

# Obsah mastných kyselin a jejich esterů ve vybraných odrůdách červeného vína

Bc. Marie Gabrielová

---

Diplomová práce  
2010/2011



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. Marie GABRIELOVÁ**  
Osobní číslo: **T090214**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Obsah mastných kyselin a jejich esterů ve vybraných odrůdách červeného vína.**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Nejvýznamnější mastné kyseliny a jejich estery u hroznového vína.
2. Nejdůležitější odrůdy červeného vína vinařské oblasti Morava.
3. Technologie výroby vína.

### II. Praktická část

1. Metodika stanovení mastných kyselin.
2. Analýza odebraných vzorků hroznového vína



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] Suter, B., Grob, K., Pacciarelli, B. : Determination of fat content and fatty acid composition through 1-min transesterification in the food sample; principles. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 1997, 204, 252 – 258.
- [2] Rop, O., Hrabě, J. : Nealkoholické a alkoholické nápoje, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně 2009, ISBN 978-80-7318-748-4.
- [3] Gallart, M., Francioli, S., Viu-Marco, A., López-Tamames, E., Buxaderas, S. : Determination of free fatty acids and their ethyl esters in musts and wines. *Journal of Chromatography A*, 1997, 283 – 291.
- [4] Shinohara, T. : Gas Chromatographic Analysis of Volatile Fatty Acids in Wines. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1985, 2211 – 2212.
- [5] Situační a výhledová zpráva – Réva vinná a víno, Ministerstvo zemědělství České republiky 2010, ISBN 978-80-7084-895-1.

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/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 <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> 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 .....

.....

---

<sup>1)</sup> 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.

<sup>2)</sup> 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).

<sup>3)</sup> 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). Odpirá-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**

Diplomová práce je zaměřena na stanovení mastných kyselin a jejich esterů pomocí plynové chromatografie ve vybraných vzorcích červeného vína. Byla vyzkoušena možnost úpravy vzorků a nalezeny optimální chromatografické podmínky pro jejich analýzu. Bylo stanoveno množství mastných kyselin a jejich esterů ve vybraných vzorcích a získané hodnoty byly porovnány s publikovanou literaturou.

Klíčová slova: Réva vinná, víno, mastné kyseliny, plynová chromatografie.

## **ABSTRACT**

The master thesis is focused on the determination of fatty acids and their esters by gas chromatography in selected samples of red wine. The possibility of samples treatment was tested and optimal chromatographic conditions for their analysis were found. The quantity of fatty acids and their esters in selected samples was determined and the values obtained were compared with the published literature.

Keywords: Vitis Vinifera, Wine, Fatty Acids, Gas Chromatography.

Děkuji svému vedoucímu diplomové práce Ing. Pavlu Hanuštiakovi za odborné vedení, konzultace a rady.

Velké díky patří mým rodičům za podporu během celého studia a tuto diplomovou práci věnuji svému otci.

Motto:

„Nesmyslná bádání jsou příbuzná s netušenými objevy“

*Paul Valéry*

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 RÉVA VINNÁ A PŘÍPRAVA VÍNA</b> .....	<b>12</b>
1.1 SLOŽENÍ HROZNŮ .....	12
1.1.1 Třapina .....	12
1.1.2 Slupka.....	12
1.1.3 Semena .....	13
1.1.4 Dužina .....	13
1.2 TECHNOLOGIE VÝROBY RÉVOVÉHO VÍNA .....	14
1.2.1 Drcení hroznů a zpracování rmutu .....	14
1.2.2 Lisování rmutu .....	16
1.2.3 Úprava moštu pro kvašení.....	16
1.2.4 Kvašení moštu .....	17
1.2.5 Školení vína.....	18
1.2.6 Lahvování.....	20
<b>2 VINAŘSKÉ OBLASTI</b> .....	<b>22</b>
2.1 VINAŘSKÁ OBLAST ČECHY .....	22
2.2 VINAŘSKÁ OBLAST MORAVA .....	22
2.3 NEJPĚSTOVANĚJŠÍ ODRŮDY RÉVY VINNÉ .....	23
2.3.1 Svatovavřínecké .....	23
2.3.2 Frankovka.....	24
2.3.3 Zweigeltrebe.....	25
2.3.4 Rulandské modré.....	25
2.3.5 Cabernet Moravia.....	26
<b>3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MOŠTU A ZMĚNY OBSAHU NĚKTERÝCH LÁTEK</b> .....	<b>27</b>
3.1 VODA .....	27
3.2 SACHARIDY A ALKOHOL .....	27
3.3 KYSELINY .....	28
3.4 POLYFENOLICKÉ LÁTKY .....	28
3.5 DUSÍKATÉ LÁTKY .....	29
3.6 PEKTINOVÉ LÁTKY .....	29
3.7 ENZYMY .....	29
3.8 AROMATICKÉ A BUKETNÍ LÁTKY .....	29
3.9 MINERÁLNÍ LÁTKY A VITAMÍNY .....	30
3.10 TUKY, VOSKY A OLEJE.....	31
<b>4 KVASINKY</b> .....	<b>34</b>



4.1	CYTOLOGIE KVASINEK .....	34
4.2	CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUNĚČNÉ HMOTY KVASINEK.....	35
<b>5</b>	<b>PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE .....</b>	<b>38</b>
5.1	KOLONY V PLYNOVÉ CHROMATOGRAFII.....	39
5.1.1	Náplňové kolony .....	39
5.1.2	Kapilární kolony.....	39
5.2	DETEKTORY V PLYNOVÉ CHROMATOGRAFII .....	40
5.2.1	Tepelně vodivostní detektor (Thermal Conductivity Detector - TCD).....	40
5.2.2	Ionizační detektory.....	41
5.2.2.1	Plamenový ionizační detektor (Flame Ionization Detector - FID) .....	41
5.2.2.2	Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID) .....	42
5.2.2.3	Bezplamenový detektor s alkalickým kovem .....	42
5.2.2.4	Detektor elektronového záchytu (Electron Capture Detector - ECD).....	42
5.2.2.5	Fotoionizační detektor (PhotoIonization Detector - PID) .....	43
5.2.2.6	Hmotnostní spektrometr (MS) .....	43
5.3	VYUŽITÍ GC-FID KE STANOVENÍ ESTERŮ MASTNÝCH KYSELIN V POTRAVINÁCH .....	43
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE .....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>47</b>
7.1	ANALYZOVANÉ VZORKY HROZNOVÉHO VÍNA .....	47
7.2	PREPARÁT PRO ZAOČKOVÁNÍ VÍNA BAKTERIEMI JMK.....	47
7.3	PŘÍPRAVA VZORKŮ .....	47
7.3.1	Použité chemikálie a materiál .....	47
7.3.2	Úprava vzorků.....	48
7.4	ANALÝZA POMOCÍ GC-FID.....	48
7.4.1	Standard.....	49
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>50</b>
8.1	MASTNÉ KYSELINY STANOVENÉ PŘI MĚŘENÍ .....	50
8.2	DISKUSE .....	52
	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>54</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>55</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>59</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>61</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>62</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>63</b>

## ÚVOD

Hroznové víno je alkoholický i nealkoholický nápoj typicky vznikající kvašením moštu z plodů révy vinné pomocí vinařských kvasinek. Víno je ceněné nejen pro svoji chuť, ale při střídme konzumaci jsou díky jeho nutriční hodnotě známy i jeho příznivé účinky na lidský organizmus.

Zmínky a doklady o výrobě vína se datují již 10 000 let př. n .l., réva vinná tak patří mezi nejstarší kulturní plodiny. K rozšíření vinic na území České republiky došlo v období Velkomoravské říše v 9. a 10. století a velký rozkvět nastává za vlády Karla IV., který dal do Čech přivést révu z Burgundska a Porýní. Nyní se réva vinná pěstuje v České republice ve vinařských oblastech Čechy a Morava, přičemž rozhodující je pro vinohradnictví oblast Moravy, kde se nachází přes 96% vinic ČR. Nejpěstovanější bílé odrůdy jsou zde tradičně Müller Thurgau, Veltlínské zelené, Ryzlink vlašský a Ryzlink rýnský. Nejvíce zastoupeny modré odrůdy jsou Svatovavřínecké, Frankovka, Zweigeltrebe a Rulandské modré.

Hlavní složkou vína je voda, které je zde kolem 83 %. Dále jsou zde obsaženy etanol, glycerol, zkvasitelné cukry, minerální, dusíkaté a buketní látky, třísloviny, vitamíny, oxid uhličitý a kyseliny vinná, jablečná, mléčná a další.

Víno obsahuje i tukové látky. Ty vznikají v hroznech a postupným zráním se jejich obsah zvyšuje. Jejich hlavním zdrojem jsou semena, ve kterých se nachází olej v množství od 4 do 20 %. Převážná část tohoto oleje zůstává v hroznových výliscích, takže v moštu už je jen malé množství tohoto oleje. Vína z modrých odrůd hroznů obsahují větší množství tukových látek, je to způsobeno naležením semen při nakvácení. Hlavními složkami tohoto oleje jsou kyseliny stearová, palmitová, linolenová a máselná. Víno po prokvašení obsahuje vždy více tukových látek než mošt, jelikož se do něj tuky dostávají jak z moštu, tak z kvasinek, které obsahují až 7 % lipidů.

Plynová chromatografie je analytická a separační metoda, která má výsadní postavení v analýze těkavých látek. Chromatografická analýza zahrnuje průchod směsi molekul přes kolonu, kde je směs molekul rozdělena a jednotlivé koncentrace molekul jsou detekovány na vhodně zvoleném detektoru.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 RÉVA VINNÁ A PŘÍPRAVA VÍNA

Réva vinná (*Vitis vinifera*) je liánovitá, světlomilná rostlina, s mohutným kořenovým systémem, patřící do čeledi *Vitaceae* - révovité. Rod *Vitis* se rozděluje podle původu do tří ekologických skupin: severoamerická, východoasijská a euroasijská skupina, jež má jediný druh - *Vitis vinifera* - který se dělí na dva podruhy, a to révu vinnou lesní a révu vinnou pravou. Odrůdy révy vinné pravé se rozdělují na odrůdy moštové pro bílá vína, moštové pro červená vína, moštové pro výrobu tokajských vín a stolní, přičemž některé moštové odrůdy lze využít i jako stolní [1].

### 1.1 Složení hroznů

Hrozen révy vinné je složen z třapiny a bobule, a ta se skládá ze slupky, dužiny a semen. Pro kvalitu vína jsou důležité jejich hmotnostní poměry, technologická vyzrálost a chemické složení [1, 2, 3].

#### 1.1.1 Třapina

Představuje 3 - 4% z hmotnosti hroznů, je zelená a po dosažení zralosti dřevnatí a hnědne. Z nevyzrálé třapiny se do vína mohou vyluhovat třísloviny a chlorofyl, které poškozují jeho senzorické vlastnosti [1, 4]. Chemické složení jednotlivých částí hroznů je uvedeno v Tab. 1.

#### 1.1.2 Slupka

Je pokryta voskem, který chrání bobuli před infekcí, přílišným odparem vody či rozmočením při deštích. Podíl slupky na hmotnosti bobule je v rozmezí 9 - 11%, dle odrůdy a zralosti [1]. Složení je závislé na odrůdě a má vliv na barvu, vůni, chuť a celkový odrůdový charakter vína. Sušina slupky obsahuje cukry, organické kyseliny a jejich soli, barviva, třísloviny, dusíkaté a minerální látky a jiné složky. Ve slupkách bílých hroznů je obsažen chlorofyl a jeho rozkladné produkty - flavonová barviva. V červených a modrých odrůdách jsou antokyany, jejichž jednotlivý poměr závisí na odrůdě. S výjimkou barvířek (odrůdy, jejíž hrozny mají červenou dužinu) jsou antokyany jen ve slupce, a tak lze z modrých odrůd vyrobit i bílá a růžová vína. Antokyany se uvolňují z buněk slupky až účinkem alkoholu, tepla nebo atmosféry CO<sub>2</sub> [5, 6].

### 1.1.3 Semena

Semena jsou další pevnou součástí hroznů. Bývá jich 1 - 4 v bobuli a představují 3 - 4 % z celkové hmotnosti. Pokud bobule semena neobsahuje, bývá malá, tzv. hráškovitá (mirandage). Pouze některé stolní odrůdy jsou vyšlechtěny na produkci bezsemenných plodů. Významné složky jsou třísloviny (3-6%) a olej (10-20%), který obsahuje glyceridy kyseliny stearové, palmitové a linolové [3, 4].

### 1.1.4 Dužina

Dužina je nejvýznamnější součástí. Tvoří 85 - 90 % hmotnosti bobule. Z toho je 5 - 8 % sušina, zbytek mošt [1]. Obsahově významný je podíl cukrů - hlavně glukózy a fruktózy, dále jsou zde kyseliny vinná a jablečná a to jak volné, tak vázané ve formě draselných a vápenatých solí. Z dalších látek je zde podíl dusíkatých sloučenin, pektinů, enzymů, minerálních látek a vitaminů. Barviva, třísloviny a aromatické látky se v dužině nacházejí jen se stopových množstvích [5].

Tab. 1 Chemické složení jednotlivých částí hroznů [3]

Složka		Třapina [v %]	Slupka [v %]	Semena [v %]	Dužina [v %]
Voda		35 - 90	53 - 82	30 - 45	55 - 92
Monosachari- dy	pentosy a pentosany	1 - 2,8	1 - 1,2	3,9 - 4,5	0,2 - 0,5
	hexosy (glukóza a fruktó- za)	stopy	stopy	-	10 - 30
Sacharóza		-	-	-	do 1,5
Pektiny		0,7	0,9	-	0,1 - 0,3
Kyseliny		0,5 - 1,6	0,1 - 0,7	-	0,1 - 0,8
Třísloviny		1,3 - 3,2	0,01-2,3	1,8 - 5	stopy
Barviva		-	1 - 15,4	-	stopy
Enzymy		stopy	stopy	stopy	stopy

Vitamíny	stopy	stopy	stopy	stopy
N - látky	0,7 - 2,2	0,8 - 1,9	0,8 - 1,2	1,4 - 2,2
Aromatické látky	-	stopy	stopy	-
Oleje	-	1,5	10 - 20	-
Popeloviny	6 - 10	2 - 3,7	2 - 5	0,1 - 1,1

## 1.2 Technologie výroby révového vína

Základní surovinou pro výrobu vína jsou čerstvé vinné hrozny, které se sbírají v našich podmínkách zhruba v období konec srpna (velmi rané odrůdy) až konec listopadu (pozdní odrůdy). Výjimkou je sbírání v zimních měsících za mrazu při výrobě ledového vína. Odrůdy pro výrobu vína se mohou zjednodušeně rozdělit na bílé (pro výrobu bílých vín) a modré (pro výrobu červených vín) [26]. Výroba vína zahrnuje přípravu rmutu drcením hroznů, lisování rmutu a jeho úpravu pro kvašení, jeho kvašení, školení vína a lahvování [1, 2, 3].

### 1.2.1 Drcení hroznů a zpracování rmutu

Hrozny se po sklizni co nejdříve drtí - rmutují. Tím se usnadní lisování, zvýší se vylisnost a zabrání se zapaření. Při drcení má každá bobule prasknout, nesmějí se ale poškodit pečičky, třapina a slupky. Z nich by se mohly do moštu vyluhovat nežádoucí látky, jako oleje, chlorofyl a třísloviny v množství větším než je žádoucí. Drcením se získá ze 100 kg hroznů přibližně 90 litrů rmutu. U nás jsou nejpoužívanějším typem drtičů mlýnky kombinované s odzrňovacím žlabem a pístovým čerpadlem [1]. Rmut pro výrobu bílých vín se okamžitě lisuje. Modré odrůdy hroznů na výrobu červených vín, ale i některé bílé odrůdy (např. Muškát Ottonel, Ryzlink rýnský, Sauvignon, Tramín, Rulandské, apod.) se před lisováním nakváší 1 - 3 dny, v některých případech 1 - 2 týdny. Kdyby se rmut nakvášel společně se stopkami, hrozilo by opět vyluhování nežádoucích látek, čímž by víno získalo trpkou příchut', proto se stopky z pomletých bobulí odstraňují na výše zmíněných odzrňovacích [3].

Všechny operace, které se s hrozny či rmutem provádí před lisováním, sledují jednak urychlení a dokonalost vylisování, jednak i zlepšení chuťových a barevných substancí v

budoucím víně. Nakvášením rmutu se rozkládá pektin (zvýšení vylisnosti) a vyluhují se barviva a aromatické látky z bobulí. Protože se tyto látky nachází ve slupce bobule nebo těsně pod slupkou, je třeba bobule před nakvášením mechanicky rozrušit, čímž se vyluhování zintenzivní. Při nakvášení rmutu spolupůsobí více činitelů, je to jednak mechanické rozrušení buněk, dále alkohol, kyseliny a třísloviny. Velký vliv má i šíření rmutu na zabránění oxidace a jako konzervační prostředek proti škodlivým mikroorganismům. Doba nakvášení závisí od efektu, kterého chceme dosáhnout. Bílé aromatické odrůdy hroznů se nakváší 1 - 2 dny, červené 4 - 14 dní podle charakteru budoucího vína [3, 4]. Rmut v zásobnících nemusí kvasit. Podobně se nechávají naležet nebo mírně nakvasit rmuty z odrůd, které mají masitou dužinu. Doba vyluhování závisí na vyzrálosti hroznů, jejich zdravotním stavu a dále na nakvášecí teplotě. Po určité době se vlivem osmotických tlaků vyrovnají koncentrace barviv ve slupce a v kvasicím moštu. Nakvašování při teplotě 15°C by nemělo trvat déle než 8 dní. Příliš dlouhým nakvášením získá víno nepříjemnou chuť, nepřírozně hnědou barvu a může dojít k octovému kvašení. Vznikající oxid uhličitý vynáší na povrch nečistoty, které tvoří pevnou vrstvu, tzv. klobouk. Stykem se vzduchem probíhá na povrchu klobouku octové kvašení a navíc v částech, kde je klobouk nad povrchem kvasícího moštu, nedochází k vyluhování barviv - proto je nutné klobouk v pravidelných intervalech do kvasícího rmutu nořit [1, 3, 5]. Podle způsobu ponořování klobouku do rmutu se rozlišuje nakvašování:

- Nakvašování v otevřených nádobách s volně plujícím kloboukem: je to nejjednodušší a u nás zároveň nejpoužívanější způsob. Nádoby se plní do 3/4 objemu a klobouk se ručně pomocí hřebel noří v pravidelných časových intervalech do rmutu. Nevýhodou je značná časová náročnost a nutnost ruční práce.
- Kvašení v otevřených nádobách s ponořeným kloboukem: pomocí drátěného dna je klobouk ponořen pod hladinu kvasícího moštu. Tento způsob není častý, jelikož vyluhování barviv je nedokonalé.
- Kvašení v uzavřených nádobách s ponořeným kloboukem: je to méně účinný způsob, odpadá zde však potřeba ruční práce. Princip spočívá v ponoření klobouku pod hladinu moštu pomocí tlaku CO<sub>2</sub>.
- Vyluhování barviv horkým moštem: je to účinný způsob, jež ale vyžaduje pečlivou provozní kontrolu kvůli nebezpečí získání varné příchuti. Na hrozny se nalije mošt zahřátý na 78°C, to způsobí popraskání hroznů a po zchlazení na 20°C se hrozny

odzrní a lisují. Pro urychlení extrakce červených barviv se rovněž používá nahřívání rmutu na 60°C po dobu 15 min. Ohříváním se inaktivují některé enzymy, hlavně polyfenoloxidázy, které způsobují hnědnutí moštu a budoucího vína. Ohřívání rmutu má velký vliv na obsah celkového dusíku v moštu, a tím na biologický potenciál moštu, to je na prokvášení schopnost. Obsah celkového dusíku se ohříváním zvýší, ale obsah bílkovinného dusíku se sníží, což je způsobeno eliminací bílkovin teplem, sloučením s tříslovinami nebo i jejich štěpením s proteolytickými enzymy. Zvýšení celkového obsahu dusíku při ohřívání rmutu je způsobené tím, že semínka a slupky obsahují 75 - 80 % celkového dusíku. Ohříváním se dusík uvolní a přejde do moštu. Obsah celkového dusíku se v dalším procesu tvorby vína opět sníží při kvasném procesu. Obohacení ohřátého moštu sloučeninami dusíku se považuje za přínos, jelikož se projeví zvýšeným biologickým potenciálem kvasinek [1, 2, 3, 5].

- Kvašení přes čtyři: tento způsob se využívá v jižních vinařských státech. Na rmut se nalije tolik vína, aby koncentrace etanolu dosáhla 4% objemových. Etanol zabraňuje infekci a podporuje vyluhování barviva [1, 2].

### 1.2.2 Lisování rmutu

- Lisováním se odděluje tekutá fáze od tuhých látek. Dnes se nejčastěji používají komorové nebo kontinuální šnekové lisy. Rmut se nedoporučuje lisovat vyšším měrným tlakem než 1,6 MPa. Lisování musí být pozvolné a přerušované, aby mošt plynule odtékal. Po prvním lisování se matoliny (výlisky) rozdrobí a lisuje se zpravidla podruhé. Výlisnost hroznů se pohybuje okolo 70 - 75 % podle odrůdy a kvality hroznů [1, 2, 3].

### 1.2.3 Úprava moštu pro kvašení

K základním úpravám moštu před kvašením patří úprava cukernatosti, síření moštu a úprava kyselin v moštu.

- Úprava cukernatosti: docukření zvyšuje v konečné fázi obsah etanolu. Docukřovat je povoleno pouze cukrem, který je za studena rozpuštěn v přiměřeném obsahu moštu. Docukřit se má do 72 hodin po vylisování. Pozdější docukření nakvašeného moštu zvyšuje dobu kvašení a víno se pomaleji čistí. Při výrobě červených vín se může cukr přidávat před nakvašování rmutu. Ke zvýšení cukernatosti o 1°NM je



potřeba přidat 1,05 kg cukru. Docukřením o každý přidaný kg cukru se objem moštu současně zvýší o 0,66 litru. U jakostních révových vín s přívlastkem je docukřování zakázáno [1, 4].

- Síření moštu: sířením se chrání mošt před oxidací a infekčními mikroorganismy. Zároveň se podporuje tvorba glycerolu při kvašení. Glycerol zvyšuje obsah bezcukerného extraktu ve víně a vína takto vyrobená mají plnou chuť. Zdravé mošty se síří na koncentraci 20 - 40 mg SO<sub>2</sub> v litru, a to sirnými knoty nebo pyrosiřičitanem draselným K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. U moštů z nahnilých hroznů je možno tuto koncentraci oxidu siřičitého zvýšit. Po zasiření červených moštů se antokyanová barviva mírně odbarví, ale zabrání se tím pozdější oxidaci, takže vína mají intenzivnější červenou barvu [1, 3, 7].
- Úprava kyselin v moštu: u révy vinné se vyskytuje především kyselina jablečná a vinná, v našich podmínkách je to v poměru 2 : 1. Při zrání révových bobulí dochází ke snižování obsahu kyselin jejich prodýcháváním. Rychleji se prodýchává kyselina jablečná a v jižních vinařských státech se může úplně rozložit. Kyselost moštu se pohybuje od 0,6 - 0,8 %, v nepříznivých letech až do 1,6 %. V průměrných vegetačních letech obsahují mošty přiměřenou koncentraci kyselin a kyselost tedy není třeba upravovat. V teplých letech se kyselost snižuje a především mošty z nahnilých hroznů se okyselují přidáním vinné nebo citronové kyseliny. Naopak chemické odkyselení je založeno na tvorbě nerozpustného vinanu vápenatého. Rozpustný jablečnan vápenatý však způsobuje nepříjemnou chuť, a proto se doporučuje chemicky odkyselovat až víno, protože ležením a zráním na kvasnicích se obecně kyselost vína snižuje [1, 8].

#### 1.2.4 Kvašení moštu

Révový mošt má optimální množství chemických sloučenin nutných pro životní pochody kvasinek, není tedy nutná zvláštní úprava živinami. Révový mošt kvasí přímo v ležáckém sklepě. Nechá se kvasit v neplném nádobách spontánně nebo čistými kulturami. Při teplotě 15°C trvá kvašení jeden až dva měsíce. Alkoholové kvašení je složitý biochemický proces způsobený kvasinkami, cukr obsažený v moště se rozkládá na alkohol a oxid uhličitý. Vzniklý etanol je nejenom důležitou součástí chuti a vůně vína, ale působí také ve vyšších koncentracích konzervačně a prodlužuje údržnost vína. Část etanolu se během zpracování

vína mění na buketní látky (např. estery). V průběhu kvašení vznikají i vedlejší produkty, jako jsou glycerol, kyselina mléčná, vinná, octová a vyšší alkoholy. Metanol vzniká ve víně rozkladem pektinů, jeho množství je však zanedbatelné a pohybuje se max. do výše 0,45 % objemových u červených vín, u bílých vín je jeho obsah menší. Pro dosažení optimálního průběhu kvasného procesu se v poslední době uplatňují zákvasy čistých kulturních kvasinek (především *Saccharomyces cerevisiae*) ve formě suspenze nebo v suché aktivní formě. Cílem je dosažení urychleného a hlubokého prokvašení, potlačení cizí technologicky nežádoucí mikroflóry např. divokých kvasinek, hnilobné mikroflóry, a tím i nižší tvorby nežádoucích látek. Kvasinky nejlépe pracují při 20 - 30°C. Vhodnější je ale vést kvasný proces při teplotách do 20°C, kdy nedochází k vytěkání buketních látek z vína. Na začátku kvasného procesu se získává rozkvašený mošt, tzv. burčák. Kvašení je ukončeno v době, kdy je cukr v mošti zkvašen, resp. jeho zbytkový nezkvašený obsah je velmi malý [1, 8, 9].

### 1.2.5 Školení vína

Školením vína se rozumí soubor zákroků, které stabilizují víno vzhledově a chuťově. K nejdůležitějším zásadám patří:

- Dolévání: pravidelné doplňování nádob s vínem je základním předpokladem výroby kvalitního vína. Nejdůležitější je v závěru kvašení, kdy dochází únikem oxidu uhličitého ke značnému zmenšení objemu. V dalším zrání a skladování závisí na prodyšnosti nádob. Vypařováním, případně únikem oxidu uhličitého, vzniká nad vínem v nádobě volný prostor, který se vyplňuje vzduchem. Vzniká předpoklad hnědnutí a křisovatění vína. Školené víno se nesmí dolévat vínem neškoleným [1, 9].
- Stáčení vína: účelem je oddělit víno od usazených nečistot a kvasinek. Révové víno se stáčí dvakrát. První stáčení je nejdůležitější, stáčí se po dokvašení a usazení nečistot. Doba prvního stáčení je závislá také na kyselosti vína. Kyselejší vína se stáčí po delší době, protože ležením vína na kvasnicích se kyselost vlivem biologického odbourávání snižuje v důsledku rozkladu kyseliny jablečné za vzniku chuťově jemnější kyseliny mléčné (jablečno-mléčné kvašení). Poprvé se stáčí v prosinci až lednu do čistých zasiřených nádob. JMK je možno aktivovat také krátkodobějším vytopením sklepa na 20°C. JMK by měla projít zejména červená vína, protože díky

tomuto biologickému pochodu ztrácejí svoji chuťovou tvrdost. Podruhé se u nás stáčí víno v březnu až dubnu po dokonalém vyčištění vína [1].

- Síření vína: oxid siřičitý se používá jako ochranný prostředek při všech výrobních operacích ve formě sirných knotů nebo tablet pyrosiřičitanu draselného. Oxid siřičitý zabraňuje enzymatické oxidaci tříslovin, která se projevuje změnou barvy, chuti i tvorbou zákalů. Potlačuje rozvoj nežádoucích mikroorganismů, a to zejména aerobních octových bakterií a křísotvorných kvasinek. Dále podporuje tvorbu glycerolu, a tím se zvyšuje obsah extraktu a plnost chuti vína. Snižuje tvorbu těkavých kyselin. Víno také vyšší trvanlivost a zachovává si dlouho původní chuť i vzhled. Při vyšších koncentracích však oxid siřičitý zapříčiňuje škrablavou chuť vína, odbarvuje antokyanová barviva a může mít nepříznivé účinky na zdraví člověka jako konzumenta [1, 9, 10].
- Čiření vína: čiření vína má dvojí účel - koagulují se koloidní nečistoty a usadní se tak filtrace a předejde se možným zákalům, popřípadě se odstraní vzniklé chuťové a barevné závady vína.
  1. Čiření taninem a želatinou:želatina se nechá nabobtnat v určitém objemu vína, potom se zahřeje na 50°C a rozšlehá se na koloidní roztok. Do vína se nalije nejdřív tanin a za stálého míchání roztok želatiny. Sraženina se při správném čiření usadí již za 12 hodin po čiření. Po 4 - 10 dnech se víno stochí přes filtr.
  2. Čiření ferrokyanidem draselným: používá se pro odstraňování iontů železa a mědi, které by jinak dodávaly finálnímu produktu kovovou příchuť. Toto čiření musí být pod pečlivou laboratorní kontrolou, protože hydrolytickým rozkladem se z této soli může uvolňovat prudce jedovatý kyanovodík.
  3. Čiření bentonitem: množství bentonitu nutného k čiření se zjišťuje empirickou zkouškou. Účinné čirící dávky se pohybují okolo 50 - 200 g bentonitu na 100 litrů vína.
  4. Čiření agarem: agar se nechá nabobtnat a rozvařit ve vodě, poté se vlije do vína, které se vyčeří za 10 dnů. Dávky se pohybují od 5 - 30 g agaru na 100 litrů vína.

5. Čiření vaječným bílkem: vaječný bílek se sráží tříslovinami, proto se používá u červených vín. Sušený bílek se rozšlehá na sníh a nalije se do celkového objemu vína. Používá se 4 - 12 g na 100 litrů vína.
  6. Čiření kaolinovými hlinkami: jsou to mechanická čířidla, jejichž usazování je zdlouhavé. Používá se u vín s chuťovými vadami.
  7. Čiření aktivním uhlím: používá se dřevěné uhlí (karbofin) nebo kostní uhlí (spodium). Vlivem velkého absorpčního povrchu má uhlí značnou odbarvací schopnost a používá se u vín s barevnými vadami. Na 100 litrů vína se používá 5 - 100 g aktivního uhlí.
  8. Čiření mlékem: používá se za účelem odstranění chuťových vad. V kyselém prostředí se z mléka sráží kasein a současně tříslovinami mléčný albumin. Na 100 litrů vína se používá 0,5 - 2 litry mléka [1, 3, 9].
- Filtrace vína: filtrace vín je oddělování pevných částic vína na pórovité stěně filtru. Účinnost filtrace závisí na velikosti pórů filtrační hmoty a způsobu zachycení pevných částic. Při průtokové filtraci se zachytnou kalící částice větší než je průměr póru filtrační hmoty. Při absorpční filtraci se zachytávají na povrchu filtrační hmoty i částice, které jsou menší než je průměr póru. U velkých vinařských firem se nejčastěji používají tzv. membránové filtry, které jsou použitelné od hrubé filtrace až po mikrobiální sterilaci vín. Filtrace je nutná vždy po vyčiření, kdy se potom víno nechá zrát. Nutná je většinou také filtrace před lahvováním [1].

### 1.2.6 Lahvování

Včasné nalahvování vína před jeho vrcholem vývoje zajišťuje jeho vysokou kvalitu. Proces zrání vína pokračuje v láhvi a víno se stává tzv. lahvově zralým. Vína lehčí, málo extraktivní, s nižším obsahem kyselin se lahvuji po vyškolení již začátkem roku. Vína s vyšším obsahem kyselin a dalších extraktivních látek se skladují delší dobu. Po překročení svého vrcholu lahvové zralosti víno postupně ztrácí odrůdový charakter a stárne. Doba, kdy víno dosáhne vrcholu, je velmi rozdílná a závisí na množství extraktu, zejména kyselin a cukrů. Vyškolené víno se plní do lahví, které se uzavírají korkovou zátkou nebo šroubovací zátkou z plastu. Jako nejlepší uzávěr vína slouží korkové zátky. Korek je pružný a může se přizpůsobit i malým nerovnostem v hrdle lahve. Přes buněčné stěny korku probíhá neustálá, i když nepatrná výměna vzduchu mezi vnitřkem lahve a jeho okolím, což přispívá

k pomalému zušlechtování vína. Nevýhodou korku je možnost napadení plísněmi, jejichž pachů se potom může přenášet i do vína [1, 10].

## 2 VINAŘSKÉ OBLASTI

Réva vinná se v České republice pěstuje ve vinařských oblastech Čechy a Morava. Pro vinohradnictví je rozhodující oblast Moravy, kde se nachází přes 96% vinic České republiky [11].

### 2.1 Vinařská oblast Čechy

Vinařská oblast Čechy patří k nejsevernějším výspám evropského vinohradnictví. V současnosti je nejvíce vinic v okolí Mělníka, Litoměřic a Mostu. V těchto částech Čech dosahuje průměrná teplota 8,7°C a ve vegetačním období okolo 15 °C, průměrné roční srážky činí 547 mm. Území této oblasti osázené vinicemi není souvislé, ale skládá se z jednotlivých příhodných lokalit ležících na chráněných jižních svazích v nižší nadmořské výšce, většinou rozprostřených kolem toků řek [12]. Podle vinařského zákona č. 321/2004 dělíme vinařskou oblast Čechy na dvě podoblasti: Mělnickou a Litoměřickou [13].

### 2.2 Vinařská oblast Morava

Vinařská oblast Morava leží mezi 48°40' severní šířky v jižním cípu Moravy a mezi 49°20' v okolí Brna. Roční průměrná teplota je 9,42 °C, průměr ročních srážek je 510 mm a průměrná roční délka slunečního svitu je 2.244 hodin (dle průměru zjištěného během 78 let na Šlechtitelské stanici vinařské ve Velkých Pavlovicích). Klima je přechodné s příklonem k vnitrozemskému, s občasnými vpády vlhkého atlantického vzduchu nebo i ledového z vnitrozemí. Půdní faktory jsou velice pestré a různorodé. Převážně zde převládají půdy kameňité, štěrkovité, písečné, ale i jílovité [11, 12].

Vinařský zákon č. 321/2004 změnil rozdělení Moravy - dle Obr. 1. Původně zde bylo 10 vinařských oblastí: Brněnská, Bzenecká, Kyjovská, Mikulovská, Mutěnická, Podluží, Strážnická, Uherskohradištská, Velkopavlovická a Znojemská. Sloučením několika oblastí vznikly podoblasti Slovácká a Velkopavlovická. Rozloha oblastí Mikulovská a Znojemská zůstala beze změn pouze se změnil jejich statut na podoblasti [13].



Obr. 1 Vinařská oblast Morava [14]

## 2.3 Nejpěstovanější odrůdy révy vinné

Nejpěstovanější bílou odrůdou zde tradičně zůstává Müller Thurgau, následuje Veltlínské zelené, Ryzlink vlašský a Ryzlink rýnský. Nejvíce zastoupenou modrou odrůdou je Svatovavřínecké, Frankovka, Zweigeltrebe a Rulandské modré [11, 15]. Odrůdové skladby dle podoblastí jsou uvedeny v přílohách P I a P II. Níže jsou popsány nejdůležitější odrůdy pro červená vína.

### 2.3.1 Svatovavřínecké

Svatovavřínecké (Obr. 2) bylo zapsáno do Státní odrůdové knihy v roce 1941. Podle genetické analýzy tato odrůda vznikla jako semenáč burgundských odrůd. Ve Fancii, odkud pochází, se nazývá Saint Laurent, v Rakousku Sankt Laurent. U nás se začala pěstovat po roce 1900, kolem roku 1935 zaujímal asi 1 % ploch vinic u nás. Nyní se v ČR pěstuje na přibližně 9 % celkové plochy vinic. Svatovavřínecké je u nás nejrozšířenější modrou odrůdou révy vinné a čtvrtou odrůdou celkem. Odrůda se nejvíce rozšířila se zavedením vysokého vedení révy v Rakousku a u nás, protože byla pro tento způsob pěstování dobře přizpůsobena. Keře jsou bujného růstu, list střední, tři až pěti-laločný, středně hluboko vykrajovaný. Hrozen je střední, kónický, mírně křídlatý a hustý. Černomodré bobule jsou většinou oválné a z hustého hroznu se někdy vytlačují. Bobule uvnitř hustého hroznu jsou méně vybarvené a s vysokým obsahem kyselin. Bobule se začínají vybarvovat ke svátku sv. Vavřince (10. srpna). Na polohy není náročné, snáší i méně živné půdy. V mládí plodí dobře, později se objevuje střídavá plodnost [12, 14].



Obr. 2 Svatovavřinecké [14]

### 2.3.2 Frankovka

Frankovka byla zapsána do Státní odrůdové knihy v roce 1941. Je to pravděpodobně rakouská odrůda, na jejímž vzniku se podílela odrůda Heunisch. Pěstuje se hlavně ve středoevropských vinařských oblastech. Její synonyma: Blaufränkisch, Lemberger, Kékfrankos. U nás se pěstuje jen na Moravě, v českém vinařském regionu se pro své pozdní zrání nepěstuje. Její podíl na celkové ploše vinic ČR již činí 4 až 5 %, v současnosti se projevuje trend k mírnému zvýšení plochy (nyní tvoří 5,9 %) [14]. Je druhou nejrozšířenější modrou odrůdou na Moravě. Keře jsou bujné, mají vzpřímený růst, delší internodia a velké, tmavozelené listy se třemi méně výraznými laloky. Hrozny jsou velké, křídlaté, volné (Obr. 3). Bobule střední, kulaté, černomodré. Chuť je kořenitá. Hrozny trpívají vadnutím třapiny. Vyžaduje výborné polohy, sucho a snáší vápno [12].





Obr. 3 Frankovka [14]

### 2.3.3 Zweigeltrebe

Zweigeltrebe (na Obr. 4) se zapsal do Státní odrůdové knihy roku 1980. Odrůdu vyšlechtil ředitel vinařské školy v Klosterneuburgu v Rakousku dr. F. Zweigelt v roce 1922 a o její rozšíření se zasloužil po druhé světové válce dr. Lenz Moser. Pochází z křížení Svato-vavřineckého s Frankovkou a je Frankovce podobná. Má velké, tmavozelené listy, vzpřímený růst, středně velké, křídlaté hrozny s modročernými, kulatými bobulemi, jež mají pevnou slupku a dobře odolávají plísní šedé. V teplých oblastech snese i druhořadá polohy. Vhodná odrůda pro hlinité půdy, na písčitéch ochabuje růst [12].



Obr. 4 Zweigeltrebe [14]

### 2.3.4 Rulandské modré

Rulandské modré se zapsalo do Státní odrůdové knihy roku 1941. Tato odrůda pochází z Burgundska a je rozšířena po celém světě. Nese většinou původní francouzský název Pinot noir, v Itálii Pinot nero, v Německu Spätburgunder a v Rakousku Blauer Burgunder, Črni burgundac na Balkáně, Kisburgundi v Maďarsku. U nás se tato odrůda nazývala původně Roučí modré. Francouzský název Pinot je odvozen od slova Pin = šiška, protože jeho hroz-

ny připomínaly šišky jehličnanů. Rulandské modré vzniklo samovolným křížením Mlynářky a Tramínu. Pinot dal císař Karel IV. dovézt do Čech z Francie ve 14. století. Pinot noir má středně velké, tmavě zelené, mírně tří-laločné listy, středně husté olistění. Hrozny jsou malé, válcovité, husté (na Obr. 5). Bobule malé, kulaté, modré, s tenkou slupkou, která snadno podléhá hnilobě, a proto se šlechtitelé snaží vyhledávat klony s méně hustými hrozny. Dužnina je řídká s kořenitou chutí. Vyžaduje nejlepší polohy, na hlinité půdě dává vína plná a tmavších barev, na štěrkovité vína světlejší, ale s velmi jemnými vůněmi [12].



Obr. 5 Rulandské modré [14]

### 2.3.5 Cabernet Moravia

Cabernet Moravia nepatří mezi nejpěstovanější odrůdy révy vinné, ale patří mezi původní moravské odrůdy. Tvoří přibližně 0,8 % plochy vinic ČR a byl zapsán do Státní odrůdové knihy v roce 2001. Odrůdu vyšlechtil pan Lubomír Glos v Moravské Nové Vsi křížením Cabernet Franc x Zweigeltrebe. Odrůda má bujný růst, velké, méně dělené listy tmavé barvy a středně husté hrozny (na Obr. 6). Bobule je středně velká, kulatá, ojíňená, má pevnou a plísni šedé odolávající, modročernou slupku. Zrání je velmi pozdní. Patří do nejteplejších poloh a oblastí [12, 14].



Obr. 6 Cabernet Moravia [14]

### 3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MOŠTU A ZMĚNY OBSAHU NĚKTERÝCH LÁTEK

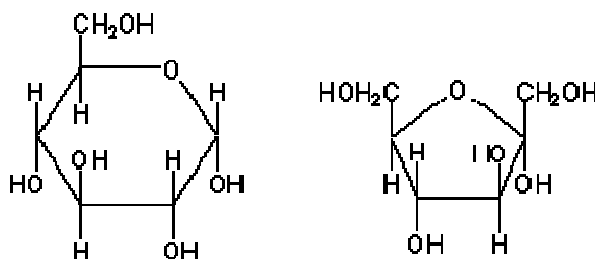
Hroznový mošt je šťáva, která se získá vylisováním hroznů. Jakost vylisovaného moštu závisí na mnohých faktorech - odrůdě hroznů, vegetačním období, povětrnostních podmínkách, množství hroznů na jeden keř aj. [3]. Obsah minerálních látek ve vinném moštu udává Tab. 2.

#### 3.1 Voda

Voda je hlavní složkou moštu, její obsah je zde od 780 do 850 g/l [5]. Je rozpouštědlem jiných látek a tvoří základní prostředí chemických reakcí během fermentace a zrání vína. Důležité jsou i její fyzikální vlastnosti. Má vysoké měrné teplo, což znamená, že reaguje pomalu na změny teploty okolí a zabraňuje i v teplém prostředí příliš rychlému ohřátí lahve s vínem [6].

#### 3.2 Sacharidy a alkohol

Sacharidy vznikají fotosyntézou v zelených částech rostlin. Nejvýznamnější cukry se nachází v dužině révy vinné [3]. V největším množství se vyskytují dva monosacharidy: glukóza, která má sladivost 69 a fruktóza, jejíž sladivost je 114. Glukóza je cukr pravotočivý s aldehydickou funkční skupinou, fruktóza je cukr levotočivý s ketonickou funkční skupinou (na Obr. 7) [2, 16]. Obsah cukrů se vyjadřuje jako cukernatost hroznů, od které je poté odvozen obsah etanolu ve víně, kterého je zde průměrně kolem 12 % [3].



Obr. 7  $\alpha$ -D-glukóza a  $\alpha$ -D-fruktóza [17]

### 3.3 Kyseliny

Organické kyseliny jsou důležitou složkou hroznového moštu. V období růstu hroznů se jejich obsah zvyšuje, při zrání opět klesá. V hroznech i moštu jsou přítomny volné nebo vázané ve formě solí. Obsah kyselin v moštu a víně závisí na zralosti hroznů, odrůdě, ročníku apod. a je přibližně v rozmezí 6 - 15 g/l [3]. Většinu kyselin tvoří kyselina vinná, jablečná a mléčná. Nejdůležitější kyselinou v moštu a víně je kyselina vinná, její hydrogendraselná sůl je špatně rozpustná ve vodě, nerozpustná v alkoholu a během kvašení vína se vylučuje jako tzv. vinný kámen [9]. V přírodě nejrozšířenější kyselinou je kyselina jablečná, po kyselině vinné druhá nejdůležitější kyselina ve víně. Její obsah se během kvašení snižuje činností kvasinek a lze ji zcela odbourat činností mléčných bakterií při jablečno-mléčném kvašení, při kterém se rozkládá na kyselinu mléčnou a CO<sub>2</sub> [3]. Kyselina jablečná chutná velmi ostře a kyselina mléčná má chuť měkčí. V moderní technologii se jablečno-mléčné kvašení používá zejména při výrobě červených vín [7]. Dále se zde nachází v menším množství kyselina citronová, jantarová a šťavelová [3]. Je-li víno vystaveno kyslíku, dochází k octovatění, což je choroba vína způsobená aerobními bakteriemi octového kvašení, kdy dochází k oxidaci etanolu na kyselinu octovou. Tento proces většinou nastává u vín málo zasířených a u nedolítých nádob. Obsah kyseliny octové přesahující 0,6 g/l je považován za znamení nežádoucí aktivní bakteriální činnosti [1, 19].

### 3.4 Polyfenolické látky

Do polyfenolů se společně řadí třísloviny (taniny), antioxidanty a antokyanová barviva. U révy vinné se nachází v třapíně, dužině, slupce a v semenech. Jejich obsah se zvyšuje nalením rmutu a silnějším lisováním. Mají schopnost srážet bílkoviny, konzervují víno a zúčastňují se čiření vína [8]. Třísloviny ovlivňují barvu, hořkost, průběh stárnutí moštu a vína, dodávají pocit trpké chuti [3]. Ve slupkách modrých odrůd nebo v dužinách odrůd barvířek jsou obsaženy červené antokyaniny, barviva ze skupiny flavonoidů. Jsou to glykosidy složené z molekuly cukru a barevné molekuly – aglykonu antokyanidinu. Antokyaniny se z buněk uvolňují po umrtvení alkoholem, teplem nebo atmosférou CO<sub>2</sub> [1, 20]. Fenolické látky se vyskytují také u bílých vín, kde jsou zodpovědné za hnědnutí moštu a vína [9]. Mezi fenolické látky se řadí obsáhlá skupina sloučenin se silnými antioxidačními účinky, tvoří ji hlavně flavonoidní látky – quercetin, katechin, také barviva antokyaniny a resveratrol, vznikající ve slupkách bobulí jako fungicid [6, 21]. Při použití technologie barique

(zrání vín v dubových sudech) je víno obohaceno o další skupinu fenolických látek – vanilin, kumarin aj. [22].

### 3.5 Dusíkaté látky

V mošttech se vyskytují jako bílkoviny, aminokyseliny, v menším množství amonné soli, aminy a dusičnany. Dusíkaté látky mají vliv na celkovou kvalitu vína, zvláště tvorba buketu vína závisí na obsahu volných aminokyselin. Jsou zdrojem dusíku pro metabolismus kvasinek a bakterií. Termolabilních bílkovin (sráží se teplem) je v moštu 1 - 9 % z celkového množství dusíkatých látek. Jsou zodpovědné za tzv. bílkovinné zákaly vína [2, 5].

### 3.6 Pektinové látky

Pektinové látky se v přírodě vyskytují nejvíce v ovoci a nachází se i v hroznech. V nezralých bobulích se vyskytuje ve vodě nerozpustný protopektin, který při zrání přechází na rozpustný pektin. Po chemické stránce se jedná o deriváty polygalaktouronové kyseliny, kde jsou karboxylové skupiny částečně esterifikovány metanolem [16]. Pektiny jsou v přítomnosti kyselin a cukru schopné tvořit rosol, působí tak jako ochranné koloidy. Při zpracování hroznů s vyšším obsahem pektinů zabraňují získávání moštu, z tohoto důvodu se využívají pektolytické přípravky, které přítomné pektiny rozruší [3, 4].

### 3.7 Enzymy

Enzymy jsou biokatalyzátory, vytvářené živou buňkou, které již ve velmi malých množstvích urychlují některé reakce. Procesy probíhající v hroznech, moštu a ve víně účinkem enzymů, mohou být pozitivní i negativní. Mezi pozitivní patří například invertáza, která katalyzuje štěpení sacharózy (nezkvasitelného disacharidu) na zkvasitelné monosacharidy glukózu a fruktózu. Dále zde patří již výše zmiňované štěpení pektinových látek pektolytickými enzymy. Nepříznivě působí především oxidázy, které katalyzují oxidační reakce a zapříčiňují hnědnutí vína [2, 3].

### 3.8 Aromatické a buketní látky

Aromatické a buketní látky jsou důležité při sensorickém hodnocení vína. Jednotlivé odrůdy hroznů se vyznačují charakteristickým aroma a buketem, přičemž jsou tyto látky jednotlivých odrůd každoročně téměř stejné. Malé změny jsou způsobeny vegetačním obdobím,

nestejnou zralostí hroznů atd. Za nejaromatictější odrůdy hroznů se považují Tramín, Muškát Ottonel, Sauvignon, Ryzlink rýnský a jiné [3, 8]. Na vývoj aromatických látek v hroznech má vliv i přítomnost ušlechtilé plísně *Botrytis cinerea*, která někdy celkem eliminuje odrůdový buket a charakter hroznů a přidává mu specifickou chuť a vůni. Podle tvorby se mohou aromatické a buketní látky dělit na:

- Primární aromatické látky, jež jsou obsaženy v hroznech, přechází do moštu a vína.
- Sekundární aromatické látky, vznikající v průběhu alkoholového kvašení činností mikroorganismů.
- Sekundární aromatické látky vznikající při zrání a ošetřování vína vzájemným působením látek, případně použitím speciálních technologií.
- Aromatické látky, které vznikají vzájemným slučováním předcházejících AL [2, 3].

Hlavním produktem fermentace je etanol, jehož obsah je závislý od předešlé koncentrace zkvasitelných cukrů. Jeho obsah se běžně pohybuje v rozmezí 9 – 13%. Podílí se na plnosti a extraktivnosti vína, podporuje aroma ve víně. Dalším, avšak nežádoucím produktem je metanol. Ten vzniká odbouráváním pektinů a zvyšuje se intenzivním nakvácením rmutu. Tzv. plnost dodává vínu glycerol, který je tvořen na počátku fermentace divokými kmeny kvasinek. Glycerol patří do skupiny vyšších alkoholů, které se označují jako přiboudlina. Z dalších látek, které mají vliv na chuť a vůni vína jsou to volné nebo esterifikované alkoholy, acetaldehyd, formaldehyd, aceton, diacetyl, vanilin, estery, těkavé kyseliny (octová, máselná, valerová), atd. Povolený obsah těkavých kyselin je dán vyhláškou 297/2000 Sb [4, 10, 23].

### 3.9 Minerální látky a vitamíny

Ve víně jsou ve stopovém množství obsaženy především vitamíny skupiny B (thiamin, riboflavin, niacin, kyselina panthotenová, pyridoxin, biotin, kyselina listová, kobalamin) a vitamin C. Minerální látky, které se stanovují jako popel, se v moštech nachází v množství od 3 do 5 g/l. Do hroznového moštu se dostávají jednak z půdy vinohradu, a také při zpracování a uskladnění moštu a vína. V největším množství jsou zastoupeny draslík, vápník a hořčík. Ve stopových množstvích se zde nachází titan, vanad, stroncium, molybden, bariurn, kobalt, kadmium, nikl, chrom aj. Obsah minerálních látek závisí nejen na odrůdě, ale hlavně na hnojení půdy a obsahu vody v půdě - v sezónách s nadprůměrnými srážkami je

obsah ML vyšší. ML spolupůsobí při biochemických a fyzikálně-chemických procesech jako stopové prvky, často jako katalyzátory. Během kvašení a čištění vína se jich část vysráží, takže je jejich obsah ve víně podstatně nižší než v původním moštu [2, 3].

Tab. 2 Obsah minerálních látek ve vinném moštu [3]

Složka	Obsah [mg]
kyselina fosforeč- ná	80 - 160
kyselina sírová	40 - 100
kyselina křemičitá	20 - 40
chlór	20 - 60
draslík	500 - 900
vápník	40 - 90
hořčík	30 - 50
sodík	10 - 25
železo	4 - 20
bór	100

### 3.10 Tuky, vosky a oleje

Hroznový mošt obsahuje i tukové látky. Ty vznikají v hroznech a postupným zráním se jejich obsah zvyšuje. Jejich hlavním zdrojem jsou semena, ve kterých se nachází olej v množství od 4 do 20 %. Převážná část tohoto oleje zůstává v hroznových výliscích, takže v moštu už je jen malé množství tohoto oleje. Vína z modrých odrůd hroznů obsahují větší množství tukových látek, je to způsobeno naležením semen při nakvácení [2, 3]. Olej je možné získat lisováním nebo extrakcí. Olej z čerstvých hroznových výlisků je kvalitní a může se použít jako jedlý olej. Hlavními složkami tohoto oleje jsou kyseliny stearová, palmitová, linolenová a kyselina máselná. Fyzikálně-chemické vlastnosti oleje jsou následující:

- Hustota, poměr mezi hmotností a objemem, je v rozmezí 0,916 - 0,930 g/cm<sup>3</sup>.
- Viskozita charakterizující vnitřní tření, se při 20°C pohybuje od 45,5 až 48,0 Pa·s.
- Koeficient refrakce při 40°C, který stanovuje index lomu "n" při přechodu paprsků z jednoho prostředí do druhého, je v rozmezí hodnot 1,460 až 1,471.
- Číslo zmýdelnění je 176,1 - 221,9 a udává množství miligramů hydroxidu draselného, které je zapotřebí k zmýdelnění kyselin, jež jsou obsaženy v tuku.
- Jodové číslo je ukazatelem obsahu nenasycených kyselin v tucích a je vyjádřeno množstvím gramů jodu, které se sloučily se 100 g tuku. U vinného oleje je jodové číslo 75,5 - 157.
- Číslo kyselosti je ukazatelem obsahu volných kyselin v oleji. Ukazuje počet miligramů hydroxidu draselného který je zapotřebí k neutralizaci kyselin v jednom gramu tuku. Je v rozsahu hodnot 0,29 - 1,01.
- Esterové číslo je 184,0 - 190,3, udává množství hydroxidu draselného v miligramech potřebné ke zmýdelnění esterů obsažených v 1 g látky. Vypočítá se z rozdílu čísla zmýdelnění a čísla kyselosti [3, 24, 25, 26].

Víno po prokvašení obsahuje vždy více tukových látek než mošt. Do vína se tuky dostávají jak z moštu, tak z kvasinek, které obsahují až 7 % lipidů [2, 3]. Mastné kyseliny se v moštu a víně nachází jak volné, tak vázané - především ve formě esterů kyselin máselné, palmiové, stearové, linolenové atd. Obě formy přispívají k chuti vína: těkavé mastné kyseliny a etyl-estery s ovocným aroma přímo, nepřímo pak nenasycené mastné kyseliny jako prekurzory aldehydů a alkoholů s bylinnou chutí. Navíc v šumivých vínech ovlivňují mastné kyseliny tvorbu pěny a její stabilitu [27].

Někteří autoři uvádějí potíže stanovit jednou analytickou metodou mastné kyseliny jak volné, tak vázané, těkavé a netěkavé, s různými úrovněmi koncentrací v jakých se vyskytují v moštech a vínech. Mimoto některé mošty a vína obsahují sloučeniny (fenolické látky, chuťové složky, atd.), které zasahují do analýzy mastných kyselin. Obvyklé analytické metody pro stanovení mastných kyselin zahrnují extrakci, derivatizaci na metyl-estery a plynovou chromatografii. Derivatizace je vhodná pro méně těkavé mastné kyseliny. [27, 28, 29, 30].



Vosky, které se nachází na slupkách bobulí, mají důležitou úlohu během vegetace. Umožňují lehké stékání dešťové vody, zabraňují vypařování a zabraňují vnikání mikroorganismů do bobulí. Množství vosku v hroznech je různorodý a pohybuje se v rozmezí od 16 do 89 g/100 kg hroznů. Množství vosku závisí na odrůdě a vegetačním období. Na 100 cm<sup>3</sup> povrchu slupky se udrží 8,6 - 16,8 mg vosku. Přírodní vosky moštu se skládají z volným mastných kyselin, vysokomolekulárních alkoholů, parafinových uhlovodíků aj. [2, 3].

## 4 KVASINKY

Kvasinky a kvasinkové mikroorganismy jsou v přírodě velmi rozšířeny. Protože mají většinou sacharolytické schopnosti, vyskytují se především na materiálech obsahujících cukry, tj. na ovoci, zvláště bobulovém a peckovém (hrozny, švestky apod.), a na cukernatých potravinách. Dále jsou v květních nektarech, výronech stromů, v půdě, ve vzduchu, ve střevním traktu lidí, zvířat a některého hmyzu (např. včel). Šíří se různými přenašeči, hlavně hmyzem, větrem apod. Ve vzduchu je nejvíce kvasinek v době květu stromů a v době zrání švestek a hroznů. Tato období proto přinášejí největší riziko vzdušné kvasinkové kontaminace. V květních nektarech bývají nejčastěji přítomny oxidační typy (nejvíce *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, v menší míře i *Candida*). Na povrchu měkkého ovoce převládají hlavně kvasné typy (*Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Kloeckera*). Jako vzdušná kontaminace se nejčastěji vyskytuje *Rhodotorula*, neboť karotenoidní barvivo chrání její buňky před smrtícími účinky ultrafialové složky slunečních paprsků [31, 32].

### 4.1 Cytologie kvasinek

Vegetativní kvasinková buňka se skládá ze silné a pevné buněčné stěny, jemné cytoplazmatické membrány, cytoplazmy, jež obsahuje řadu membránových struktur a jádra, které je od cytoplazmy odděleno dvojitou jadernou membránou.

Buněčná stěna má pevnou a silnou strukturu, která dává buňce tvar a chrání ji před mechanickými vlivy a před osmotickým šokem. Velkými póry stěny mohou volně procházet všechny sloučeniny kromě sloučenin vysokomolekulárních, jako jsou polysacharidy a bílkoviny. V elektronovém mikroskopu bylo zjištěno, že stěna kvasinek rodu *Saccharomyces* je tvořena třemi vrstvami, jež zřejmě nejsou zcela nezávislé a liší se chemickým složením. Hlavní složkou buněčné stěny kvasinek jsou polysacharidy, neboť představují 80 % sušiny stěny. Mají strukturu vláken, která tvoří hustou pevnou spleť. Tato spleť je vyplněna bílkoviny, které představují 6 až 10 % sušiny stěny. Ve stěně kvasinek je také přítomno kolísavé, ale většinou malé množství lipidů a fosfolipidů (3 až 10 %) a dále fosforečnany, vázané esterovými vazbami na polysacharidy. Hlavní složkou stěnových polysacharidů kvasinek jsou glukany, jejichž stavební kameny tvoří glukóza. U některých druhů kvasinek (např. *S. cerevisiae*) jsou ve stěně ještě přítomny mannany a dále malé množství glukózaminu a chitinu (tj. polysacharidu obsahujícího N-acetylglukózamin). U *Saccharomyces cerevisiae* je vnitřní vrstva stěny (tj. vrstva sousedící s cytoplazmatickou membránou) slo-

žena z glukanu a bílkovin, pak následuje glukomannan s bílkoviny a na povrchu se nacházejí mannany s bílkoviny a malým množstvím lipidů [31, 32].

Cytoplazmatická membrána kvasinek, někdy nazývaná plazmalema, je poměrně tenká. Je složena z lipidů a proteinů a vytváří četné vychlípeniny vybíhající do cytoplazmy. Je volně propustná pouze pro malé molekuly bez náboje, a tvoří proto osmotické rozhraní mezi buňkou a vnějším prostředím. Je sídlem transportních mechanismů, umožňujících jednak příjem určitých látek buňkou, jednak transport látek z buňky do prostředí [31].

Cytoplazma kvasinek obsahuje systém dvojitých membrán, jenž se nazývá endoplazmatické retikulum. Na vnějším povrchu membrán jsou četná zrníčka polyzomů, tj. agregátů ribozomů, v nichž se syntetizují bílkoviny. Endoplazmatické retikulum tvoří v buňce různé nádoby a oddělení, obsahující různé enzymy a rezervní látky. Dále jsou v cytoplazmě kvasinek přítomny mitochondrie, jež jsou složeny hlavně z bílkovin, lipidů a fosfolipidů. Obsahují také RNA a malé množství DNA, která je nositelem mimojaderné dědičnosti kvasinek. Vakuola patří k nejnápadnějším složkám cytoplazmy kvasinek. Uvnitř vakuol jsou uloženy hydrolytické enzymy, jako proteinázy, ribonukleáza a esteráza. Kromě toho obsahují vakuoly ještě polyfosfáty a velkou zásobu draselných iontů, aminokyselin a purinů, takže jsou rezervoárem látek, jež se právě neúčastní metabolismu. Dalším membránovým útvarem v cytoplazmě je Golgiho aparát, systém plochých měchýřků a cisteren. Předpokládá se, že jeho funkcí je transportovat prekurzory buněčné stěny z cytoplazmy přes cytoplazmatickou membránu. Kromě membránových útvarů se v cytoplazmě kvasinek nacházejí zřetelná zrníčka rezervních látek, především volutinu (tj. polymetafosfátu) a polysacharidu glykogenu. U některých rodů kvasinek (např. *Rhodotorula*) se jako rezervní látka vyskytuje tuk, který ve formě velké kapky může za vhodných kultivačních podmínek (vysoký poměr využitelného zdroje uhlíku k využitelnému dusíku) dosáhnout až 60 % sušiny buňky [31, 32].

## 4.2 Chemické složení buněčné hmoty kvasinek

Buněčná hmota kvasinek obsahuje 65 až 83 % vody. Obsah vody závisí na druhu kvasinek, stáří buněk a kultivačních podmínkách. Také složení sušiny kvasinek závisí na těchto činitelích. Nejvíce analytických údajů o složení sušiny buněk bylo získáno u druhu *Saccharomyces cerevisiae* a u druhu *Candida utilis*. Hlavní podíl sušiny kvasinek tvoří bílkoviny (obvykle kolem 50 %) a dále glykogen (u *S. cerevisiae* až 30 %). Nukleové kyseliny

představují 10 % sušiny, strukturní polysacharidy (hlavně složka stěny) kolem 5 % a popel kolem 8 %. Z organických sloučenin vyskytujících se v nízkých koncentracích jsou zde vitaminy skupiny B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>), provitamin D (ergosterol) a u některých rodů (např. *Rhodotorula* a *Rhodospiridium*) také provitamin A (tj. β-karoten). Hlavní složkou popela je oxid fosforečný, jehož obsah v sušině lze rovněž do určité míry regulovat složením kultačního prostředí. Z iontů kovů je v největším množství zastoupen K<sup>+</sup>, zatímco Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> a Na<sup>+</sup> je mnohem méně, ostatní prvky se vyskytují jen ve zlomcích procenta. Elementární složení kvasinkové biomasy v sušině uvádí tabulka 4. [31, 32]. Jak již bylo výše napsáno, kvasinky obsahují kolísavé, ale většinou malé množství lipidů a fosfolipidů. Staré a dobře živěné kvasinky mohou obsahovat až 20 % tuku v sušině. Z mastných kyselin se nejvíce vyskytuje palmitová, olejová a linolová kyselina (celkem 80 % všech kyselin), dále jsou přítomny laurová, myristová, palmitolejová, stearová a linolenová kyselina. U kvasinek *Candida utilis* je obsah fosfolipidů v sušině průměrně kolem 4,5 %. Většinu tvoří lecitin a kefalin. Tvoří důležitou složku buněčných stěn. Složení fosfatidů kvasinek *S. cerevisiae* uvádí Tab. 3 [33, 34].

Tab. 3 Složení fosfolipidů kvasinek *S. cerevisiae* [33]

Fosfolipid	% celkového fosfolipidu
Fosfatidyletanolamin	31,2
Fosfatidylinositol	29,7
Fosfatidylcholin	25,3
Fosfatidylserin	6,2
Kardiolipin	3,8
Fosfatidová kyselina	2,3

Tab. 4 Elementární složení kvasinkové biomasy v sušině [33]

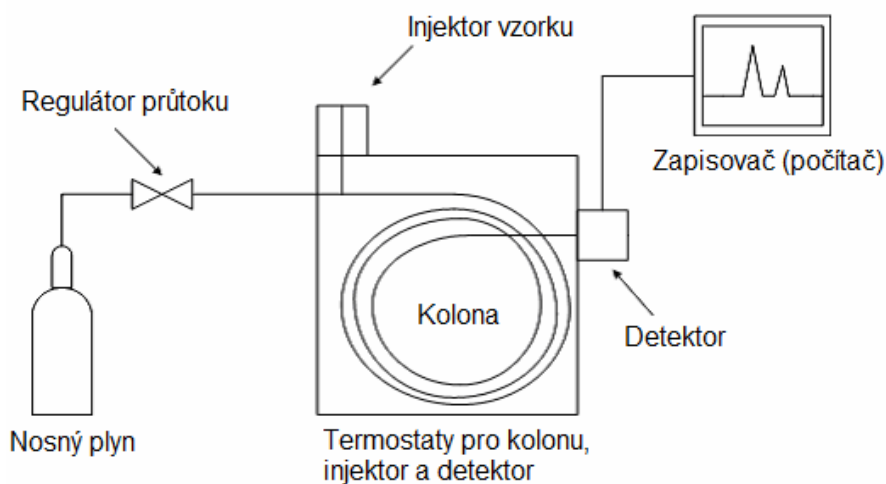
Složka	% sušiny	% sušiny (průměrná hodnota)
uhlík (C)	44 - 50	47

vodík (H)	5 - 8	6,5
Kyslík (O)	30 - 36	33
dusík (N)	7 - 12	9,5
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	1,9 - 5,5	2,6
K <sub>2</sub> O	1,4 - 4,3	2,5
CaO	0,005 - 0,2	0,05
MgO	0,1 - 0,7	0,4
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,002 - 0,02	0,005
SO <sub>4</sub>	0,01 - 0,05	0,03
Cl	0,004 - 0,1	0,02
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,005 - 0,012	0,007
Cu	10 <sup>-3</sup> - 10 <sup>-4</sup>	2*10 <sup>-4</sup>
SiO <sub>2</sub>	0,02 - 0,2	0,08
popel	4 - 11	7,7

## 5 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je separační metoda, tedy metoda, při které se oddělují složky obsažené ve vzorku. V chromatografii se vzorek vnáší mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Stacionární fáze je nepohyblivá, mobilní fáze je pohyblivá. Vzorek se umístí na začátek SF. Pohybem MF přes SF je vzorek touto soustavou unášen. Složky vzorků mohou být SF zachycovány, a proto se při pohybu zdržují. Více se zdrží složky, které jsou SF poutány silněji. Tím se postupně složky od sebe separují a na konec SF se dříve dostávají složky méně zadržované [35].

V plynové chromatografii se vzorek dávkuje do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou. Proto se mobilní fáze nazývá nosný plyn. Schéma GC je na Obr. 8. Aby vzorek mohl být transportován, musí se ihned přeměnit na plyn. V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek. Pro nutnost přeměny analytů v plyny můžeme separovat takové látky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost menší než 1000. Obecně může být plynová chromatografie použita k separaci plynů, většiny nedisociovatelných kapalin a pevných organických molekul a mnoha organokovových látek. Není použitelná pro separaci makromolekul, organických a anorganických solí. Častým postupem je chemická změna analytů nevyhovujících vlastností na deriváty, které mohou být v analýze plynovou chromatografií použitelné [35, 36].



Obr. 8 Zjednodušené schéma plynového chromatografu [36]

Plynová chromatografie se obvykle dělí na chromatografii v systému plyn - pevná látka (GSC) a na chromatografii plyn - kapalina (GLC). V případě GSC je distribuce analytu mezi stacionární a mobilní fází založena na adsorpci. GLC je příkladem rozdělovací chromatografie, kdy dochází k rozpuštění látky v obou fázích. Kapalná fáze je v koloně ukotvena, musí mít nízkou tenzi par a musí být chemicky stabilní i při vysoké pracovní teplotě. Jako kapalné stacionární fáze pro GLC se často používají např. polyetylglykoly, polyestery nebo polysiloxany [35, 36].

Mobilní fáze je zde představována nosným plynem. Jako nosné plyny se nejčastěji používají vodík, dusík, helium, argon. Při volbě nosného plynu se uvažují následující faktory: viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ používaného detektoru a cena plynu. Průtok mobilní fáze musí být optimalizován tak, aby se dosáhlo co nejlepšího rozdělení látek na koloně, tj. nejmenšího rozšíření zón separovaných látek. [36, 37]

## 5.1 Kolony v plynové chromatografii

V plynové chromatografii se používají náplňové nebo kapilární kolony.

### 5.1.1 Náplňové kolony

Jsou to trubice naplněné sorbenty nebo nosiči pokrytými kapalnou fází. Jsou vyrobeny z oceli nebo skla. Vnitřní průměr kolony je 2 až 3 mm, délka 1 až 3 m. Mají vyšší kapacitu než kapilární kolony. Příklady náplní adsorbentů pro adsorpční chromatografii jsou silikagel, grafitizované saze a alumina (oxid hlinitý). Jako molekulová síta se používají hlinitokřemičitany. Nosiče kapalné fáze pro rozdělovací chromatografii bývají například na bázi křemeliny (oxid křemičitý). Mikronáplňové kolony jsou moderní účinné náplňové kolony, které mají malý průměr a obsahují velmi malé částice náplně (např. průměru pouhých 10  $\mu\text{m}$  i méně). Proto je při stejné délce jako u běžné náplňové kolony dosahováno vyšší účinnosti separace [35].

### 5.1.2 Kapilární kolony

Jako nosiče stacionární fáze využívají své vnitřní stěny. Vyrábějí se obvykle z taveného křemene. Vnitřní průměr kolon je v intervalu 0,1 - 0,6 mm, tloušťka filmu stacionární fáze 0,25 - 5  $\mu\text{m}$ , délka 15 - 60 m, kapacita 50 ng - 15  $\mu\text{m}$  a účinnost 1000 - 3000 teoretických pater na 1 m. Pro většinu aplikací postačuje délka kapiláry 30 m. Větší průměr kolony dává

možnost pojmout více vzorku. Použití menších průměrů kolon vede k vyšší účinnosti, ale nižší kapacitě. Užší kolony nemohou být tak dlouhé, protože by byl prodloužen čas separace. Obecně tedy platí, že roste-li vnitřní průměr a tloušťka stacionární fáze, účinnost separace se snižuje. Kapilára je obalena polyimidovou vrstvou, která dává křehkému materiálu kolony pružnost a brání ho před zlomením. Kolonu chrání do teplot 350°C. Termicky stabilnější hliníková vrstva může být použita do 425°C. [35, 36, 37]

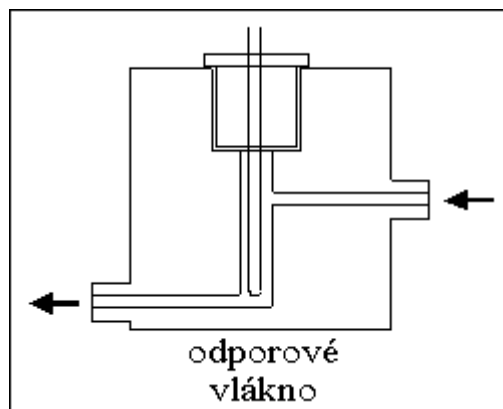
## 5.2 Detektory v plynové chromatografii

Nosný plyn z kolony protéká detektorem, který reaguje na přítomnost analytu a vysílá signál, jenž je zaznamenáván v závislosti na čase. Detektor sleduje takovou vlastnost plynu z kolony, která závisí na druhu a koncentraci složek (analytická vlastnost). Musí mít dostatečnou citlivost (nízký detekční limit) a jeho odezva by měla být lineární funkcí obsahu analytu. Citlivější detektor změní signál při určité změně obsahu složky více než detektor méně citlivý a je schopen detekovat nižší nejmenší postřehnutelný obsah složky. Důležitým požadavkem je vysoká selektivita pro stanovované analyty. Nejpoužívanější jsou tepelně-vodivostní detektor, plamenový ionizační detektor a detektor elektronového záchytu. [35, 36]

### 5.2.1 Tepelně vodivostní detektor (Thermal Conductivity Detector - TCD)

TCD (na Obr. 9) je typem univerzálního detektoru. Nosný plyn proudí přes vlákno žhavené stálým elektrickým proudem a ochlazuje je na určitou teplotu. Přítomnost složky změní tepelnou vodivost prostředí kolem žhavého vlákna, a tím jeho teplotu a elektrický odpor. Obvykle se pracuje se dvěma žhavenými vlákny. Přes jedno proudí čistý nosný plyn, přes druhé proudí plyn z kolony. Jejich elektrické odpory se porovnávají ve Wheatstonově můstku. Přítomnost složky se projeví jeho rozladěním. Pro použití je důležitá volba nosného plynu. Jeho tepelná vodivost se má co nejvíce odlišovat od tepelné vodivosti analyzovaných složek. Proto se dává přednost vodíku a heliu před dusíkem. Nejvíce se používá při analýzách anorganických plynů a nízkomolekulárních organických látek. Jeho citlivost je menší, detekční limity jsou v mikrogramech analytu. [35]





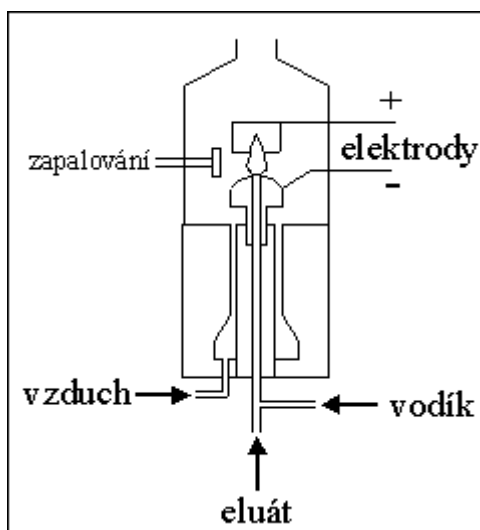
Obr. 9 Tepelně vodivostní detektor [37]

### 5.2.2 Ionizační detektory

Funkce ionizačních detektorů je založena na vedení elektřiny v plynech. Základem aparatury je izolovaná nádoba, kterou proudí plyn přes dvě kovové desky (elektrody), mezi nimiž je elektrické pole [35].

#### 5.2.2.1 Plamenový ionizační detektor (*Flame Ionization Detector - FID*)

Molekuly plynu se ionizují v kyslíkovodíkovém plameni a vedou ionizační proud mezi elektrodami. Nosný plyn se před vstupem do hořáku mísí s vodíkem, vzduch je přiváděn z vnějšku - schéma na Obr. 10. Přítomnost složky zvýší ionizaci a elektrický proud se zvětší. Detektor je velmi citlivý. Detekční limity jsou v piktozimech analytu. Jako nosný plyn se hodí nejlépe dusík, ale použitelné jsou i ostatní nosné plyny. Detekuje prakticky vše, s výjimkou anorganických par a plynů (necitlivost na vodu sice nabízí možnost jejího použití jako rozpouštědla, ale voda snižuje odezvu detektoru a může až zhasnout hořák). Organické látky se teplem plamene štěpí na radikály, které s vodíkem v redukční části plamene dávají radikály  $\cdot CH$ . Ty se oxidují za vzniku iontů  $CHO^+$  a elektronů, což je rozhodující pro odezvu detektoru. Ionty zanikají rekombinačními reakcemi, např. s vodou (vznik iontu  $H_3O^+$ , který posléze zachytí elektron za vzniku vody a radikálu  $\cdot H$ ) a s heteroatomy molekul organických sloučenin. Odezva detektoru roste s počtem uhlíkových atomů poskytujících ionty  $CHO^+$  a klesá s přítomností heteroatomů v molekule. Proto je detektor velmi citlivý na uhlovodíky [35, 36].



Obr. 10 Plamenový ionizační detektor [37]

### 5.2.2.2 Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID)

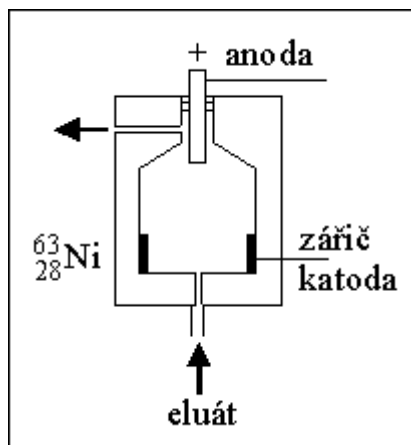
V účinném prostoru je obsažena sůl alkalického kovu. Ionty alkalického kovu se teplem kyslíkovodíkového plamene dostávají do plynné fáze. Tady reagují s heteroatomy organických látek, zejména s fosforem a dusíkem. Proto organické sloučeniny s těmito prvky dávají výrazně větší signál [36].

### 5.2.2.3 Bezplamenový detektor s alkalickým kovem

Zdrojem iontů alkalického kovu je elektricky vyhřívaná sůl alkalického kovu. Na jejím povrchu se působením vysoké teploty spaluje vodík. Energie při spalování nestačí na ionizaci uhlovodíků, ale stačí na specifické reakce s fragmenty obsahujícími fosfor a dusík. Velká selektivita a citlivost na tyto látky umožňuje použít tento detektor na detekci opiátů, látek používaných k dopingům apod. [35, 36].

### 5.2.2.4 Detektor elektronového zachytu (Electron Capture Detector - ECD)

Radioaktivní zářič  $^{63}\text{Ni}$  svým zářením  $\beta$  (proud rychlých elektronů) ionizuje molekuly dusíku jako nosného plynu a vyvolává ionizační proud:  $\text{N}_2 + \beta^- \rightarrow \text{N}_2^+ + 2e^-$  Uvolňují se pomalé elektrony, které zachycují elektronegativní atomy složek, a tím snižují ionizační proud. Velmi citlivý je tento detektor na halogenované sloučeniny. Citlivý je také na sloučeniny obsahující fosfor, kyslík, síru, olovo, nitrosločeniny a areny. Může zachytit  $10^{-12}$  mol analytu [35, 36]. Schéma ECD je níže na Obr. 11.



Obr. 11 Detektor elektronového záchytu [37]

### 5.2.2.5 Fotoionizační detektor (*PhotoIonization Detector - PID*)

Tento detektor je nesmírně citlivý (100-krát více než FID). Ionizaci látek způsobuje ultrafialové záření. Vhodnou volbou vlnové délky ultrafialového záření se významně ovlivní selektivita detektoru. Ionizovány jsou organické látky, kyslík, amoniak, sulfan. Neionizují se některé anorganické plyny, například dusík, oxidy uhelnatý a uhlíčitý, helium a voda [35, 36].

### 5.2.2.6 Hmotnostní spektrometr (*MS*)

Jeho spojení s plynovým chromatografem má velký význam. Ionty jsou v hmotnostním spektrometru analyzovány kvadrupólovým analyzátozem nebo ještě méně místa vyžadující iontovou pastí, kde je prostor analýzy iontů společný s iontovým zdrojem. Nepostradatelné je spojení GC-MS tam, kde se provádějí identifikace neznámých složek směsí. Pro každou složku lze získat její hmotnostní spektrum a identifikovat ji porovnáním jejího spektra s knihovnou spekter sloučenin uloženou v počítači. [35, 36]

## 5.3 Využití GC-FID ke stanovení esterů mastných kyselin v potravinách

Plynová chromatografie je separační metoda používaná pro stanovení mastných kyselin. Mastné kyseliny se v rostlinných olejích většinou vyskytují jako netěkavé triacylglyceroly. Proto je nutné před samotnou analýzou na GC přeměnit mastné kyseliny na jejich estery [38, 40, 41]. Běžné analytické metody pro stanovení MK zahrnují jejich extrakci, derivatizaci na metylestery a samotné stanovení pomocí GC [27, 30]. Metoda stanovení esterů mastných kyselin s využitím plynové chromatografie s plamenově-ionizačním detektorem

je použitelná pro vzorky rostlinných olejů, není vhodná pro stanovení mastných kyselin obsahujících větší množství epoxy-, hydroperoxy-, cyklopropyl-, cyklopropenyl-, keto- a aldehydických skupin a pro mastné kyseliny s méně než šesti uhlíkovými atomy. [39]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Diplomová práce byla v teoretické části zaměřena na:

- Nejvýznamnější mastné kyseliny a jejich estery u hroznového vína
- Nejdůležitější odrůdy červeného vína vinařské oblasti Morava
- Technologii výroby vína

V praktické části je práce zaměřena na:

- Metodiku stanovení mastných kyselin
- Analýzu odebraných vzorků hroznového vína

## 7 MATERIÁL A METODIKA

### 7.1 Analyzované vzorky hroznového vína

Byly použity vzorky odrůd Cabernet Moravia a Zweigeltrebe od dvou vinařů z vinařské obce Polešovice, která spadá do vinařské podoblasti Slovácko. Pro analýzu byly odebírány vzorky po proběhnutí hlavního kvašení. První den odběru vzorku je dnem zaočkování bakteriemi JMK. Odběr se prováděl vždy ve stejný den jak z vína zaočkovaného bakteriemi JMK, tak z vína bez bakterií (kontrolní vzorek).

Vinař č. 1 odebíral vzorky každý třetí den od začátku prosince 2010 až do počátku ledna 2011.

Vinař č. 2 odebíral vzorky vždy po dvou týdnech. Časový interval odběrů byl u Zweigeltrebe od konce října 2010 do poloviny března 2011, u Cabernet Moravia se vzorky odebíraly od konce listopadu 2010 do poloviny dubna 2011. Zweigeltrebe byl zaočkován 28.10. 2010 a Cabernet Moravia 24.11. 2010.

### 7.2 Preparát pro zaočkování vína bakteriemi JMK

Pro zaočkování vín byl použit startovací preparát BIOSTART FORTE SK2. Jedná se o koncentrovanou kulturu bakterií pro přímé nastartování biologického odkyselení v bílém a červeném víně. Používá se pro biologické odbourání kyseliny jablečné. Jedná se o zamražený a sušený startovací preparát vybraný z kmenu *Leuconostoc oenos* (*Oenococcus oeni*). Izolace byla provedena ze spontánního odkyselení.

### 7.3 Příprava vzorků

#### 7.3.1 Použité chemikálie a materiál

- Dělicí nálevky, automatické pipety a běžné laboratorní sklo
- Destilovaná voda
- Hydrogencitrát disodný (dodavatel Sigma-Aldrich)
- Sodium metoxide (dodavatel Sigma-Aldrich)
- Metanol (dodavatel Ing. Petr Lukeš, Uherký Brod)

- Dioxan (dodavatel Sigma-Aldrich)
- Pentan (dodavatel Ing. Petr Lukeš, Uherký Brod)

### 7.3.2 Úprava vzorků

Vzorky vín Zweigeltrebe a Cabernet Moravia od obou vinařů byly ihned po samotném odběru zmrazeny na  $-18^{\circ}\text{C}$ . Při laboratorním odběru byly šetrně rozmrazeny a rozpipetovány do mikrozkušavek, kde byly uchovány do další úpravy k měření při teplotě  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Před samotnou úpravou vzorků byl připraven 15% roztok hydrogencitrátu disodného s destilovanou vodou a 5% roztok sodium metoxidu s metanolem.

Automatickou pipetou byly odebrány 2 ml vzorku, které se převedly do dělicí nálevky a následně bylo přidáno 5 ml dioxanu. Obsah nálevky se protřepal a bylo přidáno 5 ml roztoku metoxidu. Obsah nálevky se opět protřepal a nechal odstát 90 s. Poté bylo přidáno 20 ml pentanu, směs se promíchala a dále se přidalo 10 ml roztoku citrátu. V dělicí nálevce vznikly 2 fáze: spodní hydrofilní, která byla odpuštěna, a vrchní hydrofobní, kterou tvořil pentan a extrahované estery mastných kyselin. Z takto vytvořeného vzorku byla část převedena do vialky pro následující analýzu. Celá práce probíhala v digestoři.

## 7.4 Analýza pomocí GC-FID

Pro kvantitativní i kvalitativní analýzu metylesterů mastných kyselin byl použit plynový chromatograf s plamenově-ionizačním detektorem Shimadzu GC 2010 na Obr. 12. Níže v Tab. 5 jsou uvedeny parametry použité při měření na GC-FID. Jako mobilní fáze se použil dusík 5.0. Software GC Solution sloužil k vyhodnocení naměřených výsledků. Pomocí srovnání se standardem bylo zjištěno kvantitativní zastoupení jednotlivých mastných kyselin.

Tab. 5 Parametry použité při měření na GC-FID

Parametr měření	Hodnota parametru
kolona	SPB-PUFA
délka kolony	30 m
tloušťka filmu stacionární fáze	0,20 $\mu\text{m}$



inner diameter	0,25 ID
vstříkovaný objem vzorku	1,0 $\mu$ l
splitovací poměr	1:100
teplota vstupního nástřikového prostoru	50°C
teplota výstupního prostoru	220°C



Obr. 12 Shimadzu GC 2010

#### 7.4.1 Standard

Pro analýzu byl použit standard Food Industry FAME Mix od společnosti RESTEK.

## 8 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 8.1 Mastné kyseliny stanovené při měření

Mastné kyseliny stanovené ve vzorcích vína jsou uvedeny v tabulce 6.

Hodnoty obsahu esterů MK jsou uvedeny jako průměr, který byl získán ze 4 měření (tedy průměr ze 4 hodnot). Relativní výběrová směrodatná odchylka nikdy nepřekročila hodnotu 5 % z průměru.

První den odběru vín je dnem zaočkování, kdy byly odebrány vzorky z nádrží jak kontrolních vín, tak vín, do kterých se přidávalo inokulum bakterií JMK. To sloužilo k ověření, že byly počáteční obsahy MK stejné.

Tab. 6 Mastné kyseliny, jejichž metylestery byly stanoveny ve vzorcích vína

Počet uhlíků	Systematický název	Triviální název
C6	hexanová	kapronová
C12	dodekanová	laurová
C14	tetradekanová	myristová
C18	oktadekanová	stearová

Tab. 7 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Cabernet Moravia v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 1

den odběru	očkované víno			kontrolní víno		
	C6	C14	C18	C6	C14	C18
1	4019,71	763,40	285,02	4019,71	763,40	285,02
15	3994,73	159,13	331,98	4106,17	685,86	221,13
32	3979,52	137,35	377,25	4192,67	677,16	197,69

U vzorků vína Cabernet Moravia vinaře č. 1 byly stanoveny kyseliny kapronová, myristová a stearová. Kyselina kapronová se výrazně neměnila, obsah myristové kyseliny u obou vzorků a množství stearové u zaočkovaného vína vzrostlo, u kontrolního naopak kleslo.

Tab. 8 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Cabernet Moravia v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 2

den odběru	očkované víno		kontrolní víno	
	C6	C12	C6	C12
1	4849,94	494,60	4849,94	494,60
70	4203,92	380,24	4308,87	338,82
140	4031,68	241,95	4269,28	287,26

U vzorků vína Cabernet Moravia vinaře č. 2 byly stanoveny kyseliny kapronová a laurová. Jejich obsah časem klesal u vína zaočkovaného i kontrolního.

Tab. 9 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Zweigeltrebe v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 1

den odběru	očkované víno	kontrolní víno
	C6	C6
1	4244,41	4244,41
15	4183,38	4264,52
32	4030,98	4266,71

Ve vzorcích vína Zweigeltrebe vinaře č. 1 byla stanovena pouze kyselina kapronová. Její obsah se u kontrolního vzorku výrazně neměnil, u zaočkovaného vína mírně klesl.

Tab. 10 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Zweigeltrebe v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 2

den odběru	očkované víno		kontrolní víno	
	C6	C14	C6	C14
1	3673,07	283,21	3673,07	283,21
70	3591,90	272,76	3578,34	174,06
140	3575,58	197,06	3391,65	0,00

Ve vzorcích vína Zweigeltrebe vinaře č. 2 byly stanoveny kyseliny kapronová a myristová. Obsahy obou klesaly ve vzorcích vína zaočkovaného i kontrolního. Obsah myristové kyseliny byl při posledním odběru u kontrolního vína nulový.

## 8.2 Diskuse

V analyzovaných vzorcích ZW a CM od dvou vinařů byly stanoveny kyseliny kapronová (C6), laurová (C12), myristová (C14) a stearová (C18).

Shinohara (1984) uvádí kyseliny kapronovou, kaprylovou (C8) a kaprinovou (C10). Torija (2003) stanovil ve víně kyselinu máselnou (C4), kapronovou, kaprylovou, kaprinovou a laurovou. Gallart (1997) uvádí kromě již výše zmíněných i kyselinu palmitovou (C16). Yunoki a kol. (2004) stanovili dokonce 12 mastných kyselin, z nichž převládající byly tři - palmitová, myristová a laurová.

Ve všech našich analyzovaných vzorcích byla v největším množství zastoupena kyselina kapronová. Ve víně CM 1 bylo její množství po alkoholovém kvašení 4019,71  $\mu\text{g/l}$ . Zde se její obsah výrazně neměnil. U kontrolního vína vzrostl její obsah při posledním měření na 104 % a u zaočkovaného vína klesl na 99 %. U CM 2 byl její počáteční obsah poněkud vyšší, a to 4849,94  $\mu\text{g/l}$ . Její množství ale postupně klesalo: u kontrolního vína na 88 % a u

zaočkovaného na 83 %. Ve vinně ZW 1 bylo její původní množství 4244,41 µg/l. U kontrolního vína se její obsah držel při obou následujících odběrech na 100,5 %, u zaočkovaného vína klesl postupně na 95 %. U vzorků ZW 2 byl její počáteční obsah 3673,07 µg/l a postupně klesal u kontrolního vína na 92 % a u zaočkovaného na 97 %.

Kyselina laurová byla stanovena pouze ve vzorcích vína CM 2 a její obsah po hlavním kvašení byl 494,6 µg/l. Její množství bylo u kontrolního vína při druhém odběru 68 % a při třetím 58 %. U očkovaného vína byl její obsah z druhého odběru 77 % a při třetím jen 49 %. Její množství se zde tedy snížilo na polovinu.

Kyselina myristová byla stanovena ve vzorcích vína CM 1 a ZW 2. Její počáteční množství ve vinně CM 1 bylo 763,4 µg/l. U vína kontrolního její množství kleslo při druhém odběru na 84 % a při odběru třetím na 81 %. U zaočkovaného vína její obsah klesl mnohem více: při druhém odběru na 21 % a při třetím na pouhých 12 %. U vína ZW 2 byl její původní obsah mnohem menší, a to 283,21 µg/l. U zaočkovaného vína kleslo její množství při posledním odběru na 70 %, u kontrolního vína byl její obsah při druhém odběru 61 %, ale při posledním odběru již tato kyselina stanovena nebyla vůbec.

Stearová kyselina byla stanovena pouze ve vinně CM 1. Po hlavním kvašení byl její obsah 285,02 µg/l. U kontrolního vína její obsah klesal - při druhém odběru na 78 % a při třetím na 69 %. U vína zaočkovaného se její množství naopak zvýšilo při druhém odběru na 116 % a při třetím odběru na 132 %.

Ze zjištěných obsahů mastných kyselin u vín zaočkovaných a kontrolních nelze vypořadovat žádný trend, vzhledem k probíhajícímu jablečno-mléčnému kvašení. Z těchto výsledků tedy nelze s určitostí říci, zda mají bakterie JMK významný vliv na jejich obsah ve vinně. Obsah MK obecně klesal, jak u vín zaočkovaných, tak u kontrolních vzorků. Výjimku tvořila kyselina stearová u vína CM 1, kde se její obsah zvýšil na 132 %. Dále kyselina kapronová svůj obsah v průběhu času výrazně neměnila, až u vzorku CM 2, kde se její množství snížilo.

## ZÁVĚR

V teoretické části této diplomové práce byla popsána příprava révového vína, jeho chemické složení a možnosti pěstování na území ČR. Část práce se věnovala také kvasinkám *Saccharomyces cerevisiae* a plynové chromatografii. Cílem praktické části bylo stanovit množství mastných kyselin ve víně po průběhu hlavního kvašení a během jablečno-mléčného kvašení. Pro stanovení byla vybrána metoda GC s FID detektorem, jež je vhodná pro stanovení mastných kyselin s více jak šesti uhlíkovými atomy, které se ve víně nachází.

Pro analýzu byly poskytnuty vzorky révového vína odrůd Zweigeltrebe a Cabernet Moravia od dvou vinařů z podoblasti Slovácko, vinařské obce Polešovice. Po proběhnutí hlavního alkoholového kvašení byla část vína zaočkována bakteriemi mléčného kvašení *Oenococcus oeni* a zbytek vína byl ponechán jako kontrolní vzorek. Ze zaočkovaných a kontrolních vín byly odebírány vzorky a poté analyzovány dle popsané metody.

Celkem byly stanoveny 4 mastné kyseliny, a to kapronová (C6), laurová (C12), myristová (C14) a stearová (C18). Nejvíce zastoupena byla kyselina kapronová, jejíž obsah se výrazně neměnil jak u vín zaočkovaných, tak kontrolních. Ze zjištěných obsahů mastných kyselin u vín zaočkovaných a kontrolních nelze vypožorovat žádný trend, vzhledem k probíhajícímu jablečno-mléčnému kvašení. Z těchto výsledků nelze tedy s určitostí říci, zda mají bakterie JMK významný vliv na obsah MK ve víně. Obsah MK obecně klesal, jak u vín zaočkovaných, tak u kontrolních vzorků.

Při dalším výzkumu bych doporučila sledovat více druhů vín a analyzovat větší množství vzorků. Vzhledem k podílu mastných kyselin na chuti vína by byla zajímavá i souběžná senzorická analýza.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] ROP, O., HRABĚ, J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. Zlín : Uiverzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009. 129 s. ISBN 978-80-7318-748-4
- [2] KOVÁČ, J. a kolektiv. *Spracovanie hrozna*. Příroda Bratislava, 1990. 390 s. ISBN 80-07-00313-4
- [3] FARKAŠ, J. *Technológia a biochémia vína*. Praha : Nakladatelství technické literatury, 1973, 776 s. ISBN 63-092-73
- [4] Vinařství a výroba nealko nápojů. [on-line 10.3.2011] Dostupné z: [http://eso.vscht.cz/cache\\_data/1169/www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/vinarstvi.pdf](http://eso.vscht.cz/cache_data/1169/www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/vinarstvi.pdf)
- [5] Víno. [on-line 10.3.2011] Dostupné z: [http://web.vscht.cz/koplikr/6\\_Vino.pdf](http://web.vscht.cz/koplikr/6_Vino.pdf)
- [6] JACKSON, R. S. *Wine science*. Elsevier Inc. 2008, 776 s, ISBN 978-0-12-373646-8
- [7] Vinopark. [on-line 12.3.2011] Dostupné z: <http://www.vinopark.cz>
- [8] KRAUS, V., FOFFOVÁ, Z., VURM, B. *Nová encyklopedie českého a moravského vína 2*. Praga Mystica, 2008. 311 s. ISBN 978-80-86767-09-3
- [9] PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. Praha: Grada Publishing, a.s., 2006. 100 s. ISBN 80-247-1247-4
- [10] STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. Valtice, Národní salon vín, 2002, 307 s. ISBN 80-903201-0-4
- [11] Zemědělství. [on-line 10.3.2011] Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/roslinne-komodity/revavinnaavino/>
- [12] Vína z Moravy, vína z Čech. [on-line 10.3.2011] Dostupné z: <http://www.wineofczechrepublic.cz>
- [13] Zákon č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o vinohradnictví a vinařství). [on-line 10.3.2011] Dostupné z: <http://eagri.cz>
- [14] Moravia vitis. [on-line 10.3.2011] Dostupné z: <http://www.moraviavitis.cz/>

- [15] Situační a výhledová zpráva - Réva vinná a víno, Ministerstvo zemědělství České republiky 2010, ISBN 978-80-7084-895-1
- [16] HOZA, I., Kramářová, D. *Potravinářská biochemie I*. Zlín : Uiverzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007. 169 s. ISBN 978-80-7318-295-3
- [17] Bioweb. [on-line 12.3.2011] Dostupné z:  
<http://www.bioweb.genezis.eu/index.php?cat=0>
- [18] VELÍŠEK, J. : *Chemie potravin 2*, OSSIS Tábor, 1999, ISBN 80-902391-4-5
- [19] SWEETMAN, C. et al. *Regulation of malate metabolism in grape berry and other developing fruits*. *Phytochemistry*, Vol: 70, 2009. p. 1329 - 1344
- [20] DAVÍDEK, J., HAJŠLOVÁ, J., POKORNÝ, J., VELÍŠEK, J. : *Chemie potravin*. Praha: Ediční středisko VŠCHT, 1991, ISBN: 80-7080-097-6
- [21] VELÍŠEK, J. : *Chemie potravin 3*, OSSIS Tábor, 1999, ISBN 80-902391-5-3
- [22] ALAMO SANZA, M. et al. *Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips*. *Analytica Chimica acta*, 2004. 513 p., 229 - 237
- [23] Příloha 5 k vyhlášce č. 297/2000 Sb. [on-line 8.3.2011] Dostupná z:  
<http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/2000/sb084-00.pdf>
- [24] ULLRICH, L. : *Chémia a technológia jedlých tukov a olejov*. Bratislava: Slovenské Vydavateľstvo Technickej Literatúry, 1963, ISBN: 63-025-63
- [25] KARLBERG, J. : *Technologie tuků a kosmetiky I pro OU a UŠ*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1979, ISBN: 04-813-79
- [26] POKORNÝ, J., DUBSKÁ, L. a kol. : *Technologie tuků*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1986, ISBN: 04-833-86
- [27] GALLART, M., FRANCIOLI, S., VIU-MARCO, A. et al. *Determination of free fatty acids and their ethyl esters in musts and wines*. *Journal of Chromatography A*, 1997. 283 - 291
- [28] TORIJA, M. J., BELTRAN, G., NOVO, M. et al. *Effects of fermentation temperature and Saccharomyces species on the cell fatty acid composition and presence*



- of volatile compounds in wine*. International Journal of Food Microbiology, 2003. 127 - 136
- [29] FERREIRA, B., HORY, C., BARD, M. H. et al.: *Effects of skin contact and settling on the level of the C18 : 2, C18 : 3 fatty acids and C6 compounds in burgundy chardonnay musts and wines*. Food Quality and Preference 6, 1995.
- [30] SUTER, B., GROB, K., PACCIARELLI, B. : *Determination of fat content and fatty acid composition through 1-min transesterification in the food sample; principles*. Z Lebensm Unters Forsch A, 1997, 252 - 258
- [31] ŠILHÁNKOVÁ, L. : *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. Praha: Victoria Publishing, 1995, ISBN: 80-85605-71-6
- [32] HAL'AMA, D. : *Technická mikrobiológia*. Bratislava: Slovenské Vydavateľstvo Technickej Literatúry, 1967, ISBN: 63-004-68
- [33] RYCHTERA, M., UHER, J., PÁCA, J. : *Lihovarství, droždářství a vinařství I. část*. Praha: Ediční středisko VŠCHT, 1991, ISBN 80-7080-117-4
- [34] RYCHTERA, M., UHER, J., PÁCA, J. : *Lihovarství, droždářství a vinařství II. část*. Praha: Ediční středisko VŠCHT, 1991, ISBN 80-7080-117-4
- [35] KLOUDA, P. : *Moderní analytické metody*. Ostrava: nakladatelství Pavel Klouda, 2003, ISBN: 80-86369-07-2
- [36] Plynová chromatografie. [on-line 20.3.2011] Dostupné z: <http://cheminfo.chemi.muni.cz/http://www.moraviavitis.cz/>
- [37] Gas chromatography. Univerzita Karlova v Praze. [on-line 22.3.2011] Dostupné z: <http://www.natur.cuni.cz/faculty>
- [38] SHINOHARA, T. : *Gas Chromatographic Analysis of Volatile Fatty Acids in Wines*. Agricultural and Biological Chemistry, 1985, 2211 - 2212
- [39] Stanovení methylesterů mastných kyselin pomocí plynové chromatografie (GC/FID). [on-line 20.4.2011] Dostupné z: <http://web.vscht.cz/kohoutkj/>
- [40] SEPPANEN-LAAKSO, T., LAAKSO, I., HILTUNEN, R.: *Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition*. Analytica Chimica Acta, 2002, 39-62 <http://www.moraviavitis.cz/>

- [41] YONOKI, K., TANJI, M., MURAKAMI, Y. et al.: *Fatty Acid Compositions of Commercial Red Wines*. Biosci Biotechnol. Biochem., 2004, 2623-2626

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AL	Aromatické látky
AFID	Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem
CM	Cabernet Moravia
CO <sub>2</sub>	Oxid uhličitý
ČR	Česká republika
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ECD	Detektor elektronového záchytu
FID	Plamenový ionizační detektor
GC	Plynová chromatografie
GLC	Chromatografie v systému plyn - kapalina
GSC	Chromatografie v systému plyn - pevná látka
JMK	Jablečno-mléčné kvašení
MF	Mobilní fáze
MK	Mastné kyseliny
ML	Minerální látky
MS	Hmotnostní spektrometr
°NM	Množství cukru podle normovaného moštoměru
PID	Fotoionizační detektor
resp.	Respektive
RNA	Ribonukleová kyselina
SF	Stacionární fáze
SO <sub>2</sub>	Oxid siřičitý
TCD	Tepelně vodivostní detektor
tzv.	Tak zvaně

ZW    Zweigeltrebe

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1 Vinařská oblast Morava [14].....	23
Obr. 2 Svatovavřínecké [14].....	24
Obr. 3 Frankovka [14].....	25
Obr. 4 Zweigeltrebe [14].....	25
Obr. 5 Rulandské modré [14].....	26
Obr. 6 Cabernet Moravia [14].....	26
Obr. 7 $\alpha$ -D-glukóza a $\alpha$ -D-fruktóza [17].....	27
Obr. 8 Zjednodušené schéma plynového chromatografu [36].....	38
Obr. 9 Tepelně vodivostní detektor [37].....	41
Obr. 10 Plamenový ionizační detektor [37].....	42
Obr. 11 Detektor elektronového záchytu [37].....	43
Obr. 12 Shimadzu GC 2010.....	49

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1 Chemické složení jednotlivých částí hroznu [3].....	13
Tab. 2 Obsah minerálních látek ve vinném moštu [3].....	31
Tab. 3 Složení fosfolipidů kvasinek <i>S. cerevisiae</i> [31].....	36
Tab. 4 Elementární složení kvasinkové biomasy v sušině [31].....	36
Tab. 5 Parametry použité při měření na GC-FID.....	48
Tab. 6 Mastné kyseliny, jejichž metylestery byly stanoveny ve vzorcích vína.....	50
Tab. 7 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Cabernet Moravia v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 1.....	50
Tab. 8 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Cabernet Moravia v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 2.....	51
Tab. 9 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Zweigeltrebe v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 1.....	51
Tab. 10 Zastoupení metylesterů mastných kyselin ( $\mu\text{g/l}$ ) ve vzorcích vína Zweigeltrebe v závislosti na době odběru během JMK u vinaře č. 2.....	52

## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č.I Odrůdová skladba registrovaných vinic v ČR dle podoblastí k 31.12.2009 -  
moštové bílé [29]

Příloha č.II Odrůdová skladba registrovaných vinic v ČR dle podoblastí k 31.12.2009 -  
moštové modré [29]

**PŘÍLOHA P I: ODRŮDOVÁ SKLADBA REGISTROVANÝCH VINIC V  
ČR DLE PODOBLASTÍ K 31. 12. 2009 - MOŠTOVÉ BÍLÉ [29]**

Odrůda	Podoblast [ha]					Celkový součet [ha]
	Morava - ostatní	Mikulovská	Slovácká	Velkopavlovická	Znojemská	
Aurelius	0,02	21,11	12,06	11,75	3,50	<b>48,53</b>
Auxerrois	-	-	0,03	-	0,02	<b>0,71</b>
Děvín	0,01	2,47	7,69	8,20	0,87	<b>19,26</b>
Hibernal	0,02	2,88	12,24	13,01	0,71	<b>32,64</b>
Chardonnay	0,06	269,35	256,25	172,02	62,77	<b>774,02</b>
Irsai Oliver	0,57	15,19	12,98	28,55	19,66	<b>79,9</b>
Kerner	-	11,78	3,53	1,15	9,20	<b>31,15</b>
Lena	0,02	0,08	0,27	0,56	0,02	<b>1,01</b>
Malverina	0,02	2,80	1,26	0,78	0,34	<b>5,41</b>
Müller Thurgau	8,29	325,77	459,05	406,28	353,68	<b>1 699,25</b>
Muškát moravský	0,52	62,16	125,24	82,07	77,30	<b>358,42</b>
Muškát Ottonel	-	23,49	11,42	10,06	12,89	<b>61,32</b>
Neuburské	0,21	79,57	62,66	171,45	31,51	<b>345,82</b>
Pálava	-	81,74	16,16	34,67	62,29	<b>195,07</b>
Rulandské bílé	0,36	163,11	316,92	143,79	154,65	<b>818,12</b>



Rulandské šedé	0,88	217,36	162,08	183,39	131,21	<b>741,03</b>
Ryzlink rýnský	0,18	337,40	419,49	176,51	241,21	<b>1 268,88</b>
Ryzlink vlašský	0,53	602,64	214,64	301,91	126,57	<b>1 246,61</b>
Sauvignon	0,14	302,49	157,95	176,18	231,32	<b>868,51</b>
Sylvánské zelené	0,01	41,33	23,42	24,46	13,01	<b>108,2</b>
Tramín červený	0,03	178,62	111,05	134,12	152,24	<b>600,27</b>
Veltlínské červené rané	1,94	74,28	45,91	35,94	60,96	<b>221,15</b>
Veltlínské zelené	3,06	386,31	334,01	542,12	424,36	<b>1 690,15</b>
Veritas	-	0,01	0,79	0,18	2,58	<b>3,59</b>
Vrboska	-	-	-	-	0,02	<b>0,02</b>
Ostatní	0,46	33,21	41,93	32,33	17,62	<b>131,73</b>
<b>Celkem moštové bílé</b>	<b>17,33</b>	<b>3235,15</b>	<b>2809,03</b>	<b>2691,48</b>	<b>2190,51</b>	<b>11 350,77</b>

**PŘÍLOHA P II: ODRŮDOVÁ SKLADBA REGISTROVANÝCH VINIC  
V ČR DLE PODOBLASTÍ K 31. 12. 2009 - MOŠTOVÉ MODRÉ [29]**

Odrůda	Podoblast [ha]					Celkový součet [ha]
	Morava - ostatní	Mikulovská	Slovácká	Velkopavlovická	Znojemská	
Agni	0,02	4,04	0,79	0,58	0,12	<b>5,55</b>
Alibernet	0,01	3,75	4,10	9,31	0,33	<b>17,5</b>
André	0,37	27,57	85,08	123,76	27,91	<b>264,87</b>
Ariana	-	2,04	0,09	0,98	0,02	<b>3,13</b>
Blauburger	-	1,40	0,54	1,88	1,73	<b>5,55</b>
Cabernet franc	-	0,28	-	0,38	-	<b>1,32</b>
Cabernet Moravia	0,31	26,23	71,87	84,40	15,80	<b>198,78</b>
Cabernet Sauvignon	-	93,39	43,59	61,25	35,19	<b>233,44</b>
Domina	-	-	0,05	0,02	0,02	<b>0,09</b>
Dornfelder	0,02	21,18	17,85	37,47	12,17	<b>95,82</b>
Dunaj	-	0,03	0,18	0,45	0,02	<b>0,68</b>
Frankovka	1,49	254,19	356,85	428,77	206,83	<b>1 248,39</b>
Fratava	0,37	-	0,10	-	-	<b>4,38</b>
Laurot	-	1,37	2,25	0,61	0,04	<b>4,27</b>
Merlot	-	44,41	23,32	21,87	5,22	<b>95,22</b>
Modrý Portugal	3,28	85,03	191,54	273,40	47,49	<b>657,94</b>

Neronet	0,11	4,75	12,35	11,21	0,96	<b>31,26</b>
Regent	-	2,03	-	1,18	-	<b>3,21</b>
Rubinet	-	0,27	0,63	0,84	0,04	<b>2,22</b>
Rulandské modré	0,09	173,34	134,04	217,51	148,95	<b>726,34</b>
Směs moštová modrá	0,05	5,61	8,21	11,55	5,17	<b>31,54</b>
Svatovavřínecké	0,45	308,64	282,09	443,96	328,32	<b>1 436,32</b>
Zweigeltrebe	2,96	176,03	251,89	262,96	125,36	<b>848,27</b>
Ostatní	-	2,92	0,63	0,97	0,17	<b>4,69</b>
<b>Celkem moštové modré</b>	<b>9,51</b>	<b>1238,5</b>	<b>1488,04</b>	<b>1995,31</b>	<b>961,86</b>	<b>5920,12</b>