorod : Užhorodska nacionalna univerzita, 2007. - S. 154-157*
8. FATRCOVÁ, K. – DANIŠKA, J. – ŠILHÁR, S. – **KOCHANOVÁ, R.** 2007. Mulberry (*Morus nigra* L.) in human nutrition, content of anthocyanins and antiradical activity of different mulberries products. In: *Traditional agroecosystems '05 : 1st international conference and satellite workshops, September 16-21, 2005*. Nitra : SPU, 2007, p. 139-146. ISBN 978-80-8069-937-6.
9. **KOCHANOVÁ, R.** 2008. Vplyv regulátorov rastu na antioxidačnú a antiradikálovú aktivitu arónie čiernoplodej (*Aronia melanocarpa*). In: *Vedecká konferencia doktorandov s medzinárodnou účasťou. 28. november*. Nitra : SPU, 2008, s. 278-281. ISBN 978-80-552-0138-2.

10. ČIŽMÁROVÁ, M. – TURIANICA, I. – CHLEBO, P. – SCHWARZOVÁ, M. – **KOCHANOVÁ, R.** 2008. Vplyv konzumácie červeného vína na vybrané biochemické ukazovatele krvi konzumentov. In: *Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe : Zborník recenzovaných vedeckých príspevkov, Nitra 5. december 2008 (elektronický zdroj)*. Nitra : SPU, 2008, s. 312-317. ISBN 978-80-552-0151-1.
11. **KOCHANOVÁ, R.** - HUDEC, J. - BURDOVÁ, M. - ČIŽMÁROVÁ, M. 2009. Stimulácia tvorby fenolov inhibíciou aktivity ornitín-dekarboxylázy a glutamát-dekarboxylázy. In: *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín, 4. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou : Zborník abstraktov, Nitra 27.-28. január 2009*. Nitra : SPU, 2009, s. 87.
12. **KOCHANOVÁ, R.** - HUDEC, J. - BURDOVÁ, M. - ČIŽMÁROVÁ, M. 2009. Stimulácia tvorby fenolov inhibíciou aktivity ornitín-dekarboxylázy a glutamát-dekarboxylázy. In: *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín, 4. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou : Acta fytotechnica et zootechnica- mimoriadne číslo, Nitra 27.-28. január 2009 (elektronický zdroj)*. Nitra : SPU, 2009, s. 297-304. ISSN 1335-258X.
13. HUDEC, J. – **KOCHANOVÁ, R.** – BURDOVÁ, M. – KOBIDA, E. – KOGAN, G. – TURIANICA, I. – CHLEBO, P. – HANÁČKOVÁ, E. – SLAMKA, P. 2009. Regulation of the phenolic profile of berries can increase their antioxidant activity. In: *J. Agric. Food. Chem.*, vol. 57, 2009, p. 2022-2029.
14. HUDEC, J. – **KOCHANOVÁ, R.** – BURDOVÁ, M. 2009. Ovplyvnenie fenolického profilu bobúľ a ich antioxidačnej aktivity neselektívnym inhibítorom enzýmov. In: *Antioxidanty 2009 : Zborník z 1. ročníka vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou, 6. mája, 2009*. Nitra : SPU, 2009, s. 95-102. ISBN 978-80-552-0209-9.
15. BURDOVÁ, M. – HUDEC, J. – **KOCHANOVÁ, R.** – KOBIDA, E. – TURIANICA, I. 2009. Antioxidačná kapacita jednotlivých častí citrusových plodov a obsah vitamínu C v ich šťave. In: *Acta horticulturae et regiotecturae, mimoriadne číslo*. Nitra : SPU, roč. 12, 2009, s. 56-58. ISSN 1335-2563.
16. HUDEC, J. – **KOCHANOVÁ, R.** – BURDOVÁ, M. 2009. Reguláciou fenolického profilu v bobuľovinách možno zvýšiť ich antioxidačnú aktivitu. In: *Acta horticulturae et regiotecturae, mimoriadne číslo*. Nitra : SPU, roč. 12, 2009, s. 75-77. ISSN 1335-2563.
17. HUDEC, J. – **KOCHANOVÁ, R.** – BURDOVÁ, M. 2009. Geneticky určenú nižšiu intenzitu farby niektorých červených vín možno zvýšiť reguláciou fenolického profilu v bobuliach. In: *Acta horticulturae et regiotecturae, mimoriadne číslo*. Nitra : SPU, roč. 12, 2009, s. 138-141. ISSN 1335-2563.

Ohlasy na publikácie zatiaľ neboli zaznamenané.