Kyselinový profil révových vín v průběhu technologického procesu

Bc. Olga Novotná Křížková, DiS.

Diplomová práce
2014

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav analýzy a chemie potravin
akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Bc. Olga Novotná Křížková, DiS.**
Osobní číslo:	**T11721**
Studijní program:	**N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia:	**kombinovaná**
Téma práce:	**Kyselinový profil révových vín v průběhu technologického procesu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. **Vypracovat stručný přehled technologie výroby bílých a červených vín**
2. **Zaměřit se na poznatky z oblasti chemického složení vín s důrazem na kvalitativní složení a kvantitativní zastoupení karboxylových kyselin**
3. **Shrnout poznatky o výskytu, vývoji a změnách kyselinového profilu révových vín v průběhu jednotlivých technologických operací**
4. **Stručný popis analytických metod použitých pro analýzu organických kyselin v révových vínech**

II. Praktická část

1. **Přehledné schéma získávání vzorků a uspořádání analýz včetně uvedení použitých přístrojů a materiálů**
2. **Popis principů použitých analytických metod**
3. **Prezentace dosažených výsledků praktických analýz**
4. **Zpracování a diskuze výsledků analýz doplněných o případné další poznatky**
5. **Shrnutí výsledků práce, formulace závěrů a doporučení**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. **RIBÉREAU-GAYON, P. et. al. Handbook of enology. Volume 1: Microbiology of wine and vinifications. England: Chichester, 2000. 481 s. ISBN 0-471-97362-9.**
2. **JACKSON, R. S. Wine science: principles and applications. London: Elsevier Inc., 2008. 731 s. ISBN 978-0-12-373646-8.**
3. **KÖNIG, H., UNDEN, G., FRÖHLICH, J. Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Heilderberg: Springer, 2009. 513 s. ISBN 978-3-540-85462-3.**
4. **PAVLOUŠEK, P. Výroba vína u malovinařů. Praha: Grada Publishing, 2006. 96 s. ISBN 80-247-1247-4.**
5. **STEIDL, R. Sklepní hospodářství. Valtice: Národní salon vín, 2002. 307 s. ISBN 80-903201-0-4.**
6. **BOULTON, B., SINGLETON, V. L., BISSON, L. F., KUNKEE, R. E. Principles and practices of wine making. New York: Chapman and Hall, 1996. 586 s. ISBN 0-412-06411-1.**

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Pavel Valášek, CSc.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **10. února 2014**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2014**

Ve Zlíně dne 10. února 2014

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Bc. Olga Novotná Křížková, DiS. Obor: THEVP

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 29. 4. 2014

.....

[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 pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na sledování kyselinového profilu révového vína v průběhu technologického procesu. V teoretické části je popsána technologie výroby révového vína se zřetelem na rozdílnosti výroby bílých, růžových a červených vín, chemické složení moštu, výsledného vína se zaměřením na organické kyseliny a stručný popis vybraných odrůd révy vinné. Dále je zde přehled metod použitých při stanovení kyselinového profilu vybraných vzorků vín. Praktická část je zaměřena na sledování kyselinového profilu v průběhu jednotlivých technologických operací v rámci celého výrobního procesu od vylisování až po lahvování hotových vín.

Klíčová slova: technologický proces, víno, vysoce účinná kapalinová chromatografie, kyselinový profil

ABSTRACT

The thesis is focused on following of acid profile of wine during technological process. The theoretical part describes the technology of winemaking taking into account the differences of production of white, rose and red wines, chemical composition of must and wine focusing on organic acids and brief description of selected vine varieties. Futhermore, there is summary of the methods used to determine acidity profile of selected wines. The experimental part is focused on the determination of acidity profile during all technological operations throughout the technological process from pressing to bottling wines.

Keywords: technological process, wine, high pressure liquid chromatography, acid profile

Na tomto místě bych ráda poděkovala mému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Pavlovi Valáškovi, CSc. za cenné rady, připomínky, odborné vedení, trpělivost a čas, kterou mi věnoval. Mé velké díky patří i mým nejbližším a mé rodině. Jejich finanční i morální podpora mi byla vždy oporou. Dále chci poděkovat mým kolegyním a kolegům, kteří mi pomáhali konzultovat jednotlivé analýzy, poskytli mi cenné rady a připomínky.

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

OBSAH

ÚVOD **11**

I TEORETICKÁ ČÁST **12**

1 TECHNOLOGIE VÝROBY RÉVOVÝCH VÍN **13**

1.1 VÝROBA BÍLÉHO VÍNA 13

1.1.1 Odzrňování a drcení 15

1.1.2 Lisování 15

1.1.3 Úprava moštu před kvašením 15

1.1.3.1 Odkalování moštu 16

1.1.3.2 Úprava cukernatosti, odkyselování a okyselování moštu 16

1.1.3.3 Síření moštu 17

1.1.4 Kvašení moštu 17

1.1.5 Školení a ošetřování vína 18

1.1.6 Lahvování vína 18

1.2 VÝROBA ČERVENÉHO VÍNA 19

1.2.1 Zpracování rmutu 21

1.2.2 Jablečno-mléčná fermentace 21

1.3 VÝROBA RŮŽOVÉHO VÍNA 22

1.3.1 Přímé lisování 22

1.3.2 Krvácení hroznů 22

1.3.3 Krátkodobá macerace 23

2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ VÍNA **24**

2.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ HROZNOVÉHO MOŠTU A VÍNA 24

2.1.1 Voda 24

2.1.2 Sacharidy 25

2.1.3 Kyseliny 25

2.1.3.1 Kyselina vinná 26

2.1.3.2 Kyselina jablečná 27

2.1.3.3 Kyselina citronová 28

2.1.3.4 Kyselina mléčná 28

2.1.3.5 Kyselina jantarová 28

2.1.3.6 Těkavé kyseliny 28

2.1.4 Polyfenoly 29

2.1.5 Dusíkaté látky 30

2.1.6 Minerální látky 30

2.1.7 Aromatické látky 31

2.1.8 Tuky, vosky a oleje 31

2.1.9 Alkoholy 31

3 CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÍCH ODRŮD **33**

3.1 HLAVNÍ BÍLÉ ODRŮDY 33

3.1.1 Chardonnay 33

3.1.2 Kerner 33

3.1.3 Müller Thurgau 33

3.1.4 Muškát moravský 33

3.1.5 Rulandské bílé 34
3.1.6 Rulandské šedé 34
3.1.7 Ryzlink rýnský 34
3.1.8 Ryzlink vlašský 34
3.1.9 Sauvignon 34
3.1.10 Tramín červený 35
3.1.11 Veltlínské zelené 35
3.2 HLAVNÍ MODRÉ ODRŮDY 35
3.2.1 André 35
3.2.2 Cabernet Moravia 35
3.2.3 Cabernet Sauvignon 36
3.2.4 Frankovka 36
3.2.5 Rulandské modré 36
3.2.6 Svatovavřinecké 36
4 POPIS VYBRANÝCH METOD STANOVENÍ KYSELIN VE VÍNĚ 37
4.1 STANOVENÍ PH 37
4.2 STANOVENÍ CELKOVÝCH KYSELIN 38
4.3 STANOVENÍ TĚKAVÝCH KYSELIN 38
4.4 STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN METODOU HPLC 39
4.4.1 Kolony v kapalinové chromatografii 40
4.4.2 Detektory v kapalinové chromatografii 41
4.4.2.1 Refraktometrický detektor 41
4.4.2.2 Fluorescenční detektor 41
4.4.2.3 Spektrofotometrický UV – VIS detektor 41
5 CÍL PRÁCE 43
II PRAKTICKÁ ČÁST 44
6 MATERIÁL A METODY 45
6.1 VZORKY POUŽITÉ K ANALÝZE 45
7 PŘEHLED USPOŘÁDÁNÍ ODBĚRU VZORKŮ A ANALÝZ 47
8 ČINIDLA, ROZTOKY, POMŮCKY A PŘÍSTROJE POUŽITÉ K ANALÝZE 48
8.1 STANOVENÍ PH 48
8.1.1 Měřicí přístroje 48
8.1.2 Použitá činidla a roztoky 48
8.2 STANOVENÍ VEŠKERÝCH KYSELIN 48
8.2.1 Měřící přístroje 48
8.2.2 Použitá činidla a roztoky 48
8.3 STANOVENÍ TĚKAVÝCH KYSELIN 48
8.3.1 Měřící přístroje 48
8.3.2 Použitá činidla a roztoky 49
8.4 STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN METODOU HPLC 49
8.4.1 Měřící přístroje 49

8.4.2 Použitá činidla a roztoky 50
8.4.3 Použité pomůcky 50
9 POPIS JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ 51
9.1 STANOVENÍ PH 51
9.1.1 Princip metody 51
9.1.2 Pracovní postup 51
9.2 STANOVENÍ CELKOVÝCH KYSELIN POTENCIOMETRICKOU TITRACÍ 51
9.2.1 Princip metody 51
9.2.2 Pracovní postup 52
9.2.3 Vyjádření výsledků 52
9.3 STANOVENÍ TĚKAVÝCH KYSELIN 53
9.3.1 Princip metody 53
9.3.2 Pracovní postup 53
9.3.3 Vyjádření výsledků 54
9.4 STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN METODOU HPLC S UV-VIS DETEKCÍ 54
9.4.1 Postup při měření kalibračních křivek standardů 55
9.4.2 Postup pro stanovení organických kyselin ve vzorcích moštů a vín 55
10 VÝSLEDKY A DISKUZE 57
10.1 KALIBRAČNÍ KŘIVKY PRO STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN METODOU HPLC 57
10.2 KYSELINOVÝ PROFIL JEDNOTLIVÝCH VZORKŮ VÍN 58
ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ 106
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 108
SEZNAM OBRÁZKŮ 115
SEZNAM TABULEK 116
SEZNAM PŘÍLOH 117

ÚVOD

Víno je alkoholický nápoj vyrobený fermentací moštů z hroznů révy vinné *Vitis vinifera*. Víno se dělí podle různých kritérií. Dle barvy na bílé, růžové a červené, dle obsahu cukru na suché, polosuché, polosladké a sladké nebo podle použité technologie při výrobě. Jinou technologií se vyrábí víno tiché, šumivé či perlivé a likérové víno. Tato diplomová práce je zaměřena na analýzu tichých vín vyráběných ve společnosti Zámecké vinařství Bzenec s.r.o. V posledních letech nastal velký rozvoj využití poznatků chemie a biochemie v oblasti technologie výroby vína. Hodnotit kvasící, dokvášející anebo hotové víno před lahvováním pouze podle organoleptických vlastností nemusí být vždy odpovídající. Proto dochází v poslední době ke stále častějšímu sledování technologických procesů pomocí fyzikálně-chemických analýz. Víno obsahuje pestrou škálu složek od alkoholu, přes cukry, barviva, aromatické látky a další neméně důležité látky jak z technologického hlediska, tak i z hlediska nutričního. Jednou z nejvýznamnějších složek vína jsou kyseliny. Organické kyseliny se aktivně zúčastňují metabolických přeměn ať už na keři či v průběhu výroby vína. Kyselost vína se také podílí na přirozené ochraně, spolu s etanolem působí proti bakteriím. Mezi nejdůležitější a také nejsledovanější organické kyseliny v moštech a vínech patří kyseliny jablečná, vinná a mléčná. Stanovení kyselinového profilu patří při výrobě vína k jednomu z nejdůležitějších indikátorů průběhu technologického procesu. Při výrobě vína existují technologické postupy, kterými lze obsah organických kyselin v moštu a víně ovlivňovat. Mezi tyto postupy patří odkyselování moštů před kvašením nebo jablečno-mléčná fermentace uplatňovaná zejména v technologii červených vín.

Mezi metody sledování změn organických kyselin v průběhu technologického procesu výroby vína patří stále více se uplatňující metoda vysoce účinné kapalinové chromatografie. Tato separační metoda umožňuje sledovat složení jednotlivých organických kyselin s velmi vysokou přesností.

Tato práce je zaměřena na monitorování změn kyselinového profilu v průběhu celého technologického procesu při výrobě červených, růžových a zejména pak bílých vín.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TECHNOLOGIE VÝROBY RÉVOVÝCH VÍN

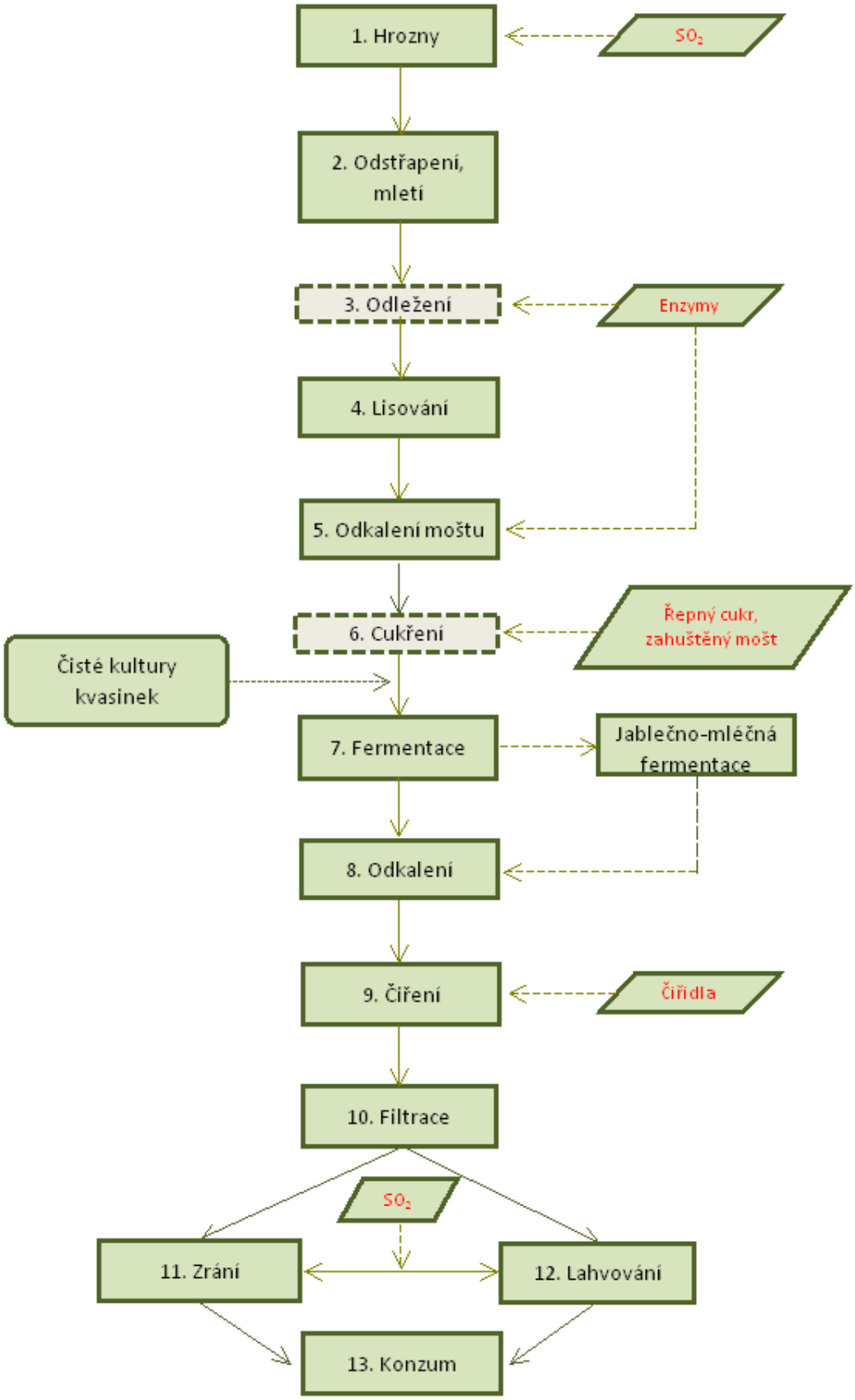
Surovinou pro výrobu vína jsou čerstvé hrozny révy vinné. Révové víno smí být vyráběno podle zásad platného zákona o vinohradnictví a vinařství, kterým je zákon č.321/2004 Sb. ve znění pozdějších předpisů. Tento zákon mimo jiné stanoví podmínky pro zabezpečení jakosti révového vína při uvádění do oběhu.

Hrozny révy vinné by měli být pro výrobu vína sbírány ve zralosti dle charakteru a druhu výsledného vína [1]. Kromě tohoto faktoru hrají při výrobě vína důležitou roli i další faktory, mezi které patří například i barva vyráběného vína (bílé, červené nebo růžové víno) [2].

1.1 Výroba bílého vína

Bílé víno se vyrábí téměř výhradně z moštu odděleného od pevných částí bobulí [3]. Od červených vín se neliší jen barvou, ale také svou chutí. Důvodem je nižší obsah taninu, jelikož se tyto mošty získávají lisováním bez macerace [4]. Výjimkou mohou být mošty aromatických bílých odrůd, které je možno pro uvolnění aromatických látek ze slupky maceraci podrobit [5].

Zdravé hrozny tvoří základní předpoklad pro výrobu kvalitních jakostních vín. Nezralé hrozny dávají vínu příchuť po třapinách a chlorofylu. Zpracované hrozny napadené hnilobou je nutno ihned zasířit, aby se předešlo škodlivému působení oxidačních enzymů a následným vadám vína. Hrozny jsou zpracovávány odděleně, dle jednotlivých odrůd a měly by být zpracovány co nejdříve [6]. Schématický postup výroby bílých vín je vidět na Obr. 1.



Obr. 1. Schéma výroby bílých vín

1.1.1 Odzrňování a drcení

Drcením a odzrňováním hroznů se bobule rozmačkají, čímž se usnadní a urychlí lisování a podstatně zvýší výtěžnost moštu [7]. Zároveň by mělo být dbáno na to, aby byly odděleny bobule od třapin. Jelikož by mohly být při lisování rozmačkány a do moštu by se dostala nepříjemná příchuť nežádoucích látek, jako jsou třísloviny, oleje a chlorofyl [8]. Tímto postupem vznikne rmut.

Hrozny aromatických, muškátových a kořeněných odrůd se mohou podrobit krátkodobé maceraci neboli nakvášení po dobu zpravidla 6 až 10 hodin před samotným lisováním [9].

1.1.2 Lisování

Lisováním dochází k oddělování moštu od tuhých částí rmutu [10]. K lisování se používají různé typy lisů. V dnešní době jsou nejpoužívanější typy lisů pneumatické, hydraulické či šroubové. Intenzitu lisování ovlivňuje konstrukce lisu, použitý tlak, mechanické vlastnosti rmutu. Důležitý je také stupeň zralosti hroznů a odrůda [11].

Na začátek lisování se volí lisovací tlaky menší, aby mohl mošt souvisle odtékat, a aby byl výtěžek co největší [12]. Výtěžek moštu kolísá podle odrůdy, vyzrálosti hroznů, ročníku a podle lisovací techniky. Zpravidla se výlisnost pohybuje kolem 70 – 75 %. Z celkového výtěžku moštu připadá přibližně 60 % na samotok, 27 % na mošt z prvního lisování, 10 % z druhého lisování a 3 % z třetího lisování [13]. Samotok má vždy vyšší obsah cukru a kyselin, ale méně extraktu a buketních látek. Oproti tomu mošt z druhého lisování má méně cukru a kyselin, ale vyšší extrakt [14].

1.1.3 Úprava moštu před kvašením

Aby byl mošt kvalitní a byl zaručen optimální průběh kvašení a vysoká jakost vyrobeného vína, je možné mošt získaný lisováním upravovat [15]. Ošetření moštu před kvašením je zaměřeno na zlepšení jak jeho nedostatků, které vznikají vlivem nepříznivých klimatických podmínek, tak na jeho přípravu ke kvašení [8].

K základním úpravám moštu před kvašením patří úprava cukernatosti, odkalení, odkyselování, okyselování, provzdušnění a síření moštu [15].

1.1.3.1 Odkalování moštu

Odkalováním se rozumí odstranění složek a příměsí, které způsobují zákaly v moštu. Z převážně části jde o úlomky třapin, nevyvinutá semena, půdní částice, prach a nahnilé části hroznů, které mohou být přenašečem mnoha škodlivých mikroorganizmů a enzymů [13]. Kaly moštu tvoří také složitější třísloviny, dusíkaté látky s velkou molekulovou hmotností, proteiny, celulóza, pektinové látky, slizovité, gumovité látky a komplexy postřikových koloidů na bázi mědi, zinku a organických fungicidů [16]. Vyluhováním těchto nečistot v kvasícím moštu se získávají neharmonická vína [4].

Odkalování se provádí statickým nebo dynamickým způsobem. Statické odkalování je principielně nenáročné. Mošt se nechává stát v klidu a chladu. Těžké částice při tomto způsobu odkalování sedimentují samovolně na dno nádoby. Sedimentaci je možné zlepšit přidáním bentonitu, želatiny, pektolytických enzymů, popřípadě jiných činidel [17]. Dynamický způsob odkalování zahrnuje filtraci na vakuových filtrech či odstřeďování.

1.1.3.2 Úprava cukernatosti, odkyselování a okyselování moštu

V nepříznivých letech hrozny některých odrůd nedozrávají, takže obsahují málo cukru a hodně kyselin. Bez zlepšení těchto moštů by budoucí víno neodpovídalo určitým požadavkům na kvalitu [18]. Mošty s nízkým obsahem cukru dávají vína alkoholicky slabá, neharmonická, snadno podléhající křísovatění a jiným nemocem [7]. Zvýšení cukernatosti je možné přidáním sacharózy, zahuštěného hroznového moštu nebo rmutu. U vín jakostních s přívlastkem nelze upravovat cukernatost jakýmkoliv způsobem a takto je uvádět do oběhu [3]. Přislazování kvalitním zahuštěným moštem je lepším řešením, než přislazování sacharózou [16].

Mošty s nízkým obsahem cukru mají obyčejně vyšší obsah kyselin. Aby byl harmonický poměr mezi cukry a kyselinami v moštu a v budoucím víně, nestačí jen docukření, ale v ročnících, kdy hrozny špatně dozrávají, by se měl snížit i vysoký obsah kyselin. V moštu se vyskytuje především kyselina vinná a jablečná. Již při kvašení jsou kyseliny odbourávány. Kyselina vinná se během kvašení vysráží s draslíkem na hydrogenvinan draselný. Kyselina jablečná zas podléhá biologickému odbourání většinou po ukončení kvasného procesu. Pokud odkyselení touto přirozenou cestou nestačí, přistupuje se k odkyselení chemickou cestou pomocí uhličitanu vápenatého nebo lze použít speciálně připravené anexy [14].

V situaci, kdy mají mošty málo kyselin, vzniká nebezpečí, že vyrobené víno bude fádní a neharmonické a bude mít sklon k rychlému stárnutí. Takové mošty se upravují okyselením přidáním kyseliny vinné. Obsah kyselin také lze upravit scelením s moštem s vyšším obsahem kyselin [19].

1.1.3.3 Síření moštu

Oxid siřičitý působí v moštu konzervačně a redukčně [18]. Sířením moštu je zabráněno činnosti škodlivých mikroorganismů, zvláště octových bakterií. U bílých vín je sířením dosaženo světlejší barvy, vytvoří se předpoklad pro zvýšení obsahu buketních látek, jako jsou estery kyseliny siřičité a zároveň dojde k omezení biologického štěpení kyseliny jablečné [19].

1.1.4 Kvašení moštu

Alkoholové kvašení je složitý biochemický proces, při kterém kvasinky a jimi produkované enzymy zkvašují cukr v moštu na etanol a oxid uhličitý [20]. Mimo uvedené hlavní produkty vznikají v průběhu kvašení i vedlejší produkty, zejména glycerol, kyselina octová a mléčná, aldehydy, estery, acetáty a jiné látky [21]. Na kvašení se podílejí jak kvasinky divoké, které se do moštu dostávají spontánně ze zdravých hroznů, tak čisté kultury kvasinek [9]. Vyšlechtěné čisté kultury kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces oviformis* a *Saccharomyces bayanus* zajišťují rychlé a hluboké prokvášení [22].

Kvašení moštu lze rozdělit na tři fáze a to začátek kvašení, bouřlivé kvašení a dokvášení. Začátek kvašení je charakteristický rozmnožováním kvasinek. Vzniká zde i největší množství glycerolu. Oproti tomu hlavní kvašení, označované také jako bouřlivé kvašení, je charakteristické velmi intenzivní činností vinných kvasinek, zvýšeným vývojem oxidu uhličitého a uvolňováním tepelné energie. V tomto období vytvářejí kvasinky velké množství alkoholu, který omezuje nebo zcela zastavuje činnost nežádoucích mikroorganizmů. Mošt se v této fázi kvašení často zahřívá až na 25 – 35 °C, proto je vhodné řídit kvašení regulací teploty, jelikož při vyšších teplotách mohou vznikat ztráty v obsahu buketních látkek. Poslední fáze kvašení je charakterizována jako fáze dokvášení. V některých případech může trvat i několik měsíců. V tomto období se činnost kvasinek úplně zastaví [9].

V průběhu kvašení a dokvášení se formuje aktivní i titrační kyselost mladých vín. Při kvašení moštů s vyšším pH vzniká vyšší množství kyseliny mléčné a jantarové než je obvyklé množství těchto kyselin ve víně [23].

1.1.5 Školení a ošetřování vína

Po kvasném procesu nastávají ve víně různé fyzikální, chemické a biologické změny. Období od ukončení kvasného procesu do prvního stáčení se nazývá formování vína. Je charakterizováno odbouráváním kyselin a samovolným čištěním vína. Průběh formování vína je možné vhodnými technologickými zásahy usměrnit a tak podstatně zlepšit kvalitu vína [4]. Jedná se především o dolévání, stáčení, filtraci a přípravu vína k plnění [24].

Během dokvášení se tvoří už jen málo oxidu uhličitého, který nestačí víno v nádobě konzervovat, a tak vzniká nebezpečí oxidace. Proto se víno po dokvašení musí dolít [19].

Dále nastává i postupné samovolné čištění vína [3]. Na délku a průběh čištění mají vliv i vnější činitelé jako je teplota, provzdušňování, síření. Sraženiny, které postupně sedimentují, jsou tvořeny bílkovinami, pektinovými látkami, vznikají sraženiny vinného kamene [13]. V podobě kvasničných kalů se na dně usazují také nečistoty a odumřelé kvasinky [18]. Dlouhým ležením na kvasničných kalech by mohla vzniknout ve víně nepříjemná příchuť po kvasnicích, popřípadě i tvorba zákalů. V průběhu zrání se proto víno stáčí, nejčastěji dvakrát [25].

Aby bylo dosaženo čistého a jiskrného vína v lahvi, musí se ještě před naplněním do lahví dokonale vyčistit a stabilizovat tak, aby se nevytvářel zákal v láhvi. Tato stabilizace se skládá z čiření doplněného filtrací. Jako čiřidla se využívají látky, které reagují s některými složkami vína, koagulují, vytvářejí koloidní shluky a usazují se na dno s ostatními nečistotami. K čiření bílých vín se nečastěji používají kasein a bentonit [3].

Jako jeden z posledních kroků před lahvováním vína je filtrace, která zajišťuje nejen vyčištění vína, ale i jeho jiskrnost. V dnešní době se používají nejrůznější typy filtračních zařízení od filtrů deskových, přes naplavovací filtry až po cross-flow filtraci [24].

1.1.6 Lahvování vína

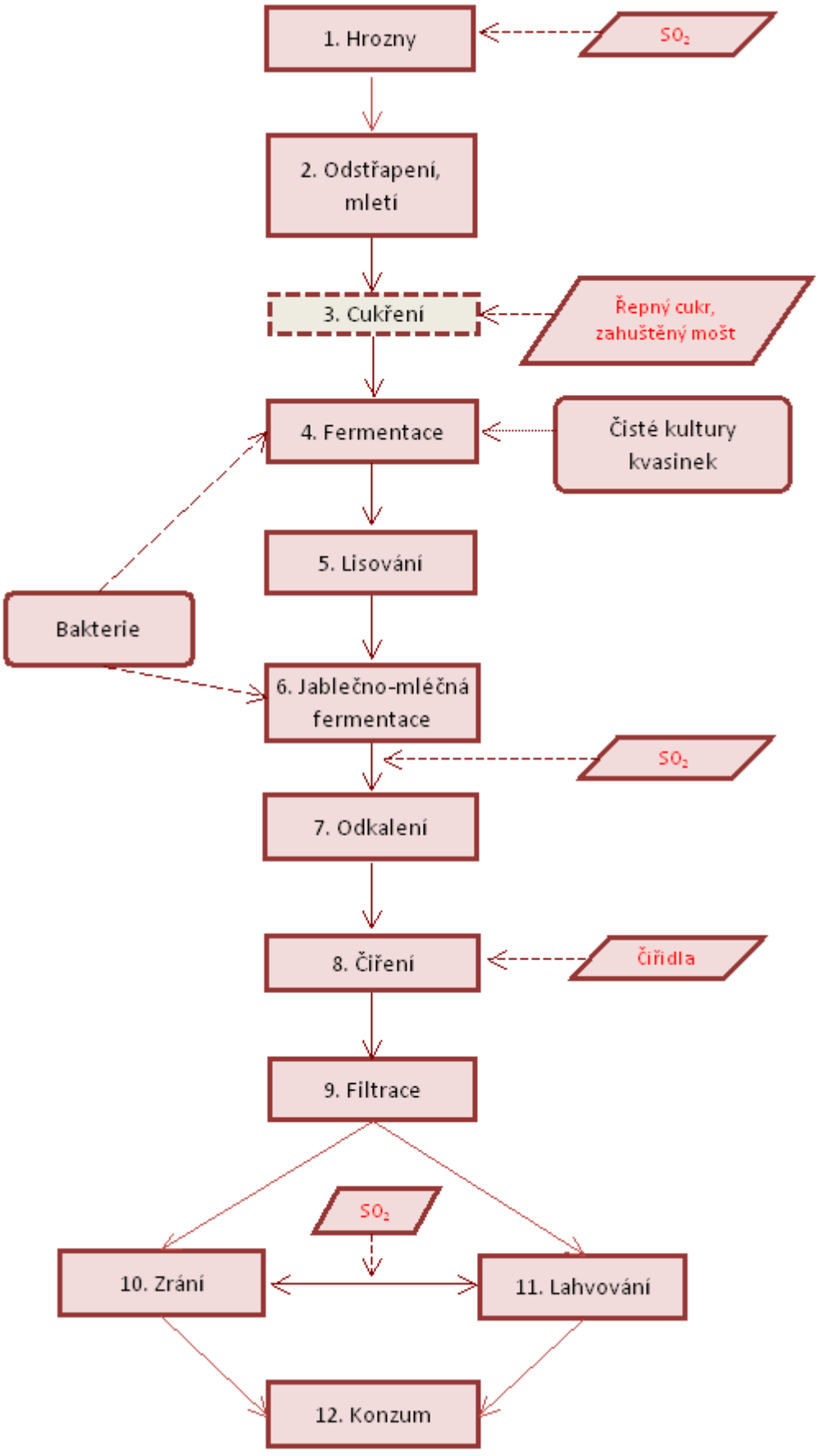
Nejvhodnější doba pro stáčení vína do lahví se určuje podle výsledků senzorického posouzení vína. Víno se před stočením do lahví dle potřeby dočiří, zfiltruje a zasíří [26].

Na trhu se víno prodává v typizovaných, popřípadě tvarovaných lahvích [27]. Láhve musí být vždy dokonale čisté. Vlastní stáčení má proběhnout za omezeného přístupu vzduchu. Naplněné láhve se ihned zátkují [28]. Láhve s vínem se uzavírají zpravidla korkovými zátkami, které jsou pružné, dobře těsní a neovlivňují kvalitu vína [29]

1.2 Výroba červeného vína

Červené víno se vyrábí z modrých odrůd hroznů. Má odlišný charakter než bílé víno a i způsob zpracování je odlišný [30].

Červené barvivo je až na výjimky uloženo pouze ve slupkách bobulí. Pokud by byly hrozny na výrobu červeného vína ihned po sklizni lisovány, získal by se tímto způsobem bezbarvý mošt, ze kterého po prokvašení vznikne bílé víno, které se nazývá klaret [10]. Odzrňování a drcení hroznů modrých odrůd je stejným technologickým krokem a tudíž se neliší od zpracování bílých odrůd hroznů. Rozdílnost technologického procesu zpracování bílých a modrých odrůd nastává až úpravou a zpracováním rmutu [31]. Schéma výroby červeného vína je znázorněno na Obr. 2.



Obr. 2. Schéma výroby červených vín

1.2.1 Zpracování rmutu

Rmut modrých odrůd hroznů se před samotným lisováním podrobuje nakvášení. Nakváší se proto, aby se z buněk slupky dostalo do vína co nejvíce červeno-fialových antokyanových pigmentů [32]. Další neméně důležité látky přecházející do moštu v průběhu nakvášení jsou třísloviny a katechiny. Vlivem vznikajícího alkoholu dochází k rozrušení buněčných struktur slupky, přičemž vznikající alkohol spolu s kyselinami za účinku pektolytických enzymů uvolňují polyfenoly do rozkvašených moštů. Doba nakvášení se pohybuje od 6 do 10 dnů a řídí se vyzrálostí hroznů a teplotou. Optimální teplota pro nakvášení je 18 – 22 °C [30]. Při vyšší teplotě, za přístupu vzduchu se rychle rozmnožují bakterie octového kvašení a vzniká nebezpečí octovatění vína. Proto je vhodné teplotu v průběhu nakvášení sledovat a podle možnosti i regulovat [19]. Unikající oxid uhličitý vznikající v průběhu nakvášení nadnáší pevné částice, které na povrchu kvasícího moštu vytváří souvislou vrstvu tzv. matolinový klobouk. Tento matolinový klobouk velmi snadno oxiduje. Oxidace postihuje polyfenoly, zejména antokyany, které jsou degradovány na oxidované hnědé formy, zhoršující chuťové vlastnosti červených vín. Oxidace je omezována pravidelným mícháním a ponořováním matolinového klobouku. Nakvášení probíhá v otevřených či uzavřených kvasných kádích, betonových i kovových tancích, případně i pod ochrannou atmosférou oxidu uhličitého [4]. Aby během nakvášení nedocházelo k nežádoucím infekcím, posypává se rmut disiřičitanem draselným [33].

Po skončení nakvášení je potřeba rmut co nejrychleji vylisovat. Lisování probíhá stejným způsobem jako při výrobě bílého vína. Vylisované mladé červené víno se plní do tanků či sudů, kde je ponechán jen malý prostor pro dokvášení [18].

1.2.2 Jablečno-mléčná fermentace

Jablečno-mléčná fermentace je enzymatická přeměna dikarboxylové kyseliny L-jablečné na monokarboxylovou kyselinu L-mléčnou za vzniku oxidu uhličitého díky aktivitě mléčných bakterií [34]. Tato fermentace je častěji využívána u červených vín k podpoře chuti a vůně, kdy je potlačen výskyt rostlinných tónů a zvýraznění ovocného buketu [35]. Kvašení způsobují specifické mléčné bakterie, které jsou náročné na živiny a citlivé na prostředí [36]. Mezi rody účastnící se fermentace patří *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Oenococcus* [37]. Homofermentativní rod *Pediococcus* přeměňuje glukózu

nebo fruktózu na kyselinu mléčnou, heterofermentativní rody *Laktobacillu*s a *Oenococcus* vytvářejí vedle kyseliny mléčné také další produkty jako kyselinu octovou, etanol a oxid uhličitý [38]. Tento děj probíhá při dokvášení. Mléčné bakterie potřebují mnoho živin zejména dusíkatých látek, které získávají z autolyzovaných kvasinek [39].

Tato fermentace může proběhnout v mladém dokvášejícím víně samovolně nebo mohou být bakterie mléčného kvašení přidány záměrně. V praxi se využívají bakterie druhu *Oenococcus oeni* [3]. Průběh jablečno-mléčné fermentace ovlivňuje obsah oxidu siřičitého a teplota. Oxid siřičitý má velký inhibiční účinek na mléčné bakterie [40]. Odbourávání je možné urychlit a podpořit regulací teplot vín na 13 – 17 °C [23].

Další technologické postupy jsou shodné jako u výroby bílého vína.

1.3 Výroba růžového vína

Růžové víno je vyráběno z hroznů modrých odrůd révy vinné a obsahuje vždy menší množství antokyaninů a taninů. Tento typ vína je stále častěji označován jako Rosé [41].

Technologie výroby růžového vína je velmi podobná technologii výroby bílého vína. U růžových vín může být aplikováno i jablečno-mléčné kvašení. V dřívějších dobách bylo běžným způsobem výroby růžového vína prosté míchání vína červeného a bílého či společné zpracování červených a bílých hroznů. Postupně se však stále zvyšovaly na výrobu růžových vín nároky, což podpořilo vývoj nových technologií. Zpravidla se postup výroby dělí na tři základní postupy, díky kterým lze získat víno růžové barvy. Jsou to přímé lisování, krvácení hroznů nebo krátkodobá macerace [3].

1.3.1 Přímé lisování

Metoda je založena na lisování celých modrých hroznů bez předchozího narušení bobulí a to tak dlouho a do takového tlaku, dokud mošt nedosáhne požadované intenzity zbarvení. Takto vyrobené víno má velmi světlou barvu [41].

1.3.2 Krvácení hroznů

Často také zvaná metoda samotoku. Jde o postup výroby, kdy se podrcené modré hrozny lisují vlastní vahou. Mošt se odebírá až po dosažení požadované barevné intenzity. Jelikož během tohoto procesu dochází k delšímu kontaktu slupek s moštem, který se

uvolňuje již v průběhu mletí, má víno vyrobené touto metodou obvykle příjemně narůžovělou barvu.

1.3.3 Krátkodobá macerace

Ve své podstatě se tento způsob výroby růžového vína shoduje s technologií výroby červeného vína. Při tomto způsobu výroby probíhá nakvášení rmutu, které je ale zkráceno na takovou dobu, aby mošt získal barvu vhodnou pro rosé. Důležitou roli zde hraje teplota, která by se měla pohybovat kolem 10 – 15 °C a obsah barviv v hroznech dané odrůdy. Krátkodobá macerace může probíhat přímo na lisu. Délka macerace trvá v závislosti na odrůdě 5 – 36 hodin [3, 23].

Tato metoda zpracování modrých hroznů pro výrobu růžového vína je uplatňována v Zámeckém vinařství Bzenec s.r.o., kde byly vzorky moštů a vín odebírány a podrobeny analýze.

Další postup výroby je velmi podobný výrobě bílého vína a zahrnuje kroky, mezi které patří statické odkalení moštu nebo odkalení přídavkem bentonitu, výběr vhodného kmene kvasinek, čiření, filtrace a stabilizace [3].

2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ VÍNA

2.1 Chemické složení hroznového moštu a vína

Celkovou jakost moštu a výsledného vína ovlivňuje mnoho činitelů. Mezi tyto faktory patří odrůda hroznů, půda, poloha a způsob lisování [4]. Podstatný vliv na chemické složení má i stupeň zralosti bobulí. Nezralé bobule mají nízký obsah cukrů, buketních látek, antokyanových barviv v případě modrých odrůd, bílkovin a aminokyselin, ale naopak zvýšený obsah kyselin. Mošty z vyzrálých hroznů jsou bohatší na látky tvořící extrakt vín, buket a chuť [16]. Dalším důležitým faktorem, na kterém závisí chemické složení, je průběh počasí během vegetačního období. Díky tomuto faktoru je proměnlivý především obsah hlavních součástí tj. cukrů a kyselin [19]. Složení moštu má tedy vliv na kvalitu z něj získaného vína a určuje i potřebné ošetření moštu. Mošt z vylisovaných hroznů je chemický roztok mnoha rozpuštěných látek [42]. Z chemického hlediska jsou podstatnými složkami moštu voda, cukry, kyseliny, třísloviny, barviva, bílkoviny, minerální látky, tuky a vosky, aromatické látky a enzymy [19].

Víno obsahuje látky, jež jsou původní součástí moštu nebo rmutu, látky vznikající při kvašení a látky cizorodé, které se dostávají do vína v průběhu technologického procesu a patří buď k běžným složkám vína, nebo se řadí mezi kontaminanty [26]. Také poměr a koncentrace jednotlivých látek je jiná. Vlivem fermentace vznikají ve víně alkoholy a tím dochází k úbytku sacharidů a dusíkatých látek, které využívají mikroorganismy při kvašení [42].

2.1.1 Voda

Tvoří podstatnou část moštu. Její obsah se pohybuje od 70 – 90 %, závisí na kvalitě, vyzrálosti hroznů a povětrnostních podmínkách při dozrávání hroznů. Při přezrávání se může obsah vody podstatně snižovat v důsledku výparu. Jelikož je vysoký obsah vody v moštu nežádoucí, můžeme obsah zredukovat na vakuových odparkách, reverzní osmózou nebo vymrazováním. Dalším postupem, při kterém dochází ke snižování obsah vody, je sušení bobulí na slámě. Tento postup souvisí se speciální technologií zpracování [8]. Voda je hlavní složkou a rozpouštědlem pro všechny ostatní látky, je důležitá pro chemické reakce probíhající jak při růstu hroznů, tak při kvašení moštů a zrání vína [9, 42].

2.1.2 Sacharidy

Tato skupina látek slouží v přírodě jako základní stavební kámen buněčných stěn a jako chemický akumulátor energie [42]. Vytvářejí se asimilací oxidu uhličitého v buňkách zelených částí rostlin [4]. Obsah sacharidů v moštu je okolo 17 – 24 %. V hroznovém moštu se přibližně ve stejném množství vyskytují dva jednoduché cukry a to glukóza a fruktóza. V průběhu zrání se zpočátku tvoří zejména glukóza. Později se zvyšuje obsah i fruktózy. Nakonec se jejich poměr vyrovná, takže v úplné zralosti se vyskytují přibližně v poměru 1 : 1. V některý případech, zejména při přezrávání, může převládat fruktóza. Při fermentaci nejsou tyto cukry jen prekurzorem etanolu, ale také mnoha látek chuťových i aromatických [14]. Glukóza a fruktóza se během kvašení přeměňují rozdílnou rychlostí. Poměr mezi glukózou a fruktózou se z poměru 1 : 1 v moštu během kvašení mění ve prospěch fruktózy [42].

Sacharóza se v hroznech pěstovaných zejména v České republice nevyskytuje nebo jen ve velmi malém množství se může vyskytovat v bobulích. Vlastními kyselinami bobulí nebo pomocí enzymu invertázy dochází k jejímu úplnému štěpení na glukózu a fruktózu [42].

Mimo glukózu a fruktózu, které obsahují 6 atomů uhlíku, se mohou v moštu vyskytovat i cukry s 5 atomy uhlíku (pentózy). Kvasinky tyto cukry nezpracovávají. Z pentóz mošty obsahují L-arabinózu a D-xylózu. Do moštu se dostávají z pevných částí hroznů rozpadem pentozanů nebo mohou vznikat v hroznech i přímo z hexóz [42, 43]. Pentózy poměrně snadno reagují s aminokyselinami, tím vznikají melanoidní barviva, která se podílejí na chuťových vlastnostech vína [14].

Škrob se do moštu dostává pouze při lisování velkým tlakem ze stopek [44]. Polysacharidy jsou jako podstatná část koloidních sloučenin ve víně nežádoucí, mohou způsobovat potíže při filtraci [23].

2.1.3 Kyseliny

Organické kyseliny vznikají asimilací v zelených částech rostlin z vody a oxidu uhličitého. Jejich přesnější označení dle chemického názvosloví je karboxylové kyseliny [45]. V potravinách patří k derivátům alifatickým, alicyklickým a aromatickým, které mohou obsahovat jednu nebo několik karboxylových skupin. Estery karboxylových kyselin jsou důležitou složkou primárního arómatu potravin, zvláště ovoce, zeleniny

a nápojů, sekundárně vznikají při stárnutí vína a lihovin [46]. Organické kyseliny mají velký vliv na barvu, chuť a stabilitu výsledného vína [47]. Celkové množství kyselin závisí na odrůdě, viniční trati, vyzrálosti hroznů, ročníku. Jejich obsah v hroznech kolísá od 6 do 15 $g.l^{-1}$ [23, 42]. V období růstu hroznů kyselin přibývá, naopak v období zrání se obsah kyselin snižuje [21]. Bobule hroznů obsahují v dužnině zejména kyselinu vinnou, kyselinu jablečnou a malé množství kyseliny citronové [49]. Nevyzrále hrozny obsahují i malé množství kyseliny glykolové, jantarové a šťavelové [4]. Koncentrace některých minoritních organických kyselin se může zvýšit například u hroznů napadených ušlechtilou plísní *Botrytis cinerea*. Roste obsah kyseliny citronové, glukonové a galaktarové [50]. Existuje mnoho hypotéz o tom, jak se kyseliny v hroznech tvoří. Jedna z teorií předpokládá, že tvorba organických kyselin probíhá na úkor sacharidů, jiní autoři se zas domnívají, že tvorba organických kyselin souvisí s metabolismem dusíku [23].

Celkový obsah kyselin ve víně se na rozdíl od hroznů a moštů pohybuje v průměru 5 – 6 $g.l^{-1}$ a sestává z kyseliny vinné, jablečné a ve velmi malém množství i z kyseliny mléčné, citrónové a jantarové [51]. V hroznech, moštu a víně jsou kyseliny jednak jako volné, jednak vázané ve formě solí. Kyseliny dávají moštu, a zvláště pak vínu, příjemnou osvěžující chuť, podporují činnost kvasinek a víno pak do jisté míry konzervují [52]. Obsah kyselin ve víně je pojem relativní. Důležitější pro chuť vína je spíše jejich působení ve víně, než jejich absolutní obsah. Stupeň kyselosti závisí na druhu kyseliny, na obsahu volných kyselin ve víně a na tom, jak dalece jiné látky obsažené ve víně dají kyselinám vyniknout či nikoliv [53]. Na aktivní kyselosti závisí i průběh oxidačních procesů. Čím vyšší kyselost, tím pomaleji probíhají oxidační procesy ve víně [23].

2.1.3.1 Kyselina vinná

Také označovaná jako kyselina dihydroxyjantarová, je dvojsytná kyselina se dvěma asymetrickými uhlíky. Konfiguračně existují dva optické izomery a dvě opticky neaktivní kyseliny. Kyselina vinná se nachází ve všech orgánech vinné révy, v kterých váže draslík a ve formě soli se transportuje do plodů. Množství kyseliny vinné v moštech z nezralých bobulí je 0,6 – 2,2 $g.l^{-1}$ [16]. V moštech dobře vyzrálých ročníků tvoří podíl kyselin vinné 65 – 70 % všech titrovatelných kyselin, u méně vyzrálých ročníků s vysokým podílem kyseliny jablečné se snižuje podíl kyseliny vinné na 35 – 40 % [42]. V přezrálých

hroznech se kyselina vinná již netvoří, ale váže se na vápník ve formě těžko rozpustných vinanů. Nerozpustnost vinanu vápenatého se využívá při odkyselování moštů a vín [23].

Kyselina vinná a její soli mají kromě toho, že působí na chuť vína, také velký vliv na biochemické procesy probíhající při tvorbě vína. Kyselina vinná nebo její soli mohou při výrobě vína způsobit obtíže, protože po skončení kvasného procesu se kvantitativně vysráží hydrogenvinan draselný a vinan vápenatý jako vinný kámen v obsahu 0,5 až 1,5 $g.l^{-1}$ v důsledku zvýšení obsahu alkoholu ve víně, jehož přítomnost snižuje rozpustnost kyseliny vinné. Vlivem vysrážení vinného kamene dochází současně k mírnému zvýšení pH [16]. Vysrážení vinného kamene může pokračovat i při zrání vína a také v lahvi, kde už je však nežádoucí, jelikož ve víně vznikne zákal. Aby se zákaly ze solí kyseliny vinné v hotovém výrobku nevyskytovaly, používají se různé způsoby preventivního odstraňování vinanů. Mezi tyto způsoby odstraňování patří vymrazování nebo například použití ionexů [23].

Ve víně může za určitých podmínek proběhnout také nežádoucí rozklad kyseliny vinné působením některých mléčných bakterií. Při rozkladu této kyseliny vzniká oxid uhličitý, kyselina octová, kyselina mléčná a kyselina jantarová [23]. Tento rozklad se v dnešním moderním vinařství vyskytuje už jen zřídka.

2.1.3.2 Kyselina jablečná

Z chemického hlediska je kyselinou monohydroxyjantarovou, někdy také nazývaná hydroxyjantarová. Má jeden asymetrický uhlík, takže se vyskytuje ve dvou opticky aktivních formách jako kyselina L- a D-jablečná a v jedné formě inaktivní jako racemická kyselina D-L-jablečná [46]. V moštu a víně se vyskytuje jako L-jablečná [23]. V bobulích hroznů révy vinné se její obsah zvyšuje během období růstu na 15 – 20 $g.l^{-1}$. Při vyzrávání se její obsah následkem dýchání trvale snižuje, zralé hrozny jí obsahují pouze 3 – 5 $g.l^{-1}$ [42]. V nepříznivých ročnících může být obsah kyseliny jablečné značně vysoký a to 10 – 13 $g.l^{-1}$ [4, 9]. Ve víně se zkvašuje některými druhy mléčných bakterií na kyselinu mléčnou a oxid uhličitý. Kyselinu jablečnou přeměňují během kvašení také kvasinky, přičemž vzniká alkohol, nikoli však kyselina mléčná jako při biologickém odbourávání kyselin, jak bylo popsáno v souvislosti s jablečno-mléčnou fermentací v kapitole technologie výroby červených vín.

2.1.3.3 Kyselina citronová

Patří mezi alifatické hydroxykyseliny. Hojně se vyskytuje v citrusových plodech, odkud pochází její název [45]. Vyskytuje se převážně v nezralých bobulích hroznů. Zráním se její obsah nemění. Její množství v moštu se pohybuje do 0,7 $g.l^{-1}$ [23]. V mladých vínech se vyskytuje v množství do 300 $mg.l^{-1}$, jelikož ji kvasinky a zejména pak bakterie poměrně rychle rozkládají v průběhu jablečno-mléčné fermentace [31]. Vyšší množství a to až 600 $mg.l^{-1}$ se může vyskytovat v moštech z hroznů napadených ušlechtilou hnilobou nebo v ledových vínech [42].

2.1.3.4 Kyselina mléčná

Je alifatická hydroxykyselina, která je v malém množství tvořena kvasinkami při fermentaci [54]. Větší množství kyseliny mléčné vzniká ve víně jen při bakteriálním odbourávání kyseliny jablečné na mléčnou. Její koncentrace ve víně závisí na množství kyseliny jablečné [14].

Ve víně může nastat také nežádoucí mléčné kvašení, při kterém vzniká z cukrů působením heterofermentativních bakterií kyselina mléčná. Nežádoucí mléčné kvašení probíhá zpočátku jako alkoholové kvašení, vzniká kyselina pyrohroznová, která potom hydrogenací přechází na kyselinu mléčnou a dekarboxylací na acetaldehyd, z kterého se pak vytváří etanol a kyselina octová [23].

2.1.3.5 Kyselina jantarová

Patří mezi alifatické dikarboxylové kyseliny [46]. Syntetizuje se ve víně v rámci cyklu dikarboxylových kyselin. Podle některých autorů vznikající acetaldehyd z kyseliny pyrohroznové aktivuje enzymatický aparát kvasinek, přičemž vzniká kyselina octová, z které vzniká kyselina jantarová. Dle dalších autorů vzniká kyselina jantarová i z kyseliny glutarové dvoustupňovým oxidačním procesem nebo přímo z hexóz. Z toho vyplývá, že kyselina jantarová je pravidelně vznikajícím vedlejším produktem kvašení. Její obsah ve víně se pohybuje do 1 $g.l^{-1}$ [16].

2.1.3.6 Těkavé kyseliny

Jsou produktem metabolizmu kvasinek, mléčných a octových bakterií. Ve směsi těkavých kyselin je největší podíl tvořen kyselinou octovou. Její obsah se pohybuje kolem

0,2 – 0,6 $g.l^{-1}$. Vyšší obsah nad 0,8 $g.l^{-1}$ signalizuje produkci kyseliny octové octovými bakteriemi. Malé množství kyseliny octové mohou vytvářet kvasinky za nepřístupu vzduchu, primárně ale vzniká v aerobním prostředí oxidací etanolu na kyselinu octovou [21].

Mezi další kyseliny vyskytující se ve směsi těkavých kyselin patří kyselina máselná a propionová. Obsah těkavých kyselin ve vínech je limitován zákonnými předpisy uvádějícími maximální množství těkavých kyselin v $meq.l^{-1}$ (miliekvivalent na litr) či v $g.l^{-1}$ v přepočtu na kyselinu octovou.

2.1.4 Polyfenoly

Jsou často zahrnovány pod společné označení třísloviny a barviva. Polyfenoly tedy ovlivňují barvu, hořkost, stahující pocit v chuti, jímavost kyslíku a průběh stárnutí moštu. V případě šetrného zpracování hroznů a opatrného lisování se obsah pohybuje v bílém víně v množství pod 200 $mg.l^{-1}$. Odležením rmutu a silnějším lisováním se obsah polyfenolů v moštu zvyšuje. U červených rmutů a následně pak i vín je obsah polyfenolů 3x až 10x vyšší [42]. Mezi polyfenolické látky vyskytující se v moštu a víně patří flavony, antokyany a fenolové kyseliny.

Třísloviny v moštu tvoří důležitou skupinu látek. Do vína se dostávají z třapin, slupky a hlavně peciček, které jsou na třísloviny velmi bohaté [8]. Zejména u červených moštů a vín vytvářejí nejenom chuťový projev, ale pomáhají čiření. Třísloviny obsažené ve víně se nazývají oenotaniny a patří k hydrolyzovatelným tříslovinám, jejichž základem jsou různé vazby kyseliny digallové na glukózu [23]. Jelikož jsou hydrolyzovatelné třísloviny obsaženy zejména v třapinách a ve slupkách bobulí, liší se jejich obsah v moštu a víně podle toho, jak dlouho byl mošt či rmut ve styku právě s těmito třapinami, slupkami či pecičkami [26]. Ve víně se vyskytují také třísloviny kondenzované, u kterých se předpokládá, že se do vína dostávají ze sudů [53]. Oenotaniny mají velmi důležitou roli, jelikož s bílkovinami obsaženými ve víně tvoří sraženiny a přispívají tak k samočištění vína [55].

Barviva, která přecházejí při zpracování hroznů do moštu a vína, jsou původní součástí chloroplastů slupky. Dělí se na zelená, žlutá a červená barviva. Zelené barvivo zastupuje chlorofyl, který se vytváří ve slupce, ale v průběhu zrání se rozkládá a postupně ztrácí. Žlutá barviva jsou zastoupeny zejména dvěma bezdusíkatými barvivy, a to karotenem

a xantofylem. Z červených, modrých a fialových rostlinných barviv jsou to taková, která obecně přísluší do skupiny anthokyanů. Anthokyanová barviva se vyskytují jen ve slupce červených a modrých odrůd. U některých odrůd hroznů se anthokyanová barviva vyskytují i v dužnině [56].

2.1.5 Dusíkaté látky

V moštech se nachází bílkoviny, albuminy, peptony, polypeptidy, aminokyseliny, aminy a amonné soli. Představují látky důležité pro výživu kvasinek [39]. V bobulích hroznu jsou dusíkaté látky rozmístěny nerovnoměrně. Nejvíce se jich vyskytuje ve vnější vrstvě slupky, méně se pak nachází v dužnině. Množství dusíkatých látek se v moštu pohybuje mezi 0,2 – 1,4 $g.l^{-1}$ [16, 42].

Některé z dusíkatých látek se během kvašení zcela spotřebují, mezi tyto dusíkaté látky patří amonné soli, aminokyseliny a bílkoviny, které slouží jako výživa kvasinek. Během kvasného procesu se však vytváří nové dusíkaté sloučeniny, syntetizované mikroorganismy při tvorbě jejich buněčné hmoty [23].

Aminokyseliny se v moštu vyskytují jak ve volné, tak i vázané formě. Reagují při vyšších teplotách s cukry, přičemž vznikají melanoidy, které způsobují nahnědlý odstín moštů [57].

Dusíkaté látky spolupůsobí při vytváření buketu, chuti i barvy vína. Celkový obsah dusíkatých látek se ve víně pohybuje mezi 250 – 4500 $mg.l^{-1}$ [16]. Součástí koloidního systému vína jsou i proteiny, které postupnou oxidací a reakcemi s třísloviny koagulují, sráží se a postupně mohou z tohoto systému vypadávat. Při nedokonalé stabilizaci koloidního systému jsou proto nejčastějším původcem zákalů lahvových vín [17].

2.1.6 Minerální látky

Minerální látky tvoří podstatu popele moštu a vína. Obsah minerálních látek v moštu a víně úzce souvisí s technologickým postupem výroby vína, ale také s klimatickými podmínkami při růstu hroznů a s původem podnože a štěpu [58]. Celkové množství minerálních látek se pohybuje kolem 1,5 – 4,0 $g.l^{-1}$. Nejdůležitějšími látkami jsou v případě kationtů draslík, hořčík, vápník a sodík, v případ aniontů fosforečnany, chloridy, sírany a uhličitany [59]. Minerální látky se účastní biochemických a fyzikálně-chemických procesů v moštu a víně. Část minerálních látek se však

v průběhu kvašení a čištění vína vysráží, takže obsah minerálních látek ve víně je podstatně nižší než v původním moštu [60].

2.1.7 Aromatické látky

Pod tímto názvem se rozumí vonné a chuťové látky moštu, které shrnuje výraz buket [61]. Rozdělují se na odrůdové primární a sekundární aromatické látky. Primární aromatické látky jsou charakteristické pro jednotlivé odrůdy révy. V hroznech jsou obsaženy především v buňkách na vnitřní straně slupky stýkající se s dužninou. Chemicky jde o směs různých esterů, vonných silic, alkoholů, karbonylových sloučenin, těkavých kyselin a jiných látek. Tvorba primárních aromatických látek je podmíněna určitými činiteli, jako jsou teplota, zrání hroznů a jejich zdravotní stav. Nejvíce aromatických látek obsahují hrozny v době plné zralosti. V přezrálých hroznech se buňky slupek rozrušují a obsah aromatických látek v moštu se snižuje [23].

Sekundární aromatické látky vznikají z primárních aromatických látek nebo z prekurzorů působením kvasinek v průběhu alkoholického kvašení, další sekundární aromatické látky mohou vznikat při zrání a ošetřování vína [60].

2.1.8 Tuky, vosky a oleje

Hroznové mošty a vína z nich vyrobená obsahují tyto látky v poměrně malém množství, i když pevné části třapin obsahují tuky a vosky v podstatně větším množství. Olej ze semen může v průběhu lisování přecházet do moštu. Obsahuje mastné kyseliny stearovou, palmitovou, linolenovou, dále jsou přítomny i mastné kyseliny eruková a olejová. Přírodní vosky v moštu se skládají z volných mastných kyselin, z vysokomolekulárních alkoholů a z uhlovodíků parafinové řady [23].

Tuky a oleje jsou látky nežádoucí, které dávají vínu nepříjemnou nahořklou příchuť [16].

2.1.9 Alkoholy

Tvoří se při kvašení moštu rozkladem cukru kvasinkami. Obsah 10 % objemových (dále jen % obj.) alkoholu ve vínech je minimální hranicí zajišťující určitou mikrobiologickou stabilitu vína [62]. I když je alkohol nejdůležitějším produktem kvasného procesu, podléhá v závislosti na obsahu cukru velkým výkyvům. Maximální obsah alkoholu, jakého je možno v praxi dosáhnout při kvašení moštu je 17 – 18 % [16].

Hlavní složkou alkoholu ve víně je etanol. Je důležitým jakostním kritériem. Jeho zásluhou je víno plné a extraktivní, podporuje i aroma vína [63].

Metanol se ve víně vyskytuje v malém množství. Dále jsou obsaženy vyšší alkoholy a alkoholické cukry [64]. Metanol vzniká odbouráváním pektinu a zvyšuje se jen intenzivním nakvášením rmutu. Vyšší obsah metanolu je z tohoto důvodu pozorován zejména u červených vín [42].

Vyšší alkoholy jsou ve víně zastoupeny také v relativně malém množství od 150 – 700 $mg.l^{-1}$. Mají na základě výrazného vlivu na vůni a chuť důležitou roli pro aroma vína. Vyšší alkoholy jsou často nazývány přiboudlinou. Jde o skupinu alkoholů s vyšším bodem varu, které vznikají v průběhu alkoholového kvašení moštu a v průběhu zrání vína. Kvantitativně jsou nejdůležitějšími lineární alkoholy a to 1-propanol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol [9].

Při kvašení vzniká také malé množství glycerolu, který dodává vínu tělo a plnost. Vzniká převážně na počátku kvašení a je vytvářen především divokými kvasinkami. Jeho syntézu ovlivňuje přítomnost kvasinek, teplota, přítomnost oxidu siřičitého a hodnota pH [37].

3 CHARAKTERISTIKA JEDNOTLIVÍCH ODRŮD

Odrůd neboli kultivarů vhodných pro výrobu vína je dnes popsáno více jak tři tisíce [65]. K výrobě vína je v České republice povoleno užívat hrozny z odrůd zapsaných do Státní odrůdové knihy [2]. Stručná charakteristika v této části diplomové práce se týká zejména odrůd vín použitých k měření.

3.1 Hlavní bílé odrůdy

3.1.1 Chardonnay

Tato odrůda původně vzešla z Burgundska, kde se z ní vyráběla a vyrábí jedny z nejkvalitnějších vín na světě [66]. Je to odrůda vhodná pro výrobu suchých vín. Víno z ní vyrobené je extraktivní, s výraznými kyselinami a je vhodné pro zrání v lahvi [65]. Tato odrůda bývá často využívána pro výrobu šumivých vín [10].

3.1.2 Kerner

Odrůda má dobrý potenciál pro výrobu chuťově plných přívlastkových vín s jemným obsahem zbytkového cukru, který je harmonicky sladěn s obsahem kyselin [67]. Jde o relativně mladou odrůdu vyšlechtěnou v Německu v roce 1929 [68].

3.1.3 Müller Thurgau

Při dozrávání této odrůdy lze za základní kvantitativní parametr považovat obsah kyselin a tomu podřídit termín sklizně [55]. Vhodná jsou proto vína vyráběna s obsahem kyselin kolem 6 $g.l^{-1}$ v moštu. Z pohledu udržení svěžesti vína a výrazného aroma se zdá být vhodné kvašení v chladnějších podmínkách a to při 15 – 18 °C [65].

3.1.4 Muškát moravský

Vína vyrobená z této odrůdy mají výrazné aroma, nižší plnost, ale velmi dobře si zachovávají kyseliny. Podmínkou pro zisk takového vína je i výraznější odkalení [69]. Pro produkci plných, extraktivních vín je vhodné hrozny podrobit krátkodobé maceraci po dobu 24 – 48 hodin při nízkých teplotách. Hrozny musí být kvalitní, s dostatkem kyselin a bez hořkých tónů [70].

3.1.5 Rulandské bílé

Patří mezi odrůdy poskytující nejkvalitnější vína [71]. Vína z ní vyrobená jsou plná s pikantní kyselinou a výrazným odrůdovým charakterem [72]. U těchto vín obvykle dochází k jablečno-mléčné fermentaci [73].

3.1.6 Rulandské šedé

Výhodou této odrůdy je dřívější zrání hroznů a při tom současně dosahuje poměrně vysoké cukernatosti. Víno pak mívá střední až nižší obsah kyselin a poměrně neutrální chuť. Je to odrůda vhodná zejména pro produkci přívlastkových vín [70].

3.1.7 Ryzlink rýnský

Kvalita moštu z této odrůdy velmi závisí na poloze výsadby [73]. Pro kvalitní zpracování hroznů je třeba mít dobrý přehled o kvalitativních parametrech výchozí suroviny, zejména o cukernatosti, obsahu a složení kyselin, tzn. o obsahu kyseliny vinné a jablečné, pH moštu a zdravotním stavu hroznů. U moštů s velmi vysokým obsahem kyselin je možné použít společné inokulace čisté kultury kvasinek a čisté kultury bakterií [17]. Víno si po jablečno-mléčné fermentaci ponechává svěží ovocný charakter [70].

3.1.8 Ryzlink vlašský

Při technologii zpracování této odrůdy by měla být věnována pozornost odrůdovému aromatu. Technologie výroby by proto měla směřovat k uvolnění maximálního množství aromatických látek a jejich uchování v hotovém víně [65]. V dobrých polohách dává typická odrůdová vína, s mírně vyšším obsahem kyselin. Vzhledem k vyššímu obsahu kyselin je pak víno vhodné pro použití do kupáží určených pro výrobu šumivých vín [67].

3.1.9 Sauvignon

Tato odrůda poskytuje vína velmi aromatická. Aromatický charakter odrůdy je dán methoxypyraziny, které jsou senzoricky patrné přímo v hroznech na vinici. Velmi významná je i skupina aromatických látek těkavých thiolů, které se v hroznech vyskytují ve formě netěkavých prekurzorů. Pro zlepšení uvolňování těkavých thiolů je vhodné použít krátkodobou maceraci hroznů za podmínek řízené teploty, spíše v chladných

podmínkách [67]. Hrozny této odrůdy vypěstované v České republice mívají často vysoký obsah kyselin, který může být macerací při nižší teplotě částečně snížen [70].

3.1.10 Tramín červený

Víno z Tramínu červeného je možné vyrábět v jakostním stupni. Více oblíbené kategorie jsou však přívlastková vína, od pozdního sběru až po výběry. U přívlastkových vín je velmi významná harmonizace aromatických látek, s obsahem zbytkového cukru ve víně a kyselinami. U této odrůdy je opět velmi významné provedení krátkodobé macerace při řízených teplotách, která napomůže lepší extrakci aromatických a chuťových látek. Vína se vyznačují nižším obsahem kyselin a zbytky nezkvašeného cukru [33].

3.1.11 Veltlínské zelené

Vína vyrobená z této odrůdy jsou značně jakostní s mandlovým buketem. Vína mají příjemné kyseliny. V poslední době se začíná tato odrůda používat na výrobu kvalitních odrůdových vín. Odrůda je vhodná i do kupáží pro výrobu šumivých vín vysoké jakosti [67].

3.2 Hlavní modré odrůdy

3.2.1 André

Je jednou z odrůd vyšlechtěnou na Jižní Moravě pro výrobu vysoce kvalitních vín. André by v průběhu technologického procesu mělo procházet procesem makrooxidace při maceraci a posléze mikrooxidace, která pozitivně ovlivňuje chuťový dojem vína [73]. Velmi významná je v technologii výroby tohoto vína jablečno-mléčná fermentace. Víno z dobře vyzrálých hroznů, u nichž proběhla jablečno-mléčná fermentace, mají tmavou granátovou barvu, jsou plná v chuti [55].

3.2.2 Cabernet Moravia

Technologie výroby vína závisí na vzájemném vztahu mezi cukernatostí, aromatickými látkami v bobulích a fenolickou zralostí. Vína z velmi dobře vyzrálých hroznů, u nichž proběhla jablečno-mléčná fermentace, mají tmavě granátovou barvu, jsou plná a vyzrálá [73].

3.2.3 Cabernet Sauvignon

K tomuto typu vína patří bezpodmínečně jablečno-mléčná fermentace, která napomáhá k zakulacení chuti. Vína jsou vhodná pro zrání v sudech barrique [67]. Jsou velmi bohatá na antokyanová barviva a taniny, mají výraznou odrůdovou příchuť a vyšší obsah kyselin. Kyseliny se však v průběhu kvašení i zrání poměrně dobře odbourávají [2].

3.2.4 Frankovka

Je tradiční odrůdou pěstovanou ve střední Evropě. Pro výrobu kvalitních odrůdových vín je nutné, aby hrozny dosáhly cukernatosti kolem 23 °NM. Vína vyrobená z této odrůdy mají intenzivní barvu, jsou to také vína vhodná pro scelování. Ve vínech Frankovky je vždy poněkud více kyselin než v ostatních vínech [70].

3.2.5 Rulandské modré

Jde o velmi starou odrůdu, která je určena pro produkci především přívlastkových vín. Velmi významná je v průběhu technologie výroby makrooxidace, která by měla proběhnout už při maceraci. Tato makrooxidace vede ke stabilizaci barviv. Je vhodné, aby v průběhu macerace proběhlo i jablečno-mléčné kvašení [67].

3.2.6 Svatovavřinecké

Bobule této odrůdy se vyznačují menší vybarveností s vysokým obsahem kyselin. Vína vyrobená z této odrůdy mají výraznou až tmavě červenou barvu. Někdy bývají mladá vína zatížena příliš vysokým obsahem kyselin [67].

4 POPIS VYBRANÝCH METOD STANOVENÍ KYSELIN VE VÍNĚ

Víno se ve výrobním procesu stále hodnotí. Podle výsledků hodnocení se víno ošetřuje povolenými prostředky, aby kvalita vyrobeného vína byla standardní. Ke zjištění zdravotního stavu vína většinou stačí běžné senzorické hodnocení, ovšem pro správnou volbu ošetření je však zároveň nutný i fyzikálně chemický rozbor [23].

Stanovení pH a celkových kyselin ve víně hraje důležitou roli při výrobě vína, jelikož oba parametry mají vliv na výsledné vlastnosti a kvalitu vína, zejména na barvu a chuť. Celková kyselost vína má vliv i na jeho mikrobiologickou stabilitu [51].

U vín je obvykle rozdíl mezi kyselinami pocházejícími z hroznů a těmi, které vznikají během zpracování [74]. Analýza organických kyselin umožňuje sledovat a kontrolovat vývoj v obsahu kyselin v různých fázích výroby vína [49].

Možností, jak stanovit zastoupení organických kyselin z hlediska kvality i kvantity ve víně je mnoho. Jednotlivé metody stanovení kyselin ve víně se v Evropě řídí normami OIV – International Organisation of Vine and Wine a jsou popsány v následujících podkapitolách.

4.1 Stanovení pH

pH je záporně vzatý dekadický logaritmus koncentrace oxoniových kationtů [75]. Víno obsahuje kyseliny a zásady, které jsou v rovnováze. Změní-li se obsah jedné nebo druhé složky, rovnováha se poruší a změní se také kyselost. Aktivní kyselost neboli pH koresponduje se stupněm disociace kyselin. Závisí na složení všech kyselin, které jsou ve víně přítomny. Kyseliny v moštu a víně disociují v různém stupni. Nejvíce disociovaná a nejsilnější kyselina ve víně je vinná [76]. Aktivní kyselost se stanovuje pomocí koncentračního článku, kterého jednu elektrodu tvoří vodíková elektroda ponořená do roztoku se známou koncentrací vodíkových iontů a druhou elektroda ponořená do zkoumaného vzorku. Tyto dvě elektrody se spojí vodíkovým můstkem v koncentrační článek a změří se jeho potenciál [75]. V praxi se místo vodíkové elektrody používá elektroda kalomelová, která má menší difúzní potenciál a slouží jako porovnávací elektroda. Jako měrná elektroda se používá nejčastěji elektroda skleněná [77].

Kyselost má velký vliv na procesy formování a stárnutí vína během jeho výroby i uskladnění. Aktivní kyselost vína se zpravidla pohybuje od 2,0 do 3,5 pH u bílých vín a od 2,0 do 4,0 pH u červených vín [59].

4.2 Stanovení celkových kyselin

Pro posouzení celkových kyselin ve víně existují ve světě různé metody stanovení. Evropská standardní metoda stanovení kyselin ve víně je založena na potenciometrické titraci 0,1M hydroxidem sodným do pH 7 [78]. Alternativou může být titrace 0,1M hydroxidem sodným na indikátor bromthymolovou modř, zejména u bílých vín. V USA se při potenciometrické titraci využívá pH 8,2 jako bod ekvivalence nebo je použit indikátor fenolftalein [78]. Faktem zůstává, že skutečnou hodnotu celkových kyselin nelze určit přesně, jelikož bod ekvivalence je pro každé víno jiný. Leží mezi hodnotou pH 7,8 – 8,3 a jeho hodnota je závislá na složení a koncentraci kyselin zastoupených ve vzorku vína [79]. Pro stanovení má být dle O.I.V. použito 10 ml vzorku vína zbaveného oxidu uhličitého. Obsah celkových kyselin ve víně je vyjadřován v gramech kyseliny vinné v jednom litru.

Ke stanovení obsahu veškerých kyselin se stále častěji používají automatické titrátory, které velmi rychle a přesně stanoví obsah celkových kyselin.

4.3 Stanovení těkavých kyselin

Těkavé kyseliny se vytváří během fermentace aktivitou kvasinek, ovšem toto množství není příliš velké. Mnohem větší množství těkavých kyselin může být tvořeno bakteriemi octového kvašení jak v průběhu kvašení, tak i v průběhu zrání [30].

Zjišťování obsahu těkavých kyselin je důležitým ukazatelem jakosti vyráběných vín a zároveň je monitoringem možné přítomnosti mikroorganismů znehodnocujících víno [39].

Těkavé kyseliny ve víně jsou tvořeny přítomnými mastnými kyselinami, zejména kyselinou octovou. Tyto kyseliny se vyskytují ve víně volně nebo ve formě solí. V menším množství jsou to kyselina mravenčí, propionová, máselná a některé vyšší mastné kyseliny. Průměrný obsah těkavých kyselin se pohybuje v bílých vínech

od 0,2 – 0,5 g.l^{-1}, v červených vínech do 0,8 g.l^{-1}. Zvýšený obsah těkavých kyselin ve víně signalizuje, jak již bylo zmíněno, nebezpečí různých chorob vína, zejména naoctění [80].

Víno obsahuje nejčastěji těkavé kyseliny C1 až C6, které je možné oddělit od netěkavých složek vína destilací vodní parou. Oddělené těkavé kyseliny se následně stanoví titrací destilátu roztokem 0,1 M hydroxidu sodného s použitím indikátoru fenolftaleinu. Od obsahu těkavých kyselin je při této metodě nutné odečíst obsah volné a vázané kyseliny siřičité, která je v destilátu přítomna. Zároveň je nutné odečíst obsah kyseliny sorbové, pokud byla použita při výrobě vína. Před samotnou destilací se z vína odstraňuje oxid uhličitý [77]. Obsah těkavých kyselin je vyjadřován v meq.l^{-1} nebo g.l^{-1}. Aparatura na destilaci těkavých kyselin z vína pomocí vodní páry se skládá z generátoru vodní páry, baňky s trubicí, destilační kolony a chladiče. V poslední době se v laboratořích využívají laboratorní přístroje, které usnadňují a zrychlují samotnou destilaci.

V zákoně 321/2004 Sb. jsou uvedeny mezní limity pro obsah těkavých kyselin ve víně a to 18 meq.l^{-1}, což odpovídá 1,1 g.l^{-1} pro částečně zkvašený hroznový mošt, bílé a růžové víno, pro červené víno je tento mezní limit 20 meq.l^{-1}, tato hodnota odpovídá 1,2 g.l^{-1} .

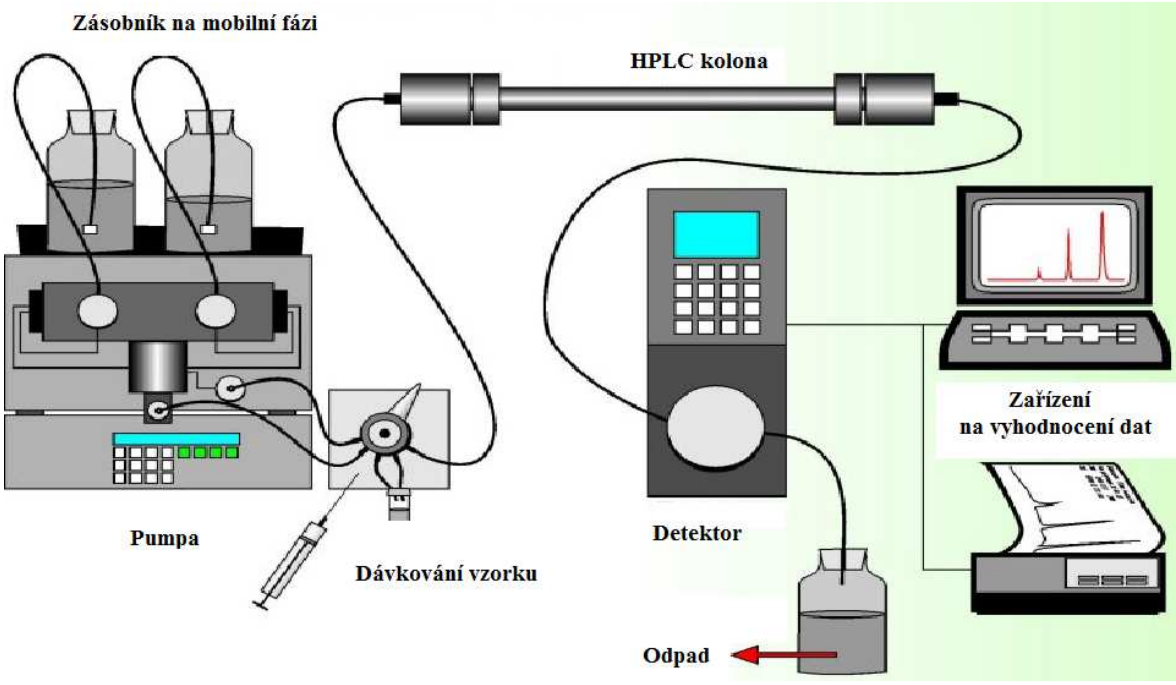
4.4 Stanovení organických kyselin metodou HPLC

V odborné literatuře je možné se setkat s mnoha metodami, pomocí kterých lze stanovit organické kyseliny ve víně. Mezi často používané patří například enzymatická metoda stanovení, elektroforéza či chromatografie [81]. Pro stanovení jednotlivých organických kyselin ve víně je velmi vhodná a často používaná metoda vysoce-účinné kapalinové chromatografie (HPLC) [45]. Analýza těchto kyselin umožňuje kontrolu procesu zrání hroznů a vývoj kyselosti vín během procesu jejich zpracování, čímž je myšleno alkoholové kvašení, jablečno-mléčná fermentace či proces stárnutí [51].

Vysoce-účinná kapalinová chromatografie se řadí mezi nejčastěji používané separační metody [82]. Vyniká vysokou účinností, dobrou opakovatelností a robustností. Tato metoda je založena na separaci analytů na základě jejich distribuce mezi stacionární a mobilní fázi, která je vždy kapalná [83]. Mobilní fází může být voda, organická rozpouštědla a jejich směsi. Jako stacionární fáze se používají polární nemodifikované absorbenty nebo náplně s chemicky vázanými stacionárními fázemi nejčastěji na silikagelovém nosiči. Je-li stacionární fáze polárnější než mobilní fáze, jde o systém

s normálními fázemi. V opačném případě jde o systém s obrácenými fázemi [84]. Separace probíhá v separační koloně, která obsahuje stacionární fázi. Na začátek kolony se nanese objem vzorku, který je postupně unášen mobilní fází protékající kolonou. Složky vzorku mají různou afinitu ke stacionární fázi, z toho důvodu se více zdržují v koloně složky s větší afinitou ke stacionární fázi. Tímto způsobem se od sebe složky separují a na konec stacionární fáze se dostávají dříve složky méně zadržené [82]. Jakmile vystoupí složky z kolony, zachytí se přítomnost těchto složek na detektoru a zaznamená se pík [84]. Pro identifikaci látky je podstatné umístění maxima píku v chromatogramu. Toto umístění lze vyjádřit retenčními daty. Plocha a výška píku roste s obsahem složky ve vzorku [83].

Jednou z metod využívaných v kapalinové chromatografii k separaci a stanovení organických kyselin ve víně je gradientová vysoce-účinná kapalinová chromatografie na reverzní fázi s využitím UV detektoru [85]. Touto metodou lze stanovit enologicky důležité organické kyseliny vína [86].



Obr. 3. Schéma kapalinového chromatografu [87].

4.4.1 Kolony v kapalinové chromatografii

Pro HPLC se používají pouze kolony náplňové. Pro většinu analýz jsou kolony vyrobeny z nerez oceli pro vyšší tlaky nebo jsou zhotoveny z borosilikátového tlustého skla

pro tlaky nižší. Mnoho rozličných aplikací kapalinové chromatografie podmiňuje existenci velkého množství kolon různé délky, vnitřního průměru a náplně. Zpravidla se používají kolony o délce 10, 15 nebo 25 cm, vnitřní průměr je 4,6 nebo 5 mm. Náplňový materiál je pórovitého charakteru o velikosti 3 až 10 µm. Na tento porézní materiál je navázána vlastní stacionární fáze, která může být tvořena nepolárními uhlovodíky C8 – oktan, C18 – oktadekan, nebo polárnějšími uhlovodíky s funkční skupinou. Jako ochrana hlavní kolony jsou často využívány předkolony, které jsou umístěny mezi dávkovací zařízení a kolonu. Tyto předklony chrání kolonu před nečistotami a nerozpustnými materiály. Většina separací probíhá při laboratorní teplotě a nevyžaduje termostatování. Některé separace se zvýšením teploty významně zlepší [86].

4.4.2 Detektory v kapalinové chromatografii

Detektory v HPLC by měly být selektivní a málo citlivé na mobilní fázi. Poskytují odezvu úměrnou koncentraci detekovaných látek v eluátu. Eluát prochází detektorem, který pak automaticky a kontinuálně měří některou z fyzikálních či chemických vlastností eluátu [83]. Mezi nejpoužívanější detektory patří fotometrický, refraktometrický a fluorescenční detektor.

4.4.2.1 Refraktometrický detektor

Měří rozdíly mezi indexem lomu eluátu a čisté mobilní fáze. Pokud obsahuje eluát složku, projeví se odezva. Při použití tohoto detektoru je potřeba dodržovat konstantní teplotu. Tento typ detektoru se využívá při stanovení cukrů ve vínech.

4.4.2.2 Fluorescenční detektor

Je založen na principu sekundární fluorescence, což je schopnost látek absorbovat tzv. primární záření a následně pak vysílat záření o rozdílné vlnové délce, které se měří fotonásobičem kolmo na směr vystupujícího záření. Tento typ detektoru je vysoce selektivní.

4.4.2.3 Spektrofotometrický UV – VIS detektor

Detektor je často používán při stanovení organických kyselin ve víně. Měří absorbanci mobilní fáze vycházející z kolony. Při stanovení organických kyselin umožňuje

dosáhnout vysoké citlivosti díky použití nízké vlnové délky UV detekce. Tyto typy detektorů mohou pracovat s jednou pevně nastavenou vlnovou délkou, několika předem danými vlnovými délkami pomocí vyměnitelných interferenčních filtrů nebo například lze pracovat s detektory vybavenými polychromatickým zdrojem záření, který umožňuje volit libovolnou vlnovou délku záření pro detekci [82, 83, 84].

5 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo v teoretické části popsat technologii výroby vín se zřetelem na rozdílnost technologických operací při výrobě bílých, růžových a červených vín, popsat chemické složení moštů a vín s důrazem na kvalitativní a kvantitativní obsah organických kyselin a podat přehled o metodách použitých při stanovení kyselinového profilu vín. Poznatky získané v teoretické části zužitkovat v části praktické.

V praktické části diplomové práce se zaměřit na stanovení kyselinové profilu vybraných vzorků révových vín. Tento kyselinový profil zahrnuje stanovení pH, těkavých kyselin, celkových kyselin a stanovení organických kyselin. Na základě těchto vykonaných analýz je cílem zhodnocení, formulace závěrů a doporučení.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 MATERIÁL A METODY

6.1 Vzorky použité k analýze

Pro tuto práci byly použity vzorky bílých, růžových a červených vín vyráběných v Zámeckém vinařství Bzenec s.r.o. v období od 5. 9. 2013 do 20. 2. 2014. Vzorky, které byly použity k analýzám, jsou uvedeny v Tab. 1, 2, a 3. Byly odebírány postupně během celého technologického procesu výroby vína. Schéma odběru vzorků bílých, růžových i červených vín je uvedeno v kapitole 7 Přehled uspořádání odběru vzorků a analýz. Všechny vzorky byly po jednotlivých odběrech podrobeny analytickému rozboru kyselinového profilu, který zahrnuje stanovení pH, celkových titrovatelných kyselin, těkavých kyselin a stanovení organických kyselin metodou HPLC.

U vzorků byl před jednotlivými analýzami odstraněn oxid uhličitý, který se v průběhu technologického procesu ve víně tvoří a mohl by zkreslit výsledky analýz. K odstranění oxidu uhličitého ze vzorků byla použita metoda odsávání oxidu uhličitého odsávací baňkou připojenou na vodní vývěvu.

Tab. 1. Vzorky bílých vín

Vzorek	Název odrůdy	Datum sběru
1	Chardonnay	7. 10. 2013
2	Muškát moravský	2. 10. 2013
3	Müller Thurgau	8. 10. 2013
4	Kerner	16. 10. 2013
5	Rulandské bílé	5. 11. 2013
6	Rulandské šedé	3. 10. 2013
7	Ryzlink rýnský	3. 10. 2013
8	Ryzlink vlašský	20. 11. 2013
9	Sauvignon	1. 10. 2013
10	Tramín červený	8. 10. 2013
11	Veltlínské zelené	27. 11. 2013

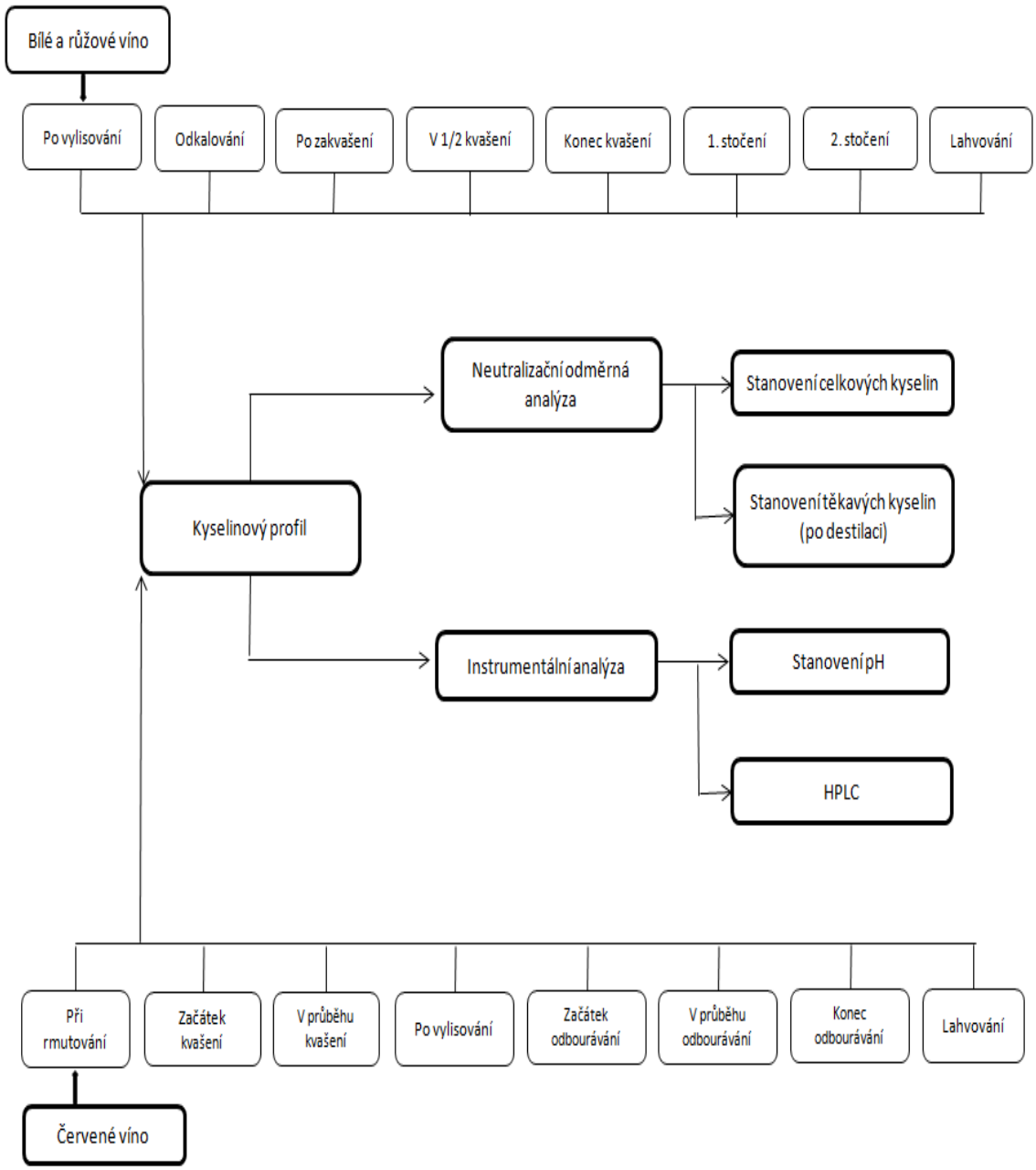
Tab. 2. Vzorky růžových vín

Vzorek	Název odrůdy	Datum sběru
12	André	19. 11. 2013
13	Frankovka	14. 11. 2013
14	Svatovavřinecké	2. 10. 2013

Tab. 3. Vzorky červených vín

Vzorek	Název odrůdy	Datum sběru
15	André	30. 10. 2013
16	Frankovka	12. 11. 2013
17	Cabernet Moravia	29. 11. 2013
18	Cabernet Sauvignon	29. 11. 2013
19	Rulandské modré	11. 10. 2013
20	Svatovavřinecké	5. 11. 2013

7 PŘEHLED USPOŘÁDÁNÍ ODBĚRU VZORKŮ A ANALÝZ



8 ČINIDLA, ROZTOKY, POMŮCKY A PŘÍSTROJE POUŽITÉ K ANALÝZE

8.1 Stanovení pH

8.1.1 Měřicí přístroje

- pH metr WTW inolab pH 720 + pH elektroda s přesností ± 0,01 (Labicom – Olomouc, ČR)

8.1.2 Použitá činidla a roztoky

- tlumivé roztoky (pufry pro pH 4, 7, 10; Merck – Darmstadt, Německo)

8.2 Stanovení veškerých kyselin

8.2.1 Měřící přístroje

- automatický titrátor Titroline Easy Modul 2 + pH elektroda s přesností ± 0,01 (Labicom – Olomouc, ČR)

8.2.2 Použitá činidla a roztoky

- tlumivé roztoky (pufry pro pH 4, 7, 10; Merck – Darmstadt, Německo)
- deionizovaná voda
- 0,1M NaOH (Merck – Darmstadt, Německo)

8.3 Stanovení těkavých kyselin

8.3.1 Měřící přístroje

- aparatura pro destilaci s vodní parou DEE VADE 3 Gibertini (Gibertini, Itálie)
    - generátor vodní páry VADE 3
    - baňka s parní trubicí
    - destilační kolona

- chladič

- automatický titrátor Titroline Easy Modul 2 (Labicom – Olomouc, ČR)

8.3.2 Použitá činidla a roztoky

- 0,1M NaOH (Merck – Darmstadt, Německo)
- fenolftalein – 1% roztok v neutrálním 96% obj. alkoholu
- kyselina chlorovodíková – 1 : 4 HCl 35% p.a.
- jód – 0,005M I_2 p.a., odměrný roztok standardní. Faktor odměrného roztoku byl stanoven 0,02M roztokem $Na_2S_2O_3$.
- krystalický jodid draselný – KI p.a.
- kyselina vinná – 50% roztok kyseliny vinné
- tetraboritan sodný – nasycený roztok $Na_2B_4O_7$. 10 H_2O, tj. přibližně 55 $g.l^{-1}$ při 20 °C
- škrobový maz – 0,5% roztok $(C_6H_{10}N_5)_n$

8.4 Stanovení organických kyselin metodou HPLC

8.4.1 Měřící přístroje

- elektronická laboratorní váha AND HA – 180M (AND Company, Japonsko)
- kapalinový chromatograf HPLC YL9100 (Young Lin Instrument Co., Korea)
    - dávkovací ventil Autosampler YL 9150
    - vakuový degasser YL 9101
    - kvartérní vakuová pumpa YL 9110
    - kolonový termostat YL 9130
    - kolona NUCLEODUR C18 Pyramid (25 cm x 4,4 mm, 5 µm, Macherey-Nagel, Německo)
    - UV/VIS detektor YL 9120
    - PC s vyhodnocovacím programem Clarity (YL, Korea)

8.4.2 Použitá činidla a roztoky

- deionizovaná voda
- acetonitril pro HPLC (Sigma – Aldrich, USA)
- ortho-fosforečná kyselina 85% pro HPLC (Sigma – Aldrich, USA)
- standardy:
    - kyselina vinná (ChemService – West Chester, USA)
    - kyselina jablečná (ChemService – West Chester, USA)
    - kyselina mléčná (ChemService – West Chester, USA)

8.4.3 Použité pomůcky

- filtrační materiál (Syringe Filters Cell., 0,45 µm, 25 mm, UK)

9 POPIS JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ

9.1 Stanovení pH

9.1.1 Princip metody

V moštech a vínech se nacházejí kromě vázaných kyselin také volné kyseliny, které uvolňují volné vodíkové ionty H^+, jejich aktivita je vyjádřena jako pH vína. Hodnota aktivity iontů ve víně kolísá v rozmezí pH 2,8 – 4,0 [49]. Stanovení pH je založeno na měření rozdílu v potenciálu mezi elektrodami ponořenými do zkoumaného vzorku moštu či vína. Jedna z těchto elektrod má potenciál, který je funkcí pH kapaliny, druhá má známý stabilní potenciál a představuje elektrodu referenční. K měření byla použita kombinovaná elektroda, která je uchovávána v destilované vodě. Před každým stanovením je nutno pH metr kalibrovat. Kalibrace byla prováděna při 20 °C pomocí pufrů o pH 4, 7, a 10.

9.1.2 Pracovní postup

Před samotným měřením bylo nutné vzorek temperovat na teplotu, která se pohybuje v rozmezí 20 – 25 °C. Po temperaci a kalibraci přístroje byl vzorek moštu či vína převeden do kádinky v takovém množství, aby byla elektroda ponořena a po ustálení hodnoty na pH metru bylo odečítáno výsledné pH přímo na stupnici přístroje. U stejného vzorku byla provedena vždy tři měření. Jako výsledek byl vzat průměr těchto měření. Hodnota pH moštu a vína je uváděna na dvě desetinná místa.

9.2 Stanovení celkových kyselin potenciometrickou titrací

9.2.1 Princip metody

Celkový obsah kyselin je součet obsahu jednotlivých titrovatelných kyselin, které jsou titrovány do pH 7 odměrným roztokem alkalického hydroxidu. V celkovém obsahu kyselin není zahrnut oxid uhličitý, proto je třeba dbát na jeho odstranění ze vzorku před titrací. Odstranění oxidu uhličitého je vhodné provést intenzivním protřepáváním vína v odsávací baňce připojené na vodní vývjevu. Principem titračního stanovení celkových kyselin je přikapávání odměrného roztoku o známé koncentraci do roztoku

stanovovaných kyselin o neznámém obsahu, při tom probíhá neutralizační reakce mezi alkalickým hydroxidem a stanovovanými karboxylovými kyselinami. Bod ekvivalence indikujeme potenciometricky. Stanovení celkových kyselin bylo provedeno dle mezinárodní normy OIV-MA-AS313-01:R2013.

9.2.2 Pracovní postup

- K 10 ml vzorku vína bylo přidáno takové množství deionizované vody, aby byla elektroda dokonale ponořena.
- Titrace proběhla pomocí automatického titrátoru Titroline Easy 0,1M NaOH za pomoci kombinované elektrody.
- Bylo titrováno do pH = 7,0.

9.2.3 Vyjádření výsledků

Výsledek je vyjadřován jako průměr ze tří hodnot a přepočetl se na gramy převládající kyseliny vinné na litr a je uváděn na jedno desetinné místo. Je dán vztahem:

$$CK = 0{,}75 \cdot V \cdot f \qquad (1)$$

kde:

0,75 – koeficient pro výpočet celkových kyselin dle normy O.I.V.

V – spotřeba 0,1M roztoku NaOH [ml]

f – faktor 0,1 M roztoku NaOH

Obr. 4. Automatický titrátor Titroline easy

9.3 Stanovení těkavých kyselin

9.3.1 Princip metody

Těkavé kyseliny jsou tvořeny přítomnými mastnými kyselinami, zejména pak kyselinou octovou. Tyto kyseliny se vyskytují ve víně volně nebo ve formě solí. Metoda je založena na titraci těkavých kyselin, které jsou z vína separovány destilací s vodní parou a rektifikací par. Víno musí být před zahájením destilace zbaveno oxidu uhličitého. Od obsahu těkavých kyselin je nutno odečíst obsah volné a vázané kyseliny siřičité destilované za těchto podmínek. Stanovení těkavých kyselin bylo provedeno dle mezinárodní normy OIV-MA-AS313-01:R2013

9.3.2 Pracovní postup

- Do destilační komory přístroje bylo odpipetováno 20 ml vína zbaveného oxidu uhličitého, dále byl přidán 1 ml 50% roztoku kyseliny vinné.
- Do předlohy (Erlenmayerovi baňky) bylo vydestilováno 250 ml destilátu.
- Získaných 250 ml destilátu bylo titrováno pomocí automatického titrátoru 0,1M roztokem NaOH na indikátor fenolftalein do slabě růžového zbarvení. Spotřeba 0,1M roztoku NaOH byla označena jako *a*.

- Ke ztitrovanému destilátu bylo přidáno několik kapek roztoku kyseliny chlorovodíkové, několik krystalů KI, 5 ml roztoku škrobového mazu a titrovala se volná kyselina siřičitá 0,005M roztokem jódu do modrého zbarvení. Spotřeba 0,005 M I_2 byla označena jako *a´*.
- Po druhé titraci byl přidán nasycený roztok tetraboritanu sodného, dokud se znovu neobjevilo růžové zbarvení. Titrovala se vázaná kyselina siřičitá 0,005M roztokem jódu do tmavě modrého zbarvení. Spotřeba 0,005 M I_2 byla označena jako *a´´*.

9.3.3 Vyjádření výsledků

Výsledek je vyjadřován jako průměr ze tří hodnot a přepočetl se na převládající kyselinu octovou v $g.l^{-1}$ a je uváděn na dvě desetinná místa a je dán vztahem:

$$A = 0{,}3 \cdot \left(f \cdot a - 0{,}1 \cdot f' \cdot a' - 0{,}05 \cdot f' \cdot a'' \right) \qquad (2)$$

kde:

0,3 – koeficient pro výpočet těkavých kyselin dle normy O.I.V.

f – faktor 0,1M roztoku NaOH

a – spotřeba 0,1M roztok NaOH [ml]

0,1 – koeficient pro výpočet těkavých kyselin dle normy O.I.V.

f ´– faktor 0,005M roztoku I_2

a ´– spotřeba 0,005M roztoku I_2 pro titraci volné kyseliny siřičité [ml]

0,05 – koeficient pro výpočet těkavých kyselin dle normy O.I.V.

a ´´ – spotřeba 0,005M roztoku I_2 pro titraci vázané kyseliny siřičité [ml]

9.4 Stanovení organických kyselin metodou HPLC s UV-VIS detekcí

Kyseliny vinná, jablečná a mléčná jsou separovány gradientovou elucí na křemenné koloně s fází C18. Jednotlivé kyseliny jsou detekovány pomocí UV-VIS detektoru.

Standardy i vzorky byly proměřovány při vlnové délce 254 nm. Byla použita kolona NUCLEODUR C18 Pyramid o rozměrech 25 cm x 4,4 mm, 5 µm. Jako mobilní fáze byla použita směs kyseliny fosforečné a acetonitrilu. Eluce probíhala při teplotě 35 °C, průtok mobilní fáze byl 1,0 ml/min. Doba analýzy jednoho vzorku trvala 20 minut. Průběh gradientové eluce je znázorněn v následující tabulce.

Tab. 4. Průběh gradientové eluce

Čas [min]	**Poměr H_3PO_4 : ACN**
0-1	100 : 0
1-7	70 : 30
7-11	0 : 100
11-20	100 : 0

9.4.1 Postup při měření kalibračních křivek standardů

Pro přípravu standardního roztoku bylo naváženo 0,6040 g standardu kyseliny vinné, jablečné a mléčné s přesností 0,0001 g. Navážka byla následně převedena kvantitativně do 100 ml odměrné baňky, která byla doplněna po rysku redestilovanou vodou. Tímto postupem byl získán zásobní roztok organických kyselin o koncentraci 6,4 $g.l^{-1}$. Z tohoto roztoku byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 a 6,4 $g.l^{-1}$. Tyto připravené kalibrační roztoky byly analyzovány, vyhodnoceny a z údajů získaných analýzami byly sestaveny kalibrační křivky pro jednotlivé kyseliny.

9.4.2 Postup pro stanovení organických kyselin ve vzorcích moštů a vín

U každého odebraného vzorku bylo nutné provést naředění a úpravu vzorku filtrací. Vzorky byly ředěny vodou v poměru 1 : 5. Následně byl vzorek přefiltrován přes terčový filtr o hustotě 0,45 µm do vialky. Po uzavření vialky uzávěrem s ochranným septem byl vzorek pomocí autosampleru nastříknut na kolonu. Na základě retenčních časů se jednotlivé píky přiřadily k jednotlivým kyselinám. Výsledky se vyjádřily jako průměr ze tří hodnot, přičemž výsledek je uváděn na dvě desetinná místa a udáván v $g.l^{-1}$.

Obr. 5. Kapalinový chromatograf HPLC YL 9100

10 VÝSLEDKY A DISKUZE

Stanovení pH bylo provedeno dle postupu uvedeného v kapitole 9.1, stanovení celkových kyselin bylo provedeno titrační metodou dle postupu, který je popsaný v kapitole 9.2. Postup stanovení těkavých kyselin je uveden v kapitole 9.3. Ke stanovení organických kyselin ve vzorcích byla použita technika HPLC/UV-VIS postupem uvedeným v kapitole 9.4.

10.1 Kalibrační křivky pro stanovení organických kyselin metodou HPLC

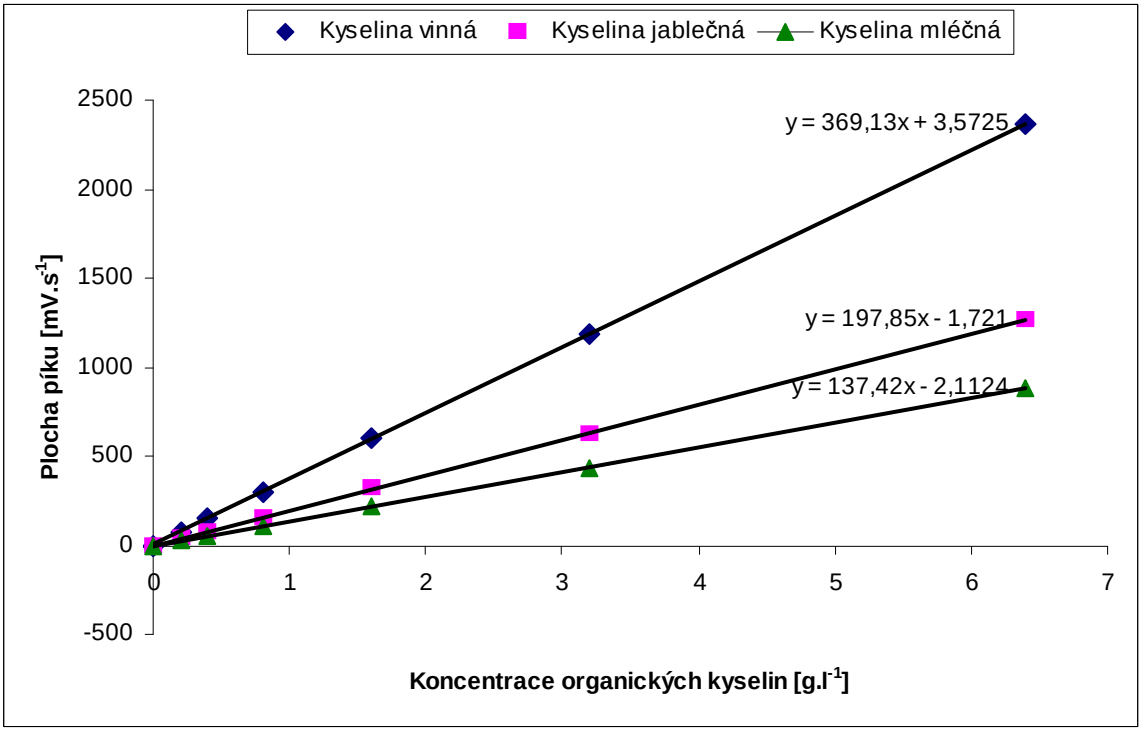
Měření kalibračních řad standardů pro 6 různě koncentrovaných roztoků bylo provedeno postupem popsaným v kapitole 9.4.1.

Kalibrační křivky pro jednotlivé kyseliny byly sestrojeny jako závislost plochy píku [$mV.s^{-1}$] na koncentraci příslušené kyseliny [$g.l^{-1}$]. Výsledky měření jsou uvedeny v Tab. 5. a v grafech kalibračních křivek Obr. 6. Chromatogramy pro vybrané koncentrace standardů jednotlivých kyselin jsou uvedeny v příloze.

Tab. 5. Průměrné plochy píků standardů kyselin

Kyselina vinná[1]		**Kyselina jablečná[1]**		**Kyselina mléčná[1]**	
Koncentrace kyseliny [$g.l^{-1}$]	Plocha píku [$mV.s^{-1}$]	Koncentrace kyseliny [$g.l^{-1}$]	Plocha píku [$mV.s^{-1}$]	Koncentrace kyseliny [$g.l^{-1}$]	Plocha píku [$mV.s^{-1}$]
0,2	72,815	0,2	37,1649	0,2	25,2464
0,4	151,619	0,4	77,9678	0,4	53,1495
0,8	303,001	0,8	157,1862	0,8	107,9379
1,6	601,797	1,6	316,2446	1,6	216,9392
3,2	1181,459	3,2	625,0212	3,2	434,1475
6,4	2365,398	6,4	1267,2380	6,4	879,3133

1– hodnoty získané z akreditované laboratoře Zámecké vinařství Bzenec s.r.o.



Obr. 6. Kalibrační křivky jednotlivých kyselin

Sestrojené kalibrační křivky mají rovnice regrese:

Kyselina vinná: y = 369,13x + 3,5725

Kyselina jablečná: y = 197,85x – 1,721

Kyselina mléčná: y = 137,42x – 2,1124

Kde: y … plocha píku [$mV.s^{-1}$]

x … obsah jednotlivých kyselin [$g.l^{-1}$]

Korelační koeficient závislosti plochy píku na obsahu jednotlivých kyselin je: R= 0,9999.

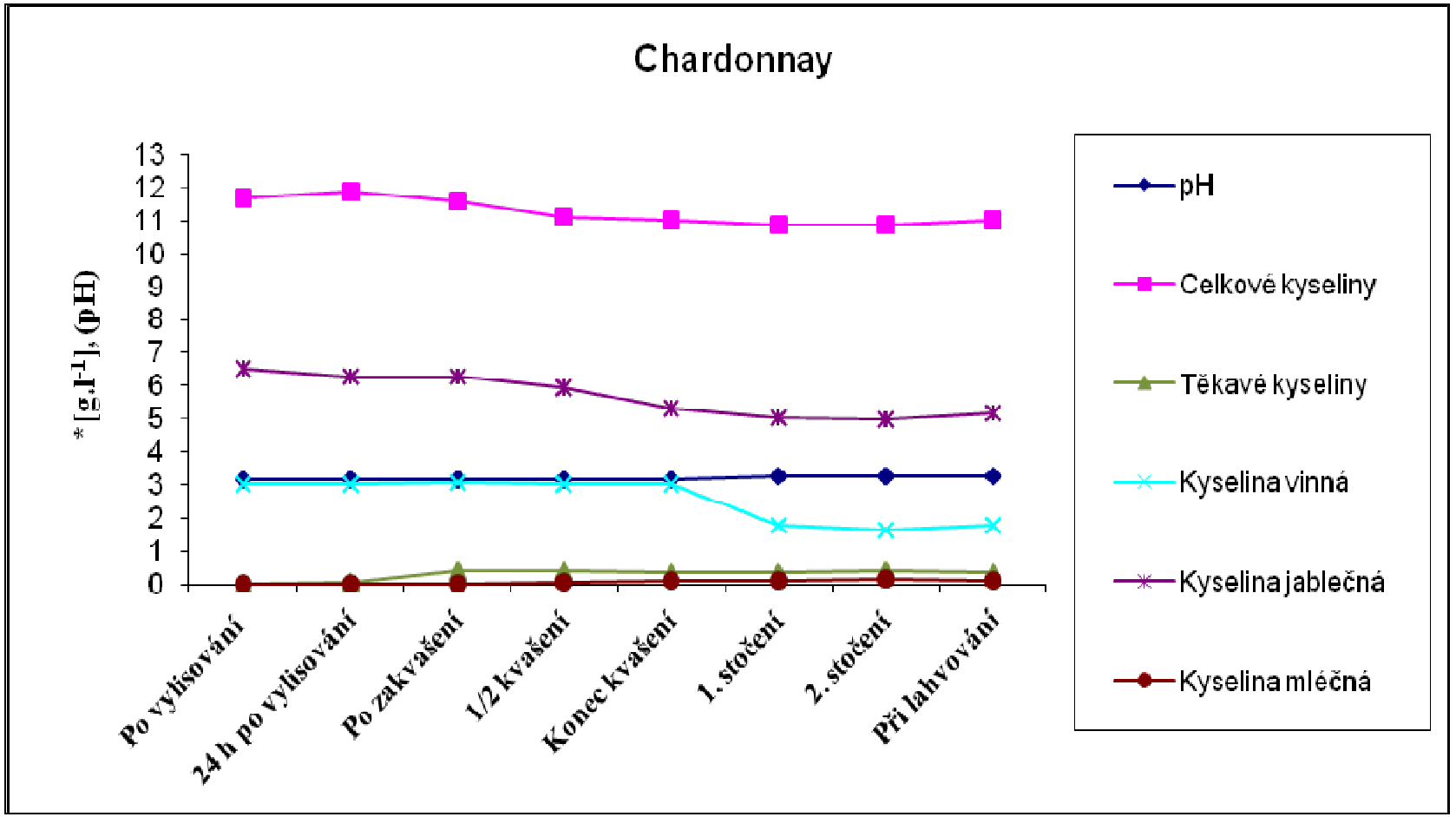
10.2 Kyselinový profil jednotlivých vzorků vín

Výsledky stanovení kyselinové profilu vín jsou zobrazeny postupně v Tab. 6. až 25. V těchto tabulkách je symbolem CK označen celkový obsah kyselin ve vzorku vína, symbolem TK je označen obsah těkavých kyselin. Zkratka ND ukazuje, že daná kyselina nebyla ve vzorku detekována, tedy že její koncentrace byla pod limitem detekce metody. Výsledky měření jsou v této diplomové práci uváděny jako interval naměřených hodnot,

který je vytvořen z aritmetického průměru naměřených hodnot ± směrodatná odchylka.Všechny vzorky byly analyzovány třikrát.

Tab. 6. Kyselinový profil vzorku č. 1 – Chardonnay

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
1.10. 2013	3,17 ± 0,01	11,7 ± 0,1	0,03 ± 0,01	3,03 ± 0,01	6,53 ± 0,03	ND
2.10.2013	3,15 ± 0,02	11,9 ± 0,1	0,04 ± 0,01	3,02 ± 0,01	6,30 ± 0,02	ND
3.10.2013	3,19 ± 0,01	11,6 ± 0,2	0,39 ± 0,01	3,06 ± 0,01	6,27 ± 0,02	ND
10.10.2013	3,15 ± 0,01	11,1 ± 0,2	0,38 ± 0,01	3,03 ± 0,02	5,93 ± 0,01	0,06 ± 0,01
23.10.2013	3,19 ± 0,01	11,0 ± 0,2	0,34 ± 0,02	3,02 ± 0,02	5,33 ± 0,01	0,09 ± 0,01
29.10.2013	3,25 ± 0,01	10,9 ± 0,2	0,36 ± 0,01	1,76 ± 0,02	5,03 ± 0,01	0,12 ± 0,01
10.11.2013	3,25 ± 0,01	10,9 ± 0,1	0,39 ± 0,01	1,65 ± 0,01	5,00 ± 0,01	0,13 ± 0,01
5. 2. 2014	3,26 ± 0,01	11,0 ± 0,1	0,36 ± 0,01	1,80 ± 0,01	5,19 ± 0,02	0,12 ± 0,01

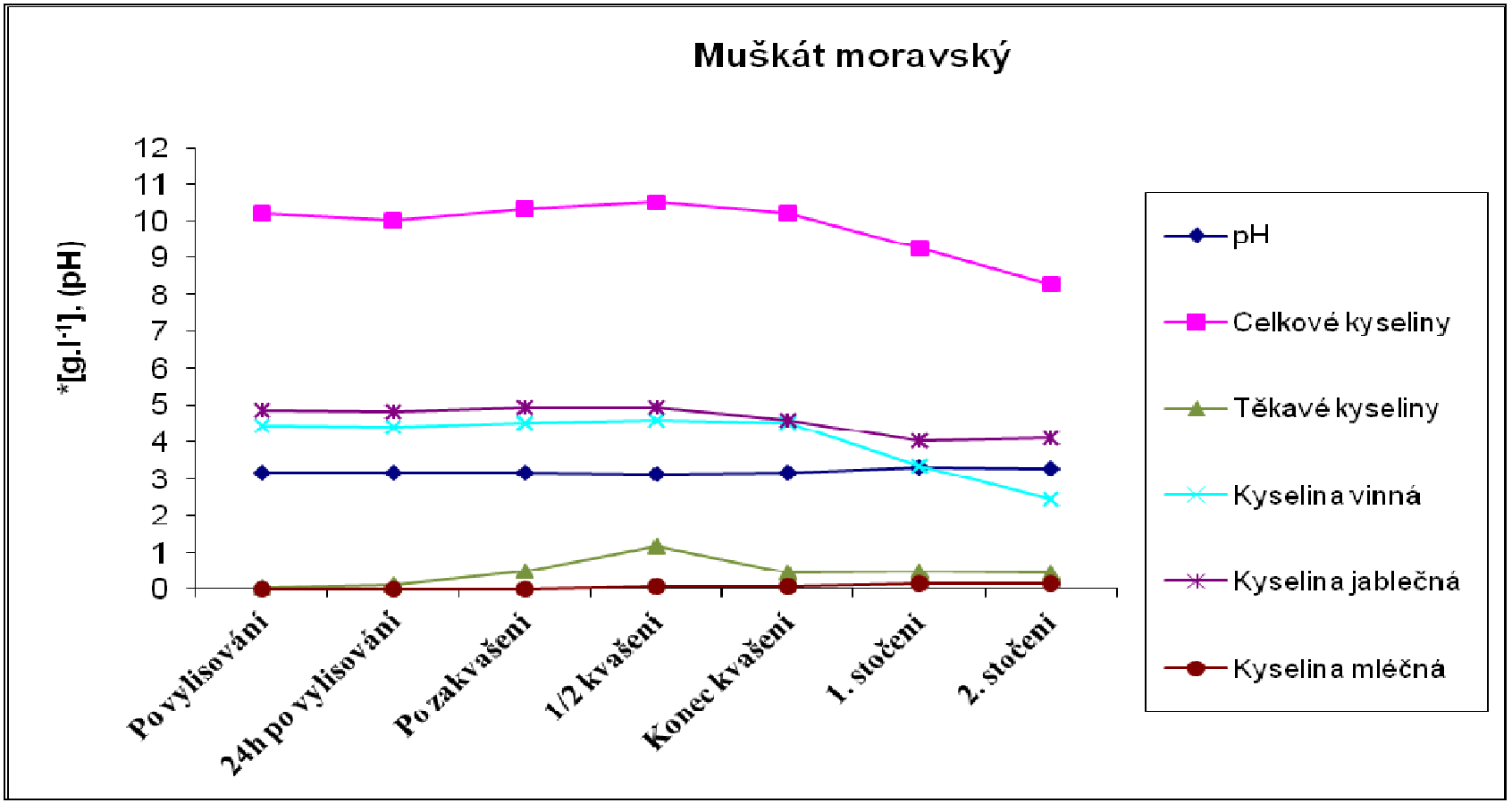


Obr. 7. Kyselinový profil vzorku č. 1

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 7. Kyselinový profil vzorku č. 2 – Muškát moravský

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
2.10. 2013	3,14 ± 0,01	10,2 ± 0,2	0,04 ± 0,01	4,42 ± 0,01	4,85 ± 0,02	ND
3.10.2013	3,15 ± 0,01	10,0 ± 0,1	0,09 ± 0,01	4,40 ± 0,01	4,81 ± 0,01	ND
4.10.2013	3,16 ± 0,01	10,3 ± 0,2	0,49 ± 0,01	4,50 ± 0,01	4,94 ± 0,01	ND
11.10.2013	3,12 ± 0,01	10,5 ± 0,2	1,17 ± 0,03	4,58 ± 0,01	4,91 ± 0,02	0,07 ± 0,01
27.10.2013	3,17 ± 0,01	10,2 ± 0,1	0,45 ± 0,01	4,50 ± 0,01	4,59 ± 0,01	0,07 ± 0,01
31.10.2013	3,29 ± 0,02	9,27 ± 0,1	0,47 ± 0,01	3,34 ± 0,02	4,02 ± 0,01	0,13 ± 0,01
10.11.2013	3,27 ± 0,01	8,27 ± 0,1	0,44 ± 0,01	2,45 ± 0,01	4,10 ± 0,01	0,15 ± 0,01

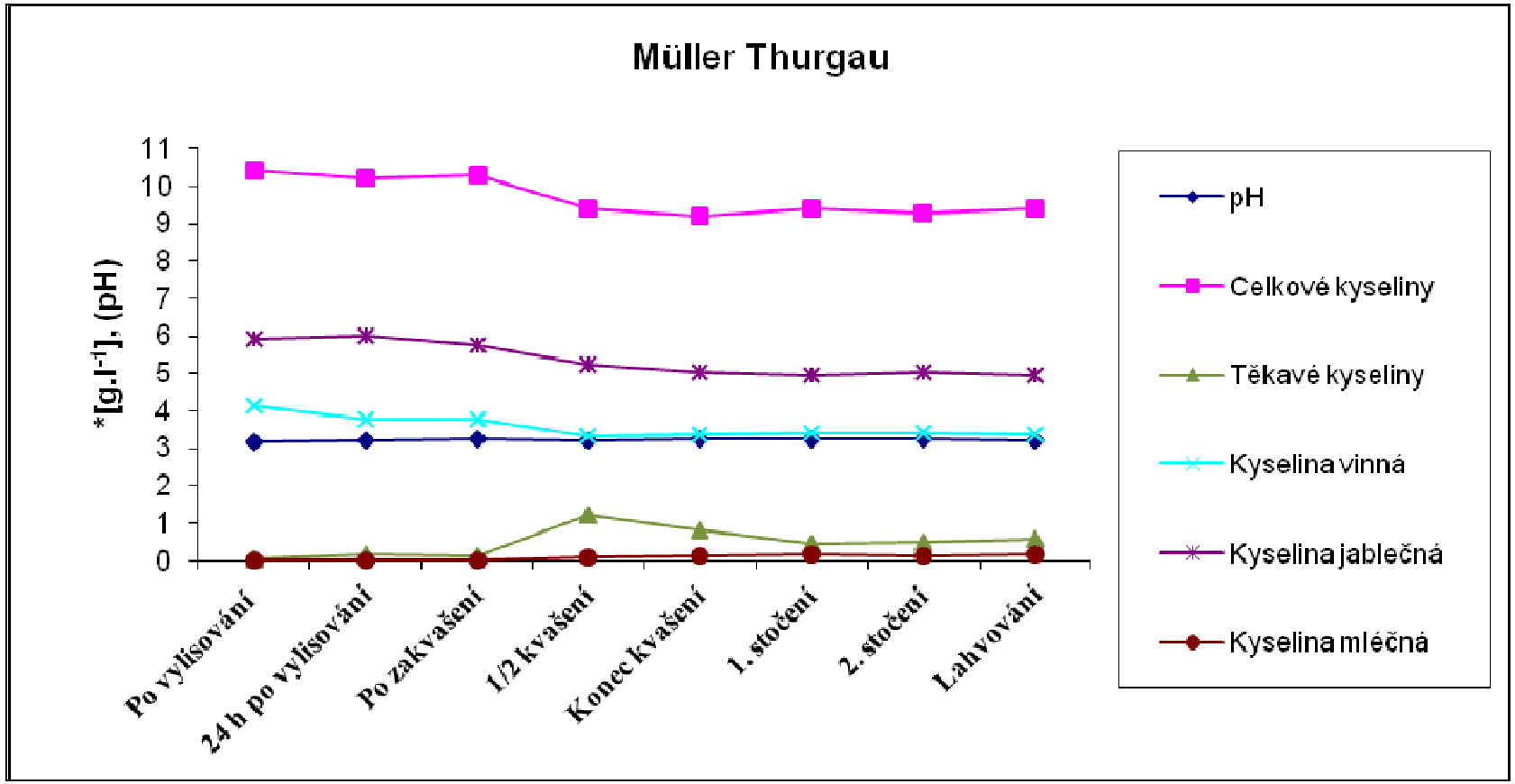


Obr. 8. Kyselinový profil vzorku č. 2

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 8. Kyselinový profil vzorku č. 3 – Müller Thurgau

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
8.10. 2013	3,17 ± 0,01	10,4 ± 0,1	0,05 ± 0,01	4,14 ± 0,02	5,92 ± 0,02	ND
9.10.2013	3,22 ± 0,01	10,2 ± 0,1	0,16 ± 0,01	3,77 ± 0,02	5,99 ± 0,02	ND
10.10.2013	3,24 ± 0,01	10,3 ± 0,1	0,14 ± 0,01	3,77 ± 0,01	5,74 ± 0,02	ND
16.10.2013	3,20 ± 0,02	9,4 ± 0,1	1,23 ± 0,01	3,34 ± 0,01	5,25 ± 0,01	0,10 ± 0,01
25.10.2013	3,24 ± 0,01	9,2 ± 0,1	0,81 ± 0,01	3,35 ± 0,01	5,03 ± 0,02	0,13 ± 0,01
29.10.2013	3,26 ± 0,01	9,4 ± 0,2	0,46 ± 0,01	3,39 ± 0,01	4,95 ± 0,01	0,17 ± 0,01
31.11.2013	3,23 ± 0,02	9,3 ± 0,1	0,50 ± 0,01	3,39 ± 0,01	5,03 ± 0,01	0,13 ± 0,01
8.1.2014	3,20 ± 0,01	9,4 ± 0,1	0,56 ± 0,01	3,35 ± 0,01	4,93 ± 0,01	0,15 ± 0,01

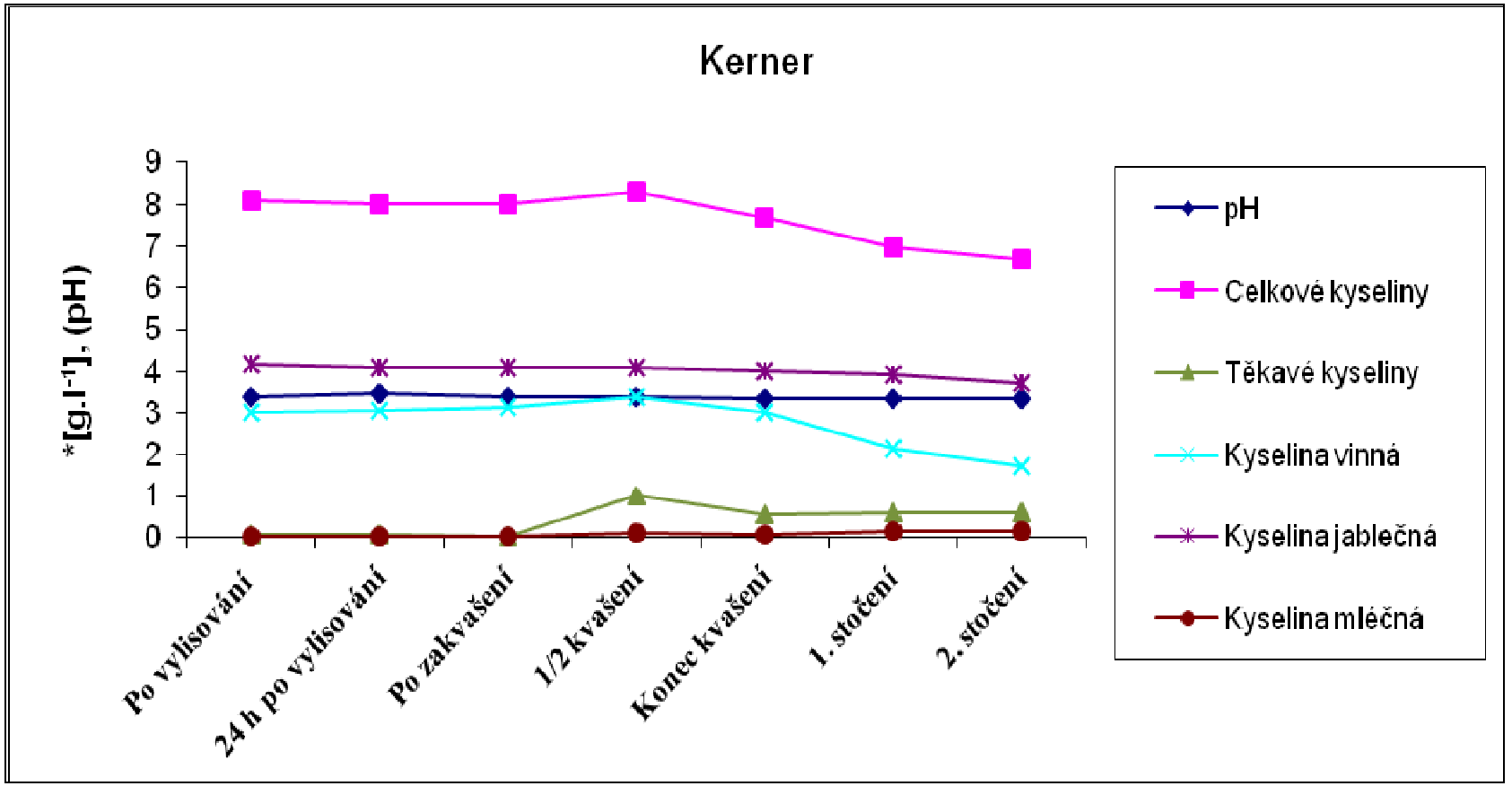


Obr. 9. Kyselinový profil vzorku č. 3

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 9. Kyselinový profil vzorku č. 4 – Kerner

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
16.10. 2013	3,40 ± 0,01	8,1 ± 0,1	0,05 ± 0,01	3,03 ± 0,01	4,17 ± 0,02	ND
17.10.2013	3,47 ± 0,01	8,0 ± 0,1	0,06 ± 0,01	3,05 ± 0,01	4,09 ± 0,02	ND
24.10.2013	3,40 ± 0,01	8,0 ± 0,1	0,02 ± 0,01	3,15 ± 0,01	4,11 ± 0,01	0,02 ± 0,01
5.11.2013	3,38 ± 0,02	8,3 ± 0,1	1,00 ± 0,01	3,38 ± 0,01	4,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01
12.11.2013	3,35 ± 0,01	7,7 ± 0,1	0,56 ± 0,01	3,01 ± 0,01	4,01 ± 0,01	0,07 ± 0,01
19.11.2013	3,35 ± 0,01	7,0 ± 0,1	0,60 ± 0,01	2,17 ± 0,01	3,94 ± 0,01	0,12 ± 0 ,01
6.12.2013	3,35 ± 0,01	6,7 ± 0,1	0,58 ± 0,01	1,74 ± 0,01	3,71 ± 0,01	0,14 ± 0,01

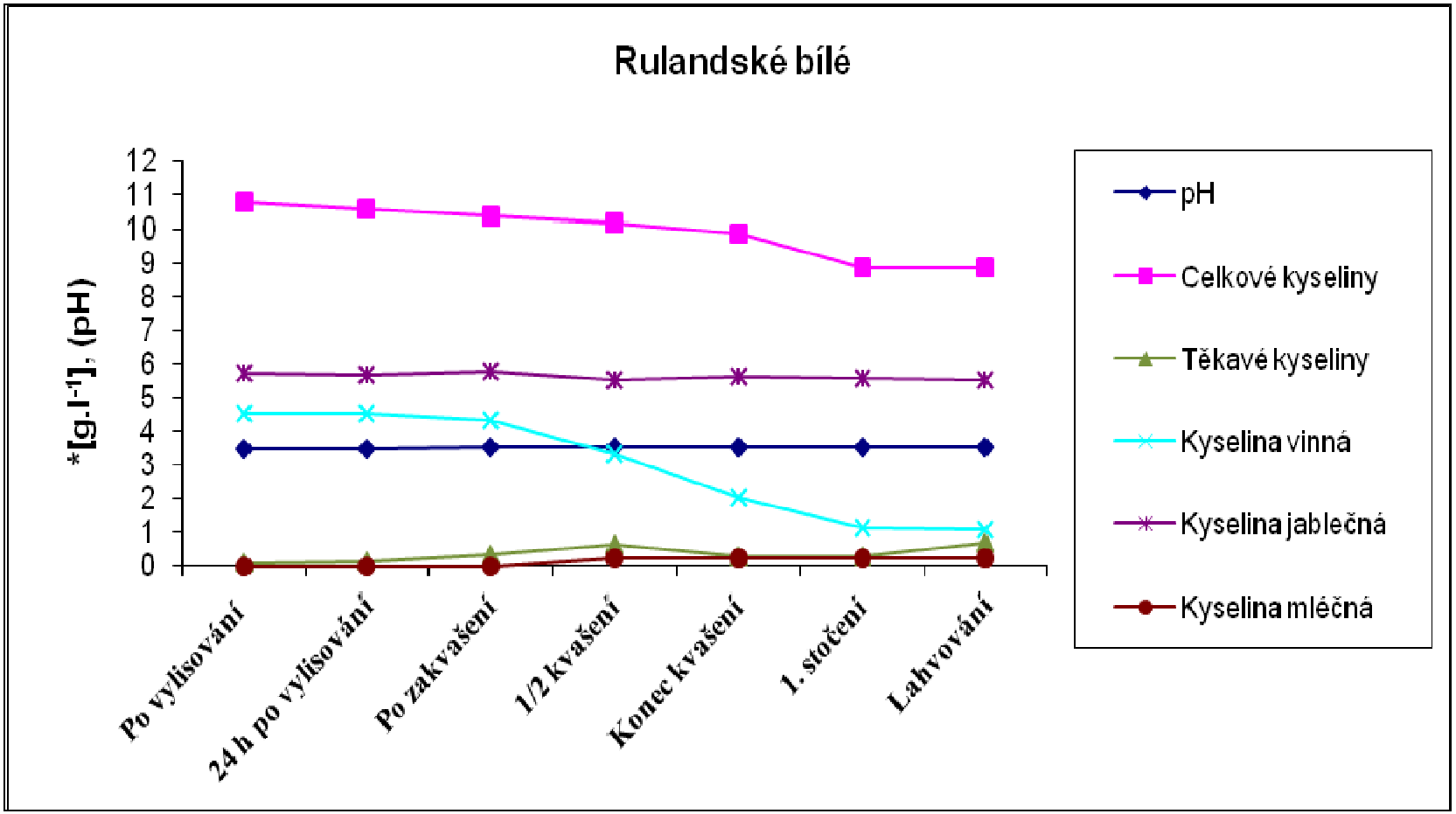


Obr. 10. Kyselinový profil vzorku č. 4

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 10. Kyselinový profil vzorku č. 5 – Rulandské bílé

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
5.11. 2013	3,49 ± 0,01	10,8 ± 0,2	0,12 ± 0,01	4,53 ± 0,02	5,73 ± 0,02	ND
6.11.2013	3,49 ± 0,01	10,6 ± 0,2	0,14 ± 0,01	4,52 ± 0,01	5,71 ± 0,01	ND
10.11.2013	3,54 ± 0,01	10,4 ± 0,1	0,33 ± 0,01	4,33 ± 0,02	5,79 ± 0,01	ND
16.11.2013	3,53 ± 0,01	10,2 ± 0,2	0,64 ± 0,01	3,33 ± 0,01	5,55 ± 0,02	0,26 ± 0,01
19.11.2013	3,54 ± 0,01	9,9 ± 0,1	0,30 ± 0,01	2,05 ± 0,01	5,64 ± 0,01	0,26 ± 0,01
25.11.2013	3,56 ± 0,01	8,9 ± 0,1	0,30 ± 0,01	1,15 ± 0,01	5,61 ± 0,01	0,22 ± 0,01
15.12.2013	3,56 ± 0,01	8,9 ± 0,1	0,68 ± 0,01	1,10 ± 0,01	5,56 ± 0,01	0,24 ± 0,01

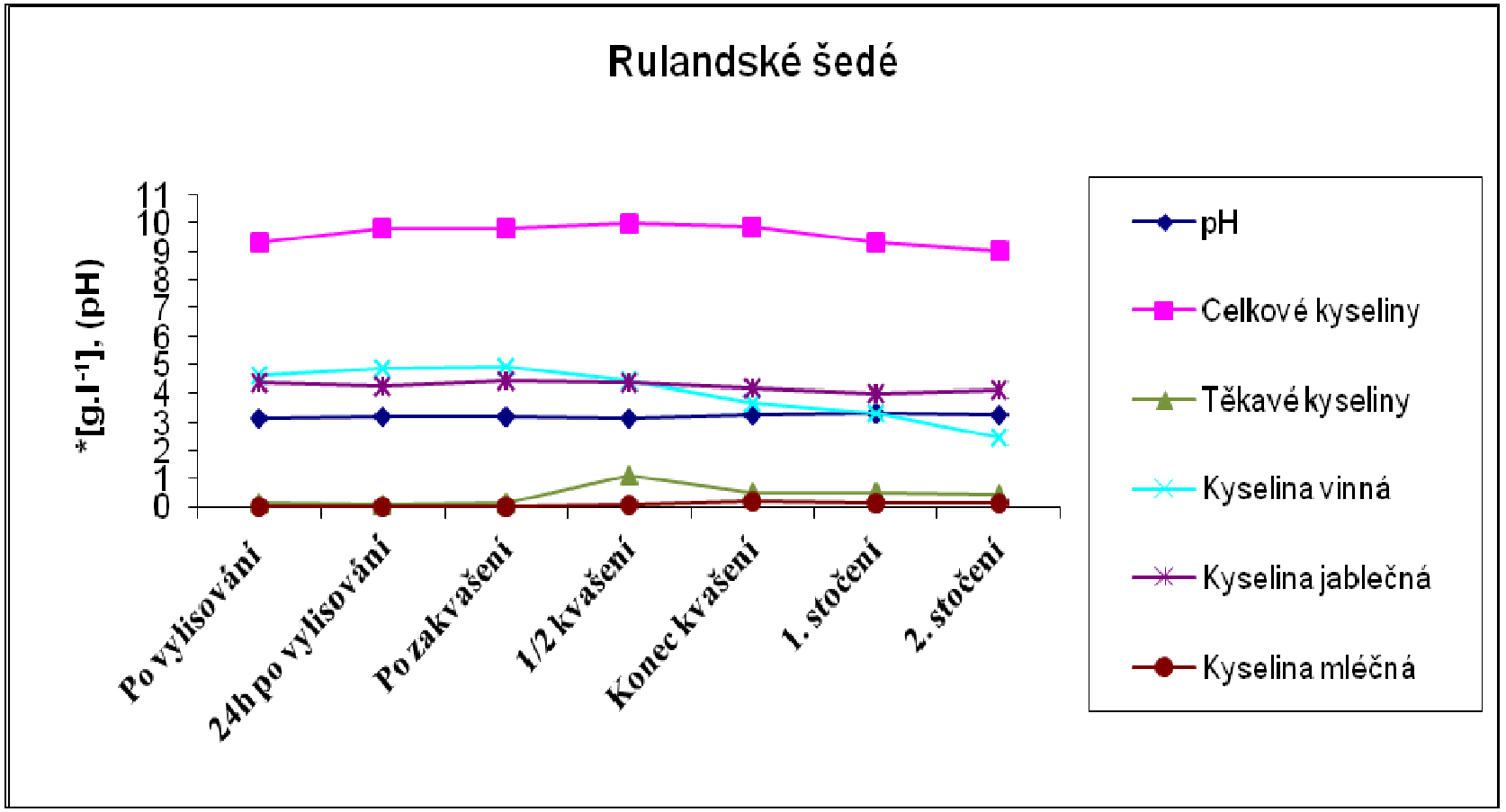


Obr. 11. Kyselinový profil vzorku č. 5

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 11. Kyselinový profil vzorku č. 6 – Rulandské šedé

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
3.10. 2013	3,14 ± 0,01	9,3 ± 0,1	0,10 ± 0,01	4,63 ± 0,02	4,35 ± 0,01	ND
4.10.2013	3,17 ± 0,01	9,8 ± 0,1	0,07 ± 0,01	4,85 ± 0,01	4,21 ± 0,02	ND
5.10.2013	3,19 ± 0,01	9,8 ± 0,1	0,10 ± 0,01	4,89 ± 0,02	4,40 ± 0,02	ND
11.10.2013	3,11 ± 0,01	10,0 ± 0,1	1,10 ± 0,02	4,39 ±0,01	4,38 ± 0,02	0,08 ± 0,01
24.10.2013	3,23 ± 0,01	9,9 ± 0,1	0,51 ± 0,01	3,69 ± 0,01	4,18 ± 0,01	0,18 ± 0 ,01
31.10.2013	3,29 ± 0,01	9,3 ± 0,1	0,50 ± 0,01	3,34 ± 0,01	4,02 ± 0,01	0,14 ± 0,01
10.11.2013	3,27 ± 0,01	9,0 ± 0,2	0,44 ± 0,01	2,45 ± 0,01	4,10 ± 0,01	0,15 ± 0,01

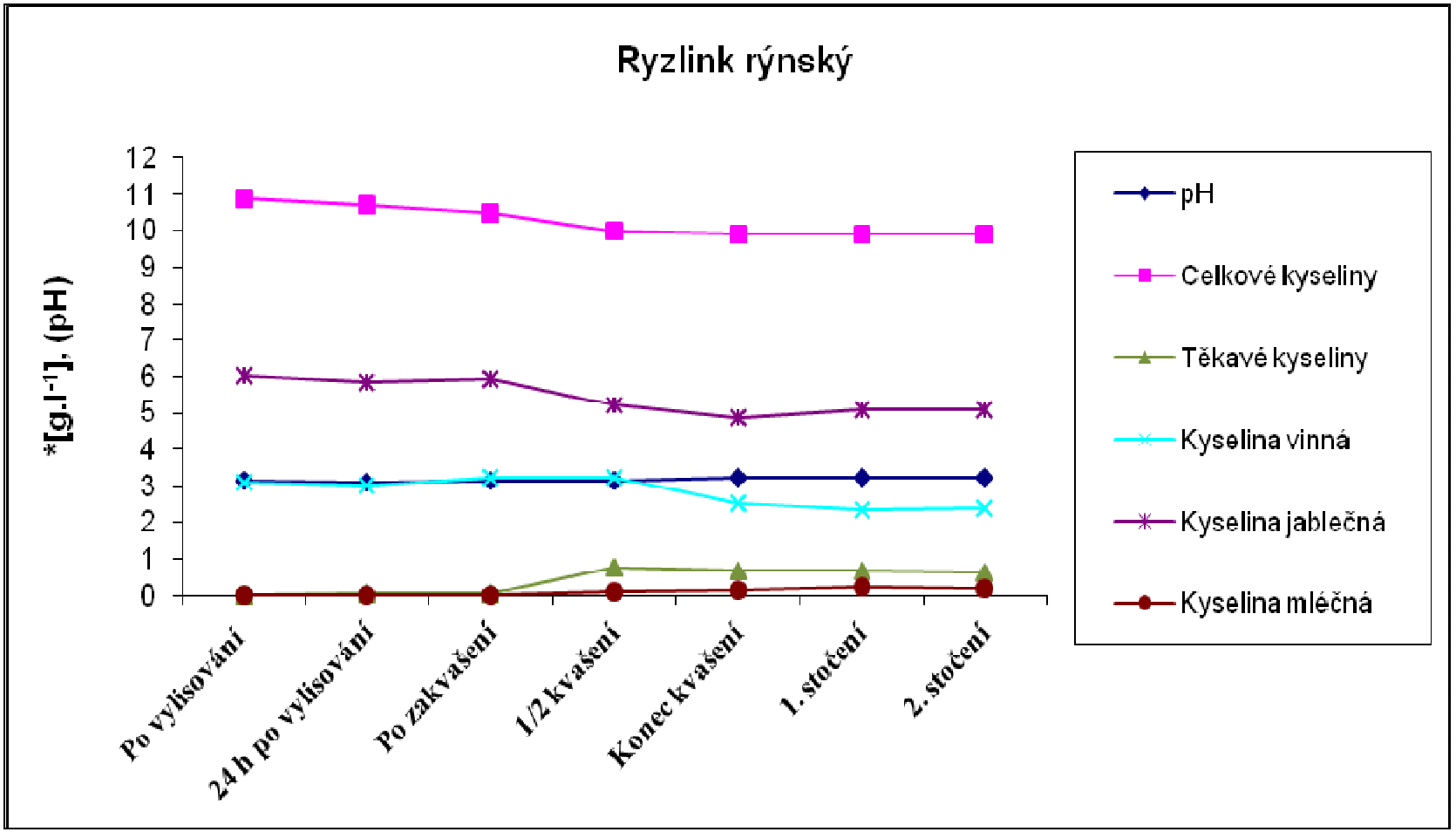


Obr. 12. Kyselinový profil vzorku č. 6

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 12. Kyselinový profil vzorku č. 7 – Ryzlink rýnský

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
3.10. 2013	3,13 ± 0,01	10,9 ± 0,1	0,02 ± 0,01	3,12 ± 0,01	6,03 ± 0,02	ND
4.10.2013	3,11 ± 0,02	10,7 ± 0,1	0,07 ± 0,01	3,02 ± 0,01	5,84 ± 0,01	ND
5.10.2013	3,16 ± 0,01	10,5 ± 0,1	0,06 ± 0,01	3,24 ± 0,02	5,93 ± 0,02	ND
9.10.2013	3,14 ± 0,01	10,0 ± 0,1	0,78 ± 0,02	3,22 ± 0,02	5,23 ± 0,01	0,08 ± 0,01
17.10.2013	3,22 ± 0,02	9,9 ± 0,1	0,68 ± 0,02	2,52 ± 0,02	4,88 ± 0,02	0,16 ± 0,01
24.10.2013	3,24 ± 0,01	9,9 ± 0,1	0,65 ± 0,01	2,34 ± 0,01	5,11 ± 0,02	0,21 ± 0,01
10.11.2013	3,24 ± 0,02	9,9 ± 0,1	0,62 ± 0,02	2,41 ± 0,01	5,09 ± 0,02	0,20 ± 0,01

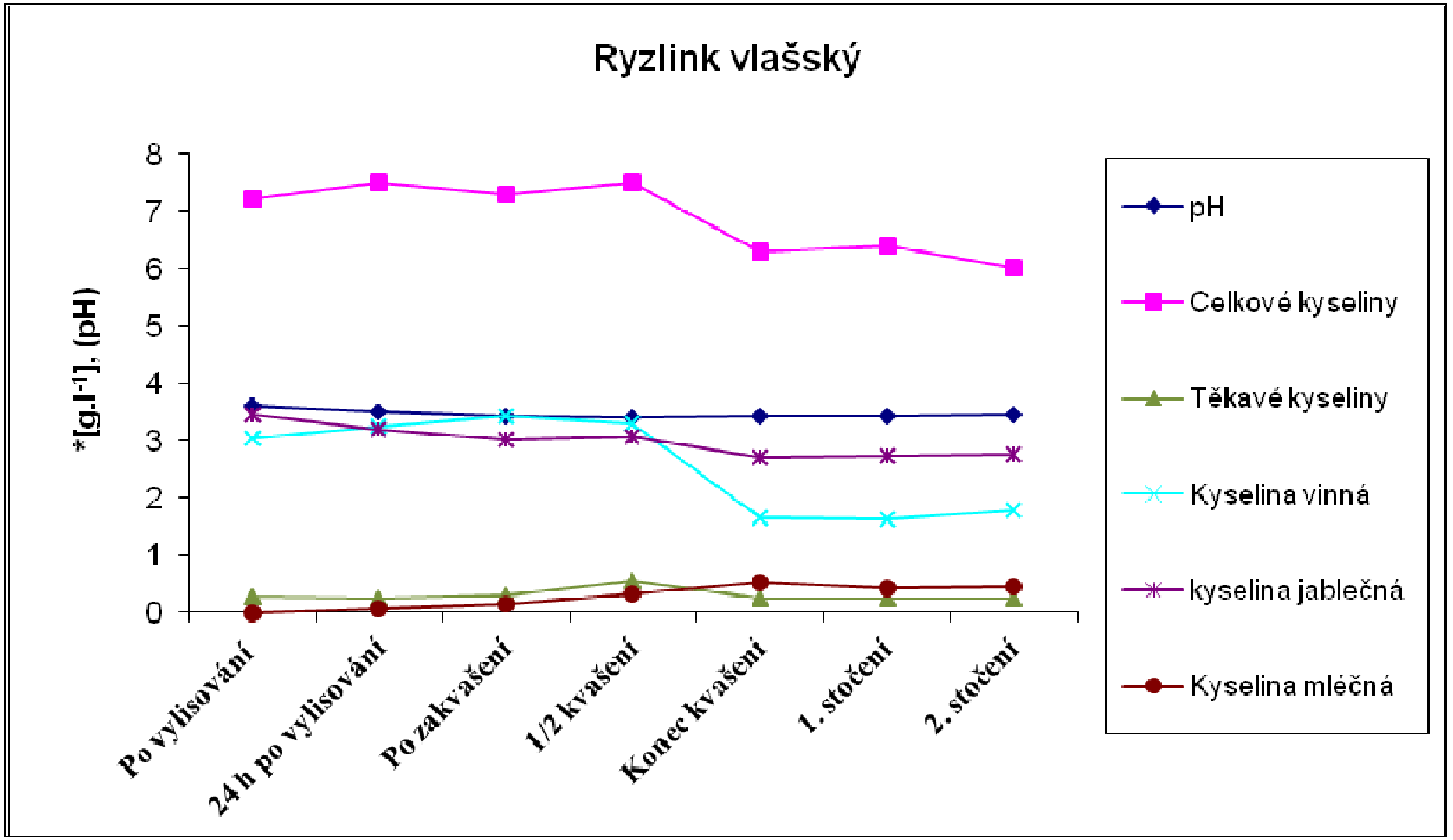


Obr. 13. Kyselinový profil vzorku č. 7

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 13. Kyselinový profil vzorku č. 8 – Ryzlink vlašský

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
20.11. 2013	3,59 ± 0,01	7,5 ± 0,1	0,27 ± 0,01	3,03 ± 0,01	3,45 ± 0,02	ND
21.11.2013	3,49 ± 0,01	7,5 ± 0,1	0,24 ± 0,01	3,25 ± 0,01	3,20 ± 0,02	0,07 ± 0,01
22.11.2013	3,42 ± 0,02	7,3 ± 0,1	0,30 ± 0,01	3,42 ± 0,01	3,00 ± 0,01	0,15 ± 0,01
27.11.2013	3,40 ± 0,01	7,5 ± 0,1	0,55 ± 0,01	3,30 ± 0,01	3,06 ± 0,01	0,33 ± 0,01
1.12.2013	3,42 ± 0,01	6,3 ± 0,1	0,25 ± 0,01	1,66 ± 0,01	2,70 ± 0,01	0,52 ± 0,01
15.12.2013	3,43 ± 0,01	6,4 ± 0,1	0,25 ± 0,01	1,63 ± 0,01	2,72 ± 0,01	0,42 ± 0,01
20.12.2013	3,44 ± 0,01	6,0 ± 0,1	0,24 ± 0,01	1,78 ± 0,01	2,75 ± 0,01	0,44 ± 0,01

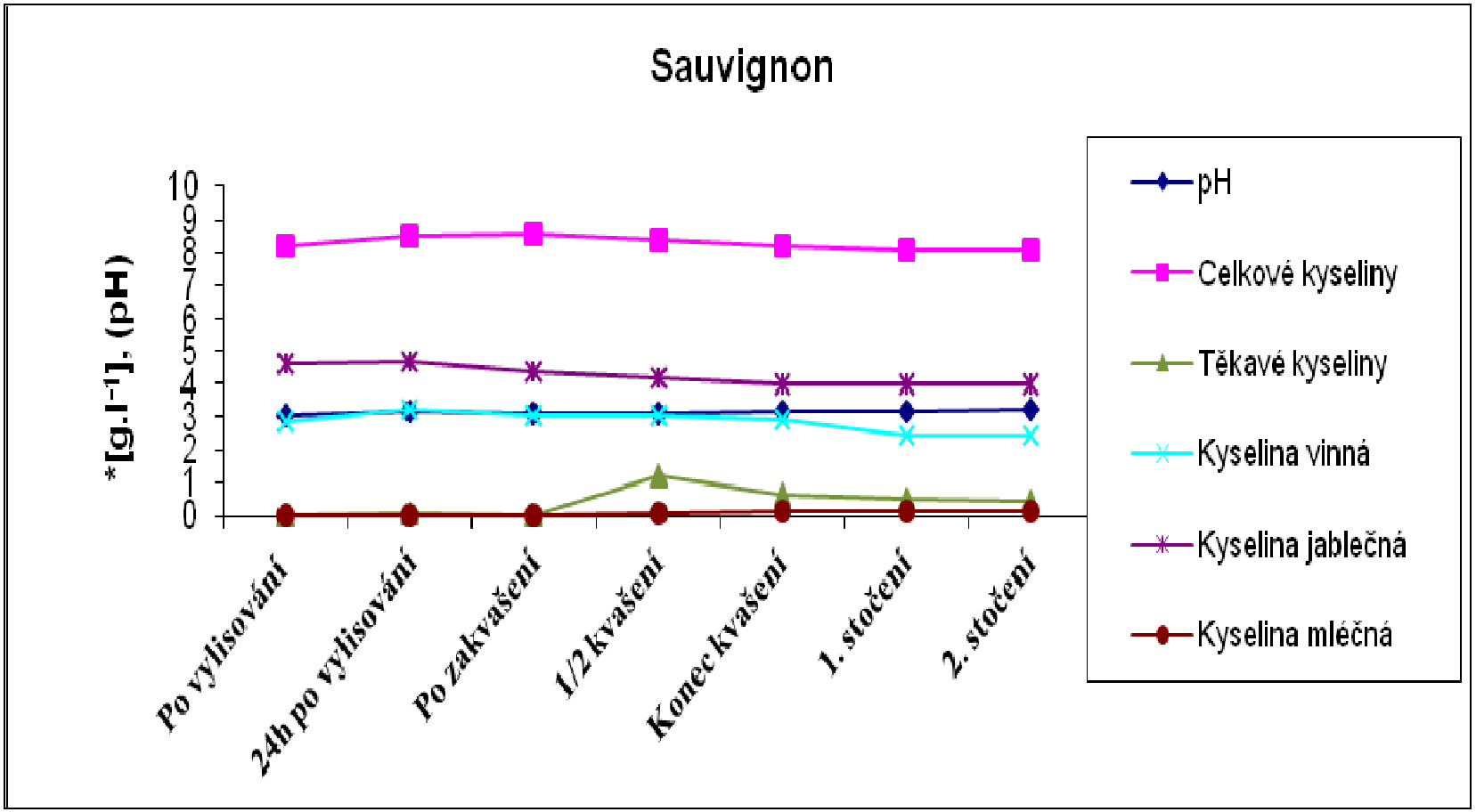


Obr. 14. Kyselinový profil vzorku č. 8

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 14. Kyselinový profil vzorku č. 9 – Sauvignon

Datum odběru	**pH**	**CK [g/l]**	**TK [g/l]**	**Kyselina vinná [g/l]**	**Kyselina jablečná [g/l]**	**Kyselina mléčná [g/l]**
1.10. 2013	3,09 ± 0,01	8,2 ± 0,1	0,04 ± 0,01	2,90 ± 0,01	4,58 ± 0,02	ND
2.10.2013	3,17 ± 0,01	8,5 ± 0,1	0,07 ± 0,01	3,23 ± 0,01	4,68 ± 0,02	ND
3.10.2013	3,11 ± 0,02	8,6 ± 0,1	0,04 ± 0,01	3,07 ± 0,01	4,38 ± 0,01	ND
10.10.2013	3,14 ± 0,01	8,4 ± 0,2	1,23 ± 0,02	3,05 ± 0,02	4,19 ± 0,01	0,08 ± 0,01
23.10.2013	3,18 ± 0,02	8,2 ± 0,1	0,62 ± 0,01	2,91 ± 0,01	3,98 ± 0,01	0,15 ± 0,01
29.10.2013	3,20 ± 0,01	8,1 ± 0,1	0,51 ± 0,01	2,45 ± 0,02	3,96 ± 0,01	0,12 ± 0,01
10.11.2013	3,27 ± 0,01	8,1 ± 0,1	0,44 ± 0,01	2,45 ± 0,02	4,00 ± 0,01	0,15 ± 0,01

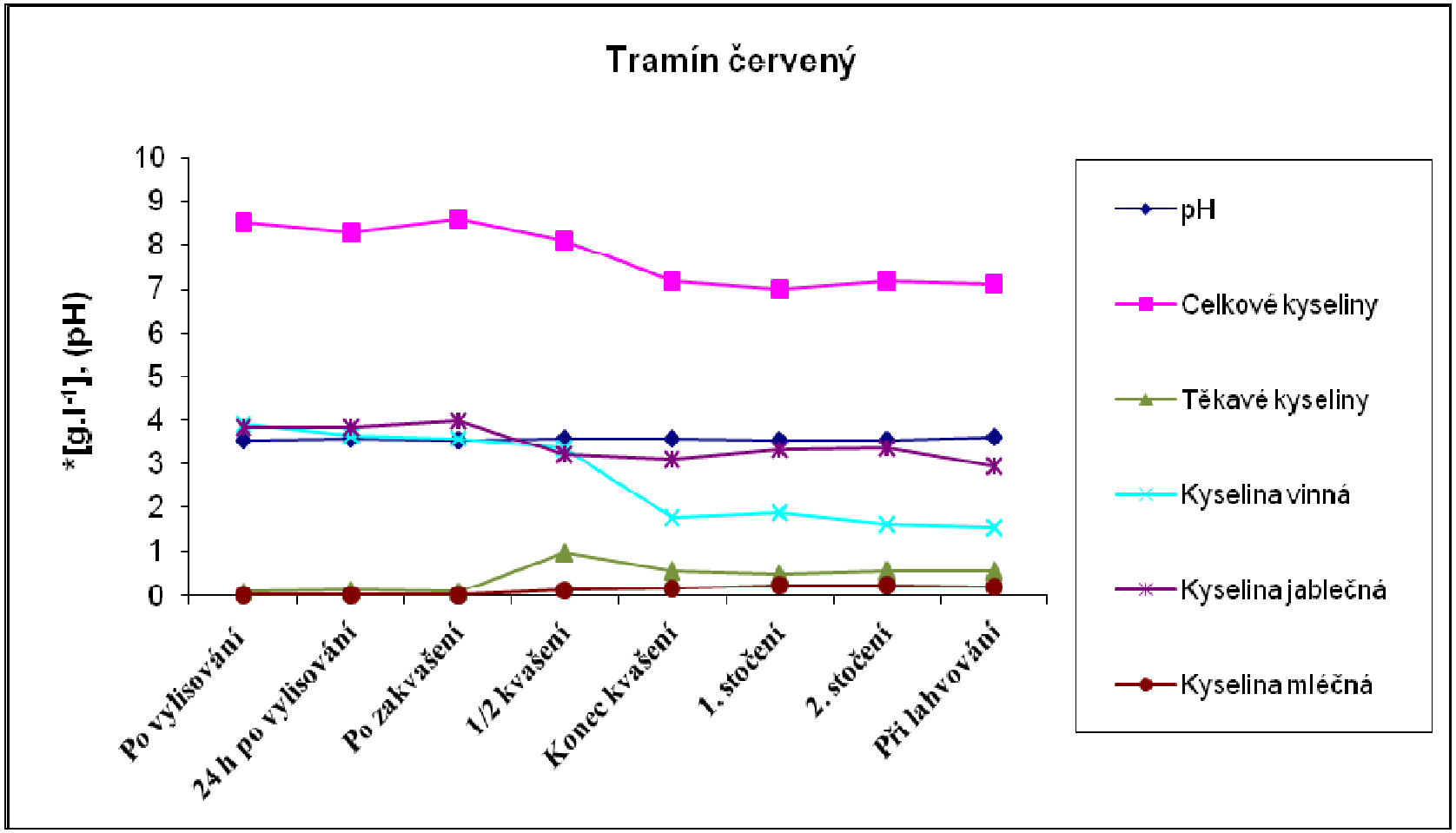


Obr. 15. Kyselinový profil vzorku č.9

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 15. Kyselinový profil vzorku č. 10 – Tramín červený

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
8.10. 2013	3,53 ± 0,01	8,5 ± 0,1	0,09 ± 0,01	3,91 ± 0,02	3,84 ± 0,02	ND
9.10.2013	3,59 ± 0,01	8,3 ± 0,1	0,10 ± 0,01	3,67 ± 0,02	3,82 ± 0,01	ND
10.10.2013	3,55 ± 0,01	8,6 ± 0,1	0,08 ± 0,01	3,59 ± 0,01	4,00 ± 0,02	ND
17.10.2013	3,58 ± 0,01	8,1 ± 0,1	0,98 ± 0,02	3,36 ± 0,01	3,21 ± 0,01	0,13 ± 0,01
29.10.2013	3,58 ± 0,02	7,2 ± 0,2	0,55 ± 0,01	1,77 ± 0,01	3,11 ± 0,01	0,15 ± 0,01
30.10.2013	3,54 ± 0,01	7,0 ± 0,1	0,50 ± 0,01	1,87 ± 0,01	3,32 ± 0,02	0,22 ± 0,01
10.11.2013	3,56 ± 0,02	7,2 ± 0,2	0,56 ± 0,01	1,63 ± 0,01	3,36 ± 0,01	0,23 ± 0,01
2. 1. 2014	3,61 ± 0,01	7,1 ± 0,2	0,56 ± 0,01	1,55 ± 0,01	2,96 ± 0,01	0,20 ± 0,01

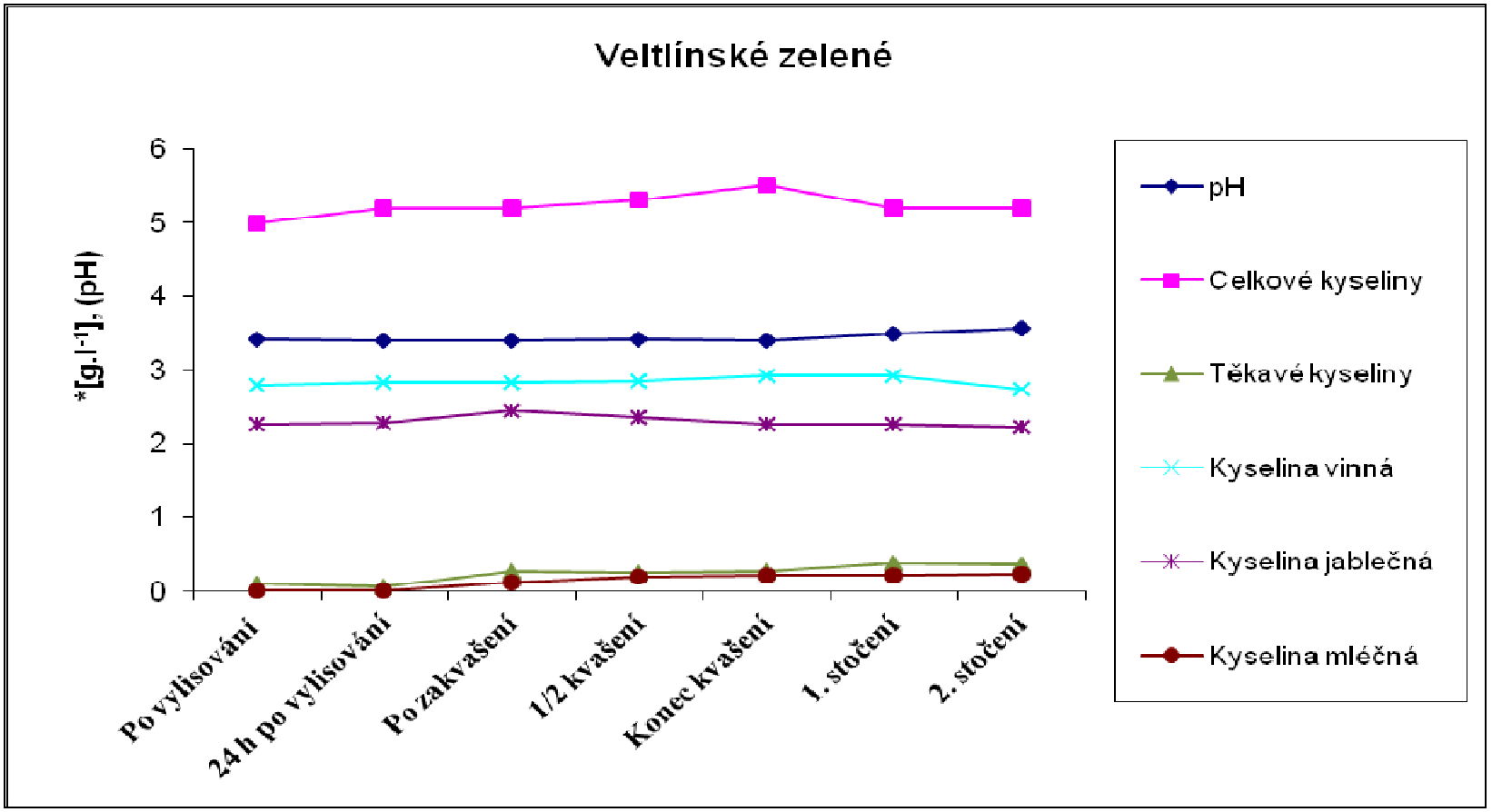


Obr. 16. Kyselinový profil vzorku č. 10

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 16. Kyselinový profil vzorku č. 11 – Veltlínské zelené

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
27.11. 2013	3,41 ± 0,01	5,2 ± 0,1	0,09 ± 0,01	2,79 ± 0,01	2,25 ± 0,01	ND
28.11.2013	3,40 ± 0,01	5,2 ± 0,1	0,05 ± 0,01	2,83 ± 0,01	2,28 ± 0,01	ND
1.12.2013	3,40 ± 0,01	5,4 ± 0,1	0,25 ± 0,01	2,82 ± 0,01	2,25 ± 0,01	0,12 ± 0,01
8.12.2013	3,42 ± 0,01	5,6 ± 0,1	0,24 ± 0,01	2,85 ± 0,01	2,35 ± 0,02	0,18 ± 0,01
18.12.2013	3,40 ± 0,01	5,6 ± 0,1	0,26 ± 0,01	2,91 ± 0,02	2,26 ± 0,02	0,20 ± 0,01
20.12.2013	3,49 ± 0,01	5,8 ± 0,1	0,37 ± 0,01	2,91 ± 0,01	2,26 ± 0,02	0,20 ± 0,01
3.1.2013	3,56 ± 0,01	5,6 ± 0,1	0,35 ± 0,01	2,74 ± 0,01	2,23 ± 0,01	0,23 ± 0,01



Obr. 17. Kyselinový profil vzorku č. 11

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Jackson [9] uvádí jako optimální hodnotu pH bílých vín od 2,0 – 3,8. Vyšší hodnoty pH mají vliv zejména na rozpustnost kyseliny vinné a jejich solí. Nárůstem pH v průběhu technologického procesu může dojít k vysrážení vinného kamene. Čím nižší hodnota pH, tím je riziko vysrážení vinného kamene menší. Nejvíce vinného kamene vzniká, jak uvádí Kraus [26], při pH 3,6 – 3,8. Zároveň s etanolem má aktivní kyselost důležitou úlohu při ochraně vína proti bakteriálním kontaminacím. Z výše uvedených výsledků analýz bílých odrůdových vín vyplývá, že se aktivní kyselost vzorků pohybovala od pH 3,10 – 3,61. Vyšší hodnota pH nad 3,50 byla zaznamenána u vzorků č. 5 a 10. U těchto dvou vzorků došlo ve vyšší míře k vysrážení vinného kamene, což se projevilo v úbytku kyseliny vinné v průměru o 2,85 $g.l^{-1}$. Jak uvádí Mire de Orduna [48] vyšší pH konkrétně až 3,79 bylo často zaznamenáno u moštů z vysoce mikrobiologicky napadených hroznů, což může být také důvodem vyššího pH u zmíněných dvou vzorků. Z pohledu jednotlivých vzorků nevyplývá žádná zásadní změna pH během kvašení a zrání vína.

Optimální obsah celkových kyselin, jak uvádí Steidl [42] se pohybuje v intervalu 6 – 15 $g.l^{-1}$. Na obsah celkových kyselin v moštech a vínech má vliv odrůda, viniční trať, ale zejména vyzrálost hroznů a vliv ročníku. Jelikož rok 2013 nebyl velmi příznivý na dny s vyšší sluneční intenzitou při dozrávání hroznů, byl očekáván vyšší obsah celkových kyselin v moštech a vínech, které mají nepříznivý vliv zejména na organoleptické vlastnosti vína. Jak je možné pozorovat na výsledcích, obsah celkových kyselin se skutečně pohyboval v rozmezí 6,0 – 15,0 $g.l^{-1}$. U šesti vzorků byl sledován obsah celkových kyselin spíše vyšší a to na hodnotách kolem 10,0 $g.l^{-1}$, což může skutečně poukazovat na nepříliš příznivý ročník. Dále lze u všech vzorků pozorovat souvislost obsahu celkových kyselin s obsahem zejména kyseliny vinné. Došlo zde ve všech případech k poklesu obsahu celkových kyselin v závislosti na poklesu obsahu kyseliny vinné. Celkové kyseliny jsou sumou všech kysele reagujících látek, zejména organických kyselin, vyskytujících se ve víně. Mezi tyto kyseliny patří kyselina vinná, jablečná, mléčná, citronová, jantarová a také těkavé kyseliny vyjadřované jako kyselina octová. Z tohoto pohledu lze konstatovat, že součet obsahu jednotlivých kyselin, které byly sledovány, je o něco nižší než obsah celkových kyselin a to z důvodu, že nebyly analyzovány všechny kyseliny, které se ve víně vyskytují.

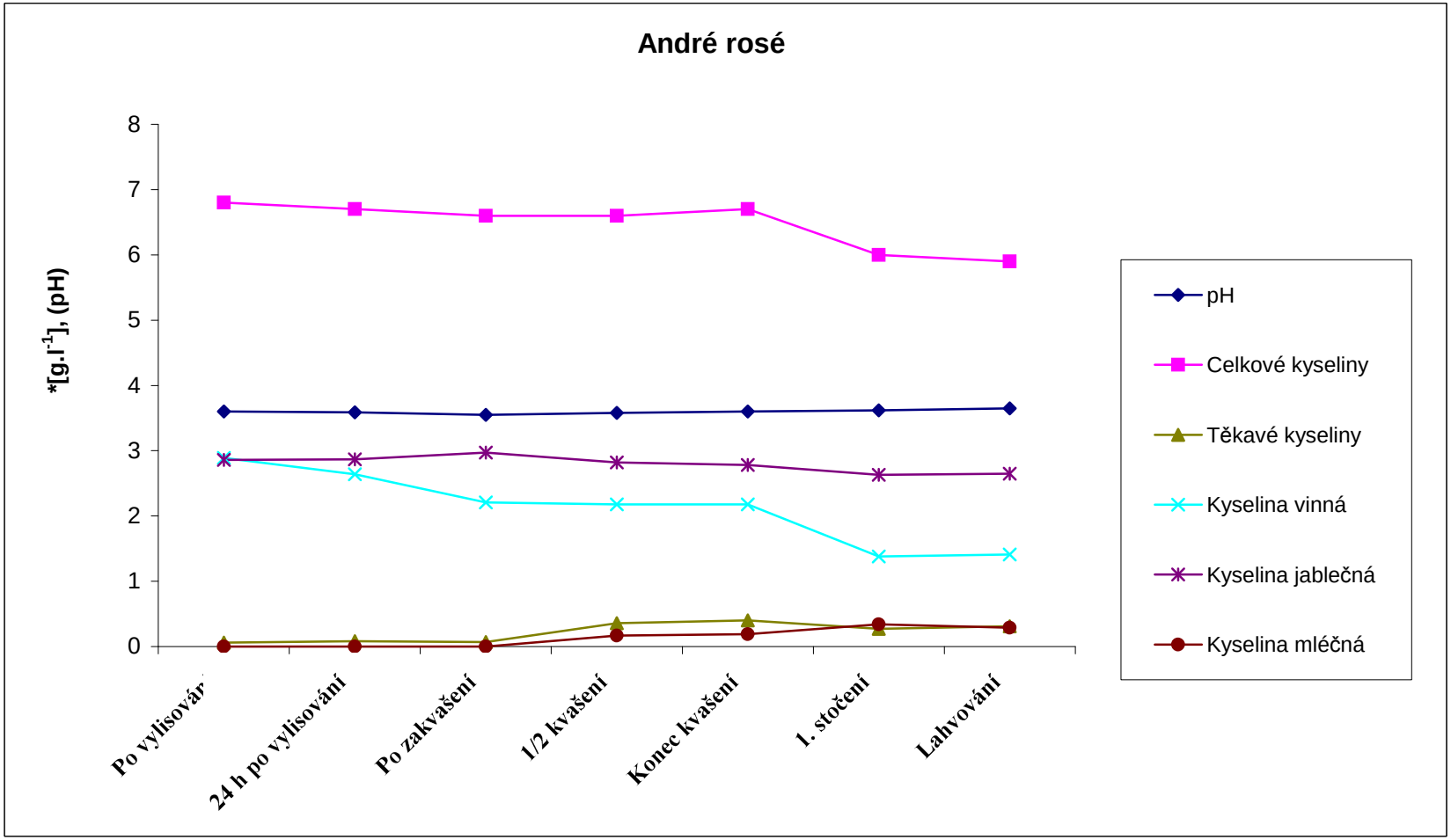
Další složkou kyselinového profilu jsou těkavé kyseliny, které byly stanovovány po destilaci vodní parou titrací odměrným roztokem hydroxidu sodného. Těkavé kyseliny vznikají ve víně především činností octových bakterií, které ke svému rozmnožování potřebují vzdušný kyslík. Ještě před alkoholovým kvašením, jak uvádí Bryce Rankine [37], může za vhodných podmínek vznikat malé množství těkavých kyselin. Toto množství, ale zpravidla nepřesáhne 0,2 $g.l^{-1}$, což lze sledovat u všech vzorků analyzovaných vín ve fázi lisování, kdy obsah těkavých kyselin skutečně nepřesáhl hodnotu 0,2 $g.l^{-1}$.Větší množství těkavých kyselin bylo sledováno v průběhu fermentace, protože je alkohol vhodným substrátem pro tvorbu těchto kyselin. V průběhu kvašení, zejména ve fázi bouřlivého kvašení bylo u některých vzorků sledován prudký nárůst těkavých kyselin až o 1,0 $g.l^{-1}$. Důvodem může být, dle Graingera a Tattersalla [20], vliv metabolizmu kvasinek, které v průběhu kvašení vytvářejí dekarboxylací kyseliny pyrohroznové kyselinu octovou. Tato reakce je katalyzována oxidativním enzymem pyruvátdekarboxilázou. V další fázi kvašení jsou kvasinky schopny kyselinu octovou zpracovat a redukovat ji na acetaldehyd. Acetaldehyd je dále v průběhu kvašení přetvářen na etanol, z tohoto důvodu byl sledován pokles těkavých kyselin u všech vzorků na hodnoty pod 0,7 $g.l^{-1}$. V některých případech dochází k opětovné oxidaci acetaldehydu na kyselinu octovou [64]. V tomto případě lze sledovat pokles obsahu těkavých kyselin v menší míře, což je patrné u vzorku č.7.

Z organických kyselin byly sledovány kyselina vinná, jablečná a mléčná. Kyselinu vinnou kvasinky v průběhu kvašení nezpracovávají. Avšak asi 0,5 – 1,5 $g.l^{-1}$ kyseliny vinné se vysráží jako vinný kámen v důsledku obsahu alkoholu ve víně, který snižuje její rozpustnost. U všech analyzovaných bílých vín došlo v průběhu technologického procesu k úbytku kyseliny vinné, která se vysrážela v podobě vinného kamene. U vzorků č. 5 a 10 byl tento úbytek o více než polovinu původního množství. U obou vzorků došlo k masivnímu poklesu obsahu kyseliny vinné během konce kvašení a 1. stáčení. U ostatních vzorků došlo k poklesu kyseliny vinné v menší míře a to v průměru o 1,4 $g.l^{-1}$. Kyselina jablečná je oproti kyselině vinné mikroorganismy lehce zpracovatelná. Kvasinky přeměňují během kvašení kyselinu jablečnou, při čemž vzniká alkohol, nikoli však kyselina mléčná, jak je tomu v případě biologického odkyselení. U všech vzorků lze sledovat trend mírného poklesu kyseliny jablečné v průměru do 0,66 $g.l^{-1}$. Oproti tomu došlo k mírnému růstu obsahu kyseliny mléčné všech vzorků, ale množství této kyseliny nepřesáhlo 0,5 $g.l^{-1}$. Jelikož technologie výroby bílých vín

v Zámeckém vinařství Bzenec s.r.o. nezahrnuje biologické odbourávání kyselin, lze usuzovat, že kyselina mléčná vznikala s velkou pravděpodobností činností kvasinek. Steidl [42] totiž uvádí, že kvasinky mohou v omezeném množství měnit kyselinu pyrohroznovou na mléčnou.

Tab. 17. Kyselinový profil vzorku č. 12 – André rosé

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
19.11.2013	3,60 ± 0,01	6,8 ± 0,1	0,06 ± 0,01	2,89 ± 0,01	2,86 ± 0,02	ND
20.11.2013	3,59 ± 0,01	6,7 ± 0,1	0,08 ± 0,01	2,64 ± 0,01	2,87 ± 0,02	ND
22.11.2013	3,55 ± 0,01	6,6 ± 0,1	0,07 ± 0,01	2,21 ± 0,01	2,97 ± 0,01	ND
27.11.2013	3,58 ± 0,01	6,6 ± 0,2	0,36 ± 0,01	2,18 ± 0,01	2,82 ± 0,01	0,17 ± 0,01
3.12.2013	3,60 ± 0,01	6,7 ± 0,1	0,40 ± 0,01	2,18 ± 0,02	2,78 ± 0,02	0,19 ± 0,01
6.12.2013	3,62 ± 0,01	6,0 ± 0,2	0,27 ± 0,01	1,38 ± 0,01	2,63 ± 0,01	0,34 ± 0,01
3.2.2014	3,65 ± 0,01	5,9 ± 0,1	0,31 ± 0,01	1,41 ± 0,01	2,65 ± 0,01	0,29 ± 0,01

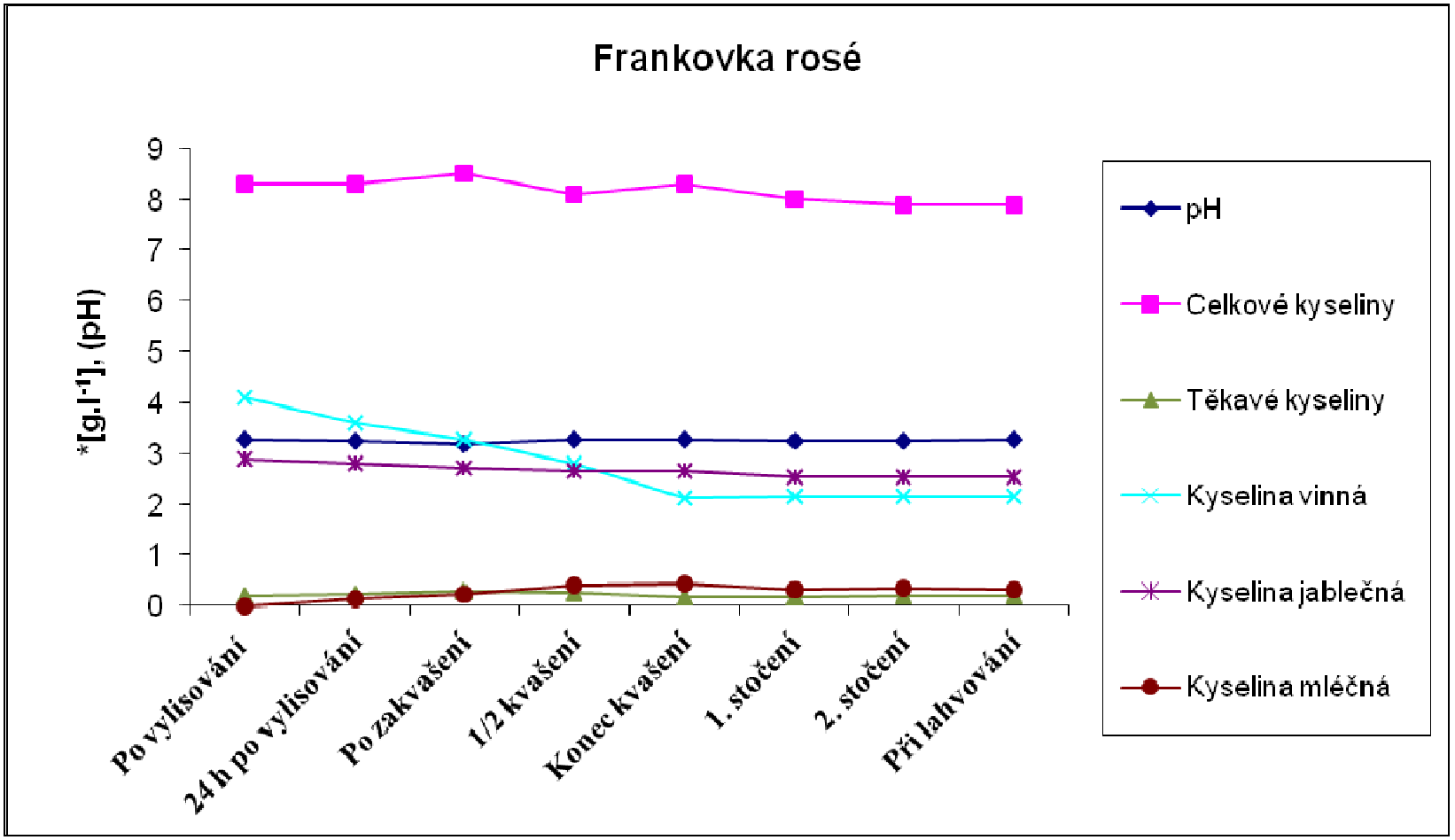


Obr. 18. Kyselinový profil vzorku č. 12

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 18. Kyselinový profil vzorku č. 13 – Frankovka rosé

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
14.11.2013	3,26 ± 0,01	8,3 ± 0,1	0,19 ± 0,01	4,09 ± 0,01	2,90 ± 0,02	ND
15.11.2013	3,23 ± 0,01	8,3 ± 0,2	0,23 ± 0,01	3,61 ± 0,02	2,81 ± 0,02	0,13 ± 0,01
17.11.2013	3,19 ± 0,01	8,5 ± 0,1	0,28 ± 0,01	3,26 ± 0,01	2,72 ± 0,01	0,22 ± 0,01
25.11.2013	3,26 ± 0,01	8,1 ± 0,1	0,26 ± 0,01	2,79 ± 0,01	2,66 ± 0,01	0,41 ± 0,02
29.11.2013	3,27 ± 0,01	8,3 ± 0,2	0,17 ± 0,01	2,11 ± 0,01	2,64 ± 0,01	0,45 ± 0,02
1.12.2013	3,25 ± 0,01	8,0 ± 0,1	0,18 ± 0,01	2,14 ± 0,01	2,54 ± 0,01	0,33 ± 0,01
15.12.2013	3,24 ± 0,02	7,9 ± 0,1	0,19 ± 0,01	2,15 ± 0,01	2,54 ± 0,01	0,34 ± 0,02
20.12.2013	3,27 ± 0,01	7,9 ± 0,1	0,20 ± 0,01	2,14 ± 0,01	2,54 ± 0,01	0,33 ± 0,01

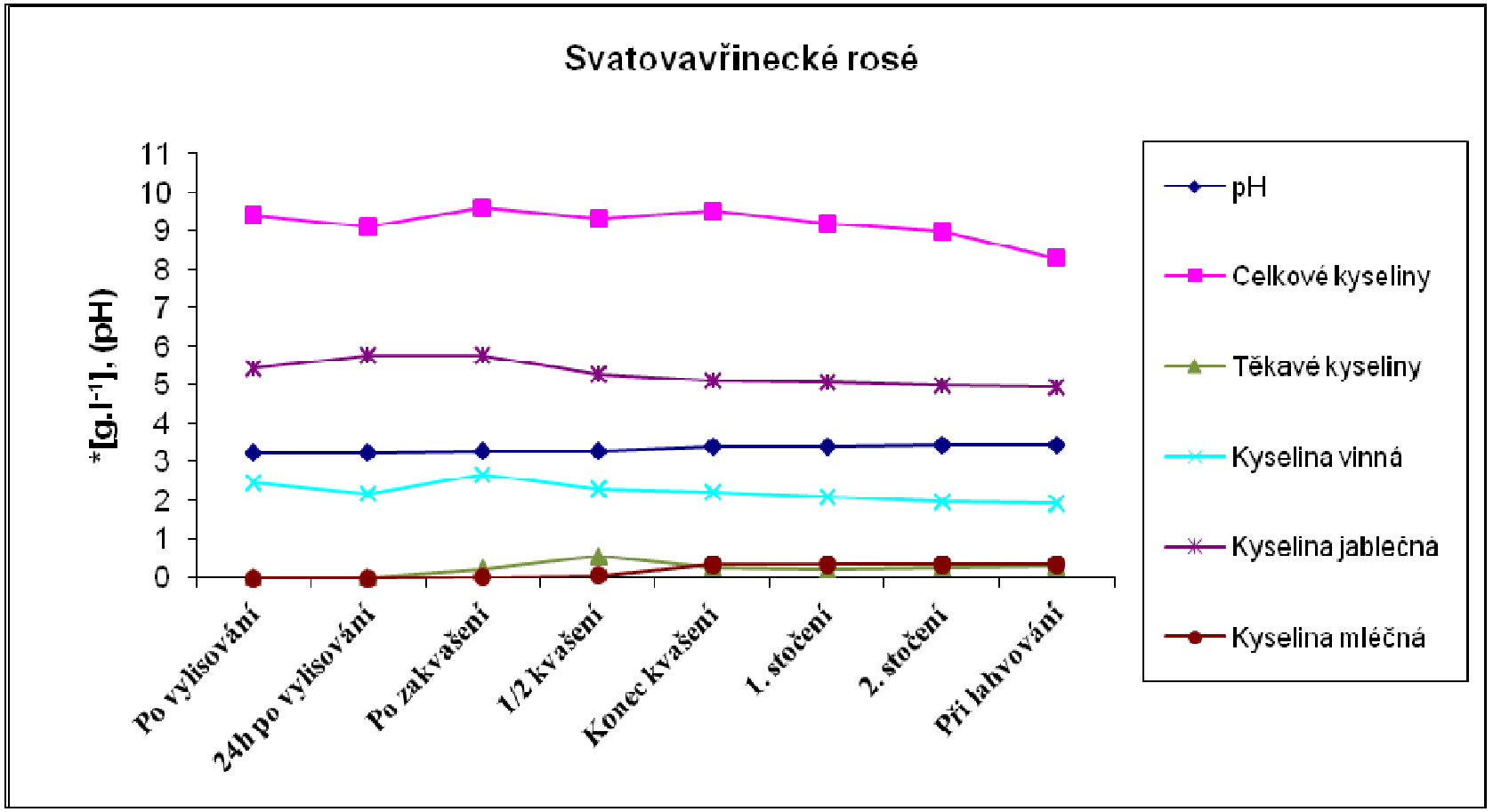


Obr. 19. Kyselinový profil vzorku č. 13

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 19. Kyselinový profil vzorku č. 14 – Svatovavřinecké rosé

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
2.10.2013	3,26 ± 0,01	9,4 ± 0,2	0,04 ± 0,01	2,48 ± 0,01	5,45 ± 0,02	ND
3.10.2013	3,25 ± 0,01	9,1 ± 0,2	0,04 ± 0,01	2,19 ± 0,01	5,76 ± 0,02	ND
4.10.2013	3,29 ± 0,01	9,6 ± 0,2	0,22 ± 0,01	2,67 ± 0,01	5,76 ± 0,01	0,04 ± 0,01
9.10.2013	3,30 ± 0,01	9,3 ± 0,2	0,55 ± 0,01	2,32 ± 0,01	5,30 ± 0,01	0,08 ± 0,01
17.10.2013	3,40 ± 0,02	9,5 ± 0,2	0,26 ± 0,01	2,22 ± 0,01	5,12 ± 0,02	0,34 ± 0,01
24.10.2013	3,42 ± 0,02	9,2 ± 0,2	0,24 ± 0,01	2,10 ± 0,01	5,07 ± 0,01	0,35 ± 0,01
30.10.2013	3,45 ± 0,02	9,0 ± 0,1	0,28 ± 0,01	1,98 ± 0,01	5,00 ± 0,01	0,36 ± 0,01
30.11.2013	3,44 ± 0,01	8,3 ± 0,1	0,29 ± 0,01	1,93 ± 0,01	4,97 ± 0,01	0,34 ± 0,01



Obr. 20. Kyselinový profil vzorku č. 14

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Přestože jsou růžová vína vyráběna z modrých odrůd hroznů, očekává se u nich obsah kyselin i pH jako u bílého vína, jelikož se přibližují bílým vínům použitou technologií. Z toho vyplývá, že pH by se mělo pohybovat v hodnotách od 2,0 – 3,8 a obsah celkových kyselin v intervalu od 6,0 $g.l^{-1}$ – 15,0 $g.l^{-1}$, jak je tomu u bílých vín. Výsledky měření ukazují, že se pH u všech tří měřených vzorků pohybovalo v rozmezí 3,19 – 3,65. Vyšší pH bylo zaznamenáno u vzorku č. 12.

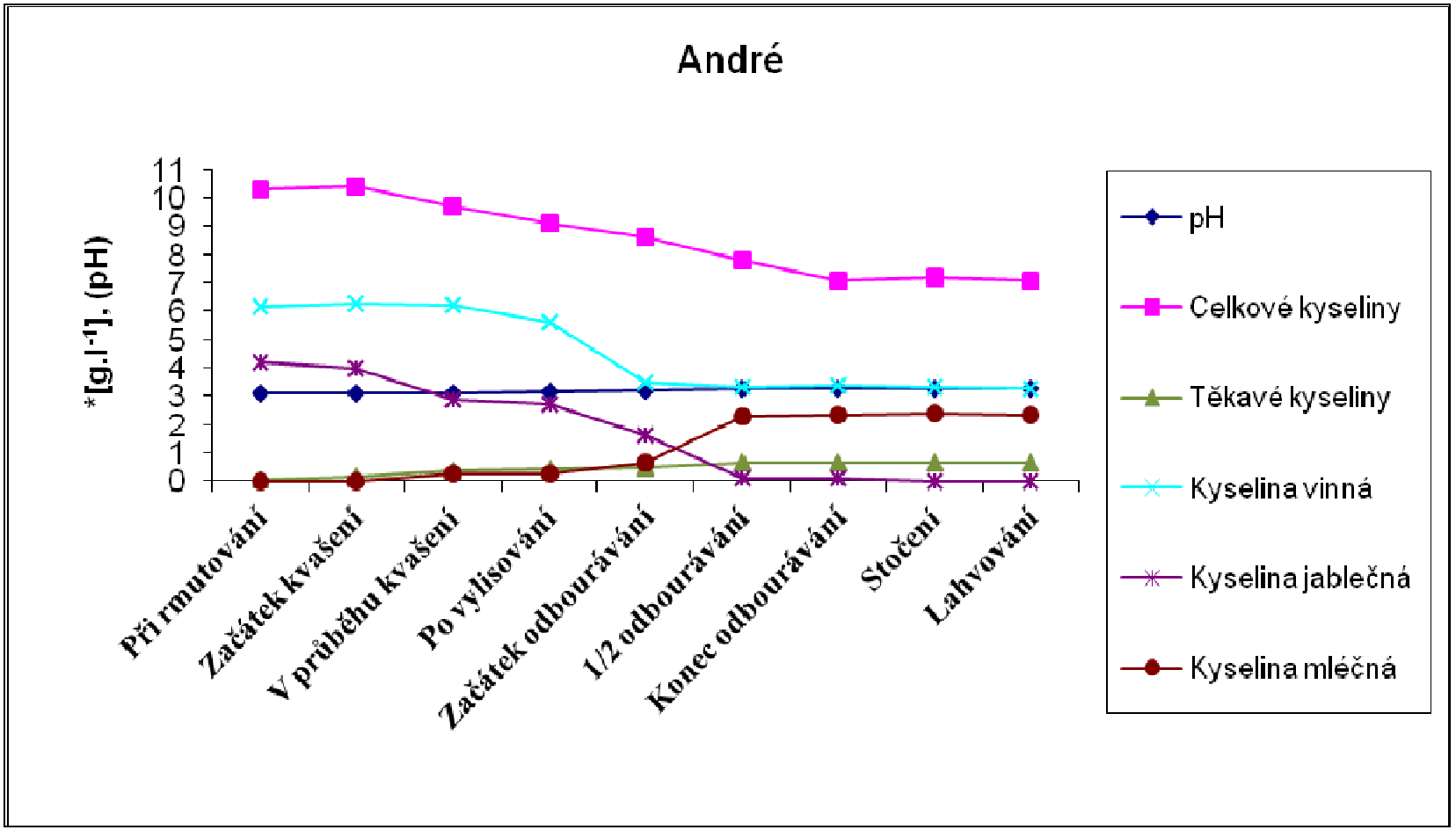
U vzorků č. 12 a 14 došlo k poklesu obsahu celkových kyselin o 1,0 $g.l^{-1}$. Větší úbytek kyseliny vinné byl zaznamenán u vzorků č. 12 a 13, kde došlo patrně také k vysrážení vinného kmene, jak je vidět i na obrázcích 13 a 14. Změny v obsahu kyseliny jablečné byly minimální a pohybovaly se v průměru 0,5 $g.l^{-1}$ směrem dolů. Jelikož došlo k mírně vyššímu nárůstu obsahu kyseliny mléčné něž u bílých vín, lze usuzovat na případné spontánní jablečno-mléčné kvašení, které ale bylo patrně zastaveno působením oxidu siřičitého přidaného do vín po stočení. Jak uvádí Michlovský [40] jsou bakterie mléčného kvašení, které se při jablečno-mléčné fermentaci uplatňují, velmi citlivé na volný oxid siřičitý, který působí na tyto bakterie inhibičně.

Obsah těkavých kyselin nevykazoval žádné větší změny, nárůst obsahu těkavých kyselin byl pozvolný a nepřesahoval hodnoty 0,55 $g.l^{-1}$. Na obrázcích je možné vidět, že v průběhu kvašení, zejména ve fázi bouřlivého kvašení, nedocházelo k výkyvům v obsahu těkavých kyselin, jak tomu bylo v případě bílých vín. Jelikož se za znamení aktivní bakteriální činnosti u bílých a růžových vín považuje hranice v obsahu těkavých kyselin nad 0,6 $g.l^{-1}$, ukazují výsledky, že se těkavé kyseliny tvořily pravděpodobně zejména činností kvasinek, které mohou vytvářet až 0,3 – 0,6 $g.l^{-1}$ kyseliny octové [21].

Obecně, ale nebyl zaznamenán u vzorků růžových vín žádný významný výkyv v kyselinovém profilu, pokud pomineme vysrážení kyseliny vinné.

Tab. 20. Kyselinový profil vzorku č. 15 – André

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
30.10.2013	3,09 ± 0,01	10,3 ± 0,1	0,07 ± 0,01	6,18 ± 0,02	4,17 ± 0,02	ND
31.10.2013	3,11 ± 0,01	10,4 ± 0,2	0,15 ± 0,01	6,28 ± 0,02	3,98 ± 0,02	ND
5.11.2013	3,11 ± 0,01	9,7 ± 0,1	0,39 ± 0,01	5,63 ± 0,02	2,87 ± 0,01	0,26 ± 0,01
14.11.2013	3,13 ± 0,01	9,1 ± 0,1	0,44 ± 0,01	5,63 ± 0,02	2,71 ± 0,01	0,27 ± 0,01
17.11.2013	3,22 ± 0,01	8,6 ± 0,1	0,47 ± 0,01	3,50 ± 0,01	1,63 ± 0,01	0,63 ± 0,01
19.11.2013	3,27 ± 0,02	7,8 ± 0,1	0,66 ± 0,01	3,33 ± 0,01	0,11 ± 0,01	2,30 ± 0,02
27.11.2013	3,26 ± 0,02	7,1 ± 0,1	0,65 ± 0,02	3,36 ± 0,01	0,10 ± 0,01	2,35 ± 0,02
30.11.2013	3,25 ± 0,02	7,2 ± 0,1	0,67 ± 0,01	3,34 ± 0,01	ND	2,38 ± 0,01
10.12.2013	3,28 ± 0,02	7,1 ± 0,1	0,66 ± 0,02	3,29 ± 0,01	ND	2,36 ± 0,01

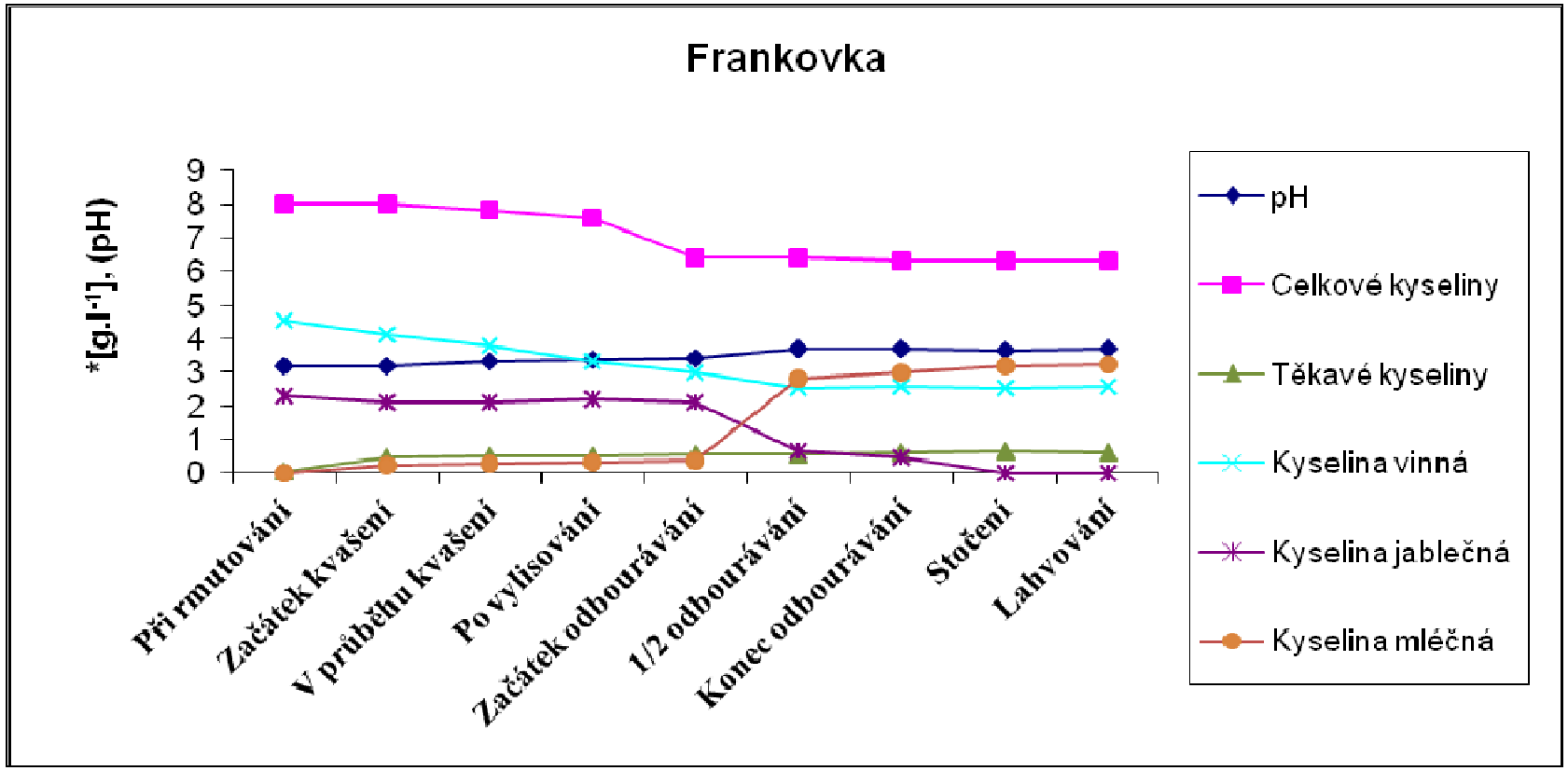


Obr. 21. Kyselinový profil vzorku č. 15

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 21. Kyselinový profil vzorku č. 16 – Frankovka.

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
12.11.2013	3,19 ± 0,01	8,0 ± 0,2	0,03 ± 0,01	4,54 ± 0,02	2,27 ± 0,01	ND
14.11.2013	3,18 ± 0,01	8,0 ± 0,2	0,46 ± 0,01	4,10 ± 0,02	2,09 ± 0,01	0,25 ± 0,01
17.11.2013	3,33 ± 0,01	7,8 ± 0,2	0,51 ± 0,01	3,79 ± 0,01	2,09 ± 0,01	0,28 ± 0,01
19.11.2013	3,35 ± 0,01	7,6 ± 0,2	0,50 ± 0,02	3,31 ± 0,01	2,20 ± 0,01	0,30 ± 0,01
21.11.2013	3,40 ± 0,02	6,4 ± 0,2	0,57 ± 0,02	3,01 ± 0,01	2,11 ± 0,01	0,39 ± 0,01
25.11.2013	3,68 ± 0,02	6,4 ± 0,1	0,57 ± 0,02	2,50 ± 0,01	0,66 ± 0,01	2,80 ± 0,01
1.12.2013	3,70 ± 0,02	6,3 ± 0,2	0,60 ± 0,02	2,56 ± 0,01	0,48 ± 0,01	3,00 ± 0,02
15.12.2013	3,65 ± 0,02	6,3 ± 0,1	0,63 ± 0,01	2,52 ± 0,01	ND	3,20 ± 0,02
27.12.2013	3,68 ± 0,02	6,3 ± 0,1	0,61 ± 0,01	2,58 ± 0,01	ND	3,22 ± 0,01

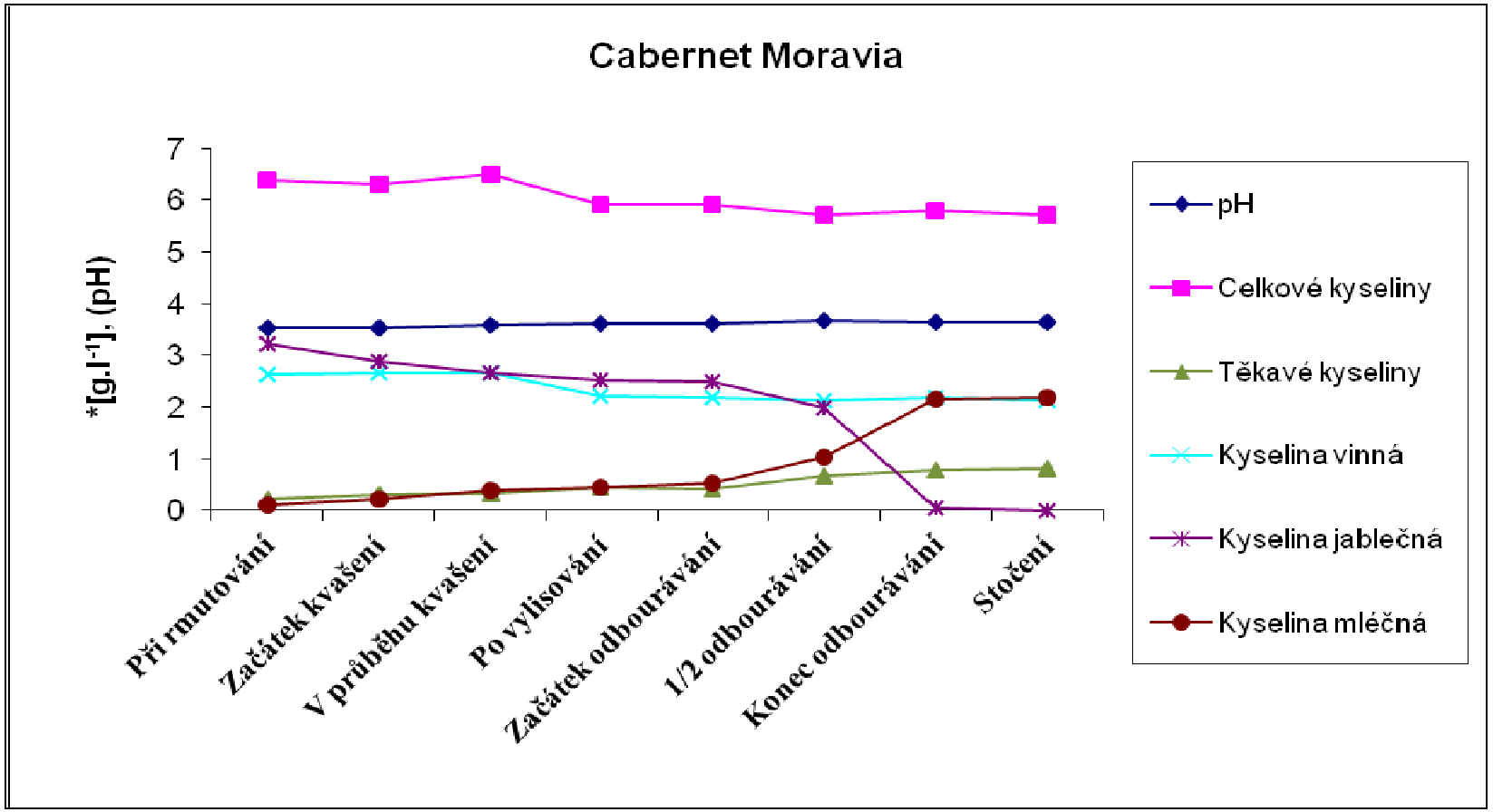


Obr. 22. Kyselinový profil vzorku č. 16

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 22. Kyselinový profil vzorku č. 17 – Cabernet Moravia

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
27.11.2013	3,53 ± 0,01	6,4 ± 0,1	0,21 ± 0,01	2,64 ± 0,01	3,23 ± 0,02	0,10 ± 0,01
29.11.2013	3,53 ± 0,01	6,3 ± 0,1	0,30 ± 0,01	2,67 ± 0,01	2,89 ± 0,01	0,22 ± 0,01
3.12.2013	3,59 ± 0,01	6,5 ± 0,1	0,34 ± 0,01	2,67 ± 0,02	2,65 ± 0,02	0,38 ± 0,01
12.12.2013	3,61 ± 0,01	5,9 ± 0,1	0,44 ± 0,01	2,20 ± 0,01	2,53 ± 0,01	0,45 ± 0,01
15.12.2013	3,62 ± 0,01	5,9 ± 0,1	0,41 ± 0,01	2,19 ± 0,01	2,48 ± 0,01	0,53 ± 0,01
20.12.2013	3,67 ± 0,02	5,7 ± 0,1	0,66 ± 0,02	2,13 ± 0,01	2,00 ± 0,01	1,03 ± 0,02
27.12.2013	3,65 ± 0,01	5,8 ± 0,1	0,78 ± 0,02	2,18 ± 0,01	0,06 ± 0,01	2,15 ± 0,02
2.1.2014	3,63 ± 0,01	5,7 ± 0,1	0,80 ± 0,02	2,14 ± 0,01	ND	2,18 ± 0,01

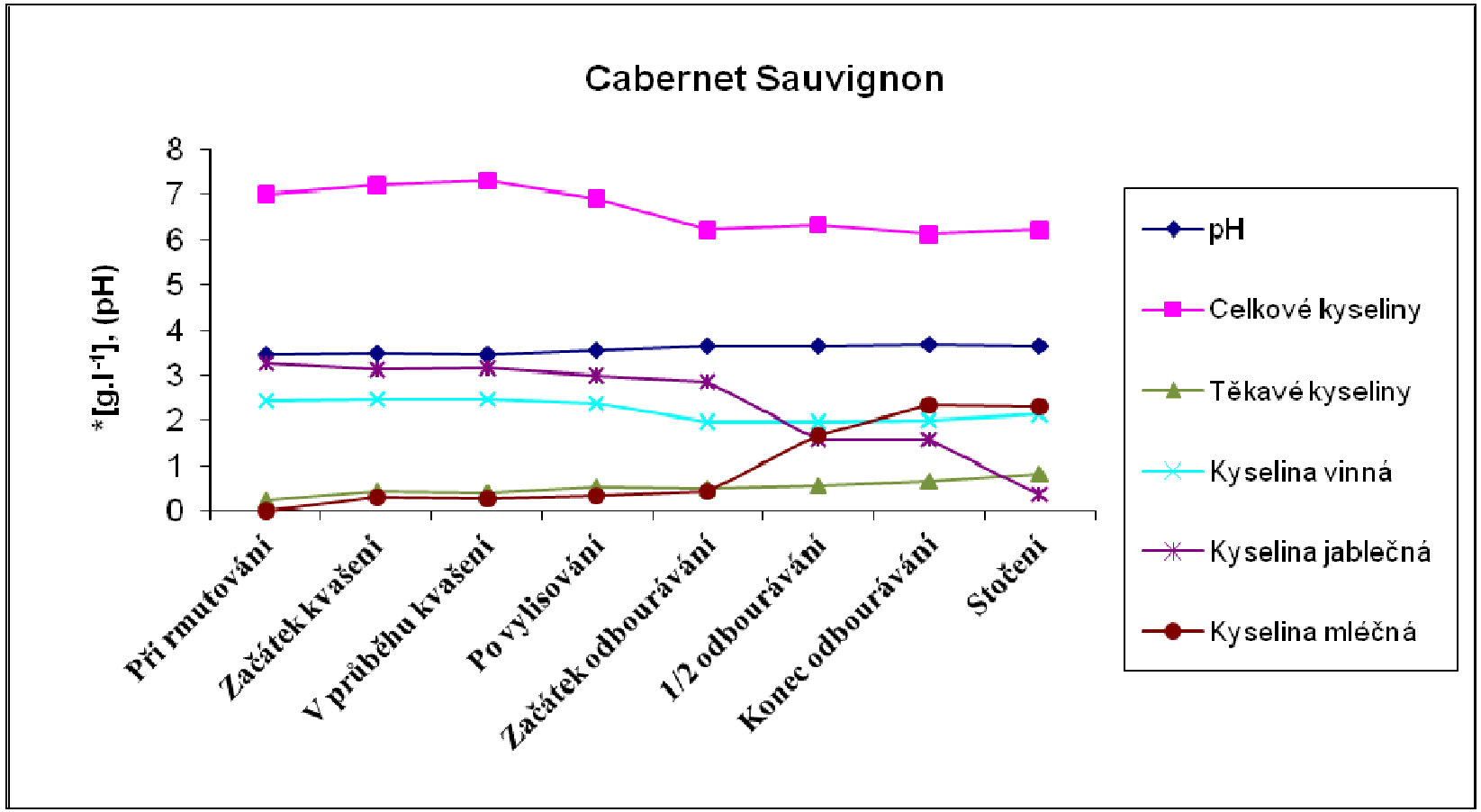


Obr. 23. Kyselinový profil vzorku č. 17

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 23. Kyselinový profil vzorku č. 18 – Cabernet Sauvignon

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
27.11.2013	3,45 ± 0,02	7,0 ± 0,1	0,21 ± 0,01	2,44 ± 0,01	3,25 ± 0,02	ND
29.11.2013	3,48 ± 0,02	7,2 ± 0,1	0,41 ± 0,01	2,47 ± 0,01	3,11 ± 0,01	0,30 ± 0,01
3.12.2013	3,45 ± 0,01	7,3 ± 0,2	0,40 ± 0,01	2,46 ± 0,01	3,14 ± 0,01	0,27 ± 0,01
12.12.2013	3,55 ± 0,01	6,9 ± 0,1	0,51 ± 0,02	2,35 ± 0,01	3,00 ± 0,01	0,33 ± 0,02
15.12.2013	3,63 ± 0,02	6,2 ± 0,1	0,48 ± 0,01	1,96 ± 0,02	2,86 ± 0,02	0,41 ± 0,02
19.12.2013	3,65 ± 0,02	6,3 ± 0,2	0,56 ± 0,02	1,96 ± 0,01	1,56 ± 0,01	1,68 ± 0,01
27.12.2013	3,69 ± 0,01	6,1 ± 0,1	0,66 ± 0,02	2,00 ± 0,01	0,36 ± 0,01	2,34 ± 0,02
3.1.2014	3,63 ± 0,01	6,2 ± 0,1	0,80 ± 0,02	2,14 ± 0,01	ND	2,30 ± 0,02

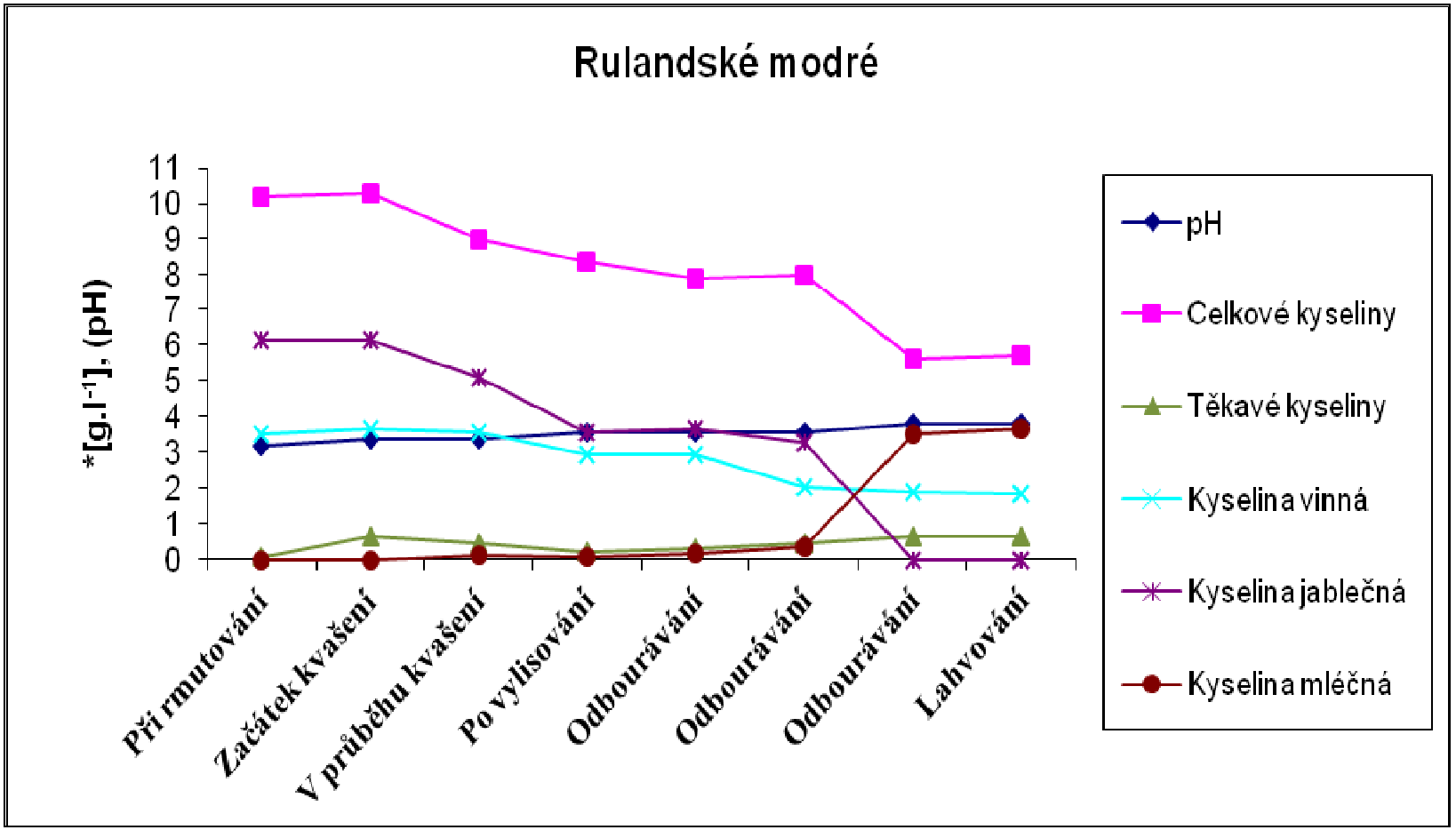


Obr. 24. Kyselinový profil vzorku č. 18

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 24. Kyselinový profil vzorku č. 19 – Rulandské modré

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
11.10.2013	3,20 ± 0,01	10,2 ± 0,2	0,08 ± 0,01	3,50 ± 0,02	6,12 ± 0,02	ND
13.10.2013	3,36 ± 0,01	10,3 ± 0,1	0,66 ± 0,02	3,64 ± 0,01	6,16 ± 0,02	ND
17.10.2013	3,36 ± 0,01	9,0 ± 0,1	0,44 ± 0,02	3,57 ± 0,01	5,09 ± 0,02	0,13 ± 0,01
24.10.2013	3,55 ± 0,02	8,4 ± 0,1	0,24 ± 0,01	2,96 ± 0,02	3,54 ± 0,01	0,10 ± 0,01
29.10.2013	3,54 ± 0,02	7,9 ± 0,1	0,30 ± 0,02	2,92 ± 0,01	3,67 ± 0,01	0,19 ± 0,01
31.10.2013	3,57 ± 0,01	8,0 ± 0,1	0,44 ± 0,01	2,02 ± 0,01	3,29 ± 0,01	0,37 ± 0,01
5.11.2013	3,79 ± 0,02	5,6 ± 0,1	0,65 ± 0,01	1,87 ± 0,01	ND	3,50 ± 0,01
10.12.2013	3,81 ± 0,01	5,7 ± 0,1	0,63 ± 0,02	1,82 ± 0,01	ND	3,66 ± 0,02

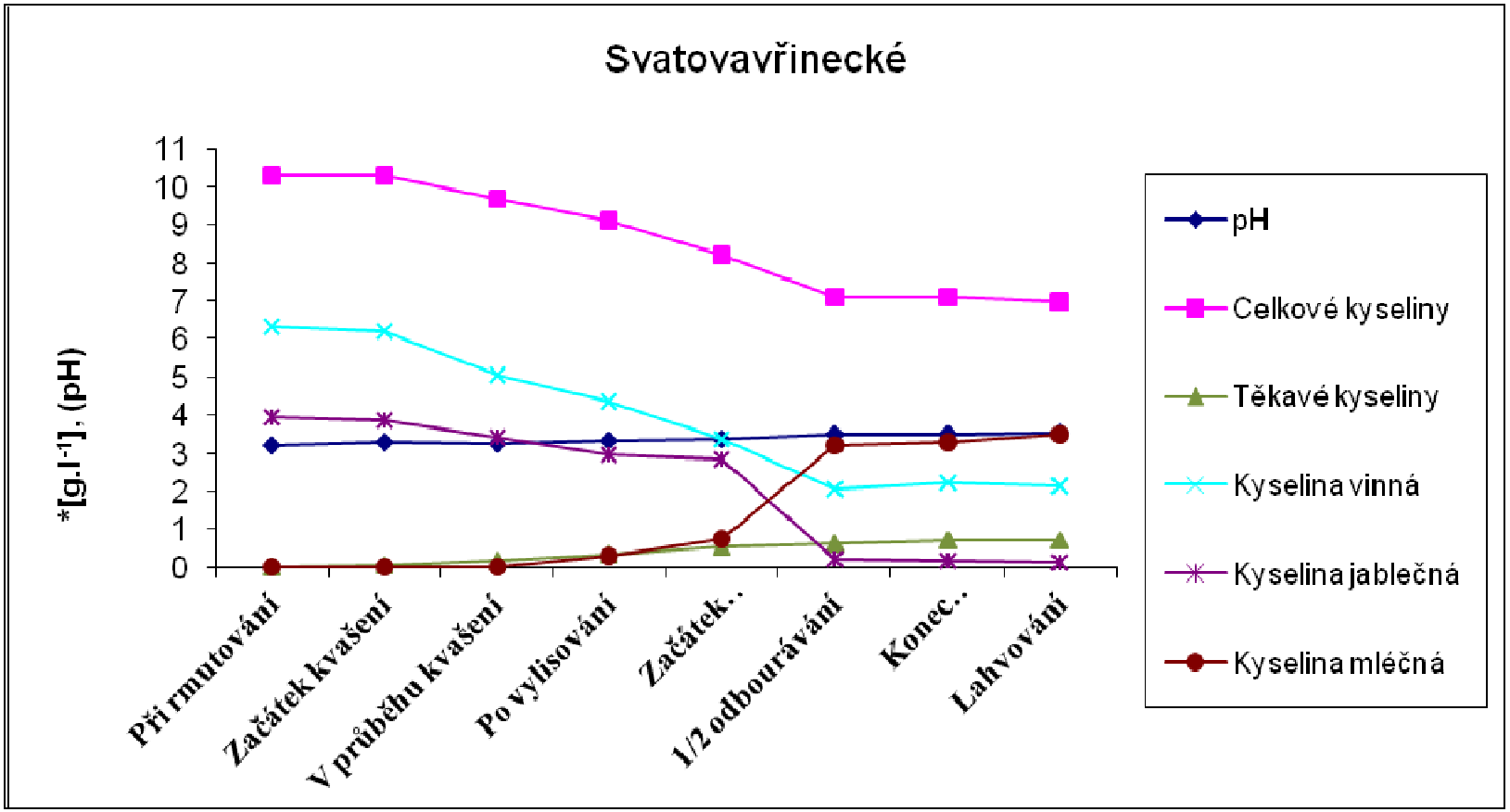


Obr. 25. Kyselinový profil vzorku č. 19

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Tab. 25. Kyselinový profil vzorku č. 20 - Svatovavřinecké

Datum odběru	pH	CK [g/l]	TK [g/l]	Kyselina vinná [g/l]	Kyselina jablečná [g/l]	Kyselina mléčná [g/l]
5.11.2013	3,21 ± 0,01	10,3 ± 0,1	0,03 ± 0,01	6,31 ± 0,02	3,96 ± 0,02	ND
7.11.2013	3,30 ± 0,01	10,3 ± 0,2	0,07 ± 0,01	6,22 ± 0,02	3,86 ± 0,01	ND
10.11.2013	3,24 ± 0,01	9,7 ± 0,1	0,18 ± 0,01	5,06 ± 0,02	3,41 ± 0,01	ND
17.11.2013	3,35 ± 0,01	9,1 ± 0,1	0,35 ± 0,01	4,35 ± 0,02	2,98 ± 0,01	0,29 ± 0,02
20.11.2013	3,36 ± 0,01	8,2 ± 0,1	0,54 ± 0,01	3,38 ± 0,01	2,85 ± 0,01	0,75 ± 0,01
1.12.2013	3,49 ± 0,01	7,1 ± 0,1	0,64 ± 0,02	2,08 ± 0,01	0,21 ± 0,01	3,19 ± 0,01
15.12.2013	3,51 ± 0,02	7,1 ± 0,1	0,72 ± 0,02	2,22 ± 0,01	0,19 ± 0,01	3,29 ± 0,02
27.12.2013	3,52 ± 0,01	7,0 ± 0,2	0,72 ± 0,01	2,15 ± 0,02	0,14 ± 0,01	3,50 ± 0,01



Obr. 26. Kyselinový profil vzorku č. 20

* hodnoty uváděny v $g.l^{-1}$ s výjimkou pH

Při stanovení kyselinového profilu červených vín bylo použito méně vzorků, než je tomu v případě bílých vín. Důvodem tohoto nižšího počtu vzorků červených vín je fakt, že se společnost Zámecké vinařství Bzenec s.r.o. orientuje spíše na výrobu bílých odrůdových vín a výroba červených vín není realizována v takovém rozsahu.

Aktivní kyselost červených vín se pohybuje v hodnotách pH mezi 2,0 – 4,0 z důvodu nižšího obsahu kyselin v hroznech modrých odrůd [58]. Z výsledků je patrný mírný růst pH zejména u vzorků č. 16 a 19. Důvodem může být pokles obsahu celkových kyselin ve víně v průběhu technologického procesu. Ve vzorku č. 16 došlo ke snížení obsahu celkových kyselin o 1,7 $g.l^{-1}$ a u vzorku č. 19 až o 4,7 $g.l^{-1}$. U vzorku č. 19 byl při rmutování zjištěn vyšší obsah celkových kyselin, které bylo potřeba z technologického hlediska snížit, jelikož by vyšší kyselost vína způsobovala neharmonickou a ostře kyselou chuť. U tohoto vína bylo proto realizováno odkyselení již kvasícího moštu uhličitanem vápenatým. Steidl [30] uvádí, že pokud se přistoupí k této metodě odkyselování, hrozí negativní zvýšení pH, což se potvrdilo. Dále se zvyšuje nebezpečí biologického odbourávání kyselin již v průběhu kvašení, k čemuž pravděpodobně také došlo, jak je patrné z Obr. 20.

U všech sledovaných vzorků došlo v průběhu jablečno-mléčného kvašení k nárůstu obsahu těkavých kyselin přesahující hodnotu 0,6 $g.l^{-1}$. Michlovský [64] uvádí, že u červených vín dochází k nárůstu těkavých kyselin nejen činností kvasinek, jak je tomu v případě bílých vín, ale také díky metabolizmu bakterií. Pokud víno prochází jablečno-mléčnou fermentací, hodnota obsahu těkavých kyselin se může zvýšit až na 0,6 – 0,8 $g.l^{-1}$. V takovém případě vzniká kyselina octová jako důsledek paralelních reakcí při jablečno-mléčné fermentaci, zejména odbouráváním kyseliny citronové. Jestliže obsah těkavých kyselin překročí u červených vín hodnotu 0,8 $g.l^{-1}$, je velmi pravděpodobné, že došlo ke kontaminaci vína bakteriemi octového kvašení. Protože ani u jednoho vzorku nedošlo ke zvýšení obsahu těkavých kyselin nad zmiňovanou hodnotu 0,8 $g.l^{-1}$, lze konstatovat, že těkavé kyseliny vznikaly právě činností bakterií použitých při jablečno-mléčné fermentaci.

U sledovaných organických kyselin, zejména u kyseliny jablečné a mléčné došlo k zásadním změnám jejich obsahů. Důvodem je řízené jablečno-mléčné kvašení, kterého se u červených vín využívá, stejně tak tomu bylo i v těchto případech. Kyselina jablečná způsobuje u červených vín škrablavou chuť, na rozdíl od kyseliny mléčné,

která chuť zaokrouhluje, víno je pak kulatější. Proto jsou červená vína po vylisování podrobena ještě druhotnému kvašení, při kterém dochází účinkem bakterií *Oenoccocus oeni* k odbourávání kyseliny jablečné a vzniku kyseliny mléčné. Steidl [30] uvádí, že z 1 g kyseliny jablečné vznikne zhruba 0,67 g kyseliny mléčné, oxid uhličitý a další vedlejší produkty. Z dosažených výsledků vyplývá, že z 1 g kyseliny jablečné vzniklo v průměru 0,91 g kyseliny mléčné. K poklesu koncentrace kyseliny jablečné a k růstu koncentrace kyseliny mléčné došlo u všech vzorků zhruba 5 dnů po inokulaci vína bakteriemi. Trend změny koncentrace těchto dvou kyselin byl ukončen asi 20 dnů po inokulaci. Výjimkou byl vzorek č. 19, u kterého, jak již bylo zmiňováno, probíhalo doprovodné jablečno-mléčné kvašení už v průběhu kvasného procesu.

ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

Kyseliny vyskytující se přirozeně v moštech, ale i kyseliny vznikající ve víně v průběhu celého technologického procesu přispívají k charakteru, stabilitě a organoleptickým vlastnostem vína.

Cílem této diplomové práce bylo sledovat kyselinový profil vín v průběhu technologického procesu. K analýze bylo použito 11 vzorků bílých, 3 vzorky růžových a 6 vzorků červených moštů a vín společnosti Zámecké vinařství Bzenec s.r.o.

Do kyselinového profilu bylo zahrnuto stanovení pH, celkových kyselin potenciometrickou titrací, stanovení těkavých kyselin titrací po destilaci s vodní parou a byly sledovány také jednotlivé organické kyseliny metodou HPLC, konkrétně kyselina vinná, jablečná a mléčná. Tyto tři jmenované kyseliny jsou důležitými markery při sledování průběhu technologie výroby vín, zejména pak jsou významné při výrobě červených vín. Sledováním změn v obsahu kyseliny jablečné a mléčné je možné pozorovat průběh jablečno-mléčného kvašení. Měřením pH nebo běžným titračním stanovením je vhodné sledovat změny v obsahu kysele reagujících látek jako celku. Pomocí těchto analýz je možné stanovit vhodnou dobu sklizně hroznů, celkovou aciditu moštu, která má vliv na výsledné organoleptické vlastnosti budoucího vína, ale nelze jimi získat potřebné informace o změnách v obsahu jednotlivých kyselin. Proto je stále častěji uplatňována metoda stanovení jednotlivých organických kyselin metodou HPLC, zejména pak v případě červených vín, kdy je víno podrobeno druhotnému jablečno-mléčnému kvašení.

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že hodnota pH a obsah celkových kyselin byly v souladu s hodnotami uvedenými v odborné literatuře. U bílých vín se obsah celkových kyselin blížil horní hranici, což mohlo být způsobeno nepříznivým ročníkem 2013, co se týče počasí, které neposkytovalo dostatek slunečního záření, které je důležité pro dozrávání hroznů. Obsah těkavých kyselin nevykazoval výrazné abnormality, jak u bílých, růžových, tak i u červených vín. U jednotlivých organických kyselin byla sledována výrazná změna v obsahu kyseliny vinné zejména u bílých vín. Obsah této kyseliny měl v průběhu technologického procesu klesající tendenci z důvodu jejího vysrážení ve formě vinného kamene. U kyseliny jablečné a mléčné nebyly pozorovány významné změny.

Z pohledu monitoringu kyselinového profilu červených vín byl důležitý zejména proces řízeného jablečno-mléčného kvašení, při kterém docházelo k odbourávání kyseliny jablečné bakteriemi *Oenoccocus oeni* a současně k růstu obsahu kyseliny mléčné.

Výsledky této diplomové práce byly srovnány s výsledky několika autorů, kteří se zabývali podobnou problematikou a bylo zjištěno, že mezi výsledky se nevyskytly žádné signifikantní rozdíly, které by mohly znamenat chybu v metodice či postupu jednotlivých analýz.

Na základě uvedených poznatků doporučuji:

- Sledovat obsah celkových kyselin a hodnotu pH již při plánování sběru hroznů z důvodu kontroly kvality suroviny, jelikož obsah výše sledovaných hodnot u hroznů ovlivňuje budoucí kvalitu hotového vína.
- Sledovat obsah těkavých kyselin již po vykvašení, jelikož hodnoty nad 0,6 $g.l^{-1}$ u bílých vín a hodnoty nad 0,8 $g.l^{-1}$ u červených vín mohou poukazovat na kontaminaci vína octovými bakteriemi, které by způsobily enormní nárůst obsahu těchto kyselin a víno by neodpovídalo po kvalitativní stránce. Limitní obsah těkavých kyselin je dán také stávající legislativou.
- V případě červených vín doporučuji sledovat průběh druhotného jablečno-mléčného kvašení, aby se zabránilo vzniku organoleptické vady. Vyšší obsah kyseliny jablečné způsobuje ostrou chuť vyrobeného vína, víno je neharmonické. Naopak kyselina mléčná se podílí na zaokrouhlení chuti, víno se stává po jablečno-mléčné fermentaci s převažující kyselinou mléčnou jemnější.

Z výše uvedeného je zřejmé, že sledovaní kyselinových profilů při výrobě vín je nedílnou součástí moderní enologie. Do budoucna se dá s vysokou pravděpodobností předpokládat, že uvedený typ analýz bude nacházet stále širší uplatnění a kromě toho bude i docházet k dalšímu propracování těchto postupů tak, aby poskytly co nejpřesnější obraz a napomáhaly sofistikovanému řízení moderních technologických postupů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] AMERINE, M. A., JOSLYN, M. A. *Table wines: The technology of their production*. 2nd ed. London, 1970. 997 s. ISBN 0-520-01657-2.

[2] CALLEC, CH. *Velká encyklopedie vína*. Praha: Rebo productions, 2002. 512 s. ISBN 80-7234-245-2.

[3] PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. Praha: Grada Publishing, 2006. 96 s. ISBN 80-247-1247-4.

[4] GAVORNÍK, A. *Spracovanie hrozna.* Bratislava: Príroda, 1976. 387 s.

[5] TRNKA, R. *Vína, likéry a destiláty, Tajemství výroby*. Praha: Grada Publishing, 2001. 128 s. ISBN 80-247-9003-3.

[6] MAYNARD, A. A., SINGLETON, V. L. *Wine: An introduction*. London: University of California Press, 1976. 357 s. ISBN 0-520-03202-0.

[7] DOHNAL, T., KRAUS, V., PÁTEK, J. *Moderní vinař*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1975. 476 s.

[8] DOHNAL, T. *Pěstování révy a zužitkování hroznů*. Praha, 1972. 252 s.

[9] JACKSON, R. S. *Wine Science: Principles and applications*. London: Elsevier Inc., 2008. 731 s. ISBN 978-0-12-373646-8.

[10] KRAUS, V., KOPEČEK, J. *Setkání s vínem*. Praha: Radix, 2002. 141 s. ISBN 80-86031-36-5.

[11] PÁTEK, J. *Nová vinařská abeceda*. Brno: Blok, 1995. 183 s. ISBN 80-7029-095-1.

[12] HOFMANN, U., TRIOLI, G. *Kodex dobrého ekologického vinohradnictví a výroby vína*. Brno: CCB, 2006. 240 s. ISBN 978-80-7084-893-7.

[13] BOULTON, B., SINGLETON, V. L., BISSON, L. F., KUNKEE, R. E. *Principles and practices of wine making*. New York: Chapman and Hall, 1996. 586 s. ISBN 0-412-06411-1.

[14] BAKKER, J., CLARKE, R. J. *Wine: Flavour chemistry*. West Sussex: Blackwell Publishing Ltd., 2004. ISBN 978-1-4443-3042-7.

[15] KADLEC, P., MELZOCH, K., VOLDŘICH, M. *Co by jste měli vědět o výrobě potravin?: Technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2009. 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.

[16] MINÁRIK, E., NAVARA, A. *Chémia a mikrobiológia vína*. Bratislava: Príroda, 1986. 560 s.

[17] KRAUS, V., FOFFROVÁ, Z., VURM, B. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga mystica, 2008. 311 s. ISBN 978-808676709-3.

[18] KRAUS, V., HUBÁČEK, V., ACKERMANN, P. *Rukověť vinaře*. Praha: Brázda, 2004. 268 s. ISBN 80-209-0327-5.

[19] MUSIL, S., MENŠÍK, J. *Vinařství*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1963. 408 s.

[20] GRAINGER, K., TATTERSALL, H. *Wine production: Vine to bottle*. Oxford: Blackwell Publishing, 2005. 130 s. ISBN 1-4051-1365-0.

[21] MORENO-ARRIBAS, V. M., POLO, C. *Wine chemistry and biochemistry*. New York: Springer, 2009. 731 s. ISBN 978-0-387-74116-1.

[22] MALÍK, F. *Ze života vína*. Pardubice: Filip Trend Publishing, 2003. 59 s. ISBN 80-86282-27-9.

[23] FARKAŠ, J. *Technologie a biochemie vína*. Praha: SNTL, 1980. 872 s.

[24] DÖRR, H. G., RÖDER, K., JOHN, F. *Co nevíte o víně*. Praha: Ikar, 2000. 196 s. ISBN 80-7202-673-9.

[25] HUBÁČEK, V., KRAUS, V. *Hrozny a víno*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1982. 304 s.

[26] KRAUS, V. *Encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Melantrich, 1997. 224 s. ISBN 80-702-3250-1.

[27] STEVENSON, T. *101 praktických rad – Víno*. Praha: Ikar, 1998. 71 s. ISBN 80-7202-377-2.

[28] PRIEWE, J. *Víno: Praktická škola*. Praha: Knižní klub, 2001. 128 s. ISBN 80-242-0695-1.

[29] HAUFT, J. *Nový brevíř o víně*. Praha: Svépomoc, 1988. 336 s.

[30] STEIDL, R., RENNER, W. *Moderní příprava červeného vína*. Valtice: Národní vinařské centrum, 2003. 72 s. ISBN 80-903201-7-1.

[31] FARKAŠ, J. *Technology and Biochemistry of Wine, Volume 2*. Montereaux: Gordon and Breach Science Publishers S.A. 745 s. ISBN 2-88124-069-0.

[32] KUTTELVAŠER, Z. *Abeceda vína*. Praha: Radix, 2003. 280 s. ISBN 80-86031-43-8.

[33] PÁTEK, J. *Zrození vína*. Brno: Jota, 2004. 304 s. ISBN 80-7217-137-2.

[34] TOIT, M., ENGELBRECHT, L., LERM, E. *Lactobacillus: the next Generation of malolactic fermentation Starter Cultures – an Overview*. Food Bioprocess Technol, 2011. s. 876 – 900.

[35] GENISHEVA, Z., MUSSATTO, S. I., OLIVIERA, J. M., TEIXEIRA, J. A. *Malolactic fermentation of wines immobilised lactic acid bacteria – Influence of concentration, type of support material and storage conditions.* Food chemismy, 2013. s. 1510 – 1514.

[36] AREDES FERNANDES, P. A., MANCA DE NADRA, M. C. *Growth Response and Modifications of Organic Nitrogen Compounds in Pure and Mixed Cultures of Lactic Acid Bacteria from Wine.* Current Microbiology, Vol. 52, 2006. S. 86 – 91.

[37] RANKYNE, B. *Making good wine*. Sydney: The Macmillan Company of Australia, 2004. 301 s. ISBN 1-4050-3601 X.

[38] ABRAHAMSE, C. E., BARTOWSKY, E. J. *Timing of malolactic fermentation inoculation in Shiraz grape must and wine: influence on chemical composition*. World J Microbiol Biotechnol, 2012. s. 255 – 265.

[39] KÖNIG, H., UNDEN, G., FRÖHLICH, J. *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine.* Heilderberg: Springer, 2009. 513 s. ISBN 978-3-540-85462-3.

[40] MICHLOVSKÝ, M. *Oxid siřičitý v enologii*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2012. 151 s. ISBN 978-80-905319-0-1.

[41] SANTIAGO, J. *How to make wine: The comprehensive guide to everithing about the wine making process*. 2012. ISBN 978-1477481271.

[42] STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. Valtice: Národní salon vín, 2002. 298 s. ISBN 80-903201-0-4.

[43] LAMBRI, M. a kol. *Effect of pH on the protein profile and heath stability of an Italian white wine*. Food Researche International 54, 2013. s. 1781 – 1786.

[44] GOODE, J. *The science of wine: From vine to glass*. London: Octopus Publishing Group Ltd., 2005. 221 s. ISBN 0-52024800-7.

[45] HANUŠTIAK, P. *Nové jakostní markery hroznového vína* [Disertační práce]. Zlín: UTB – fakulta technologická, 2012. 92 s.

[46] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin*. Praha: SNTL ALFA, 1983. 595 s.

[47] PREINER, D., TUPAJIĆ, P., KONTIĆ K., J., ANDABAKA, Ž., MARKOVIĆ, Z., MALETIĆ, E. *Organic acids profiles of the most important Dalmatian native grapevine (V. vinifera L.) cultivars*. Journal of Food Composition and Analaysis 32, 2013. s.162 – 168.

[48] MIRA DE ORDUNA, R. *Climate changes associated effects on grape and wine quality and production*. Food research International 43, 2010. s. 1844 - 1855.

[49] JANČÁŘOVÁ, I., JANČÁŘ, L., NÁPLAVOVÁ, A., KUBÁŇ, V. *Changes of organic acids and phenolic compounds contents in grapevine berries during their ripening*. Central European Journal of Chemistry, 2013. s. 1575 – 1582.

[50] TORNO-DE-ROMÁN, L., ALONSO-LOMILLO, M. A., DOMÍNGUEZ-RENEDO, O., JAUREGUIBEITIA, A., ARCOS-MARTÍNEZ, M. J. *GADH green-printed biosensor for gluconic acid determinativ in wine samples*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014. s. 56 – 59.

[51] VAHL, K., KAHLERT, H., VON MÜHLEN, L., MEYER, G., ALBERT, A., BEHNERT, J. *Detremination of the titratable acidity and the pH of wine based on potentiometric flow injection analysis*. Talanta 111, 2013. s. 134 – 139.

[52] JACKSON, R. S. *Wine tasting: A professional handbook*. San Diego: Elsevier, 2009. 473 s. ISBN 978-0-12-374181-3.

[53] KOHOUT, F. *O víně*. Praha: Merkur, 1982. 218 s.

[54] DYR, J. *Kvasná chemie a technologie* I. Praha: SNTL, 1965. 357 s.

[55] DAŠEK, F., PÁTEK, J. *Vinařská abeceda*. Brno: Blok, 1983. 168 s.

[56] ZIMMAN, A., WATERHOUSE, A. L., KENNEDY, J. A. *Short history of red wine color*. American Chemical Society, 2004.

[57] CAMPOS, F. M., FIGUEIREDO, A. R., HOGG, T. A., COUTO, J. A. *Effect of phenolic acids on glucose and organic acid metabolism by lactic acid bacteria from wine*. Food mikrobiology 26, 2009. s. 409 – 414.

[58] HORNSEY, I. *The chemistry and biology of winemaking*. Camebridge: The Royal Society of Chemistry, 2007. 443 s. ISBN 978-0-85404-266-1.

[59] RIBEREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBOURDIEU, D. *Handbook of enology. Volume 2, The chemismy of wine stabilization and treatments*. Chichester: Wiley and Sons Ltd., 2006. 429 s. ISBN 978-470-01037-2.

[60] WINKLER, A. J., COOK, J. A., KLIEWER, W. M., LIDER, L. A. *General viniculture*. Los Angeles: University of California, 1974. 695 s. ISBN 0-520-02591-1.

[61] LA VILLA, J. *The wine, beer, and spirits handbook: A guide to styles and service*. New Jersey: John Wiley and Sons Inc. 2010. 514 s. ISBN 978-0-470-52429-9.

[62] FUGELSAN, K. C., EDWARDS, CH. *Wine mikrobiology: Practical applications and procedures.* New York: Springer – Verlag New York Inc., 2007. 393 s. ISBN 978-0-387-33341-0.

[63] SANDLER, M., PINDER, R. *Wine: A scientific exploration*. London: Taylor and Francis, 2003. 320 s. ISBN 0-203-37394-4.

[64] MICHLOVSKÝ, M. *Lexikon chemického složení vína*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. 262 s. ISBN 978-80-905319-2-5.

[65] OLIVA, P. *Bez vína se nedá žít*. Brno: nakladatelství Oliva, 2002. 139 s.

[66] FORREST, T. *Všechno, co potřebujete vědět o víně*. Praha: Ottovo nakladatelství, 2004. 400 s. ISBN 80-7360-152-4.

[67] PAVLOUŠEK, P. *Encyklopedie révy vinné*. Brno: Computer press, 2007. 316 s. ISBN 978-80-251-1704-0.

[68] BLAHA, J. *Réva vinná*. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd, 1961. 462 s.

[69] PÁTEK, J. *Víno v lidské podobě*. Brno: Jota, 2005. 168 s. ISBN 80-7217-323-5.

[70] POSPÍŠILOVÁ, D. *Ampelografia ČSSR*. Bratislava: Príroda, 1981. 345 s.

[71] HUBÁČEK, V., MÍŠA, D. *Vinařův rok*.Praha: Květ, 1996. 55 s. ISBN 80-85362-22-8.

[72] FISHER, CH. *Lexikon vína*. Čestlice: Rebo productions CZ, 2004. 293 s. ISBN 978-80-7234-859-6.

[73] STEVENSON, T. Světová encyklopedie vína. Praha: Knižní klub, 2001. 502 s. ISBN 80-242-0619-6.

[74] *Encyklopedie vína, vinařství a vinohradnictví* [online]. [cit. 2014-03-11]. Dostupný z WWW: http://www.znalecvin.cz//

[75] HOLZBECHER, Z., CHURÁČEK, J. a kol. *Analytická chemie*. Praha: SNTL Alfa, 1987. 650 s.

[76] MAICAS, S. *The use of alternative technologies to develop malolactic fermentation in wine.* Appli Microbiological Biotechnology 56, 2001. s. 35 – 39.

[77] BALÍK, J. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. Brno: ediční středisko MZLU, 2004. 98 s. ISBN 80-7157-809-6.

[78] DARIAS-MARTÍN, J., SOCAS-HERNÁNDEZ, A., DÍAZ-ROMERO, C., DIÁZ-DIÁZ, E. *Comperative study of methods for determinativ of titratable acidity in wine*. Journal of food composition and analysis 16, 2003. s. 555 – 562.

[79] BALDO, A., DANIELE, S., MAZZOCCHIN, G. A. *Voltammetry with microelectrodes in wine: determinativ of the total acidity*. Analytica chemica acta 272, 1993. s. 151 – 159.

[80] CHICHESTER, C. O. *Advances in food research, volume 25.* New York: Academic press, Inc., 1979. 288 s. ISBN 0-12-016425-6.

[81] ESCOBAL, A., GONZALES, J., IRIONDO, C., LABORRA, C. *Liquid chromatographic determinativ of organic acids in txakoli from Bizkaia*. Food chemismy, vol. 58, 1996. s. 381 – 384.

[82] LINDSAY, S. *High performance liquid chromatogramy, second edition*. London: John Wiley and Sons Ltd., 1997. 335 s. ISBN 0-471-93115-2.

[83] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-863-6907-2.

[84] MEYER, V: R: *Practical high performance liquid chromatogramy*. Chichester: John Wiley and sons Ltd., 2010. ISBN 978-0-470-68217-3.

[85] WALKER, T., MORRIS, J., THRELFALL, R., MAIN, G. *Analysis of wine components in Cynthiana and Syrah wines*. Agricultural and food chemismy 51, 2003. s. 1543 – 1547.

[86] ZOTOU, A., LOUKOU, Z., KARAVA, O. *Method development for the determinativ of seven organic acids in wines by reversed-phase high performance liquid chromatogramy*. Chromatographia 60, 2004. s. 39-44.

[87] ANONYM. *Schéma HPLC* [online]. [cit. 2014-04-04]. Dostupné z WWW: http://www.forumsci.co.il/HPLC/program.html

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Schéma výroby bílých vín 14
Obr. 2. Schéma výroby červených vín 20
Obr. 3. Schéma kapalinového chromatografu [87]. 40
Obr. 4. Automatický titrátor Titroline easy 53
Obr. 5. Kapalinový chromatograf HPLC YL 9100 56
Obr. 6. Kalibrační křivky jednotlivých kyselin 58
Obr. 7. Kyselinový profil vzorku č. 1 61
Obr. 8. Kyselinový profil vzorku č. 2 63
Obr. 9. Kyselinový profil vzorku č. 3 65
Obr. 10. Kyselinový profil vzorku č. 4 67
Obr. 11. Kyselinový profil vzorku č. 5 69
Obr. 12. Kyselinový profil vzorku č. 6 71
Obr. 13. Kyselinový profil vzorku č. 7 73
Obr. 14. Kyselinový profil vzorku č. 8 75
Obr. 15. Kyselinový profil vzorku č. 9 77
Obr. 16. Kyselinový profil vzorku č. 10 79
Obr. 17. Kyselinový profil vzorku č. 11 81
Obr. 18. Kyselinový profil vzorku č. 12 86
Obr. 19. Kyselinový profil vzorku č. 13 88
Obr. 20. Kyselinový profil vzorku č. 14 90
Obr. 21. Kyselinový profil vzorku č. 15 93
Obr. 22. Kyselinový profil vzorku č. 16 95
Obr. 23. Kyselinový profil vzorku č. 17 97
Obr. 24. Kyselinový profil vzorku č. 18 99
Obr. 25. Kyselinový profil vzorku č. 19 101
Obr. 26. Kyselinový profil vzorku č. 20 103

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Vzorky bílých vín 45
Tab. 2. Vzorky růžových vín 46
Tab. 3. Vzorky červených vín 46
Tab. 4. Průběh gradientové eluce 55
Tab. 5. Průměrné plochy píků standardů kyselin 57
Tab. 6. Kyselinový profil vzorku č. 1 – Chardonnay 60
Tab. 7. Kyselinový profil vzorku č. 2 – Muškát moravský 62
Tab. 8. Kyselinový profil vzorku č. 3 – Müller Thurgau 64
Tab. 9. Kyselinový profil vzorku č. 4 – Kerner 66
Tab. 10. Kyselinový profil vzorku č. 5 – Rulandské bílé 68
Tab. 11. Kyselinový profil vzorku č. 6 – Rulandské šedé 70
Tab. 12. Kyselinový profil vzorku č. 7 – Ryzlink rýnský 72
Tab. 13. Kyselinový profil vzorku č. 8 – Ryzlink vlašský 74
Tab. 14. Kyselinový profil vzorku č. 9 – Sauvignon 76
Tab. 15. Kyselinový profil vzorku č. 10 – Tramín červený 78
Tab. 16. Kyselinový profil vzorku č. 11 – Veltlínské zelené 80
Tab. 17. Kyselinový profil vzorku č. 12 – André rosé 85
Tab. 18. Kyselinový profil vzorku č. 13 – Frankovka rosé 87
Tab. 19. Kyselinový profil vzorku č. 14 – Svatovavřinecké rosé 89
Tab. 20. Kyselinový profil vzorku č. 15 – André 92
Tab. 21. Kyselinový profil vzorku č. 16 – Frankovka 94
Tab. 22. Kyselinový profil vzorku č. 17 – Cabernet Moravia 96
Tab. 23. Kyselinový profil vzorku č. 18 – Cabernet Sauvignon 98
Tab. 24. Kyselinový profil vzorku č. 19 – Rulandské modré 100
Tab. 25. Kyselinový profil vzorku č. 20 - Svatovavřinecké 102

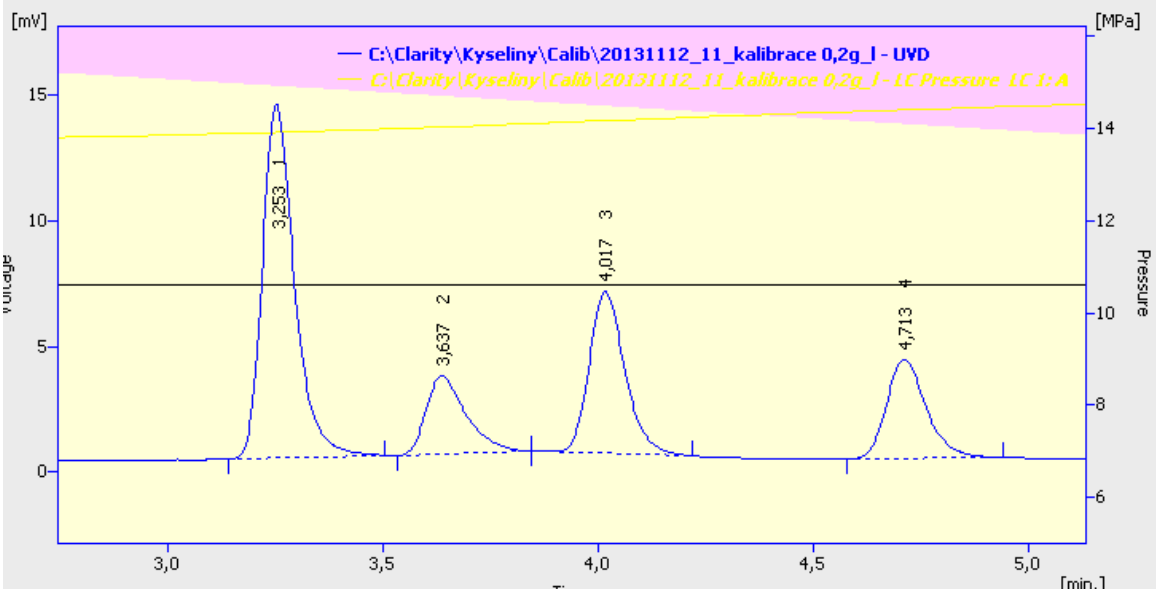
SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Chromatogramy standardů organických kyselin 118
Příloha P II: Chromatogramy organických kyselin 120

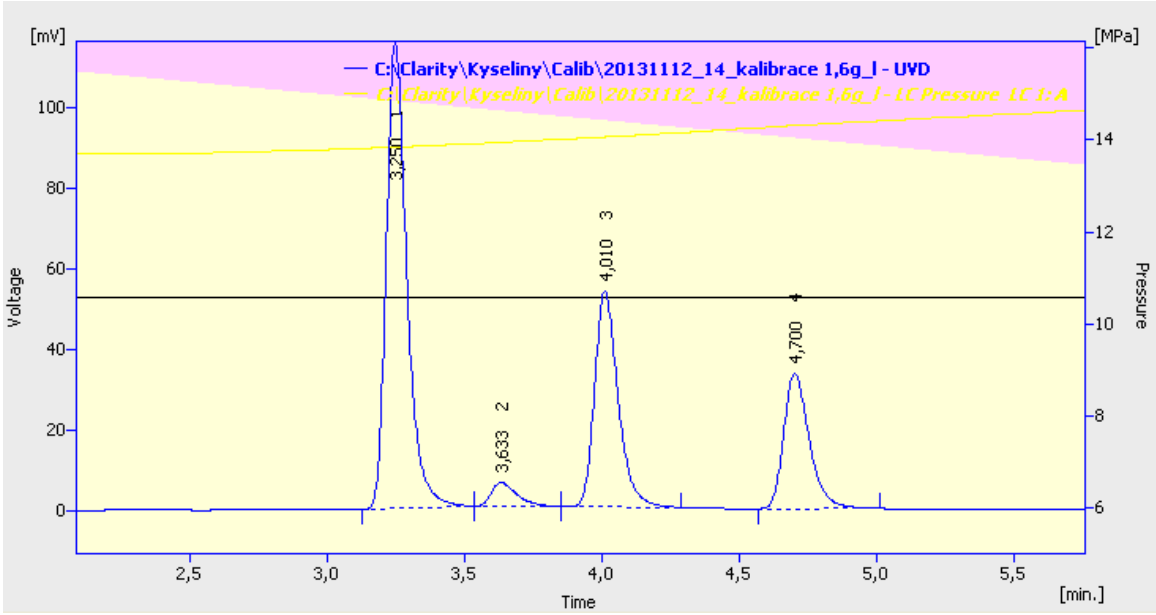
PŘÍLOHA P I: CHROMATOGRAMY STANDARDŮ ORGANICKÝCH KYSELIN

Dle retenčních časů: 3,25 min – kyselina vinná, 4,02 min – kyselina jablečná, 4,71 min – kyselina mléčná

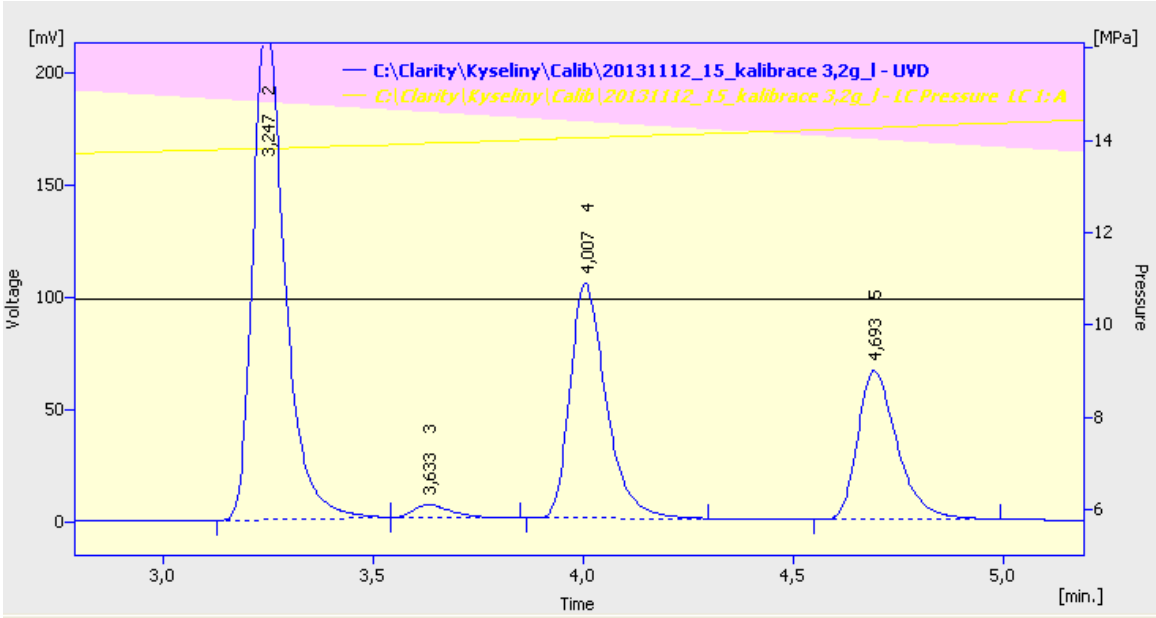
0,2 g.l^{-1}



1,6 g.l^{-1}

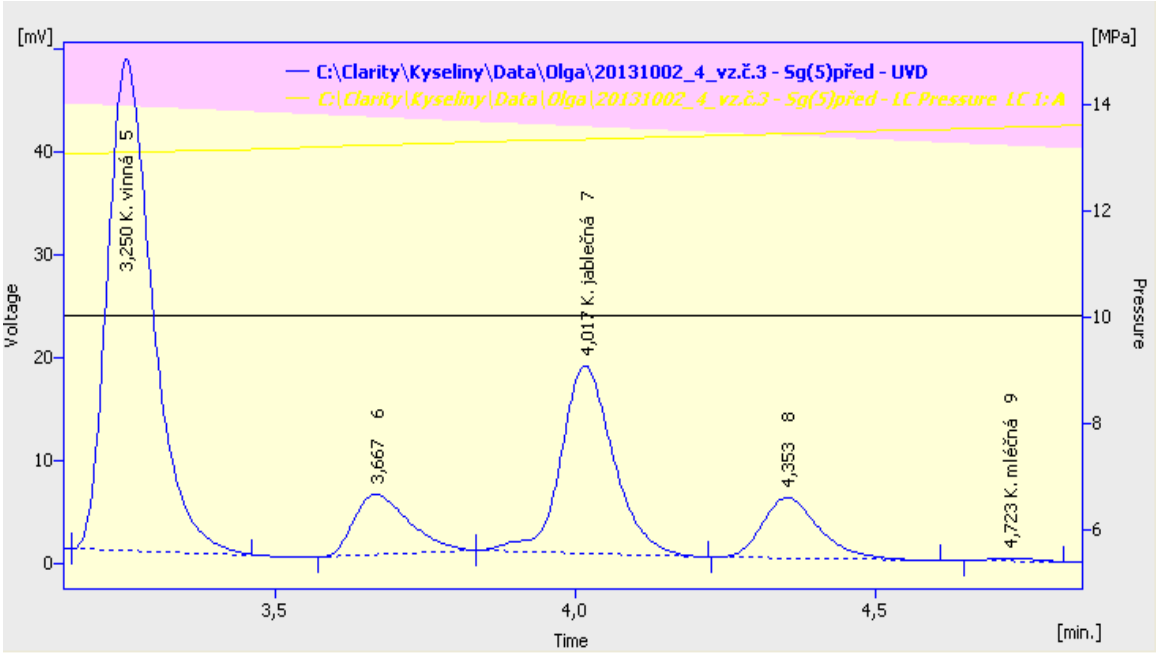


3,2 g.l^{-1}

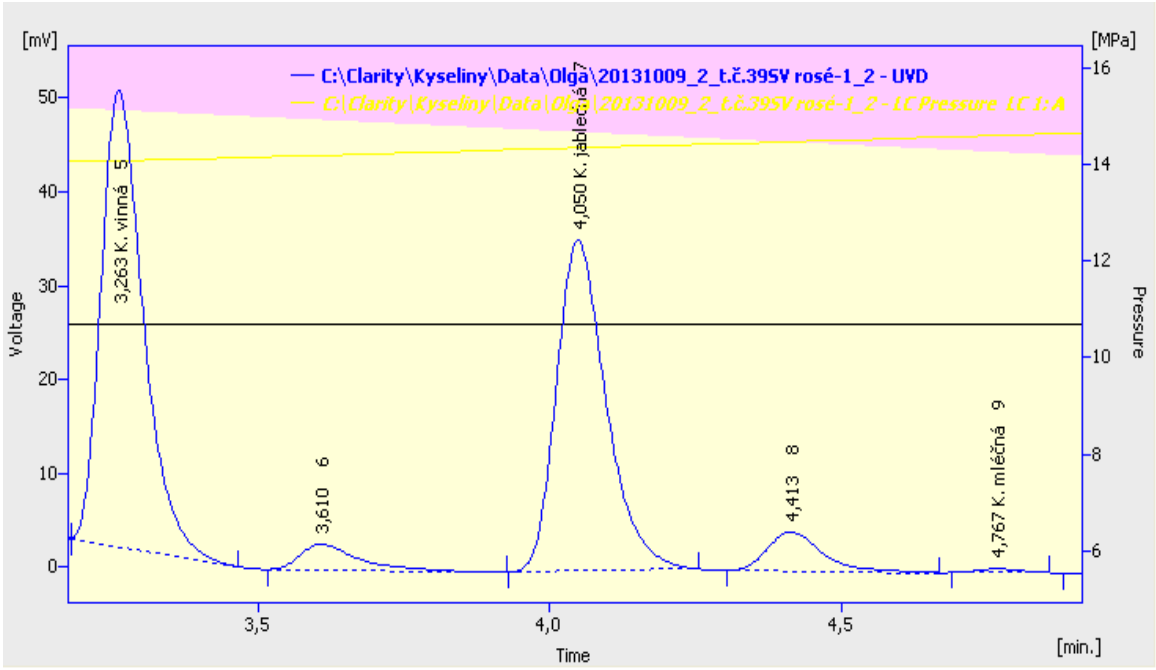

[mV]
[MPa]
C:\Clarity\Kyseliny\Calib\20131112_15_kalibrace 3,2g_l - UVD
C:\Clarity\Kyseliny\Calib\20131112_15_kalibrace 3,2g_l - LC Pressure LC1-A
3,247
2
3,633
3
4,007
4
4,693
5
Voltage
Pressure
Time
[min.]
200
150
100
50
0
14
12
10
8
6
3,0
3,5
4,0
4,5
5,0

PŘÍLOHA P II: CHROMATOGRAMY ORGANICKÝCH KYSELIN

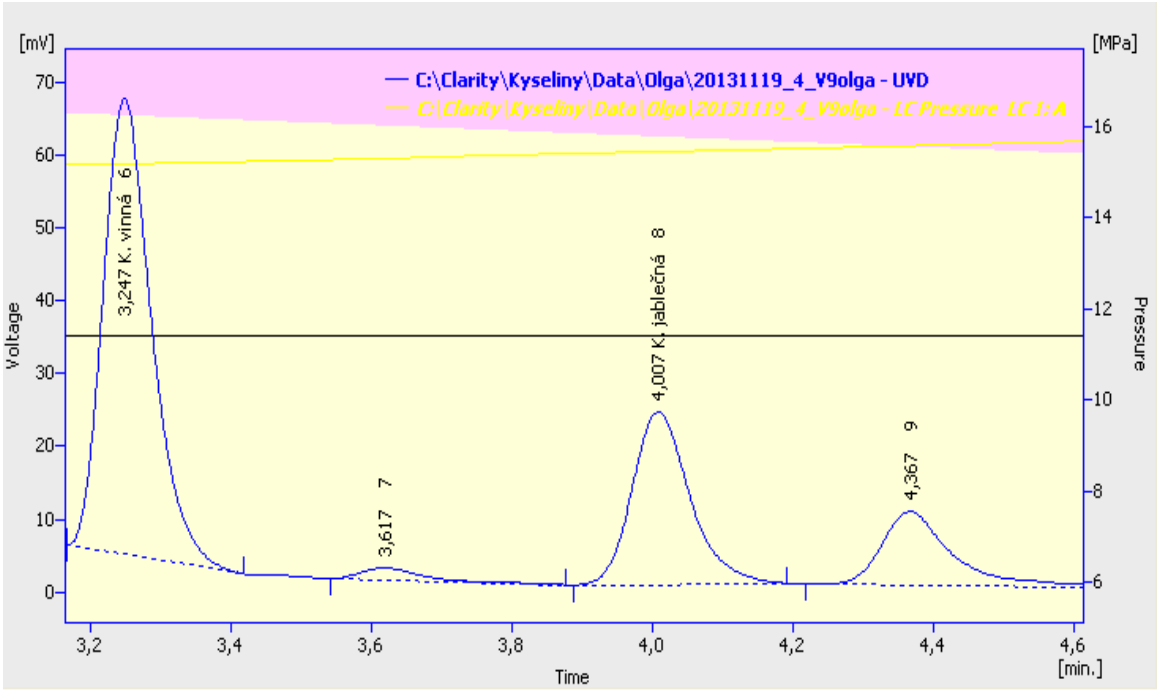
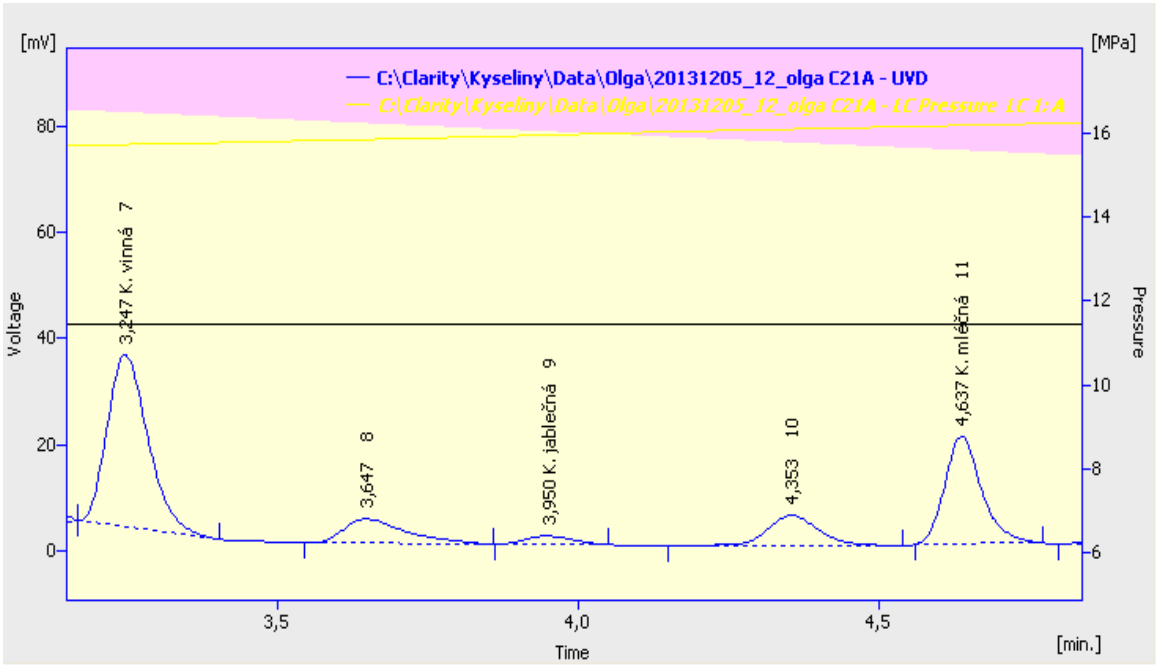
Sauvignon 2013



Svatovavřinecké rosé 2013



Frankovka 2013 před jablečno-mléčnou fermentací



Frankovka 2013 po jablečno-mléčné fermentaci