

Stanovení ukazatelů jakosti a zdravotní nezávadnosti vína

Tereza Krejčířiková, Bc.

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Tereza KREJČÍŘÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T08805**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Stanovení ukazatelů jakosti a zdravotní nezávadnosti vína**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizace vybraných ukazatelů jakosti a nezávadnosti vína.
2. Technologie výroby vína.
3. Popis jednotlivých analytických metod pro stanovení vybraných ukazatelů.

II. Praktická část

1. Metodika stanovení vybraných ukazatelů.
2. Stanovení vybraných ukazatelů ve vzorcích vína.
3. Zhodnocení jednotlivých analýz pro využití v laboratorních cvičeních na UTB.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin (1,2,3)* OSSIS, Tábor 1999.

[2] JACKSON, R. S. *Wine Science, Principles and Applications (Third Edition)*, Elsevier 2008.

[3] BALÍK, J. *Vinařství: Návody do laboratorních cvičení*, MZLU 1998.

[4] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*, 1. vydání, Nakladatelství Pavel Klouda 2003.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavel Hanuštiak

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

4. ledna 2010

Termín odevzdání diplomové práce:

19. května 2010

dne



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské 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/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou 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/bakalářskou 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/bakalářské 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/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské 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 nevydělečně 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 pořizovat 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 vzdělávacího 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 výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se v teoretické části zabývá stručně historií vinařství a především pak technologií výroby vína. V praktické části stanovujeme některé z ukazatelů jakosti a zdravotní nezávadnosti vybraných vzorků vín s cílem zjistit, jaké jsou možnosti stanovení těchto ukazatelů v podmínkách laboratoří na UTB ve Zlíně.

Klíčová slova: : víno, ukazatele jakosti, biogenní aminy

ABSTRACT

This thesis is the theoretical part with a brief history of wine and especially the technology of wine production. The practical part sets out some of the indicators of quality and safety of health selected wine samples to determine the possibilities of setting these parameters in laboratory conditions at UTB in Zlín.

Keywords: wine, quality indicators, biogenic amines

Děkuji Ing. Pavlu Hanuštiakovi za odborné vedení a za jeho rady a připomínky, které mi pomohly ke zpracování diplomové práce.

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

OBSAH

ÚVOD	10
1 TEORETICKÁ ČÁST	11
1 HISTORIE VÝROBY VÍNA	12
2 VZNIK ODRŮD RÉVY VINNÉ	14
3 ORGANOLEPTICKÁ CHARAKTERISTIKA VÍNA	15
3.1 CHUŤ VÍNA.....	15
3.1.1 Sladká chuť.....	15
3.1.2 Kyselá chuť.....	15
3.1.3 Slaná chuť.....	16
3.1.4 Hořká a svíravá chuť.....	16
3.2 AROMATICKÉ LÁTKY	16
3.3 VŮNĚ VÍNA	17
3.4 BARVA VŮNĚ	17
4 TECHNOLOGIE ZPRACOVÁNÍ RÉVY VINNÉ	18
4.1 PROSTORY A ZAŘÍZENÍ NA ZPRACOVÁNÍ VÍNA	18
4.2 ROZDÍLNÁ VÝROBA VÍNA BÍLÉHO A ČERVENÉHO	19
4.2.1 Bílé víno	20
4.2.1.1 Zrání a sklizeň hroznů	20
4.2.1.2 Lisování hroznů	21
4.2.1.3 Kvašení moštu	23
4.2.2 Červené víno.....	25
4.2.2.1 Zrání hroznů	25
4.2.2.2 Odzrňování a drcení.....	25
4.2.2.3 Příprava drtě pro kvašení	26
4.2.2.4 Nakvášení a kvašení rmutu.....	26
4.2.3 První stáčení vína	26
4.2.4 Druhé stáčení vína.....	27
4.2.5 Zrání vína.....	27
4.2.6 Školení vína	28
4.2.7 Lahvování vína.....	28
5 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH UKAZATELŮ JAKOSTI A NEZÁVADNOST VÍNA	30
5.1 OXID SIŘIČITÝ	31
5.2 BIOGENNÍ AMINY	33
5.3 REDUKUJÍCÍ CUKRY.....	34
5.4 KYSELINA L-ASKORBOVÁ.....	36
6 POPIS JEDNOTLIVÝCH ANALYTICKÝCH METOD PRO STANOVENÍ VYBRANÝCH UKAZATELŮ	37

6.1	JODOMETRIE	37
6.2	MANGANOMETRIE.....	37
6.3	IONTOVĚ -VÝMĚNNÁ CHROMATOGRRAFIE.....	38
7	CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	40
II	PRAKTICKÁ ČÁST	41
8	METODIKA STANOVENÍ VYBRANÝCH UKAZETELŮ	42
8.1	STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO TITRACÍ ODMĚRNÝM ROZTOKEM JÓDU	42
8.1.1	Pomůcky a chemikálie.....	42
8.1.2	Pracovní postup	42
8.1.3	Ukázka výpočtu oxidu siřičitého	42
8.2	STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	43
8.2.1	Pomůcky a chemikálie.....	43
8.2.2	Pracovní postup	43
8.3	ÚPRAVA VÍN PRO STANOVENÍ REDUKUJÍCÍCH CUKRŮ.....	43
8.3.1	Příprava testovaného vína čířením neutrálním octanem olovnatým	44
8.3.1.1	Pomůcky a chemikálie.....	44
8.3.1.2	Pracovní postup	44
8.4	STANOVENÍ REDUKUJÍCÍCH CUKRŮ PODLE BERTRANDA.....	44
8.4.1	Pomůcky a chemikálie.....	44
8.4.2	Pracovní postup	45
8.4.3	Ukázka výpočtu	45
8.5	STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ A REDUKTONŮ.....	45
8.5.1	Pomůcky a chemikálie.....	46
8.5.2	Pracovní postup	46
8.5.3	Ukázka výpočtu kyseliny askorbové a reduktonů.....	46
8.6	VZORKY VÍNA	47
9	VÝSLEDKY A DISKUZE	48
9.1	OBSAH OXIDU SIŘIČITÉHO VE VZORCÍCH VÍNA	48
9.2	OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE VZORCÍCH VÍNA	50
9.3	OBSAH CUKRŮ VE VZORCÍCH VÍNA.....	52
9.4	OBSAH KYSELINY ASKORBOVÉ VE VZORCÍCH VÍNA.....	54
10	ZHODNOCENÍ JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ PRO VYUŽITÍ V LABORATORNÍCH CVIČENÍCH NA UTB	55
	ZÁVĚR	57
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	58
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	63
	SEZNAM OBRÁZKŮ	64
	SEZNAM TABULEK	65
	SEZNAM PŘÍLOH	66

ÚVOD

Víno je v současnosti i historicky jedním z nejznámějších alkoholických nápojů. Otázky týkající se jeho kvality a zdravotní nezávadnosti jsou proto vždy aktuální. Kvalita vína se začíná vytvářet už ve vinici. Složení a vývoj vína jsou ovlivněny nejrůznějšími biochemickými procesy. Každé víno je odlišné v poměrech jednotlivých složek, a je tedy nutné ho hodnotit jako celek.

Jakostním parametrem vína je např. SO_2 , který se přidává ve větším množství při výrobě vína z narušených hroznů, aby nedošlo ke znehodnocení výrobku. Těmto vínům se věnuje větší pozornost než vínům ze zdravých hroznů. Přídavek SO_2 nesmí překročit stanovené limity. Také ostatní parametry jakosti vína se musí řídit nařízením komise (ES) a limity takto stanovené by ve vínech v oběhu neměli být překročeny. Pro stanovení ukazatelů jakosti slouží akreditované laboratoře.

Problematika vína je přesně definována v zákoně o vinohradnictví a vinařství č. 321/2004 Sb. Víno révy vinné smí být vyráběno pouze podle platného zákona. Zákon tak zabezpečí podmínky pro kvalitu vyráběného vína.

Tato práce se zabývá některými ukazateli jakosti a zdravotní nezávadnosti vína. V teoretické části je popsána stručně historie vína, následuje podrobný popis technologií zpracování révy vinné. V praktické části je práce zaměřena na stanovení oxidu siřičitého, biogenních aminů, redukujících cukrů a kyseliny askorbové ve víně. Stanovení bylo prováděno v laboratorních podmínkách UTB Zlín.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 HISTORIE VÝROBY VÍNA

Vinná réva je jedna z nejstarších kulturních plodin. Již 6000 – 7000 let př.n.l. se hrozny využívaly k výrobě vína. Za kolébku vinařství se považuje Přední Asie (dnešní Írán a Irák) [4].

Historii výroby vína můžeme logicky lépe sledovat od dob, kdy lidé začali využívat písmo a zaznamenávat různé události. Tak například víme, že egyptští faraoni vlastnili vinné sklepy, egyptané zkoušeli různé způsoby výroby vína, např. různé druhy lisování, zahřívání moštu kvůli většímu obsahu cukru nebo filtrování vína přes látku [2].

Antické národy věřili, že víno je dar od bohů [3]. Římané přikládali velký význam geografickému původu, klimatickým podmínkám a samozřejmě správného termínu sklizně. V té době znali už odzrňování hroznů a výrobu slámových vín. Budova, kde se víno vyrábělo, měla lisovnu vybavenou kládovým lisem, kvasírnu a ležácký sklep [2]. Víno bylo v Římě základní potravinou [4].

V období raného středověku vynikala ve výrobě vína Francká říše. Císař Karel Veliký se snažil vnést do ošetření vín základní hygienické normy, např. zakázal šlapání bosýma nohama a přechovávání vín v kožených vacích. Vinice v té době byly osazeny směsí různých odrůd. Rozvoji vinařství v té době také značně napomáhaly zejména křesťanské kláštery. Víno se podávalo při katolické mši, ale bylo také považováno za šlechtický nápoj, zatímco pivo bylo považováno za barbarský nápoj oproti vínu. Víno též symbolizovalo přijetí křesťanské víry.

V 19. století bylo ve Francii povoleno cukření moštů řepným cukrem. Byla vyvinuta technologie přidávání cukru do nefermentovaného vinného moštu, tzv. docukřování, známé také jako „chaptalizace“ (dle vynálezce a protagonisty této metody Jean-Antoine Chaptal, chemika a především ministra vnitra v období vlády císaře Napoleona). Tato metoda pobouřila vinaře. Výrobci vína totiž umožňoval obětovat kvalitu nad kvantitou, přidavkem cukru se maskovala nezralost vína. Vyrovnila se tak vysoká hladina kyselin a zvýšil se obsah alkoholu.

Vinaři do roku 1870 neměli jistotu, zda kvašení moštů vytváří kvasinky jak tvrdil Louis Pasteur. Pravdu L. Pasteur objasnil pokusem, kdy izoloval keře révy od jarního rašení do sběru hroznů v neprodyšném skleníku. Kvasinky na těchto hroznech nebyly a mošt nekvasil. Za-

tímco mošt z hroznů, které nebyly izolovány kvasil. Tímto pokusem L. Pasteur obhájil teorii o kvašení vína [2].

Koncem 19. století byly evropské vinice napadeny révokazem (kořenová mšice) [2]. Révokaz byl dovezen do Francie z Ameriky. Do Čech se révokaz dostal až v roce 1970 [45]. Koncem 19. století se ještě rozšířily dvě houbové choroby: plíseň révokazová (peronospora) a padlí révové (oidium) [2]. Před napadením révokazem byly vinice osázeny výhradně révou pravokořennou. Výsadba révy pravokořenné byla zakázána po révokazové kalamitě. Jako obrana proti révokazu se réva štěpuje na odolné podnože.

Nové odrůdy, které byly získány šlechtěním, mohou vzniknout křížením semen nebo mutací. Hybridy americké vznikly křížením americké odrůdy s druhem *Vitis latuesoa*. Tyto hybridy mají intenzivní jahodovou vůni. Francouzské hybridy se vyznačují nízkou kvalitou vína, ale mají vysokou odolnost proti houbovým chorobám [40].

Ve 20. století složitou situaci vinařů zhoršily dva celosvětové konflikty. Po 2. světové válce se postupně obnovovaly zanedbané vinice a evropské vinařství zažilo kvantitativní rozvoj. K vysokým sklizním pomáhalo zdokonalené technické vybavení, vysoké dávky minerálních hnojiv a lepší ochrana proti škodlivým činitelům. Značný obrat v ČR nastal až v 90. letech 20. století. Vinaři v ČR zvýšili kvalitu vína tím, že začali využívat nejmodernější technologie a snížili objem sklizně. Spojením nových technologií a dlouholetých zkušeností lze vyrobit vysoce kvalitní vína se zajímavou strukturou [2].

2 VZNIK ODRŮD RÉVY VINNÉ

Všechny druhy vinné révy se řadí mezi 14 rodů čeledi *Vitaceae* [40]. Postupně vzniklo mnoho druhů rodu *Vitis*, které jsou adaptované k určitým ekologickým podmínkám [40, 1]. Rod *Vitis* se dělí na dva podrody: *Muscadiniae* a *Euvitis*. Podrod *Muscadiniae* má pouze tři druhy. Z hlediska vinařského je z tohoto podrodu zajímavý druh *Vitis rotundifolia*, který zahrnuje několik zušlechtěných odrůd a pochází z jihovýchodní části USA. Tyto odrůdy se vyznačují velkou odolností proti škodlivým činitelům, (např. houbové choroby a révokaz). Hrozny z těchto odrůd slouží především k rychlé spotřebě. Druhý podrod je *Euvitis*, který má asi 70 druhů. Nejvíce jich roste v lesích Severní Ameriky a Kanady. Tyto druhy mají vysokou odolnost proti škodlivým činitelům. Víno z těchto hroznů je špatné jakosti, nepříjemné vůně a chuti. Díky své odolnosti proti škůdcům se využívají ve šlechtění k tvorbě podnoží, které jsou odolné proti révokazu. Další druhy slouží k vyšlechtění odrůd révy odolných proti houbovým chorobám [40].

Z Evropy pochází jediný druh - réva evropská, která je nazývána réva ušlechtilá - *Vitis vinifera* [40]. *Vitis vinifera* má dva poddruhy: *Vitis vinifera ssp. silvestris*, *Vitis vinifera ssp. sativa* [1].

3 ORGANOLEPTICKÁ CHARAKTERISTIKA VÍNA

Víno je alkoholický nápoj vznikající kvašením sladkého moštu, získaného z bobulí révy vinné. Réva vinná je rostlina, která potřebuje mnoho světla a tepla. Na našem území ji proto můžeme pěstovat v nejteplejších oblastech. Plodem révy je bobule, která roste v plodenství, nazývaný se hrozen [42].

3.1 Chut' vína

Chemické složení vína ovlivňuje do určité míry vůni a chuť různých odrůd vína. Rozhodující vlastností při posuzování vína bývá chuť. Základní složky chuti u vína jsou: sladká, kyselá, hořká, svíravá a případně slaná. Tyto základní složky chuti by měli u vína vytvářet chuťovou souhru tzv. harmonii [2].

3.1.1 Sladká chuť

Sladká chuť vína se vyskytuje ve vínech plných, kulatých, s obsahem zbytkového cukru. Z přírodních cukrů se vyskytují hexózy (glukóza, fruktóza). Ve víně se za přirozený zbytkový cukr považuje fruktóza, která je dvakrát sladší než glukóza. Sladkou chuť mají také nezkvasitelné pentózy (arabinóza, xylóza, aj.), které jsou obsažené ve víně v nepatrných množstvích [2].

3.1.2 Kyselá chuť

Kyselá chuť vzniká jako produkt látkové výměny při růstu révy vinné. Zelené části vytváří kyselinu vinnou. Obsah kyseliny vinné v hroznech je stabilnější a snižuje se až při teplotách kolem 30 °C, a také se snižuje se zvýšeným množstvím alkoholu. Při nedostatečném zasiřeni se v teplejším prostředí rozmnoží mléčné bakterie, které rozkládají kyselinu vinnou na kyselinu mléčnou a octovou. Tím dochází k nechtěnému zvrhnutí vína.

Kyselina jablečná je snižována během kvašení činností kvasinek. Také může být zcela odbourána mléčnými bakteriemi v mladých vínech. Úplné odbourání kyseliny jablečné je žádoucí u červených vín.

Kyselina citronová se vyskytuje v menším množství. Vyskytuje se pouze v mošttech hroznů, které jsou napadeny šedou plísní, ale také v hroznech, které jsou sušené na slámě a vlivem vyšší koncentrace všech látek se zvyšuje její obsah.

Nepatrné množství kyseliny askorbové je také v mošttech a zmizí během školení vína. Spolu se zasařením vína je přídavek kyseliny askorbové povolen jako ochrana před oxidací.

Jako ukazatel zdravotního stavu vína je kyselina octová, která je také ve víně obsažena a patří mezi těkavé kyseliny. Kyselina octová je produktem bakteriální činnosti v nemocném víně [2]. Příliš mnoho kyseliny octové ve víně se projeví jako tzv. „octová pachut“, a to právě příčinou rozmnožení octových bakterií [46].

3.1.3 Slaná chuť

Slanou chuť tvoří hlavně soli minerálních a organických kyselin a samotné organické látky. Většinou tyto složky dodávají vínu na svěžesti [2].

3.1.4 Hořká a svíravá chuť

Za původce svíravé i hořké chuti můžeme označit polyfenoly. Ty jsou důležité z hlediska jak organoleptického tak technologického. Polyfenoly dávají vínu barvu a do jisté míry ovlivňují také chuť, zejména u červených vín. Další jsou třísloviny - flavonoly, mezi které patří katechin a epikatechin. Jsou obsaženy v malém množství ve slupce a nejvíce v semenech. Mají silně svíravou chuť, i proto se semena odstraňují během technologie nakvašování červených rmutů. K polymerizaci flavonolů dochází během stárnutí vína a vznikají třísloviny zvané taniny. Taniny se projevují jako látky svíravé a škrablavé chuti [2].

3.2 Aromatické látky

Aroma vína je tvořeno několika stovkami těkavých látek. Odrůdy révy vinné se liší skupinou aromatu, které jsou pro danou odrůdu charakteristické [44]. Mezi zástupce aromatických látek patří kyseliny, estery (např. geraniol vytváří vůni květu růže), terpenoly, které dodávají vínu kořenitou či květinovou vůni. Na vady vína upozorňují těkavé fenoly. Většina aromatických látek je obsažena ve slupkách bobulí a během macerace se dostávají do vína. Řada aromatických látek je produkována bakteriemi a kvasinkami. Také některé aldehydy obsažené ve víně je možné spojovat s projevem aroma. Mezi nejznámější patří vanilin, který se do vína dostává z dubového dřeva sudů barrique [2]. Dále se můžeme setkat s květinovým aroma, ovocitým aroma (maliny, ostružiny, švestky a další), živočišným aroma (kožešina, kůže, kočičí moč – obzvláště ne zcela vyzrálý Sauvignon Blanc) [50].

3.3 Vůně vína

Při hodnocení vůně vína se zapojuje čich ve dvou okamžicích:

- při vdechu (přímo nosem)
- při výdechu (nepřímo zpětně nosem)

Nasáváme odstíny vůně, které jsou pro víno typické. Čich je často opomíjen na úkor ostatních vjemů, které také na čichu závisí. Pokud bychom vynechali čich ucpáním nosu, nebyli bychom schopni rozeznat např. vůni citronu od vůně pomeranče. Čich je považován za velmi citlivý nástroj [51].

3.4 Barva vůně

Molekuly zodpovědné za barvu vína jsou různorodé. Mladé červené víno získává barvu z antokyanidinu, ve starším víně je antokyanidin vyloučen a vystávají hnědé taniny. Barva bílých vín je způsobena rostlinným flavonoidem quercetinem, který oxidací hnědne. Zpočátku mohou mít bílá vína nazelenalý odstín, což je způsobeno molekulami chlorofylu, který zbyl z procesu kvašení [51].

4 TECHNOLOGIE ZPRACOVÁNÍ RÉVY VINNÉ

Zpracování hroznů je v principu stejné pro malovýrobce vína i pro velké vinařské podniky. Rozdíly jsou v technickém vybavení potřebného pro výrobu vína. Dále mají velkovýrobci k dispozici sofistikované techniky a technology, biologicko - chemické laboratoře s odborně vzdělanými chemiky. Pro všechny vinaře platí jedna základní technologická zásada: hrozny poškozené a silně nahnilé musí být zpracovány odděleně od hroznů zdravých. Vína a mošty z takto poškozených hroznů musí být ošetřeny speciálním způsobem, používá se velké množství SO_2 . Také se jim věnuje daleko větší pozornost než vínům ze zdravých hroznů [6].

4.1 Prostory a zařízení na zpracování vína

Výrobní prostory jsou zpravidla u malovínaře omezeny na lihovnu a sklep. V těchto prostorech musí být zajištěn hygienický standard a větrání. Samozřejmostí by měla být tekoucí voda a kanalizace [3]. Sklepy i lisovna se většinou umísťují v blízkosti vinic. Důležité je, aby víno bylo uloženo v takových sklepech, které změnami teplot neohrožují jeho kvalitu. Vysoké teploty ovlivňují stárnutí vína, víno je pak náchylné k nemocem. Nízké teploty ovlivňují průběh a délku kvašení [1]. V dobře vybudovaném sklepě by měla být udržována teplota v rozmezí 8 - 12°C a relativní vlhkost 60 - 80 %.

K vybavení sklepa patří samozřejmě sudy, o které je třeba pečovat, aby nedošlo ke znehodnocení vína. Po vytočení vína je třeba sudy vymýt vodou. Voda se vyměňuje tak dlouho, dokud nevytéká čirá voda. Prázdné sudy se každých 6 - 8 týdnů konzervují oxidem siřičitým. Stejně důkladně jako o vnitřek sudu pečujeme také o vnějšek sudu. Vnější strana sudu se čistí kartáčem a konzervujeme lněným olejem [3].

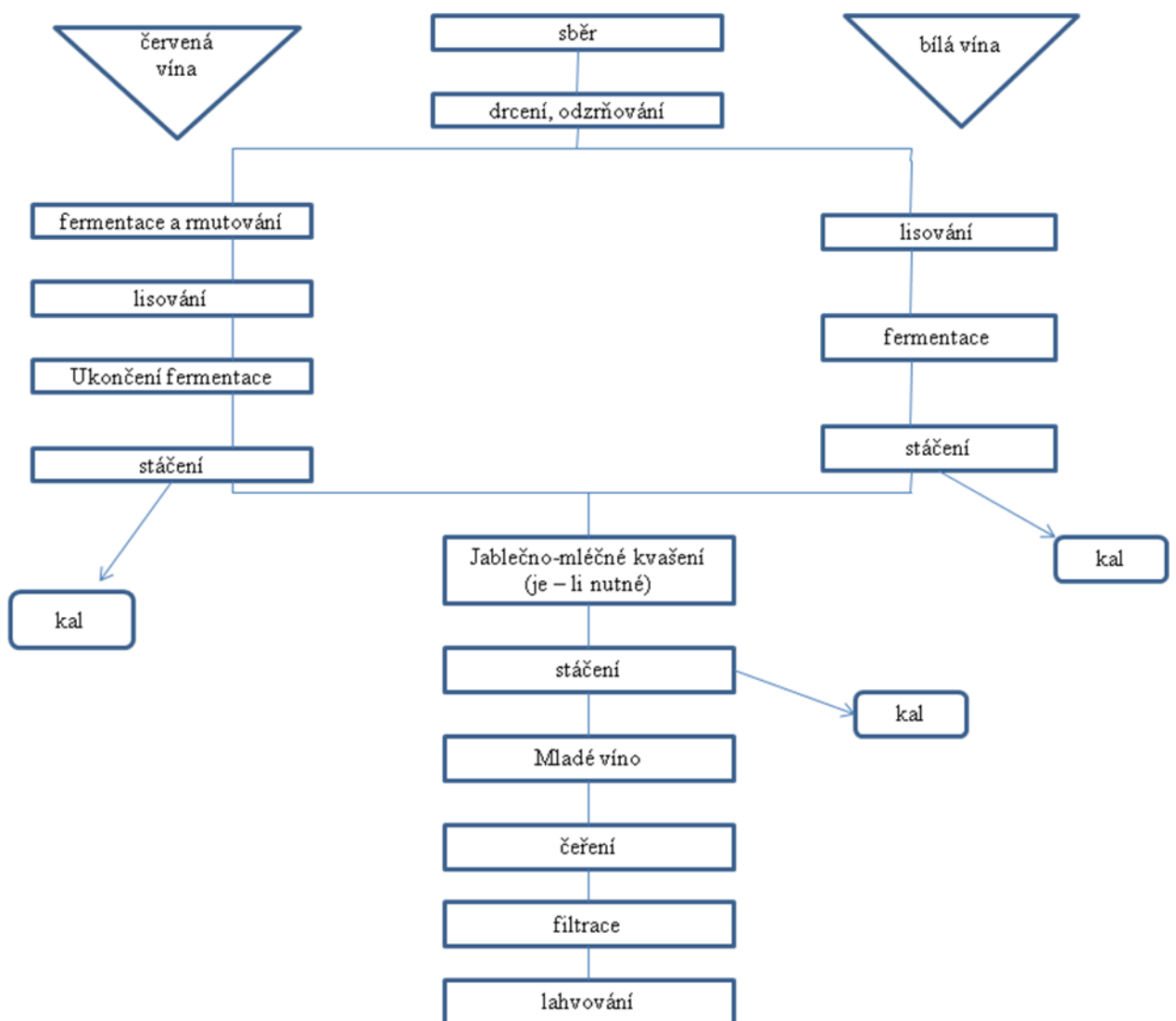
Osvědčeným materiálem pro uchování vína je také sklo. Skleněné nádoby jsou méně vhodné ke kvašení, a to především proto, že sklo nepropouští kyslík. Ten je potřebný k rozmnožování kvasinek [3, 1].

Při zpracování hroznů a dalších postupech při výrobě vína musí být dodrženy správné zásady hygieny a sanitace. Pokud dojde k jejich porušení, dochází k rozvoji bakterií a plísní. Tyto mikroorganismy mohou infikovat mošty i víno. Absolutní čistota musí být dodržována při plnění vyškoleného vína do láhví. I strojní zařízení v umývárně láhví a v lahvovně musí být dezinfikováno, aby se bakterie nemohly rozmnožovat [6].

4.2 Rozdílná výroba vína bílého a červeného

Hlavní rozdíly při výrobě červeného a bílého vína jsou:

- rmut bílých hroznů se lisuje v krátké době, ale většinou se nechá rmut macerovat 3 - 6 hodin pro lepší extrakci aromatických látek, které jsou obsaženy ve slupce.
- u červených vín se rmut lisuje až poté, co prokvasí spolu se slupkami. Ve slupkách jsou obsaženy barviva, které se kvašením extrahují do rmutu [34].



Obrázek 1: schéma výroby bílého a červeného vína [28]

4.2.1 Bílé víno



Obrázek 2: réva vinná

Hlavními technologickými postupy pro výrobu bílého vína jsou slizeň hroznů, odzrňování, drcení a naležení drtě, lisování, odkalení moštu, úprava moštu, kvašení, stáčení, školení a stabilizace [2].

4.2.1.1 Zrání a sklizeň hroznů

Každý rok se musí sledovat vývoj hroznů podle fenologických termínů - průměrné datum kvetení sledované odrůdy, průměrné datum zaměkání bobulí a průměrné datum fyziologické zralosti hroznů. Nedodržením těchto termínů může dojít k výraznému ovlivnění kvality vína. Velmi dobrou pomůckou pro zjišťování zralosti bobulí je jejich ochutnávání. Vyzrání bobulí je také závislé na teplotě a množství půdní vláhy [2].

Pro sklizeň hroznů volíme dny bez deště, aby nedošlo k naředění moštu. Hrozny napadené hnilobou sklídíme a zdravé necháme dalšímu vyzrání. Tento způsob se vyplatí, jinak by se zhoršila jakost vína napadenými hrozny. Při ruční sklizni se hrozny odřezávají tvarovanými nůžkami špičatého tvaru a pokládají se do plastových kbelíků. Sklizeči musí dbát na to, aby do přepravek neházeli listí a žádné cizí předměty, protože by mohlo dojít k poškození odzrňovacího zařízení. Musí také umět rozpoznat projev napadení plísní, rozeznávat ušlechtilou plíseň šedou ve fázích vývoje. Z narušených hroznů se musí oddělit ty části hroznů, které jsou napadeny plísněmi, a to především *Aspergillus*, *Penicillium expansum* [2]. Tyto plísně jsou původci ochratoxinu. Jeho obsah v potravinách může vést k poškození ledvin [48].

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny hodnotí ochratoxin jako možný karcinogen u lidí [49]. Při mechanické sklizni se využívají sklízecí stroje s portálovým podvozkem, které obkročmo pracují nad řadami keřů. Zralé bobule se oddělují od třapin a padají do sběrného ústrojí nesené strojem nízko nad zemí. Výkon mechanického sklizeče je 3 - 4 hektary vinice za den. Při ruční sklizni je pro sklizeň 1 hektaru vinice zapotřebí kolem 250 hodin [2]. Hrozny je nutné zpracovat v den jejich sběru. Tím zamezíme zapaření suroviny a rozmnožení nežádoucí mikroflóry [3].

4.2.1.2 Lisování hroznů

Existuje mnoho způsobů, jak postupovat při základním zpracování hroznů.

Lisování celých hroznů bez narušení bobulí se získá světlý mošt z bílých, červených i modrých hroznů. Z modrých hroznů vytéká při vylisování bezbarvý mošt, protože červené barvivo se vyskytuje ve slupkách. Toho se využívá při získávání moštů s velmi nízkým obsahem polyfenolů pro výrobu šumivých vín. U nás se šumivé vína vyrábí z odrůd Veltínské zelené a Ryzlink vlašský. S odrůdami Chardonnay a Ryzlink rýnský se pro výrobu šumivých vín setkáváme málo, přestože jsou pro výrobu vhodné. Mošt z lisovaných celých hroznů obsahuje více cukru a kyselin, má vyšší pH, vyšší obsah primárních vůní ovocných plodů. Podobně se k získávání ledového vína lisují celé zmrzlé hrozny.

Lisování mírně narušených hroznů je velmi běžné ve většině vinařských podnicích. Z mírně narušených hroznů vytéká nelisovaný mošt, který se nazývá samotok. Samotok se pak smísí s moštem vylisovaným.

Lisování rozdrčených hroznů bez odzrnění je prováděno pouze výjimečně. Používá se při velmi dobré vyzrálosti nejen bobulí, ale i třapiny. Dříve se drtilo bosýma nohama, kdy nedošlo k rozdrčení třapiny. Později se začalo drtit v mlýnku s dřevěnými válci. Dnes se využívají válce z tvrdého plastu. Mošty takto získané snadno oxidují.

Drcení celých hroznů se někdy využívá pro výrobu tvrdších červených vín nebo ke zvýšení obsahu tříslovin ve vínech z modrých odrůd (př. Modrý Portugal). Jsou známé také způsoby výroby bílých vín, kdy se nakváší drť některých odrůd, aby se získal vysoký obsah tříslovin konzervujících víno.

Lisování odzrněné drtě je dnes nejběžnějším způsobem při výrobě vín [2]. Odzrnění znamená odstranění zrníček, ale třapin. Jejich luhováním v moštu by se do výchozí suroviny

dodaly nežádoucí chuťové příměsi [8]. Při tvorbě červených vín se odzrněná drť používá k nakvášení. První odzrňovací stroje přišly ve druhé polovině 19.století. Odzrňovací stroje rozemlely hrozny a pak se rozdrčené bobule odrhly rotujícími lopatkami o vnitřní stěnu válce. V současnosti pracují stroje na zdokonaleném principu. Lisováním odzrněné drtě je odtok moštu pomalejší, obsah hořkých látek a tříslovin menší. Odzrněná drť se nechává odležet, čímž se usnadňuje lisování a obsah extraktu a aromatických látek se zvyšuje [2].

Drť nebo scezený rmut by se měl co nejrychleji ihned po naležení vylisovat [1]. Lisováním se odděluje kapalina od tuhých částí. Stupeň lisování závisí na lisovaném rmutu a lisovacím tlaku. Rychlost lisování závisí na vlhkosti a stupni rozdrčení hroznů a typu lisovacího zařízení. Důležitou roli při lisování má také odrůda révy a stupeň vyzrálosti [3]. U nejmodernějších postupů, kdy se vyrábí jemná aromatická vína, se hrozny nedrtí, ale jen lisují. Tato technologie vyžaduje maximálně zkrátit čas nutný ke zpracování hroznů [8].

Podle pohybového mechanismu rozlišujeme šroubové lisy na vřetenové a jařmové. V malovýrobě se nejvíce využívají vřetenové lisy, často vylepšené klínovou hlavicí. Při lisování je třeba dodržovat čistotu. Celý lis se před použitím musí vymýt [1].



Obrázek 3: vřetenový lis

Na počátku lisování uniká z lisovacího systému vzduch a tuhá fáze se stmeluje. Zmenšování objemu a odtok kapalné fáze způsobuje zvyšování tlaku. Při prudkém zvyšování tlaku se snižuje výkon lisu. Na počátku lisování je nutné použít nižší tlak a pak ho postupně zvyšovat.

vat a v určitých intervalech přerušovat. Tímto způsobem zajistíme rovnoměrný odtok moštu a rychlejší vylisování [3].

V současné době se používají moderní hydraulické a pneumatické lisy, které zpracují na jeden zátaž až několik desítek tun. Lisy jsou schopny ze 130 - 140 kilogramů hroznů vylisovat až 100 litrů šťávy. Také platí, že z kvalitnějších hroznů je menší výlisnost [5, 8].

Dále se provádí úprava hroznového moštu. Skládá se z odkalení moštu, úpravy jeho cukernatosti a úpravy kyselosti [3]. Mošty se odkalují ihned po lisování, dokud nakvasí. Odkalováním se odstraňují z hroznů mechanické nečistoty. Malé množství moštu odkalíme zchlazením po dobu 12 hodin na 5 - 10°C v chladném sklepě nebo chladícím zařízení. Na odkalování moštu se ve velkovýrobě používají odstředivky. Odkalení je rychlé, ale takto získané mošty kvasí pomaleji, proto se zakváší čistými kulturami kvasinek. Odkalení lze provést také pomocí filtrace na vakuových rotačních filtrech [1]. Dynamické odkalení moštu může způsobit nežádoucí únik některých složek vína. Silné odkalení odebírá odrůdové aromatické látky a ve víně se projeví kvasný buket, zhoršit se může i plynulost kvašení [2].

Vinné hrozny při nepříznivých podmínkách pro zrání obsahují málo cukru a hodně kyselin [1]. U přívlastkových vín není dovoleno zvyšovat cukernatost. Odkyselení je možné provádět, pokud kyseliny v moštu přesáhnou hranici 12 g/l. Ke snížení kyselosti se využívá uhličitan vápenatý. Odkyselit je možné až mladé víno, které je vyčištěno. Při odkyselování se odebírá jen kyselina vinná. Odkyselení způsobí rychlé uvolnění oxidu uhličitého a je tedy nutné počítat s prudkým zvýšením objemu [2].

4.2.1.3 Kvašení moštu

Mošt, který je ze zdravých a čistých hroznů, se nechává samovolně kvasit v sudech. Pokud byly hrozny sklizeny za chladného počasí a napadnuty hnilobou, špatně kvasí. Účelně se proto do moštu přidávají čisté kultury kvasinek. Pro zakvašení se používá zákvas nebo bouřlivě kvasící mošt z jiné nádoby. Zákvas se přidává zásadně do čerstvého moštu. Nikdy se nepřidává do rozkvašeného, protože by byl neúčinný. Po úpravách plníme moštem nádoby. Zvolení nádoby pro kvašení záleží na obsahu. Kvasné nádoby se plní do $\frac{3}{4}$ jejich obsahu [1].

Kvašení moštu je složitý proces, na kterém závisí kvalita vyráběného révového vína [3]. Využitelné kvasinky ve vinařství jsou jen kmeny *Saccharomyces cerevisiae*.

K nejrychlejšímu množení kvasinek dochází na místě zpracování hroznů. Zde se rozmnoží nejen kvasinky, ale také některé druhy bakterií. Proto je nutné v prostorách udržovat čistotu a prostory dezinfikovat. V mnohonásobné přečase se do moštu dostávají kvasinky, kterým se říká divoké (např. *Candida*). Aby kvašení bylo bezproblémové, přidávají se do moštu čisté kultury kvasinek. Na omezení činnosti divokých kvasinek a bakterií se provádí zasíření moštu. Zasíření je třeba provést šetrně a v nezbytně nutném množství, protože velmi snadno dojde k přesíření. Teplota kvašení by se měla udržovat v rozmezí 10 - 25°C v závislosti na velikosti kvasných nádob. Kvašením při nízkých teplotách se získá široká škála jemných aromatických látek, vyšší výtěžnosti alkoholu. Zůstává také více kyseliny jablečné. Kvašením při vyšších teplotách vznikne více glycerolu, více kyseliny mléčné a těkavých kyselin.

Zdravé a výkonné kvasinky jsou základem bezproblémového průběhu kvašení. Dnes se proto využívá kvasinek, které odpovídají požadované jakosti vína. Čím větší byla intenzita odkalení, tím pomaleji vinné mošty kvasí. Pokud je počáteční teplota zakvašovaného moštu nízká, nevystoupí ani při hlavním kvašení příliš vysoko. V posledních letech je rozšířeno řízení teploty. Cílem je udržení teploty mezi 15 - 18°C. Nerezové kvasné nádoby se chladí vodou. Chlazení se provádí pomocí uzavřeného okruhu studené vody. Výhodou, kterou má uzavřený okruh, je možnost případného zvýšení teploty vína stejným způsobem. Toho se například využívá na počátku kvašení, kdy teplota moštu je příliš nízká. Teplota se zvyšuje nad 15°C. Při výrobě suchého vína se zvyšuje teplota i ke konci kvašení, aby dokvasil zbytek cukrů [2].

Při hlavním kvašení se nad povrchem udržuje atmosféra naplněná oxidem uhličitým, která chrání před oxidací a také před ztrátou aromatických látek. Ve stádiu dokvašování je nutné nádoby doplnit. Zde slábne vývoj oxidu uhličitého a víno začíná přijímat vzdušný kyslík. Proto je třeba zamezit negativnímu vlivu vzduchu na aroma vína. Mladá vína se musí ve všech nádobách pravidelně kontrolovat ochutnáváním. Nedokvašené mladé víno může obsahovat zbytky cukrů a rychle se tak množí mléčné a octové bakterie a to především pokud se zvýší teplota. K úplnému zastavení kvašení dochází při poklesu teploty. Teplota se pak zvyšuje ohřevem pomocí ponorného ohříváče. Pokud se kvašení neobnoví, tak se víno stáčí a mírně provětrává. Přidává se také výživa pro kvasinky, pokud nebyla využita při rozkvašení [2].

Po skončení kvašení začíná víno zrát. Projevuje se to zlepšující se chutí, vůní i barvou. Nesmí se dopustit, aby víno zestárla [1].

4.2.2 Červené víno



Obrázek 4: svatovavřínecké víno

Červené víno se vyrábí z hroznů modrých odrůd révy vinné. Technologie výroby červeného vína se v počátku výroby zásadně liší od produkce bílého vína [3]. Aby vinaři vyrobili červené víno, je třeba mnoha znalostí a zkušeností. Hlavními technologickými kroky jsou: sklizeň hroznů, odzrnění a drcení, nakvácení, lisování, dokvácení, biologické odbourání kyselin, stáčení a školení [2].

4.2.2.1 Zrání hroznů

Hrozny pro výrobu červeného vína musí být dokonale vyztřelé. Proto se volí menší počet hroznů na jednom keři. Stejně jako pro výrobu bílého vína je důležitý zdravý hrozen. Hrozny se sklízí ručně nebo mechanicky. Ruční sklizeň se využívá jen pro špičková červená vína. Při mechanizované sklizni, pokud jsou stroje správně seřizeny, nedochází k ovlivnění kvality [2].

4.2.2.2 Odzrňování a drcení

Dnes při zpracování hroznů nastává jako první odzrňování, mletí. U starších typů zařízení se hrozny napřed melou a pak odzrňují. Tak se do drtě dostává z třapin chlorofyl a vína tak mívají příchut' po chlorofylu. Odzrňovaná drť zlepšuje chuťové vlastnosti vína a zvýší výtěžnost alkoholu o 0,5 %. Neodzrňovaná drť lépe a rychleji kvasí [2]. Drť se pak přečerpává do kvasných kádí [7].

Mletím bobulí hroznů se naruší slupka a vyteče šťáva. Nesmí se však narušit pecičky. Jejich třísloviny mají totiž velmi svíravou chuť [2].

4.2.2.3 Příprava drtě pro kvašení

Drť se připravuje vhodnými postupy, kam patří zasíření, zlepšování obsahu cukrů, tepelná úprava, přidání kvasinek a případně čířidel.

Zasíření chrání aromatické látky před nadměrným oxidací. Účinnost zasíření se řídí podle hodnoty pH. Pokud je pH vyšší, tak dávka oxidu siřičitého musí být také vyšší. Nejvíce se využívá tekutá forma oxidu siřičitého, která je rovnoměrně rozptýlena v drti.

Zvýšením cukernatosti se zvyšuje i obsah alkoholu. Alkohol dodává budoucímu vínu plnost a zlepšuje vyluhování barviv. Cukr se přidává najednou před kvašením. Sladit se nesmí vína s přívlastkem. K rychlému kvašení se využívá čisté kultury kvasinek. Dochází ke zvýšení teploty na 18 - 20°C [2].

4.2.2.4 Nakvášení a kvašení rmutu

Rmut se nakváší v dřevěných kádích, sudech nebo nerezových nádobách. Nejvhodnější teplota při nakvášení je 20 - 30°C a obvykle trvá 8 - 10 dní. Dlouhé nakvášení není vhodné, vzniká nebezpečí naoctění rmutu. Matolinový klobouk je třeba ponořit, protože jinak nedochází k vyluhování barviva [3]. Vznikající alkohol také napomáhá vyluhování červeného barviva, víno má pak intenzivní červenou barvu [6]. Ponoření matolinového klobouku se zabrání i jeho oxidaci. V malovýrobní praxi se nakváší v otevřených i uzavřených kádích s volně plovoucím nebo ponořeným kloboukem [3].

Využívá se způsob kvašení „přes čtyři“. Ten je založen na tom, že přítomnost alkoholu podporuje vyluhování barviva ze slupek modrých hroznů. K dokonalému vyluhování barviva lze také využít teplo. Rmut se ve vodní lázni zahřívá na teplotu 50 - 70°C po dobu 15 - 30 minut. Teplotu měříme v zahříváném rmutu. Rmut se musí míchat, aby nedošlo k připálení. Také se nesmí přehřát, aby nedošlo k varné příchuti. Po skončení nakvášení se rmut lisuje. Nakvašený rmut má lepší výlisnost. Lisování se obvykle třikrát opakuje. Vylisované mladé víno plníme do sudů nebo jiných nádob. Necháme malý prostor na dokvašení. Nezbytné úkony jsou také přisíření a odkalení [1].

4.2.3 První stáčení vína

Zjistit správnou dobu pro první stáčení je dosti obtížné. Termín nelze jednoznačně určit. Proto se dodržují zásady:

- brzy po dokvašení se stáčí lehčí vína s menším obsahem kyselin
- včasné stočení po bouřlivém kvašení vyžadují vína z nahnilých hroznů
- mošty v malých nádobách vyžadují dřívější stočení
- vína s vyšším obsahem alkoholu stáčíme později (přibližně v prosinci)
- v lednu až únoru se stáčí vína, které mají hodně kyselin [1].

Po skončení kvašení probíhá ve víně postupné zrání. První stáčením mladého vína se oddělí víno od kvasnic, které klesly na dno nádoby [2]. Takto stočené víno pozvolna dozrává a zvýrazňují se v něm odrůdové vlastnosti [6]. Příprava mladých vín určených k přímé spotřebě se prvním stáčením spojují s filtrací přes křemelinu. Víno se tak ochudí o mikroorganismy, které mohou způsobit nežádoucí změny ve víně. Z vína se při prvním stáčení vypuzuje oxid uhličitý. Může také dojít ke spojení různých partií téže odrůdy ze stejných míst původu, případně tvorby cuveé z různých odrůd. Zapotřebí je značná zkušenost [2].

4.2.4 Druhé stáčení vína

Tato operace se provádí pouze u vín, které necháváme dlouhou dobu zrát. Jinak se druhé stáčení většinou spojuje s tzv. scelováním [6]. Druhé stáčení následuje po 6 - 10 týdnech po prvním stáčení. Dobu stáčení určíme chuťovou zkouškou. Usazené kaly mají jiné složení než při prvním stáčení. Při druhém stáčení je nežádoucí silné provzdušnění vína. Druhé stáčení se snažíme provádět v únoru až dubnu, aby se zabránilo druhotnému kvašení. Stáčení se často spojuje se scelováním, čiřením, filtrací. V této době by mělo víno odpovídat hotovému výrobku [1].

4.2.5 Zrání vína

Zráním se rozumí vytváření mladého vína od ukončení kvasného procesu. Projevuje se to změnou barvy, vůně i chuti. Ve víně tyto změny způsobí fyzikální i biochemické procesy. Zrání vína podporuje okysličení vína. Ve velkém množství je ale vzduch nežádoucí, způsobuje stárnutí vína. Částečně vyzrálé víno se proto přetáčí do neprodyšných nádob. Bílá vína zrají rychleji než vína červená [6].

4.2.6 Školení vína

Školení vína se provádí za účelem dosažení vysoké stability a začíná už prvním přetáčením vína z kvasnic. Jedná se o postupné zbavení nežádoucích látek, které by mohly být příčinou zakalení v láhvích. Cílem školení je dosažení maximální jakosti a stability vína [6].

Čiření vína

Čiření vín slouží k zušlechťování a stabilizaci. Do vína se přidávají čířidla, které způsobí rychlé srážení tzv. vyvločkování. Přidává se bílkovina s kladným nábojem, který reaguje s negativně nabitými částicemi kalu. Reakce trvá několik minut. Poté následuje pomalé srážení, které trvá několik hodin. Dochází k dalšímu zvětšení kalických částic. Dávky čířidla musí být podávány zodpovědně, aby nedošlo k přečiření a drastickému snížení obsahu taninů ve víně. Jako čířicí prostředky se využívají želatiny (živočišného původu), vyzina (z měchýřů ryb vyzy a jesetera), vaječný bílek (nejstarší čířidlo), kasein (mléčná bílkovina, v kyselém prostředí se ihned vysráží), dnes však převážně bentonity (minerální koloidy) a aktivní uhlí [2].

Stabilizace vína

Stabilizací vína se omezují biochemické procesy, kdy dochází k vysrážení látek ve víně při skladování, lahvování a přepravě. Stabilizace se provádí, aby se vyrobila vína mladá, svěží se zbytkem nezkvašeného cukru. Mělo by toho být dosaženo bez porušení kvality a charakteru vína. Pro stabilizaci lze také využít prostředky fyzikálního charakteru, a to chlad a teplo. Využívá se hlavně na odstranění bílkovin. Stabilizaci lze kombinovat s čiřením vína [1].

Filtrace vína

Filtrace je nejběžnějším způsobem čištění, které umožňuje další čištění mladých vín. Využívá se celá řada filtrů. Filtrací se odstraní pevné částice. Jako filtrační materiál se využívají křemelina, celulóza, plastové membrány. Filtrací lze víno rychle zbavit kalů a mikroorganismů [2].

4.2.7 Lahvování vína

Po dosažení zralosti vína mají výrobci povinnost požádat a umožnit SZPI odebrat vzorky k ohodnocení a zatřídění komisí expertů. Víno v malých sudech rychle zraje a jeho kvalita se dlouhým ležením zhoršuje. Proto se stáčí do lahví, když je plné, výrazné a lahodné chuti.

Tak se zachovají jeho buketní látky a svěžest. Vhodnost stáčení do lahví poznáme chuťovou zkouškou nebo víno necháme v neplné láhvi na vzduchu v teple. Pokud se nezakalí a nezmění barvu, je stabilní a může se lahvovat. Používají se lahve o obsahu 0,75 a 1 litr. Láhve jsou tmavozelené, hnědé nebo bezbarvé. Dosud nejrozšířenější uzávěry na láhve jsou korkové zátky různých velikostí. Dále se osvědčují zátkové záklopy z PVC [1] .

5 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH UKAZATELŮ JAKOSTI A NEZÁVADNOST VÍNA

Některé z ukazatelů jakosti a nezávadnosti vína jsou například množství oxidu siřičitého, přítomnost biogenních aminů, množství redukujících cukrů a obsah kyseliny askorbové.

Oxid siřičitý může být při vysokých dávkách pro lidský organismus nebezpečný. Může vyvolat krátkodobou toxickou reakci, při déle trvající expozici může vyvolat chronickou nesnášenlivost. Nebezpečná dávka pro člověka 1,5 g/kg hmotnosti člověka. Pro pracovníky ve vinařství je nebezpečné přímé vdechnutí oxidu siřičitého. Zdravotně nebezpečné je vdechnutí 50 - 200 mg/m³ po dobu 30 minut [2]. V důsledku možných zdravotních problémů musí být na láhvi viditelně označeno, že víno je sířeno. Vinaři se snaží nalézt náhražku síření. Byl proveden výzkum o snížení nebo nahrazení SO₂ při výrobě vína, s ohledem na výrobu bio vín z ekologického zemědělství. Náhradní přípravky, záření nebo elektrochemické zacházení se projevilo jako neefektivní. Nicméně legislativa umožňuje použití kyseliny sorbové a askorbové jako doprovodný antioxidant SO₂ ve víně. Kyselina askorbová se již dlouho využívá jako antioxidant vína doplňující SO₂ [26]. Jiná studia prokázala, že použití kyseliny askorbové ovlivní množství SO₂. Může dojít ke snížení obsahu SO₂ a vytvoření žlutého pigmentu ve víně, tzv. hnědnutí vína. Použití kyseliny askorbové není podle této studie vhodné využívat jako náhradu síření [27].

O roku 1954 je známo, že biogenní aminy se vyskytují jako přirozené látky v různých potravinách, jako jsou ryby, sýry, víno a fermentované salámy [13]. Je známo, že některé biogenní aminy jsou pro lidský organismus nepostradatelné [11]. Obecně platí, že spotřeba biogenních aminů v nízkých dávkách nepředstavuje pro lidský organismus žádné zdravotní riziko [15]. Ovšem konzumace vysokých dávek se může projevit zvracením, dýchacími potížemi nebo silným bušením srdce. Různé biogenní aminy mají různé toxické účinky. Toxický účinek například histaminu je 500 - 1000 mg/kg [11].

Souhrnným názvem cukry se označují monosacharidy a polysacharidy, protože mají mnoho společných vlastností a často sladkou chuť. Jsou složkou všech buněk. V buňkách mají různé funkce. Především se využívají jako zdroj energie, základní stavební jednotky buněk a jako biologicky aktivní látky. Monosacharidy se ve velkém množství vyskytují v ovoci. Jejich obsah se ještě zvyšuje během zrání a obsah také kolísá dle druhu ovoce [9]. Jako redukující cukry se označují cukry s volnou poloacetalovou skupinou (-OH). Redukční

schopnost cukrů lze ověřit pomocí Fehlingova činidla [36]. Fehlingova reakce je založena na úřední metodě pro stanovení redukcujících cukrů ve víně [33].

Kyselina askorbová, obvykle známá jako vitamín C, je silný přírodní antioxidant přítomný v celé řadě nápojů a potravin. Obsah v hroznech je přibližně 50 mg/l [29]. Denní doporučená dávka vitamínu C se pohybuje v rozmezí 60 - 200 mg. Pacienti v rekonvalescenci a s respiračními chorobami mohou přijmout denní dávku v množství 1000 mg i více. Potřeba vitamínu je kryta vitamínem z potravy. Hlavními potravinovými zdroji jsou brambory, zelenina a ovoce [10].

5.1 Oxid siřičitý

Oxid siřičitý je hlavní konzervační prostředek [26]. Má antioxidační a antimikrobní vlastnosti [11]. SO_2 se používá při výrobě vín za účelem ochrany vína před nežádoucími změnami [26]. Také se využívá jako primární sterilant vinařského zařízení [18]. Ve vodných roztocích SO_2 vzniká kyselina siřičitá. Jako konzervační prostředek se uplatňuje nedisociovaná kyselina. SO_2 je účinný v kyselém prostředí. Používá se především na potlačení růstu octových a mléčných bakterií [11].

Síření vína je nejstarší způsob ošetřování vína. Spalováním síry vzniká SO_2 [2]. Ve víně se SO_2 vyskytuje jako volný a vázaný [18]. V mošttech a vínech reaguje SO_2 s organickými sloučeninami (aldehydy, ketony) a tvoří se vázaný SO_2 . Vázaný SO_2 nemá stejné vlastnosti jako volný SO_2 , kromě působení na některé bakterie. Není proto technologicky využitelný [2]. Pouze malá část celkového SO_2 je obsažena jako volný rozpustný plyn. Zbytek volného SO_2 existuje v nedisociované kyselině siřičité.

SO_2 má široké spektrum antimikrobiální aktivity. Přibližně 1,5 mg/l SO_2 je dostačující na zničení sporulujících kvasinek a bakterií [18]. Čím je nižší pH vína, tím vyšší je účinnost působení SO_2 , zejména v bílých vínech [2]. Acetaldehyd pravděpodobně snižuje efektivní koncentraci SO_2 . Dalším faktorem, který by se mohl podílet na nízké toxicitě, jsou siřičitany.

Oxid siřičitý je účinný antioxidant [18]. Odnímá vínům a moštům kyslík a tím ničí nebo potlačují mikroorganismy včetně divokých kvasinek, octových a mléčných bakterií, které jsou na kyslíku závislé. Mikroorganismy se pak dále nemohou množit [6, 26]. Ve víně nebo moštu nasycené kyslíkem se SO_2 nachází asi 8 mg/l. Aby se kyslík vyvázal, potřebujeme 32 mg/l

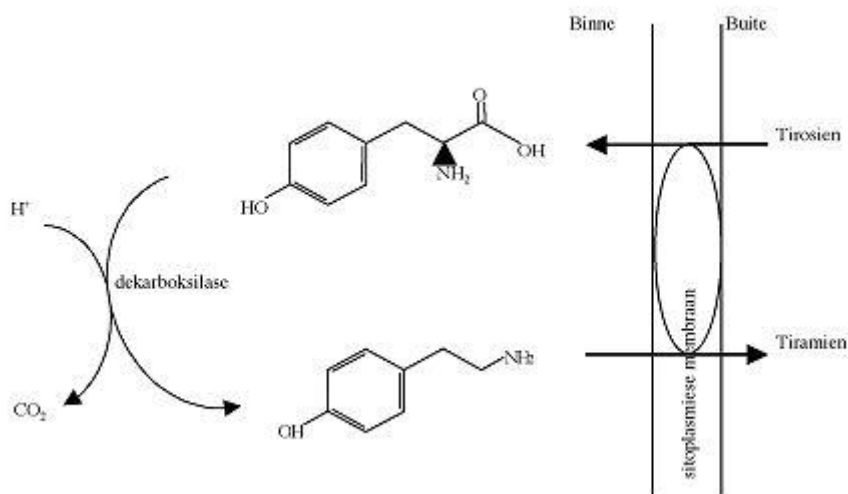
SO₂. Oxid siřičitý je také rozpouštědlem. Ze slupek hroznů uvolňuje nejen aromatické látky, ale také taniny a antokyany, které přechází na nebarevnou leukoformu. Tak jsou chráněny před oxidací. Leukoforma je přechodná a tak zasířením se vytvoří sytější barva. Ale při vyšších dávkách SO₂ se mohou ve víně projevit hořké látky i rozpad aromatických látek [2]. Kromě toho může SO₂ potlačit neenzymatické oxidační reakce. Siřičitany mohou také inhibovat rostoucí reakce mezi cukry a aminokyselinami. Oxid siřičitý je důležitý při antioxidačním působení kyseliny askorbové. Zvyšuje také vstřebávání fenolických látek z hroznových výlisků. Přidáním malého množství oxidu siřičitého do vína může přinést svěžejší vůni, tím že tvoří permanentní sulfonáty s acetaldehydem. SO₂ způsobuje bělení hnědých pigmentů u bílých vín. To však může být nežádoucí u červených vín, kdy může dojít ke ztrátě barvy [18]. Nelze totiž předvídat intenzitu jeho působení [2].

Do vína dostáváme oxid siřičitý několika způsoby. Jeden z nejstarších způsobů je spalování siřiných plátků uvnitř nádoby. Víno pak při plnění oxid siřičitý pohlcuje. Tento způsob se ale převážně využívá při síření prázdných nádob a sklepů. Nejpoužívanější způsob je síření pomocí pyrosiřičitanu draselného (kaliumpyrosulfit) nebo sodného. Pokud síříme vína kaliumpyrosulfitem v prášku, musíme potřebné množství odvážit na přesných laboratorních vahách. Pokud používáme kaliumpyrosulfit v tabletách, tak se může stát, jestliže jsou tablety uloženy ve vlhku, že neobsahují stanovené množství SO₂. V tomto případě se může použít vyšší množství kaliumpyrosulfitu. Obsah SO₂ v těchto tabletách se zjistí v chemické laboratoři. Síření zkapalněným oxidem siřičitým se využívá ve velkých vinařských podnicích. Vyžaduje to také přesné dávkovací zařízení, na němž se nastaví přesná dávka SO₂ [6].

Podle čl. 51 odst. 1 nařízení Komise (ES) č.607/2009 musí být obsah oxidu siřičitého ve víně uveden na etiketě výrazem „obsahuje oxid siřičitý“ nebo „obsahuje siřičitany“, pokud víno obsahuje v litru více než 10 mg SO₂. Tento údaj nemusí být uváděn ve stejném vizuálním poli jako ostatní povinné údaje [37].

5.2 Biogenní aminy

Biogenní aminy jsou odvozeny od aminokyselin přes substrát-dekarboxylázu specifickými enzymy.



Obrázek 5: Tvorbu biogenních aminů s příkladem produkce tyraminu[12].

Aminy mohou být tvořeny kvasinkami během alkoholové fermentace, bakteriemi mléčného kvašení při jablečno-mléčném kvašení a během zrání vína. Hlavní biogenní aminy ve víně jsou histamin, tyramin, putrescin, kadaverin a fenylethylamine [12].

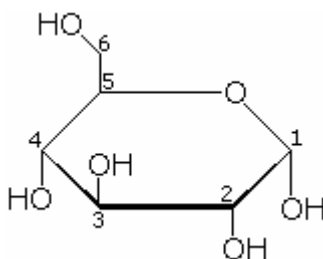
Biogenní aminy vykazují různé biologické účinky. Některé biogenní aminy mají výrazné biologické vlastnosti, například jsou tkáňovými hormony (histamin), stavebními látkami atd. Vyskytují se jako přirozená součást potravin živočišného a rostlinného původu. V ovoci a zelenině bývá jako hlavní tyramin, v menším množství se vyskytuje řada dalších biogenních aminů [11].

Stanovení biogenních aminů v potravinách a alkoholických nápojích je důležité vzhledem k jejich fyziologickým a toxikologickým účinkům [15]. Analytické metody využívané pro stanovení biogenních aminů zahrnují dva kroky: izolaci a stanovení. Přímé stanovení těchto sloučenin je velmi obtížné vzhledem k jejich nízké koncentraci ve víně [13]. Biologicky aktivní aminy jsou hlavní faktory ovlivňující kvalitu vín. Ve víně bylo zjištěno více než 20 aminů, ale jejich koncentrace jsou obvykle nízké [14]. Koncentrace a obsah aminů se může značně lišit v závislosti na době a podmínkách skladování, kvalitě surovin a mikrobiální kontaminaci během procesu výroby vína [16]. Prakticky všechny analytické metody pro stano-

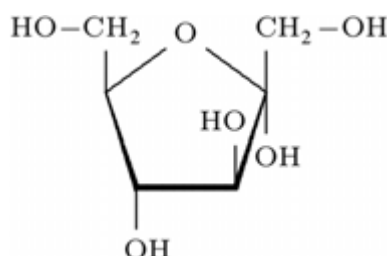
vení biogenních aminů vyžadují předpřípravu vzorků z důvodu složitosti matrice vína a nízké koncentrace aminů [14]. Metody by měly poskytovat dobrou citlivost a selektivitu pro stanovení těchto látek [16].

5.3 Redukující cukry

Hlavními cukry v ovoci jsou glukóza (0,5 - 32%) a fruktóza (0,4 - 24%) [9].



Obrázek 6: α -D-glukopyranóza [38]



Obrázek 7: α -D-fruktofuranóza [38]

Zralé hrozny obsahují glukózu a fruktózu skoro ve stejném množství a to 8%. V přezrálých hroznech převládá fruktóza [9]. Průměrný poměr glukózy a fruktózy jako zbytkového cukru vína je 0,58:1 [33]. Jako zbytkový cukr se označuje cukr neprokvašený [35]. Obsah cukrů ve vinných moštích bývá 120 - 250 g/l. Obsah sacharózy v hroznech je příliš nízký. Sacharóza, ať už přidaná nebo přirozeně obsažená, je během kvašení enzymaticky rozdělena na glukózu a fruktózu [18]. Vína obsahují kromě fruktózy a glukózy ve větším množství také arabinózu, xylózu, galaktózu a malé množství dalších monosacharidů a oligosacharidů (viz. tabulka 1). Cukerné alkoholy vznikají redukcí karbonylové skupiny aldosa a ketosa. K alkoholickým cukrům se řadí cyklitoly a alditoly. Alditoly se vyskytují jako přirozené složky potravin vznikající biochemickými reakcemi a některé také chemicky. Nejjednodušší alditol je glycerol. Glycerol je složkou mnoha potravinářských lipidů a také vzniká jako vedlejší produkt kvašení stejně jako 2,3 - butandiol. Ve vínech bývá obsah alditolů stejný nebo

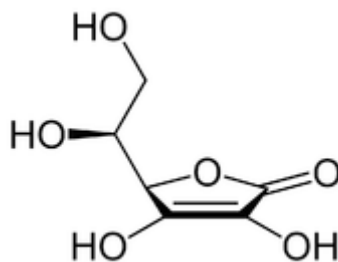
vyšší než v mošttech. Také to závisí na druhu kvasinek a dalších faktorech. Dále se ve vínech vyskytuje mannitol. Pokud je jeho množství vysoké může to být způsobeno napadením hroznů plísní *Botrytis cinerea* nebo činností bakterií *Bacterium mannitopenum* během fermentace [9]. Nedokvašený cukr je označován jako zbytkový cukr. V suchých vínech je obsah zbytkového cukru složen převážně z pentózových cukrů (arabinóza, rhamnóza a xylóza). Také je zde malé množství glukózy a fruktózy. Poměr těchto cukrů se může změnit během zrání v dubových sudech [18].

Tabulka 1: Obsah sacharidů ve vínech [9]

Sacharid	obsah v mg.dm ⁻³
monosacharidy	
ribóza	6,3-6,2
arabinóza	1,0-242
xylóza	0,6-146
glukóza	56-25000
mannóza	2.37
galaktóza	6,3-249
fruktóza	93-26500
rhamnóza	2,2-121
fukóza	2.9
oligosacharidy	
trehalóza	0-61
cellobióza	2.7
maltóza	1.5
sacharóza	0
laktóza	1.5
melibióza	stopy-1
rafinóza	0-1

Obsah zbytkového cukru, tj. hexózy (glukózy, fruktózy) a pentosy (arabinóza, xylóza), je základní parametr určující úroveň vína a je rozhodující pro následující fermentační proces [30]. Účinné kontroly snížení obsahu cukrů jsou nezbytné, aby se tak zabránilo dalšímu nechtěnému kvašení [31]. Stanovení cukrů ve víně se považuje za rutinní kontrolu kvality vína při výrobě [32].

5.4 Kyselina L-askorbová



Obrázek 8: chemická struktura vitamínu C [10]

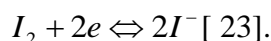
Kyselina askorbová je základní biologicky aktivní sloučeninou vitamínu C. Ze čtyř stereoisomerů vykazuje aktivitu právě jen L- askorbová kyselina. Askorbová kyselina má široké využití v konzervářské a kvasné technologii a dalších díky svým vlastnostem. Použití kyseliny askorbové ve vinařství umožňuje snížit množství použitého oxidu siřičitého k síření [10]. Maximální množství kyseliny L-askorbové v ošetřeném vínu, které je uvedené na trh, může být 250 mg/l [17]. Kyselina L- askorbová přidaná během produkce vína zmizí během kvašení. Nicméně se záměrně do vína přidává, a to zejména v průběhu výroby bílého vína, aby se zabránilo oxidaci. Zejména se přidává do bílých vín před plněním. Kde by vlivem oxidace mohlo dojít ke kažení bílých vín, což by mělo za následek změnu chuti a barvy bílého vína [29].

6 POPIS JEDNOTLIVÝCH ANALYTICKÝCH METOD PRO STANOVENÍ VYBRANÝCH UKAZATELŮ

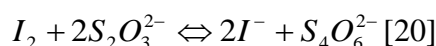
Pro stanovení vybraných ukazatelů bylo vybráno z analytických metod jodometrie pro stanovení oxidu siřičitého a kyseliny L-askorbové, manganometrie pro stanovení redukujících cukrů ve víně. Pro stanovení biogenních aminů bylo využito instrumentální metody, konkrétně byla použita iontová chromatografie s kolorimetrickou detekcí.

6.1 Jodometrie

Jodometrie patří mezi oxidačně-redukční titrace [19]. Metoda je založena na vratné reakci mezi jodem (oxidační činidlo) a jodidem (redukční činidlo) [20].

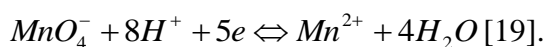


Bod ekvivalence lze určit také vizuálně podle barevné změny oxidačně-redukčního indikátoru [19]. Nejčastěji používaným indikátorem při jodometrii je škrobový maz, který dává s velmi malým množstvím jodu modré zbarvení. Škrobový maz lze využít jen za studena, protože za tepla jodoškrobové zbarvení zmizí [20]. Vždy by se měl použít čerstvě připravený škrobový maz. Roztok jódu je málo stabilní, proto je třeba ho standardizovat. Nejčastěji se standardizace provádí thiosíranem sodným [19].



6.2 Manganometrie

Manganometrie je oxidačně-redukční titrace. Oxidačně-redukční titrace jsou ovlivňovány reakčními podmínkami. Je proto nutné dodržovat podmínky uvedené u jednotlivých stanovení [19]. Silným oxidačním činidlem je také manganistan draselný. Je schopný zoxidovat anorganické i organické látky a to v kyselém, zásaditém i neutrálním prostředí. Pro vytvoření kyselého prostředí se nejčastěji využívá kyselina sírová. Nejběžnější titrace je v kyselém prostředí [20]:



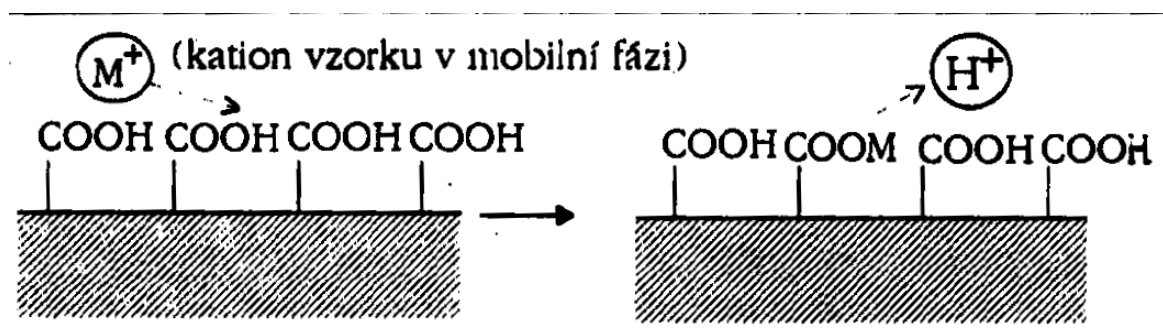
V kyselém prostředí se manganistan (MnO_4^-) redukuje na dvojmocný mangan (Mn^{2+}).

Z reakce vyplývá, že oxidační schopnost manganistanu je závislá na koncentraci vodíkových iontů [24].

Odměrný roztok manganistanu není stálý. Rozkládá se na kyslík a oxid manganičitý. Oxid manganičitý katalyzuje další rozklad manganistanu a to zvláště za horka [19]. Nejčastěji se provádí standardizace na kyselinu šťavelovou [20]. Stanovený faktor manganistanu vydrží 2 až 3 měsíce. Po uplynutí této doby je vhodné faktor opět zkontrolovat [23]. Titrace manganistanem draselným nevyžaduje žádný indikátor, neboť již nepatrný nadbytek se způsobí růžové zbarvení roztoku. Manganometricky lze stanovit v kyselém prostředí kromě železnatých solí také soli železité (po redukcii na železnaté) [20].

6.3 Iontově -výměnná chromatografie

Tato metoda patří mezi separační metody [22]. Jde o moderní a efektivní způsob oddělení a stanovení iontů s využitím HPLC [25]. Vzorek se vznáší mezi dvěma nemísitelnými fázemi. Nepohyblivá je stacionární fáze, mobilní fáze je pohyblivá. V ionto-výměnné chromatografii se stacionární fáze mění iontů. Ionexy se dělí na anexy (funkční skupiny jsou zásadité, slouží k výměně aniontů) a katexy (funkční skupiny jsou kyselé, slouží k výměně kationtů). Nejpevněji se váže ten ion, který má největší objem a náboj. Ion s velkým objemem je méně hydratován molekulami vody a jeho obal se při navázání iontu na měnič naruší. Proto se na katex lépe váže draselný a vápenatý kation než sodný.



Obrázek 9: výměna iontů na povrchu iontoměnič [22]

Ionto-výměnná chromatografie se hodně využívá k separaci slabých organických kyselin a zásad, ale také anorganických iontů. Jako mobilní fáze se využívají pufrů. Obvykle se využívá vodivostních detektorů pro detekci jednoduchých iontů [22].

7 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Diplomová práce byla v praktické části zaměřena na:

- Charakterizaci vybraných ukazatelů jakosti a zdravotní nezávadnosti vína
- Technologii vína
- Popis jednotlivých metod pro stanovení ukazatelů

V praktické části je práce zaměřena na:

- Stanovení vybraných ukazatelů ve vzorcích vína, a to zejména oxid siřičitý, redukující cukry, biogenní aminy, kyselina askorbová
- Zhodnocení o vhodnosti použití stanovení jednotlivých ukazatelů v podmínkách laboratoře UTB

II. PRAKTICKÁ ČÁST

8 METODIKA STANOVENÍ VYBRANÝCH UKAZATELŮ

8.1 Stanovení oxidu siřičitého titrací odměrným roztokem jódu

Volný oxid siřičitý ve víně se odměrným roztokem jódu oxiduje přímo. Po uvolnění oxidu siřičitého z vazeb v alkalickém prostředí lze stanovit i vázaný oxid siřičitý ve víně.

8.1.1 Pomůcky a chemikálie

250 ml kónická baňka, 50 ml pipeta, 25 ml byreta, 0,02 mol/l roztoku jódu, 1 mol/l NaOH, 0,5 % roztok škrobu, 16 % H₂SO₄.

8.1.2 Pracovní postup

a) Stanovení volného oxidu siřičitého

Do kónické baňky se pipetou odměří 50 ml vzorku vína. Ihned se přidá 10 ml 16 % H₂SO₄ a přibližně 5 ml 0,5 % roztok škrobu a titrujeme 0,02 mol/l roztoku jódu do modrého zbarvení, které je stále alespoň 30 sekund (spotřeba a₁).

b) Stanovení veškerého oxidu siřičitého

Do kónické baňky se pipetou odměří 25 ml 1 mol/l NaOH a 50 ml vzorku vína. Nechá se stát 15 minut a poté se přidá 15 ml 16 % H₂SO₄ a přibližně 5 ml 0,5 % roztok škrobu. Titrujeme 0,02 mol/l roztoku jódu do modrého zbarvení, které je stále alespoň 30 sekund (spotřeba a₂) [21].

8.1.3 Ukázka výpočtu oxidu siřičitého

$$X_{1,2} = a_{1,2} \cdot f \cdot 12,8$$

$$X_3 = x_2 - x_1$$

X₁ = volný oxid siřičitý v mg/l

X₂ = veškerý oxid siřičitý v mg/l

X₃ = vázaný oxid siřičitý v mg/l

a_{1,2} = spotřeba 0,02 mol/l roztoku jódu na stanovení volného nebo veškerého oxidu siřičitého

f = faktor 0,02 mol/l roztoku jódu

8.2 Stanovení biogenních aminů

Biogenní aminy lze stanovit pomocí automatického analyzátoru aminokyselin (AAA), který pracuje na principu iontově-výměnné chromatografie s post kolonovou ninhydrinovou derivatizací a fotometrickou detekcí.

8.2.1 Pomůcky a chemikálie

Zkumavky, 20 ml pipeta, 0,1 mol/l HCl, Eppendorfova zkumavka, AAA400 (Ingos, Prague, Czech Republic).

8.2.2 Pracovní postup

Do zkumavek se odměří 20 ml vína. Na analytických vahách se odváží prázdná zkumavka a zkumavka s 20 ml vína, abychom získali hmotnosti 20 ml vína. Vzhledem k předpokládanému malému obsahu biogenních aminů ve víně se provádí lyofilizace. Poté se vzorek pomocí 0,1 mol/l HCl převede do centrifugacích zkumavek a vysrážený podíl odstředíme při 6000 ot./min. po dobu 30 minut. Takto získaný supernatant přefiltrujeme přes filtrační papír. Filtrát odpaříme v odpařovací baňce na rotační vakuové odparce. Získaný koncentrát biogenních aminů se kvantitativně převedeme pomocí pufru o pH 2,2 z odpařovací baňky do 10 ml odměrné baňky. Vzorek přefiltrujeme přes nylonový mikrofilm do Eppendorfovy zkumavky. Takto připravený vzorek vložíme do kotouče dávkovače AAA 400. Současně se provede chromatografická analýza standardního roztoku směsi stanovovaných BA. Kseparaci BA využijeme dva sodno-citronové pufrů o různém pH. Kvalitativní vyhodnocení se provede na základě srovnání retenčních časů standardu a vzorku. Množství jednotlivých BA ve vorku vína se získá pomocí softwaru CHROMuLAN. Výsledky se vyjádří v mg/l [47].

8.3 Úprava vín pro stanovení redukcujících cukrů

Dochází k odstranění látek, které ruší stanovení redukcujících cukrů. Jedná se hlavně o aminokyseliny, barviva, bílkoviny, slizovité látky.

8.3.1 Příprava testovaného vína čířením neutrálním octanem olovnatým

8.3.1.1 Pomůcky a chemikálie

20 a 50 ml pipeta, 100 ml odměrná baňka, nasycený roztok neutrálního octanu olovnatého, CaCO_3 .

8.3.1.2 Pracovní postup

- a) Vína s obsahem redukujících cukrů do 5 g/l.

Pipetuje se 50 ml vína do 100 ml odměrné baňky a přidá se $\frac{1}{2}(n - 0,5)$ ml 1 mol/l NaOH (n = spotřeba 1 mol/l NaOH, který se spotřebuje při titraci titrovatelných kyselin na 10 ml vína). Za stálého míchání se přidá 2,5 ml nasyceného roztoku octanu olovnatého a 0,5 g CaCO_3 . Několikrát se promíchá a nechá stát 15 minut. Doplní se po značku, promíchá a filtruje.

- b) Vína s obsahem redukujících cukrů 5 - 25 g/l.

Pipetuje se 20 ml do 100 ml odměrné baňky. Přidá se 0,5 g CaCO_3 , 60 ml destilované vody a 1 ml nasyceného roztoku octanu olovnatého. Nechá se stát 15 minut a několikrát se protřepe. Doplní se po značku destilovanou vodou, promíchá a filtruje.

- c) Vína s obsahem redukujících cukrů 25 - 125 g/l.

Nejdříve se vzorek vína 5x zředí v odměrné baňce a pak se pipetuje 20 ml do 100 oměrné baňky. Dále viz b) [21].

8.4 Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda

Metoda je založena na redukci Fehlingova roztoku, z něhož se redukujícími cukry vylučuje oxid měďný. Oxid měďný se převede pomocí síranu železitého na oxid měďnatý. Množství oxidu železnatého, které se nám vytvoří, stanovíme manganometricky.

8.4.1 Pomůcky a chemikálie

250 ml kónická baňka, 20 ml pipeta, 50 ml byreta, filtrační zařízení, odsávací baňka, vývěva, 0,02 mol/l roztok manganistanu draselného, Roztok síranu železitého (50 g síranu železitého + 110 ml kyseliny sírové se rozpustí v destilované vodě na 1 l roztoku), Fehling I (69,3 g

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ v 1 l roztoku), Fehling II (346 g vinanu draselno-sodného + 103,2 g NaOH v 1 roztoku).

8.4.2 Pracovní postup

Do 250 ml baňky se odměří 25 ml Fehling I a 25 ml Fehling II a přidá se 20 ml vzorku vína. Směs se promíchá a uvede během 5 minut k varu. Poté se nechá 2 minuty stát a pak se dochládí na laboratorní teplotu studenou vodou. Oxid měďný se vyloučí na dně baňky. Pak následuje slití oxidu měďného na filtr spojený s vodní vývěvou a několikrát promyjeme destilovanou vodou. Následně přeneseme filtr s oxidem měďným do baňky a rozpouštíme 10 – 40 ml roztoku síranu železitého. Po rozpuštění oxidu měďného titrujeme 0,02 mol/l roztokem manganistanu draselného ze zeleného do růžového zbarvení, které je stálé alespoň 30 sekund (spotřeba a). Současně stanovíme potřebu 0,02 mol/l roztoku manganistanu draselného na slepý pokus (spotřeba b) [21].

8.4.3 Ukázka výpočtu

$$C = (a-b) * f * 7,157$$

C = oxid měďný vyjádřený v mg

a,b = spotřeba 0,02 mol/l roztoku manganistanu draselného vyjádřeného v ml

f = faktor 0,02 mol/l roztoku manganistanu draselného

Dále redukující cukry určíme podle tabulek z odpovídající hmotnosti oxidu měďnatého. Koncentraci redukujících cukrů ve víně vyjádříme v g/l [21].

8.5 Stanovení kyseliny askorbové a reduktonů

Vedle oxidu siřičitého se ve víně vyskytují i sloučeniny s redukčními schopnostmi, které jsou oxidovatelné roztokem jódu. Jedná se o kyselinu askorbovou, jejíž přídavek je v omezeném množství povolen.

8.5.1 Pomůcky a chemikálie

250 ml kónická baňka se zábrusem a zátkou, 50 ml byreta, 50 ml pipeta, 1 % roztok acetaldehydu, 3 % roztok chelatonu 3, 0,02 mol/l roztoku jódu, 16 % H₂SO₄, 0,5 % roztok škrobu.

8.5.2 Pracovní postup

Do 250 ml baňky se zábrusem se nepipetuje 50 ml vzorku vína. Přidá se 5 ml 1 % roztok acetaldehydu, promíchá se a uzavře zátkou. Nechá se stát 30 minut a poté se přidá 10 ml 16 % H₂SO₄, 1 ml 3 % roztok chelatonu 3. Titrujeme 0,02 mol/l roztoku jódu na škrobový maz do modrofialové barvy, která je stálá alespoň 15 sekund [21].

8.5.3 Ukázka výpočtu kyseliny askorbové a reduktonů

$$X = a * f * 35,2$$

X = kyselina askorbová a reduktony vyjádřené jako kyselina askorbová v mg/l

a = spotřeba 0,02 mol/l roztoku jódu v ml

f = faktor 0,02 mol/l roztoku jódu

Pozn.: Spotřeba 0,02 mol/l jódu v ml se odečte od spotřeby volného a veškerého oxidu siřičitého ve víně při použití titrační metody s 0,02 mol/l roztoku jódu [21].

8.6 Vzorky vína

Vzorky vín byly dodány ze soutěže „Král vín 2009“. Král vín České republiky je největší soutěž domácích vín. V roce 2009 bylo do soutěže přihlášeno 157 vinařských společností a vinařů z Moravy a Čech. Hodnocení vín probíhalo v prostorách Národního vinařského centra ve Valticích. Šampionem se stalo víno Veltínské zelené (ledové víno) 2008. Nejlepší vína byla dána na podrobný rozbor UTB ve Zlíně, který by měl ukázat, zda vína senzoricky nejlepší mají také ideální biochemické vlastnosti [43].

Tabulka 2: Přehled vín

označení vín	vzorky vín
1	Frankovka barrigue 2006
2	Modrý portugal 2007
3	Neronet 2007
4	Runaldské bílé 2008
5	Chardonnay 2008
6	Rulandské bílé 2008
7	cuvée 1244 2008
8	Frankovka 2008
9	Fantomme cuvée 2007 (Cabernet sauvignon, Rulandské modré, merlot)
10	Rulandské šedé 2008
11	Cabernet moravia 2005
12	Rulandské modré 2008
13	Lange´warte cuvée (Ryzlink rýnský) 2007
14	Merlot rosé 2008
15	Tramín červený 2008
16	Rulandské bílé 2007
17	Tramín 2007
18	Rynzlink rýnský (ledové víno) 2008
19	Cabernet sauvignon 2008
20	Ryzlink vlašský 2007
21	Veltínské zelené (ledové víno) 2008
22	Petronilla (perlivé víno)

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

9.1 Obsah oxidu siřičitého ve vzorcích vína

Stanovení uvedeného parametru vína bylo stanoveno titrační metodou, tzv. jodometrií. Ve vzorcích vína byl stanoven volný, vázaný a veškerý oxid siřičitý. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Výsledky stanovení SO₂

vzorek	stanovení volného SO ₂ [mg/l]	stanovení vázaného SO ₂ [mg/l]	stanovení veškerého SO ₂ [mg/l]
1	9	97	106
2	16	109	125
3	44	112	156
4	19	128	147
5	28	78	106
6	31	106	137
7	31	78	109
8	31	35	66
9	33	282	324
10	20	173	193
11	36	56	92
12	16	79	95
13	20	131	151
14	36	89	125
15	46	138	213
16	46	288	338
17	16	164	177
18	46	328	377
19	23	75	98
20	33	75	108
21	36	386	422
22	134	112	246

Podle Nařízení Komise (ES) č. 606/2009 se udává, že celkový obsah SO₂ ve víně, s výjimkou šumivého a likérového vína, nesmí při uvedení do oběhu určené k lidské spotřebě přesáhnout hodnoty:

- a) 150 mg/l u červeného vína

- b) 200 mg/l u bílého a růžového vína

Odchylkou od těchto bodů je zvýšení horních mez obsahu SO_2 ve vínech, které obsahují nejméně 5 g cukru vyjádřeného jako součet glukózy a fruktózy na litr:

- a) 200 mg/l červené víno
- b) 250 mg/l bílé a růžové víno [17].

Z uvedených výsledků v tabulce 3 je zřejmé, že obsah celkového SO_2 podle Nařízení Komise (ES) č. 606/2009 je v souladu s tímto nařízením. Pouze u čtyř vzorků (9, 16, 18, 21) jsou hodnoty vyšší, než jsou stanovené hodnoty pro celkový obsah SO_2 podle Nařízení Komise (ES) č. 606/2009. Čím je menší obsah SO_2 ve vínech, tím je víno jakostnější. Vysoký obsah SO_2 značí větší zasaření, a to z důvodu nekvalitních hroznů. Pokud je pH vína nižší, tím je lepší účinnost SO_2 zejména v bílých vínech. Ovšem nesmíme zapomenout na jeho zdravotní nebezpečí při vysokých dávkách. Proto nesmíme překročit hodnoty stanovené nařízením komise (ES) č. 606/2009.

9.2 Obsah biogenních aminů ve vzorcích vína

Stanovení biogenních aminů bylo provedeno iontově-výměnnou chromatografií. Ve vzorcích byly stanovovány biogenní aminy: histamin, tyramin, putrescin, kadaverin, agmatin, spermidin, spermin. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Výsledky stanovení biogenních aminů

vzorky vín	biogenní aminy [mg/l]						
	Histamin *	Tyramin *	Putrescin *	Kadaverin *	Agmatin *	Spermidin *	Spermin *
1	-	-	0,81 ± 0,036	-	-	0,64 ± 0,035	-
2	2,58 ± 1,320	-	24 ± 0,319	-	-	0,2 ± 0,013	-
3	-	-	1,94 ± 0,128	-	-	0,57 ± 0,032	-
4	-	-	1,21 ± 0,110	-	-	2,35 ± 0,147	-
5	-	-	0,55 ± 0,022	-	-	1,56 ± 0,143	-
6	-	-	1,22 ± 0,035	-	-	0,99 ± 0,084	-
7	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	0,52 ± 0,009	-	-	0,53 ± 0,027	-
9	-	-	0,75 ± 0,017	-	-	-	-
10	-	-	0,86 ± 0,024	-	-	0,89 ± 0,025	-
11	0,61 ± 0,008	0,73 ± 0,020	22,78 ± 0,661	-	-	0,85 ± 0,037	-
12	-	-	2,32 ± 0,140	-	-	0,67 ± 0,012	-
13	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	0,63 ± 0,039	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	0,53 ± 0,046	-	-	0,51 ± 0,013	-
18	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	2 ± 0,026	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-

* - maximální produkce biogenních aminů v mg/l (průměr \pm SD; n = 22) je vyjádřena pomocí koncentrace biogenních aminů

Biogenní aminy byly stanovovány u 22 vzorků. Biogenní aminy byly detekovány v pořadí histamin, tyramin, putrescin, kadaverin, agmantin, spermidin a spermin. V některých případech nedošlo k separaci a identifikaci některých biogenních aminů, a to kadaverin, agmatin a spermin. Což mohlo být způsobeno přeměnami biogenních aminů v průběhu fermentačního a maceračního procesu, nízkým obsahem příslušného aminu [39]. U devíti vzorků (1, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 17) se nejčastěji vyskytovala kombinace putrescinu a spermidinu. Vzorek 2 obsahoval kromě putrescinu a spermidinu ještě histamin. Pouze u vzorku 11 se vyskytovaly čtyři ze sedmi biogenních aminů, a to histamin, tyramin, putrescin, spermidin. Pouze histamin se vyskytoval u tří vzorků (9, 14, 19). V případě vzorků 7, 13, 15, 16, 18, 20, 21, 22 nedošlo k rozpoznání žádného biogenní aminy. Jak je zřejmé z tabulky 4 biogenní aminy se vyskytovaly v max. v desítkách mg/l, a to zejména u dvou vzorků (2, 11), což by nemělo ovlivnit zdraví. Kromě těchto dvou vzorků se biogenní aminy vyskytovaly v minimálním množství. Pokud obsah biogenních aminů nepřesahuje 100 mg/l, není to pro lidský organismus nijak škodlivé. Pro histamin je znám hygienický limit 500 – 1000 mg/kg. Tudíž žádný ze stanovených biogenních aminů nepřekračuje stanovený hygienický limit.

9.3 Obsah cukrů ve vzorcích vína

Stanovení cukrů bylo prováděno jako stanovení redukujících cukrů podle Bertranda a poté bylo přepočítáno na obsah cukru ve víně v g/l. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 6, 7, 8.

Na etiketách se podle vinařského zákona uvádí:

Tabulka 5: rozdělení vín dle obsahu cukru [41]

Druh vína	Obsah zbytkového cukru (g.l ⁻¹)
suchá	0 – 4
polosuchá	4,1 – 12
polosladká	12,1 – 45
sladká	více než 45

Tabulka 6: Výsledky stanovení redukujících cukrů s obsahem do 5 g/l ve víně

vzorek	Cu ₂ O [mg]	redukující cukry [mg]	obsah cukrů [g/l]
2	135	62,70	6,27
3	81	37,70	3,77
4	234	110,60	11,06
5	110	50,90	5,09
7	126	58,50	5,85
8	24	11,60	1,16
9	140	65,10	6,51
11	43	20,10	2,01
12	72	33,50	3,35
13	60	37,90	2,79
17	114	52,80	5,28
19	61	28,40	2,84
20	45	21,10	2,11

Vzorky vín, které byly na etiketě uvedeny jako suchá vína, byly upraveny jako vína s obsahem redukujících cukrů do 5 g/l. U sedmi vzorků (3, 8, 11, 12, 13, 19, 20) byl obsah cukrů stanoven v rozmezí 0 – 4 g/l jak udává vinařský zákon. Takže mohou být uvedena jako suchá vína. U šesti vzorků (2, 4, 5, 7, 9, 17) byl stanoven vyšší obsah cukrů. Tyto vzorky tak podle stanovení nespádají do rozmezí podle vinařského zákona. Ale vína byla na etiketě

uvedena jako suchá. Nejspíše došlo ke špatnému stanovení ve vinařství odkud vína pochází, a tím také ke špatnému zařazení vín.

Tabulka 7: Výsledky stanovení redukujících cukrů s obsahem 5 - 15 g/l ve víně

vzorek	Cu ₂ O [mg]	redukující cukry [mg]	obsah cukrů [g/l]
1	44	20,60	5,15
6	121	56,10	14,03
10	230	108,60	27,15
14	41	19,30	4,83
15	19	9,40	2,35
16	201	94,40	23,60
22	203	95,30	23,83

Zde byly vzorky vín upraveny jako vína s obsahem redukujících cukrů 5 - 15 g/l. Výsledky, jak uvádí tabulka 7, však neodpovídají rozmezí vinařského zákona pro polosuché (4,1 - 12 g/l) a polosladké (12,1 - 45 g/l) vína. U tří vzorků (1, 6, 15), které byly uvedeny na etiketě jako polosuché, stanovení prokázalo, že dva vzorky (1, 6) vyšly jako polosuchá vína podle rozmezí, které udává vinařský zákon. Ve vzorku 15 byl stanoven obsah cukrů 2,35 g/l, což nespadá do rozmezí pro polosuchá vína, ale spíše pro vína suchá.

Čtyři vzorky (10, 14, 16, 22) byly uvedeny jako polosladká vína. Podle vinařského zákona tyto vzorky spadají do rozmezí (12,1 - 45 g/l) polosladkých vín.

Tabulka 8: Výsledky stanovení redukujících cukrů s obsahem 15 - 125 g/l ve víně

vzorek	Cu ₂ O [mg]	redukující cukry [mg]	obsah cukrů [g/l]
18	172	80,40	100,50
21	188	88,00	110,00

Vzorky vín (18, 21) byly uvedeny jako ledová vína. Zde se předpokládalo velké množství cukrů. Stavení bylo provedeno dle úpravy vín s obsahem redukujících cukrů s obsahem 15 - 125 g/l. Stanovení potvrdilo velké množství cukrů, obě vína obsahovala nad 100 g/l cukrů.

9.4 Obsah kyseliny askorbové ve vzorcích vína

Stanovení kyseliny askorbové bylo provedeno jodometrickou titrací. Poté jsou výsledky stanoveny jako kyselina askorbová a reduktony vyjádřené jako kyselina askorbová v mg/l. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 9.

Tabulka 9: Výsledky stanovení kyseliny askorbové

vzorky	obsah kyseliny askorbové [mg/l]
1	1
2	8
3	100
4	27
5	54
6	53
7	64
8	53
9	77
10	10
11	45
12	17
13	37
14	36
15	90
16	90
17	26
18	99
19	45
20	72
21	81
22	54

Podle Nařízení komise (ES) č.606/2009 by neměl obsah kyseliny askorbové ve vínech, která jsou uvedena na trh, překročit limit 250 mg/l. Při stanovení v podmínkách laboratoře UTB tento limit nebyl překročen u žádného vzorku vína. Výsledky vín se hodně liší a zdá se, že tato analytická metoda není v podmínkách školních laboratoří příliš spolehlivá. Nepředpokládá se, že by se množství kyseliny askorbové ve vínech tak lišilo. Také ale mohou být výsledky kyseliny askorbové ovlivněny obsahem SO₂ ve vínech.

10 ZHODNOCENÍ JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ PRO VYUŽITÍ V LABORATORNÍCH CVIČENÍCH NA UTB

Provedení jednotlivých analýz v podmínkách laboratoře UTB ve Zlíně bylo zvládnutelné. Stanovení oxidu siřitého bylo provedeno jodometrickou titrací, která se jevila pro toto stanovení jako vhodná metoda. Metoda nebyla obtížná, nejprve bylo provedeno stanovení volného SO_2 , poté následovalo stanovení vázaného SO_2 . Množství SO_2 bylo prokázáno modrým zbarvením titrovaného vzorku. U bílých vín byl snadno poznatelný bod ekvivalence. U červených vín byl bod ekvivalence těžce poznatelný z důvodu tmavosti červeného vína, přesnost měření se zkvalitnila při prosvěcování vzorku lampou. Překročení celkového SO_2 došlo zejména u bílých vín a růžového vína. Stanovení volného a veškerého SO_2 v podmínkách laboratorního cvičení je vhodné. Pouze stanovení SO_2 u červených vín by mohlo být pro náročné, z výše uvedených důvodů.

Obsah biogenních aminů ve víně nebyl nijak výrazně vysoký spíše minimální, pouze ve dvou případech se jednalo o max. množství v desítkách mg/l. Stanovení biogenních aminů ve víně je časově náročné. Do laboratorního cvičení by bylo vhodné zařazení biogenních aminů, a to z důvodu seznámení studentů s instrumentálními metodami. Studenti by se naučili vyhodnocovat chromatogramy, což by se jim mohlo hodit pro jejich další využití v praxi, zejména v jejich bakalářské nebo diplomové práci.

Stanovení redukujících cukrů bylo také časově více náročné. Nejdříve muselo dojít k úpravě vín pro stanovení redukujících cukrů, a to zejména k odstranění látek, které ruší právě toto stanovení. Rušivými látky jsou v tomto případě aminokyseliny, barviva a další. Dále muselo dojít nejdříve ke stanovení oxidu měďného, který se potom určil manganometrickou titrací a podle tabulek se určilo množství redukujících cukrů ve vzorcích vína. Většinou bylo prokázáno větší množství obsahu cukrů než zařazení vín podle vinařského zákona. U šesti vzorků, které byly zařazeny mezi suchá vína, byl stanoven vyšší obsah. Tomu bylo také u vín poslosuchých a polosladkých. Vzorky vín, které byly dodány, byly nejspíše špatně zařazeny do kategorií obsahu cukrů. Při stanovení tak docházelo k odchýlkám obsahu cukrů, které byly uváděny na etiketě. Nejspíše došlo k chybnému zařazení už ve vinařství. Stanovení redukujících cukrů ve vzorcích vína může být použito k laboratorním cvičením na UTB ve Zlíně. Studenti ale musí dbát na přesnou úpravu vzorků a také přesnému stanovení obsahu oxidu měďného.

Stanovení kyseliny askorbové bylo rychlé a jednoduché. Obsah kyseliny askorbové ve vzorcích vína značně kolísal, což mohlo být spojeno se zasířením vína. Ale limit pro kyselinu askorbovou 250 mg/l dle Nařízení komise č.606/2009 překročen nebyl. Přesto bychom stanovení kyseliny askorbové pro laboratorní cvičení na UTB nedoporučili, z důvodu nepřesnosti této analytické metody.

ZÁVĚR

Stanovení ukazatelů jakosti a zdravotní nezávadnosti ve vínech je důležité, a to hlavně z hlediska zdravotního. Zejména vysoké dávky oxidu siřičitého jsou pro lidský organizmus velmi nebezpečné. Nebezpečná dávka pro člověka je 1,5 g/kg. Také vysoký obsah biogenních aminů je pro také člověka nebezpečný, i když biogenní aminy mají různé toxické účinky.

Spotřeba vína v České Republice neustále roste. Podle ministerstva zemědělství spotřeba vína v roce 2009 vzrostla na 19,1 litrů na osobu. Náročný konzument také vyžaduje pořád lepší zboží, proto se věnuje velká pozornost jakosti vína.

Cílem diplomové práce bylo otestovat analytické metody pro zavedení do laboratorního cvičení UTB. Prokázalo se, že tyto metody je možné použít v laboratorních podmínkách UTB.

Práce byla zaměřena na stanovení oxidu siřičitého, biogenních aminů, redukujících cukrů a kyseliny askorbové. Stanovení SO_2 prokázalo pouze u čtyř vorků (9, 16, 18, 21), že hodnoty SO_2 jsou vyšší, než jsou stanovené hodnoty pro celkový obsah SO_2 podle Nařízení Komise (ES) č. 606/2009. Obsah biogenních aminů ve vzorcích vína překročen nebyl. Nedošlo k vysokým obsahům biogenních aminů ve vzorcích, nebylo tedy ohroženo zdraví. Množství kyseliny askorbové značně kolísá, proto není tato metoda doporučována pro laboratorní stanovení na UTB. Kolísavé množství může být spojeno také množstvím SO_2 ve vzorcích vína.

Analytické stanovení ukazatelů ve vzorcích vína je doporučováno pro laboratorní výuku na UTB, pouze stanovení kyseliny askorbové není doporučeno, a to z důvodů uvedených výše. Instrumentální metoda pro stanovení biogenních aminů se zdá také jako vhodná metoda pro laboratorní cvičení na UTB, a to hlavně z důvodů, že se studenti se seznámí s touto metodou a mohou zkušenosti využít v budoucí praxi.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KRAUS, V.; HUBÁČEK, V.; ACKERMAN, P. *Rukověť vinaře*. Praha: ČSZ, 2000, ISBN 80-85362-34-1
- [2] KRAUS, V.; FOFKOVÁ, Z.; VURM, B. *Nová encyklopedie českého a moravského vína 2. díl*. Praha: Praga Mystica, 2008, ISBN 978-80-86767-09-3
- [3] MALÍK, F. *Ze života vína*. Filip trend publishing, 2003, ISBN 80-86282-27-9
- [4] KRAUS, V. *Vinitorium historicum*. Praha, 2009, ISBN 978-80-86031-87-3
- [5] KUTTELVAŠER, Z. *Abeceda vína*. Praha: Radix, 2003, ISBN 80-86031-41-3
- [6] PÁTEK, J. *Zrození vína: všechno o pěstování, zpracování a konzumaci vína*. Brno: Books, s r.o., 1998, ISBN 80-7242-039-9
- [7] ŠEVČÍK, L. *Hledání pravdy o víně: červená vína*. Praha: Grada publishing, 1999, ISBN 80-7169-840-7
- [8] ŠEVČÍK, L. *Hledání pravdy o víně: bílá vína*. Praha: Grada publishing, 1999, ISBN 80-7169-754-0
- [9] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS, 1999, ISBN 80-902391-3-7
- [10] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999, ISBN 80-902391-4-5
- [11] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999, ISBN 80-902391-5-3
- [12] TOIT, M. *Biogenic amine production in wine* [online]. Dostupný z WWW:
< <http://www.wynboer.co.za/recentarticles/200506bio.php3> >
- [13] BUSTO, O.; MESTRES, M.; GUASCH, J.; BORRULL, F. *Determination of biogenic amines in wine after clean – up by solid – phase extraction* [online]. Dostupný z:
< <http://www.springerlink.com/content/f076647868118u57/> >
- [14] HYOTYLAINEN, T.; SAVOLA, N.; LEHTONEN, P.; RIEKKOLA, M. Determination of biogenic amines in wine by multidimensional liquid chromatography with online derivatisation. *The analyst* . 2001. vol. 126, s. 2124-2127.

- [15] BORBA, B.; ROHRER, J. *Determination of biogenic amines in food and alcoholic beverages using ion chromatography with suppressed conductivity and integrated pulsed amperometric detections* [online]. Dostupný z WWW: < http://www.dionex.com/en-us/webdocs/62143-AOAC_Biogenic_LPN%201982-01.pdf>
- [16] BORBA, B.; ROHRER, J. Determination of biogenic amines in alcoholic beverages by ion chromatography with suppressed conductivity and integrated pulsed amperometric detections. *Journal of chromatography A*. 2007. vol. 1155, s. 22-30
- [17] Nařízení komise (ES) č. 606/2009 ze dne 10.7.2009, kterým se stanoví některá prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 479/2008, pokud jde o druhy výrobků z révy vinné, enologické postupy a omezení, která se na ně použijí [online]. [cit. 2010-20-04]. Dostupný z WWW: < <http://eur-lex.europa.eu>>
- [18] JACKSON, R. S. *Wine science*. Elsevier, 2008
- [19] JANČÁK, L.; JANČÁŘOVÁ, I. *Analytická chemie: laboratorní cvičení*. Brno, 1997, ISBN 80-210-1579-9
- [20] VONDRÁK, D.; VULTERIN, J. *Analytická chemie*. Praha: SNTL, 1985
- [21] BALÍK, J. *Vinařství: návody do laboratorního cvičení*. Brno: MZUL, 2006, ISBN 80-7157-933-5
- [22] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava, 2003, ISBN 80-86369-07-2
- [23] VOŘÍŠEK, J.; a kol. *Analytická chemie*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1965
- [24] ČERŇÁK, J.; POLONSKÝ, J. *Prehľad analytickej chemie*. Bratislava: Alfa, 1970
- [25] PATNAIK, P. *Dean's analytical chemistry handbook*. New York: McGraw-Hill, 2004, ISBN 0-07-141060-0
- [26] SALAHA, M.; KALLITHRAKA, S.; MARMARAS, I. A natural to sulphure dioxide for red wine production: influence on colour, antioxidant activity and anthocyanin content. *Journal of food composition and analysis* 21. 2008, s. 660-666

- [27] LI, H.; GUO, A.; WANG, H. Mechanism of oxidative browning of wine. *Food chemistry* 108. 2008, s. 1-13
- [28] PÉREZ-SERRADILLA, J. A.; LUQUE de CASTRO, M. D. Role of lees in wine: A review. *Food chemistry* 111, s. 447-456
- [29] LOPES, P.; DRIKINE, J.; SAUCIER, C.; GLORIES, Y. Determination of L-ascorbic acid in wines by direct injection liquid chromatography using a polymeric column. *Analytica chimica acta* 555. 2006, s. 242-245
- [30] FETNÁNDEZ-NOVALES, J.; LÓPEZ, M. I.; SÁNCHEZ, M. T.; MORALES, J.; GONZÁLEZ-CABALLERO, V. Software-near infrared spectroscopy for determination of reducing sugar content during grape ripening, winemaking, and aging of white and red wines. *Food research international* 42. 2009, s. 285-291
- [31] FETNÁNDEZ-NOVALES, J.; LÓPEZ, M. I.; SÁNCHEZ, M. T.; GARCÍA, J. A.; MORALES, J. A feasibility study on the use of a miniature fiber optic NIR spectrometer for the prediction of volumic mass and reducing sugars in white wine fermentations. *Journal of food engineering* 89. 2008, s. 325-329
- [32] ARAÚJA, A. N.; LIMA, J. L. F. C.; RANGEL A. O. S. S.; SEGUNDO, M. A. Sequential injection system for the spectrophotometric determination of reducing sugars in wines. *Talanta* 52. 2000, s. 59-66
- [33] YEBRA, M. C.; GALLEGO, M.; VALCÁRCEL, M. Automatic determination of reducing sugars by atomic absorption spectrometry. *Analytica chimica acta* 276, 1993, s. 385-391
- [34] *Výroba vína* [online]. [cit. 2010-15-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.vinarstvimutenice.cz/>>
- [35] *Co obsahuje víno?* [online]. [cit. 2010-05-05]. Dostupný z WWW: <<http://projektafa.ic.cz/monosacharidyII.htm>>
- [36] *Monosacharidy II* [online]. [cit. 2010-5-04]. Dostupný z WWW: <www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/vinarstvi.pdf>
- [37] *Obecné informace – povinnosti „malého vinaře“* [online]. [cit. 2010-19-04]. Dostupný z WWW: <www.szpi.gov.cz>

- [38] FARKOVÁ, A.; ŘEZKOVÁ, S.; ADAM, M.; KRÁLOVSKÝ, J. Stanovení 5-hydroxymetylfurfuralu, glukózy, fruktózy v medovinách [online]. [cit. 2010-19-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.vscht.cz/anl/soutez2007/abstrakt-Farkova.pdf>>
- [39] OTŘÍŠAL, P.; STÁVEK, J. Je nutné bát se biogenních aminů ve vínech [online]. [cit. 2010-15-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.enolog.cz/je-nutne-bat-se-biogennich-aminu-ve-vinech>>
- [40] KRAUS, V.; FOFFOVÁ, Z.; VURM, B.; KRAUSOVÁ, D. *Encyklopedie českého a moravského vína I. díl*. Praha: Praga mystica, 2005, ISBN 80-86767-00-0
- [41] *Aktuální téma – cukr a víno* [online]. [cit. 2010-20-04]. Dostupný z WWW: <www.znovin.cz>
- [42] *Historie a současnost moravského a českého vinařství, vinařské oblasti* [online]. [cit. 2010-20-04]. Dostupný z WWW: <http://www.monarch.cz/documents/historie_vinarstvi.pdf>
- [43] *Král vín ČR* [online]. [cit. 2010-20-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.vinnysklep.cz/index.php?u=kralvin~15>>
- [44] Stávek, J. Odrůdové aroma – utopie nebo hýčkaná vlastnost vína? [online]. [cit. 2010-20-04]. Dostupné z WWW: <www.enolog.cz/.../odrudove-aroma-utopie-nebo-hyckana-vlastnost-vina-0fa1d.doc>
- [45] *Historický vývoj vinařství v datech* [online]. [cit. 2010-21-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.wineofczechrepublic.cz/r-3-1-1-1-historicky-vyvoj-vinarstvi-v-datech-cz.html>>
- [46] *The components of wine* [online]. [cit. 2010-21-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.thewinedoctor.com/advisory/tastecomponents.shtml>>
- [47] Návodů do laboratoří z analýzy potravin pro 1. ročník navazujícího magisterského studia na UTB. Analýza mléčných výrobků.
- [48] *Ochratoxiny* [online]. [cit. 2010-05-05]. Dostupný z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=92023>>

- [49] DOMIJAN, A-M.; PERAICA, M. Ochratoxin a in wine [online]. *Institute for Medical Research and Occupational Health*. Zagreb, Croatia, 2004. [cit. 2010-06-05]. Dostupné z WWW: <hrcak.srce.hr/file/391>
- [50] SCHWEIZER, U. *Jak poznat dobré víno*. Pardubice: Filip Trend Publishing, 2002, ISBN 80-86282-24-4
- [52] VACCARINI, G. *Jak rozumět vínu: manuál someliéra*. Praha: Nakladatelsví Sun, s r.o., 2008, ISBN 978-80-7371-232-7

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

HPLC Vysoce účinná kapalinová chromatografie.

Př.n.l. Před naším letopočtem.

PVC Polyvinylchlorid.

SO₂ Oxid siřičitý.

UTB Univerzita Tomáše Bati

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: schéma výroby bílého a červeného vína [28].....	19
Obrázek 2: réva vinná	20
Obrázek 3: vřetenový lis	22
Obrázek 4: svatovavřínecké víno.....	25
Obrázek 5: Tvorbu biogenních aminů s příkladem produkce tyraminu[12].	33
Obrázek 6: α -D-glukopyranóza [38]	34
Obrázek 7: α -D-fruktofuranóza [38]	34
Obrázek 8: chemická struktura vitamínu C [10]	36
Obrázek 9: výměna iontů na povrchu iontoměniče [22].....	38

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Obsah sacharidů ve vínech [9]	35
Tabulka 2: Přehled vín	47
Tabulka 3: Výsledky stanovení SO ₂	48
Tabulka 4: Výsledky stanovení biogenních aminů	50
Tabulka 5: rozdělení vín dle obsahu cukru [41]	52
Tabulka 6: Výsledky stanovení redukujících cukrů s obsahem do 5 g/l ve víně.....	52
Tabulka 7: Výsledky stanovení redukujících cukrů s obsahem 5 – 15 g/l ve víně.....	53
Tabulka 8: Výsledky stanovení redukujících cukrů s obsahem 15 – 125 g/l ve víně.....	53
Tabulka 9: Výsledky stanovení kyseliny askorbové.....	54

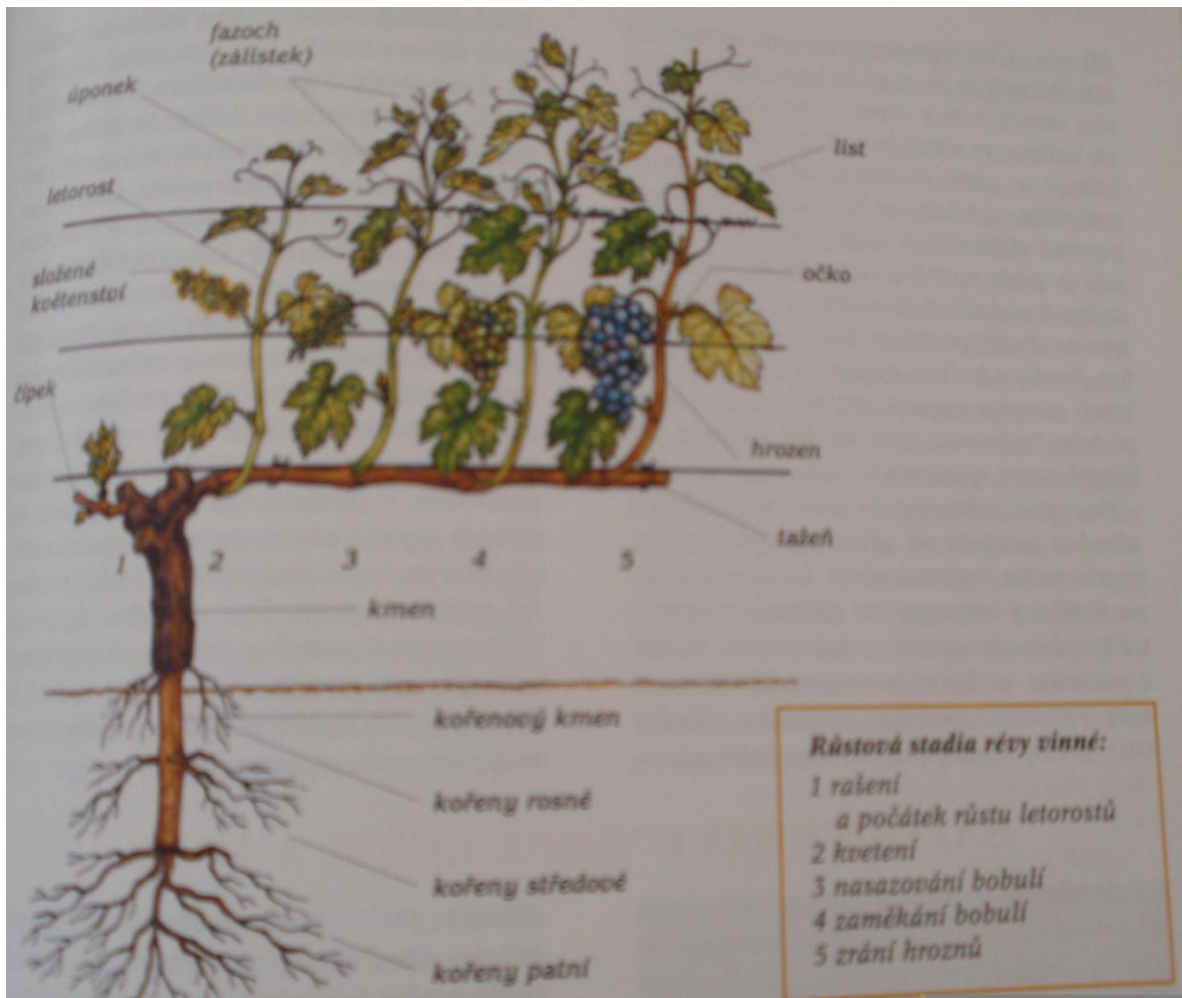
SEZNAM PŘÍLOH

I: RÉVA VINNÁ

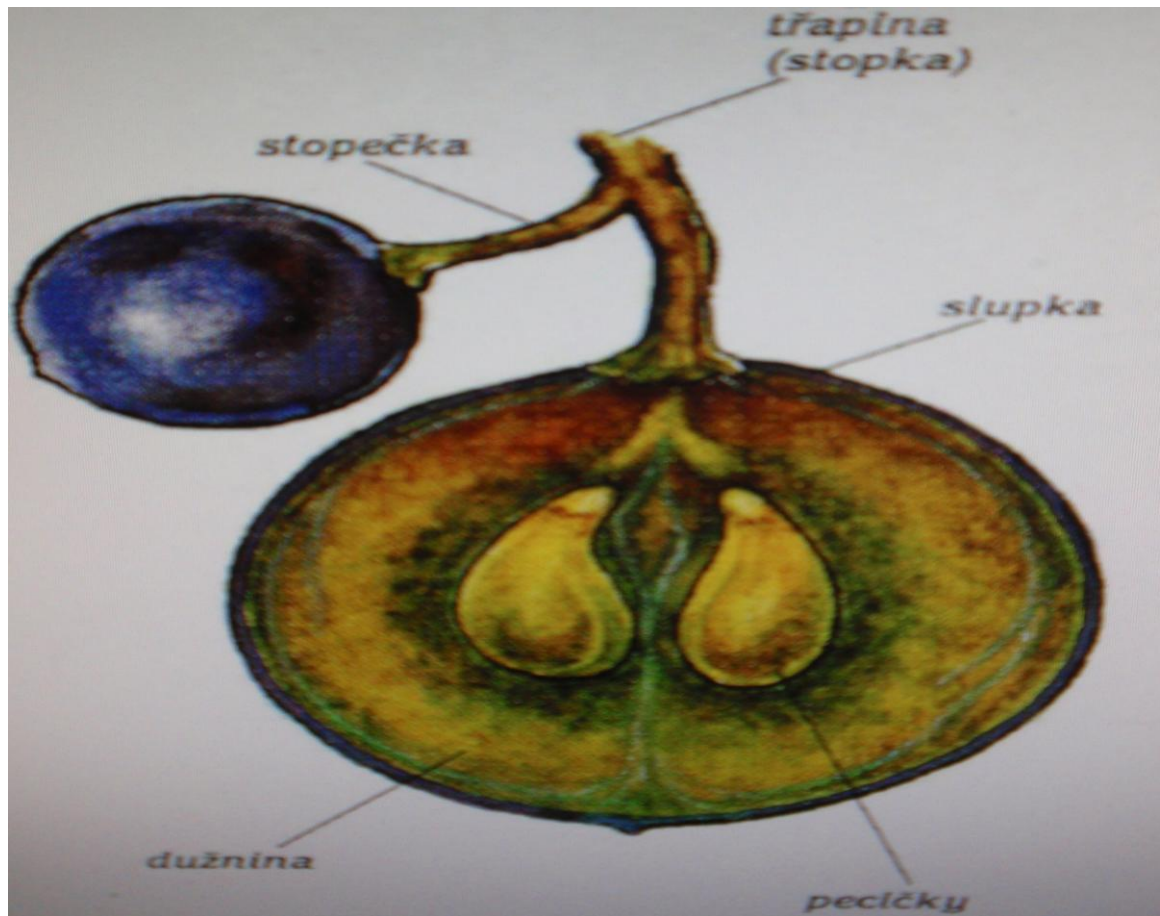
II: PRŮŘEZ BOBULE RÉVY VINNÉ

III: ODRŮDY PRO VÝROBU BÍLÝCH VÍN

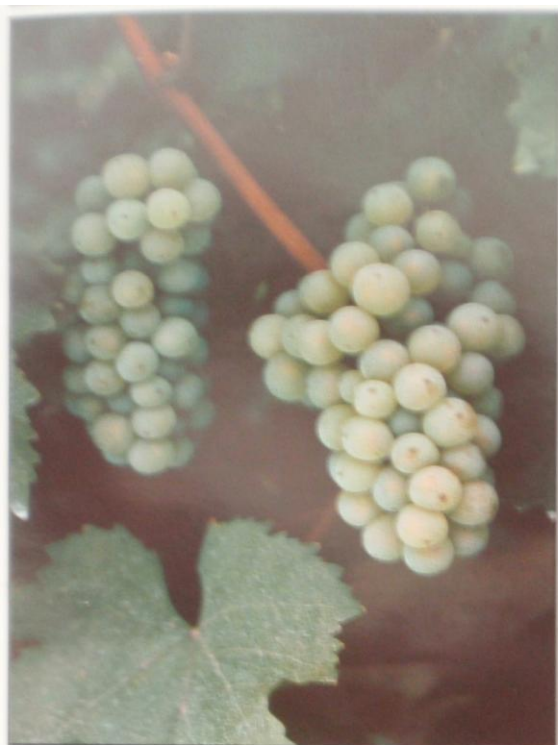
PŘÍLOHA P I: RÉVA VINNÁ



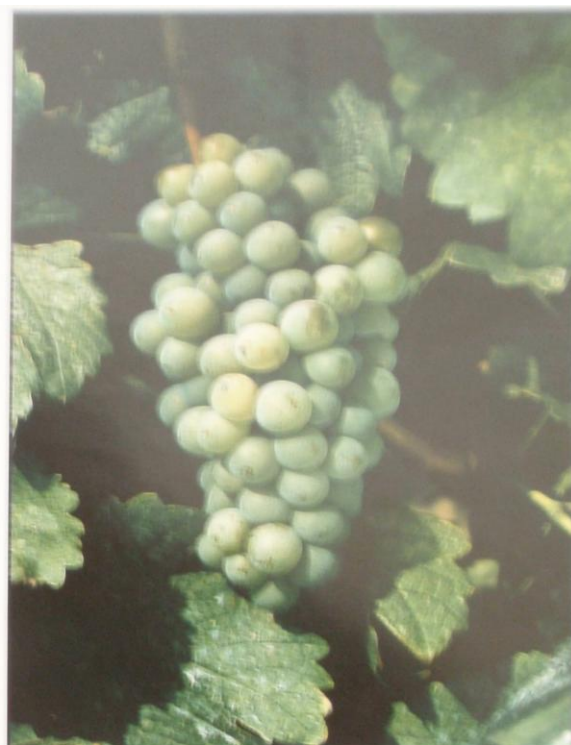
PŘÍLOHA PII: PRŮŘEZ BOBULE RÉVY VINNÉ



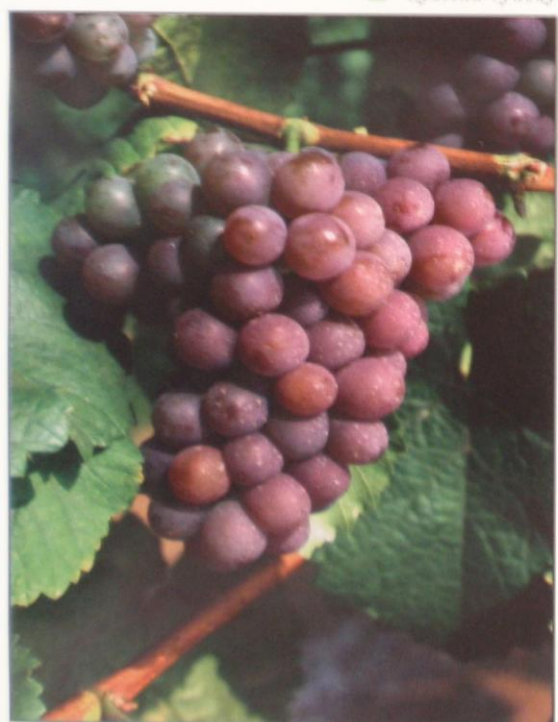
PŘÍLOHA PIII: ODRŮDY PRO VÝROBU BÍLÝCH VÍN



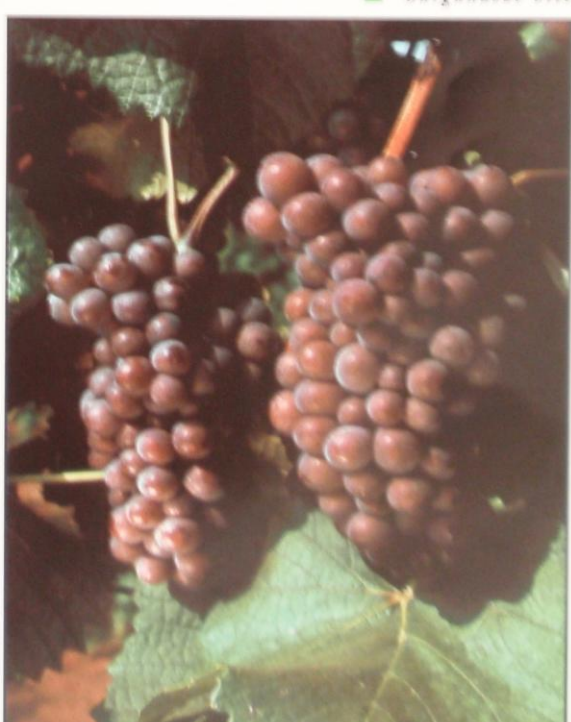
■ Ryzlink rýnský



■ Burgundské bílé



■ Burgundské šedé



■ Tramin červený