

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Zahradnická fakulta v Lednici

**POUŽITÍ POLYVINYLPOLYPYRROLIDONU
A MOŽNOSTI JEHO REGENERACE
V NÁPOJOVÉM PRŮMYSLU**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce

Ing. Pavel Híc, Ph.D.

Vypracovala

Bc. Pavla Šajtarová

Lednice 2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Pavla Šajtarová**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Řízení zahradnických technologií
Název tématu: **Použití polyvinylpyrrolidonu a možnosti jeho regenerace v nápojovém průmyslu.**
Rozsah práce: 40-50 stran textu, 5 – 7 grafů, 4 – 6 tabulek

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu pojednávající o látkovém složení hroznových vín s důrazem na fenolické složky a o metodách čiření vín. Zpracujte literární část diplomové práce.
2. Do sledovaných variant hroznových vín přidejte čiřicí přípravek a následně se pokuste o jeho regeneraci a opětovné použití.
3. V ošetřených vínech stanovte barevné parametry, antioxidační kapacitu a obsah polyfenolů.
4. Výsledky statisticky zpracujte, sestavte do přehledných grafů a tabulek a vhodně interpretujte.

Seznam odborné literatury:

1. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin. : 1.* 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 331 s. ISBN 80-86659-03-8.
2. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin. : 2.* 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 304 s. ISBN 80-902391-4-5.
3. CADENAS, E. – PACKER, L. *Handbook of antioxidants.* 2. vyd. New York: Marcel Dekker, 2002. 712 s. Oxidative stress and disease. ISBN 0-8247-0547-5.
4. RIBÉREAU-GAYON, P. *Handbook of Enology.* West Sussex: John Wiley, 2003. 404 s. ISBN 04-71973-63-7.
5. STEIDL, R. *Sklepní hospodářství.* Valtice: Národní salon vín, 2002. 307 s. ISBN 80-903201-0-4.
6. Zloch, Z. – Čelakovský, J. – Aujezdská, A. Posuzování biologické hodnoty potravin na základě jejich antioxidační aktivity. *Česká a slovenská hygiena*, 3, 2004. s: 82 – 87.

Datum zadání diplomové práce: prosinec 2014

Termín odevzdání diplomové práce: květen 2016

L. S.

Bc. Pavla Šajtarová
Autorka práce



Ing. Pavel Híc, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Balík, Ph.D.
Vedoucí ústavu

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

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma *Použití polyvinylpolypyrrolidonu a možnosti jeho regenerace v nápojovém průmyslu* vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury.

Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s ust. § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu a 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 ust. § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko 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

Touto cestou bych chtěla poděkovat v první řadě panu Ing. Pavlu Hícovi, Ph.D., vedoucímu diplomové práce, za poskytnuté rady, připomínky, cenné informace a vyčerpávající konzultace, které byly velkým přínosem pro zpracování této závěrečné práce.

Dále bych ráda poděkovala nejbližší rodině za motivaci, psychickou a finanční podporu a celkovou péči při psaní diplomové práce i během celého studia. V neposlední řadě patří dík spolužákům za vzájemnou soudržnost v průběhu našeho vzdělávání a přátelům za zpříjemňování volných chvil na vysoké škole.

OBSAH

1 ÚVOD.....	10
2 CÍL.....	11
3 LITERÁRNÍ ČÁST.....	12
3.1 Polyfenolické sloučeniny	12
3.1.1 Charakteristika polyfenolických sloučenin	12
3.1.2 Rozdělení polyfenolických sloučenin.....	12
3.1.2.1 Neflavonoidy.....	12
3.1.2.2 Flavonoidy	13
3.1.3 Rozdíl mezi červenými a bílými víny.....	15
3.1.4 Možnosti měření polyfenolů.....	16
3.1.4.1 Spektrofotometrické metody.....	17
3.1.4.2 Chromatografické metody.....	18
3.2 Antioxidanty a antioxidační kapacita.....	19
3.2.1 Charakteristika antioxidantů.....	19
3.2.2 Charakteristika antioxidační kapacity	20
3.2.3 Možnosti měření antioxidační kapacity.....	21
3.2.3.1 Metoda DPPH	21
3.2.3.2 Metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential).....	21
3.2.3.3 Metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).....	22
3.2.3.4 Metoda ABTS	23
3.2.3.5 Metoda PCL (Photochemiluminiscence)	24
3.3 Vady vína spojené s polyfenolickými sloučeninami.....	24
3.3.1 Příčiny vzniku vad	24
3.3.2 Přehled jednotlivých vad	25
3.3.2.1 Oxidace	25
3.3.2.2 Vysoká barva – hnědý a černý zákal.....	25
3.3.2.3 Nezralá chuť – hořčinka.....	26
3.3.2.4 Chuť po třapině, stopce, rmutu	26
3.3.2.5 Pachuť po hnilobě	27
3.3.2.6 Pachuť po dřevovině a sudu.....	27
3.3.2.7 Akroleinová příchut' a hořké tóny.....	28

3.3.2.8	Tóny po koňském sedlu	28
3.3.2.9	Zbarvení dorůžova	29
3.3.3	Přípravky vhodné pro odstraňování vad	29
3.3.3.1	Vaječný bílek	29
3.3.3.2	Vyzina	30
3.3.3.3	Želatina.....	30
3.3.3.4	Kasein.....	30
3.3.3.5	Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP).....	30
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	33
4.1	Materiál	33
4.1.1	Charakteristika odrůdy Veltlínské zelené.....	33
4.1.2	Charakteristika odrůdy Rulandské bílé.....	34
4.2	Základní design experimentu	35
4.2.1	Podrobný popis experimentu	35
4.2.1.1	Získání zreagovaného (použitého) přípravku PVPP	35
4.2.1.2	Varianty regenerace PVPP	36
4.2.1.3	Aplikace zregenerovaného PVPP do vína.....	38
4.3	Metody	38
4.3.1	Stanovení celkových polyfenolů metodou s činidlem Folin-Ciocalteu ...	38
4.3.2	Stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH.....	39
4.3.3	Stanovení antioxidační kapacity metodou FRAP	39
4.3.4	Stanovení barevnosti	40
4.4	Použité přístroje a pomůcky.....	40
4.5	Použité chemikálie	40
4.6	Použité statistické metody.....	41
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	42
5.1	Celkový obsah polyfenolů.....	42
5.2	Antioxidační kapacita metodou DPPH a FRAP	45
5.3	Barevnost	47
5.3.1	Luminance (L*)	47
5.3.2	Barva bodu ve směru červeno-zeleném (a*)	48
5.3.3	Barva bodu ve směru modro-žlutém (b*).....	49

5.4	Přidružené výsledky	51
5.4.1	Celkový obsah polyfenolů	51
5.4.2	Antioxidační kapacita metodou DPPH a FRAP	52
5.4.3	Barevnost	53
5.4.3.1	Luminance (L*).....	53
5.4.3.2	Barva bodu ve směru červeno-zeleném (a*).....	54
5.4.3.3	Barva bodu ve směru modro-žlutém (b*)	55
5.4.4	Celkový obsah polyfenolů regeneračního roztoku	56
6	ZÁVĚR	58
7	SOUHRN	59
8	RESUME	60
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	61
10	PŘÍLOHY.....	69

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: *Rovnice reakce DPPH radikálu s antioxidantem*

Obrázek 2: *Princip metody FRAP*

Obrázek 3: *Chemická struktura polyvinylpolypyrrolidonu*

Obrázek 4: *Princip vzniku vazby PVPP-polyfenol*

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: *Polyfenolické sloučeniny vyskytující se v hroznech a ve víně*

Tabulka 2: *Parametry vín použitých pro experiment*

1 ÚVOD

Statistiky uvádí, že až 75 % dospělých s oblibou konzumuje víno. Je obecně známo, že červené víno disponuje zdraví prospěšnými látkami a konzumované v přiměřeném množství působí blahodárně na naše zdraví. Důvodem je vysoký obsah polyfenolických látek. Konkrétně polyfenoly vyskytující se v semenech a ve slupkách poskytují ochranu proti kardiovaskulárním onemocněním a působí jako antioxidanty bránící akumulaci LDL-cholesterolu. Bílé víno tak vysokým množstvím těchto látek nedisponuje, a tak pozitivní vlastnosti na zdraví se svými protějšky v podobě červeného vína nesdílí. I když polyfenolů obsahují až 10x méně, a tím i jejich pozitivní vliv na zdraví je slabší, dává většina Čechů přednost bílým vínům (Yeaman-Irwin, 2011).

Polyfenoly ovšem nemají jen kladné vlastnosti, konkrétně v případě bílých vín jsou zdrojem nežádoucích nečistot, kalů a narůžovělých nebo hnědých odstínů. Aby se zabránilo těmto vadám a víno bylo pro konzumenta atraktivní, používají se tzv. čířící prostředky. Jedná se o inertní látky, které strhávají nečistoty ve víně ke dnu nádoby a jsou potom spolu s kaly odstraněny při stáčení vína. Nečistoty ulpívají na čířidlech na základě opačných elektrických nábojů částic jednotlivých čířidel. Nejběžněji používanými čířidly jsou bentonit (- náboj), tanin (- náboj), vaječný bílek (+ náboj), želatina (+ náboj), PVPP (+ náboj) atd. (Sedláček, 2014).

Právě poslední zmiňovaný přípravek je vhodný pro snížení intenzity barevných odstínů vznikajících oxidací na minimum. Jelikož ale patří k cenově náročnějším stabilizačním prostředkům, nabízela se otázka, zda by bylo možné daný přípravek použít vícrát než jednou. Inspirací se stal americký patent, kde se autorovi povedlo použité PVPP v pivě regenerovat a opětovně aplikovat do piva.

2 CÍL

Diplomová práce si klade za cíl shromáždit současné poznatky o látkovém složení hroznových vín s důrazem na polyfenolické složky a o způsobech čiření vín.

Cílem experimentální části je zregenerovat jednou použitý přípravek PVPP a zjistit efektivnost jeho opětovného použití. Dále pomocí vhodných analýz stanovit obsah celkových polyfenolů, antioxidační kapacitu dvěma metodami (DPPH, FRAP) a barevné parametry a získané výsledky statisticky vyhodnotit.

3 LITERÁRNÍ ČÁST

3.1 Polyfenolické sloučeniny

3.1.1 Charakteristika polyfenolických sloučenin

Jedná se o produkty sekundárního metabolismu rostlin. Z hlediska chemické struktury obsahují aromatický kruh s jednou nebo více substitučními –OH skupinami. Tvoří velmi početnou a různorodou skupinu látek zahrnující sloučeniny od jednoduchých až po polymerizované fenolové sloučeniny (Balasundram a kol., 2006).

Tyto sloučeniny hrají hlavní roli v enologii. Za všechny rozdíly mezi bílými a červenými víny jsou zodpovědné právě polyfenoly (Ribéreau-Gayon a kol., 2006). Ovlivňují především barvu, chuťový projev, antioxidační vlastnosti a podílejí se na jevech uchování a ležení vín (Pavloušek, 2011; Michlovský, 2014). Při šetrném zpracování hroznů se množství fenolů v bílém víně pohybuje do 0,25 g.l⁻¹. Zvýšení obsahu těchto látek je možné naležením rmutu a silnějším lisováním. Obzvláště vysoký je pak obsah fenolů v moštu z narušených hroznů (Michlovský, 2014). V červeném víně je pak množství fenolů 3–10x vyšší (Steidl, 2002). Polyfenolické látky vykazují výraznou proměnlivost ve struktuře a rozdělují se na **neflavonoidy**, které se hromadí v dužnině, a **flavonoidy** vyskytující se převážně ve slupce, semenech a třapině (Pavloušek, 2011; Fic, 2015).

3.1.2 Rozdělení polyfenolických sloučenin

3.1.2.1 Neflavonoidy

Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny se dělí do dvou skupin: **deriváty kyseliny skořicové** a **deriváty kyseliny benzoové** (Michlovský, 2014). Koncentrace jsou řádově v rozmezí 10–20 mg.l⁻¹ v bílých vínech a 100–200 mg.l⁻¹ v červených vínech. Z organoleptického hlediska nemají žádnou zvláštní chuť ani vůni. Jsou však prekurzory těkavých fenolů, které jsou produkovány působením určitých mikroorganismů (kvasinky rodu *Brettanomyces* a bakterie), (Ribéreau-Gayon a kol., 2006).

Deriváty skořicové kyseliny představují hlavní fenolové sloučeniny v moštu a v bílém víně. Řadí se sem například kyselina p-kumarová, kávová a ferulová. Jedná se o bezbarvé látky, které snadno podléhají oxidaci a následně způsobují hnědnutí bílých moštů a vín (Fic, 2015; Pavloušek 2011).

Deriváty benzoové kyseliny jsou ve víně zastoupeny minoritně. Nejvýznamnějším zástupcem je kyselina gallová. Je jediná, která se nalézá přímo v hroznech, v pevných částech bobule (Pavloušek 2011).

Stilbeny

Jako přirozená barviva rostlin nemají zvláštní význam, ovšem řada sloučenin vykazuje významné biologické vlastnosti. Uplatňují se jako antimikrobiální látky. Některé stilbeny se proto řadí mezi fytoalexiny, tj. nízkomolekulární látky vznikající na základě vzájemného působení mezi rostlinou a mikroorganismem (Velíšek, 2002; Pavloušek 2011).

Nejčastěji zmiňovaným antioxidantem této skupiny je **trans-resveratrol** (Fic, 2015). Sun a kol. (2006) dodávají, že se resveratrol vyskytuje v obou isomerních formách, jak v trans, tak v cis, ale že pouze forma trans byla identifikována v hroznech *Vitis vinifera*. Dále Sun ve svém článku uvádí, že mezi nejdůležitější faktory, které ovlivňují obsah této látky ve víně, patří její koncentrace v hroznu, použité vinařské technologie a její změny během procesu zrání vína. Podle Xiang je však význam resveratrolu výrazně přeceňován ve srovnání s dalšími fenolovými sloučeninami s podobnou strukturou a tedy i obdobnými vlastnostmi (Fic, 2015).

3.1.2.2 Flavonoidy

Jsou obecně velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů (je známo více než 4 000 těchto látek a stále se objevují nové), ale představují i nejvýznamnější skupinu z řady fenolických látek u révy vinné. Mezi flavonoidy vyskytujících se v hroznech a ve víně náleží **anthokyany, flavonoly a flavan-3-oly** (Velíšek, 2002; Pavloušek, 2011; Fic, 2015).

Anthokyany

Jedná se o červené pigmenty modrých odrůd révy vinné, které jsou převážně lokalizovány ve slupce (ve vakuolách) a méně obvykle v dužnině (tzv. barvířky). Na konci vegetačního období je přítomno velké množství anthokyanů i v listech (Ribéreau-Gayon a kol., 2006).

Termín anthokyany se všeobecně používá pro označení:

- **anthokyanidinů**, tj. centrální struktury bez navázaných cukerných jednotek (tzv. aglykony),

- **anthokyaninů**, tj. sloučeniny s různým počtem cukerných jednotek (Michlovský, 2014).

V hroznech bývají anthokyanidiny nestabilní, proto se vážou na glukózu, která je stabilizuje. Pak vypadá struktura pěti hlavních anthokyanů ve víně následovně: malvidin-3-glukosid, cyanidin-3-glukosid, delphinidin-3-glukosid, petunidin-3-glukosid a peonidin-3-glukosid (Pavloušek, 2011). Cukerná část může být dále acylována například kyselinou octovou, kumarovou nebo kávovou.

Barviva se syntetisují od fáze zaměkání hroznů. Přispívají k barvě a také k trpkosti vína, neboť nepřímo vážou třísloviny, a tím jsou schopné regulovat trpkost vína. V průběhu zrání podléhají celé řadě chemických reakcí, jako jsou polymerace s taniny, acylace, kondenzace s cukry, vazba iontů kovů nebo pigmentace. Tyto zásadní změny se projevují ve změnách barvy, která může později degradovat (Fic, 2015).

Flavonoly

Jsou to žluté pigmenty přítomné ve slupkách bílých i modrých hroznů. Vždy se vyskytují ve formě glykosidu, tj. jako sloučeniny s cukernými jednotkami. V bobulích révy vinné jsou přítomné ve formě glukosidů, glukuronidů a galaktosidů. Během vinifikace jsou však glykosidy rozloženy – hydrolyzovány na cukerné jednotky a centrální strukturu (tzv. aglykon). V hotovém víně pak nalzáme již jen volné flavonolové aglykony (Michlovský, 2014; Fic, 2015).

Mezi nejvýznamnější se řadí kaempferol, kvercetin, myricetin a isorhamnetin. Glykosidy myricetinu však dosud nebyly ve slupkách bílých hroznů potvrzeny. Flavonoly se nepodílejí na barvě bílých vín. Možný původ barvy těchto vín je ve slučování železa s některými fenolovými sloučeninami, například tříslovinami nebo organickými kyselinami. Což může být i příčinou toho, že ovlivňují i chuť, a to zejména hořké a tříslovité tóny (Michlovský, 2014; Oslzlý, 2012).

Je dokázáno, že vlivem slunečního záření se zvyšuje obsah flavonolů. To znamená, že flavonoly mají schopnost působit jako ochrana před UV zářením (O'Byrne, 2009).

Flavan-3-oly

Flavan-3-oly jsou v hrozně soustředěny ve slupkách a v semenech. Jejich koncentrace je však v těchto různých částech bobule rozdílná. Slupky obsahují mnohem méně flavan-3-olů než semena. Liší se i jejich složením. Ve slupkách nalzáme katechiny

a gallokatechiny, v semenech pak katechiny a prokyanidiny. Katechin je obvykle nejdůležitějším flavanolem jak ve slupkách, tak v semenech, ale své významné zastoupení má i epikatechin (González-Manzano a kol., 2004). Pavloušek (2011) dále informuje, že flavan-3-oly jsou rovněž v třapíně, ale v podobě polymerů označovaných jako taniny (třísloviny) – proanthokyanidiny, a to v množství nepřekračující 5 % celkových taninů v hroznech. Nejvyšší koncentrace flavan-3-olů je na počátku zrání, během vyzrávání jejich obsah klesá, a to až do dospělosti, kdy jejich množství zůstane relativně konstantní (González-Manzano a kol., 2004).

Flavan-3-oly mají význam pro sensorické vlastnosti a strukturu vína. Je to dáno tím, že flavan-3-oly v průběhu zrání hroznů polymerizují do formy taninů. V semenech polymerizují do podoby taninů s nižším stupněm polymerizace (10 jednotek), ve slupkách do podoby taninů o velikosti 30 jednotek (Pavloušek, 2011). Je dokázáno, že hořké chuťové tóny jsou odvozené od nízkomolekulárních sloučenin a tříslovité tóny od vysokomolekulárních sloučenin. Hořké tóny proto mohou být spojené s flavan-3-oly ze semen a tříslovité tóny zase s flavan-3-oly ze slupek (Fic, 2015). Stupeň polymerizace tedy ovlivňuje chuťové vlastnosti hroznů a vína (Pavloušek, 2011).

Prodloužením doby macerace a fermentace se zvyšuje podíl jak flavan-3-olů, tak i podíl nežádoucích látek negativně ovlivňující hořkost, svíravost a pachut' (Gürbüz a kol., 2007).

González-Manzano a kol. (2004) navíc uvádí, že interakce flavan-3-olů s anthokyaniny jsou považovány za klíčové pro stabilitu barvy stejně jako pro tvorbu nových pigmentů během stárnutí vína. S tím jde ruku v ruce tvrzení Pavlouška (2011), že semenné taniny bývají více reaktivní a stabilizují anthokyaniny pomocí tvorby stabilních polymerních barviv. Slupkové taniny zase bývají méně reaktivní, ale jejich koncentrace pozitivně koreluje s obsahem anthokyanů, tzn., že hrozny s vysokým obsahem anthokyanů mají také vysoký obsah taninů a bobule s nízkým obsahem anthokyanů mohou mít i nedostatečnou „taninovou zralost“.

3.1.3 Rozdíl mezi červenými a bílými víny

Jeden z hlavních rozdílů je ve výrobě červených a bílých vín, respektive v kontaktu slupek s moštěm během a v některých případech i po kvašení. Obvykle jsou bílá vína vyráběna bez kontaktu se slupkami a kvasí po vylisování moštu. Červená vína kvasí před lisováním. Rozdrcené bobule tedy kvasí společně se slupkami, ze kterých se vyextrahuje barvivo a třísloviny. Kvasný kontakt moštu se slupkami je znám jako

macerace. Vzhledem k tomu, že u výroby bílých vín krok macerace chybí, je výrazně snižena i hladina polyfenolů (Yeaman-Irwin, 2011; http 4).

Polyfenoly vyskytující se v bílých vínech

Složení polyfenolových sloučenin v bílých vínech se nijak neliší od složení ve vínech červených. Liší se pouze v koncentraci dané sloučeniny. Tabulka č. 1 uvádí přehled polyfenolických látek vyskytujících se v hroznech a ve víně.

Tabulka 1: *Polyfenolické sloučeniny vyskytující se v hroznech a ve víně*

Neflavonoidní fenolické sloučeniny	Hydroxybenzoové kyseliny	Kyselina gallová, protokatechová, vanilová, syringová
	Hydroxyskořicové kyseliny	Kyselina kumarová, kávová, ferulová, koutarová, kaftarová, fertarová
	Stilbeny	Trans- a cis- resveratrol, piceid, piceatannol, astringin
Flavonoidní fenolické sloučeniny	Anthokyany	Malvidin-3-glukosid, cyanidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid, delphinidin-3-glukosid, petunidin-3-glukosid, estery s kyselinami octovou, kumarovou a kávovou
	Flavonoly	Katechin, epikatechin, gallokatechin, epigallokatechin
	Flavan-3-oly	Quercetin, myricetin, kaempferol, isorhamnetin, rutin

Steidl (2002) uvádí celkový obsah polyfenolů v bílých vínech v rozmezí 150–250 mg.l⁻¹. Koncentrace ovšem závisí na způsobu zpracování. V případě šetrné manipulace s hrozny a opatrného lisování může být obsah polyfenolů vyšší. Víno bohatší na polyfenolické sloučeniny můžeme získat naležením rmutu, nebo silnějším lisování, zvláště velký obsah je pak v moštu z již dříve narušených bobulí.

U červeného vína je množství polyfenolů mnohonásobně vyšší. Uvádí se až 4 500 mg.l⁻¹.

3.1.4 Možnosti měření polyfenolů

Stejně jako existuje velký počet polyfenolických látek, tak existuje i spousta metod, jak polyfenoly detekovat. Naczka a Shahidi (2004) uvádí až deset kategorií, jakými metodami lze polyfenoly stanovit. Jejich výčet začíná extrakcí a pokračuje přes spektrofotometrické, chemometrické, titrační, chromatografické a jiné metody a končí

kapilární elektroforézou. V podstatě se ale dělí do dvou hlavních tříd, a to na stanovení celkových polyfenolů (např. spektrofotometrické metody) a na stanovení jednotlivých komponent (např. chromatografické metody).

3.1.4.1 Spektrofotometrické metody

Metoda s činidlem Folin-Denis

Jedná se o nejvíce rozšířenou metodu pro kvantitativní stanovení celkových polyfenolů jak v rostlinném materiálu, tak v nápojích. Metoda funguje na principu redukční reakce fenolických sloučenin s kyselinou fosfomolybden-fosfowolframovou (Folin-Denis činidlo) v alkalickém prostředí za vzniku modrých komplexů. Byla přizpůsobena pro stanovování velkého počtu vzorků. Měření probíhá při vlnové délce 725 nm, jako blank slouží směs vody a činidla Folin-Denis (Naczka, Shahidi, 2004).

Metoda s činidlem Folin-Ciocalteu

Metoda spočívá v reakci hydroxidových skupin fenolických sloučenin s činidlem Folin-Ciocalteu. Nejprve byla vytvořena pro analýzu proteinů, později byla rozšířena pro analýzu celkových polyfenolů ve víně. Metoda je vhodná ke zjišťování antioxidační kapacity z pohledu redukčních schopností měřených vzorků. Výhodou je velmi dobrá korelace mezi ní a dalšími metodami používanými pro měření antioxidační kapacity (např. FRAP). Další výhodou je jednoduchý a rychlý postup při měření a relativně nízké náklady na analýzu. Za nevýhodu se považuje schopnost činidla reagovat s oxidovatelnými látkami, jako je kyselina askorbová (může docházet ke zkresleným výsledkům), (Blainski a kol., 2013).

Metoda s pruskou modří

Metoda je založená na redukcí železitého iontu na železnatý. Produktem je pruská neboli berlínská modř. Schopnost polyfenolických sloučenin redukovat železitý iont závisí na jejich hydroxylaci a stupni polymerace. Tato detekční technika je oblíbená pro svoji jednoduchost a nízkou interferenci s jinými sloučeninami. Nicméně má dva důležité nedostatky. Prvním je tvorba sraženiny během krátké inkubační doby a druhým je zvýšení hustoty barev s časem (Schofield a kol., 2001).

3.1.4.2 Chromatografické metody

V posledních letech jsou nejvýznamnějšími separačními metodami, které jsou současně i metodami kvantitativně analytickými. Chromatografie je souhrnné označení pro skupinu fyzikálně-chemických separačních metod (Nikolová, 2012).

Principem metody je rozdílná rychlost pohybu látek v soustavě mobilní a stacionární fáze. Vzorek obsahující několik složek je unášen mobilní fází. Podle toho, jak jsou jednotlivé složky poutány k stacionární a mobilní fázi dochází k tomu, že některé složky se pohybují rychleji a jiné pomaleji (Dostál, 2013).

Tenkovrstvá chromatografie (TLC, Thin Layer Chromatography)

Tato separační technika pracující na tenké vrstvě silikagelových deskách je užitečná pro rychlou a nízkonákladovou izolaci a identifikaci polyfenolů přítomných ve víně. Denzitometrická kvantitativní analýza polyfenolů ve víně je obvykle prováděna pomocí skenování TLC desek s použitím UV záření při vlnových délkách 350–365 nm a 250–260 nm. Pro vyhodnocení nejefektivnější mobilní fáze a optimálního výběru ze dvou nebo více mobilních fází, lze použít dvě metody: informační teorii nebo numerickou taxonomii (Rastija, Medić-Šarić, 2009).

Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC, High-Performance liquid Chromatography)

V současné době představuje nejpopulárnější techniku pro analýzu polyfenolů ve víně. Základem je čerpadlo s vysokým tlakem mobilní fáze, vysoce účinná kolona a detektor. Nejběžnějším detektorem je UV-VIS spektrofotometr. Pro zvýšení selektivity a citlivosti při stanovení některých polyfenolů vyžaduje metoda použití různých detekčních technik, jako je například fluorimetrie, konduktometrie nebo hmotnostní spektrometrie ve spojení s ionizační technikou: elektrosprejem (ESI) nebo chemickou ionizací za atmosférického tlaku (APCI). Chromatogram pak ukazuje závislost odezvy detektoru na čase analýzy. Jednotlivé složky se ukazují jako peaky, jejich koncentrace je zobrazena jako plocha pod peakem (Rastija, Medić-Šarić, 2009; Dostál, 2013).

Plynová chromatografie (GC, Gas Chromatography)

Plynový chromatograf je zařízení, do kterého proudí plyn (nejčastěji helium, dusík nebo vodík), který unáší látku kolonou. Zkoumané látky se musí dát vypařit, aby byly stabilní. Nejpoužívanějším detektorem je FID. V tomto detektoru vstupuje analyzovaný vzorek do plamene. FID detektor měří vodivost plamene. Chromatogram ukazuje

závislost vodivosti (odezvy detektoru) na čase. Rozdělené látky vstupují do plamene v různém čase a na chromatogramu je vidíme jako peaky (Dostál, 2013).

GC vyvinutá pro analýzu polyfenolů vyžaduje derivatizaci na těkavé sloučeniny a detekci hmotnostní spektrometrie v režimu selektivního monitorování iontů (Rastija, Medić-Šarić, 2009).

Kapilární elektroforéza (CE, Capillary Electrophoresis)

Tato speciální technika je výkonný nástroj pro analýzu obsahu polyfenolů bílých a červených vín. Využívá elektrokinetických principů elektroforézy a elektroosmózy k separaci látek uvnitř křemenné kapiláry.

Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MECC) rozšířila využití kapilární elektroforézy k separaci neutrálních analytů pod vlivem elektrického pole. Frakcionace monomerních a polymerních pigmentů s vyšší molekulovou hmotností pomocí gelové permeační chromatografie (GPC) zlepšila analýzu těchto sloučenin podle CE (Rastija, Medić-Šarić, 2009).

3.2 Antioxidanty a antioxidační kapacita

3.2.1 Charakteristika antioxidantů

Antioxidanty jsou definovány jako sloučeniny, které zabraňují nežádoucím reakcím, regulují oxidační pochody v organismu a poskytují ochranu buněčným strukturám proti volným radikálům, zejména kyslíku a dusíku (Kopřiva, 2011).

Antioxidant je schopný poskytnout volnému radikálu elektron, který volný radikál hledá bez toho, aby nastalo poškození antioxidantu. Problémy vznikají tehdy, pokud organismus nemá dostatečné množství antioxidantů, které by bojovaly se vznikajícími volnými radikály.

Když je hladina antioxidantů v organismu velmi nízká, náš obranný systém je oslabený a volné radikály mohou útočit na buňky velkou silou. Takový útok poškozuje stěny buněk, přičemž volné radikály pronikají až do samotné buňky. V případě, že k této situaci dojde, je nutné enzymům pomoci, a to tak, že organismu dodáme antioxidanty ve formě potravin, jako je například ovoce a zelenina (Ortembergová, 2003).

Mezi přirozené antioxidanty se řadí hlavně kyselina askorbová, kyselina lipoová, tokoferoly, karotenoidy a polyfenoly (Holasová, Fiedlerová, 2011). Z těch

jednoduchých polyfenolů jsou to fenolové kyseliny, jako kyselina gallová, která je například ve víně, pivě, ovoci a zelenině. Z těch složitějších polyfenolových sloučenin, které mají výrazný antioxidační efekt, jsou zajímavé flavonoidy, jako rutin v pohance, katechiny v zeleném čaji nebo resveratrol v hroznech (Chrpová, 2010).

3.2.2 Charakteristika antioxidační kapacity

Antioxidační kapacita je schopnost sloučeniny nebo směsi látek inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin. Pro vzájemné porovnání antioxidačních účinků různých směsí byl v souvislosti s analýzou vzorků zaveden pojem antioxidační aktivita, která kvalifikuje kapacitu vzorku biologického materiálu eliminovat radikály (Šulc a kol., 2007).

V komplexním pojetí se hovoří o celkové antioxidační kapacitě, která patří do systému biochemických stanovení, kdy je analyzována jako celková antioxidační kapacita plazmy. Jde o veličinu, která představuje souhrn všech látek s antioxidačním účinkem v této tekutině obsažených (Kopřiva, 2011).

Civilizační vývoj sebou přináší zvýšené působení volných radikálů. Na základě toho se zvýšil i zájem o studium antioxidační aktivity jednotlivých potravinových zdrojů a příjmů antioxidantů (Holasová, Fiedlerová, 2011). Značná pozornost se v tomto kontextu obrací právě na polyfenolické látky v potravinách, a to právě z důvodu jejich antioxidačních vlastností, schopnosti zachycovat volné radikály a redukovat oxidační stres vyvolávající poškození tkání a orgánů, jehož důsledkem jsou různá chronická onemocnění. Jsou jim přisuzovány prospěšné vlastnosti jako protizánětlivost, antimutagenita, nebo antikarcinogenita (Plaza a kol., 2008).

Pro stanovení antioxidační kapacity existuje řada analytických metod. Doposud ale neexistuje žádná oficiální standardizovaná metoda. Proto se doporučuje, aby každé vyhodnocení bylo provedeno za různých oxidačních podmínek a různých metod měření (Frankel, Meyer, 2000).

Huang a kol. (2005) rozlišují dvě hlavní kategorie na základě reakčního mechanismu. První kategorii tvoří testy založené na přenosu atomu vodíku (HAT, Hydrogen Atom Transfer). Druhou kategorii tvoří testy založené na přenosu elektronů (ET, Electron Transfer). Většina testů HAT pracuje na konkurenčním schématu, ve kterém antioxidant a substrát soutěží o tepelně vytvořený peroxylový radikál prostřednictvím rozkladu azo-sloučenin. Testy ET jsou založeny na principu redukce

oxidačního činidla, který během tohoto procesu mění barvu. Stupeň změny barvy koreluje s antioxidační kapacitou daného vzorku (Zulueta, 2009).

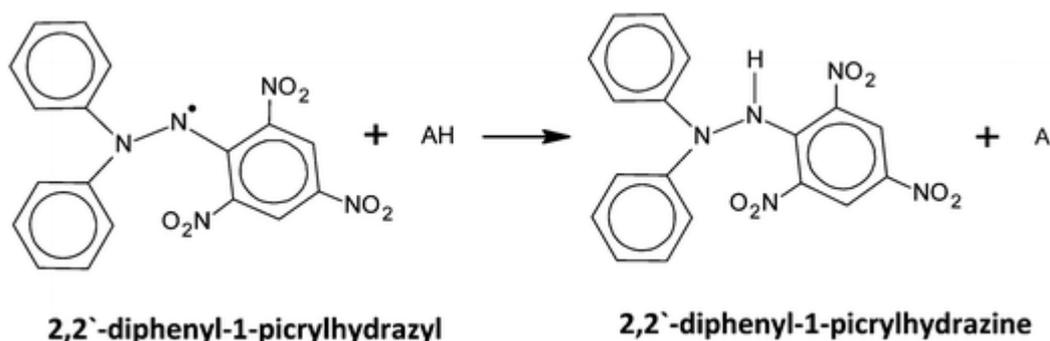
Paulová a kol. (2004) se pro změnu dívají na členění metod z jiného hlediska a detekční techniky kategorizují na metody hodnotící schopnost eliminovat radikály a na metody posuzující redoxní vlastnosti látek.

V této práci budou popsány všeobecně nejčastěji používané metody pro detekci antioxidační kapacity.

3.2.3 Možnosti měření antioxidační kapacity

3.2.3.1 Metoda DPPH

Tato metoda je populární hlavně z toho důvodu, že je jednoduchá a citlivá. Princip je založen na schopnosti stálého vodíkového radikálu 2,2-difenylypicrylhydrazilu (DPPH) reagovat s vodíkovými donory, včetně polyfenolů. Tato purpurově zbarvená oxidující sloučenina je jedním z mála stabilních a komerčně dostupných organických dusíkatých radikálů. DPPH je antioxidanty (AH) redukován dle následující rovnice:



Obrázek 1: Rovnice reakce DPPH radikálu s antioxidantem

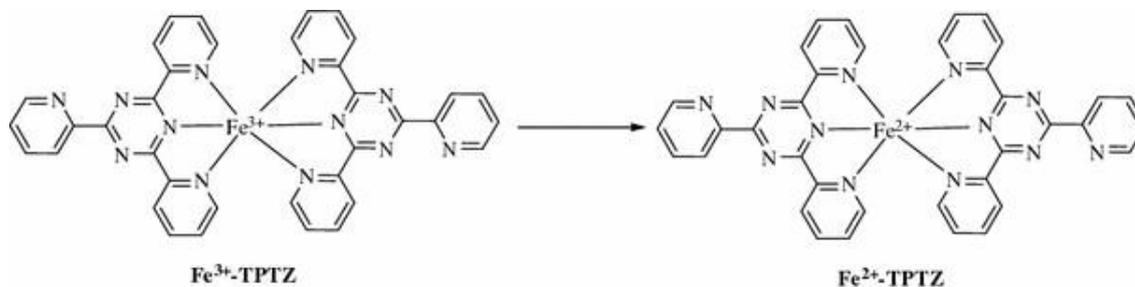
(Pyrzynska, Pekal, 2013)

Redukce se projevuje odbarvením roztoku z původní purpurově fialové barvy až do žlutavé. Měření probíhá spektrofotometricky při vlnové délce 515 nm. Míra poklesu zbarvení je úměrná množství inaktivovaného radikálu antioxidanty. Jelikož používaný radikál je relativně stabilní, je zároveň oproti jiným radikálům málo reaktivní. Mnoho antioxidantů, které reagují s reaktivnějšími radikály, nereaguje s DPPH radikálem (Lewis, 2012).

3.2.3.2 Metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential)

Principem metody je přenos elektronu z antioxidantu na železitou sloučeninu (2,4,6-tripiridil-s-triazin = TPTZ). Při tomto procesu se trojmocný ion železa redukuje na

dvojmocný, který je barevný a jeho koncentrace je měřena spektrofotometricky při vlnové délce 593 nm. Elektrický potenciál nezbytný pro transfer elektronu je minimálně 0,7 V. Reakce je znázorněna následující rovnicí:



Obrázek 2: *Princip metody FRAP*

(Huang a kol., 2005)

Výhodou metody (při měření antioxidantů v ovoci) je, že stanovení probíhá v kyselém prostředí, které je svými hodnotami podobné jako pH většiny ovoce (pH 3,6). Metoda je rychlá, jednoduchá a relativně levná. Není potřeba speciálního vybavení. Velkou nevýhodou je však nejednotnost při kinetice reakcí. Některé sloučeniny zreagují do čtyř minut, jiné vytváří barevné komplexy i po třiceti minutách a později (kvercetin, taniny).

Důležitou charakteristikou metody je také, že je založena především na redukční schopnosti sledovaného vzorku. Mnohé antioxidanty proto nejsou touto technikou detekovatelné (ty, které inaktivují radikály H-transferem). Zároveň sloučeniny, jako siřičitany, vykazují redukční schopnosti, i když jejich konzumace nemá pozitivní působení na organismus. Vysoké hodnoty naměřené metodou FRAP však mohou poukazovat na schopnost látek stát se prooxidanty a být tak za určitých podmínek propagátory radikálových reakcí (Prior a kol., 2005).

3.2.3.3 Metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Při použití metody ORAC se v testovacím systému generují kyslíkové radikály a hodnotí se schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Detekce je založena na sledování úbytku fluorescence β -fykoerytrinu (β -PE) po napadení radikály. Pro generaci peroxylových radikálů se používá AAPH (2,2'-azobis(isobutyrimidamid)-dihydrochlorid), při generaci hydroxylových radikálů pak

system $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cu}^{2+}$. Vzhledem k tomu, že tyto radikály patří k nejreaktivnějším, patří test ORAC k důležitým kritériím charakterizujícím antioxidanty.

Originální metoda ORAC, která používá jako sondu β -PE (ORACPE), má široké uplatnění a poskytuje významné informace o antioxidační kapacitě vzorků různého typu. Při stanovení antioxidační kapacity polyfenolů však byla popsána některá omezení, která se týkají vlastností β -PE (např. omezená fotostabilita). Zavedením jiného typu fluorescenční sondy, a sice fluoresceinu (FL), byla metodika (ORACFL) upřesněna. Uvádí se, že metoda ORACFL je exaktnější v důsledku přesného a jednoduchého reakčního mechanismu, který spočívá v klasickém přenosu vodíku (Paulová a kol., 2004).

3.2.3.4 Metoda ABTS

Patří k základním metodám pro stanovování celkové antioxidační aktivity. Někdy je také označována jako metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), z důvodu, že výsledná antiradikálová aktivita vzorku je srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina).

Testuje schopnost vzorku zhaset kation-radikál ABTS (2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)). Zhášení radikálu ABTS antioxidanty, které se chovají jako donory vodíku, se sleduje spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra ABTS. Nejčastěji se měří absorbance při vlnové délce 734 nm. V reakční směsi se kation-radikál ABTS generuje oxidací ABTS (Paulová a kol., 2004).

Výhodou metody ABTS je extra flexibilita v tom, že může být použita při různých hodnotách pH (na rozdíl od DPPH, které je citlivé na kyselé pH). To je užitečné pro měření antioxidační aktivity vzorků získaných v kyselých rozpouštědlech. Navíc ABTS je rozpustný ve vodných i organických rozpouštědlech. To je efektivní při hodnocení antioxidační aktivity vzorků v různých médiích. V současné době je nejčastěji využíván fosfátový pufr (PBS) s pH 7,4. Další výhodou metody ABTS je, že vzorky rychle reagují s ABTS v pufru (PBS) a dosahují ustáleného stavu během 30 minut.

Hlavním negativem této detekční techniky je vysoká cena ABTS radikálu (Shalaby, Shanab, 2013).

3.2.3.5 Metoda PCL (Photochemiluminiscence)

PCL je komerčně dostupný měřicí systém užívající zařízení Photochem. Systém zahrnuje fotochemickou generaci superoxidových radikálů. Tyto radikály jsou ze vzorku částečně eliminovány reakcí s antioxidanty přítomnými ve vzorku. Zbývající radikály jsou detekovány s použitím chemiluminiscence. Jako fotosenzibilní i detekční činidlo zbylých radikálů slouží luminol. Zařízení nabízí dva protokoly: měření hydrofilní antioxidační aktivity (ACW) a lipofilní antioxidační aktivity (ACL). Luminiscenční signál je měřen po určitý časový interval. V době, kdy jsou antioxidanty vyčerpány, dochází k nárůstu radikálů ve vzorku, až detekovaný signál dosáhne maxima. V protokolu ACW je trvání lag-fáze kritériem obsahu antioxidantů. V protokolu ACL je kritériem pro obsah antioxidantů integrál pod signální křivkou. Kvantifikace je založena na kalibračních křivkách kyseliny askorbové nebo Troloxu. Pro oba protokoly jsou dodávány komerční soupravy. PCL metoda je velmi citlivá, použitelná i při analýzách antioxidační aktivity na hladině nanomolů (Holasová, Fiedlerová, 2011).

3.3 Vady vína spojené s polyfenolickými sloučeninami

Senzorické vlastnosti vína (vůně, chuť, celkový vzhled) jsou v podstatné míře určovány polyfenoly, přičemž se ve velké většině případů setkáváme s kladnými účinky a jen příležitostně s účinky negativními. Polyfenoly určují kvalitu třešňově červené až tmavě karmínové barvy červených vín i zelenožluté až sytě zlatožluté barvy vín bílých. Vzhledem k jejich mírně nakyslé, trpké chuti přispívají zpravidla žádoucím způsobem ke komplexnosti a mnohostrannosti vína. Pokud se složení a množství jednotlivých fenolů pohybují v běžných mezích, je i celková kvalita vína ovlivněna kladně. Nežádoucí modifikace struktury tříslovin však mohou být vyvolány celou řadou faktorů a opatření (Eder a kol., 2006).

3.3.1 Příčiny vzniku vad

Důvodů, proč dochází k vadám a nedostatkům vín, může být hned několik. V první řadě to je nepříznivý průběh povětrnostní situace (vlhko, chladno) a s tím spojené napadení hroznů mokrou hnilobou. Vliv má i neodborná sklizeň (například dlouhé prostoje sklizené suroviny a dopravní cesty), nevhodné zpracování hroznů (chybně použité lisy, odzrňovače atd.), nebo nesprávné školení vína (zakalení a zhnědnutí, zhořknutí vín,

pachut' po dřevovině aj.). Svou roli sehrává také nedostatečná hygiena a sanitace, špatné šíření vína a nedolévání nádob, kdy se během těchto procesů dostanou do vína cizí látky.

Za vadu se tedy považuje technologická chyba – chyba způsobená nesprávnými postupy při produkci hroznů (nedostatek dusíku, draslíku), sklizni nebo kvašení. Vady jsou fyzikálně-chemické procesy.

Přestože jsou příčiny různého původu, jejich projevy z hlediska senzorické charakteristiky se velmi podobají. Takto postižená vína se vyznačují matově tmavým zbarvením s nahnědlými tóny, sennými, zatuchlými až medicínálními aromaty (typický buket odrůdy je potlačen) a svíravou, někdy trávovou až plísňovou chutí (Eder a kol., 2006; Kalábek, 2009).

3.3.2 Přehled jednotlivých vad

3.3.2.1 Oxidace

Nepříjemnou vlastností polyfenolů je jejich značná náchylnost k oxidaci. Je to nejčastěji se vyskytující vada ve víně. V jisté fázi jde o nevratný proces a víno je zcela znehodnoceno. Hlavním produktem oxidace je acetaldehyd.

Polyfenoly mohou být vystaveny *enzymatické oxidaci* prostřednictvím enzymů para-difenol oxidáza (lakáza) a ortho-difenol oxidáza (tyrozináza) přítomných v moštu, nebo *neenzymatické oxidaci*, při které dochází ke vzniku chinonů a hnědě zbarvených polymerů, tzv. flabofenů. Ve víně pak už žádné aktivity oxidáz neprobíhají. Probíhá ovšem přímá oxidace fenolů prostřednictvím oxidačně působících látek a kyslíku.

Víno často obsahuje vysoký obsah těkavých kyselin a projevuje se prázdnou a plochou chutí. Vůně připomíná nahnělé jablko.

Vhodná opatření proti nežádoucím změnám barvy, zákalům či chuti spočívají v minimálním vnikání tríslovin a kovů při zpravování, dostatečném zásobení produktu SO₂ a maximálním vyloučení kyslíku při zpracování, skladování a stáčení (Baroň, 2013; Eder a kol., 2006).

3.3.2.2 Vysoká barva – hnědý a černý zákal

Trísloviny jsou velmi reaktivní látky, které (jak už bylo zmíněno výše) snadno oxidují na chinony, které zase kondenzují na hnědě zbarvené polymery. Pokud polymerizace fenolů následuje po oxidaci bez překážek, tvoří se jemně vločkovitý zákal, tzv. *hnědý zákal*. Na základě srážlivého účinku polyfenolů na bílkoviny, mohou vzniknout

i zákaly, které vedle kondenzovaných tříslovin obsahují i bílkoviny. Někdy je v tomto polymerovém komplexu zapojeno i oxidované, trojmocné železo, přičemž pak vločky vykazují modrozelené až načernalezelené zbarvení označované jako *černý zákal*.

Hnědnutí způsobuje zvětralou, prázdnou chuť. Ve vůni je cítit ořech, hruška, nebo sušené ovoce.

Na oxidázy reagující v moštu se doporučuje přidání moštového bentonitu, dále ostré odkalení moštu a rychlé uvedení do kvasícího procesu. Při prvním stáčení vína by se mělo provést silné síření (nad 30 mg.l⁻¹ SO₂).

Náchylnost k zákalům se dá zjistit testem na hnědnutí, konkrétně vzduchovou zkouškou. Pokud je to nezbytné, provede se čiření pomocí prostředků obsahujících dusík (např. PVPP), (Baroň, 2013; Eder a kol., 2006).

3.3.2.3 Nezralá chuť – hořčinka

Jedná se o vadu vína způsobenou nezralými hroznů. U zralých hroznů převažuje vyvážená, harmonická skladba polyfenolů s nízkým obsahem hořkých látek, zatímco u nezralých hroznů jsou v nadbytku sensoricky nepřijatelné sloučeniny.

Vína s touto vadou charakterizuje škrablavý, tvrdý a hořký chuťový dojem. V porovnání s víny plnými a tělnatými, kde jsou fenoly lépe zabudované do komplexní struktury, jsou vína z nezralých hroznů prázdná a štíhlá.

Jediným možným doporučením, jak předejít problémům s prázdnými víny, je vyhnout se brzké sklizně. Celkový obsah polyfenolů přibývá od září do října (až + 30 %), (Eder a kol., 2006).

3.3.2.4 Chuť po třapině, stopce, rmutu

Tento nedostatek vína může mít několik příčin. Jednou z nich je způsob *mechanické sklizně*. V případě nevhodně nastavených sklizňových strojů dochází ke sklizení i zelených částí révy (listy 1–5 %). To má za následek jejich vyluhování během zpracování hroznů a budoucí travnaté tóny ve víně. Nežádoucí nárůst obsahu tříslovin v moštu může být způsoben i *dlouhými prostoji* a *přepravními časy* sklizeného materiálu. Významný vliv na množství a složení tříslovin moštů a vín má také použitý *lisovací systém*. Například použitím kontinuálních šnekových lisů má za následek vzestup obsahu tříslovin v průměru o 50 % oproti použití horizontálních vřetenových lisů. S větším tlakem lisování se samozřejmě zvyšuje i množství tříslovin a katechinů.

Dalšími příčinami mohou být *vysoké dávky SO₂, neprovedení odkalení moštu, nebo příliš málo nebo naopak příliš mnoho slunečního svitu.*

Vína se zvýšeným obsahem tříslovin jsou na pohled bledá a matná. V chuti převládají svíravé, tvrdé, škrablavé a neharmonické tóny.

Prevencí je minimalizování poškození slupek a peciček nebo rychlé odkalení moštu (Eder a kol., 2006).

3.3.2.5 Pachut' po hnilobě

Tato vada je způsobena plísněmi a částečně tříslovinami. Houbové plísně jsou rozšířeny na všech zdrojích potravy obsahujících cukr, zvláště pak na prasklých bobulích již ve vinici. Napadením hroznů různými houbami vzniká nezrale hnilobný materiál s nahořklými chuťovými tóny. Infekce vede ke vzniku speciálních tříslovin mající za následek záporné ovlivnění aroma hroznů a vína (Steidl, 2002; Eder a kol., 2006).

Hnilobné tóny se do vína mohou dostat také použitím znečištěného náradí a šířit se moštem nebo zbytky vína ve sklepě s nedostatečnou hygienou. Situace se stává velmi závažnou v případě rozšíření plísně do dřevěných sudů. Je-li sud jednou napaden plísní, zůstává pachut' ve víně i po odstranění plísně. Sudy by měly být odstraněny ze sklepa (Steidl, 2002; Farkaš, 1983).

Vína se vyznačují, zatuchlou nebo octovou vůní, chuť je dráždivá, po plísní.

Předcházet této vadě je možné vizuální kontrolou již ve vinici, skladováním náradí v suchém prostředí, větráním sklepa a celkovým udržováním čistoty veškerého zařízení, které přichází do styku se zpracovávaným materiálem (Steidl, 2002; Eder a kol., 2006).

Mírná pachut' po hnilobě se dá eliminovat čiřením vína kaseinem nebo aktivním uhlím, velmi silná pachut' se však nedá už nikdy dostatečně odstranit (Farkaš, 1983).

3.3.2.6 Pachut' po dřevovině a sudu

Dubové, ale i akátové dřevo, běžně používané k výrobě sudů, předává prvnímu moštu či vínu škrablavou, mírně nahořklou chuť. Vypálením vnitřku sudu a s tím spojenou změnou složení dřeva lze získat jemné aroma po pražení, požadované při zrání vína v „barrique“. Pokud je cílem skladovat víno bez ovlivnění chuti, musí se nový sud nejprve ošetřit tak, aby se dřevo zbavilo tříslovin. Tento proces se nazývá „navínění sudu“. Jestliže je však víno uskladněno v sudu, který nebyl dostatečně navíněn, vyluhují se dubové třísloviny. Ty se později projeví ve víně jako dřevnaté, škrablavé chuťové

tóny. Víno má vyšší nahnědlou barvu a ostrou, trpkou vůni (Steidl, 2002; Eder a kol., 2006).

Dobrou prevencí je nové sudy pečlivě navínit a staré sudy správně ošetřit (např. sířením, horkou párou, speciálními roztoky).

Pachův po dřevnatých tónech lze eliminovat přidáním čerstvých zdravých vinných kvasnic, scelením s atraktivnějším vínem, čiřením prostředky obsahující dusík (želatina, PVPP), nebo ve vyhraněnějších případech aktivním uhlím (Baroň, 2013).

3.3.2.7 Akroleinová příchut' a hořké tóny

Příčinou tohoto nepříjemného nahořklého tónu jsou polymerizované sloučeniny, které se skládají z akroleinu a polyfenolů, především anthokyanů. To napovídá, že se jedná o vadu zvláště u červených vín. Jelikož v bezvadných, zdravých vínech není přítomen skoro žádný akrolein, nemohou se v nich ve větší míře vyskytovat hořké látky. Zvýšená tvorba akroleinu je možná jen jako výsledek bakteriálního odbourávání glycerinu způsobeného bakteriemi kyseliny mléčné a klostridii.

Vína s nízkým obsahem kyselin, která jsou skladována při vysokých teplotách a nemají dostatečné ošetření SO_2 , jsou více náchylná vůči takovýmto mikrobiálním změnám. Pokud bylo ale víno zanedbáno po delší dobu, je už spíše nemožné tuto vadu odstranit.

Dříve se problémy spojené s akroleinem vyskytovaly častěji. Díky zlepšení hygienických podmínek ve sklepích se dnes však tato vada vykytuje jen ojediněle. Účinnou prevencí je tedy dostatečná sanitace a kontrola obsahu SO_2 (Eder a kol., 2006).

3.3.2.8 Tóny po koňském sedlu

Původcem jsou produkty látkové výměny kvasinek druhu *Brettanomyces* produkující těkavé fenoly (4-etylphenol a 4-etylguajakol), které v malém množství podporují aroma vína (vůně po hřebíčku, kouři), ale při vyšší koncentraci způsobují vadu. Kvasinky *Brettanomyces* se mohou v menším množství množit na cukru. Již samotný cukr ze dřeva sudu (např. cellobióza) může sloužit jako základ látkové výměny. Vada se častěji projevuje u vín „barrique“. Při nižším obsahu SO_2 (pod 20 mg.l^{-1}) se kvasinky vyvíjejí delší dobu.

Víno má pak nasládlou vůni připomínající dehet nebo pot, chuť je živočišná až špeková často naoctělá.

Předpokladem pro potlačení této vady je sklepní hygiena (hlavně u příjmu hroznů) a obsah volného SO₂ nad 40 mg.l⁻¹ (po jablečno-mléčné fermentaci nebo hned po příjmu hroznů se SO₂ vyváže), kdy dochází k zastavení vývoje kvasinek.

V případě zjištění této vady by mělo být víno neprodleně stočeno a sterilně přefiltrováno. Menšího vylepšení se dá dosáhnout čiřením bílkovinnými čiridly (kasein, bílek, PVPP, želatina), (Steidl, 2002; Kalábek, 2009).

3.3.2.9 Zbarvení dorůžova

Problémem bílých vín (zvláště odrůda Sauvignon) bývá narůžovělý nádech. Ten v počátku nemá vliv na sensoriku vína, ale může přejít v oxidaci. Tón vzniká, když víno vyráběné za silně reduktivních podmínek přijde do styku s kyslíkem (vliv do té doby bezbarvých fenolů – tríslovin).

Předcházet tomuto problému se dá zabráněním delšího kontaktu se slupkou (vyluhování labilních fenolů), ošetřením SO₂ nebo kyselinou askorbovou.

Pro odstranění barevných změn se používá PVPP, kasein nebo tosil (Kalábek, 2009).

3.3.3 Přípravky vhodné pro odstraňování vad

Pokud je vada vína jednoznačně identifikována jako vada způsobená tríslovinami, jsou k odstranění nežádoucích chuťových a pachových látek k dispozici různé čirící prostředky. Jedná se převážně o produkty obsahující dusík. Takovými čiridly jsou například vaječný bílek, vyzina, želatina, PVPP aj.

Na jednu stranu ovšem čirící prostředky mohou pomoci a víno tak zachránit, na stranu druhou každé čiření má za následek „vyprázdňení“ vína, jinými slovy víno se stává štíhlejší a méně výrazným. Proto se vinařům doporučuje plánovat a provádět preventivní opatření, aby se vyhnuli případným budoucím vadám souvisejícím s polyfenoly (Eder a kol., 2006).

3.3.3.1 Vaječný bílek

Je nejstarším čiridlem. Má kladně nabitý povrch, který přitahuje záporně nabitě taniny a částečně i záporné barevné látky, tím zjemňuje trpkost vína. Používá se především jako čirící prostředek u červených vín. Nejeftivnější jsou bílky z čerstvých vajec. Obsahují přibližně 3–4 g účinné látky na jeden bílek a jsou výhodnější než zmrazené vaječné bílky. Vaječné bílky odstraňují méně fenolů a méně ovocného charakteru, než želatina (Morris, Main, 1995).

3.3.3.2 Vyzina

Produkty z vyziny se vyrábějí z rybích měchýřů různých druhů jeseterů. Jedná se o nejjemnější čiřidlo. Vínu neodebírání žádné jeho cenné složky, ani ho nijak nepoškozuje. Vzhledem k cenovým relacím je vyzina vhodná jen pro jemná, aromatická vína, určená k dlouhodobému skladování a archivování (Eder a kol., 2006; [http 6](#)).

3.3.3.3 Želatina

Toto čiřidlo s kladným nábojem je získáváno z živočišných tkání. Je ideální pro čiření červených vín z důvodu jeho dobré schopnosti tvořit vazby s polyfenoly a snižovat obsah taninů. Pro bílá vína se nedoporučuje, protože by se tím ještě víc snížilo už tak malé množství taninů, které v bílých vínech je. Také se nepoužívá v případě sladkých a dezertních vín vzhledem k jejich vysoké viskozitě.

Vedle tříslovin a případně kalicích částic želatina odstraňuje i menší chuťové vady, jako například plísňový zápach. Víno po čiření želatinou má poněkud nižší barvu (WineMaker Staff, 2003; [http 6](#)).

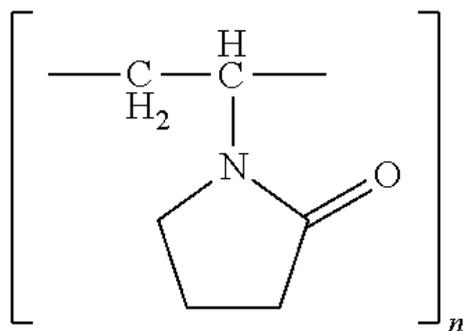
3.3.3.4 Kasein

Kasein je hlavní bílkovinou v mléce. Je kladně nabitý a téměř nerozpustný. Ve vodě rozpustný je kaseinát draselný, díky tomu je preferovanější oproti kaseinu. Kaseinát sodný se obvykle nepoužívá, neboť zvyšuje obsah sodíku ve víně.

Kasein koaguluje v kyselém prostředí jako je víno. Absorbuje a mechanicky odstraňuje suspendované částice. Poté se usadí na dně nádoby. Obecně se používá k eliminaci pachů a hnědých odstínů vlivem oxidace a vyjasnění barvy bílých vín (Morris, Main, 1995).

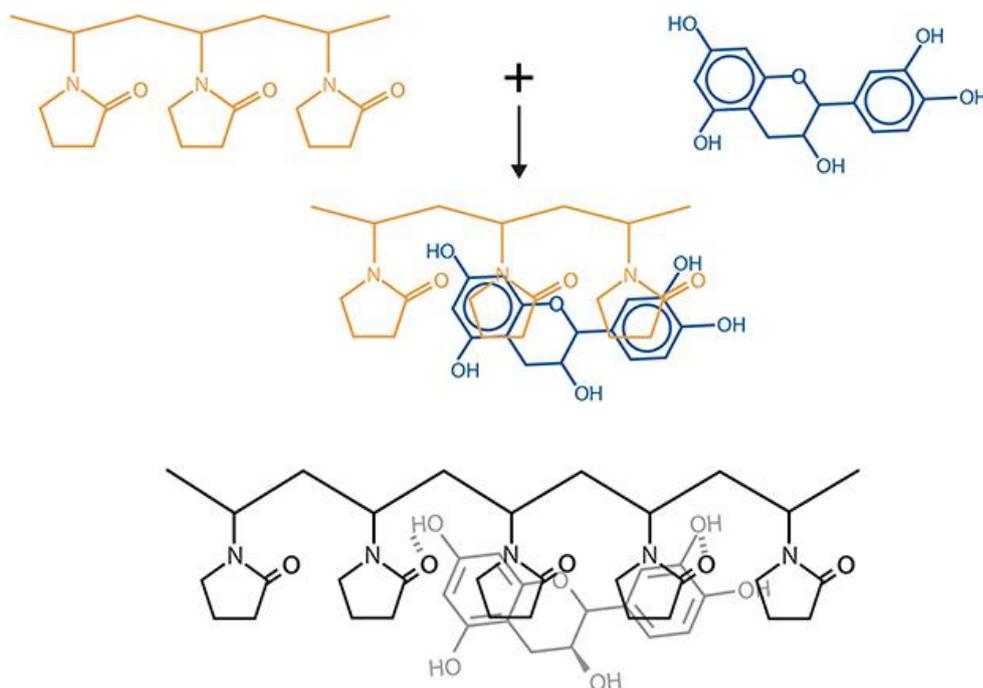
3.3.3.5 Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP)

PVPP je makromolekulární látka se síťovanou strukturou. Vyrábí se polymerací N-vinyl-2-pyrrolidonu za přítomnosti různých katalyzátorů. Patří mezi čiřící prostředky s kladným nábojem. Dodává se jako jemný, bílý prášek nerozpustný ve vodě i ve víně (Oeno, 2007; [http 6](#)).



Obrázek 3: Chemická struktura polyvinylpolypyrrolidonu
(Oeno, 2007)

PVPP působí tak, že tvoří silné vodíkové vazby s polyfenoly zodpovědnými za zákal. PVPP přednostně adsorbují tanoidy, dále pak dimerní a trimerní flavonoidy, které normálně polymerují v průběhu stárnutí. Vzniklé vazby PVPP-polyfenol jsou velmi pevné, což umožňuje jejich odstranění běžnou filtrací (Ashland, 2016).



Obrázek 4: Princip vzniku vazby PVPP-polyfenol
(Ashland, 2016)

Ve víně odstraňuje těkavé a hořké látky, acetonové tóny a hlavně polyfenolové vůně i chuti. Při ošetření bílých vín snižuje intenzitu žlutých barevných odstínů

vznikajících oxidací na minimum. Červená vína po čiření PVPP mají jasnější barvu. Lze též použít na vína, která byla mírně naoxidovaná, kde vedle tríslovin a barviv odstraňuje také některé melanoidy, leukoanthokyany a flobafeny. K nápravě silně oxidovaných vín již není vhodný pro vysokou spotřebu čířidla. Je také velmi cenný k čiření vín na výrobu Champagne (Gopal, Marti, 1999; [http 6](#)).

Vína jím čiřená jsou jemnější a i dlouho po jeho aplikaci si udržují svěžest. Použitím přípravku PVPP se snižuje spotřeba SO₂. Lze ho použít před kvašením do moštů, během kvašení i po vykvašení do mladých vín ([http 6](#)).

Aplikační dávka odpovídá zpravidla dle hladiny polyfenolů 15–80 g.100l⁻¹. Maximální možné množství podle zákonodárství o víně je omezeno na 80 g.100l⁻¹. Aplikace je zcela jednoduchá. Navážka se důkladně rozmíchá v menším množství vína, které se posléze přidá do celkového objemu. Sedimentace je poměrně rychlá (1–2 hodiny). Po 24 hodinách lze čiřené víno stáčet. Proto se s výhodou dá použít na rychlou sedimentaci mladých vín (WineMaker Staff, 2003; Eder a kol., 2006).

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Materiál

Pro experiment bylo použito bílé víno odrůdy Veltlínské zelené a Rulandské bílé.

Víno odrůdy **Veltlínské zelené** (VZ) pochází z vinařské oblasti Morava, podoblasti Mikulovská, vinařské obce Lednice a viniční tratě Terasy. Jedná se o ročník 2013. Parametry vína uvádí tabulka 2.

Víno odrůdy **Rulandské bílé** (RB) pochází z vinařské oblasti Morava, podoblasti Mikulovská, vinařské obce Valtice a viniční tratě Pod Reistnou. Víno je z roku 2014. V tabulce 2 jsou uvedeny jeho základní parametry.

Tabulka 2: Parametry vín použitých pro experiment

Odrůda	Alkohol [% obj.]	Zbytkový cukr [g.l ⁻¹]	Kyseliny [g.l ⁻¹]
Veltlínské zelené	10,8	4,3	7,5
Rulandské šedé	11,2	2,5	6,4

4.1.1 Charakteristika odrůdy Veltlínské zelené

Tato odrůda je pravděpodobně původem z Dolního Rakouska. Odtud pak pronikla na jižní Moravu. Jiné prameny však uvádí, že pochází z údolí Valtellino v severní Itálii. Jedná se o křížence, kde jedním z rodičů je Tramín (Kraus a kol., 2005).

Na Moravě se Veltlín pěstuje ve Velkopavlovické, Znojenské oblasti a na Mikulovsku. V Čechách se s ní můžeme setkat na Mostecku, v Žernosekách, Chrámčích, Roudnici a v Mělníku. Po roce 2010 je podíl výsadby Veltlínského zeleného na vinicích v České republice okolo 9–10 % (http 2).

Veltlínské zelené je středně pozdní odrůda. Vyhovují jí slunečné, teplé polohy, mírné a vzdušné svahy. Nároky na půdu jsou vysoké, vyžaduje dostatečně vlhká stanoviště. Rezistence proti mrazům je dobrá, proti houbovým chorobám střední. Při vysokém zatížení nemusí být dostatečně zajištěn přísun živin do hroznů, proto se množství hroznů redukuje (Kraus, 2012; http 2).

Růst je střední až bujný, letorosty mají bělavě plstnaté vrcholky. Olistění je středně husté, listy jsou pětilaločné s hlubokými výřezy, mladé lístky mají lehce

načervenalé okraje. Hrozen bývá velký, křídlatý, bobule malé, žlutozelené, slupka je voskovitě ojiněná, dužnina šťavnatá, kořenitá (Pavloušek, 2008).

Víno má zelenožlutou barvu, mladé voní svěžestí, pepřnatostí, někdy i lehkou vůní doutníku. Na hlinité půdě má vůni lipového květu, na spraši kořenitost a na prvohorních půdách hořkomandlové tóny. Ponecháme-li na letorostu pouze jeden hrozen, dosáhneme tak zvýšené extraktivnosti a plnosti vína. Používá se do směsí pro známková vína a také jako surovina pro výrobu šumivých vín (Kraus, 2012; [http 3](http://3)).

4.1.2 Charakteristika odrůdy Rulandské bílé

Původně Rulandské bílé pochází z Burgundska (proto se také dříve nazývalo Burgundské bílé), kde se na několika vinicích pěstuje doposud, avšak jeho dnešní základnou je francouzské Alsasko (Simonová, 2002; Malík, 2003). Odrůda vznikla jako pupenová mutace z odrůdy Rulandské modré (Kraus, Kopeček, 2002).

V České republice je tato odrůda vysazena na 5 % plochy vinic. Toto procentuální zastoupení je už po několik let stabilní. Své nadprůměrné zastoupení má ve vinařské oblasti bzenecké, pražské, mostecké, mikulovské, velkopavlovické, kyjovské a znojenské. Na půdním složení a vinařské oblasti závisí celkový projev vína (Malík, 2003; Kraus a kol., 2005).

Tato středně raná mošťová odrůda klade vysoké nároky na polohu i půdu. Vyžaduje slunné, záhřevné, hlinité půdy, které jsou dostatečně vlhké. Nejlepší kvality vín se dosahuje na vápenitých půdách. Vhodné je střední nebo vysoké vedení, s řezem na dlouhé tažně. Odrůda je mrazuvzdorná, méně odolná je však proti houbovým chorobám a plísní šedé. Poskytuje nadprůměrné výnosy (10–12 t.ha⁻¹) o nadprůměrné cukernatosti (Kraus a kol., 2005; Richter, Ludvíková, 2004; Malík, 2003; Kraus, Kopeček, 2002).

Rulandské bílé je odrůda středního růstu, s hustěji olistěnými letorosty a tří- až pětilaločnými listy, které mohou být mírně puchýřovité. Její hrozen je malý až střední, válcovitý, hustý. Bobule jsou malé, kulaté, někdy poněkud oválné s tenkou žlutozelenou slupkou a řídkou dužninou (Kraus, Kopeček, 2002; Richter, Ludvíková, 2004).

Při odpovídajících podmínkách jsou vína elegantní, harmonická, plná a bohatá na extraktivní látky. Přitom nikdy nepůsobí těžkopádně. Jejich kyselina je zralá, což zvyšuje atraktivitu vína a při řízeném kvašení se v nich zachovají i jemné květinové vůně. Ležením se taková vína ještě více zaplňují a získávají na viskozitě, jejich barevné tóny se zvýrazní a původní svěží aroma se mění na vůni červeného ovoce, hrušek nebo

i lískových oříšků. Rulandské bílé je vhodné pro tvorbu výběrů z hroznů a bobulových či botrytických výběrů. Současně je to výborná surovina pro šumivá vína nebo pro zrání na sudech barrique (Kraus, Kopeček, 2002).

4.2 Základní design experimentu

Cílem experimentu bylo zregenerovat jednou použitý přípravek PVPP a zjistit efektivnost jeho opětovného použití. Nejprve se čistý PVPP aplikoval do vína odrůdy Veltlínské zelené. Potom se víno slilo a použitý přípravek PVPP se regeneroval čtyřmi způsoby:

1. pomocí NaOH,
2. pomocí NaOH a peroxidu,
3. pomocí peroxidu,
4. pomocí ozonu.

Po zregenerování se přípravek PVPP aplikoval do vína odrůdy Rulandské bílé. Celkem se porovnávalo sedm variant (z toho jeden nultý vzorek) vše ve třech opakováních. Zmíněných sedm variant bylo:

1. nultý vzorek (samotné víno bez aplikace přípravku PVPP),
2. víno + přípravek PVPP zregenerovaný pomocí NaOH,
3. víno + přípravek PVPP zregenerovaný pomocí NaOH a peroxidu,
4. víno + přípravek PVPP zregenerovaný pomocí peroxidu,
5. víno + přípravek PVPP zregenerovaný pomocí ozonu,
6. víno + použitý přípravek PVPP, který neprošel procesem regenerace,
7. víno + nový, nepoužitý přípravek PVPP.

U těchto sedmi variant po stočení vína a oddělení tak od přípravku PVPP pak probíhaly analýzy: stanovení celkového obsahu polyfenolů, stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH a FRAP a stanovení barevnosti.

4.2.1 Podrobný popis experimentu

4.2.1.1 Získání zregenerovaného (použitého) přípravku PVPP

Do 200 litrů bílého vína odrůdy Veltlínské zelené bylo aplikováno 80 g PVPP. Po 48 hodinách – po usazení PVPP na dně nádoby – byl odebrán retentát (cca 5 litrů vína s usazeným přípravkem). Z tohoto retentátu bylo staženo víno, zbylá část byla přefiltrována. Zachycený přípravek PVPP na filtračním papíru byl přesunut na sušicí

podložku. Sušení probíhalo při 40 °C po dobu 48 hodin. Poté byl získaný usušený materiál (viz Příloha č. I) zhomogenizován v třecí misce znovu do podoby prášku. Výsledkem bylo získání 74,09 g zreagovaného PVPP.

4.2.1.2 Varianty regenerace PVPP

1) Pomocí NaOH

Do kuželové baňky se zábrusem o objemu 250 ml (dále jen kuželová baňka) bylo nadávkováno 10 g použitého PVPP a 100 ml 0,5M NaOH (viz Příloha č. II, III). Tato baňka byla na 30 minut vložena do třepačky. Následně byl obsah baňky přelit do plastové zkumavky o objemu 50 ml (dále jen zkumavka) a zkumavka pak byla vložena do odstředivky (3 000 ot./5 min). Po odstředění byla tekutá část odlita do plastové lahvičky s označením *I* (viz Příloha č. IV). Tento vzorek byl použit pro analýzu celkového množství polyfenolů uvolněných z použitého PVPP. Pevná část byla přesunuta opět do kuželové baňky. Ta byla znovu doplněna 100 ml 0,5M NaOH a celý proces byl opakován. Po 2. odstředění byla tekutá část odlita do plastové lahvičky s označením *I/I* a zbylý obsah zkumavky byl přefiltrován přes filtrační papír. Následovalo pročištění 2 dcl destilované H₂O a 1 dcl 0,5% kyseliny vinné. Získaná pevná část z filtračního papíru byla vložena na Petriho misku (viz Příloha č. V), kde se nechala sušit při 40 °C/48 hodin. Po vysušení byla pevná část zhomogenizována v třecí misce na prášek (viz Příloha č. VIII).

2) Pomocí NaOH a peroxidu

Nejprve byla provedena regenerace s NaOH: Do kuželové baňky bylo nadávkováno 10 g použitého PVPP a 100 ml 0,5M NaOH. Tato baňka byla na 30 minut vložena do třepačky. Následně byl obsah baňky přelit do plastové zkumavky a zkumavka pak byla vložena do odstředivky (3 000 ot./5 min). Po odstředění byla tekutá část odlita do plastové lahvičky s označením *2* (viz Příloha č. IV). Tento vzorek byl použit pro analýzu celkového množství polyfenolů uvolněných z použitého PVPP. Pevná část byla přesunuta opět do kuželové baňky. Ta byla znovu doplněna 100 ml 0,5M NaOH a celý proces byl opakován. Po 2. odstředění byla tekutá část odlita do plastové lahvičky s označením *2/2*. Zbylý obsah zkumavky byl přesunut opět do kuželové baňky.

Následovala regenerace s peroxidem: Kuželová baňka s použitým PVPP byla doplněna 100 ml 1% peroxidu. Baňka byla vložena na 30 minut do třepačky. Poté byl obsah baňky přelit do plastové zkumavky a zkumavka byla vložena do odstředivky (3 000 ot./5 min.). Tekutá část byla slita do plastové lahvičky s označením *NaOH + peroxid* (viz Příloha č. IV). Tento vzorek byl použit pro analýzu celkového množství polyfenolů uvolněných z použitého PVPP. Zbylý obsah zkumavky byl přefiltrován přes filtrační papír. Následovalo pročištění 2 dcl destilované H₂O a 1 dcl 0,5% kyseliny vinné. Promyté PVPP bylo převedeno na Petriho misku (viz Příloha č. V), kde při 40 °C/48 hodin schlo. Po vysušení byla pevná část zhomogenizována v třecí misce na prášek (viz Příloha č. VIII).

3) Pomocí peroxidu

Do kuželové baňky bylo nadávkováno 10 g použitého PVPP a 100 ml 1% peroxidu. Tato baňka byla na 30 minut vložena do třepačky. Následně byl obsah baňky přelit do plastové zkumavky a zkumavka pak byla vložena do odstředivky (3 000 ot./5 min). Po odstředění byla tekutá část odlita do plastové lahvičky s označením *Peroxid* (viz Příloha č. IV). Tento vzorek byl použit pro analýzu celkového množství polyfenolů uvolněných z použitého PVPP. Zbylý obsah zkumavky byl přefiltrován přes filtrační papír. Následovalo pročištění 2 dcl destilované H₂O a 1 dcl 0,5% kyseliny vinné. Získaná pevná část z filtračního papíru byla vložena na Petriho misku (viz Příloha č. V), kde se nechala sušit při 40 °C/48 hodin. Po vysušení byla pevná část zhomogenizována v třecí misce na prášek (viz Příloha č. VIII).

4) Pomocí ozonu

Do promývačky s fritovým nástavcem (viz Příloha č. VI) bylo nadávkováno 10 g použitého PVPP a 100 ml destilované H₂O. Na 10 minut byla promývačka vložena do ultrazvuku pro dokonalejší „rozbití“ částíček PVPP. Poté byla promývačka napojena k přístroji *Ozone generator* po dobu 2 hodin (viz Příloha č. VII). Následoval proces v odstředivce (3 000 ot./5 min.). Tekutá část byla slita do plastové lahvičky s označením *Ozon* (viz Příloha č. IV). Tento vzorek byl použit pro analýzu celkového množství polyfenolů uvolněných z použitého PVPP. Zbylý obsah zkumavky byl přefiltrován přes filtrační papír pomocí 2 dcl destilované H₂O a 1 dcl 0,5% kyseliny vinné. Získaná pevná část z filtračního

papíru byla vložena na Petriho misku (viz Příloha č. V), kde se nechala sušit při 40 °C/48 hodin. Po vysušení byla pevná část zhomogenizována v třecí misce na prášek (viz Příloha č. VIII).

4.2.1.3 Aplikace zregenerovaného PVPP do vína

Prvním vzorkem bylo nové víno odrůdy Rulandské bílé. Tento vzorek neobsahoval přípravek PVPP a sloužil pro srovnání. V grafu má tedy označení *Srovnávací*.

Do nového vína bylo jednotlivě aplikováno:

2. zregenerované PVPP pomocí NaOH (označení v grafu *NaOH*),
3. zregenerované PVPP pomocí NaOH + peroxid (označení v grafu *NaOH + peroxid*),
4. zregenerované PVPP pomocí peroxidu (označení v grafu *Peroxid*),
5. zregenerované PVPP pomocí ozonu (označení v grafu *Ozon*).

Pro srovnání účinků přípravku PVPP byl do nového vína aplikován i:

6. jednou použitý přípravek PVPP, který neprošel procesem regenerace (označení v grafu *Použitý*),
7. čistý, nepoužitý přípravek PVPP (označení v grafu *Čistý*).

Pro každý vzorek platilo: Do skleněné vialky o objemu 20 ml (dále jen vialka) bylo naváženo 0,5 g daného PVPP a napipetováno 4,5 ml destilované H₂O. Do nultého vzorku bylo napipetováno 4,5 ml destilované H₂O. Každý vzorek byl ve třech opakováních (tedy 21 vialek). Vialka byla umístěna na 10 minut do ultrazvuku. Poté následovala aplikace směsi do 0,5 l bílého vína odrůdy Rulandské bílé. Doba působení byla 24 hodin. Po uplynutí této doby byl z čiré části vína odebrán vzorek na analýzu do 50ml skleněné vialky a uskladněn v chladničce při 5 °C do doby analýzy. Po 48 hodinách byly provedeny analýzy vína: celkový obsah polyfenolů, antioxidační kapacita (DPPH, FRAP) a barevnost.

4.3 Metody

U všech vzorků byl měřen celkový obsah polyfenolů, antioxidační kapacita dvěma metodami (DPPH, FRAP) a barevnost.

4.3.1 Stanovení celkových polyfenolů metodou s činidlem Folin-Ciocalteu

Pro analýzu celkových polyfenolů bylo do 50ml odměrné baňky napipetováno 0,5 ml vzorku, 20 ml destilované vody a 1 ml činidla Folin-Ciocalteu. Vše bylo

promícháno. Po 3 minutách bylo přidáno 5 ml 20% roztoku Na_2CO_3 . Po dalším promíchání byla odměrná baňka doplněna destilovanou vodou po rysku. Po 30 minutách byla měřena absorbance na spektrofotometru (Specord 50) v 10mm kyvetě při vlnové délce 700 nm proti slepému vzorku (nulový obsah kyseliny gallové). Obsah veškerých polyfenolů byl vypočítán z kalibrační křivky vytvořené ze standardního roztoku kyseliny gallové. Výsledek byl vyjádřen v mg kyseliny gallové na litr nápoje (Balík, 2011).

4.3.2 Stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH

Pro analýzu byl potřeba standardní roztok Troloxu a zásobní roztok DPPH. Roztok Troloxu o požadované koncentraci 0,5 mM byl získán odvážením 0,0125 g kyseliny 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylové a doplněním deionizovanou vodou na celkový objem. Roztok DPPH byl získán navážkou 0,07866 g DPPH do 50ml odměrné baňky a doplněním methanolu po rysku. Z této směsi bylo odebráno 2,5 ml do 100ml odměrné baňky. Ta pak byla doplněna methanolem na celkový objem. Tím byla upravena koncentrace roztoku DPPH na $100 \mu\text{M.l}^{-1}$.

Do 10mm kyvety bylo napipetováno 2 000 μl roztoku DPPH a 100 μl naředěného vzorku. Po dobu 10 sekund byl obsah kyvety promíchán na elektromagnetické míchačce. Po 30 minutách od začátku reakce byla měřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 515 nm (blank = methanol). Původní fialové zbarvení roztoku bylo odbarveno. Došlo k poklesu absorbance. Výsledek byl vyjádřen jako obsah antioxidantů v mM ekvivalentu Troloxu na 1 litr.

4.3.3 Stanovení antioxidační kapacity metodou FRAP

K experimentu byl připraven standardní roztok Troloxu a reakční činidlo. Roztok Troloxu o požadované koncentraci 0,5 mM byl získán odvážením 0,0125 g kyseliny 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylové a doplněním deionizovanou vodou na celkový objem. Pro reakční činidlo byla namíchána směs z roztoků TPTZ (0,078 g TPTZ rozpustit ve 25 ml odměrné baňce s vodou okyselenou 0,08825 ml 35% HCl), $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0,081 g FeCl_3 rozpustit ve 25 ml vody) a octanového pufru o pH = 3,6 (4 ml koncentrované kyseliny octové s 0,775 g octanu sodného ve 250ml odměrné baňce) v poměru 1:1:10.

Do 10mm kyvety byly pipetovány 2 ml reakčního činidla a 25 μl naředěného vzorku. Získaná směs byla promíchána na elektromagnetické míchačce po dobu 10

sekund. Po uplynutí doby 10 minut byla měřena koncentrace antioxidantů v mM ekvivalentu Troloxu na 1 litr. Stanovení bylo uskutečněno na spektrofotometru při vlnové délce 593 nm proti slepému vzorku – reakční činidlo a destilovaná voda.

4.3.4 Stanovení barevnosti

Pro stanovení barevných změn ve vzorcích bílého vína byl použit kolorimetr Lovibond RT 850i. Výsledná barva byla definována jako barevný prostor L* a* b* (CIELAB). Kalibrace byla provedena na destilovanou vodu. S vytvořeným standardem byly porovnávány ostatní vzorky. Vzorky byly vždy pipetovány do 5ml kyvety.

Pro vyhodnocení byl použit program OnColor™ Premium (Lovibond).

4.4 Použité přístroje a pomůcky

- Analytické váhy KERN ABJ 320-4 (KERN)
- Laboratorní třepačka IKA MS 3 basic (IKA)
- Odstředivka Hermle Z 200A (Hermle Labortechnik)
- Mikropipety Research Plus Fix (Eppendorf)
- Mikrozkušavky 1,5 ml Safe-lock (Eppendorf)
- 10mm kyvety Macro PS (VERKON)
- 20ml, 50ml skleněné vialky (Merci)
- 50ml centrifugační zkumavky (Brand)
- Elektromagnetická míchačka IKA MS 3 digital (IKA)
- Spektrofotometr Specord 50 beta (Analytik Jena)
- Kolorimetr Lovibond RT 850i (Lovibond)
- Laboratorní sklo (KAVALIERGLASS)
- Filtrační papír 2R/80 archy kvalitativní (Merci)
- Stopky TFA 38-2022-01 (TFA)

4.5 Použité chemikálie

- Čiřící přípravek PVPP (Ashland)
- 75% methanol (Riedel – de Haën)
- Deionizovaná voda ze zařízení Aqua osmotic

- Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina), (Merck)
- FeCl₃ (Sigma Aldrich)
- TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazin), (Fagron)
- 35% HCl (Sigma Aldrich)
- Kyselina octová (Verkon)
- Octan sodný (Penta)
- DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylový radikál), (Fagron)
- Methanol (absolut purity, Sigma Aldrich)
- Kyselina gallová (gallic acid monohydrát 98%), (Roth)
- Činidlo Folin-Ciocalteau (Verkon)
- 20% Na₂CO₃ (Chemos CZ)
- 0,5% kyselina vinná (Fichema)
- 0,5M NaOH (Fichema)

4.6 Použité statistické metody

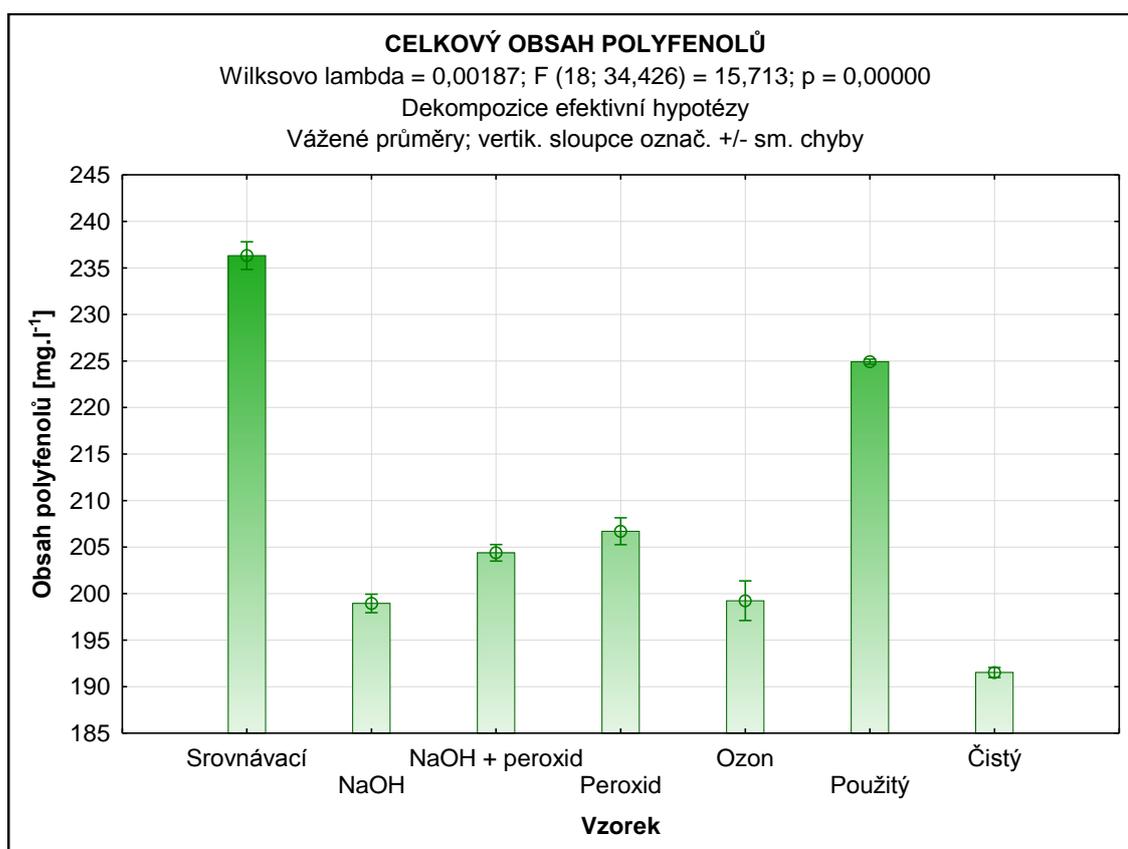
Výsledky všech měření byly statisticky zpracovány jednofaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA). Pro validní použití metody ANOVA byla vždy ověřena homogenita rozptylu pomocí Cochran, Hartley testu. Ten vždy potvrdil, že rozptyly všech vzorků byly homogenní. Pro mnohonásobné porovnávání byl použit post-hoc test Minimální průkazné difference (LSD).

Uvedená statistická analýza byla provedena pomocí programu STATISTIKA 12.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Celkový obsah polyfenolů

Obsah celkových polyfenolů byl měřen ve víně odrůdy RB u sedmi vzorků. V grafu 1 je množství polyfenolů ve vzorcích vyjádřené v miligramech na jeden litr. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. IX), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. X) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XI).



Graf 1: Srovnání celkového množství polyfenolů v původním neošetřeném víně s celkovým množstvím polyfenolů vín ošetřených čistým, zregenerovaným a nezregenerovaným přípravkem PVPP

Prvním vzorkem bylo čisté víno bez předchozí aplikace přípravku PVPP, v grafu nese označení *Srovnávací*. Tento vzorek má nejvyšší množství celkových polyfenolů, a to 236,32 mg.l⁻¹. Naopak nejnižší naměřenou hodnotu celkových polyfenolů měl vzorek s označením *Čistý* (191,52 mg.l⁻¹). Jedná se o vzorek vína, kde byl aplikován nový, čistý, nezregenerovaný přípravek PVPP. Přípravek stáhl 19 % celkových

polyfenolů oproti vzorku *Srovnávací*. Z grafu je jasně pozorovatelný statisticky významný rozdíl mezi těmito vzorky.

Nejméně celkových polyfenolů, konkrétně $11,39 \text{ mg.l}^{-1}$ (4,8 %), absorboval jednou použitý a nezregenerovaný přípravek PVPP. V grafu nese označení *Použitý*. Je zajímavé, že i jednou použitý a nezregenerovaný PVPP je schopný na sebe ještě něco navázat. Mezi tímto vzorkem a všemi ostatními je statisticky významný rozdíl.

Statisticky nevýznamný rozdíl pozorujeme mezi vzorky *NaOH + peroxid* a *Peroxid*. Ve vzorku vína, který byl ošetřený přípravkem PVPP zregenerovaným pomocí NaOH a peroxidu, bylo naměřeno $204,39 \text{ mg.l}^{-1}$ celkových polyfenolů. Oproti původnímu vzorku snížil takto zregenerovaný přípravek PVPP 13,5 % celkových polyfenolů. Ve vzorku vína ošetřeném přípravkem PVPP zregenerovaným pomocí jen peroxidu bylo naměřeno $206,71 \text{ mg.l}^{-1}$ celkových polyfenolů. V tomto případě přípravek PVPP navázal 12,5 % celkových polyfenolů.

Další statisticky nevýznamný rozdíl byl zjištěn mezi vzorky *NaOH* a *Ozon*. Víno ošetřené přípravkem PVPP zregenerovaným pomocí NaOH obsahovalo $198,95 \text{ mg.l}^{-1}$ celkových polyfenolů, což znamená, že přípravek absorboval 15,8 % těchto polyfenolů. U vzorku s označením *Ozon* bylo naměřeno $199,24 \text{ mg.l}^{-1}$ celkových polyfenolů, bylo tedy navázáno 15,7 % celkových polyfenolů.

Výsledky dopadly dle očekávání. Nejvíce polyfenolů bylo naměřeno v původním neošetřeném víně. Vzorek použitý, nezregenerovaný PVPP absorboval nejméně polyfenolů a nový, čistý PVPP na sebe navázal nejvíce polyfenolů. Ze zregenerovaných vzorků nejlépe působil přípravek PVPP pročištěný pomocí NaOH a ozonem.

Problematikou vlivu čiřících prostředků na obsah celkových polyfenolů ve víně se zabýval Balík a kol. (2007). Ten prováděl pokus na červeném víně odrůdy Svatovavřínecké s dávkou 40 g čistého PVPP na 100 litrů vína. Z původních 1171 mg.l^{-1} polyfenolů naměřených v nečiřeném víně zbylo po aplikaci čistého PVPP 989 mg.l^{-1} polyfenolů. Tento pokles ukazuje, že čisté PVPP na sebe navázalo 16 % z celkových polyfenolů. Námi naměřená adsorpční schopnost čistého PVPP odpovídá 19 % při dávce 100 g na 100 litrů bílého vína.

Dalšími autory, kteří zkoumali množství polyfenolů ve víně po aplikaci čistého PVPP, byli Gopal a Marti (1999). Experiment prováděli v bílých vínech odrůdy Chardonnay a Xarel-lo. Čisté PVPP aplikovali v dávkách 5, 10 a 20 g na 100 litrů vína. Jejich výsledky ukázaly, že čisté PVPP zredukovalo 32 % celkových polyfenolů ve víně

odrůdy Chardonnay a 26 % ve víně odrůdy Xarel-lo, obojí v dávce 20 g.100l⁻¹. Ve své práci uvádí, že zajímavým rysem bylo i snížení celkových polyfenolů při dávce 5 g.100l⁻¹, což potvrzuje účinnost stabilizátoru i při nízkých dávkách.

Studiem vlivu čířících prostředků na obsah polyfenolů se zabýval i Sims a kol. (1995) na univerzitě na Floridě. Pro experiment použil bílý kultivar Welder Muscadine. Sims aplikoval čisté PVPP do moštu před a po fermentaci ve dvou dávkách – 50 g.100l⁻¹ a 100 g.100l⁻¹. Výsledky pro aplikaci čistého PVPP před fermentací ukázaly snížení celkových polyfenolů o 22 % při dávce 50 g.100l⁻¹ a při dávce 100 g.100l⁻¹ došlo k úbytku polyfenolů o 32 %. Výsledky pro aplikaci čistého PVPP po fermentaci ukázaly pokles polyfenolů o 22 % při dávce 50 g.100l⁻¹ a při dávce 100 g.100l⁻¹ pokles o 29 % celkových polyfenolů. Zde se opět potvrzuje závislost účinnosti PVPP na dávce jako u předchozích autorů. Navíc u Simse vidíme větší účinnost přípravku PVPP při aplikaci PVPP před fermentací (až o 3 %).

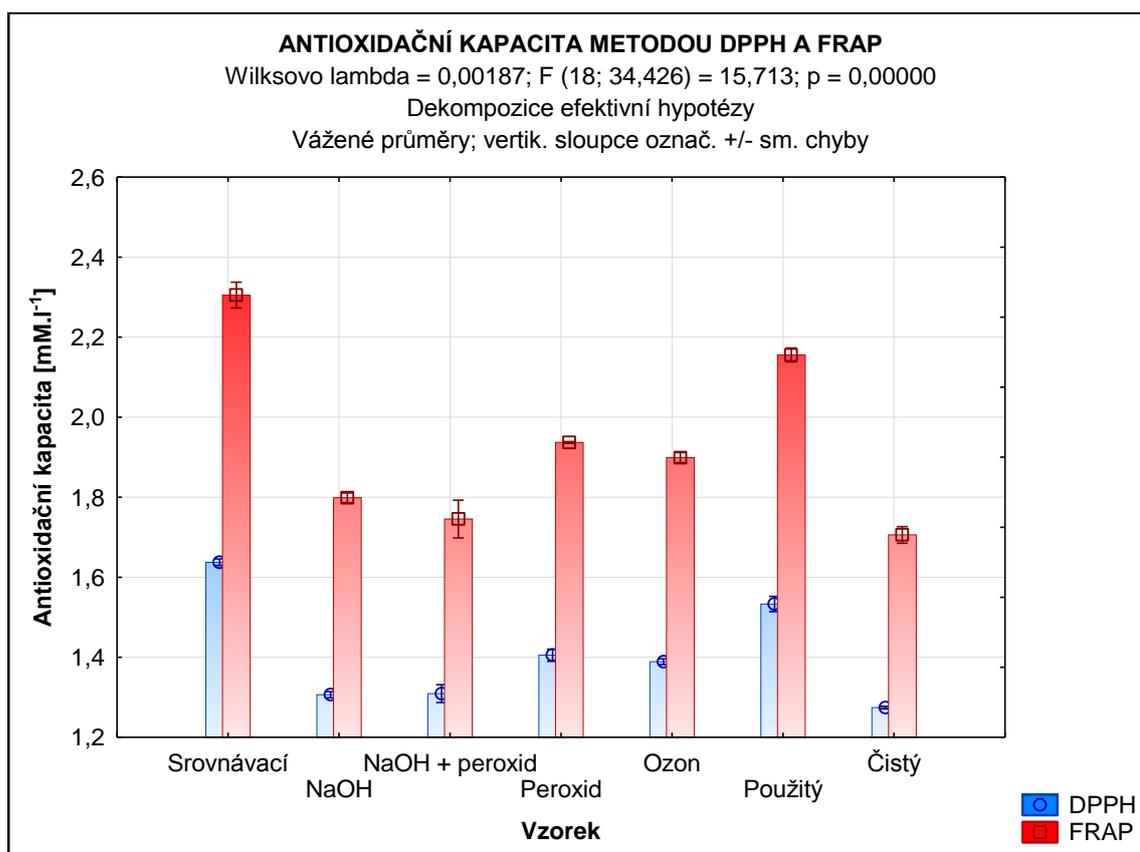
Doposud uvedení autoři používali pro svoje experimenty pouze čisté PVPP. Problematika týkající se přímo regenerace tohoto přípravku zatím není dostatečně prozkoumána. Jediná práce, která nám může sloužit k porovnání je patent z roku 2013, který se zabývá regenerací přípravku PVPP po číření a stabilizaci piva.

Autor patentu zkoušel dva přípravky PVPP, Polyclar[®] 10 a Divergan[®] RS. PVPP částice byly kombinovány s pivem v hmotnostním poměru od 1:30 000 do 1:1000 (což přibližně představuje množství od 1 g PVPP na 30 kg piva do 1 g PVPP na kg piva). Jednou použitý přípravek Polyclar[®] 10 byl regenerován v prvním případě 2% NaOH, ve druhém případě kombinací 2% NaOH a 0,2% chlornanem sodným a ve třetím případě regenerován vůbec nebyl. Výsledky ukázaly, že čistý, nepoužitý přípravek měl adsorpční kapacitu 63,8 %, výsledky zregenerovaných přípravků (jak jen NaOH, tak NaOH a chlornanem) disponovaly 58,9% adsorpční kapacitou a nezregenerovaný přípravek měl adsorpční kapacitu 5–8 %. U jednou použitého přípravku Divergan[®] RS byla použita regenerace s 2% NaOH a 0,5% persíranem sodným. Adsorpční kapacita čistého, nepoužitého přípravku byla 44,4 %, zregenerovaného přípravku pomocí NaOH a persíranu byla 42,4 % a nezregenerovaného přípravku činila 14 %.

Hodnoty naměřené v patentu jsou sice velmi uspokojivé, ale regenerace se považuje za ekonomicky výhodou jen v případě, že pivovar stabilizuje velký objem výstupu nebo že stabilizované pivo má extrémně vysoký obsah polyfenolů, které by vyžadovalo vysokou míru přidání PVPP pro efektivní koloidní stabilizaci.

5.2 Antioxidační kapacita metodou DPPH a FRAP

Antioxidační kapacita byla měřena dvěma metodami – DPPH a FRAP u vína odrůdy RB u sedmi vzorků. V grafu 2 je antioxidační kapacita vyjádřena v milimolech na jeden litr. Tomuto grafu odpovídají tabulky uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XII, XV), tabulky s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XIII, XVI) a tabulky Popisných statistik (viz Příloha č. XIV, XVII).



Graf 2: Srovnání antioxidační kapacity původního neošetřeného vína s antioxidační kapacitou vín ošetřených čistým, zregenerovaným a nezregenerovaným přípravkem PVPP

Graf porovnává naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH a FRAP. I když jsou hodnoty měřené metodou FRAP vždy vyšší než hodnoty měřené metodou DPPH, průběh grafu je stejný. Tento rozdíl je způsobený tím, že každá metoda pracuje na jiném principu. Mezi metodami je prokazatelně významný statistický rozdíl. Korelační vztah mezi metodami zobrazuje Příloha č. XVIII, XIX.

Metoda DPPH: Nejvyšší antioxidační kapacita byla naměřena ve vzorku *Srovnávací*. Hodnota činí 1,6376 mM.l⁻¹. Tento vzorek je statisticky významně odlišný

od ostatních vzorků. Druhou nejvyšší antioxidační kapacitu dosáhl vzorek ošetřený použitým, nezregenerovaným přípravkem PVPP. Hodnota vzorku *Použitý* je 1,5332 mM.l⁻¹ a oproti původnímu došlo k poklesu o 6,4 %. I tento vzorek je statisticky významně odlišný od ostatních vzorků. Nejnižší naměřenou antioxidační kapacitu a zároveň největší zaznamenaný pokles oproti vzorku *Srovnávací* (o 22,2 %) měl vzorek *Čistý*. Jeho hodnota je 1,2743 mM.l⁻¹. Tento vzorek je statisticky průkazně stejný jako vzorky *NaOH* a *NaOH + peroxid*. Jejich hodnoty nabývají čísel 1,3066 mM.l⁻¹ (pokles o 20,2 %) a 1,3093 mM.l⁻¹ (pokles o 20 %). Dalšími a posledními vzorky, mezi kterými není statisticky významný rozdíl, jsou *Peroxid* a *Ozon*. U vzorku *Peroxid* bylo naměřeno 1,4053 mM.l⁻¹ a u vzorku *Ozon* bylo naměřeno 1,3889 mM.l⁻¹. Jejich úbytek oproti vzorku *Srovnávací* je o 14,2 % a 15,2 %.

Metoda FRAP: Jak již bylo zmíněno výše, průběh naměřených hodnot antioxidační kapacity úzce koreluje s hodnotami naměřenými metodou DPPH. Procentuální poklesy oproti původnímu vzorku s názvem *Srovnávací* budou tedy přibližně stejné. První vzorek s hodnotou 2,3052 mM.l⁻¹ je opět statisticky významně odlišný od ostatních stejně jako vzorek s označením *Použitý* (2,1557 mM.l⁻¹). Statisticky významný rozdíl není mezi vzorky *Peroxid* (1,9370 mM.l⁻¹) a *Ozon* (1,8990 mM.l⁻¹). Nejnižší antioxidační kapacitu měl vzorek *Čistý* (1,7058 mM.l⁻¹), který je statisticky průkazně stejný jako vzorek *NaOH + peroxid* (1,7457 mM.l⁻¹). Ani mezi vzorky *NaOH* (1,7987 mM.l⁻¹) a *NaOH + peroxid* nebyl prokázán statistický rozdíl.

Podobně jako u měření polyfenolů výsledky antioxidační kapacity zachycené v grafu naplnily naše předpoklady. Nejvyšší antioxidační kapacita byla naměřena v původním neošetřeném víně, druhou nejvyšší antioxidační kapacitu měl vzorek *Použitý* a nejnižší antioxidační kapacitu měl vzorek ošetřený čistým PVPP. Nejlepší účinnost ze zregenerovaných vzorků měly vzorky *NaOH* a *NaOH + peroxid*, mezi kterými nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

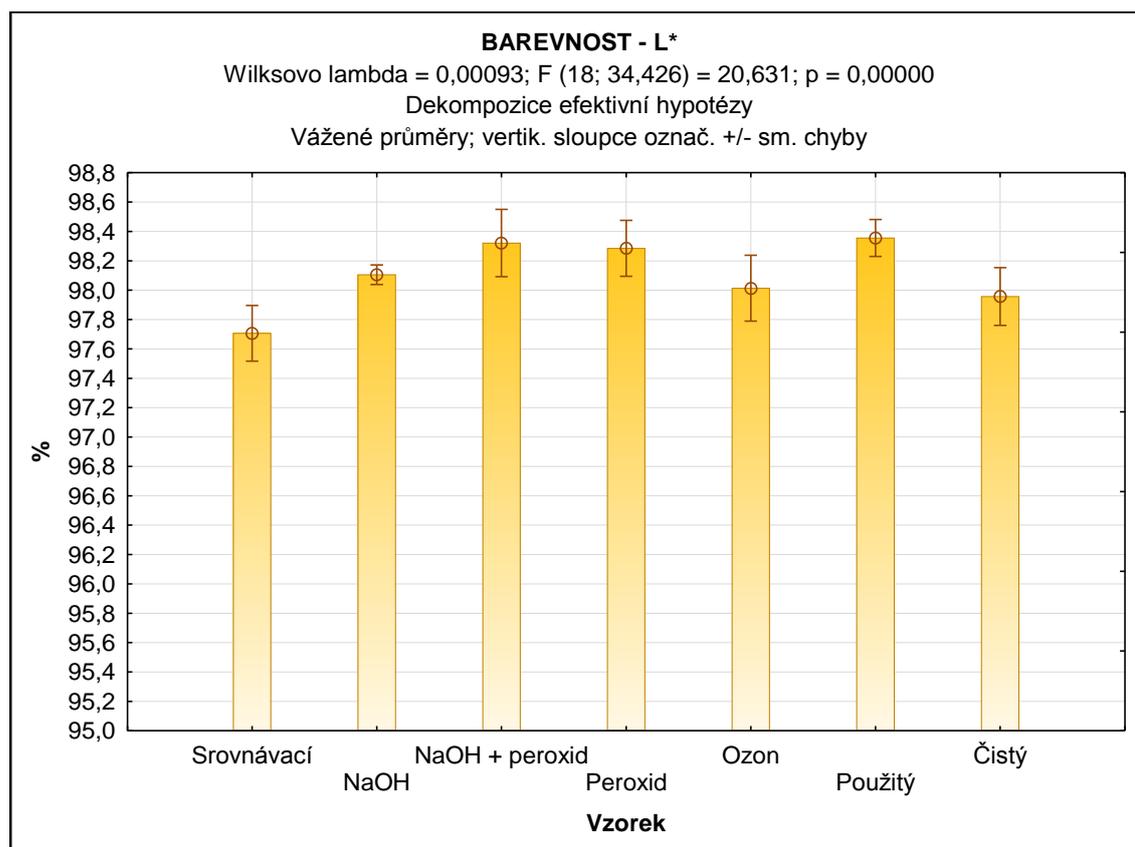
V současné době neexistuje mnoho studií, které by se přímo zabývaly čířícími prostředky a jejich vlivem na antioxidační kapacitu v bílých vínech. Například Yildirim (2011) se touto problematikou zabývala, ale v červeném víně, konkrétně vínem odrůdy Cabernet Sauvignon. Aplikovala čisté PVPP ve třech různých koncentracích (0,3 g.l⁻¹; 0,7 g.l⁻¹; 1,17 g.l⁻¹) do vína. Vyhodnocení převedla na procentuální vyjádření odbarvení roztoku DPPH bez kalibrace na standard antioxidantu. Po převedení na procentuální pokles, kde nultý vzorek označíme jako 100 %, jsou výsledky následující: při dávce

0,3 g PVPP na litr má víno antioxidační kapacitu rovnu 94,3 %, při dávce 0,7 g PVPP na litr má 88,3 % a při dávce 1,17 g PVPP na litr má 80 %. Ze studie vyplývá, že se zvyšující se koncentrací PVPP úměrně klesá antioxidační kapacita. V našem případě byla dávka čistého PVPP 1 g.l⁻¹ a při tomto množství činila antioxidační kapacita 77,8 % (DPPH) a 74 % (FRAP).

5.3 Barevnost

5.3.1 Luminance (L*)

Ve víně odrůdy RB byla u sedmi vzorků měřena luminance, tedy jas bodu. V grafu 3 je L* vyjádřené v %. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XX), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XXI) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XXII).



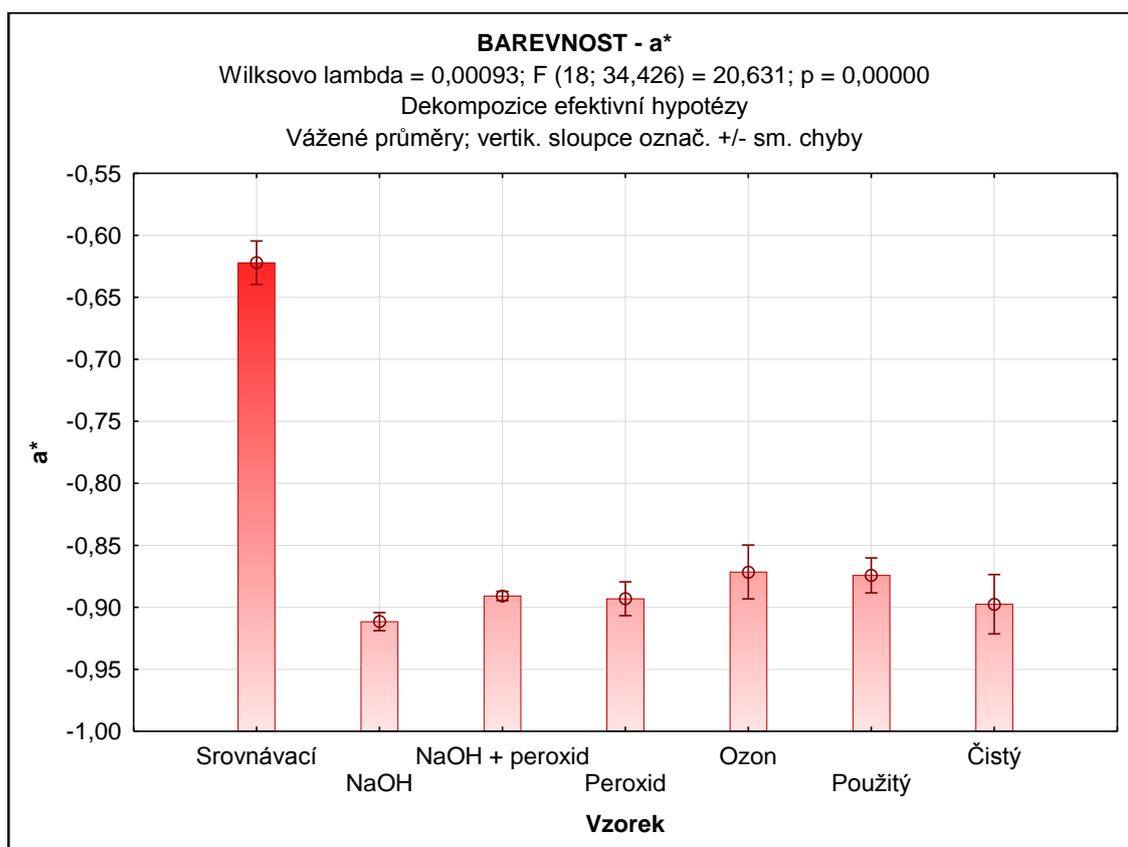
Graf 3: Srovnání hodnoty L* původního neošetřeného vína s hodnotami L* ošetřených vín čistým, zregenerovaným a nezregenerovaným přípravkem PVPP

U kontrolního vzorku s označením *Srovnávací* byla naměřena hodnota 97,71 %. Druhý s nejnižší naměřenou hodnotou je vzorek s označením *Čistý* (97,96 %). Hodnota

98,01 % byla naměřena u vzorku *Ozon*. Mezi těmito třemi vzorky nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. Tyto výsledky jsou zajímavé. Očekávalo se, že mezi vzorky *Srovnávací* a *Čistý* bude největší rozdíl, neboť jestli má nastat nějaká změna v jasu, pak hlavně mezi těmito dvěma vzorky. Naopak statisticky významný rozdíl byl zaznamenán mezi vzorky *Srovnávací* a *Použitý* (98,36 %), přitom *Použitý* by měl mít nejmenší vliv na jas vína. Další vzorky, mezi kterými není statisticky významný rozdíl, jsou *NaOH* (98,11 %); *NaOH + peroxid* (98,32 %); *Peroxid* (98,28 %) a *Ozon*. Celkově jsou mezi naměřenými hodnotami relativně malé rozdíly.

5.3.2 Barva bodu ve směru červeno-zeleném (a^*)

Ve víně odrůdy RB byla u sedmi vzorků měřena barva bodu v červeno-zeleném prostoru. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XXIII), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XXIV) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XXV).

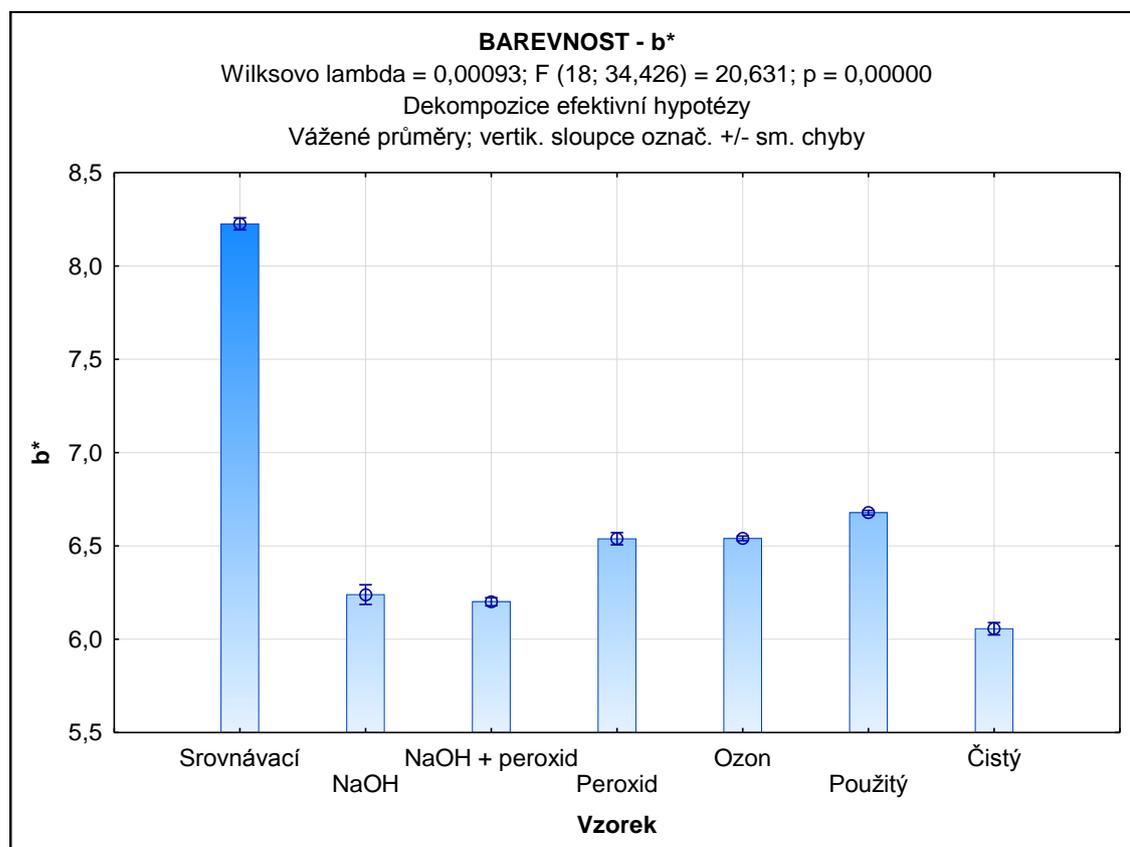


Graf 4: Srovnání hodnoty a^* původního neošetřeného vína s hodnotami a^* ošetřených vín čistým, zregenerovaným a nezregenerovaným přípravkem PVPP

Z grafu 4 je patrný významný statistický rozdíl mezi vzorkem *Srovnávací* a všemi ostatními vzorky. Vzorek *Srovnávací* nabývá hodnoty -6,22. Vzorek *Ozon* měl druhou nejvyšší hodnotu, která činila -0,87. Nejnižší naměřenou hodnotu měl vzorek *NaOH*, a to -0,91. Statistický rozdíl nebyl pozorován mezi vzorky *NaOH + peroxid* (-0,89), *Peroxid* (-0,89), *Ozon* (-0,87), *Použitý* (-0,87) a *Čistý* (-0,90). Z výsledných hodnot jsou zajímavé především vzorky *NaOH*, které projevilo větší účinnost než vzorek *Čistý*, a pak vzorek *Použitý*, u kterého by se opět očekával nejnižší vliv, přitom ten byl zaznamenán u vzorku *Ozon*. Výsledkem tohoto měření je posunutí barevného bodu směrem k zelenému rozhraní.

5.3.3 Barva bodu ve směru modro-žlutém (b^*)

Ve víně odrůdy RB byla u sedmi vzorků měřena barva bodu v modro-žlutém prostoru. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XXVI), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XXVII) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XXVIII).



Graf 5: Srovnání hodnoty b^* původního neošetřeného vína s hodnotami b^* ošetřených vín čistým, zregenerovaným a nezregenerovaným přípravkem PVPP

Graf 5 má podobný průběh jako graf 4. Vzorek *Srovnávací* (8,23) je statisticky významně odlišný od ostatních měřených vzorků. Stejně tak jsou na tom i vzorky s označením *Čistý* (6,06) a *Použitý* (6,68). Jsou také statisticky významně odlišné od všech ostatních vzorků. Statistický rozdíl nebyl zaznamenán mezi vzorky *NaOH* (6,24) a *NaOH + peroxid* (6,20). Stejně tak nebyl zaznamenán rozdíl mezi vzorky *Peroxid* (6,54) a *Ozon* (6,54). Výsledky tohoto měření se shodují s naším předpokladem, že vzorek *Čistý* ovlivní změnu barvy nejvíce oproti původnímu vzorku a vzorek *Použitý* bude mít nejmenší vliv na změnu odstínu. Získaná data ukazují, že došlo k posunutí barevného bodu b^* směrem k modrému rozhraní.

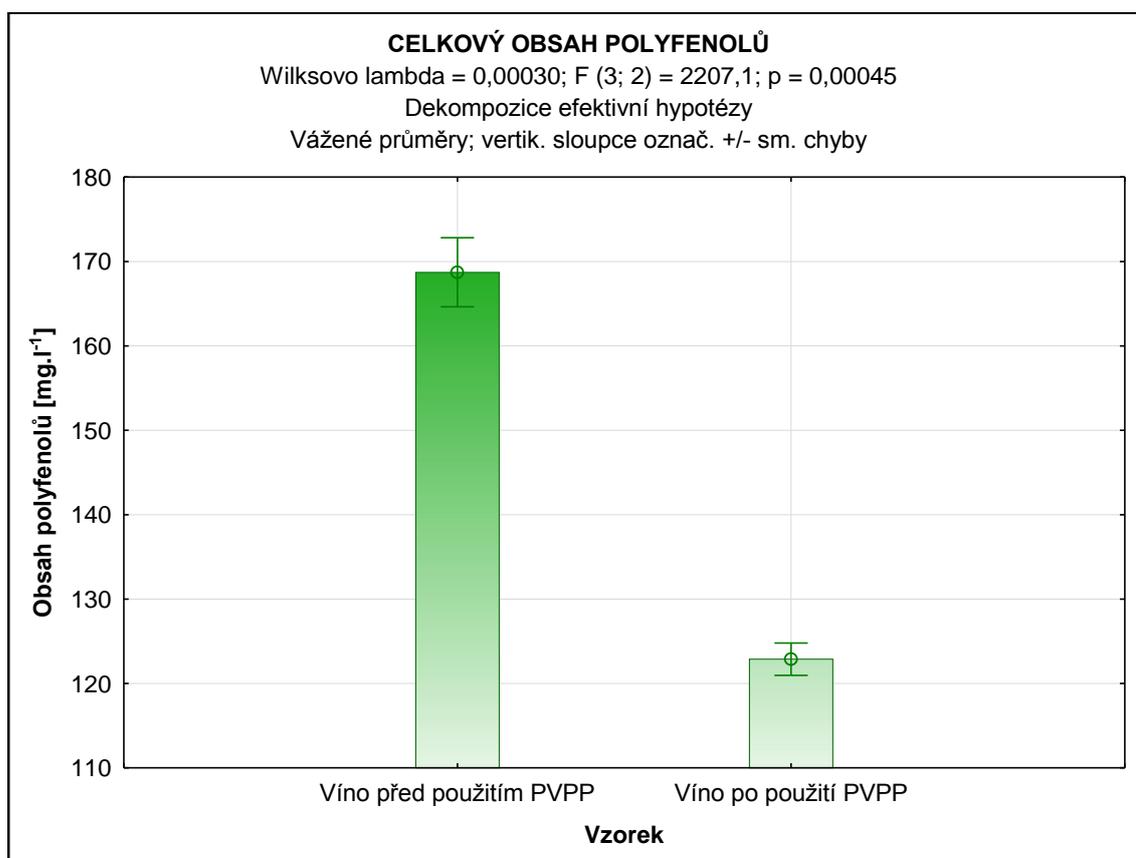
Vliv čistého čiřícího přípravku PVPP na barevnost v červeném víně zkoumal Balík a kol. (2008). PVPP aplikoval do vína odrůdy Svatovavřínecké ve dvou variantách. První varianta byla v dávce $40 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$ a druhá v dávce $80 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$. Vyhodnocení bodu jasu (L^*) ukázalo zvýšení o 2,6 % oproti původní kontrolní hodnotě v případě dávky $40 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$ a při dávce $80 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$ se hodnota L^* zvýšila o 10,8 %. Použitím přípravku PVPP tedy došlo k mírnému zesvětlení odstínu vína, což dokazuje schopnost PVPP na sebe vázat hnědé tóny. Při hodnocení barvy bodu ve směru červeno-zeleném (a^*) došlo u dávky $40 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$ k mírnému posunu barevného bodu (z původních 56 na 57,7), zajímavé ale je, že při dávce $80 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$ došlo k posunu barevného bodu směrem dolů (z původních 56 na 55,8). U barevného bodu ve směru modro-žlutém (b^*) došlo u obou variant k posunu barevného bodu směrem dolů (z 27,9 na 25,9 u první varianty a z 27,9 na 22,9 u druhé varianty).

Fernandes a kol. (2015) se taktéž zabývala vztahem mezi čiřícím přípravkem PVPP a barevností vína. Pro experiment zvolila tři bílá vína, ročník 2013: Dão, Lisbon a Algarve. Nejprve zkoušela aplikovat PVPP v nejnižší doporučené dávce ($10 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$) a pak v nejvyšší doporučené dávce ($80 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$). U proměnné L^* se dosáhlo vyjasnění vína z původní hodnoty 84,2 % na 95,7 % při minimální koncentraci a u maximální koncentraci z 84,2 % na 95 %. Barevný bod (a^*) se po aplikaci PVPP posunul z hodnoty 2,4 na hodnotu -0,3 při dávce $10 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$ a z hodnoty 2,4 na hodnotu -0,5 při dávce $80 \text{ g} \cdot 100\text{l}^{-1}$. Došlo tedy k mírnému posunutí barevného odstínu směrem k zelenému rozhraní. Ke slabému posunu došlo i v případě proměnné b^* . Tam se v případě minimální dávky posunula původní hodnota 8,8 na 7,7 a v případě maximální dávky došlo k posunutí z 8,8 na 7,1. V praxi to znamená změnu barevného odstínu směrem k modrému rozhraní.

5.4 Přidružené výsledky

5.4.1 Celkový obsah polyfenolů

Obsah celkových polyfenolů byl měřen také ve víně odrůdy VZ, které sloužilo pro první aplikaci přípravku PVPP (k získání jednou použitého PVPP pro regeneraci). V grafu 6 je množství polyfenolů ve vzorcích vyjádřené v miligramech na jeden litr. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XXIX), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XXX) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XXXI).



Graf 6: Srovnání celkového množství polyfenolů v původním neošetřeném víně s celkovým množstvím polyfenolů ve víně ošetřeném přípravkem PVPP

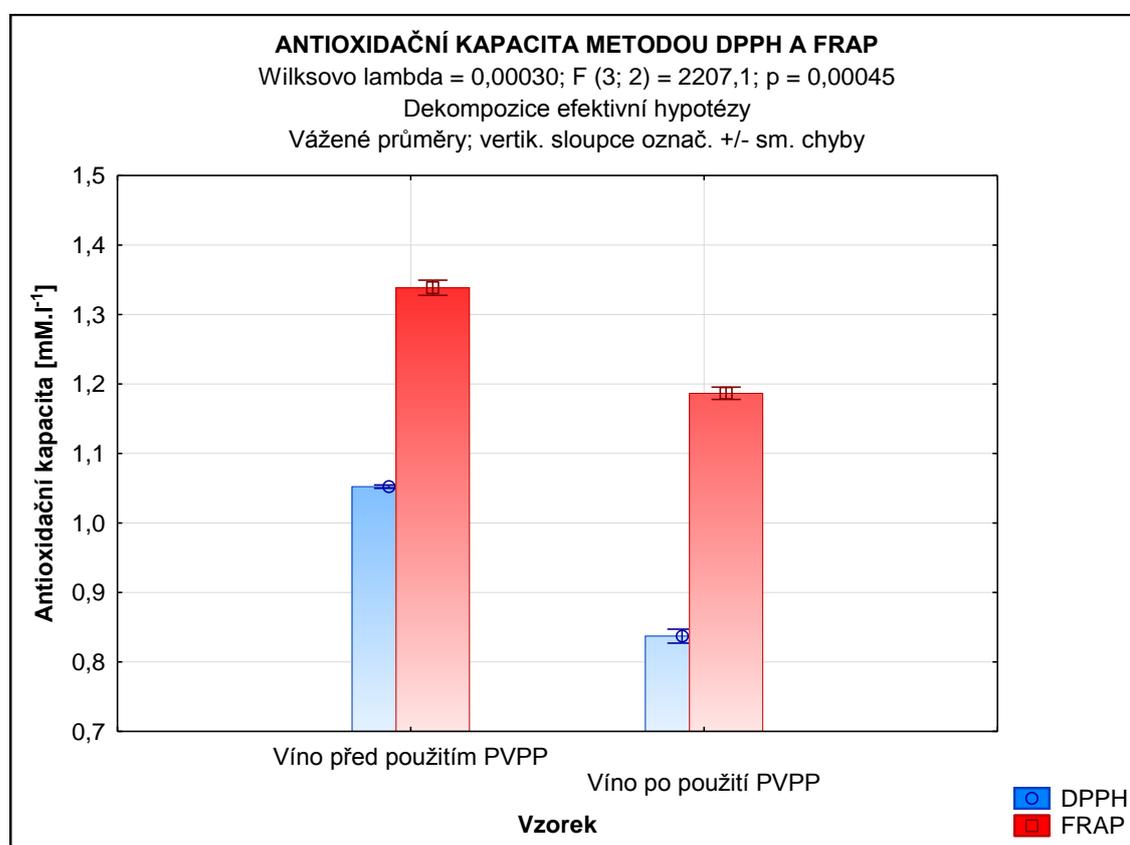
Rozdíl mezi vzorky před použitím PVPP a po použití PVPP je statisticky významný. Víno neošetřené čiricím přípravkem obsahovalo $168,73 \text{ mg.l}^{-1}$ celkových polyfenolů a víno po aplikaci přípravku mělo $122,89 \text{ mg.l}^{-1}$ celkových polyfenolů. Došlo tak k poklesu polyfenolů o 27,2 %.

V případě měření celkových polyfenolů u odrůdy RB nám PVPP navázalo 19 %. Tento rozdíl může být zapříčiněn různými dávkami PVPP na jednotku objemu. V případě odrůdy VZ to byla dávka 0,4 g PVPP na litr vína, což po přepočítání

odpovídá tomu, že 1 g PVPP absorboval 125 mg polyfenolů. V případě odrůdy RB byl aplikován 1 g PVPP do 1 litru vína, kde po přepočítání činí výsledek, že 1 g navázal 45 mg.

5.4.2 Antioxidační kapacita metodou DPPH a FRAP

U vína odrůdy VZ byla měřena antioxidační kapacita dvěma metodami (DPPH, FRAP) před aplikací přípravku PVPP a po aplikaci přípravku PVPP. V grafu 7 je antioxidační kapacita vyjádřená v milimolech na jeden litr. Tomuto grafu odpovídají tabulky uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XXXII a XXXV), tabulky s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XXXIII a XXXVI) a tabulky Popisných statistik (viz Příloha č. XXXIV a XXXVII).



Graf 7: Srovnání antioxidační kapacity původního neošetřeného vína s antioxidační kapacitou vína ošetřeného čistým přípravkem PVPP

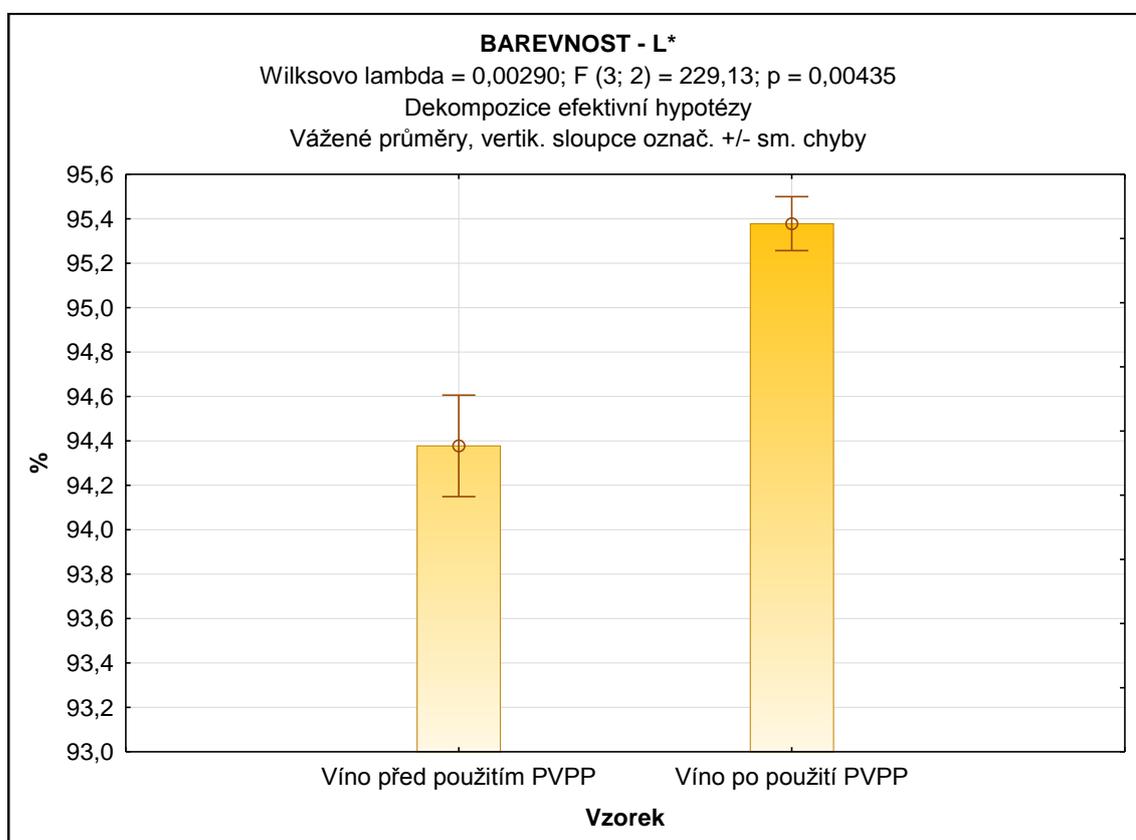
Jak mezi metodami DPPH a FRAP, tak i mezi jednotlivými naměřenými vzorky pozorujeme významný statistický rozdíl. U vzorku před použitím čistého PVPP měřeného metodou DPPH činila hodnota antioxidační kapacity 1,05 mM.l⁻¹, po aplikaci čistého PVPP hodnota klesla na 0,84 mM.l⁻¹. Snížení bylo o 20,5 %. Výsledky měření

metodou FRAP ukázaly pokles antioxidační kapacity o 11,3 %. Původní neošetřené víno mělo $1,34 \text{ mM.l}^{-1}$ a víno po aplikaci čistého PVPP obsahovalo $1,19 \text{ mM.l}^{-1}$. Výsledky naměřené u odrůdy RB byly: DPPH pokles o 22,2 %, FRAP pokles o 26 %.

5.4.3 Barevnost

5.4.3.1 Luminance (L^*)

Ve víně odrůdy VZ byla měřena luminance (jas bodu) před použitím čistého přípravku PVPP a po použití čistého přípravku PVPP. V grafu 8 je L^* vyjádřené v %. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XXXVIII), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XXXIX) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XL).

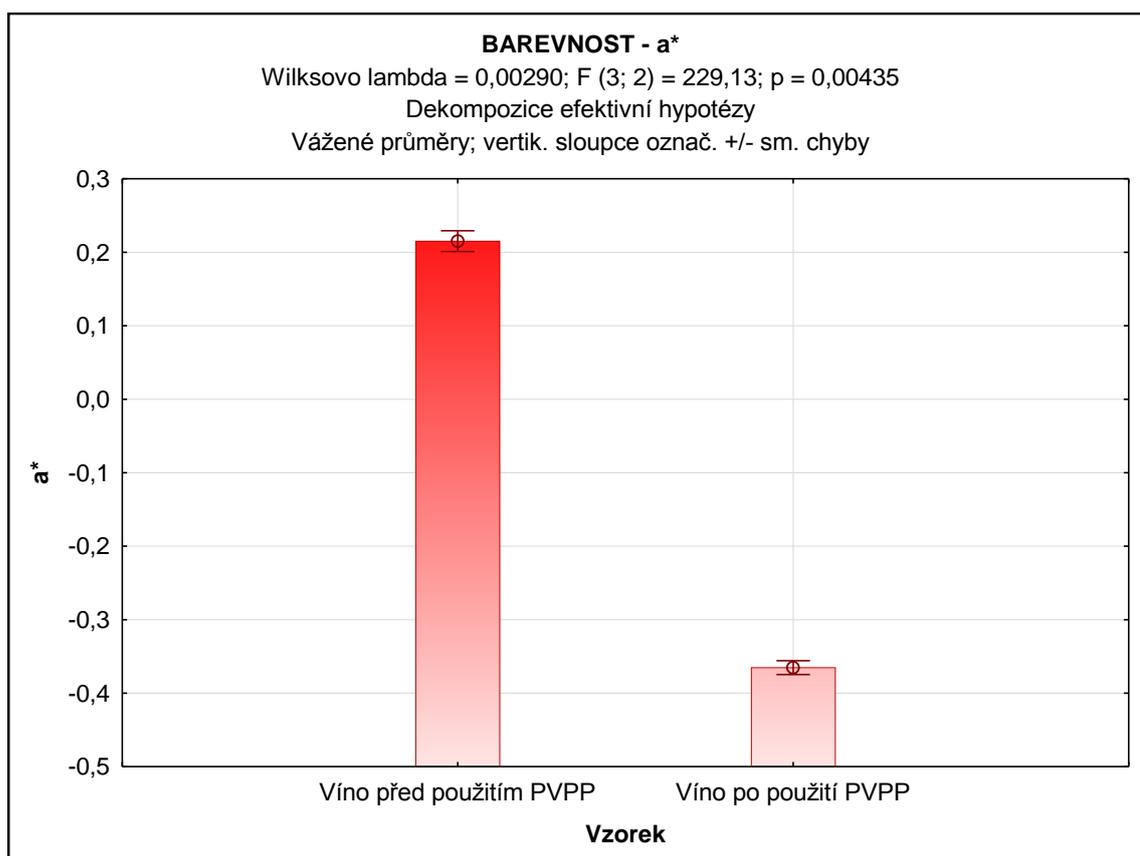


Graf 8: Srovnání hodnoty L^* původního neošetřeného vína s hodnotou L^* ošetřeného vína čistým přípravkem PVPP

Z grafu pozorujeme statisticky významný rozdíl mezi vzorky před a po použití čistého přípravku PVPP. Proměnná L^* vzrostla o 1 % (z původní hodnoty 94,4 na 95,4). Při měření změny jasu u odrůdy RB (z původní hodnoty 97,7 na 97,9) nedošlo ke statisticky průkaznému rozdílu. V obou případech jde ovšem o velmi malé změny.

5.4.3.2 Barva bodu ve směru červeno-zeleném (a^*)

Ve víně odrůdy VZ byla měřena barva bodu v červeno-zeleném prostoru před použitím čistého přípravku PVPP a po použití čistého přípravku PVPP. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XLI), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XLII) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XLIII).

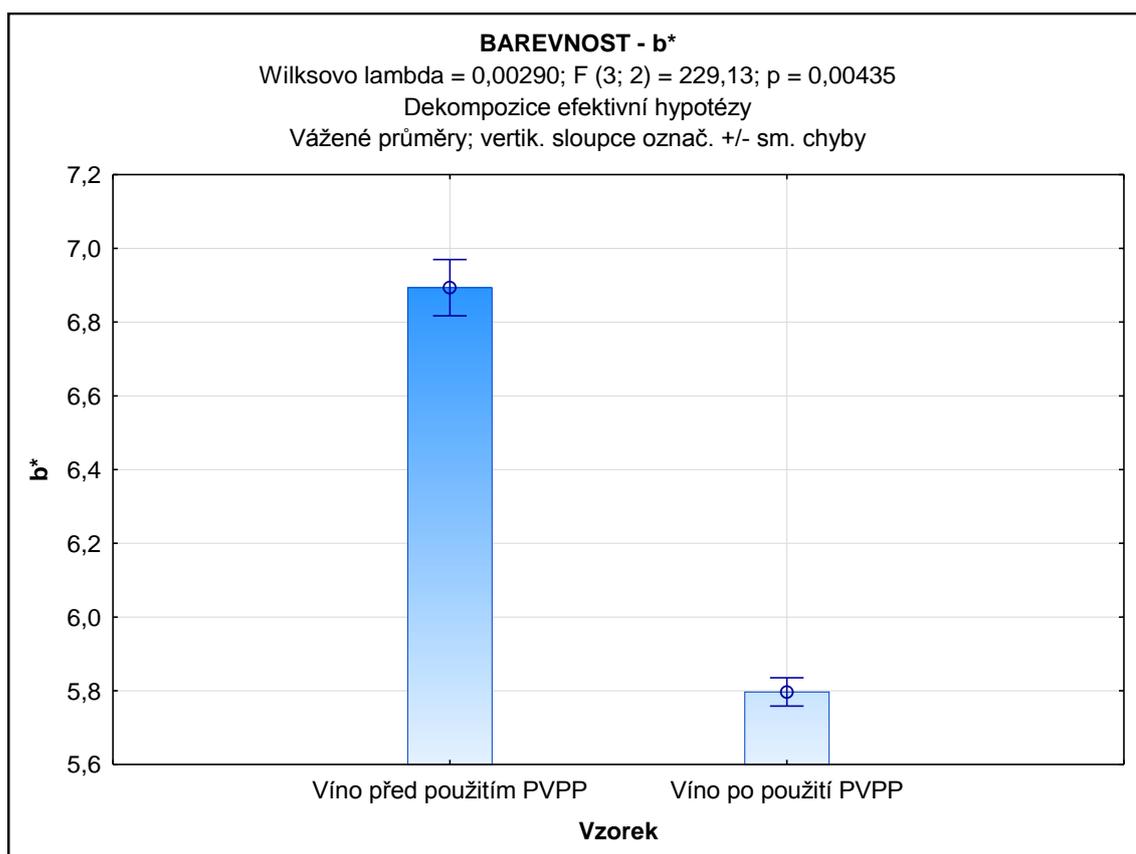


Graf 9: Srovnání hodnoty a^* původního neošetřeného vína s hodnotou a^* ošetřeného vína čistým přípravkem PVPP

Z grafu 9 je patrný statisticky významný rozdíl mezi vzorky před a po aplikaci čistého PVPP. Původní hodnota a^* činila 0,22, hodnota a^* po ošetření PVPP byla -0,37. Čistý přípravek PVPP posunul barevný odstín vína směrem k zelenému rozhraní. Výsledky jsou obdobné jako u měření odrůdy RB.

5.4.3.3 Barva bodu ve směru modro-žlutém (b^*)

Ve víně odrůdy VZ byla měřena barva bodu v modro-žlutém prostoru před použitím čistého přípravku PVPP a po použití čistého přípravku PVPP. Tomuto grafu odpovídá tabulka uvádějící statistickou významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot (viz Příloha č. XLIV), tabulka s jednorozměrnými výsledky analýzy rozptylu (viz Příloha č. XLV) a tabulka Popisných statistik (viz Příloha č. XLVI).

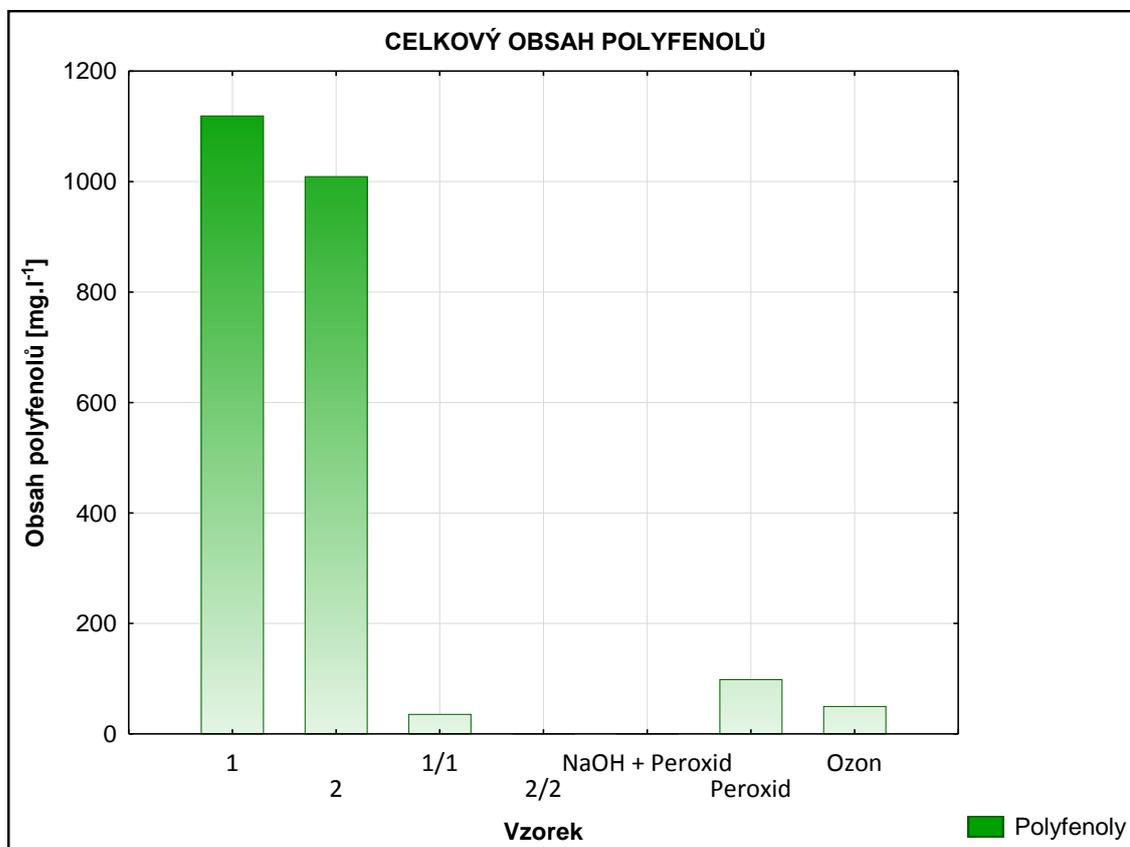


Graf 10: Srovnání hodnoty b^* původního neošetřeného vína s hodnotou b^* ošetřeného vína čistým přípravkem PVPP

Barevný parametr b^* měl v původním neošetřeném víně hodnotu 6,89. Po ošetření čistým přípravkem PVPP došlo k jeho snížení na hodnotu 5,80. Tento numerický rozdíl činí i statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými vzorky. Posunutí barevného bodu b^* mírně přiblížilo odstín vína k modrému rozhraní barevného spektra. Výsledek měření parametru b^* u odrůdy RB koreluje s výsledkem u odrůdy VZ.

5.4.4 Celkový obsah polyfenolů regeneračního roztoku

Celkové polyfenoly byly měřeny u sedmi vzorků získaných během regenerace PVPP. Obsah polyfenolů je vyjádřený v miligramech na jeden litr.



Graf 11: Srovnání celkového množství polyfenolů ve vzorcích získaných během regenerace PVPP

První dva vzorky 1 a 2 byly získány při regeneraci jednou použitého PVPP pomocí NaOH. Z tohoto čištění můžeme vidět, že bylo z PVPP uvolněno nejvíce polyfenolů, konkrétně 1 118,90 mg.l⁻¹ ze vzorku 1 a 1 009,08 mg.l⁻¹ ze vzorku 2. Vzorky 1/1 a 2/2 byly získány při druhé regeneraci vzorků 1 a 2 opět pomocí NaOH. Při této druhé regeneraci již bylo uvolněno z PVPP podstatně menší množství polyfenolů oproti prvnímu čištění. Ve vzorku 1/1 bylo naměřeno 35,59 mg.l⁻¹ a ve vzorku 2/2 0,02 mg.l⁻¹. Vzorek NaOH + peroxid byl získán další regenerací vzorku 2/2 tentokrát peroxidem. V tomto vzorku už nebyly naměřeny žádné polyfenoly. Vzorek Peroxid byl získán regenerací jednou použitého přípravku PVPP pomocí peroxidu. Peroxid dokázal z použitého PVPP vyextrahovat 98,51 mg.l⁻¹. Poslední vzorek Ozon má hodnotu 49,63 mg.l⁻¹. V tomto případě bylo jednou použité PVPP regenerováno ozonem.

Z výsledných hodnot můžeme usuzovat, že v praxi by byla dostatečná jednostupňová regenerace pomocí NaOH. Peroxid a ozon pravděpodobně polyfenoly oxidují, proto byly naměřené hodnoty tak nízké.

Za zmínku stojí informace, že polyfenoly v regeneračním roztoku byly měřeny v množství 1 dcl. Po přepočítání zjistíme, že z 1 g použitého PVPP bylo vyextrahováno 10 mg polyfenolů. V porovnání s výsledkem měření celkových polyfenolů v původním víně (VZ) vyšlo, že v množství 2,5 l vína 1g PVPP absorboval 125 mg polyfenolů. Příčinou takto velkého rozdílu může být fakt, že se polyfenoly rozkládají.

6 ZÁVĚR

Závěrečná práce pojednávala o problematice polyfenolických sloučenin ve víně, jejich pozitivním vlivu na zdraví při umírněné konzumaci vína, ale i o nežádoucích vadách, které polyfenoly mohou způsobovat ve víně. Mezi nejčastější problémy bílých vín patří oxidace, hnědý zákal, hořčinka, růžovění, nebo pachut' po hnilobě. K odstranění těchto vad slouží čířící prostředky buď na přírodní bázi (vaječný bílek, želatina, vyzina) nebo synteticky vyrobené, jako je PVPP. Právě PVPP je velmi dobrým čířidlem pro eliminaci vad způsobených polyfenoly, respektive tříslovinami. Na silně zoxidovaná vína se však již aplikace PVPP nevyplatí z důvodu velké spotřeby prostředku a relativně vysoké ceny (až 200 Kč.100g⁻¹). Na základě této myšlenky byl proveden experiment, kde byl regenerován čířící prostředek PVPP.

Regenerace PVPP probíhala čtyřmi způsoby: NaOH, kombinací NaOH a peroxidu, samotným peroxidem a ozonem. Efektivnost zregenerovaného přípravku PVPP byla hodnocena na základě výsledků analýz. Proběhlo měření obsahu celkových polyfenolů, antioxidační kapacity a barevných parametrů. Míra účinnosti zregenerovaného PVPP byla porovnávána s čistým PVPP i s použitým, neregenerovaným PVPP. Výsledná data ukázala, že po regeneraci nejlépe fungoval PVPP regenerovaný NaOH. Dobrých výsledků dosahovalo i PVPP regenerované ozonem. Použití peroxidu, ať už samostatného nebo v kombinaci s NaOH, se ukázalo jako nedostatečné.

Ze získaných dat můžeme závěrem říct, že regenerace přípravku PVPP je možná a hlavně účinná. Náklady spojené s regenerací pomocí NaOH výrobce vína nijak nezatíží. V případě regenerace ozonem je samozřejmě počáteční investice větší, ale někteří vinaři jsou majiteli ozonizátoru, neboť jej využívají k sanitačním účelům, a tak ani tomuto způsobu regenerace nestojí nic v cestě.

7 SOUHRN

Diplomová práce na téma *Použití polyvinylpolypyrrolidonu a možnosti jeho regenerace v nápojovém průmyslu* byla vypracována v letech 2015–2016 na Ústavu posklizňové technologie zahradnických produktů, na Zahradnické fakultě Mendelovy univerzity v Brně.

Hlavními tématy literární části jsou polyfenolické sloučeniny ve víně, antioxidační kapacita a vady vín souvisejícími s polyfenoly. Poslední zmiňovaná kapitola nabízí i způsoby odstraňování vad, kde je největší pozornost věnována přípravku PVPP.

Experimentální část je zaměřena na zregenerování jednou použitého přípravku PVPP čtyřmi způsoby a zjištění jeho efektivnosti, pomocí vhodných analýz, po opětovném použití do vína. Výsledná data jsou statisticky zpracována a znázorněna v grafech.

Klíčová slova: polyfenoly, antioxidační kapacita, DPPH, FRAP, vady vína, PVPP

8 RESUME

This diploma thesis is focused on the topic *The use of polyvinylpolypyrrolidone and possibilities of its regeneration in the beverage industry*. The thesis was written in years 2015–2016 at the Department of Post-Harvest Technology of Horticultural Products, Faculty of Horticulture at Mendel University in Brno.

The theoretical part deals with the polyphenolics compounds in wine, antioxidant capacity and wine defects related to polyphenols. The last chapter offers multiple methods of removing defects, where the highest priority is given to the clarifier PVPP.

The experimental part is aimed at the regeneration of single used PVPP with four different ways and the determination of its efficiency throughout suitable analyses after its reuse in the wine. The resulting data are statistically processed and shown in the graphs.

Key words: polyphenols, antioxidant capacity, DPPH, FRAP, defects of wine, PVPP

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

BALÍK, J. *Vinařství – návody do laboratorních cvičení*. Brno: Ediční středisko Mendelovy univerzity v Brně, 2011. 98 s. ISBN 978-80-7157-933-5.

EDER, R. A KOLEKTIV AUTORŮ. *Vady vína*. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006. 263 s. ISBN 80-903201-6-3.

FARKAŠ, J. *Biotechnológia vína*. Vyd. 2., upr. vyd. Bratislava: Alfa, 1983. 978 s.

FIC, V. *Víno: analýza, technologie, gastronomie*. Český Těšín: 2 THETA, 2015. 299 s. ISBN 978-80-86380-77-3.

CHRPOVÁ, D. *S výživou zdravě po celý rok*. Praha: Grada, 2010. 136 s. ISBN 978-80-247-2512-3.

KRAUS, V. *Pěstujeme révu vinnou*. Vyd. 2. České Budějovice: Grada, 2012. 128 s. ISBN 978-80-247-3465-1.

KRAUS, V., FOFFOVÁ, Z., VURM, B., KRAUSOVÁ, D. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2005. 306 s. ISBN 80-86767-00-0.

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

MALÍK, F. *Ze života vína*. Pardubice: Filip Trend, 2003. 221 s. ISBN 80-86282-27-9.

MICHLOVSKÝ, M. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. 262 s. ISBN 978-80-905319-2-5.

NACZK, M., SHAHIDI, F. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2004. 576 s. ISBN 978-0-203-50873-2.

O'BYRNE, P. *Red Wine and Health*. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers, 2009. 527 s. ISBN 978-1-60692-718-2.

ORTEMBERGOVÁ, A. *Mládneme s antioxidanty*. Praha: Ivo Železný, 2003. 126 s., ISBN 80-237-3742-2.

PAVLOUŠEK, P. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, 2011. 336 s. ISBN 978-80-247-3314-2.

RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBOURDIEU, D. *Handbook of Enology: Volume 2. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.* 2nd Edition. Chichester: John Wiley & Sons, 2005. 441 s. ISBN: 0-470-01037-1.

RICHTER, M., LUDVÍKOVÁ I. *Malý obrazový atlas odrůd ovoce.* Lanškroun: TG tisk, 2004. 64 s. ISBN 80-903487-7-7.

SIMONOVÁ, J. *O víně.* Bratislava: Slovart, 2002. 223 s. ISBN 80-7209-386-X.

STEIDL, R. *Sklepní hospodářství.* Valtice: Národní salon vín, 2002. 307 s. ISBN 80-903201-0-4.

VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3.* Vyd. 2., upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 343 s. ISBN 80-86659-02-X.

VĚDECKÉ ČLÁNKY

BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. Phenolic Compounds in Plants and Agri-industrial by-products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry.* 2006, roč. 99, č. 1, s. 191–203. ISSN 0308-8146.

BALÍK, J., TRÍSKA, J., VRCHOTOVÁ, N., KYSELÁKOVÁ, M., VEVERKA, J., TOTUŠEK, J., LEFNEROVÁ, D. The Effect of Clarification on Colour, Concentration of Anthocyanins and Polyphenols in the Red Wine. *Acta Horticulturae.* 2007, roč. 754, s. 563–568. ISSN 0567-7572.

BALÍK, J., TRÍSKA, J., VRCHOTOVÁ, N., KYSELÁKOVÁ, M., VEVERKA, J., TOTUŠEK, J., LEFNEROVÁ, D. The Changes of Selected Phenolic Substances in Wine Technology. *Czech Journal of Food Science.* 2008, č. 26, s. S3–S12. ISSN 1805-9317.

BLAINSKI, A., LOPES, G. C., PALAZZO DE MELLO, J. C. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules.* 2013, roč. 18, č. 6, s. 6852–6865. ISSN 1420-3049.

FERNANDES, J. P., NETO, R., CENTENO, F., DE FÁTIMA TEIXEIRA, M., GOMES, A. C. Unveiling the Potential of Novel Yeast Protein Extracts in White Wines Clarification and Stabilization. *Frontiers in Chemistry.* 2015, roč. 3, č. 20, s. 1–11. ISSN 2296-2646.

FRANKEL, E. N., MEYER, A. S. The Problems of Using One-dimensional Methods to Evaluate Multifunctional Food and Biological Antioxidants. *Journal Science Food Agriculture*. 2000, roč. 80, č. 13, s. 1925–1941. ISSN 0022-5142.

GONZÁLEZ-MANZANO, S., C RIVAS-GONZALO, J., SANTOS-BUELGA, C. Extraction of Flavan-3-ols from Grape Seed and Skin Into Wine Using Simulated Maceration. *Analytica Chimica Acta*. 2004, roč. 513, č. 1, s. 283–289. ISSN 0003-2670.

GOPAL, C., MARTI, J. The Use of Polyclar (PVPP) for Preventative and Remedial Treatment of Wine. *The Australian Grapegrower & Winemaker*. 1999, s. 141–145. ISSN 0727-3606.

GÜRBÜZ, O., GÖÇMEN, D., DAGDELEN, F., GÜRSOY, M., AYDIN, S., ŞAHIN, İ., BÜYÜKUYSAL, L., USTA, M. Determination of Flavan-3-ols and Trans-resveratrol in Grapes and Wine Using HPLC with Fluorescence Detection. *Food Chemistry*. 2007, roč. 100, č. 1, s. 518–525. ISSN 0308-8146.

HOLASOVÁ, M., FIEDLEROVÁ, V. Porovnání metod stanovení antioxidační aktivity v ovocných a zeleninových šťávách. *Chemické Listy*. 2011, roč. 105, č. 10, s. 766–772. ISSN 0009-2770.

HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, roč. 53, č. 6, s. 1841–1856. ISSN 0021-8561.

PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chemické Listy*. 2004, roč. 98, č. 4, s. 174–179. ISSN 0009-2770.

PAVLOUŠEK, P. Praktické poznatky k odrůdě Veltlínské zelené. *Vinařský obzor*. 2008, roč. 101, č. 12, s. 570–571. ISSN 1212-7884.

PLAZA, M., CIFUENTES, A., IBÁÑEZ, E. In the Search of New Functional Food Ingredients from Algae. *Trends in Food Science & Technology*. 2008, roč. 19, č. 1, s. 31–39. ISSN 0924-2244.

PRIOR, R. L., WU, X., SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, roč. 53, č. 10, s. 4290–4302. ISSN 0021-8561.

PYRZYNSKA, K., PEKAL, A. Application of Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to Estimate the Antioxidant Capacity of Food Samples. *Analytical Methods*. 2013, č. 17, s. 4288–4295. ISSN 0003-2654.

RASTIJA, V., MEDIĆ-ŠARIĆ, M. Chromatographic Methods for the Analysis of Polyphenols in Wines. *Kemija u industriji*. 2009, roč. 58, č. 3, s. 121–128. ISSN 0022-9830.

RUŽIĆ, I., ŠKERGET, M., KNEZ, Ž., RUNJE, M. Phenolic Content and Antioxidant Potential of Macerated White Wines. *European Food Research and Technology*. 2011, roč. 233, s. 465–472. ISSN 1438-2385.

SHALABY, E. A., SHANAB, S. M. M. Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action. *Academic Journals*. 2013, roč. 7, č. 10, s. 528–539. ISSN 1996-0816.

SCHOFIELD, P., MBUGUA, D. M., PELL, A. N. Analysis of Condensed tannins: a Review. *Animal Feed Science and Technology*. 2001, roč. 91, č. 1–2, s. 21–40. ISSN 0377-8401.

SIMS, Ch. A., EASTRIDGE, J. S., BATES, R. P. Changes in Phenols, Color and Sensory Characteristics of Muscadine Wines by Pre- and Post- Fermentation Additions of PVPP, Casein and Gelatin. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1995, roč. 46, č. 2, s. 155–158. ISSN 0002-9254.

SUN, B., RIBES, A. M., CONCEIÇÃO LEANDRO, M., BELCHIOR, A. P., SPRANGER, M. I. Stilbenes: Quantitative Extraction from Grape Skins, Contribution of Grape Solids to Wine and Variation During Wine Maturation. *Analytica Chimica Acta*. 2006, roč. 563, č. 1–2, s. 382–390. ISSN 0003-2670.

ŠULC, M., LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSÁK, M., DVOŘÁK, P., HORÁČKOVÁ, V. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. *Chemické Listy*. 2007, roč. 101, č. 7, s. 584–591. ISSN 0009-2770.

YILDIRIM, H. K. Effects of Fining Agents on Antioxidant Capacity of Red Wines. *Journal of the Institute of Brewing*. 2011, roč. 117, č. 1, s. 55–60. ISSN 2050-0416.

ZULUETA, A., ESTEVE, M. J., FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC Assays Comparison to Measure the Antioxidant Capacity of Food Products. *Food Chemistry*. 2009, roč. 114, č. 1, s. 310–316. ISSN 0308-8146.

INTERNETOVÉ ZDROJE

ASHLAND. How does polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) control haze? In: *Ashland*. [online]. 2016 [cit. 2016-05-06]. Dostupné z: <http://www.ashland.com/beer-wine-stabilizer/pvpp-control-haze>

DOSTÁL, H. Separační metody v analytické chemii – chromatografie. In: *Analýza léčiv*. [online]. 2013 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://anl.zshk.cz/vyuka/separacni-metody.aspx>

KALÁBEK, S. *Nedostatky, vady a nemoci vín* [online]. 2009 [cit. 2016-05-03]. Dostupné z: <http://www.vinobrnno.eu/uploads/files/Vady%20vin-Kalabek-SZPI-1.pdf>

KOPŘIVA, V. *Antioxidační kapacita potravin* [online]. 2011 [cit. 2016-05-03]. Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/ANTIOXIDA%C4%8CN%C3%8D-KAPACITA-POTRAVIN.pdf>

LEWIS, M. J. *Anti-oxidant Screen for Extracts* [online]. 2012 [cit. 2016-05-03]. Dostupné z: <file:///C:/Users/xsajtar0/Downloads/15.3b-Natural-Product-Screening-Anti-oxidant-screen-DPPH-of-extract-Crude-Extract1-1.pdf>

MORRIS, J. R., MAIN, G. L. *Fining Agents for Wine* [online]. 1995 [cit. 2016-05-03]. Dostupné z: <http://www.uark.edu/depts/ifse/grapeprog/articles/nmc14wg.pdf>

NIKOLOVÁ, I. *Chromatografické metody* [online]. 2012 [cit. 2016-05-03]. Dostupné z: http://physics.ujep.cz/~mkormund/P219/chromatograficke_metody_2014.pdf

OENO. Polyvinylpolypyrrolidone. In: *Oenological Codex* [online]. 2007 [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.oiv.int/public/medias/4035/f-coei-1-pvpp.pdf>

OSLZLÝ, M. Poškození hroznů slunečním zářením a vysokými teplotami. In: *Vinařské potřeby* [online]. 2012 [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: <http://www.vinarskepotreby.cz/poskozeni-hroznu-slunecnim-zarenim-vysokymi-teplotami/>

SEDLÁČEK, M. Číření vína. In: *Znalec vín* [online]. 2014 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.znalecvin.cz/cireni-vina/>

WINEMAKER STAFF. Using Fining Agents: Techniques. In: *WineMaker* [online]. 2003 [cit. 2016-05-06]. Dostupné z: <https://winemakermag.com/715-using-fining-agents-techniques>

YEAMANS-IRWIN, B. Can White Wine have Health Benefits Comparable to Red Wine?: The Maceration of White Wines. In: *The Academic Wino* [online]. 2011 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.academicwino.com/2011/09/can-white-wine-have-health-benefits.html/>

http 1 Anonym. Types of Grapes. In: *Health Benefits Times* [online]. 2015 [cit. 2016-04-05]. Dostupné z: <http://www.healthbenefitstimes.com/types-of-grapes/>

http 2 Anonym. *Veltlínské zelené* [online]. 2016 [cit. 2016-04-09]. Dostupné z: <http://www.veltlinskezelene.cz/>

http 3 Anonym. Veltlínské zelené. In: *Znovín Znojmo* [online]. 2016 [cit. 2016-04-09]. Dostupné z: <http://www.znovin.cz/odruda-veltlinske-zelene>

http 4 Anonym. Postup výroby červeného vína. In: *Víno Kotýnek* [online]. 2011 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.vinokotynek.cz/index.php/o-vine/vyroba-vina/131-cervene-vino>

http 5 Anonym. Elektroforéza. In: *Biochemical Web* [online]. 2004 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z: <http://biochemie.sweb.cz/x/metody/elektroforeza.htm#princip>

http 6 Anonym. *Čiření vín* [online]. 2007 [cit. 2016-05-03]. Dostupné z: <http://www.wine.cz/revva/vo7.htm>

PATENT

NOORDMAN, T. R. Method for the Regeneration of PVPP from a Membrane Filter Retentate after Clarification and Stabilization of Yeast Fermented Beverage. United States patent application. US 2013/0196025 A1. 1. 8. 2013.

PŘEDNÁŠKA

BAROŇ, M. *Choroby a vady vína* [přednáška]. Lednice: Zahradnická fakulta, 5. listopadu 2013.

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: *Zreagovaný přípravek PVPP po filtraci a sušení*

Příloha II: *Navážka 10 g zreagovaného PVPP do kuželové baňky o objemu 250 ml*

Příloha III: *Navážka 10 g zreagovaného PVPP a 100 ml 0,5M NaOH*

Příloha IV: *Plastové lahvičky s regeneračním roztokem*

Příloha V: *Zregenerovaný přípravek PVPP pomocí (1) NaOH, (2) NaOH + peroxidu, (3) peroxidu, (4) ozonu, po filtraci, před sušením*

Příloha VI: *Promývačka s fritovým nástavcem*

Příloha VII: *Ozonizátor*

Příloha VIII: *Vysušený a zhomogenizovaný zregenerovaný přípravek PVPP pomocí (1) NaOH, (2) NaOH + peroxidu, (3) peroxidu, (4) ozonu*

Příloha IX: *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*

Příloha X: *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*

Příloha XI: *Popisné statistiky*

Příloha XII: *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*

Příloha XIII: *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*

Příloha XIV: *Popisné statistiky*

Příloha XV: *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*

Příloha XVI: *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*

Příloha XVII: *Popisné statistiky*

Příloha XVIII: *Korelační vztah mezi metodami DPPH a FRAP*

Příloha XIX: *Grafické znázornění korelačního vztahu mezi metodami DPPH a FRAP*

Příloha XX: *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*

Příloha XXI: *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*

Příloha XXII: *Popisné statistiky*

Příloha XXIII: *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*

Příloha XXIV: *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*

Příloha XXV: *Popisné statistiky*

Příloha XXVI: *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*

Příloha XXVII: *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*

Příloha XXVIII: *Popisné statistiky*

Příloha XXIX: *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*

Příloha XXX: *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*

- Příloha XXXI:** *Popisné statistiky*
- Příloha XXXII:** *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*
- Příloha XXXIII:** *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*
- Příloha XXXIV:** *Popisné statistiky*
- Příloha XXXV:** *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*
- Příloha XXXVI:** *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*
- Příloha XXXVII:** *Popisné statistiky*
- Příloha XXXVIII:** *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*
- Příloha XXXIX:** *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*
- Příloha XL:** *Popisné statistiky*
- Příloha XLI:** *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*
- Příloha XLII:** *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*
- Příloha XLIII:** *Popisné statistiky*
- Příloha XLIV:** *Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot*
- Příloha XLV:** *Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu*
- Příloha XLVI:** *Popisné statistiky*

10 PŘÍLOHY

Příloha I: *Zreagovaný přípravek PVPP po filtraci a sušení*



Příloha II: *Navážka 10 g zreagovaného PVPP do kuželové baňky o objemu 250 ml*



Příloha III: Navážka 10 g zreagovaného PVPP a 100 ml 0,5M NaOH



Příloha IV: Plastové lahvičky s regeneračním roztokem



Příloha V: Zregenerovaný přípravek PVPP pomocí (1) NaOH, (2) NaOH + peroxidu, (3) peroxidu, (4) ozonu, po filtraci, před sušením



Příloha VI: Promývačka s fritovým nástavcem



Příloha VII: Ozonizátor



Příloha VIII: Vysušený a zhomogenizovaný zregenerovaný přípravek PVPP pomocí (1) NaOH, (2) NaOH + peroxidu, (3) peroxidu, (4) ozonu



Příloha IX: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná polyfenoly							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 4,7034; sv = 14,000							
Vzorek	Srovnávací 236,32	NaOH 198,95	NaOH + peroxid 204,39	Peroxid 206,71	Ozon 199,24	Použitý 224,93	Čistý 191,52
Srovnávací		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000016	0,000000
NaOH	0,000000		0,008229	0,000625	0,870507	0,000000	0,000906
NaOH + peroxid	0,000000	0,008229		0,212036	0,011435	0,000000	0,000004
Peroxid	0,000000	0,000625	0,212036		0,000862	0,000000	0,000001
Ozon	0,000000	0,870507	0,011435	0,000862		0,000000	0,000657
Použitý	0,000016	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000		0,000000
Čistý	0,000000	0,000906	0,000004	0,000001	0,000657	0,000000	

Příloha X: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro 7 hlavních vzorků					
Efekt	Stupně (volnosti)	Polyfenoly (SČ)	Polyfenoly (PČ)	Polyfenoly (F)	Polyfenoly (p)
Abs. člen	1	916123,0	916123,0	194777,8	0,000000
Vzorek	6	4585,4	764,2	162,5	0,000000
Chyba	14	65,8	4,7		
Celkem	20	4651,2			

Příloha XI: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro celkový obsah polyfenolů							
	Úroveň Faktor	N	Polyfenoly Průměr	Polyfenoly Sm. odch.	Polyfenoly Sm. ch.	Polyfenoly -95,00%	Polyfenoly 95,00%
Celkem		21	208,8658	15,2500	3,3278	201,9241	215,8075
Vzorek	Srovnávací	3	236,3220	2,5773	1,4880	229,9196	242,7244
	NaOH	3	198,9457	1,7182	0,9920	194,6775	203,2139
	NaOH + peroxid	3	204,3910	1,5319	0,8844	200,5856	208,1964
	Peroxid	3	206,7067	2,5006	1,4437	200,4947	212,9186
	Ozon	3	199,2397	3,6923	2,1318	190,0674	208,4119
	Použitý	3	224,9317	0,4710	0,2719	223,7616	226,1018
	Čistý	3	191,5237	0,9350	0,5398	189,2009	193,8464

Příloha XII: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná DPPH							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 0,00055; sv = 14,000							
Vzorek	Srovnávací 1,6376	NaOH 1,3066	NaOH + peroxid 1,3093	Peroxid 1,4053	Ozon 1,3889	Použitý 1,5332	Čistý 1,2743
Srovnávací		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000085	0,000000
NaOH	0,000000		0,891930	0,000147	0,000737	0,000000	0,113873
NaOH + peroxid	0,000000	0,891930		0,000190	0,000964	0,000000	0,089453
Peroxid	0,000000	0,000147	0,000190		0,407217	0,000011	0,000008
Ozon	0,000000	0,000737	0,000964	0,407217		0,000003	0,000033
Použitý	0,000085	0,000000	0,000000	0,000011	0,000003		0,000000
Čistý	0,000000	0,113873	0,089453	0,000008	0,000033	0,000000	

Příloha XIII: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro 7 hlavních vzorků					
Efekt	Stupně (volnosti)	DPPH (SČ)	DPPH (PČ)	DPPH (F)	DPPH (p)
Abs. člen	1	41,62485	41,62485	75641,05	0,000000
Vzorek	6	0,31994	0,05332	96,90	0,000000
Chyba	14	0,00770	0,00055		
Celkem	20	0,32765			

Příloha XIV: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro antioxidační kapacitu měřenou metodou DPPH							
	Úroveň Faktor	N	DPPH Průměr	DPPH Sm. odch.	DPPH Sm. ch.	DPPH -95,00%	DPPH 95,00%
Celkem		21	1,40788	0,12799	0,02793	1,34962	1,46615
Vzorek	Srovnávací	3	1,63760	0,01427	0,00824	1,60215	1,67305
	NaOH	3	1,30662	0,01324	0,00764	1,27374	1,33949
	NaOH + peroxid	3	1,30927	0,03858	0,02228	1,21342	1,40511
	Peroxid	3	1,40530	0,02621	0,01513	1,34020	1,47040
	Ozon	3	1,38893	0,01247	0,00720	1,35795	1,41992
	Použitý	3	1,53315	0,03330	0,01923	1,45043	1,61587
	Čistý	3	1,27432	0,00579	0,00334	1,25994	1,28870

Příloha XV: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná FRAP							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 0,00185; sv = 14,000							
Vzorek	Srovnávací 2,3052	NaOH 1,7986	NaOH + peroxid 1,7456	Peroxid 1,9369	Ozon 1,8990	Použitý 2,1557	Čistý 1,7058
Srovnávací		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000791	0,000000
NaOH	0,000000		0,153101	0,001474	0,012566	0,000000	0,019156
NaOH + peroxid	0,000000	0,153101		0,000085	0,000638	0,000000	0,275078
Peroxid	0,000000	0,001474	0,000085		0,298065	0,000022	0,000012
Ozon	0,000000	0,012566	0,000638	0,298065		0,000004	0,000077
Použitý	0,000791	0,000000	0,000000	0,000022	0,000004		0,000000
Čistý	0,000000	0,019156	0,275078	0,000012	0,000077	0,000000	

Příloha XVI: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro 7 hlavních vzorků					
Efekt	Stupně (volnosti)	FRAP (SČ)	FRAP (PČ)	FRAP (F)	FRAP (p)
Abs. člen	1	78,65214	78,65214	42601,83	0,000000
Vzorek	6	0,88215	0,14703	79,64	0,000000
Chyba	14	0,02585	0,00185		
Celkem	20	0,90800			

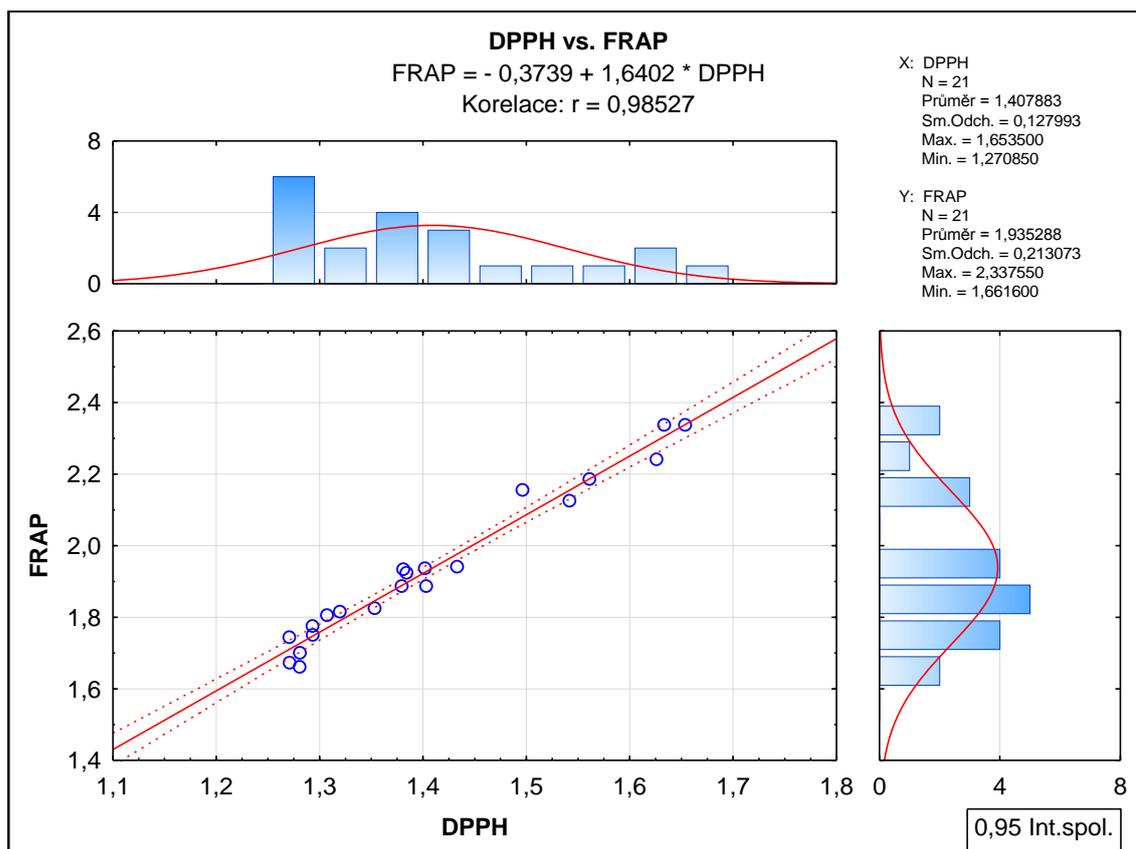
Příloha XVII: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro antioxidační kapacitu měřenou metodou FRAP							
	Úroveň Faktor	N	FRAP Průměr	FRAP Sm. odch.	FRAP Sm. ch.	FRAP -95,00%	FRAP 95,00%
Celkem		21	1,93529	0,21307	0,04650	1,83830	2,03228
Vzorek	Srovnávací	3	2,30522	0,05574	0,03218	2,16674	2,44369
	NaOH	3	1,79865	0,02102	0,01214	1,74644	1,85086
	NaOH + peroxid	3	1,74565	0,08187	0,04727	1,54227	1,94903
	Peroxid	3	1,93695	0,00381	0,00220	1,92750	1,94640
	Ozon	3	1,89903	0,02180	0,01259	1,84489	1,95318
	Použitý	3	2,15572	0,03008	0,01736	2,08101	2,23043
	Čistý	3	1,70580	0,03574	0,02064	1,61701	1,79459

Příloha XVIII: Korelační vztah mezi metodami DPPH a FRAP

Korelace				
Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < 0,05000$				
Proměnná	Průměry	Sm. odch.	DPPH	FRAP
DPPH	1,407883	0,127993	1,000000	0,985268
FRAP	1,935288	0,213073	0,985268	1,000000

Příloha XIX: Grafické znázornění korelačního vztahu mezi metodami DPPH a FRAP



Příloha XX: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná L*							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 0,10038; sv = 14,000							
Vzorek	Srovnávací 97,707	NaOH 98,105	NaOH + peroxid 98,321	Peroxid 98,285	Ozon 98,014	Použitý 98,355	Čistý 97,957
Srovnávací		0,045709	0,032321	0,042190	0,255268	0,025099	0,349613
NaOH	0,045709		0,417538	0,498479	0,728355	0,049986	0,575804
NaOH + peroxid	0,032321	0,417538		0,890303	0,253941	0,897203	0,180872
Peroxid	0,042190	0,498479	0,890303		0,311830	0,789582	0,225546
Ozon	0,255268	0,728355	0,253941	0,311830		0,207594	0,830163
Použitý	0,025099	0,049986	0,897203	0,789582	0,207594		0,045896
Čistý	0,349613	0,575804	0,180872	0,225546	0,830163	0,045896	

Příloha XXI: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou Pro 7 hlavních vzorků					
Efekt	Stupně (volnosti)	L* (SČ)	L* (PČ)	L* (F)	L* (p)
Abs. člen	1	202121,6	202121,6	2013587	0,000000
Vzorek	6	1,0	0,2	2	0,206597
Chyba	14	1,4	0,1		
Celkem	20	2,4			

Příloha XXII: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro barevnost - L*							
	Úroveň Faktor	N	L* Průměr	L* Sm. odch.	L* Sm. ch.	L* -95,00%	L* 95,00%
Celkem		21	98,10625	0,346238	0,075555	97,94865	98,26386
Vzorek	Srovnávací	3	97,70663	0,329117	0,190016	96,88906	98,52421
	NaOH	3	98,10517	0,115938	0,066937	97,81716	98,39317
	NaOH + peroxid	3	98,32127	0,397051	0,229237	97,33494	99,30760
	Peroxid	3	98,28493	0,329138	0,190028	97,46731	99,10256
	Ozon	3	98,01350	0,388756	0,224449	97,04778	98,97922
	Použitý	3	98,35530	0,217902	0,125806	97,81400	98,89660
	Čistý	3	97,95697	0,341025	0,196891	97,10981	98,80412

Příloha XXIII: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná a*							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 0,00077; sv = 14,000							
Vzorek	Srovnávací -0,6221	NaOH -0,9116	NaOH + peroxid -0,8908	Peroxid -0,8931	Ozon -0,8715	Použitý -0,8742	Čistý -0,8975
Srovnávací		0,000174	0,000174	0,000174	0,000174	0,000174	0,000174
NaOH	0,000174		0,043906	0,979300	0,048770	0,048821	0,994905
NaOH + peroxid	0,000174	0,043906		1,000000	0,974335	0,988131	0,999928
Peroxid	0,000174	0,979300	1,000000		0,956674	0,977404	0,999994
Ozon	0,000174	0,048770	0,974335	0,956674		1,000000	0,902917
Použitý	0,000174	0,048821	0,988131	0,977404	1,000000		0,939847
Čistý	0,000174	0,994905	0,999928	0,999994	0,902917	0,939847	

Příloha XXIV: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou Pro 7 hlavních vzorků					
Efekt	Stupně (volnosti)	a* (SČ)	a* (PČ)	a* (F)	a* (p)
Abs. člen	1	15,22695	15,22695	19708,93	0,000000
Vzorek	6	0,18765	0,03127	40,48	0,000000
Chyba	14	0,01082	0,00077		
Celkem	20	0,19846			

Příloha XXV: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro barevnost - a*							
	Úroveň Faktor	N	a* Průměr	a* Sm. odch.	a* Sm. ch.	a* -95,00%	a* 95,00%
Celkem		21	-0,851524	0,099615	0,021738	-0,89687	-0,806180
Vzorek	Srovnávací	3	-0,622067	0,030277	0,017480	-0,69728	-0,546855
	NaOH	3	-0,911567	0,012616	0,007284	-0,94291	-0,880227
	NaOH + peroxid	3	-0,890800	0,006465	0,003732	-0,90686	-0,874741
	Peroxid	3	-0,893067	0,023625	0,013640	-0,95175	-0,834379
	Ozon	3	-0,871467	0,037674	0,021751	-0,96506	-0,777878
	Použitý	3	-0,874233	0,024381	0,014076	-0,93480	-0,813669
	Čistý	3	-0,897467	0,041456	0,023934	-1,00045	-0,794485

Příloha XXVI: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná b*							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 0,00291; sv = 14,000							
Vzorek	Srovnávací 8,2258	NaOH 6,2393	NaOH + peroxid 6,2011	Peroxid 6,5389	Ozon 6,5403	Použitý 6,6783	Čistý 6,0563
Srovnávací		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
NaOH	0,000000		0,400387	0,000009	0,000008	0,000000	0,000975
NaOH + peroxid	0,000000	0,400387		0,000002	0,000002	0,000000	0,005409
Peroxid	0,000000	0,000009	0,000002		0,976277	0,006903	0,000000
Ozon	0,000000	0,000008	0,000002	0,976277		0,007331	0,000000
Použitý	0,000000	0,000000	0,000000	0,006903	0,007331		0,000000
Čistý	0,000000	0,000975	0,005409	0,000000	0,000000	0,000000	

Příloha XXVII: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou Pro 7 hlavních vzorků					
Efekt	Stupně (volnosti)	b* (SČ)	b* (PČ)	b* (F)	b* (p)
Abs. člen	1	925,8776	925,8776	318198,6	0,000000
Vzorek	6	9,6906	1,6151	555,1	0,000000
Chyba	14	0,0407	0,0029		
Celkem	20	9,7313			

Příloha XXVIII: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro barevnost - b*							
	Úroveň Faktor	N	b* Průměr	b* Sm. odch.	b* Sm. ch.	b* -95,00%	b* 95,00%
Celkem		21	6,639986	0,697543	0,152216	6,322468	6,957504
Vzorek	Srovnávací	3	8,225767	0,055537	0,032065	8,087804	8,363729
	NaOH	3	6,239267	0,091448	0,052798	6,012096	6,466437
	NaOH + peroxid	3	6,201067	0,037643	0,021733	6,107556	6,294577
	Peroxid	3	6,538933	0,056894	0,032848	6,397601	6,680266
	Ozon	3	6,540267	0,021911	0,012650	6,485837	6,594696
	Použitý	3	6,678267	0,021465	0,012393	6,624944	6,731590
	Čistý	3	6,056333	0,057674	0,033298	5,913064	6,199602

Příloha XXIX: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná polyfenoly Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 30,605; sv = 4,000		
Vzorek	Víno před použitím PVPP 168,73	Víno po použití PVPP 122,88
Víno před použitím PVPP		0,000531
Víno po použití PVPP	0,000531	

Příloha XXX: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou Pro vzorky: Víno před použitím PVPP Víno po použití PVPP					
Efekt	Stupně (volnosti)	Polyfenoly (SČ)	Polyfenoly (PČ)	Polyfenoly (F)	Polyfenoly (p)
Abs. člen	1	127554,6	127554,6	4167,722	0,000000
Vzorek	1	3152,6	3152,6	103,008	0,000531
Chyba	4	122,4	30,6		
Celkem	5	3275,0			

Příloha XXXI: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro celkový obsah polyfenolů							
	Úroveň Faktor	N	Polyfenoly Průměr	Polyfenoly Sm. odch.	Polyfenoly Sm. ch.	Polyfenoly -95,00%	Polyfenoly 95,00%
Celkem		6	145,8050	25,59305	10,44832	118,9467	172,6633
Vzorek	Víno před použitím PVPP	3	168,7273	7,08839	4,09248	151,1188	186,3359
	Víno po použití PVPP	3	122,8827	3,31142	1,91185	114,6567	131,1087

Příloha XXXII: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná DPPH		
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy		
Chyba: meziskup. PČ = 0,00016; sv = 4,000		
Vzorek	Víno před použitím PVPP 1,0523	Víno po použití PVPP 0,83712
Víno před použitím PVPP		0,000032
Víno po použití PVPP	0,000032	

Příloha XXXIII: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro vzorky: Víno před použitím PVPP					
Víno po použití PVPP					
Efekt	Stupně (volnosti)	DPPH (SČ)	DPPH (PČ)	DPPH (F)	DPPH (p)
Abs. člen	1	5,355032	5,355032	33299,42	0,000000
Vzorek	1	0,069477	0,069477	432,03	0,000032
Chyba	4	0,000643	0,000161		
Celkem	5	0,070121			

Příloha XXXIV: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro antioxidační kapacitu měřenou metodou DPPH							
	Úroveň Faktor	N	DPPH Průměr	DPPH Sm. odch.	DPPH Sm. ch.	DPPH -95,00%	DPPH 95,00%
Celkem		6	0,944725	0,118423	0,048346	0,820447	1,069003
Vzorek	Víno před použitím PVPP	3	1,052333	0,004168	0,002406	1,041979	1,062688
	Víno po použití PVPP	3	0,837117	0,017443	0,010071	0,793786	0,880447

Příloha XXXV: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná FRAP		
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy		
Chyba: meziskup. PČ = 0,00030; sv = 4,000		
Vzorek	Víno před použitím PVPP 1,3385	Víno po použití PVPP 1,1866
Víno před použitím PVPP		0,000420
Víno po použití PVPP	0,000420	

Příloha XXXVI: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro vzorky: Víno před použitím PVPP					
Víno po použití PVPP					
Efekt	Stupně (volnosti)	FRAP (SČ)	FRAP (PČ)	FRAP (F)	FRAP (p)
Abs. člen	1	9,563816	9,563816	32122,76	0,000000
Vzorek	1	0,034603	0,034603	116,22	0,000420
Chyba	4	0,001191	0,000298		
Celkem	5	0,035794			

Příloha XXXVII: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro antioxidační kapacitu měřenou metodou FRAP							
	Úroveň Faktor	N	FRAP Průměr	FRAP Sm. odch.	FRAP Sm. ch.	FRAP -95,00%	FRAP 95,00%
Celkem		6	1,262525	0,084609	0,034542	1,173733	1,351317
Vzorek	Víno před použitím PVPP	3	1,338467	0,019030	0,010987	1,291195	1,385739
	Víno po použití PVPP	3	1,186583	0,015275	0,008819	1,148638	1,224529

Příloha XXXVIII: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná L*		
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy		
Chyba: meziskup. PČ = 0,10046; sv = 4,000		
Vzorek	Víno před použitím PVPP 94,378	Víno po použití PVPP 95,378
Víno před použitím PVPP		0,018063
Víno po použití PVPP	0,018063	

Příloha XXXIX: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro vzorky: Víno před použitím PVPP					
Víno po použití PVPP					
Efekt	Stupně (volnosti)	L* (SČ)	L* (PČ)	L* (F)	L* (p)
Abs. člen	1	54010,97	54010,97	537650,0	0,000000
Vzorek	1	1,50	1,50	14,9	0,018063
Chyba	4	0,40	0,10		
Celkem	5	1,90			

Příloha XL: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro barevnost - L*							
	Úroveň Faktor	N	L* Průměr	L* Sm. odch.	L* Sm. ch.	L* -95,00%	L* 95,00%
Celkem		6	94,87797	0,616900	0,251849	94,23057	95,52536
Vzorek	Víno před použitím PVPP	3	94,37780	0,395602	0,228401	93,39507	95,36053
	Víno po použití PVPP	3	95,37813	0,210746	0,121675	94,85461	95,90166

Příloha XLI: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná a*		
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy		
Chyba: meziskup. PČ = 0,00043; sv = 4,000		
Vzorek	Víno před použitím PVPP 0,21517	Víno po použití PVPP -0,3653
Víno před použitím PVPP		0,000004
Víno po použití PVPP	0,000004	

Příloha XLII: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro vzorky: Víno před použitím PVPP					
Víno po použití PVPP					
Efekt	Stupně (volnosti)	a* (SČ)	a* (PČ)	a* (F)	a* (p)
Abs. člen	1	0,033795	0,033795	78,017	0,000907
Vzorek	1	0,505354	0,505354	1166,633	0,000004
Chyba	4	0,001733	0,000433		
Celkem	5	0,507087			

Příloha XLIII: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro barevnost - a*							
	Úroveň Faktor	N	a* Průměr	a* Sm. odch.	a* Sm. ch.	a* -95,00%	a* 95,00%
Celkem		6	-0,075050	0,318461	0,130011	-0,409254	0,259154
Vzorek	Víno před použitím PVPP	3	0,215167	0,024508	0,014150	0,154285	0,276048
	Víno po použití PVPP	3	-0,365267	0,016300	0,009411	-0,405758	-0,324775

Příloha XLIV: Statistická významnost jednotlivých rozdílů středních hodnot

LSD test; proměnná b*		
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy		
Chyba: meziskup. PČ = 0,01098; sv = 4,000		
Vzorek	Víno před použitím PVPP 6,8933	Víno po použití PVPP 5,797
Víno před použitím PVPP		0,000214
Víno po použití PVPP	0,000214	

Příloha XLV: Jednorozměrné výsledky analýzy rozptylu

Jednorozměrné výsledky pro každou závislou proměnnou					
Pro vzorky: Víno před použitím PVPP					
Víno po použití PVPP					
Efekt	Stupně (volnosti)	b* (SČ)	b* (PČ)	b* (F)	b* (p)
Abs. člen	1	241,5643	241,5643	21998,15	0,000000
Vzorek	1	1,8029	1,8029	164,18	0,000214
Chyba	4	0,0439	0,0110		
Celkem	5	1,8468			

Příloha XLVI: Popisné statistiky

Popisné statistiky pro barevnost - b*							
	Úroveň Faktor	N	b* Průměr	b* Sm. odch.	b* Sm. ch.	b* -95,00%	b* 95,00%
Celkem		6	6,345133	0,607757	0,248116	5,707331	6,982935
Vzorek	Víno před použitím PVPP	3	6,893300	0,132293	0,076379	6,564666	7,221934
	Víno po použití PVPP	3	5,796967	0,066789	0,038561	5,631054	5,962880