

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Zahradnická fakulta v Lednici



**ŘÍZENÁ FERMENTACE POMOCÍ SLEDOVÁNÍ PRODUKCE
OXIDU SIŘIČITÉHO**

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce:

Doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

Vypracoval:

Dominik Osička

Lednice 2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Domínik Osička**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Vinohradnictví a vinařství
Název tématu: **Řízená fermentace pomocí sledování produkce oxidu uhličitého**
Rozsah práce: 35-40

Zásady při vypracování:

1. Prostudovat dostupnou literaturu a sepsat literární část práce.
2. Vybrat vhodný počet fermentujících moštů pro realizaci pokusu. Sledování experimentu a odběr vzorků.
Kontrola průběhu fermentace u sledovaných variant.
3. Statistické zhodnocení získaných dat. Vyvodit vhodné závěry a navrhnout doporučení pro praxi a návazný výzkum.

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/10.1002/0470010396>.
2. RIBÉREAU-GAYON, P. – MALLEAN, A. – GLORIES, Y. *Handbook of Enology. Volume 2.* West Sussex, England: John Wiley and Sons, Ltd, 2006. 429 s. ISBN 0 470 01037 1.
3. STEIDL, R. *Sklepní hospodářství. Vallice: Národní salon vína, 2002. 307 s. ISBN 80-903201-04.*

Datum zadání bakalářské práce: listopad 2014


Termín odevzdání bakalářské práce: květen 2016

L.S.


Dominik Osička
Autor práce


doc. Ing. Mojmir Baroš, Ph.D.
Vedoucí ústavu




doc. Ing. Mojmir Baroš, Ph.D.
Vedoucí práce


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

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že práci na téma „*Řízená fermentace pomocí sledování produkce oxidu uhličitého*“ jsem vypracoval 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 vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona.

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

V Lednici dne

.....

podpis

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu své bakalářské práce Doc. Ing. Mojzíru Baroňovi, Ph.D. za vstřícný přístup, podporu, odborné vedení a nespočet odborných konzultací.

V neposlední řadě patří dík mé rodině, přítelkyni a přátelům za podporu během celého mého bakalářského studia.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou řízené fermentace pomocí sledování oxidu uhličitého a sensorickým vyhodnocením tří vín, které měly různé podmínky fermentace.

V literární části je přiblížena alkoholová fermentace a její produkty. Dále jsou v této části popsány biosenzory a senzory využívající se ve vinařství.

V experimentální části se nachází stručný popis odrůdy Tramín červený. Dále následuje popis, průběh a metody výroby vín a soubor analytických a sensorických metod, které se prováděly. Na závěr jsou zhodnoceny a popsány jednotlivé výsledky vín.

ABSTRACT

The bachelor thesis is concerned with the problem of controlled fermentation by monitoring carbon dioxide and sensory evaluation of three wines. These wines had different fermentation conditions.

The theoretical part of the thesis is about alcoholic fermentation and its products. These part of text also describes biosensors and sensors use in oenology.

The practical part includes a description of the variety Gewürztraminer. There are described a processes and methods of production of wines and a set of analytical and sensory methods which were performed. Results of individual wines are described in the end of work.

KLÍČOVÁ SLOVA

Alkoholová fermentace, biosenzory, senzory pro monitorování oxidu uhličitého, oxid uhličitý, Tramín červený

KEY WORDS

Alcoholic fermentation, biosensors, sensors for monitoring carbon dioxide, carbon dioxide, Gewürztraminer

OBSAH

1 ÚVOD	9
2 CÍL PRÁCE	10
3 LITERÁRNÍ ČÁST	11
3.1 ALKOHOLOVÁ FERMENTACE	11
3.1.1 <i>Způsoby fermentace</i>	12
3.2 POPIS SLOŽEK ALKOHOLOVÉ FERMENTACE	14
3.2.1 <i>Hlavní složky alkoholové fermentace</i>	14
Etanol	14
Oxid uhličitý.....	14
3.2.2 <i>Vedlejší složky alkoholové fermentace</i>	15
Acetaldehyd.....	15
Diacetyl	15
Glycerol.....	16
Etylacetát.....	16
Kyselina citronová.....	17
Kyselina jantarová.....	17
Vyšší mastné kyseliny	18
3.3 VYUŽITÍ BIOSENZORŮ	18
3.3.1 <i>Biosenzor</i>	18
3.3.2 <i>Rozdělení biosenzorů</i>	19
3.4 BIOSENZORY VE VINAŘSTVÍ	20
3.4.1 <i>Experimentální použití biosenzorů</i>	20
3.5 SENZORY PRO MĚŘENÍ OXIDU UHLÍČITÉHO.....	21
3.5.1 <i>Fermentační zařízení jako model</i>	22
3.5.2 <i>Fermentační zařízení v reálných podmínkách</i>	23
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
4.1 MATERIÁL A METODY	27
4.1.1 <i>Popis odrůdy Tramín červený</i>	27
4.2 ANALYTICKÉ METODY	28
4.2.1 <i>Stanovení cukernatosti moštu</i>	28
4.2.2 <i>Stanovení titrovatelných kyselin v moštu</i>	29
4.2.3 <i>Stanovení asimilovatelného dusíku v moštu</i>	30
4.2.4 <i>Stanovení pH moštu</i>	31
4.2.5 <i>Stanovení analytického rozboru vín pomocí spektrometru Alpha FT – IR</i>	31
4.2.6 <i>Stobodová tabulka</i>	31
4.2.7 <i>Profil struktury a mohutnosti vín</i>	32
5 VÝSLEDKY	33
5.1 VÝROBA VÍNA	33
5.1.1 <i>Parametry hroznů a moštu</i>	33
5.1.2 <i>Úprava moštu</i>	34

5.1.3 Schéma pokusu	34
5.1.4 Technologie kvašení	36
Varianta 1	36
Varianta 2	38
Varianta 3	41
5.2 SENZORICKÉ VYHODNOCENÍ VZORKŮ	42
5.2.1 Vyhodnocení odborné komise	43
Varianta 1 – Tramín červený, fermentace řízena produkcí oxidu uhličitého	43
Varianta 2 – Tramín červený, fermentace řízena teplotou	43
Varianta 3 – Tramín červený, fermentace bez řízení	43
6 DISKUSE.....	45
7 ZÁVĚR	47
8 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJŮ	48
9 SEZNAM OBRÁZKŮ	51
10 SEZNAM TABULEK.....	52
11 SEZNAM GRAFŮ	53

1 ÚVOD

Hlavním chemickým procesem při výrobě vína je fermentace, při které dochází k přeměně cukrů, obsažených v hroznech révy vinné, na alkohol pomocí kvasinkových mikroorganismů, tj. kvasinek. Řízení procesu fermentace prošlo mnoha technologickými změnami, nikdy však nemůžeme říci, která z technologických metod je správná či nesprávná.

Díky rychlému rozvoji vinařství v České republice se mnohonásobně zlepšila kvalita a vybavenost vinařských podniků, což zapříčiňuje zkoušení nových technologických postupů při výrobě vína. Je ovšem důležité tyto moderní technologie správně využívat a vyrábět tak vína, která se budou moci rovnat vínům světovým.

Pro zlepšení kvality vín a průběhu fermentace se v posledních letech dostávají ke slovu biosenzory, ty jsou předmětem intenzivního výzkumu. Biosenzory vynikají zejména jejich lehkou konstrukcí měřicího systému, velmi dobrou citlivostí či velmi rychlou odezvou, především umožňují výrobcům vína přesně ovlivňovat průběh fermentace.

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce je problematika kvašení a prostudovat literaturu, týkající se problematiky řízené fermentace pomocí sledování oxidu uhličitého. Dále vyrobit tři varianty vín s rozdílnými podmínkami fermentace a sensoricky je vyhodnotit. Na základě výsledků bude posouzeno, podle odbornosti hodnotitelů, která varianta bude nejlepší.

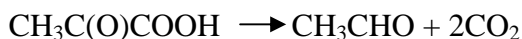
3 LITERÁRNÍ ČÁST

3.1 Alkoholová fermentace

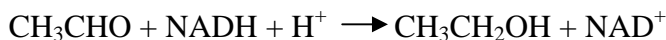
Je všeobecně známo, že alkoholová fermentace je hlavní biochemická reakce všech alkoholických nápojů, při níž se pomocí kvasinek přeměňují rostlinné sacharózy na alkohol. Kvasinky vlastní enzymy, kterými přeměňují rostlinné sacharózy na etanol a oxid uhličitý, za vzniku tepla a energie.

V počátcích kvašení rostou kvasinky rodu *Candida*, *Kloeckera*, *Hanseniaspora* a *Pichia*. Tyto druhy nakonec zahynou a dominantním rodem se stává *Saccharomyces cerevisiae*, který kvašení dokončuje. [1]

Kvasný proces probíhá ve dvou krocích:

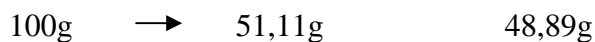
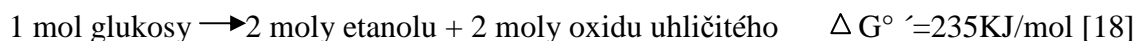


První reakce je katalyzována enzymem pyruvátdekarboxylásou, když se pyruvát dekarboxyluje na acetaldehyd a oxid uhličitý.



V druhé reakci vystupuje jako enzym alkoholdehydrogenáza (ADH) a vzniklý acetaldehyd je redukován na etanol. [18]

Fermentace sumárně:



Podle STEIDLA [18] je však množství vzniklého etanolu pouze 47 až 48g, neboť kromě etanolu vznikají během fermentace z glukózy i další produkty jako jsou např.: acetaldehyd, glycerol, sukcinát (aniont kyseliny jantarové), kyselina pyrohroznová. [16]

Při produkci kvalitních vín je důležité pravidelné sledování fermentačního procesu. To znamená, provádět pravidelnou kontrolu významných parametrů, jako je obsah zbytkového cukru, etanolu a produkce oxidu uhličitého. Pokud bychom chtěli sledovat a monitorovat průběh alkoholové fermentace, můžeme sledovat tyto individuální parametry, se kterými jsou spojeny různé výhody a nevýhody.

- **Množství zbytkového cukru** v kvasícím moštu je velmi přesný parametr, ovšem analyticky náročný. Neexistuje spolehlivý on-line měřicí systém.
- **Obsah etanolu** je také velmi přesný parametr, ovšem jeho stanovení je analyticky velmi náročné stanovení. Opět neexistuje žádný spolehlivý on-line systém. Produkce etanolu je ovšem ovlivněna výkonností kvasinek a podmínkami fermentace.
- **Produkce tepla** představuje nejběžněji využívaný systém. Jedná se o jednoduché sledování fyzikální veličiny, není potřeba chemických rozborů. Taktéž tento parametr nabízí možnost monitoringu dynamiky fermentace.
- **Produkce oxidu uhličitého** je opomíjeným kritériem avšak velmi vhodný pro řízení alkoholového kvašení

Produkce oxidu uhličitého je přímo úměrná činnosti kvasinek. Jednou z možností jak stanovit parametry moštu jsou moderní senzory, měřící na principu hmotnostního průtokoměru. Data z moderních senzorů jsou měřena v reálném čase a okamžitě ukládána a hodnocena počítačovým programem. [13]

Vinař sledováním parametrů kvasícího média může eliminovat mnoho defektů, spojených s tvorbou nežádoucích látek, jako je sirovodík nebo další těkavé sloučeniny, na bázi síry. Tato vada pronásleduje výrobce vína již od nepaměti a je dokonce i v současnosti jedním z nejběžnějších problémů. [5]

Správně provedená fermentace může omezit počet vstupů a zásahů do vína. Během kvašení je víno chráněno, proti oxidaci a kontaminaci mikroorganismy, oxidem uhličitým, který produkují kvasinky. [23]

3.1.1 Způsoby fermentace

Vinař musí vždy vytvořit kvasinkám vhodné prostředí. [7] Pro zahájení kvašení je potřeba až 10 milionů buněk v mililitru moštu. V průběhu posklizňových zpracování hroznů, na různých mechanizačních prostředcích, se kvasinky dostávají z bobulí do moštu. [18]

Spontánní kvašení

Tento druh kvašení se využívá v malovýrobě, kdy se kvasnému procesu nechává samovolný průběh. Obvykle se spoléhá na všechny druhy kvasinek, které se při zpracování dostaly do moštu. Tak zvané divoké kvasinky se vyskytují v moštu ve větším množství, než kvasinky kulturní. Zároveň zakvášejí mošt velmi rychle, vytvářejí větší obsah glycerolu, ale snášejí hůře alkohol, odumírají při jeho 4% obj.. [7]

Charakteristika spontánního kvašení:

- Vyšší obsah glycerolu,
- Více vyšších alkoholů,
- Často více těkavých látek,
- Často vyšší potřeba oxidu uhličitého,
- Zůstatek zbytkového cukru (fermentace se samovolně zastaví).

Kvašení pomocí čistých kultur kvasinek

Zakvášením kulturami aktivních suchých vinných kvasinek chceme dosáhnout, aby kvas probíhal bez závad a dal se dobře kontrolovat. [7] Přidáním suchých vinných kvasinek je od počátku dosaženo dostatečného množství buněk. Přednost jistoty při kvašení a celého prokvašení převažuje nad nedostatky. [18]

Chceme-li, aby kvasinky plnili svou práci v optimální kondici a mají - li zabezpečit rychlé rozkvašení moštu a bezproblémový průběh kvasu, je důležité dodržet postup aktivace aktivních suchých vinných kvasinek. V tomto případě také hrozí ještě jedna komplikace, která je vázána na fakt, že pokud budeme mít špatně připravený zákvas a mošt, který chceme zakvasit, bude obsahovat větší množství již namnožených divokých kvasinek. Naše investice do zakoupených aktivních, suchých, vinných kvasinek pak může být zbytečná. [5]

Bezpodmínečně nezbytný příp. velmi vhodný je přídavek čistých kultur kvasinek v případě:

- Pasterizovaného moštu,

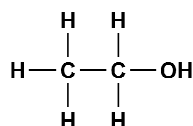
- Moštu o vysoké cukernatosti (vína s přívlastkem),
- Moštu z nahnilých hroznů,
- Problémů s kvašením v důsledku toxinů (fungicidy, jedy kvasinek),
- Opětovného překvácení a druhotného kvašení,
- Velmi nízkých teplot.[18]

3.2 Popis složek alkoholové fermentace

3.2.1 Hlavní složky alkoholové fermentace

Etanol

Obrázek č. 1: Strukturní vzorec etanolu



Jedná se o bezbarvou kapalinu, ostré, ale po zředění příjemné alkoholové vůně. Kapalina je lehce zápalná. Etanol je produktem fermentace cukrů kvasinkami a hned po vodě je nejpodstatnější složkou vína. Množství etanolu ve víně je 9 až 13 % obj.. Množství vznikajícího etanolu, při produkci vína, závisí na stavu zralosti hroznů a na druhu kvasinek. Kvasinky rodu *Saccharomyces* jsou dobrým producentem alkoholu. [8]

Oxid uhličitý

Obrázek č. 2: Strukturní vzorec oxidu uhličitého



Je bezbarvý plyn bez chuti a zápachu. Rozpouští se ve vodě a víně a je těžší než vzduch. Toto může vést ke shromažďování v hlubších sklepech bez ventilace, čímž je vytěšňován kyslík a může vést až k smrti osob. Oxid uhličitý je hlavním produktem alkoholové fermentace, při které jsou přeměňovány rostlinné polysacharidy, za přítomnosti kvasinek. [8]

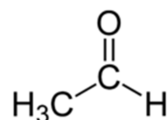
Podle STAIDLA [18] bývá objem kvasného plynu velmi často podceňován. Vzniká až pětadesáti násobné množství oxidu uhličitého. Takový objem kvasného plynu musí být ze sklepa odstraněn různými ventilátory.

3.2.2 Vedlejší složky alkoholové fermentace

V kvasícím médiu se netvoří pouze etanol a oxid uhličitý, ale také mnoho dalších vedlejších produktů, které tvoří takzvaný kvasný (sekundární) buket. Sekundární produkty jsou aromatickými profily vína a často charakterizují odrůdu. Jsou ovlivnitelné podmínkami, hlavně kvasinkami.

Acetaldehyd

Obrázek č. 3: Strukturální vzorec acetaldehydu

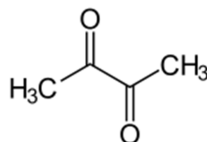


Acetaldehyd je bezbarvá tekutina dusivé vůně, na vzduchu snadno oxiduje na kyselinu octovou. Ve víně acetaldehyd vzniká především jako meziproduct při produkci etanolu z cukrů. Nejvyšší koncentrace se vyskytuje, když jsou za přítomnosti volného oxidu siřičitého aktivní kvasinky. Kvasinky proti tomuto antiseptiku tvoří kyselinu aldehyd-sírovou.

Na základě těchto informací je doporučováno vyvarovat se přidavku oxidu siřičitého do kvasícího nebo dokvašujícího moštu. Veškerý přidaný oxid siřičitý by byl okamžitě vázán a ztratil by jakoukoli další účinnost. [9]

Diacetyl

Obrázek č. 4: Strukturální vzorec diacetylu

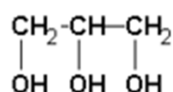


Diacetyl, neboli butandion, respektive butan - 2,3 - dion vzniká přirozeně, jako vedlejší produkt fermentace. V některých fermentačních bakteriích je tvořen prostřednictvím thiaminpyrofosfátu zprostředkovaným kondenzací pyruvátu a acetylCoA.

Vínu dodává pozitivní aromatický komplex doplněný o jemné máslové tóny. Při vyšší koncentraci je víno označeno za vadné. [20]

Glycerol

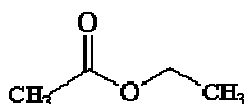
Obrázek č. 5: Strukturní vzorec glycerolu



Glycerol je nejjednodušší cukerný polyol. Chutná sladce, dodává vínu plnost a jemnou chuť. Je třetí nejhojnější složka vína, hned po vodě a etanolu. Glycerol je produktem divokých kvasinek a proto se objevuje především na začátku fermentace. Jeho tvorba závisí na počátečním množství cukrů, charakteru kvasinek a podmínkách kvašení. [8]

Etylacetát

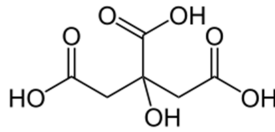
Obrázek č. 6: Strukturní vzorec etylacetátu



Etylacetát je tvořen kvasinkami a bakteriemi. Může se vyskytovat i v docela velkém množství, které přesahuje čichový práh. Nakyslost se projevuje zápachem po laku, či rozpouštědlu. Vína s takto vysokým obsahem etylacetátu trpí bakteriálními chorobami jako je např.: naoctění. [8]

Kyselina citronová

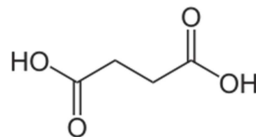
Obrázek č. 7: Strukturní vzorec kyseliny citronové



Mošt obsahuje více kyseliny citronové než víno, protože většinou dochází k velmi častému rozkladu této kyseliny mléčnými bakteriemi. Kyselinu citronovou dokáže rozkládat více než polovina kmenů mléčných bakterií. Po rozkladu může vznikat diacetyl – máslová pachut'. [8]

Kyselina jantarová

Obrázek č. 8: Strukturní vzorec kyseliny jantarové



Kyselina jantarová je jedna z nejdůležitějších vedlejších produktů alkoholové fermentace. Pochází z kvasinek, jako vedlejší produkt metabolismu. Je inhibitorem jablečno - mléčné fermentace. [8]

Těkavé kyseliny

Těkavé kyseliny vznikají v průběhu metabolismu kvasinek. V průběhu fermentace lze sledovat zřetelný vzestup obsahu. Množství těkavých kyselin je omezeno vinařským zákonem. Nejvýznamnější je kyselina octová, která představuje asi 95% celkového množství těkavých kyselin. Vzniká z kyseliny pyrohroznové, během alkoholové fermentace. [8]

Vyšší mastné kyseliny

Množství těchto kyselin je různé. Záleží na typu vína, způsobu a teplotě fermentace. Vyšší mastné kyseliny se středním řetězcem jsou obsaženy už v hroznech, ale během kvašení se jejich obsah zvyšuje. Pokud jejich obsah vzroste nad určitý kvantitativní práh, stávají se jak pro kvasinky, tak i pro mléčné bakterie inhibitory. Vyšší mastné kyseliny s dlouhým řetězcem jsou růstovým faktorem pro kvasinky. [8]

3.3 Využití biosenzorů

Biosenzory jsou v dnešní době oblíbené a jsou podrobovány velkému rozvoji. Svými schopnostmi zasahují do oblastí běžného života člověka, veterinární medicíny, zemědělství, životního prostředí a potravinářského průmyslu. Biosenzory lze stanovovat anorganické látky a dokonce i množství látek organických a biologicky důležitých, např.: alkoholy, bílkoviny, aminokyseliny, biogenní aminy, pesticidy, herbicidy, fenoly, v neposlední řadě také sacharidy. Stanovení lze provádět i ve složitých maticích, mezi které víno určitě patří. [17]

3.3.1 Biosenzor

Biosenzor je analytické zařízení, jehož součástí je citlivý prvek biologického původu. Tato biorekogniční složka může být součástí nebo v těsném kontaktu s fyzikálně - chemickým převodníkem. Poskytuje elektrický signál přímo úměrný koncentraci stanovených látek ve vzorku. [17]

Biosenzor se skládá ze 3 částí:

- 1) **BIOREKOGNIČNÍ SLOŽKA** – rozpoznává stanovovanou látku
 - a) Biokatalytická – stanovená látka je specificky přeměňována v průběhu chemické reakce, obvykle vystupuje jako substrát enzymové reakce, např.: enzymy, organely
 - b) Bioafinitní – stanovovaná látka je specificky vázána na vznikajícím afinitním komplexu, např.: vazba ligandů na receptory

Biorekogniční část je považována za nejslabší prvek biosenzorů, který limituje životnost tohoto zařízení. [17]

2) **FYZIKÁLNĚ - CHEMICKÝ PŘEVODNÍK** - přeměňuje signál z interakce stanovené látky s biologickou složkou na lépe měřitelný signál

3) **PROCESOR** – umožňuje zobrazovat výsledky [17]

3.3.2 Rozdělení biosenzorů

Biosenzory můžeme členit na základě dvou hledisek:

1. Podle biologické složky je dělíme na:

- biokatalytické
- imunosenzory
- DNA
- biomimetické

2. Podle typu fyzikálně – chemického převodníku je dělíme na:

- optické
- piezoelektrické
- akustické
- elektromagnetické
- kalorimetrické
- elektrochemické [17]

3.4 Biosenzory ve vinařství

Fermentace má významný vliv na kvalitu vína. Během tohoto procesu je možné sledovat a kontrolovat požadovanou kvalitu vína a zjistit, zda je nutné provést jakákoliv nápravná opatření pro dosažení požadované kvality. [12]

S cílem zlepšit kontrolu fermentace je velmi důležité získat informace o hodnotách moštu, které se během fermentace mění a mají vliv na kvašení a kvalitu vína. V drtivé většině vinařství se využívá takzvaného off-line měření, což znamená, že jsou tyto hodnoty stanovovány v laboratoři. Taková měření jsou často spojena s manuálními chybami, s časovým zpožděním a s dostupností analytických informací enologů. Vylepšená strategie by měla poskytovat měřící hodnoty ovlivňující kvašení v reálném čase. Pokud se výsledky měření vhodně použijí s matematickými modely kvašení vína, pak je možné, do určité míry, předpovídat časový vývoj procesu a v důsledku toho zlepšit kvalitu výsledného produktu. To zapříčiní minimální výrobní náklady a snížení rizik. [12]

Pro experimentální pokusy byl vyvinut software, který v reálném čase provádí testy pro navrhované měřící se hodnoty v daném víně. [12]

3.4.1 Experimentální použití biosenzorů

Musgraveova [12] vzala v úvahu potřeby a požadavky pro výrobu vína malých a středních vinařství, pro které navrhla, realizovala a testovala Computer Assisted systém pro zjišťování průběhu fermentačního procesu ve výrobě vína. Tento systém by měl dát možnost získat s minimálním úsilím vysoce kvalitní produkty, s cílem snížit rizika fermentace.

Musgraveova [12] prováděla sadu pokusů s cílem testování systémového sběru dat, senzorů a softwaru. Mošt nechala kvasit v nerezových nádobách, s kapacitou 104 hl. Každá nádoba byla opatřena teplotním a tlakovým senzorem, který byl propojen s počítačem. Sběrný program prováděl odečty signálů z tlakových a teplotních senzorů každých 10 sekund, protože kvašení je poměrně pomalý proces v souvislosti s touto, relativně vysokou, frekvencí.

Obrázek č. 9: Senzor pro snímání tlaku



Inovativní softwarový systém byl vyvinut pro monitorování a predikci kvašení vína. Zapisuje všechna dosažená data do databázového systému, která se dají vyhledat.

Na základě experimentálních výsledků bylo potvrzeno, že kombinované použití teplotních a tlakových senzorů, pro měření produkce oxidu uhličitého, přináší významné výhody, vzhledem k tradičním systémům. V důsledku nízkých nákladů, kontinuálního a přesného sledování kvašení vína se očekává, že i kvalita vína může být zlepšena. [12]

3.5 Senzory pro měření oxidu uhličitého

Výroba vína je přímo spojena s monitorováním kritických parametrů kvasícího moštu. Mezi kritické parametry pro monitorování patří celková koncentrace cukrů, etanolu a oxidu uhličitého. Produkce oxidu uhličitého je přímo úměrná k činnosti kvasinek.

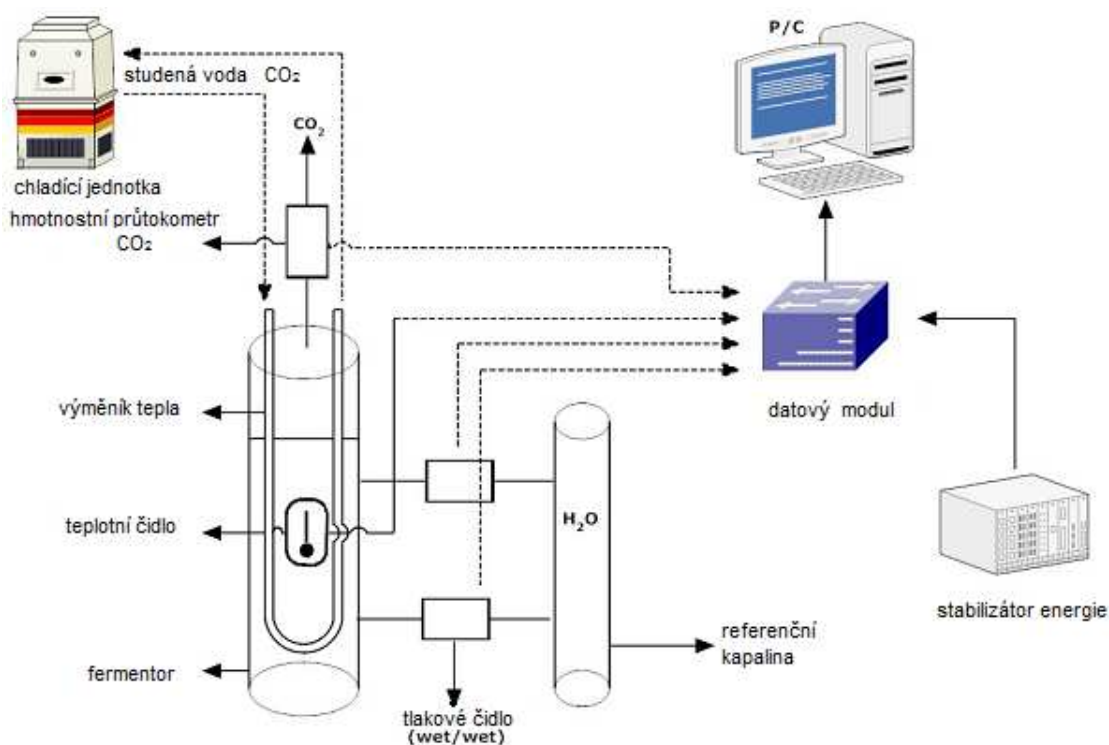
Byly monitorovány různé parametry a to především pravidelným laboratorním měřením.

Metod měření existuje velké množství, ale s postupem času se nejvíce začaly uplatňovat automatizované přístroje. V současnosti je systém založen na aplikaci externích senzorů přímo na fermentační nádobě. [13]

3.5.1 Fermentační zařízení jako model

Fermentační systém se skládá z jedné vertikální kvasící nádoby a monitorovací jednotky, která se skládá ze speciální tlakové cely a vyhodnocovacího zařízení – počítače, který je propojen se systémem přes USB rozhraní. [13]

Obrázek č. 10: Schéma fermentačního systému



Modelový pokus na fermentační systém byl využit Nerantzisem [13]. Jako mediu si vybral mošt z bílých odrůd, zakvašený kmenem *Saccharomyces cerevisiae* Uvaferm 228 (Lallemand S. A., France). Monitorovány byly tyto parametry: redukující cukry, ethanol, hustota a oxid uhličitý. Vše podle standardních metod, dle EEC Regulation No. 2676/90. Systém byl sledován pro dvě různé koncentrace cukrů a to pro 100 a 200 g/l. Tento průběžný monitoring umožňuje průběžné sledování hustoty a množství oxidu uhličitého, v průběhu fermentace, v reálném čase. Získaná data jsou významná k posouzení průběhu fermentace a k předcházení nežádoucího zpomalení nebo dokonce zastavení fermentačního procesu vhodným technologickým způsobem. [13]

3.5.2 Fermentační zařízení v reálných podmínkách

Senzor měří a reguluje kvas na základě aktivity fermentace moštu. Jedná se o senzor, který se stará o jednoduché měření objemu proudu oxidu uhličitého v tanku. Tímto se řízení fermentace podstatně zjednoduší a vyloučíme problémy spojené s teplotou kvašení.

Během kvašení vzniká na 1g cukru, obsaženého v moště, určité množství oxidu uhličitého. Z tohoto důvodu se stává objem oxidu uhličitého ukazatelem kvasné aktivity kvasinek. [3]

Systém reguluje teplotu kvasícího moštu, vychází z fermentační aktivity kvasinek, produkovaného oxidu uhličitého a podle těchto zjištění, upravuje teplotu moštu v určitém teplotním rozsahu a tím ovlivňuje průběh fermentace. [21]

Sledování produkce oxidu uhličitého je vázáno na instalaci speciálního průtokového čidla do kvasného tanku nebo do kvasné zátky. Systém je pak schopen průběžně vyhodnocovat množství vyprodukovaného oxidu uhličitého. Údržba i instalace čidla je snadná a účinnost osvědčená. [21]

Obrázek č. 11: Senzor pro monitorování produkce oxidu uhličitého



Možné parametry k měření:

- změna teploty závislá na čase,
- produkce oxidu uhličitého,
- úbytek cukru,

- úbytek teploty.

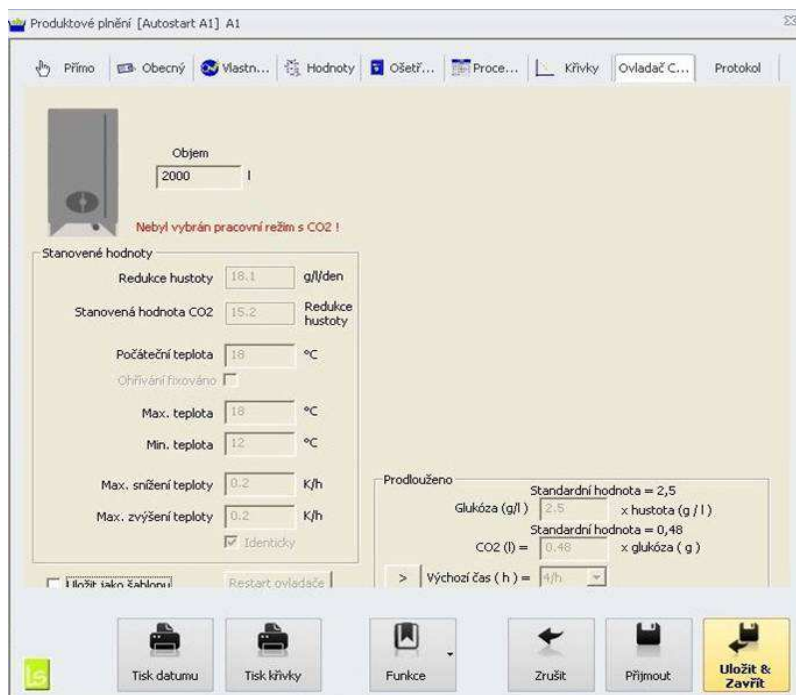
Při fermentaci musíme rozeznat přímé (oxid uhličitý) a nepřímé (teplota) sledování, protože teplota nemá přímý vztah s délkou fermentace, množstvím alkoholu či zbytkového cukru. Produkce oxidu uhličitého odpovídá úbytku cukru v médiu. Bohužel stále musíme vycházet z naměřených hodnot a znát přesný objem moštu.

Monitoring oxidu uhličitého nám během celého procesu umožňuje spočítat, kolik zbytkového cukru v médiu zbývá, což lze považovat za obrovskou výhodu. [3]

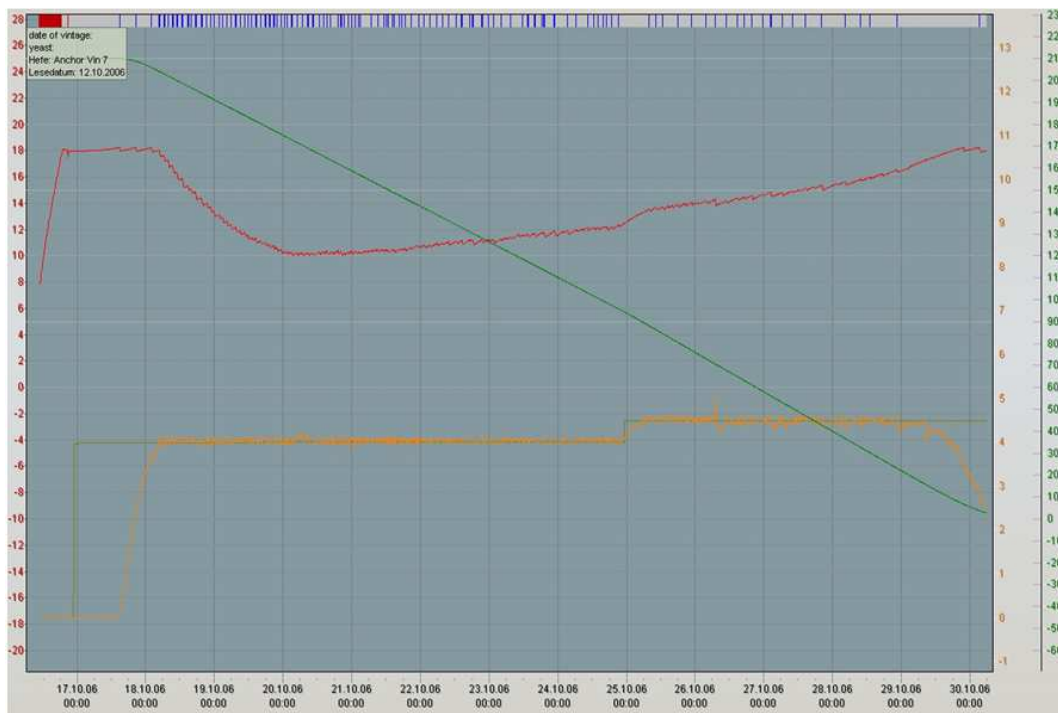
Přednosti systému s měřením oxidem uhličitým:

- nastavitelný denní limit oxidu uhličitého, tzn. jaké maximální množství oxidu uhličitého se může uvolnit z jednoho litru moštu. Standardní množství oxidu uhličitého uvolněného z moštu při kvašení je přibližně 60 litrů, při standardní cukernatosti),
- lze určit délku fermentace,
- systém průběžně měří uvolňované množství oxidu uhličitého – agregát musí být schopen chladit a přehřívat),
- měřením oxidu uhličitého, software vytváří grafické závislosti:
 - průběh teploty v závislosti na čase,
 - průběh uvolňovaného oxidu uhličitého v závislosti na čase,
 - průběh redukce cukrů v závislosti na čase (na začátku fermentace se vloží do softwaru počáteční cukernatost moštu). [3]

Obrázek č. 12: Ukázka ovládacího panelu softwaru



Obrázek č. 13: Graf fermentace



Obrázek č. 13 Znáznorňuje typický graf fermentace. Zelená linka znázorňuje průběh redukce cukrů, červená linka průběh teploty v závislosti na čase, oranžová linka představuje produkci oxidu uhličitého a hnědá linka znázorňuje nastavenou hodnotu produkce oxidu uhličitého.

Možnost průběžného sledování oxidu uhličitého pomocí senzorů, je bezpochyby významným mezníkem ve výrobě vína, neboť tento údaj poskytuje informace o činnosti kvasinek v médiu. Podle dalších studií je možné s využitím této znalosti významně ovlivnit kvalitu vín např. vznik nežádoucích tónů po sirovodíku, optimalizovat aromatický profil vín. [13]

S pomocí moderních technologií lze minimalizovat ztráty aromatických látek, stejně jako lze minimalizovat rozvoj nežádoucích defektů ve víně. Ztráta aromatických látek je závislá na aktuální teplotě kvasícího moštu a na průběhu fermentace, tedy produkce oxidu uhličitého. [11]

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Materiál a metody

4.1.1 Popis odrůdy Tramín červený

Tramín červený nebo také Tramín, Gewürztraminer je pozdní moštová odrůda s červenými hrozny.

Původ není přesně znám, ale pravděpodobně pochází z Rakouska anebo z jižních Tyrol. Může ale také pocházet z Egypta, Řecka, Itálie, Maďarska či Německa. Jisté ale je, že zasahuje do historie starší, než je náš letopočet.

V jižních Tyrolích je Tramín červený dokumentován v městečku Tramín, podle něhož je pojmenováno, již od 11. století. Ve Falci, v Německu se nachází produkční vinice, která je touto odrůdou osázena již přes 400 let.

Tramín červený patří k nejkvalitnějším odrůdám na světě. Podle posledních výzkumů vznikla tato odrůda samovolným křížením s révou lesní a pak se podílela na vzniku dalších klasických evropských odrůd révy vinné. Je geneticky nejstarší pěstovanou odrůdou révy vinné, u nás. Pěstuje se v Alsasku, USA, Německu, Rakousku, na území bývalé Jugoslávie, v Austrálii, Itálii, Maďarsku, Rumunsku, v zemích bývalého Sovětského svazu, na Slovensku a u nás. Celková plocha této odrůdy, ve výsadbách na celém světě, se pohybuje kolem 8 000 hektarů. U nás se Tramín pěstuje na přibližně 3,6% osázených ploch s průměrným stářím 17 let. Konkuruje mu odrůda Pálava. Tramín je poměrně rovnoměrně rozšířen ve všech vinařských oblastech České republiky a do Státní odrůdové knihy České republiky byl zapsán v roce 1941.

List Tramínu je malý, tvar čepele je kruhovitý, třílaločný až pětílaločný s mělkými horními a bočními výkroji. Vrchní strana čepele listu je silně puchýřovitá. Hrozen je malý, hustý s krátkou stopkou. Bobule je růžová, dužnina je bezbarvá s výraznou aromatickou chutí. Očka raší ranně. Růst je středně bujný se vzpřímenými až polovzpřímenými letorosty. Sklizňová zralost je od poloviny října. Odolnost proti houbovým chorobám je malá, proti poškození mrazy je střední. Odrůda je náchylná na chlorózy, při špatné agrotechnice i na sprchávání. Tramín je velmi náročný na stanoviště. Půdy vyžaduje úrodné, hluboké, záhřevné, bez vyššího obsahu vápna. Odrůda nejlépe roste na podnožích typu SO 4, 125 AA, Teleki 5C, na podnoži typu Kober 5BB roste velmi bujně a sprchává.

Odrůdu se nedoporučuje velmi zahušťovat, nutno vylamovat fazochy. Doporučené zatížení je 10 až 12 oček/m². Vyznačuje se malým výnosem okolo 4 až 7 t.ha⁻¹. Dozrává do cukernatostí o obsahu 20 až 25° NM a obsah kyselin se pohybuje od 6 do 8 g.l⁻¹.

Tramín má své typické tramínové aroma. Téměř každoročně dává hrozny pro víno s přívlastkem, které je plné a kořenité, ovšem s menším obsahem kyselin. Víno připomíná většinou vůni růží, fialek či medu při delším zrání. Pro svoji ojedinělost se stává vyhledávanou specialitou mezi milovníky vína. [19]

4.2 Analytické metody

Experimentální část je zaměřena na následné analytické hodnoty. U moštu se jedná o cukernatost, titrovatelné kyseliny, pH, asimilovatelný dusík. U konečného vína bude proveden analytický rozbor pH, titrovatelné kyseliny, zbytkového cukru a alkoholu.

4.2.1 Stanovení cukernatosti moštu

Běžně se nestanovuje chemicky přímo cukr, ale relativní hustota moštu na základě hustoty.

Stanovení cukernatosti moštu můžeme provádět dvěma způsoby:

- Stanovení moštoměrem (areometr, hustoměr)
- Stanovení refraktometrem (optické stanovení cukru). [18]

V experimentu byla měřena cukernatost moštu pomocí moštoměru a následně byla provedena kontrola v laboratorních podmínkách, pomocí refraktometru. U obou variant vyšla cukernatost moštu 22,5° ČNM.

Stanovení moštoměrem:

Čím je hustota moštu nižší, to znamená, čím méně cukru mošt obsahuje, tím hlouběji se moštoměr ponoří a ukáže nižší hodnotu na stupnici.

Při stanovení cukernatosti moštoměrem je nutné mít na zřeteli:

- moštoměr musí být suchý a čistý,
- mošt musí být relativně čistý a nesmí kvasit,
- teplota moštu musí odpovídat kalibrační teplotě moštoměru,
- moštoměr se musí volně vznášet, nesmí se dotýkat stěny odměrného válce,
- při odečtu naměřené hodnoty musí být oko ve výšce hladiny tekutiny. [18]

Stanovení refraktometrem:

Tekutiny s různou relativní hustotou mají různý lom světla (refrakci). Světlo je tím více lámáno, čím přes hustější (cukernatější) tekutinu prochází.

Odečet naměřené hodnoty se provádí na stupnici, na hranici světla a stínu. U moderních přístrojů je prováděna automatická teplotní korektura. Kalibrovací nastavení se provádí v laboratoři.

4.2.2 Stanovení titrovatelných kyselin v moštu

Hlavními organickými kyselinami v hroznech je kyselina vinná a jablečná. Minimální zastoupení má kyselina citronová, která je významná hlavně u biologického odbourávání kyselin. Organické kyseliny významně přispívají ke složení, stabilitě a organoleptickým vlastnostem vína. Kyselina, která je zodpovědná za kyselou a ostrou chuť ve víně a hroznech je kyselina vinná. Kyselina jablečná poskytuje vínům a hroznům „zelenou chuť“, s ostrými, hrubými a nezralými tóny. [14]

Veškerými kyselinami se rozumí suma sloučenin, titrovatelných odměrným alkalickým roztokem do pH 7 [2].

V pokusu byl obsah veškerých kyselin stanoven potenciometrickou titrací 0,1M NaOH do pH 7, na automatickém titrátoru TitroLine EASY.

Postup titrace: K měření bylo pomocí pipety odebráno 10 ml moštu. Mošt byl přenesen do 50 ml kádinky a následně bylo přidáno 10 ml destilované vody. Následně byl roztok automaticky titrován, na titrátoru roztokem 0,1M NaOH do pH 7, za pomoci elektromagnetického míchadla. [2]

4.2.3 Stanovení asimilovatelného dusíku v moštu

Dusík je jeden z nejdůležitějších prvků v enologii, hraje nepostradatelnou roli v průběhu alkoholového kvašení. Je důležitým prvkem pro samostatnou činnost a rozmnožování kvasinek. [4]

V bobulích révy vinné se může dusík vyskytovat v anorganické i organické formě. Hlavními dusíkatými sloučeninami bývají aminokyseliny, bílkoviny a sloučeniny obsahující dusík v amonné formě. Složení a obsah dusíkatých látek působí přímo na kvalitu vína, ty mají vliv na činnost kvasinek a tvorbu aromatických látek ve víně. Množství dusíkatých látek ovlivňuje ročník, odrůda, podnož a způsob ošetřování vinice. Pro kvalitu vína a hroznů je nejdůležitější obsah asimilovatelného dusíku, který se skládá z aminokyselin a amonných iontů. Jeho minimální hodnota, pro úspěšné kvašení moštu, je 150 mg.l^{-1} . [14]

V pokusu se obsah asimilovatelného dusíku stanovoval formaldehydovou titrací na automatickém titrátoru TitroLine EASY.

Postup titrace: Do roztoku, ve kterém nám titrátor měřil titrovatelné kyseliny, bylo přidáno 5 ml neutrálního roztoku formaldehydu. Roztok byl poté automaticky titrován na titrátoru roztokem 0,1M NaOH do pH 8,8, za pomoci elektromagnetického míchadla. [2]

4.2.4 Stanovení pH moštu

Hodnota pH je záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových kationtů v moštu nebo ve víně. Jeho stanovení se provádí na základě měření potencionálu skleněné elektrody, jenž je závislé od aktivity vodíkových kationtů, vzhledem k referenční kalomelové elektrodě vhodným milivoltmetrem, kalibrovaným tlumivými roztoky o známém pH. [2]

Kvalita vína může být nepříznivě ovlivňována nízkými, či naopak vysokými hodnotami pH. Mošty s vysokou hodnotou pH jsou náchylnější na oxidaci, ztrácí komplexnost, chuť a svěžest, což bývá problémem většinou u bílých vín. Nízké hodnoty pH mohou negativně ovlivňovat barevnost červených vín a chuťovou plnost vína. [14]

4.2.5 Stanovení analytického rozboru vín pomocí spektrometru Alpha FT – IR

Po 1. stočením vína se prováděl analytický rozbor vín na přístroji zvaném Alpha FT – IR.

Spektrometr je druh vědeckého přístroje, který umožňuje zkoumat chemické složení látky či objektu na bázi měření odraženého světla, respektive odražené vlnové délky světla a jeho absorpci, nebo na základě měření vzniklého světla, přičemž ke vzniku dochází umělou excitací (plazma, jiskra, rtg).

Spektrometr Alpha FT – IR je spolehlivý, přesný nástroj vhodný pro použití v praxi, ale i pro vědecko-výzkumné využití. Chytrý software provází jednotlivými kroky a má lehké vyměnitelné moduly pro analýzu různých vzorků. Patentovaný interferometr má robustní konstrukci a zajišťuje kvalitní výsledky.

Víno se do spektrometru dávkovalo pomocí injekční stříkačky. U každého vzorku se provedly tři měření, z nichž se udělal průměr. [24]

4.2.6 Stobodová tabulka

K sensorickému hodnocení se použila stobodová tabulka dle stanov OIV 2009 modifikovaná doc. Ing. Josefem Balíkem Ph.D. a Ing. Jaroslavem Veverkou z Mendelovy univerzity.

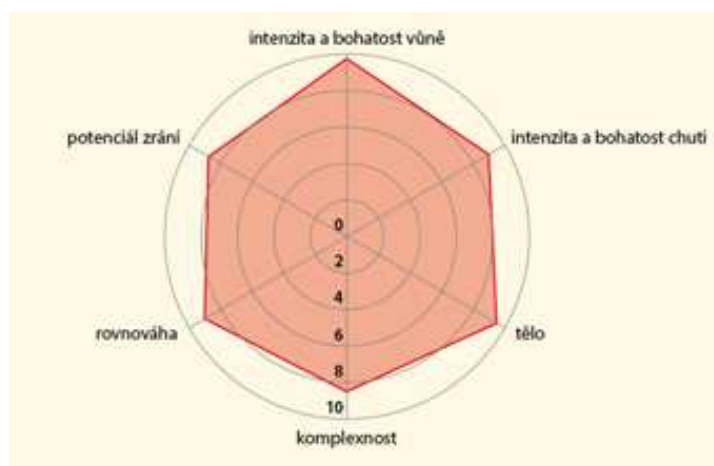
Obrázek č. 14: 100 bodová tabulka

TICHÁ VÍNA HODNOCENÍ		vynikající	velmi dobré	dobré	uspokojivé	nedostatečné
Vzhled	čirost	5	4	3	2	1
	barva	10	8	6	4	2
Vůně	intenzita	8	7	6	4	2
	čistota	6	5	4	3	2
	harmonie	16	14	12	10	8
Chuť	intenzita	8	7	6	4	2
	čistota	6	5	4	3	2
	harmonie	22	19	16	13	10
	perzistence	8	7	6	5	4
Celkový dojem		11	10	9	8	7

4.2.7 Profil struktury a mohutnosti vín

Stanovení profilu se provádí na základě volně navrženého slovníku nebo předepsaného slovníku. Nejdříve se shromáždí seznam několika deskriptorů od komise, která volně hodnotí řadu vín z dané skupiny. Pak se volí rozumný počet signifikantních termínů a končí se degustací hodnocených vín. Postup je efektivní, ale velmi obtížný. Výsledkem je grafické vyjádření. [10]

Obrázek č. 15: Profil struktury a mohutnosti vína



Pro pokus bylo vybráno pouze pět parametrů do profilu: intenzita vůně, chuťová intenzita, tělo, komplexnost, rovnováha.

5 VÝSLEDKY

5.1 Výroba vína

5.1.1 Parametry hroznů a moštu

Pro experiment byly vybrány hrozny odrůdy Tramín červený, který se sklízela 6. října 2015 ve vinařské oblasti Morava, podoblasti Mikulovské, vinařské obci Lednice, viniční tratě Hlohovsko, na pozemcích hospodářského družstva. Hrozny se sbíraly do malých vinařských beden o objemu 25 kg. Na pokus bylo ručně sesbíráno 1000 kg hroznů v perfektním zdravotním stavu a výborné fenologické zralosti. Sesbírané hrozny byly bezprostředně odvezeny do prostor vinného sklepa Mendelovy univerzity. V prostorách sklepa byl materiál na mlýnkoodstopkovači okamžitě zbaven třapin a pomlet do plastové kádě o objemu 750l. V plastové kádi se nechal rmut macerovat po dobu 18 hodin. Po 18 hodinách byl rmut překýblován do horizontálního pneumatického lisu a šetrně vylisován. Mošt se pomocí vrtulkového čerpadla stočil do plastové nádoby objemu 650 l a nechal se bez jakéhokoliv přídavku odkalovacích přípravků přes noc sedimentovat. Další den tj. 8. října 2015 byl mošt odkalen a rozdělen do třech různých nádob a byl zakvašen stejnou kvasinkovou kulturou X5 od firmy Laffort. Dávka aktivních suchých kvasinek byla 20 g.l⁻¹. Před zakvašením čistou kulturou kvasinek byl mošt odebrán k analýze a následně byly upraveny jeho hodnoty. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka č. 1: Parametry moštu

	Před úpravou moštu	Po úpravě moštu
Cukernatost hroznů	22,5° ČNM	22,5° ČNM
Asimilovatelný dusík	248,6 mg.l ⁻¹	248,6 mg.l ⁻¹
pH	3,44	3,13
Titrovatelné kyseliny	6 g.l ⁻¹	9,1 g.l ⁻¹

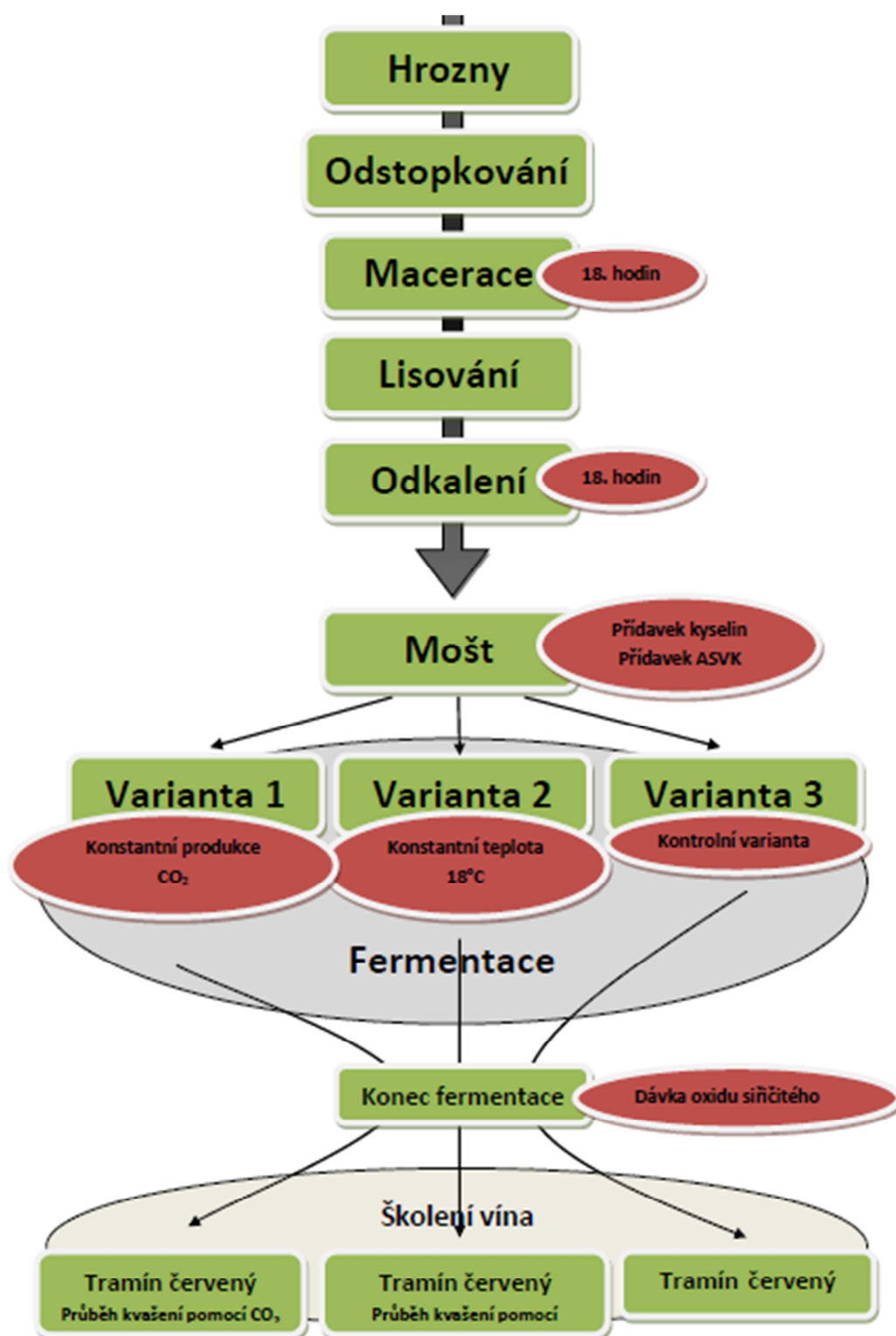
5.1.2 Úprava moštu

Jak je jistě všeobecně známo, tak léto ročníku 2015 bylo velmi teplé a suché což zapříčinilo to, že hrozny velmi brzy dozrávaly a dosahovaly velmi velkých cukernatosti, ale na druhou stranu zase hroznům chyběly potřebné kyseliny. Kyseliny se tedy ve většině případů musely dodatečně do moštu dodávat. V pokusu byla naměřena hodnota titrovatelných kyselin 6 g.l^{-1} s celkem vysokým pH 3,44 a tudíž bylo rozhodnuto hodnotu kyselin zvýšit a to přidavkem kyseliny vinné a kyseliny jablečné v poměru 4:3 o 3 g.l^{-1} . Celkem se tedy zvýšil obsah titrovatelných kyselin na $9,1 \text{ g.l}^{-1}$ a tím pádem taky snížila hodnota pH na 3,13.

5.1.3 Schéma pokusu

Následující schéma znázorňuje postup experimentu.

Obrázek č. 16: Schéma experimentu



5.1.4 Technologie kvašení

U každého vína byl zvolen stejný postup zpracování hroznů a úpravy moštu (viz. kapitola 5.1, respektive 5.2). Odlišnost postupů spočívá v podmínkách kvašení moštů.

Varianta 1

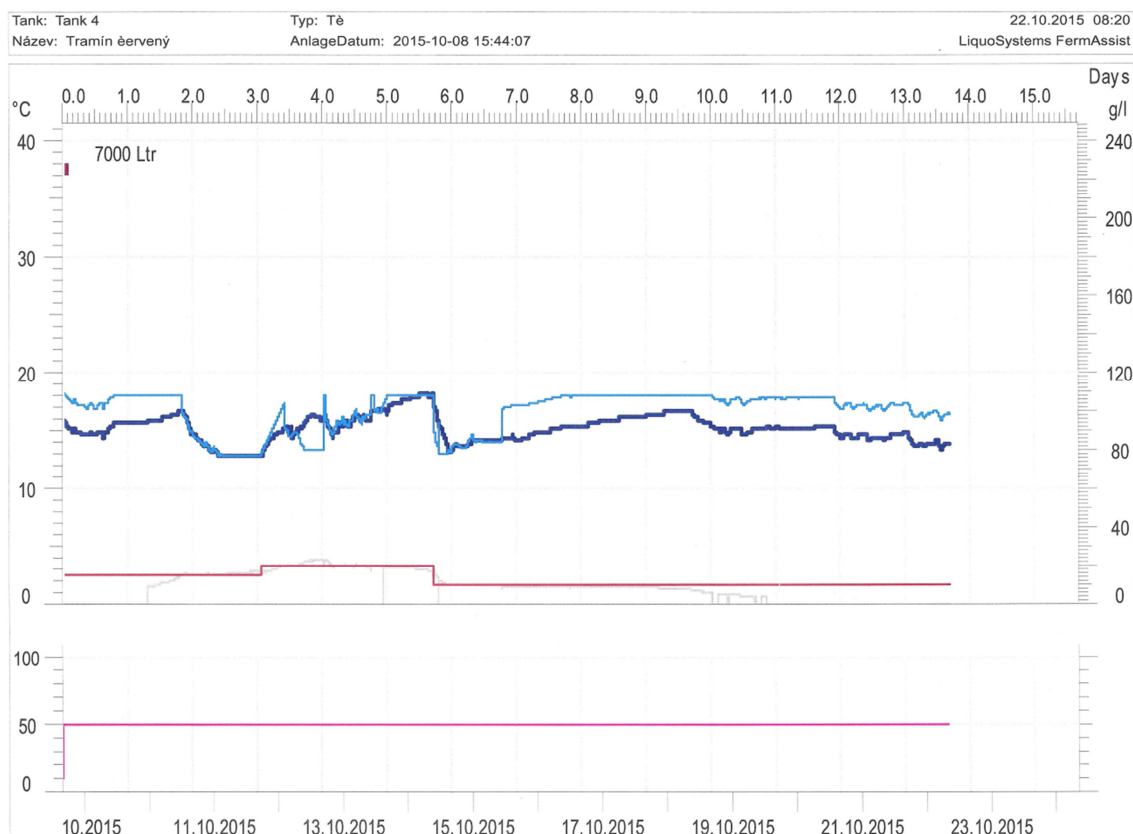
U této metody bylo použito přibližně tři sta litrů moštu, ten kvasil v nerezové nádobě o objemu šest set litrů. Kvašení bylo řízeno produkcí oxidu uhličitého. Mošt byl zakvašen 8. října 2015 a na hrdlo nádrže bylo umístěno čidlo na měření produkce oxidu uhličitého. S čidlem se během celého průběhu kvašení nijak nemanipulovalo a neodstraňovalo se z hrdla nádrže. Údaje zadané do softwaru jsou zaznamenány v tabulce.

Tabulka č. 2: Údaje v software u varianty č. 1

Měřené parametry	Hodnoty
Redukce hustoty	15 g/l/den
Počáteční teplota moštu	16,5°C
Maximální teplota kvašení	18°C
Minimální teplota kvašení	13°C
Počáteční množství cukrů v moštu	225g/l

Kvůli problémům s čidlem, které nezaznamenávalo přesné údaje o produkci oxidu uhličitého, bylo v průběhu kvašení manipulováno s položkou redukce hustoty, kdy ve 3. dnu kvašení byla hodnota redukce hustoty zvýšena a 5. den byla zase tato hodnota snížena.

Graf č. 1: Průběh fermentace u varianty č. 1



Na grafu lze vidět několik křivek, které znázorňují průběh kvašení. Osa Y znázorňuje teplotu ve stupních Celsia, na ose X čas, ve dnech a na ose Z je vyčísleno množství redukce hustoty v gramech na litr za den.

Křivky v grafu znázorňují:

Světle modrá barva znázorňuje práci agregátu, který mošt dle potřeby buď přehřívá, anebo ochlazuje. Maximální a minimální teplota je ovšem stanovena pozorovatelem. V tomto případě byl rozsah 13-18°C.

Tmavě modrá linka znázorňuje teplotu moštu.

Červená linka nám ukazuje nastavenou hodnotu redukce cukrů, kde vidíme, že ve třetím dnu fermentace byla tato hodnota zvýšena z 15 g.l-1.den-1 na hodnotu 20 g.l-1.den-1 z důvodu velmi pomalé fermentace. V 5. dnu fermentace, kdy kvašení probíhalo velmi rychle, byla tato hodnota opět snížena na 10 g.l-1.den-1, čím jsme docílili pozvolného dokvašení vína.

Šedá linka znázorňuje produkci oxidu uhličitého v průběhu fermentace.

Přes pomalý začátek fermentace se kvašení krásně rozběhlo a mošt nám dokvasil bez větších problémů. Kvašení probíhalo bezmála 11dnů při teplotním rozmezí 13-18°C. Po dokvašení tj. 12. den byla přidána první dávka oxidu siřičitého, v dávce 50 mg.l⁻¹. Po přidání oxidu siřičitého bylo víno po dvou dnech stočeno s jemnými kaly do pěti litrového demižonu. Víno bylo ponecháno na jemných kalech, které byly v pravidelných intervalech míchány. Zároveň bylo pravidelně měřeno a doplňováno množství oxidu uhličitého.

Tabulka č. 3: Management oxidu siřičitého u varianty č. 1

Datum	Množství SO ₂	Přídavek SO ₂	Poznámka
20. 10. 2015	X	50 mg.l ⁻¹	Po fermentaci
2. 11. 2015	24 mg.l ⁻¹	15 mg.l ⁻¹	
12. 12. 2015	29 mg.l ⁻¹	X	
14. 1. 2016	29 mg.l ⁻¹	X	

Po prvním stočení po dokvašení se u vína provedl analytický rozbor, který je uveden v tabulce níže.

Tabulka č. 4: Analytický rozbor vína varianty č. 1

Měřené parametry	Hodnoty
pH	3,18
Zbytkový cukr	13,5 g.l ⁻¹
Alkohol	12,63 %
Titrovatelné kyseliny	8,4 g.l ⁻¹

Varianta 2

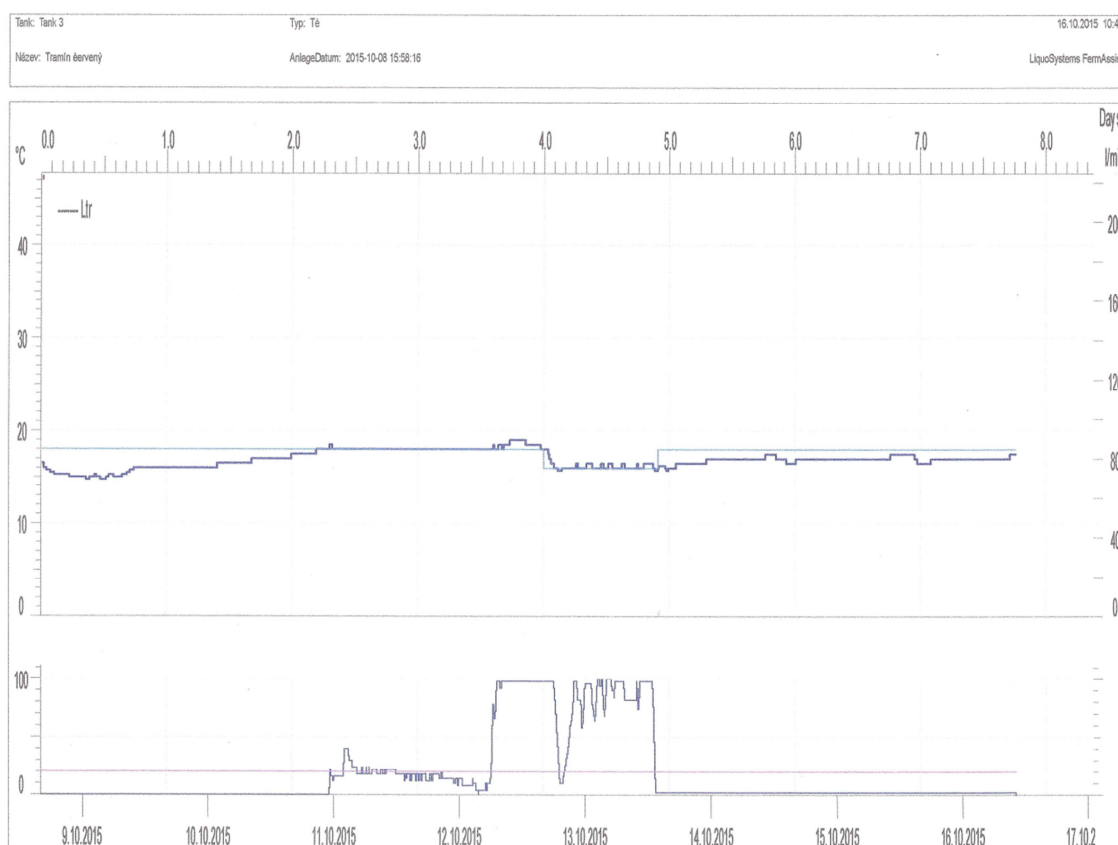
U varianty číslo 2, byl použit naprosto stejný mošt jako u varianty číslo 1. Mošt o objemu přibližně tři sta litrů taktéž kvasil v nerezové nádobě o objemu šest set litrů. Fermentační proces byl řízen pouze teplotou.

Tabulka č. 5: Údaje v software u varianty č. 2

Měřené parametry	Hodnoty
Teplota kvašení	18°C
Redukce hustoty	X
Počáteční teplota moštu	16,5°C
Maximální teplota kvašení	X
Minimální teplota kvašení	X
Počáteční množství cukrů v moštu	225g/l

U této varianty bylo také použito čidlo na měření produkce oxidu uhličitého. Čidlo bylo ovšem dimenzováno do nádob s větším objemem. Díky tomu v grafu této varianty, chybí křivka znázorňující množství produkce oxidu uhličitého.

Graf č. 2: Průběh fermentace u varianty č. 2



Graf je rozdělen do 2 částí. Horní část znázorňuje průběh teplot během fermentace. Spodní část zachycuje aktivitu agregátu řízeného kvašení. Na ose Y je vyznačena teplota ve stupních Celsia, na ose X je znázorněna časová linka ve dnech a na ose Z je vyčíslena hodnota redukce hustoty v jednotkách $l \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}$.

Křivky v grafu znázorňují:

Světle modrá linka v horním grafu znázorňuje nastavenou teplotu kvašení. Hodnota byla nastavena na 18°C . Ovšem ve 4. den fermentace tato hodnota klesla na 24 hodin na 17°C z důvodu výpadku elektrického proudu.

Tmavě modrá linka v horním grafu zobrazuje vývoj teploty kvasícího moštu v průběhu kvašení.

Modrá linka v dolním grafu znázorňuje výkonnost agregátu, kde je možné vidět, že ve druhý den fermentace začala bouřlivá část kvašení a agregát proto musel začít chladit mošt. Dále si můžeme všimnout plné aktivity chlazení agregátu ve 4. dnu fermentace. Právě čtvrtý den fermentace byla hodnota teploty snížena na 17°C .

Fermentace u této varianty probíhala bez jakéhokoliv problému. Kvašení započalo během několika hodin po inokulaci aktivními suchými vinnými kvasinkami. Kvas probíhal při teplotním rozmezí $17-18^{\circ}\text{C}$ necelých 8dní. U této varianty byl zvolen jiný postup pofermentačních operací, než u varianty č. 1.

Víno se po dokvašení nejprve stočilo z hrubých kalů do pěti litrového demižonu a až poté byl přidán oxid siřičitý v dávce $70 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Víno zráló spolu s jemnými kaly a bylo pravidelně promícháváno. V pravidelných intervalech byla taktéž kontrolována a doplňována hladina oxidu siřičitého.

Tabulka č. 6: Management oxidu siřičitého u varianty č. 2

Datum	Množství SO_2	Přídavek SO_2	Poznámka
17. 10. 2015	X	$70 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	Po fermentaci
2. 11. 2015	$30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	
12. 12. 2015	$29 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	X	
14. 1. 2016	$29 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	X	

Po prvním stočení vína byl proveden analytický rozbor vína.

Tabulka č. 7: Analytický rozbor vína varianty č. 2

Měřené parametry	Hodnoty
pH	3,23
Zbytkový cukr	8,7 g.l ⁻¹
Alkohol	13,5 %
Titrovatelné kyseliny	8,9 g.l ⁻¹

Varianta 3

Varianta číslo 3 se dělala jako kontrolní vzorek. Před fermentační operace byly naprosto totožné jako u předchozích variant. S tím rozdílem, že tento mošt nekvasil v množství tři sta litrů v nerezové nádobě, ale jen v objemu patnácti litrů v dvacetipěti litrovém demižonu a neřízeně.

Mošt v demižonu kvasil bezmála 8 dní. Po dokvašení se do vína přidala první dávka oxidu siřičitého, v dávce 50 mg.hl⁻¹. Následující den, bylo víno stočeno a ponecháno na jemných kvasničných kalech, které byly pravidelně promíchávány. Taktéž byl pravidelně kontrolován a doplňován oxid siřičitý.

Tabulka č. 8: Management oxidu siřičitého u varianty č. 3

Datum	Množství SO ₂	Přídavek SO ₂	Poznámka
17. 10. 2015	X	50 mg.l ⁻¹	Po fermentaci
2. 11. 2015	16 mg.l ⁻¹	25 mg.l ⁻¹	
12. 12. 2015	45 mg.l ⁻¹	X	
14. 1. 2016	42 mg.l ⁻¹	X	

Po prvním stočení vína byl proveden taktéž analytický rozbor vína.

Tabulka č. 9: Analytický rozbor vína varianty č. 3

Měřené parametry	Hodnoty
pH	3,14
Zbytkový cukr	3,6 g.l ⁻¹
Alkohol	13,69 %
Titrovatelné kyseliny	8 g.l ⁻¹

5.2 Senzorické vyhodnocení vzorků

V následujících tabulkách jsou znázorněny výsledky ze dne 10. února 2016, kdy proběhlo senzorické zhodnocení podle stobodové stupnice a profilu struktury a mohutnosti vín. Hodnocení proběhlo na Zahradnické fakultě v Lednici. Komise rozhodla, že nejlepší víno byla Varianta č. 3, to je Tramín červený bez řízeného kvašení. Druhým nejlepším vzorkem byl Tramín červený, který byl řízen podle produkce oxidu uhličitého, respektive Varianta č. 2 a s minimálním rozdílem se na posledním místě umístila varianta č. 1 a tedy Tramín červený, jehož kvas byl ovlivňován pouze teplotou.

Tabulka č. 10: Průměrné výsledky degustace podle stobodové tabulky

Varianta	Hodnocení degustátorů
č. 1	81,875
č. 2	81,375
č. 3	82,25

Tabulka č. 11: Jednotlivé hodnocení degustátorů

Varianta	Hodnocení degustátorů							
č. 1	80	83	81	80	85	80	82	84
č. 2	81	80	79	83	88	75	82	83
č. 3	83	84	82	82	83	80	84	80

5.2.1 Vyhodnocení odborné komise

Varianta 1 – Tramín červený, fermentace řízena produkcí oxidu uhličitého

Senzorický popis a názory degustátorů:

Vůně po růžích, otevřenější a čistá. Víno pěkné, příjemné s vyšším obsahem zbytkového cukru. V chuti je znatelná odrůda a v perzistenci chutná po hrozinkách, či cibébách.

Tato varianta dostala od odborné komise 81,875 bodů a umístila se v degustaci na 2. místě.

Bodové ohodnocení tohoto vína se pohybovalo v rozmezí 80 a 85 bodů. Podle profilu struktury a mohutnosti byla nejvíce ohodnocena rovnováha, která dostala dokonce nejvíc bodů i v porovnání s ostatními víny.

Varianta 2 – Tramín červený, fermentace řízena teplotou

Senzorický popis a názory degustátorů:

Vůně byla slabě zastřena vyšším obsahem oxidu siřičitého. V chuti víno odrůdové s trochou zelených tónů.

Tato varianta získala od odborné komise 81,375 bodu a byla nejhůře ohodnocena ze všech vzorků.

Bodové ohodnocení se u tohoto vzorku pohybovalo od 75 do 85 bodů. Podle profilu struktury a mohutnosti mělo tohle víno nejméně intenzivní chuť i vůni. Mělo nejmenší tělo a i rovnováhu v porovnání s ostatními víny.

Varianta 3 – Tramín červený, fermentace bez řízení

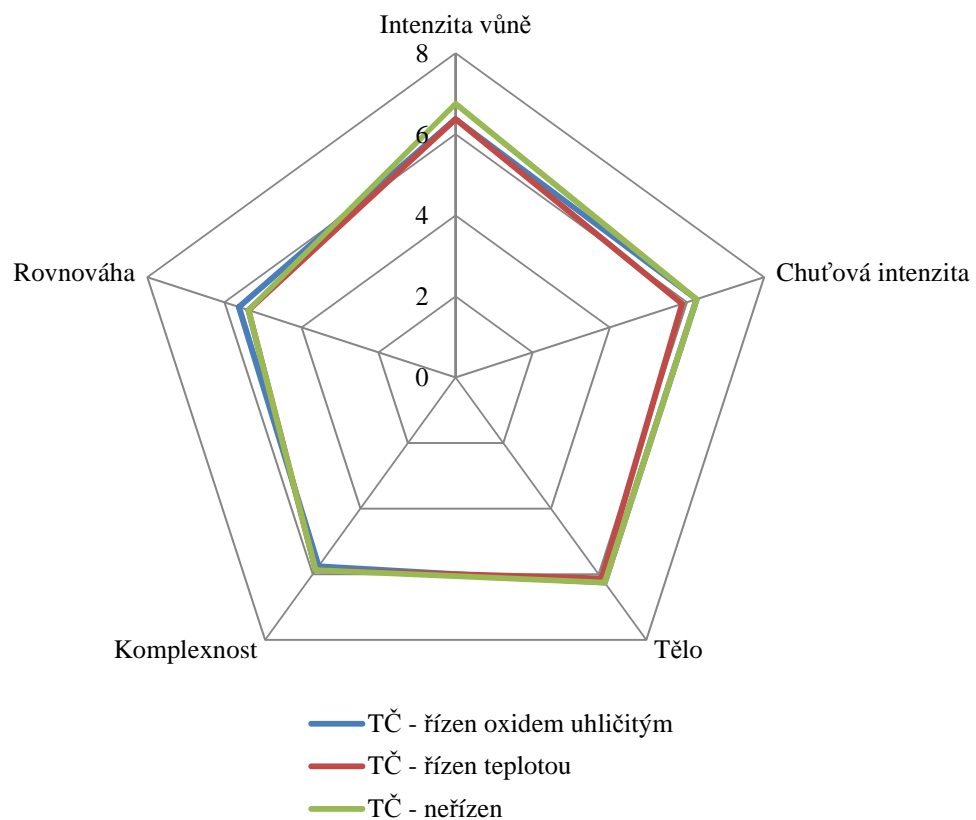
Senzorické hodnocení a názory degustátorů:

Toto víno bylo ve vůni trochu otevřené z důvodu menšího obsahu volného oxidu uhličitého. V chuti se jevílo jako nejvíce odrůdové a nejvíc aromatické s vyšším obsahem alkoholu s příjemnou a čistou dochutí.

Tuto variantu ohodnotila komise nejvíce body a to 82,25. Toto víno bylo nejlépe ohodnoceno.

Body, které obdržela tato varianta, se pohybovaly od 80 do 85 bodů. Podle profilu mohutnosti a struktury má víno největší intenzitu vůně i chutě. Má největší tělo a spolu s variantou 2 má nejmenší rovnováhu, což je způsobeno i vyšším alkoholem v tomto vzorku.

Graf č. 3: Profily mohutnosti vína



6 DISKUSE

Analýza vína a moštu je velice důležitá zejména z technologického hlediska, měla by se provádět během celého výrobního procesu. Celková analýza je ovšem velmi zdoluhavá a náročná, což by se mělo změnit vynalezením biosenzorů. Tyto senzory jsou specifické, citlivé, jednoduché a vyžadují pouze minimální přípravu vzorku pro analýzu, navíc poskytují uživateli výsledky během několika minut.

Jelikož na území České republiky a dokonce i ostatních vinařských zemí nebyla provedena žádná měření zabývající se problematikou řízeného kvašení pomocí sledování oxidu uhličitého, je zapotřebí prodiskutovat mé výsledky s teoretickými poznatky.

Podle Baroně [3] je vynalezení a uvedení senzorů pro kontrolu fermentace do vinařské praxe obrovská výhoda, která již brzy ovládne technologii kvašení. Výsledky práce ovšem vyšly negativně, což je do jisté míry zapříčiněno několika důvody, mezi které se řadí například výpadek elektrického proudu, nebo malá fermentační nádoba. I přesto jsem došel k závěru, že s názorem souhlasím. Senzory využívané v praxi by ovšem měly být ještě zdokonaleny nebo nahrazeny přesnějšími a spolehlivějšími.

Chaloupková [6] ve své práci tvrdí, že pokud jsou dobře popsány vlastnosti použitých kmenů kvasinek, můžeme dopředu určit, jaké bude mít vyrobené víno senzoričké vlastnosti. S tímto tvrzením nemohu souhlasit, jelikož je nutné zvážit předfermentační a fermentační technologii výroby vína. Výrobci sice uvádějí jakou produkci metabolitů a aroma kvasinky produkují, vždy ale závisí na kvasném médiu a podmínkách fermentace. Což je doložené i výsledky bakalářské práce, kdy jsou všechna vína vyráběna naprosto stejným předfermentačním postupem, ale jinými podmínkami fermentace.

Steidl [18] uvádí, že neřízená fermentace je charakterizována vyšším obsahem glycerolu, vyšších alkoholů, těkavých kyselin a často se kvašení samovolně zastaví a ve víně zůstává zbytkový cukr. Kvašení u neřízené fermentace se opravdu zastavilo na hodnotě $3,6\text{g.l}^{-1}$ zbytkového cukru. Hodnota dosaženého alkoholu se zastavila na 13,69% obj. Ovšem tvrzení, že u neřízené fermentace může dojít k negativnímu ovlivnění senzoričkových vlastností, bylo vyvráceno u hodnocení 100bodovým systémem hodnocení vín. Zpracování vína neřízenou fermentací, bylo označeno za nejlepší víno.

Otázkou však zůstává, jak by byla vína ohodnocena v průběhu času, kdy víno ztrácí esterové aroma získané z kvasinek.

Srovnáním analytických hodnot a aromatických profilů uvedených v mé práci vyplývá, že řízení fermentace neovlivňuje významným způsobem kvalitu výsledného produktu.

7 ZÁVĚR

Nové vědecké poznatky z oblasti vinařských technologií a postupů jsou stále častěji přenášeny do praxe, za účelem udržet kontrolu nad procesem výroby vína. Objevením a používáním biosenzorů se výrobcům vína velmi zjednoduší práce a to především v období vinobraní.

Bakalářská práce se v první řadě zabývala problematikou alkoholové fermentace. Nejprve byl popsán samotný děj fermentace a následně její produkty ať už ovlivňující kvalitu vína pozitivně nebo negativně. Následně se práce zabývá stavbou, činnostmi a samotnými senzory pro řízení fermentace. V experimentální části je detailně popsán postup výroby vín, podmínky fermentace a také sensorické zhodnocení.

V rámci bakalářské práce byla vyrobena tři rozdílná vína odrůdy Tramín červený, která se lišila technologií kvašení. Tato vína byla následně odbornou hodnotící komisí zhodnocena. Nejlepším vínem byl zvolen Tramín červený bez řízené fermentace. V jeho těsném závěsu se umístil Tramín červený s fermentací řízenou produkcí oxidu uhličitého a jako nejhůře hodnocené víno porota vybrala Tramín červený s řízenou teplotou kvašení.

Výsledek práce dává za pravdu, že řízení fermentace pomocí sledování produkce oxidu uhličitého se vyplatí. Pro následující generace vinařů plně doporučuji věnovat se tomuto tématu a dál jej rozvíjet.

8 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJŮ

- [1] AERINE, M. A.; BERG, H. W.; KUNKEE, R. E.; OUGH, C. S.; SINGLETON, V. L. U. V.; WEBB, A.D.; *The technology of wine making*. 4.vyd. Westport, Conecticut: Avi Publishing Co., 794 str., 1982., ISBN 087055333x
- [2] BALÍK, J.: *Vinařství: Návodý do cvičení*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1998, 98 str., ISBN 80-7157-317-5
- [3] BAROŇ, M.; Ústní sdělení 19. 11. 2014
- [4] BEZENGER M.; NAVARO J. M.: *Grape juice fermentation: Effects of initial nitrogen concentration on culture parametrs*, 1987, Sci. Aliments
- [5] BUTZKE, C. E.; SEUNG KOOK PARK; *impal of fermentation rate ganges on potential hydrogen sulfide concentrations in wine*. Journal of mikrobiology and biotechnology, 21(5), 524 str., 2011
- [6] CHALOUPKOVÁ, Š.; *Význam kvasinek pro aromatický projev vína: Diplomová práce*
- [7] KRAUS, Vilém; HUBÁČEK, Vítězslav; ACKERMANN, Petr; *Rukověť vinaře*. Praha: Květ, 2000., 262 str., ISBN 80-85362-34-1.
- [8] MICHLOVSKÝ M.; *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. 1.vyd. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014, 262 str., ISBN 9788090531925
- [9] MICHLOVSKÝ M.; *Oxid siřičitý v enologii*.1.vyd. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2012, 151 str., ISBN 9788090531901
- [10] MICHLOVSKÝ M.; SEDLO J.: *Encyklopedie degustace vína*. Vyd. 1, Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2013, 177 str., ISBN 978-80-905319-1-8
- [11] MOURET, J. R.; MORAKUL, S.; NICOLLE, P.; ATHES, V.; SABLAYROLLES, J. M.; *Gas-liquid transfer of aroma compounds during wine fermentations*. LWT – Food Science and Technology 49: 238-244 str., 2012
- [12] MUSGRAVE, B; *Wine Fermentation In-Process Monitoring System: Publishable Final Activity Report*. UK: Polmassick Vineyard, 2008, 14 str.

- [13] NERANTZIS, E. T.; TATARIDIS, P.; SIANOUDIS, I. A.; ZIANI, X; TEGOU, E.; Winemaking process engineering: On line fermentation monitoring – sensors and equipment. E-Journal of Science and Tenchnology (E-JST). 2012 ISSN 17905613
- [14] PAVLOUŠEK, P.: *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, 2011, 333 str., ISBN: 978-80-247-3314-2
- [15] PTÁČEK P.; *Managment kvasu, Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod vínem*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, 2014, roč. 107, č. 9, 462 str.
- [16] RIBÉREAU-GAYON, Pascal; DUBOURDIEU, Denis; DONECHE, Bernard; *Handbook of enology*, 2nd edition. Hoboken, NJ: John Wiley, c2006-, ISBN 04-700-1037-1
- [17] SKLÁDAL, P.; *Biosenzory*, Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2002, 152 str.,
- [18] STEIDL, Robert; *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce 1. vydání. Valtice: Národní vinařské centrum, 2002, 307 str., ISBN 80-903201-0-4
- [19] SEDLO, J.; LUDVÍKOVÁ, I.: *Přehled odrůd révy 2014*, 1.vyd., Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky ve spolupráci s ÚKZUZ, 2014, 175 str., ISBN: 978-80-903534-73
- [20] SPECKMANN, R. A.; COLLINS, E. B.; *Diacetyl biosynthesis in Streptococcus diacetylactis and Leuconostoc citrovorum*. J. Bacteriol, 95, 1st edition., PMC:251989, PMID: 5636815

Internetové zdroje

- [21] BRUKER [online]. 2016 [citace: 8. února 2016] <https://www.bruker.com/products/infrared-near-infrared-and-raman-spectroscopy/ft-ir-routine-spectrometers/alpha/overview.html>
- [22] F-control, s.r.o. [online]. 2014 [citace: 20. ledna 2016] <http://www.fcontrol.cz/rizena-fermentace-vina-za-pomoci-monitoringu-co2>

- [23] RICHTER, T.; www.ekovin.cz [online] 31. ledna 2011 [Citace: 18. ledna 2016]
www.ekovin.cz/ekovin/sekce-ekologicke-produkce/kvaseni-1?highlightWords=kva%C5%A1en%C3%AD
- [24] TRÖGL, J.: *Biosenzory*, Odborné časopisy [online] 2006 [citace: 27. Února 2016], http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id_document=31055

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Strukturní vzorec etanolu

Obrázek č. 2: Strukturní vzorec oxidu uhličitého

Obrázek č. 3: Strukturní vzorec acetaldehydu

Obrázek č. 4: Strukturní vzorec diacetylu

Obrázek č. 5: Strukturní vzorec glycerolu

Obrázek č. 6: Strukturní vzorec etylacetátu

Obrázek č. 7: Strukturní vzorec kyseliny citronové

Obrázek č. 8: Strukturní vzorec kyseliny jantarové

Obrázek č. 9: Senzor pro snímání tlaku

Obrázek č. 10: Schéma fermentačního systému

Obrázek č. 11: Senzor pro monitorování produkce oxidu uhličitého

Obrázek č. 12: Ukázka ovládacího panelu softwaru

Obrázek č. 13: Graf fermentace

Obrázek č. 14: 100bodová tabulka

Obrázek č. 15: Profil struktury a mohutnosti vína

Obrázek č. 16: Schéma experimentu

10 SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Parametry moštu

Tabulka č. 2: Údaje v software u varianty č. 1

Tabulka č. 3: Management oxidu siřičitého u varianty č. 1

Tabulka č. 4: Analytický rozbor vína varianty č. 1

Tabulka č. 5: Údaje v software u varianty č. 2

Tabulka č. 6: Management oxidu siřičitého u varianty č. 2

Tabulka č. 7: Analytický rozbor vína varianty č. 2

Tabulka č. 8: Management oxidu siřičitého u varianty č. 3

Tabulka č. 9: Analytický rozbor vína varianty č. 3

Tabulka č. 10: Průměrné výsledky degustace podle stobodové tabulky

Tabulka č. 11: Jednotlivé hodnocení degustátorů

11 SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1: Průběh fermentace u varianty č. 1

Graf č. 2: Průběh fermentace u varianty č. 2

Graf č. 3: Profily mohutnosti vína