

Mendelova univerzita v Brně  
Zahradnická fakulta v Lednici  
Ústav Vinohradnictví a vinařství

---



## **Porovnání komerčně dostupných maceračních enzymů při výrobě bílých vín**

Vedoucí bakalářské práce:  
**Doc. Ing. Mojmír Baroň Ph.D.**

Vypracovala:  
**Daniela Maleňáková**

Lednice 2017



# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Daniela Maleňáková**

Studijní program: Zahradnické inženýrství

Obor: Vinohradnictví a vinařství

Název tématu: **Porovnání komerčně dostupných maceračních enzymů při výrobě bílých vín**

Rozsah práce: Min. 35

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte dostupnou literaturu. Vytvořte kvalitní, ucelenou a logickou literární rešerši na zadanou problematiku.
2. Zmapujte macerační enzymy na trhu přípravků v ČR. 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 konkrétních enzymů v praxi.

Seznam odborné literatury:

1. 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>.
2. 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>.
3. CLARKE, R J. – BAKKER, J. *Wine flavour chemistry*. 1. vyd. Ames, IA: Blackwell Publishing, 2004. 324 s. ISBN 1-405-10530-5.
4. BAKKER, J. – CLARKE, R J. *Wine flavour chemistry*. 2. vyd. Oxford: Wiley Blackwell, 2012. 418 s. ISBN 978-1-4443-3042-7.
5. POLO, C M. – MORENO-ARRIBAS, V M. *Wine chemistry and biochemistry*. 1. vyd. New York: Springer, 2008. 735 s. ISBN 978-0-387-74116-1.
6. HANZLOVÁ, M. *Vliv technologického postupu a užitých enzymů na složení vína a jeho senzorickou hodnotu*. Diplomová práce. Brno: MENDELU Brno, 2010. 82 s.

Datum zadání bakalářské práce: prosinec 2015

Termín odevzdání bakalářské práce: květen 2017

L. S.

*Maleňáková*

**Daniela Maleňáková**  
Autorka práce

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



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

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

## **Čestné prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem práci: „Porovnání komerčních dostupných maceračních enzymů při výrobě bílých vín“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím 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 vědoma, 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, 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 studenta

## **Poděkování**

Chtěla bych touto cestou poděkovat svému vedoucímu Doc. Ing. Mojmiru Baroňovi Ph.D. za odborné vedení práce a ústavu vinohradnictví a vinařství za poskytnutí prostorů a materiálu. Také bych chtěla poděkovat za odborné rady a pomoc při experimentu Bc. Zdeňku Pavlů.

Především bych pak chtěla poděkovat svému partnerovi Ing. Jakubu Rolečkovi a své rodině za cenné rady, trpělivost a pomoc při stylistických úpravách textu.

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>CÍL PRÁCE</b> .....	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ PŘEHLED</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1</b>	<b>Enzymy</b> .....	<b>10</b>
3.1.1	<i>Enzymy v hroznech</i> .....	11
3.1.2	<i>Enzymatické přeměny hroznů po sklizni</i> .....	12
3.1.3	<i>Enzymy ve vinařství</i> .....	13
3.1.4	<i>Využití enzymů</i> .....	18
<b>3.2</b>	<b>Pektinové látky v hroznech</b> .....	<b>21</b>
3.2.1	<i>Terminologie a monomerní složení pektinových látek</i> .....	21
3.2.2	<i>Charakterizace slupky a dužniny</i> .....	24
3.2.3	<i>Změny pektinů v buněčné stěně</i> .....	24
3.2.4	<i>Sezónní změny pektinů v hroznech a jejich vliv na extrakci šťávy</i> ..	24
3.2.5	<i>Změny celkového obsahu pektinových látek v moštu během zrání</i> .	25
3.2.6	<i>Molekulární struktury pektinových látek ve víně</i> .....	25
3.2.7	<i>Vliv pektinových látek na charakter vína</i> .....	25
<b>3.3</b>	<b>Macerace</b> .....	<b>26</b>
3.3.1	<i>Macerace bílých hroznů</i> .....	27
3.3.2	<i>Studená macerace (kryomacerace)</i> .....	27
3.3.3	<i>Supraextrakce</i> .....	29
3.3.4	<i>Thermoflash</i> .....	29
3.3.5	<i>Termovinifikace</i> .....	29
3.3.6	<i>Karbonická macerace</i> .....	30
<b>4</b>	<b>MATERIÁL A METODY</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>Popis materiálu</b> .....	<b>31</b>
4.1.1	<i>Odrůda</i> .....	31
4.1.2	<i>Stanoviště</i> .....	32
4.1.3	<i>Enzymy</i> .....	32
4.1.4	<i>Hydrolis</i> .....	35
<b>4.2</b>	<b>Metody měření</b> .....	<b>36</b>

4.2.1	<i>Stanovení pH</i> .....	36
4.2.2	<i>Refraktometrické stanovení cukernatosti</i> .....	36
4.2.3	<i>Stanovení titrovatelných kyselin</i> .....	37
4.2.4	<i>Stanovení celkového asimilovatelného dusíku</i> .....	38
4.2.5	<i>Měření turbidity</i> .....	38
4.2.6	<i>Spektrofotometrické stanovení polyfenolů</i> .....	39
<b>4.3</b>	<b>Experiment</b> .....	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY</b> .....	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>DISKUSE</b> .....	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>53</b>
<b>8</b>	<b>SOUHRN, RESUMÉ A KLÍČOVÁ SLOVA</b> .....	<b>54</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>55</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ</b> .....	<b>62</b>
<b>11</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK</b> .....	<b>63</b>

# 1 ÚVOD

Výroba vína má dlouhou tradici a název víno pochází pravděpodobně z gruzínského slova „gvino“. První důkazy o pěstování hroznů jsou staré přibližně 14 000 let, přičemž pozůstatky prvního vinařství byly archeology nalezeny v Arménii. Toto vinařství je podle dochovaných nádob a samotných semínek staré až 6 100 let [1].

Přestože toto odvětví od doby počátků zažilo velký pokrok a prošlo výraznou modernizací, mnoho vinařů se dnes opět vrací k základům zpracování vína, ke kterým patří i macerace.

Macerace je proces naležení pevných částí odstopkovaných bobulí s moštem. Jejím hlavním cílem je podpora odrudového aroma, extraktu a v neposlední řadě výraznější barvy vína. Macerací se také zvyšuje podíl asimilovatelného dusíku v moštu, který je potřebný ke kvalitnímu nastartování a průběhu fermentace. Macerace probíhá od několika hodin až po několik dní, přičemž konkrétní technologie macerace je zvolena podle kvality hroznů a podle požadavků na výsledný produkt.

Nejdůležitějším parametrem pro kvalitní průběh macerace jsou zdravé a dobře vyztřelé hrozny. Takovéto hrozny vznikají již ve vinici, kde je potřeba zvolit kvalitní výživu a ošetření révového keře. Vyztřelost hroznů je obzvláště důležitým parametrem u macerace bílých hroznů, kdy kontakt moštu s nezralými hrozny vede k extrakci bylinných tónů, které se projeví hořkou a trpkou chutí.

Proces macerace se dá urychlit přidávkem pektolytických enzymů, což jsou preparáty získané z houby *Aspergillus niger*. Slupky a dužnina bobulí obsahují velké množství pektinových látek, které jsou za běžných podmínek nerozpustné. Pektolytické enzymy vlastní řadu aktivit, které tyto látky účinně hydrolyzují a napomáhají tak jejich uvolňování do moštu.

Macerace bílých hroznů je v poslední době velmi studovanou a využívanou technologií, jelikož před-fermentační macerace je pro výrobu velkých a tělnatých bílých vín nezbytná. I proto se tomuto tématu v poslední době věnovalo několik prací. Hanzlová [2] se například zabývala vlivem technologického postupu a užitých enzymů na složení vína a jeho sensorickou hodnotu. Sapík [3] zkoumal vliv před-fermentační macerace na obsahové látky v moštu. Žádná z těchto prací se však nevěnovala srovnání enzymů použitých při maceraci. Cílem této práce je zmapovat v ČR komerčně dostupné macerační enzymy a jejich vliv na výlisnost, základní měřené parametry a polyfenolický profil moštu.



## 2 CÍL PRÁCE

### **Hlavní cíl práce:**

Hlavním cílem této práce je zmapovat v ČR komerčně dostupné macerační enzymy a jejich vliv na výlisnost, základní měřené parametry a polyfenolický profil moštu.

### **Dílčí cíle práce:**

1. Formou literární rešerše prostudovat dostupnou literaturu, která se zabývá enzymy, s bližším zaměřením na enzymy využívané ve vinařství, zejména pak na pektolytické enzymy. Dále pak popsat složení pektinů, jejich přeměnu během zrání, vliv na sensorické vlastnosti vína a také důsledky působení enzymů na pektinové látky. Další oblastí, na kterou je literární rešerše zaměřena jsou různé technologické postupy macerace.

2. Vybrat reprezentativní počet experimentálních variant pektolytických enzymů a následně provést macerační pokusy v provozních podmínkách.

3. Statisticky zpracovat a interpretovat získané výsledky a na základě získaných zkušeností vytvořit doporučení pro návazný výzkum a využití konkrétních enzymů v praxi.

## 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1 Enzymy

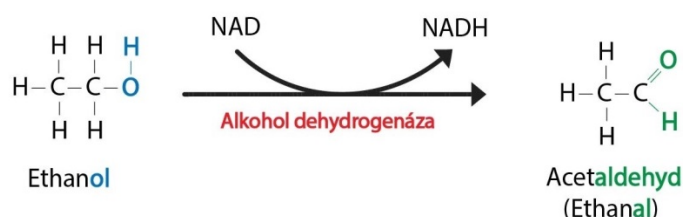
Enzymy jsou biokatalyzátory, které ovládají současně několik set chemických reakcí v buňce. Jsou součástí všech živých organismů. Jejich hlavní funkce je katalytická. Umožňují průběh mnoha biochemických reakcí, které by za normálních okolností měly příliš vysokou aktivační energii. Průběh reakce je enzymem značně ulehčen a také urychlen, mechanismus za přítomnosti enzymu vyžaduje nižší aktivační energii [5–7].

Většina enzymů jsou jednoduché či složené makromolekuly bílkovinné povahy, některé obsahují i nebílkovinnou část, tzv. kofaktor v podobě nízkomolekulární látky – koenzymu (není pevně vázaný na enzym) nebo pevně vázané struktury – prostetické skupiny. Nejdůležitější částí enzymu je aktivní místo (centrum), na které se pomocí vazebných skupin vážou substráty, a ty jsou za pomoci katalytických reakcí přeměněny na produkty. Enzymy jsou vysoce specifické a působí na jednom, nebo omezeném počtu substrátů. V závislosti na účelu použití jsou enzymy rozděleny do vlastní systematiky, která obsahuje u rostlin několik tisíc názvů [5–7].

Enzymy rozdělujeme do 6 hlavních skupin:

#### a) Oxidoreduktázy

Katalyzují oxidoredukční reakce (přenos vodíků, elektronů nebo reakce s kyslíkem). Nejznámějšími oxidoreduktázami jsou např. alkoholdehydrogenáza katalyzující přeměnu etanolu na acetaldehyd (Obr. 1) a laktátdehydrogenáza, ta katalyzuje přeměnu laktátu na pyruvát [5, 6].



Obr. 1: Přeměna etanolu na acetaldehyd [8].

#### b) Transferázy

Enzymy, katalyzující přenos skupin i celých molekul z dárce (donoru) na příjemce (akceptor). Jako příklad transferázy může být uvedena glutamyltransferázu nebo amintransferázu [5, 6].

c) *Hydrolázy*

Katalyzují hydrolytické štěpení vazeb. Patří mezi ně např. lipázy katalyzující hydrolýzu esterových vazeb, proteázy nebo glykosidázy [5, 6].

d) *Lyázy (syntázy)*

Tyto enzymy katalyzují reakce, v jejichž průběhu dochází ke štěpení vazeb jiným způsobem než hydrolýzou. Například enzym pyruvátdekarboxyláza katalyzuje odštěpení CO<sub>2</sub> z molekuly pyruvátu za vzniku acetaldehydu [5, 6].

e) *Isomerázy*

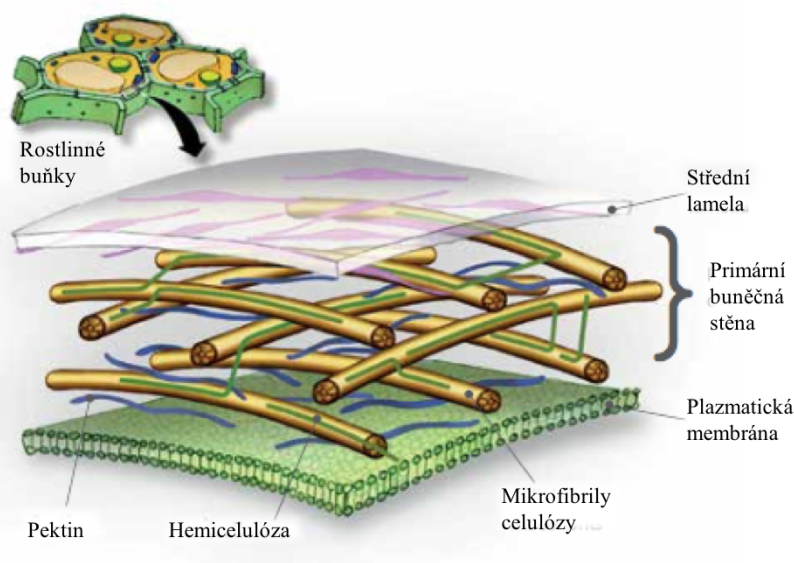
Isomerázy katalyzují změny v rámci jedné molekuly. Přesouvají atomy nebo celé skupiny z jednoho atomu uhlíku na jiný, mění polohu skupin na chirálním centru apod. Příkladem může být triozafosfátizomeráza [5, 6].

f) *Ligázy (syntetázy)*

Katalyzují syntézu molekul organických sloučenin za současného rozštěpení makroergické fosfátové vazby (např. v ATP). Příkladem může být pyruvátkarboxyláza [5, 6].

### 3.1.1 Enzymy v hroznech

Slupka bobule je tvořena z vrstev relativně malých buněk, které jsou odpovědné za mechanickou pevnost a ochranu. Každá buňka je složena z elementárních vláken celulózy, pro dosažení pevnosti v tahu, a základní hmoty z hemicelulózy, proteinů a pektinových látek dodávajících pružnost (Obr. 2). Slupky obsahují většinové množství fenolických látek (třísloviny, barviva), minerálních látek (vápník, draslík), pektinů, proteinů a hroznových enzymů. V hroznech se vyskytují převážně oxidační enzymy jako je oxidáza, polyfenoloxidáza, peroxidáza, alkoholdehydrogenáza, askorbináza a cytochromoxidáza. Víno je produktem enzymatické přeměny hroznové šťávy [7, 9–11].



**Obr. 2:** Buněčná stěna hroznů [7].

### 3.1.2 Enzymatické přeměny hroznů po sklizni

Buněčné deformace hroznů během před-fermentace mají za následek rozpuštění kyslíku v buňce. Dvě kategorie enzymů, oxidoreduktázy a oxygenázy, zodpovídají za mnoho transformací složek hroznů a často poškozují kvalitu hroznů [11].

Délka macerace hroznů je různá. Během této doby působí na hrozny a mošt hydrolázové typy enzymů. Ty jsou odpovědné za hydrolýzu různých makromolekul, jako jsou proteiny, polysacharidy, heterosidické deriváty a různé estery. Mnoho sensorických vlastností, které se používají k posouzení kvality vína, nemohou být zjištěny přímo z hroznů, protože velká část z nich se projeví až prostřednictvím komplexní řady biochemických reakcí, které probíhají v průběhu výroby vína. Většina z těchto reakcí je katalyzována různými enzymy, které pocházejí zejména z vinných hroznů a jejich mikroorganismů. Nicméně typické vinařské podmínky, jako je vysoká koncentrace cukrů a etanolu, nízké pH a vysoká koncentrace polyfenolů, mohou potenciálně inhibovat aktivitu hroznových a mikrobiálních enzymů. Z tohoto důvodu jsou reakce katalyzované hroznovými a mikrobiálními enzymy při výrobě vín často neúplné a značná část substrátu zůstává netransformovaná a k dispozici pro další reakce. Přídavkem exogenních enzymů, které vykazují vyšší účinnost, získáme požadovanou úroveň substrátové transformace [10–13].

### 3.1.3 Enzymy ve vinařství

V podstatě všechny prodávané enzymy jsou ve skutečnosti složité směsi několika enzymů. Enzymy jsou obvykle definovány jejich činností, spíše než jejich přesnými chemickými strukturami. Všechny enologické enzymy fungují štěpením vazeb mezi jednotlivými cukernatými jednotkami polysacharidů. V současnosti je většina enologických enzymů prodávána jako prášek nebo kapalný roztok.

Víno je pro enzymy vcelku nehostinným prostředím, a proto po přidání enzymů dochází k jejich denaturaci (jako u všech proteinů) a v průběhu času ztrácí svoji účinnost. Většina denaturovaných enologických enzymů se z roztoku při čiření vína vysráží [11–14].

#### *Ošetření enzymy*

Při výrobě vína hrají enzymy důležitou roli a pro jejich správnou aplikaci je velice nezbytná znalost povahy, působení a vzájemných vztahů mezi jednotlivými enzymy. Je také třeba vytvořit optimální podmínky, aby enzymy správně plnily svoji funkci a pozitivně ovlivnily výslednou kvalitu vína.

Aplikace enzymatických preparátů by měla působit na:

- zkrácení doby naležení rmutu a zlepšení výlisnosti,
- zlepšení odkalení, čiření, filtrace a stabilizace vína,
- zlepšení autolýzy kvasinek při zrání vína na jemných kalech,
- zlepšení extrakce aromatických látek a stabilizace barviv,
- klidnější průběh kvašení [15].

Z pohledu kvality budoucího vína je velice důležité správné načasování přidavku enzymatických preparátů:

- na rmut před lisováním – napomáhá zlepšit výlisnost moštu, uvolňování aromatických látek a barviv,
- v průběhu macerace – napomáhá zlepšit výlisnost rmutu, je vhodné zejména u odrůd s pevnou nebo slizovitou dužninou,
- na rmut před macerací – napomáhá vyšší a rychlejší extrakci barviv v průběhu macerace, vyšší výtěžnosti barviv při lisování a zlepšení čiření vína,

- po vylisování moštu – pozitivně působí na odkalení moštů, snižuje jeho viskozitu a pevné kalové částice tak rychleji klesají ke dnu nádoby [15].

### **Oxidační enzymy v hroznech**

Oxidační enzymy nejsou komerčně vyráběné enzymatické preparáty, ale přesto hrají ve výrobě vína důležitou roli. Hlavní funkcí oxidáz je transport kyslíku. Oxidační hnědnutí při výrobě bílého vína je dobře známý jev, způsobený především enzymem fenoloxidáza. U zdravých hroznů se enzymatická oxidace fenolických sloučenin odehrává při před-fermentačních operacích za přítomnosti kyslíku v důsledku působení tyrozinázy hroznů. Při drcení hroznů je tyrozináza částečně uvolněna z chloroplastů bobulí do šťávy, kde může reagovat s hydroxyskořicovými kyselinami za vzniku chinonů. Tyto vysoce reaktivní druhy enzymů jsou nestabilní a vstupují do dvou různých reakcí. V jednom možném mechanismu mohou chinony kondenzovat s jinými fenolickými látkami za vzniku polymerovaných produktů, které vykazují větší či menší intenzitu hnědé barvy v závislosti na stupni polymerace. Zároveň mohou chinony reagovat s reduktázami jako je glutation, běžně se vyskytující v hroznech. Tato reakce tvoří bezbarvý derivát, který je stabilní vůči působení tyrozinázy, a proto nevede k významné modifikaci barvy moštu. Při vyšší koncentraci glutationů se přemění méně chinonů v hnědé polymerované produkty. V hroznech se vyskytující tyrozináza se odstraňuje během čiření moštu adsorpcí na kalových částicích [10, 11, 14, 16].

Protože je kyslík kofaktorem enzymatických reakcí hnědnutí, doporučuje se vyvarovat jeho styku s moštem. Ve vinařství se používají různé postupy pro snížení oxidačních jevů. Síření a chlazení hroznů a šťávy při drcení či lisování je velmi účinné při kontrole řízené oxidace šťávy tyrozinázou. Tyrozináza je silně inhibována SO<sub>2</sub> a nízkými teplotami a její aktivita je tak výrazně snížena. Další účinnou ochranou je přidávek kyseliny askorbové [10, 11, 14].

#### ***1) Pektolytické enzymy***

Slupky a dužnina bobulí obsahují významné množství pektinových látek, které spolu s dalšími složkami přispívají ke struktuře buněčných stěn. Mošt v důsledku toho obsahuje malé množství těchto látek v rozpustné formě. V závislosti na ošetření sklizně mohou být ze slupek extrahovány některé nerozpustné sloučeniny pektinů. Většina je však rychle hydrolyzována pektolytickými enzymy z hroznů a zbytek je následně

vysrážen etanolem na konci fermentace. Víno tedy prakticky postrádá pektinové látky. V suchých letech může být obsah pektinů v hroznech velmi vysoký, rmut se pak lisuje problematicky a špatně probíhá i odkalování moštu. Pektinázy štěpí polymerní strukturu pektinů, a tím snižují viskozitu moštu, což vede k lepší sedimentaci a lepší filtrovatelnosti [10, 11, 17].

Mezi hlavní pektinázy patří pektinlyáza, pektinmetyleráza a polygalakturonáza. Pektinlyáza katalyzuje trans-eliminaci pektinů. Pektinmetylerázy odštěpují metanolové skupiny a polygalakturonázy rozdělují řetězce kyseliny polygalakturonové na kratší části [7].

V bobulích byl prokázán výskyt polygalakturonázových a pektinesterázových aktivních enzymů, což naznačuje, že hroznové enzymy mají potenciál k podpoře čiření šťávy po mletí. Nicméně aktivita těchto enzymů je často nedostatečná. Pro zlepšení účinnosti mohou být přidávány komerční preparáty získané z houby *Aspergillus niger*. Tyto přípravky vlastní řadu pektinázových enzymů, které mohou účinně hydrolyzovat pektinové látky obsažené ve šťávě, což umožňuje sedimentaci pevných částic.

Vedle jejich primárního využití jako čířících koagulátů mohou být pektinázy, vzhledem k jejich schopnosti rozkládat buněčné stěny, použity pro zlepšení extrakce složek ze slupek. Zejména při výrobě bílého vína lze pektinázu aplikovat při předfermentační studené maceraci, aby došlo ke zlepšení extrakce aromatických sloučenin a prekurzorů ze slupek. Při výrobě červeného vína se používají ke zvýšení výtěžku při lisování a lepší extrakci barviv a aromatických prekurzorů [7, 10–13].

Komerční pektolytické preparáty fungují v poměrně širokém rozsahu pH, avšak teplota je naproti tomu stěžejním faktorem. Teploty pod 10 °C působení enzymů totiž výrazně zpomalují. Oxid siřičitý a alkohol zpomalují aktivitu enzymů pouze ve vysokých koncentracích [15].

U komerčních přípravků byl ovšem také zjištěn výskyt nežádoucích vedlejších účinků. Především jde o zvýšenou tvorbu metanolu v průběhu fermentace [10].

## **Enzymy pro stabilizaci vína**

### **2) *Proteázy***

Aktivní proteosyntéza, která charakterizuje zrání, je zodpovědná za vysokou koncentraci proteinů ve vyzrálých hroznech. V moštu proteiny často představují 50 % celkového dusíku. V procesu výroby bílých vín je část těchto proteinů nerozpustných,

a proto může docházet k výskytu bílkovinných zákalů. Tyto nerozpustné proteiny jsou eliminovány během číření. Endogenní hroznové proteázy jsou schopné hydrolyzovat tyto proteiny do rozpustné formy, která je snadněji asimilovatelná kvasinkami během kvašení [10, 11, 15].

Všechna fyzická ošetření hroznů (mechanická sklizeň, odstopkování, drcení) zvyšují podíl rozpustných proteáz. Agregace a následné srážení nestabilních proteinů je hlavní příčinou tvorby zákalů po nalahvování bílých vín. Vinné proteiny mohou pocházet z hroznů nebo z metabolismu různých mikroorganismů podílejících se na procesu výroby vína. Pocock et al. [18] prokázali, že tepelné zpracování v kombinaci s přidavkem proteolytického enzymu může snížit výskyt tvorby zákalu. Enzymatická hydrolýza bílkovin je proto dobrým technologickým řešením pro stabilizaci vín. Proteázy jsou tepelně stabilní a zvyšují rozpustný dusík. Bylo potvrzeno, že mírný přídavek oxidu siřičitého stimuluje proteázovou aktivitu [10, 11, 15].

### **3) Lysozym**

Kontrola rozvoje bakterií je nezbytná pro výrobu vín s konzistentním složením a sensorickými vlastnostmi. Ve snaze snížit koncentrace oxidu siřičitého použitého při výrobě vína, jsou zkoumány alternativní strategie pro stabilizaci vína. Lysozym se používá k inhibici růstu grammpozitivních bakterií, zejména kyseliny mléčné, která je odpovědná za malolaktickou fermentaci. Bylo pozorováno, že existují nežádoucí vedlejší účinky v souvislosti s jeho použitím, a to ztráta barviv u červených vín a tvorba zákalu v bílých vínech [19]. Lysozym také nemá žádný inhibiční účinek proti nežádoucím kvasinkám [10–12].

## **Enzymy podporující aroma**

### **4) Glykosidázy**

Aromatické látky jsou částečně vázány na cukr, což je činí stabilními, ale zároveň sensoricky neaktivními. Teprve působením glykosidáz a rozštěpením glykosidické vazby se aromatické látky důležité pro mošt a víno uvolní. Monoterpeny a deriváty C<sub>13</sub>-norisoprenoidů, zodpovědné za květinové a ovocné tóny, jsou příkladem aromát, která se vyskytují v hroznech ve formě glykosylovaných prekurzorů. Uvolnění glykosidicky vázaných aromatických sloučenin může být dosaženo buď pomocí procesu katalyzovaného kyselinou nebo působením enzymů glykosidázy. Enzymatické aktivity, jež jsou schopny hydrolyzovat hroznové glykosidy prostřednictvím tohoto postupného



mechanismu, mohou být přítomny v hroznech, nebo mohou být získány z mikroorganismů podílejících se na procesu výroby vína, jako jsou například fermentační kvasinky a bakterie mléčného kvašení [7, 10, 11, 15].

V průběhu výroby vína jsou přidávány komerční enzymatické přípravky získané pro zvýšení uvolňování glykosidicky vázaných těkavých sloučenin. Bylo zjištěno několik negativních dopadů těchto komerčních přípravků. Zejména komerčně dostupné pektinázové a hemicelulázové přípravky získané z houby *Aspergillus niger* obsahují významné množství skořicové esterázy, která ve spojení s dekarboxylázovou aktivitou *Saccharomyces cerevisiae* mají nežádoucí vedlejší účinky, které mohou katalyzovat uvolňování těkavých látek z glykokonjugátů. Dále se použití těchto enzymů nedoporučuje při výrobě červeného vína, jelikož antokyany jsou rovněž glykosylované, a proto glykosidázy mohou destabilizovat červenou barvu vína [7, 10–12].

### **5) Esterázy**

Těkavé sloučeniny syntetizované kvasinkami během alkoholové fermentace hrají důležitou roli v aromatických vlastnostech vína. Estery jsou považovány za hlavní původce ovocného charakteru vína. Dvě hlavní skupiny esterů jsou syntetizovány kvasinkami, a to acetátové estery a ethylestery mastných kyselin [10].

Esterové profily, které mají vysokou koncentraci ethylacetátu, můžou potenciálně vést k vínům s nežádoucími tóny odlakovače [10].

### **6) Glukanázy**

Molekula glukanu je polysacharid glukózy a glukanázy jsou jakékoliv enzymy, které jej štěpí. Uvolňování glukanu do vína je doprovázeno uvolněním různých dalších chtěných kvasinkových sloučenin, jako jsou mannoproteiny, aminokyseliny, peptidy a nukleotidy s nízkou molekulovou hmotností, které můžou mít významný vliv na organoleptické vlastnosti vína [7, 11, 12, 15].

Komerční enzymatické preparáty na bázi  $\beta$ -glukanázy jsou nejvíce rozšířené a používané pro zlepšení čiření a filtraci mladých vín. Jsou vyráběny z houby *Trichoderma harzianum*. Jejich použití se doporučuje zejména u hroznů, které byly napadeny *Botrytis cinerea*. Novější využití nacházejí tyto enzymy při podpoře autolýzy kvasinek, čímž dochází ke zlepšení uvolňování mannoproteinů z buněčných stěn [7, 13, 15].

### **7) Hemicelulázy**

Hemicelulóza je polysacharid složený z široké škály jednoduchých cukerných monomerů. Vyskytuje se v buněčných stěnách hroznů a je štěpen za pomoci hemiceluláz. S dalšími strukturními složkami buněčných stěn tvoří hemicelulázy fyzickou bariéru kolem buněk hroznů, a proto musí být hydrolyzovány za účelem uvolnění šťávy, vůně, barvy atd. [7, 12, 20].

### **8) Celulázy**

Celulóza je polysacharid glukózy. Celulázy jsou produkovány *Aspergillus* sp. jako vedlejší činnost výroby pektinázy. Celuláza štěpí celulózu buď na jednoduchou glukózu, nebo na disacharid glukózy. Existují různé komerční enzymy podílející se na odbourávání nativní celulózy, ale jejich enologická role nebyla dosud přesně definována [7, 12, 20].

### **9) Invertáza**

Invertáza je enzym, který štěpí řepný cukr (disacharid) na glukózu a fruktózu, a tím umožňuje kvašení [16].

## **3.1.4 Využití enzymů**

### ***Extrakce šťávy***

Přídavek pektolytických enzymů do podrcených hroznů může zlepšit výtěžnost šťávy, zejména pak u určitých odrůd velmi bohatých na pektinové látky (muškáty, sylvánské atd.). Extrakční enzymatické směsi téměř vždy obsahují pektinázy a v menší míře celulázy, hemicelulázy a proteázy [7, 11–13].

### ***Usazování a flotace moštů***

Usazování a flotace jsou velmi důležité procesy při výrobě bílého a růžového vína, protože zvyšují aromatickou jemnost vín. Degradace pektinů pektinázou výrazně snižuje koloidní zatížení, což vede k nahromadění částic a následné sedimentaci, protože tyto sloučeniny jsou příliš velké na to, aby zůstali v suspenzi. Za méně než hodinu je destabilizována koloidní rovnováha, což vede k rychlé sedimentaci a zvýšené čirosti moštu. Sedimentační enzymy se skládají především ze tří klíčových pektolytických enzymů: polygalakturonázy, pektinlyázy a pektinmetylerázy [7, 11–13].

### ***Čiření moštu***

Čiřící enzymy jsou obvykle enzymové směsi obsahující pektinázy, ale mohou obsahovat také několik dalších enzymů, jako jsou celulózy, hemicelulózy,  $\beta$ -glukanázy, amylázy a proteázy. Pektiny jsou rozloženy na menší kusy pektinázou a tvoří slabý typ iontové vazby s částí jiného pektinu s negativní polaritou. Tyto vazby jsou dostatečně silné, aby způsobily srážení pektinů a jejich následnou sedimentaci z roztoku [7, 11–13].

### ***Filtrace***

Prakticky všechny enzymatické směsi používané pro čiření mohou být použity také jako pomůcka pro filtraci. Filtrační enzymy se tedy obvykle skládají ze stejných směsí enzymů, jako enzymy pro čiření. Vzhledem k tomu, že k usazení pevných látek dojde již před filtrací, lze použít poměrně agresivní enzymy, které pochází z *Aspergillus niger*. Filtrační enzymy jsou používány pro rozpad rozpustných pektinů a polysacharidových koloidů. To činí vína snadněji filtrovatelnými [7, 11–13].

### ***Extrakce barviv a stabilizace***

#### **Macerace bílých hroznů**

Kontakt enzymů se slupkou bílých hroznů se provádí za účelem:

- zvýšení množství volně vytékající šťávy dobré kvality,
- zvýšení celkového množství šťávy na tunu rozdrcených hroznů,
- získání více odrůdových aromat ze slupek hroznů a tím zvýšení aromatického potenciálu vína.

Kvalita hroznů a odrůda stanovuje, zda bude kontakt enzymů se slupkou výhodný pro kvalitu vína [7, 15].

#### **Macerace červených hroznů**

Červená barva vína je výsledkem macerace pevných částí hroznů v průběhu alkoholového kvašení. Extrakce fenolických sloučenin tak závisí na mnoha faktorech: odrůdě, zralosti hroznů, délce macerace, teplotě atd. Přidáním pektolytických enzymů na začátku macerace se tato extrakce může usnadnit. Výsledné víno je bohatší na třísloviny a antokyany s vyšší intenzitou barviv a červenějším odstínem. Toto ošetření

také zlepšuje organoleptické vlastnosti (zejména strukturu) vína. Pektolytické enzymy také podporují stabilizaci barviv tím, že tvoří polymerizované pigmenty [11, 21] .

Kromě zvýšení výtěžku, jsou zde další četné výhody spojené s použitím maceračních enzymů u červených odrůd:

- pektinázy značně usnadňují extrakci barviv a taninů ze slupek kde jsou umístěny antokyany a třísloviny,
- zlepšení extrakce taninů podporujících lepší stabilizaci,
- lisovaná vína z moštů ošetřených maceračními enzymy mají nižší zbytkový cukr než vína lisovaná z moštů bez jejich přídavku,
- výrazné zlepšení čirosti a filtrovatelnost vína díky působení pektináz, které snižují velikost polysacharidových řetězců v červeném víně,
- vína ošetřená enzymy mají výraznější ovocnou chuť a měkčí taniny [7].

#### ***Ležení na kalech a filtrace***

V praxi se velmi často uplatňuje ležení vín po fermentaci buď na hrubých, nebo jemných kalech. Při tom jsou do vína uvolňovány různé sloučeniny s přímým nebo nepřímým pozitivním vlivem na kvalitu vína, jako jsou aminokyseliny, nukleotidy, polysacharidy, mannoproteiny a peptidy. Vinaři však často nemají kapacity nebo potřebný čas pro dlouhé ležení vína na kalech k dosažení co nejlepších výsledků. Použití enzymů glukonázy může proces výrazně urychlit, protože působí přímo na glukonových řetězcích v buněčné stěně kvasinek a upřednostňuje uvolňování mannoproteinů a peptidů [7, 11–13].

#### ***Uvolnění aromatických látek***

Glykosidázy obsažené v komerčních pektolytických enzimech jsou schopny částečně hydrolyzovat terpenické glykosidy a mohou působit také na jiné aromatické sloučeniny přítomné ve formě nearomatických prekurzorů. Toto ošetření je určeno k dokončení transformace terpenických sloučenin během kvašení, které umožňují kvasinky. Je však třeba vyvarovat se přípravkům obsahujícím skořicovou dekarboxylázu, jejíž přídavek může vést k rozvoji ethylfenolů s velmi nepříjemným pižmovým zápachem (zvířat) [7, 11–13].

## 3.2 Pektinové látky v hroznech

### 3.2.1 Terminologie a monomerní složení pektinových látek

Hroznové polysacharidy jsou výsledkem rozpuštění některých pektinových látek v buněčných stěnách a dužnině. Jsou to hydrofilní koloidy vznikající rozkladem protopektinu, který se v bobulích tvoří při asimilaci v raných stádiích vývoje bobulí [22, 23].

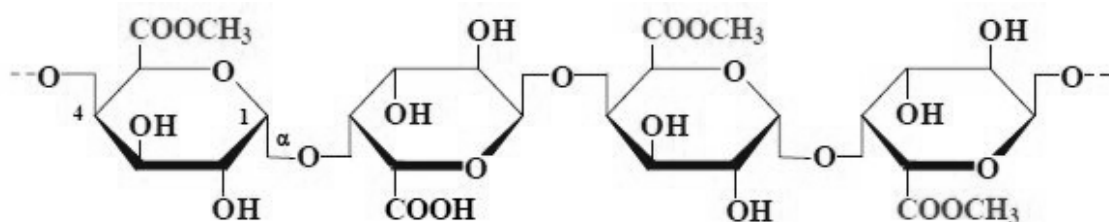
Pektinové látky mohou být rozděleny následovně:

#### 1. Pektiny

Pektiny jsou nejsložitější polysacharidy nalezené v primárních stěnách vyšších rostlin. Částečně řídí mechanické vlastnosti, vlastnosti pro výměnu iontů a růst objemu buněčných stěn. Pektiny jsou lineárními polymery kyseliny galakturonové, která obsahuje velké množství esterifikovaných methylových skupin (Obr. 3). Jednotky kyseliny galakturonové jsou přerušeny rozvětvenými neutrálními postranními řetězci různých molekul cukru, jako je arabinóza, galaktóza a rhamnosyl [7, 22, 23].

Všechny druhy ovoce obsahují pektinové látky. Hladiny ve zralých hroznech se pohybují v rozmezí od 0,02-0,60 %, v závislosti na hmotnosti bobule. Pektiny jsou také v malém množství obsaženy v mošttech (cca 0,2 %). Předpokládá se, že jejich obsah ve zralém ovoci do značné míry ovlivňuje extrakci a výtěžek šťávy, jakož i snadnost následných operací zpracování, jako je čiření nebo filtrace. Vyšší obsah pektinů objevující se při zpracování nedozrálých hroznů tvoří ve vylisovaném moštu koloidní roztoky, které ztěžují usazování pevných kalících součástí moštu. K vyčeření takových moštů se používají enzymatické preparáty, které pektin dále rozkládají na jednodušší složky, ty koagulují a z moštu vypadávají. Při odbourávání pektinů vzniká kromě jiných látek i malé množství metanolu, zvláště u vín nakvašovaných s třapinami [22–25].

Pektiny jsou v průmyslovém měřítku extrahovány z vhodných rostlinných materiálů a zejména v potravinářském průmyslu jsou používány díky jejich schopnosti tvořit za určitých podmínek gely a zvyšovat tím viskozitu nápojů [23].



Obr. 3: Obecný vzorec pektinu [26].

Pektiny tvoří rodinu kyselých polymerů, jako jsou homogalakturonany a rhamnogalakturonany s několika neutrálními polymery jako jsou arabinany, galaktany a arabinogalaktany k nim připojené [22, 23].

Hlavními komponenty pektinů jsou:

#### *Homogalakturonany*

Homogalakturonanové segmenty jsou definovány jako polymery složené převážně ze zbytků galakturonosylu. Představují 80 % pektinových polysacharidů v buněčných stěnách bobule [17]. Čisté homogalakturonany (HG) se vyskytují jen vzácně. Jedním z důvodů může být špatná rozpustnost těchto polymerů. Žádné HG nebyly zjištěny u červených ani bílých vín, což naznačuje, že dochází k jejich roztržení za pomoci hroznových nebo kvasinkových polygalakturonáz (PG) používaných pro fermentaci při výrobě vína. U zdravých hroznů také zmizí pektiny v důsledku působení endo- nebo exogenních pektolytických enzymů. Z tohoto důvodu neobsahují vína prakticky žádné homogalakturonázy na konci alkoholového kvašení [22, 23, 27].

#### *Rhamnogalakturonan I a II*

Rhamnogalakturonan-I (RG-I) představuje 15 % z buněčné stěny a je složen ze střídající se rhamnozy a zbytků galakturonové kyseliny. Vedle těchto sloučenin v hlavním řetězci se RG-I skládá z postranních řetězců, které obsahují arabinany a arabinogalaktany typu I a II [22, 27].

Pro rhamnogalakturonan-II (RG-II) je charakteristická přítomnost vzácných cukrů vedle běžně se objevujících cukerných zbytků rhamnózy, arabinózy, galaktózy, kyseliny galakturonové a kyseliny glukuronové. Pektinový polysacharid RG-II tvoří pouze 5 % buněčných stěn dužniny a slupky, i přesto je to jeden z hlavních polysacharidů ve víně. Je dokázáno, že přítomnost RG-II ve víně má vliv na tvorbu zákalu a na vázání těžkých kovů. Přítomnost RG-II ve šťávě je důsledkem jeho snadné enzymatické solubilizace z buněčné stěny a odolnosti proti rozkladu pektináz [22, 23, 27].

V buněčných stěnách dužniny a slupky je srovnatelné množství HG, RG-I a RG-II. Bylo zjištěno, že RG-I a RG-II představují dohromady přibližně 10 % ze stěn slupky a dužniny a že obsah RG-I je asi třikrát vyšší než RG-II [27].

Zralé hrozny mají relativně nízké koncentrace pektinových látek ve srovnání s jinými druhy ovoce. Tyto sloučeniny jsou hlavní složkou jemných buněčných stěn v dužnině [23].

## ***2. Rostlinné gummy***

Rostlinné gummy jsou rozpustné polysacharidy. Kromě kyseliny galakturonové se gummy skládají hlavně z arabinózy, rhamnózy, galaktózy a malého množství xylózy, manózy a glukózy. Gummy jsou v podstatě zbytky z transformace pektinových látek v moštu pomocí endogenní nebo exogenní pektinázy [22].

Novější a vhodnější klasifikace rozděluje rozpustné polysacharidy v moštu na neutrální pektinové látky a kyselé pektinové látky v závislosti na tom, zda tyto molekuly obsahují galakturonové kyseliny. V tomto kontextu, termín "pektin" popisuje všechny kyseliny pektinových látek, a to nejen homogalakturonany [22].

### ***Kyselé pektinové látky v hroznovém moštu***

Obsahují dlouhé řetězce jednotek kyseliny galakturonové (homogalakturonany) přerušené rhamnogalakturonanovou konstrukcí, kde se jednotky rhamnozy (Rha) střídají s jednotkami galakturonové kyseliny (Gala). Celá tato struktura je v současné době známá jako rhamnogalakturonan (RG-I) [22].

### ***Neutrální pektinové látky v hroznovém moštu***

Tyto látky mají molekulární struktury, skládající se z arabinanu a arabinogalaktanu. Arabinany jsou malé polymery, které nejsou sráženy etanolem. Byly poprvé izolovány z moštu Pinot Noir. Arabinogalaktany v pektinových látkách z rostlin jsou rozděleny do dvou kategorií: arabinogalaktan I (AG-I), který je nejrozšířenější a arabinogalaktan II (AG-II) [22, 23].

AG-I je hlavní složkou neutrálních postranních řetězců pektinových polysacharidů. Jejich ztráta byla pozorována jako rozhodující krok, který je spojen se začátkem zaměkání hroznů. Enzymy, které jsou zapojeny při procesu zaměkání, zahrnují pektinmethylesterázu (PME) a PG, která štěpí esterifikované galakturonany [22, 23, 25, 27].

### **3.2.2 Charakterizace slupky a dužniny**

Slupka obsahuje více kyseliny galakturonové než dužnina. Důkazem je, že HEPES (biologický pufr) solubilizuje více pektinu z dužniny než ze slupky, což znamená, že pektinové polysacharidy jsou pevněji vázány v buňkách slupky [22].

### **3.2.3 Změny pektinů v buněčné stěně**

Zaměkání hroznů během zrání je výsledkem významné změny ve složení na buněčné úrovni dužniny. Na začátku vývoje hroznů jsou buněčné stěny primárně složeny z celulózy. Období zrání hroznů se vyznačuje značnou syntézou pektinu, u některých odrůd se tak stanou většinovým sacharidem [28].

Zrání je doprovázeno rozpouštěním pektinů vlivem několika faktorů. PME odstraňuje methylové skupiny z esterifikovaných galakturonanů, což má za následek zvětšení koncentrace metanolu v hroznu. Hydratace buněčné stěny, vyznačující se zvýšením objemu, je tak usnadněna v důsledku toho, že pektiny jsou méně chelátovány vápníkem. PME jsou většinově zastoupeny ve slupce hroznů, ale tyto enzymy jsou aktivní také v dužnině. To vysvětluje zmenšení obsahu celkových pektinových látek v průběhu zrání hroznů. Tento jev je doprovázen zvýšením rozpustné pektinové frakce, která přechází do moštu [22, 25, 27].

Obsah AG-I je během vývoje plodů snížen, zatímco obsah galakturonanu je zvýšen a v průběhu zrání se stává více rozpustným. V porovnání s jiným ovocem se zralé hrozny se vyznačují nízkou koncentrací pektinu [22].

### **3.2.4 Sezónní změny pektinů v hroznech a jejich vliv na extrakci šťávy**

Amerine et al. [29] uvádí, že celkové množství pektinových látek se zvyšuje během zrání. Další autoři prokázali pokles pektinových látek na začátku sezóny, ale pouze mírný pokles v době komerční sklizně. Výsledky výzkumu Robertsona et al. [29] ukazují výrazný pokles celkové pektinu v průběhu komerční sklizně [30].

Pokud je v době sklizně vysoká koncentrace vysoce metoxylovaného pektinu, jsou hrozny obtížně lisovatelné a je těžší z nich získat šťávu. V těchto případech je nutné využít komerčních enzymatických přípravků, které jsou schopny rychle degradovat tyto pektiny. Rozpouštění střední lamely pektinu může být dosaženo za pomoci celulózy a hemicelulózy které degradují buněčné stěny polysacharidů [30, 31].



### **3.2.5 Změny celkového obsahu pektinových látek v moštu během zrání**

Rozdíly v celkových koncentracích rozpustných polysacharidů v moštu ze zdravých hroznů během zrání ukazují, jak je důležitý jev hydrolyzy v buněčných stěnách během tohoto období. Zpočátku jsou při změně barvy rozpuštěny protopektiny (nerozpustné pektiny) ze střední lamely za zvýšení koncentrace rozpustných pektinových látek v moštu, kde hlavní složkou těchto pektinových látek je kyselina galakturonová. Později v průběhu procesu zrání jsou hydrolyzovány řetězce kyseliny galakturonové a vlivem rozkladu pektocelulozové stěny jsou rozpouštěny pektinové látky. Během tohoto druhého období, je obvykle pozorován pokles v koncentraci celkového rozpustného polysacharidu v moštu. V některých případech se však kvůli nedostatku endogenní pektinázové aktivity v hroznech koncentrace pektinových rozpustných kyselých látek v moštu zvyšuje v celém průběhu zrání. K tomu často dochází, jestliže jsou rostliny vystaveny silnému suchu. V takovém případě je tedy nutné použít exogenní pektinázy k dosažení uspokojivého čiření moštu bílého vína [22].

### **3.2.6 Molekulární struktury pektinových látek ve víně**

Pektinové látky jsou podstatně měněny, když se z moštu stává víno, vlivem přírodních hroznových pektináz nebo komerčních exogenních enzymů vyrobených z houby *Aspergillus niger*. Mění se zejména činností těchto enzymů, které rozkládají kyselá pektinová látky: endo- a exo-PG, endo-pektinlyáza, endo- a exo-pektátlyáza a PME. Tudiž, ačkoli homogalakturonany mohou být izolovány z moštu, nejsou nikdy přítomny ve víně [22].

Obsah hroznových polysacharidů ve víně je závislý na odrůdě používané při výrobě vína, rozpustnosti hroznových polysacharidů, a odolnosti těchto polysacharidů k fragmentaci hroznovými a kvasinkovými glukonázami [27].

### **3.2.7 Vliv pektinových látek na charakter vína**

Nejvýznamnější funkcí pektinu je integrita rostlinných tkání. Spolu s jinými polysacharidy jako jsou glukany, celulóza a hemicelulóza, hrají hroznové pektiny roli ve viskozitě, čirosti a filtrovatelnosti vín. Obecně platí, že čím delší jsou řetězce pektinu, tím nižší je filtrovatelnost vína [7].

Pektinové látky se vrství během filtrace na nečistý filtr a tím znesnadňují čiření vína a zhoršují jeho následnou stabilitu [22].

Pektinové látky byly často označovány za původce jemnosti a plnosti vín. Je pravdou, že vína, která mají tyto vlastnosti, téměř vždy obsahují velké množství pektinových látek, které ale zjevně nejsou přímo zodpovědné za tyto smyslové vjemy. Pektinové látky hrají roli ve vnímání svíravosti taninu. Mohou pozměnit degustační dojem vína, pokud se spojí s fenolickými sloučeninami. Zejména trpkost je značně zmírněna [22, 32].

Oba rhamnogalakturonany (RG-I a RG-II) působí jako inhibitory krystalizace vinanu ve víně a AGP má ochranný účinek proti bílkovinným zákalům v bílých vínech [27].

### 3.3 Macerace

Macerace, také nakvácení nebo naležení, je technologický proces, který spočívá v cíleném vytvoření kontrolovaných podmínek pro styk moštu a slupky. Při maceraci dochází k uvolňování látek obsažených ve slupce do moštu. Vhodná nádoba je naplněna odstopkovanými, mírně rmutovanými bobulemi a po několika hodinách je oddělen samotok a rmut vylisován [33]. Macerace je nezbytná při produkci červených vín, avšak lze ji využít i při výrobě bílých a růžových vín. U růžových vín se jedná vždy o před-fermentační maceraci. Macerace během kvašení nebo i po ukončení kvašení se využívá v technologii červených vín, výjimečně pak i při zpracovávání bílých odrůd [34]. Vyluhováním látek ze slupky se posiluje odrůdové aroma, extrakt, buket tvořený aromatickými látkami a barva vína. Macerace zlepšuje strukturu a kvalitativní znaky moštu, jako například obsah asimilovatelného dusíku, který má vliv na činnost kvasinek během fermentace a tvorbu aromatických látek ve víně. Podíl těchto látek je velmi důležitý pro správný průběh kvašení [33–36].

Průběh macerace ovlivňuje teplota, pH, čas, obsah oxidu siřičitého a aktivita enzymů. Procesy probíhající při maceraci se dají urychlit přidávkem pektolityckých enzymů. Vyšší teplota obecně vede k rychlejšímu uvolnění látek do moštu, ale s rostoucí teplotou zároveň unikají volatilní látky, které tak z moštu mizí nenávratně [37]. Teplota má také vliv na aktivitu enzymů. Při teplotách kolem 20 °C dochází k aktivaci enzymů a postupné změně viskozity moštu. Pektinázy umožňují snadnější lisování zejména odrůd s pevnější slupkou, usnadňují odkalování moštů a zvyšují extrakci barevných a aromatických látek [15, 38]. Pro maceraci musí být hrozny zralé a zdravé. Teplota drtě by neměla přesáhnout 20 °C. Mošty z naležené drtě mají sytější

barvu, více aromatických látek, více taninů a méně kyselin. Snížení celkového obsahu kyselin je způsobeno uvolněním draslíku ze slupky hroznů a reakcí s kyselinou vinnou za vytvoření vinného kamene [15, 39].

Obecně se dá říci, že kratší macerační doba při nízké teplotě vede ke svěžejšímu a ovocnějšímu vínu, zatímco s rostoucí macerační dobou i teplotou vznikají vína s vyšší barvou, méně ovocitým charakterem a delším potenciálem zrání [40]. Macerace rmutu pro výrobu bílých a růžových vín nejčastěji probíhá v uzavřených pneumatických lisech, které mohou mít zabudované i chlazení. V současnosti ale mnoho vinařských provozů vlastní moderní kryotanky, které dovolují lepší regulaci teploty a delší dobu macerace [38].

V následujících podkapitolách budou popsány základní druhy macerací využívané ve vinařství.

### **3.3.1 Macerace bílých hroznů**

Pro maceraci nejsou vhodné bílé hrozny, které nejsou dostatečně vyzrálé a nemají dobrý zdravotní stav. V takovém případě se za pomoci enzymů rozkládají lipidy z membránových frakcí na šestiuhlíkaté nasycené a nenasycené alkoholy, se ve víně projevují jako zelené vegetální tóny [37]. Aby byla macerace účinná, je nezbytné použít studené hrozny. Délka macerace se většinou pohybuje mezi 12–20 hodinami [15, 33].

Obsah fenolů v moštu má velký vliv na organoleptické vlastnosti vína, zejména svíravost a barvu. Tyto sloučeniny působí jako oxidační substráty u bílých vín, a tím přispívají k jejich barevné stabilitě [36]. Fenolické látky jsou z větší části obsaženy ve slupkách a v bílých vínech jsou zastoupeny zejména hydroxyskořicovými kyselinami, které hrají rozhodující antioxidační roli před fermentací, kdy reagují s polyfenoloxidázou a zpomalují hnědnutí moštu [41]. Macerace bílých odrůd je vhodná pro hrozny s vyšším obsahem kyselin, kdy macerace příznivě působí na extrakci minerálních látek na úkor kyselin [11].

### **3.3.2 Studená macerace (kryomacerace)**

Jedná se o techniku naležení podchlazeného rmutu v prostředí bez přístupu vzduchu. Rmut je ihned při odstopkování a drcení hroznů zchlazen pod 5 °C a poté je udržován při konstantní teplotě po dobu 1–5 dní u bílých vín, případně 2–7 dní u červených vín. Jelikož studená macerace probíhá bez přítomnosti alkoholu ve rmutu, je tento proces vodní výtažek primárních aromat obsažených v hroznech [16]. Přitom dochází k lepší extrakci sloučenin obsažených ve slupkách bobulí, jako jsou fenolické

a sekundární aromatické látky, a je omezena extrakce tříslovin a polyfenolů do moštu. Současně však může dojít k extrakci nežádoucích hořkých, trpkých a bylinných tónů. Proto je jedním ze základních požadavků dobrý zdravotní stav hroznů. Vyvážené extrakce žádoucích aromatických látek a nežádoucích tónů je dosaženo přesnou kontrolou teploty a doby macerace. Udržování nízké teploty především snižuje rizika nežádoucí enzymatické či mikrobiologické činnosti a nedochází k předčasnému kvašení. Existující kyslík je zcela vytlačen (pokud je použito CO<sub>2</sub>) a nedochází tak k oxidaci [36, 42–44].

Díky kryomaceraci lze získat kvalitnější vína než prostřednictvím klasické macerace. Především se jedná o vyvážená, plnější a vysoce extraktivní vína s výraznějším aromatickým projevem [36].

Bílá vína jsou obecně vyráběna s nižším obsahem fenolických látek, než je tomu u vín červených. Výjimku mohou tvořit vína vyrobená z hroznů bílých aromatických odrůd, kde může krátkodobá studená macerace rmutu podpořit intenzivnější odrůdový výraz. U bílých vín bývá dosaženo dobrých výsledků při teplotě macerace v rozmezí 10–15 °C po dobu 3–24 hodin. Macerací se zvyšuje extrakt vína, který ovlivňuje jeho plnost, celkový obsah polyfenolů, a snížením obsahu kyselin (především kyseliny vinné) se také zvyšuje pH [45]. Delší doba kontaktu slupek s moštem před fermentací také pozitivně ovlivňuje rozpouštění minerálních i organických solí, které jsou obsaženy v pevných částech bobulí [11, 44].

Studenou maceraci je možné technologicky uskutečnit prostřednictvím:

- tepelného výměníku, principem chlazení je proudění chladicího média (glykolu) uvnitř tepelného výměníku [36],
- uložení v malých kontejnerech do chladicího boxu v klimatizované místnosti. Není doporučeno chladit mošt ani rmut, ale raději celé neporušené hrozny [36],
- uložení rmutu v nerezovém tanku s dvojitým pláštěm s cirkulací chladicího média (nejčastěji glykolu), nevýhodou je nerovnoměrné chlazení rmutu [36],
- CO<sub>2</sub> v pevném skupenství neboli dávkování suchého ledu přímo na rmut,
- stlačeného CO<sub>2</sub> v kapalně formě – míchání rmutu vstřikováním pomocí hlavice,
- N<sub>2</sub> v kapalně skupenství – nalévání na rmut [38, 44].

### 3.3.3 Supraextrakce

Supraextrakce je metodou studené macerace, kdy jsou látky uvolňovány pomocí rozrušení epidermálních buněk celých hroznů mrazem (v mrazicích boxech při teplotách nižších než  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a jejich lisováním po rozmrazení. Buňky jsou mechanicky rozrušeny krystaly zmrzlého roztoku, čímž dochází k lepšímu uvolnění aromatických látek a jejich prekurzorů. Extrakce nepolymerizovaných drsných fenolů ze semen a slupek je naopak menší než při kryomaceraci, a dokonce i v porovnání s okamžitým klasickým lisováním celých hroznů. Supraextrakce rovněž zvyšuje extrakci cukru ze rmutu. Tato metoda výrazně prospívá aromatickému vyjádření některých velkých bílých odrůd. Jejimi nevýhodami jsou zvýšené náklady a pomalý průběh [11, 14, 33].

### 3.3.4 Thermoflash

Tato technika je využívána u napadených a nezdravých hroznů za účelem eliminace dlouhodobého kontaktu moštu se slupkami. Při thermoflash maceraci dochází po zahřátí rmutu k rychlejšímu vyluhování barviv a taninů [16].

Techniky při thermoflash maceraci jsou:

- ohřev rmutu na  $50\text{--}55\text{ }^{\circ}\text{C}$ , odstátí po dobu 2 hodin, následně je rmut ochlazen a lisován,
- ohřev rmutu na teplotu  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu několika minut, následně je rmut ochlazen a lisován [4].

Ohřátím rmutu dojde ke zničení a inaktivování enzymů a kvasinek, které jsou poté do moštu dodávány [16].

### 3.3.5 Termovinifikace

Termovinifikace je proces, který je používán u červených vín v oblastech s chladným klimatem pro odrůdy s nízkým obsahem antokyanů ke zvýšení obsahu některých fenolických sloučenin a těkavých látek během následné fermentace. Odstopkované hrozny jsou zahřívány až na teploty v rozmezí  $60\text{--}87\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kdy dochází k narušení buněčné struktury a tím usnadnění následné extrakce, zejména antokyanů ze slupky. Doba zahřívání se pohybuje od cca dvou minut při teplotě  $87\text{ }^{\circ}\text{C}$  až po několik hodin při nižších teplotách. Nižší teploty mohou být použity pouze pro zdravé, neplesnivě ovoce, protože enzym lakáza zůstává aktivní i při teplotě  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Bylo dokázáno, že termovinifikace ve srovnání s klasickou macerací velmi výrazně zvyšuje množství určitých esterů a červené víno má poté výraznější barvu, nižší koncentraci tříslovin a je více ovocné [14].

### 3.3.6 Karbonická macerace

Místo běžného kvašení rmutů je stále častěji používána tzv. karbonická macerace. Samotný proces spočívá v naplnění nádrže neporušenými hrozny (neodstopkovanými), ze které byl pomocí CO<sub>2</sub> vytlačen vzduch. CO<sub>2</sub> je bobulemi absorbován a do nádrže musí být neustále doplňován. Porušené hrozny procházejí částečnou fermentací pomocí vlastních glykolytických enzymů. Ve zbytku neporušených hroznů se mění látková výměna z aerobní na anaerobní a dochází k vnitrobuněčnému kvašení v bobulích. V průběhu procesu se buněčná stěna slupky stane propustnou, což umožňuje uvolnění extrahovatelných pigmentů a jiných materiálů. Po 8-10 dnech enzymy ztrácejí svou aktivitu a částečně zkvašené hrozny jsou vylisovány. Přítomnost stopek může způsobit bylinné aroma a mírnou hořkost vína. Sklizeň musí probíhat výhradně ručně kvůli požadavkům na celistvost hroznů [11].

Tato metoda je často používána, pokud je ve víně vysoký obsah taninů a kyseliny jablečné. Během procesu dochází k jejich degradaci, čímž se zvyšuje i pH vína [46]. Během karbonické macerace vzniká množství vyšších alkoholů a kyselina sukcinová a shikimová, což jsou hlavní a typické prekurzory vonných látek [24].

Tato technika je používána především k výrobě lehkých ovocných červených vín, avšak lze ji využít i pro vína bílá. Hrozny musí být izolovány od kvasícího moštu. Důvodem je žádaná nižší extrakce pigmentů, tříslovin a maximální rozvoj ovocného aroma. Délka macerace často nepřesahuje 48 hodin. Tento postup podporuje syntézu esterů a snížení extrakce fenolických látek [47].

Vína vyrobená uhličitou macerací mají výrazné aroma, jsou brzy zralá a hotová krátce po ukončení sekundární fermentace [47]. Takto vyrobená vína jsou většinou určena k rychlé spotřebě a nejsou vhodná k archivaci [46]. Nevýhodou této techniky je požadavek na velkou kapacitu nerezových tanků [4, 48].

## 4 MATERIÁL A METODY

### 4.1 Popis materiálu

#### 4.1.1 Odrůda

##### **Charakteristika odrůdy Hibernál**

**Synonyma:** Geisenheim 322-58, Gm 322-58

**Původ odrůdy:** Odrůda byla vyšlechtěna roku 1944 H. Beckerem a kol. v německém Geisenheimu jako semenáč druhé filiální generace křížením odrůd Chancellor (Seibel 7 053) x Ryzlink rýnský kl. 239. V ČR je odrůda povolena od roku 2004.

**Charakteristika:** pozdní moštová bílá odrůda, která má bujný růst. Dřevo vyžívá velmi dobře, je středně silné se světle hnědou barvou.

**List:** středně velký, spíše celokrajný a slabě puchýřkatý (Obr. 4). Bazální výkrojek je úzce otevřený, ve tvaru písmene V. Čepel je vrásčitá a lehce zvlněná. Řapík je středně dlouhý, zelený.

**Hrozen:** bývá malý až středně velký, většinou silně zahuštěný se středně dlouhou stopkou, válcovitě kuželovitý, občas i křídlatý (Obr. 4).

Bobule je malá až středně velká, kulatá, se silnější pevnou slupkou a tuhou dužninou. Barva je hnědavě – šedozeleň, dužnina bez zbarvení. V době plné aromatické zralosti mají narůžovělé až jemně nafialovělé zbarvení. Dužnina řídká až chruplavá, sladké chuti. Raší i kvete středně pozdě, zaměká v srpnu a dozrává začátkem října.

**Odolnost:** své jméno si získal díky vysoké mrazuvzdornosti, podle latinského výrazu pro zimu „Hiberna“. Má schopnost odolat přírodním vlivům i nebezpečným škůdcům. V extrémních případech Hibernál odolává i mrazům do -18 °C. Odolnost k plísni révové je střední až vysoká, k padlí révovému rovněž střední až vysoká, k plísni šedé střední. Plodnost je středně vysoká 10-14 t. ha<sup>-1</sup>, cukernatost v moštu je 19-24 °NM, obsah kyselin je 8,5-12 g. l<sup>-1</sup>. Odrůda není výrazně náročná na stanoviště, dobře snáší sušší i vápenité půdy.

**Charakteristika vína:** Hibernál je určen k produkci kvalitních přívlastkových vín–výběru z hroznů nebo z bobulí. Víno je harmonické, plné, vůně příjemně ovocitá a typicky kořenitá. Znalci v něm poznávají chuť exotického ovoce, rybízu, angreštu

nebo jablka. Charakterem může Hibernal připomínat Ryzlink rýnský, Sauvignon či Neuburské, případně Rulandské šedé z chladnějších oblastí [49].



**Obr. 4:** List a hrozen odrůdy Hibernal [50].

#### **4.1.2 Stanoviště**

Pro experiment byly využity hrozny odrůdy Hibernal z vinařské oblasti Morava, podoblast Mikulovská. Vinice se nachází v obci Lednice, viniční trať Na Valtické. Tato viniční trať se nachází v obci Lednice po pravé straně směrem na Valtice. Zpracování a následná výroba vína proběhla v prostorách školního sklepa v Lednici.

#### **4.1.3 Enzymy**

##### **1. LAMOTHE – ABIET Vinozym FCE – BTE**

##### **Popis produktu:**

Vinozym FCE G je přípravek vhodný jak pro maceraci, tak i k čiření hroznového moštu. Zvyšuje schopnost výlisnosti bez poškození bobule, zvyšuje extrakci aromatických prekurzorů a zlepšuje čiření moštu.

##### **Dávkování:**

2-4 g/100 kg hroznů. U malých nebo nevyzrálých bobulí je dávka zvýšena na 4-5 g/100 kg.

##### **Použití:**

Celkové množství enzymu je rozpuštěno v 10-ti násobku vody. Poté je tento roztok aplikován přímo do nádoby se rmutem, mlýnku nebo lisu [51].



## **2. *LAMOTHE – ABIET Vinozym Ultra***

### **Popis produktu:**

Vinozym FCE je tekutý přípravek vhodný pro maceraci a čiření bílých a růžových vín. Přípravek je složen z několika čistých enzymatických pektináz, upravený do kapalné formy. Zvyšuje schopnost vylisnosti bez poškození bobule, zvyšuje extrakci aromatických prekurzorů a zlepšuje čiření moštu.

### **Dávkování:**

2-4 ml/100 kg rmutu

### **Použití:**

Přípravek je používán zředěný ve vlažné vodě (zhruba 10 % roztok). Tento roztok je dávkován přímo do kádě po prvním zpracování hroznů, nebo do lisu [52].

## **3. *ERBSLÖH Trenolin Mash DF***

### **Popis produktu:**

TRENOLIN MASH DF je kapalný komplex pektináz určený k maceraci. Zvyšuje zachování typizace odrůdy, odtékání šťávy a snižuje mikrobiologickou náchylnost. Dále pomáhá ke snížení koloidů způsobujících zakalení, ke zrychlenému samočiření a ke zlepšení filtračních vlastností.

### **Dávkování**

1-4 ml/100 kg rmutu

### **Použití:**

Enzym je dávkován přímo na rmut a doba jeho působení by měla být minimálně 2-6 hodin [53].

## **4. *ENARTIS Zym Caractère***

### **Popis produktu:**

Tento enzym se vyznačuje pektolytickou, hemicelulázovou a glykosidázovou aktivitou. Vysoké koncentrace těchto aktivit napomáhají k rychlému rozpadu buněk, což je zásadní pro vysoké výtěžky šťávy a dobrou extrakci aromatických prekurzorů.

### **Dávkování:**

1-3 g/100 kg rmutu

### **Použití:**

Enzym je dávkován přímo na rmut a je třeba jej správně a rovnoměrně rozmíchat [54].

## **5. *RAPIDASE Expression***

### **Popis produktu:**

RAPIDASE<sup>®</sup> Expression zvyšuje extrakci prekurzorů hroznového aroma a zlepšuje aromatický profil odrůd. Dále zvyšuje výnos volného toku šťávy a tím usnadňuje lisování.

### **Dávkování:**

2-4 g/100 kg hroznů

### **Použití:**

Přípravek je používán rozpuštěný v 10-ti násobku smíchané vody a moštu (50/50). Tento roztok je poté rozmíchán přímo ve rmutu [55].

## **6. *ENARTIS Arom MP***

### **Popis produktu:**

ENARTIS ZYM AROM MP je pektolitický enzym, který je používán pro zvýšení extrakce aromatických prekurzorů a získání ovocitějšího vína při maceraci bílých hroznů. Dále zlepšuje rozpad buněčných stěn, stabilitu proteinů a snižuje potřebu ošetření bentonitem.

### **Dávkování:**

2-4 g/100 kg hroznů

### **Použití:**

Přípravek je používán rozpuštěný v 10-ti násobku vody nebo moštu. Tento roztok je přidáván přímo na rmut [56].

## **7. *LALLEMAND Lallzyme Cuvee Blanc***

### **Popis produktu:**

Tento enzymatický přípravek obsahuje pektinázu se šetrnou macerační aktivitou, což vede k lepší výtěžnosti šťávy a lepší číření moštu po lisování. Je zabráněno příliš silnému uvolnění nežádoucího obsahu buněk.

Koncentrovaný účinek beta-glukosidázy zvyšuje chuťovou komplexnost a aromatickou intenzitu bílých vín.

### **Dávkování:**

2 g/100 kg hroznů

### **Použití:**

K lepšímu promíchání je enzymový granulát před přidáním rozpuštěn ve vodě nebo šťávě. Doba macerace 6-12 hodin (nejlepších výsledků je dosaženo při teplotě 12 °C až 15 °C) [57].

*Rmut byl ošetřen také maceračními enzymy od firmy IOC (enzym Extrazyme) a firmy Laffort (enzym Press). Bohužel vinařské bedny, ve kterých byl rmut s těmito přípravky umístěn, byly nad sebou a horní bedna měla děravé dno. Došlo tak ke smíchání vzorků a z tohoto důvodu nemohlo dojít k jejich vyhodnocení.*

### **4.1.4 Hydrolis**

Rmut byl lisován na hydrolisu IT 160 l od firmy VITOKONEX (Obr. 5). Tento typ lisu je v dnešní době ve vinařské praxi používán pouze okrajově. Lisování je šetrné, nevýhodou však může být vyšší spotřeba vody. Konstrukčně se podobá lisům pneumatickým. Skládá se z podstavce, dna lisu a vertikálního válcovitého koše uzavřeného v horní části víkem. Uvnitř prostoru je umístěn pryžový vak, který je při lisování postupně plněn tlakovou vodou z vodovodního řádu. Tím se vak postupně rozpíná a tlačí lisovaný produkt na vnitřní stranu lisovacího koše tlakem 2,6-3,0 baru (0,2-0,3 MPa). Proti vyššímu tlaku je lis vybaven pojistným ventilem [58].



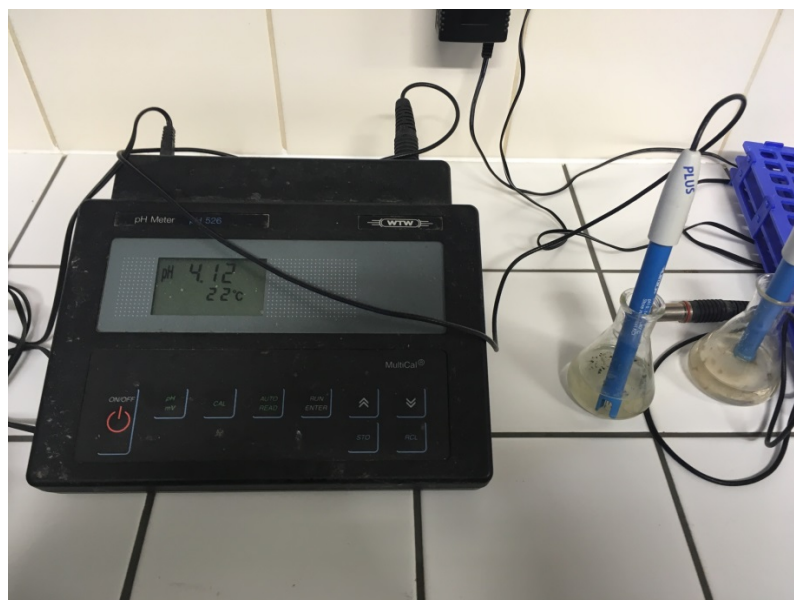
**Obr. 5:** Hydrolis IT 160 l firmy VITOKONEX [59, 60].

## 4.2 Metody měření

### 4.2.1 Stanovení pH

Hodnotu pH je možné definovat jako záporný logaritmus koncentrace vodíkových iontů v roztoku. Vyšší koncentrace volných vodíkových iontů znamená nižší hodnotu pH a naopak. pH je stanovováno na základě měření potenciálu skleněné elektrody, jež závisí na aktivitě vodíkových kationtů vzhledem k referenční kalomelové elektrodě, vhodným milivoltmetrem (pH metrem), kalibrovanými tlumivými roztoky o známém pH. Hodnota pH moštu a vína se běžně pohybuje v rozsahu 3,0-4,0 [15, 61].

Ke stanovení byl použit stolní pH metr pH 526 od firmy WTW s kombinovanou skleněnou a argentochloridovou gelovou elektrodou (Obr. 6).



Obr. 6: pH metr pH 526 firmy WTW.

### 4.2.2 Refraktometrické stanovení cukernatosti

Cukernatost je v ČR stanovována pomocí refraktometru nebo normalizovaného moštoměru. Normalizovaný moštoměr měří obsah zkvasitelných cukrů v kg na 100 l moštu při teplotě 15 °C. Refraktometrické měření probíhá na základě lomu světla v kapalinách o různých hustotách při teplotě 20 °C [15, 62].

Cukernatost moštu byla stanovena pomocí digitálního refraktometru PAL-1 značky ATAGO (Obr. 7). Teplotní korekce a nastavení nuly bylo provedeno na deionizovanou vodu. Z naměřených hodnot byly vypočítány cukernatosti jednotlivých moštů ve stupních normalizovaného moštoměru (°NM) podle vztahu:

$$\text{cukernatost (}^\circ\text{NM)} = \text{refraktometrická sušina} \times 1,1577 - 4,26$$



Obr. 7: Digitální refraktometr PAL-1 značky ATAGO [63].

#### 4.2.3 Stanovení titrovatelných kyselin

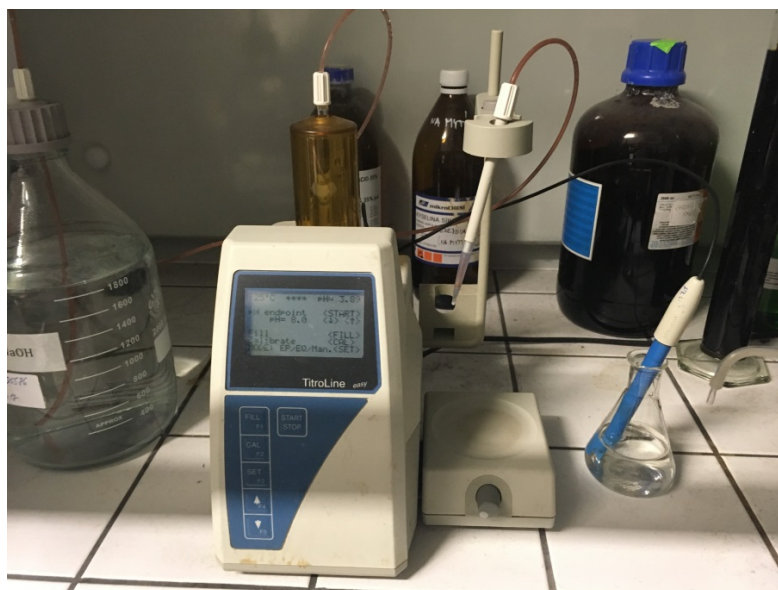
Jako titrovatelné kyseliny se ve víně označuje suma volných kyselin, těkavých (mimo kyseliny uhličitě), netěkavých a kyselých solí, které je možné zneutralizovat titrací hydroxidem sodným nebo draselným.

Titrace veškerých kyselin v moštu odměrným roztokem NaOH o koncentraci 0,1 M byla provedena pomocí automatického titrátoru Schott TitroLine easy (SI Analytics GmbH; Německo) (Obr. 8) s potenciometrickým stanovením bodu ekvivalence, nastaveným na hodnotu pH 8. K určení faktoru odměrného roztoku NaOH byl použit hydrogenftalát draselný jako základní látka. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny vinné ( $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ).

$$x = a \cdot f \cdot 0,75$$

$$x' = a \cdot f \cdot 10$$

kde  $x$  je obsah veškerých titrovatelných kyselin vyjádřených na jedno desetinné místo jako kyselina vinná ( $\text{g/l}$ );  $x'$  jsou veškeré titrovatelných kyselin vyjádřené na jedno desetinné místo jako miliekvivalenty v litru;  $a$  je objem spotřebovaného 0,1 M roztoku NaOH (ml);  $f$  je faktor 0,1 M roztoku NaOH [62].



Obr. 8: Automatický titrátor TitroLine easy od firmy Schott.

#### 4.2.4 Stanovení celkového asimilovatelného dusíku

Pro stanovení asimilovatelného dusíku v moštu byla využita formaldehydová titrace. Principem této metody je přidavek formaldehydu do moštu, což vede k uvolnění protonů, a následná titrace hydroxidem sodným do pH 8. Touto metodou jsou měřeny volné aminokyseliny i amonné ionty.

Titrace byla provedena pomocí automatického titrátoru Schott TitroLine easy (SI Analytics GmbH; Německo) (Obr. 8).

$$x = a \cdot 0,14 \cdot 100 \cdot f$$

kde  $x$  je obsah asimilovatelného dusíku (mg/l);  $a$  je objem spotřebovaného 0,1 M roztoku NaOH (ml);  $f$  je faktor 0,1 M roztoku NaOH [62].

#### 4.2.5 Měření turbidity

Kromě absorpce může při průchodu světla vzorkem docházet k jeho rozptylování, pokud jde o disperzní nebo koloidní soustavu. Toho je využíváno u turbidimetrie, měří-li se intenzita světla procházejícího vzorkem v původním směru. Tuto metodu lze uskutečnit pomocí obvyklého fotometrického vybavení a úbytek světla rozptylem při průchodu vzorkem může být snadno popsán pomocí absorbance a dalších veličin obvyklých ve fotometrii [64].



Pro měření byl použit laboratorní turbidimetr pro nefelometrická měření s automatickou 1-3 bodovou kalibrací a sledováním intervalu kalibrace Turb 550 od firmy WKW (Obr. 9).



Obr. 9: Laboratorní turbidimetr WKW Turb 550.

#### 4.2.6 Spektrofotometrické stanovení polyfenolů

Spektrofotometr je vědecký přístroj, který umožňuje zkoumat chemické složení látky či objektu na bázi měření odraženého světla, respektive vlnové délky odraženého světla a jeho absorpci, nebo na základě měření vzniklého světla, přičemž ke vzniku dochází umělou excitací (plazma, jiskra, rtg) [38].

Principiálně se spektrofotometr skládá ze čtyř částí:

- zdroje světla,
- monochromátoru,
- oddílu, ve kterém je umístěn vzorek,
- detektoru.

Vína byla před stanovením jednotlivých parametrů odstředěna (3000 x g; 6 min). Mošty byly pro spektrofotometrická stanovení polyfenolů použity neředěné. Spektrofotometrická měření byla provedena na automatickém biochemickém analyzátoru MIURA ONE (I.S.E. S.r.l.; Guidonia (RM) – Itálie) (Obr. 10). Jednotlivé metody byly uzpůsobeny použitému analyzátoru, kdy inkubace probíhala při 37 °C a inkubační doby bylo třeba přizpůsobit pracovním cyklům přístroje.

#### ***Folin-Ciocalteu metoda***

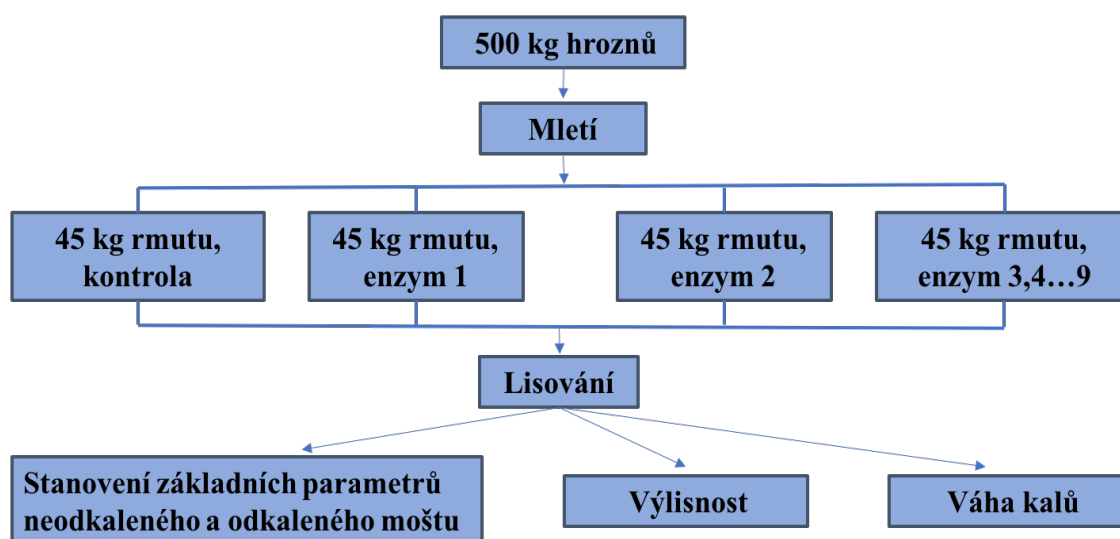
Celkový obsah fenolů ve víně byl stanoven modifikovanou Folin-Ciocalteu metodou. K 198  $\mu\text{l}$  vody bylo přidáno 12  $\mu\text{l}$  vzorku a 10  $\mu\text{l}$  Folin-Ciocalteu činidla. Po 36 sekundách bylo přidáno 30  $\mu\text{l}$  roztoku dekahydrátu uhličitanu sodného (20%). Absorbance při 700 nm byla měřena po 600 sekundách. Koncentrace celkových fenolů byla stanovena na základě kalibrační křivky, za použití kyseliny gallové jako standardu (25-1000  $\text{mg.l}^{-1}$ ). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě  $\text{mg.l}^{-1}$  ekvivalentů kyseliny gallové (GA) [65].



**Obr. 10:** Automatický biochemický analyzátor I.S.E. Miura One.



### 4.3 Experiment



Obr. 11: Schéma experimentu.

Na Obr. 11 je uvedeno schématické znázornění celého experimentu. Sběr proběhl 18. října 2016. Hrozny byly sbírány ručně do vinohradnických plastových beden o objemu 30 l a dopraveny do školního sklepa, kde byly odstopkovány a pomlety v mlýnkoodstopkovači. Rmut byl ošetřen pomocí  $\text{SO}_2$  a rozdělen do 10 variant o hmotnostech 45 kg. První variantou byla kontrola, do dalších devíti nádob byly v hodinových intervalech přidány jednotlivé enzymy. Enzymy byly dávkovány vždy ve střední doporučené dávce. Rmuty byly macerovány po dobu 24 hodin za konstantní teploty a podmínek, a následně lisovány s hodinovými intervaly ve stejném pořadí, jako byly přidávány enzymy. Po lisování proběhl základní rozbor každé varianty na pH, cukernatost, titrovatelné kyseliny a asimilovatelný dusík. Byl změřen objem vylišaného produktu a turbidita polisu. Mošt byl umístěn do demižonů a ponechán dalších 24 hodin sedimentovat, poté byl opět s hodinovými odstupy odkalen. U každé varianty byla změřena turbidita z definované hloubky a zvážena váha kalů. Na závěr byl u odkalených moštů měřen obsah asimilovatelného dusíku a hodnota polyfenolických látek.

## 5 VÝSLEDKY

### *Kontrolní varianta*

Jako kontrolní varianta byl označen rmut bez přidání enzymu. 18. října 2016 v 10:48 bylo odebráno 45 kg rmutu, který byl macerován 24 hodin. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lisu po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,06 l moštu o váze 32,95 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů, která činila 6,15 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem po lisování byl 23,00 Brix, což se rovná přibližně 22,40 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 1).

**Tab. 1:** Hodnoty měřených parametrů kontrolní varianty

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Kontrola</b>	3,46	7,20	22,40	390,34	393,11	157,00	412,00	54,30

### *Varianta č. 1*

Varianta č. 1 byla ošetřena enzymem LAMOTHE-ABIET Vinozym FCE-BTE. Rmut byl odebrán 18. října 2016 v 11:48 a macerován 24 hodin. Ve 13,5 ml vody bylo rozmícháno 1,35 g enzymu a přidáno do nádoby s rmutem. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lise po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,71 l moštu o váze 33,66 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů, která činila 8,55 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem byl 23,00 Brix, což se rovná přibližně 22,40 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 2).

**Tab. 2:** Hodnoty měřených parametrů varianty č. 1

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Enzym 1</b>	3,47	7,58	22,40	380,65	377,88	178,70	529,00	120,00

### **Varianta č. 2**

Varianta č. 2 byla ošetřena enzymem LAMOTHE-ABIET Vinozym Ultra. Rmut byl odebrán 18. října 2016 ve 12:48 a macerován 24 hodin. V 6 ml vlažné vody bylo rozmícháno 0,6 ml enzymu tak, aby vznikl zhruba 10 % roztok, který byl přidán do nádoby s rmutem. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lisu po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,40 l moštu o váze 33,35 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů, která činila 8,55 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem byl 23,10 Brix, což se rovná přibližně 22,50 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 3).

**Tab. 3:** Hodnoty měřených parametrů varianty č. 2

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Enzym 2</b>	3,45	7,57	22,50	401,41	400,03	171,10	607,00	74,20

### **Varianta č. 3**

Varianta č. 3 byla ošetřena enzymem ERBSLÖH Trenolin Mash DF. Byla odebrána 18. října 2016 v 13:48 a macerována 24 hodin. Přímo v nádobě s rmutem bylo rozmícháno 1,125 ml enzymu. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lisu po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,83 l moštu o váze 33,73 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů, která činila 5,25 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem byl 22,50 Brix, což se rovná přibližně 21,90 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 4).

**Tab. 4:** Hodnoty měřených parametrů varianty č. 3

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Enzym 3</b>	3,59	7,35	21,90	431,86	415,25	201,10	467,00	70,40

#### **Varianta č. 4**

Varianta č. 4 byla ošetřena enzymem ENARTIS Caractere. Byla odebrána 18. října 2016 v 14:48 a macerována 24 hodin. Přímo v nádobě s rmutem byl rozmíchán 1 g enzymu. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lisu po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,52 l moštu o váze 33,45 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů, která činila 5,35 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem byl 23,00 Brix, což se podle přepočtu uvedeného výše rovná přibližně 22,40 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 5).

**Tab. 5: Hodnoty měřených parametrů varianty č. 4**

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Enzym 4</b>	3,57	7,61	22,40	420,79	408,33	185,30	817,00	92,00

#### **Varianta č. 5**

Varianta č. 5 byla ošetřena enzymem RAPIDASE Expression. Byla odebrána 18. října 2016 v 15:48 a macerována 24 hodin. Ve 13,5 ml vody bylo rozmícháno 1,35 g enzymu a přidáno do nádoby s rmutem. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lisu po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,28 l moštu o váze 33,22 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů, která činila 6,85 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem byl 23,20 Brix, což se rovná přibližně 22,70 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 6).

**Tab. 6: Hodnoty měřených parametrů varianty č. 5**

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Enzym 5</b>	3,55	7,36	22,70	408,33	409,72	189,40	296,00	69,40

### **Varianta č. 6**

Varianta č. 6 byla ošetřena enzymem ENARTIS Arom MP. Byla odebrána 18. října 2016 v 16:48 a macerována 24 hodin. V 11,25 ml vody bylo rozmícháno 1,125 g enzymu a přidáno do nádoby s rmutem. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lisu po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,81 l moštu o váze 33,80 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů, která činila 6,00 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem byl 23,00 Brix, což se rovná přibližně 22,40 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 7).

**Tab. 7: Hodnoty měřených parametrů varianty č. 6**

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Enzym 6</b>	3,61	7,20	22,40	427,71	413,87	190,00	285,00	69,30

### **Varianta č. 7**

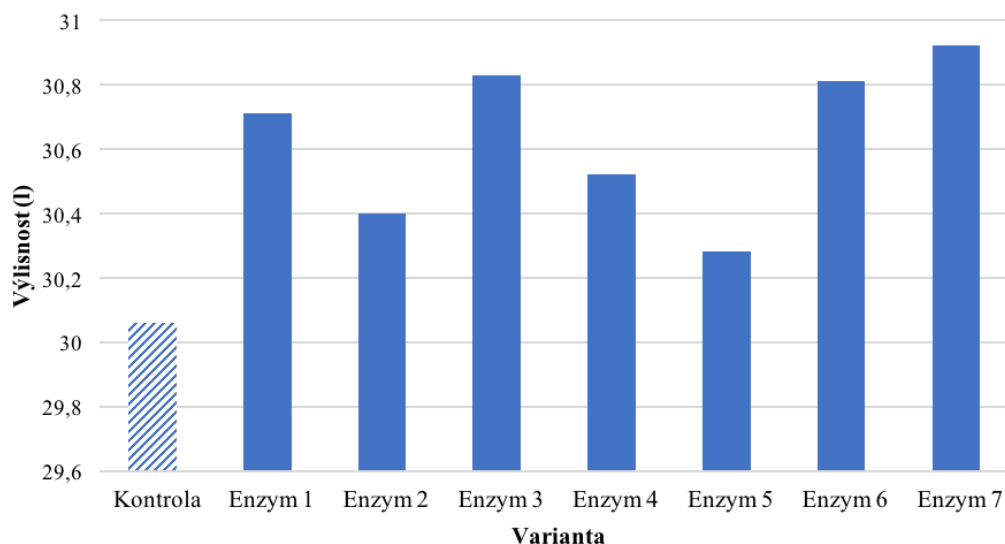
Varianta č. 7 byla ošetřena enzymem LALLEMAND Lallzyme Cuvee Blanc. Byla odebrána 18. října 2016 v 17:48 a macerována 24 hodin. Ve vodě bylo rozmícháno 0,9 ml enzymu a přidáno do nádoby s rmutem. Následující den ve stejnou dobu byl rmut lisován na hydraulickém lisu po dobu 18 minut. Za tuto dobu bylo z rmutu vylisováno 30,92 l moštu o váze 33,76 kg. Po 24 hodinách sedimentace byl mošt odkalen a byla zvážena váha kalů která činila 4,70 kg. Obsah cukru naměřený refraktometrem byl 22,00 Brix, což se rovná přibližně 21,40 °NM. Další naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tabulce (Tab. 8).

**Tab. 8: Hodnoty měřených parametrů varianty č. 7**

	pH	TA (g/l)	Cukry (°NM)	YAN (mg/l)		Celkový obsah fenolů (mg/l)	Turbidita (NTU)	
				Před	Po		Před	Po
<b>Enzym 7</b>	3,53	7,33	21,40	415,25	405,56	194,00	532,00	50,10

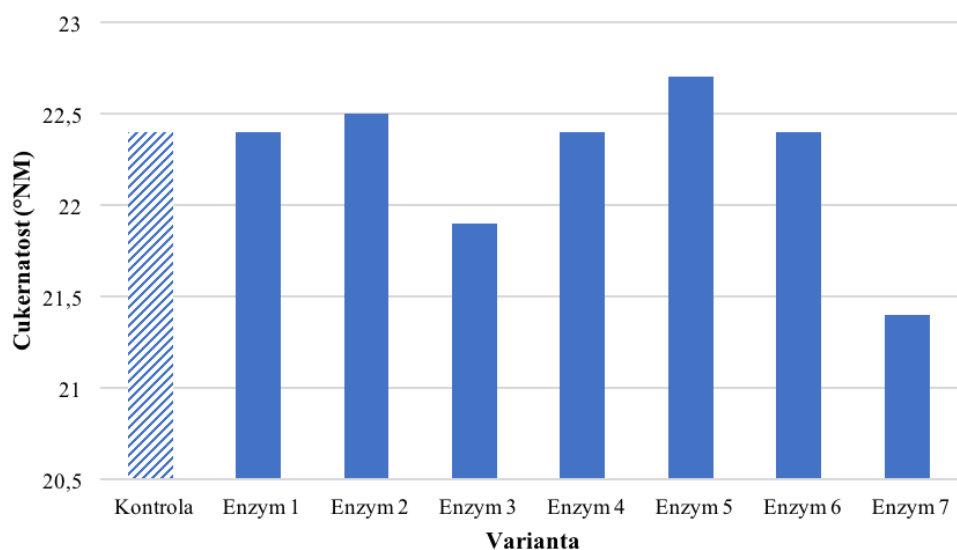
### ***Vyhodnocení jednotlivých parametrů moštu***

V Grafu 1 jsou porovnány hodnoty výlisnosti jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší výlisnosti (30,92 l) bylo dosaženo u rmutu ošetřeného enzymem č. 7, což byl enzym Lallzyme Cuvee Blanc od firmy LALLEMAND.



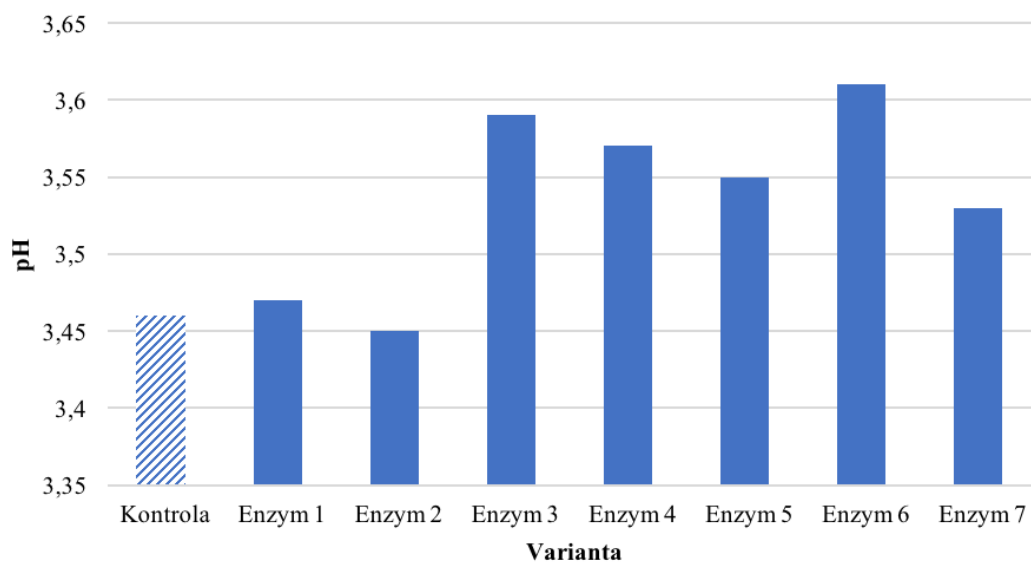
**Graf 1:** Porovnání výlisnosti jednotlivých variant (l)

V Grafu 2 jsou porovnány hodnoty cukernatosti jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší cukernatosti (22,70 °NM) bylo dosaženo u rmutu ošetřeného enzymem č. 5, což byl enzym Expression od firmy RAPIDASE.



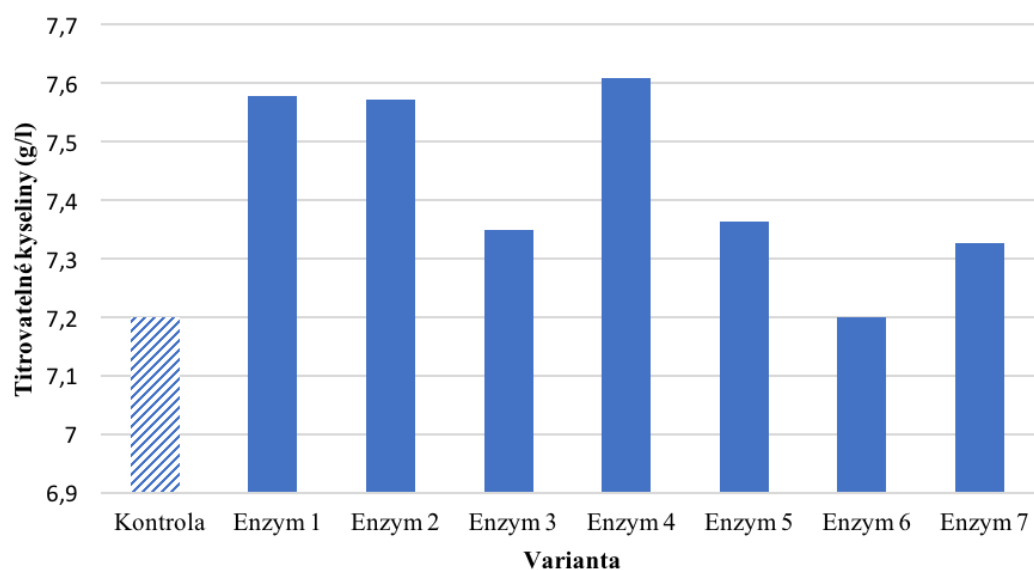
**Graf 2:** Porovnání cukernatosti u jednotlivých variant (°NM)

V Grafu 3 jsou porovnávány hodnoty pH jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší hodnoty pH (3,61) bylo dosaženo u rmutu ošetřeného enzymem č. 6, což byl enzym Arom MP od firmy ENARTIS.



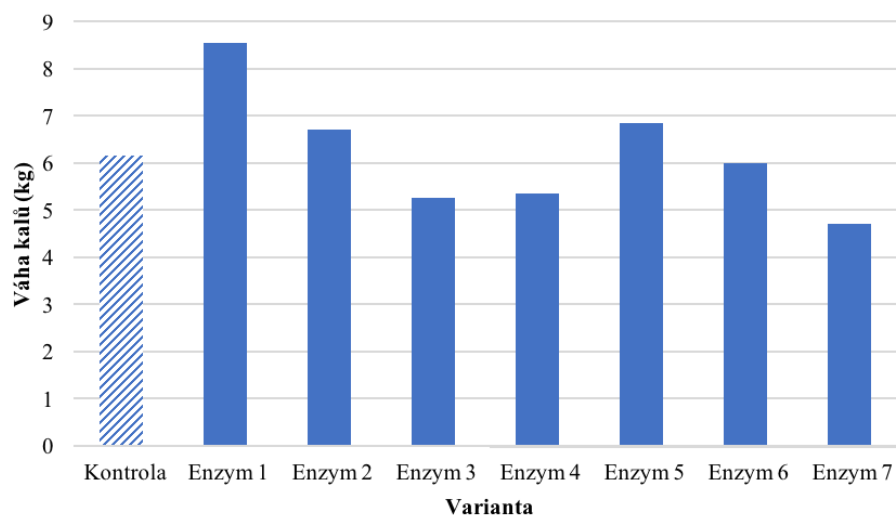
**Graf 3:** Porovnání hodnot pH jednotlivých variant

V Grafu 4 jsou porovnány hodnoty titrovatelných kyselin jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší hodnoty TA (7,61 g/l) bylo dosaženo u rmutu ošetřeného enzymem č. 4, což byl enzym Caractere od firmy ENARTIS.



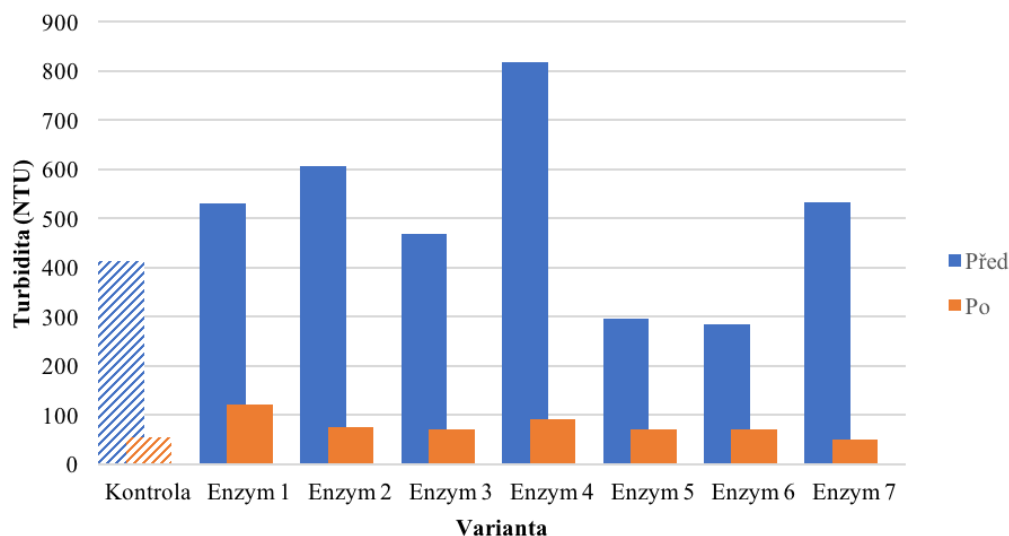
**Graf 4:** Porovnání titrovatelných kyselin jednotlivých variant (g/l)

V Grafu 5 jsou porovnány hodnoty váhy kalů u jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší váhy kalů (8,55 kg) bylo dosaženo u rmutu ošetřeného enzymem č.1, což byl Vinozym Ultra od firmy LAMOTHE-ABIET.



**Graf 5:** Porovnání váhy kalů jednotlivých variant (kg)

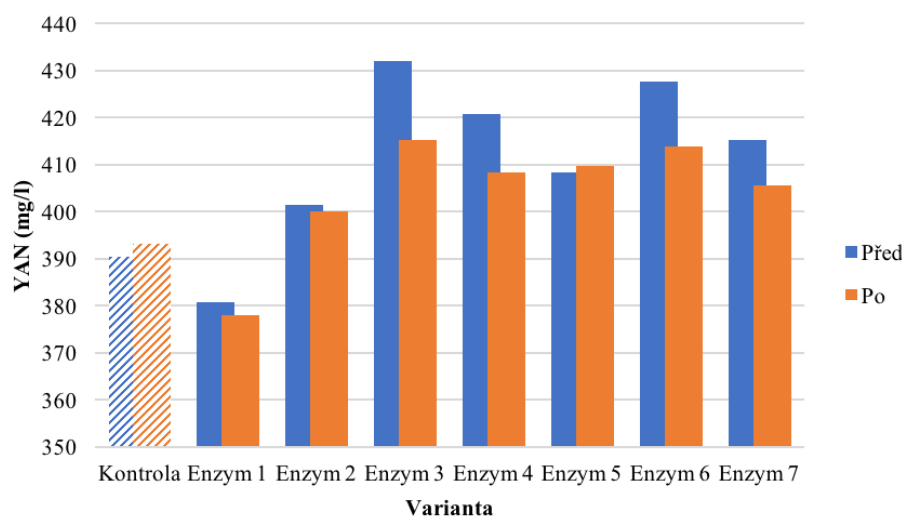
V Grafu 6 jsou porovnány hodnoty turbidity u jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Modře znázorněné hodnoty odpovídají turbiditě měřené před odkalením, oranžové hodnoty pak turbiditě po odkalení. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší hodnoty turbidity před odkalením (817,00 NTU) bylo dosaženo u enzymu č. 4 – Caractere od firmy ENARTIS a po odkalení (120 NTU) u enzymu č. 1 – Vinozym Ultra od firmy LAMOTHE-ABIET.



**Graf 6:** Porovnání turbidity před a po odkalení u jednotlivých variant (NTU)

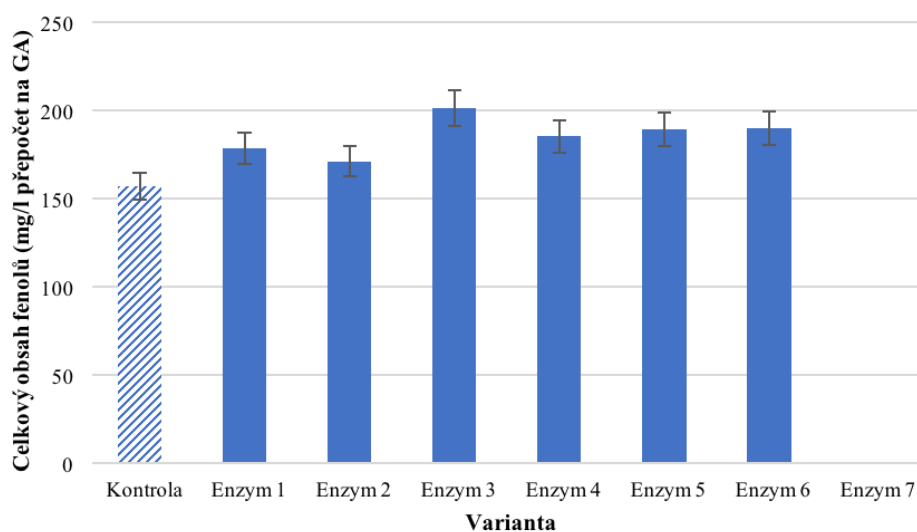


V Grafu 7 jsou porovnány hodnoty asimilovatelného dusíku u jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Modře znázorněné hodnoty odpovídají YAN měřenému před odkalením, oranžové hodnoty pak YAN po odkalení. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší hodnoty YAN před odkalením (431,86 mg/l) i po odkalení (415,25 mg/l) bylo dosaženo u enzymu č. 3 – Trenolin Mash DF od firmy ERBSLÖH.



**Graf 7:** Porovnání hodnot asimilovatelného dusíku před a po odkalení u jednotlivých variant (mg/l)

V Grafu 8 jsou porovnány hodnoty celkového obsahu fenolů u jednotlivých rmutů ošetřených maceračními enzymy. Z tohoto porovnání je patrné, že nejvyšší hodnoty (201,10 mg/l) fenolů bylo dosaženo u enzymu č. 3 – Trenolin Mash DF od firmy ERBSLÖH.



**Graf 8:** Celkový obsah fenolů v mg/l přepočteno na GA

## 6 DISKUSE

K našemu experimentálnímu šetření byla použita odrůda Hibernál, která je charakteristická silnější pevnou slupkou a tuhou dužninou. Větší tloušťka slupky má negativní vliv na výlisnost moštu. Macerační enzymy napomáhají k rozpadu buněčných stěn slupky, a proto může použití těchto enzymů u této odrůdy najít své využití [24, 33, 49, 66].

Název výlisnost (výtěžnost) moštu z hroznů révy vinné se rozumí množství moštu, získaného (převážně lisováním) z váhové jednotky hroznů. Podle Blahy [67] je výlisnost podmíněna lisovacím tlakem, kdy se při vyšším tlaku do šťávy dostává vyšší obsah cukrů a kyselin. Z pohledu kvality budoucího vína je nesporně důležité správné načasování aplikace enzymatických preparátů. V případě aplikace na rmut před lisováním se může zlepšovat výlisnost moštu [15], což se v našem experimentu potvrdilo. U všech variant, kde byly použity enzymy, jsme mohli pozorovat mírné zvýšení výlisnosti oproti kontrolní variantě bez enzymu. Nejvyšší nárůst výlisnosti jsme pozorovali u enzymu č. 7, což byl enzym Lallzyme Cuvee Blanc od firmy LALLEMAND. Rittsteinová [68] v roce 1989 aplikovala různé kombinace enzymů pro zvýšení výlisnosti. Zjistila, že nejlepší kombinací enzymů se výlisnost zvýšila až o 10 %. Nejvyšší nárůst výlisnosti při našem experimentu byl 0,86 litru, což tvoří nárůst vylisovaného moštu, oproti kontrolní variantě, pouze o 2,86 %. Takto nízký nárůst byl nejspíše způsoben nižší účinností lisovací techniky použité při našem experimentu, než v případě výzkumu [68] a také nevhodným umístěním nádob s rmutem ošetřeným enzymy ve venkovním prostředí. Pro optimální činnost enzymů by neměla teplota okolního prostředí klesnout pod 10 °C [16]. V průběhu macerace se však venkovní teplota pohybovala pouze okolo 8 °C.

Dalšími měřenými parametry bylo pH a titrovatelné kyseliny. Ribereau a Gayon [11] uvádí vliv enzymů na snížení kyselin a současné zvýšení pH u jednotlivých vzorků. Tyto změny jsou způsobeny uvolněním draslíku ze slupky hroznů a reakcí s kyselinou vinnou za vytvoření vinného kamene. Macerace je tedy vhodná pro hrozny s vyšším obsahem kyselin [39]. Baroň [37] popisuje vývoj jednotlivých organických kyselin. Zatímco obsah kyseliny jablečné roste, obsah kyseliny vinné klesá spolu s extrakcí minerálů, především draslíku, což je hlavním důvodem nárůstu pH. Většina pokusů potvrdila, že obsah titrovatelných kyselin, zejména kyseliny vinné, během macerace klesá a pH vzrůstá. Tuto skutečnost potvrzují i zahraniční autoři [39]. Změna pH

u našeho experimentu těmto výsledkům odpovídá. U všech variant s přidavkem enzymů došlo k nárůstu pH oproti kontrolní variantě, s výjimkou enzymu č. 2 Vinozym Ultra firmy LAMOTHE-ABIET, kde pH dosáhlo hodnoty 3,45. Tato hodnota však na rozdíl od všech dalších variant včetně kontroly, odpovídá optimálním hodnotám pH pro fermentaci. Největšího nárůstu pH (3,61) dosáhla varianta s enzymem Arom MP od firmy ENARTIS. Jednotlivé rozdíly pH mezi enzymy můžeme přičítat odlišnému efektu na buněčné stěny a tím také odlišnému uvolnění draslíku ze slupky.

Hodnoty titrovatelných kyselin neodpovídají publikovaným výsledkům, kdy by se při zvýšení hodnoty pH měly tyto hodnoty snížit [11]. Při našem experimentu u všech variant došlo k nárůstu titrovatelných kyselin. Tento rozdílný výsledek můžeme přičítat zvýšenému obsahu těkavých kyselin, především kyseliny octové (kvůli přístupu vzduchu ke rmutu). Rozdílný obsah titrovatelných kyselin u jednotlivých variant můžeme přisoudit rozdílným tlakům při lisování rmutu (obtížná kontrola při použití hydrolisu), což mohlo vést k rozdílné extrakci kyselin ze slupek a semen.

Baroň [69] uvádí, že vyššímu lisovacímu tlaku odpovídá nižší hodnota turbidity, přičemž ideální turbidita moštu před fermentací odpovídá 100-250 NTU. Podle našich výsledků můžeme vidět, že víno bylo odkalené příliš, což mělo negativní vliv na budoucí aromatický profil vína. Pouze varianta s enzymem č. 2 odpovídá optimální hodnotě turbidity 120 NTU.

Obsah pevných částí hroznů do jisté míry mění složení moštu, přičemž především narůstá obsah dusíkatých složek. U vín vyrobených macerací slupek bývá obsah aminokyselin větší, což pozitivně ovlivňuje rychlý nástup fermentace a její plynulý průběh [70]. Bílá vína bez macerace slupek častěji trpí problémy s vážnoucí fermentací z důvodu menšího obsahu dusíkatých látek. Semena, a především slupky bobulí obsahují výrazně vyšší koncentrace asimilovatelného dusíku, který dokáží kvasinky využít. Optimum hladiny asimilovatelného dusíku pro fermentaci průměrně cukernatého moštu je 190-200 mg/l [70]. U všech experimentálních variant jsme mohli sledovat uspokojivou hodnotu asimilovatelného dusíku pro správnou fermentaci. Největší množství obsahovala varianta s enzymem č. 3 Trenolin Mash DF firmy ERBSLÖH a to 431,86 mg/l před a 415,25 mg/l po odkalení.

Tvorba kalů je způsobena rozkladem buněčných stěn za pomoci enzymů. Enzymy slupku rozkládají a podle své účinnosti tvoří různě jemné kaly. Porovnání jednotlivých hodnot váhy kalů proto odpovídá stupni rozkladu buněčných stěn. Nejnižší váhy kalů 4,70 kg bylo dosaženo u enzymu č. 7 Lalzyme Cuvee Blanc od firmy LALLEMAND.

Při použití enzymů by kromě zvýšení vylisnosti také mělo dojít ke zlepšení polyfenolického profilu [15]. Výsledky našeho experimentu tento předpoklad potvrzují. Všechny varianty s enzymy obsahovaly mírně vyšší obsah fenolů než kontrolní varianta. Pouze lehký nárůst obsahu fenolů byl zřejmě také způsoben nízkou okolní teplotou při maceraci. Nejvyšší hodnotu 201,1 mg/l fenolů jsme naměřili při použití u enzymu č. 3 Trenolin Mash DF firmy ERBSLÖH.

## 7 ZÁVĚR

V této bakalářské práci byly zmapovány v ČR komerčně dostupné macerační enzymy. Bylo vybráno 9 experimentálních vzorků se snahou vybrat odlišné výrobce a byly provedeny macerační pokusy v provozních podmínkách. Vzhledem k poškozené vinařské bedně a následnému slití 2 vzorků, bohužel nemohlo dojít ke zhodnocení těchto vzorků s rmutem ošetřeným enzymy.

Hodnotícími parametry pro porovnání vlivu jednotlivých enzymů byly: výlisnost, základní parametry moštu (cukernatost, pH, TA, YAN a turbidita, váha kalů) a polyfenolický profil.

Všechny enzymy v tomto pokusu prokázaly své opodstatnění pro využití při maceraci. U všech jsme mohli sledovat nárůst výlisnosti a polyfenolického profilu moštů. Pokud bychom však měli vybrat „nejlepší“ enzym naší experimentální části, pak bychom takto označili enzym č. 7 Lallzyme Cuvee Blanc od firmy LALLEMAND. Rmut ošetřený tímto přípravkem vykazoval nejvyšší hodnotu výlisnosti (30,92 l). Mošt pak dosáhl druhé nejnižší váhy kalů (4,70 kg) a také druhého nejlepšího podílu celkových fenolů (194,00 mg/l). Dosáhl také optimálních hodnot asimilovatelného dusíku, který je třeba pro hladký průběh fermentace. Jediným negativním parametrem bylo výrazné snížení cukernatosti, které však mohlo být způsobeno větším podílem pevných částí hroznů ve vzorku oproti ostatním.

Naopak mošt s horšími naměřenými parametry kvality byl získán ze rmutu ošetřeného enzymem č. 5 Expression firmy RAPIDASE. Rmut ošetřený tímto enzymem vykazoval nejnižší výlisnost ze všech variant, zvýšení výlisnosti ovšem výrobce neuvádí jako jeho primární účinek. Primárním účinkem tohoto enzymu má být extrakce odrůdového charakteru. Ani u tohoto parametru ovšem ve výsledcích není patrný výrazný rozdíl ve srovnání s ostatními enzymy. Také váha kalů u tohoto enzymu je poměrně vysoká.

Pektolytické macerační enzymy jsou vhodné pro použití ve vinařství a řada vinařů je využívá pro zvýšení výtěžnosti moštu za kratší dobu a zlepšení organoleptických vlastností vína. V našem případě se potvrdily účinky těchto enzymů, ale pouze v jejich omezené míře, což bylo zřejmě způsobeno tím, že teplota po celou dobu macerace nepřesáhla 8 °C. Pro optimální účinek enzymů je ovšem třeba, aby teplota okolního prostředí přesahovala 10 °C [16]. Můžeme tedy předpokládat, že účinek enzymů se neprojevil naplno.

## **8 SOUHRN, RESUMÉ A KLÍČOVÁ SLOVA**

### **Porovnání komerčně dostupných maceračních enzymů při výrobě bílých vín**

Tato bakalářská práce pojednává o vlivu maceračních enzymů při výrobě bílých vín. V literární části jsou podrobně popsány enzymy a jejich využití, pektiny a jejich změna během výroby vína a různé druhy macerace. Hlavním cílem práce bylo zmapovat v ČR komerčně dostupné macerační enzymy a vybrat z nich reprezentativní vzorek pro experimentální část. Z pomletých hroznů byl odebrán rmut, který byl rozdělen do 9 várek, ošetřen jednotlivými enzymy a poté 24 hodin macerován. Následně byl rmut vylisován, odkalen a u jednotlivých variant byly stanoveny hodnoty výlisnosti, základních parametrů a polyfenolického profilu moštu. Na základě těchto měření byly parametry jednotlivých enzymů zhodnoceny. Z těchto výsledků vyplývá, že nejlepších požadovaných hodnot dosáhl enzym Lallzyme Cuvee Blanc od firmy LALLEMAND.

**Klíčová slova:** bílé víno, macerace, enzymy, pektiny, výlisnost

### **Comparison of commercially available macerating enzymes in the white wine production**

This bachelor thesis deals with the influence of macerating enzymes in the white wine production. The use of enzymes, description of pectins and their change during the production of wine, and various types of maceration are described in detail in the literature review. The main aim of this work was to map macerating enzymes commercially obtainable in the Czech Republic and select representative sample for experimental part. Pomace from crushed grapes was divided into 9 batches, treated with enzymes and macerated for 24 hours. The pomace was pressed and stripped subsequently. The yield values, basic parameters and the polyphenolic profile of the must were evaluated for all samples. An evaluation of the enzymes parameters was performed based on these measurements. The results of measurements revealed that the best results were achieved by the Lallzyme Cuvee Blanc enzyme from LALLEMAND company.

**Keywords:** white wine, maceration, enzymes, pectins, yield

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Historie vína | e Vinice* [online]. [cit. 2017-04-24]. Dostupné z: <http://www.evinice.cz/o-vine/historie-vina>.
- [2] HANZALOVÁ, Martina. *Vliv technologického postupu a užitých enzymů na složení vína a jeho senzorickou hodnotu*. Brno, 2010. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [3] SAPÍK, Miloslav. *Vliv před-fermentační macerace na obsahové látky moštu révy vinné*. Lednice, 2014. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [4] MATOCHOVÁ, Pavla. *Před-fermentační macerace hroznů révy vinné*. Lednice, 2013. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [5] MAREČEK, Aleš a Jaroslav HONZA. *Chemie: pro čtyřletá gymnázia. Díl 3*. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2000. ISBN 8071820571.
- [6] *Biochemie – vzdělávací portál, Přírodní látky – Enzymy* [online]. [cit. 2017-04-24]. Dostupné z: [http://www.studiumbiochemie.cz/prirodni\\_latky\\_enzymy.html#1](http://www.studiumbiochemie.cz/prirodni_latky_enzymy.html#1).
- [7] *Laffort\_US\_HarvestCatalogue\_ENZYMES\_2015.pdf* [online]. [cit. 2017-04-24]. Dostupné z: [http://www.cellartek.com/application/files/1514/3629/1002/Laffort\\_US\\_HarvestCatalogue\\_ENZYMES\\_2015.pdf](http://www.cellartek.com/application/files/1514/3629/1002/Laffort_US_HarvestCatalogue_ENZYMES_2015.pdf).
- [8] *4. Játra a biotransformace xenobiotik • Funkce buněk a lidského těla* [online]. [cit. 2017-04-24]. Dostupné z: <http://fb.lt.cz/skripta/ix-travici-soustava/5-jatra-a-biotransformace-xenobiotik/>.
- [9] KUTTELVAŠER, Zdeněk. *Abeceda vína*. Praha: Radix, 2003. ISBN 8086031438.
- [10] POLO, Carmen M. a Victoria M. MORENO-ARRIBAS, ed. *Wine chemistry and biochemistry*. New York: Springer, 2008. ISBN 9780387741161.
- [11] RIBÉREAU-GAYON, Pascal. *Handbook of enology*. 2nd ed. Přeložil Jeffrey M. BRANCO. Chichester, West Sussex, England: John Wiley, c2006. ISBN 9780470010365.
- [12] *WBM Magazine - 0709\_enzymes.pdf* [online]. [cit. 2017-04-12]. Dostupné z: [https://www.winebusiness.com/content/File/0709\\_enzymes.pdf](https://www.winebusiness.com/content/File/0709_enzymes.pdf).

- [13] RENSBURG, P. van a I. S. PRETORIUS. Enzymes Involved in Wine Production (Article 3). *Wineland Magazine* [online]. 1. únor 1999 [cit. 2017-04-12]. Dostupné z: <http://www.wineland.co.za/enzymes-involved-in-wine-production-article-3/>.
- [14] HORNSEY, Ian S. *The chemistry and biology of winemaking*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, c2007. ISBN 978-085-4042-661.
- [15] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů. 2., aktualiz. a rozš. vyd.* Praha: Grada, 2010. ISBN 9788024734873.
- [16] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. Valtice: Národní salon vín, 2002. ISBN 978-80-903201-0-9.
- [17] VIDAL, Stéphane, Pascale WILLIAMS, Thierry DOCO, Michel MOUTOUNET a Patrice PELLERIN. *The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization*. DOI: 10.1016/S0144-8617(03)00152-8. ISBN 10.1016/S0144-8617(03)00152-8. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861703001528>.
- [18] POCOCK, K.F., P.B. HØJ, K.S. ADAMS, M.J. KWIATKOWSKI a E.J. WATERS. *Combined heat and proteolytic enzyme treatment of white wines reduces haze forming protein content without detrimental effect: total fractionation and characterization*. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2003.tb00232.x. ISBN 10.1111/j.1755-0238.2003.tb00232.x. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1755-0238.2003.tb00232.x>.
- [19] BARTOWSKY, EVELINE J., PETER J. COSTELLO, ADALBERTO VILLA, PAUL A. HENSCHKE a E.J. WATERS. *The chemical and sensorial effects of lysozyme addition to red and white wines over six months' cellar storage: total fractionation and characterization*. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2004.tb00017.x. ISBN 10.1111/j.1755-0238.2004.tb00017.x. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1755-0238.2004.tb00017.x>.
- [20] PILNIK, W., A. G. J. VORAGEN, ADALBERTO VILLA, PAUL A. HENSCHKE a E.J. WATERS. *Effect of Enzyme Treatment on the Quality of Processed Fruit and Vegetables: total fractionation and characterization*. DOI: 10.1021/bk-1989-0405.ch020. ISBN 10.1021/bk-1989-0405.ch020. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-1989-0405.ch020>.



- [21] PARLEY, A., L. VANHANEN, D. HEATHERBELL, PAUL A. HENSCHKE a E.J. WATERS. *Effects of pre-fermentation enzyme maceration on extraction and colour stability in Pinot Noir wine: total fractionation and characterization*. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2001.tb00203.x. ISBN 10.1111/j.1755-0238.2001.tb00203.x. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00203.x>.
- [22] RIBÉREAU-GAYON, Pascal. *Handbook of enology*. 2nd ed. Přeložil Jeffrey M. BRANCO. Chichester, West Sussex, England: John Wiley, c2006. ISBN 9780470010396.
- [23] VISSER, J. a A. G. J. VORAGEN. *Pectins and Pectinases*. B.m.: Elsevier, 1996. ISBN 978-0-08-054460-1.
- [24] KRAUS, Vilém. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2005. ISBN 8086767000.
- [25] SAULNIER, Luc a Jean-François THIBAUT. *Extraction and characterization of pectic substances from pulp of grape berries*. DOI: 10.1016/0144-8617(87)90001-4. ISBN 10.1016/0144-8617(87)90001-4. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0144861787900014>.
- [26] DAVÍDEK, Jiří. Pektiny. In: *WikiSkripta* [online]. 2012 [cit. 2017-05-02]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Pektiny.jpg>
- [27] VIDAL, S, Ángeles F. RECAMALES, M. Lourdes GONZÁLEZ-MIRET, M. José GÓMEZ-MÍGUEZ, Isabel M. VICARIO a Francisco J. HEREDIA. *Polysaccharides from grape berry cell walls. Part I: tissue distribution and structural characterization of the pectic polysaccharides*. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00285-X. ISBN 10.1016/S0144-8617(00)00285-X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014486170000285X>.
- [28] NUNAN J. Kylie, SIMS M. Ian, BACIC Antony, ROBINSON P. Simon, and FINCHER B. Geoffrey. *Changes in Cell Wall Composition during Ripening of Grape Berries*. *Plant Physiol.* 1998 118: 783-792. doi:10.1104/pp.118.3.783.
- [29] AMERINE, M.A., H.W. BERG a W.V. CRUESS, W.V. *The Technology of Wine Making*. US: The AVI Publishing Company, Inc., Wesport, 1972, 802 s. 3. ISBN 9780870551161.

- [30] ROBERTSON, G. L., R. ESCHENBRUCH a K. J. CRESSWELL. *Seasonal Changes in the Pectic Substances of Grapes and Their Implication in Juice Extraction*. American Journal of Enology and Viticulture. 1980, **31**(2), 162–164. ISSN 0002-9254.
- [31] VORAGEN, Fons G. J., Jet P. J. TIMMERS, Joseph P. H. LINSSEN, Henk A. SCHOLS a Walter PILNIK. *Methods of analysis for cell-wall polysaccharides of fruit and vegetables*. DOI: 10.1007/BF01082488. ISBN 10.1007/BF01082488. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF01082488>.
- [32] KNOBL, Geoffrey M. *Wine – Enology – Grape Chemistry Lab* [online]. 200401001 [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <http://www.apps.fst.vt.edu/extension/enology/extonline/foodwine.html>.
- [33] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Příprava bílých vín*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 9788090531949.
- [34] MARGALIT, Yair. *Concepts in wine chemistry*. 3rd ed. San Francisco, CA: Wine Appreciation Guild, 2012. ISBN 9781935879817.
- [35] VRBOVÁ, Libuše. *Vliv macerace rmutu při výrobě rosé vín*. Lednice 2016. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [36] STEJSKAL, Ondřej. *Kryomacerace v technologii bílých vín*. Lednice 2015. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [37] BAROŇ, Mojmír. *Před-fermentační 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.
- [38] ŠKROBÁK, Stanislav. *Vliv doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné*. Lednice 2015. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [39] MIKLOVIČ, Lubomír. *Vliv doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné*. Lednice 2013. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [40] BAKKER, Jokie a Ronald J. CLARKE. *Wine flavour chemistry*. 2nd ed. Oxford: Wiley Blackwell, 2012. ISBN 9781444330427.

- [41] HERNANZ, Dolores, Ángeles F. RECAMALES, M. Lourdes GONZÁLEZ-MIRET, M. José GÓMEZ-MÍGUEZ, Isabel M. VICARIO a Francisco J. HEREDIA. *Phenolic composition of white wines with a prefermentative maceration at experimental and industrial scale*. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.06.006. ISBN 10.1016/j.jfoodeng.2006.06.006. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877406004468>.
- [42] STRÝČEK, Jan. *Vliv macerace na antiradikálovou aktivitu moštů révy vinné*. Lednice 2014. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [43] CANALS, R., M. C. LLAUDY, J. VALLS, J. M. CANALS a F. ZAMORA. *Influence of Ethanol Concentration on the Extraction of Color and Phenolic Compounds from the Skin and Seeds of Tempranillo Grapes at Different Stages of Ripening*. DOI: 10.1021/jf047872v. ISBN 10.1021/jf047872v. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf047872v>.
- [44] KASPAR, Aleš. *Vliv studené macerace na obsahové látky moštu révy vinné*. Lednice 2013. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [45] PEINADO R. A. *Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to prefermentative*. Food Chemistry, 4, stránky 585-590, 2004.
- [46] YANG, Dan Yi, Yukio KAKUDA, Ronald E. SUBDEN, J. M. CANALS a F. ZAMORA. *Higher alcohols, diacetyl, acetoin and 2,3-butanediol biosynthesis in grapes undergoing carbonic maceration*. DOI: 10.1016/j.foodres.2005.06.007. ISBN 10.1016/j.foodres.2005.06.007. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996905001468>.
- [47] JACKSON, Ron S. *Wine science: principles and applications*. Fourth edition. London: Academic press, 2014. ISBN 9780123814692.
- [48] HRONOVÁ Jana. *Kvalitativní parametry vín vyrobených karbonickou macerací*. Lednice 2013. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [49] SOTOLÁŘ Radek. *Multimediální atlas podnožových, moštových a stolních odrůd révy*. Dostupný z WWW: [http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/556/ustav\\_556/atlas\\_reva/atlas\\_reva.pdf](http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/556/ustav_556/atlas_reva/atlas_reva.pdf).

- [50] Hibernál-hrozen-list. In: VŮna z Moravy, vŮna z »ech [online]. [cit. 2017-05-02]. DostupnŮ z: <https://www.wineofczechrepublic.cz/images/odrudy/50-Hibernál-hrozen-list.jpg>
- [51] *VINOZYM FCE - BTE* | *Vinařský ráj* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <http://www.vinarskyraj.cz/katalog/pripravky-a-merici-pomucky/enzymy/enzymy-lamothe-abiet/vinozym-fce-bte>.
- [52] *VINOZYM ULTRA* | *Vinařský ráj* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <http://www.vinarskyraj.cz/katalog/pripravky-a-merici-pomucky/enzymy/enzymy-lamothe-abiet/vinozym-ultra>.
- [53] *Trenolin Mash DF* | *Vinařský ráj* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <http://www.vinarskyraj.cz/katalog/pripravky-a-merici-pomucky/enzymy/enzymace/trenolin-mash-df>.
- [54] *Enartis USA* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <http://shop-usa.enartis.com/enartis-zym-caractere>.
- [55] *Fiche Expression GB - Rapidase-Expression-Product-Data-Sheet-EN.pdf* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <http://www.oenobrand.com/files/PDF/Rapidase/Granulated-Enzymes/Rapidase-Expression-Product-Data-Sheet-EN.pdf>.
- [56] *Stabilizzanti - 150316192212.pdf* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: [http://www.enartis.com/upload/images/03\\_2015/150316192212.pdf](http://www.enartis.com/upload/images/03_2015/150316192212.pdf).
- [57] *Lallzyme Cuvee Blanc 6-22-10.pdf* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <http://www.scottlab.com/uploads/documents/downloads/243/Lallzyme%20Cuvee%20Blanc%206-22-10.pdf>.
- [58] BURG, Patrik a Pavel ZEMÁNEK. *Technika pro vinařství: technické výpočty*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. ISBN 9788075091901.
- [59] *Lis na víno 160 l hydrolis IT: Vitokonex- vinařství, výčepní technika, jezírka* [online]. [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <http://www.vitokonex.cz/product/lis-na-vino-160-l-hydrolis-it:57/>.
- [60] Murto lis na ovocie - hydrolis - stláčaný vodou 3 bar 20L. *NAGA.sk* [online]. [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://www.naga.sk/sk/zahrada-hobby-a-zvierata/lisy-na-ovocie/murto-lis-na-ovocie-hydrolis-stlacany-vodou-3-bar-20l.html>.

- [61] JACOBSON, Jean L. *Introduction to wine laboratory practices and procedures*. New York, N.Y.: Springer, c2006. ISBN 9780387243771.
- [62] BALÍK, Josef. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 3. vyd. / . Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2006. ISBN 8071579335.
- [63] KRATINA, Ing Josef. Refraktometry digitální Atago. *VERKON, společnost pro vaši laboratoř* [online]. [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <http://www.verkon.cz/refraktometry-digitalni-atago/>.
- [64] *Turbidimetrie – WikiSkripta* [online]. [cit. 2017-04-26]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Turbidimetrie>.
- [65] WATERMAN, P.G. a S. MOLE. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites: Ecological Methods and Concepts*. Oxford: Blackwell Scientific Publ, 1994. ISBN 9780632029693.
- [66] MALÍK, Fedor. *Ze života vína*. Pardubice: Filip Trend, c2003. ISBN 8086282279.
- [67] BLAHA, Josef. *Poměry vylisnosti moštu z hroznů révy vinné na Moravě*. Kvasný průmysl. 1980, **26**(12), 282–284. ISSN 0023-5830.
- [68] RITTSTEINOVÁ, Lubomíra. Možnosti použití enzymových preparátů při výrobě kalných šťáv a při zvyšování vylisnosti moštů. *Kvasný průmysl*. Praha: Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, 1989, **35**(8-9), 247-250. ISBN 6638-0549.
- [69] BAROŇ, Mojmír. Přednáška z předmětu základy vinařství 2016, prezentace Technologie vína.
- [70] KŘIŽÁNKOVÁ Hana. *Vliv spontánního a řízeného kvašení na obsah organických kyselin ve víně*. Brno 2010. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.

## 10 SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

<b>Tab. 1:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů kontrolní varianty</i> .....	42
<b>Tab. 2:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů varianty č. 1</i> .....	42
<b>Tab. 3:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů varianty č. 2</i> .....	43
<b>Tab. 4:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů varianty č. 3</i> .....	43
<b>Tab. 5:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů varianty č. 4</i> .....	44
<b>Tab. 6:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů varianty č. 5</i> .....	44
<b>Tab. 7:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů varianty č. 6</i> .....	45
<b>Tab. 8:</b> <i>Hodnoty měřených parametrů varianty č. 7</i> .....	45
<b>Obr. 1:</b> <i>Přeměna etanolu na acetaldehyd [8]</i> .....	10
<b>Obr. 2:</b> <i>Buněčná stěna hroznů [7]</i> .....	12
<b>Obr. 3:</b> <i>Obecný vzorec pektinu [26]</i> .....	21
<b>Obr. 4:</b> <i>List a hrozen odrůdy Hibernál [50]</i> .....	32
<b>Obr. 5:</b> <i>Hydrolis IT 160 l firmy VITOKONEX [59, 60]</i> .....	35
<b>Obr. 6:</b> <i>pH metr pH 526 firmy WKW</i> .....	36
<b>Obr. 7:</b> <i>Digitální refraktometr PAL-1 značky ATAGO [63]</i> .....	37
<b>Obr. 8:</b> <i>Automatický titrátor TitroLine easy od firmy Schott</i> .....	38
<b>Obr. 9:</b> <i>Laboratorní turbidimetr WKW Turb 550</i> .....	39
<b>Obr. 10:</b> <i>Automatický biochemický analyzátor I.S.E. Miura One</i> .....	40
<b>Obr. 11:</b> <i>Schéma experimentu</i> .....	41
<b>Graf 1:</b> <i>Porovnání vylisnosti jednotlivých variant (l)</i> .....	46
<b>Graf 2:</b> <i>Porovnání cukernatosti u jednotlivých variant (°NM)</i> .....	46
<b>Graf 3:</b> <i>Porovnání hodnot pH jednotlivých variant</i> .....	47
<b>Graf 4:</b> <i>Porovnání titrovatelných kyselin jednotlivých variant (g/l)</i> .....	47
<b>Graf 5:</b> <i>Porovnání váhy kalů jednotlivých variant (kg)</i> .....	48
<b>Graf 6:</b> <i>Porovnání turbidity před a po odkalení u jednotlivých variant (NTU)</i> .....	48
<b>Graf 7:</b> <i>Porovnání hodnot asimilovatelného dusíku před a po odkalení u jednotlivých variant (mg/l)</i> .....	49
<b>Graf 8:</b> <i>Celkový obsah fenolů v mg/l přepočteno na GA</i> .....	49

## 11 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ATP – adenosintrifosfát

HG – homogalakturonan

RH-I – rhamnogalakturonan I

RH-II – rhamnogalakturonan II

AG-I – arabinogalaktan I

AG-II – arabinogalaktan II

AGP – protein arabinogalaktanu

PME – pektinmethylesteráza

PG – polygalakturonáza

PL – pektinlyáza

HEPES – biologický pufr (2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl] ethanesulfonic acid)

YAN – kvasinkami asimilovatelný dusík

TA – titrovatelné kyseliny

°NM – stupně normovaného moštoměru

NTU – Nephelometric Turbidity Unit

CO<sub>2</sub> – oxid uhličitý

SO<sub>2</sub> – oxid siřičitý