

Sledování biogenních aminů ve vybraných odrůdách archivních vín

Bc. Lenka Fojtíková

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav chemie
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Lenka FOJTÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T08790**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**

Téma práce: **Sledování biogenních aminů ve vybraných odrůdách
archivních vín**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Pojďte o výrobě vín v našich podmínkách a zaměřte se také na jejich chemické složení.
2. Přehledně rozeberte možnosti analýzy vín pomocí instrumentálních chemických i senzorních metod.
3. Popište vlastnosti biogenních aminů, a to zejména ve vztahu k lidskému organismu.
4. Stručně popište analytické metody vhodné pro sledování biogenních aminů.

II. Praktická část

1. Analyzujte vzorky vín dle tematických řad pomocí instrumentálních a senzorních metod.
2. Porovnejte výsledky dosažené v jednotlivých řadách s cílem nalezení případných korelací.
3. Dosažené výsledky statisticky vyhodnoťte a proveďte jejich diskusi.
4. Na základě získaných poznatků formulujte závěry a doporučení.

Rozsah diplomové práce: 70
Rozsah příloh:
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

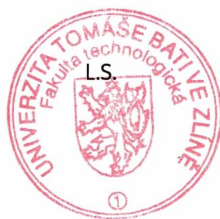
Seznam odborné literatury:

[1] FARKAŠ, J.: Technologie a biochemie vína. Praha, SNTL 1980, 04-825-79. [2] STEIDL, R.: Sklepní hospodářství. Národní salon vín, Valtice, 2002 ISBN 80-903201-0-4 [3] JANCIN-AZPILICUETA, C. et al.: Current Knowledge about the Presence of Amines in Wine. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 48:257n275, London 2008 ISSN:1040-8398 [4] ZHIJUN, L.; YONGNING, W.; GONG, Z.; YUNFENG, Z.; CHANGHU, X.: A survey of biogenic amines in chinese red wines. Food Chemistry 105, 2007, 1530-1535.

Vedoucí diplomové práce: Ing. Pavel Valášek, CSc.
Ústav biochemie a analýzy potravin
Datum zadání diplomové práce: 4. ledna 2010
Termín odevzdání diplomové práce: 19. května 2010

Ve Zlíně dne 13. dubna 2010


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




prof. Ing. Antonín Klásek, DrSc.
ředitel ústavu

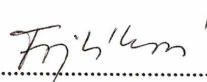
Příjmení a jméno: ...Fojtíková Lenka..... Obor: ...CHPBL.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 17. 5. 2010


.....

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Hlavním tématem diplomové práce je analýza biogenních aminů ve vzorcích archivních vín, doplněná o chemický rozbor základních složek vín a sensorickou analýzu. K analýzám byly použity vzorky archivních vín v tematických řadách podle jednotlivých ročníků, dva druhy bílého vína a dva druhy červeného vína z mikulovské vinařské podoblasti. Hrozny pro výrobu všech vín pocházely ze stejné viniční tratě, byly vyrobeny stejnou technologií a stejnými výrobci. Cílem práce bylo nalezení korelací mezi jednotlivými analýzami. Vzorky byly hodnoceny sensoricky a poté instrumentálně přístrojem WineScan FT 120 a AAA 400. Srovnáním získaných výsledků byly nalezeny určité závislosti a potvrzena vysoká jakost kvalitně vyrobených a archivací prověřených vín.

Klíčová slova: archivní víno, biogenní aminy, sensorická analýza, instrumentální metody

ABSTRACT

The main theme of this thesis is the analysis of biogenic amines in samples of wines, complemented by chemical analysis of the basic ingredients and wine sensory analysis. Archival samples were used in the thematic series of wines by vintage for the analysis, two kinds of white wine and two kinds of red wine from the Mikulov wine-growing region were used. Grapes for wines came from the same vineyard and were produced using the same technology and same manufacturer. The goal was to find correlations between individual analyses. Samples were evaluated using sensory analysis and then instrumentally by device WineScan FT 120 and 400th AAA. By comparing the results, certain dependencies were found and high quality of archival wines was confirmed.

Keywords: vintage wines, biogenic amines, sensory analysis, instrumental methods

Děkuji především vedoucímu diplomové práce, Ing. Pavlu Valáškoví, CSc. za odborné vedení diplomové práce. Dále panu Lubomíru Celnarovi za poskytnutí vzorků archivních vín, Ing. Pavlu Bartoškoví za pomoc při senzorické analýze a cenné informace k praktické části práce, panu Ludvíku Řemenovskému za zprostředkování látkového rozboru vzorků a mé rodině za podporu.

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

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 VÝROBA PŘÍRODNÍCH VÍN A CHEMICKÉ SLOŽENÍ VÍNA	13
1.1 ZÁKLADNÍ PRINCIPY VÝROBY	13
1.2 HROZEN A JEHO CHEMICKÉ SLOŽENÍ.....	13
1.3 ZPRACOVÁNÍ HROZNŮ NA MOŠT	15
1.4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MOŠTU	16
1.5 ÚPRAVY A FERMENTACE MOŠTU.....	17
1.6 FORMOVÁNÍ A ŠKOLENÍ VÍNA	18
1.7 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A ZMĚNY OBSAHU NĚKTERÝCH SLOŽEK VÍNA.....	19
1.7.1 Primární produkty fermentace.....	19
1.7.2 Sekundární produkty fermentace.....	20
1.7.3 Polyfenolické látky a jejich změny.....	21
1.7.4 Dusíkaté látky.....	22
1.7.5 Kyselina citronová.....	22
1.7.6 Minerální látky a vitaminy	22
2 SOUDOBE MOŽNOSTI ANALÝZY VÍN	23
2.1 LEGISLATIVNÍ ASPEKTY HODNOCENÍ VÍN	23
2.2 MOŽNOSTI INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY	23
2.2.1 Přístroje pro základní rozborů	23
2.2.2 Příklady analýz dalších složek vína.....	24
2.2.2.1 Techniky analýzy „otisku prstu“	24
2.2.2.2 Analýza vína v plné láhvi použitím NMR	25
2.2.2.3 Analýza polysacharidů	26
2.2.2.4 Analýza fenolických sloučenin	27
2.2.2.5 Analýza reziduí pesticidů.....	27
2.2.3 Analýza chloroanizolů.....	28
2.3 OBECNÉ ZÁKLADY SENZORICKÉ ANALÝZY	28
2.3.1 Hodnocení lidskými smysly	29
2.3.2 Hodnotitelé a metody hodnocení.....	29
2.3.3 Senzorická laboratoř.....	30
3 BIOGENNÍ AMINY A LIDSKÝ ORGANIZMUS	31
3.1 VZNIK A VÝZNAM BIOGENNÍCH AMINŮ	32
3.2 PŮSOBNÍ BIOGENNÍCH AMINŮ NA LIDSKÝ ORGANIZMUS.....	32
3.2.1 Význam a působení histaminu	33
3.2.2 Význam tyraminu a katecholaminů.....	34
3.3 BIOGENNÍ AMINY V GASTROINTESTINÁLNÍM TRAKTU A JEJICH DEGRADACE	35
3.3.1 Enzymy katalyzující degradaci biogenních aminů.....	36
3.3.2 Detoxikační systém organismu	36

3.3.3	Toxikologické aspekty a limity	37
3.3.4	Vznik nitrosaminů	37
4	ANALYTICKÉ METODY VHODNÉ PRO SLEDOVÁNÍ BIOGENNÍCH AMINŮ	38
4.1	SLEDOVÁNÍ BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH.....	38
4.2	STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ INSTRUMENTÁLNÍMI CHROMATOGRAFICKÝMI METODAMI	38
4.2.1	Derivatizace.....	38
4.2.1.1	Činidla pro detekci v UV-VIS oblasti.....	39
4.2.1.2	Činidla pro fluorimetrickou detekci.....	40
4.3	METODY STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ VE VÍNĚ.....	41
4.3.1	Metody extrakce biogenních aminů ze vzorku.....	42
4.3.2	Chromatografické a MS metody	42
4.3.3	Elektroforetické metody	43
II	PRAKTICKÁ ČÁST	44
5	CÍL PRÁCE	45
6	MATERIÁL A METODY	46
6.1	VZORKY VÍN POUŽITÉ V ANALÝZE	46
6.2	METODY STANOVENÍ.....	47
6.2.1	Senzorická analýza vína	47
6.2.1.1	Princip senzorické analýzy.....	48
6.2.1.2	Postup senzorické analýzy	48
6.2.2	Stanovení základních chemických charakteristik vína.....	49
6.2.2.1	Princip analýzy chemických charakteristik vína.....	49
6.2.2.2	Postup analýzy chemických charakteristik vína.....	50
6.2.3	Stanovení biogenních aminů	50
6.2.3.1	Princip analýzy biogenních aminů	50
6.2.3.2	Seznam přístrojů	51
6.2.3.3	Seznam chemikálií.....	52
6.2.3.4	Postup analýzy biogenních aminů.....	52
6.3	POUŽITÉ STATISTICKÉ VÝPOČTY	53
6.3.1	Směrodatná odchylka	53
6.3.2	Korelační koeficient	53
6.3.3	Variační koeficient	53
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	54
7.1	VÝSLEDKY SENZORICKÉ ANALÝZY	54
7.2	VÝSLEDKY LÁTKOVÉHO ROZBORU NA PŘÍSTROJI WINESCAN FT 120	57
7.3	VÝSLEDKY ANALÝZY BIOGENNÍCH AMINŮ NA PŘÍSTROJI AAA 400.....	61
7.4	KORELAČNÍ KOEFICIENTY A POROVNÁNÍ VÝSLEDNÝCH HODNOT VŠECH ANALÝZ.....	66
7.4.1	Srovnání látkového rozboru a senzorického hodnocení.....	67
7.4.2	Srovnání analýzy biogenních aminů, látkového rozboru a senzorického hodnocení	68

ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ	71
SOUHRN	73
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	74
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	82
SEZNAM OBRÁZKŮ	85
SEZNAM TABULEK.....	86
SEZNAM PŘÍLOH.....	87

ÚVOD

Vinařství jako potravinářské odvětví se zabývá zpracováním vinné révy odrůdy *Vitis vinifera* na hroznová vína a vedlejší výrobky a technologicky navazuje na vinohradnictví. V České republice se jimi zabývá současný vinařský zákon 321/2004 Sb.

Víno je jedním z nejdéle známých alkoholických nápojů. Jeho doložená historie se vyvíjela od obyvatel Mezopotámie a starého Egypta přes antiku Řecka a Říma, středověk Evropy až k dnešním dnům. Pěstování vinné révy na našem území je podle geologických nálezů známo asi dva tisíce let, a k jejímu rozšíření došlo za vlády Karla IV. Výroba vína se vyvinula v moderní průmyslové odvětví, nemalý podíl výroby však stále připadá i na malovýrobu. V naší zemi jsou využívány moderní technologie, je zde dobrá technologická základna a vinařství se prezentuje výbornými víny vysoké kvality.

Rékové víno, ač nepatří mezi základní potraviny, obsahuje i látky nezbytné pro výživu člověka, jako sacharidy, bílkoviny, vitaminy a minerální látky. Proto je předmětem rozsáhlého zkoumání z hlediska obsahu nejen těchto majoritních, ale i minoritních látek. Kromě složek nezbytných a užitečných pro lidský organizmus jsou zkoumány i komponenty, které mohou způsobit při konzumaci zdravotní obtíže. Jedná se o těžké kovy, rezidua pesticidů aj, které se dostávají do vína primárně při pěstování hroznů za daných půdních a klimatických podmínek, dále o složky vznikající při výrobě a skladování vína. Mezi těmito sloučeninami jsou i biogenní aminy, generované přítomnými mikroorganismy z volných aminokyselin dekarboxylací při fermentačních procesech a reziduální mikroflórou i během skladování hotového vína.

Význam biogenních aminů pro lidský organizmus je v jejich nepostradatelnosti pro růst buněk, látkovou výměnu, mnohé jsou významnými hormony. Jejich vysoký příjem potravou však může způsobit i vážné zdravotní komplikace. Je tedy nutno tyto látky ve víně sledovat a zkoumat příčiny jejich vzniku.

Tato práce se zabývá zhodnocením vzorků archivních vín senzoričky i chemickou analýzou s cílem porovnat výsledné hodnoty a nalézt případné korelace mezi nimi.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VÝROBA PŘÍRODNÍCH VÍN A CHEMICKÉ SLOŽENÍ VÍNA

1.1 Základní principy výroby

V průběhu historického vývoje zpracování hroznů na víno se vyvinula řada technologických postupů podle lokality, druhu pěstovaných odrůd, tradic a zvyklostí. Základní principy jsou určeny technologií výroby bílých a červených vín, které se odlišují zejména v počátečních fázích výrobního postupu. Přírodní bílá vína se vyrábějí ze žlutých, růžových nebo červených odrůd, přírodní červená vína z odrůd modrých.

Hrozny révy vinné dozrávají v našich klimatických podmínkách a zeměpisné poloze koncem srpna, v září a začátkem října, kdy se sklízají, s výjimkou pozdních a ledových sběrů. Sklízají se v technologické zralosti, podmíněné co nejvyšší cukernatostí. Pouze modré odrůdy se nenechávají přezrát, aby nedocházelo k rozkladu barviv. Hrozny se sklízají za teplého počasí, sklizené za deště špatně fermentují. Poté se ihned dopravují k dalšímu zpracování, které nastává týž den, nejpozději však do 24 hodin [1].

1.2 Hrozen a jeho chemické složení

Hrozen se skládá z bobule a třapin, bobule sestává ze slupky, dužniny a semen. Všechny tyto součásti mají pro výrobu vína význam, především jejich vyzrálost a zdravotní stav. Podíl jednotlivých částí je závislý na odrůdě, stanovišti a vyzrálosti a zjišťuje se pomocí tzv. uvologických rozborů (odvozeno od uvologie – nauka o vinných hroznech)[1, 2, 3, 4].

Třapiny působí nepříznivě na výrobu vína zejména pochází-li z nevyzrálých hroznů. Obsahují mimo jiné i chlorofyl, který má na kvalitu budoucího vína negativní vliv. Proto se doporučuje před lisováním hroznů především nevyzrálé třapiny odstranit [3].

Slupka tvoří 8 – 10 % hmotnosti bobulí. Na jejím povrchu je tenká vosková vrstva zabraňující odpařování vody. Cenné jsou aromatické látky a barviva, důležitá zejména u modrých odrůd při výrobě červeného vína. Ovlivňují odrůdový charakter, chuť i vůni budoucího vína. Ve slupkách bílých odrůd jsou obsaženy karoteny, xantofyly a také modrozelený a žlutozelený chlorofyl, v červených a modrých odrůdách antokyany. Výjimku tvoří tzv. barvíčky, odrůdy obsahující antokyany i v dužnině. Vznik antokyanů je závislý na dostatečném slunečním záření. Z tříslovin (taninů) je ve slupkách přítomen

z dimerů hlavně prokyanidin B₁, hlavním zástupcem trimerů je epikatechin a další vyšší oligomery.[3, 14]

Nejdůležitější částí je dužnina, kde nejcennějšími látkami jsou cukry a kyseliny. Přibližně 8 % z celkové hmotnosti dužniny připadá na cévní svazky, zbytek na šťávu.

Z cukrů převažuje glukóza, která se v bobulích tvoří jako první a fruktóza, která vzniká později při vyzrávání. Pektiny, gummy a příbuzné látky polymerovaných cukerných kyselin tvoří skelet buňky. Jsou částečně rozpustné ve vodě a během drcení jsou extrahovány do moštu. Extrakce je podpořena zvýšenou teplotou při drcení hroznů, přitom se urychluje uvolnění antokyanů. Během fermentace tvoří polysacharidy koloidy a v přítomnosti alkoholu inklinují ke srážení. Přídavkem enzymů *pektináz* lze obsah těchto látek redukovat [1,4].

Obsah kyselin je závislý na půdě, poloze a stupni zralosti hroznů. Vznikají asimilací v listech z vody a oxidu uhličitého. Množství titrovatelných kyselin je 6 – 14 g.l⁻¹. 90% všech organických kyselin představují kyseliny vinná a jablečná. Během vyzrávání vzniká nejdříve kyselina jablečná, později vinná. Ostatní kyseliny jsou spíše meziprodukty metabolismu buněk hroznové dužniny. Kyselina vinná je v dužnině rozpustná ve vodné fázi, v prostředí etanolu pak tvoří málo rozpustný hydrogenvinan draselný. Ten vzniká v důsledku přítomnosti draslíku v půdě hlavně při chladném počasí.

Dalšími chemickými složkami jsou třísloviny, dusíkaté látky, minerální látky, barviva a aromatické látky. Dusíkaté látky jsou základním stavebním materiálem buněk, zvláště ve slupkách a v semenech. Samotok moštu obsahuje nejméně těchto látek, se stoupajícím tlakem při lisování stoupá i jejich obsah [2, 3].

Semena obsahují hořké látky a třísloviny, bílé odrůdy méně než modré. Z taninů se převážně vyskytují oligomery s 2-6 jednotkami flavanolů. Dále obsahují lipidy ve formě olejů. Převažují glyceroly a kyseliny stearová, palmitová a linolová. Olejovité látky mohou poškodit kvalitu budoucího vína, proto je důležité, aby při lisování nebyla semena rozdrcena [2, 3].

Tab. 1: Chemické složení jednotlivých částí hroznu [1, 3, 7]

Složka		Třápina [%]	Slupka [%]	Semena [%]	Dužnina [%]
Voda		35,0 – 90,0	53,0 – 82,0	30,0 – 45,0	55,0 – 92,0
Sacharidy	pentózy	1,0 - 2,8	1,0-1,2	3,9	4,5
	hexózy	stopy	stopy		10,0 – 24,0
	sacharóza				do 1,5
	pektiny	0,7	0,9		0,1 - 0,3
N- látky		0,7 - 2,2	0,8 - 1,9	0,8 - 1,2	1,4 - 2,2
Organické kyseliny		0,5 - 1,6	0,1 - 0,7		0,1 - 0,8
Taniny (trísloviny)		1,3 - 3,0	0,1 - 2,0	1,8 - 5,0	stopy
Minerální látky		6,0 - 10,0	2,0 - 3,7	2,0 - 5,0	0,1 - 1,1
Lipidy			1,5	10,0 - 20,0	
Barviva (jiná než chlorofyl)			1,0 - 15,0		stopy
Aromatické látky			stopy	stopy	stopy
Vitaminy		stopy	stopy	stopy	stopy

1.3 Zpracování hroznů na mošt

U hroznů se stanovuje jakost a průměrná cukernatost. Ke zjišťování cukernatosti slouží u nás Československý normalizovaný ($^{\circ}\text{NM}$, udává kg cukru na 100 litrů moštu) nebo Klosterneuburský moštoměr ($^{\circ}\text{KMW}$, udává kg cukru na 100 kg moštu). Většina operací při získávání moštu je u bílých a červených odrůd obdobná. V lisovně se provádí mlynkování, odzrňování, zcezování samotoku a lisování, lze použít i elektroplazmolýzu, ultrazvuk, tepelné zpracování, aplikaci enzymových přípravků. Čím lépe se bobule rozdrťí, tím je vyšší výtěžek moštu. Rozemleté hrozny i s třápinami se nazývají rmut. Vína z odzrňených rmutů jsou chuťově jemnější a jakostnější. Hůře se však lisují a pomaleji čistí, neboť obsahují méně tríslovin [1,4].

Šťáva uvolněná z buněk předchozími technologickými operacemi se oddělí lisováním. To probíhá pozvolna s občasným přerušením, aby výtěžek moštu byl co největší. Rmut ze světlých hroznů pro výrobu bílého vína se lisuje ihned. Při zpracování silně aromatických světlých a při zpracování modrých hroznů při výrobě červených vín

se před lisováním rmut nakvašuje. Bílé odrůdy se nakvašují obvykle 1 den, modré odrůdy 4 – 14 dní podle charakteru vína. Nakvašuje se při teplotě 20 – 25°C, přičemž barviva ze slupek a třísloviny z pecek přecházejí do rmutu.

Pevné vylisované zbytky bobulí se nazývají matoliny. Ze 100 kg hroznů se získá při šetrném lisování kolem 70 l moštu, tak aby do něj nepřecházely nežádoucí látky. Z celkového výtěžku moštu připadá 60 % na samotok, 26 % na první lisování, 10 % na druhé a 4 % na třetí lisování. [3, 4]

1.4 Chemické složení moštu

Voda je hlavní složkou hroznů. Je velmi významná jako rozpouštědlo jiných látek a základní prostředí chemických reakcí během fermentace a zrání vína. Důležité jsou i její fyzikální vlastnosti. Má vysoké měrné teplo, tím reaguje pomalu na změny teploty okolí a zabraňuje i v teplém prostředí příliš rychlému ohřátí lahví s vínem [2].

V moštu jsou obsaženy převážně monosacharidy. Nejprve je kvasinkami zpracovávána glukóza, během fermentace se tedy logicky mění poměr sacharidů ve prospěch fruktózy.

Podíl kyseliny vinné činí v moštích dobře vyžralých ročníků 65 – 70 % ze všech titrovatelných kyselin. Nerozpustný hydrogenvinan draselný vzniká i při fermentaci a jako tzv. vinný kámen se usazuje ve fermentačních nádobách.

Obsah minerálních látek (popelovin) závisí na odrůdě, vyžralosti a na půdních a klimatických podmínkách, vyšší je v sezónách s nadprůměrnými srážkami. Z kationtů jsou nejdůležitější draslík, hořčík, vápník a sodík, z aniontů fosforečnany, sírany, chloridy a uhličitany. V malých množstvích je rovněž obsažen bór, křemík, mangan a zinek. Přírodní obsah železa se pohybuje mezi 1 - 7 mg.l⁻¹ [2,4].

Dusíkaté látky jsou v moštu obsaženy ve formě proteinů, volných aminokyselin a sloučenin amoniaku. Představují látky důležité pro činnost kvasinek, volné aminokyseliny mají význam jako prekurzory pro vznik kvasného buketu. V suchých letech jich může být v moštu nedostatek. Komplex dusíkatých látek nezůstává stálý, mění se v kyselém prostředí vlivem procesů při vytváření vína. Nastává deaminace, hydrolýza a jiné reakce a obsah jednotlivých forem může klesat i stoupat [1].

Pojmem polyfenoly označujeme společně třísloviny (taniny), antioxidanty a antokyaninová barviva (dále str. 21). Taniny interagují s proteiny a ovlivňují barvu, hořkost, průběh stárnutí moštu a vína, dodávají pocit trpké chuti. Obsah polyfenolů se zvyšuje naležením rmutu a silnějším lisováním. [1, 4,14]

Aromatickými látkami se rozumí vonné a chuťové látky, označované jako buket. K vonným látkám patří těkavé sloučeniny jako alkoholy, estery apod. Chuťové látky jsou zastoupeny např. organickými kyselinami, cukry, fenolickými látkami. Rozlišuje se primární buket tvořený aromatickými látkami z hroznů, sekundární buket vzniklý fermentací a terciální buket, který se vyvíjí až ve víně při biochemických procesech během dlouhodobého zrání.[2]

Tab. 2: Chemické složení moštu [2]

Složka	Množství [g.l ⁻¹]
Voda	780,0 – 850,0
Sacharidy	120,0 – 250,0
Organické kyseliny	6,0 - 15,0
Minerální látky	2,5 - 5,0
N-látky	0,2 - 1,4
Taniny (třísloviny) a barviva	do 0,2 bílé odrůdy, do 4,5 modré odrůdy
Aromatické látky	stopy

1.5 Úpravy a fermentace moštu

Úpravy se provádí pro zaručení hladkého průběhu kvašení a vysoké jakosti vyrobeného vína. Zahrnují odkalování, provzdušňování pro dobrou činnost kvasinek, síření k ochraně před bakteriální kontaminací, odkyselování, úpravu cukernatosti řepným cukrem nebo zahuštěným moštem [4].

Dříve se využívalo především spontánní fermentace způsobené kvasinkami (*Saccharomyces cerevisiae*) ulpělými na povrchu hroznů. Dnes se používá i čisté neboli řízené kvašení ASVK – aktivovanými sušenými vinařskými kvasinkami. Silně sířené mošty se zakvašují kvasinkami adaptovanými na oxid siřičitý.

Kvašení má tři fáze – začátek, bouřlivé kvašení a dokvašení. Začátek kvašení trvá 2–3 dny, je charakteristický pozvolným množením kvasinek a pomalým začátkem prokvašování cukrů.

Bouřlivé kvašení začíná třetí až čtvrtý den a trvá několik dnů až týdnů, intenzivně vzniká a uvolňuje se oxid uhličitý. Ten srhává i aromatické a těžké buketní látky. Teplota se zvyšuje nad 25°C a musí se zpět regulovat na 15 – 18°C, u chladnomilných druhů kvasinek až do rozmezí 10 – 12°C.

Dokvašení je poslední fáze kvašení po poklesu obsahu cukru na 2 – 5 g.l⁻¹ a trvá několik měsíců. Dochází k zastavení činnosti kvasinek, zastaví se vývin oxidu uhličitého, kvasinky sedimentují na dno nádoby a usazují se i kaly. Dokvašené víno se odděluje od sedimentu stáčením do čistých zasířených kvasných tanků [4,6]

1.6 Formování a školení vína

Probíhá po dokvašení vína. Vylučuje se vinný kámen ve formě hydrogenvinanu draselného, sráží se tak a sedimentují shluky molekul opačného náboje jak organického, tak i anorganického charakteru (bílkoviny, polyfenoly, barevné látky, slizy, gumovité látky a kationty kovů i soli kyselin). Víno se samovolně čistí.

Následná malolaktická fermentace je žádoucí pouze u některých vín a je způsobena činností bakterií mléčného kvašení, kdy dochází k přeměně kyseliny jablečné na mléčnou. Vína jsou pak plnější chuti a je ovlivňováno i jeho aroma.

Po ukončení formování se mladé víno stáčí znovu a v ležáckých sudech zraje. [4,6]

Ošetřování a školení vína se provádí před plněním do lahví a zahrnuje čiření, stabilizaci, pasteraci a filtraci. K čiření se používá želatina nebo kasein srážející se s tříslovinami a hexakvanoželeznatan draselný. Ten sráží těžké kovy a koloidy. Používají se i adsorpční prostředky jako bentonit či agar. Víno lze stabilizovat i chladem, kdy vypadávají krystalky hydrogenvinanu draselného. Pasterace se provádí v deskových pasterech a filtruje se různými druhy filtrů nebo odstředivkami.

Po skončeném školení je víno vyzrálé a po závěrečných úpravách se plní do lahví. Tyto úpravy zahrnují scelování vína, úpravu koncentrace zbytkového cukru, etanolu a kyselin, odkyselování či okyselování vína, barvení či odbarvování, alkoholizování a osvěžování vína [4,6].

1.7 Chemické složení a změny obsahu některých složek vína

Během fermentace jsou některé sloučeniny odstraňovány nebo se snižuje jejich obsah, jiné vznikají. Ve víně se mohou vyskytovat i některé cizorodé antinutriční látky, pocházející z pěstování révy nebo nežádoucí produkty fermentace signalizující chyby při výrobě vína. [4]

1.7.1 Primární produkty fermentace

Jsou jimi alkoholy, aldehydy, kyseliny a jejich estery. Hlavní složkou po vodě je etanol. Jeho obsah ve víně je 9 až 13% obj., je důležitým jakostním kritériem, podporuje aroma a extraktivnost. Dalším, avšak nežádoucím produktem je metanol. Ten vzniká odbouráváním pektinů a zvyšuje se intenzivním nakvácením rmutu. Glycerol dodává vínu plnost, je tvořen na počátku fermentace divokými kmeny kvasinek. U vína se definuje tzv. „glycerolový faktor“, což je podíl glycerolu k etanolu a pohybuje se kolem 1:10.

Jakostní a šumivá vína se dělí podle obsahu neprokvašeného zbytkového cukru. V malých koncentracích obsahuje víno i nezkvasitelné pentózy. Jejich obsah ovlivňuje hodnoty při analytickém stanovování sacharidů o 0,5 až 1 g.l⁻¹ [4, 6, 7].

Tab. 3: Rozdělení jakostních vín dle cukernatosti [5]

Tichá vína		Šumivá vína	
Kategorie	Obsah zbytkového cukru [g.l ⁻¹]	Kategorie	Obsah zbytkového cukru [g.l ⁻¹]
suché	max. 4,0	brut nature	max. 3,0
polosuché	4,0 – 12,0	extra brut	max. 6,0
polosladké	12,0 – 45,0	brut	max. 15,0
sladké	min. 45,0	extra dry	12,0 – 20,0
		sec	17,0 – 35,0
		demi sec	33,0 – 50,0
		doux	min. 50,0

1.7.2 Sekundární produkty fermentace

Jsou jimi acetaldehyd, pyruvát a 2-ketoglutarát, partneři pro vazbu s kyselinou siřičitou. Acetaldehyd vzniká redukcí z pyruvátu (kyseliny pyrohroznové) jako meziprodukt při etanolové fermentaci. Při výrobě červeného vína je acetaldehyd pro zrání nezbytný, tvoří se pak obráceným procesem zpětně z alkoholu. 2-ketoglutarát vzniká v citrátovém cyklu kvasinek. Při plynulé a pomalé fermentaci část těchto látek kvasinky znovu zpracují.

Vyšší alkoholy označované termínem přiboudlina jsou zastoupeny v malém množství, ale mají výrazný vliv na vůni a chuť vína. Tvoří se zpětně z produktů vzniklých odbouráváním sacharidů a jsou důsledkem množení kvasinek. Jejich hlavním zástupcem je 2,3-butandiol.

Většinu kyselin tvoří kyselina vinná (min. 4 g.l⁻¹), jablečná a mléčná. Při obsahu kyselin nad 12 g.l⁻¹ je možno snížit jejich množství srážením uhličitanem vápenatým. Kyselina jablečná je lehce zpracovávána kvasinkami na alkohol a bakteriemi mléčného kvašení při následné malolaktické fermentaci na kyselinu mléčnou. Povolený obsah těkavých kyselin je dán vyhláškou 297/2000 Sb. Nejdůležitější kyselina octová vzniká primárně v aerobním prostředí a její obsah přes 0,6 g.l⁻¹ je považován za znamení nežádoucí aktivní bakteriální činnosti. [4, 9, 10]

Tab. 4: Obsah produktů fermentace ve vínech [4]

	Produkt fermentace	Obsah [g.l ⁻¹]	
Primární produkty fermentace	Metanol	0,017-0,23	
	Etanol	72,0-104,0	
	Vyšší alkoholy	0,15-0,70	
	Glycerol	6,0-10,0	
Sekundární produkty fermentace	Titrovatelné kyseliny	min. 3,5-4,0	
	Těkavé kyseliny	celkem	1,1-2,4
		kys. octová	0,2-0,6
	Aromatické látky	0,8-1,2	

Asi polovinu obsahu aromatických látek tvoří alkoholy, rozlišuje se až na 800 substancí. Významné jsou estery alkoholů a kyselin a pro odrůdový charakter vína mají velký význam

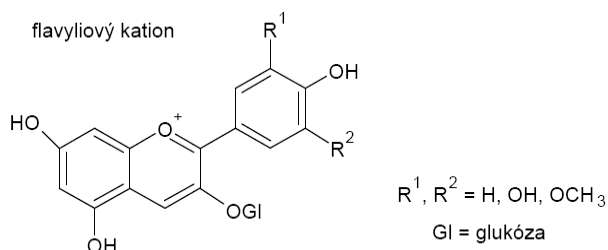
terpeny, které se váží na sacharidy. Během fermentace a skladování se uvolňují a působí jako složky aroma. [4, 11]

1.7.3 Polyfenolické látky a jejich změny

Třísloviny (taniny) se během fermentace mění jen málo. Během zrání a stárnutí vína dochází k jejich oxidačním a polymeračním změnám, které mají vliv na chuť a barvu vína. Při použití technologie barrique tj. zrání vín v dubových sudech zevnitř ožehnutých ohněm je víno obohaceno o další skupinu fenolických látek – vanilin, kumarin apod.[8]

Slupka modrých odrůd obsahuje červené antokyany, barviva ze skupiny flavonoidů. Jsou to glykosidy složené z molekuly cukru a barevné molekuly – aglykonu antokyanidinu. Antokyanidiny jsou odvozeny od jedné základní struktury, kterou je flavyliový kation. Evropské odrůdy révy obsahují pouze 3-monoglykosidy. Převládajícím pigmentem červených hroznů je malvidin-3- β -D-glukopyranosid. Tyto pigmenty doprovází řada esterů antokyanů s fenolovými kyselinami a podobnými látkami. Barva vína je závislá na typu aglykonu, pH prostředí a přítomnosti oxidu siřičitého. K významnému zintenzivnění červené barvy dochází během zrání vín, což souvisí s kondenzací a polymerizací molekul antokyanů a s reakcí s taniny a s acetaldehydem. Vznikají nové barevnější kondenzované sloučeniny, tmavší a stabilnější pigmenty, méně citlivé na změny pH nebo na odbarvení oxidem siřičitým. Při vyšších teplotách však dochází k jejich degradaci a vzniku nebarevných fenolických kyselin [11, 12, 15].

Mezi fenolické látky řadíme také obsáhlou skupinu sloučenin se silnými antioxidačními účinky. Z 85% ji tvoří flavonoidní látky – quercetin, katechin, také barviva antokyany. Populárním je resveratrol, složka vznikající ve slupkách bobulí jako fungicid. Jeho obsah ve víně se pohybuje od 0,1 do 0,8 mg.l⁻¹. Tyto sloučeniny jsou rozpuštěny v alkoholu a chráněny přítomností dalších složek [2, 15].



Obr. 1: Flavyliový kation – základní struktura antokyanidinů [2]

1.7.4 Dusíkaté látky

Dusíkaté sloučeniny jsou při fermentaci až ze 75% spotřebovány kvasinkami a obsah aminokyselin se zvyšuje až při zrání vína na kvasnicích. Celkový obsah je různý v závislosti na odrůdě. Koncentraci proteinů snižuje také reakce s polyfenoly a ošetření bentonitem. Termolabilní proteiny mohou způsobit zákaly. [1,2]

1.7.5 Kyselina citronová

Je stabilizačním prvkem proti kovovým zákalům na základě schopnosti tvořit cheláty. Její obsah může být při malolaktické fermentaci snížen odbouráním na diacetyl, dodávající vínům máselnou příchuť. Celkový obsah nesmí překročit 1 g.l^{-1} . [2,4]

1.7.6 Minerální látky a vitaminy

Obsah minerálních látek se během fermentace snižuje jejich vysrážením a utilizací kvasinkami. Celkové množství se udává jako obsah popelovin. V bílých vínech se nejvíce vyskytuje draslík a vápník. Ve víně jsou ve stopovém množství obsaženy ve vodě rozpustné vitaminy skupiny B a vitamin C. [2,3]

Tab. 5 :Přibližný obsah některých složek vína [3,4]

Složka		Přibližný obsah $[\text{g.l}^{-1}]$
Voda		850,00
N-látky		0,30-1,00
Minerální látky	draslík	0,65-0,95
	vápník	0,06-0,08
Fenolické látky	bílá vína	0,15-0,25
	červená vína	do 4,50
	antokyany	až 3,00
Kyselina citronová		0,05-0,30

2 SOUDOBÉ MOŽNOSTI ANALÝZY VÍN

Kvalita a s ní související chemické složení vín se stává důležitým kritériem při jeho výběru pro celou řadu konzumentů. Z nežádoucích cizorodých látek může víno obsahovat rezidua pesticidů, těžké kovy, nežádoucí aromata z korkových zátek apod.

Dnes převažují instrumentální metody, pro které je charakteristická jejich vysoká citlivost, rychlost, často vysoká selektivita a snížený vliv subjektivních faktorů lidské obsluhy. Význam instrumentální analýzy se zvětšuje s rostoucí potřebou zajišťování jakosti a jejího řízení v laboratořích i ve výrobě [16,17].

2.1 Legislativní aspekty hodnocení vín

Za účelem zajištění jakosti vína uváděného do oběhu je třeba jej úředně zatřídit. Úředně odebrané vzorky vína jsou předkládány současně s výsledky laboratorních analytických rozborů k sensorickému posouzení Komisi pro zatřídění vín, která je součástí Státní zemědělské a potravinářské inspekce (SZPI). Výběr vhodných laboratoří pro provádění analytických rozborů vína se řídí § 26 zákona č. 321/2004 Sb., podle kterého tyto laboratoře mohou být akreditované Českým institutem pro akreditaci nebo mohou být pro účely rozborů vína pověřeny SZPI. Metody používané pro rozbor vín jsou stanoveny Nařízením Komise (ES) č. 128/2004 a zkoumá se skutečný a celkový obsah alkoholu, obsah bezcukerného extraktu, těkavých kyselin, volný a celkový SO₂, cukr, relativní hustota, tlak, sacharóza, popel, alkalita popela, celkový obsah kyselin, pH a vázaná kyselost. Tyto parametry jsou uvedeny v Protokolu o zkoušce o analytickém rozboru (příloha 1) [20, 22, 23, 24].

2.2 Možnosti instrumentální analýzy

2.2.1 Přístroje pro základní rozbor

Laboratoře nabízející rozbor většími podnikům i menšími výrobci jsou vybaveny řadou komerčních přístrojů pro jednoduchou a rychlou analýzu. Například firma Foss Electric A/S dodává na trh přístroje řady Winescan FT 120. Ten pracuje na principu infračervené

spektroskopie s Fourierovou transformací – FTIR a využívá celé infračervené spektrum. Lze ho použít při stanovení molekulárních sloučenin, které jsou ve víně obsaženy v koncentraci nad $0,1 \text{ g.l}^{-1}$. K vlastnímu stanovení není zapotřebí téměř žádných chemických činidel. Přístroj provádí rychlou rutinní analýzu [17].

Vhodnou metodou pro analýzu vína je také kapilární izotachoforéza. Ve víně existuje celá řada ionogenních látek jako ukazatelů jeho kvality a stability. Jde zejména o organické kyseliny, alkalické kovy a kovy alkalických zemin, železo, měď, aminokyseliny, oxid siřičitý a další. Příkladem je izotachoforetický analyzátor IONOSEP 2003, na kterém lze stanovit osm organických kyselin, antinutriční dusičnan a šřavelan, draslík, sodík, vápník, hořčík a volný siřičitan [18].

Principy průtokové elektrochemie, coulometrie a coulometrických titrací využívá přístroj EcaFlow. Naměřený signál je korigován na signál pozadí získaného měřením roztoku čistého elektrolytu. Toto zařízení umožňuje také bezkalibrační stanovení stopových prvků jako Hg, Se, Zn, Cd, Pb, Cu, Mn již na koncentrační úrovni okolo 1 ng.l^{-1} [25, 37, 47].

2.2.2 Příklady analýz dalších složek vína

2.2.2.1 *Techniky analýzy „otisku prstu“*

Pro klasifikaci vín podle jejich původu, kvality, druhu a dalších charakteristik mohou být použity techniky „otisku prstu“, založené na analýze chemického složení a vícerozměrné statistiky. O identifikaci zeměpisného původu vína je velký zájem ze strany spotřebitelů i výrobců, neboť může poskytovat kritéria pro určení ceny i záruku kvality a původu vína.

Elementární prvky jsou buď přírodního původu z půdy, nebo antropogenní pocházející především z hnojiv a pesticidů. Bylo vypořádáno, že obsah elementárních prvků ve víně závisí na půdních podmínkách, druhu vinné révy a podmínkách výroby. Toto umožňuje definovat „otisk prstu“, tedy ochrannou známku označující regionální původ vína zvláště pro jakostní vína stanovených pěstitelských oblastí. Pro tyto multielementární analýzy jsou obecně vhodné techniky atomové spektrometrie. Lze jmenovat atomovou spektrometrii s elektrotermickou atomizací (GF-AAS – Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry), hmotnostní spektrometrii s indukčně vázaným plasmatem (ICP-MS –

Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy) a plamenovou AAS (FAAS – Flame Atomic Absorption Spectroscopy), použitou např. i pro analýzu českých vín pocházejících z vinic s přirozenými půdními podmínkami a z vinic vzniklých na rekultivovaných skládkách po těžbě hnědého uhlí v Mostecké oblasti [19, 33, 36].

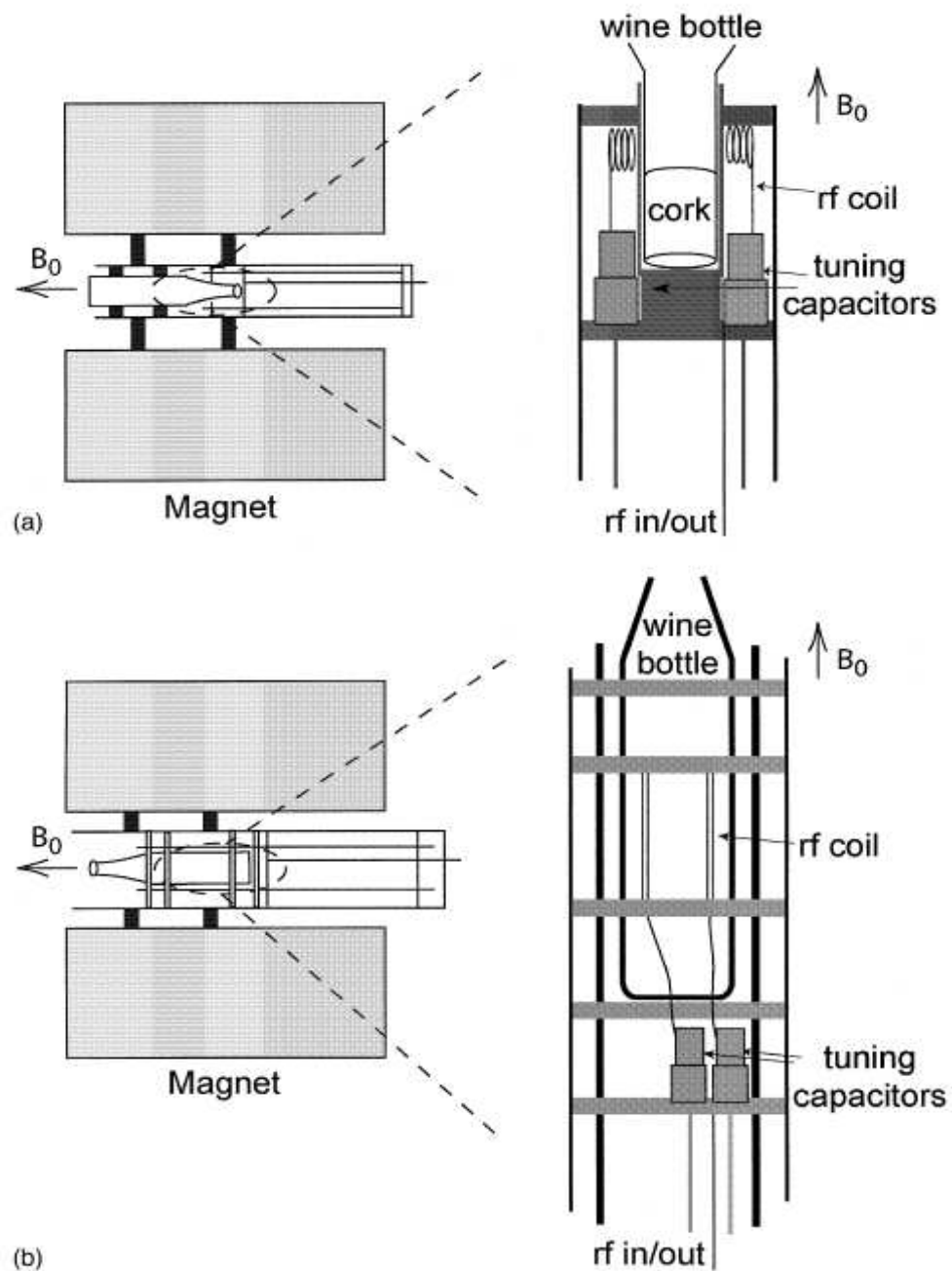
Použití FAAS je také popsáno pro stanovení Ca, Mg, Fe, Cu, Mn a Zn a atomové emisní spektrofotometrie (AES – Atomic Emission Spectroscopy) pro Na, K, Al, Sr. Lze použít i optickou emisní spektrometrii s indukčně vázaným plasmatem (ICP-OES – Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) [33, 36].

Také nukleární magnetická rezonance (NMR – Nuclear Magnetic Resonance) dává mnoho možností pro analýzy složek vína a tím následnou identifikaci výrobce a původu vína. Většina studií využívá přirozeného obsahu izotopu deuteria D (^2H) v nativních vzorcích. Metoda měření obsahu izotopu ^2H metodou NMR jako otisku prstu porovnává intenzitu úrovně spektra ^2H NMR pro píky HOD, -CHD- a -CH₂D z vody a ethanolu ve víně s databází známých vín. Obsah izotopu ^2H ve srážkách těsně souvisí s lokalitou na povrchu Země a obsah deuteria ve vodě se přes hrozny dostane do moštu a během fermentace do ethanolu.

Pro identifikaci stop aminokyselin ve víně a ke stanovení struktur organických molekul ve víně, například změn molekul taninů během stárnutí vína je možno použít multidimenzionální NMR s pulzní sekvencí [34].

2.2.2.2 Analýza vína v plné láhvi použitím NMR

Je také popsáno použití NMR v uzavřených lahvích vína bez nutnosti láhve otevřít a obsah tím znehodnotit. Kyselina octová, sacharidy, fenolické látky a stopové prvky jsou detekovány pomocí ^1H NMR a ^{13}C NMR. Kyselinu octovou lze jednoduše stanovit, protože statické magnetické pole je homogenní a chemický posun mezi protony metylové skupiny kyseliny octové a protony metylové skupiny ethanolu je 10^{-6} (1 ppm – přepočet, jednotka v SI neplatná, ale v NMR pro chemický posun běžně používaná). Voda, ethanol a kyselina octová jsou hlavní složky vína obsahující protony pro měření ^1H NMR v plné láhvi a dávají také dostatečnou informaci o možném znehodnocení vín [34].



Obr. 2: Analýza vína NMR v plné láhvi [34]

2.2.2.3 Analýza polysacharidů

Sterická exluzní chromatografie (SEC–GPC - Size Exclusion Chromatography-Gel Permeation Chromatography) byla vyvinuta pro separaci a kvantifikaci polysacharidů. Jsou popsány různé metody spektrofotometrické, použití GPC nebo iontově-výměnné chromatografie (IEC – Ion Exchange Chromatography). Tou lze analyzovat i kyselé a neutrální polysacharidy. K určení jejich koncentrace a monosacharidového složení

polysacharidové frakce těchto polymerů se dá použít plynová chromatografie (GC – Gas Chromatography). Zjednodušená metoda pro analýzu polysacharidů s určením jejich přibližné molekulové hmotnosti aplikuje extrakci polysacharidů precipitací, vstřík na kolonu GPC s UV detekcí nebo měřením indexu lomu (RI – Refractive Index) [26].

2.2.2.4 Analýza fenolických sloučenin

Z dalších komponent vína lze stanovovat monomery a oligomery fenolických sloučenin pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole (HPLC-DAD – High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector), nebo HPLC-MS. Pro rozdělení podle molekulové hmotnosti lze použít GPC. Polymery se poté dají stanovit technikou kapilární zónové elektroforézy (CZE - Capillary Zone Electrophoresis) nebo extrakcí na pevné fázi. Dají se také odhadnout stanovením tzv. indexu želatiny, který ale nedává informaci o jejich absolutním množství. Pigmenty červených vín lze analyzovat pomocí CZE a kvantifikovat spektrofotometricky. Antioxidanty se také analyzují metodami HPLC s UV-VIS nebo elektrochemickou detekcí [35, 38].

2.2.2.5 Analýza reziduí pesticidů

Obecně je obsah reziduí pesticidů regulován různými národními normami pro potraviny. Maximální limit reziduí (MRL – Maximum Residue Levels) je stanoven v hroznech na 0,01- 1,00 mg.l⁻¹. Pro vína nejsou stanoveny žádné jednotné limity. Během procesu výroby vína je obsah pesticidů sice značně redukován, ale jejich rezidua nebo metabolity mohou např. způsobit koloidní zákal. Používají se metody HPLC, GC, kapilární elektroforéza (CE) a GPC.

Potřebného vysokého zakoncentrování vzorku lze docílit kapalinovou chromatografií (LC – Liquid Chromatography) s reverzní fází, nebo kombinovat dva postupy zakoncentrování, nejprve mikroextrakcí na pevné fázi (SPME – Solid Phase MicroExtraction) a následně velký objem vzorku znovu zakoncentrovat za pomoci elektrody s obrácenou polaritou (REPSM – Reversed Electrode Polarity Stacking Mode). Použitím micelární elektrokinetické chromatografie (MEKC – Micellar ElectroKinetic Chromatography) s DAD detekcí se dají stanovit rezidua pesticidů i na úrovni 0,049 mg.l⁻¹ [27,29,39].

N-methyl karbamátové pesticidy lze analyzovat zředěním vzorků vodou a stanovením ionizací elektrosprejem s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-ESI /MS/MS – Electrospray Ionisation Mass Spectrometry) s přímým vstříkáním vzorků na krátkou kolonu. Tandemová MS využívající tři kvadrupóly eliminuje matricové efekty a dosahuje vynikající citlivost i s komplexní matricí. Efektivní je použití stabilního izotopicky označeného vnitřního standardu (IS – Internal Standard) [30].

2.2.3 Analýza chloroanizolů

Zatuchlé, nepříjemné aroma vínu dodává 2,4,6-trichloroanizol (2,4,6-TCA) a další chloroanizoly, přítomné v korkových zátkách. Tyto látky mohou syntetizovat houby a plísně, mohou vznikat z rozpadajících se produktů ligninu či chlorovaných sloučenin pocházejících například z roztoků pro bělení korku. Při sensorické analýze je identifikační práh koncentrace 4 - 10 ng.l⁻¹.

2,4,6-TCA lze stanovit metodou stopové analýzy headspace a mikroextrakcí na pevné fázi (HS-SPME) a GC s detektorem elektronového záchytu (GC-ECD – Electron Capture Detector). Při použití SPME není nutno vzorek dále zakoncentrovat, analyty jsou extrahovány přímo na pevnou fázi.

Pro izolaci a zakoncentrování těkavých sloučenin se používá pervaporace (PV - Pervaporation) založené na použití membránové separace. Té je dosaženo rozdílným tlakem par a různou propustností membrány. Principem je odpařování a difúze plynů. 2,4,6-TCA lze pak stanovit dvěma metodami, a to přímo GC-MS (PV-GC-MS/MS), a nebo lze použít kryogenní past a termální desorpci (CT-TD – Cryogenic Trap – Thermal Desorption), celkově pak PV-CT-TD-GC-MS/MS [31,32].

2.3 Obecné základy sensorické analýzy

Sensorickou analýzou rozumíme hodnocení potravin bezprostředně našimi smysly včetně zpracování výsledků lidským centrálním nervovým systémem. Analýza probíhá za takových podmínek, kdy je zajištěno objektivní, přesné a reprodukovatelné měření dle normy ČSN ISO 8589 (ISO – International Organization for Standardization)[28].

2.3.1 Hodnocení lidskými smysly

Senzorická analýza zahrnuje hodnocení chuti, vzhledu, vůně a textury. Zpracování vjemů lidským nervovým systémem je buď primární – vrozené, kdy je hodnocena kvalita a kvantita, nebo získané – asociační, vjem je srovnáván s předchozími zkušenostmi. Každá ze základních chutí je vnímána jinou částí jazyka, sladká na špičce, slaná a kyselá na bocích, hořká kořenem jazyka. Principem chuťového vjemu je vazba chuťově aktivních látek na bílkovinné receptory a přenos vzniklého vzruchu nervy do CNS, kde je vzruch dále zpracováván. Dále lze jmenovat chuť umami vyvolanou zvýrazňovači chutě (glutaman sodný, nukleotidy), nebo chuť palčivou, svíravou, kovovou. Primární příčinou trpké, adstringentní chuti jsou interakce proteinů slin s taniny. Tyto interakce vedou k denuraci proteinů ve slinách a ke ztrátě jejich ochranného vlivu. V důsledku toho dochází k interakci s proteiny ústní dutiny a vzniku svíravé chuti [14, 15, 28].

Podle normy ISO 5492 se organoleptická vlastnost vnímaná čichovým orgánem nazývá pach. Vůně je vnímána nadechnutím do nosní dutiny, aroma do nosní dutiny přichází z dutiny ústní. Čichové receptory jsou umístěny na sliznici stropu nosní dutiny. „Flavour“ je komplexní vjem čichového smyslu a chuti.

Zrakovým smyslem člověk vnímá elektromagnetické záření o vlnové délce 380 až 780 nm. Oko je schopno rozeznat intenzitu světla, odstín, světlost a sytost zbarvení. Ze sluchových podnětů se v sensorické analýze uplatňují šelesty a hřmoty. Hmatové smysly jsou taktilní (receptory sídlí v pokožce a sliznicích), který informuje zejména o vlastnostech povrchu, a kinestetický, sloužící k identifikaci křehkosti, elasticity, tvrdosti apod. [13, 28].

2.3.2 Hodnotitelé a metody hodnocení

Pro sensorickou analýzu je nutno mít skupinu hodnotitelů, kteří se dle normy ČSN ISO 8586-1 dělí do tří skupin: Bez odborného vzdělání a s názory spotřebitelů jsou hodnotitelé neboli konzumenti – laici, a zasvěcení hodnotitelé, kteří se už sensorické analýzy účastnili. Další skupinou jsou vybraní hodnotitelé, kteří byli vycvičeni a třetí skupina zahrnuje experty, jež mohou být opět dvojího typu, a to expert posuzovatel nebo specializovaný expert posuzovatel. Školení hodnotitelé a experti jsou cvičeni řadou úloh na určení chuťové paměti, prahové citlivosti základních chutí, rozdílových prahů základních chutí, rozeznání druhů vůně a podobně [13, 28].

Při sensorické analýze je nutno eliminovat negativní vlivy působící na hodnotitele. Je nutno zařazovat pauzy a použít neutralizátory chuti, aby předchozí vjem neovlivnil hodnocení vjemu následujícího. Vzorek se musí podávat v dostatečném množství a o správné teplotě, kapalný obvykle v množství 15 - 20 ml, tuhého asi 20 - 30 g. Nutné je zachování anonymity vzorku. Jako první se hodnotí stejně jako při běžné konzumaci barva a vzhled, následuje hodnocení textury. V ústní dutině hodnotitel sleduje kromě chutě i změny intenzit a vývoj jednotlivých chutí [13,28].

2.3.3 Sensorická laboratoř

Uspořádáním sensorické laboratoře se zabývá norma ISO 8589.8. Laboratoř by měla být umístěna v klidné části budovy, rozdělena na zkušební prostor s jednotlivými kójiemi. Místnost musí působit neutrálně, se stálou teplotou a vlhkostí, osvětlení by mělo odpovídat rozptýlenému dennímu světlu.

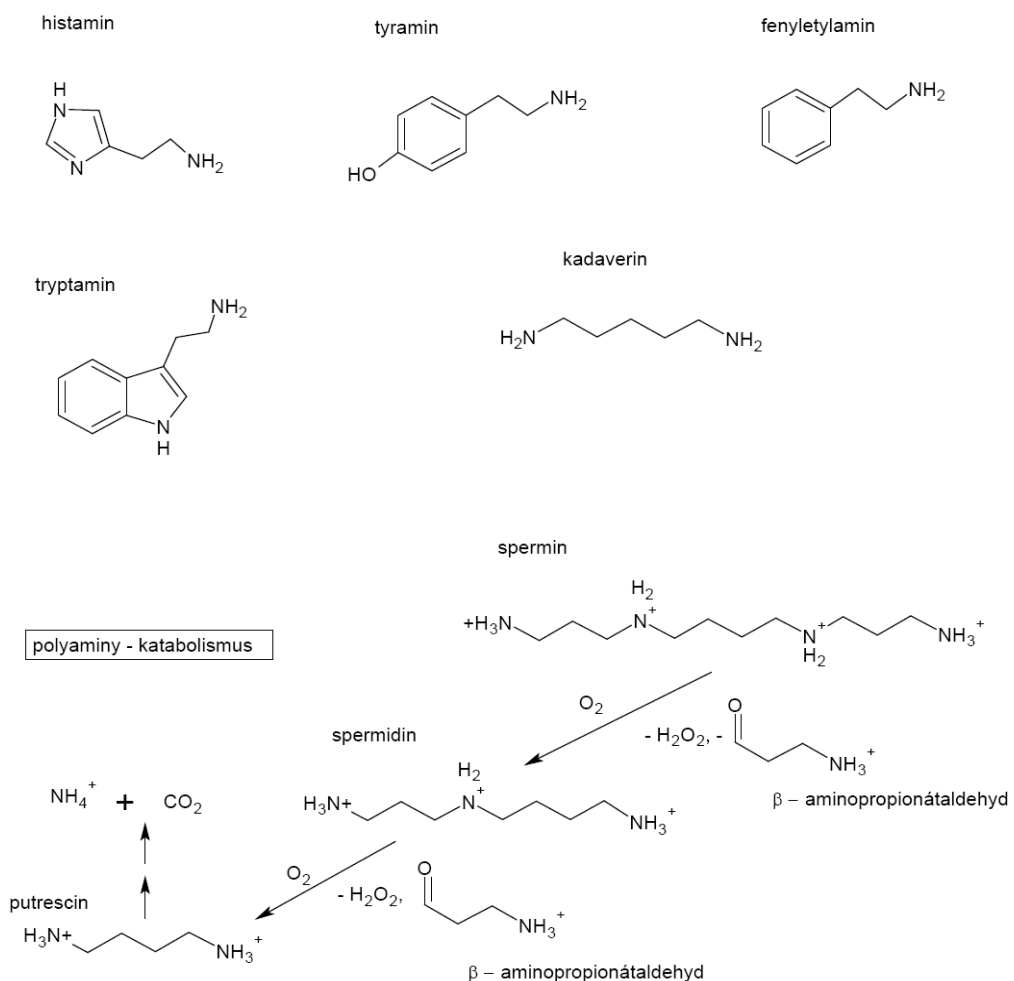
V poslední době se vyskytují snahy o zavedení instrumentálních metod pro hodnocení sensorické jakosti. Tyto metody mají řadu výhod – reprodukovatelné výsledky, jednoduché provedení, malé časové nároky, jednoduché zpracování statistickými metodami. Dají se jimi měřit fyzikální či chemické vlastnosti výrobku odpovídající sensorickým počítům a vjemům. Instrumentálně lze měřit např. barvu, některé texturní vlastnosti, aromatické látky.

Sensorická analýza potravin patří mezi základní kontrolní metody kvality potravin. Dodržování požadavků na jakost potravinářských výrobků dozoruje u nás Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI) a Státní veterinární správa ČR [13].

3 BIOGENNÍ AMINY A LIDSKÝ ORGANIZMUS

Aminy jsou jednoduché dusíkaté sloučeniny, v nichž jeden, dva nebo všechny tři atomy vodíku z amoniaku jsou nahrazeny alkylovou nebo arylovou skupinou. Jsou to alifatické, aromatické nebo heterocyklické báze [42].

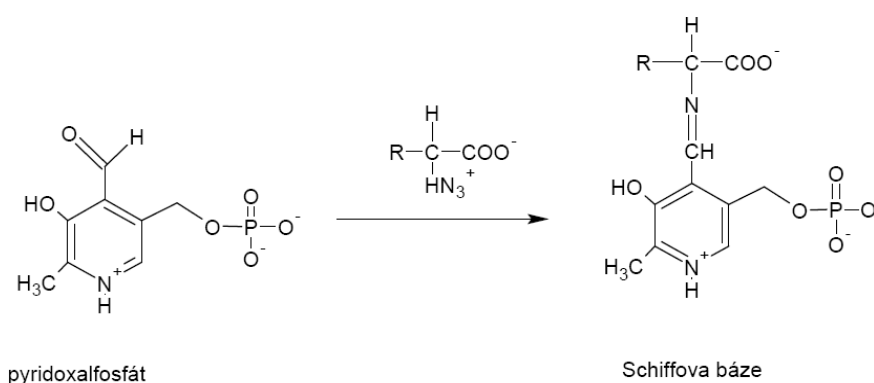
V rostlinných materiálech se vyskytují jako jejich přirozená součást, často jako konjugáty se skořicovými nebo mastnými kyselinami a jako deriváty (protoalkaloidy). V potravinách vznikají biogenní aminy (BA) působením endogenních enzymů, kontaminující mikroflórou a ve fermentovaných potravinách působením mikroorganismů ze startovacích kultur. Za nejvýznamnější BA v potravinách jsou považovány histamin (HI), tyramin (TY), tryptamin (TRP), putrescin (PU), kadaverin (CAD), spermin (SP), spermidin (SPM), p-fenylethylamin (PHE) [15, 41,66].



Obr. 3: Biogenní aminy a katabolismus polyaminů v savčích tkáních [72, 74]

3.1 Vznik a význam biogenních aminů

Vznikají působením enzymů *dekarboxyláz* z aminokyselin nebo *transamináz* z aminokyselin a karbonylových sloučenin, při jejich transformaci na další biologicky aktivní produkty se uplatňují také *oxygenázy* a *metyltransferázy*. Dekarboxylace aminokyselin probíhá dvěma mechanismy, bez účasti pyridoxalfosfátu jako koenzymu nebo za jeho účasti, kdy karbonylová skupina pyridoxalfosfátu reaguje s aminokyselinou za vzniku Schiffovy báze jako meziprojektu. Poté nastává dekarboxylace a vznik odpovídajícího aminu [41, 45].



Obr. 4: Reakce pyridoxalfosfátu s aminokyselinou za vzniku Schiffovy báze [74]

BA produkují bakterie rodu *Enterobacteriae*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* a další. BA jsou přírodní antinutriční faktory, jsou sledovány z hygienického hlediska jako původci alimentárních otrav. Jsou schopny iniciovat různé farmakologické reakce. Polyaminy se zřejmě podílejí na růstu a množení buněk, což je příznivé např. při hojení ran a naopak velmi nežádoucí při nádorovém onemocnění [42].

3.2 Působení biogenních aminů na lidský organismus

BA jsou látky, které se tvoří a zase rozkládají během obvyklých metabolických procesů v živých buňkách.. Některé mají významné farmakologické účinky, obvykle psychoaktivní nebo vazoaktivní, jiné se uplatňují jako hormony nebo jako jejich prekurzory, další jsou stavebními jednotkami koenzymů a jiných biologicky účinných látek [65].

Tab. 6: Význam některých biogenních aminů v organismu [40]

Mateřská aminokyselina	Produkt dekarboxylace-příslušný amin	výskyt a význam
serin	ethanolamin(\rightarrow cholin)	fosfolipidy
treonin	propanolamin	vitamin B ₁₂
cystein	cysteamin	koenzym A
metionin	\rightarrow spermidin, spermin	sperma, ribozomy
asparagová kyselina	β -alanin	koenzym A, pantotenová kys.
glutamová kyselina	γ -aminomáselná kyselina	mozek (blokuje ganglia)
lyzin	kadaverin	ribozomy, bakterie
ornitin	putrescin	ribozomy, bakterie
arginin	agmatin	bakterie (střevní flora)
tyrozin	tyramin	kontrakce dělohy
3,4-dihydroxyfenylalanin	dopamin	tkáňový hormon
DOPA	\rightarrow adrenalin	\rightarrow hormon
histidin	histamin	krevní tlak, sekrece žal. šťávy
tryptofan	tryptamin	hormon
5-hydroxytryptofan	serotonin(\rightarrow melatonin)	tkáňový hormon (\rightarrow hormon)

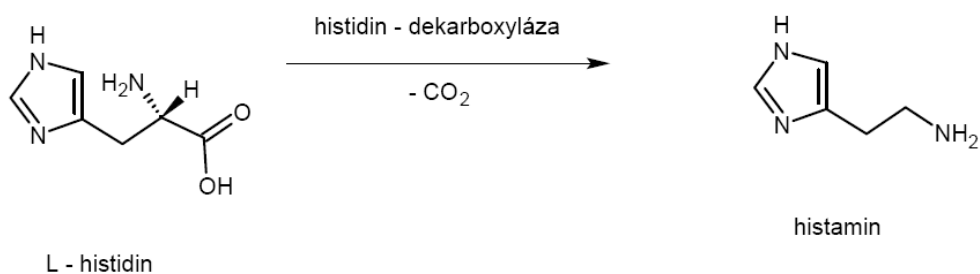
3.2.1 Význam a působení histaminu

Nejznámější histamin je silně bazický a velmi biologicky aktivní. Má významnou úlohu jako mediátor některých nervových spojů a při vzniku alergií. V mozku je přítomen v histaminoergních neuronech. Má vztah k řízení pozornosti, sexuálního chování a k regulaci krevního tlaku, příjmu tekutin a prahu pro bolest, vyvolává kontrakci hladkých svalů. Uvolňuje se i při poškození tkání a vyvolává místní známky zánětu [40, 63, 64].

Nachází se i v buňkách žaludeční sliznice, kde se podílí na sekreci žaludeční šťávy. Má vazodilatační účinky a zvyšuje permeabilitu kapilár, což vede ke vzniku otoků. Jeho vliv se uplatňuje vazbou na specifické receptory v kardiovaskulárním systému a v různých sekrečních žlázách. Dosud byly objeveny čtyři typy receptorů, H₁ - H₄. Za spuštění obranných reakcí organismu a kontrakci hladké svaloviny jsou zodpovědné H₁ receptory. Stimulace H₂ receptorů způsobuje mimo jiné zvýšenou sekreci žaludečních šťáv. Aktivita

H₃ receptorů ovlivňuje cévní stahy a aktivitu gastrointestinálního traktu. Receptory H₄ se nacházejí v bílých krvinkách a v kostní dřeni [59,62, 64].

Histamin je přirozeně přítomen v krvi v koncentraci 25-130 mg.l⁻¹. Intoxikace histaminem se projevuje příznaky jako jsou zvracení, průjemy, bolesti hlavy, svědění, návaly horka, pocení. Je historicky prvním popsaným mediátorem alergických reakcí. Nejběžnější alergický mechanismus je reakce zprostředkovaná imunoglobuliny třídy IgE, na které se naváže alergen a histamin se uvolní z žírných buněk a bazofilů. Tato fáze nastupuje během několika minut, kdy nastanou klinické obtíže. Opakovaný kontakt s alergenem vede k chronickým potížím jako astma, atopický ekzém, zažívací potíže [41, 43, 60, 61].



Obr. 5: Vznik histaminu dekarboxylační reakcí [64]

3.2.2 Význam tyraminu a katecholaminů

Tyramin a podobně i tryptamin a β-fenyletylamin jsou vazokonstrikční aminy. Tyramin provokuje uvolnění noradrenalinu ze sympatiku a zvýšení arteriálního krevního tlaku. Působením tyraminu se také zrychluje dýchání, zvyšuje se slzení a slinění a obsah glukózy v krvi. Podobně β-fenyletylamin způsobuje uvolnění norefedrinu a tím také zvýšení krevního tlaku. Příznakem otravy těmito aminy jsou také záchvaty migrény [43].

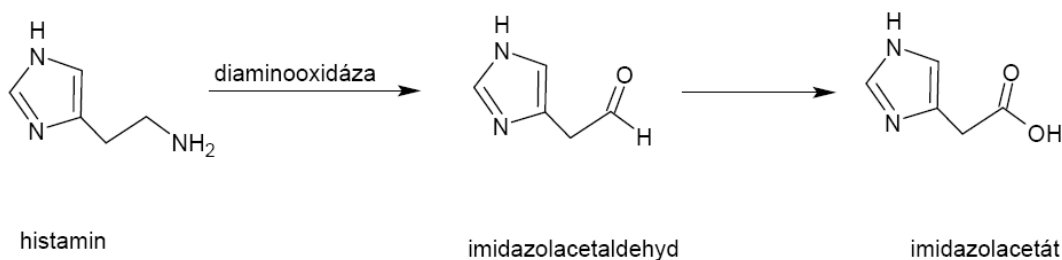
Dalšími jsou hormony a neurotransmitery katecholaminy, syntetizované z tyrozinu (dopamin noradrenalin, adrenalin). Dekarboxylací 5-hydroxytryptofanu vzniká neurotransmitter serotonin. Vyskytuje se v gastrointestinálním traktu savců a také v mozkové tkáni. Je regulačním biogenním aminem organismu. Je inaktivován aerobní deaminací katalyzovanou enzymem *monoaminoxidázou* (MAO) za tvorby 5-hydroxyindolové kyseliny, která se vylučuje močí [40, 41].

3.3.1 Enzymy katalyzující degradaci biogenních aminů

Aminooxidázy jsou flavoproteiny, které dehydrogenují aminy na iminy. Tyto se pak dále hydrolyzují za vzniku amoniaku a aldehydu, který snadno přechází na konečný metabolický produkt, příslušnou karboxylovou kyselinu. Podle substrátové specifity rozlišujeme *monoaminooxidázy (MAO)* a *diaminooxidázy (DAO)*. Serotonin je inaktivován aerobní deaminací katalyzovanou *MAO* za tvorby 5-hydroxyindolové kyseliny vylučované močí.

Enzym *DAO* je zodpovědný za degradaci HI, PU, CAD a dalších v tenkém střevě a jeho činnost je vysoce závislá na koncentraci substrátu. Enzym *N-metyltransferáza* má jako kofaktor *S-adenosylmetionin* a je přítomen i v cytosolu buněk dřeně nadledvin [50].

Histamin se metabolizuje přes metylované deriváty i přímou oxidativní deaminací za vzniku imidazolacetátu jako konečného metabolitu. Reakci katalyzuje *DAO* [40]



Obr. 7: Degradace histaminu na imidazolacetát [40]

3.3.2 Detoxikační systém organismu

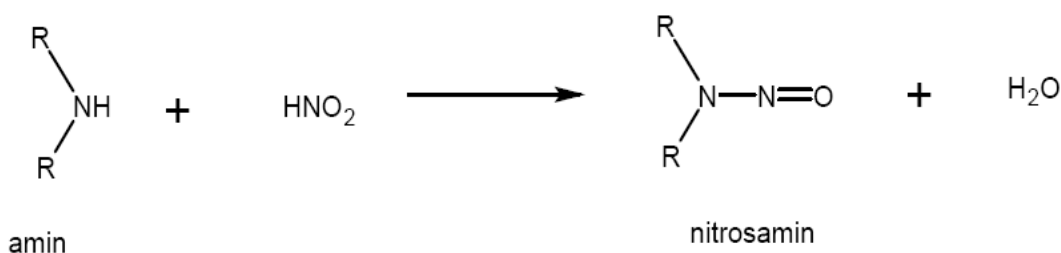
Škodlivé účinky vyplývající z konzumace potravin bohatých na BA se projeví, pokud jsou tyto látky inkorporovány do krevního řečiště. Zkoumá se vztah mezi obsahem BA, především histaminu v poživatinách, jeho toxickým působením a jeho tolerancí lidským organismem. Výskyt nepříznivých symptomů po požití určitého množství BA se mezi jednotlivci značně liší. Intolerance souvisí se sníženou aktivitou gastrointestinální *DAO*. Rozdíly v detoxikačních mechanismech lidského organismu mohou existovat mezi pohlavím i mezi lidmi různých věkových kategorií. Jako inhibitory *MAO* a *DAO* působí i polyaminy PU, CAD, SP, SPM.. Tyramin inhibuje *MAO*, tryptamin *DAO*. Fenyletylamin je inhibitor *DAO* a *HMT*. Přítomnost etanolu a acetaldehydu může vyvolat i uvolnění endogenního histaminu a tím způsobit intoleranci. [41, 43, 53].

3.3.3 Toxikologické aspekty a limity

Toxické limity BA nejsou přesně stanoveny, zavádějí se spíše přibližné limity. Obecně lze říci, že 8-40 mg histaminu může způsobit mírné otravy a více než 100 mg těžké otravy podle citlivosti daného jedince. Tyramin v dávkách 10-80 mg může způsobit toxické otoky a více než 100 mg migrény. Prahová dávka fenyletylaminu pro vznik migrény je pouze 3 mg. Například Švýcarsko uvádí limity obsahu histaminu ve víně 10 mg.l⁻¹, Německo 2 mg.l⁻¹, Belgie 5-6 mg.l⁻¹, Francie 8 mg.l⁻¹. Navržené hodnoty pro sýr a kysané zelí jsou 300 mg.kg⁻¹ pro součet tyraminu, histaminu, putrescinu a kadaverinu. [41,44,53].

3.3.4 Vznik nitrosaminů

Aminy obsahující sekundární aminoskupinu (SP, SPM a další) jsou také studovány jako prekurzory vzniku nitrosaminů. Mohou reagovat s kyselinou dusitou a jejími solemi za tvorby *N*-nitrosaminů. Ty představují velmi silné kancerogeny, které mohou být přítomny v řadě potravin, zejména v masných výrobcích zpracovávaných dusitanem sodným. Ve fermentovaných nápojích jako pivo, víno se nevyskytují prakticky žádné dusitany, ty však mohou být přítomny v gastrointestinálním traktu z jiných potravin a mohou reagovat *in vivo* se sekundárními aminy z potravin reakcí katalyzovanou enzymy střevní mikroflóry. Po spotřebě potravin s obsahem dusitanů a aminů bylo sledováno významné zvýšení nitrosaminů v moči [41,44,46,53].



Obr. 8: Vznik nitrosaminů [43]

4 ANALYTICKÉ METODY VHODNÉ PRO SLEDOVÁNÍ BIOGENNÍCH AMINŮ

4.1 Sledování biogenních aminů v potravinách

BA v potravinách jsou sledovány jednak z důvodu jejich potenciální toxicity a také pro jejich využití jako markerů kvality potravin. Pro izolaci a kvantifikaci BA byly zveřejněny různé metody, ale neexistuje jednotná analytická metoda vhodná pro jejich stanovení ve všech potravinách. Typickými problémy jsou komplexní matrice vzorku a přítomnost potenciálně rušivých sloučenin. V jednom výluhu se často vyskytuje více BA, proto analytické postupy umožňují jejich rozdělení a následnou kvantifikaci. Z analytických metod lze využít tenkovrstvou chromatografii (TLC – Thin Layer Chromatography), instrumentální chromatografické metody a metody kapilární elektroforézy (CE). Všechny uvedené metody zahrnují dva hlavní kroky, tzn. extrakci aminů z matrice včetně čištění surového extraktu a poté vlastní stanovení. Interference několika neznámých faktorů si často vyžádá zařazení dalších separačních kroků [41,48,49].

4.2 Stanovení biogenních aminů instrumentálními chromatografickými metodami

Za nejvhodnější metodu pro analytické stanovení BA je považována HPLC s reverzní fází (RP HPLC) pro svou citlivost a vysoké rozlišení. Často je využívána analýza na automatickém analyzátoru aminokyselin (AAA – Amino Acid Analyzer), který pracuje na principu ionto-výměnné chromatografie. Lze použít i některé techniky plynové chromatografie (GC) [51,53].

4.2.1 Derivatizace

Chromatografické metody vyžadují derivatizační kroky z důvodů umožnění separace a detekce, zvýšení citlivosti, rozlišení a zamezení nežádoucí sorpce látek na koloně. Derivatizace může probíhat před kolonou, za kolonou nebo na koloně. Všechny způsoby derivatizace mají vliv na eluční charakteristiky separovaných látek.

U předkolonové derivatizace musí být derivát dostatečně stabilní, reakce musí probíhat kvantitativně, selektivně a bez vedlejších produktů, měla by probíhat za mírných reakčních

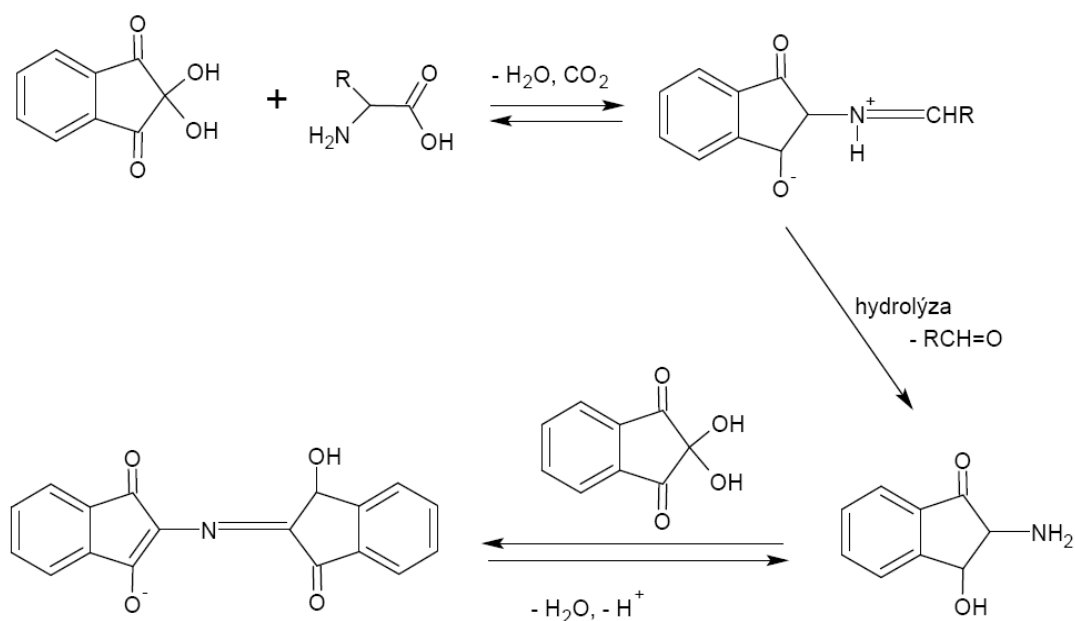
podmínek. Případný nadbytek derivatizačního činidla musí být separovatelný od svých produktů na koloně a měl by mít jiné fyzikálně-chemické vlastnosti. Pro derivatizaci před kolonou bývá používán například dansylchlorid.

Postkolové derivatizační reakce nemusí probíhat kvantitativně a mohou být neselektivní, rozhodující je totiž dobrá reprodukovatelnost. Vedlejší produkty nejsou na závadu. Reakce musí probíhat rychle, lze použít i extrémní podmínky jako pH a teplotu. Pro tyto metody jsou typické vyšší náklady na techniku, výhodou je automatizace procesu.

Stanovení těchto sloučenin metodami HPLC je vzhledem k jejich struktuře limitováno nepřítomností vhodného chromoforu v molekule, proto vlastní kvantifikace těchto sloučenin není možná bez derivatizace. Aminy ani aminokyseliny nemají dobré absorpční vlastnosti v UV-VIS oblasti a nelze je bez derivatizace stanovit ani fluorimetricky [52].

4.2.1.1 Činidla pro detekci v UV-VIS oblasti

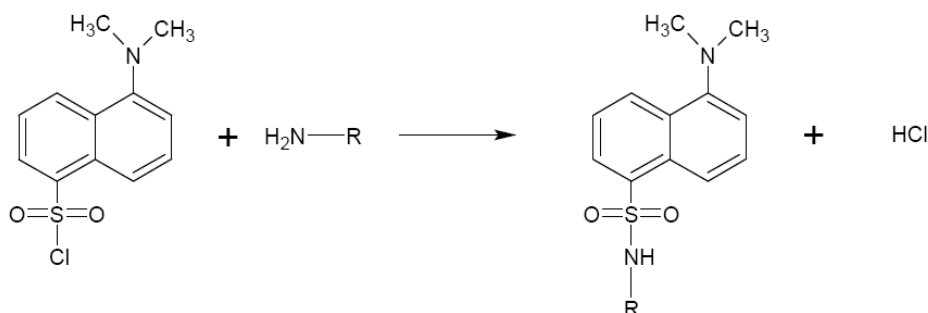
V automatických analyzátoch aminokyselin běžně používaný ninhydrin poskytuje deriváty pro detekci v oblasti ultrafialového a viditelného světla a reakce probíhá dle schématu níže (obr. 9), kdy molekula aminu reaguje se dvěma molekulami ninhydrinu za vzniku tzv. Ruhemanova purpuru. Maximum absorpce je při 570 nm. Reakce probíhá za kolonou při teplotě 100 – 135 °C po dobu 1-2 minut.



Obr. 9: Derivatizace ninhydrinem[58]

4.2.1.2 Činidla pro fluorimetrickou detekci

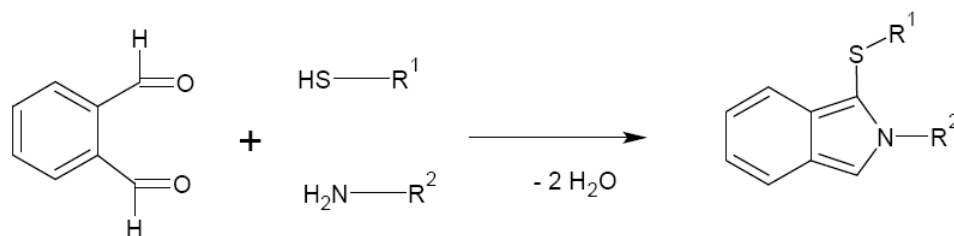
Do stanovované molekuly je zavedena reagující skupina za vzniku produktu vykazujícího fluorescenční vlastnosti. Deriváty vykazují limity detekce až o tři řády nižší než deriváty detekované v oblasti UV-VIS. Z nejstarších činidel je třeba uvést dansylchlorid (Dns-Cl), 5-*N,N*-dimethylaminonaftalen-1-sulfonylchlorid. a jeho analogy. Reaguje v mírně alkalickém prostředí a dansylderiváty vykazují excitační záření při 340-380 nm a fluoreskují při 470-530 nm. Reakce probíhá výhradně před kolonou.



Obr. 10: Reakce aminosloučenin s dansylchloridem [72]

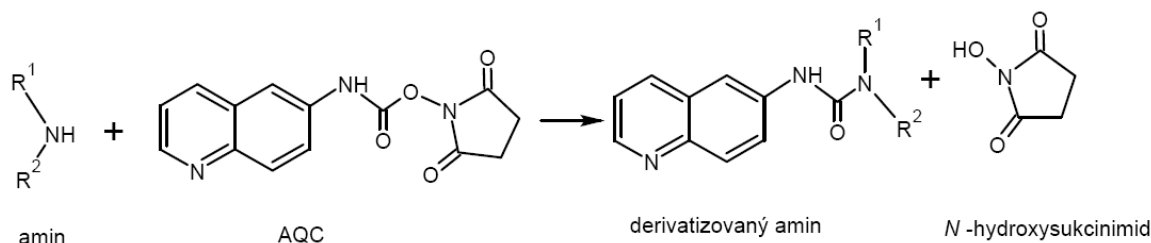
Dále je možno derivatizovat pomocí karbonylchloridů, halogenitrobenzofuranů, isokyanátů a tioizokyanátů, fluorescaminu a Schiffových bází.

Ze Schiffových bází je nutno zmínit *o*-phthalaldehyd (OPA)/alkylthiol, velmi často používaný při postkolonové i předkolonové derivatizaci. Excitační maxima jsou kolem 340 nm a emisní maxima kolem 450 nm. OPA sám nefluoreskuje, ale deriváty mají vynikající fluorescenční výtěžky.



Obr. 11: Reakce OPA s primárními aminy [58]

Z novějších předkolonových derivatizačních činidel lze jmenovat i 6-aminochinolyl-*N*-hydroxysukcinimidyl karbamát (AQC), kdy deriváty fluoreskují při 395 nm nebo mohou být monitorovány při 254 nm UV detektorem. Jedním z dalších je 9-fluorenylmetyloxykarbonylchlorid (FMOC-Cl)



Obr. 12: Derivatizační reakce AQC s aminy [57]

Při stanovení BA metodami GC-MS se používá jako derivatizační činidlo pentafluorbenzaldehyd.[51, 52, 57, 58]

4.3 Metody stanovení biogenních aminů ve víně

BA se tvoří během různých stupňů výroby vína, jejich obsah je ve víně mnohem vyšší než v moštu. Během alkoholové fermentace je vznik aminů dle některých autorů způsoben metabolismem kvasinek. Zvláštní význam přitom náleží hodnotě pH, protože při vyšší hodnotě než 3,6 jsou podporovány bakteriální přeměny. Prokvášení čistými kulturami kvasinek má také za následek vyšší tvorbu biogenních aminů ve srovnání se spontánní fermentací. Nekontrolovatelná malolaktická fermentace způsobená bakteriemi druhu *Pediococcus* vede rovněž ke zvýšené tvorbě zejména histaminu. Zvýšený obsah především kadaverinu, putrescinu a histaminu lze považovat za znak nedostatečné hygieny ve sklepě. Hotové víno obsahuje vysokou úroveň volných aminokyselin a ty mohou být dekarboxylovány reziduální mikroflórou. Také enzymová aktivita přetrvává i po vymizení populace životaschopných bakterií. Aminokyseliny mohou být při zrání vína uvolňovány i degradací kvasinek. Obecně více BA je v červených vínech a ve většině vín je nejrozšířenějším aminem PU. HI a TY jsou produkovány spíše na začátku procesu zrání

Dodatečně mohou být biogenní aminy odstraněny čirícími prostředky. Nejlepší účinek omezující histamin vykazuje použití bentonitu, dá se použít i aktivní uhlí [43, 52].

4.3.1 Metody extrakce biogenních aminů ze vzorku

Výhodou extrakce je odstranění rušivých látek z matrice. Starší metody popisují extrakci ze vzorků různými činidly, např. s využitím sloučenin s metylenchloridem, nebo průchodem vzorku iontoměničím a elucí NH_3 . OPA-deriváty se dají extrahovat etylacetátem. Pro metodu bez derivatizace byl použit NaOH, saturace do NaCl a aminy byly extrahovány butanolem [68, 69, 70].

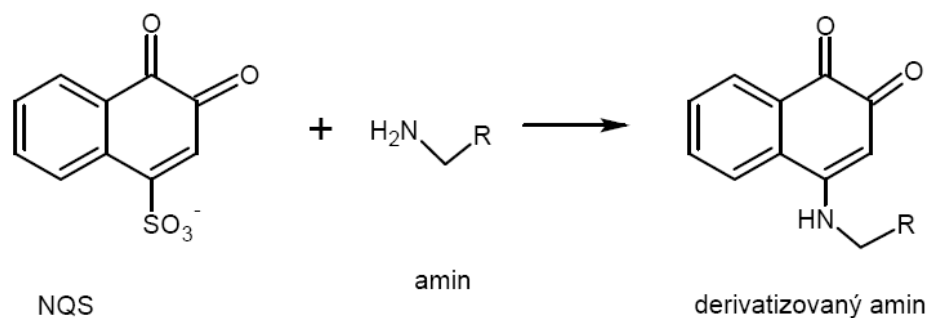
Při vynechání extrakčních kroků jsou výsledné chromatogramy složité, neboť víno obsahuje další sloučeniny s aminoskupinou a z nich derivatizací vznikají další fluorescenční deriváty. Je popsán vývoj metody extrakce aminů na pevné fázi (SPE) s následnou derivatizací AQC a stanovením metodou HPLC. Tato metoda je ve srovnání s přímými metodami považována za vysoce efektivní s nízkými detekčními limity [52].

4.3.2 Chromatografické a MS metody

Pro stanovení BA je nejčastěji používaná technika HPLC s před- nebo postkolonovou derivatizací. V poslední době se pod novým obchodním názvem UPLC používá další generace HPLC. Od stávajících přístrojů se odlišuje menšími částicemi stacionární fáze v krátké koloně. Výhodou je kratší čas analýzy, nižší spotřeba rozpouštědel a zvýšení kapacity. Pro stanovení těkavých derivátů BA lze použít i GC. V poslední době je rostoucí zájem o hmotnostní spektrometrii s ionizací elektrosprejem (ESI-MS), neboť lze stanovit BA přímo z roztoku bez předchozí derivatizace [67].

Nejběžnější metoda stanovení s předkolonovou derivatizací OPA byla použita jako referenční s metodou předkolonové derivatizace AQC a postkolonové OPA. Vzorky byly analyzovány RP-HPLC. Použití AQC jako derivatizačního činidla se ukázalo výhodnější než OPA, neboť AQC poskytuje stabilnější sloučeniny a lepší selektivitu [54].

Z modernějších metod lze zmínit ionto-výměnnou chromatografii s postkolonovou on-line derivatizací 1,2-naftochinon-4-sulfonátem (NQS), produkty jsou poté detekovány spektrofotometricky při 305 nm [55].

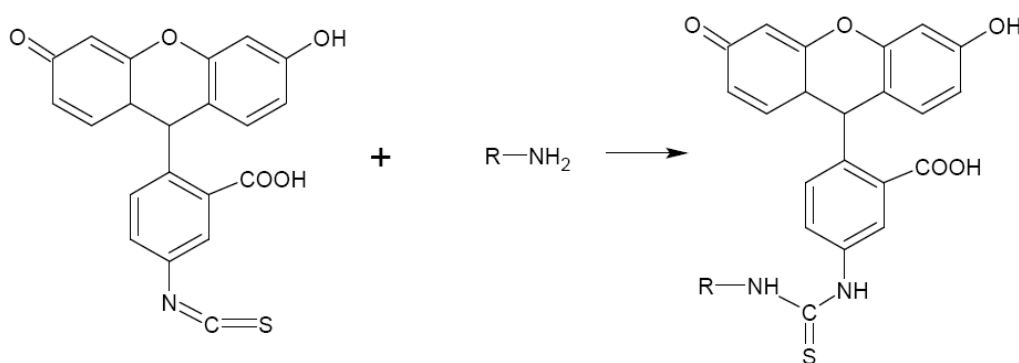


Obr. 13: Derivatizační reakce NQS s aminy [73]

4.3.3 Elektroforetické metody

Velmi rychlé a selektivní stanovení v tak složité matrici jako je víno poskytují také elektroforetické metody. V posledních letech tyto metody prošly obrovským vývojem. Proti HPLC technikám nabízí mnoho výhod. Jsou charakteristické vyšší účinností kolony (až 10^6 teoretických pater), menším objemem vzorku, vysokou selektivitou a citlivostí. BA jsou kvantifikovány pulzní ampérometrickou nebo pulzní elektrochemickou detekcí [71].

Je také popsána metoda použití MEKC spojené s laser-indukovanou fluorescencí (CE-LIF – Capillary Zone Electrophoresis with laser-Induced Fluorescence) pro stanovení korelace mezi obsahem aminokyselin a BA v průběhu daného času. Jako derivatizační činidlo byl použit fluorescein isotiokyanát (FITC). Podobně je popsána metoda MEKC s derivatizací AQC. Metody jsou rychlé a spolehlivé [56,57,71].



Obr. 14: Derivatizační reakce mezi FITC a aminy [58]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Diplomová práce je zaměřena na studium obsahu biogenních aminů v archivních vínech, doplněné o senzoryckou analýzu a stanovení základních charakteristik vín. Bylo zkoumáno celkem šestnáct vzorků archivních vín ze stejných viničních tratí a od stejných výrobců, dva druhy bílého vína po pěti vzorcích po sobě jdoucích ročníků a dva druhy červeného vína, po třech vzorcích opět po sobě jdoucích ročníků.

Pojem „archivní vína“ značí vína lahвовě zralá, vyráběná z nejkvalitnějších vín s typickou odrůdovou vůní a chutí. Podle §9 vyhlášky 323/2004 Sb. lze jako archivní víno označit pouze takové víno, které je uváděno do oběhu nejméně tři roky po roku sklizně.

Vína se lahvuji v optimální sudové zralosti. To znamená, že víno ukončilo oxidační procesy a je trvanlivé. Tomu předchází úprava analytických hodnot a stabilizace. Vína mají mít dostatek alkoholu, kyselin, malé množství zbytkového cukru a obsah oxidu siřičitého doplněný na hranici normy. Potom je určitá záruka pomalého stárnutí. Láhve se uloží do chladného a temného sklepa. Víno zde dál mění své vlastnosti a jeho kvalita se zlepšuje. Změny ve složení nalahvovaného vína probíhají pomaleji než v sudech. Zpočátku se více uvolňují buketní látky a tvoří se estery, kvalita vína stoupá. Po dosažení nejvyššího stupně lahvové zralosti se na určitý čas vývoj vína zastaví a stabilizuje, protože se již v něm nemá co zlepšovat. Delším ležením v lahvách potom dochází postupně k tvorbě „stařinky“, která z vína stále více vystupuje a jeho chuťové a buketní látky znehodnocuje.

Cílem práce je analýza vzorků archivních vín třemi metodami. Jako první je provedena senzorycká analýza, následovaná látkovým rozborem a analýzou biogenních aminů. Obsah biogenních aminů ve víně je možno stejně jako u jiných potravin považovat za kvalitativní kritérium.

Na základě teoretické části a zhodnocením praktických analýz je cílem formulovat závěry a doporučení z nalezených souvislostí mezi obsahem základních chemických látek, obsahem biogenních aminů a výsledky senzorycké analýzy.

6 MATERIÁL A METODY

6.1 Vzorky vín použité v analýze

Archivní vína jsou stejných odrůd, hrozny na jejich výrobu pocházejí ze stejné viniční tratě, jsou vyrobená stejnou technologií a stejnými výrobci.

Vinařství Celnar Lubomír: Vinařská oblast Morava, vinařská podoblast mikulovská, vinařská obec Vranovice, viniční trať Vinohrádky

Tab. 8: Vzorky bílých vín – vinařství Celnar L.

Bílá vína				
odrůda	zkratka	ročník	zatřídění	zkratka
Ryzlink vlašský	RV6	2006	Pozdní sběr	PS
	RV5	2005	Pozdní sběr	PS
	RV4	2004	Pozdní sběr	PS
	RV3	2003	Pozdní sběr	PS
	RV2	2002	Pozdní sběr	PS
Kerner	K7	2007	Výběr z hroznů	VH
	K6	2006	Výběr z hroznů	VH
	K5	2005	Pozdní sběr	PS
	K4	2004	Pozdní sběr	PS
	K3	2003	Výběr z hroznů	VH

Tab. 9: Vzorky červených vín- vinařství Celnar L.

Červená vína				
odrůda	zkratka	ročník	zatřídění	zkratka
André	A5	2005	Jakostní víno	JV
	A4	2004	Jakostní víno	JV
	A3	2003	Jakostní víno	JV

Vinařství Plešingr, spol. s r. o.: Vinařská oblast Morava, vinařská podoblast mikulovská, vinařská obec Popice, viniční trať Svidrunk

Tab. 10: Vzorky červených vín – vinařství Plešingr, spol. s r. o.

Červená vína				
odrůda	zkratka	ročník	zatřídění	zkratka
Rulandské modré	RM6	2006	Výběr z hroznů	VH
	RM5	2005	Výběr z hroznů	VH
	RM4	2004	Výběr z hroznů	VH

6.2 Metody stanovení

6.2.1 Senzorická analýza vína

Charakteristické aroma vína vzniká komplikovanými reakcemi mnoha sloučenin. Jen zřídka je odrůdové aroma způsobeno jednou nebo několika málo látkami. Ve víně bylo identifikováno mnoho různých aromatických sloučenin, jen esterů bylo rozlišeno nad 160. Většina těchto těkavých látek se vyskytuje v koncentracích 10^{-4} až 10^{-10} g.l⁻¹. Tyto úrovně jsou většinou pod hranicí lidského smyslového vnímání. Proto jednotlivě nehrají žádnou roli v sensorických vlastnostech, ale v kombinaci mohou být velmi významné [2].

K nejrozšířenějším metodám patří hodnocení pomocí stupnic, pro víno se používá hodnotitelská stupnice ordinální (pořadová). Určuje se pořadí, tedy který vzorek má vyšší stupeň určité vlastnosti a který nižší. Pro komplexní hodnocení složitějších potravin, mezi které patří i víno, lze použít i tzv. Metodu sensorického profilu ISO 6564-1985(E) pro flavour. Principem je rozdělení celkového vjemu na vjemy dílčí a jejich hodnocení intenzitní (posouzení určité vlastnosti) a hedonické (stupeň příjemnosti, přijatelnosti). Výsledky se zanáší do tzv. pavučinového grafu [28].

Osoba provádějící sensorické hodnocení vín se nazývá degustátor. Hodnocení a zařizování vína v ČR provádí Komise SZPI pro hodnocení a zařizování vína. Členy komise jsou fyzické osoby z řad vinařských odborníků mající platné osvědčení o absolvování sensorické zkoušky. Tuto zkoušku organizuje SZPI nebo Mezinárodní organizace pro normy ISO, Deutsches Institut für Normung (DIN) a Österreichische Norm

(ÖNORM). Seznam úspěšných absolventů zkoušky je uveden na www. stránkách SZPI [21].

6.2.1.1 Princip senzorní analýzy

Kvalita vína závisí na jeho složení, ale jen některé látky lze ve víně analyticky stanovit. Smyslové hodnocení dává lepší přehled o kvalitě, odrůdovém charakteru a o místě původu nebo o případných vadách vína než chemická analýza. Posouzení jednotlivcem je vždy subjektivní, proto se komisní degustací v průměru o 7 až 9 členech získá z jednotlivých subjektivních hodnocení objektivní výsledek.

Víno lze popsat pomocí tří základních kritérií – vzhled, vůně a chuť a tím ho charakterizovat. U vzhledu se hodnotí zvláště čírost a barva, u vůně intenzita, čistota a harmonie, u chuti intenzita, čistota, harmonie, perzistence [4].

V této práci byly vzorky hodnoceny stobodovým systémem podle rezoluce 332A/2009 Mezinárodní organizace pro révu a víno (O.I.V. - Organisation Internationale de la Vigne et du Vin). Jednotlivé složky mají v tomto systému přiřazený různý počet bodů a celkový součet při nejlepší hodnocení by činil 100 bodů. I nejlepší světová vína však dosahují jen hodnot okolo 95 bodů. Naopak hodnocení kolem 60 bodů už znamená značně nekvalitní víno [77].

6.2.1.2 Postup senzorní analýzy

Senzorní hodnocení bylo provedeno dne 23. listopadu 2009 v laboratoři senzorní analýzy na fakultě technologické UTB ve Zlíně. Členové komise měli různou úroveň předchozích zkušeností. Předseda komise a člen číslo 5 jsou specializovaní experti, vlastníci senzorní zkoušky na úrovni ISO, DIN a ÖNORM, členové číslo 2, 3, 4 a 7 vybraní hodnotitelé a členové 1 a 6 jsou laičtí posuzovatelé.

Členové komise byli proškoleni před začátkem samotné degustace předsedou komise nejprve teoreticky a poté společným posouzením tzv. nultého vzorku, kterým bylo víno odrůdy Ryzlink vlašský, ročník 2007, zatřídění kabinet. Touto degustací byli i laičtí posuzovatelé vhodně poučeni a způsob senzorního hodnocení byl sjednocen. Láhve se

vzorky byly otevřeny jednu hodinu před vlastní degustací, aby se mohla rozvinout chuť a vůně vína. Vzorky byly seřazeny podle odrůdy, pak podle ročníků sestupně od mladších vín ke starším a bílá vína před červenými. Vína byla nalévána do standardních degustačních sklenic podle O.I.V., norma ISO 3591: 1977. Jako neutralizátor chuti byl použit bílý chléb a jemně perlivá voda bez příchuti. Výsledky stobodového hodnocení jednotlivých složek vína – vzhledu, vůně, chuti a celkového dojmu byly zapisovány do degustačních tabulek, poté součet bodů do souhrnných tabulek a tyto byly zpracovány do výsledného hodnocení. Výsledný počet bodů byl získán zaokrouhlením průměru jednotlivých hodnocení po vyřazení nejnižší a nejvyšší hodnoty (přílohy P II - IV).

Tab. 11: Složení degustační komise

Označení, číslo	jméno člena komise
Předseda komise	Ing. Pavel Bartošek
1.	Ing. Michal Rouchal
2.	Ing. Svatopluk Sukop, CSc
3.	doc. Ing. Antonín Blaha, CSc
4.	Otto Doležal
5.	Ing. Antonín Bartošek
6.	Aleš Fuksa
7.	Ing. Pavel Valášek, CSc

6.2.2 Stanovení základních chemických charakteristik vína

6.2.2.1 Princip analýzy chemických charakteristik vína

Vinný analyzátor WineScan FT 120 dodává na trh firma Foss Electric A/S. Přístroj pracuje na principu Fourier Transform InfraRed-FTIR. Využívá celého infračerveného spektra a s vysokou přesností provádí analýzu několika parametrů najednou. Jeho součástí je výhodný vnější způsob kalibrace, což zaručuje rychlost a přesnost, neboť odpadá časově náročné a pracné kalibrování a kalibrace je vybírána podle aktuální potřeby [17].

Pro víno jako hotový výrobek je čas analýzy 30 sekund při objemu vzorku 12 ml. Je možno analyzovat až 100 vzorků za hodinu. K vlastní analýze není potřeba téměř žádných chemických činidel. Analyzovat lze finální výrobek i vzorky v různém stupni

fermentačního procesu. Měřenými parametry jsou ethanol, redukující cukry, těkavé kyseliny, celkové kyseliny, kyselina vinná, mléčná, jablečná a pH.

6.2.2.2 Postup analýzy chemických charakteristik vína

Po sensorické analýze byly vzorky vína odeslány k látkovému rozboru do specializované laboratoře firmy Proneco s r. o., která působí v oblasti vinařských a nápojových technologií a od roku 2001 nabízí běžné analytické i speciální rozborů vína. Laboratoř používá přístroj WineScan FT 120 a je pověřena SZPI k provádění laboratorních rozborů pro účely hodnocení a zařídování vína (příloha 5,6) [21].

Rozbor byl proveden dne 25. 11. 2009 a ve vzorcích vína byl stanoven obsah alkoholu v %, redukující cukr v g.l^{-1} , pH, těkavé kyseliny v g.l^{-1} , kyselina vinná, jablečná a mléčná v g.l^{-1} .

Před stanovením byl přístroj vyčištěn 1% NaClO po dobu 30 minut a vynulován. Další čištění je přístrojem prováděno automaticky vždy po 5 minutách od posledního analyzovaného vzorku a nulování probíhá také automaticky každou hodinu. Přístroj byl poté nakalibrován na víno a změřeny srovnávací vzorky.

Na vlastní stanovení byly vzorky vyčištěny filtrací přes 1 μm filtr a naplněny vzorkovnice, vzorky zapsány do PC a spuštěno měření. Každý vzorek byl změřen dvakrát a výsledky byly zprůměrovány.

6.2.3 Stanovení biogenních aminů

6.2.3.1 Princip analýzy biogenních aminů

Analýza byla provedena na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400. Je to kompaktní jednorúčelový kapalinový chromatograf. Chromatografie vzorku probíhá na koloně ionexu prostřednictvím nárůstu pH, iontové síly a teploty. Aminokyseliny nebo biogenní aminy se na koloně vzájemně oddělují podle toho, jaký za daných podmínek nesou elektrický náboj a tím jsou slaběji či silněji schopny přilnout k částicím ionexu. Kromě velikosti a tvaru molekul a hydrofobního efektu uplatňují především rozdílné acidobazické vlastnosti stanovovaných sloučenin.

Po výstupu z kolony jsou jednotlivé složky míseny s ninhydrinovým činidlem a s ním následně reagují v průtočném reaktoru. Barevné produkty reakce jsou detekovány

fotometricky. Koncentrace aminokyselin nebo aminů je přímo úměrná množství těchto produktů a to je přímo úměrné odezvě detektoru. Kalibrace se provádí většinou metodou jednoho vnějšího standardu. Provoz je řízen a monitorován softwarem počítače. Proti nejčastěji užívaným sestavám HPLC mají tyto analyzátory navíc pumpu na činidlo, vyhřívaný kapilární reaktor a detektor nastavený pouze na dvě vlnové délky v oblasti VIS.

K provozu jsou nutná některá další zařízení, jako přívod inertního plynu (dusík nebo argon), zařízení pro filtraci za sníženého tlaku pro přípravu elučních roztoků, zdroj vakua atd. Nejlepší výsledky má analyzátor při nepřetržitém provozu.

Pro detekci je klíčová ninhydrinová reakce objevená Ruhemanem v roce 1910. V roce 1958 Moore, Stein a Spackman sestrojili první automatický chromatograf s postkolonovou detekcí ninhydrinem. Do dnešní doby se konstrukce chromatografu značně vylepšila, ale původní princip je stále zachován.

Pro stanovení BA je nutno analyzátor upravit. Použije se skleněná kolona s náplní ionexu LG ANB do výše 6 cm. Pufrový systém sestává ze tří roztoků, dvou pufrů odlišných svým složením od roztoků pro aminokyseliny, a regeneračního roztoku NaOH používaného při stanovení hydrolyzátů [78].

6.2.3.2 Seznam přístrojů

Lyofilizace

- Analytické váhy A&D GH-200 EC
- Hlubokomrazící box MDF-U3286S, SANYO, prodejce Schoeller instruments, Praha, ČR
- Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC, CHRIST, prodejce Labicom s r.o., Olomouc, ČR

Stanovení biogenních aminů

- Analytické váhy A&D GH-200 EC
- Laboratorní třepačka LT2
- Odstředivka EBA 21, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen
- Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400, INGOS s r.o., Praha, ČR

6.2.3.3 Seznam chemikálií

Příprava pufrů

- kyselina citronová, LACHNER
- citronan sodný, LACHNER
- Chlorid sodný, Ing. Petr Lukeš
- Bromid draselný, Ing. Petr Lukeš
- Hydroxid sodný, PENTA
- Isopropanol, Ing. Petr Lukeš

Příprava ninhydrinu

- Ninhydrin, ZMBD Chemik, s r. o.
- Methylcellosolv, ZMBD Chemik, s r.o.
- Hydrintantin, ZMBD Chemik s r.o.
- Acetátový pufr, ZMBD Chemik s r.o.

6.2.3.4 Postup analýzy biogenních aminů

Pro lyofilizaci byly vzorky naváženy po 20 g a zamrazeny do druhého dne v mrazícím boxu při teplotě -80°C . Následně byly umístěny do lyofilizátoru na dobu dvou dnů.

Pro stanovení BA bylo přidáno ke vzorku do zvážené 50 ml centrifugační zkumavky 10 ml sodno- citrátového pufru o pH 2,2. Po 45 minutovém třepání byly zkumavky odstředěny při otáčkách 6000 po dobu 15 minut. Od každého vzorku bylo odpipetováno malé množství do dvou eppendorfek. Tím byly vzorky připraveny k analýze na AAA400.

6.3 Použité statistické výpočty

Výsledky analýz byly statisticky zpracovány pomocí programu Microsoft Office XP Professional.

6.3.1 Směrodatná odchylka

Průměrná odchylka je aritmetickým průměrem absolutních hodnot odchylek hodnot proměnné od jejich aritmetického průměru a bere v úvahu velikost všech hodnot numerické proměnné. Častěji je používána směrodatná odchylka, která větší odchylky zohledňuje více, než odchylky malé. Čím je směrodatná odchylka větší, tím více je rozdělení kolem průměru rozptýleno, čím je menší, tím více se všechny hodnoty hromadí kolem průměru.

$$s = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad [75,76]$$

6.3.2 Korelační koeficient

Je definován mezi složkami X_i a X_j náhodného vektoru X . Tato hodnota intervalu $\langle -1; 1 \rangle$ je mírou lineární závislosti mezi X_i a X_j . Při $\rho = 0$ mluvíme o nekorelovaných veličinách, krajní hodnoty $\rho_{ij} = \pm 1$ znamenají lineární závislost mezi X_i a X_j . Při $\rho_{ij} = \pm 1$ existují konstanty $a, b \in \mathbf{R}$ (znaménko b je stejné jako u ρ_{ij}), s pravděpodobností 1 je $X_j = a + bX_i$.

$$\rho_{ij} = \frac{\text{cov}(X_i, X_j)}{\sqrt{\text{var } X_i \text{ var } X_j}} \quad [75,76]$$

6.3.3 Variační koeficient

Udává, z kolika procent se podílí směrodatná odchylka na aritmetickém průměru. Doporučuje se ho používat při srovnání variability dvou různorodých proměnných. Přičte-li se ke všem hodnotám (odečte-li se) proměnné libovolná kladná konstanta, potom se variační koeficient zmenší (zvětší). Násobí-li se (dělí-li se) všechny hodnoty proměnné nenulovou konstantou, potom se variační koeficient nezmění.

$$V = \frac{100 \cdot s}{\bar{X}} \quad [75,76]$$

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Výsledky senzorické analýzy

Tab. 12: Výsledné senzorické hodnocení vzorků archivních vín

odrůda	zatřídění	VK	1	2	3	4	5	6	7	výsledné + SD
RV6	PS	77	83	83	89	77	80	72	77	80 ± 2,69
RV5	PS	83	76	75	78	80	81	87	76	79 ± 2,58
RV4	PS	82	84	83	87	80	86	87	79	84 ± 2,36
RV3	PS	80	75	70	70	84	85	92	79	79 ± 5,15
RV2	PS	84	81	78	76	85	87	89	81	83 ± 2,98
K7	VH	86	84	84	91	84	88	86	77	85 ± 1,49
K6	VH	85	83	74	80	83	82	86	78	82 ± 2,27
K5	PS	83	72	79	77	85	82	88	76	80 ± 3,25
K4	PS	82	72	71	82	76	81	84	79	79 ± 3,64
K3	VH	64	84	62	66	83	69	77	78	73 ± 6,91
A5	JV	82	69	69	62	80	81	84	78	77 ± 5,44
A4	JV	84	72	69	77	76	82	81	79	78 ± 3,34
A3	JV	83	68	65	73	79	80	82	74	76 ± 4,80
RM6	VH	84	81	87	82	80	78	84	76	82 ± 2,14
RM5	VH	84	82	75	75	76	84	88	79	80 ± 3,61
RM4	VH	86	76	72	70	81	86	93	83	81 ± 5,15

Výše uvedená tabulka uvádí počty bodů přiřazené vzorkům vín jednotlivými členy komise. Každý degustátor zapisoval body přiřazené jednotlivým složkám vína do degustačního lístku, součet bodů u jednotlivých vzorků do souhrnné tabulky a tyto výsledky byly nakonec sepsány do výsledného hodnocení (příloha P II - IV).

Z pěti vzorků odrůdy bílého vína Ryzlink vlašský byl nejlépe hodnocen vzorek RV4, tedy ročník 2004 s dosaženými 84 body ve výsledném hodnocení. Následovaly vzorky z roku 2002 s 83 body, 2006 s 80 body a nejmenším počtem bodů byly shodně hodnoceny vzorky z roku 2005 a 2003. Podle statistického zpracování se hodnotitelé odlišovali nejméně u vzorku RV4, kde směrodatná odchylka má hodnotu 2,36 a nejmenší shoda byla u vzorku RV3, směrodatná odchylka tady má hodnotu 5,15. Vzorek RV4 byl tedy hodnocen nejlépe co se týká průměru hodnocení a současně s největší shodou.

U druhé odrůdy bílého vína Kerner také s pěti vzorky dosáhl největšího počtu 85 bodů vzorek K7, ročník 2007. Hodnocení dalších vzorků bylo v sestupném pořadí podle ročníků. Vzorek z roku 2006 dosáhl 82 bodů, ročník 2005 pak 80 bodů, následoval vzorek z roku 2004 se 79 body a poslední a nejstarší vzorek z této řady z roku 2003 byl hodnocen nejmenším počtem 73 bodů. Největší shoda byla stejně jako u předchozí odrůdy u nejlépe hodnoceného vzorku K7, směrodatná odchylka je tady 1,49 a opět nejvíce se hodnotitelé odlišovali u nejméně bodovaného vzorku K3, kde je směrodatná odchylka 6,91.

Řada odrůdy červeného vína André obsahovala tři vzorky. Nejlépe hodnocen byl vzorek A4 z roku 2004 a to 78 body, následoval vzorek z roku 2005 se 77 body a nejmenší počet bodů byl dosažen u vzorku z roku 2003, a to 76 bodů. Nejmenší směrodatná odchylka 3,34 a tedy největší shoda se projevila opět u vzorku nejlépe hodnoceného, A4, a nejvíce se odlišovali hodnotitelé u vzorku A5, tentokrát druhého v pořadí.

V poslední řadě červených vín odrůdy Rulandské modré byly také tři vzorky. Tady se nejlépe umístil vzorek RM6, z roku 2006 s 82 body, následoval vzorek z roku 2004 s 81 body a nejméně bodů získal vzorek z roku 2005. Největší shoda byla stejně jako u předchozích odrůd u nejlépe hodnoceného vzorku, tedy RM6, směrodatná odchylka 2,14. Následoval vzorek třetí v pořadí, RM5, směrodatná odchylka má tady hodnotu 3,61 a nejmenší shoda byla u vzorku RM4, směrodatná odchylka 5,15.

Celkově bylo dosaženo nejlepších výsledků u bílého vína Ryzlink vlašský a červeného Rulandské modré se stejným průměrným hodnocením všech vzorků 81 body. Jako druhé

se umístilo bílé víno Kerner s průměrnými 80 body a nejméně, 77 bodů, dosáhlo červené víno André.

Nejvyššího počtu bodů 85 a tedy nejlepšího hodnocení bylo dosaženo u bílého vína Kerner z roku 2007, následoval vzorek bílého vína Ryzlink vlašský z roku 2004 s 84 body, třetí nejlepší bylo víno Ryzlink vlašský z roku 2002 s 83 body. Nejméně bylo hodnoceno víno Kerner 2003 se 73 body. Tady je možné, že došlo k nějaké chybě při výrobě. Druhé nejhůře hodnocené bylo červené víno André 2003 se 76 body a třetí bylo André 2005 se 77 body.

V řadě bílých vín Kerner se vyskytoval jak nejlépe, tak nejhůře hodnocený vzorek, rozdíl mezi nimi činil 12 bodů. V řadě bílých vín Ryzlink vlašský činil rozdíl mezi nejlépe a nejhůře hodnoceným vzorkem 5 bodů a u obou řad červených vín byl tento rozdíl 2 body.

Nejvíce se hodnotitelé shodovali vždy u nejlépe hodnoceného vína každé řady. I méně zkušení degustátoři se tedy vždy nezávisle na sobě shodli s experty a vybranými hodnotiteli na sensoricky nejlepším víně. Větší odchylky byly zaznamenány u hůře hodnocených vín.

Lze říci, že kvalitní víno bez zásadních vad dobře ohodnotí i méně zkušený degustátor, avšak u vína s vadami se hodnotitelé více rozcházejí a hodnocení může být ovlivněno i množstvím jejich předchozích zkušeností s degustováním vín.

7.2 Výsledky látkového rozboru na přístroji WineScan FT 120

Tab. 13: Látkový rozbor vzorků vína na přístroji Wine Scan FT 120

odrůda	alkohol [%]	cukr reduk. [g.l⁻¹]	pH	těkavé kyseliny [g.l⁻¹]	kys. vinná [g.l⁻¹]	kys. jablečná [g.l⁻¹]	kys. mléčná [g.l⁻¹]
RV6	12,60	2,80	3,38	0,59	2,40	2,50	0,40
RV5	12,50	2,00	3,41	0,57	2,30	2,80	0,40
RV4	12,60	1,70	3,36	0,55	2,30	3,10	0,30
RV3	13,30	1,80	3,35	0,54	1,90	2,50	0,40
RV2	13,10	2,50	3,35	0,62	2,00	3,10	0,30
K7	14,30	2,50	3,39	0,51	3,00	2,30	0,10
K6	13,70	12,00	3,48	0,59	3,10	2,20	0,40
K5	12,80	4,00	3,36	0,54	3,20	2,10	0,60
K4	13,30	1,80	3,19	0,48	3,20	2,00	0,40
K3	13,70	7,50	3,38	0,53	3,00	0,90	0,80
A5	11,80	2,00	3,49	0,70	1,80	0,00	2,40
A4	11,80	2,00	3,49	0,69	1,80	0,00	2,50
A3	13,00	2,20	3,53	0,82	2,10	0,00	2,80
RM6	13,70	3,00	3,80	0,85	2,20	0,00	2,90
RM5	13,30	5,20	3,77	1,00	2,20	0,60	2,10
RM4	13,80	10,00	3,77	0,78	2,30	0,00	2,20

Tab. 14: Průměrné hodnoty stanovovaných sloučenin na přístroji Winescan FT 120

Stan. látka	RV	K	A	RM
alkohol [% obj.]	12,82	13,56	12,2	13,6
red. cukry [g.l ⁻¹]	2,16	5,56	2,07	6,07
pH	3,37	3,36	3,50	3,78
těkavé kys. [g.l ⁻¹]	0,57	0,53	0,74	0,88
kys. vinná [g.l ⁻¹]	2,18	3,10	1,90	2,23
kys. jablečná [g.l ⁻¹]	2,80	1,90	0,00	0,20
kys. mléčná [g.l ⁻¹]	0,36	0,30	2,57	2,40

V tabulce 12 je uvedeno množství alkoholu v procentech, hodnoty pH a redukující cukry, těkavé kyseliny, kyseliny vinná, jablečná a mléčná v gramech na litr u všech vzorků archivních vín. Pomocí grafů (příloha P VIII – XI) jsou pak tyto hodnoty přehledně porovnány.

Obsah alkoholu je nejvyšší u vzorků červeného vína Rulandské modré a pohybuje se od 13,3 % obj. do 13,8 % obj., průměrná hodnota je 13,6 % obj. Následuje bílé víno Kerner s hodnotami od 12,8 % obj. do 14,3 % obj., průměr je 13,56 % obj. Ryzlink vlašský dosahuje hodnot od 12,5 % obj. do 13,3 % obj., průměrná hodnota je 12,82 % obj. Nejnižší obsah alkoholu je u vzorků červených vín André a pohybuje se v rozmezí 11,8 % obj. až 13,0 % obj., průměrná hodnota je 12,2 % obj.

Redukující cukry se pohybují nejvýše u červeného vína Rulandské modré od 3,0 g.l⁻¹ do 10,0 g.l⁻¹, průměrná hodnota je 6,07. Dalším je bílé víno Kerner s hodnotami od 1,8 g.l⁻¹ do 12,0 g.l⁻¹, průměr je 5,56 g.l⁻¹. Třetím v pořadí je Ryzlink vlašský, redukující cukry zde dosahují hodnot od 1,7 g.l⁻¹ do 2,8 g.l⁻¹, průměr je 2,16 g.l⁻¹. Nejnižší hodnoty má červené víno André s hodnotami od 2,0 g.l⁻¹ do 2,2 g.l⁻¹ a průměrem 2,07 g.l⁻¹.

Hodnoty pH jsou nejvyšší u červeného vína Rulandské modré, od 3,77 do 3,80 a průměr činí 3,78. Následuje červené víno André s hodnotami od 3,49 do 3,53 a průměrnou hodnotou 3,50, poté bílé víno Ryzlink vlašský, hodnoty se pohybují v rozmezí 3,35 až 3,41, průměr je 3,37 a nejnižší hodnotu pH má bílé víno Kerner, od 3,19 do 3,48, průměrně 3,36.

Těkavé kyseliny jsou vyjádřeny v g.l^{-1} a dosahují nejvyšších hodnot u červeného vína Rulandské modré, od $0,78 \text{ g.l}^{-1}$ do $1,00 \text{ g.l}^{-1}$. Průměrná hodnota je $0,88 \text{ g.l}^{-1}$. Druhým v pořadí je červené víno André s hodnotami od $0,69 \text{ g.l}^{-1}$ do $0,82$, průměr je $0,74 \text{ g.l}^{-1}$. Následuje bílé víno Ryzlink vlašský, hodnoty se pohybují od $0,54 \text{ g.l}^{-1}$ do $0,62 \text{ g.l}^{-1}$, průměr $0,57 \text{ g.l}^{-1}$. Nejméně těkavých kyselin má bílé víno Kerner, a to od $0,48 \text{ g.l}^{-1}$ do $0,59 \text{ g.l}^{-1}$, průměrně $0,53 \text{ g.l}^{-1}$.

Obsah kyseliny vinné je nejvyšší u bílého vína Kerner, kde dosahuje hodnot od $3,00 \text{ g.l}^{-1}$ do $3,2 \text{ g.l}^{-1}$ a průměrné hodnoty $3,1 \text{ g.l}^{-1}$. Další je červené víno Rulandské modré s hodnotami od $2,2 \text{ g.l}^{-1}$ do $2,3 \text{ g.l}^{-1}$ a průměrem $2,23 \text{ g.l}^{-1}$. Třetím je bílé víno Ryzlink vlašský, kyselina vinná zde dosahuje hodnot $1,9 \text{ g.l}^{-1}$ až $2,4 \text{ g.l}^{-1}$ a průměru $2,18 \text{ g.l}^{-1}$. Nejméně obsahuje kyseliny vinné červené víno André, a to od $1,8 \text{ g.l}^{-1}$ do $2,1 \text{ g.l}^{-1}$ a průměrná hodnota činí $1,9 \text{ g.l}^{-1}$.

Kyselina jablečná byla stanovena ve všech vzorcích bílého vína Ryzlink vlašský, hodnoty dosáhly od $2,5 \text{ g.l}^{-1}$ do $3,1 \text{ g.l}^{-1}$, průměr je $2,8 \text{ g.l}^{-1}$ a u bílého vína Kerner, kde se hodnoty pohybovaly od $0,9 \text{ g.l}^{-1}$ do $2,3 \text{ g.l}^{-1}$ a průměr byl $1,9 \text{ g.l}^{-1}$. U červeného vína Rulandské modré byla kyselina jablečná stanovena pouze u jednoho vzorku z roku 2005 a množství této kyseliny bylo $0,6 \text{ g.l}^{-1}$, průměr ve všech vzorcích byl $0,20 \text{ g.l}^{-1}$. Ve vzorcích červeného vína André kyselina jablečná nebyla detekována v žádném ze vzorků.

Hodnoty kyseliny mléčné byly stanoveny ve všech vzorcích. Nejvyšších hodnot dosáhly vzorky červeného vína André, a to od $2,4 \text{ g.l}^{-1}$ do $2,8 \text{ g.l}^{-1}$ a průměr činí $2,57 \text{ g.l}^{-1}$. Druhým v pořadí je červené víno Rulandské modré s hodnotami od $2,1 \text{ g.l}^{-1}$ do $2,9 \text{ g.l}^{-1}$ a průměrem $2,4 \text{ g.l}^{-1}$, dalším je bílé víno Ryzlink vlašský, obsah se pohybuje od $0,3 \text{ g.l}^{-1}$ do $0,4 \text{ g.l}^{-1}$ a průměr je $0,36 \text{ g.l}^{-1}$. Nejmenší obsah této kyseliny byl stanoven v bílém víně Kerner, hodnoty jsou mezi $0,1 \text{ g.l}^{-1}$ a $0,8 \text{ g.l}^{-1}$ a průměr $0,3 \text{ g.l}^{-1}$.

Celkově byl obsah alkoholu ve vzorcích vín vcelku vyrovnaný, nejvíce obsahovaly vzorky bílého vína Kerner, nejméně červené André ročníku 2005 a 2004. U redukujících cukrů byly výjimkou značně převyšující ostatní hodnoty vzorky bílého vína Kerner 2006 a 2003 a z červených vín Rulandské modré 2004. Hodnoty pH byly nejvyšší u všech vzorků červeného vína Rulandské modré a z bílých u vzorku Kerner 2006, nejnižší hodnotu mělo víno Kerner 2004. Obsah těkavých kyselin byl obecně vyšší u červených vín, nejvíce jich obsahovalo červené víno Rulandské modré 2005 a 2006 a ze vzorků červeného vína André

ročníku 2003. Kyselina vinná byla více obsažena v bílých vínech, přičemž ve vzorcích vína Kerner byly stanoveny vyšší hodnoty než v Ryzlinku vlašském. Nejméně kyseliny vinné obsahoval vzorek červeného vína André 2005 a 2004.

Z obsahu kyselin jablečné a mléčné je zřetelné, že malolaktická fermentace proběhla pouze u červených vín. Hodnoty kyseliny jablečné nebyly vůbec detekovány u vína André, zato průměrný obsah kyseliny mléčné je nejvyšší ze všech vzorků. Podobně u vína Rulandské modré byla kyselina jablečná detekována pouze u vzorku ročníku 2005, a to ve srovnání s obsahem v bílých vínech v nevýznamném množství. Obsah kyseliny mléčné je také na mnohem vyšší úrovni než u bílých vín.

O možné malolaktické fermentaci lze uvažovat u bílých vín pouze u vzorku Kerner 2003, vzhledem k odlišným hodnotám obsahu kyselin jablečné a mléčné než u jiných ročníků této odrůdy. Toto víno bylo nejhůře hodnoceno a možný vznik nežádoucích produktů této fermentace by případně mohl toto hodnocení vysvětlit.

7.3 Výsledky analýzy biogenních aminů na přístroji AAA 400

Tab. 15: Obsah BA a statistické hodnoty – vzorky bílého vína Ryzlink vlašský

RV6				RV5			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]	BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	ND			HI	ND		
TY	ND			TY	ND		
PU	20,46	1,530	7,5	PU	11,36	0,239	2,1
CAD	3,13	0,132	4,2	CAD	3,87	0,049	1,3
SP	ND			SP	ND		
SPM	ND			SPM	ND		
RV4				RV3			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]	BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	ND			HI	ND		
TY	ND			TY	5,88	0,236	4,0
PU	10,39	0,148	1,4	PU	17,89	0,230	1,3
CAD	2,98	0,168	5,6	CAD	12,95	0,769	5,9
SP	ND			SP	ND		
SPM	ND			SPM	ND		
RV2							
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]				
HI	ND						
TY	2,39	0,124	5,2				
PU	23,64	2,012	8,5				
CAD	3,64	0,259	7,1				
SP	ND						
SPM	ND						

SD - směrodatná odchylka

CV - variační koeficient

ND - nedetekováno

Tab. 16: Obsah BA a statistické hodnoty – vzorky bílého vína Kerner

K7				K6			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]	BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	2,57	0,102	4,0	HI	2,92	0,063	2,2
TY	ND			TY	ND		
PU	23,60	1,587	6,7	PU	36,29	1,320	3,6
CAD	3,48	0,187	5,4	CAD	ND		
SP	ND			SP	ND		
SPM	2,98	0,077	2,6	SPM	4,91	0,922	18,8

K5				K4			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]	BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	ND			HI	ND		
TY	ND			TY	2,23	0,101	4,5
PU	16,72	0,331	2,0	PU	12,05	1,169	9,7
CAD	3,48	0,115	3,3	CAD	3,28	0,242	7,4
SP	ND			SP	ND		
SPM	3,89	0,198	5,1	SPM	3,66	0,133	3,6

K3			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	ND		
TY	ND		
PU	20,69	0,868	4,2
CAD	3,64	0,048	1,3
SP	ND		
SPM	3,45	0,072	2,1

SD - směrodatná odchylka**CV - variační koeficient****ND - nedetekováno**

Tab. 17: Obsah BA a statistické hodnoty - vzorky červeného vína André

A5				A4			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]	BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	20,77	0,377	1,8	HI	11,64	0,675	5,8
TY	ND			TY	ND		
PU	86,80	1,904	2,2	PU	67,15	2,203	3,3
CAD	8,41	0,332	4,0	CAD	5,58	0,123	2,2
SP	ND			SP	ND		
SPM	ND			SPM	ND		

A3			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	10,59	0,642	6,1
TY	ND		
PU	53,94	1,115	2,1
CAD	3,59	0,219	6,1
SP	ND		
SPM	ND		

SD - směrodatná odchylka**CV - variační koeficient****ND - nedetekováno**

Tab. 18: Obsah BA a statistické hodnoty - vzorky červeného vína Rulandské modré

RM6				RM5			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]	BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	13,22	0,720	5,4	HI	12,25	0,410	3,4
TY	4,68	0,353	7,5	TY	7,66	0,488	6,4
PU	53,92	4,401	8,2	PU	18,98	0,860	4,5
CAD	ND			CAD	ND		
SP	ND			SP	ND		
SPM	2,58	0,117	4,5	SPM	2,41	0,311	12,9

RM4			
BA	obsah [mg.kg ⁻¹]	SD	CV [%]
HI	ND		
TY	ND		
PU	2,00	0,060	3,0
CAD	ND		
SP	ND		
SPM	ND		

SD - směrodatná odchylka
CV - variační koeficient
ND - nedetekováno

Tab. 19: Průměrný obsah biogenních aminů ve vzorcích archivních vín

Vzorek	HI	TY	PU	CAD	SP	SPM
RV	ND	1,65	16,75	5,31	ND	ND
K	1,10	0,45	21,87	2,78	ND	3,98
A	14,33	ND	69,30	5,86	ND	ND
RM	8,49	4,11	24,97	ND	ND	1,66

Obsah biogenních aminů je hodnocen v tabulkách 15 – 19 Přehledné hodnocení je uvedeno v grafech v příloze P XII a XIII.

Histamin byl detekován pouze u některých vzorků. V odrůdě bílého vína Ryzlink vlašský byly hodnoty pod detekčním limitem u všech vzorků. V bílém víně Kerner byl stanoven pouze u vzorků ročníků 2007 – hodnota 2,57 mg. kg⁻¹ a 2006 – hodnota 2,97 mg. kg⁻¹, průměr 1,10 mg. kg⁻¹. V červených vínech byl stanoven u odrůdy André ve všech třech vzorcích a ve dvou vzorcích odrůdy Rulandské modré, ročníky 2006 a 2005. Hodnoty byly u vína André mezi 10,59 a 20,77 mg. kg⁻¹, průměrně 14,33 mg. kg⁻¹ a u Rulandského modrého 2005 12,25 mg. kg⁻¹ a u ročníku 2006 13,22 mg. kg⁻¹, průměr 8,49 mg. kg⁻¹

Tyramin také nebyl detekován ve všech vzorcích. U bílého Ryzlinku vlašského byly hodnoty pod detekčním limitem u ročníků 2004, 2005 a 2006. Ve vzorku ročníku 2002 byl obsah tyraminu 2,39 mg.kg⁻¹ a u ročníku 5,88 mg. kg⁻¹, průměr 1,65 mg.kg⁻¹. Ve vzorcích bílého vína Kerner byl tyramin detekován pouze v ročníku 2004, hodnota je 2,23 mg.kg⁻¹, průměr ve všech vzorcích byl 0,45 mg.kg⁻¹. V červeném víně André nebyl stanoven v žádném ze vzorků. Ve vzorcích Rulandského modrého byly hodnoty pod detekčním limitem u ročníku 2004, u dvou dalších vzorků byly pro ročník 2005 hodnoty 7,66 mg.kg⁻¹ a 4,68 mg.kg⁻¹ pro ročník 2006, průměrně 4,11 mg.kg⁻¹ ve všech vzorcích.

Putrescin až na výjimku Rulandského modrého - ročník 2004 a hodnota 2,00 mg. kg⁻¹ byl naopak stanoven ve všech vzorcích v relativně velkém množství. U vzorků bílého Ryzlinku vlašského se hodnoty pohybovaly mezi 10,39 mg. kg⁻¹ a 23,64 mg.kg⁻¹, průměrně 16,75 mg.kg⁻¹. Vzorky odrůdy Kerner obsahovaly PU v množství 12,05 mg.kg⁻¹ až 36,29 mg.kg⁻¹, průměr 21,87 mg.kg⁻¹. Červená vína obsahují obecně více BA a u obsahu putrescinu se toto potvrdilo. U vína André byly hodnoty stanoveny mezi 53,94 mg.kg⁻¹ a 86,80 mg.kg⁻¹, průměr 69,30 mg.kg⁻¹. U červeného vína Rulandské modré hodnoty velmi kolísaly, od 2,00 mg.kg⁻¹ do 53,92 mg.kg⁻¹, průměrná hodnota je 24,97 mg.kg⁻¹.

Hodnoty kadaverinu nebyly vůbec detekovány v červeném víně značky Rulandské modré a ve vzorku bílého vína Kerner 2006. V bílém víně Ryzlink vlašský se pohybovaly v mezích od 2,98 mg.kg⁻¹ do 12,95 mg.kg⁻¹, průměr činí 5,31 mg.kg⁻¹. Ve vzorcích bílého vína Kerner nebyl kadaverin stanoven u ročníku 2006. V ostatních vzorcích této odrůdy byly hodnoty mezi 3,28 mg.kg⁻¹ do 3,48 mg.kg⁻¹, průměr činí 2,76 mg.kg⁻¹. Ve vzorcích

červeného vína André se obsah kadaverinu pohyboval mezi $3,59 \text{ mg.kg}^{-1}$ a $8,41 \text{ mg.kg}^{-1}$, průměr $5,86 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Obsah sperminu byl pod detekčním limitem u všech vzorků. Tento biogenní amin je spolu se spermidinem základní součástí buněk, oba jsou syntetizovány z putrescinu. Je možné, že sledované odrůdy mají přirozeně nízký obsah těchto biogenních aminů, které mohly během výroby vína i zcela vymizet.

Posledním stanovovaným BA byl spermidin. Ten také nebyl detekován v žádném vzorku bílého vína Ryzlink vlašský a v červených André a Rulandské modré. Pouze v bílém víně Kerner se jeho obsah pohyboval mezi $2,98 \text{ mg.kg}^{-1}$ a $4,91 \text{ mg.kg}^{-1}$, průměr je $3,98 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Celkově byl obsah BA na nízké úrovni (tabulka 19). Doporučený limit pro histamin ve víně je do 10 mg.kg^{-1} . Tuto hodnotu překračuje jen červené víno André se $14,33 \text{ mg.kg}^{-1}$. Dalším příkladem pro srovnání může být navržená hodnota pro součet BA v kysaném zelí a sýru. Tato hodnota je 300 mg.kg^{-1} a vzorky vín použité k této analýze ji nepřekračují.

7.4 Korelační koeficienty a porovnání výsledných hodnot všech analýz

Tab. 20: Korelační koeficienty sensorického hodnocení a ostatních analýz

sledované hodnoty	korelační koeficient
senzorika + obsah alkoholu	0,3085
senzorika + obsah redukcujících cukrů	0,0153
senzorika + pH	0,0664
senzorika + těkavé kyseliny	0,0736
senzorika + kyselina vinná	0,0931
senzorika + kyselina jablečná	0,4614
senzorika + kyselina mléčná	0,3376
senzorika + celkový obsah BA	0,3111

Ideální korelační koeficienty by byly rovny jedné. Srovnáním analýz použitých v této práci bylo zjištěno, že korelační koeficienty vykazují velmi nízké hodnoty. Jednotlivé analýzy tedy spolu velmi málo souvisí. Přesto lze srovnáním výsledných hodnot nalézt mezi nimi určité souvislosti.

7.4.1 Srovnání látkového rozboru a senzorického hodnocení

Obecně by mělo platit, že více alkoholu obsahují vína s nižším obsahem zbytkového (redukujícího) cukru. Tato závislost se při analýze vzorků vín použitých v této práci potvrdila jen částečně. V senzorické analýze nejlépe hodnocené bílé víno Kerner ročníku 2007 obsahovalo ze všech vín nejvíce alkoholu a poměrně nízký obsah zbytkového cukru. Nejnižší obsah zbytkového cukru při poměrně vysoké hladině alkoholu byl pozorován ještě u vzorku Kerner 2004. Naopak vzorek ze stejné řady vín, Kerner 2006 naopak obsahoval vysoké množství alkoholu i zbytkového cukru. U ostatních vzorků nebyla tato korelace pozorována.

U nejlépe senzoricky bodovaného vzorku Kerner 2007 měl nejspíše vysoký obsah alkoholu vliv na hodnocení, neboť alkohol dodává vínu plnost a extraktivnost a je v něm rozpuštěno množství dalších významných aromatických látek. Řada pěti vzorků Kerner po sobě jdoucích ročníků 2007 až 2003 se v senzorickém hodnocení umístila na různých pozicích, v pořadí na prvním, čtvrtém, osmém, dvanáctém a posledním šestnáctém místě. Jak již bylo zmíněno výše, u nejhůře hodnoceného vzorku Kerner 2003 je možné i proběhnutí malolaktické fermentace, která u některých vín není žádoucí a v tomto případě by se nežádoucí produkty této fermentace na horším hodnocení tohoto vzorku také mohly podílet. Vliv na senzorické hodnocení tedy nemá jen odrůda vína, ale uplatňuje se mnoho dalších faktorů.

Druhá řada bílých vín, Ryzlink vlašský ročníků 2006 až 2002 byla hodnocena velmi dobře. Vzorek nejstaršího ročníku 2004 se umístil na druhém místě, následovalo místo třetí, sedmé, desáté a jedenácté. Všechny hodnoty látkového rozboru jsou spíše průměrné a korelace mezi tímto rozbohem a bodováním při senzorickém hodnocení nebyla nalezena.

Nejvyšší pH a zároveň téměř nejvyšší hodnoty obsahu těkavých kyselin vykazovaly vzorky červeného vína André. Obsah kyseliny vinné byl u těchto vzorků však nejnižší ze všech stanovovaných vín. U těchto vín proběhla dokonale malolaktická fermentace, neboť kyselina jablečná nebyla detekována ani u jednoho ze vzorků, zato obsah kyseliny mléčné dosáhl nejvyšších hodnot ze všech vzorků. Chuťově ostrá kyselina jablečná byla sice odbourána na jemnější kyselinu mléčnou, avšak při tomto typu fermentace mohou vznikat i nežádoucí produkty, například tóny po kyselém zelí, diacetyl ve větším množství dodávající až chuť po sýru či jogurtu, a také kyselina octová vznikající ze zbytkového

cukru. Tomu by odpovídalo i větší množství těkavých kyselin. Všechny tyto látky mohly hodnocení negativně ovlivnit. Tyto vzorky zároveň obsahovaly průměrně nejméně alkoholu. Tato vína byla hodnocena průměrně nejhůře a korelace mezi látkovým rozbořem a sensorickým hodnocením je tady zřejmá.

Vysoké hodnoty pH i těkavých kyselin vykazovaly také vzorky červeného vína Rulandské modré. I zde proběhla malolaktická fermentace. Vína byla však naopak sensoricky hodnocena dobře, umístila se na pátém, šestém a devátém místě. V tomto případě malolaktické kvašení zřejmě nebylo na závalu, možná vínu i chuťově prospělo a ani vyšší obsah těkavých kyselin neměl na sensorické hodnocení negativní vliv. Vína obsahovala vyšší množství alkoholu, průměrně 13,6 % proti 12,2 % u vzorků vína André a toto mohlo hodnocení také kladně ovlivnit.

Srovnáním výsledků sensorického hodnocení ve vztahu jednotlivým ročníkům bylo zjištěno, že bílá vína Kerner byla hodnocena jako jediná sestupně od nejmladšího k nejstaršímu ročníku, tedy v pořadí od nejlépe hodnoceného ročníku 2007 do nejhůře hodnoceného 2003. Vína ostatních řad byla hodnocena různě bez takovéto závislosti. Celkově tedy nelze říci, zda jsou hodnoceny lépe starší nebo mladší ročníky.

7.4.2 Srovnání analýzy biogenních aminů, látkového rozboru a sensorického hodnocení

Ve sledovaných vzorcích vín byly zjištěny dosti nízké obsahy biogenních aminů, některé nebyly v mnoha vzorcích vůbec detekovány. Přítomnost aminů ve víně může být důsledkem činnosti bakterií mléčného kvašení při malolaktické fermentaci nebo působením kvasinek při alkoholové fermentaci. Ve většině vín jsou hladiny BA po alkoholové fermentaci nízké a zvyšují se během malolaktické fermentace, která byla potvrzena u červených vín látkovým rozbořem. Sensoricky nejsou v takto nízkých koncentracích postižitelné, srovnáním všech tří analýz však lze zaznamenat alespoň u některých vzorků určité závislosti.

Jediným aminem vyskytujícím se ve větší míře a u všech vzorků byl putrescin, podle srovnatelné literatury také obecně nejvíce zastoupený biogenní amin ve víně. Jeho hodnoty se pohybovaly od výjimečně nízkých $2,00 \text{ mg.kg}^{-1}$ u vzorku Rulandské modré až po nejvyšší hodnotu $86,80 \text{ mg.kg}^{-1}$ u vzorku André 2005.

U některých odrůd jsou hladiny putrescinu už v moštu tak vysoké, že nelze zohlednit vliv malolaktické fermentace, v jiných vzrůstá úroveň putrescinu i během alkoholové a malolaktické fermentace a jsou odrůdy, u kterých má malolaktická fermentace zásadní vliv na úroveň putrescinu. Ve vzorcích červených vín použitých pro tuto práci byla hladina putrescinu mnohem vyšší (dvojnásobně až trojnásobně) než v bílých vínech. U těchto vín podle výsledků látkového rozboru proběhla malolaktická fermentace. Není známa hladina putrescinu v hroznech ani v moštu u těchto vín, ale dá se předpokládat, že v tomto případě mohla mít malolaktická fermentace vliv na tvorbu tohoto biogenního aminu.

Histamin a kadaverin vznikají většinou během alkoholové fermentace a podle některých autorů se jejich obsah během malolaktické fermentace snižuje. Obsah kadaverinu byl významnější pouze u vzorku Ryzlink vlašský 2003, spolu s vyšším obsahem tyraminu. Toto víno bylo mezi průměrně sensoricky hodnocenými víny a výsledky látkového rozboru také neukazují žádné výjimečné odchylky. Vyšší hodnoty těchto aminů tedy s těmito analýzami zřejmě nemají souvislost.

Histamin je obecně považován za indikátor dodržení hygienických podmínek při výrobě. Jeho úroveň byla u většiny vzorků velmi nízká nebo nebyl detekován vůbec. Doporučená hodnota pro víno kolem 10 mg.kg^{-1} byla mírně překročena u vzorků červených vín, nejvyšší hodnotou bylo $20,77 \text{ mg.kg}^{-1}$ u André 2005. Relativně vyšší obsah histaminu v těchto vínech by mohl znamenat i nějakou chybu při výrobě a korespondovat s poměrně nepříznivým sensorickým hodnocením a tím i s výsledky látkového rozboru.

Tyramin se dle některých autorů nachází na nejvyšší úrovni v neprokvašeném moštu. Jeho obsah byl ve sledovaných vínech velmi nízký a ze šestnácti vzorků byl tyramin detekován pouze ve dvou vzorcích Ryzlinku vlašského, v jednom vzorku odrůdy Kerner a u červených vín ve dvou vzorcích odrůdy Rulandské modré. Korelace s látkovým rozbohem a sensorickou analýzou tady není zřejmá.

Spermin a spermidin jsou syntetizovány z putrescinu. Ve zkoumaných vzorcích nebyl spermin vůbec detekován a spermidin se vyskytoval v koncentracích nevýznamných pro srovnání s ostatními dvěma analýzami.

Archivní vína dosáhnou své nejlepší kvality zráním v láhvi. Bylo zjištěno, že stejně jako při zrání vína v sudech, i v láhvích se aminy tvoří na začátku uskladnění. Později jejich množství klesá a tento proces probíhá dokonce bez závislosti na teplotě skladování.

Celkově nízký obsah biogenních aminů ve vzorcích vín sledovaných v této práci může být ovlivněn kromě zachování správné výrobní praxe a nejlepších hygienických podmínek i délkou jejich skladování.

ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

Hlavním cílem práce byla analýza biogenních aminů v řadách po sobě jdoucích ročníků archivních vín. Tato analýza byla doplněna senzoričkým hodnocením a stanovením základních charakteristik vína. Všechny tři analýzy pak byly srovnány se snahou nalézt určité závislosti.

V obsahu biogenních aminů ve víně existuje široká variabilita. Obecně lze konstatovat, že červené víno má vyšší koncentraci těchto látek než růžové a bílé víno, a nejrozšířenějším aminem je putrescin. Kolísavé množství biogenních aminů může být zapříčiněno i vlivem odrůdy. Na vznik aminů mohou mít vliv četné další faktory, jako macerace moštu s pevnými částmi hroznů, vyšší teploty kvašení, nízké hodnoty pH, množství biomasy kvasinek. Význam má i obsah oxidu siřičitého, který podporuje rozvoj pediokoků a také vliv organických kyselin, působících jako inhibitory *histidin-dekarboxylázy*.

Biogenní aminy jsou syntetizovány i kvasinkami během alkoholové fermentace, záleží i na typu kvasinek. Většinou však vznikají během malolaktické fermentace působením bakterií mléčného kvašení. Zkoumá se vliv bakterie *Oenococcus Oeni* a prokázanou vysokou aminogenní kapacitu má také *Pediococcus damnosus*. V této práci se nabízí možný vliv těchto technologických podmínek spíše u vzorků červených vín, zvláště ve vztahu k malolaktické fermentaci, která při výrobě těchto vín prokazatelně proběhla.

Podle výzkumů nebyly nalezeny přímé korelace mezi koncentrací dusíkatých látek v moštu a množstvím biogenních aminů. Možností je i zkoumání vztahu mezi obsahem biogenních aminů a změnami obsahu aminokyselin jako jejich prekurzorů v jednotlivých odrůdách vín.

Aminy se také vyvíjejí v průběhu zrání a stárnutí vína. Přitom histamin a tyramin jsou syntetizovány na začátku procesu zrání, ale ve víně se nehromadí, spíše časem degradují. Koncentrace kadaverinu také narůstá v první fázi zrání vína, ale časem se nesnižuje, stejně jako koncentrace putrescinu.

V této práci nebyl stanovován obsah těkavých aminů. Ty mohou pocházet z aminace nedusíkatých látek jako jsou aldehydy a ketony. Mají své charakteristické intenzivní aroma, avšak díky nízkému pH jsou ve víně vázané jako soli bez organoleptických vlastností.

Kontaktem s ústní dutinou jsou částečně uvolněny a mohou se sensoricky projevit. Předpokládá se, že ale nejsou ve víně dobře rozeznatelné vzhledem k vyššímu obsahu etanolu a dalších těkavých sloučenin, jako jsou estery, terpeny a vyšší alkoholy. Prahové vnímání těkavých aminů je při koncentraci 2 mg.l^{-1} .

Korelační koeficienty vykazují velmi nízké hodnoty, dosažené výsledky spolu tedy příliš nesouvisí. I přesto byly nalezeny určité závislosti mezi jednotlivými analýzami. Korelace se potvrdily u nejlépe a nejhůře hodnoceného vína, u průměrných nelze závislosti mezi jednotlivými analýzami stanovit. Sensoricky nejlépe hodnocené víno Kerner 2007 mělo nejvyšší obsah alkoholu, nízkou koncentraci těkavých kyselin i nízký obsah biogenních aminů. Naopak hůře hodnocená vína André obsahovala nejméně alkoholu, vysokou úroveň těkavých kyselin a vykazovala ze stanovovaných vzorků nejvyšší koncentraci histaminu. Důvodem by mohla být případná chyba při výrobě tohoto vína.

Současný platný zákon 305/2000 Sb. neupravuje hodnoty BA ve víně, pouze u ryb a rybích výrobků je stanovena hranice 100 mg.kg^{-1} . Některé země uvádějí limity pro histamin ve víně, obsah se pohybuje do 10 mg.kg^{-1} . Tuto hodnotu ze sledovaných vín překračuje jen červené víno André se $14,33 \text{ mg.kg}^{-1}$. Dalším příkladem pro srovnání může být navržená hodnota 300 mg.kg^{-1} pro součet TY, HI, PU a CAD v kysaném zelí a sýru. Žádný z použitých vzorků vína této hodnoty nedosahuje.

Doporučením pro další zkoumání v této oblasti je provedení rozsáhlejšího výzkumu, zahrnující sledování obsahu biogenních aminů v korelaci s látkovým složením i sensorickou analýzou vín v průběhu delšího období archivace vín. Je vhodné zahájit výzkum sledováním povětrnostních a agrotechnických podmínek, pokračovat při výrobě vína, při jeho zrání a v průběhu archivace. Další možností je výzkum vlivu odrůdy na obsah biogenních aminů ve vínech, popřípadě výzkum těkavých aminů významných i v sensorické analýze. Pro dosažení srovnatelnějších výsledků by bylo vhodnější zadat sensorickou analýzu jednotnému panelu hodnotitelů složenému nejlépe z vybraných expertů.

SOUHRN

Teoretická část práce je zaměřena na popis základních principů výroby vína a na chemické složení hroznu, moštu i vína. Následuje popis možností analýzy vín, hodnocení biogenních aminů ve vztahu k lidskému organismu a přehled instrumentálních metod používaných pro stanovení těchto látek obecně i ve vzorcích vín.

Pro účely praktické části diplomové práce byly použity vzorky archivních vín ze stejných viničních tratí, odrůd a po sobě jdoucích ročníků, vyrobené stejnou technologií a stejnými výrobci. U těchto vzorků byla provedena senzorická analýza, stanovení základních charakteristik a stanovení obsahu biogenních aminů. Výsledky byly porovnány statistickými metodami se snahou nalézt určité korelace mezi jednotlivými analýzami.

Problematika vzniku a změn obsahu biogenních aminů ve vínech je stále zkoumána. Uplatňuje se zde mnoho vzájemně se prolínajících vlivů, které podle současných výzkumů nevedou vždy k jednoznačnému výsledku.

K obsahu biogenních aminů ve vínech se podle srovnání s literaturou dá uvést, že hodnoty vykazují značné rozpětí. Obecně je více biogenních aminů v červených vínech a nejvíce zastoupeným aminem ve víně je putrescin. Během archivace vín obsah některých biogenních aminů spíše klesá. Tyto poznatky se potvrdily i analýzami provedenými v této práci.

Přínosem této práce může být kromě potvrzení dosavadních výzkumů obsahu biogenních aminů ve víně i srovnání všech tří provedených analýz. I když korelační koeficienty jsou velmi nízkých hodnot, byly nalezeny určité závislosti a jimi bylo potvrzeno, že dodržení technologických postupů a zachování hygienických podmínek při výrobě a skladování vín se projeví na jejich kvalitě. Tuto kvalitu lze pak zhodnotit chemickými analýzami i senzoricky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] FARKAŠ, J. *Technologie a biochemie vína*. Praha, SNTL 1980, 870 str., 04–825-79
- [2] JACKSON, R. S. *Wine science*. Elsevier Inc. 2008, 776 str., ISBN 978-0-12- 373646-8
- [3] KRAUS, V., HUBÁČEK, V., ACKERMANN, P. *Rukověť vinaře*. Praha, ČZS 2002, 262 str., ISBN 80-85362-34-1
- [4] STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. Valtice, Národní salon vín, 2002, 307 str., ISBN 80-903201-0-4
- [5] Vyhláška Ministerstva zemědělství ze dne 21. srpna 2000, kterou se stanoví podrobnosti při uvádění údajů na obalu vína nebo výrobků z hroznů révy vinné a další podrobnosti označování vína a výrobků z hroznů révy vinné. [on-line 20.3.2010] Dostupný z: <http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/2000/sb084-00.pdf>
- [6] Vinařství a výroba nealko nápojů. [on-line 12.2.2010] Dostupný z: <http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/vinarstvi.pdf>
- [7] VURM, B., KRAUS, V., FOFFOVÁ, Z. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praga Mystica, 2008. 312 str., ISBN 978-80-86-767-09-3
- [8] ALAMO SANZA, M., DOMÍNGUEZ, I. N., CÁRCEL, C. L. M., GRACIA, N. L. Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Analytica Chimica acta*, 2004: 513, p. 229-237
- [9] Příloha 5 k vyhlášce č. 297/2000 Sb. [on-line 18.3.2010] Dostupný z: <http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/2000/sb084-00.pdf>
- [10] Oeno news inovace. [on-line 10. 1. 2010] Dostupný z: http://www.proneco.cz/eshop_files/Vinobrani_2009.pdf
- [11] DHARMADHIKARI, M. Composition of grapes. [on-line 5. 4. 2010] Dostupný z: www.extension.iastate.edu/NR/././compositionofgrapes.pdf
- [12] VILLIERS, A., CABOOTER, D., LYNEN, F., DESMET, G., SANDRA, P. High performance liquid chromatography analysis of wine anthocyanins revisited: Effect of particle size and temperature. *Journal of Chromatography A* 2009: 1216, p. 3270-3279

- [13] KINCLOVÁ, V., JAROŠOVÁ, A., TREMLOVÁ, B., *Senzorická analýza potravin. Veterinářství*, 2004. 54: str.362-364. [on-line 23.3.2010] Dostupný z: <http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?cid=2984&pid=2>
- [14] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 2002, 320 str., ISBN 80-86659-01-1
- [15] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor:OSSIS, 2002, 368 str., ISBN 80-86659-02-X
- [16] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Pavel Klouda 2003, 132 str., ISBN 80-86369-07-2
- [17] WineScan FT 120-revoluce v analýze vína. [on-line 1. 3. 2010] Dostupný z:[http://www.unimpex – bratislava.com /na_stiahnutie/casopis/ casopis_2001-01_2/view .html](http://www.unimpex-bratislava.com/na_stiahnutie/casopis/casopis_2001-01_2/view.html)
- [18] KVASNIČKA, F. Využití analyzátoru IONOSEP 2003 pro analýzu vína.[on-line 2. 3. 2010] Dostupný z: http://ionosep.com/pdf/ionosep_vino.pdf
- [19] KMENT, P., MIHALJEVIČ, M., ETTLER, V., ŠEBEK, O., STRNAD, L., ROHLOVÁ, L. Differentiation of Czech wines using multielement composition-A comparison with vineyard soil. *Food Chemistry*, 2005: 91, p. 157-165
- [20] Laboratoře určené k provádění analytických rozborů vín. [on-line 1. 3. 2010] Dostupný z: [http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006609&docType=ART &nid= 11427 &chnum=9](http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006609&docType=ART&nid=11427&chnum=9)
- [21] Hodnocení a zařídování vína podle § 26 zákona provádí. [on-line 10. 4. 2010] Dostupný z: [http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006609&docType=ART &nid=11427&chnum=6](http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006609&docType=ART&nid=11427&chnum=6)
- [22] Protokol o zkoušce o analytickém rozboru vína. [on-line 2. 3. 2010] Dostupný z: www.szpi.gov.cz/ViewFile.aspx?docid=1003125
- [23] Nařízení komise (ES) č. 128/2004. [on-line 2. 3. 2010] Dostupný z: [http://eurlex europa .eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0128:CS:HTML](http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0128:CS:HTML)
- [24] Kontrola vína. [on-line 1. 3. 2010] Dostupný z: [http://www.milcom.cz/foss/ vinarsky_prumysl.php](http://www.milcom.cz/foss/vinarsky_prumysl.php)

- [25] Analyzátoři stopových prvků. [on-line 2. 3. 2010] Dostupný z: <http://www.2theta.cz/nabidka/laboratornipristroje/ecaflow.htm>
- [26] LOPEZ-BAJARAS, M., LOPÉZ-TAMAMEZ, E., BUXADERAS, S., Improved size-exclusion high-performance liquid chromatographic method for the simple analysis of grape juice and wine polysaccharides. *Journal of Chromatography A*, 1998, 823: p. 339-347
- [27] HYÖTYLÄINEN, T., JAUHO, K., RIEKKOLA, M. L. Analysis of pesticides in red wines by on-line coupled reversed phase liquid chromatography-gas chromatography with vaporiser/precolum solvent split /gas discharge interface. *Journal of Chromatography A*, 1998: 813, p.113-119
- [28] Senzorická analýza. [on-line 2. 2. 2010] Dostupný z: <http://web.vscht.cz/kohoutkj/Senzorick%E1%20anal%FDza.htm>
- [29] RAVELO-PÉREZ, L. M., HERNÁNDEZ-BORGES, J., BORGES-MIGUEL, T. M., RODRÍGUEZ-DELGADO, M. Á. Solid phase microextraction and sample stacking micellar electrokinetic chromatography for the analysis of pesticide residues in red wines. *Food Chemistry*, 2008: 111, p.764-770
- [30] GOTO, T. et al: The high throughput analysis of N-methylcarbamate pesticides in wine and juice by electrospray ionization liquid chromatography tandem mass spectrometry with direct sample injection into a short column. *Analytica chimica acta*, 2005: 531, p. 79-86.
- [31] VLACHOS, P., KAMPIOTI, A., KORAROS, M., LYBERATOS, G.. Matrix effect during the application of a rapid method using HS-SPME followed by GC-ECD for the analysis of 2,4,6-TCA in wine and cork soaks. *Food Chemistry*, 2007: 105, p. 681-690.
- [32] GÓMEZ-ARIJ. L., GARCÍA-BARRERA, T., LORENZO, F. Analysis of anisoles in wines using pervaporation coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2004: 1049, p. 147-153.
- [33] GONZALVES, A., LLORENS, A., CERVERA, M. L., ARMENTA, S., DE LA GUARDIA, M. Elemental fingerprint of wines from the protecte designation of origin Valencia. *Food Chemistry*, 2009: 112, p. 26-34.

- [34] WEEKLEY, A. J., BRUINS, P., SISTO, M., AUGUSTINE, M. P. Using NMR to study full intact wine bottles. *Journal of Magnetic Resonance*, 2003: 161, p. 91-98.
- [35] GUADALUPE, Z., SOLDEVILLA, A., SÁENZ-NAVAJAS, M-P., AYESTARÁN, B. Analysis of polymeric phenolics in red wines using different techniques combined with gel permeation chromatography fractionation. *Journal of Chromatography A*, 2006: 1112, p. 112-120
- [36] PANEQUE, P., ÁLVAREZ-SOTOMAYOR, M. T., GÓMEZ, I. A. Metal contents in „oloroso“ sherry wines and their classification according to provenance. *Food Chemistry*, 2009: 117, p. 302-305
- [37] KARADJOVA, I., LAMPUGNANI, L., ONOR, M., D'ULIVO, M., TSALEV, D. L. Continuous flow hydride generation-atomic fluorescence spectrometric determination and speciation of arsenic in wine. *Spectrochimica Acta*, 2006: Part B 60, p. 816-823
- [38] SAENZ-LOPEZ, R., FERNÁNDEZ-ZURBANO, P., TENA, M. T. Analysis of aged red wine pigments by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 2004: 1052, p. 191-197.
- [39] Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 396/2005. [on-line 15.3.2010]
Dostupný z: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:070:0001:0016:CS:PDF>
- [40] DUCHOŇ, J. a kol. *Lékařská chemie a biochemie*. Praha, Avicenum: 1985, 716 str., ISBN 08-004-85.
- [41] SHALABY, A.R.: Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 1997: Vol. 29, No.7, str.675-690
- [42] SMĚLÁ, D., PECHOVÁ, P., KOMPRDA, T., KLEJDUS, B., KUBÁŇ, V. Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chemické listy*, 2004: 98, str. 432-437
- [43] ANCÍN-AZPILICUETA, C., GONZÁLEZ-MARCO, A., JIMÉNEZ-MORENO, N. Current Knowledge about the Presence of Amines in Wine. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 48: 3, p.257-275

- [44] VÍCHA, R. Názvosloví – aminy. [on-line 26. 2. 2010] Dostupný z: www.chemie.utb-.cz/rvicha/SOC/supportfiles/DOCS/aminy01.doc
- [45] Pyridoxalfofát.[on-line 3.3. 2010] Dostupný z: http://orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0294.htm
- [46] Nitrosaminy.[on-line 5.3. 2010] Dostupný z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1003456&docType=ART&nid=11386&chnum=8>
- [47] Příloha vyhlášky 53/2002. [on-line 1. 3. 2010] Dostupný z: <http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/2002/sb022-02.pdf>
- [48] ÖNAL, A. Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 2007: 103, p.1475-1486
- [49] MORET, S., CONTE, L. S. High-performance liquid chromatographic evaluation of biogenic amines in food. An analysis of different methods of sample preparation in relation to food characteristic. *Journal of Chromatography A*, 1996: 729, p.363-369
- [50] MISSBICHLER, A., MAYER, I., PONGRACZ, C., GABOR, F., KOMERICKY, P. Degradation of food-borne biogenic amines in case of histamine intolerance. *Critical Nutrition Supplements*, 2010: Vol. 5, p.11
- [51] HERNANDEZ-ORTE, P., PEÑA-GALLEGO, A., IBARZ, CACHO, J., FERREIRA, V. Determination of the biogenic amines in musts and wines before and after malolactic fermentation using 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate as the derivatizing agent. *Journal of Chromatography A*, 2006: 1129, p.160-164
- [52] PEÑA-GALLEGO, A., HERNANDEZ-ORTE, P., CACHO, J., FERREIRA, V. Biogenic amine determination in wines using solid-phase extraction: A comparative study. *Journal of Chromatography A*. 2009: 1216, p.3398-3401
- [53] SILLA SANTOS, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1996: 29, p. 213-231
- [54] MARTÍNEZ, À., RIU, J., BUSTO, O., GUASCH, J., RIUS, F. X. Validation of bias in multianalyte determination methods. Application to RP-HPLC derivatizing methodologies. *Analytica chimica acta*, 2000: 406, p.257-278

- [55] HLABANGANA, L., HERNANDEZ-CASSOU, S., SAURINA, J. Determination of biogenic amines in wines by ion-pair liquid chromatography and post-column derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate. *Journal of Chromatography A*, 2006: 1130, p. 130-136
- [56] NOUADJE, G., SIMÉON, N., DEDIEU, F., NERTZ, M., PUIG, P., COUDERC, F. Determination of twenty eight biogenic amines and amino acids during wine aging by micellar electrokinetic chromatography and laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*. 1997: 765, p. 337-343
- [57] KOVÁCS, A., SIMON-SARKADIA, L., GANZLERB, K. Determination of biogenic amines by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 1999: 836, p. 305-313
- [58] Derivatizace. [on-line 18. 2. 2010] Dostupný z: <http://www.hplc.cz>
- [59] GANONG, W. F. *Přehled lékařské fyziologie*. Jinočany, H&H, 1999: 681 str., ISBN 80-85787-36-9
- [60] IBE, A., SAITO, K., NAKAZATO, M., KIKUCHI, Y., FUJINUMA, K., NISHIMA, T. Quantitative Determination of amines in Wine by liquid Chromatography. *Ibe et al. J.Assoc. off. Anal. Chem.*, 1991: Vol. 74, No. 4.
- [61] SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A. *Atlas fyziologie člověka*. Grada Avicenum, Praha, 1993: 352 str., ISBN 80-85623-79-X
- [62] Krátká procházka naším výzkumem biogenních aminů.[on-line 12. 1. 2010] Dostupný z: <http://home.zf.jcu.cz/~krizek/ba-cz/ba-cz.html/>
- [63] KALAČ, P.; ŠAVEL, J.; KŘÍŽEK, M.; PELIKÁNOVÁ, T.; PROKOPCOVÁ, M.: Biogenic amine formation in bottled beer. *Food Chemistry* 2002: 79, p.431-434.
- [64] HAMPL, F., RÁDL, S., PALEČEK, J. *Farmakochemie*. VŠCHT, Praha, 2007: 450 str., ISBN 80-7080-639-5
- [65] KIUTAMO, T. Biogenně aktivní aminy. [on-line, 6. 2. 2010]. Dostupný z: <http://flairflow4.vscht.cz>

- [66] ZHIJUN, L., YONGNING, W., GONG, Z., YUNFENG, Z., CHYNGHU, X., A survey of biogenic amines in chinese red wines. *Food chemistry* 2007: 105 p. 1530-1535
- [67] DADÁKOVÁ, E., KŘÍŽEK, M., PELIKÁNOVÁ, T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry* 2009: 116, p. 365-370
- [68] ARLORIO, M., COÏSSON, J. D., MARTELLI, A. Extraction methods for biogenic amines in wine and beer. *Ital.J. Food Sci. n. 4.*, 1999, vol. 11, p. 355-360
- [69] LEHTONEN, P. Isolation and HPLC determination of amines in wine. *Z Lebensm Unters Forsch* 1986: 183, p. 177-181
- [70] BUTEAU, C., DUTSCHAEVER, L., ASHTON, G. C. High-peformance liquid chromatographic detection and quantitation of amines in must and wine. *Journal of chromatography* 1984: 284, p. 201-210
- [71] SUN, X., YANG, X., WANG, E. Determination of biogenic amines by capillary electrophoresis with pulsed amperometric detection. *Journal of Chromatography A* 2003: 1005, p. 189-195
- [72] HERNANDEZ-BORGES, J., D'ORAZIO, G., ATURKI, Z., FANALI, S. Nano-liquid chromatography analysis of dansylated biogenic amines in wines. *Journal of chromatography A* 2007: 1147, p. 192-199
- [73] GARCÍA-VILLAR, N., SAURINA, J., HERNÁNDEZ-CASSOU, S. High-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in wines with an experimental design optimization procedure. *Analytica Chimica Acta* 2006: 585, p. 97-105
- [74] MURRAY, R. K., GRANNER, D. K., MAYES, P. A., RODWELL, V. W. *Harperova biochemie*. H&H, Jinočany, 1998, 872 str., ISBN 80-85787-38-5
- [75] Základní statistické charakteristiky. [on-line, 17. 4. 2010]. Dostupný z: www.pedf.cuni.cz/kpsp/skalouda/charakteristiky.doc
- [76] FRIESL, M. *Pravděpodobnost a statistika hypertextově*. PRINT 2004-09-15, 38 str. [on-line, 17. 4. 2010] Dostupný z: <http://home.zcu.cz/~friesl/hpsb/hPsb.html>

- [77] OIV Standard for international wine and spirituous beverages of vitivinicultural origin competitions. *Resolution OIV/concours 332/2009*, [on-line, 17. 4. 2010]
Dostupný z: http://news.reseau-concept.net/images/oiv_uk/Client/OIV-CONCOURS_332A-2009_EN_signed.pdf
- [78] Automatický analyzátor aminokyselin AAA400, příručka uživatele. Ingos 2007, 100 str.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAS	atomová absorpční spektrometrie
AES	atomová emisní spektrometrie
AFS	atomová fluorescenční spektrometrie
AQC	6-aminochinoly- <i>N</i> -hydroxysukcinimidylkarbamát
BA	biogenní aminy
CAD	kadaverin
CE	kapilární elektroforéza
CT	kryogenní past
CZE	kapilární zónová elektroforéza
DAD	detektor diodového pole
DAO	<i>diaminooxidáza</i>
Dns-Cl	dansylchlorid
ECD	detektor elektronového záhytu
ESI	ionizace elektrosprejem
FAAS	plamenová atomová absorpční spektrometrie
FITC	fluorescein izotiokyanát
FMOC-Cl	9-fluorenyl-methoxykarbonylchlorid
FTIR	infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
GC	plynová chromatografie
GF	elektrotermická atomizace
GPC	gelová permeační chromatografie
HG	generování hydridu
HI	histamin
HMT	histamin- <i>N</i> -methyltransferáza

HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
HS	head space – prostor těsně nad hladinou tekutého vzorku
IC	iontovýměnná chromatografie
ICP	indukčně vázané plasma
IEC	ionto-výměnná chromatografie
IgE	imunoglobulin třídy E
IS	vnitřní standard
°KMW	stupně Klosterneuburského moštoměru
LC	kapalinová chromatografie
LIF	laserem indukovaná fluorescence
MAO	<i>monoaminoxidáza</i>
MEKC	micelární elektrokinetická chromatografie
MRL	maximální limit reziduí
MS	hmotnostní spektrometrie
°NM	stupně Československého normalizovaného moštoměru
NMR	nukleární magnetická rezonance
NQS	1,2-naftochinon-4-sulfonát
OES	optická emisní spektrometrie
O.I.V.	Mezinárodní organizace pro révu a víno
OPA	<i>o</i> -ftalaldehyd
PHE	fenyletylamin
PU	putrescin
PV	pervaporace
RI	index lomu
RP	reverzní fáze

REPSM	elektroda s obrácenou polaritou
SP	spermin
SPE	extrakce na pevné fázi
SPM	spermidin
SPME	mikroextrakce na pevné fázi
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
TCA	kyselina trichloroctová
2,4,6-TCA	2,4,6-trichloroanizol
TD	termální desorpce
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TRP	tryptamin
TY	tyramin
UV	ultrafialové záření
VIS	záření v oblasti viditelného spektra

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Flavyliový kation – základní struktura antokyanidinů [2].....	21
Obr. 2: Analýza vína NMR v plné láhvi [34]	26
Obr. 3: Biogenní aminy a katabolismus polyaminů v savčích tkáních [72, 74]	31
Obr. 4: Reakce pyridoxalfosfátu s aminokyselinou za vzniku Schiffovy báze [74].....	32
Obr. 5: Vznik histaminu dekarboxylační reakcí [64].....	34
Obr. 6: Vznik serotoninu dekarboxylací 5-hydroxytryptofanu [74]	35
Obr. 7: Degradace histaminu na imidazolacetát [40].....	36
Obr. 8: Vznik nitrosaminů [43]	37
Obr. 9: Derivatizace ninhydrinem[58].....	39
Obr. 10: Reakce aminosloučenin s dansylchloridem [72]	40
Obr. 11: Reakce OPA s primárními aminy [58]	40
Obr. 12: Derivatizační reakce AQC s aminy [57].....	41
Obr. 13: Derivatizační reakce NQS s aminy [73]	43
Obr. 14: Derivatizační reakce mezi FITC a aminy [58].....	43

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Chemické složení jednotlivých částí hroznu [1, 3, 7]	15
Tab. 2: Chemické složení moštu [2]	17
Tab. 3: Rozdělení jakostních vín dle cukernatosti [5]	19
Tab. 4: Obsah produktů fermentace ve vínech [4]	20
Tab. 5 :Přibližný obsah některých složek vína [3,4].....	22
Tab. 6: Význam některých biogenních aminů v organismu [40].....	33
Tab. 7: Farmakologické aspekty biogenních aminů [41].....	35
Tab. 8: Vzorky bílých vín – vinařství Celnar L.	46
Tab. 9: Vzorky červených vín- vinařství Celnar L.....	46
Tab. 10: Vzorky červených vín – vinařství Plešinger, spol. s r. o.	47
Tab. 11: Složení degustační komise	49
Tab. 12: Výsledné sensorické hodnocení vzorků archivních vín	54
Tab. 13: Látkový rozbor vzorků vína na přístroji Wine Scan FT 120	57
Tab. 14: Průměrné hodnoty stanovovaných sloučenin na přístroji Winescan FT 120.....	58
Tab. 15: Obsah BA a statistické hodnoty – vzorky bílého vína Ryzlink vlašský	61
Tab. 16: Obsah BA a statistické hodnoty – vzorky bílého vína Kerner.....	62
Tab. 17: Obsah BA a statistické hodnoty - vzorky červeného vína André	63
Tab. 18: Obsah BA a statistické hodnoty - vzorky červeného vína Rulandské modré	64
Tab. 19: Průměrný obsah biogenních aminů ve vzorcích archivních vín.....	64
Tab. 20: Korelační koeficienty sensorického hodnocení a ostatních analýz	66

SEZNAM PŘÍLOH

- PŘÍLOHA P I:** PROTOKOL O ZKOUŠCE O ANALYTICKÉM ROZBORU VÍNA
- PŘÍLOHA P II:** DEGUSTAČNÍ LÍSTEK PRO STOBODOVÝ SYSTÉM
- PŘÍLOHA P III:** VZOR CELKOVÉ DEGUSTAČNÍ TABULKY
- PŘÍLOHA P IV:** VÝSLEDNÉ SENZORICKÉ HODNOCENÍ
- PŘÍLOHA P V:** POVĚŘENÍ SZPI PRO LABORATOŘ PRONECO
- PŘÍLOHA P VI:** OSVĚDČENÍ O LÁTKOVÉM ROZBORU
- PŘÍLOHA P VII:** AAA400, LYOFILIZÁTOR ALPHA
- PŘÍLOHA P VIII:** OBSAH ALKOHOLU A REDUKUJÍCÍCH CUKRŮ VE VŠECH ROČNÍCÍCH A ODRŮDÁCH ARCHIVNÍCH VÍN
- PŘÍLOHA P IX:** HODNOTY pH A OBSAH TĚKAVÝCH KYSELIN VE VŠECH ROČNÍCÍCH A ODRŮDÁCH ARCHIVNÍCH VÍN
- PŘÍLOHA P X:** OBSAH KYSELINY VINNÉ A JABLEČNÉ VE VŠECH ODRŮDÁCH A ROČNÍCÍCH ARCHIVNÍCH VÍN
- PŘÍLOHA P XI:** OBSAH KYSELINY MLÉČNÉ VE VŠECH ODRŮDÁCH A ROČNÍCÍCH ARCHIVNÍCH VÍN
- PŘÍLOHA P XII:** OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE VZORCÍCH RYZLINK VLAŠSKÝ A KERNER
- PŘÍLOHA P XIII:** OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE VZORCÍCH ANDRÉ A RULANDSKÉ MODRÉ

PŘÍLOHA P I: PROTOKOL O ZKOUŠCE O ANALYTICKÉM ROZBORU VÍNA

Název laboratoře
Sídlo laboratoře
IČ laboratoře

Protokol o zkoušce o analytickém rozboru vína č.

Firma		IČ
Jméno, příjmení, titul		
Ulice a číslo		
Obec a PSČ		
Druh vína	Ročník	Číslo šarže
Datum přijetí vzorku do laboratoře		Velikost šarže

Výsledky rozborů:

	Výsledek	Jednotka	Nejistota	A/N	Metoda/kód
Skutečný obsah alkoholu		obj%			
Celkový obsah alkoholu		obj%			
Obsah bezcukerného extraktu		g/l			
Obsah těkavých kyselin		g/l			
Volný SO ₂		mg/l			
Celkový obsah SO ₂		mg/l			
Cukr		g/l			
Hustota relativní					
Tlak		MPa			
Sacharoza		g/l			
Popel		g/l			
Alkalita popela		meq/l			
Celkový obsah kyselin		g/l			
pH					
Vázaná kyselost		g/l			

Datum vystavení protokolu o zkoušce

Vzorek byl odebrán a zapečetěn pracovníkem SZPI - razítko č.

Zodpovědný pracovník
(razítko, podpis)

Ve sloupci A/N znamená A=metoda akreditovaná, N=metoda neakreditovaná

PŘÍLOHA P II: DEGUSTAČNÍ LÍSTEK PRO STOBODOVÝ SYSTÉM

TICHÁ VÍNA

komise/hodnotitel:	vzorek č.:	ročník:	kategorie vína:
--------------------	------------	---------	-----------------

		vynikající velmi dobře dobře dostatečně nedostatečně					poznámky:
		5	4	3	2	1	
VZHLED	čírost						
	barva	10	8	6	4	2	
VŮNĚ	intenzita	8	7	6	4	2	
	čistota	6	5	4	3	2	
	harmonie	16	14	12	10	8	
CHUŤ	intenzita	8	7	6	4	2	
	čistota	6	5	4	3	2	
	harmonie	22	19	16	13	10	
	perzistence	8	7	6	5	4	
celkový dojem		11	10	9	8	7	
vyřazeno: <input type="checkbox"/>		datum:			podpis degustátora:		body celkem:
							Podpis předsedy:

MSK

PŘÍLOHA P III: VZOR CELKOVÉ DEGUSTAČNÍ TABULKY



Zlín, 23. Listopadu 2009

Degustátor :




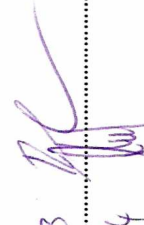

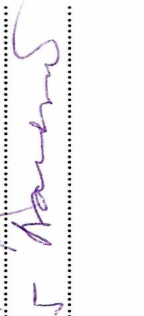
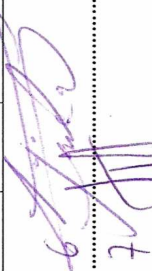
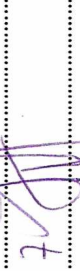
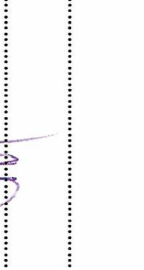
Č.vz.	odrůda	ročník	zatřídění	body	Poznámky
0	Ryzlink vlašský	2007	kabinet		
1	Ryzlink vlašský	2006	pozdní sběr		
2	Ryzlink vlašský	2005	pozdní sběr		
3	Ryzlink vlašský	2004	pozdní sběr		
4	Ryzlink vlašský	2003	pozdní sběr		
5	Ryzlink vlašský	2002	pozdní sběr		
6	Kerner	2007	výběr z hroznů		
7	Kerner	2006	výběr z hroznů		
8	Kerner	2005	pozdní sběr		
9	Kerner	2004	pozdní sběr		
10	Kerner	2003	výběr z hroznů		
11	André	2005	jakostní víno		
12	André	2004	jakostní víno		
13	André	2003	jakostní víno		
14	Rulandské modré	2006	výběr z hroznů		
15	Rulandské modré	2005	výběr z hroznů		
16	Rulandské modré	2004	výběr z hroznů		

.....

PŘÍLOHA P IV: VÝLEDNÉ SENZORICKÉ HODNOCENÍ

Zlín, 23. Listopadu 2009

Č.vz.	odrůda	ročník	zatržení	VK	1	2	3	4	5	6	7	8	9	výsledné
1	Ryzlink vlašský	2006	pozdní sběr	77	83	83	89	77	80	72	77			80
2	Ryzlink vlašský	2005	pozdní sběr	83	76	75	78	80	81	87	76			79
3	Ryzlink vlašský	2004	pozdní sběr	82	84	83	81	80	86	87	79			84
4	Ryzlink vlašský	2003	pozdní sběr	80	75	70	70	84	85	92	79			79
5	Ryzlink vlašský	2002	pozdní sběr	84	81	78	76	85	87	89	81			83
6	Kerner	2007	výběr z hroznů	86	84	84	91	84	88	86	77			86
7	Kerner	2006	výběr z hroznů	85	83	74	80	83	82	86	78			82
8	Kerner	2005	pozdní sběr	83	72	79	77	85	82	88	76			81
9	Kerner	2004	pozdní sběr	82	72	71	82	76	81	84	79			79
10	Kerner	2003	výběr z hroznů	64	84	62	66	83	69	77	78			73
11	André	2005	jakostní víno	82	69	69	62	80	81	84	78			77
12	André	2004	jakostní víno	84	72	69	77	76	82	81	79			78
13	André	2003	jakostní víno	83	68	65	73	79	80	82	74			76
14	Rulandské modré	2006	výběr z hroznů	84	81	87	82	80	78	84	76			81
15	Rulandské modré	2005	výběr z hroznů	84	82	75	75	76	84	88	79			80
16	Rulandské modré	2004	výběr z hroznů	86	76	72	70	81	86	93	83			81


 1. 
 2. 
 3. 
 4. 
 5. 

 7. 
 8. 

PŘÍLOHA P V: POVĚŘENÍ SZPI PRO LABORATOŘ PRONECO

Státní zemědělská a potravinářská inspekce

Květná 15, 603 00 Brno 3

Pověření č. 03/9/2009

podle § 26 odst. 5 zákona č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů

pro

Proneco, s.r.o.

IČ 46994645, 763 15 Březová 150

Statutární zástupce: Ludvík Řemenovský, nar. 21.3.1949

(pro laboratoř se sídlem 692 01 Klentnice 78)


k provádění laboratorních rozborů vína

s účinností od 1.listopadu 2009 do 31.prosince 2010

Poučení:

1. Toto pověření se vztahuje pouze na provádění rozborů pro účely hodnocení a zařďování vína v Komisi Státní zemědělské a potravinářské inspekce pro hodnocení a zařďování vína.
2. Držitel tohoto pověření se zavazuje postupovat v souladu s Podmínkami pověření k provádění laboratorních rozborů pro účely hodnocení a zařďování vína ze dne 27.10.2009 a Organizačním a jednacím řádem Komise Státní zemědělské a potravinářské inspekce pro hodnocení a zařďování vína, v platném znění. Současně prohlašuje, že bere na vědomí možnost odnětí tohoto pověření, a to v případě nedodržování povinností pro něho stanovených.

V Brně, dne 29.10.2009


Ing. Jakub Šebesta
ústřední ředitel

PŘÍLOHA P VI: OSVĚDČENÍ O LÁTKOVÉM ROZBORU

PRONECO s.r.o.

Březová č.p. 150 PSČ 763 15 , provozovna: Klentnice 78

Datum rozboru : 25/11/2009

OSVĚDČENÍ

o provedeném látkovém rozboru k diplomové práci

Jméno : Lenka Fojtíková, Březůvky 245, PSČ 763 45

Vzorek č.	Název vzorku	Alkohol (%)	Cukr redukující (g/l)	pH	Těkavé kyseliny (g/l)	Kys. vinná (g/l)	Kys. jablečná (g/l)	Kys. mléčná (g/l)
P 2511/12	KER 03	13,7	7,5	3,38	0,53	3,0	0,9	0,8
P 2511/13	KER p.s. 04	13,3	1,8	3,19	0,48	3,2	2,0	0,4
P 2511/14	KER 05	12,8	4,0	3,36	0,54	3,2	2,1	0,6
P 2511/15	KER 06	13,7	12,0	3,48	0,59	3,1	2,2	0,4
P 2511/16	KER 07	14,3	2,5	3,39	0,51	3,0	2,3	0,1
P 2511/17	RV p.s. 02	13,1	2,5	3,35	0,62	2,0	3,1	0,3
P 2511/18	RV 03	13,3	1,8	3,35	0,54	1,9	2,5	0,4
P 2511/19	RV p.s. 04	12,6	1,7	3,36	0,55	2,3	3,1	0,3
P 2511/20	RV p.s. 05	12,5	2,0	3,41	0,57	2,3	2,8	0,4
P 2511/21	RV p.s. 06	12,6	2,8	3,38	0,59	2,4	2,5	0,4
P 2511/22	AN 03	13,0	2,2	3,53	0,82	2,1	0,0	2,8
P 2511/23	AN 04	11,8	2,0	3,49	0,69	1,8	0,0	2,5
P 2511/24	AN 05	11,8	2,0	3,49	0,70	1,8	0,0	2,4
P 2511/25	RM v.h. 04	13,8	10,0	3,77	0,78	2,3	0,0	2,2
P 2511/26	RM v.h. 05	13,3	5,2	3,77	1,00	2,2	0,6	2,1
P 2511/27	RM v.h. 06	13,7	3,0	3,80	0,85	2,2	0,0	2,9

V Klentnici dne: 25.11.2009

Vypracovala: Renata Hronová

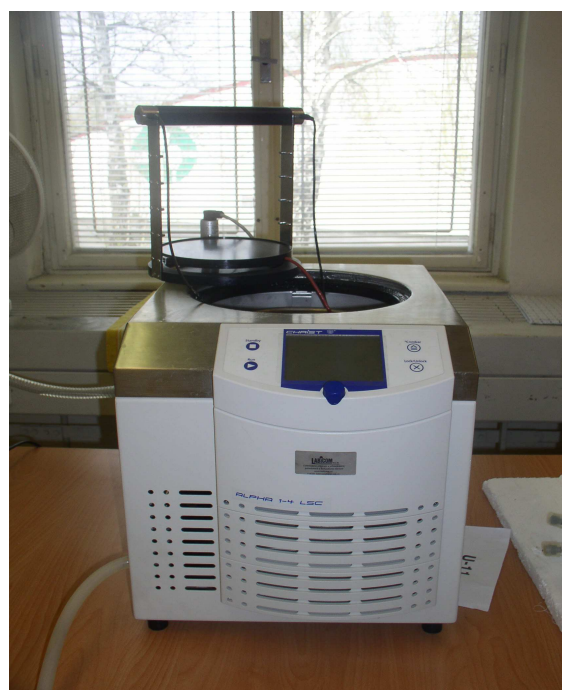
proneco s.r.o.
Březová č.p. 150, PSČ 763 15
Provozovna: 692 01 Klentnice 78
IČ: 469 94 645, DIČ: CZ46994645
Zaps. v IČS obch. rejstřík ČR
Sídlo C. vložka 8819

PŘÍLOHA P VII: ANALYZÁTOR AAA400, LYOFILIZÁTOR ALPHA

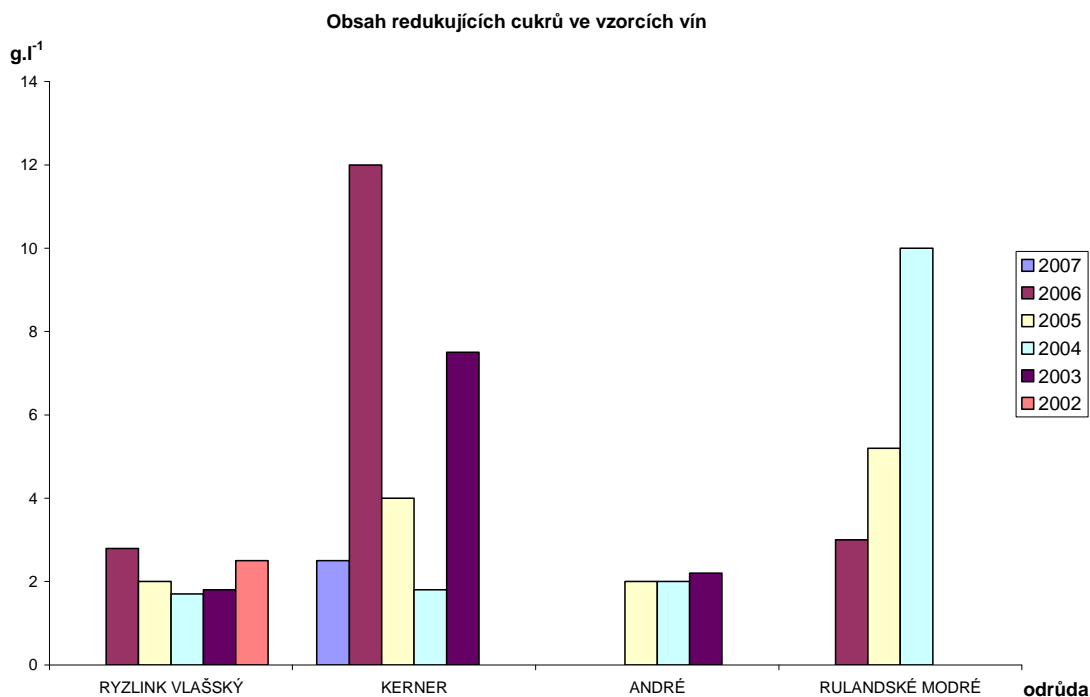
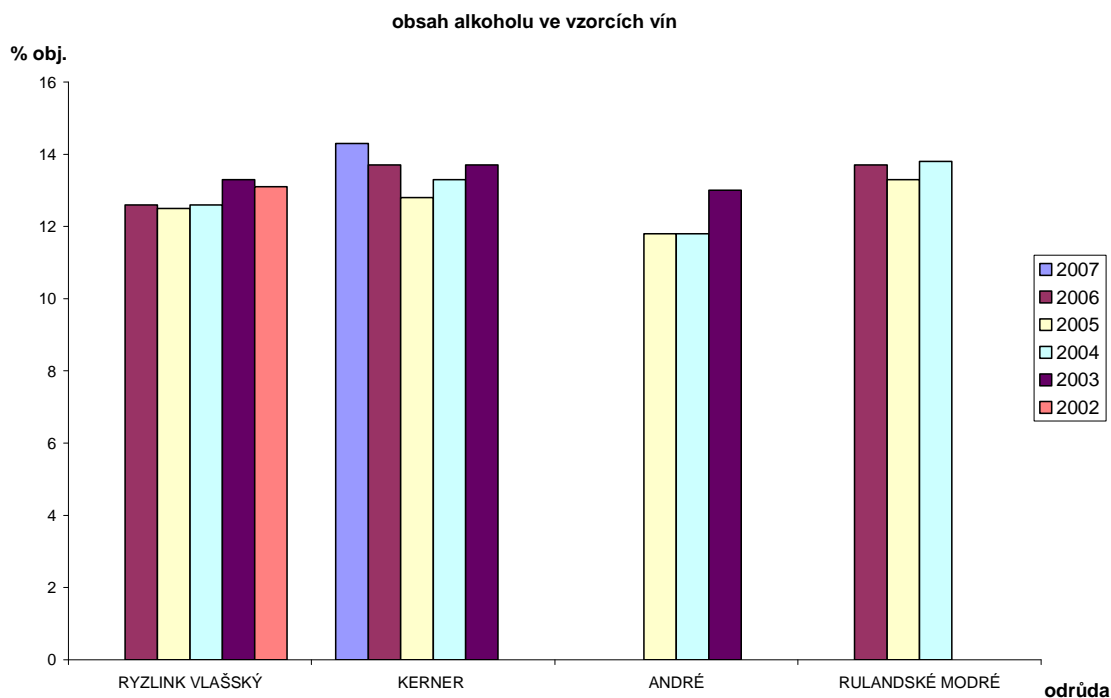
Automatický analyzátor aminokyselin AAA400



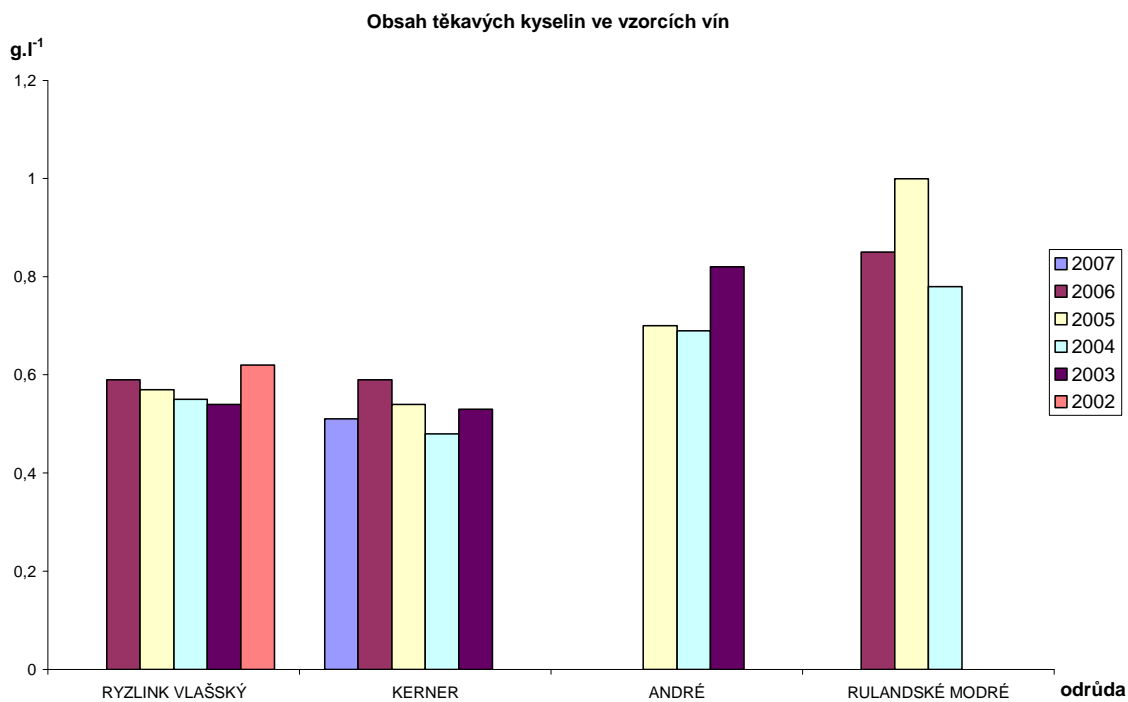
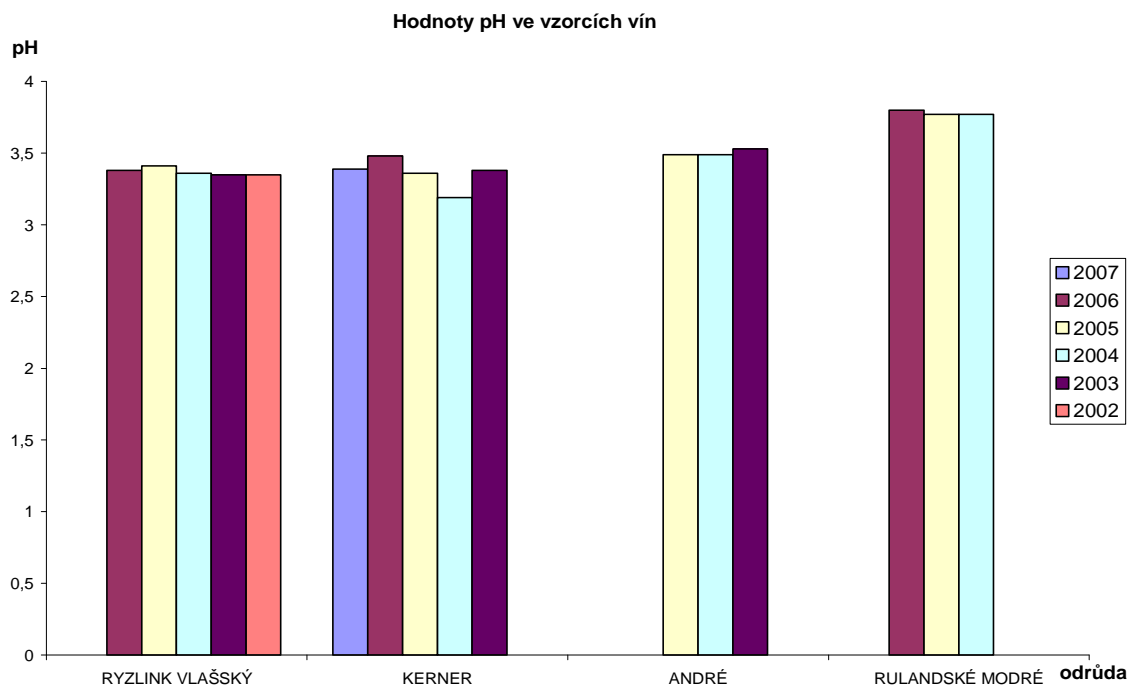
Lyofilizátor Alpha



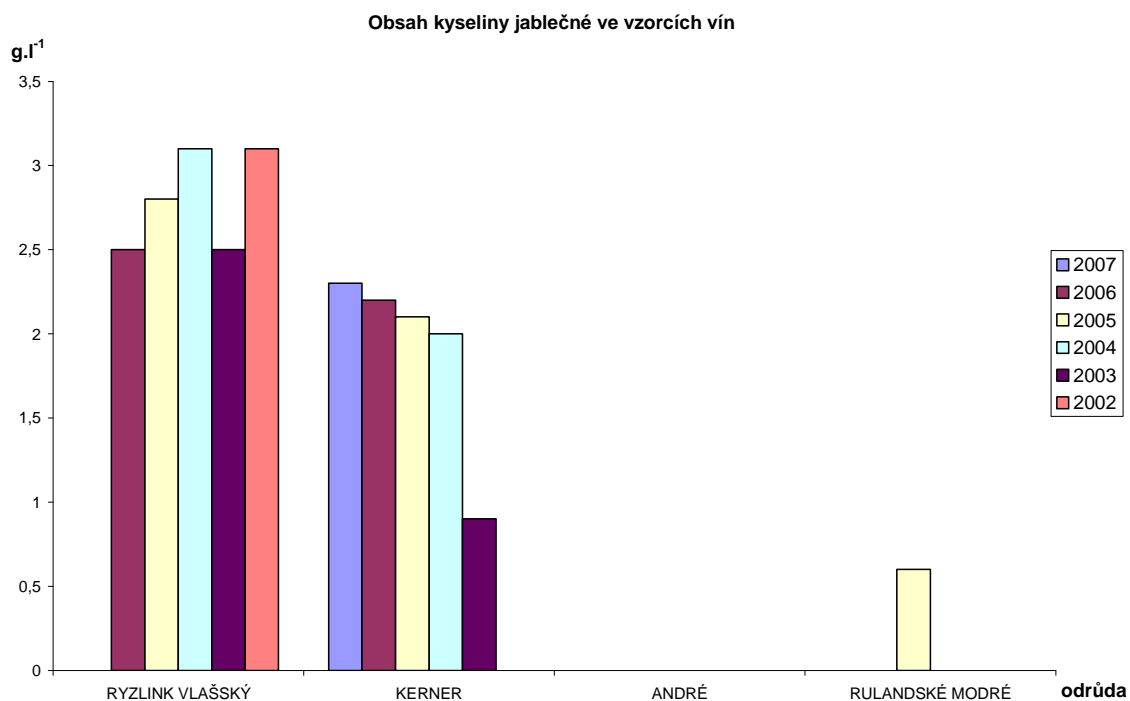
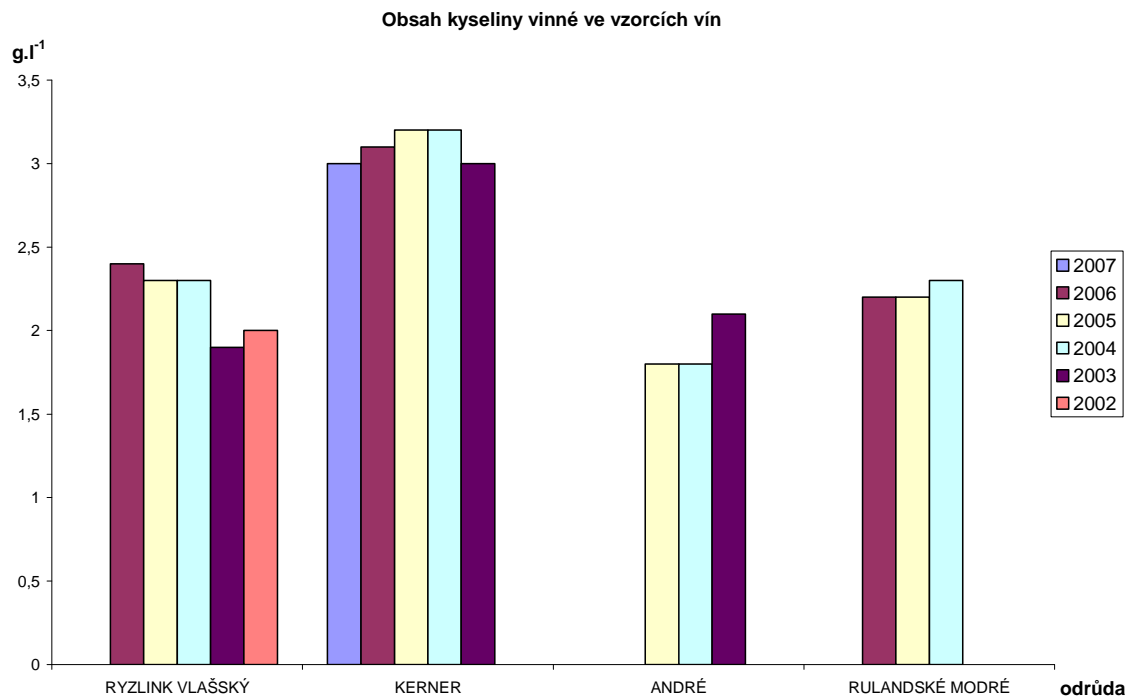
PŘÍLOHA PVIII: OBSAH ALKOHOLU A REDUKUJÍCÍCH CUKRŮ VE VŠECH ROČNÍCÍCH A ODRŮDÁCH ARCHIVNÍCH VÍN



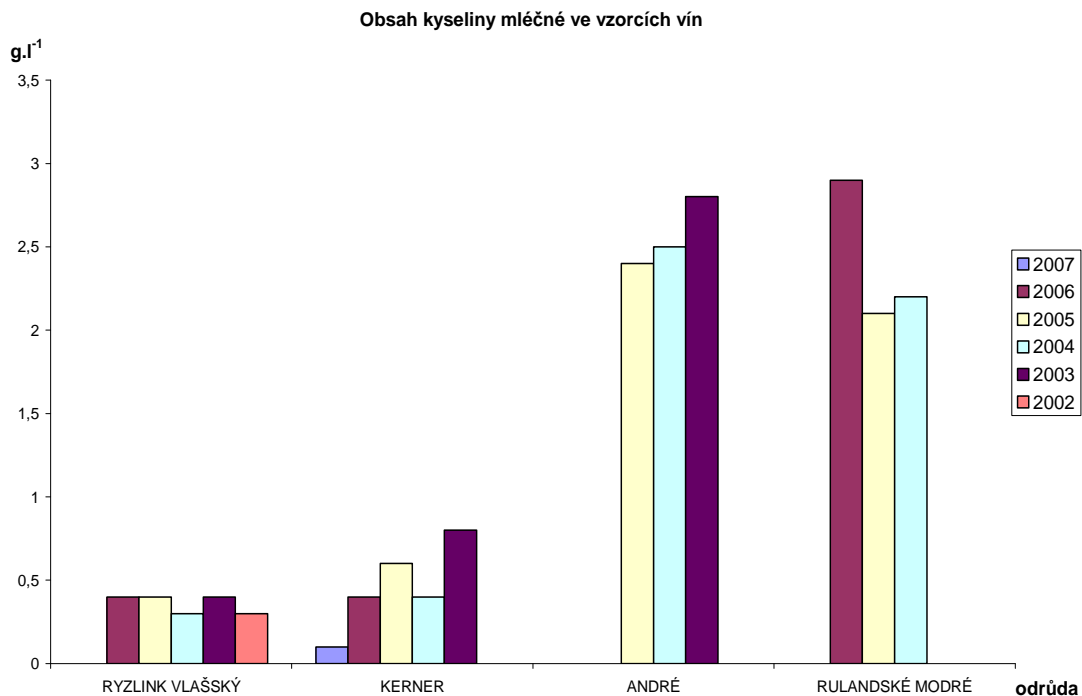
**PŘÍLOHA P IX: HODNOTY pH A OBSAH TĚKAVÝCH KYSELIN
VE VŠECH ROČNÍCÍCH A ODRŮDÁCH
ARCHIVNÍCH VÍN**



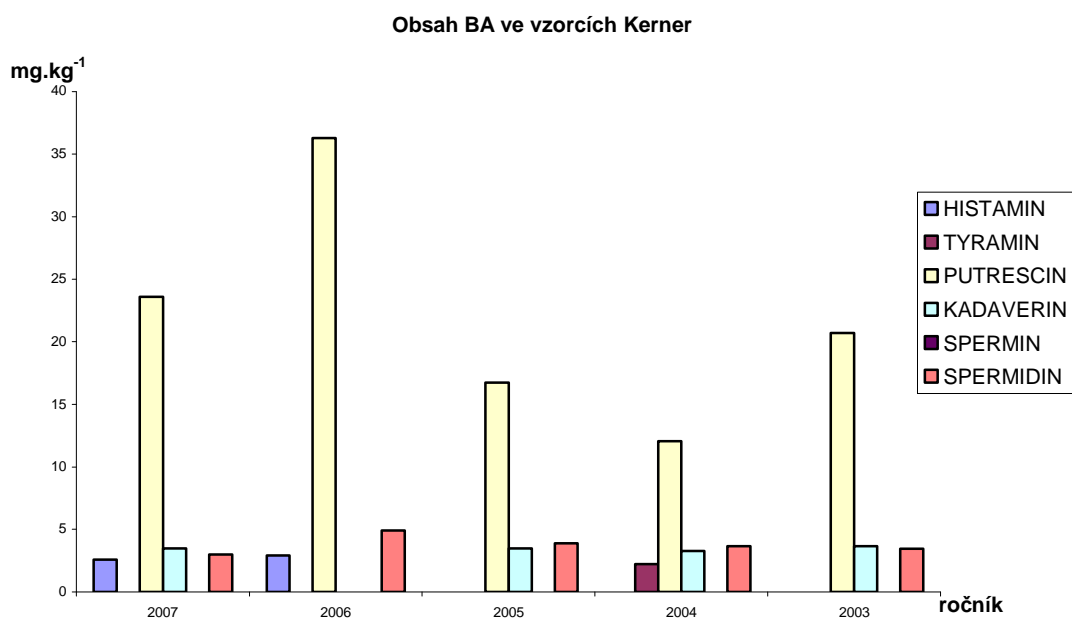
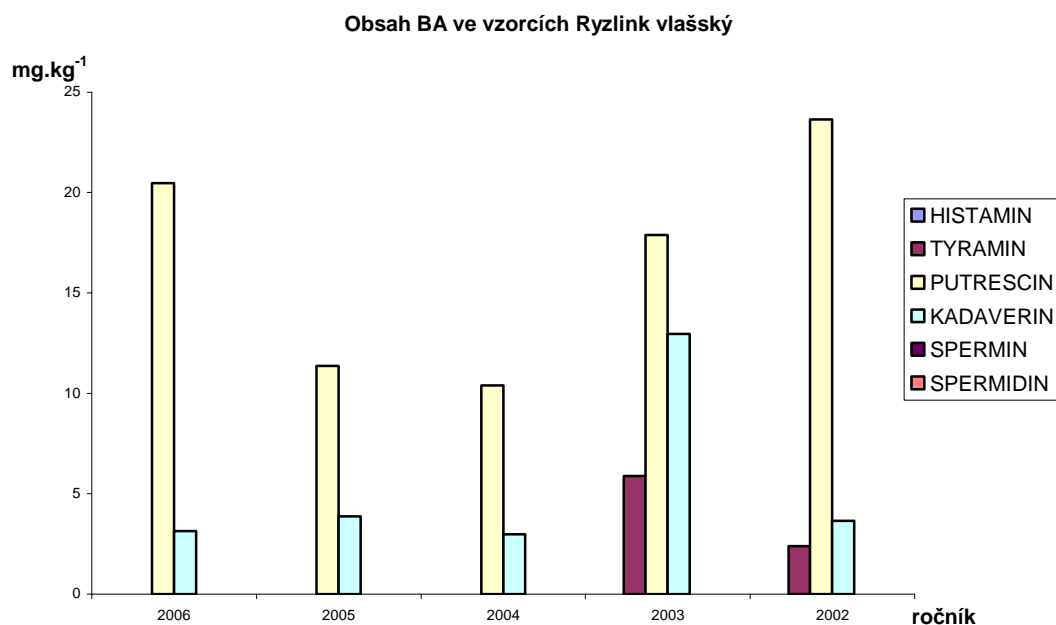
PŘÍLOHA P X: OBSAH KYSELINY VINNÉ A JABLEČNÉ VE VŠECH ODRŮDÁCH A ROČNÍCÍCH ARCHIVNÍCH VÍN



PŘÍLOHA P XI: OBSAH KYSELINY MLÉČNÉ VE VŠECH ODRŮDÁCH A ROČNÍCÍCH ARCHIVNÍCH VÍN



PŘÍLOHA P XII: OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE VZORCÍCH RYZLINK VLAŠSKÝ A KERNER



PŘÍLOHA P XIII: OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE VZORCÍCH ANDRÉ A RULANDSKÉ MODRÉ

