

Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici



**Využití suchého ledu v technologii
vín révy vinné**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

Vypracoval:

Bc. Radim Holešínský

Lednice 2017



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Bc. Radim Holešinský**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Řízení zahradnických technologií
Název tématu: **Využití suchého ledu v technologii vín révy vinné**
Rozsah práce: Min. 45

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte dostupnou literaturu. Vytvořte kvalitní, ucelenou a logickou literární rešerši na zadanou problematiku. Zhodnoťte nákladnost výroby a pořízení suchého ledu v podmínkách ČR.
2. Vyberte vhodný počet experimentálních variant a proveďte pokusy v provozních podmínkách. Pokusné vzorky analyticky zhodnoťte a získané výsledky statisticky interpretujte.
3. Vyvoďte závěr a na základě získaných zkušeností vytvořte doporučení pro návazný výzkum a využití kryomacerace v praxi.



Seznam odborné literatury:

1. BURG, P. – ZEMÁNEK, P. Kryomacerace ve vinařství. *Vinař-sadař*. 2013. sv. 2013, č. 3, s. 33. ISSN 1804-3054.
2. BURG, P. – ZEMÁNEK, P. Technické prostředky pro kryomaceraci. *Vinařský obzor*. 2013. sv. 106, č. 1, s. 26–28. ISSN 1212-7884.
3. BRANCO, J. M. – RIBÉREAU-GAYON, P. Handbook of enology. : The chemistry of wine stabilization and treatments. volume 2. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103962, 97804700103722. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010398>.
4. RIBÉREAU-GAYON, P. – BRANCO, J. M. Handbook of enology. : The microbiology of wine and vinifications. volume 1. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103651, 97804700103411. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010363>.
5. MICHLOVSKÝ, M. *Příprava bílých vín*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. 289 s. ISBN 978-80-905319-4-9.

Datum zadání diplomové práce: prosinec 2015

Termín odevzdání diplomové práce: květen 2017

L. S.


Bc. Radim Holešinský
Autor práce


doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.
Vedoucí práce


doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.
Vedoucí ústavu




prof. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci:

Využití suchého ledu v technologii vín révy vinné

vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu

s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon,

a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 Autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity o tom, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:

.....

podpis

Poděkování

Rád bych poděkoval svému vedoucímu diplomové práce panu doc. Ing. Mojmírovi Baroňovi, Ph.D. za konzultace a odborné rady při mém zpracování diplomové práce.

Obsah

1	Úvod	11
2	Cíl práce	12
3	Literární část.....	13
3.1	Kryomacerace	13
3.1.1	Nákladnost výroby suchého ledu	16
3.1.2	Studená macerace modrých hroznů	17
3.1.3	Teplota a čas macerace	19
3.1.4	Lisování macerovaných hroznů	19
3.2	Fenolické látky obsažené ve rmutu	20
3.2.1	Fenolické kyseliny	21
3.2.2	Neflavonoidy.....	22
3.2.3	Flavonoidy	24
3.2.4	Taniny.....	27
4	Experimentální část	29
4.1	Materiál na výrobu	29
4.2	Frankovka	29
4.2.1	Popis odrůdy ‚Frankovka‘	29
4.2.2	Parametry Frankovky použité k pokusu.....	31
4.3	Technologie přípravy.....	31
4.3.1	Kontrola	31
4.3.2	Macerace 14 dní.....	32
4.4	Analytické metody	33
4.4.1	Hodnota pH	33
4.4.2	Titrovatelné kyseliny	33
4.4.3	Cukernatost	34
4.4.4	Asimilovatelný dusík	34
4.4.5	Teplota	34
4.4.6	Spektrofotometrická stanovení	35
4.4.7	Stanovení celkových fenolů.....	35
4.4.8	Stanovení celkových antokyanů	35
4.4.9	Stanovení celkových flavanolů	35
4.4.10	Stanovení redukční síly – FRAP	36

4.4.11	Stanovení antiradikálové aktivity – DPPH	36
4.5	Senzorické hodnocení.....	37
5	Výsledky	38
5.1	Analytické vyhodnocení	38
5.2	Senzorické vyhodnocení	52
6	Diskuze.....	55
7	Závěr	57
8	Doporučení pro praxi	58
9	Souhrn.....	59
10	Summary.....	60
11	Seznam použité literatury	61

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Pelety suchého ledu (BURG, 2013).....	15
Obrázek 2: Transportní kontejner na suchý led (SPEKTRO CZ)	16
Obrázek 3: Kyselina hydroxyskořicová (MICHLOVSKÝ, 2015).....	22
Obrázek 4: Trans-resveratrol (MICHLOVSKÝ, 2015).....	23
Obrázek 5: Kvercetin (PATOČKA, 2010)	25
Obrázek 6: Epikatechin (MICHLOVSKÝ, 2015)	26
Obrázek 7: Malvidin (MACHOVSKÁ, 2012)	27
Obrázek 8: Hrozen a list 'Frankovky' (LUDVÍKOVÁ, 2004)	30
Obrázek 9: Schéma pokusu	31

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Obsah fenolických sloučenin v červených vínech (PAVLOUŠEK, 2010).....	20
Tabulka 2: Fenolické látky v hroznu (PAVLOUŠEK, 2010)	21
Tabulka 3: Základní analytika u studené macerace	38

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Teplota u studené macerace	39
Graf 2: Obsah titrovatelných kyselin u studené macerace	39
Graf 3: Hodnota pH u studené macerace	40
Graf 4: Obsah asimilovatelného dusíku u studené macerace	40
Graf 5: Cukernatost u studené macerace	41
Graf 6: Celkové polyfenoly u rosé – kontrola.....	42
Graf 7: Celkové polyfenoly u rosé – kryo	42
Graf 8: Celkové polyfenoly u červeného – kontrola.....	43
Graf 9: Celkové polyfenoly u červeného – kryo.....	43
Graf 10: Antiradikálová aktivita u rosé – kontrola	44
Graf 11: Antiradikálová aktivita u rosé – kryo	44
Graf 12: Antiradikálová aktivita u červeného – kontrola	45
Graf 13: Antiradikálová aktivita u červeného – kryo	45
Graf 14: Redukční síla u rosé – kontrola.....	46
Graf 15: Redukční síla u rosé - kryo.....	46
Graf 16: Redukční síla u červeného – kontrola	47
Graf 17: Redukční síla u červeného – kryo	47
Graf 18: Množství katechinů u rosé – kontrola.....	48
Graf 19: Množství katechinů u rosé – kryo.....	48
Graf 20: Množství katechinů u červeného – kontrola	49
Graf 21: Množství katechinů u červeného – kryo	49
Graf 22: Množství antokyanů u rosé – kontrola.....	50
Graf 23: Množství antokyanů u rosé – kryo.....	50
Graf 24: Množství antokyanů u červeného – kontrola	51
Graf 25: Množství antokyanů u červeného – kryo	51
Graf 26: Výsledky senzorického hodnocení ze stobodové tabulky.....	52
Graf 27: Struktura a mohutnost u růžových vín	53
Graf 28: Struktura a mohutnost u červených vín	53
Graf 29: Aromatický profil u růžových vín.....	54
Graf 30: Aromatický profil u červených vín.....	54

1 Úvod

Sekundární metabolity jsou ve větším množství obsaženy ve slupkách bobulí. Jedná se především o fenolické a aromatické látky. Vymýšlely se proto způsoby, jak stěnu slupky porušit a dané látky uvolnit ven. Macerace hroznů je jedním z prvních technologických kroků při výrobě vína a zároveň i jedním z nejdůležitějších. Již v této fázi se tvoří základ budoucích vín. Během macerace dochází ve vysoké míře k uvolňování barviv a ostatních látek. Je to způsobeno především slupkami z narušených hroznů při mletí. Ve rmutu jsou také přítomny enzymy, které společně napomáhají extrakci barvy, aromatických a fenolických látek.

Tento technologický krok je ovlivněn především teplotou a délkou celého procesu. Vyšší teploty zapříčiní rychlejší uvolňování látek do moštu. Naopak se stoupající teplotou rychleji vyprchají aromatické látky, které jsou pro nás důležité. Jde proto o to najít optimální kombinaci mezi teplotou a časem.

Jednou z možností, která se v poslední letech hojně využívá je studená macerace (kryomacerace). Při kryomaceraci dojde k rychlému podchlazení rmutu a tím i k jeho ochraně. V našem případě jsme rmut podchladili suchým ledem. Oxid uhličitý nám vytlačil kyslík a zabránil tak oxidaci rmutu. Dochází i ke zvýšení polyfenolů, pH a asimilovatelného dusíku. Na druhou stranu dojde ke snížení celkových kyselin.

Zařazením tohoto postupu do výroby získáváme vína s novým potenciálem. Tato vína jsou aromaticky více intenzivní a v projevu ovocnější a plnější. Vyzařuje z nich komplexnost, svěžest a plnost. U vín se zachovává jejich odrůdovost a typičnost což vyzdvihuje jejich hodnotu.

V práci jsou srovnávány vína vyráběná dvěma způsoby. Krátkou macerací a studenou macerací po dobu 14 dní. Vína byla vyrobena z odrůdy 'Frankovka'.

2 Cíl práce

Cílem mojí diplomové práce je provedení studené macerace u červeného a růžového vína v praxi. Prostudovat dostupnou literaturu. Zhodnotit nákladnost výroby a pořízení suchého ledu v podmínkách ČR.

Úkolem bylo pokusné vzorky analyticky zhodnotit a získané výsledky statisticky interpretovat. Potvrdit si dopad studené macerace na pH, asimilovatelný dusík, titrovatelné kyseliny a polyfenoly u odrůdy ‚Frankovka‘.

Na konec vyvodit závěr a na základě získaných zkušeností vytvořit doporučení pro návazný výzkum a využití kryomacerace v praxi.

3 Literární část

3.1 Kryomacerace

Kryomacerace je jednou z technologií, která je v dnešní době hojně využívána. Jedná se o maceraci rmutu, kdy jde o rychlé podchlazení podrcených a odstopkovaných hroznů pod 5 °C. Rmut se při této teplotě nechává zchlazený několik hodin nebo dnů. Základem je extrahování velkého množství látek, které jsou obsaženy ve slupce. Tento proces probíhá bez alkoholu a jsou to tedy látky rozpustitelné ve vodním roztoku. (ORTEGA-HERAS, 2012)

Účelem kryomacerace je intenzivní extrakce aromatických látek, fenolů a monoterpeny způsobené delší kontaktní dobou mezi slupkami a moštem. Kromě teploty se kladou požadavky i na dobrý zdravotní stav hroznů. (BURG, ZEMÁNEK, 2013)

U červených vín se uvolňují i taniny a monomery antokyanů. Ty polymerizují během kopigmentace a kondenzace. Tím je posílena barva, stabilita a intenzita vína. (BOULTON, 2001)

Vína vyrobená studenou macerací, prokazují vyšší množství aromatických látek, ve srovnání s víny vyrobenými klasickou metodou bez podchlazení. Takové vína ukazují i vyšší stabilitu vůči oxidaci a lepší odrůdový charakter jak ve vůni, tak i v chuti.

Metody studené macerace se používají kvůli zlepšení celkového charakteru vína a zvýšení odrůdovosti. Vznikají komplexní, plná, tělnatá vína. Díky tomu můžeme vyrobit víno vyšší kvality s lepšími vlastnostmi, než když používáme klasickou metodu. (PARENTI, 2004).

Kryomaceraci můžeme provádět několika způsoby:

- pomocí suchého ledu
- vstřikováním stlačeného CO₂
- chlazení pomocí chladícího boxu
- chlazení v nerezovém tanku s chlazeným dvojitém pláštěm
- chlazení pomocí N₂
- pomocí tepelného výměníku

Oxid uhličitý

Oxid uhličitý je plyn bez barvy a bez zápachu s hustotou 1,98 kg.m⁻³. Trojný bod má při teplotě – 51 °C a tlaku 5 atm. Jde o plyn, který je málo reaktivní a vlastnostmi podobný plynům inertním jako je např. dusík. Získává se z přírodních zdrojů nebo chemických reakcí. Poté bývá přečištěn a dodán na trh v pevné (suchý led) nebo zkapalněné formě (tlakové láhve, zásobníky).

Po přidání CO₂ vzniknou nízké teploty a dojde ke zpomalení oxidačních procesů, snížení aktivity mikroorganismů a zvýšení účinnosti enzymů. Z technického hlediska je použití CO₂ náročnější a kvůli vysokému tlaku trojného bodu nelze provést aplikaci v kapalném stavu při standardním atmosférickém tlaku. (BURG, ZEMÁNEK, 2013)

Suchý led

Suchý led představuje oxid uhličitý v pevném skupenství. Pojem suchý je podle jeho fyzikálních vlastností. Po aplikaci CO₂ se z jeho pevné formy stává forma plynná (sublimace), aniž by přešel do kapalné formy. Suchý led se dodává ve formě bloků s váhou 1–10 kg, nebo pelet či nuget s průměrem 3–10 mm a délkou 10–30 mm. V této formě je jeho teplota – 78,5 °C. Uchovává se proto při nízkých teplotách a jeho přeprava se provádí v odizolovaných nádobách nebo kontejnerech. Ty mají obsah 5–350 kg. Nejsou však plynotěsné, takže ztráty oxidu uhličitého jsou okolo 10 % denně. Na výrobu 1 kg suchého ledu se

spotřebuje 541 l CO₂. Při dávce 800 g suchého ledu na 100 kg rmutu nám klesne teplota o 1 °C. (BURG, ZEMÁNEK, 2013)

Uvolněný oxid uhličitý nám vytlačuje kyslík z nádoby a tím ochraňuje rmut proti oxidaci. Takto můžeme protáhnout délku macerace a nemusíme se bát, že by byl rmut nějak poškozen.

Vlastnosti suchého ledu:

- přírodní hygienicky nezávadné chladivo s vysokým chladícím výkonem
- bez chuti a zápachu
- neobsahuje choroboplodné zárodky
- vytlačuje vzdušný kyslík, je bakteriostatický
- netaje, nezanechává mokré stopy a nepoškozuje tak zboží ani obal
- nejedovatý, nezápalný, nedýchatelný
- umožňuje podporovat aromatické charakteristiky (izotermický šok způsobuje praskání bobulí a dochází k uvolnění aromatických látek ze slupek)



Obrázek 1: Pelety suchého ledu (BURG, 2013)

3.1.1 Nákladnost výroby suchého ledu

Vlastní zařízení pro výrobu suchého ledu

K výrobě suchého ledu slouží peletizéry. Ty jsou napájeny kapalným CO₂ z kryogenního zásobníku. Kapalným CO₂ je uvnitř peletizéru změněn na pevnou fázi (sníh CO₂), který je pak slisován do formy pevných pelet nebo větších tzv. nuget. Peletizér umožňuje vyrábět pelety v různých velikostech, v závislosti na aplikaci. (SPEKTRO, 2014)

U nás jsou dostupné například peletizéry od firmy KÄRCHER, které dodává Sedláček s.r.o. Typ KÄRCHER IP 55 vyrobí 55 kg ledu za hodinu a pořizovací cena je asi 1,5 mil. Kč bez DPH. Typ KÄRCHER IP 120 vyrobí 120 kg ledu za hodinu a pořizovací cena je asi 2,33 mil. Kč bez DPH. Typ KÄRCHER IP 220 vyrobí 220 kg ledu za hodinu a pořizovací cena je asi 3,2 mil. Kč bez DPH.

Nakupování suchého ledu

Na náš trh dodává suchý led několik firem. Mezi nejznámější patří Linde Gas a.s. a SPEKTRO CZ spol. s.r.o. Ceny suchého ledu se pohybují podle odebraného množství od 17–35 Kč za kg bez DPH.



Obrázek 2: Transportní kontejner na suchý led (SPEKTRO CZ)

3.1.2 Studená macerace modrých hroznů

Experimentální část této práce se zabývá kryomacerací modrých hroznů, proto je vhodné shrnout teoretickou stránku problematiky.

Během předfermentační studené macerace dochází ke zvýšení obsahu antokyanů a flavanolů ze slupek a dužiny. Jedná se o vodní roztok. Kdežto pofermentační macerace zase zvyšuje obsah proantokyanidinů díky maceraci semen a jde o alkoholový roztok. (MORRENO-ARRIBAS aj., 2009).

Studená macerace modrých hroznů při výrobě růžových vín

Růžová vína mají nižší barvu než červená a jsou ovocnější. Intenzita růžové barvy a aroma určují celkový dojem růžových vín. Díky jejich zvýšené oblibě je věnováno i více pozornosti technologiím výroby. Krátkou předfermentační macerací zvýšíme intenzitu barvy u růžových vín. Snahou je držet teploty pod 20 °C, aby se zachovaly aromatické látky v moštu. S klesající teplotou se prodlužuje délka extrakce a roste riziko oxidace rmutu. (KASPAR, 2013)

Byla provedena studie, kdy bylo zjištěno, že při používání enzymů se snižuje jejich účinek s poklesem teploty. Studená macerace u odrůdy Monastrell, z které bylo vyrobeno růžové víno, trvala 12 hodin, než bylo dosaženo požadovaného množství antokyanů. (PUÉRTOLAS, 2011)

PUÉRTOLAS (2011) provedl v roce 2010 pokus věnovaný měření účinku extrakce antokyanů pomocí pulzního elektrického pole, ovlivněn teplotou a časem. Konečné množství extrahovaných antokyanů bylo 50 mg.l⁻¹ a to po 2 měsících zrání v láhvi. Tato koncentrace je považována za ideální pro získání typické barevnosti u růžových vín v tradičních vinařských oblastech (za příklad je uveden Côtes de Provence nebo Bordeaux). Pro pokus byla vybrána odrůda 'Cabernet Sauvignon'. Macerace trvala 6 hodin při 12 °C a s použitím elektrického pulzního pole. Hotová vína, která zrála 2 měsíce v lahvi prokazovala o 36 % vyšší koncentraci antokyanů proti kontrolnímu vzorku. Výsledky macerace pomocí elektrického pulzního pole vyšly úspěšně i při teplotě 4 °C. S použitím enzymů by to při této teplotě nebylo možné. Konečného množství 50 mg.l⁻¹ antokyanů ve víně se dosáhlo během necelých 2 hodin. Díky maceraci při nízkých teplotách dosáhneme výrazné ovocnosti vín a zabráníme oxidaci fenolických látek.

Studená macerace modrých hroznů při výrobě červených vín

Macerace modrých odrůd je tradičním technologickým postupem při výrobě červených vín. Smyslem macerace rmutu je extrakce barviv z antokyanů obsažených ve slupkách modrých odrůd a extrakce taninů z fenolicky zralých semen. Vhodné je to především u odrůd s menším obsahem antokyanů a ostatních fenolických látek. Příkladem je třeba odrůda Rulandské modré. Pomocí studené macerace je tak dosaženo vyšší extrakce látek ve vodě rozpustných bez přítomnosti etanolu. V takovém roztoku je i lepší kontakt pevných a kapalných částí rmutu, protože CO₂, které vznikne během alkoholového kvašení, nenadnáší pevné složky rmutu a nevzniká tzv. koláč na povrchu. (KASPAR, 2013)

GOMEZ-PLAZA aj. (2000) provedli experiment, při kterém macerovali rmut odrůdy ‚Monastrell‘. Teplota rmutu byla 10 °C a doba macerace 5 dní. V roce 2001 byly testovány různé délky macerace, a to po dobu 4, 5 a 10 dní. V obou případech bylo zjištěno, že teplota macerace 10 °C a délka 10 dní má pozitivní vliv na koncentraci antokyanů a obsah derivátů kyseliny hydroxyskořicové v konečných vínech. Vína byla uskladněna po dobu 12 měsíců a varianty s dobou macerace 10 dní měly vyšší intenzitu barvy a obsah fenolických látek mnohem déle než vína macerovaná 4 dny.

U déle macerovaných moštů byla vyšší polymerizace barevných pigmentů a větší obsah prokyanidinů, tudíž byla i vyšší stabilita barvy u mladých červených vín. (GOMEZ-PLAZA aj., 2001).

Zvýšení obsahu antokyanů a fenolů během kryomacerace potvrdili i tito uvedení autoři. ALVAREZ aj. (2009) provedli pokus u odrůdy Tempranillo. Rmut byl schlazen na 6-8 °C po dobu 4 dní. Dále GIL-MUNOZ aj. (2009) zkoušeli experiment u odrůd ‚Cabernet Sauvignon‘ a ‚Shiraz‘, které macerovali při teplotě 10 °C během 7 dnů.

DICEY aj. (1996) prováděli pokus s odrůdou ‚Rulandské modré‘, kde zjistili, že macerace při 4 °C dává barevně intenzivnější a v chuti méně hořká vína, než macerace při 10 °C, kde se projevila tabákově-dřevitá vůně s vyšší hořčinou.

3.1.3 Teplota a čas macerace

Účinek teploty a délka macerace závisí na odrůdě, zralosti dané suroviny a také na vzájemném vztahu mezi těmito veličinami. Z toho vyplývá, že kratší délka macerace při nižší teplotě nám dává svěží a ovocná vína, kdežto delší macerace s vyššími teplotami vede k vínům s vyšší intenzitou barvy, menší ovocností a delším časem pro vyzrání. (BAKKER, CLARKE, 2012)

Pohledy na dobu macerace jsou různé. GOMEZ-PLAZA aj. (2001) tvrdí, že kontakt mezi slupkami a moštem by neměl být delší než 12 hodin. Poté jsou vína spíše hrubá, s vyšším obsahem fenolů a nižší kvalitou. STEJSKAL (2015) je toho názoru, že nejlepší výsledky byly dosaženy při maceraci okolo 16 hodin. Vína byla aromatictější a v chuti nebyly známky hořkosti nebo svíravosti.

V praxi se délka macerace pohybuje od 12 do 20 hodin. Záleží na organizaci vinařského provozu. Při řízené teplotě kolem 10–15 °C a bez rizika oxidace nejspíš tato doba macerace umožní dobrou extrakci vonných sloučenin ze slupky bez obav z významnější extrakce fenolových sloučenin. (MICHLOVSKÝ, 2014)

3.1.4 Lisování macerovaných hroznů

Při lisování macerovaných hroznů se nejeví žádný větší problém. Díky narušení pektinového základu hroznů se mohou během lisování použít nižší tlaky a rmut se nemusí rozrušovat víc než jednou. Mošt získaný během prvního lisování se okamžitě spojí se samotokem. Koncového lisování se poté od tohoto oddělí. Možnost jeho scelení se posuzuje až po odkalení. Maceraci bobulí provází pokles celkových kyselin v moštu a zvýšení hodnoty pH.

Pokles acidity může být od 1,5 až do 2,3 g/l, v přepočtu na kyselinu vinnou. Rozsah poklesu závisí na odrůdě a viniční trati. Ve srovnání s lisováním celých hroznů dochází při maceraci slupek také ke zvýšení optické hustoty při 280 nm a ukazatelů fenolických sloučenin. Rozdíly demonstrovány ve vínech jsou však potom menší a optická hustota při 280 nm zůstává zřetelně menší než 10, což bývá zpravidla nejvyšší povolená hranice u bílých vín. (MICHLOVSKÝ, 2014)

3.2 Fenolické látky obsažené ve rmutu

Fenolické látky zastávají důležitou úlohu ve vinařství. Nesou odpovědnost za rozdíly mezi bílými a červenými víny, především za barvu a chuť u vín červených. Ovlivňují vzhled, vůni, chuť, plnost a také antimikrobiální a antioxidační vlastnosti vína.

Vzhledem k antioxidačním a antimikrobiálním vlastnostem se fenolické látky zkoumaly jako možná náhrada SO₂ již před desítkami let. (BAROŇ, 2013)

Skupina fenolických látek	Červená vína	
	Mladé	Starší
Neflavonoidy		
Hydroxyskořicové kyseliny	165	60
Hydroxybenzoové kyseliny	60	60
Hydrolyzovatelné taniny	0	250
Stilbeny	7	7
Celkový obsah (mg.l⁻¹)	232	37
Flavonoidy		
Monomerní flavanoly	200	100
Proantokyanidiny	750	1000
Flavanoly	100	100
Antokyany	400	9
Ostatní	50	75
Celkový obsah (mg.l⁻¹)	1500	1365
Fenoly celkově	1732	1742

Tabulka 1: Obsah fenolických sloučenin v červených vínech (PAVLOUŠEK, 2010)

Fenolové látky jsou velmi pestré. Jedná se o sloučeniny s hydroxylovou skupinou (OH), která se váže na uhlík aromatického jádra. Polyfenoly mají ve své molekule více než jednu fenolovou skupinu. Mezi hlavní fenolické látky patří flavonoidy a neflavonoidy. Tyto látky se nachází v různých částech hroznů a uvolňují se během vinifikace. Struktura těchto látek se mění v průběhu zrání hroznů, vyžrávání vína, a to v závislosti na podmínkách. Avšak tyto modifikace jsou známy jen z části. (MICHLOVSKÝ, 2015)

Flavonoidy	
Antokyany	slupka - 0,5 g na kg hroznu
Taniny–flavanoly (katechiny a proantokyany)	semena - 1-8 g na kg hroznu
	dužina - 80 mg na kg hroznu
	slupka - 0,3-3 g na kg hroznu
	třapina - 0,03-0,4 g na kg hroznu
Flavanoly	slupka - 10 mg na kg hroznu
	slupka - 0-10 mg na kg hroznu
Flavonoly	třapina - 0-35 mg na kg hroznu
Neflavonoidy	
Stilbeny	slupka - 0-20 mg na kg hroznu
	semena - 0-35 mg na kg hroznu
Hydroxyskořicové kyseliny	slupka - 60-800 mg na kg hroznu

Tabulka 2: Fenolické látky v hroznu (PAVLOUŠEK, 2010)

Některé fenolické látky jako jsou například hydroxyskořicové kyseliny můžou u moštů a bílých vín způsobit hnědnutí. U révy vinné jsou fenolické látky obsaženy v třapině, v dužnině, ve slupce i v semenech. Jejich množství je ovlivněno odrudou a pěstitelskými podmínkami, mezi které můžeme zařadit, jak klimatické a půdní vlastnosti daného stanoviště, tak i agrotechnické zásahy ve vinici. Složení těchto látek ve výsledném víně závisí na kvalitě hroznů, způsobu vinifikace a zejména podmínkách macerace. V modrých odrudách révy vinné je 30–40 % všech fenolových látek obsaženo ve slupce a 60–70 % v dužnině. (PAVLOUŠEK, 2010)

Mezi fenolické látky patří fenolické kyseliny, stilbeny, flavanoly, flavonoly, antokyany a taniny. Většina se jich nachází v pevných složkách hroznu a dostávají se do moštu během macerace a lisování.

3.2.1 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny můžeme najít v hroznech i ve víně. Ve zředěném alkoholickém roztoku jsou bezbarvé, ale působením oxidací můžou hnědnout nebo žloutnout. Tyto látky jsou z organoleptického hlediska bez vůně a chuti, avšak stávají se prekurzory těkavých fenolů, které vznikají působením kvasinek rodu *Brettanomyces* a bakterií. Mezi těkavé fenoly vyskytující se v červených vínech patří etylfenoly. Ty způsobují animální, živočišné tóny ve víně. U bílých

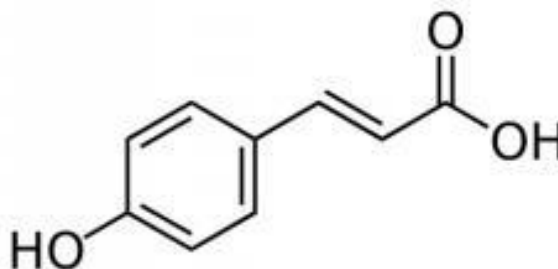
vín to jsou vinylfenoly a ty mají za následek farmaceutické aroma ve víně. Mezi další fenolické kyseliny patří kumarin, derivát kyseliny skořicové. Kumarin má velmi nízkým práh vnímání a uvolňuje se z dubového dřeva během zrání vína v sudech. (RIBÉREAU-GAYON, 2006)

Hrozny a víno dále obsahují kyselinu skořicovou a kyselinu benzoovou. V červených vínech je obsah kyseliny benzoové desetinásobně větší než u vín bílých. (MICHLOVSKÝ, 2015)

3.2.2 Neflavonoidy

Hydroxyskořicové kyseliny

Hydroxyskořicové kyseliny patří mezi hlavní fenolické sloučeniny bílých odrůd. Jde o bezbarvé látky, které snadno podléhají oxidaci a následně žloutnou nebo hnědnou. U bílých moštů a vín mohou být příčinou hnědnutí, u červených vín jsou důležité pro „kopigmentaci“. To je chemický proces, při němž dochází během zrání ke stabilitě barvy. V bobulích se hydroxyskořicové kyseliny vyskytují jako estery kyseliny vinné. (PAVLOUŠEK, 2011)



Obrázek 3: Kyselina hydroxyskořicová (MICHLOVSKÝ, 2015)

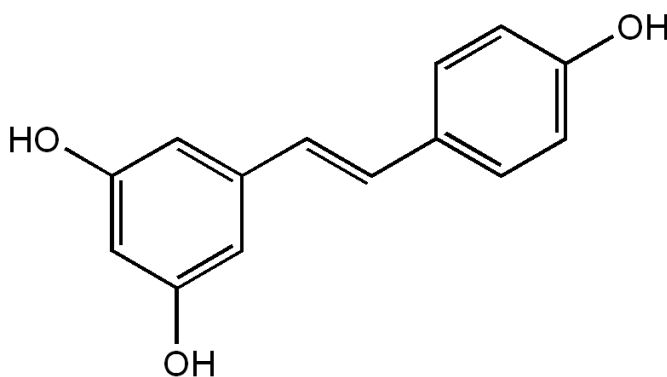
Stilbeny

Stilbeny se nacházejí v hroznech, ve víně, v dubovém dřevě a v dalších rostlinách. Koncentrace stilbenů se v bobulích zvyšuje od počátku zaměkání a jejich obsah je závislý na stanovišti a odrůdě. (MICHLOVSKÝ, 2015)

Stilbeny zařazujeme mezi fytoalexiny. To jsou nízkomolekulární látky s antimikrobiálními vlastnostmi. Jejich vznik je způsoben vzájemným působením mezi rostlinou a mikroorganismy. Také pozitivně působí na lidský organismus. (PAVLOUŠEK, 2011)

Důležitým zástupcem stilbenů je resveratrol. Ten byl spojován s tzv. Francouzským paradoxem. (V jedné francouzské oblasti byl zpozorován velmi nízký výskyt kardiovaskulárních onemocnění. Tato skutečnost byla vysvětlena zvýšenou konzumací červeného vína, za jehož hlavní účinnou složku byl považován právě resveratrol). (MACHOVSKÁ, 2012)

Vzhledem k tomu, že koncentrace resveratrolu je daleko nižší ve srovnání s ostatními polyfenoly, a to u většiny vín, tak se zdají být jeho antioxidační vlastnosti u červeného vína nevýznamné. Pozornost si zaslouží jeho antikancerogenní účinky, které byly popsány v roce 1997. (TRNA, 2011)



Obrázek 4: *Trans-resveratrol* (MICHLOVSKÝ, 2015)

3.2.3 Flavonoidy

Flavonoidy patří k nejvýznamnějším skupinám fenolických látek. Mezi hlavní skupiny, které se v hroznech a ve víně vyskytují patří antokyany, flavonoly a flavanoly. Předpokládá se, že v rostlině révy mají funkci ochranou proti hmyzu, býložravcům a mikrobiálním patogenům.

Syntetizují se v bobulích, a to zejména ve slupce a v semenech. V malé míře se mohou tvořit i v třapině. Flavonoly společně s antokyany se objevují hlavně ve slupce, kdežto flavan-3-oly spíše v semenech a třapinách. (DOWNEY, 2003)

Flavonoidy se nachází jednak ve slupkách bílých odrůd, ale hlavně ve slupkách modrých odrůd. Zásadou delší macerace je jejich obsah ve rmutu větší při zpracování modrých odrůd. Ollivier v roce 1987 zjistil, že běžná předfermentační macerace ve vodném roztoku má jen malý vliv na koncentraci flavonoidů. (RADEKA, 2008)

Flavonoly

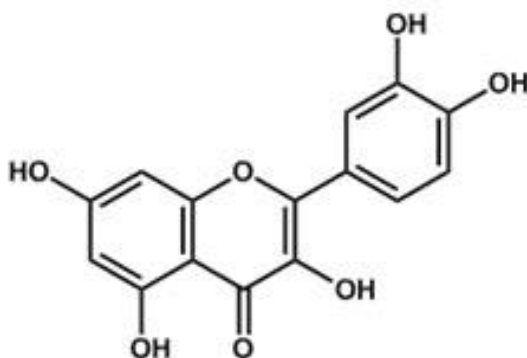
Flavonoly jsou důležitými žlutými barvivy s různou intenzitou. (VELÍŠEK, 2002)

V mošttech a vínech se tyto molekuly nacházejí v podobě glykosidů a patří sem kvercetin, miricetin a kaemferol. Jejich množství je v červených odrůdách vyšší než v bílých. Kvercetin s ramnózou tvoří glykosid, který se nejčastěji vyskytuje v hroznových mošttech. (MINÁRIK, 1986)

Flavonoly mají schopnost chránit bobule před UV zářením.

Kvercetin

Kvercetin je jedním z nejsilnějších a nejrozšířenějších biologicky aktivních flavonoidů, které se nacházejí v ovoci a zelenině. Má mimořádné antioxidační schopnosti a je i lepší antioxidant než vitamíny C a E. Má široké spektrum účinků, kterými pomáhá působit proti nemocem. Ve víně je jeho obsah 4-16 mg.l⁻¹. (DADÁKOVÁ, 2003)



Obrázek 5: Kvercetin (PATOČKA, 2010)

Flavanoly

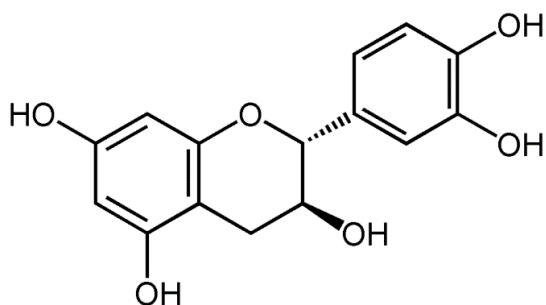
Flavan-3-oly mají význam pro chuťové vlastnosti a strukturu vína. Jejich polymery bývají označovány jako kondenzované taniny – proantokyanidiny.

Semeno se slupkou zase obsahují jednoduché flavan-3-oly. Mezi ně patří katechin, epikatechin, epikatechin galát a epigalokatechin. V třapině se nachází také taniny, ale jejich množství nepřekračuje 5 % z celkových taninů v hroznech. (SOUQUET aj., 2000)

Katechiny

Vyskytují se jako monomery, ale převážná část je v moštích ve formě polymerů a jsou součástí kondenzovaných taninů. Jejich monomery jsou bezbarvé a nevykazují vlastnosti polyfenolů a tříslovin. V polymerní formě mají charakteristiku taninů. Hroznové mošty obsahují dkatechin, galokatechin, katechingalál a epikatechingalát. (MINÁRIK, 1986)

MICHLOVSKÝ (2015) uvádí, že velká část kondenzovaných taninů ve víně pochází z hroznů, s výjimkou těch, které pochází ze sudů barrique.



Obrázek 6: Epikatechin (MICHLOVSKÝ, 2015)

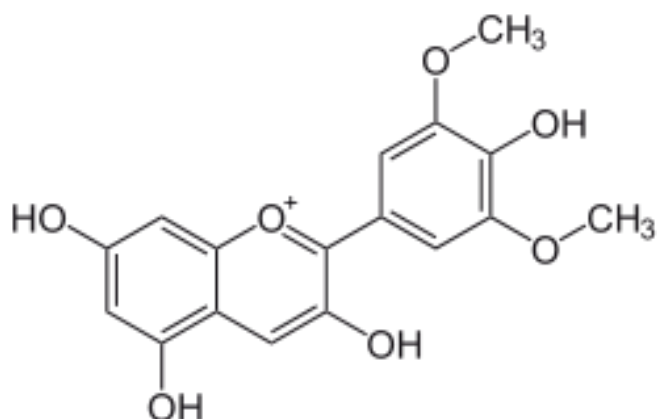
Antokyany

Množství antokyanových barviv v bobulích se zvětšuje od fáze zaměkání až do fáze zralosti. Tyto látky se nacházejí především u modrých odrůd révy vinné. Většinou jsou obsaženy ve svrchních vrstvách buněk slupky, ovšem u některých odrůd můžeme pozorovat zbarvenou i dužninu. Těmto odrůdám říkáme „barvířky“.

Mezi antokyany patří malvidin, delphinidin, kyanidin, petuidin, peonidin. Zpravidla jsou tyto látky ve formě 3-glukosidu. Objevují se i jako estery s kyselinou octovou, kumarovou a kávovou. Antokyany tvoří základ barvy růžových a červených vín. Na extrakci těchto barviv má velký vliv macerace. (PAVLOUŠEK, 2010)

Malvidin

Hlavním antokyanem obsaženým v bobulích je malvidin. Nalezneme ho u všech modrých odrůd. Zde vytváří barevný základ hroznů a následně i červených vín. Například u odrůdy „Rulandské modré“ se obsah malvidinu ihned po fermentaci pohybuje okolo 100 mg.l^{-1} . U odrůdy „Cabernet Sauvignon“ je to ve stejnou dobu až 1500 mg.l^{-1} . U tohoto srovnání jde vidět množství malvidinu v jednotlivých odrůdách. V prvních letech, kdy víno zraje v sudu nebo láhvi, jeho obsah klesá na $0-50 \text{ mg.l}^{-1}$ kvůli kondenzaci s taniny. Kondenzace antokyanů s taniny dává vzniknout novým a stabilnějším polymerům stabilizujícím barvu a vytvářejícím lepší a komplexnější strukturu výsledného vína. (RIBÉREAU-GAYON, 2006)



Obrázek 7: Malvidin (MACHOVSKÁ, 2012)

3.2.4 Taniny

Taniny (třísloviny) jsou další velmi důležitou skupinu fenolických látek. Jsou to sloučeniny, které patří mezi flavan-3-oly. Řadí se sem katechin, epikatechin, jejich dimery, trimery, a různé vyšší oligomery, které se značí jako prokyanidiny. Taniny se nacházejí v třapině, slupkách a semenech. Třísloviny v třapině nejsou až tolik významné, protože hrozny se většinou odstopkovávají a třapin se tak zbavují. Za nejdůležitější se považují taniny obsažené ve slupkách bobulí a v semenech. Ty se přímo podílejí na chuťových vlastnostech vín a záleží na jejich vyzrálosti. (PAVLOUŠEK, 2010)

Třísloviny pomáhají při čiření červených a bílých moštů a vín. Jelikož jsou to polyfenolické rostlinné látky, jejich rozličná struktura jim dává určité společné fyzikálně-chemické a fyziologické vlastnosti. Relativní molekulová hmotnost aktivních taninů je mezi 600 až 3000. (IVANOVA, 2009)

Třísloviny jde rozdělit do dvou skupin:

Hydrolyzovatelné třísloviny:

- gallotaniny – estery kyseliny galové a cukrů
- ellagitaniny – estery kyseliny elagové a cukrů

Kondenzované třísloviny:

- katechiny, epikatechiny (flavan-3-oly)
- prokyanidin (flavan-3,4-dioly)

Hydrolyzovatelné taniny zpravidla nemají původ v hroznech. Do vína se dostanou ze dřeva sudů nebo přidáním enologických taninů během výroby. V bobulích a semenech je však vždy zastoupena kyselina galová. Kvůli škále existujících taninů je nutné vzít na vědomí nejen jejich celkový obsah, ale i strukturu a koloidní stav, jež dávají výsledný organoleptický výraz. (RIBÉREAU-GAYON, 2006)

Důležitější jsou pro pěstitelé kondenzované taniny. Ty se nacházejí ve slupkách, semenech i třápinách. Pro kvalitu vína jsou zejména podstatné senzorické vlastnosti taninů.

Taniny mohou být hořké nebo tříslovité. Hořké tóny chutě vychází z nízkomolekulárních sloučenin s nižším stupněm polymerizace a tříslovité tóny z vysokomolekulárních sloučenin s vyšším stupněm polymerizace. Hořkost bývá spojena s taniny obsaženými v semenech a tříslovitost s taniny ze slupek.

Koncentrace a struktura taninů se mění během dozrávání. Poměrně vysoká je již v době zaměkání bobulí. V semenech klesá jejich množství po začátku vybarvování hroznů až do doby zralosti. Taniny obsažené ve slupce bobulí mají komplexnější strukturu a malou proměnlivost ve své polymerizaci v průběhu dozrávání. Ve slupce se vysoká koncentrace antokyaninů většinou pojí s vysokou koncentrací taninů. (PAVLOUŠEK, 2011)

4 Experimentální část

V experimentální části bylo cílem porovnat vína vyrobená klasickou cestou a metodou studené macerace při teplotě do 4 °C. Pro pokus byla vybrána odrůda ‚Frankovka‘, z které se vyrobily dvě růžová a dvě červená vína. Všechny varianty byly analyticky a senzoricky vyhodnoceny. Odrůda pro tento pokus byla sklizena v roce 2016.

4.1 Materiál na výrobu

Hrozny z odrůdy ‚Frankovka‘ byly sbírané ručně, a to do plastových beden o hmotnosti 25 kg. Sběr proběhl ve vinařské oblasti Morava, podoblasti mikulovské, na školních pozemcích v areálu Zahradnické fakulty MENDELEU v Lednici na Moravě. Vinice leží ve výšce 176 m n. m. Průměrná teplota během roku zde byla 10,5 °C a roční úhrn srážek okolo 458 mm. Orientace pozemku je na jihozápad s mírnou svažitostí. Půda je zde hlinitopísčitá. Posbíráno bylo přibližně 200 kg hroznů. Hrozny byly zpracovány ve školním sklepě zahradnické fakulty v Lednici.

4.2 Frankovka

4.2.1 Popis odrůdy ‚Frankovka‘

S největší pravděpodobností jde o rakouskou odrůdu. Jedná se o křížence odrůdy ‚Heunisch‘. První zmínky jsou z 18. století v Rakousku a odtud se rozšířila i do Německa. V Rakousku je ‚Frankovkou‘ osázeno asi 7 % ploch vinic, a to hlavně v Burgenlandu. Zde vytváří základ pro DAC Mittelburgenland.

Světová plocha vinic osázených ‚Frankovkou‘ je asi 10 000 hektarů. Patří mezi nejpěstovanější odrůdy na Moravě. Ve vinařské oblasti Čechy pěstována není, kvůli své pozdní zralosti. Nejpěstovanější je ve slovácké a velkopavlovické vinařské podoblasti. Do státní odrůdové knihy byla ‚Frankovka‘ zapsána v roce 1941.

Odrůda je bujně rostoucí a má velké listy se třemi laloky. Hrozen bývá zpravidla středně velký i středně hustý, křídlatý a s krátkou stopkou. Bobule

bývají modročerné a středně velké. Ve druhé polovině října začíná sklizňová zralost odrůdy.

Odrůda je méně odolná proti plísni révové a padlí. Odolnost proti plísni šedé je střední. Také je náchylná na vadnutí třapiny. Naopak má celkem dobrou mrazuodolnost. Snáší suché vápnité půdy, ale vyžaduje lepší polohy. Odrůda je oblíbená mezi pěstiteli a hodí se do štěrkových nebo sprašových půd. (SEDLO, 2014)

Vína bývají tmavě i světle rubínové barvy s fialovými odlesky. Mladá vína mívají travnaté aroma, které při zrání přechází do ostružin, višňi a skořice. Víno mívá vyšší obsah kyselin proti ostatním červeným vínům a zpočátku je i tříslovitější a tvrdší. Proto je zde kladem větší důraz na regulaci násady již ve vinohradě a vína se nechávají delší dobu zrát v sudech.

Víno se dá snoubit s různými pokrmy. Hodí se k pečeným masům, zvěřině, kachně i huse. Odrůda je typická pro pěstování v severních vinařských oblastech. (VINAŘSKÝ FOND, 2015)

Jelikož ‚Frankovka‘ obsahuje menší množství barevných látek než ostatní modré odrůdy, nabízí se možnost prodloužit dobu macerace. Nejlépe zkombinovat tuto operaci s kryomacerací díky níž dojde k extrahování ovocných tónů. (STÁVEK, 2013)



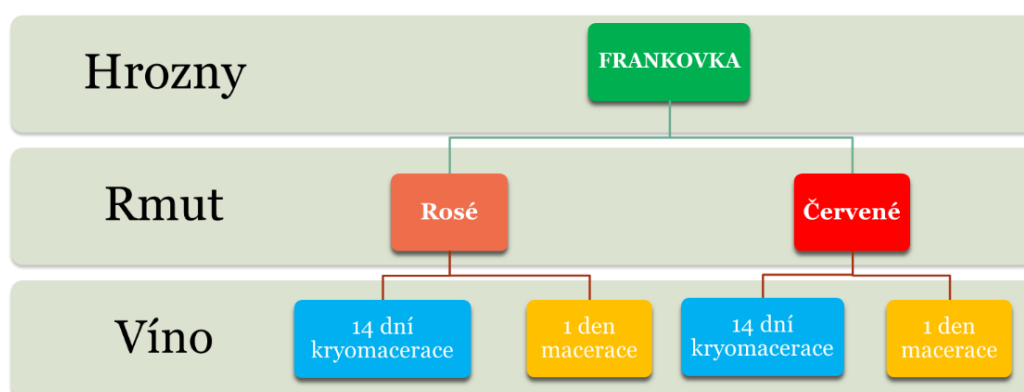
Obrázek 8: Hrozen a list ‚Frankovky‘ (LUDVÍKOVÁ, 2004)

4.2.2 Parametry Frankovky použité k pokusu

Sběr hroznů se konal 1.11. 2016 v dopoledních hodinách. Naměřená cukernatost při sběru měla hodnotu 20,3 °NM. Hodnota pH byla 3,32, obsah titrovatelných kyselin 6,9 g.l⁻¹ a obsah asimilovatelného dusíku 214,5 mg.l⁻¹. Počáteční teplota rmutu byla 11 °C.

4.3 Technologie přípravy

Sklizené hrozny byli po sběru pomlety na mlýnkoodstopkovači a rmut byl rozdělen do dvou plastových nádob. Nádoba č. 1 pro normální variantu a nádoba č. 2 pro kryomaceraci. V každé z nádob bylo přibližně 100 kg rmutu.



Obrázek 9: Schéma pokusu

4.3.1 Kontrola

Růžové víno

Z nádoby č. 2 byla po 24 hodinách odebrána polovina materiálu a lisována na hydrolisu. Teplota rmutu byla 10 °C. Mošt byl po vylisování stočen do skleněných demižónů, kde došlo k hrubému odkalení pomocí sedimentace do druhého dne. Po odkalení byl mošt stočen do druhého demižonu o objemu 20 litrů a zakvašen kvasinkami. Pro všechny 4 varianty byly použity stejné kvasinky ZYMAFLORE DELTA. Fermentace probíhala bezproblémově po dobu 14 dní. Do fermentace nebylo nijak zasahováno, ani nic přidáváno (bez přidání výživy). Kvašení se zastavilo samovolně a víno bylo stočeno z kalů. Při stáčení došla do

vína první dávka síry v množství 50 mg.l⁻¹. Následně víno leželo na jemných kalech až do března, kdy proběhlo senzorické hodnocení.

Červené víno

Po odebrání poloviny rmutu z nádoby č. 2 byl přidán zákvas. Teplota rmutu byla 10 °C. K zakvašení byly použity zase stejné kvasinky. Do rmutu nebylo opět nic přidáváno navíc, pouze byl každý den míchán (ponoření matolinového klobouku). Materiál byl lisován po 34 dnech, stejně jako červená varianta u kryomacerace. Následně došlo ke stočení do skleněných demižónů a hrubému odkalení. Po 24 hodinách bylo víno stočené z kalů. První dávka síry přišla do vína po 5 dnech v množství 20 mg.l⁻¹. Víno leželo na jemných kalech do března, kdy proběhlo senzorické hodnocení.

4.3.2 Macerace 14 dní

Po pomletí byly do nádoby č. 1 přidány pelety suchého ledu, aby došlo k zchlazení rmutu. Počáteční teplota rmutu byla 11 °C a došlo ke zchlazení na 0 °C přidáním 8 kg suchého ledu. Nádoba se rmutem stála venku, takže se chladila i nočními nízkými teplotami. Další den se teplota při ranním měření vyšplhala na 7 °C a rmut byl schlazen na 4 °C. Přidáno bylo 2,5 kg suchého ledu. Stejně to proběhlo i následující 3 den. Od 4 dnu macerace se teplota držela přes noc na 1 °C a přes den na 3 °C, takže nemuselo docházet ke zchlazování suchým ledem.

Růžové víno

Po 14 dnech z nádoby č. 1 byla polovina rmutu odebrána a vylisována na hydrolisu. Další proces výroby probíhal stejně jako u kontrolní varianty růžového vína. Proběhlo odkalení, zakvašení stejnými kvasinkami, stejná délka fermentace i stejná dávka síry. Poté víno leželo na jemných kalech až do března, kdy došlo k senzorickému hodnocení.

Červené víno

Po odebrání poloviny rmutu z nádoby č. 1 byl přidán stejný zákvas jako u kontroly. Teplota rmutu se po přenesení do sklepa zvedla na 13 °C. Rmut prokvasil během 16 dnů a byl lisován stejně jako červená varianta u kontroly.

Následný postup výroby byl stejný jako u kontroly. Do vína došla stejná dávka síry a leželo na jemných kalech opět do března, kdy proběhlo senzorické hodnocení.

4.4 Analytické metody

U všech variant byly sledovány základní parametry jako jsou pH, titrovatelné kyseliny, cukernatost a asimilovatelný dusík. Dalším vybraným parametrem bylo sledování průběžné teploty rmutu. A pro porovnání variant byly stanoveny ještě tyto parametry: celkový obsah fenolů, obsah antokyanů, obsah katechinů, redukční síla a antiradikálová aktivita.

4.4.1 Hodnota pH

Hodnota pH je záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových kationtů v moštu nebo ve víně. Stanovuje se na základě měření potenciálu skleněné elektrody, které je závislé od aktivity vodíkových kationtů, vzhledem k referenční kalomelové elektrodě vhodným milivoltmetrem (pH-metrem), kalibrovaným tlumivými roztoky o známém pH. (BALÍK, 2011)

4.4.2 Titrovatelné kyseliny

Mezi hlavní organické kyseliny v bobulích a ve víně patří kyselina vinná a kyselina jablečná. Kyselina citronová se vyskytuje ve víně v malém množství. Kyseliny ovlivňují senzorické vlastnosti vína, složení i stabilitu. Mohou působit i jako konzervační činidlo. Nejzastoupenější kyselinou v hroznech a ve víně je kyselina vinná, která způsobuje ostrou, kyselou chuť. Kyselina jablečná má zase za následek dojem ostrých, nezralých, zelených tónů. (PAVLOUŠEK, 2010)

Veškerými titrovatelnými kyselinami ve víně se rozumí suma sloučenin, které jsou titrovatelné odměrným alkalickým roztokem do pH 7. (BALÍK, 2011)

Obsah veškerých titrovatelných kyselin se zjišťoval titrací 0,1 M NaOH do pH 7 na automatickém titrátoru TitroLine EASY.

K stanovení bylo odebráno 10 ml moštu nebo vína pomocí pipety a to do 50 ml kádinky. Dále bylo přidáno 10 ml destilované vody. Vzorek byl následně automaticky titrován roztokem NaOH do pH 7 pomocí elektromagnetického míchadla.

4.4.3 Cukernatost

Cukernatost byla stanovena refraktometricky pomocí refraktometru ve stupních Brix (měří poměr hmotnosti cukru a vody, ve kterém je dané množství cukru rozpuštěno). Hodnota ve °Brix byla převedena na stupně normalizovaného moštoměru.

4.4.4 Asimilovatelný dusík

Dusík je velmi důležitý prvek ve vinařství a má nezastupitelnou úlohu v průběhu alkoholové fermentace. Nepostradatelný je pro rozmnožování a působení kvasinek.

Obsah asimilovatelného dusíku v hroznech je závislý na hnojení, ročníku, půdě, ozelenění, podnoží a odrůdě. (BAROŇ, 2010)

Předfermentační macerace je také jedním z kroků, který obsah asimilovatelného dusíku v moštu zásadně ovlivňuje.

Obsah asimilovatelného dusíku byl stanoven pomocí automatického titrátoru TitroLine EASY.

K stanovení bylo odebráno 10 ml moštu nebo vína pomocí pipety a to do 50 ml kádinky. Dále bylo přidáno 10 ml destilované vody. Vzorek byl následně automaticky titrován roztokem NaOH do pH 7 pomocí elektromagnetického míchadla. Následně bylo přidáno 5 ml roztoku formaldehydu a roztok byl titrován do pH 7.

4.4.5 Teplota

Teplota rmutu se měřila pomocí rtuťového teploměru ve °C. Teplota rmutu se měřila v dopoledních hodinách a udržovala se pod 4 °C. První dva dny musela být teplota snížena pomocí suchého ledu. Další dny se již teplota držela na 3 °C a nemuselo dojít ke zchlazování.

4.4.6 Spektrofotometrická stanovení

Úprava vzorku

Vína byla před stanovením jednotlivých parametrů odstředěna (3000 x g; 6 min). Rosé vína byla pro spektrofotometrická stanovení jednotlivých parametrů použita neředěná, červená vína byla 5x zředěna ředicím pufrem o složení: 40 mM kyselina vinná, 40 mM octan sodný; 12 % ethanolu.

Jednotlivá spektrofotometrická stanovení byla provedena na automatickém biochemickém analyzátoru MIURA ONE (I.S.E. S.r.l.; Guidonia (RM) – Itálie). Jednotlivé metody byly uzpůsobeny použitému analyzátoru, kdy inkubace probíhá při 37 °C a inkubační doby je třeba přizpůsobit pracovním cyklům přístroje.

4.4.7 Stanovení celkových fenolů

Celkový obsah fenolů ve víně byl stanoven modifikovanou Folin-Ciocalteu metodou. K 198 µl vody bylo přidáno 12 µl vzorku a 10 µl Folin-Ciocalteu činidla. Po 36 sekundách bylo přidáno 30 µl roztoku dekahydrátu uhličitanu sodného (20%). Absorbance při 700 nm byla měřena po 600 sekundách. Koncentrace celkových fenolů byla na základě kalibrační křivky za použití kyseliny galové jako standardu (25-1000 mg.l⁻¹). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mg.l⁻¹ ekvivalentů kyseliny galové (GA). (WATERMAN, 1994)

4.4.8 Stanovení celkových antokyanů

Měření bylo provedeno SO₂ metodou. Bylo použito diferenciální měření mezi dvěma činidly. Objem vzorku 30µl, objem činidla 220µl. Činidlo 1 bylo 1,1 M HCl. Činidlo 2 bylo 0,1M K₂S₂O₅ s 0,2M kyselinou citronovou(SO₂). Po 600 sekundách inkubace byly změřeny absorbance při 520nm. (SOMERS, 1977, ZOECKLEIN, 1990)

4.4.9 Stanovení celkových flavanolů

Katechiny

Koncentrace celkových flavanolů byla stanovena pomocí metody založené na reakci s p-dimethylaminocinnamaldehydu (DMACA). Při této metodě na rozdíl

od široce používané reakci s vanilinem nedochází k interferenci s antokyaniny. Navíc poskytuje vyšší citlivost a selektivnost. K 240 μl činidla (0,1 % DMACA a 300 mM HCl v MeOH) bylo přidáno 10 μl vzorku, doba reakce byla 600 sekund. Poté byla změřena absorbance při 620nm. Koncentrace celkových flavanolů byla stanovena na základě kalibrační křivky za použití epikatechinu jako standardu (10-200 mg.l^{-1}). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mg.l^{-1} ekvivalentů katechinu. (LI, 1996)

4.4.10 Stanovení redukční síly – FRAP

Pro stanovení redukční schopnosti vína byla upravena metoda založená na redukci železitých iontů (ferric reducing/antioxidant power; FRAP). K 198 μl základního pufru obsahujícího 200mM octanu sodného upraveného kyselinou octovou na hodnotu pH 3,6 bylo přidáno 12 μl vzorku, 20 μl roztoku 20mM FeCl_3 a 20 μl 10mM TPTZ (2,4,6-tripirydyl-s-triazin) v 40mM HCl. Po 600 sekundách byla změřena absorbance při 620 nm. Redukční síla byla vypočítána z kalibrační křivky za použití kyseliny askorbové (AA; 0,1-3mM), nebo kyseliny galové (GA; 10-300 mg/l) jak standardu. Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mmol.l^{-1} ekvivalentů kyseliny askorbové (mM AA), nebo ve formě mg.l^{-1} ekvivalentů kyseliny galové (GA). (PAULIDO, 2000)

4.4.11 Stanovení antiradikálové aktivity – DPPH

Metoda je založena na deaktivaci komerčně dostupného 2,2-difenyl- β -pikrylhydrazylového radikálu (DPPH) projevujícího se úbytkem absorbance při 520 nm. K 268 μl roztoku DPPH v methanolu (300 μM) bylo přidáno 12 μl vzorku, absorbance při 520nm byla změřena po 360 sekundách a odečtena od absorbance měřené v čase 0. Antiradikálová aktivita byla stanovena na základě kalibrační křivky, za použití Troloxu jako standardu (0,1-3mM), nebo kyseliny galové (GA; 10-300 mg/l) jak standardu. Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mmol.l^{-1} ekvivalentů Troloxu, nebo ve formě mg.l^{-1} ekvivalentů kyseliny galové (GA). (ARNOUS, 2001)

4.5 Senzorické hodnocení

Senzorické hodnocení se uskutečnilo dne 21.3. 2017. Degustace proběhla v učebně Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici na Moravě. Vína hodnotilo 12 degustátorů, kteří disponovali osvědčením o absolvování výběru specializovaných expertů posuzovatelů pro senzorickou analýzu vín podle ČSN ISO 8586-1 nebo ČSN ISO 8586-2. Všechny varianty byly hodnocené stobodovou stupnicí OIV. Každý degustátor věděl, kterou variantu hodnotí. U každého vzorku byl ještě zhodnocen aromatický profil vína a struktura a mohutnost vína. Výsledky byly statisticky zpracované a graficky vyhodnocené.

5 Výsledky

5.1 Analytické vyhodnocení

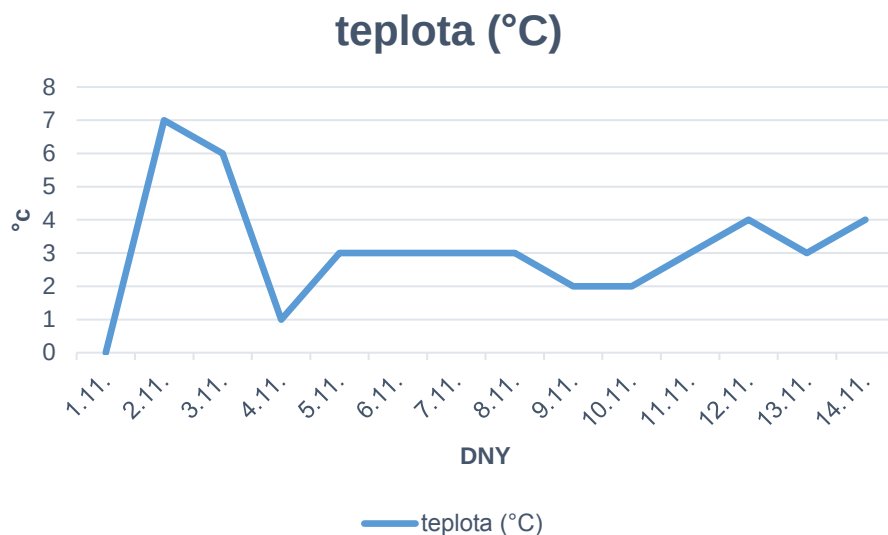
Z naměřených hodnot byly vytvořeny tabulky a grafy, které nám zobrazují průběh vývoje jednotlivých parametrů

Datum (listopad)	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.
teplota (°C)	0	7	6	1	3	3	3	3	2	2	3	4	3	4
pH	3,32	3,33	3,53	3,55	3,56	3,48	3,47	3,46	3,43	3,49	3,46	3,49	3,47	3,43
cukernatost (°NM)	20,3	19,9	20,6	20,4	19,5	19,4	19,4	19,4	19,4	19,3	19,2	19,1	19,3	19,7
titr. kys. (g.l ⁻¹)	6,9	6,4	6,3	6,2	5,4	5,6	5,4	5,3	5,6	5,5	5,7	5,2	5,6	5,4
YAN (mg.l ⁻¹)	214,5	263,8	237,0	244,4	245,9	241,3	239,2	247,4	254,8	253,4	222,1	248,9	252,6	259,3

Tabulka 3: Základní analytika u studené macerace

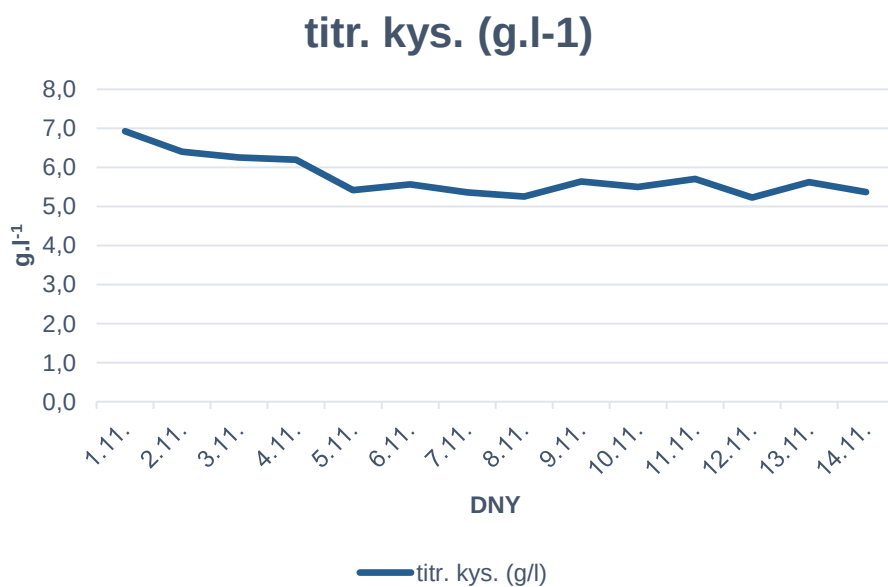
V tabulce 3 jsou zobrazeny výsledky parametrů základní analytiky u studené macerace během 14 dní.

V grafu 1 vidíme průběh teplot během jednotlivých dní. Během prvních 3 dnů byl teplota snížena pomocí suchého ledu. Od 4 dne již teplota nepřesáhla 4 °C.



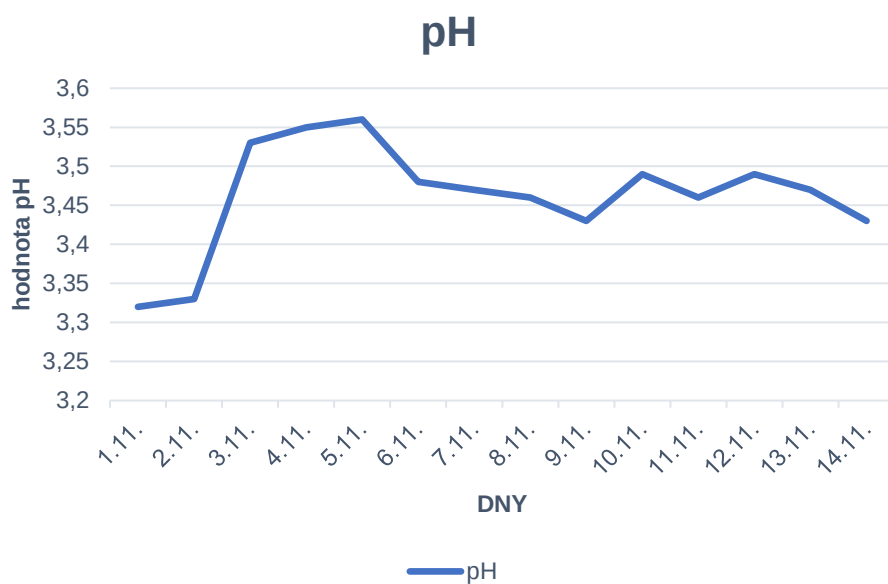
Graf 1: Teplota u studené macerace

Graf 2 ukazuje pokles celkových titrovatelných kyselin během 14 dnů macerace. Rozdíl mezi prvním a posledním dnem macerace je 1,5 g.l⁻¹.



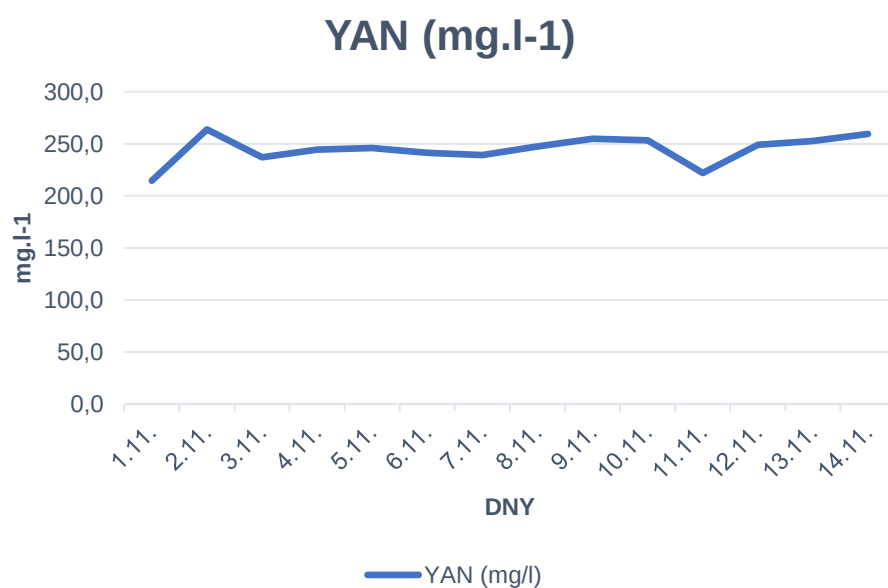
Graf 2: Obsah titrovatelných kyselin u studené macerace

Graf 3 znázorňuje vývoj pH, které stoupalo v prvních 5 dnech. Poté již bylo téměř konstantní.



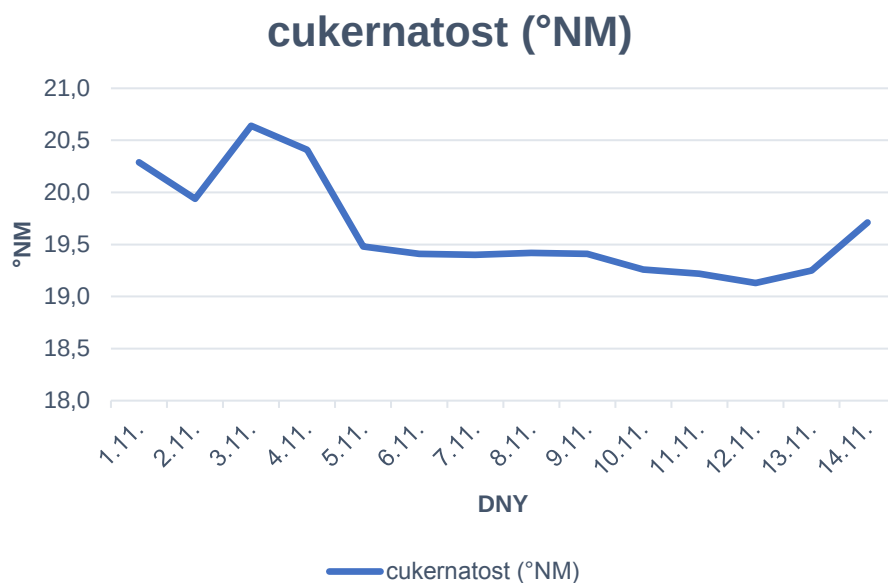
Graf 3: Hodnota pH u studené macerace

U grafu 4 vidíme intenzivní nárůst asimilovatelného dusíku během prvních 24 hodin. Poté kryomacerace hodnoty asimilovatelného dusíku téměř neovlivňovala.



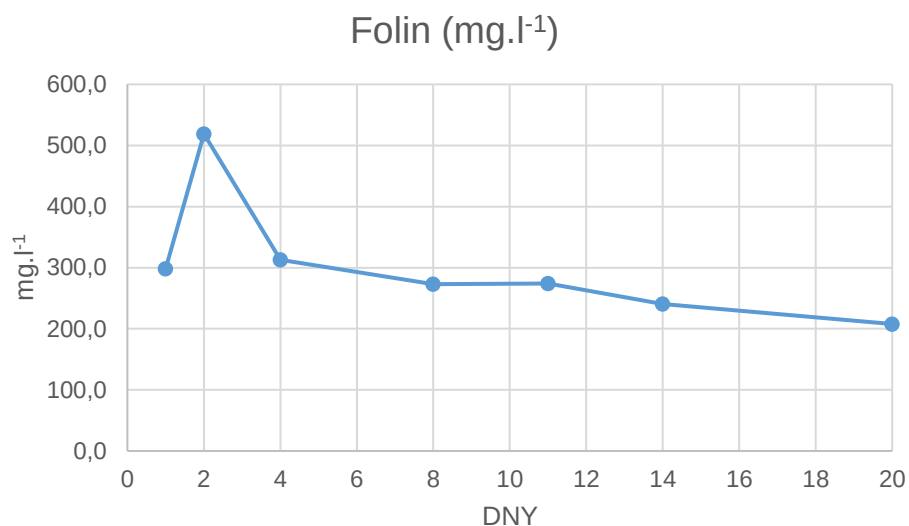
Graf 4: Obsah asimilovatelného dusíku u studené macerace

Graf 5 ukazuje cukernatost, která by měla být téměř konstantní. V grafu lze vidět, že rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou je 1,5 °NM. Měnicí se hustota rmutu během dlouhé macerace, nám ovlivňuje přesnost měření.

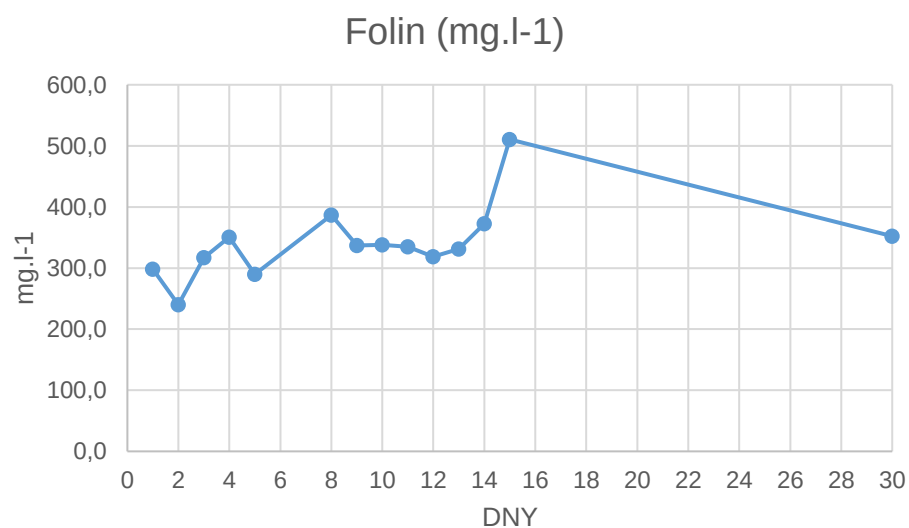


Graf 5: Cukernatost u studené macerace

Grafy 6 a 7 zobrazují množství celkových polyfenolů u růžových vín. U obou variant byl razantní nárůst polyfenolů po vylisování. Ovšem po fermentaci měla kontrola výrazně nižší obsah polyfenolů než studená varianta.

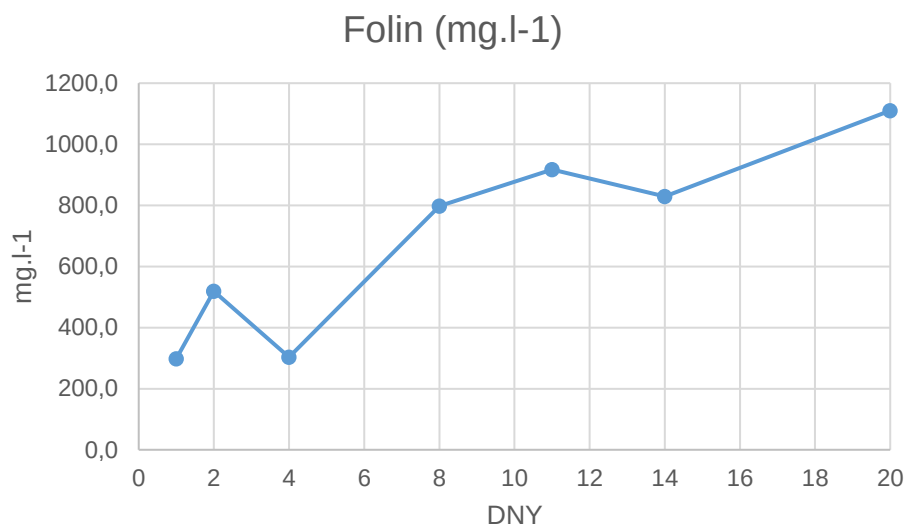


Graf 6: Celkové polyfenoly u rosé – kontrola

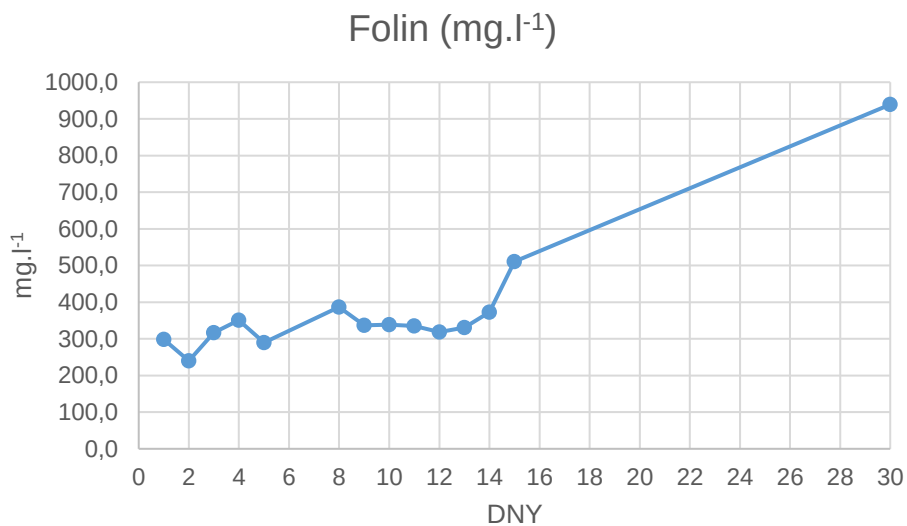


Graf 7: Celkové polyfenoly u rosé – kryo

Grafy 8 a 9 nám zobrazují celkové polyfenoly u červených vín. Je zde patrné, že vysoký nárůst polyfenolů je během fermentace. Po fermentaci je vyšší obsah polyfenolů u kontrolní varianty.

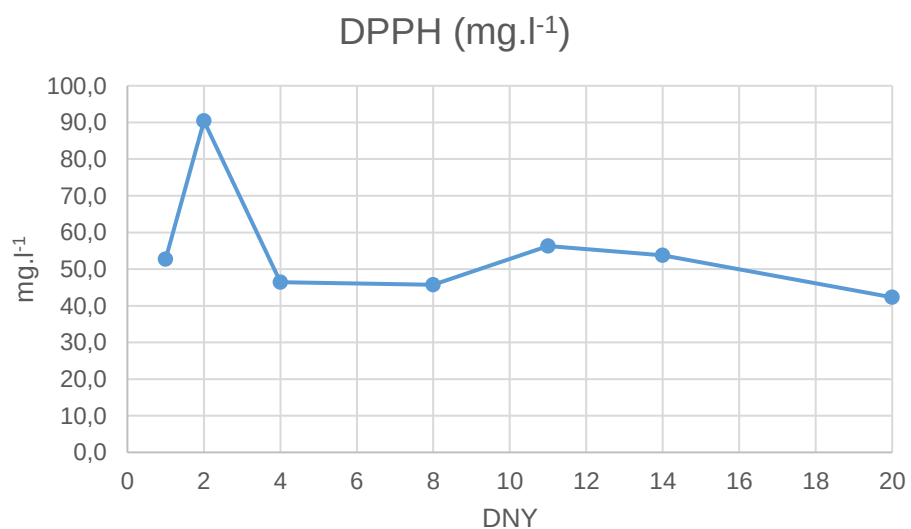


Graf 8: Celkové polyfenoly u červeného – kontrola

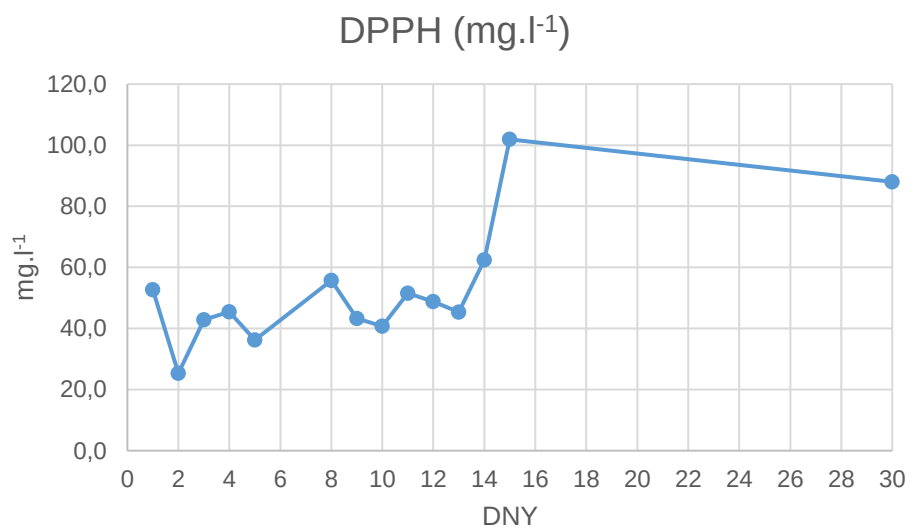


Graf 9: Celkové polyfenoly u červeného – kryo

Grafy 10 a 11 ukazují antiradikálovou aktivitu u růžových vín. Po fermentaci je o více než polovinu větší u studené varianty.

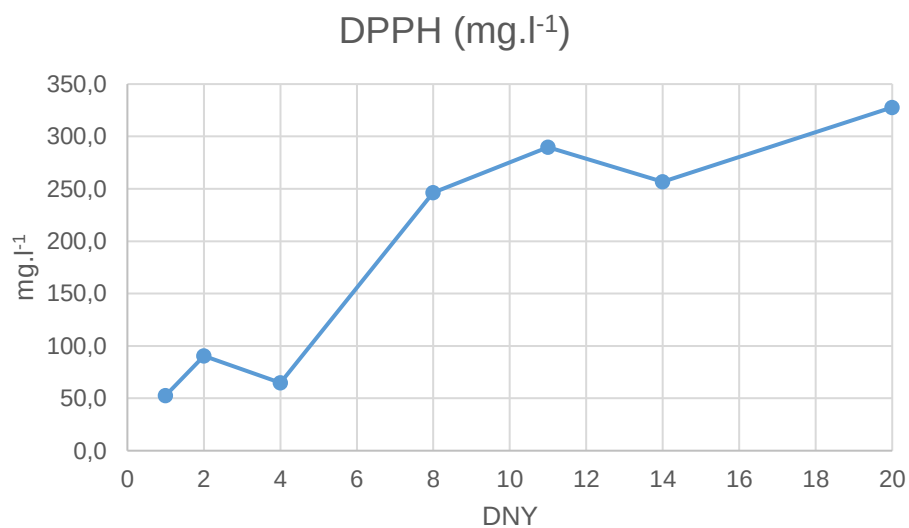


Graf 10: Antiradikálová aktivita u rosé – kontrola

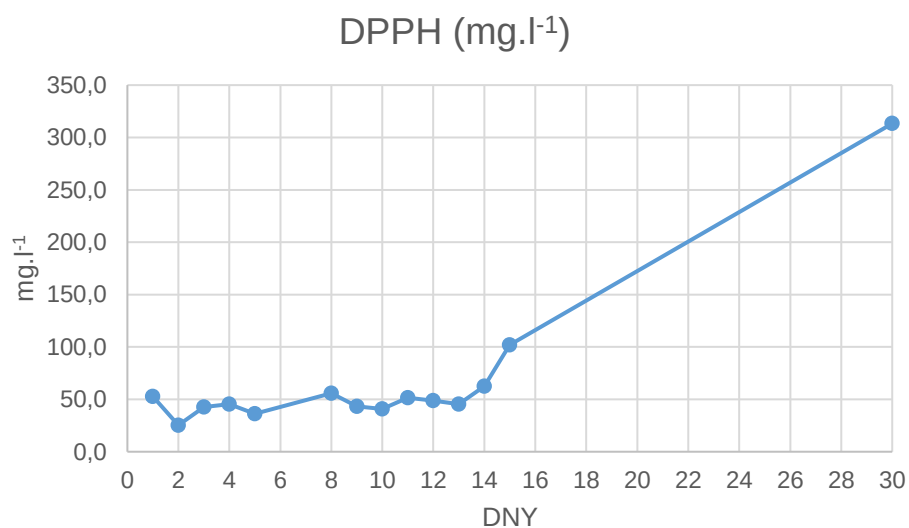


Graf 11: Antiradikálová aktivita u rosé – kryo

Grafy 12 a 13 ukazují antiradikálovou aktivitu u červených vín. Konečné hodnoty po prokvašení jsou téměř shodné u obou variant.

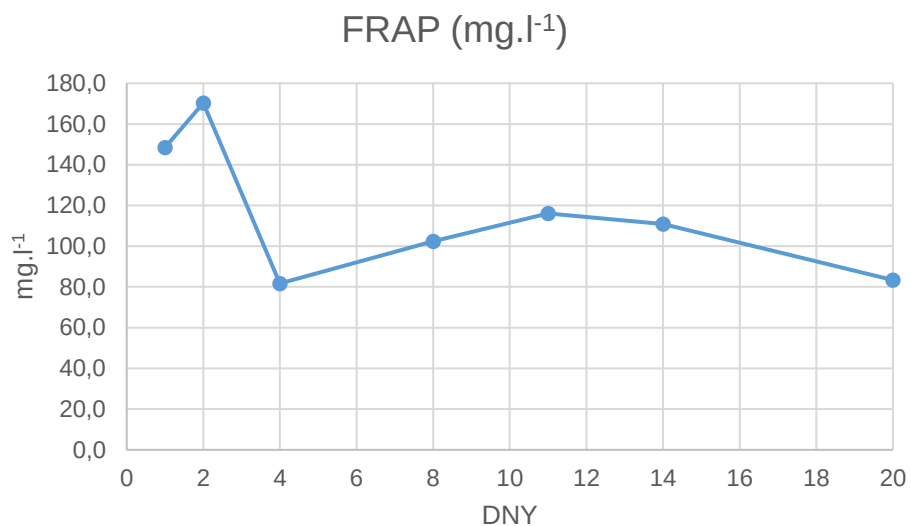


Graf 12: Antiradikálová aktivita u červeného – kontrola

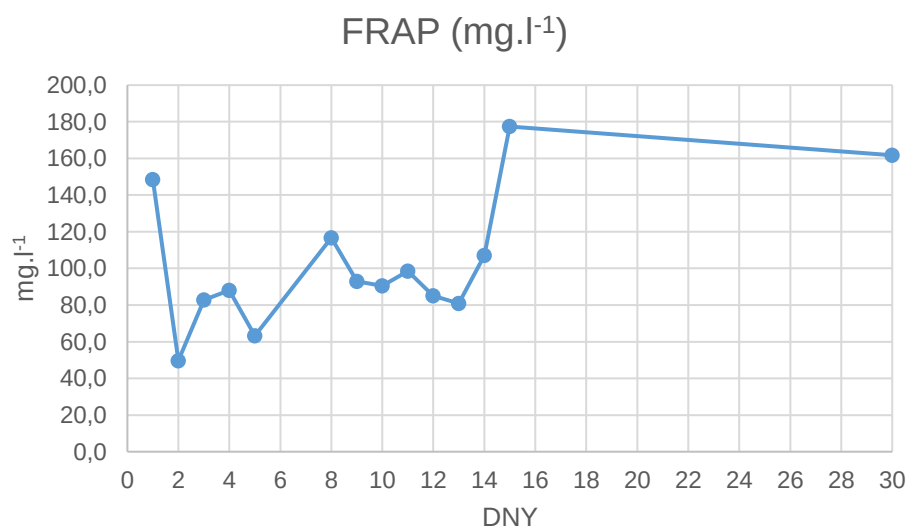


Graf 13: Antiradikálová aktivita u červeného – kryo

Grafy 14 a 15 vyjadřují redukční sílu u růžových vín. Před fermentací byla srovnatelná u obou variant, avšak po fermentaci byla u studené varianty dvojnásobná.

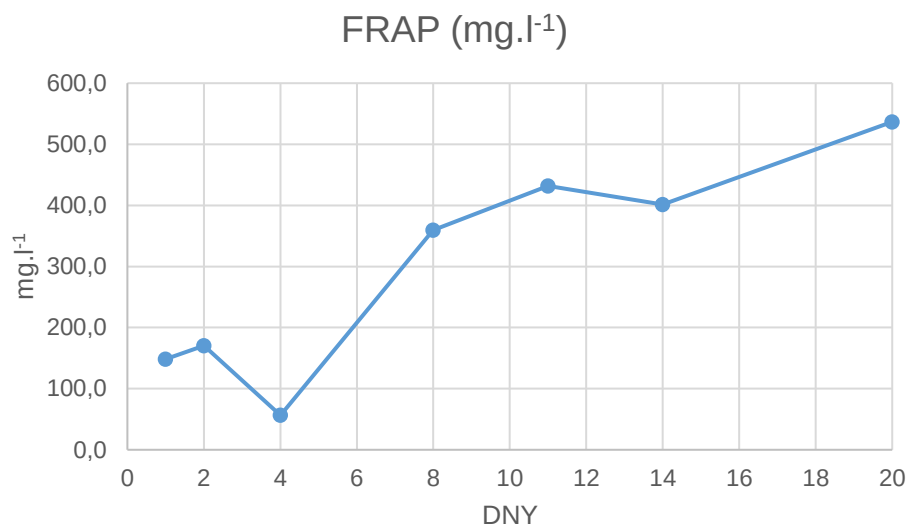


Graf 14: Redukční síla u rosé – kontrola

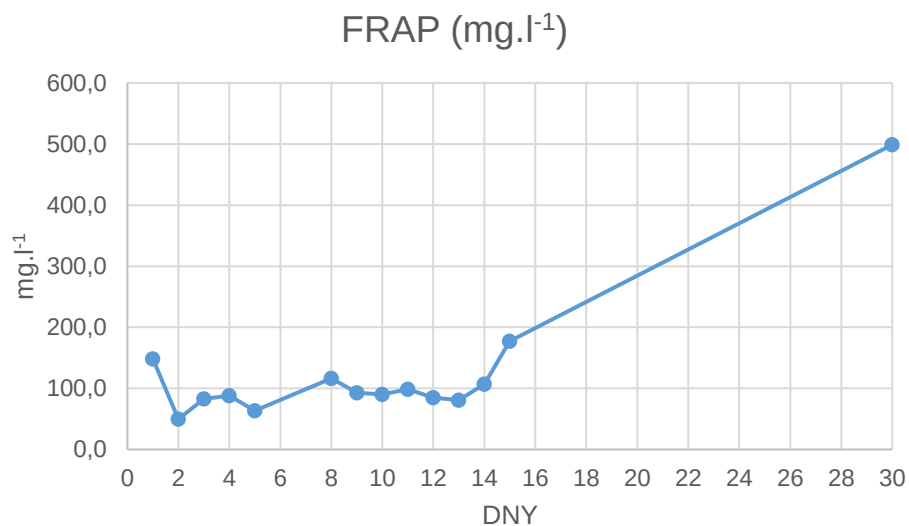


Graf 15: Redukční síla u rosé - kryo

Grafy 16 a 17 vyjadřují redukční sílu u červených vín. Zde je po dokvašení redukční síla nepatrně vyšší u kontrolní varianty.

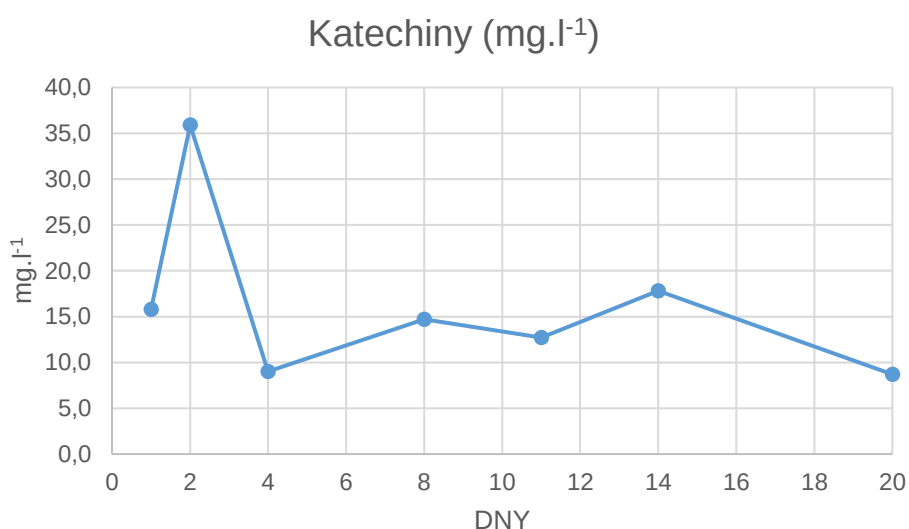


Graf 16: Redukční síla u červeného – kontrola

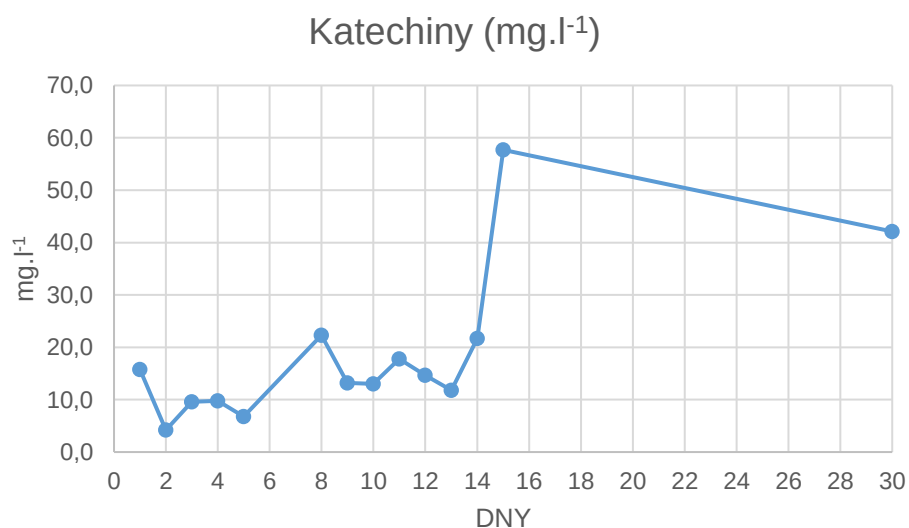


Graf 17: Redukční síla u červeného – kryo

Grafy 18 a 19 zobrazují množství katechinů u růžových vín. U prokvašených vín je hodnota kontrolní varianty čtyřnásobně nižší než studená varianta.

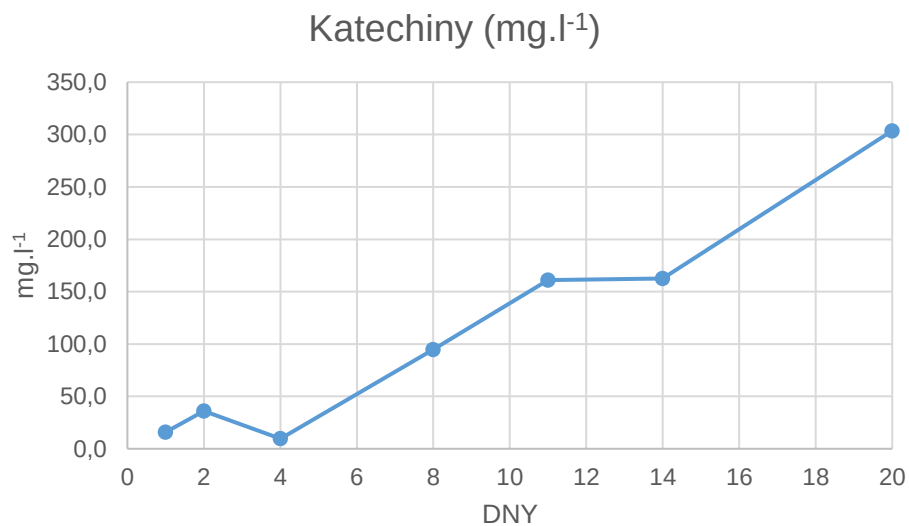


Graf 18: Množství katechinů u rosé – kontrola

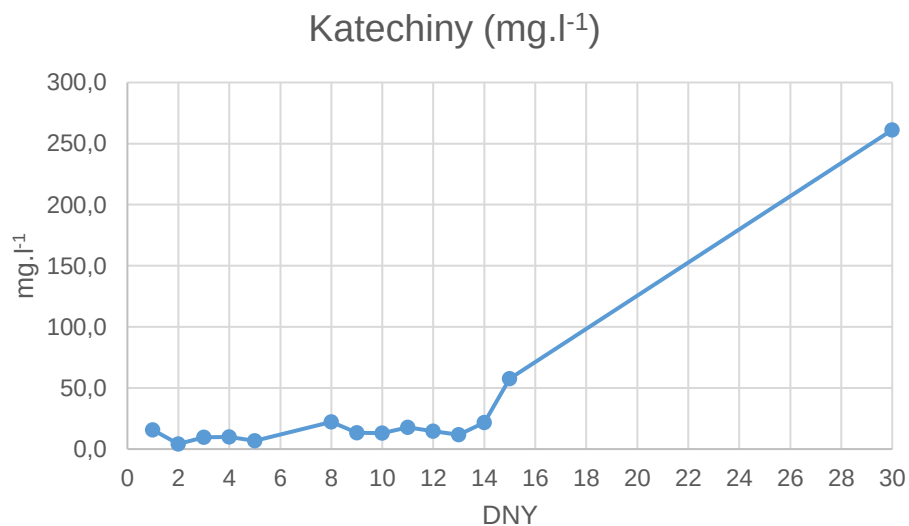


Graf 19: Množství katechinů u rosé – kryo

Grafy 20 a 21 nám zobrazují množství katechinů u červených vín. Celkové množství katechinů výrazně stoupl po fermentaci.

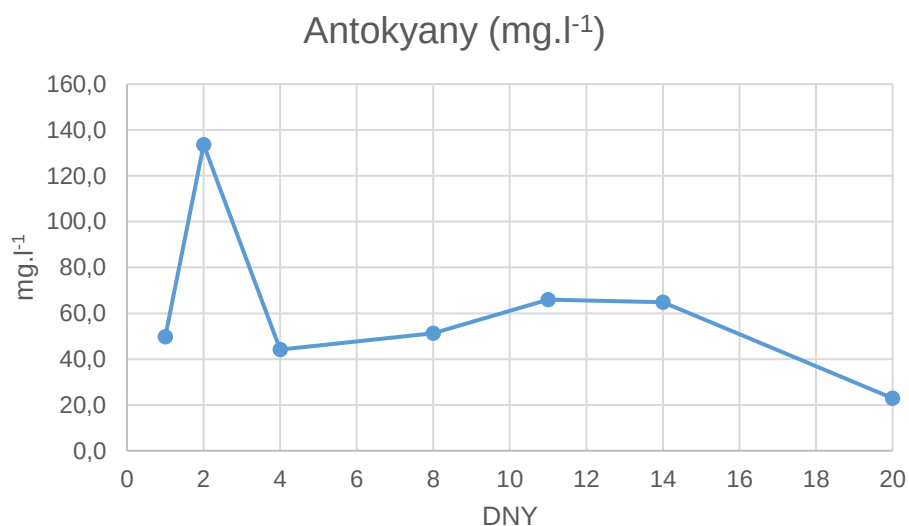


Graf 20: Množství katechinů u červeného – kontrola

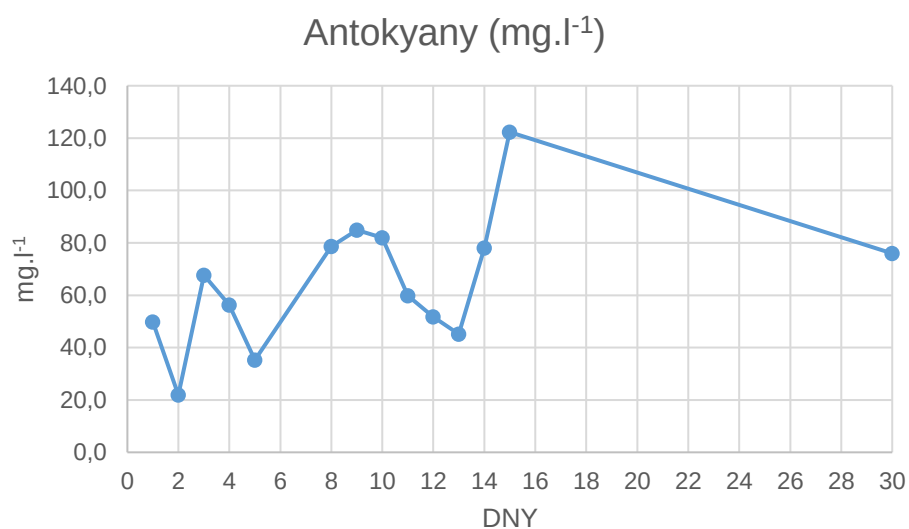


Graf 21: Množství katechinů u červeného – kryo

Grafy 22 a 23 ukazují celkové množství antokyanů u růžových vín. Podle předpokladů se obsah antokyanů zvýšil po lisování a po fermentaci opět klesl. Ovšem u studené varianty o třetinu a u kontrolní varianty klesl téměř sedminásobně. Studená varianta měla proti kontrole čtyřnásobně vyšší obsah antokyanů.

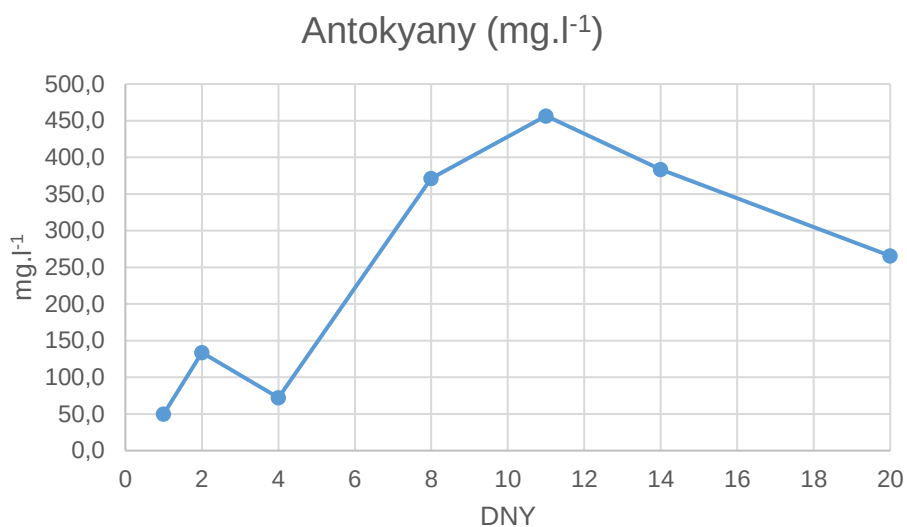


Graf 22: Množství antokyanů u rosé – kontrola

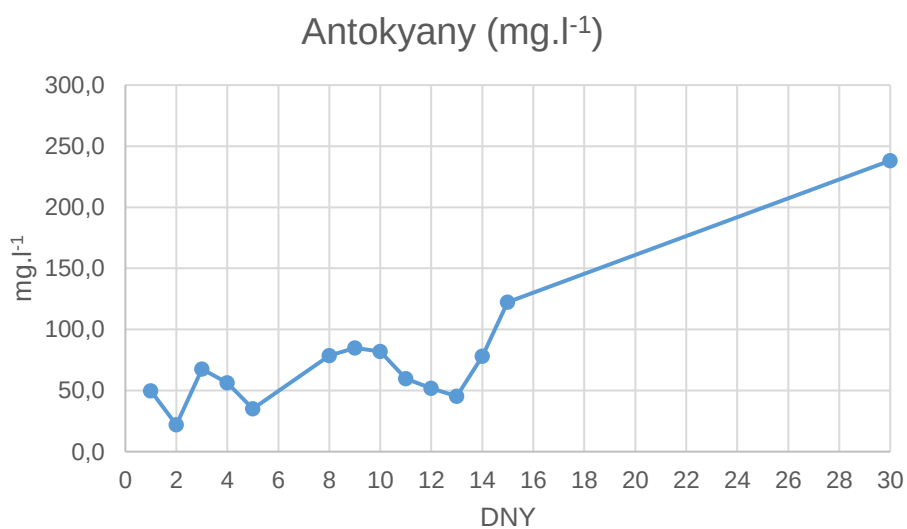


Graf 23: Množství antokyanů u rosé – kryo

Grafy 24 a 25 ukazují celkové množství antokyanů u červených vín. Po maceraci byl obsah antokyanů u obou variant podobný. U kontroly během fermentace byl obsah antokyanů největší v polovině a následně opět klesl. U studené varianty bylo množství antokyanů po fermentaci o něco nižší proti kontrole.



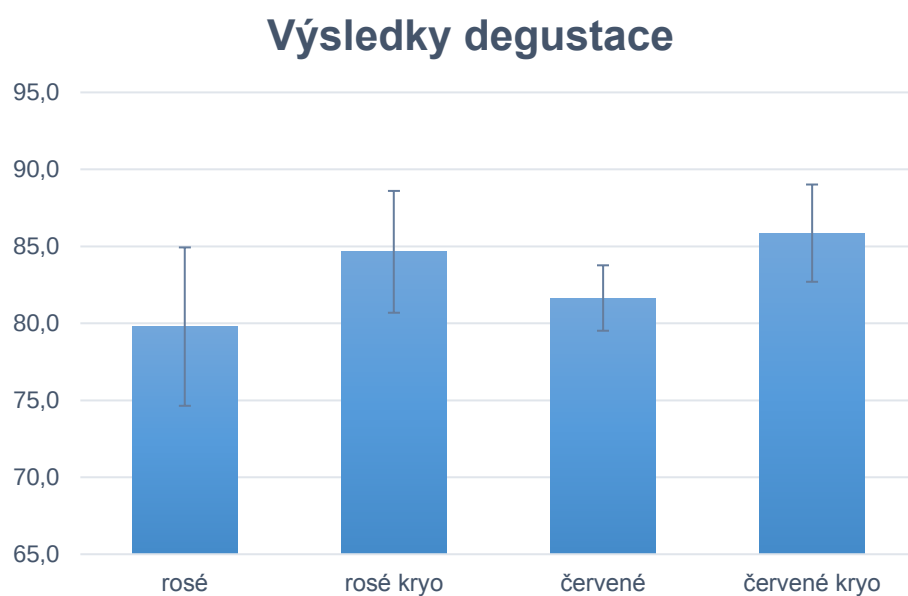
Graf 24: Množství antokyanů u červeného – kontrola



Graf 25: Množství antokyanů u červeného – kryo

5.2 Senzorické vyhodnocení

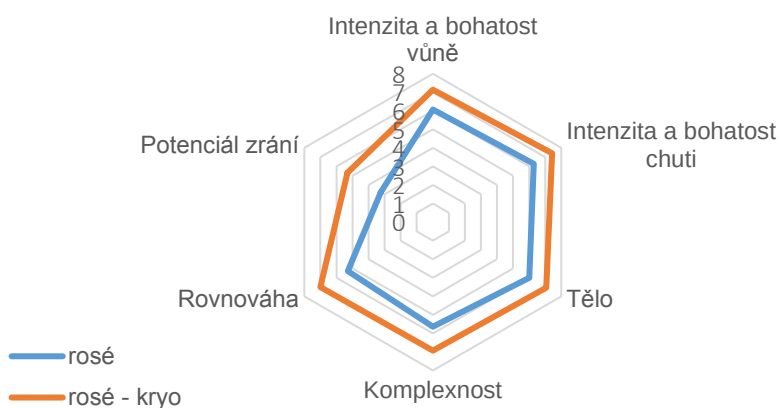
Graf 26 nám zobrazuje výsledky sensorického hodnocení, které se uskutečnilo 21.3. 2017. Hodnotilo se podle stobodové stupnice. Ze sensorického hlediska dopadly nejlépe varianty dělané studenou macerací. Úplně nejlépe dopadlo červené víno, které vyčnívalo komplexností, plností a bohatostí chutě i vůně.



Graf 26: Výsledky sensorického hodnocení ze stobodové tabulky

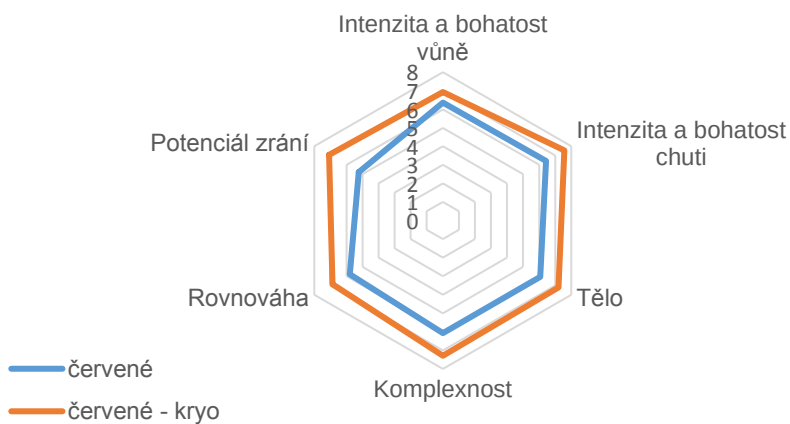
Grafy 27 a 28 zobrazují strukturu a mohutnost hodnocených vín. Nejlepších výsledků dosáhla vína vyráběná kryomacerací. Červené víno (kryo) vynikalo intenzitou a bohatostí chutě a potenciálem zrání.

Struktura a mohutnost vína



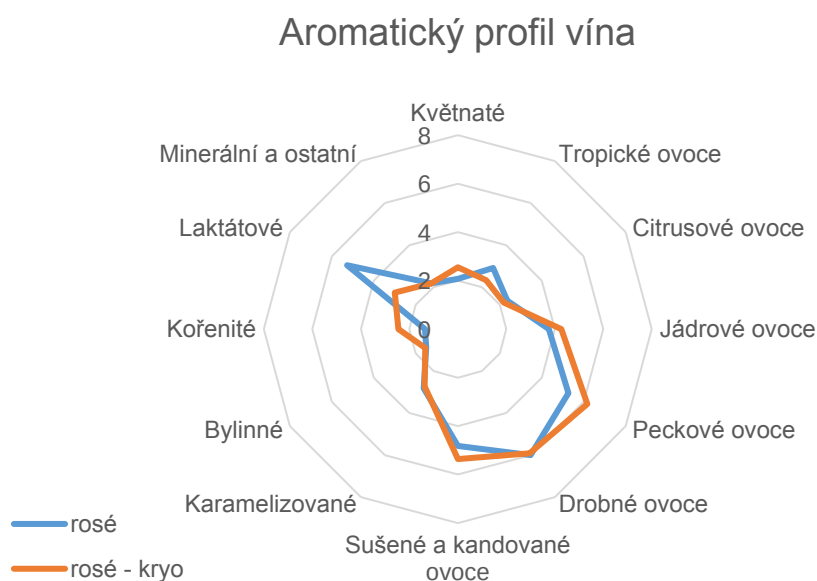
Graf 27: Struktura a mohutnost u růžových vín

Struktura a mohutnost vína

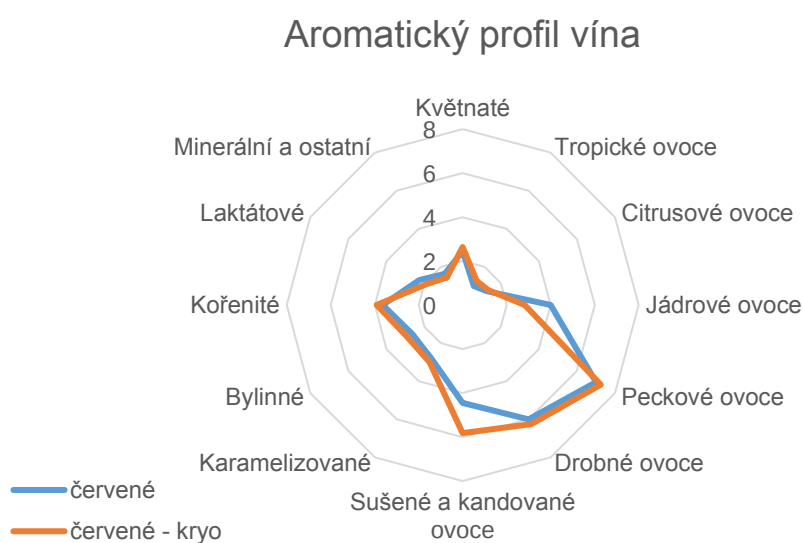


Graf 28: Struktura a mohutnost u červených vín

V grafech 29 a 30 jsou zobrazeny aromatické profily vín. U růžových vín vyčnívalo peckové a drobné ovoce. U kontrolní varianty růžového vína byly výraznější laktátové tóny. V červených vínech dominovalo hlavně peckové ovoce.



Graf 29: Aromatický profil u růžových vín



Graf 30: Aromatický profil u červených vín

6 Diskuze

Z naměřených hodnot vyplývá, že zkoušené vzorky dosáhly předpokládaných výsledků. A po celkovém zhodnocení jsme dospěli i k novým poznatkům v této technologii.

Dle Kaspara (2013) macerace zvyšuje pH v mošttech, ale v případě studené macerace jenom mírně. Zvýšení pH během kryomacerace se potvrdilo i u tohoto pokusu. Ovšem podle Stejskala (2015), který prováděl pokus na třech variantách se hodnota pH při nízkých teplotách macerace nemění a nemá tudíž na to žádný vliv.

Kryomacerace nám ovlivňuje i obsah celkových kyselin v mošttech. V tomto případě došlo během 14 dnů ke snížení obsahu celkových kyselin. Toho lze využít u vín s vysokými kyselinami např. v nepříznivých ročnících. Pokles kyselin potvrdil i Michlovský (2014). Podle Kaspara (2013) byl největší pokles u kyseliny vinné. Zvýšením pH a snížením kyselin si můžeme u červených vín nastavit i vhodné podmínky pro malolaktickou fermentaci.

Dalším parametrem, který ovlivňuje studená macerace, je asimilovatelný dusík. Asimilovatelný dusík je především důležitý jako zdroj výživy pro kvasinky. Stejskal (2015) uvádí, že během delší macerace dochází k nárůstu asimilovatelného dusíku, ale zase příliš dlouhá macerace jeho množství pomalu snižuje. Nárůst dusíku se potvrdil i v našem případě, kdy byl největší na začátku macerace, ovšem nedošlo k jeho úbytku, ale po zbytek času zůstaly hodnoty stejné. Tento fakt potvrdil i Bíza (2016) a hodnoty se zvětšovaly ve všech jeho variantách bez rozdílu teploty a času.

U růžového vína byla intenzivnější barva, díky stabilitě barviv během fermentace. S tímto se ztotožňuje i Alvarez (2005), který potvrdil zvýšení hustoty barvy a nárůst antokyanů během kryomacerace u červených vín. V našem případě bylo u růžového vína množství antokyanů čtyřnásobně vyšší u studené varianty než u kontroly. Naopak u červených vín měla kontrola obsah antokyanů o něco vyšší. Z výsledků můžeme usoudit, že snížení teploty během macerace zpomalí uvolňování barviv. U růžových vín si tak můžeme během delšího macerování pohlídat uvolňování barviv a intenzitu barvy, tak aby nebyla příliš vysoká. Červené víno fermentovalo v kontaktu se slupkami a až během fermentace došlo k největšímu uvolňování barviv. Studená macerace se tak

neprojevila jako zásadní při uvolňování barviv. Zvýšení antokyanů a fenolů při studené maceraci potvrdil i GIL-MUNOZ aj. (2009), který maceroval odrůdy ,Cabernet Sauvignon' a ,Shiraz' při teplotě 10 °C po dobu 7 dní.

Matochová (2013) tvrdí, že kryomacerace s použitím suchého ledu je výhodná jen v některých případech a z hlediska ekonomického je náročná. S ekonomickou náročností lze souhlasit a v praxi je proto lepší při použití suchého ledu nechat rmut v prostředí s nižšími teplotami. Tím dojde k pomalejšímu ohřívání rmutu a k menší spotřebě suchého ledu.

Zajímavé byly výsledky senzorického hodnocení. Vína vyrobená studenou macerací se ukázala být intenzivnější a bohatší ve vůni i v chuti. Tato vína byla komplexnější, plnější i s delším potenciálem zrání.

Podle Stejskala (2015) se při této technologii vytváří spíše ovocné typy vín a ty by se měli do několika roků vypít a nehodí se na delší skladování. Dochází i k uvolnění katechinů, které přispívají k vyšší stabilitě vín. V tomto případě bylo daleko větší množství katechinů u červených vín, díky delšímu kontaktu se slupkami. U růžových vín se tato skutečnost projevila v případě studené varianty, kdy bylo množství katechinů čtyřnásobně větší proti kontrole.

Dle Kaspara (2013) získáváme při maceraci vína s odrůdovějším charakterem. Chuť vín je plná, extraktivní, harmonická a vůně aromatictější než u vín, která jsou lisována hned. Téhož názoru jsou i Michlovský (2014) a Bíza (2016). Podle nich bývají vína lehčího typu a nehodí se pro dlouhé skladování. Tvrzení těchto autorů se prokázalo i v tomto pokusu.

Stejskal (2015) prováděl maceraci při teplotě 0 °C po dobu 7 dní u bílých vín. Délka nebyla příliš ideální a vína senzoricky obsahovala více tríslovitých fenolů a nepůsobila příjemně. Ve vlastním pokusu byla délka studené macerace 14 dní. V červeném víně se doba macerace projevila pozitivně. Ve vůni bylo velmi intenzivní a chuťově působilo víno plným, jemným a perzistentním dojmem. Převládaly v něm ovocné tóny především peckového ovoce. V růžovém víně se délka macerace projevila spíše negativně a volil bych kratší dobu. Barva byla malinová a velmi intenzivní. Vůně byla těžší a převládalo v ní sušené ovoce a zelené tóny. Víno šlo mírně do stylu červených vín. Z toho vyplývá, že délka macerace mohla být kratší.

7 Závěr

Kryomacerace je v posledních letech stále častěji využívanou metodou. Díky ní se dají nastavit potřebné nebo kýžené parametry moštu ještě před fermentací. Velká řada fenolických i aromatických látek je obsažena ve slupkách a při porušení slupek dojde k jejich uvolnění. Pokusy, kde byla provedena studená macerace, ukázaly zvýšení pH, asimilovatelného dusíku, fenolických látek a snížení celkových kyselin u vín.

Plánem mé práce bylo vyzkoušet si tuto metodu v praxi. Získat nové informace a ověřit si dosavadní poznatky o kryomaceraci. Vína byla vyrobena ze stejné odrůdy, ze stejných hroznů. Byly nastaveny stejné podmínky pro kvašení a přidána při stáčení i stejná dávka oxidu siřičitého. Jediný rozdíl byl v délce a teplotě při maceraci.

Z výsledků získaných tohoto pokusu se potvrdilo, že studená macerace zvyšuje pH a asimilovatelný dusík. Asimilovatelný dusík je především důležitý jako zdroj výživy pro kvasinky. Potvrdilo se i snížení celkových kyselin. Toho lze využít u vín s vysokými kyselinami např. v nepříznivých ročnících. Zvýšením pH a snížením kyselin si můžeme u červených vín nastavit i vhodné podmínky pro malolaktickou fermentaci. Potvrdila se i intenzivnější barva u růžového vína, díky stabilitě barviv během fermentace.

8 Doporučení pro praxi

U červeného vína se zdála být délka macerace v pořádku. Aromaticky bylo velmi intenzivní a chuť byla plná, jemná, perzistentní a dominovaly v ní ovocné tóny. U růžového vína bych volil kratší délku macerace. Barva byla velmi intenzivní. Ve vůni těžší s aromatikou sušeného ovoce, až zelenými tóny. Z toho se dá usoudit, že délka macerace byla zbytečně dlouhá.

K pokusu bylo použito 15 kg suchého ledu. Celková cena byla 545 Kč a led byl zpracován během prvních 3 dnů. V následujících dnech byly příznivé nižší teploty tudíž nebylo potřeba rmut chladit suchým ledem. Při větším množství rmutu a vyšším teplotám by se cena vyšplhala mnohonásobně výš.

V praxi bych doporučoval při použití suchého ledu nechat rmut v klimatizovaných prostorách nebo při nízkých teplotách venku. Tímto bychom snížili množství použitého ledu. Ve větších provozech by se dalo zvážit i koupení peletizéru. Samozřejmě záleží na možnostech jednotlivého vinaře.

9 Souhrn

Diplomová práce se zabývá kryomacerací, a především využitím suchého ledu v technologii vín. Porovnává se rozdíl základních parametrů vín a obsah fenolických a senzorických rozdílů u hotových vín.

V literární části je popsán princip studené macerace. Metody kryomacerace, a hlavně metoda s použitím suchého ledu. Dále je zhodnocena nákladnost výroby suchého ledu a použití. A na závěr je popsána macerace modrých hroznů a jejich lisování.

V úvodu experimentální části je popsána odrůda ‚Frankovka‘, která byla k pokusu použita a její počáteční parametry. Následně je vysvětlena technologie přípravy a celý proces pokusu a závěr obsahuje popis analytických a senzorických metod, které se prováděly.

Výsledky nám ukazují, k jakým závěrům jsme se dopracovali. Vše je znázorněno a popsáno v grafech.

Klíčová slova: Kryomacerace, macerace, suchý led, fenolické látky

10 Summary

This Diploma thesis contains information about cryomaceration and using of dry ice in wine technology. Base on that we could compare differences in basic wine parameters or amount of fenolic and sensoric contrasts in mature wines.

In theoretical part of this thesis are describe principles of cold maceration or cryomaceration, but main focus was on maceration method with dry ice. In next part we oriented on calculating total costs and usefulness of dry ice. Final part is all about maceration and squeezing of blue grapes.

In the beginning of experimental part is described variety ‚Frankovka‘ in general, which was used to this experiments. In following article is explained how the experiment was handled, what practices were used for it and why I chose analytic and sensoric method for this experiment.

In Final part are presented graphs, results, conclusions we made in this experiment.

Key words: Kryomaceration, maceration, dry ice, fenolic substance

11 Seznam použité literatury

ALVAREZ, I.; ALEIXANDRE, J. L.; GARCIA, M. J.; LIZAMA, V. Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Analytica Chimica Acta*. 2006, roč. 563, 1-2, s. 109-115. ISSN 00032670. DOI: 10.1016/j.aca.2005.10.068.

ALVAREZ, INMACULADA; ALEIXANDRE, JOSE LUIS; GARCIA, MARIA JOSE; LIZA-MA, VICTORIA; ALEIXANDRE-TUDO, JOSE LUIS. Effect of the prefermentative addition of copigments on the polyphenolic composition of Tempranillo wines after malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*. 2009, roč. 228, č. 4, s. 501-510. ISSN 1438-2377. DOI: 10.1007/s00217-008-0957-0.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.P.; KEFALAS P. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 5736-5742.

BAKKER, J.; CLARKE, R.. *Wine flavour chemistry*. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, 2012, xix, 418 p. ISBN 978-144-4330-427.

BALÍK, Josef. Vinařství: návody do laboratorních cvičení. Vyd. 3., nezměn. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2011. ISBN 80-7157-933-5.

BAROŇ, M. Předfermentační macerace v technologii vína a její vliv na obsahové látky. Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod vínem / . Velké Bílovice: Svaz vinařů České republik, 2009, 102 (2009), č. 12, s. 2. ISSN 1212-7884.

BAROŇ, Mojmír. *Možnosti snížení obsahu oxidu siřičitého v technologii réвовých vín: Possibilities of sulfur dioxide reduction [i.e. reduction] in wine technology : původní vědecká práce*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013. Folia Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. ISBN 978-80-7375-924-7.

BÍZA, P. *Vliv různých technik macerace na obsahové látky vína*. Lednice, 2016, Bakalářská práce (Bc.). Mendelova Univerzita, Zahradnická fakulta.

BRANCO, J M. -- RIBÉREAU-GAYON, P. *Handbook of enology. : The chemistry of wine stabilization and treatments. volume 2.* Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103962, 97804700103722. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010398>.

BURG, P. -- ZEMÁNEK, P. Kryomacerace ve vinařství. *Vinař – sadař: odborný časopis pro vinohradníky, vinaře a ovocnáře*. 2013. sv. 2013, č. 3, s. 33. ISSN 1804-3054.

BURG, P. -- ZEMÁNEK, P. Technické prostředky pro kryomaceraci. *Vinařský obzor*. 2013. sv. 106, č. 1, s. 26--28. ISSN 1212-7884.

DADÁKOVÁ E., VRCHOTOVÁ N., TŘÍSKA J., KYSELÁKOVÁ M., 2003: Stanovení volného a celkového kvercetinu v moravských červených vínech. *Chemické listy*, 97: 558-661.

DICEY, M. *THE EFFECT OF COLD MACERATION WITH AND WITHOUT SULPHUR DIOXIDE ON PINOT NOIR WINE*. Lincoln University, 1996. Abstract of a thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of M.Appl.Sc. Lincoln University.

DOWNEY, M.; HARVEY, J.; ROBINSON, S. *Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development*. Australian Journal of Grape wine Res. 9, 2003. s. 15-27.

Flavonoidy brusinky ohelo. *Toxicology* [online]. Praha: Jiří Patočka, 2010 [cit. 2017-05-02].

Frankovka. *Www.wineofczechrapublic.cz* [online]. Brno: Vinařský fond, 2015 [cit. 2017-04-26].

GIL-MUNOZ, ROCIO; MORENO-PEREZ, ANA; VILA-LOPEZ, ROSARIO; FERNAN-DEZ-FERNANDEZ, JOSE IGNACIO; MARTINEZ-CUTILLAS, ADRIAN; GOMEZ-PLAZA, ENCARNA. Influence of low temperature prefermentative techniques on chromatic and phenolic characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon wines. *European Food Research and Technology*. 2009, roč. 228, č. 5, s. 777-788. ISSN 1438-2377. DOI: 10.1007/s00217-008-0989-5.

GOMEZ-PLAZA, E.; GIL-MUNOZ, R.; LOPEZ-ROCA, J. M.; MARTINEZ, A. *Color and Phenolic Compounds of a Young Red Wine. Influence of Wine-Making Techniques, Storage Temperature, and Length of Storage Time. Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, roč. 48, č. 3, s. 736-741. ISSN 0021-8561. DOI: 10.1021/jf9902548.

GOMEZ-PLAZA, E; GIL-MUNOZ, R.; LOPEZ-ROCA, J. M.; MARTINEZ-CUTILLAS, E.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, J. I. AMERICAN JOURNAL OF ENOLOGY AND VITICULTURE. *Phenolic compounds and color stability of red wines: Effect of skin maceration time*. 2001, roč. 52, č. 3, s. 266-270. ISBN 978-80-87573-05-1.

IVANA LUDVÍKOVÁ, Jiří Sedlo a Richard Stávek] [FOROGRAFIE ODRŮD MILOSLAV RICHTER. *Přehled odrůd révy 2004*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, 2004. ISBN 9788090353435

IVANOVA, V., a kol., Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods, *Journal of the Serbian Chical Society*, 2009, 75, s. 45-59

KASPAR, A. *Vliv studené macerace na obsahové látky moštů révy vinné*. Lednice, 2013, Bakalářská práce (Bc.). Mendelova Univerzita, Zahradnická fakulta.

LI, Y.-G.; TANNER, G.; LARKIN, P. The DMACA-HCl protocol and the threshold proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes. *J. Sci. Food Agric.* 1996, 70, 89-101.

MACHOVSKÁ, R. *Obsah fenolických látek v různých odrůdách révy vinné*. Zlín, 2012, Diplomová práce (Ing.). Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická

MATOCHOVÁ, P. *Před-fermentační macerace hroznů révy vinné*. Lednice, 2013, Bakalářská práce (Bc.). Mendelova Univerzita, Zahradnická fakulta

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Příprava bílých vín*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. 289 s. ISBN 978-80-905319-4-9.

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Příprava červených vín*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2015. ISBN 978-80-905319-5-6.

MINÁRIK, E. a NAVARA, A., *Chémia a mikrobiológia vína*, Prídofa, Bratislava 1986, ISBN 64-174-86

MORENO-ARRIBAS, M.; POLO, M. *Wine chemistry and biochemistry*. New York: Springer, c2009, xv, 735 p. ISBN 9780387741185-.

PARENTI, A.; SPUGNOLI, P.; CALAMAI, L.; FERRARI, S.; GORI, C. Effects of cold maceration on red wine quality from Tuscan Sangiovese grape. *European Food Research and Technology*. 2004, roč. 218, č. 4, s. 360-366. ISSN 1438-2377. DOI: 10.1007/s00217-003-0866-1.

PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, c2011, 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2.

PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2010, 120 s., [8] s. barev. obr. příl. ISBN 978-80-247-3487-3.

PUÉRTOLAS, E., G. SALDAÑA, I. ÁLVAREZ a J. RASO. Experimental design approach for the evaluation of anthocyanin content of rosé wines obtained by pulsed electric fields. Influence of temperature and time of maceration. *Food Chemistry*. 2011, roč. 126, č. 3, s. 1482-1487. ISSN 03088146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.164.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; Saura-Calixto, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 3396-3402.

RADEKA, S.; HERJAVEC, S.; PERSURIC, D.; LUKIC, I.; SLADONJA, B. Effect of different maceration treatments on free and bound varietal aroma compounds in wine of *Vitis vinifera* L. cv. Malvazija istarska bijela. *FOOD TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY*. 2008, roč. 46, č. 1, s. 86-92.

RIBÉREAU-GAYON, P. -- BRANCO, J. M. Handbook of enology. : The microbiology of wine and vinifications. volume 1. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103651, 97804700103411. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010363>.

SEDLO, Jiří a Ivana LUDVÍKOVÁ. *Přehled odrůd révy 2014*. Velké Bílovice: Svaz vinařů ČR ve spolupráci s ÚKZÚZ, 2014. ISBN 978-80-903534-7-3.

SOMERS, T.C.; EVANS, M.E. Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, "chemical age". *J. Sci. Food Agric.* 1977, 28, 279-287.

SOUQUET, J. M., CHEYNIER, V., MOUTONET, M., 2000: Les proanthocyanidines du raisin. Bulletin de l'OIV, 73: 601-609.

STÁVEK, Jan. *Rosé: veselý i vážný vícebarevný svět vína*. Praha: Radix, 2013.

STEJKAL, O. *Kryomacerace v technologii bílých vín*. Lednice, 2015, Diplomová práce (Ing.). Mendelova Univerzita, Zahradnická fakulta.

TRNA, J., TÁBORSKÁ, E. Přírodní polyfenolické antioxidanty [online]. [cit. 2011-8-24].

VELÍŠEK, J. Chemie potravin 2. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-01-1.

WATERMAN, P.G.; MOLE, S. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*; Blackwell Scientific Publ.: Oxford, 1994; s. 83-91.

ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; GUMP, B.H.; NURY, F.S. *Production Wine Analysis*; Van Nostrand Reinhold Publ.: New York, 1990; s. 129-168.