

Vliv rozdílného zpracování hroznů révy vinné na obsah vybraných organických kyselin

Bc. Jan Fikar

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jan FIKAR**

Osobní číslo: **T09530**

Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vliv rozdílného zpracování hroznů révy vinné na obsah vybraných organických kyselin**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizujte vybrané organické kyseliny
2. Popište základní technologické operace výroby hroznového vína
3. Vyjmenujte a stručně charakterizujte metody stanovení organických kyselin ve víně

II. Praktická část

1. Aplikujte vybranou metodu stanovení organických kyselin ve víně
2. Změřte vzorky odebrané v různých fázích výroby vína; naměřené výsledky diskutujte s dostupnou literaturou

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] KLOUDA, Pavel. **Moderní analytické metody**, Nakladatelství Pavel Klouda, druhé doplněné vydání, Ostrava 2003.

[2] VELÍŠEK, Jan. **Chemie potravin 2**, OSSIS, Tábor 1999.

[3] ROP, Otakar, HRABĚ, Jan. **Nealkoholické a alkoholické nápoje**, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, první vydání, Zlín 2009.

[4] ZEPPA, Giuseppe, CONTERNO, Lorenza, GERBI, Vincenzo. **Determination of Organic Acids, Sugars, Diacetyl, and Acetoin in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography**. *Food Chemistry*, Vol. 49, 2001. p. 2722-2726.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavel Hanuštiak

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl jsem seznámen s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce požít na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k vyšší výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Předmětem diplomové práce bylo stanovit vybrané organické kyseliny ve vzorcích vín, které byly odebrány v průběhu jejich výroby, pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie. V teoretické části práce je popsána technologie výroby révového vína, chemické složení, charakterizace vybraných organických kyselin a stručný popis metod stanovení organických kyselin ve víně. V praktické části je uvedena metodika stanovení organických kyselin ve víně pomocí HPLC a vlastní stanovení vybraných organických kyselin ve vzorcích vína.

Klíčová slova: víno, jablečno-mléčné kvašení, organické kyseliny, HPLC

ABSTRACT

The main object of this master thesis was to determine the selected organic acids in wine samples, taken during production, using high performance liquid chromatography. The theoretical part describes the wine grape production technology, chemical composition, the characterization of selected organic acids and a concise description of methods for determination of organic acids in wine. The experimental part is presented the methodology for establishing the organic acids in wine by HPLC and its own determination of selected organic acids in wine samples.

Keywords: wine, malolactic fermentation, organic acids, HPLC

Rád bych poděkoval svému vedoucímu diplomové práce panu Ing. Pavlu Hanuštiakovi za rady, připomínky a zodpovězené dotazy k danému tématu a za odborné vedení během vypracování diplomové práce.

Dále bych chtěl poděkovat panu doc. Ing. Miroslavu Fišerovi, CSc. a paní Ing. Lence Fojtíkové za cenné rady a pomoc v laboratoři.

V neposlední řadě děkuji své rodině a všem blízkým za veškerou podporu po celou dobu studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 VÝROBA RÉVOVÉHO VÍNA	13
1.1 DRCENÍ HROZNŮ A PŘÍPRAVA RMUTU	13
1.2 LISOVÁNÍ RMUTU	14
1.3 ODKALOVÁNÍ MOŠTŮ	16
1.4 ÚPRAVA MOŠTU PRO KVAŠENÍ.....	16
1.4.1 Úprava cukernatosti.....	17
1.4.2 Úprava kyselin v moštu	17
1.4.3 Síření moštu	17
1.4.4 Plnění moštu do kvasných nádob	18
1.5 KVAŠENÍ	19
1.6 ŠKOLENÍ.....	20
1.6.1 Jablečno-mléčné kvašení.....	20
1.6.2 Číření.....	22
1.7 FILTRACE	22
1.8 LAHVOVÁNÍ A EXPEDICE	23
1.9 LEGISLATIVA TÝKAJÍCÍ SE VÝROBY VÍNA.....	25
2 VINAŘSKÉ OBLASTI ČESKÉ REPUBLIKY	26
2.1 VINAŘSKÁ OBLAST ČECHY	26
2.1.1 Vinařská podoblast mělnická	26
2.1.2 Vinařská podoblast litoměřická.....	27
2.2 VINAŘSKÁ OBLAST MORAVA	27
2.2.1 Vinařská podoblast znojemská.....	28
2.2.2 Vinařská podoblast mikulovská	28
2.2.3 Vinařská podoblast velkopavlovická	29
2.2.4 Vinařská podoblast slovácká.....	29
2.2.4.1 Polešovice	30
3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ VÍNA	32

3.1	VODA	32
3.2	ETHANOL.....	33
3.3	GLYCEROL.....	33
3.4	MONOSACHARIDY	33
3.5	MINERÁLNÍ LÁTKY	34
3.6	DUSÍKATÉ LÁTKY	34
3.7	TŘÍSLOVINY.....	35
3.8	VITAMINY	35
3.9	BUKETNÍ LÁTKY	35
3.10	ORGANICKÉ KYSELINY	36
3.10.1	Alifatické monokarboxylové kyseliny.....	37
3.10.1.1	Octová kyselina (ethanová).....	37
3.10.2	Alifatické dikarboxylové kyseliny.....	38
3.10.2.1	Jantarová kyselina (butandiová).....	38
3.10.3	Alifatické hydroxykyseliny	39
3.10.3.1	Mléčná kyselina (2-hydroxypropanová)	39
3.10.3.2	Jablečná kyselina (hydroxybutandiová).....	40
3.10.3.3	Vinná kyselina (dihydroxyjantarová).....	41
3.10.3.4	Citronová kyselina (2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylová).....	42
4	STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN VE VÍNĚ	43
4.1	STANOVENÍ TITROVATELNÝCH KYSELIN	44
4.2	STANOVENÍ TĚKAVÝCH KYSELIN	44
4.3	STANOVENÍ KYSELINY VINNÉ	45
4.4	STANOVENÍ KYSELINY MLÉČNÉ	45
4.5	STANOVENÍ KYSELINY CITRONOVÉ	45
4.6	STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN POMOCÍ CHROMATOGRRAFIE.....	46
4.6.1	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography).....	47
4.6.2	Kolonová kapalinová chromatografie v systémech s obrácenými fázemi	49
5	CÍL PRÁCE	50
II	PRAKTICKÁ ČÁST	51
6	MATERIÁL A METODIKA	52
6.1	ANALYZOVANÝ MATERIÁL	52
6.2	STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN VE VÍNĚ METODOU HPLC (UV – VIS).....	52
6.2.1	Chemikálie a materiál.....	52
6.2.2	Přístroje a pomůcky.....	53
6.3	METODIKA	54
6.3.1	Postup pro naměření kalibračních křivek standardů	55

6.3.2	Postup pro stanovení organických kyselin ve víně.....	55
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	56
7.1	KALIBRAČNÍ KŘIVKY STANDARDŮ.....	56
7.1.1	Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny vinné.....	56
7.1.2	Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny jablečné.....	56
7.1.3	Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny mléčné	57
7.1.4	Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny octové	58
7.1.5	Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny citronové.....	58
7.1.6	Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny jantarové.....	59
7.2	STANOVENÍ VYBRANÝCH ORGANICKÝCH KYSELIN VE VZORCÍCH VÍNA.....	60
7.2.1	Stanovení organických kyselin ve vzorcích vinaře 1	60
7.2.2	Stanovení organických kyselin ve vzorcích vinaře 2	66
7.3	DISKUZE.....	70
	ZÁVĚR	71
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	72
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	76
	SEZNAM OBRÁZKŮ	77
	SEZNAM TABULEK.....	78

ÚVOD

Víno je jedním z nejstarších nápojů vznikající kvašením moštu z plodů révy vinné. Slovo *víno* pochází z latinského *vinum*. Jeho historie se vyvíjela z dob Mezopotámie a starého Egypta, přes antické Řecko a Řím až k současnosti. K rozvoji pěstování révy vinné u nás došlo až za vlády Karla IV. V současné době se výroba vína vyvinula v moderní potravinářské odvětví, ve kterém převládá velkovýroba.

Víno je tvořeno komplexem mnoha látek, které do něj přecházejí z moštu a jsou-li zastoupeny v ideálním poměru, vytvoří vínu jeho typicky nezaměnitelnou chuť a výjimečné aroma. Díky širokému zastoupení významných látek má víno konzumované v menším množství blahodárný účinek na lidský organismus.

Jednou z nejvýznamnějších složek vína jsou organické kyseliny, mezi které patří např. kyselina vinná, jablečná, citronová a mléčná. Organické kyseliny ovlivňují z velké části organoleptické vlastnosti vína (barvu, chuť, aroma). Tyto vlastnosti hodnotí konzument, proto je důležité znát složení vína, potažmo zastoupení jednotlivých organických kyselin. Ve výrobě vín existují technologické postupy, kterými lze změnit obsah organických kyselin ve víně, např. odkyselování při úpravě moštu před kvašením nebo jablečno-mléčné kvašení pomocí mléčných bakterií, které je využíváno často u výroby červených vín. Na jakost a kvalitu vín má největší vliv právě technologie, a to od samého počátku, neboli od pěstování vinné révy, přes lisování, kvašení až po zrání vín v sudech a následně v lahvích.

V 60. letech 20. století se začaly vyvíjet moderní analytické separační metody, jejichž pomocí lze např. zjistit látkové složení vína. Mezi tyto metody patří vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) umožňující analyzovat více látek najednou. Oproti klasickým laboratorním metodám má HPLC mnoho předností, např. rychlost a přesnost dané analýzy a také téměř úplná automatická. Tyto separační metody umožňují blíže rozpoznávat nejen složení jednotlivých látek ve víně, ale tím i jejich vhodný poměr.

Smyslem této práce bylo stanovit vybrané organické kyseliny ve víně v průběhu jablečno-mléčného kvašení a zjistit jaký vliv má tento proces na obsahy jednotlivých organických kyselin.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VÝROBA RÉVOVÉHO VÍNA

Hlavní surovinou pro výrobu vína jsou zdravé, čerstvé a dobře vyzrálé hrozny, které jsou sklizeny ze zdravých keřů révy vinné (rod *Vitis*, druh *viniferae*). Tyto keře musí být chráněny před roztoči a hlavně před nebezpečnými houbovými chorobami. Proti nim se preventivně používají postřiky zabraňující nežádoucí infekci. [1]

Réva vinná reaguje na agrotechnické zásahy, na podnebí a půdní podmínky, což se do jisté míry projevuje v charakteru výsledného vína. Záleží totiž i na pěstování révy na vinicích, kde začíná proces výroby vína. Důležité je stanovení technologické zralosti, která ovlivňuje obsah cukrů a kyselin v hroznech určených ke sklizni. Poté nastává raná, středně pozdní nebo pozdní sklizeň. Závisí to na odrůdě a typu vína, které má být vyrobeno. Jedná se o činitele, podle kterých se odlišuje technologie výroby vína. [2,3]

Hrozny jsou po sklizni přepraveny z vinohradu k vlastnímu výrobnímu procesu v dřevěných kádích nebo přeprávkách z plastů, které jsou hygienické, snadno omyvatelné a skladovatelné. Před zpracováním jsou hrozny odváženy pro výpočet výnosu a také pro zjištění výlisnosti. Poté je stanoven obsah cukru, popřípadě obsah přítomných kyselin. [3] Ke zpracování hroznů by mělo dojít co nejdříve po jejich převzetí. Je nutné, aby proces zpracování hroznů byl rychlý, čistý a s vyloučením možnosti vývoje nežádoucích mikroorganismů. [4]

1.1 DRCENÍ HROZNŮ A PŘÍPRAVA RMUTU

Drcení hroznů je prvním technologickým postupem po přejímce hroznů. Drcením nebo také mletím dojde k usnadnění vlastního lisování, zvýšení výlisnosti a zabraňuje se zapaření hroznů. [5] Takto rozdrčené bobule se nazývají rmut. Při drcení by měla každá bobule prasknout, nesmí být poškozeny semena (pecičky), třapina ani slupky. [4,5] Porušením těchto částí by se při nakvašování rmutu mohly do moštu vyluhovat nežádoucí látky, především chlorofyl a třísloviny a byla by tak negativně ovlivněna kvalita budoucího vína. [3]

Nejpoužívanějším typem drtičů jsou u nás mlýnky, které mohou být kombinovány s odzrňovacím žlabem a pístovým čerpadlem. [5] Modré hrozny se často odzrňují na odzrňovacích strojích, tzn., že se bobule oddělují od třapin, které mohou způsobovat

nechtěné chuťové tóny. Doporučuje se odzrňovat i některé aromatické bílé odrůdy pro získání výrazného aroma, jejichž rmut rovněž nakváší, avšak mnohem kratší dobu, než je tomu u modrých odrůd. [4] Cílem macerace u bílých odrůd je dosažení lepší extrakce aromatických látek vázaných ve slupkách a těsně pod slupkou, kdy tento proces trvá 6 až 24 hodin. [6] Dalším účelem je rozložení pektinu pomocí pektolytických enzymů, čímž dochází k usnadnění lisování, tím se zvýší výtěžnost a zlepší filtrovatelnost vína. Dále se zlepší vůně a barevnost moštu i vína. [3,5]

Při výrobě červených vín se musí nechat nakvášet rmut z modrých hroznů, aby byly vyluhovány třísloviny a antokyanová barviva. Takové rmuty musí být pravidelně promíchávány. Při tomto nakvašování se tvoří alkohol, který rozkládá stěny buněk s antokyanovým barvivem ve slupkách modrých hroznů a tím dodává vínu patřičnou intenzitu barvy. [1] Toto barvivo, uložené ve slupkách modrých bobulí, se nazývá oenin. Vznikající oxid uhličitý vynáší na povrch nečistoty, které se spojují v pevnou vrstvu, tzv. klobouk. Vyčnívající klobouk nad hladinou rmutu snadno podléhá oxidaci, následnému octovému kvašení a může být napaden mikroorganismy. Navíc v částech, kde je klobouk nad hladinou, nedochází k vyluhování barviv. Proto je nutné nořit klobouk v pravidelném intervalu do kvasícího rmutu. Doba vyluhování je závislá na vyzrálosti hroznů, stavu rmutu, intenzitě barvy, které má být dosaženo a dále na nakvašovací teplotě. Při teplotě 15 °C by nemělo trvat nakvašování déle než 8 dní. Při dlouhodobém procesu získá víno nepříjemně hnědou barvu, nepříjemnou chuť a dochází k octovému kvašení. [4,5]

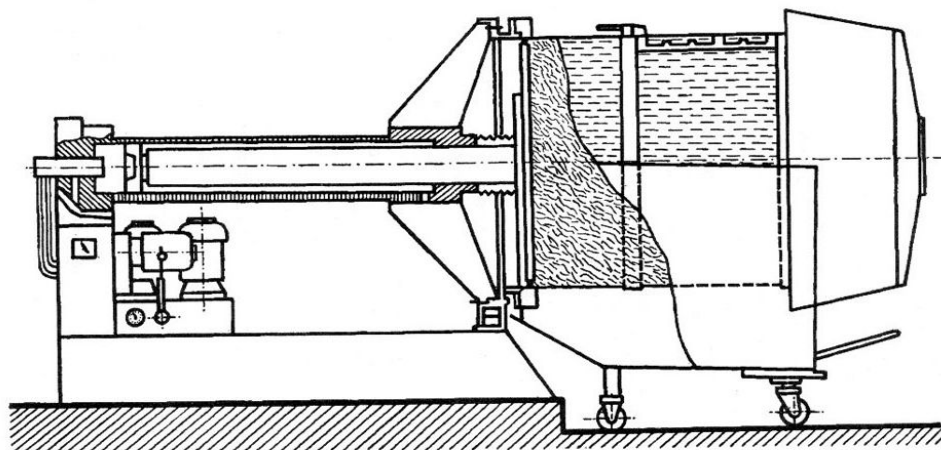
Vhodné je rmut před lisováním scedit, tím se zmenší jeho objem o 30 – 40 %, což vede k usnadnění a zrychlení lisování. K tomuto účelu slouží scezovací nádrže. Mošt, který získáme ze scezovacích, popřípadě zásobních nádrží a z koše lisů před stlačením, se nazývá samotok. Tento mošt musí být rychle zpracován, je totiž náchylný vůči oxidaci. [3]

1.2 LISOVÁNÍ RMUTU

Při lisování dochází účinkem tlaku na hrozný nebo rmut k oddělení moštu od pevných částí, tzv. matolin (slupky, třapiny, semena). Mošt vytéká z lisu a v jeho koši zůstávají hroznové výlisky. [2]

Lisování musí být pozvolné a přerušované, aby bylo zajištěno plynulé odtékání moštu. Matoliny (výlisky) se po prvním lisování rozdrobí a následuje další lisování. Výlisnost hroznů se pohybuje kolem 70 – 75 %, je to dáno odrůdou, kvalitou a stupněm zralosti hroznů. Z celkového podílu získaného moštu připadá na samotok asi 60 %, na první lisování 26 %, na druhé lisování 10 % a pokud se v procesu uplatní třetí lisování, tak získanému moštu připadají asi 4 %. [5] Samotok obsahuje nejvíce monosacharidů a kyselin. Mošty z prvního a druhého lisování tolik monosacharidů a kyselin neobsahují, avšak mají větší obsah extraktivních látek. Mošty z druhého, hlavně ale z třetího lisování obsahují více tříslovin a barviv, proto se někdy nespojují s moštem ze samotoku a prvního, případně i druhého lisování. [4]

Intenzitu a rychlost lisování ovlivňuje použitý tlak, konstrukce lisu, mechanické vlastnosti rmutu a také, zda je rmut odzrněný či nikoliv. [3] Při lisování odzrněného rmutu je odtok moštu pomalejší, obsah tříslovin a hořkých látek je menší. Zůstává-li v rozdrčených hroznech třapina, lisování trvá kratší dobu. Třapiny vytvářejí kanálky v lisované drti, kterými mošt rychleji odtéká. Mošty jsou kalnější, zvyšuje se jejich výtěžnost a přibývá polyfenolických i hořkých látek. Tyto mošty mohou snáze podlehnout oxidaci [7] V současné době se velmi osvědčují tzv. horizontální hydraulické lisy, dále se používají šnekové (šroubové) lisy a nejmodernější jsou lisy pneumatické, které hrozny nejméně poškozují. [3] Horizontální lisy mají vodorovně položený koš. Při vracení se lisovacího pístu rozmělnují nylonová lana nebo řetězy umístěné v koši matolinový koláč a připravují tak další fázi lisování. Toto se několikrát opakuje. Výhoda spočívá v tom, že není potřeba rozebírat koš. [4]



Obrázek 1: Horizontální hydraulický lis [3]

1.3 ODKALOVÁNÍ MOŠTŮ

Vylisovaný mošt vykazuje určitý stupeň zakalenosti. Tento zákal je způsoben přítomností pevných částic z bobulí hroznů. Jedná se především o semena, zbytky slupek, dužniny, v některých případech také o části třapin. Je velmi nežádoucí, pokud se mezi kalovými částicemi vyskytnou bakterie, plísně nebo dokonce rezidua přípravků na ochranu rostlin, které vedou ke znehodnocení budoucího vína. Intenzita odkalení musí být přizpůsobena zdravotnímu stavu hroznů a jejich kvalitě. O tvorbě kalových částic rozhoduje obsah polysacharidů v moštu. [6]

Odkalování moštů je možné provést několika způsoby. Buď se provádí tzv. statické odkalení, které probíhá pomocí dekantace. Nebo je použito dynamické odkalování, které vyžaduje strojní zařízení. Čistoty moštu je docíleno odstředivkami nebo filtrací přes vakuový filtr či pomocí flotace, při níž se moštem prohání vzduch nebo dusík. Kalicích částice jsou vynášeny na hladinu moštu a ve spodní části nádrže se odtahuje čistý podíl. Ke zpevnění kalu na povrchu se přidá do moštu odkalovaného flotací malé množství bentonitu. Příliš silné dynamické odkalení může vínu odebrat odrůdové aromatické látky. Další možností je výše zmíněná dekantace, kdy je možné mírné zasíření moštu, aby nedošlo k rychlému rozkvašení. Lepší je ale zchlazení moštu na 5 – 10 °C. K urychlení a zlepšení účinků dekantace je možné do moštu přidat bentonit nebo jiná čířidla. Pevné kalicích částice klesají během 10 až 24 hodin ke dnu sklepní nádoby a přečerpáním podílu moštu nad úroveň kalů do čisté, zasířené nádoby dojde k odstranění nečistot. [4,7]

1.4 ÚPRAVA MOŠTU PRO KVAŠENÍ

Zákonem dovolené úpravy moštu jsou zaměřeny jak na zlepšení nedostatků vznikajících vlivem nepříznivých klimatických podmínek, tak na přípravu moštu ke kvašení. [8] Při úpravě moštů jde nejčastěji u méně vyzrálých hroznů o napravení nedostatku cukernatosti moštu docukřením rafinovaným řepným cukrem nebo zahuštěným moštem a u příliš kyselých moštů odkyselením. Napadení hroznů nepříznivými vlivy a mikroorganismy lze upravit zasířením moštů. [9] Bez zlepšení moštů z hroznů, které nedosáhly technologické zralosti, by víno nemělo požadované sensorické vlastnosti. [10]

1.4.1 Úprava cukernatosti

Rékové mošty pro výrobu jakostních a stolních vín je dovoleno dosladit na 21 °NM u bílých vín a na 22 °NM u červených vín. Obsah cukru se zjišťuje pomocí normalizovaného moštoměru, který udává koncentraci zkvasitelných cukrů révových moštů v kg na 1 hl. Je-li potřeba zvýšit cukernatost o 1 kg na 1 hl moštu, musíme přidat přibližně 1,05 kg cukru. Přídavkem cukru se zvýší objem moštu za každý 1 kg o 0,6 l. Cukr se rozpustí ve dvou až trojnásobném objemu moštu a po rozpuštění se přečerpá do kvasných nádob (sudů) a promíchá s celým objemem. Cukernatost lze upravit také pomocí zahuštěného moštu, který se vyrábí z révových moštů ve vakuových odparkách při teplotě asi 35 °C a obsahují 50 – 60 % cukru. Zakázáno je docukření u révových vín s přívlastkem. [3,5]

1.4.2 Úprava kyselin v moštu

V nepříznivých ročnicích se může vyskytnout v moštu nadměrný obsah kyselin. Pokud veškeré kyseliny v moštu přesáhnou hodnotu 12 g.l⁻¹, používá se ke snížení jejich obsahu uhličitan vápenatý (CaCO₃). Odkyselit je možné až mladé víno po vyčištění. Při odkyselení moštu pomocí CaCO₃ se ve víně zachová více draslíku, který dobře tlumí chuťový vjem ve víně. Odkyselováním moštu se zvyšuje pH, tím se upravuje prostředí pro rozvoj mléčných bakterií. Proto se snižuje obsah jen kyseliny vinné, neboť přílišným odkyselováním by se mohl rozběhnout proces biologického odbourání kyselin již během kvašení nebo těsně po něm a kyselost moštu by klesla pod optimální hranici. [7]

V příznivých klimatických podmínkách obsahují mošty přiměřenou koncentraci kyselin, a tak není nutné kyselost upravovat. Kyselost moštu se běžně pohybuje v rozmezí 0,6 – 0,8 %, v nepříznivých letech dosahuje hodnoty až 1,6 %. [5]

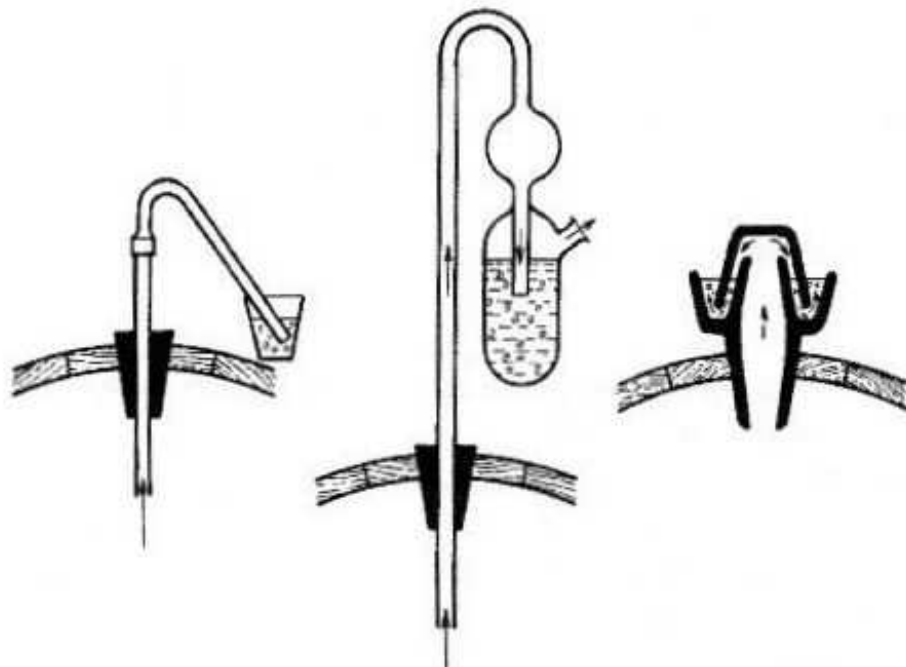
1.4.3 Síření moštu

Síření má široké spektrum účinnosti, je tedy nepostradatelným krokem ve výrobě vína. Provádí se pomocí oxidu siřičitého (SO₂), který působí v moštech redukčně a zároveň konzervačně. Ničí plísně, kvasinky a aerobní bakterie, které způsobují zoctovatění vína. Ve vhodných dávkách působí pozitivně na tvorbu buketu i chuťových látek budoucího vína a ovlivňuje jeho jakost. Jako redukční činidlo váže kyslík a chrání tak víno před oxidací.

Zabraňuje tak zhnědnutí vína vlivem kyslíku, naopak pomáhá udržovat barevnou stabilitu bílých a červených vín. Pokud se zpracovávají hrozny modrých nebo aromatických odrůd, šíří se velmi často již rmut. SO_2 má vliv na buněčnou strukturu bobulí a způsobí tak jejich destrukci. Buňky obsahující barviva pak lépe uvolňují svůj obsah do kvasícího moštu, a tím se zlepšuje barevnost. [2,3]

1.4.4 Plnění moštu do kvasných nádob

Dle potřeby upravený a ošetřený mošt naplníme do předem přichystaných kvasných nádob důkladně propláchnutých, popřípadě i zasířených, kde dojde k prokvašení moštu. Z důvodu zvětšujícího se objemu kvasícího moštu plníme nádoby asi do 4/5 celkového objemu, aby vytečením nevznikly ztráty. Takto naplněné nádoby uzavřeme kvasnou zátkou. [11] Kvasné zátky jsou vyrobeny z různých materiálů, nejrůznější konstrukce, dle velikosti nádob a jejich otvorů. Účelem je, aby z kvasné nádoby unikal oxid uhličitý přes vodní uzávěr do prostoru a současně kvasné zátky zabraňují kontaminaci moštu z vnějšího prostředí. [12]



Obrázek 2: Kvasné zátky [10]

1.5 KVAŠENÍ

Po naplnění moštu do kvasných nádob a sudů má na kvašení velký vliv nejen dostatečné množství monosacharidů, ale také teplota prostředí. Množství a aktivita kvasinek je nejlepší při teplotě od 22 do 27 °C. Ovšem nejvhodnější teplota sklepa a kvasírny by v době kvašení měla být 15 – 16 °C, při níž mošty dobře a rovnoměrně kvasí. Nízké teploty způsobí pomalé a nedokonalé prokvašení. Teploty vyšší jak 20 °C jsou také nevhodné, protože při nich mošt rychle prokvaší a tím dochází ke ztrátám buketu a alkoholu. [3]

Kvašení je biochemický proces kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* Hansen, které se dělí na dvě skupiny. První skupinou jsou kvasinky přírodní a druhou skupinu tvoří tzv. kvasinky kulturní. Ethanolové kvašení je definováno jako rozklad sacharidů na ethanol a oxid uhličitý (CO₂) bez přístupu vzduchu. Ze 100 g sacharózy vzniká cca 43 až 48 g ethanolu a zhruba stejné množství CO₂. [2] Ethanolové kvašení doprovází produkty jiných kvasných procesů, např. kyselina mléčná, glycerol, vyšší alkoholy a kyselina octová. [5]

Kvašením dochází také k fyzikálním změnám, mění se objem, hustota a vzniká teplo. Tímto procesem lze získat ve výsledném víně maximálně 17 až 19 obj. % alkoholu. Při obsahu alkoholu 12 obj. % a vyšším je potlačena činnost mikroorganismů, tzn., že dochází ke konzervačnímu účinku. Naopak vína, která mají obsah alkoholu nižší než 11 obj. % jsou náchylná ke druhotnému kvašení, mikrobiologické nestabilitě a ke zoctovatění. Druhým hlavním produktem je CO₂ unikající v průběhu rozkladu ve formě plynu, který vytlačuje vzduch, a tím tvoří ideální prostředí pro další kvašení. [2]

Alkoholické kvašení hroznového moštu rozdělujeme na tři fáze, a sice na začátek kvašení, bouřlivé kvašení a dokvašení. Na začátku kvašení přivykají kvasinky prostředí a pozvolna dochází k jejich pučení a následné biochemické reakci. V průběhu kvasného procesu, při tzv. bouřlivém kvašení získáváme rozkvašený mošt, neboli burčák, který je nápojem sezónním, v němž prokvasila více než polovina z celkového množství cukru, obsahuje 4 až 5 obj. % alkoholu a je velmi oblíbený pro své sensorické, ale i dietetické vlastnosti. Kvašení je ukončeno v době, kdy je zkvašen celkový obsah cukru obsažený v moštu, resp. obsah zbytkového nezkašeného cukru je velmi malý. [5,10]

1.6 ŠKOLENÍ

Cílem zrání (školení) je dosažení maximální stability a nejlepších vlastností vína. [1] Po skončení kvašení je třeba nádoby doplnit vínem postupným dolitím až po zátkovnici. Kvasnou zátku odstraníme a nahradíme ji dřevěnou nebo korkovou, kterou pokládáme zpočátku na otvor obráceně, později je možné zátku volně po směru zapustit. Nádoby i sudy doléváme jednou, někdy i dvakrát týdně, protože objem vína se vypařováním i ubýváním CO₂ snižuje. K dolití se používá školené zdravé víno stejné odrůdy. Teplota zrání nesmí kolísat o více než ± 3 °C, tyto výkyvy způsobují tvorbu zákalů. Pro zrání přírodních bílých vín jsou doporučeny teploty 8 až 10 °C, pro zrání červených vín 10 až 12 °C a pro těžká, extraktivní a dezertní vína se doporučuje 12 až 14 °C. [5,10]

Stáčení se u révového vína provádí dvakrát. Při prvním stáčení ještě mladého vína dbáme na minimální kontakt vína se vzduchem. Při nadměrném kontaktu vína se vzduchem může dojít k negativnímu ovlivnění aromatického charakteru výsledného produktu. Po ukončeném procesu kvašení je vhodné ve stočeném víně provést konečnou úpravu kyselin použitím jablečno-mléčného kvašení (JMK). Technologicky je možné provádět JMK již po úspěšném ukončení macerace rmutu současně s ethanolovým kvašením, ale JMK převažuje až po hlavním kvašení. [6]

1.6.1 Jablečno-mléčné kvašení

JMK neboli biologické odbourávání kyseliny jablečné se rozvine buď samovolně, nebo je nutné přidání vína, ve kterém se již JMK rozvinulo. Popřípadě se přidává do vína čistá kultura speciálního kmene mléčných bakterií *Oenococcus oeni*. [7] Bakterie jsou velmi náročné na složení živné půdy, kterou potřebují pro svou činnost, proto byly selektovány jejich nejlepší klony. [2] Jelikož je způsobováno bakteriemi, nejedná se o skutečné kvašení (fermentaci), avšak se toto označení zcela vžilo a používá se po celém světě. [6]

Tímto biologickým procesem, který se volí nejčastěji u vín s vysokou kyselostí, se rozkládá kyselina jablečná na kyselinu mléčnou a CO₂. Snižuje se nejen celková kyselost vína, ale zjemňuje se i původní ostrá, kyselá chuť kyseliny jablečné po její přeměně na slaběji disociovanou kyselinu mléčnou a víno se jeví jako hladké, sametové, s optimálním

poměrem kyselin. [3,4] Zejména červená vína by měla projít JMK, jelikož pak ztrácejí svoji chuťovou tvrdost. [5] U vín pro dlouhé ležení je nutné počítat s tím, že se obsahy kyselin při delším zrání snižují. Odbourání kyseliny jablečné se doporučuje pouze ze dvou třetin jejího množství. Školené víno se infikuje kulturními mléčnými bakteriemi ve stádiu rozkladu vinných kvasinek, ze kterých získávají bakterie potřebné dusíkaté látky. Mléčné bakterie se vyskytují jen v přítomnosti autolyzovaných kvasinek. [2]

Na vlastní proces JMK má vliv hodnota pH, která je jedním z nejdůležitějších faktorů. Obvyklá hodnota moštu leží mezi $\text{pH} = 3,0 - 3,6$. Mléčné bakterie se snáze rozmnožují při vyšších hodnotách pH, z čehož plyne rychlejší průběh JMK. Nízké pH může být upraveno chemickým odkyselením tak, aby bylo dosaženo hodnot $\text{pH} = 3,3 - 3,4$. Další ovlivňující faktor je teplota, kdy teplotní optimum pro JMK leží mezi $22 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Při teplotách pod $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ většinou nedochází ke spontánnímu nástupu a průběhu JMK, proto se doporučuje teplota alespoň $18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nejvýznamnější faktor ovlivňující nástup a průběh JMK je obsah oxidu siřičitého (SO_2), který velmi dobře eliminuje populaci všech bakterií. Volný SO_2 má 5 – 10krát vyšší antimikrobiální působení než vázaný SO_2 . Před zahájením JMK nelze víno zasířit, protože by došlo k zahubení potřebných mléčných bakterií. [6]

Po rozkladu veškeré kyseliny jablečné vzniká nebezpečí rozkladu kyseliny citronové za vzniku diacetylu, jehož máselné aroma není příjemné. Diacetyl vzniká i při rozkladu kyseliny jablečné, a proto je nutné po ukončení JMK nechat víno asi 2 týdny vyvětrat. Až poté je možné celý proces ukončit přiměřeným zasířením vína. [7] Protože je JMK biologický proces, musí se po regulačním zásahu počítat s pozvolným ukončováním činnosti mléčných bakterií. Předejde se tak nadbytečnému odbourání kyseliny jablečné, díky němuž vzniká fádňí víno s příchutí po kvašeném zelí, která je způsobena vznikajícím diacetylem. [2]

U tvrdých vín se podpoří JMK občasným promícháním kalů a ponecháním vína delší dobu na kvasnicích. Vína s nízkým obsahem kyselin stočíme z kalů předčasně a silnějším zasířením zabráníme činnosti mléčných bakterií. [11] . JMK musí proběhnout rychle, aby nedošlo ke skutečné oxidaci vína, která by byla z hlediska kvality nežádoucí. Vína po správně provedeném JMK mají pozitivní vliv na budoucí stabilitu a dalo by se říci, že jsou i mikrobiálně stabilní. [6]

1.6.2 Čiření

Čiření vína znamená přidání absorpčního materiálu do vína s cílem odstranit nebo snížit obsah nežádoucích látek. Pomocí těchto absorpčních materiálů – čířidel získáme víno, které je čisté, čiré, má kvalitní barvu, aromatický a chuťový projev, tzn., že dochází k zabezpečení stability vína. Podruhé je víno stáčeno v březnu až dubnu a před jeho filtrací se číří taninem a želatinou, popř. hexakvanoželeznatanem draselným (ferrokyanid draselný), mladá vína je možno čířit bentonitem. Vína vzhledově či chuťově nevyhovující se mohou čířit některým z následujících čířidel. Většina čířících materiálů obsahuje elektrický náboj, na který se váže opačný elektrický náboj jiných látek ve víně, ty se potom spojují ve větší částice sedimentující na dno nádoby. [5,6]

Kladným nábojem se vyznačují čířidla bílkovinné povahy jako vaječný bílek, mléko, želatina, vyzina a kasein. Záporným nábojem působí tanin, bentonit, agar, kyselina křemičitá, křemelina, kaolinová hlinka, aktivní uhlí a vinné kvasnice. Před každým čiřením se musí provést zkouška pro stanovení správné dávky čířidla. Víno určené k čiření musí být dokvašené a nesmí v něm doznívat průběh jablečno-mléčného kvašení. Čířidlo se musí ve víně řádně rozmíchat, aby bylo dokonale rozptýleno. Víno je nutné po vyčiření včas stočit z kalů a přefiltrovat. [3,10]

1.7 FILTRACE

Pomocí filtrace jsou z vína odstraněny pevné částice tak, že víno protéká filtračním materiálem různé struktury a hustoty. Průniku pevných částic kalíčních víno skrz filtrační hmotu brání nejen velikost pórů filtračního materiálu, ale i adhezivní (poutací) síly, které přitahují částičky kalu ke stěnám kanálků vytvořených ve filtrační hmotě. Jako filtrační materiál se používá filtrační papír, křemelina, celulózové desky a plastové membrány. [7]

Filtrování křemelinou je možné použít i u kalnějších vín. Pro tento způsob filtrace slouží křemelinové naplavovací filtry s čerpadlem a dávkovačem. Dalším způsobem je filtrace přes deskové filtry, kdy nastavíme tlakové poměry filtrace a filtr na začátku procesu a během promývání odvzdušníme. V průběhu filtrace udržujeme plynulý tok vína bez tlakových nárazů. [3] U velkých vinařských firem se používá membránová filtrace probíhající přes membrány, které jsou podle konstrukce a zvolené membrány použitelné od

hrubé filtrace až po mikrobiální sterilizaci vín. Víno se může filtrovat několikrát, ale je nutné předcházející čiření a po filtraci se víno buď nechá zrát nebo je lahvováno. [5]

Při filtraci na jakémkoliv filtru je nutné propláchnutí filtrační hmoty a udržování zařízení v naprosté čistotě. Výkon filtrace je závislý na použitém zařízení, filtrační hmotě a také na zakalenosti vína. [3]

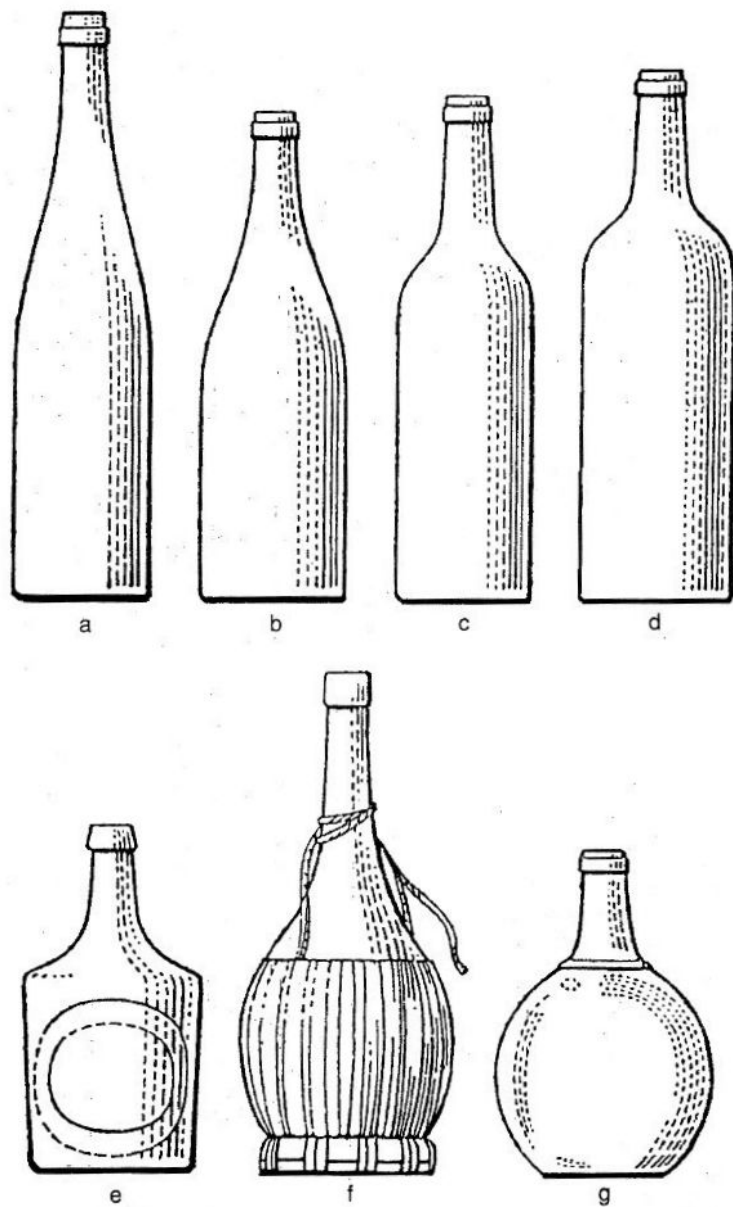
1.8 LAHVOVÁNÍ A EXPEDICE

Víno v malých nádobách a hlavně v dřevěných sudech rychle zraje, jeho kvalita se tedy delším ležením zhoršuje. Proto se víno stáčí do lahví a to v době, kdy je plné, osvěžující, výrazné a lahodné v chuti. Včasným lahvováním je zachována jeho svěžest i buketní látky. [10] Lahvuje se víno již plně dokvašené, stabilizované, a vyčiřené. Při plnění lahví vínem je důležité co nejvíce omezovat přístup vzduchu. [12]

Každá odrůda zraje v sudech různou dobu a jinak se v lahvích vytváří při různé době lahvování. [13] Vína ranějších odrůd s nižším obsahem kyselin je třeba lahvovat dříve než odrůdy s vyšším obsahem kyselin. O rychlosti zrání vína a termínu jeho lahvování rozhoduje teplota sklepa, velikost sudů a způsob zpracování a školení vína. [11] Při lahvování utrpí víno šok a několik týdnů trvá, než se rovnováha opět ustálí. V lahvích probíhá další zrání vína a postupně se v závislosti na podmínkách skladování a na druhu vína vytváří tzv. lahvová zralost. [7]

Víno je plněno do skleněných typizovaných, případně různě tvarovaných lahví o objemu 0,7; 0,75 nebo 1 litr a jsou buď tmavě zelené nebo hnědé barvy, v některých případech se víno plní do bezbarvých lahví. Révové víno s přívlastkem je možno plnit jen do skleněných lahví o objemu 0,75 l. Lahve naplněné vínem jsou uzavírány většinou korkovými zátkami pomocí zátkovaček, někdy jsou použity tzv. zátkozáklopkky z plastů, které se na hrdla lahví narážejí.

Naplněné a zazátkované lahve se před expedicí důkladně prohlíží a ty, ve kterých jsou nečistoty, se vyřadí. Do prodeje jdou lahve s vínem adjustované se zátkami (záklopkami) a s uvedením všech potřebných údajů na etiketách. Při expedici v zimním období je nutné víno zabezpečit proti zmrznutí, jelikož se při nižší teplotě rychle sráží hydrogenvinan draselný (vinný kámen). [3,11]



Typy lahví na víno: a - pistole, b - burgundská láhev, c - bordóská láhev, d - Fûrederova, e - mēlnický kalamář, f - chianti, g - kamenáč

Obrázek 3: Rozdílné tvary lahví na víno [10]

1.9 LEGISLATIVA TÝKAJÍCÍ SE VÝROBY VÍNA

Ze zákona 321/2004 Sb. o vinohradnictví a vinařství jsou zde uvedeny následující pojmy, které se týkají zpracování hroznů a výroby vína:

Rmut – zpracováním narušené vinné hrozny, z nichž lze vyrobit produkt.

Hroznový mošt – přirozenou cestou nebo fyzikálním postupem z čerstvých vinných hroznů získaný tekutý výrobek. Připouští se skutečný obsah alkoholu v hroznovém moštu až do 1 % objemového.

Burčák – částečně zkvašený hroznový mošt pocházející výlučně z vinných hroznů, které byly sklizeny a zpracovány na území České republiky.

Víno – výrobek, který byl získán výhradně úplným, nebo částečným alkoholovým kvašením čerstvých, také rozdrcených vinných hroznů nebo hroznového moštu.

Skutečný obsah alkoholu v % obj. – počet objemových jednotek čistého alkoholu, které výrobek obsahuje při 20 °C ve 100 objemových jednotkách.

Možný obsah alkoholu v % obj. – počet objemových jednotek čistého alkoholu při 20 °C, které mohou vzniknout úplným prokvašením cukru obsaženého ve 100 objemových jednotkách výrobku.

Celkový obsah alkoholu v % obj. – součet skutečného a možného obsahu alkoholu.

Vinařství – zpracování vinných hroznů, rmutu, hroznového moštu nebo vína, povolenými technologickými postupy, plnění produktu do obalu, označování produktu a jeho uvádění do oběhu.

Uvádění do oběhu – nabídka produktu k prodeji, jeho prodej anebo jiná forma jeho nabídky ke spotřebě, včetně skladování pro potřeby prodeje, případně přepravy pro potřeby prodeje, nebo nabídky ke spotřebě.

Cukernatost – obsah zkvasitelných cukrů v hroznovém moštu, vyjádřený ve stupních normalizovaného moštoměru.

Stupeň normalizovaného moštoměru – obsah zkvasitelných cukrů ve vinných hroznech, vyjádřený v kilogramech na 1 hektolitr hroznového moštu.

Výroba – provádění technologických nebo enologických postupů, nebo ošetření do okamžiku, kdy je produkt naplněn do obalu určeného spotřebiteli, popřípadě prodejci [14]

2 VINAŘSKÉ OBLASTI ČESKÉ REPUBLIKY

Rozmanité území České republiky bylo vinařským zákonem z roku 1995 rozděleno na vinařské oblasti. Bylo stanoveno celkem 16 vinařských oblastí, z nich 10 na Moravě a 6 v Čechách. Každá vinařská oblast se vyznačovala odlišnými půdně-klimatickými podmínkami a vína, která z nich pocházela, svým typickým charakterem. Česká republika je v současné době rozdělena na 2 vinařské oblasti – Čechy, které se dělí na 2 vinařské podoblasti a Morava, které se dále dělí na 6 vinařských podoblastí. Každá podoblast zahrnuje množství vinařských obcí, v jejichž katastrálním území se rozprostírají vinice, které tvoří tzv. viniční tratě. Protože je v našich vinařských podoblastech značně proměnlivé klima, jsou objemy sklizní hroznů kolísavé. V dlouhodobém průměru se na moravských vinicích sklízí 6 tun hroznů z 1 ha a na českých vinicích necelé 4,5 tuny. [15]

2.1 VINAŘSKÁ OBLAST ČECHY

Tato oblast patří k nejseverněji položeným v Evropě, tvoří ji podzolové půdy a hnědozemě, které vznikly převážně zvětráním opuky a čediče. [11] Dříve se v Čechách pěstovala réva vinná na poměrně rozsáhlém území, iniciátorem rozšíření českého vinařství byl císař Karel IV., avšak největšího rozvoje bylo dosaženo za vlády Jiřího z Poděbrad a Vladislava Jagelonského, kdy vinice zabíraly kolem 3500 ha. [15] V dnešní době jsou vinice řídce rozmístěny na území severních, středních a západních Čech. Nejvíce vinic se nachází okolo Mělníka, Litoměřic a Mostu, také v blízkosti velkých řek – Vltavy, Labe, Ohře a Berounky. [7] Dle situační a výhledové zprávy se ke 31.12.2009 ve vinařské oblasti Čechy nachází 642 ha vinic, což tvoří jen asi 3,7 % všech vinic České republiky. [16]

2.1.1 Vinařská podoblast mělnická

Mělnické vinice leží na vápenitém podkladu vrstev opuky, kterou místy překrývají hlinitopísčité náplavy. Půdy jsou lehčí, záhřevné a poskytují tak výborné podmínky pro pěstování modrých odrůd, jako např. Rulandské modré, Modrý Portugal, nebo Svatovavřínecké. I přesto tvoří v současnosti většinu ploch vinic mělnické podoblasti odrůda Müller Thurgau.

Mělník je sídlem Cechu českých vinařů, který sdružuje vinaře z celé vinařské oblasti Čechy. Ve městě a jeho okolí se také nacházejí dvě školy, které se zabývají vinohradnictvím a vinařstvím. [15]

2.1.2 Vinařská podoblast litoměřická

Ve vinařské podoblasti litoměřické jsou vinice zakládány v okolí velkých měst, která bývala významnými vinařskými středisky. Přední místo mezi nimi zaujímaly Litoměřice, které využívaly výhodného umístění u řeky Labe. [7]

Na větší části území této podoblasti se rozprostírá České středohoří, zahrnující rozsáhlé území od Roudnice nad Labem přes Litoměřice až k Ústí nad Labem a dále na západ k Mostu a Kadani. Podloží vinic Litoměřicka a Mostecká je z velké části čedičové, na nižších svazích vápenité. [15]

Nositeli zdejší vinařské tradice byly vedle měst rovněž kláštery. Mnohé můžeme obdivovat dodnes, k nejznámějším patří klášter františkánů v Kadani nebo cisterciácký klášter Osek. [7]

2.2 VINAŘSKÁ OBLAST MORAVA

Morava se geologicky nachází na rozhraní dvou základních stavebních jednotek evropského subkontinentu. Žulové masivy západní části končí v linii vymezené Brnem a Znojmem, kde začíná východní alpsko-karpatská oblast. Jižní Morava je podle archeologických pramenů územím s nejstarší vinohradnickou a vinařskou tradicí u nás. Historicky je nerozlučně spjata rozšiřování vinic na Moravě s kláštery, kdy koncem 12. a začátkem 13. století docházelo k obdarování klášterů vinicemi. [15]

Ve vinařské oblasti Morava se nachází drtivá většina našich vinic. [7] Podle situační a výhledové zprávy je ke dni 31.12.2009 ve vinařské oblasti Morava 16 716 ha vinic, tj. přibližně 96,3 % vinohradů České republiky. [16] Tato plocha je rozložena na čtyři podoblasti. Největší plochy vinic leží ve vinařské podoblasti velkopavlovické, kde dosahuje rozloha všech vinohradů necelých 5 tisíc ha. [7]

Zránění hroznů probíhá na Moravě pomaleji, proto se v nich koncentruje větší množství a rozmanitost aromatických látek. Souhrn chuti a vůní podtrhují svěží kyseliny, díky kterým vzniká harmonické a pro jednotlivou podoblast charakteristické víno. [15]

Klima je přechodné s příklonem k vnitrozemskému, občas se projeví vpády vlhkého atlantického vzduchu nebo i ledového z vnitrozemí. Vegetační doba vyniká ve většině let vyšší tepelnou intenzitou letních měsíců, což působí příznivě na zkracování vegetačních fenofází révy a umožňuje tak pěstování odrůd s pozdním vyzráváním hroznů, ze kterých vznikají vysoce jakostní vína. [15] Jižní část Moravy svými klimatickými a půdními podmínkami poskytuje ideální možnosti pro pěstování révy vinné. [11]

2.2.1 Vinařská podoblast znojemská

Nejzápadnější z moravských vinařských podoblastí se nachází v okolí úrodného Dyjsko-svrateckého úvalu, který tvoří především mořské a sladkovodní usazeniny a spraše. Páteří vinařské podoblasti znojemské je řeka Dyje, dále sem z Vysočiny vtéká Jevišovka, která se těsně za hranicemi podoblasti s Dyjí spojuje.

Důležitou roli v historických počátcích místního vinohradnictví a vinařství sehrály opět kláštery, mezi nejvýznamnější patří premonstrátský klášter v Louce, v jehož sálech se dnes nachází vinařská expozice a ve sklepení dodnes zrají vína. Dalšími významnými kláštery byly ženský premonstrátský klášter Rosa Coeli v Dolních Kounicích nebo benediktinský klášter v Rajhradě. [7]

2.2.2 Vinařská podoblast mikulovská

Z hlediska své polohy má vinařská podoblast mikulovská výjimečné postavení v rámci našich vinařských regionů. Středobodem této podoblasti je Chráněná krajinná oblast Pálava, která zaujímá lokalitu Pavlovských vrchů. Na úbočích Pavlovských vrchů a v jejich širším okolí jsou rozšířeny vápenité jíly, písky i mohutné sprašové návěje.

Mikulov se záhy stal významným vinařským střediskem díky výborným polohám jak v blízkosti města, tak v okolních obcích. Slavnou minulost města připomíná mikulovský zámek, jehož sklepení ukrývá unikátní sud o objemu 1010 hl, největší ve střední Evropě.

Na východ od Pálavy se rozkládá Lednicko-valtický areál, kterému se přezdívá „zahrada Evropy“. Vedle Mikulova vynikly zejména Valtice, které zdobí zámek, v jehož rozsáhlých sklepeních se nachází „Salón vín České republiky“ spolu s moderním degustačním centrem. Ve Valticích dodnes působí naše nejstarší vinařská škola. [15]

2.2.3 Vinařská podoblast velkopavlovická

V této vinařské podoblasti jsou rozmanité půdní podmínky, od vápenitých jílu přes slepence až po pískovce. Rozlohou vinogradů se vinařská podoblast velkopavlovická pyšní tou vůbec největší v České republice. Podoblastí protékají Svratka a Litava, z menších toků je známá říčka Trkmanka, která protéká přímo Velkými Pavlovicemi.

Velkopavlovicko patří mezi nejteplejší a nejslunnější místa naší země, a tak se na místních půdách bohatých na hořčík daří modrým odrudám, ze kterých vznikají lahodná červená vína.

Moravská metropole Brno sehrála důležitou roli v historii moravského vinařství, jelikož se ve městě i v jeho okolí nachází celá řada klášterů, které se zasloužily o rozvoj vinohradnictví a vinařství. Na vývoj této podoblasti měly významný vliv i jiné církevní řády, z nichž nejznámější je rytířský řád templářů. Komtur Ekko, velitel řádu pro Čechy, Moravu a Rakousko, sídlil přímo v Čejkovicích, kde mohutné templářské sklepy připomínají dodnes moc a slávu templářského řádu. Kromě Brna plní nezastupitelnou roli tradiční vinařská města, především Židlochovice a Hustopeče, kde se nachází vinařské muzeum. [7]

2.2.4 Vinařská podoblast slovácká

Tato rozsáhlá podoblast se nachází na jihovýchodě Moravy a vyznačuje se různorodými přírodními podmínkami, zahrnuje nejvýchodnější a nejsevernější území jižní Moravy. Na jihu Slovácka je krajina zvaná Podluží, kde většina vinařských obcí leží v údolí řeky Moravy, kudy vanou ochlazující severovýchodní větry. Vhodná stanoviště pro vinice jsou na úbočích terénního zlomu nad říčkou Kyjovkou nebo na výše položených rovinatých místech s lehkou půdou. Nízká nadmořská výška a lehká půda stupňují intenzitu

letních teplot, a tak zde vznikají vína s výrazným odrůdovým charakterem. Typické odrůdy, kterým se tady daří, jsou z bílých Ryzlink rýnský a burgundské odrůdy, pro červená vína to jsou Frankovka, Zweigeltrebe a v obci Moravská Nová Ves nově vyšlechtěná odrůda Cabernet Moravia.

Vinice roztroušené řídce po kraji zhoustnou kolem Kyjova a hlavně kolem Polešovic, kde ve šlechtitelské stanici vznikla odrůda Muškát moravský a několik stolních odrůd. Na severovýchodě vinařské podoblasti slovácké je Uherské Hradiště, kolem kterého se nachází celá řada vinařských obcí. Vinice jsou rozmístěny po krajině ve vyšší nadmořské výšce a využívají jižní straně kopcovitého terénu.

Nejvýchodnější část Slovácka leží na předhůří Bílých Karpat, díky nimž zde panují výrazně odlišné půdní a mikroklimatické podmínky, než jaké jsou běžné pro jižní Moravu. Zdejší viniční polohy se odlišují od ostatních moravských vinařských podoblastí tím, že jsou tady vinice vysázeny na těžkých půdách vzniklých z původních jílu, kde tvoří podloží vápencové usazeniny, vrstvy pískovců a jílovců. Jsou to půdy vododržné a réva se na nich daří i v suchých létech, což dodává vínům pocit vyšší extraktivnosti a chuťové plnosti. [15]

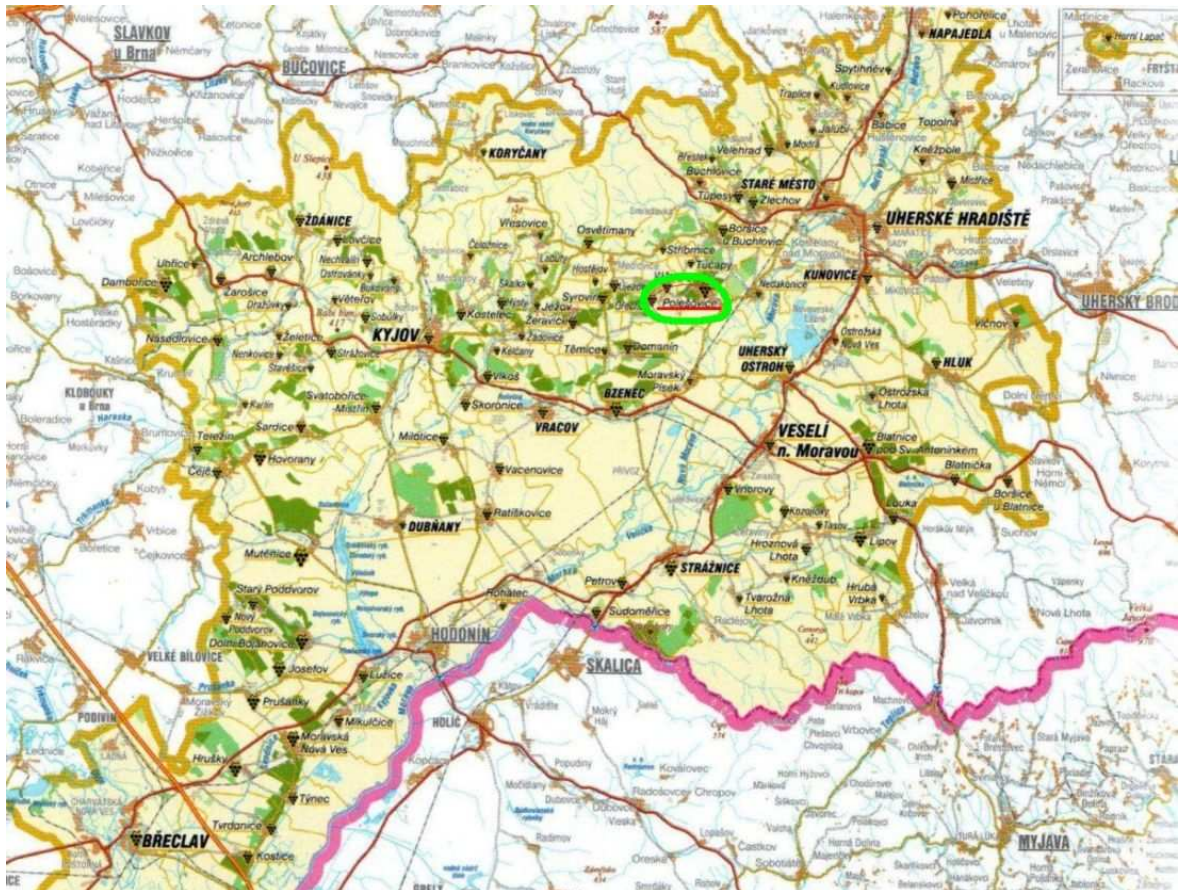
Město s dlouholetou vinařskou historií, ležící téměř uprostřed slovácké podoblasti, se nazývá Bzenec. Vzniklo zde jedno z prvních vinařských družstev, které vešlo do obecného povědomí známkovým vínem z Ryzlinku rýnského pojmenovaným „Bzenecká lipka“. [7]

2.2.4.1 Polešovice

Polešovice jsou známou lokalitou z dob Velkomoravské říše a po jejím pádu počátkem 10. století jsou uváděny jako jedno z možných dočasných sídel moravského biskupství. Roku 1220 získal Polešovice velehradský klášter, který byl založen počátkem 13. století mnichy cisterciáckého řádu, kteří měli velký vliv na rozvoj polešovických vinogradů. Polešovice tak byly významným zdrojem vína pro velehradský klášter a velkým zájemcem o kvalitní polešovická vína se stali také olomoučtí biskupové. [17]

Polešovice leží uprostřed strání, na kterých je vysázena réva vinná. Předností těchto strání je, že jsou omývány teplými fénovými větry a to ve druhé polovině roku, kdy to réva nejvíc potřebuje. [18]

Zdalo by se, že je to oblast okrajová, ale právě víno z tohoto kraje má vyhraněný odrudový charakter. Dobré výsledky má tamější vinařská šlechtitelská stanice, díky níž se zde vysazují odrůdy dávající bohaté sklizně jakostních hroznů. [1]



Obrázek 4: Vinařská podoblast slovácká s vinařskou obcí Polešovice [15]

3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ VÍNA

Na chemické složení vína působí několik zásadních faktorů, podle nichž se mění jednak poměr mezi zastoupením jednotlivých látek a také počet složek utvářejících víno. Největší vliv na chemické složení vína mají čtyři základní činitele, kterými jsou odrůda, půda, poloha vinice a klimatické podmínky během vegetačního období. [11]

Tabulka 1: Chemické složení vína [5]

Parametr	Obsah [obj.%]
Voda	83
Ethanol	12
Glycerol	1
Zkvasitelné cukry	1
Kyseliny	0,8
Minerální látky	0,3
Dusíkaté látky	0,25
Oxid uhličitý	0,03
Třísloviny	0,02 – 0,3*
Vitaminy	0,001
Buketní látky	0,001

*pozn.: červené víno obsahuje až 0,3 % tříslovin

3.1 VODA

Voda je hlavní složkou a rozpouštědlem většiny ostatních látek. [19] Obsah vody ve vínech je vždy vyšší než v mošttech, protože asi 50 % cukru se při kvašení přemění na CO₂, který vyprchá a část extraktivních látek se z vína vyloučí s nerozpustným podílem. [20]

3.2 ETHANOL

Po vodě je ethanol hlavní složkou vína s průměrnými 9 – 13 % obj. (odpovídá 72 – 104 g.l⁻¹). Je důležitým jakostním kritériem, jelikož souvisí s obchodní hodnotou vína. Jeho zásluhou je víno plné a extraktivní, podporuje i aroma ve víně. [19]

Pro vznik 1 % obj. ethanolu musí kvasinky prokvasit 16 až 18 g cukru v 1 l moštu. [7] Podle obsahu alkoholu rozlišujeme vína lehká, střední (harmonická) a těžká (alkoholická). [11]

3.3 GLYCEROL

Glycerol jako produkt kvašení dodává vínu tělo a plnost. Vzniká hlavně na počátku kvašení a je vytvářen především divokými kvasinkami. Podíl glycerolu k ethanolu je tzv. glycerolový faktor a při běžném prokvašení se ve víně pohybuje v poměru cca 1 : 10, což odpovídá množství glycerolu 6 až 10 g.l⁻¹. [19]

Glycerol vzniká ve větším množství ve vínech z hroznů napadených ušlechtilou plísní šedou (*Botrytis cinerea*), kde zvyšuje sladkost i vláčnost chuti a vyrovnanost složek. [7]

3.4 MONOSACHARIDY

Obsah cukru určuje cukernatost, která je základním parametrem pro zařazení vín do jakostních stupňů, odvíjí se od ní totiž potenciální obsah alkoholu v budoucím víně. [6]

U moštu s vyšším obsahem cukru zůstává ve víně po vykvašení ještě určité množství neprokvašeného, tzv. zbytkového cukru, který dává vínu sladkou chuť. [4]

Nejčastěji zastoupeny bývají hexózy, obzvláště glukóza (hroznový cukr) a fruktóza (ovocný cukr), které jsou dobře zkvasitelné. [21] Poměr mezi glukózou a fruktózou se během kvašení mění z původního poměru 1 : 1 ve prospěch fruktózy, protože glukóza je kvasinkami zpracovávána dříve a více než fruktóza. Je-li kvasný proces zastaven (vína s přívlastkem), lze zjistit převahu fruktózy prostřednictvím změny optické otáčivosti.

Přídavkem moštu se začíná blížit opět poměr 1 : 1. Fruktóza má sladivost 114, zatímco sladivost glukózy je 69, a tak nejen proto existují sensorické rozdíly ve víně. [19]

3.5 MINERÁLNÍ LÁTKY

Mnohé z nich se podílejí na chuťovém dojmu a většinou dodávají vínu na svěžesti a plnosti. [7] Na obsah minerálních látek ve víně má velký vliv půda, její geologický původ a také klimatické podmínky. [6] Obsah těchto látek se snižuje jejich krystalizací, vysrážením, nebo využitím kvasinkami. Celkové množství se uvádí jako obsah popelovin, zbytek po spálení organických součástí vína. [19]

Hlavní součástí popela zbylého z vína je oxid draselný, kterého bývá 50 – 70 % a oxid fosforečný v množství 8 – 25 %. Draslík a jeho sloučeniny působí pozitivně na činnost srdce. Dále jsou zde kyslíkaté sloučeniny vápníku, hořčíku, železa, sodíku a manganu. Obsah minerálních látek ve víně se někdy uměle zvyšuje, např. při odkyselování vína uhličitanem vápenatým, při síření pyrosiřičitanem draselným, při čiření bentonitem apod. Vína červená mají vždy vyšší obsah minerálních látek než bílá vína, což souvisí s technologickým postupem při zpracování hroznů. [11]

3.6 DUSÍKATÉ LÁTKY

Dusíkaté látky jsou zastoupené hlavně bílkovinami, které se účinkem enzymů proteáz odbourají na aminokyseliny. Ty jsou důležité pro biologické odbourání kyselin mléčnými bakteriemi, kterým poslouží aminokyseliny jako výživa.

Přítomnost bílkovin je důležitá zejména pro kvasný proces, kdy v průběhu kvašení silně klesá obsah celkového dusíku a po skončení kvašení obsah dusíku pomalu roste. Rozpustné dusíkaté látky jsou totiž důležitým zdrojem živin pro kvasinky.

Obsah bílkovin ve víně má velký význam pro jeho celkovou kvalitu, protože s obsahem dusíkatých látek je často spojená tvorba buketních látek, biologické odbourání kyselin a oxidační pochody ve víně. [20,21]

3.7 TŘÍSLOVINY

Třísloviny ve vínech pocházejí ze semen, slupek, třapin nebo část tříslovin může pocházet z dubového dřeva sudů. Třísloviny jsou látky, jejichž základem je tanin, který je směsí glykosidů s různým obsahem kyseliny gallové. [11,21]

Třísloviny ve spojení s vyšším obsahem kyselin jsou původcem svíravé chuti. [22] Mají trpkou příchut', srážejí bílkoviny a chovají se jako slabé kyseliny. Tanin je důležitý pro čištění vína i jeho trvanlivost, podporuje rozpouštění červeného barviva při nakvácení rmutu a ustaluje ho. Přiměřený obsah taninu je podmínkou jiskrné a výrazné barvy červených vín, doplňuje jejich chuť a chrání vína proti rozkladným vlivům bakterií. Vyšší obsah taninu u bílých vín snižuje jejich kvalitu, víno se stává příliš drsným. [11]

3.8 VITAMINY

Vitaminy jsou biologické katalyzátory, které většinou již v nepatrné koncentraci ovlivňují vyvážený a citlivý systém přeměny látek a energie v lidském organismu, kde také spolupracují na udržení rovnováhy složitých biochemických reakcí. [22]

Obzvláště mladé víno obsahuje převážně vitaminy skupiny B a z tohoto komplexu jsou nejvíce zastoupeny: vitamin B₁ (thiamin), který je hlavně rozšířen v kvasinkách červeného vína, dále vitaminy B₂ (riboflavin), B₅ (kyselina pantothenová), B₆ (pyridoxin) a B₁₂ (kobalamin), jejichž obsah se zvyšuje nakvácením na matolinách. [11]

3.9 BUKETNÍ LÁTKY

Jinak nazvané aromatické látky dělí se na vonné a chuťové látky vína, které shrnuje výraz buket. K vonným látkám patří lehce těkavé substance jako alkoholy, estery, zatímco k chuťovým látkám patří netěkavé nebo špatně těkavé sloučeniny (cukr, organické kyseliny, fenolické sloučeniny). Rozlišuje se tzv. primární buket, což jsou aromatické látky z hroznů, sekundární buket, jehož tvoří aromatické látky vzniklé kvašením (přeměna látek a jejich uvolňování) a terciární buket, který je určen změnami během dlouhodobého zrání. Zastoupení aromatických látek ve víně je velmi různorodé, dosud se rozlišuje cca 800 substancí. Pro odrůdový charakter vína mají velký význam terpeny. Jedná se o velkou skupinu aromatických látek, které se váží na cukr a teprve během kvašení a skladování se uvolňují a působí jako aroma. [19]

3.10 ORGANICKÉ KYSELINY

Kyseliny vnikají stejně jako cukry asimilací v listech nebo jiných zelených částech rostlin z vody a oxidu uhličitého. [19] Organické kyseliny jsou přesněji karboxylové kyseliny obsahující ve svých molekulách jednu nebo více karboxylových skupin –COOH (karboxyl). Podle počtu těchto skupin dělíme karboxylové kyseliny na jednosytné a vícesytné. Další dělení je podle charakteru uhlovodíkového zbytku na: a) alifatické (acyklické) a cyklické; b) nasycené, nenasycené a aromatické. [23]

Karboxylové kyseliny tvoří významnou složku produktů rostlinného původu, protože i v malé koncentraci mají velký vliv na organoleptické a technologické vlastnosti výrobku. Kromě toho určují hodnotu pH potravin, čímž ovlivňují do značné míry i průběh chemických reakcí a mikrobiologickou stabilitu během tepelného zpracování a skladování potravin. To dokazuje význam kyselin v konzervárenství, jelikož se uplatňují jako bakteriostatický činitel, což podstatně usnadňuje konzervaci např. ovoce. [24,25]

V potravinářství se vyskytují karboxylové kyseliny alifatické, cyklické a aromatické. Jako chuťové látky mají největší význam vícesytné karboxylové kyseliny. Jako vonné látky se uplatňují nižší mastné kyseliny a některé aromatické kyseliny. [26]

Především ovoci a ovocným produktům dodávají typickou chuť, současně vzbuzují potřebné reflexy zažívacího traktu a aktivátory některých trávicích enzymů. [25] Příjemnou chuť a vůni ovoci dávají také ovocné estery, což jsou estery karboxylových kyselin s nižší molekulovou hmotností. [23] Kyseliny vinná, jablečná a citronová, které se označují jako ovocné kyseliny a kyseliny mléčná, octová, a jantarová jsou ve srovnání s anorganickými kyselinami vesměs slabé. [25]

Největší množství kyselin obsahují nedozrálé hrozny. [2] Kyseliny se ve víně vyskytují jak volné, tak vázané ve formě solí. Dodávají vínu příjemnou osvěžující chuť, podporují činnost kvasinek a víno konzervují. Obsah kyselin ve víně kolísá podle odrůdy, vyžívání hroznů, polohy viničních tratí, a podle ročníku. [11] Obsah kyselin je z většiny tvořen kyselinou vinnou a kyselinou jablečnou, které se hromadí hlavně ve slupce a dužině hroznů. [27] V dobře vyžrálých ročnících převládá kyselina vinná a naopak v nevyžrálých ročnících převažuje kyselina jablečná, která během vyžívání vzniká nejdříve, kyselina vinná se vytváří později. V daleko menším množství se ve víně vyskytují další kyseliny, kterými jsou kyselina citronová, jantarová, mléčná a octová. [19]

Tabulka 2: Vlastnosti vybraných karboxylových kyselin [24]

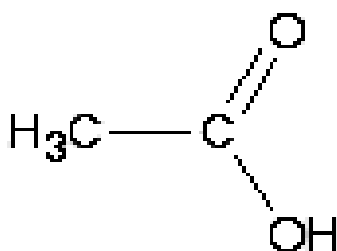
Název	Molekulová hmotnost [g.mol ⁻¹]	Bod tání [°C]	Bod varu [°C]	Rozpustnost ve vodě [g.kg ⁻¹]	Disociační konstanta
Octová	60,03	16,6	118,2	X	–
Jantarová	118,09	182,7	235 ^R	69 ^{20°C}	7,36.10 ⁻⁵
Mléčná	90,05	52,8	R	X	1,38.10 ⁻⁴
Jablečná	134,09	100	140 ^R	X	4.10 ⁻⁴
Vinná	150,09	169	–	1390 ^{25°C}	1,1.10 ⁻³
Citronová	192,12	153	R	592 ^{20°C}	8,4.10 ⁻⁴

R – vře za rozkladu nebo se rozkládá pod bodem varu

3.10.1 Alifatické monokarboxylové kyseliny

K významným patří nasycené monokarboxylové kyseliny s nesubstituovaným řetězcem, které mají v molekule od jednoho do deseti atomů uhlíku. Kyseliny se čtyřmi až deseti atomy uhlíku v molekule se nazývají nižší mastné kyseliny. Jsou mísitelné s vodou, nebo snadno ve vodě rozpustné, rozpouštějí se taky v alkoholech a v chloroformu. Jedná se o poměrně slabé kyseliny, protože jejich disociační konstanty leží kolem 10⁻⁵. [24,26]

3.10.1.1 Octová kyselina (ethanová)



Obrázek 5: Vzorec kyseliny octové [28]

Kyselina octová vzniká jako důležitý meziprodukt při látkové výměně. [29] Pro potravinářské účely je vyráběna z ethanolu nebo ovocných vín či moštů jako kvasný lihový nebo ovocný ocet pomocí oxidace bakteriemi rodu *Acetobacter*. Ethanol přechází na ethanal, který oxiduje na kyselinu octovou. [26]

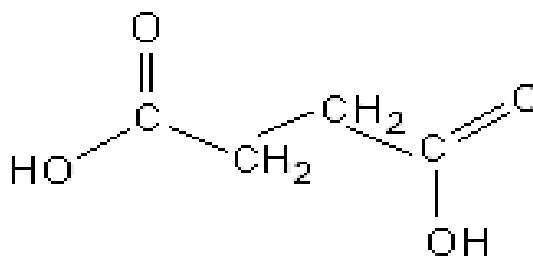
Jedná se o nejběžnější karboxylovou kyselinu v potravinách. Je pravidelnou složkou ovoce a většiny potravin, ve kterých vyvíjejí činnost mikroorganismy. Vzniká i při termických procesech, např. pražením kávy nebo jiných potravin. [24]

Kyselina octová je ukazatelem zdravotního stavu vína, do kterého se dostane v malém množství při kvašení moštu z kyseliny citronové a bakteriální činností při biologickém odbourávání kyselin. Patří mezi těkavé kyseliny a při destilaci vína přechází do destilátu. Aby nebyla narušena chuť vína, nesmí obsah těkavých kyselin přesáhnout v bílém víně $0,6 \text{ g.l}^{-1}$ a v červeném $0,8 \text{ g.l}^{-1}$. [7]

3.10.2 Alifatické dikarboxylové kyseliny

Jedná se o krystalické látky o vysokém bodu tání, které se většinou dobře rozpouštějí ve vodě, ale tvoří nerozpustné vápenaté soli. Disociují ve dvou stupních, v prvním stupni disociace jsou silnějšími kyselinami než odpovídající monokarboxylové kyseliny. [24]

3.10.2.1 Jantarová kyselina (butandiová)



Obrázek 6: Vzorec kyseliny jantarové [30]

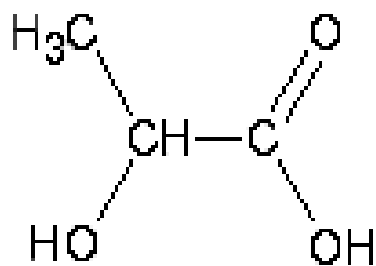
Kyselina jantarová je chemicky charakterizována jako dikarboxylová kyselina s čtyřuhlíkatým řetězcem. Dikarboxylové kyseliny, především kyselina jantarová, stimulují produkci žaludečních kyselin. [31]

Kyselina jantarová je obsažena v nevelkém množství v nezralých plodech, hlavně ve višních, dále v hroznech révy vinné, černém rybízu, borůvkách, angreštu a jablkách. Vzniká jako vedlejší produkt při alkoholovém kvašení a odbouráváním kyseliny jablečné činností kvasinek, které vytvářejí v průběhu kvasného procesu $0,5 - 1 \text{ g.l}^{-1}$ kyseliny jantarové. [19,25] Její chuť je směsí pocitů kyselosti, slanosti a hořkosti. [7]

3.10.3 Alifatické hydroxykyseliny

Hydroxykyseliny obsahují ve své molekule kromě karboxylové skupiny aspoň jednu skupinu hydroxylovou. Jsou kyselejší než jejich základní kyseliny, chemicky se chovají jako kyseliny i jako alkoholy a tvoří vnitřní estery, tzv. laktony, které se uplatňují jako vonné látky. [23,26] Hydroxykyseliny jsou buď krystalické látky, nebo viskózní kapaliny, dobře se rozpouštějí ve vodě. Di- a trikarboxylové kyseliny jsou krystalické vysokotající látky, které se rozkládají zahřevem na vyšší teplotu. Většinou jsou tyto kyseliny opticky aktivní. [24]

3.10.3.1 Mléčná kyselina (2-hydroxypropanová)

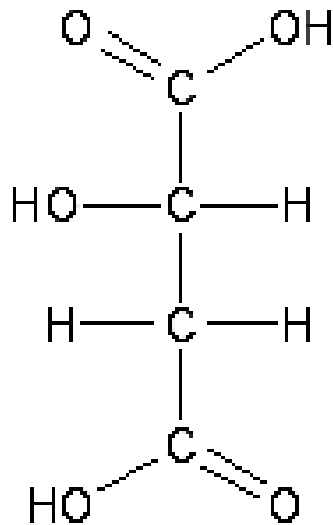


Obrázek 7: Vzorec kyseliny mléčné [28]

Vzniká mléčným kvašením glukózy a fruktózy. Při tomto odbourávání, které je způsobeno mléčnými bakteriemi, vzniká především kyselina mléčná a oxid uhličitý. [32] Větší množství kyseliny mléčné ve víně vzniká při bakteriální přeměně kyseliny jablečné [19], při tzv. jablečno-mléčném kvašení, viz kapitola 1.6.1.

Kyselina mléčná má jeden asymetrický uhlíkový atom, může se tak vyskytovat ve dvou opticky aktivních formách. Kyselina L-mléčná je pravotočivá a bývá přítomna ve svazech, kde vzniká z glykogenu při fyzické námaze. Levotočivá kyselina D-mléčná se vyskytuje v produktech rostlinného původu a je tvořena kvašením cukrů pomocí bakterií. Používá se v potravinářském průmyslu při výrobě limonád jako náhražka za kyselinu citronovou. [24,29]

3.10.3.2 Jablečná kyselina (hydroxybutandiová)



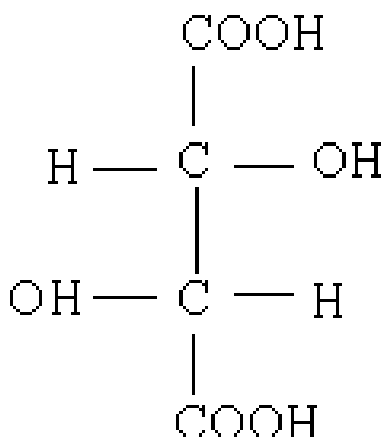
Obrázek 8: Vzorec kyseliny jablečné [28]

Kyselina jablečná je nejrozšířenější rostlinná kyselina, je opticky aktivní, v ovoci a zelenině se vyskytuje jen její levotočivá forma. [23]

Obsah kyseliny jablečné u nezralých hroznů je ještě vysoký, ale během procesu zrání se odbourává mnohem více než kyselina vinná. Při vyšších teplotách je kyselina jablečná méně odolná proti účinku kyslíku, proto klesá po dobu zrání hroznů obsah této kyseliny oxidací (dýcháním). [33]

Kyselina jablečná má čistě kyselou chuť, nepůsobí zdravotní problémy ani pokud je požitá ve větším množství a vínu dodává chuťový pocit svěžesti. [25] Její obsah v mladých vínech je možno zcela odbourat činností mléčných bakterií. Při tomto procesu, který je žádoucí hlavně u červených vín, se zvyšuje hodnota pH. [7]

3.10.3.3 Vinná kyselina (dihydroxyjantarová)

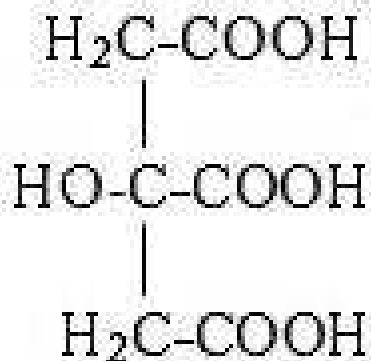


Obrázek 9: Vzorec kyseliny L-vinné [28]

Kyselina vinná má dva asymetrické uhlíkové atomy (chirální uhlíky), na nichž jsou stejné substituenty, proto existují dvě opticky aktivní formy: pravotočivá L-forma (viz obrázek 9) a levotočivá D-forma a dvě inaktivní formy: mesovinná kyselina a racemická kyselina hroznová. Nejčastěji se vyskytuje L-vinná kyselina, např. v hroznech a různém dalším ovoci, kde vzniká z D-glukózy, zatímco D-vinná kyselina se vyskytuje jen ojediněle a mesovinná kyselina nebyla v přírodě dokázána. Hroznová kyselina byla prokázána jako dihydrát ve šťávě hroznů. [23,24,26]

Pravotočivá forma kyseliny vinné je velmi dobře rozpustná ve vodě a alkoholu i při pokojové teplotě. V bobulích se po svém vytvoření neodbourává dýcháním tak jako kyselina jablečná. S chloridem draselným tvoří kyselina vinná špatně rozpustný hydrogenvinan draselný, neboli vinný kámen. V důsledku špatné rozpustnosti a draslíku, obsaženého v půdě, může docházet ke vzniku vinného kamene již v hroznech, zvláště při chladném počasí, což má za následek nižší obsah kyseliny vinné v moštu. Vinný kámen vzniká i při kvašení moštu, kdy vznikající ethanol jeho rozpustnost více snižuje. Vinná kyselina je jednou z nejdůležitějších ve víně, tvoří totiž společně s kyselinou jablečnou největší podíl kyselin v moštu. V dobrém slunném roce je v hroznech vyšší podíl kyseliny vinné. [19,34]

3.10.3.4 Citronová kyselina (2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylová)



Obrázek 10: Vzorec kyseliny citronové [30]

Kyselina citronová je krystalická, ve vodě rozpustná látka, která je značně rozšířena v ovoci, zejména v plodech citrusových rostlin (citrony až 7 %). Molekula kyseliny citronové nemá prvky asymetrie, tzn., že je opticky inaktivní. [29]

Průmyslově se vyrábí z melasy kvašením, nebo je získávána z citronové šťávy. Využívá se v potravinářském průmyslu a ke konzervaci krve, neboť váže vápenaté ionty, které jsou pro tento děj nezbytné, a tak zabraňuje srážení krve. Běžně se používá s kyselinou jablečnou jako přísada do různých konzervářských výrobků, nealkoholických nápojů, při deodoraci olejů a k dalším účelům. [23,26]

V moštu se kyselina citronová vyskytuje v menším množství. Z hroznů napadených ušlechtilou plísní šedou (*Botrytis cinerea*), při výrobě ledového vína nebo z hroznů sušených na slámě, se vlivem vyšší koncentrace všech látek zvyšuje v následném moštu rovněž obsah kyseliny citronové. [11,19]

Její přirozený obsah ve víně se pohybuje mezi 50 až 300 mg.l⁻¹. K okyselování vína je povolen přídatek kyseliny citronové, její konečná hodnota ale nesmí překročit 1 g.l⁻¹. [7] Při jablečno-mléčném kvašení dochází k jejímu odbourávání a může dojít ke vzniku diacetylu, který dává vínu máselnou pachut'. Kyselina citronová je stabilizačním prvkem proti kovovým zákalům (schopnost vytvářet cheláty). [19]

4 STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN VE VÍNĚ

Všechny potraviny, nápoje i pochutiny jsou uvedeny na trh po chemickém rozboru, kterým se zjišťuje jakost výrobků, složení a jejich zdravotní nezávadnost. Jakost, složení a množství látek, které produkty obsahují, jsou určeny vždy státní normou.

Celkové složení vína, tj. množství alkoholu, sacharidů, organických kyselin, glycerolu, minerálních látek, oxidu siřičitého, těžkých kovů atd., zjišťujeme chemickou analýzou. Mikroskopem určujeme přítomnost kvasinek, bakterií a jejich spor, příčiny zákalu ve víně, vadu nebo nemoc způsobenou bakteriemi, popřípadě sediment, neboli usazeninu vytvořenou ležením vína. [35]

Stanovení organických kyselin ve víně je důležité, protože kyseliny mají značný vliv na organoleptické vlastnosti (chuť, barvu, aroma) a na mikrobiologickou stabilitu. U vín je obvyklá diferenciací mezi kyselinami, které pocházejí přímo z hroznů (kyselina vinná, jablečná a citronová) a těmi, které vznikly fermentací během zpracování a skladování (jantarová, mléčná a octová kyselina). Vývoj mezi vinnou a jablečnou kyselinou v hroznech je užitečný z hlediska kontroly jejich procesu zrání. Analýza organických kyselin umožňuje kontrolovat vývoj obsahu kyselin v různých fázích výroby vína (kvašení, jablečno-mléčné kvašení, zrání vína apod.). [36,37]

Organické kyseliny se vyskytují ve fermentovaných výrobcích v důsledku hydrolýzy, biochemického metabolismu a činnosti mikroorganismů. Kvantitativní stanovení organických kyselin má velký význam pro fermentované výrobky také kvůli technologii výroby a následným nutričním hodnotám. [38,39]

Kromě toho mohou organické kyseliny působit jako ochranný faktor proti různým onemocněním díky jejich antioxidační aktivitě. Ze všech těchto důvodů je důležité přesně stanovit organické kyseliny ve víně s ohledem na kvalitu řízení procesů ve vinařském průmyslu. [40]

U stanovení organických kyselin se často kombinují extrakční a chromatografické metody téměř všech typů. Organické kyseliny se ze vzorku chromatograficky rozdělují a poté identifikují, nebo se stanoví spektrofotometricky. Ve výjimečných případech se organické kyseliny stanoví s využitím specifické barevné reakce nebo za použití přímé či nepřímé polarografie. [24] Dalším způsobem jak stanovit organické kyseliny a další ionogenní látky ve víně je izotachoforéza. Vzorek vína je nutné před vlastní analýzou

upravit pomocí peroxidu vodíku pro odstranění siřičitanu (migruje ve směsné zóně s jantaranem). Jelikož se siřičitan oxiduje na síran, je proto nutné pro kvantitativní stanovení síranu analyzovat ještě 100krát zředěný roztok vína bez přídavku peroxidu vodíku. [41] Enzymatické analýzy jsou časově i finančně náročné, protože vyžadují specifická činidla pro každou organickou kyselinu zvlášť a kapilární elektroforéza je sice analýza s menším odběrem, ale není tak přesná a má vyšší detekční limity. [40]

4.1 STANOVENÍ TITROVATELNÝCH KYSELIN

Obsah veškerých kyselin ve víně se stanovuje v laboratoři titrací alkalickým hydroxidem, proto se setkáváme s výrazem titrovatelné kyseliny. [7] Při tomto stanovování je třeba dbát na odbourání kyseliny uhličitě, která se do veškerých kyselin nezahrnuje, a sice ohřevem nebo intenzivním protřepáním se z vína odstraní ještě před titrací ve formě oxidu uhličitého. Principem stanovení pomocí titrace je, že se do roztoku o neznámém obsahu kyselin přidává alkalický hydroxid o známé koncentraci tak dlouho, dokud je dosaženo neutrální reakce. Ukončení titrace se pozná náhlou změnou barvy přidaného indikátoru. Obsah titrovatelných kyselin se uvádí v g.l^{-1} kyseliny vinné. [19,42]

U červeného vína je změna barvy lépe rozlišitelná v případě titrování proti světlému pozadí (bílá plocha, zdroj světla). U velmi tmavých červených vín je doporučováno stanovení kyselin pomocí pH-metru. [19]

Kromě titrovatelných kyselin se ve víně nacházejí také volné kyseliny, které uvolňují volné vodíkové ionty H^+ , jejich aktivita se vyjadřuje jako pH vína. Hodnota aktivity H^+ iontů ve víně kolísá v rozmezí $\text{pH} = 2,8 - 4,0$. [7]

4.2 STANOVENÍ TĚKAVÝCH KYSELIN

Těkavé kyseliny přechází při destilaci vodní parou do destilátu, hlavním zástupcem je kyselina octová. Pomocí destilačního zařízení se vodní parou z vína oddestilují těkavé kyseliny a následný destilát je titrován odměrným roztokem hydroxidu sodného. Výsledný obsah těkavých kyselin se vyjadřuje v g.l^{-1} kyseliny octové. [43]

Množství netěkavých kyselin se vypočítá jako rozdíl veškerých a těkavých kyselin. Těkavé kyseliny je nutné nejdříve přepočítat na stejnou kyselinu, kterou jsem vyjádřili veškeré kyseliny (révové víno na kyselinu vinou). Obsah kyseliny octové se vynásobí koeficientem 1,25 pro získání obsahu kyseliny vinné, který se odečte od veškerých kyselin a vyjde obsah netěkavých kyselin. [42]

4.3 STANOVENÍ KYSELINY VINNÉ

Stanovení se provádí pomocí fotometru na základě enzymatické nebo čistě chemické reakce, která pozměňuje barvu nebo další možností je vysrážení kyseliny vinné. Principem vysrážení je přidavek draselné soli a alkoholu do přesně odměřeného množství vína. Vzorek se ponechá jistou dobu v ledničce, během ní se vysráží veškerá kyselina vinná ve formě hydrogenvinanu draselného (vinný kámen). Po oddělení a vyčištění krystalků vinného kamene se tyto rozpustí v horké vodě a hydroxidem se stanoví množství. Na závěr se provede přepočet na kyselinu vinnou. [19]

4.4 STANOVENÍ KYSELINY MLÉČNÉ

Stanovení se v současné době provádí kolorimetricky, chromatograficky nebo enzymaticky. Enzymatické metody jsou vhodné z hlediska selektivity a citlivosti, ale činidla jsou drahá, analýzy časově náročné. Tyto metody jsou i pro kyselinu jablečnou. [44]

Mezi starší metody patří metoda podle Möslingera, která je založena na principu rozpustnosti mléčnanu barnatého ve zředěném alkoholu (70 % obj.) proti nerozpustnosti ostatních barnatých solí netěkavých kyselin. Protože je octan barnatý také rozpustný v této koncentraci alkoholu, musí se těkavé kyseliny z vína předem odstranit oddestilováním. [42]

4.5 STANOVENÍ KYSELINY CITRONOVÉ

Separáčnými metodami jsou kapilární elektroforéza, plynová chromatografie / hmotnostní spektrometrie nebo vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC). [45]

4.6 STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN POMOCÍ CHROMATOGRRAFIE

Chromatografické metody lze definovat jako separační a současně analytické metody, při kterých se oddělují (separují) složky obsažené ve vzorku a které jsou založeny na postupném, mnohokrát opakovaném vytváření rovnovážných stavů separované směsi mezi dvěma i více fázemi. Fáze umístěná v koloně nebo v ploché vrstvě se nazývá stacionární a fázi, která unáší separované látky skrz stacionární fázi, se říká mobilní. [46,47]

Chromatografických metod je velké množství, a tak se dělí do následujících skupin:

I. Podle skupenství mobilní fáze:

- Plynová chromatografie (GC – Gas Chromatography)
- Kapalinová chromatografie (LC – Liquid Chromatography)

II. Podle uspořádání stacionární fáze:

- Kolonová chromatografie – stacionární fáze je umístěna v koloně.
- Plošné techniky:
 - Papírová chromatografie (PC) – stacionární fáze je součástí chromatografického papíru.
 - Tenkovrstvá chromatografie (TLC) – stacionární fáze je umístěna na pevném plochém podkladu (hliníková fólie, skleněná deska).

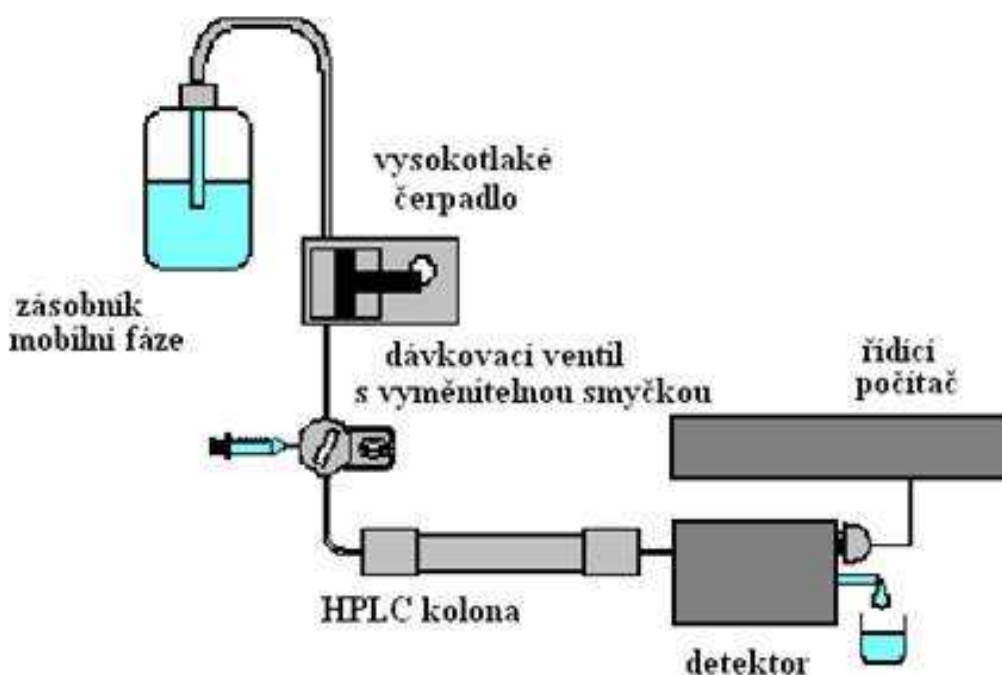
III. Podle povahy děje, který převládá při separaci:

- Iontově-výměnná chromatografie – o separaci rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze (iontoměnič) a ionty vzorku.
- Adsorpční chromatografie – při separaci se složky poutají na povrchu stacionární fáze.
- Rozdělovací chromatografie – o separaci rozhoduje odlišná rozpustnost složek ve vzorku (stacionární fáze – kapalina a mobilní fáze – kapalina nebo plyn).

- Gelová chromatografie – složky se separují podle velikosti na pórovité stacionární fázi (gelu).
- Afinitní chromatografie – stacionární fáze je schopna vázat ve vzorku určité složky, ke kterým je afinitní (selektivní vztah). [48]

4.6.1 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography)

Princip metody spočívá v pohybu vzorku v systému mobilní a stacionární fáze. Mobilní fází je kapalina, stacionární fází je buď pevná látka nebo kapalina (nesmí být mísitelná s mobilní fází). Stacionární fáze je uložena v koloně (kovové či skleněné), kterou prochází mobilní fáze za stálého tlaku. Stanovovaná látka je během migrace rozdělena na dvě fáze tak, že jedna se pohybuje s mobilní fází a zbytková část se absorbuje na stacionární fázi. Tímto je vzorek rozdělen na určitý počet zón, které představují jednotlivé složky. Zóny jsou snímány detektorem a postupují do zapisovacího zařízení (počítač). Tato metoda umožňuje dělení většiny organických i anorganických látek. [47,49]



Obrázek 11: Schéma kapalinového chromatografu [50]

Zařízení, na kterém probíhá kapalinová chromatografie, se nazývá kapalinový chromatograf (viz obrázek 11). Skládá se ze zásobníku kapaliny s odplyňovačem, z čerpadla prohánějícího kapalinu kolonou pod vysokým tlakem, z chromatografické kolony, která je užší než u klasické kapalinové chromatografie (průměr 2 – 8 mm), z dávkovače vzorku, detektoru a zapisovače. Detektory automaticky a kontinuálně měří některou z fyzikálních vlastností eluátu. Podle měřené veličiny se detektory rozlišují. [51]

Tabulka 3: Přehled detektorů v kapalinové chromatografii [47]

Měřená veličina	Název detektoru
absorpce záření	spektrofotometrický UV-VIS
fluorescence	fluorimetrický (fluorescenční)
index lomu	refraktometrický
elektrická vodivost	vodivostní
elektrolytický proud	polarografický
permitivita	kapacitní (permitivitní)
elektrodový potenciál	potenciometrický
ionizační proud	transportní s plamenoionizační detekcí
sorpční teplo (teplota)	mikroadsorpční
radioaktivita	radiometrický

V chromatografu je signál z detektoru automaticky kvalitativně a kvantitativně vyhodnocen pomocí mikroprocesoru. Mikroprocesor měří průběžně retenční čas, který charakterizuje kvalitu stanovení, provádí integraci píků (plocha píku udává kvantitu chromatografované látky) a slouží taky k programování chromatografických podmínek a k jejich kontrole v průběhu analýzy. [51]

Při stanovení organických kyselin byl použit spektrofotometrický detektor. Tyto detektory pracují v UV a viditelné (VIS) oblasti a jsou nejpoužívanějšími detektory pro HPLC. [52] Dělí se do čtyř základních typů: prvními jsou detektory, které pracují s jednou pevně nastavenou vlnovou délkou (nejčastěji 253,7 nm); druhým typem jsou detektory, u nichž lze volit mezi několika předem danými vlnovými délkami pomocí vyměnitelných interferenčních filtrů. Třetí typ detektorů je vybaven polychromatickým zdrojem záření (nejčastěji deuteriová výbojka) a monochromátorem. Tyto detektory umožňují volit

libovolnou vlnovou délku záření pro detekci, většinou v rozmezí od 190 do 400 až 600 nm. Čtvrtým typem jsou spektrofotometrické detektory s rychlým záznamem spektra bez přerušení chromatografické separace. Umožňují současnou detekci a integraci signálů při několika vlnových délkách, vyvolání spektrogramu v libovolném okamžiku eluce, získávání třírozměrných prostorových spektrochromatogramů i detekci při vlnové délce odpovídající absorpčnímu maximu každé látky. [53]

Předností HPLC je rychlost analýzy, vysoká dělicí schopnost, možnost automatické detekce, identifikace a kvantitativního vyhodnocení chromatogramu. Touto technikou je možné dělit i termolabilní a polární látky. Nevýhodou jsou vysoké pořizovací náklady. [51]

4.6.2 Kolonová kapalinová chromatografie v systémech s obrácenými fázemi

O kvalitě separace při vysokoúčinné kapalinové chromatografii rozhoduje především použitý chromatografický systém, tj. kombinace mobilní a stacionární fáze. Podle relativní polaritativy mobilní a stacionární fáze se rozlišuje chromatografie v systémech s normálními fázemi, kde je stacionární fáze polárnější než mobilní fáze, a chromatografie v systémech s obrácenými fázemi, kde je naopak polárnější mobilní fáze.

U této metody se jako tuhých stacionárních fází (sorbentů) používá především nepolárních alifatických uhlovodíkových fází C8 nebo C18 imobilizovaných na anorganických nosičích. Je možno použít i čistého uhlíku, organických polymerů nebo náplní s chemicky vázanými arylovými či středně polárními fázemi a v čistě vodných fázích i nemodifikovaného silikagelu. Mezi nejvíce používané mobilní fáze patří vodné roztoky jednoho či více organických rozpouštědel, nejčastěji acetonitrilu, methanolu a tetrahydrofuranu. Pro separaci látek kyselé a bazické povahy nebo látek iontových je třeba přidat k mobilním fázím pufrů, slabé kyseliny, neutrální soli nebo látky, které vytváří s ionizovanými soluty iontové asociáty.

Tato metoda se vyznačuje vyšší stabilitou, separační účinností i možností aplikace gradientové eluce. Použití metody s tzv. reverzními fázemi je velmi široké, obvykle se používá např. pro separaci vzorků extrahovaných do organických rozpouštědel. [51,53]

5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo v teoretické části popsat technologii výroby réвовého vína, charakterizovat vybrané organické kyseliny a uvést metody, kterými se organické kyseliny ve víně stanovují. Cílem diplomové práce v praktické části bylo aplikovat vybranou metodu, podle ní stanovit obsah organických kyselin ve vzorcích vín a zjistit jak se mění koncentrace jednotlivých kyselin v závislosti na jablečno-mléčném kvašení.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 MATERIÁL A METODIKA

6.1 ANALYZOVANÝ MATERIÁL

Analyzovaným materiálem bylo červené víno, a sice dvě odrůdy pocházející od dvou vinařů. Vzorky obou odrůd od obou vinařů pocházely z vinařské podoblasti slovácké, ze stejné vinařské obce Polešovice. Jednalo se o odrůdy Cabernet Moravia a Zweigeltrebe, kdy vzorky se začali odebírat po hlavním kvašení. Obě odrůdy u obou vinařů byly zaočkovány startovacím preparátem BIOSTART[®] FORTE SK2. Jedná se o koncentrovanou kulturu bakterií *Leuconostoc oenos* – kmen (*Oenococcus oeni*) používanou pro biologické odbourání kyseliny jablečné jak v bílém, tak v červeném víně, neboli jablečno-mléčné kvašení (JMK). Z každé odrůdy se odebraly dva vzorky v různém časovém horizontu, jeden byl zaočkovaný bakteriemi, druhý byl jako kontrola bez přidaných bakterií.

Vinař 1 odebíral vzorky obou odrůd ve stejnou dobu, cca po třech dnech asi jeden měsíc (od začátku prosince 2010 do začátku ledna 2011). Prvním dnem odběru obou odrůd byl den, kdy byla vína zaočkována.

Vinař 2 odebíral vzorky v dvoutýdenním intervalu, každou odrůdu asi čtyři a půl měsíce. Odrůdu Cabernet Moravia odebíral od konce listopadu 2010 do poloviny dubna 2011 a Zweigeltrebe od konce října 2010 do poloviny března 2011.

6.2 STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN VE VÍNĚ METODOU HPLC (UV – VIS)

6.2.1 Chemikálie a materiál

- Acetonitil (Chem-Lab)
- Dihydrogenfosforečnan draselný (distributor Petr Lukeš)
- Methanol (Fisher Scientific)
- Standardy organických kyselin:
 - » Kyselina vinná (Sigma – Aldrich)
 - » Kyselina jablečná (Sigma – Aldrich)

- » Kyselina mléčná (Sigma – Aldrich)
- » Kyselina octová (Sigma – Aldrich)
- » Kyselina citronová (Sigma – Aldrich)
- » Kyselina jantarová (Sigma – Aldrich)
- Deionizovaná voda připravena na přístroji AquaOsmotic (Tišnov)
- Vzorky vín: Cabernet Moravia, Zweigeltrebe – od vinaře 1
Cabernet Moravia, Zweigeltrebe – od vinaře 2

6.2.2 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy (AFA-210 LC)
- Automatické mikropipety (BIOHIT PLC)
- Mikrozkuřavky (Vitrum)
- Mikrofiltry (MS[®] Nylon Syringe Filter; 13 mm; 0,45 µm; Chromservis s.r.o.)
- Vialky (HP)
- Septa (Vitrium 8 mm)
- Chromatograf DIONEX ULTIMATE 3000 (Dionex Corporation, USA)
 - Pumpa (DIONEX ULTIMATE 3000 SD and RS pump)
 - Autosampler (DIONEX ULTIMATE 3000 Autosampler WPS-3000 SL and WPS-3000 RS)
 - Detektor (DIONEX Diode Array Detectors, DAD-3000 RS and MWS-3000 RS)
 - Počítač s programem pro vyhodnocení Hy-star



Obrázek 12: Chromatograf HPLC, na němž byla provedena metoda

6.3 METODIKA

Pro stanovení organických kyselin ve víně byla použita metoda HPLC s UV – VIS detekcí. Standardy i vzorky vín byly proměřovány při vlnové délce 210 nm. Pro tuto metodu byla vybrána kolona Gemini – NX 3u C18 110A od firmy Phenomenex (USA), jejíž rozměry byly 250 x 4,60 mm a předkolona Security Guard KJ0-4282 (Phenomenex, USA). Při analýze byla využita isokratická eluce a jako mobilní fáze byl použit vodný roztok; 0,01 M dihydrogenfosforečnan draselný : acetonitril (0,01 M KH_2PO_4 : ACN) v poměru 97 : 3; pH roztoku 0,01 M KH_2PO_4 bylo upraveno na hodnotu 2,7.

Eluce probíhala při teplotě 30 °C, objem nástřiku vzorku i standardu byl 10 µl a průtok mobilní fáze byl nastaven na hodnotu 0,8 ml.min⁻¹, při němž byl vyvinut tlak 184 barů.

Doba analýzy jednoho vzorku byla stanovena na 30 min. Z důvodu důkladnějšího promytí kolony byla zavedena od 10. minuty změna poměru mobilní fáze na 50 % KH₂PO₄ a 50 % ACN a od 23. minuty do konce analýzy byl navrácen původní poměr (97 : 3).

6.3.1 Postup pro naměření kalibračních křivek standardů

Pro přípravu standardního roztoku byl navážen 1 g standardu kyseliny vinné, jablečné, citronové a jantarové s přesností na 0,0001 g. Navážka byla kvantitativně převedena do 100 ml odměrné baňky, která byla doplněna po rysku redestilovanou vodou. U kapalných kyselin octové a mléčné byl proveden přepočít pomocí hustoty na objem, který byl po odebrání kvantitativně převeden do 100 ml odměrné baňky a ta byla následně doplněna redestilovanou vodou po rysku. Byly tak získány zásobní roztoky organických kyselin o koncentraci 10 g.l⁻¹. Z těchto roztoků byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 1, 4 a 7 g.l⁻¹. Takto připravené kalibrační roztoky byly proměřeny podle výše uvedených podmínek.

6.3.2 Postup pro stanovení organických kyselin ve víně

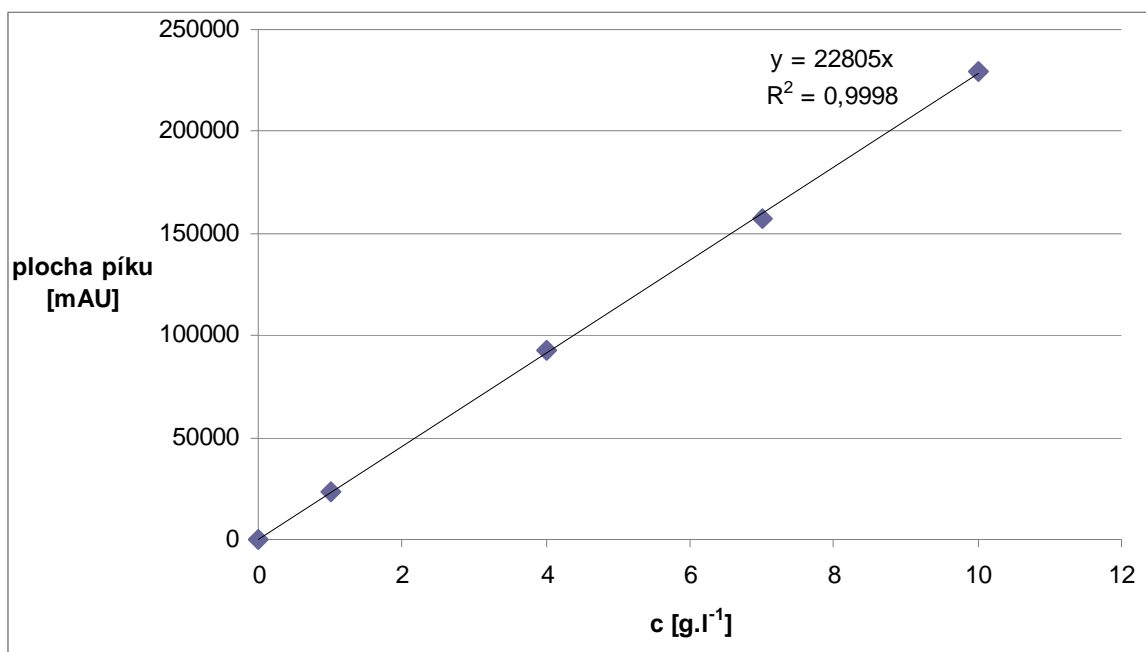
Vzorky vín od obou vinařů byly ihned po odběru skladovány zamražené při teplotě cca – 18 °C. Před stanovením byly vzorky šetrně rozmrazeny a přefiltrovány pomocí mikrofiltrů o pórovitosti 0,45 µm do mikrozkušavek, ve kterých byly uschovány při teplotě – 18 °C. Před vlastní analýzou byly vzorky Cabernetu Moravia a Zweigeltrebe opět šetrně rozmrazeny. Po převedení vzorků do vialek opatřených uzávěrem a ochranným septem bylo provedeno stanovení organických kyselin ve víně na chromatografickém přístroji DIONEX ULTIMATE 3000 dle výše popsaných podmínek.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 KALIBRAČNÍ KŘIVKY STANDARDŮ

7.1.1 Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny vinné

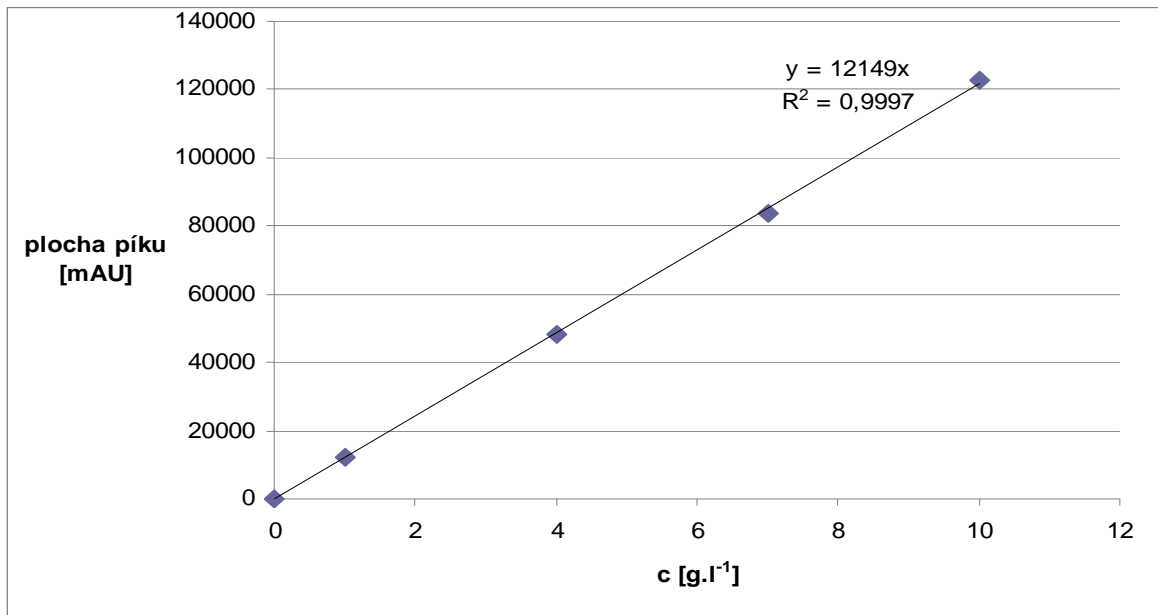
plocha píku [mAU]	23183,41	92881,64	157333,5	228823,4
	23203,21	92801,63	157365,3	229087,4
ϕ [mAU]	23193,31	92841,64	157349,4	228955,4
c [g.l ⁻¹]	1	4	7	10



Obrázek 13: Kalibrační křivka pro kyselinu vinnou

7.1.2 Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny jablečné

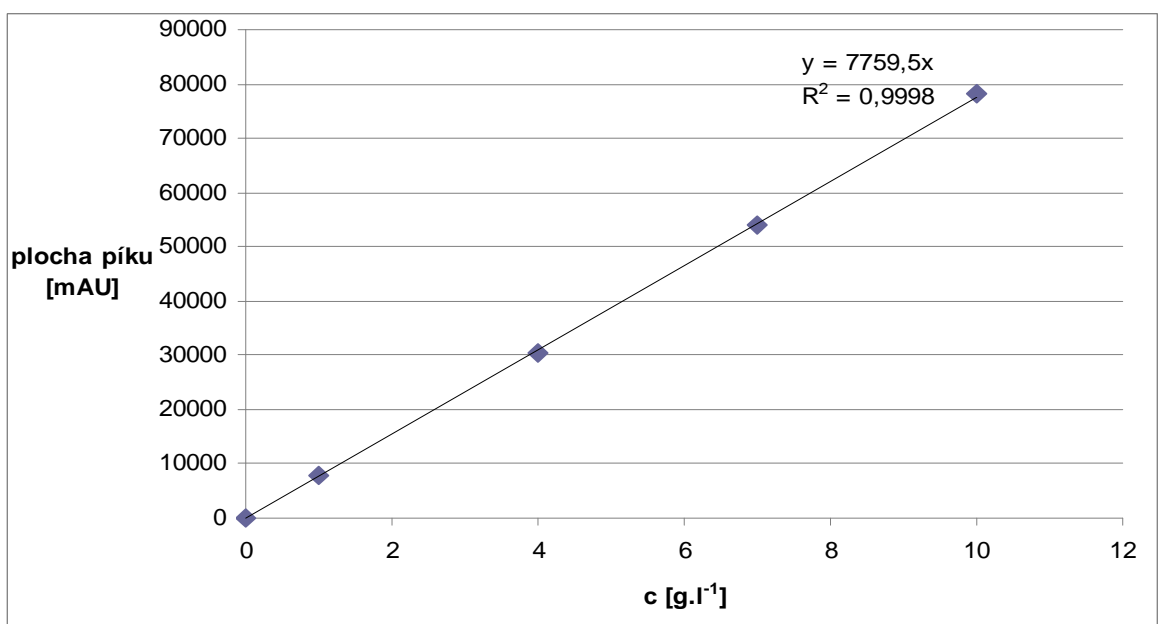
plocha píku [mAU]	12022,32	47973,33	83763,06	122526,94
	12025,4	47983,17	83797,21	122737,56
ϕ [mAU]	12023,86	47978,25	83780,14	122632,25
c [g.l ⁻¹]	1	4	7	10



Obrázek 14: Kalibrační křivka pro kyselinu jablečnou

7.1.3 Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny mléčné

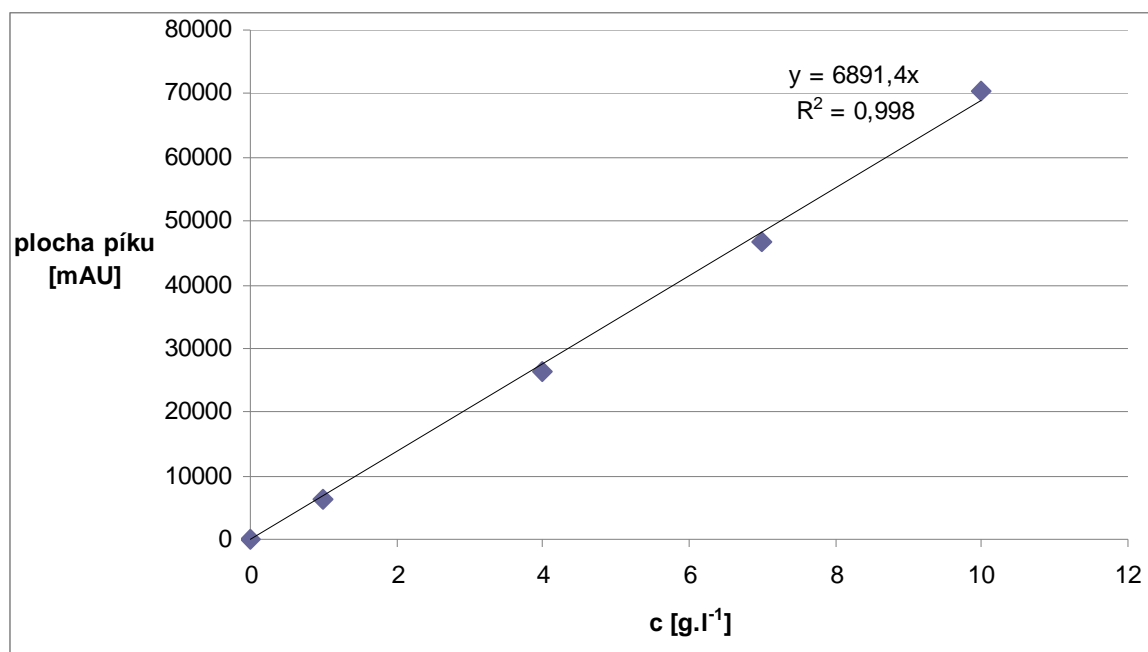
plocha píku [mAU]	7756,89	30450,26	53898,67	78082,3
	7760,94	30483,26	53938,66	78123,22
$\bar{\phi}$ [mAU]	7758,915	30466,76	53918,67	78102,76
c [g.l ⁻¹]	1	4	7	10



Obrázek 15: Kalibrační křivka pro kyselinu mléčnou

7.1.4 Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny octové

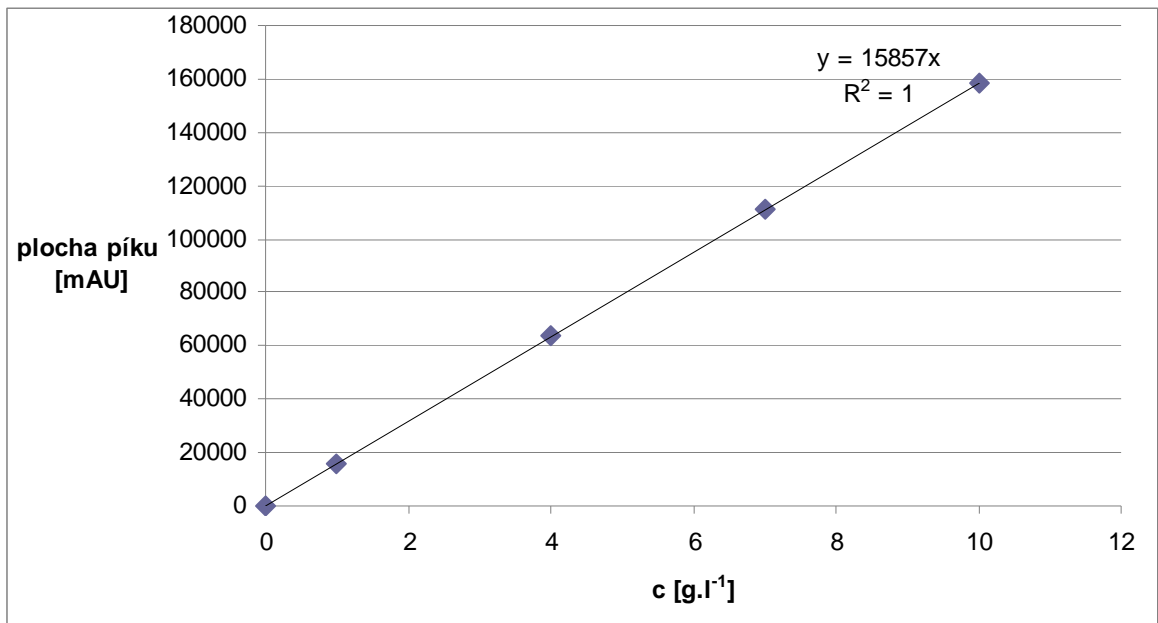
plocha píku [mAU]	6371,31	26430,18	46669,22	70582,9
	6351,83	26407,07	46650,42	70480,07
ϕ [mAU]	6361,57	26418,63	46659,82	70531,49
c [g.l ⁻¹]	1	4	7	10



Obrázek 16: Kalibrační křivka pro kyselinu octovou

7.1.5 Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny citronové

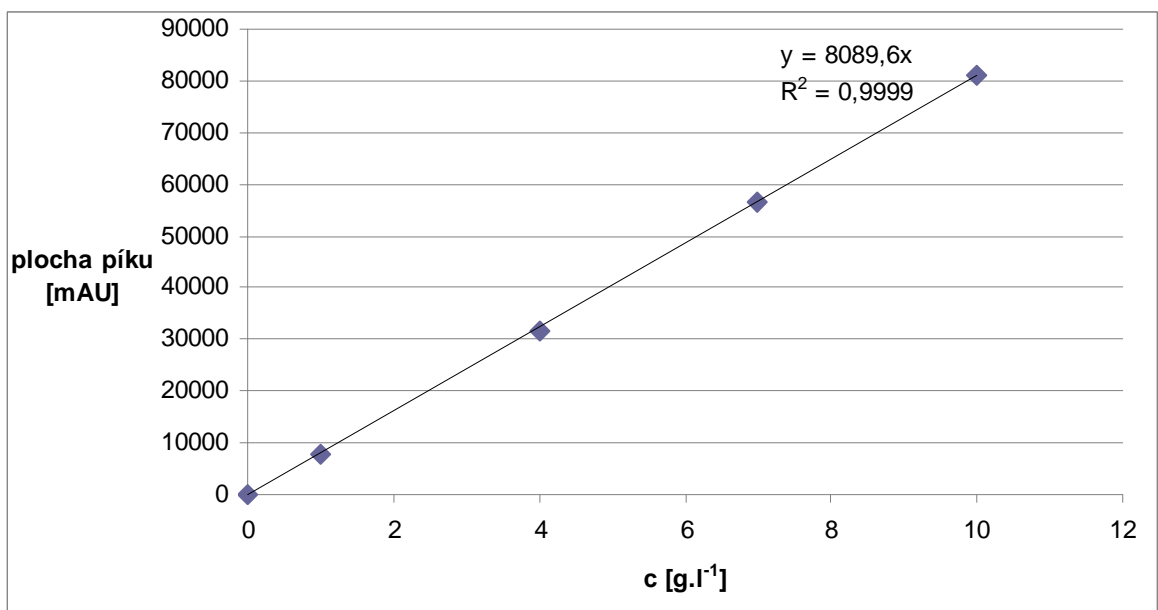
plocha píku [mAU]	16085,47	63737,98	110888,9	158407,7
	16109,26	63787,76	111010	158481,3
ϕ [mAU]	16097,37	63762,87	110949,5	158444,5
c [g.l ⁻¹]	1	4	7	10



Obrázek 17: Kalibrační křivka pro kyselinu citronovou

7.1.6 Kalibrační křivka pro stanovení kyseliny jantarové

plocha píku [mAU]	7962,79	31712,32	56527,31	81221,74
	7975,45	31749,14	56593,67	81190,89
σ [mAU]	7969,12	31730,73	56560,49	81206,32
c [g.l ⁻¹]	1	4	7	10



Obrázek 18: Kalibrační křivka pro kyselinu jantarovou

7.2 STANOVENÍ VYBRANÝCH ORGANICKÝCH KYSELIN VE VZORCÍCH VÍNA

7.2.1 Stanovení organických kyselin ve vzorcích vinaře 1

Tabulka 4: Obsah organických kyselin – Cabernet Moravia VINAŘ 1

Kyselina vinná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l ⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l ⁻¹]	SMODCH
7.12.	0,5111277	0,0097875	0,5111277	0,0097875
10.12.	0,3748213	0,0008921	0,5120938	0,0006441
13.12.	0,4136242	0,0006804	0,4416429	0,0000988
16.12.	0,3352087	0,0029303	0,5115881	0,0004751
19.12.	0,3078799	0,0002149	0,5371395	0,0004405
21.12.	0,3348725	0,0000738	0,5504962	0,0001475
23.12.	0,3356018	0,0000596	1,4787678	0,0003203
27.12.	0,4023635	0,0001983	0,5043952	0,0000954
30.12.	0,4124768	0,0003535	0,5531229	0,0003082
3.1.	0,3988073	0,0002804	0,6090989	0,0001746
7.1.	0,3156545	0,0004009	0,5172053	0,0001461

Obsah kyseliny vinné je jak v zaočkovaném, tak kontrolním vínu poměrně nízký.

U zaočkovaného vína obsah kyseliny vinné mírně klesá.

Kyselina jablečná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l ⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l ⁻¹]	SMODCH
7.12.	5,3035147	0,0554799	5,3035147	0,0554799
10.12.	5,2087936	0,0195136	5,3042500	0,0041408
13.12.	4,5021812	0,0030893	5,3724257	0,0022266
16.12.	2,2030071	0,0007941	5,3095097	0,0086687
19.12.	1,9397289	0,0028309	5,3222323	0,0027825
21.12.	2,0183801	0,0011350	5,2513211	0,0027558
23.12.	1,9534694	0,0004433	5,5486542	0,0013574
27.12.	1,9851702	0,0004510	5,2851895	0,0030057
30.12.	2,0125415	0,0010055	5,2930255	0,0022792
3.1.	1,9778912	0,0004794	5,3766730	0,0007001
7.1.	2,0131945	0,0018454	5,3038110	0,0013447

Obsah kyseliny jablečné je zpočátku v obou vínech značně vysoký. U zaočkovaného vína lze pozorovat výrazný pokles asi do 23.12., zato u vína kontrolního je obsah stále stejný.

Kyselina mléčná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l ⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l ⁻¹]	SMODCH
7.12.	0,1694482	0,0044883	0,1694482	0,0044883
10.12.	0,1890758	0,0045106	0,1601306	0,0006247
13.12.	0,5315205	0,0052086	0,1640097	0,0025124
16.12.	1,3959791	0,0032718	0,1802092	0,0006045
19.12.	1,4824366	0,0053282	0,1710978	0,0054753
21.12.	1,5284576	0,0031340	0,2067444	0,0006592
23.12.	1,5185171	0,0023678	0,2214619	0,0010661
27.12.	1,4832657	0,0018157	0,1802049	0,0026750
30.12.	1,4467556	0,0036043	0,2060485	0,0006019
3.1.	1,3415985	0,0019122	0,1813089	0,0021001
7.1.	1,3453530	0,0039627	0,1973881	0,0012111

Obsah kyseliny mléčné je zpočátku nízký. U obou vín s postupným datem odběru dochází k růstu, avšak u zaočkovaného vína je růst intenzivnější.

Kyselina octová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l ⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l ⁻¹]	SMODCH
7.12.	1,5850335	0,0339645	1,5850335	0,0339645
10.12.	1,6220120	0,0119667	1,8592352	0,0013258
13.12.	1,6088119	0,0126649	1,7947635	0,0018504
16.12.	1,5049675	0,0091302	1,7767072	0,0027692
19.12.	1,4920384	0,0081517	1,7855975	0,0022034
21.12.	1,6278163	0,0057116	1,7465633	0,0004512
23.12.	1,7014298	0,0040669	1,8633272	0,0022481
27.12.	1,8108028	0,0019571	1,7728957	0,0029175
30.12.	1,9466678	0,0044619	1,7877596	0,0007441
3.1.	2,1242466	0,0020407	1,8046986	0,0009315
7.1.	2,2474195	0,0022538	1,7636571	0,0018325

Obsah kyseliny octové u zaočkovaného vína zprvu kolísá a od 23.12. roste, zatímco u vína pro kontrolu mírně vzroste a poté se výrazněji nemění.

Kyselina citronová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	0,1292258	0,0013754	0,1292258	0,0013754
10.12.	0,1268399	0,0009438	0,2451094	0,0020417
13.12.	0,1171155	0,0005755	0,2366168	0,0007109
16.12.	0,0671628	0,0004329	0,2358096	0,0004687
19.12.	0,0100986	0,0000130	0,2320573	0,0013869
21.12.	N	---	0,2365622	0,0008001
23.12.	N	---	0,2280570	0,0004866
27.12.	N	---	0,2321561	0,0003124
30.12.	N	---	0,2338841	0,0003476
3.1.	N	---	0,2362826	0,0004643
7.1.	N	---	0,2387442	0,0004209

N – nedetekováno

Kyselina citronová se v zaočkovaném víně zcela odbourala 21.12. Po počátečním zdvojnásobení zůstává obsah kyseliny citronové v kontrolním víně téměř konstantní.

Kyselina jantarová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	1,0928971	0,0131615	1,0928971	0,0131615
10.12.	1,1088435	0,0036379	1,1167878	0,0009318
13.12.	1,1365993	0,0012527	1,1053740	0,0009382
16.12.	1,1236608	0,0012936	1,0891062	0,0006750
19.12.	1,0920194	0,0007621	1,0915373	0,0014161
21.12.	1,1298004	0,0009538	1,0771732	0,0006206
23.12.	1,1048218	0,0014967	1,1269490	0,0010875
27.12.	1,1016696	0,0009676	1,0807827	0,0010497
30.12.	1,1145339	0,0013034	1,0893987	0,0013957
3.1.	1,0852040	0,0011603	1,0932803	0,0008163
7.1.	1,0950068	0,0019873	1,0788997	0,0019700

Obsah kyseliny jantarové je u obou vín velmi podobný a neměnný.

Tabulka 5: Obsah organických kyselin – Zweigeltrebe **VINAŘ 1**

Kyselina vinná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	0,7551370	0,0004783	0,7551370	0,0004783
10.12.	0,5156998	0,0006594	0,5479792	0,0002699
13.12.	0,5509830	0,0004100	0,7517299	0,0004466
16.12.	0,4683724	0,0004514	0,7411372	0,0005228
19.12.	0,4000497	0,0001472	0,7687715	0,0003931
21.12.	0,4889469	0,0006600	1,3983571	0,0008600
23.12.	0,3236293	0,0013766	0,5084674	0,0008307
27.12.	0,6384667	0,0003580	0,7249185	0,0006695
30.12.	0,3660352	0,0002974	0,7534795	0,0006051
3.1.	0,3490550	0,0000862	0,5166674	0,0002286
7.1.	0,3088358	0,0005450	0,5213959	0,0007242

Obsah kyseliny vinné je poměrně nízký, u zaočkovaného vína nepravidelně klesá a u kontrolního vína obsah kolísá s navracením k původní hodnotě.

Kyselina jablečná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	5,2761572	0,0022658	5,2761572	0,0022658
10.12.	5,0076495	0,0029380	5,2369495	0,0017104
13.12.	5,0797267	0,0028273	5,3293989	0,0075022
16.12.	4,5390320	0,0016489	5,3251104	0,0101677
19.12.	3,7962439	0,0006446	5,2574725	0,0019307
21.12.	2,5851126	0,0019684	5,4349905	0,0027209
23.12.	1,6836832	0,0006525	5,3146679	0,0031324
27.12.	5,2984086	0,0027744	5,3053036	0,0044053
30.12.	1,3578539	0,0018051	5,2615195	0,0045098
3.1.	1,2680605	0,0007364	5,1820067	0,0030672
7.1.	1,2498642	0,0036861	5,3212363	0,0028363

U zaočkovaného vína obsah kyseliny jablečné výrazně klesá, u vína pro kontrolu zůstává zachován původní obsah. Hodnota koncentrace u zaočkovaného vína ze dne 27.12. nasvědčuje tomu, že se patrně jednalo o vzorek kontrolního vína

Kyselina mléčná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	0,1840797	0,0010609	0,1840797	0,0010609
10.12.	0,1822927	0,0006211	0,1571837	0,0016695
13.12.	0,2560174	0,0011758	0,1737569	0,0017969
16.12.	0,3726013	0,0018175	0,2179436	0,0039520
19.12.	0,6639775	0,0019363	0,2274717	0,0013785
21.12.	1,1145649	0,0106580	0,2021393	0,0006106
23.12.	1,4510772	0,0049540	0,1791481	0,0034660
27.12.	0,1433769	0,0013770	0,1666516	0,0026731
30.12.	1,3989475	0,0014597	0,2003437	0,0056239
3.1.	1,3838220	0,0038633	0,1622012	0,0037859
7.1.	1,3663423	0,0042570	0,1555985	0,0016546

Obsah kyseliny mléčné v zaočkovaném víně roste asi do 23.12., s tím, že hodnota z 27.12. opět svědčí o vzorku vína pro kontrolu. Obsah kyseliny mléčné v kontrolním víně nepravidelně mírně kolísá.

Kyselina octová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	1,8738282	0,0017452	1,8738282	0,0017452
10.12.	1,7761945	0,0028797	1,8423978	0,0004862
13.12.	1,8446034	0,0008286	1,8650589	0,0014324
16.12.	1,7566049	0,0015939	1,8500595	0,0011924
19.12.	1,7292519	0,0015858	1,7947006	0,0028583
21.12.	1,6838040	0,0039125	1,9109567	0,0000762
23.12.	1,6628938	0,0032976	1,8351327	0,0030026
27.12.	1,8327529	0,0020574	1,8468623	0,0021806
30.12.	1,8979356	0,0021176	1,8057531	0,0004344
3.1.	2,4013118	0,0005510	1,7784630	0,0020218
7.1.	2,5231593	0,0038005	1,8357373	0,0037823

U zaočkovaného vína obsah kyseliny octové ze začátku mírně klesá a cca od 27.12. začíná růst s tím, že vzorek z posledního dne obsahuje více kyseliny octové, než vzorky z prvních dnů. U kontrolního vína se obsah skoro nemění.

Kyselina citronová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	0,2600597	0,0002258	0,2600597	0,0002258
10.12.	0,2442328	0,0010477	0,1567825	0,0005868
13.12.	0,2547813	0,0001811	0,1599315	0,0013119
16.12.	0,2388430	0,0012768	0,2313048	0,0022392
19.12.	0,2283891	0,0011768	0,2338505	0,0021931
21.12.	0,1140947	0,0023377	0,2486536	0,0005963
23.12.	0,0708751	0,0006785	0,2336571	0,0028773
27.12.	0,1608291	0,0009994	0,2360472	0,0002581
30.12.	N	---	0,2292405	0,0008297
3.1.	N	---	0,2347502	0,0017418
7.1.	N	---	0,2439680	0,0007543

N – nedetekováno

V zaočkovaném víně se kyselina citronová úplně odbourala k 30.12. Obsah kyseliny citronové v kontrolním víně na začátku klesl, poté se hodnota vrátila a zůstala takřka nezměněná.

Kyselina jantarová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
7.12.	1,0736501	0,0017873	1,0736501	0,0017873
10.12.	1,0340890	0,0015883	0,9754994	0,0014974
13.12.	1,0755991	0,0012723	0,9913716	0,0022400
16.12.	1,0435703	0,0008370	0,9882606	0,0013001
19.12.	1,0520710	0,0009427	0,9746217	0,0005947
21.12.	1,0356425	0,0018130	1,0950686	0,0003042
23.12.	1,0241462	0,0098655	0,9825661	0,0006704
27.12.	1,0093824	0,0008127	0,9762452	0,0013432
30.12.	0,9916477	0,0014262	0,9593593	0,0012039
3.1.	1,0063085	0,0018347	0,9504508	0,0023669
7.1.	0,9902879	0,0015978	0,9751286	0,0013017

Obsah kyseliny jantarové se ve vzorcích vín nemění.

7.2.2 Stanovení organických kyselin ve vzorcích vinaře 2

Tabulka 6: Obsah organických kyselin – Cabernet Moravia VINAŘ 2

U analýzy vzorků vína od vinaře 2 byl zredukován jejich počet:

Kyselina vinná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
24.11.	0,5906848	0,0011277	0,5906848	0,0011277
8.12.	0,7531579	0,0006178	0,6248030	0,0002328
22.12.	0,6941504	0,0005113	0,6759103	0,0015212
5.1.	0,7218066	0,0008243	0,7301089	0,0007152
19.1.	0,5040795	0,0014536	0,6808668	0,0009657
2.2.	0,6458306	0,0010159	0,5604034	0,0014074
16.2.	0,7290960	0,0007662	0,4979610	0,0005019

Obsah kyseliny vinné u obou vín kolísá bez výrazných změn.

Kyselina jablečná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
24.11.	6,3376355	0,0018441	6,3376355	0,0018441
8.12.	6,3528054	0,0083120	6,1651960	0,0028777
22.12.	6,3192828	0,0046879	6,0517381	0,0128042
5.1.	6,1951601	0,0035941	6,1028672	0,0036256
19.1.	6,1138941	0,0073339	5,8543639	0,0032928
2.2.	6,0294071	0,0049096	5,7625923	0,0063944
16.2.	6,0692650	0,0013948	5,7924767	0,0033019

Pokles obsahu u kontrolního vína je o něco patrnější než u zaočkovaného vína.

Kyselina mléčná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
24.11.	N	---	N	---
8.12.	0,0220848	0,0015763	0,0441523	0,0009665
22.12.	0,0323861	0,0006097	0,0770668	0,0005450
5.1.	0,0419443	0,0005673	0,0676332	0,0008901
19.1.	0,0494920	0,0008611	0,1210130	0,0011164
2.2.	0,0594196	0,0018409	0,1290848	0,0012597
16.2.	0,0610606	0,0012734	0,1306613	0,0020961

V prvním odběru kyselina mléčná nebyla přítomna, obsah roste více u kontrolního vína.

Kyselina octová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
24.11.	0,8271469	0,0061843	0,8271469	0,0061843
8.12.	0,8845711	0,0069379	0,8318677	0,0011848
22.12.	0,8695330	0,0069433	0,8218601	0,0016420
5.1.	0,8259957	0,0023117	0,8158816	0,0019789
19.1.	0,8024978	0,0082391	0,7701096	0,0058214
2.2.	0,8001567	0,0037087	0,7589266	0,0067508
16.2.	0,7987056	0,0021409	0,7605470	0,0052259

Obsah kyseliny octové nepatrně klesal, u kontrolního vína je pokles viditelnější.

Kyselina citronová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
24.11.	0,2171827	0,0006282	0,2171827	0,0006282
8.12.	0,0415001	0,0006142	0,2066805	0,0005753
22.12.	0,0407664	0,0008914	0,2033340	0,0003808
5.1.	0,0403670	0,0007182	0,2054970	0,0010238
19.1.	0,0419121	0,0013939	0,2092809	0,0008499
2.2.	0,0524059	0,0009435	0,2048433	0,0015879
16.2.	0,0488113	0,0017083	0,2048286	0,0014772

U zaočkovaného vína obsah kyseliny citronové cca 5krát klesl po prvním odběru a pak zůstal beze změn. U kontrolního vína žádná změna s pozdějšími odběry.

Kyselina jantarová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
24.11.	0,9075974	0,0018432	0,9075974	0,0018432
8.12.	0,7295787	0,0036492	0,9013672	0,0011559
22.12.	0,7262370	0,0020952	0,9029453	0,0007551
5.1.	0,7022597	0,0001768	0,9040043	0,0013375
19.1.	0,6783689	0,0013609	0,8961053	0,0010149
2.2.	0,6694315	0,0012007	0,8851488	0,0018322
16.2.	0,6696087	0,0025316	0,8899204	0,0003762

Obsah kyseliny jantarové v zaočkovaném víně klesal, v kontrolním klesal jen velmi mírně.

Tabulka 7: Obsah organických kyselin – Zweigeltrebe **VINAŘ 2**

Kyselina vinná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
27.10.	1,3969875	0,0003614	1,3969875	0,0003614
10.11.	0,9650837	0,0029569	1,2455032	0,0103050
24.11.	1,0379551	0,0065965	1,1787327	0,0005698
8.12.	1,2338785	0,0365255	1,4282789	0,0062177
22.12.	1,0996360	0,0007071	1,4935160	0,0045538
5.1.	1,1766922	0,0224483	1,2251407	0,0051545
19.1.	1,1189286	0,0457033	1,1099057	0,0064595

Obsah kyseliny vinné u obou vzorků vín střídavě kolísal, ale oproti původní hodnotě byla finální naměřená u obou nižší a téměř totožná.

Kyselina jablečná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
27.10.	6,7795017	0,0028301	6,7795017	0,0028301
10.11.	6,6825610	0,0104744	6,6968777	0,0074480
24.11.	6,6113946	0,0043477	6,5490219	0,0062188
8.12.	6,5825143	0,0014388	6,4392872	0,0128643
22.12.	6,4077071	0,0038633	6,1404258	0,0056367
5.1.	6,5685242	0,0066068	5,1654430	0,0042841
19.1.	6,2415315	0,0117110	5,0127144	0,0049948

Obsah kyseliny jablečné klesal, ale u kontrolního vína byl pokles výraznější než u zaočkovaného vína.

Kyselina mléčná				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
27.10.	0,0960500	0,0023687	0,0960500	0,0023687
10.11.	0,1062268	0,0008365	0,0960113	0,0005484
24.11.	0,1097279	0,0006370	0,1150461	0,0020312
8.12.	0,0895977	0,0009645	0,1600189	0,0023883
22.12.	0,0968018	0,0011452	0,2269519	0,0008081
5.1.	0,0926735	0,0005824	0,3667461	0,0029188
19.1.	0,1273836	0,0025624	0,4482205	0,0052141

Obsah kyseliny mléčné se zvyšoval u kontrolního vína, u zaočkovaného nebyl růst průkazný, možná od 19.1. by došlo ještě k nárůstu.

Kyselina octová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
27.10.	0,8391812	0,0017772	0,8391812	0,0017772
10.11.	0,7518550	0,0009011	0,8052162	0,0028691
24.11.	0,7319026	0,0021801	0,8027542	0,0008301
8.12.	0,7870051	0,0029605	0,7859506	0,0161626
22.12.	0,7745306	0,0029623	0,7495236	0,0022622
5.1.	0,7207631	0,0030138	0,7496348	0,0018174
19.1.	0,7072196	0,0009585	0,7571079	0,0033399

Obsah kyseliny octové klesá u zaočkovaného vína nepatrně víc než u kontrolního vína.

Kyselina citronová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
27.10.	0,3392298	0,0021692	0,3392298	0,0021692
10.11.	0,3729499	0,0014451	0,3402535	0,0007030
24.11.	0,3794139	0,0019355	0,3479115	0,0022966
8.12.	0,3365538	0,0022820	0,3356898	0,0085795
22.12.	0,3341363	0,0019569	0,3397574	0,0009761
5.1.	0,3292931	0,0033405	0,3279015	0,0013124
19.1.	0,3253579	0,0027297	0,3377478	0,0034300

U obou vín se obsah kyseliny citronové výrazněji neměnil.

Kyselina jantarová				
Datum odběru vzorku	Zaočkované víno [g.l⁻¹]	SMODCH	Kontrolní víno [g.l⁻¹]	SMODCH
27.10.	0,6441398	0,0034444	0,6441398	0,0034444
10.11.	0,7774838	0,0014876	0,6268666	0,0020286
24.11.	0,7834627	0,0018875	0,6278967	0,0006795
8.12.	0,4741932	0,0019218	0,6316464	0,0012100
22.12.	0,4631626	0,0059786	0,8033277	0,0020771
5.1.	0,4733485	0,0059569	0,7724857	0,0004795
19.1.	0,4514686	0,0008706	0,7894251	0,0006009

Obsah kyseliny jantarové v zaočkovaném víně mírně vzrostl, 8.12. byl zaznamenán pokles, poté beze změn. U kontrolního vína došlo k mírnému nárůstu obsahu kyseliny jantarové.

7.3 DISKUZE

Jednotlivým organickým kyselinám byly vyhodnoceny retenční časy: 3,47 min pro kyselinu vinnou; 3,94 min pro kyselinu jablečnou; 4,61 min pro kyselinu mléčnou; 4,87 min pro kyselinu octovou; 5,18 min pro kyselinu citronovou a 6,03 min pro kyselinu jantarovou. Pro vybrané organické kyseliny byly z naměřených kalibračních řad sestrojeny kalibrační křivky. Výsledky analýzy vzorků, měřených při vlnové délce 210 nm, jsou ve výše uvedených tabulkách. Podle získaných výsledků se provedená analýza osvědčila jako vhodná a použitelná pro stanovení organických kyselin ve víně. Separace byla dostatečná, odchylky minimální, použitý spektrofotometrický detektor byl ideální pro tuto metodu.

U vinaře 1 zjevně jablečno-mléčné kvašení (JMK) proběhlo, u vinaře 2 bylo málo průkazné. Nízký obsah kyseliny vinné mohl být způsoben špatným rokem – nevyhovující klimatické podmínky, nedostatečnou technologickou zralostí hroznů, nebo také vysrážením kyseliny vinné s draselnými ionty v podobě hydrogenvinanu draselného, který se může tvořit už v hroznech, zrajících na půdách bohatých na draslík. To má za následek vyšší obsah kyseliny jablečné v hroznech i následně ve víně, kterou je možné potlačit působením vyselektovaných kmenů mléčných bakterií, pro tento účel uzpůsobených. Zvyšuje se obsah kyseliny mléčné, která zpříjemní původní tvrdou chuť vína. Další kyselina, kterou JMK ovlivnilo je kyselina citronová. V hroznech révy vinné je jí poměrně málo a při nadměrném odbourání kyseliny jablečné dochází k rozkladu kyseliny citronové za vzniku nežádoucího diacetylu (příchuť po kvašeném zelí). Vzhledem ke svému původnímu obsahu (před inokulací bakteriemi) nemá JMK takový vliv na kyseliny jantarovou a octovou. Obsah kyseliny octové po dvou až třech týdnech od zaočkování vína bakteriemi mírně roste. Pokud víno není zaočkováno, obsah kyseliny octové se výrazně nemění. Obsah kyseliny jantarové je beze změny v obou případech.

U zaočkové odrůdy Cabernet Moravia od vinaře 1 je možné názorně pozorovat ukončení JMK: kyselina jablečná je z větší části odbourána do 12 – 15 dnů, potom je její obsah konstantní; kyselina mléčná se vytváří do určitého obsahu stejnou dobu, poté už nedochází ke změnám; kyselina citronová je 15. dnem úplně odbourána, tzn., že hrozí nebezpečí diacetylu. U zaočkové odrůdy Zweigeltrebe se tyto příznaky objevují cca kolem 21. dne. Určitě je pro kvalitu vína důležité sledovat průběh JMK a včas ho ukončit tím, že zabráníme mléčným bakteriím v jejich činnosti (zasířením, změnou teploty či pH). Pro názornost jsou uvedeny v příloze grafy výrazněji se měnících kyselin.

ZÁVĚR

Pro stanovení organických kyselin ve vzorcích vín byla aplikována metoda HPLC s UV – VIS detekcí a spektrofotometrickým detektorem. Metoda HPLC je pro analýzu organických kyselin velmi dobře použitelná, jelikož poskytne v krátkém časovém horizontu velké množství výsledků a navíc s minimální úpravou vzorků před vlastním stanovením, stačí pouze filtrace.

Je možné pozorovat průběh jablečno-mléčného kvašení, při němž se mění trpká kyselina jablečná na daleko jemnější kyselinu mléčnou. Z chromatogramů je tento jev dobře patrný, běžné titrační stanovení a jiné metody analýzy o tomto procesu nepodají patřičné informace. Cílem této diplomové práce bylo zjistit jak ovlivňuje jablečno-mléčné kvašení obsahy jednotlivých organických kyselin v červeném víně.

Pro stanovení byly k dispozici vorky révových vín dvou odrůd: Cabernet Moravia a Zweigeltrebe od dvou vinařů ze stejné vinařské obce Polešovice. Po proběhnutí hlavního kvašení byla menší část vína zaočkována mléčnými bakteriemi a větší část se nechala pro kontrolu. Ze zaočkovaných i kontrolních vín byly postupně odebrány vzorky, následně zamrazeny a uchovány při teplotě – 18 °C, poté šetrně rozmrazeny a analyzovány podle vybrané a výše popsané metodiky.

Z výsledků lze usoudit, že u obou odrůd vinaře 1 proběhlo JMK dosti výrazně i s naprostým odbouráním kyseliny citronové, což může mít vliv na jakost a kvalitu hotového vína, z důvodu poměrového zastoupení jednotlivých kyselin, popř. z důvodu vzniku diacetylu, který dodává vínu nepříjemnou chuť a aroma. Naopak u obou odrůd vinaře 2 si lze povšimnout podezřele pozvolného procesu, kdy kontrolní vorky mají o něco vyšší aktivitu než zaočkované vzorky.

JMK je užitečný proces tvořící díky mikroorganismům ucelenější, chuťově přijatelnější víno. Je to ovšem postup, který je potřeba hlídat a kontrolovat v jeho průběhu, aby výsledné víno nebylo vínem prázdným bez jemné kyselinky, popř. nebylo ovlivněno negativními mikrobiologickými pochody.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PÁTEK, J. Nová vinařská abeceda, Blok, Brno, 1995.
- [2] TRNKA, R. Vína, likéry a destiláty, Grada Publishing, Praha, 2001.
- [3] HUBÁČEK, V. Výroba réвовého vína, Institut, Praha, 1996.
- [4] KOHOUT, F. O víně, 2. doplněné vydání, Merkur, Praha, 1986.
- [5] ROP, O., HRABĚ, J. Nealkoholické a alkoholické nápoje, UTB, Zlín, 2009.
- [6] PAVLOUŠEK, P. Výroba vína u malovinařů, Grada Publishing, Praha, 2006.
- [7] KRAUS, V., FOFŮVÁ, Z., VURM, B. Nová encyklopedie českého a moravského vína, 2.díl, Praga Mystica, Praha, 2008.
- [8] DOHNAL, T., KRAUS, V. Pěstování révy a zužitkování hroznů, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1988.
- [9] DOHNAL, T., KRAUS, V., PÁTEK, J. Moderní vinař, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1975.
- [10] KRAUS, V., HUBÁČEK, V., ACKERMANN, P. Rukověť vinaře, ČZS – nakladatelství KVĚT, Praha, 2000.
- [11] MUSIL, S., MENŠÍK, J. Vinařství, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1970.
- [12] CIBULKA, J. Domácí vína, piva, likéry a medoviny, GEN, Liberec, 2003.
- [13] SELDON, P. Vína, PRAGMA, Praha, 1996.
- [14] ANONYM: Zákon 321/2004 Sb. ve znění 281/2009 Sb. s úč. k 1.1.2011 o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů.
- [15] KRAUS, V., FOFŮVÁ, Z., VURM, B., KRAUSOVÁ, D. Nová encyklopedie českého a moravského vína, 1.díl, Praga Mystica, Praha, 2005.
- [16] ANONYM: Situační a výhledová zpráva Réva vinná a víno, Ministerstvo zemědělství, Praha, duben 2010, 94 s.
- [17] MĚŠŤÁNEK, T.: Polešovické vinohrady ve 2. polovině 16. století, L. V. Print, Uherské Hradiště, 2002, 58 s.
- [18] DAŠEK, F., PÁTEK, J.: Vinařská abeceda, BLOK, Brno, 1983, 168 s.

- [19] STEIDL, R.: Sklepní hospodářství, Národní salon vín, Valtice, 2005, 310 s.
- [20] LAHO, L., MINÁRIK, E.: Vinárstvo II, Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry, Bratislava, 1959, 312 s.
- [21] UHROVÁ, H.: Děláme si sami víno, FINIDR, Vimperk, 2002, 96 s.
- [22] HANOUSEK, M.: Domácí výroba moštů, Grada Publishing, Praha, 2006, 84 s.
- [23] PEČOVÁ, D.: Organická chemie, Nakladatelství Olomouc, Olomouc, 2002, 128 s.
- [24] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J.: Chemie potravin, Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 1983, 632 s.
- [25] KYZLINK, V.: Základy konzervace potravin, Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 1958, 536 s.
- [26] VELÍŠEK, J.: Chemie potravin 2, Osis, Tábor, 2002, 320 s.
- [27] MARTINEZ-ESTESO, M. J. et al. A DIGE-based quantitative proteomic analysis of grape berry flesh development and ripening reveals key events in sugar and organic acid metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 62, 2011, p. 2521-2569.
- [28] Výroba vín, chemické pojmy [online]. [cit. 2011-07-23]. Dostupný z WWW: <http://projektysipvz.gytool.cz//>
- [29] ŘEHOŘ, J.: Organická chemie, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1973, 645 s.
- [30] Vzorce organických kyselin [online]. [cit. 2011-07-24]. Dostupný z WWW: <http://web.vscht.cz//>
- [31] TEYSSEN, S., GONZÁLEZ-CALERO, G., SCHIMICZEK, M., SINGER, M. V. Maleic acid and succinic acid in fermented alcoholic beverages are the stimulants of gastric acid secretion. *Journal of Clinical Investigation*, 103, 1999, p. 707-713.
- [32] FELDKAMP, H.: Domácí výroba vína, Víkend, Vimperk, 2003, 128 s.
- [33] VOGEL, W.: Víno z vlastního sklepa, Víkend, Vimperk, 2010, 136 s.
- [34] Encyklopedie vína, vinařství a vinohradnictví [online]. [cit. 2011-08-04]. Dostupný z WWW: <http://www.znalecvin.cz//>

- [35] ROSSMANN, M.: Víno, Vydavatelství obchodu, Praha, 1982, 182 s.
- [36] MATO, I., SUAREZ-LUQUE, S., HUIDOBRO, J. F. Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chemistry*, 102, 2007, p. 104-112.
- [37] BLANCO GOMIS, D., MANGAS ALONSO, J. J. Analysis for organic acids. *Handbook of Food Analysis*, 1996, pp. 715–743.
- [38] SHUKLA, S. et al. Determination of non-volatile and volatile organic acids in Korean traditional fermented soybean paste. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2010, p. 2005–2010.
- [39] KENNEY, B. F. Determination of organic acids in food samples by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography*, 546, 1991, p. 423-430.
- [40] ZHENG, Y.-J. et al. Determination of Organic Acids in Red Wine and Must on Only One RP-LC-Column Directly After Sample Dilution and Filtration. *College of Food Science and Nutritional Engineering*, 2009.
- [41] FARKAŠ, J., KOVAL, M.: Využití isotachoforesy na identifikaci a stanovení kyselin ve víně. *Kvasný průmysl*, 28, 1982, s. 256-260.
- [42] HULAČ, V.: Příručka sklepního hospodářství, Ústřední svaz čs. vinařů, Brno, 1969, 232 s.
- [43] DAVÍDEK, J. a kol. *Laboratorní příručka analýzy potravin*, Nakladatelství technické literatury, Praha, 1981, 72 s.
- [44] LIMA, J., LOPES, T., RANGEL, A. Enzymatic determination of L(+) lactic and L(-) malic acids in wines by flow-injection spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta*, 366, 1998, p. 187-191.
- [45] GHASSEMPOUR, A., NAJAFI, N. M., AMIRI, A. A. Determination of citric acid in fermentation media by pyrolysis mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 70, 2003, p. 251-261.
- [46] VONDRÁK, D., VULTERIN, J.: *Analytická chemie*, Nakladatelství technické literatury, Praha, 1985, 264 s.

- [47] CHURÁČEK, J., JANDERA, P.: Úvod do vysokoúčinné kapalinové kolonové chromatografie, Nakladatelství technické literatury, Praha, 1985, 192 s.
- [48] KLOUDA, P.: Moderní analytické metody, Pavel Klouda, Ostrava, 2003, 132 s.
- [49] LEVI, V., WEHR, T., TALMADGE, K., ZHU, M. Analysis of organic acids in wines by capillary electrophoresis and HPLC. American Laboratory, 25, 1993, p. 29–32.
- [50] Separáční metody v analytick  chemii [online]. [cit. 2011-08-10]. Dostupn  z WWW: <http://users.prf.jcu.cz/>
- [51] DOLEŽALOVÁ, V. a kol. Laboratorní technika v klinick  biochemii a toxikologii, Institut, Brno, 1995, 286 s.
- [52] LOUGH, W. J., WAINER, I. W.: High Performance Liquid Chromatography, Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1996, 276 p.
- [53] CHURÁČEK, J. a kol. Nové trendy v teorii a instrumentaci vybraných analytických metod, Academia, Praha, 1993, 389 s.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

% obj.	objemové procento
°C	Celsiův stupeň
CaCO ₃	uhličitan vápenatý
cca	circa
CO ₂	oxid uhličitý
g	gram
g.l ⁻¹	gram na litr
g.mol ⁻¹	gram na mol
ha	hektar
hl	hektolitr
JMK	jablečno-mléčné kvašení
kg	kilogram
l	litr
mg.l ⁻¹	miligram na litr
mm	milimetr
°NM	stupeň normalizovaného moštoměru
nm	nanometr
pH	aktivní kyselost
SO ₂	oxid siřičitý
tj.	to je
tzn.	to znamená
tzv.	takzvaný
UV	ultrafialové záření
VIS	viditelná část spektra

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Horizontální hydraulický lis [3].....	13
Obrázek 2: Kvasné zátky [10].....	16
Obrázek 3: Typy lahví na víno [10].....	22
Obrázek 4: Vinařská podoblast slovácká s vinařskou obcí Polešovice [16].....	30
Obrázek 5: Vzorec kyseliny octové [28].....	36
Obrázek 6: Vzorec kyseliny jantarové [30].....	37
Obrázek 7: Vzorec kyseliny mléčné [28].....	38
Obrázek 8: Vzorec kyseliny jablečné [28].....	39
Obrázek 9: Vzorec kyseliny L-vinné [28].....	40
Obrázek 10: Vzorec kyseliny citronové [30].....	41
Obrázek 11: Schéma kapalinového chromatografu [50].....	47
Obrázek 12: Chromatograf HPLC, na němž byla provedena metoda.....	54
Obrázek 13: Kalibrační křivka pro kyselinu vinnou.....	56
Obrázek 14: Kalibrační křivka pro kyselinu jablečnou.....	57
Obrázek 15: Kalibrační křivka pro kyselinu mléčnou.....	58
Obrázek 16: Kalibrační křivka pro kyselinu octovou.....	58
Obrázek 17: Kalibrační křivka pro kyselinu citronovou.....	59
Obrázek 18: Kalibrační křivka pro kyselinu jantarovou.....	59

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Chemické složení vína [5].....	31
Tabulka 2: Vlastnosti vybraných karboxylových kyselin [24].....	36
Tabulka 3: Přehled detektorů v kapalinové chromatografii [47].....	48
Tabulka 4: Obsah organických kyselin – Cabernet Moravia VINAŘ 1	60
Tabulka 5: Obsah organických kyselin – Zweigeltrebe VINAŘ 1	63
Tabulka 6: Obsah organických kyselin – Cabernet Moravia VINAŘ 2	66
Tabulka 7: Obsah organických kyselin – Zweigeltrebe VINAŘ 2	68