

Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici



**Zahradnická
fakulta**

MOŽNOSTI REGULACE KYSELIN PŘI VÝROBĚ VÍNA
Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce :

Ing. Miroslav Horák, Ph.D.

Vypracoval:

Bc. Lenka Turečková

Lednice 2016

Zadanie

Čestné prehlásenie

Prehlasujem, že som prácu: Možnosti regulácie kyselín pri výrobe vína vypracovala samostatne a všetky použité pramene a informácie uvádzam v zozname použitej literatúry. Súhlasím, aby moja práca bola zverejnená v súlade s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách v znení neskorších predpisov a v súlade s platnou *Smernicou o zverejňovaní vysokoškolských prác*.

Som si vedomá, že sa na moju prácu vzťahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brne má právo na uzavretie licenčnej zmluvy a využitie tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst. 1 autorského zákona.

Ďalej sa zaväzujem, že pred spísaním licenčnej zmluvy o využití diela inou osobou (subjektom) si vyžiadam písomné stanovisko univerzity, že predmetná licenčná zmluva nie je v rozpore s oprávnenými záujmami univerzity a zaväzujem sa uhradiť prípadný príspevok na úhradu nákladov spojených so vznikom diela, a to až do jej skutočnej výšky.

V Lednici, dňa:

.....
podpis

Pod'akovanie

Ďakujem konzultantovi mojej diplomovej práce Ing. Miroslavovi Horákovi, Ph.D. za odborné vedenie a cenné pripomienky pri tvorbe diplomovej práce. Súčasne ďakujem všetkým, ktorí mi vyšli v ústrety pri tvorbe diplomovej práce. V neposlednom rade ďakujem môjmu starému otcovi Jozefovi Hatalovi za cenné pripomienky a za poskytnutie materiálu pre založenie pokusu.

OBSAH

| | |
|---|----|
| 1 ÚVOD | 9 |
| 2 CIEĽ PRÁCE | 10 |
| 3 LITERÁRNY PREHĽAD | 11 |
| 3.1 Látkové zloženie vína | 11 |
| 3.1.1 Alkoholy..... | 11 |
| 3.1.2 Sacharidy..... | 12 |
| 3.1.3 Pektíny | 13 |
| 3.1.4 Kyseliny | 13 |
| 3.1.5 Minerálne látky | 21 |
| 3.1.6 Dusíkaté látky | 22 |
| 3.1.7 Farbivá vo víne..... | 22 |
| 3.1.8 Bielkoviny | 23 |
| 3.1.9 Polyfenoly (Triesloviny) | 23 |
| 3.1.10 Aromatické a bukétne látky | 23 |
| 3.1.11 Cudzorodé látky vo víne | 24 |
| 3.2 Možnosti regulácie kyselín | 24 |
| 3.2.1 Znižovanie obsahu kyselín..... | 25 |
| 3.2.2 Jablčno – mliečna fermentácia..... | 30 |
| 3.2.3 Zvyšovanie obsahu kyselín | 35 |
| 4 MATERIÁL A METODIKA | 39 |
| 4.1 Materiál..... | 39 |
| 4.2 Použité metódy | 40 |
| 4.2.1 Stanovenie hodnoty pH a obsahu titrovateľných kyselín | 42 |
| 4.2.2 Stanovenie obsahu vybraných organických kyselín | 43 |
| 4.2.3 Stanovenie obsahu alkoholu..... | 44 |

| | |
|--|----|
| 4.2.4 Stanovenie farebných zmien | 44 |
| 4.2.5 Senzorické hodnotenie | 45 |
| 4.2.6 Použité štatistické metódy | 46 |
| 5 VÝSLEDKY A DISKUSIA | 47 |
| 5.1 Meranie pH | 48 |
| 5.2 Obsah titrovateľných kyselín | 50 |
| 5.3 Vybrané organické kyseliny | 53 |
| 5.4 Obsah alkoholu | 59 |
| 5.5 Vývoj farebných zmien | 61 |
| 5.6 Senzorické hodnotenie | 63 |
| 6 ZÁVER | 67 |
| 7 ZHRNUTIE | 69 |
| 8 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY | 70 |

Zoznam obrázkov

Obr. 1 kyselina vínna

Obr. 2 varianty degradácie kyseliny vínnej

Obr. 3 kyselina jablčná

Obr. 4 kyselina L-(+) a D-(-)-mliečna

Obr. 5 kyselina citrónová

Obr. 6 degradácia kyseliny citrónovej, zjednodušená verzia

Obr. 7 kyselina jantárová

Obr. 8 kyselina pyrohroznová

Obr. 9 kyselina octová

Obr. 10 reakcia odkyslenia uhličitanom vápenatým

Obr. 11 premena kyseliny jablčnej na kyselinu mliečnu počas JMF

Obr. 12 štartovacia kultúra Viniflora Oenos

Obr. 13 Vzorec pre výpočet zmeny farby

Zoznam tabuliek

Tab. 1: Meranie pred založením pokusu

Tab. 2: Prehľad dátumov a dní odoberania vzoriek

Tab. 3: Výsledky alkoholu, titrovateľných kyselín, pH a obsahu vybraných kyselín vo víne na začiatku pokusu

Tab. 4: Výsledky alkoholu, titrovateľných kyselín, pH a obsahu vybraných kyselín vo víne na konci pokusu

Tab. 5: Výsledky hodnôt $L^*a^*b^*$ na začiatku a na konci pokusu

Tab. 6: Senzorické hodnotenie vín podľa úsečiek

Zoznam grafov

Graf 1: Zmena hodnoty pH u odrody Zweigeltrebe (Zw.)

Graf 2: Zmena hodnoty pH u odrody Svätovavrinské (Sv.)

Graf 3: Zmeny obsahu titrovateľných kyselín u vín odrody Zw.

Graf 4: Zmeny obsahu titrovateľných kyselín u vín odrody Sv.

Graf 5: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom mliečnych baktérií odrody Zw.

- Graf 6: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom síry odrody Zw.
- Graf 7: Zmeny obsahu kyselín u vína bez ošetrenia Zw.
- Graf 8: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom mliečnych baktérií odrody Sv.
- Graf 9: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom síry u odrody Sv.
- Graf 10: Zmeny obsahu kyselín u vína bez ošetrenia u odrody Sv.
- Graf 11: Zmeny obsahu alkoholu na začiatku a na konci u odrody Zw.
- Graf 12: Zmeny obsahu alkoholu na začiatku a na konci u odrody Sv.
- Graf 13: Vývoj farebných zmien vyjadrených pomocou ΔE u odrody Zw.
- Graf 14: Vývoj farebných zmien vyjadrených pomocou ΔE u odrody Sv.
- Graf 15: Senzorický profil intenzity chuti a vône vína odrody Zw.
- Graf 16: Senzorický profil intenzity chuti a vône vína Sv.

1 ÚVOD

Víno je z odborného hľadiska komplikovaný prírodný produkt, ktorý v sebe prechováva, a zároveň časom aj mení, veľké množstvo pôvodných ale aj získaných látok, a ich trvalých a meniacich sa vlastností (HARMATHA, 2011).

Medzi najvýznamnejšie zložky vína patria kyseliny, sacharidy, alkoholy, aromatické a bukétne látky, ktoré dávajú vínam typickú chuť, patričnú harmonickosť a plnosť. Pre získanie kvalitnejšieho produktu je bezpochybne nutná vyváženosť a harmónia obsahu kyselín. Príliš vysoký alebo naopak nízky obsah kyselín vyvoláva vo víne neharmonickú chuť. Vzhľadom k polohe viníc a klimatických podmienok na našom území sa stretávame skôr s vysokým obsahom kyselín vo víne. Najväčší vplyv na celkový dojem vína má predovšetkým kyselina jablčná a kyselina vínna. Keďže kyselina jablčná vo víne tvorí ostrú a kyslú chuť, často sa po alkoholovej fermentácii prechádza na jablčno - mliečnu fermentáciu.

Jablčno – mliečna fermentácia alebo inak biologické odbúravanie kyselín vo víne odbúrava spomínanú, v chuti ostrú, kyselinu jablčnú za vzniku jemnejšej a v chuti plnejšej kyseliny mliečnej s malým množstvom oxidu uhličitého. Okrem zjemnenia a zharmonizovania chuti má vplyv aj na mikrobiálnu stabilitu vína. Aj keď sa používa označenie fermentácia, o fermentáciu sa v jej hlavnom význame vôbec nejedná, ide totiž o enzymatickú reakciu (MORENO-ARRIBAS et al., 2009). Na tomto procese sa podieľajú baktérie mliečneho kvasenia. Pri riadenom procese sa využíva predovšetkým druh *Oenococcus oeni*. Môže nastať aj metabolický proces prebiehajúci samovoľne po alkoholovej fermentácii na prítomnej mikroflóre vína, kedy sa jedná o spontánnu jablčno – mliečnu fermentáciu. Pre úspešné odbúranie kyseliny jablčnej pomocou mliečnych baktérií by mali byť vytvorené vhodné podmienky prostredia ako pH, teplota prostredia, obsah alkoholu a obsah oxidu siričitého vo víne. K jablčno – mliečnej fermentácii sa pristupuje u bielych vín, ale najmä u vín červených odrôd.

2 CIEĽ PRÁCE

Cieľom diplomovej práce bolo preštudovať odbornú literatúru, ktorá sa zaoberá látkovým zložením vína, s dôrazom na organické kyseliny. Preštudovať a popísať možnosti regulácie kyselín vo vínach predovšetkým pomocou jablčno-mliečnej fermentácie a spracovať literárnu časť diplomovej práce. Založiť pokusné varianty u vybraných červených vín, v ktorých sa uskutoční inokulácia baktérií mliečneho kvasenia. V pravidelných intervaloch sledovať vo víne látkové zloženie a senzorickú akosť hotových vín. Získané výsledky vyhodnotiť pomocou vhodných metód a porovnať s odbornou literatúrou.

3 LITERÁRNY PREHĽAD

3.1 Látkové zloženie vína

Podľa zákona č. 115/1995 Sb., o vinohradníctve a vinárstve sa pod pojmom víno rozumie produkt, ktorý bol získaný úplným alebo čiastočným alkoholovým kvasením hroznového muštu z odrôd révy vínnej, registrovaných v štátnej odrodovej knihe.

K pôvodným súčasťam muštu sa radí voda, cukry, kyseliny, triesloviny, aromatické látky a fenolové látky, farbiva, minerálne látky najmä draselné a vápenné soli, dusíkaté látky, enzýmy, vitamíny, tuky, vosky a oleje. Celkovú akosť hroznového muštu ovplyvňuje veľa faktorov. Záleží najmä na odrode viniča hroznorodého, vegetačnom období, na podmienkach okolitého prostredia a agrotechnických zásahov vykonaných pri pestovaní viniča (PAVLOUŠEK, 2008; KRAUS et al., 1997; FARKAŠ 1973).

Víno obsahuje látky, ktoré boli pôvodne súčasťou muštu ďalej látky vznikajúce pri kvasení a látky cudzorodé, ktoré sa do vína dostávajú počas technologického procesu, patria buď k bežným žiadaným zložkám alebo do vína vôbec nepatria. Okrem zmien chemického zloženia nastávajú tiež zmeny chuti a charakteru. Medzi látky, ktoré majú na tomto podstatný vplyv zaraďujeme alkoholy, sacharidy, primárne produkty kvasenia, acetaly, fural a jeho deriváty kyseliny, minerálne látky (popoloviny), dusíkaté zlúčeniny, bielkoviny, polyfenoly, aromatické látky (KRAUS et al., 2005).

3.1.1 Alkoholy

Tvorí sa pri kvasení muštov, rozkladom cukru kvasinkami na alkohol a oxid uhličitý. Vyšší obsah alkoholu zaisťuje vyššiu stabilitu vína proti kvasničným zákalom aj rôznym bakteriálnym ochoreniam, ako je octovatenie vína, mliečne kvasenie, kriedovatenie (vytváranie bieleho povlaku) a ďalšie. Obsah 10 % obj. alkoholu vo vínach je minimálnou hranicou zaisťujúcou určitú mikrobiologickú stabilitu vína (KRAUS et al., 1997). Hlavnou zložkou alkoholu vo víne je ethanol. Ďalšie alkoholy vo víne sú metanol, vyššie alkoholy, glycerol a 2,3-butandiol.

Etanol - Po vode je etanol (etylalkohol) hlavnou zložkou vína s priemernými 9 – 13 % obj. čo odpovedá 72 až 104 g.l⁻¹. Je dôležitým akostným kritériom, pretože často súvisí s obchodnou hodnotou vína. Jeho zásluhou je víno plné a extraktívne a podporuje aj arómu vo víne (STEIDL, 2002).

Metanol - Vzniká z pektínu účinkom pektolytického enzýmu pektinesterazy, ktorý z pektínu odštiepuje metanol. Odbúraním pektínu sa zvyšuje nakvasenie muštu u červených vín. Bežný obsah metanolu sa pohybuje u bieleho vína medzi 0,02 až 0,1 g.l⁻¹, u červeného vína medzi 0,06 až 0,23 g.l⁻¹.

Vyššie alkoholy - Aj keď sú vo víne zastúpené len v relatívne malom množstve 0,15 až 0,70 g.l⁻¹, majú výrazný vplyv na chuť a vôňu dôležitú pre arómu vína. Často sú nazývané pribudlinou. Vyššie alkoholy opätovne vznikajú z produktov vzniknutých odbúraním cukrov počas kvasenia. Patria preto medzi tzv. sekundárne produkty kvasenia a sú dôsledkom množenia kvasiniek.

Glycerol - Vzniká pri kvasení ako primárny produkt, ktorý zjemňuje chuť vína a ovplyvňuje priaznivo aj jeho plnosť. Vzniká prevažne na začiatku kvasenia a je vytváraný predovšetkým divokými kvasinkami

2,3-butandiol – Inak nazvaný, butylenglykol, je zlúčenina, ktorá sa nachádza vo víne v množstve od 0,40 do 0,70 g.l⁻¹ a bezprostredne súvisí s obsahom etanolu. V sladkých vínach je jeho výskyt dôkazom kvasenia.

3.1.2 Sacharidy

Spoločným názvom sa sacharidy označujú polyhydroxyaldehydy a polyhydroxyketony. Základné a najčastejšie používané delenie sacharidov je podľa počtu stavebných jednotiek na monosacharidy a oligosacharidy. Pre svoju sladkú chuť a často aj mnoho spoločných vlastností bývajú monosacharidy a oligosacharidy označované spoločným názvom cukry (VELÍŠEK, 2002).

V najväčšom množstve sa vyskytujú dva monosacharidy a to glukóza a fruktóza. Počas kvasenia sa premieňajú rozdielnou rýchlosťou. V malých koncentráciách obsahuje víno aj pentózy, ktoré nie sú skvasiteľné a ich obsah ovplyvňuje hodnoty pri

analytickom stanovení cukrov spravidla 0,5 až 1 g.l⁻¹. Polysacharidy sú ako podstatná časť koloidných zlúčenín vo víne nežiaduce, môžu spôsobovať problémy pri filtrácii. Na ovplyvnenie chuti je v súčasnosti rozporný názor (STEIDL, 2002).

Na meranie obsahu sacharidov v muštoch sa v praxi používa v Českej republike Český normalizovaný muštomer (°NM), ktorý udáva počet kilogramov cukrov v 100 litroch muštu pri 15 °C.

3.1.3 Pektíny

Pektíny sú deriváty kyseliny polygalakturónovej, ich karboxylové skupiny sú esterifikované metanolom. Keďže sa pri kvasení hydrolyzujú, je ich obsah vo víne menší než v pôvodnom mušte. Aj tak sa ale môžu podieľať na procese vyzrážania nestabilných koloidných látok pri zrení vína. Pri odbúravaní pektínov vzniká okrem iných látok aj malé množstvo metanolu, najmä však u vín nakvasovaných spoločne so strapinami a u matolínových vín (tzv. druhákov) (KRAUS et al., 1997).

3.1.4 Kyseliny

Karboxylové kyseliny sú významné zložky predovšetkým produktov rastlinného pôvodu. Ovpływujú priebeh enzýmových a chemických reakcií. Ovpływujú organoleptické a technologické vlastnosti, mikrobiologickú stabilitu počas skladovania a spracovania.

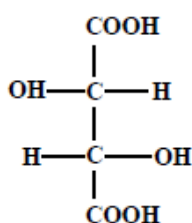
Ako vonné a chuťové látky sa uplatňujú predovšetkým nižšie mastné kyseliny a niektoré aromatické kyseliny. Ako chuťové látky majú najväčší význam viacsýtné karboxylové kyseliny. Z alifatických kyselín potom octová a mliečna kyselina, ktoré sú významnými nositeľmi kyslej chuti. Rovnaký význam ako vonné a chuťové látky však majú tiež mastné kyseliny so stredne dlhým uhlíkovým reťazcom, ktoré sú najmä vo forme triacylglycerolov. Rada karboxylových kyselín je prekursorom ďalších vonných a chuťových látok ako sú napríklad príslušné estery a laktóny (VELÍŠEK, 2002).

Veľmi dôležité je počas dozrievania hrozien a najmä v období zberu a spracovania hrozien, zisťovať pre ich prípadnú úpravu i obsah kyselín, ktorý stanovujeme titráciou. Väčšinou obsahu kyselín tvoria kyselina vínna a jablčná, v menšom množstve aj kyselina citrónová, jantárová a octová. V nevyzretých ročníkoch

prevažuje kyselina jablčná, naopak v dobre vyzretých ročníkoch prevažuje kyselina vínna. Organické kyseliny majú konzervačný účinok, povzbudzujú tráviace žľazy a zosilňujú chuť k jedlu. pH muštu a mladých vín sa pohybuje v rozmedzí 3 až 4 a počas zrenia vína sa mierne zvyšuje. Kyslosť vína sa vyjadruje ako obsah titrovateľných kyselín v gramoch na liter (g.l^{-1}) vína, prepočítaných na kyselinu vínnu. Pritom sa nesmie zabudnúť, že rôzne iné kyseliny a substancie zaťažujú ich stanovenie v mušte. Obsah titrovateľných kyselín vo víne je závislý predovšetkým na odrode, pôde, polohe viniča, stupni zrelosti, spracovaných hroziach a na ročníku. V priemerných ročníkoch je bežná hodnota kyselín 6 až 12 g.l^{-1} muštu, zatiaľ čo v zlých ročníkoch môže obsah titrovateľných kyselín stúpnuť až na hodnoty okolo 20 g.l^{-1} muštu. V priebehu výroby vína a jeho zrenia sa obsah všetkých kyselín cielene mení a upravuje tak, že ich celkový obsah je priemerne 5 až 6 g.l^{-1} vína (KRAUS et al., 1997; STEIDL 2002).

Kyselina vínna - jedná sa o kyselinu dikarboxylovú (2,3-dihydroxybutandiová, alebo niekedy označovaná ako dihydroxyjantárová) s dvoma asymetrickými uhlíkmi vďaka ktorým môže vytvárať niekoľko isomerných foriem. Kyselina vínna zo sumárnym vzorcom: $\text{COOH-CHOH-CHOH-COOH}$, má pre výrobu vína zásadný význam, v prírode sa vyskytuje prakticky výhradne ako L-(+)-vínna, len výnimočne aj ako D-(-)-vínna kyselina. Symetrická kyselina meso-vínna (erythrarová) sa v prírode nevyskytuje vôbec. Kyselina vínna sa vytvára z glukózy, ktorá pri tejto reakcii prechádza na kyselinu keto-5-glukanovú a na aldehyd kyseliny vínnej, ktorý následne oxiduje na kyselinu vínnu a glykolovú. Racemická zmes D a L izomérov, ktorá sa nazýva hroznová kyselina, bola preukázaná v šťave hroziach. Z kyseliny vínnej v prítomnosti chloridu draselného vznikne zle rozpustná kyslá soľ hroznovej kyseliny, kalium-hydrogen-vinan (tartarát) a vylučuje sa ako tzv. vínny kameň. Toto zrážanie je spôsobené zlou rozpustnosťou a obsahom draslíku. Vínny kameň vzniká aj v mušte pri kvasení, pretože je jeho rozpustnosť znižovaná zvyšujúcim sa obsahom alkoholu (VELÍŠEK, 2002; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; REGMI et al., 2011; STEIDL, 2002). Kyselina vínna je bezfarebná kryštalická látka, ktorá je veľmi dobre rozpustná vo vode a alkohole a to aj pri izbovej teplote. Pomerový obsah kyseliny vínnej v bobuliach resp. v mušte vzhľadom k titrovateľným kyselinám sa mení ročníkom a podmienkami. V muštoch, dobre vyzretých ročníkov, môže byť zastúpenie kyseliny vínnej 65 -70 % všetkých titrovateľných kyselín, v slabších ročníkoch klesá jej podiel k 35 - 40 %.

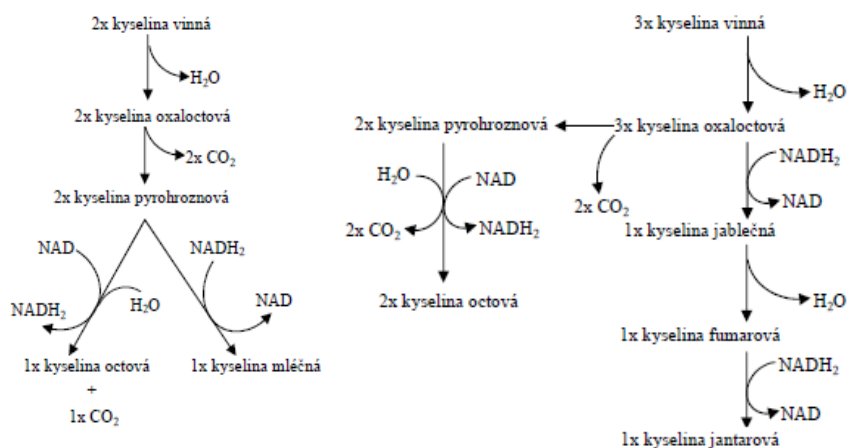
Koncentrácia kyseliny sa pohybuje od 1 do 10 g.l⁻¹. Pri veľmi vysokom obsahu kyselín (nad 12 g.l⁻¹) môže byť k jeho zníženiu použité odkyslenie, pri ktorom časť kyseliny vínnej vypadne pomocou uhličitanu vápenatého (CaCO₃) vo forme vínanu vápenatého, čo ale prináša určité riziká. Kvasinky kyselinu vínnu počas kvasenia nenapádajú. Avšak asi 0,5 až 1,5 g.l⁻¹ kyseliny vínnej sa vyzráža ako vínný kameň v dôsledku obsahu alkoholu vo víne, ktoré pozmeňuje jej rozpustnosť. Tým zostane vo víne viac draslíku, ktorý je inak reakčným partnerom. To prináša na jednu stranu zaguľatenie a plnosť vína, na druhej strane väčšie nebezpečenstvo pre biologické odbúravanie kyselín (STEIDL, 2010; STEIDL, 2002).



L-(+)-vinná kyselina

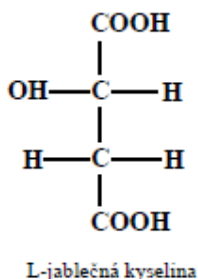
Obr. 1 kyselina vínná (VELÍŠEK, 2009)

Degradácia kyseliny vínnej - baktérie mliečneho kvasenia sú schopné metabolizovať aj kyselinu vínnu. Nie je to príliš častý jav, ale jeho následky na kvalitu vína sú fatálne. Ide totiž o stratu najdôležitejšej kyseliny vo víne a s tým spojený rapidný nárast pH a celkovej acidity (zníženie koncentrácie kyseliny vínnej) za zvýšenie volatilnej acidity (koncentrácie kyseliny octovej), resp. kyseliny mliečnej. Dokonca už Pasteur tento problém popísal ako zvrhnutie vína. Zodpovednosť za túto nemoc pripisujú vedci niektorým kmeňom druhu *Lactobacillus brevis* a *Lactobacillus plantarum* (RIBÉREAU-GAYON et. al., 2006). RIBÉREAU-GAYON et. al., (2006) uvádza, že Radler a Yanissi v roku 1972 zostrojili pre každého zo spomenutých druhov baktérií vlastnú metabolickú dráhu (Obr. 2), na jednej z nich sú výslednými produktmi kyselina mliečna s kyselinou octovou a CO₂. Druhé produkty sú kyselina jantárová, opäť kyselina octová a CO₂.



Obr.2 Varianty degradácie kyseliny vínnej (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006)

Kyselina jablčná – inak hydroxybutandiová, je organická dikarboxylová hydroxykyselina, ktorá patrí k významným nositeľom kyslej chuti a je druhá najvýznamnejšia kyselina v hroznách a následne vo víne. Chemicky sa jedná o kyselinu monohydroxyjantárovú zo sumárnym vzorcom: $\text{COOH-CHOH-CH}_2\text{-COOH}$. Prirodzene sa vyskytuje len ako kyselina L-(-)-jablčná (obr. 3). Kyselina jablčná je podobne ako kyselina vínna štvoruhlíková a tvorí dva optické izoméry. Obsah kyseliny jablčnej v hroznách je obrazom ročníku a agrotechnických zásahov, ktoré boli na kre viniča hroznorodého vykonané. Kyselina jablčná dáva vínam typickú sviežosť a jej nedostatok nie je možné zo sensorického hľadiska nahradiť kyselinou vínnou. Kyselina jablčná má intenzívnu ostrú, hrubú až trpkú chuť. Spolu s kyselinou vínnou sa najviac podieľa na celkovom dojme pri konzumácii vína. Pokiaľ je jej pomer voči ostatným kyselinám a zložkám vo víne nevyvážený, nazýva sa takéto víno ako tvrdé (VELÍŠEK, 2002; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).



Obr. 3 Kyseliny jablčná (VELÍŠEK, 2009)

Obsah kyseliny jablčnej sa v nezrelých hroznách môže objavovať v rozmedzí od 15 do 25 g.l⁻¹, ale počas zrenia dochádza k jej výraznému poklesu. Procesom dýchania sa jej obsah znižuje až na hodnotu 1 až 5 g.l⁻¹. Pri nižšej kyslosti muštu obsahuje mušt

relatívne menej kyseliny jablčnej (REGMI et al., 2011; KRAUS et al., 1997). Už spomínaný pokles obsahu kyselín počas zrenia hrozien je sprevádzaný oxidáciou kyseliny jablčnej. Ta sa mení na fruktózu a glukózu využívané ako zdroj energie. Tieto monosacharidy sa však v bobuliach neukladajú a nezvyšujú tak cukornatosť. Kyselina jablčná je teda, ako plynie z popísaných zmien jej obsahu, najdynamickejšou sa meniacou organickou kyselinou (PAVLOUŠEK, 2011). Na rozdiel od kyseliny vínnej je jablčná kyselina ľahko spracovávaná mikroorganizmami. Aj kvasinky premieňajú počas kvasenia kyselinu jablčnú. Vzniká pritom alkohol, ale v žiadnom prípade kyselina mliečna ako pri biologickom odbúravaní kyselín (STEIDL, 2010).

Vzhľadom k ostrej chuti kyseliny jablčnej sa často využíva po skončení etanolového kvasenia aj jablčno - mliečna fermentácia inak nazývaná aj ako biologické odbúravanie kyselín alebo malaolaktická fermentácia. Nastáva metabolická premena kyseliny jablčnej (malát) na kyselinu mliečnu (laktát) a CO₂. Podiel na tejto premene má tzv. malolaktický enzým (L-malát: NAD⁺ karboxyláza) s kofaktormi Mn²⁺ a NAD⁺ (MORENO-ARRIBAS et al., 2009; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006; KNOLL, 2011). Pri tejto premene tak dochádza k zníženiu koncentrácie kyseliny jablčnej v prospech zvyšujúcej sa koncentrácie kyseliny mliečnej pri uvoľňovaní oxidu uhličitého. Víno stráca v chuti ostrú, kyslú chuť a premieňa sa na jemnejšiu, plnšiu a chuťovo príjemnejšiu. K zníženiu obsahu kyseliny jablčnej dochádza tiež pri macerácii oxidom uhličitým (CO₂), vďaka ktorému je z kvasnej nádoby vytláčaný vzduch a procesy tu prebiehajúce majú anaeróbnny charakter, pri ktorých ku kvaseniu dochádza v bobuliach. Kyselina jablčná nie je pri tomto procese premieňaná na kyselinu mliečnu, ako pri jablčno – mliečnej fermentácii, ale na kyselinu jantárovú a nevýznamné množstvo ďalších kyselín. Znížiť obsah kyseliny jablčnej môžeme podobne ako u kyseliny vínnej i podvojným odkyslovaním či jeho zdokonalenou variantou (STEIDL, 2010).

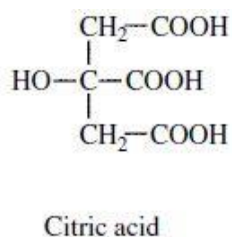
Kyselina mliečna – inak 2-hydroxypropanová, je kyselina monokarboxylová. Vo víne sa objavuje ako produkt jablčno – mliečnej fermentácie, vo svojej L-forme, ako produkt anaeróbného metabolizmu glukózy v D-forme (obr. 4), alebo degradáciou glycerolu. Patrí medzi silné organické kyseliny, je však samozrejme slabšou kyselinou ako kyselina jablčná (VELÍŠEK, 2002; REGMI et al., 2011).



Obr. 4 Kyselina L-(+) a D-(-)-mliečna (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006)

Pri alkoholovej fermentácii pôsobením kvasiniek vzniká mix obidvoch izomérov. Väčšie preferencie sú však k vzniku D-(-)-mliečnej kyseliny. Koncentrácia kyseliny mliečnej vzniknutej pôsobením kvasiniek sa pohybuje v rozmedzí 0,2 až 0,4 g.l⁻¹. Na druhú stranu pôsobením baktérii pri jablčno-mliečnej fermentácii dochádza k produkcii len L-(+)-mliečnej kyseliny. Pokiaľ porovnáme obidva procesy z pohľadu množstva kyseliny mliečnej tak pri jablčno – mliečnej fermentácii vzniká väčšia koncentrácia v rozmedzí 3 až 5 g.l⁻¹ (YAIR, 2012). Väčšie množstvo kyseliny mliečnej vzniká vo víne len pri bakteriálnej premene kyseliny jablčnej na mliečnu. Po jablčno – mliečnej fermentácii sa zvyšuje plnosť vína. Obsah kyseliny mliečnej môže zvýšiť aj činnosť kvasiniek, aj keď len nepatrne. Kvasinky sú totiž v obmedzenej miere schopné metabolizovať kyselinu pyrohroznovú (pyruvát) práve na kyselinu mliečnu (laktát). Vzniknuté množstvo je ale malé. Vína s nízkou koncentráciou kyselín sú fádne, neharmonické, rýchlo starnú a sú viac náchylné k bakteriálnym chorobám (MALÍK, 1996; STEIDL, 2002).

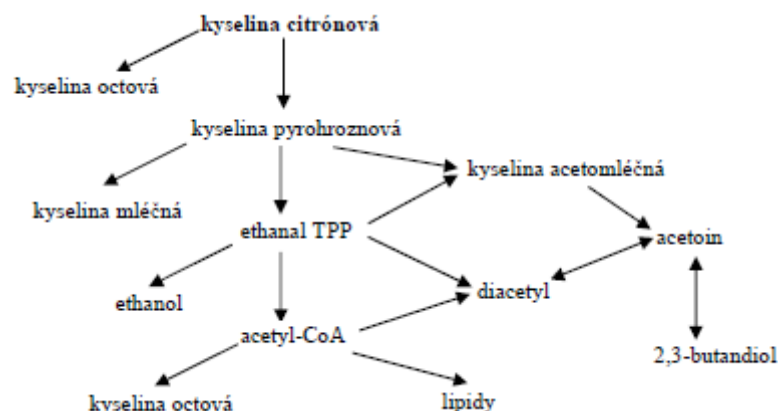
Kyselina citrónová – inak 2-hydroxy-1,2,3-propan-trikarboxylová kyselina, je najvýznamnejším zástupcom trikarboxylových hydroxykyselín, zohráva veľmi dôležitú biochemickú úlohu v Krebsovom (citrátovom) cykle. Jej molekula neobsahuje žiadny prvok asymetrie. Koncentrácia v mušte a vo víne v porovnaní s predchádzajúcimi kyselinami nie je vysoká, v prípade kyseliny citrónovej sa jedná zhruba o 0,5 g.l⁻¹. Opäť patrí medzi silné organické kyseliny. Kyselina citrónová spomaľuje rast kvasiniek, ale neblokuje ich, má ostrú chuť a jej pridávanie do vína je zakázané (VELÍŠEK, 2002; REGMI et al., 2011; RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).



Obr. 5 Kyselina citrónová (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006)

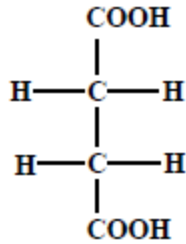
Prírodný obsah kyseliny citrónovej sa pohybuje v rozmedzí 0,05 až 0,30 g.l⁻¹ a môže byť enzymaticky odbúraná baktériami jablčno – mliečneho kvasenia. Kyselina citrónová je stabilizačným prvkom proti kovovým zátakom na základe schopnosti vytvárať chaláty, celkový obsah kyseliny citrónovej nesmie prekročiť 1 g.l⁻¹ (STEIDL, 2002).

Degradácia kyseliny citrónovej - bez ohľadu nato že, kyselina citrónová nemá príliš veľkú koncentráciu v porovnaní s kyselinou vínou alebo jablčnou vo víne, má kyselina citrónová svoj veľký význam, pretože pri metabolických premenách tejto kyseliny sa vytvára kyselina octová (zodpovedná za zvýšenie volatility, v extrémnych prípadoch nepoživatelnosti vína), ale tiež diacetyl (obr. 6), ktorý pri koncentráciách do 0,05 g.l⁻¹ podporuje komplexnosť vína a prináša mu ľahko orieškové až karamelové aróma. Pri vyšších koncentráciách však vínu dodáva až maslovú arómu čím víno poškodzuje. Je nutné podotknúť, že k degradácii kyseliny citrónovej dochádza tiež po spotrebovaní kyseliny jablčnej.



Obr. 6 Degradácia kyseliny citrónovej, zjednodušená verzia (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006)

Kyselina jantárová - je dikarboxylová (1-4-butandiová kyselina), je produkovaná všetkými živými organizmami a je súčasťou Krebsovho cyklu, či metabolizmu lipidov. Jej koncentrácia vo víne je okolo 1 g.l⁻¹ a patrí tiež k silným organickým kyselinám. Podieľa sa mimo iného aj na zosilnenie arómy vín (REGMI *et al.*, 2011; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006). Vzniká predovšetkým odbúraním kyseliny jablčnej kvasinkami, a je tak pravidelne vznikajúcim vedľajším produktom kvasenia (STEIDL, 2010).

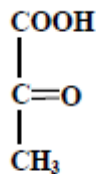


jantarová kyselina

Obr. 7 Kyselina jantárová (VELÍŠEK, 2009)

Červené vína obsahujú vyššie množstvo kyseliny jantárovej a to nad 1 g.l⁻¹. U bielych vín môžeme pozorovať menšie množstvo kyseliny jantárovej pohybujúcej sa okolo hodnoty 0,7 g.l⁻¹. Pre porovnanie kyseliny jantárovej s kyselinou vínou zistujeme, že titrovateľná kyslosť kyseliny jantárovej je o 30 % vyššia. To možno interpretovať tak, že 1 g.l⁻¹ kyseliny jantárovej produkovanej počas fermentácie poskytuje 1,3 g.l⁻¹ titrovateľných kyselín (YAIR, 2012).

Kyselina pyrohroznová - je monokarboxylová (2-oxopropanová kyselina). Patrí medzi najdôležitejší medziprodukt a tiež križovatku na metabolických dráhach. Zúčastňuje sa výmeny látok, jej koncentrácia vo víne je veľmi nízka, až zanedbateľná. Enzymatickou dekarboxyláciou kyseliny pyrohroznovej počas alkoholového kvasenia vzniká etanal, ktorý je následne redukovaný na etanol. Jej enzymatická, mikrobiálna alebo dokonca chemická oxidácia produkuje kyselinu octovú (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006). Spolu s kyselinou ketoglutarovou kyselina pyrohroznová zasahuje do oxidačno-redukčných reakcií vyvážovaním oxidu siričitého (BALÍK, 2005).

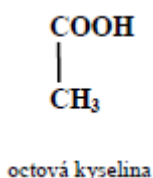


pyrohroznová kyselina

Obr. 8 Kyselina pyrohroznová (VELÍŠEK, 2009)

Kyselina octová - patrí medzi prchavé kyseliny, je kyselinou monokarboxylovou (kyselina ethanová). Kyselina octová vzniká ako vedľajší produkt počas alkoholovej fermentácie vplyvom činnosti kvasiniek. Ide o vedľajšiu reakciu, kedy je oxidovaný acetaldehyd. Druhou možnosťou vzniku kyseliny octovej je pôsobenie octových baktérií, a to za podmienok prístupu vzduchu. Baktérie oxidujú

alkohol na kyselinu octovú. Jej koncentrácia je závislá na intenzite vystavenia vzduchom a na dobe kontaktu so vzduchom. V najextrémnejšom prípade môže byť všetok alkohol premenený na ocot. Obsah cez $0,6 \text{ g.l}^{-1}$ sa považuje za znamenia aktívnej bakteriálnej činnosti. Kyselina octová (obr. 8) patrí ku kyselinám, ktoré sú súčasťou metabolických dráh alebo ich výsledným produktom. Vo víne sa objavuje, ale je nežiaduca (REGMI et al., 2011; YAIR, 2012; STEIDL, 2002).



Obr. 9 Kyselina octová (VELÍŠEK, 2009)

Podobne ako kyselina octová sa vo víne nachádzajú aj ďalšie prchavé kyseliny ako kyseliny mravčia, propionová alebo maslová. Tieto kyseliny sa však nachádzajú len vo veľmi malých až zanedbateľných koncentráciách.

Povolený obsah prchavých kyselín je upravený vyhláškou EU 1493/1999 (NAŘÍZENÍ RADY (ES) č. 1493/1999). Najvýznamnejší podiel prchavých kyselín nepochybne predstavuje kyselina octová.

3.1.5 Minerálne látky

Minerálne látky sú dôležité pre rast a činnosť kvasiniek a podieľajú sa na tvorbe chuťových vlastností. V červených vínach nachádzame väčšie množstvo minerálnych látok ako vo vínach bielych. Obsah minerálnych látok v mušte znižuje ich kryštalizáciu, vyzrážaním a využitím kvasinkami. Celkové množstvo sa uvádza ako „obsah popoloviny,“ - zostatok po spálení organických súčastí vína pri $500 \text{ }^\circ\text{C}$, vo víne tvorí množstvo $1,5$ až 4 g.l^{-1} . V suchších ročníkoch je obsah nižší (STEIDL, 2002; FARKAŠ, 1983).

Minerálne látky sú významnou zložkou. Najväčší podiel má draslík s $0,65$ až $0,90 \text{ g.l}^{-1}$, u červených vín môže byť jeho obsah ešte vyšší. Draslík pôsobí ako aktivátor enzymatických procesov. Ďalšou významnou zložkou je vápnik, vyskytuje sa u bielych vín v množstve okolo $0,06$ až $0,08 \text{ g.l}^{-1}$, jeho obsah sa zvyšuje pri odkysľovaní. Musí sa počítať aj s jeho vypadnutím (vo forme vínanu vápenatého) hraničnou hodnotou je $0,22 \text{ g.l}^{-1}$. Vápnik ovplyvňuje pozitívne chuťové a aromatické vlastnosti vín. Horčík môže vo

vysokej koncentrácii spôsobovať horkastú chuť vína. Vo väčšom množstve sú v mušte obsiahnuté minerálne látky vo forme organických zlúčenín (PAVLOUŠEK, 2010; ŠVEJCAR, 1986; STEIDL, 2002).

3.1.6 Dusíkaté látky

Hlavnými dusíkatými zlúčeninami bývajú aminokyseliny, bielkoviny a zlúčeniny obsahujúce dusík v amónnej forme. Množstvo dusíkatých látok v hroznách ovplyvňuje odroda, podnož, ročník, spôsob ošetrovania vinice, napadnutie hubovými chorobami, hnojenie, ale aj ošetrovanie pôdy vo vinici. Pre kvalitu hrozien a následne aj vína je najdôležitejší obsah asimilovateľného dusíku, ktorý sa skladá z voľných aminokyselín a amónnych iontov. Voľné aminokyseliny v mušte predstavujú zdroj dusíku pre kvasinky. Zlúčeniny, obsiahnuté v mušte ako aminokyseliny a amónne soli sú v značnom množstve až do 75 % spotrebované kvasinkami. Pri zrení vína na kvasniciach sa obsah aminokyselín opäť o niečo zvyšuje. Celkový obsah vo víne sa pohybuje medzi 0,25 až 4,5 g.l⁻¹, bez závislosti na odrode to nemožno rozlíšiť. Minimálna hodnota pre úspešné kvasenie muštu je 0,15 g.l⁻¹. V súčasnej dobe je obsahu využiteľného dusíku venovaná zvýšená pozornosť, pretože sa ukazuje, že ide o parameter významne ovplyvňujúci kvalitu vína (PAVLOUŠEK, 2011; STEIDL, 2002).

3.1.7 Farbivá vo víne

Z farbív obsahuje víno zvyšky zeleného farbiva chlorofylu a príbuzné červené farbivo karotín a žlté xantofyl, obsiahnuté pôvodne v šupkách bobúľ. Tieto farbivá dodávajú bielym vínam rôzne odtiene zelenkavej až žltavej farby. U červených vín sú tieto farbivá zakryté červenými antokyanovými farbivami. Červené farbivo oenin patrí z chemického hľadiska medzi antokyany. To sú glykosidy, ktoré sa vplyvom účinkov kyslého prostredia štiepia na cukor a vlastné farbivo – antokyanidy. Farba antokyanov je závislá na kyslosti prostredia. Červené vína s vyšším obsahom kyselín majú svetlejšiu farbu a vína s nižším obsahom majú farbu tmavo červenú. Účinkom vzdušného kyslíku a časom sa oenin rozkladá a stáva sa nerozpustným. Intenzita červenej farby závisí podľa Riberaua-Gayona (2006) na vzájomnom pomere obsahu antokyanov a trieslovín, ktoré majú samy žltú farbu. Červené vína s vyšším obsahom trieslovín majú tmavšiu

rubínovo červenú farbu. Pri ich starnutí sa antokyany rýchlo rozkladajú a farba vín sa mení na tehlovo červenú (KRAUS et al., 1997).

3.1.8 Bielkoviny

Obsah bielkovín sa značne odlišuje, je ovplyvňovaný odrodou aj ročníkom. V suchých ročníkoch je bielkovín viac. Koncentrácia bielkovín znižuje kvasenie, reakcie s trieslovinami (polyfenolmi) a ošetrovanie bentonitom. Termolabilné bielkoviny môžu viesť vo fľašiach k zákalom (STEIDL, 2002)

3.1.9 Polyfenoly (Triesloviny)

Polyfenoly v mušte sa počas kvasenia merajú len zriedka. Obsah sa pohybuje v bielych vínach medzi 0,15 až 0,25 g.l⁻¹, v červených vínach až do 4,5 g.l⁻¹, závisí na spôsobe spracovania. Počas zrenia a starnutia dochádza k zmenám, ktoré majú vplyv na farbu a chuť vína (STEIDL, 2002).

Triesloviny vo víne nazývajú tiež oenotánin. Sú zmesou chemicky príbuzných látok, skladajúcich sa z viac jednotiek fenolov, katechýnov a vysokomolekulárnych tanínov. Môžu sa zaradiť do skupiny emulzných koloidov, pretože sú to amorfné hygroskopické látky. Triesloviny obsiahnuté v mušte a víne rozdeľujeme na hydrolyzovateľné a kondenzovateľné a ich obsah v muštach bielych býva od 0,1 do 1 g.l⁻¹, v muštach modrých odrôd od 1,0 do 1,3 g.l⁻¹ (MALÍK, 1996).

3.1.10 Aromatické a bukétne látky

Organoleptické vlastnosti a kvalitu vín ovplyvňuje veľa rôznych faktorov. Kvalita chuti a vône závisí na vyváženosti jednotlivých chutí a vôní. Jednotlivé vína sa vzájomne odlišujú v závislosti na odrode viniča hroznorodého, zrelosti hrozien, prípadnom napadnutí mikroorganizmami, podmienkach počas kvasenia muštu. Pri fermentácii zohráva dôležitú úlohu najmä hodnota pH, teplota a veľa ďalších faktorov. Aróma je vo vinárskej terminológii označenie pre vôňu mladých vín. Transformáciou arómy počas starnutia vína chemickými reakciami vzniká buket (VELÍŠEK, 2002).

Obsah aromatických látok vo víne predstavuje okolo 0,8 až 1,2 g.l⁻¹, pričom polovicu tvoria vyššie alkoholy. Zloženie je veľmi rôznorodé, doteraz sa rozlišuje 800

substancií. Pre odrodový charakter vína majú veľký význam terpeny, veľká skupina aromatických látok. Viazu sa na cukor a až počas kvasenia a skladovania sa uvoľní a pôsobí ako aróma (STEIDL, 2002).

3.1.11 Cudzorodé látky vo víne

Prvou skupinou sú látky, ktoré sa do potravín dostávajú zámerne, za účelom zvýšenia celkovej kvality potravín, a sú tak nazývané látkami aditívnymi alebo prídavnými. Druhou skupinou sú látky, ktoré sa do potravín dostávajú náhodne, a teda sú chápané a súhrne nazývané ako látky kontaminujúce alebo znečisťujúce (VELÍŠEK, 2002). Prakticky stálou a preto aj najvýznamnejšou cudzorodou látkou vo víne je voľná aj viazaná kyselina siričitá, ktorá sa ako výborný antioxidačný a čiastočne konzervačný prostriedok používa bežne pri výrobe vín. Kyselina siričitá je u bielych vín viazaná slabšie ako u červených vín. Maximálny obsah voľnej aj viazanej kyseliny siričitej vo víne je daný zákonnými predpismi vo forme noriem a uvádza sa, že pokiaľ nie sú tieto povolené hodnoty prekročené, zvyčajne nie je možné kyselinu siričitú vo víne sensoricky rozpoznať. V opačnom prípade sa jedná o víno čerstvo zasírené alebo presírené (KRAUS et al., 1997).

3.2 Možnosti regulácie kyselín

Spracovaním hrozien dochádza k zmenám obsahu kyselín. Zo všetkých organických kyselín prítomných vo víne chuťovo najviac kyslo pôsobí kyselina vínna a kyselina jablčná. Mušty z nevyzretých bobúľ sú menej kvalitné a vyžadujú úpravu neharmonickkej kyslosti, ktorá by mohla spôsobiť neharmonickú chuť mladých vín. Počas kvasenia sa vylučuje kyselina vínna vo forme vínneho kameňa alebo vínanu vápenatého, pôsobením mliečnych baktérií dochádza k zníženiu koncentrácie kyseliny jablčnej rozkladom na kyselinu mliečnu a oxid uhličitý. Naopak u muštov z nezrelých a prezretých hrozien je nutné tieto procesy regulovať a prípadne im úplne zabrániť, aby výsledné víno nebolo mdlé, mäkké a neharmonické.

Prikysľovanie a odkysľovanie vína je možné previesť len v podniku kde sa víno vyrába a vo vinárskej zóne, kde prišlo k zbere hrozien určených na výrobu vína (NAŘÍZENÍ RADY (ES) Č. 1234/2007). Enologickými látkami, ktorými môžeme znižovať alebo zvyšovať obsah kyselín sú uvedené v NAŘÍZENÍ RADY (ES) č.

1493/1999. K zvyšovaniu obsahu kyselín sa môže podľa právnej legislatívy použiť (L+)-kyselina vínna, (L-)-kyselina jablčná, (DL)-kyselina jablčná, kyselina mliečna. Úprava kyselín však nemusí byť definovaná ako prikysľovanie. Podľa nariadenia ES č. 606/2009 je možné pridávať kyselinu citrónovú ako prostriedok k podpore školenia vína a tiež sa na ňu nevzťahuje podmienka zón pre prikysľovanie (NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) Č. 606/2009). Toto prikyslenie sa však netýka Českej republiky pretože vinárske oblasti Čechy a Morava sa nenachádzajú v zónach, ktorých to je povolené. Tento enologický zásah je možné použiť len vo výnimočných prípadoch v prípade udelenia výnimky za nepriaznivých podmienok.

Pre opačný enologický postup čiže odkysľovanie je možné použiť vínan draselný, uhličitan draselný s malým množstvom podvojnjej vápenatej soli, vínan vápenatý kyselina vínna za presne stanovených podmienok, homogénna úprava kyselinou vínnou a uhličitanom vápenatým v rovnakom pomere (NAŘÍZENÍ RADY (ES) Č. 1493/1999). Pre zníženie kyselín však môžu byť použité aj iné metódy. Tieto metódy sú buď založené na fyzikálnom princípe alebo na biologických metódach pôsobenia organizmov ako baktérie a kvasinky či agrotechnickými zásahmi vo vinici.

3.2.1 Znižovanie obsahu kyselín

Odkyslenie je v kyslých ročníkoch veľmi dôležité opatrenie k ovplyvneniu kvality vína. Pre získanie kvalitnejšieho produktu je bezpochybné nutná vyváženosť a harmónia obsahu kyselín. Ich hladina je dôležitá pre komplexnosť a hlavné telo vína. Najpodstatnejším parametrom je samozrejme pH a celkový obsah titrovateľných kyselín. Vysoký obsah titrovateľných kyselín koreluje s nízkou hodnotu pH. Pre hladký a bezproblémový proces alkoholovej fermentácie je teda dobré upraviť pH na hodnoty od 3,1 do 3,3 a vyhnúť sa teda extrémnym hodnotám okolo 3 alebo nad 3,5. Odkysľovanie sa riadi prísnyimi pravidlami Podľa nariadenia (EP) a Rady č. 1308/2013 je povolené odkysľovanie v hroznovom mušte, v čiastočne skvasenom mušte a mladom víne v procese kvasenia. Čo sa týka vína, to môže byť odkyslené len čiastočne. Maximálna výška odkyslenia je 1 gram na liter vyjadrený ako kyselina vínna. Hroznový mušt, ktorý ma byť zahustený môže byť čiastočne odkyslený. Minimálny obsah titrovateľných kyselín je však u vína bez chráneného označenia pôvodu stanovený na 3,5 g.l⁻¹ a u ostatných 4 g.l⁻¹. Obsah kyseliny však musí byť kontrolovaný aj čo sa týka

najnižšej kvality. Obsah kyseliny vínnej nesmie klesnúť pod $0,4 \text{ g.l}^{-1}$ (STEIDL, 2002; FARKAŠ, 1983; NAŘÍZENÍ (EP) A RADY Č. 1308/2013).

Príliš vysoký alebo naopak nízky obsah kyselín vyvolá vo víne neharmonickú chuť. Obsah kyselín vo víne nie je stály, ale mení sa počas zrenia a skladovania vína. Červené vína, by mali byť odkyslené až po prvom stočení. Jedným zo spôsobov zníženia kyslosti vína je jablčno – mliečna fermentácia (JMF), čiže biologická premena kyseliny jablčnej pomocou mliečnych baktérií, na kyselinu mliečnu a oxid uhličitý. Takého odbúranie kyselín vo víne má určitú dôležitosť ako činiteľ pre zlepšovanie akosti vína v severských krajinách a najmä v nepriaznivých rokoch. Technologicky účinnejšie je odkyslenie mladého vína ako muštu, pretože počas hlavného kvasenia sa mení obsah kyselín a ich pomer (STEIDL, 2002; FARKAŠ, 1983).

Odkysliť víno je možné uhličitanom vápenatým, jednoduchým odkyslením uhličitanom vápenatým, podvojným odkyslením, zdokonaleným podvojným odkyslením, hydrogén - uhličitanom draselným, sceľovaním vína alebo jablčno – mliečnou fermentáciou.

Odkyslenie sceľovaním vín

Sceľovanie vína je fyzikálna metóda a je jednou z najjednoduchších metód. Toto sceľovanie sa však môže robiť len medzi rovnakými odrodami hrozna, prípadne v zmeskách. Pre správny pomer, je dôležité presné stanovenie pomerov. Pre zaistenie obsahu kyselín v jednotlivých vínach vypočítame jednotlivé objemy vín pre zmiešanie podľa zmiešavacej rovnice. Miešať prípadne sceľovať jednotlivé odrody vína možno len pri výrobe typových, čiže značkových vín. Sceľovanie vína je dané podľa (ES) č. 479 z roku 2008 (KUTTELVAŠER, 2003; FARKAŠ, 1983; NAŘÍZENÍ KOMISIE (ES), 606/2009).

Odkyslenie uhličitanom vápenatým

Odkyslenie uhličitanom vápenatým je jedným z najčastejších prostriedkov chemického odkyslenia vína alebo muštu, používa sa chemicky čistý uhličitan vápenatý s chemickým vzorcom CaCO_3 . Uhličitan vápenatý je často používaný pre jemnejšie, nie príliš výrazné odkyslenie vína alebo muštu. Použitie uhličitanu vápenatého je v porovnaní so zložitejšou metódou podvojného odkyslenia, technologicky výrazne

jednoduchšie. Odkyslenie vína so sebou prináša splnenie niekoľkých predpokladov. Už v hotovom víne prichádza len k menším úpravám kyselín, dôležitou podmienkou je potreba čistého vína bez najrôznejších kalov a sedimentov. Ďalšou dôležitou podmienkou je reakčná doba tá trvá približne 1 až 1,5 mesiaca. Preto je dôležité tento zásah plánovať výrazne skôr s ohľadom na predaj vín (STEIDL, 2002). Odkyslenie vína uhličitanom vápenatým prebieha podľa reakcie uvedenej na obrázku 10.



Obr. 10 Reakcia odkyslenia uhličitanom vápenatým (STEIDL, 2002)

Jednoduché odkyslenie s uhličitanom vápenatým je založené na reakcii s kyselinou vínou, kedy vypadáva kryštalický vínan vápenatý za súčasného uvoľnenia plynného CO₂. Pre zabránenie úniku vína z nádoby, je vhodné odkysliť väčšiu časť vína v otvorenej nádobe s navážkou uhličitanu vápenatého dovtedy kým sa CO₂ uvoľňuje a potom naliať túto časť vína aj s vyzrážanými kryštálmi do zostatku vína. Hmotnosť 0,67 g.l⁻¹ uhličitanu vápenatého reaguje s 1 g.l⁻¹ kyseliny vínnej. To znamená, že na odkyslenie o 1 g.l⁻¹ je potreba zväžiť 67 g na 100 litrov muštu resp. vína. Rozhodujúcim faktorom pre voľbu tohto postupu je, aby obsah kyseliny vínnej bol aspoň o 0,4 g.l⁻¹ vyšší než požadované odkyslenie. Je potrebné, aby víno bolo čisté a v prípade použitia vápniku sa musí počítať s reakčnou dobou 4 až 6 týždňov (BALÍK, 2010). Nikdy by sa nemali odkyslovať nestočené a kalné vína. Pri odkyslovaní na konečnú hranicu, musíme zabrániť rozbehnutiu jablčno – mliečnej fermentácie. Z tohto dôvodu by mali byť produkty k odkysleniu najprv vyčistené a zbavené baktérií, ktoré by mohli tieto biologické procesy spustiť (MORENO-ARRIBAS et al., 2009).

Vínny kameň je v mladom víne značne nerozpustný. Jeho vypadávanie z vín podporuje nízka teplota skladovania a alkohol v nich obsiahnutý. Podstatnú úlohu hrá obsah draslíka, ktorý sa v muštoch vyskytuje zriedka pod 1 g.l⁻¹. Draslík má dobré tlmiace schopnosti a vína aj pri vyššom obsahu kyselín nechutnajú kyslo. V bežných podmienkach, teploty pivníc (8-16 °C) a obsah alkoholu vo vínach, ktorý často atakuje hodnotu 14 % obj. sa množstvo kyseliny vínnej znižuje až o 2 g.l⁻¹ a viac. Môže teda nastať, že zníženie kyseliny jablčnej spôsobené mikroorganizmami a vypadnutím vínného kameňa môže byť pre chuťovú kvalitu dostatočné najmä u mladých vín (BALÍK, 2010).

Odkyslenie pomocou uhličitanu vápenatého ovplyvňuje celkové chemické zloženie vína. Zmeny nastávajú najmä v chemickom zložení kyselín, čím sa znižuje celková kyslosť vína. Znižuje sa predovšetkým obsah kyseliny vínnej úmerne k pridanému množstvu uhličitanu vápenatého. Nastávajú zmeny aj v obsahu extraktu, ktorý sa znižuje podľa stupňa odkyslenia. Na rozdiel od toho sa obsah popola a vápniku zvyšuje. Ak odkyslíme mušt, zostane obsah draslíka vo víne vyšší, než keď odkyslíme až víno. Negatívne sa prejavuje zvýšenie hodnoty pH ešte pred kvasením. Odkyslením muštu sa zvyšuje nebezpečenstvo biologického odbúrania kyselín, ktoré následne prebieha veľmi búrlivo. Pretože môže začať už počas kvasenia a potom zostane nepozorované. Preto by mušty nemali byť odkyslované na konečnú hodnotu, ale len na 9 až 10 g.l⁻¹. K predchádzaniu začatia JMF už v hotovom víne je nutné odkyslovať len čisté a stočené vína. U hotového vína je povolené maximálne zníženie o 1 g.l⁻¹, vyjadrené ako kyselina vínna. Toto obmedzenie sa nevzťahuje na JMF (FARKAŠ, 1983; STEIDL, 2002; ORAVEC, 2014; BALÍK, 2010).

Za väčšinu kyslosti vo vínach v našich klimatických podmienkach, je zodpovedná kyselina jablčná, ktorú jednoduchým odkyslením z vína nie je možné odstrániť. Z tohto dôvodu sa neodporúča bez znalosti presnej koncentrácie kyseliny vínnej takýmto spôsobom vína odkyslovať viac ako o 1 či 1,5 g.l⁻¹ kyselín. Celkom nevyhnutné je, aby vo víne, ktoré sa odkysluje zostalo minimálne 0,5-1 g.l⁻¹ kyseliny vínnej, inak mu hrozí vínu zemitá príchuť po rozpustnom jablčanane vápenatom, príliš veľké zvýšenie pH a prípadne vápenaté zákaly už vyškolených vín. Ak je nutné znížiť kyseliny o viac ako 1,5 g.l⁻¹ je vhodné pristúpiť k podvojnému odkysleniu za pomoci uhličitanu vápenatého (BALÍK, 2010).

Podvojný odkyslenie

Pri dodržaní presne stanovených podmienok je možné doceliť rovnakého odkyslenia kyseliny jablčnej aj kyseliny vínnej. Pri správnom vedení podvojného odkyslenia a správnom vypočítaní uhličitanu vápenatého, vzniká vedľa plynného CO₂ tiež kryštalická podvojná vápenatá soľ kyseliny vínnej a jablčnej. Množstvo uhličitanu vápenatého na zníženie o 1 g.l⁻¹ kyseliny je totožné ako pri jednoduchom odkyslení a to 67 g uhličitanu vápenatého na 100 l vína. Podvojná soľ sa tvorí len pri pH nad 4,5 z tohto dôvodu musia byť vytvorené podmienky cielene, inak by mohol zostať jablčan vápenatý vo víne rozpustený. Znamená to, že sa musí celkom odkysliť len určitý podiel

vína (presne vypočítaný), pridaním celej navážky uhličitanu vápenatého a po oddelení kryštálov tento podiel vína vrátiť k zostatku vína. Ich zmiešaním dosiahne víno požadovaného obsahu kyselín. Pre správny výpočet podvojného odkyslenia je potreba zistiť v špecializovanom laboratóriu stanovenie presnej koncentrácie kyseliny vínnej a jablčnej vo víne (BALÍK, 2010).

Chyby, ktoré môžu pri podvojnóm odkyslení nastať sú: nepresné stanovenie všetkých kyselín a kyseliny vínnej, chyby pri výpočte. Vo výpočtoch sa vychádza z predpokladu, že víno obsahuje okrem kyseliny vínnej len kyselinu jablčnú. Ak však kyselina jablčná nepozorovane bude úplne alebo len čiastočne odbúraná na kyselinu mliečnu bude sa výsledok značne líšiť od pôvodného výpočtu (STEIDL 2002).

Zdokonalené podvojné odkyslenie

Pri zdokonalenej metóde podvojného odkyslenia sa do podielu vína pre podvojné odkyslenie pridáva kyselina vínna podľa obsahu kyseliny jablčnej, čiže z tohto množstva vína môžu byť obe kyseliny úplne odstránené. Takto je možné nastaviť prakticky ľubovoľný obsah kyselín vo víne (STEIDL, 2002).

Pre podvojné odkyslenie sa používajú prípravky (Acidex, Neoanticid). Ide o uhličitan vápenatý aktivovaný výrobcom podvojnou solí jablčno-vínanu vápenatého. Pri príliš vysokom obsahu kyseliny jablčnej by bolo použitie jednoduchého odkyslenia uhličitanom vápenatým neúčinné (FELDKAMP, 2003). Vypočítané množstvo uhličitanu vápenatého vysypeme do nádoby a pomaly do nádoby prečerpávame za stáleho miešania už skôr pripravený podiel vína. Toto množstvo nesmie byť merané až v nádobe pretože unikajúci oxid uhličitý by znemožnil presné odmeranie. Miešanie musí byť prevedené tak dlho, pokiaľ uniká oxid uhličitý. Predčasné ukončenie miešania môže viesť k poklesu pH. To by viedlo k rozloženiu podvojnou solí (STEIDL, 2002).

Hlavnou podmienkou pre podvojnú soľ je dosiahnutie pH okolo 4,5. Pri nižšom pH by dochádzalo k rozloženiu podvojnou solí a odstráneniu len kyseliny vínnej. Z tohto dôvodu je potreba pomaly primiešavať víno, aby sa stále postupne menilo pH. Pri zvyšujúcom sa alebo vyššom pH má víno tie správne parametre pre tvorbu podvojnou solí (YAIR, 2012).

Odkyslenie hydrogén uhličitanom draselným

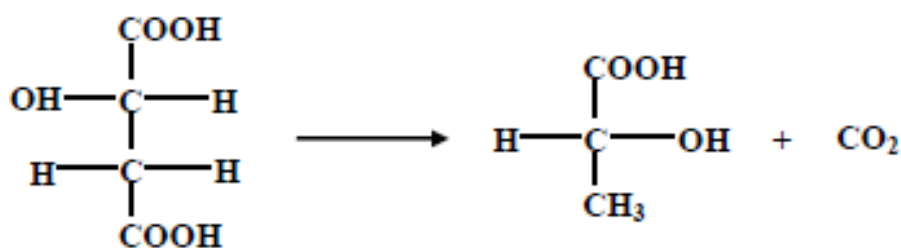
Po prídavku hydrogén uhličitanu draselnom dochádza k vyzrážaniu kyseliny vínnej ako vínneho kameňa. Výpočet pre spotrebu hydrogén uhličitanu draselného je obdobný ako pri odkyslení uhličitanom vápenatým. Aby bol znížený obsah kyselín vo víne o 1 ‰, je potrebných 67 g.hl⁻¹ hydrogén uhličitanu draselného. Vypočítaného zníženého obsahu kyselín sa ale dosiahne najprv po úplnej kryštalizácii hydrogén vínanu draselného, čo je možné pomocou rýchleho ochladenia vína (BALÍK, 2010). Týmto prostriedkom je možné previesť len jemné zníženie obsahu kyselín do 1 g.l⁻¹, obsah uhličitanu vápenatého sa nemení, tým nevzniká problém s prekročením maximálneho povoleného možného obsahu uhličitanu vápenatého vo výške 0.22 g.l⁻¹. Odkyslenie sa prevádza najčastejšie v kadiach alebo vhodných nádobách s mechanickými miešadlami. Vždy sa odkyslovaný mušt alebo víno postupne a za stáleho miešania pridáva k prípravku, nikdy nie naopak. Po vyzrážaní podvojnej soli z muštu alebo vína za 4-6 týždňov je nutné ju odstrániť sedimentáciou a následným stočením z kalov pomocou odstrediviek alebo filtrácií (vložkový filter) (STEIDL, 2002; FARKAŠ, 1973).

3.2.2 Jablčno – mliečna fermentácia

Kyselina jablčná (malic acid), a produkt jej dekarboxylácie kyselina mliečna (lactic acid), sú tie, ktoré dali meno jablčno – mliečnej fermentácii (malolactic fermentation). Vo vinárskej praxi sa stretávame aj s ďalším názvom, a tým je biologické odbúravanie kyselín. Za túto transformáciu sú zodpovedné baktérie mliečneho kvasenia. Jablčno – mliečna fermentácia (JMF) je definovaná ako biochemický proces, pri ktorom dochádza k zemne L-jablčnej kyseliny na L-mliečnu kyselinu a oxid uhličitý. Významom JMF je zvýšenie pH a zníženie kyslosti, pretože kyselina jablčná ma veľmi ostrú chuť a preto je dikarboxylovaná kyselina jablčná v priebehu JMF premenená na monokarboxylovú jemnejšiu kyselinu mliečnu. V modernej technológii sa JMF využíva najmä pri výrobe červených vín. Aj keď zníženie kyslosti patrí k najdôležitejším dôvodom, stále viac vinárov uprednostňuje túto metódu k zvýrazneniu vône a chuti vína (ANONYM 1, 2013) Aj keď sa používa označenie fermentácia, o fermentáciu sa v jej hlavnom význame vôbec nejedná. Ide o enzymatickú reakciu (MORENO-ARRIBAS et al., 2009)

Baktérie mliečneho kvasenia sú gram pozitívne organizmy. Najpoužívanejšia baktéria vo vinárstve je *Oenococcus oeni*. JMF sa zaoberá premenou malátu na laktát a tá podporuje energiu vo forme ATP (adenosintrifosfát). Malát je anión dikarboxylovej kyseliny, ktorá má dve kyslé karboxylové skupiny COO-H⁺, na rozdiel od toho laktát obsahuje len jednu karboxylovú skupinu. Transformáciou malátu na laktát dochádza k zníženiu kyslosti prostredia a k vzniku jednej molekuly CO₂ (oxid uhličitý). Priebeh JMF si žiada primerané množstvo NAD⁺ a Mn²⁺. Veľmi významné je vzájomné pôsobenie mliečnych baktérií a kvasiniek. Niektoré kmene baktérií sú veľmi citlivé na prítomnosť kvasiniek, a preto je dôležité s inokuláciou počkať až do konca alkoholovej fermentácie. Počas JMF dochádza často aj k odbúraniu kyseliny citrónovej a tým aj k vzniku nežiaducich sekundárnych metabolitov. Najprv sa odbúra kyselina jablčná, následne citrónová a nakoniec zostávajúci cukor. (BAROŇ, 2011; BAROŇ 2013; PAVELEKOVÁ, 2007)

Pri JMF sa z 1 g.l⁻¹ kyseliny jablčnej vyrobí maximálne 0,67 g.l⁻¹ kyseliny mliečnej a 0,33 g.l⁻¹ oxidu uhličitého ako je možné vidieť na obrázku. Množstvo kyseliny mliečnej pri správne prevedenej degradácii kyselín, je najvyššie 1,5 – 3,5 g.l⁻¹. Obsah titrovateľných kyselín sa zníži až o 0,03 g.l⁻¹ v dôsledku fixácie vodíkových iónov a hodnota pH vzrastie o 0,1 až 0,3. Výsledkom je bakteriálna stabilita, ktorá je daná prostredím, v ktorom sa nevyvíjajú žiadne iné škodlivé organizmy, pretože mliečne baktérie spotrebovali pre svoju činnosť všetky živiny. Ďalšou príčinou môže byť tvorba bakteriálnych toxínov, ktoré usmrcujú ostatné baktérie (FURDÍKOVÁ A MALÍK, 2009; PAVELEKOVÁ, 2007).



L-jablčná kyselina (1g)

L-mliečna kyselina (0,67g)

oxid uhličitý (0,33g)

Obr. 11 Premena kyselina jablčnej na kyselinu mliečnu počas jablčno – mliečnej fermentácie (RIBÁEREAU-GAYON ET AL., 2006)

Jablčno – mliečna fermentácia (JMF) nemusí byť len riadená, ale podobne ako alkoholová fermentácia môže vzniknúť spontánne za podpory prirodzenej mikroflóry. Zdrojom energie pre rast mliečnych baktérií je kyselina jablčná a kyselina citrónová.

Akonáhle je tento zdroj vyčerpaný, baktérie odumierajú a nie sú schopné ďalšieho rastu. Veľmi významné je sledovať obsah kyseliny mliečnej, pretože v množstve do 5 g.l⁻¹ sa javí prirodzene a pôsobí jemným, harmonickým a plným dojmom. Naopak vo vyšších koncentráciách je sensoricky neprijateľná. U vín je dôležité, aby prebehlo odbúranie kyseliny jablčnej najlepšie na hodnotu nula. Pokiaľ vo víne zostane hrozí nebezpečenstvo, že baktérie obnovia po nejakom čase svoju činnosť, tým by hrozilo o nafľašovaných vín vytvorenie jemného perlenia oxidu uhličitého alebo prachový zákal (KYSELÁKOVÁ et al., 2003).

Faktory ovplyvňujúce jablčno – mliečnu fermentáciu

pH – hodnota pH je jedným z najvýznamnejších faktorov podstatne ovplyvňujúcich celkový priebeh JMF. Od hodnoty pH sa odvíja, ktoré mliečne baktérie budú iniciovať alebo najvýznamnejšie ovplyvňovať odbúranie kyselín. Pri hodnote, ktorá je nižšia ako pH 3, prakticky vôbec nedochádza k nejakej aktivite alebo množeniu baktérií *Oenococcus oeni*, pôsobí na baktérie inhibične. Pri pH vyššom ako 3,5 sa naopak budú množiť a dominovať skôr druhy rodov *Lactobacillus* a *Pediococcus*. Taktiež pri tomto pH začínajú baktérie *Oenococcus oeni* miesto kyseliny jablčnej odbúravať cukor za vzniku kyseliny octovej a diacetylu. Pre dobrý rast baktérií *Oenococcus oeni* a dobrý začiatok JMF je ideálny rozsah hodnôt pH 3,1 – 3,4. Medzi najosvedčenejšie hodnoty pH patria 3,3 a 3,4 (STEIDL, 2002; EDER et al., 2006; PAVLOUŠEK, 2010).

SO₂ – pre úspešný priebeh JMF je podstatný obsah voľného a všetkého oxidu siričitého vo víne. Pokiaľ je možnosť najlepšie je žiadny alebo maximálne do 20 mg.l⁻¹. Na toxicitu voľného SO₂ má významný vplyv pH, pretože čím je víno kyslejšie, tým je vyššia jeho antiseptická schopnosť a účinnosť. Aby sme zaistili rovnaký účinok SO₂, vo víne s hodnotou pH 3,8, je potrebné štyri krát vyššie množstvo voľného SO₂, ako vo vínach, kde je pH 3,2. Oxid siričitý preniká do bunky baktérie prostredníctvom difúzie. Dostáva sa do cytoplazmy, kde reaguje s enzýmami, koenzymami a vitamínmi, čo má za následok zastavenie rastu buniek a ich smrť. Baktérie nezvládajú hodnoty vyššie ako 50 mg.l⁻¹ viazaného SO₂, baktérie sú oveľa citlivejšie na SO₂ ako kvasinky. Medzi najcitlivejšie patria baktérie *Oenococcus oeni*, u ktorých je aj malé množstvo vyprodukované kvasinkami pre nich inhibičné (ANONYM 2, 2015; BAROŇ, 2011; RIB'EREAU-GAYON et al., 2006).

Teplota – má všeobecne vplyv na rast mikroorganizmov, urýchľuje chemické aj biochemické reakcie. Baktérie mliečného kvasenia v laboratórnych podmienkach vykazujú najvyšší rast v rozmedzí 20 – 37 °C. Pokiaľ je obsah alkoholu 13 – 14 % obj. optimálna teplota pre rast mliečnych baktérií je nižšia. U druhu *Oenococcus oeni* je toto optimum 27 – 30 °C. Teplota nad 25 °C spomaľuje priebeh JMF a predovšetkým zvyšuje riziko bakteriálneho znehodnotenia a zvýšenia obsahu prchavých látok. Naopak zníženie teploty pod 15 °C zastaví množenie baktérie, avšak nezničí samotné baktérie, odbúravanie ďalej prebieha, ale jeho rýchlosť sa výrazne spomaľuje. Doba, za ktorú dôjde k odbúraníu všetkej kyseliny jablčnej, môže trvať 5 dní až niekoľko mesiacov (ADAMBERG et al., 2003; RIB'EREAU-GAYON et al., 2006). Vinári v praxi zvyčajne využívajú teplotu 18 – 22 °C.

Cukor – obsah zostatkového cukru by sa mal pohybovať na nulovej úrovni. Degradácia kyseliny jablčnej nie je vhodná u vín s vyšším obsahom zostatkového cukru. Maximálna hranica je do 20 g.l⁻¹, pretože hrozí nebezpečenstvo, že baktérie nebudú spotrebúvať kyselinu jablčnú, ale cukor a prídajú tak k tvorbe kyseliny octovej (Kyseláková et al., 2003; Steidl, 2002)

Obsah alkoholu – mliečne baktérie, podobne ako väčšina organizmov sú citlivé na obsah etanolu v prostredí. Všetky kmene *Oenococcus oeni* odolávajú rozmedziu medzi 13 – 13,5 % obj., kedy pracujú uspokojivo. Hodnota alkoholu okolo 14 – 14,5 % obj. pôsobí škodlivo na bunčné steny, je teda nutné sa dobre informovať o schopnostiach jednotlivých kmeňov. V laboratórnych podmienkach dochádza k inhibícií baktérií pri koncentrácii 8 – 10 % obj. Závisí to však na druhu rodu a množstve baktérií. Existujú však baktérie, ktoré sú schopné odbúravať do 16 % obj. alkoholu. Niektoré selektované kmene *Oenococcus oeni* sú voči alkoholu veľmi tolerantné (RIB'EREAU-GAYON et al., 1975; TEIXEIRA et al., 2002 in JACKSON, 2008).

Výživa a Kyslík – baktérie mliečného kvasenia sú pomerne náročné na veľa rastových faktorov. Ideálne prostredie im zabezpečuje ponechanie na jemných kvasničných kaloch, ktoré svojou autolýzou uvoľňujú všetky potrebné živiny. K stimulácii mliečnych baktérií vedie aj určité malé množstvo kyslíku. Podporuje plynulú JMF. Tento poznatok najviac nahráva použitiu drevených sudov. Množstvo

však nesmie byť prehnané, pretože by dochádzalo k významnejšiemu vzniku kyseliny octovej (BAROŇ, 2011).

Riadená JMF

Víno obsahuje veľmi komplikované fyzikálno - chemické prostredie. Hlavne nízke pH, vyšší obsah alkoholu, prítomnosť SO₂ a malé množstvo živín vytvára veľmi stresujúce podmienky pre rast mliečnych baktérií. Na trhu sú dnes v ponuke vyselektované lyofilizované baktérie *Oenococcus oeni*, ktoré sa s týmito ťažkými podmienkami vedia vysporiadať. Baktérií je veľa kmeňov s rôznou toleranciou k okolitým podmienkam. Načasovanie inokulácie mliečnych baktérií je veľmi dôležitý faktor. Môžu sa očakávať súčasne s kvasinkami pri zahajovaní alkoholovej fermentácie. Pre bezproblémové prebehnutie JMF, je potrebné vytvoriť vhodné podmienky. Najskôr musia mliečne baktérie dosiahnuť určitú úroveň populácie, aby mohla začať JMF. Aby sa naočkované mliečne baktérie rýchlo adaptovali v životnom prostredí vína sa udáva dávka najmenej 10⁸ až 10¹⁰ buniek na ml⁻¹. Vyššia úroveň inokulácie mliečnych baktérií urýchľuje začiatok, skracuje dĺžku JMF a vedie k nižšej tvorbe diacetylu. Je dôležité pripraviť inokuláciu mliečnych baktérií v plnej dávke a presne podľa návodu výrobcu. Pre dobrý rozvoj mliečnych baktérií sú vhodné anaeróbne podmienky. Pri vytvorení optimálnych podmienok pre degradáciu kyseliny jablčnej, prebehne jablčno – mliečna fermentácia rýchlo a čisto spravidla za 4 – 6 týždňov (PAVLOUŠEK, 2010; ROTTER, 2013; FURDÍKOVÁ A MALÍK, 2009; PAVELKOVÁ, 2007)

Spontánna JMF

Spontánna JMF sa pokladá za metabolický proces prebiehajúci samovoľne po alkoholovej fermentácii na prítomnej mikroflóre vína. Tým že prebieha s nečistou mikroflórou, môže viesť k tvorbe negatívnych sensorických prejavov, ako sú prchavé kyseliny, prchavé sírne látky a negatívne mliečne aróma. Vývoj spontánnej mikroflóry je podmienený vývojom počasia počas zrenia hrozien, kvôli napadnutiu hrozien hnilobami. Divoké baktérie sa taktiež vyskytujú na zariadeniach v sklepe. Pokiaľ sa rozhodneme pre spustenie spontánnej jablčno – mliečnej fermentácie po alkoholovej fermentácii, je potreba udržiavať teplotu vína okolo 20 – 22 °C a kontakt s jemnými kvasničnými kalmi. Kvasničné kaly je nutné premiešavať s obsahom nádoby a priebežne sensoricky sledovať vývin JMF. Dlhtrvajúca JMF má zlý vplyv na aróma,

pretože sa jej môžu zúčastniť iné druhy ako *Oenococcus oeni*. *Lactobacillus plantarum* môže rozkladať v červených vínach vínny kameň, glycerol a kyselinu vínnu na kyselinu mliečnu, kyselinu octovú a CO₂. Tento jav sa nazýva zvrhnutie vína. Spontánna JMF môže spôsobovať veľa škôd kvality vína. Jednou z nich môže byť mliečna pichľavosť, ktorá je spôsobená nedokvasenými cukrami. Tie sú pretvárané na kyselinu octovú, etanol a CO₂. Pre tento účel je dobré previesť laboratórny rozbor vína pred začatím a po skončení JMF (PAVLOUŠEK, 2010; MINÁRIK, 2008).

3.2.3 Zvyšovanie obsahu kyselín

Prikysľovanie vína je možné do 2,5 g.l⁻¹vyjadrené ako kyselina vínna (NAŘÍZENÍ (EP) A RADY Č. 1308/2013). Pridaním kyselín do muštu alebo následne do vína vedie k jeho lepšej stabilite. Prikyslením niektorou z kyselín povedie k zmene celkových titrovateľných kyselín a ovplyvníme tým hodnotu pH. Z tohto dôvodu je najpodstatnejšie sledovať hodnotu pH a prikyslením sa dostať na jej optimum. Optimálna hodnota pH je podstatná pre mikrobiálnu stabilitu. Vysoká hodnota pH vedie k nástupu a prevládaniu nežiaducej mikrobiálnej aktivity v podobe divokých mliečnych baktérii ako *Lactobacillus* alebo *Pediococcus* ďalej octovými baktériami a kvasinkami rodu *Brettanomyces*. Mušty a vína s vysokou hodnotou pH sú tiež výrazne náchyľnejšie k oxidačným prejavom. Vysoká hodnota pH navyše preukázateľne znižuje účinnosť sírenia vína. Na druhú stranu, príliš nízke pH znemožňuje aktiváciu JMF. Určenie optimálneho pH pre správnu fermentáciu a stabilitu vína je nesporné. Preto by sa optimálna hodnota pH pre kvalitné vína mala pohybovať v rozmedzí od 3,1 do 3,3 (PAVLOUŠEK, 2012).

Ak je vo víne príliš nízky obsah titrovateľných kyselín, víno je fádne a chutí neharmonicky. Pozitívny vplyv na zachovanie stability vyrábaného vína má zvýšenie kyslosti, pretože sa zamedzuje rastu kontaminujúcich mikroorganizmov. Pri nižšom obsahu pH sa lepšie tvoria aromatické látky, ktoré vo víne vznikajú počas fermentácie.

Okyslenie sa často používa v produkčných oblastiach s horúcim a teplým podnebí, kvôli intenzívnemu rozkladu kyseliny L-jablčnej v konečnej fázy dozrievania hrozienu viniča hroznorodého. Za účelom zharmonizovania chutí a zvýraznenie dojmu kyslosti môžu byť použité nasledujúce spôsoby ošetrenia vína (STEIDL, 2002; JACKSON, 2008; ROP et al., 2009; STYGER et al, 2011).

Kyselina vínna

Priamym okyslením organickou kyselinou, kyselinou vínnou sa môže v prípade vína použiť až 2,5 g.l⁻¹. Tieto hodnoty vychádzajú priamo z nariadenia, ako už bolo v práci spomínané. Prídavkom kyseliny vínnej dochádza k zvýšeniu kyselín u muštov alebo vín najrazantnejšie. Kyselina vínna je totiž najsilnejšou kyselinou. Z tohto dôvodu je prikyslenie najvhodnejšie a najjednoduchšie priamo kyselinou vínnou. Množstvo kyseliny potrebnej k úprave kyslosti závisí na veľa faktoroch ako je hodnota pH, celková kyslosť a nasýtenosť vína. Základným dobre fungujúcim pravidlom je, že pridaním každého 1 g.l⁻¹ kyseliny vínnej do muštu alebo do vína, zvýši pH o jednu desatinu. Podstatným problémom u kyseliny vínnej je jej schopnosť vyzrážania sa v podobe vínneho kameňa, ako hydrogenvínan draselný (kyslá draselná soľ) a jeho stabilita je ovplyvnená teplotou. Nízka teplota vedie k vypadávaniu vodného kameňa (STEDL, 2002; MORENO-ARRIBAS et al., 2009; JACKSON, 2008; ROP et al., 2009; NAŘÍZENÍ KOMISE, 606/2009).

Kyselina jablčná

K prikysleniu vína môže byť tiež použitá kyselina jablčná, musí byť však v súlade s povolenými normami pre prikyslenie. Pokiaľ je pridaná hroznová (DL-)-kyselina jablčná, tak po JMF zostane vo víne (D-)-kyselina jablčná. Len prírodná (L-)-kyselina jablčná je spotrebovaná počas JMF (MORENO-ARRIBAS et al., 2009). Pri prikyslení kyselinou jablčnou je dôležité zistenie pH a tiež celkový obsah kyseliny jablčnej. Použitím kyseliny jablčnej sa vyhneme problémom spojeným s vypadávaním a stabilizáciou vínneho kameňa ako u kyseliny vínnej, ale problémom môže byť JMF. Vysoký obsah kyseliny jablčnej, môže totiž spustiť proces JMF. Pokiaľ nie sú ideálne podmienky pre jej priebeh, alebo nie je žiaduca, tento proces pre zmenu vlastností vína, môže byť pre víno vysoký obsah kyseliny jablčnej škodlivý.

Kyselina mliečna

Ďalšou alternatívou je použitie kyseliny mliečnej, ktorá nielenže zvyšuje kyslú chuť, ale tiež prispieva k tvorbe plnej chuti a aróma. Kyselina vínna, jablčná i mliečna sú síce povolenými kyselinami k prikysleniu vín, ale existujú aj ďalšie možnosti ako upraviť kyslosť vína. Tieto ďalšie látky, ktoré môžu byť pridané do vína, však už sú považované za prípravky k podpore školenia vín. Z týchto dôvodu nejde o prikyslenie

vína a ich použitie nie je viazané nariadením pre prikysľovanie. Kyselina mliečna prispieva k tvorbe plnej chuti a aróme vína.

Kyselina citrónová

Jednou z látok, ktorá môže byť pridaná do vína v súvislosti so zmenou obsahu kyselín je kyselina citrónová. Neslúži však k prikyslení ale pridáva sa k podpore a školenia vína ako uvádza nariadenie ES č. 606/2009 (NAŘÍZENÍ KOMISIE(ES) Č. 606/2009). Môže byť pridaná až do celkového obsahu 1 g.l^{-1} a nepovažuje sa to za prikyslenie vín. Víno samotné obsahuje 0,2 až 0,3 g.l^{-1} kyseliny citrónovej, u vín s prívlastkom môže byť prirodzený obsah ešte vyšší. Jej obsah pre účinnosť však musí byť vyšší, než je povolené legislatívne. Kyselina citrónová zlepšuje koloidnú stabilitu vína, čo znamená že uľahčuje stabilizáciu železnatých a železitých iontov, ktoré spôsobujú zákaly (STEIDL, 2002; JACKSON, 2008; ROP et al., 2009). Kyselina citrónová vedie k čiastočnému, i keď nie k významnému prikysleniu. Podstatný je však vzťah kyseliny citrónovej k baktériám mliečneho kvasenia. Kyselina citrónová je odbúrateľná baktériami mliečneho kvasenia a premení sa na diacetyl. Jedná sa o maslový tón vznikajúci pri JMF (STEIDL, 2002). Prídavkom kyseliny citrónovej príde k výraznému zväčšeniu mikrobiálnej nestability vína. Problémom môže byť jej prídanie už pred fermentáciou. Pri fermentácii môže prísť k metabolickej premene kyseliny citrónovej na kyselinu octovú. Z tohto dôvodu je jej prídavok v najnutnejších prípadoch vhodnejší až do vína nie do muštu, kde môže byť často jednoducho metabolizovaná (YAIR, 2012).

Kyselina L-askorbová

Kyselina L-askorbová (vitamín C), je významnou redukčnou látkou vo víne, ktorá na seba viaže kyslík. Dochádza pri tom k oxidácii kyseliny L-askorbovej na kyselinu dehydroaskorbovú, ktorá bráni ďalšej oxidácii. Víno vďaka tomu pôsobí čerstvejším a sviežejším dojmom. Pre jej účinnosť je však podstatný predpoklad odpovedajúci hladine voľného oxidu siričitého. Ten by sa mal pre uchádzajúcu účinnosť pohybovať pri hodnote najmenej 35 mg.l^{-1} . Kyselina L-askorbová pozitívne pôsobí ako na mladé vína tak aj na staršie vína. Tie môže vhodne pridaným množstvom osviežovať a omladzovať. Mladé vína zostanú dlhšie svieže. Vhodná je do odrôd s nižším obsahom kyselín. Nie je vhodné však použiť kyselinu L-askorbovú do veľkých ťažkých vín a do červených vín. Celkové prípustné množstvo do vína je až do $0,15 \text{ g.l}^{-1}$. Oveľa častejšie

sú však využívané podstatne nižšie dávky okolo 0,10 g.l⁻¹. Kyselina L-askorbová sa najčastejšie pridáva do vína tesne pred fľašovaním, pretože po jej pridaní už nie je možné merať jodometricky obsah voľného oxidu siričitého (STEIDL, 2002, NAŘÍZENÍ KOMISIE, 606/2009).

Kyselina metavínna

Kyselina metavínna je monoester kyseliny vínnej. Jej použitie nie je priamo spojené so zvyšovaním obsahu kyseliny vo víne. Je používaná ako stabilizátor vínneho kameňa, pretože bráni tvorbe vínnych kryštálov. Jej účinnosť je však časovo obmedzená. Je závislá tiež na teplote. Najdlhšia účinnosť je maximálne asi 1,5 roku ale to len pri nízkych teplotách skladovania. Maximálne môže byť pridaných 0,1 g.l⁻¹ vína.

Oxid uhličitý

Ďalšou možnou látkou pridávanou do vína pre zvýšenie pocitu kyslosti vína je oxid uhličitý. Prídavok oxidu uhličitého zvyšuje celkový dojem kyslosti vína. Pri malom obsahu oxidu uhličitého je jeho obsah asi 0,5 g.l⁻¹. Zvýšiť jeho množstvo je možné až do 2 g.l⁻¹ (STEIDL, 2002).

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Na prípravu vzoriek boli použité červené odrody vín Svätovavrinecké a Zweigeltrebe. Hrozno na výrobu vína bolo z roku 2015. Cukornatosť bola 20 °ČSN a bolo dosladené repným cukrom 4 kg na 100 litrov. Po alkoholovej fermentácii bolo odoberatých z nádrže o objeme 250 litrov z každej odrody 15 litrov vína. Slovensko sa rozdeľuje na 6 vinohradníckych oblastí. Vinič hroznorodý na výrobu vína, ktoré bolo použité na pokus pochádza z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti zo Skalického vinohradníckeho rajónu z obce Skalica. Vinohrady Záhoria, ležia v regióne Záhorie, na krajnom západe medzi riekou Moravou a severozápadným okrajom Malých Karpát. Najvýznamnejšia časť vinohradov Záhorie sa nachádza v okolí mesta Skalica odkiaľ aj pochádza hrozno použité na výrobu vína pri pokuse. Z pôdno-geologického substrátu prevažujú fluvialne sedimenty riek (najmä Moravy a Myjavy) a viate piesky. Priemerné zrážky sa pohybujú okolo 600 mm ročne. Charakteristické sú výrazné rozdiely medzi teplotou cez deň a v noci. Priemerná ročná teplota je 11 °C, počas vegetácie je táto teplota vyššia. Nebezpečnými sú hlavne prívalové dažde a búrky, ktoré sa v Malých Karpatoch často vyskytujú. Na prudkých svahovitých viniciach spôsobujú škody najmä erozívneho charakteru (LIPKA et al., 2006 POSPÍŠILOVÁ et al., 2005).

Zweigeltrebe – odroda Zweigeltrebe dáva vína s veľmi atraktívnou rubínovou farbou. Vo vône sa prejavuje výrazne aróma čerešní a višní, u vyšších stupňoch zrelosti sa vyskytujú tóny lesného ovocia. Pri spracovaní hrozna v prívlastkovej kvalite a veľmi dobrou fenolovou zrelosťou využívame všetky kroky modernej výroby červených vín. Hrozno spracovávame dlhšou maceráciou pri teplotách nad 25 °C aby sme zabezpečili optimálnu extrakciu farby, tanínov a predovšetkým plnosti chuti. Veľmi významné miesto v technológii má mikrooxidácia a zrenie v sudoch. Biologické odbúravanie kyseliny jablčnej je nenahraditeľnou súčasťou tejto technológie. Výsledný produkt by mal mať výraznú arómu, jemné taníny a vysokú chuťovú plnosť. Hrozno z akostných kategórií spracovávame krátkodobou maceráciou trvajúcou 5 - 7 dní. Vína tohto typu často zrejú v nerezových tankoch, za pomoci mikrooxidácie robenej pomocou dávkovaču kyslíka. Z tejto odrody sa vyrábajú aj ružové vína. Zweigeltrebe dáva vína s veľmi atraktívnou rubínovou farbou. Vo vône sa prejavujú výrazné tóny čerešní

a višní, u vyšších stupňov zrelosti sa vyskytujú tóny lesného ovocia (ŠIMONOVIC, 2009).

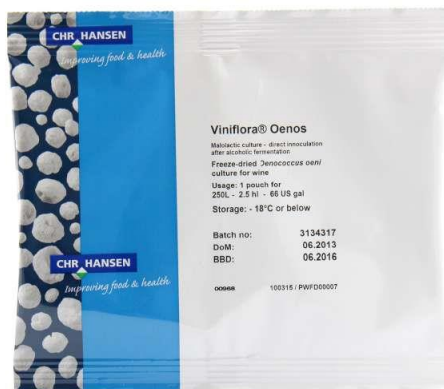
Svätovavrinecké – víno zo Svätovavrineckého sa vyznačuje vyššou farebnou intenzitou, vyššou hladinou kyselín a trieslovín. Chuť má plnú, výraznú a zamatovú. Vo vône pripomína sušené slivky. Optimálnou technológiu pre akostné vína je krátkodobá macerácia do siedmich dní, pri optimálnych teplotách (15 – 28 °C). Dôležitá je jablčno-mliečna fermentácia. Víno má potom veľmi zaujímavú ovocnú arómu, plnú chuť s jemnou trieslovinou. Hrozno v prívlastkovej kvalite sa môže spracovávať dĺžkou macerácie okolo 14 dní, takto vyrobené vína sú vhodné na zrenie v drevených sudoch. Svätovavrinecké sa tiež spracováva na ružové vína. U tohto typu vína sa nerobí jablčno-mliečna fermentácia. Víno zo Svätovavrineckého sa vyznačuje vyššou farebnou intenzitou, vyššou hladinou kyselín a trieslovín. Chuť má plnú, výraznú a zamatovú. Vo vône pripomína sušené slivky (ŠIMONOVIC, 2009).

4.2 Použité metódy

Na prípravu vzoriek boli použité už spomínané červené odrody vín Svätovavrinecké a Zweigeltrebe. Po skončení alkoholovej fermentácie, sa červené vína stiahli z kvasníc, predovšetkým z hrubých kalov. Následne bolo odobratých 15 litrov vína z každej odrody. Vína boli prevezené do školy kde sa vykonával pokus. Prichystalo sa 6 sklenených nádob o objeme 5 litrov. Prichystalo sa 6 sklenených kvasných zátok na neskoršie uzatvorenie sklenených nádob. Prvá vzorka z každej odrody bola označená ako víno s prídavkom mliečnych baktérií. Druhá vzorka z každej odrody bola označená víno s prídavkom síry a tretia vzorka z každej odrody bola označená víno bez ošetrenia. Do každej sklenenej nádoby bolo naliatych 5 litrov vína príslušnej odrody.

Víno s prídavkom mliečnych baktérií – pred naočkovaním štartovacích kultúr sa víno analyticky zhodnotilo či vyhovuje daným podmienkam pre naočkovanie čistými mliečnymi baktériami. Meral sa obsah voľného oxidu siričitého, obsah redukujúcich cukrov, ďalej sa merala hodnota pH, obsah titrovateľných kyselín a obsah alkoholu (Tab. 1). Keďže víno spĺňalo podmienky pre zahájenie JMF prešlo sa k aplikácii mliečnych baktérií. Na inokuláciu bola použitá štartovacia kultúra *Oenococcus Oeni* pre červené a biele vína, ktorá bola zakúpená vo vinárskych potrebách BS Velké Bílovice pod obchodným názvom Viniflora oenos (obr. 12). Keďže balenie bolo určené na 250 l

vína, prepočítala sa spotreba potrebná na 5 l vína, vypočítané množstvo baktérií sa pridalo priamo do vína presne podľa návodu výrobcu. Sklenená nádoba bola uzatvorená kvasnou zátkou a víno bolo umiestnené do miestnosti s teplotou 17 °C.



Obr. 12 Štartovacia kultúra Viniflora Oenos

Víno s prídavkom síry – pred pridaním síry do vína bolo taktiež najskôr vykonané analytické merania, v tomto prípade nás najviac zaujímali výsledky voľného oxidu siričitého, redukujúcich cukrov a hodnota pH ktoré sú uvedené v tabuľke č. 1. Víno bolo ošetrené oxidom siričitým na hodnotu 50 mg voľného oxidu siričitého na 1 liter vína. Následne bola sklenená nádoba uzatvorená kvasnou zátkou a víno umiestnené do miestnosti s teplotou 2 °C.

Víno bez ošetrovania – pred začiatkom pokusu boli zaznamenané hodnoty z merania tak ako u predchádzajúcich ošetrovaní, do tohto vína nebolo pridávané vôbec nič, víno bolo ponechané bez zásahu, nádoba uzatvorená kvasnou zátkou a víno uložené do miestnosti s teplotou 17 °C.

| | Alkohol | Titrovat. Kys. | pH | redukujúce cukry | voľná síra |
|-----------------------|----------------|-----------------------|-----------|-------------------------|-------------------|
| | % obj. | g/l | | g/l | mg/l |
| Zweigeltrebe | 12,00 | 7,21 | 3,45 | 2,70 | 17,79 |
| Svätovavrinské | 12,50 | 6,99 | 3,34 | 2,96 | 19,27 |

Tab. 1 Meranie pred založením pokusu

V dátumoch uvedených v tabuľke 2 sa odoberali vzorky vína do 100 ml plastových nádob uzatvorených plastovým vrchnákom. Nádobky boli označené nezmývateľnou fixkou, kde bol označený názov odrody, druh ošetrovania, dátum odberu a teplota prostredia. Odobraté označené vzorky boli zamrazené na -18 °C a uskladnené na ústave Posklizňovej technológie po celý čas pokusu. Po skončení pokusu prišlo

k rozmrazeniu všetkých vzoriek a k analytickému stanoveniu obsahu alkoholu, hodnoty pH, obsahu jednotlivých kyselín a meraniu farby. Výsledky sú zahrnuté v kapitole výsledky a diskusia, kde im je venovaná väčšia pozornosť.

| Dátum | Deň od založenia pokusu |
|------------|-------------------------|
| 18.11.2015 | 0 |
| 20.11.2015 | 2 |
| 23.11.2015 | 5 |
| 26.11.2015 | 8 |
| 2.12.2015 | 14 |
| 9.12.2015 | 21 |
| 17.12.2015 | 29 |
| 1.2.2016 | 75 |

Tab.2 Prehľad dátumov a dní odberu vzoriek

4.2.1 Stanovenie hodnoty pH a obsahu titrovateľných kyselín

Vo víne môže byť kyslosť meraná dvoma spôsobmi a to kvantitatívne (titrovateľné kyseliny) alebo sa meria intenzita (pH).

Hodnota pH - sa vyjadruje ako záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových kationov v mušte alebo vo víne. Stanovujú sa meraním potenciálu sklenej elektródy, ktorá závisí od aktivity vodíkových kationov, vzhľadom k referenčnej kalomelovej elektróde výhodným milivoltmetrom (pH-metrom), kalibrovaným utlmujúcim roztokom o známom pH. pH mladých vín sa pohybuje v rozmedzí 3 – 4 v priebehu dozrievania mierne stúpa. Pre stanovenie hodnoty pH bol použitý digitálny pH meter InoLab pH7310 s kombinovanou elektródou Electrode SenTix 81.

Postup: Najskôr bol pH meter kalibrovaný pri teplote 20 °C podľa návodu k prístroju na štandardný tlmivý roztok pH 4 a pH 7. K stanoveniu vína bolo použitých približne 30 ml vína o teplote prostredia. Vzorka sa umiestnila na magnetickú miešačku a do príslušného objemu vína sa ponorila kombinovaná elektróda. Po ustálení hodnoty na digitálnej stupnici sa zaznamenala hodnota s presnosťou dve desatinné miesta. U každého vzorku bolo meranie prevedené v 3 opakovaniach.

Titrovateľnými kyselinami - sa rozumie suma zlúčenín titrovateľných odmerným alkalickým roztokom do pH 7 (BALÍK, 2006), nazývaná tiež ako všetka titrovateľná kyslosť vína. Obsah titrovateľných kyselín bol stanovený metódou

alkalometrie. U tmavo červeného vína je bod zmeny farby lepšie rozlíšiteľný v prípade titrovania proti svetlému pozadiu (zdroj svetla, biela plocha) alebo pri používaní indikačných papierikov. U veľmi tmavých červených vín sa odporúča stanoviť kyselín pomocou pH-metra (STEIDL, 2002).

Postup: Víno bolo najskôr vytemperované na 20 °C, pipetou sa odmeralo 10 ml pripraveného vína do titračnej banky, pridalo sa 10 ml destilovanej vody a do zmesi bola ponorená kombinovaná elektróda na meranie pH. Za stáleho miešania sa pridával z byrety 0,1 mol.l⁻¹ roztok NaOH, až do získania hodnoty pH rovnajúcej sa hodnote 7 pri 20°C (BALÍK, 2006). Z množstva spotrebovaného NaOH bol vypočítaný obsah titrovateľných kyselín vyjadrených ako kyselina vínna (g.l⁻¹). U každého vzorku bolo meranie prevedené v 3 opakovaniach.

4.2.2 Stanovenie obsahu vybraných organických kyselín

Na stanovenie obsahu vybraných organických kyselín bola použitá metóda HPLC. HPLC je vysokoúčinná kvapalinová chromatografia, je to separačná metóda, ktorá slúži k separácii látok za účelom stanovenia ich prítomnosti a koncentrácie vo vzorku, prípadne aj k izolácii jednotlivých zložiek.

Stanovovali sa kyseliny citrónovej, vínnej, jablčnej a mliečnej vo víne boli pomocou metódy vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie v izokratickom režime za použitia čerpadla ECOM ECB 2000. K separácii jednotlivých analytov bola použitá kolóna Polymer IEX H-form 10 µm, 250 x 8 mm (Watrex), kde stacionárnou fázou je sulfonovaný styren – divinylbenzenový sorbent, kde jeho vodíková forma je vhodná na stanovenie organických kyselín. Separácia na kolóne prebehla za konštantnej teploty 60 °C, pomocou termostatu Column Oven LCO 102 (ECOM Praha). K detekcii bol použitý detektor Sapphire 800. Výsledky boli vyhodnotené na PC softvérom Clarity version 5.0.4.158. Mobilná fáza bola 7 mM kyselina sírová, prietok bol 0,7 ml.min⁻¹, bežný prevádzkový tlak v kolóne bol 9 MPa.

Príprava mobilnej fáze: k dispozícii bola 96 % kyselina sírová s molárnou hmotnosťou 98,08 g.mol⁻¹ o hustote 1,836 g.cm³. Potrebovalo sa pripraviť 7 mM kyselinu sírovú. Čiže sa najprv spočítalo koľko je potreba na 1M 100% kyseliny z toho koľko je to gramov 7 mM. Nakoniec sa prepočítala hustota. Čiže sa použilo 0,389 ml⁻¹ 96% kyseliny sírovej o hustote 1,836 g.cm³ sa doplnilo do 1litra destilovanou vodou.

Na mobilnú fázu sa potreboval extra čistý roztok preto sa filtroval cez vývevu a následne sa odplynul v ultrazvukovej kúpeli.

Po príprave mobilnej fázy nasledovala kalibrácia HPLC, na ktorú boli použité štandardy kyselín a to kyseliny jablčnej, vinnej, citrónovej a mliečnej. Kalibračná krivka bola tvorená 7 bodmi pre každú kyselinu.

Stanovenie vzoriek: vzorka vína bola riedená demineralizovanou vodou v pomere 1:4. Pre odstránenie hrubých nečistôt bola nariadená vzorka prefiltrovaná cez mikrofilter s membránou o pórovitosti 3 μ m. Tekutina, ktorá prešla cez mikrofilter prekvapkala do plastovej uzatvárateľnej skúmavky. Následne takto upravená vzorka o objeme 20 μ l⁻¹ bola nastreknutá pomocou striekačky, pomocou dávkovacej smyčky na kolónu, kde dochádzalo k separácii. Pre vyhodnotenie výsledkov bol použitý softvér Clarity version 5.0.4.158.

4.2.3 Stanovenie obsahu alkoholu

Alkohol bol meraný na začiatku a na konci pokusu. Alkohol vo vzorkách bol stanovený destiláciou vodnou parou, pomocou poloautomatického analyzátoru AP01 (1-CUBE s.r.o). Obsah alkoholu (% obj.) v získanom destiláte bol odtečený na ciachovanom liehomere pri teplote 20 °C. Na meranie bolo použitých 100 ml⁻¹ vzorky vína.

4.2.4 Stanovenie farebných zmien

U farby vína sa v praxi hodnotí predovšetkým (jas) a odtieň (sýtosť) k presnejšiemu popísaniu farebnosti je možné stanoviť farebné trichomatické charakteristiky (L, a, b) (STÁVEK, 2007). Relatívne číslo L (luminance) udáva mieru jasú farby. Písmeno (a) udáva červeno-zelenú os, respektíve percentuálne zastúpenie červenej, prípadne zelenej farby. Písmeno (b) udáva žltomodrú os, teda obdobne percentuálny obsah žltej alebo modrej farby (STÁVEK, 1999; MONAGAS et al., 2006). Farbu popisujeme v trojrozmernom systéme CIEL*a*b. CIEL*a*b* parametre, sú najlepšie parametre pre definovanie farby vína. Na základe odchýlky delta E (ΔE) vzorec je uvedený na Obr. 13, je možné popísať práve rozpoznatelný rozdiel medzi dvoma meraniami (PÉREZ-MAGARINO et al., 2002).

$$\Delta E_{a,b}^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

Obr. 13 vzorec pre výpočet zmeny farby (PÉREZ-MAGARINO et al., 2002)

Farebné zmeny v červených vínach boli sledované meraním transmitancie prístroji Lobibond RT850i. Výsledná farba bola definovaná ako farebný priestor jasovej hodnoty L^* a odtieňové súradnice a^*b^* (CIELAB). Vzorky vína boli merané v plastových kyvetách o dĺžke optickej dráhy 2 mm. Pre vyhodnotenie bola použitá programová aplikácia OnColor™ Premium (Lovibond). Veľkosť rozdielov medzi farebnými zmenami jednotlivých vzoriek bol vyjadrený pomocou diferencie ΔE^*_{ab} vo farebnom priestore $L^*a^*b^*$. RIVAS et al., (2006) uvádzajú, že hodnota nad 3 jednotky vyjadruje farebný rozdiel, ktorý je možné vizuálne vnímať ľudským okom.

4.2.5 Senzorické hodnotenie

Senzorické hodnotenie bolo vykonané v učebni senzorickej analýzy, na ústave Posklizňovej technológie na Zhradníckej fakulte Mendelovej univerzity. Hodnotenie sa uskutočnilo dva dni po poslednom meraní. Degustácie sa zúčastnilo 10 preškolených hodnotiteľov. Hodnotitelia boli mužského aj ženského pohlavia vo vekovej kategórii od 21 do 28 rokov. Celkovo sa hodnotilo 6 vzoriek vína. Hodnotili sa vína odrody Zweigeltrebe a odrody Svätovavrinecké. Z každej odrody boli tri vzorky vína s rôznymi druhmi ošetrovania a to víno s prídavkom mliečnych baktérií, kde prebehla riadená JMF s prídavkom síry a víno bez ošetrovania, kde prebehla spontánna JMF. Hodnotil sa senzorický profil intenzity chuti a vône a to konkrétne: intenzita farby, intenzita ovocnej vône, intenzita mliečneho/jogurtového aróma, celková kyslosť a celkový dojem z hodnoteného vína. K bodovému hodnoteniu bola použitá grafická úsečka, ktorý mala 10 cm. KYSELÁKOVÁ et al., (2003) hovorí, že úsečka meria 10 cm a najmenšia hodnota je 0 (záporná) a najväčšia hodnota je 10 (kladná). Hodnoty odpovedajú centimetrom, ktoré sú prevedené na body. Z výsledku bol vypočítaný aritmetický priemer. Hodnotiteľ mal za úlohu ohodnotiť víno na úsečke. Z výsledku bol vypočítaný aritmetický priemer, výsledky boli spracované do grafov 15 a 16.

Podmienky pre senzorické hodnotenie vymedzuje medzinárodná norma ISO 8589. Norma vyžaduje prístupný skúšobný priestor s boxmi a s prípravným priestorom, s teplotou v rozmedzí 18 – 23 °C a s relatívnou vlhkosťou vzduchu 40 až 80 %. Počas skúšok do miestnosti nesmie prenikať hluk a pach, steny a stoly majú mať neutrálnu

farbu. Pri senzorickej hodnote sa používa zdravotne bezchybné náčinie (HORČÍN, 2002). Teplota vzorky červeného vína pre konzumáciu je najlepšia medzi 16 – 18 °C. Ku vzorkám vína podávame neutralizátory ako je čistá voda alebo chlieb (AMBROSI et al., 2001). Najvýznamnejším činiteľom senzorickej analýzy sú hodnotitelia.

4.2.6 Použité štatistické metódy

Použité štatistické metódy boli vyhodnotené pomocou programu STATISTICA 12. Na potvrdenie preukázateľného rozdielu medzi hodnotami bola zvolená metóda jednofaktorovej analýzy pomocou Fushlerova LSD testu na hladine významnosti $p = 0,05$ a smerodajné odchýlky, priemery a korelačná analýza s intervalom spoľahlivosti 0,95. Jednotlivé štatistické analýzy sú uvedené v prílohách práce

5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na prípravu vzoriek boli použité dve odrody červeného vína Svätovavrinecké a Zweigeltrebe. Vinič hroznorodý na výrobu vína pochádzal z odrôd dopestovaných v Malokarpatskej vinohradníckej oblasti, Skalického vinohradníckeho rajónu v obci Skalica. Vína boli ročníku 2015. Víno po alkoholovej fermentácii bolo ponechané na jemných kaloch. Na začiatku pokusu boli všetky vzorky podrobené analytickému rozboru, výsledky sú uvedené v tabuľke 2. Pred založením pokusu bol meraný aj obsah voľnej síry, ktorý bol u odrody Zweigeltrebe 19,3 mg voľnej síry a u odrody Svätovavrinecké 17,8 mg voľnej síry. RIB'EREAU-GAYON et al., (2006) uvádza že pokiaľ je možnosť, je najlepšie, aby obsah voľnej síry vo víne nebol žiadny, alebo maximálne do 20 mg.l⁻¹.

| | Alkohol | Titrovat. kys. | pH | Citronová kys. | Vínna kys. | Jablčná kys. | Mliečna kys. |
|------------------------|---------|----------------|------|----------------|------------|--------------|--------------|
| | % obj. | g/l | | g/l | g/l | g/l | g/l |
| Zweigeltrebe | 12,00 | 7,21 | 3,45 | 0,34 | 2,94 | 2,04 | 2,62 |
| Svätovavrinecké | 12,50 | 6,99 | 3,34 | 0,22 | 3,58 | 1,33 | 1,56 |

Tab. 3 Výsledky alkoholu, titrovateľných kyselín, pH a obsah vybraných kyselín vo víne na začiatku pokusu

Na riadenú jablčno – mliečnu fermentáciu bola použitá štartovacia kultúra pre červené vína Viniflora Oenos. Na pokus bolo použitých tri krát 5 litrov vína z každej uvedenej odrody. Tie boli následne umiestnené do sklenených nádob, popísané a uskladnené v miestnosti s teplotou 17 °C, okrem vína s prídavkom síry to bolo umiestnené do miestnosti s teplotou 2°C. Z vín boli pravidelne odoberané vzorky v dátumoch uvedených v tabuľke 1 a následne zmrazené. Na 29 deň od inokulácie, boli pred zmrazením odobrané vzorky pre určenie množstva kyseliny jablčnej vo víne. Posledný raz sa odobrali vzorky na 75 deň. Následne boli všetky vzorky rozmrazené, aby sa vykonali všetky laboratórne rozboru, ako meranie titrovateľných kyselín, meranie pH, zastúpenie jednotlivých kyselín vo víne, meranie intenzity farby a meranie objemu alkoholu. Výsledky, ktoré boli namerané na konci pokusu, čiže na 75 deň sú uvedené v tabuľke 4. Takmer všetky merania, okrem merania farby, boli merané v troch opakovaníach preto k nim prislúchajú smerodajné odchýlky, ktoré sú uvedené nižšie, pri konkrétnych meraniach. Na záver bola uskutočnená senzoričná analýza.

| | Alkohol | Titrovat. kys. | pH | Citrónová kys. | Vínna kys. | Jablčná kys. | Mliečna kys. |
|--------------|---------|----------------|------|----------------|------------|--------------|--------------|
| | % obj. | g/l | | g/l | g/l | g/l | g/l |
| Zw - JMF | 10,30 | 5,59 | 3,58 | 0,21 | 2,32 | 0,00 | 3,87 |
| Zw - Síra | 11,00 | 6,80 | 3,42 | 0,25 | 2,35 | 2,04 | 1,71 |
| Zw - bez oš. | 11,90 | 6,53 | 3,57 | 0,23 | 3,30 | 0,06 | 4,11 |
| Sv - JMF | 11,50 | 6,05 | 3,48 | 0,12 | 3,06 | 0,00 | 2,50 |
| Sv - síra | 12,00 | 6,32 | 3,33 | 0,27 | 3,03 | 1,64 | 1,29 |
| Sv -bez oš. | 11,90 | 6,10 | 3,50 | 0,16 | 3,92 | 0,00 | 1,99 |

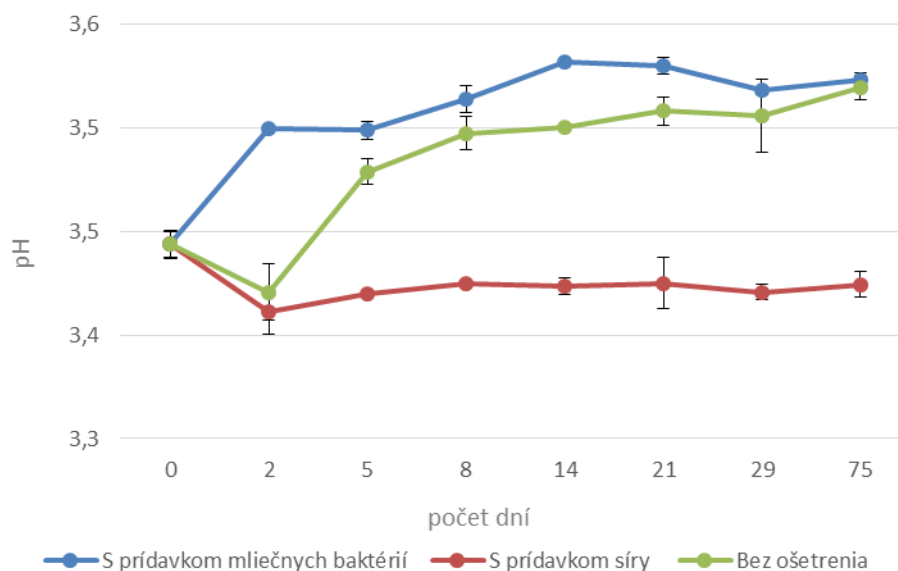
Tab. 4 Výsledky alkoholu, titrovateľných kyselín, pH a obsah vybraných kyselín vo víne na konci pokusu

5.1 Meranie pH

U každej vzorky bolo merané pH v dátumoch uvedených v tabuľke 1. U odrody Zweigeltrebe bola hodnota pH pred inokuláciou $3,45 \pm 0,01$. Pre optimálny priebeh jablčno – mliečnej fermentácie sú uvádzané hodnoty pH v rozmedzí 3,1 – 3,5. Pri pH pod 3,0 nedochádza k prakticky žiadnemu množeniu baktérii *Oenococcus oeni*, pri pH cez 3,4 sa môžu množiť aj nežiaduce baktérie rodu *Pediococcus*. (STEIDL, 2002). Namerané hodnoty u oboch odrôd kritérium pH spĺňajú preto boli do vína naočkované čisté mliečne baktérie *Oenococcus oeni* pod obchodným názvom Viniflora Oenos. V priebehu experimentu sa hodnota pH zvyšovala. Na 75 deň merania bola hodnota pH u odrody Zweigeltrebe, kde boli pridané mliečne baktérie 3,58. U vína odrody Zweigeltrebe, do ktorého bola pridaná síra sa hodnota pH výrazne nemenila, na konci pokusu mala hodnotu $3,42 \pm 0,01$. U vína, ktoré nebolo ošetrené, sa hodnota pH v prvých dvoch dňoch najskôr znížila a následne sa postupne zvyšovala až na výslednú hodnotu $3,57 \pm 0,01$, ako je možné vidieť v grafe 1. U tohto vína, kde prebehla spontánna JMF, bol najvyšší záporný korelačný koeficient zistený medzi obsahom titrovateľných kyselín a hodnotou pH s intervalom spoľahlivosti 0,95 (Príloha, obr.3).

PRIBILOVÁ, (2014) uvádza že, bolo merané pH u odrody Zweigeltrebe pred začiatkom JMF pH bolo 3,78 a po skončení JMF 3,64. Čiže počas JMF prišlo k poklesu pH o 0,14. V tejto diplomovej práci bolo namerané pH u odrody Zweigeltrebe pred začatím JMF 3,45 a po skončení JMF, ku ktorej prišlo na 14 deň od založenia pokusu odbúraním kyseliny jablčnej z vína bola nameraná hodnota pH 3,59. Čiže počas JMF prišlo k zvýšeniu hodnoty pH o 0,14.

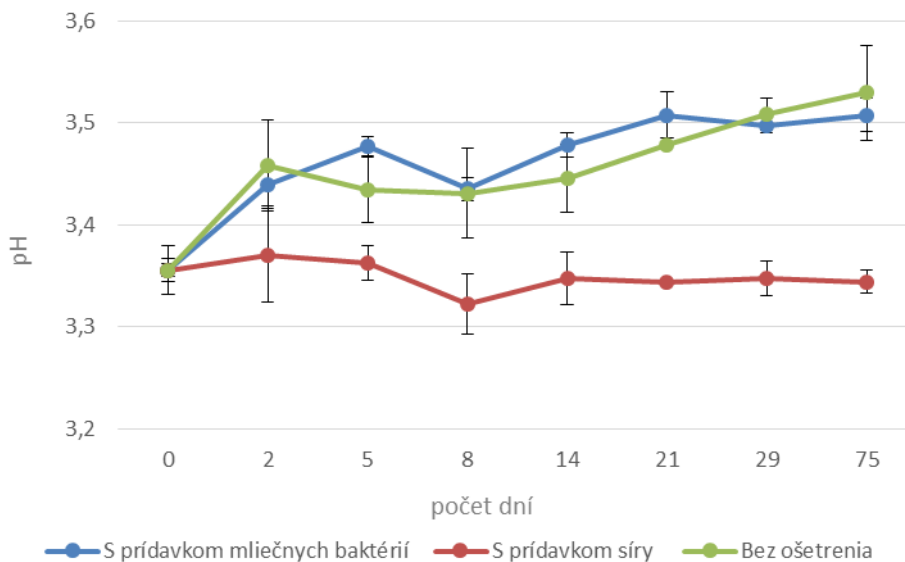
BALÍK, (2005) uvádza, že dôvodom pre vysoké hodnoty pH by mohlo byť zvýšenia množstva draslíku, prípadne iných minerálov v bobuliach. Draslík a ďalšie mineráli môžu spôsobovať neutralizáciu prítomných kyselín do podoby solí (napríklad rozpustený hydrogenvínan draselný), disociácia týchto solí naopak pH vína ešte viac zvyšuje.



Graf 1: Zmena hodnoty pH u odrody Zweigeltrebe

U odrody Svätovavrinecké malo víno na začiatku hodnotu $\text{pH } 3,34 \pm 0,01$. Najmenší rozdiel v hodnote pH bol nameraný u vína, do ktorého bola pridaná siera.. U vína, do ktorého boli pridané mliečne baktérie sa hodnota pH po inokulácii mliečnymi baktériami mierne zvyšovala, na 8 deň merania prišlo k menšiemu poklesu a napokon sa hodnota opäť mierne zvyšovala. Na 75 deň pokusu bola nameraná hodnota $3,48 \pm 0,01$. Vo víne s prídavkom mliečnych batérií, bol najvyšší záporný korelačný koeficient zistený medzi obsahom titrovateľných kyselín a hodnotou pH s intervalom spoľahlivosti 0,95 (Príloha, obr.4). U vína, ktoré nebolo ošetrené, hodnota pH behom dvoch dní výraznejšie stúpala potom mierne klesala a napokon sa pomaly zvyšovala a to až na hodnotu $3,50 \pm 0,04$ ako možno vidieť v grafe 2. U oboch odrôd sa hodnoty pH u vína s prídavkom síry výrazne nemenili, na rozdiel od vína s prídavkom mliečnych baktérií a u vína, ktoré nebolo ošetrené. Dôvodom podobného vývoja hodnôt pH by mohlo byť to, že u vína s prídavkom mliečnych baktérií prebehla riadená jablčno – mliečna fermentácia a u vína s prídavkom síry prebehla spontánna jablčno – mliečna fermentácia. EDER et al., (2006) uvádza, že batérie kyseliny mliečnej majú vysokú

afinitu ku kysline jablčnej. Kyselinu jablčnú sa tieto batérie snažia znižovať. Počet iontov vodíku, ktoré majú pôvod v kyselinu jablčnej sa zníži na polovicu a hodnota pH sa vďaka tomu zvýši o niekoľko desiatok.



Graf 2: Zmena hodnoty pH u odrody Svätovavrinecké

5.2 Obsah titrovateľných kyselín

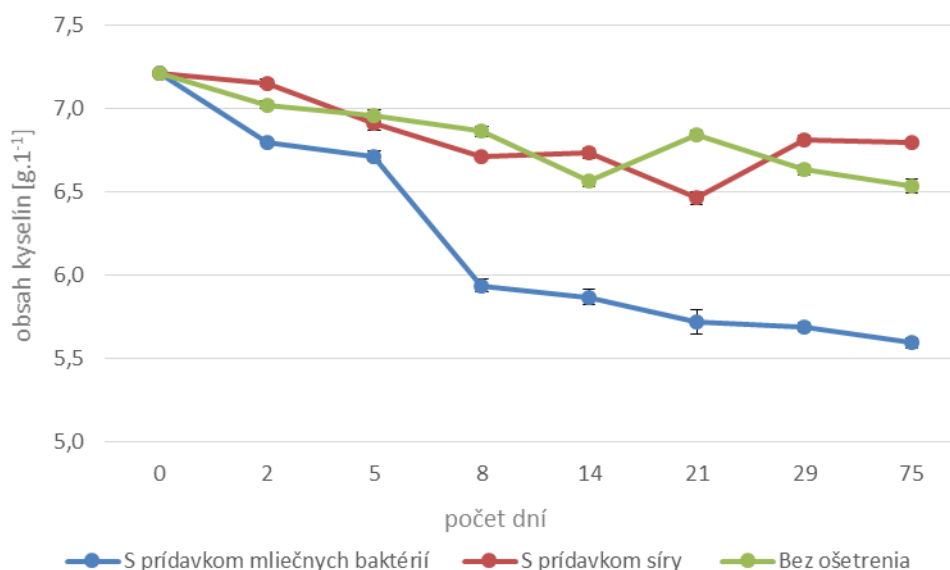
Titrovateľné kyseliny predstavujú (okrem obsiahnutých anorganických kyselín) zhruba 70-80 % všetkých kyselín v hroznách (PAVLOUŠEK, 2011). Všetkými titrovateľnými kyselinami sa rozumie súhrn voľných prchavých aj neprchavých kyselín vo víne a kyslých soliach, ktoré je možno zneutralizovať titráciou NaOH alebo KOH. Počet mililitrov spotrebovaného hydroxidu odpovedá priamo počtu g.l^{-1} všetkých kyselín vo víne (TOMÁŠEK, 2005).

Ako je vidieť v grafe 3 obsah titrovateľných kyselín vo víne odrody Zweigeltrebe bol na začiatku pokusu $7,21 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. Obsah vína s prídavkom síry sa postupne znižoval, k najvýraznejšiemu zníženiu prišlo na 21 deň od založenia pokusu na obsah $6,5 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$. Na 29 deň sa obsah titrovateľných kyselín zvýšil a na 75 deň bol nameraný obsah $6,8 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. U tohto vína prišlo k najmenšiemu poklesu obsahu titrovateľných kyselín u odrody Zweigeltrebe. U vína, u ktorého nebolo použité ošetrenie obsah titrovateľných kyselín mierne klesal. Na rozdiel od vína s prídavkom síry, sa u tohto vína na 21 deň sa obsah zvýšil. Ostatné dni pokusu obsah opäť klesal až

na výsledky obsah $6,54 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,04$. U vína s prídavkom mliečnych baktérií, prišlo počas 14 dní k najväčšiemu zníženiu titrovateľných kyselín, čo bolo pravdepodobne, spôsobené jablčno – mliečnou fermentáciou počas ostatných dní sa obsah mierne zvyšoval. Na 75 deň bol nameraný obsah titrovateľných kyselín $5,59 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$, čo je aj najnižší obsah u odrody Zweigeltrebe.

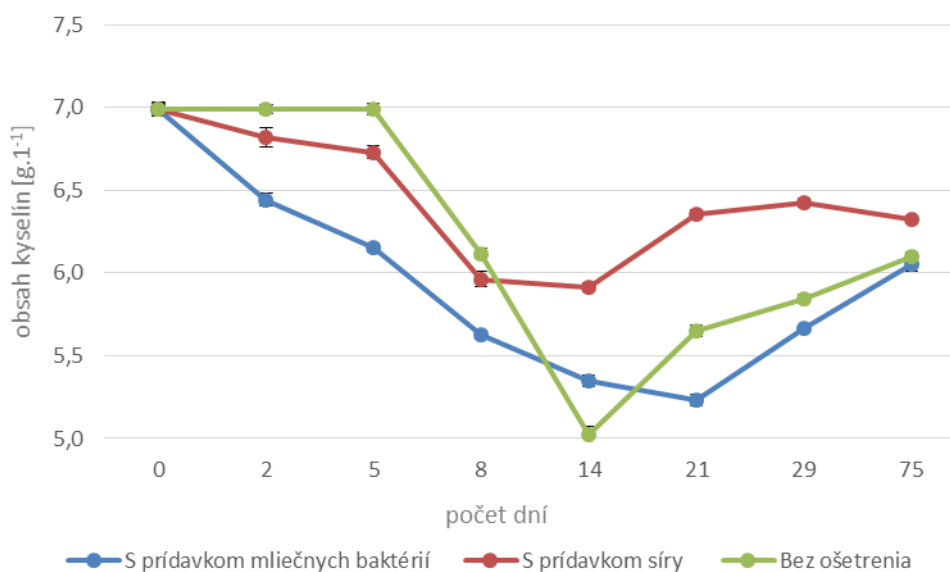
HASIL, (2014) uvádza, že u vína odrody Zweigeltrebe, u ktorého prebehla spontánne jablčno – mliečna fermentácia nameraný obsah titrovateľných kyselín po alkoholovej fermentácii $7,38 \text{ g.l}^{-1}$ a po 38 dňoch kedy skončila JMF nameraný obsah $5,79 \text{ g.l}^{-1}$, čiže celkový úbytok titrovateľných kyselín bol $1,59 \text{ g.l}^{-1}$. V našom prípade bol obsah titrovateľných kyselín po alkoholovej fermentácii $7,21 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$, na 29 deň bol nameraný obsah $6,63 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$, lenže pri tomto meraní bol obsah kyseliny jablčnej vo víne ešte $0,207 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$, čiže kyselina jablčná nebola odbúraná úplne. Na 75 deň bola už kyselina jablčná odbúraná a obsah titrovateľných kyselín bol $6,54 \text{ g.l}^{-1}$. Celkový úbytok obsahu titrovateľných kyselín bol v našom pokuse $0,67 \text{ g.l}^{-1}$.

HASIL, (2014) ďalej uvádza obsah titrovateľných kyselín u odrody Zweigeltrebe u vína, kde prebehla jablčno – mliečna fermentácia riadene. Nameraný obsah po alkoholovej fermentácii bol $7,19 \text{ g.l}^{-1}$. Po 10 dňoch kedy sa úplne odbúrала kyselina jablčná a tým prebehla jablčno – mliečna fermentácia bol nameraný obsah $5,67 \text{ g.l}^{-1}$. Obsah titrovateľných kyselín sa počas JMF znížil o $1,52 \text{ g.l}^{-1}$. V našom pokuse bol obsah titrovateľných kyselín po alkoholovej fermentácii $7,21 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. Do vína boli pridané mliečne baktérie. K JMF prišlo po 14 dňoch od založenia pokusu a obsah titrovateľných kyselín vo víne bol $5,87 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,05$. Celkový úbytok obsahu titrovateľných kyselín bol u riadenej JMF $1,35 \text{ g.l}^{-1}$.



Graf 3: Zmeny obsahu titrovateľných kyselín u vín odrody Zweigeltrebe

Obsah titrovateľných kyselín vo víne odrody Svätovavrinecké bol na začiatku pokusu $6,99 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$. V grafe 4 je vidieť, že u všetkých vín odrody Svätovavrinecké prišlo k poklesu obsahu titrovateľných kyselín. Najväčšie zníženie obsahu bolo namerané na 14 deň od založenia pokusu a potom sa obsah opäť zvýšil u všetkých vín takmer o polovicu. Je zaujímavé, že taký pokles nastal u všetkých spôsobov ošetrenia naraz. Najväčší pokles bol nameraný u vína bez ošetrenia a to $5,03 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,05$. Na 75 deň bol nameraný obsah u vína bez ošetrenia, kde prebehla spontánna JMF $6,10 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$. U vína s prídavkom síry bol nameraný obsah na konci pokusu $6,32 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$ a u vína s prídavkom mliečnych baktérií bol nameraný obsah $6,05 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,05$, čo bol aj najnižší nameraný obsah titrovateľných kyselín spomedzi oboch odrôd.



Graf 4: Zmeny obsahu titrovateľných kyselín u vín odrody Svätovavrinecké

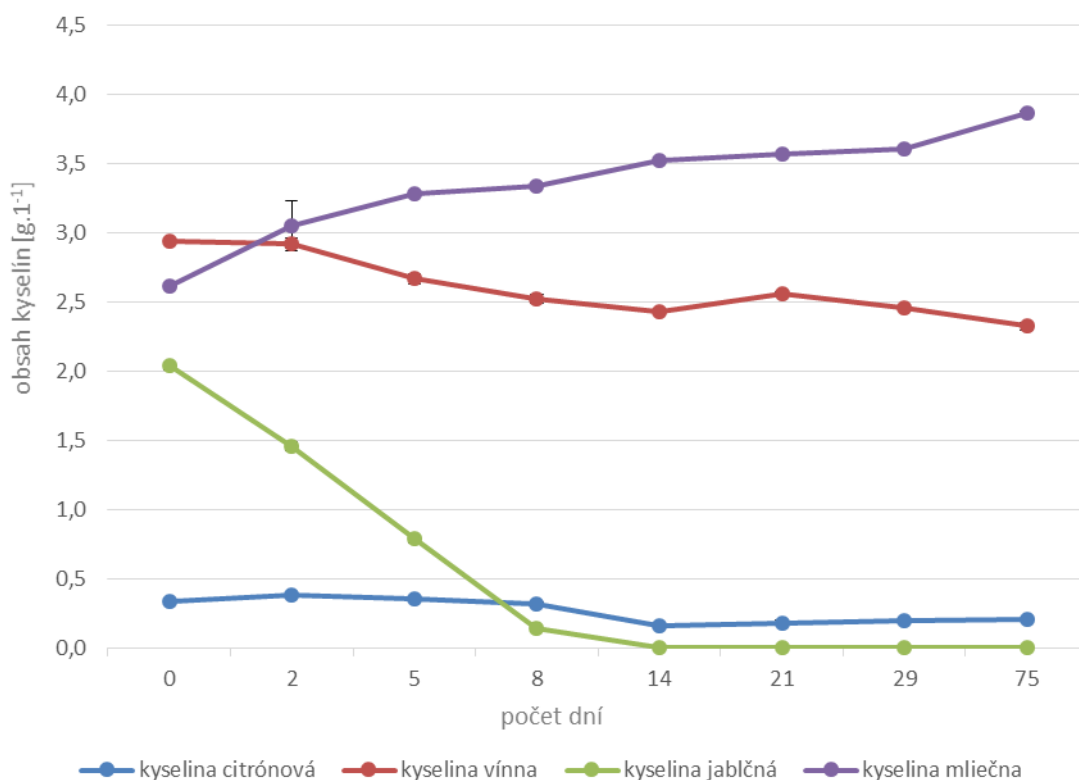
5.3 Vybrané organické kyseliny

V grafe 5 je zobrazený vývoj obsahu jednotlivých kyselín od začiatku až po 75 deň pokusu, u vína s prídavkom mliečnych baktérií, u odrody Zweigeltrebe. V grafu je vidno, že sa postupne odbúravala ostrejšia kyselina jablčná za vzniku kyseliny mliečnej, z čoho vyplýva, že vo víne prebehla jablčno – mliečna fermentácia. Ako je vidieť v grafe 5 k úplnému odbúraniu kyseliny jablčnej prišlo na 14 deň od založenia pokusu, kedy sa kyselina jablčná odbúrala do čista čiže na obsah 0 g.l⁻¹. Počiatočná hodnota kyseliny mliečnej bola 2,62 g.l⁻¹ ± 0,01, čo by mohlo znamenať, že jablčno – mliečna fermentácia začala skôr než bol pokus založený. V každom prípade sa hodnota kyseliny mliečnej stále zvyšovala, ako už bolo spomenuté vďaka odbúravaniu kyseliny jablčnej. Konečný obsah kyseliny mliečnej bol na 75 deň 3,87 g.l⁻¹ ± 0,01. Štatisticky významné rozdiely kyseliny jablčnej (Príloha, tab.13) a kyseliny mliečnej (Príloha, tab.19) sú uvedené v prílohách. U obsahu kyseliny vínnej počas pokusu nebola zaznamenaná výrazná zmena obsahu. Z počiatočného obsahu 2,94 g.l⁻¹ ± 0,02 sa znížil na 2,33 g.l⁻¹ ± 0,03. Obsah kyseliny citrónovej sa počas 75 dní znížil o 0,14 g.l⁻¹.

PRIBILOVÁ, (2014) v bakalárskej práci uverejnila výsledky, ktorých súčasťou bolo aj meranie obsahu jednotlivých kyselín u odrody Zweigeltrebe pred a po JMF. Obsah kyseliny vínnej bol pred začiatkom JMF 4,00 g.l⁻¹ a po skončení 4,80 g.l⁻¹, čiže sa obsah kyseliny vínnej zvýšil vplyvom JMF o 0,80 g.l⁻¹. Pri meraní v tejto diplomovej

práci sa obsah kyseliny vínnej u odrody Zweigeltrebe naopak znížil o $0,58 \text{ g.l}^{-1}$. Obsah kyseliny jablčnej uvedený v bakalárskej práci sa pri JMF odbúral z pôvodnej hodnoty $3,20 \text{ g.l}^{-1}$ na hodnotu $0,10 \text{ g.l}^{-1}$. Kyselina mliečna na začiatku pokusu nebola vo víne zastúpená, vo víne sa jej obsah začal zvyšovať až pri odbúraní kyseliny jablčnej. Na konci JMF bol obsah kyseliny jablčnej $1,20 \text{ g.l}^{-1}$. V tejto práci sa obsah po JMF zvýšil o $1,25 \text{ g.l}^{-1}$.

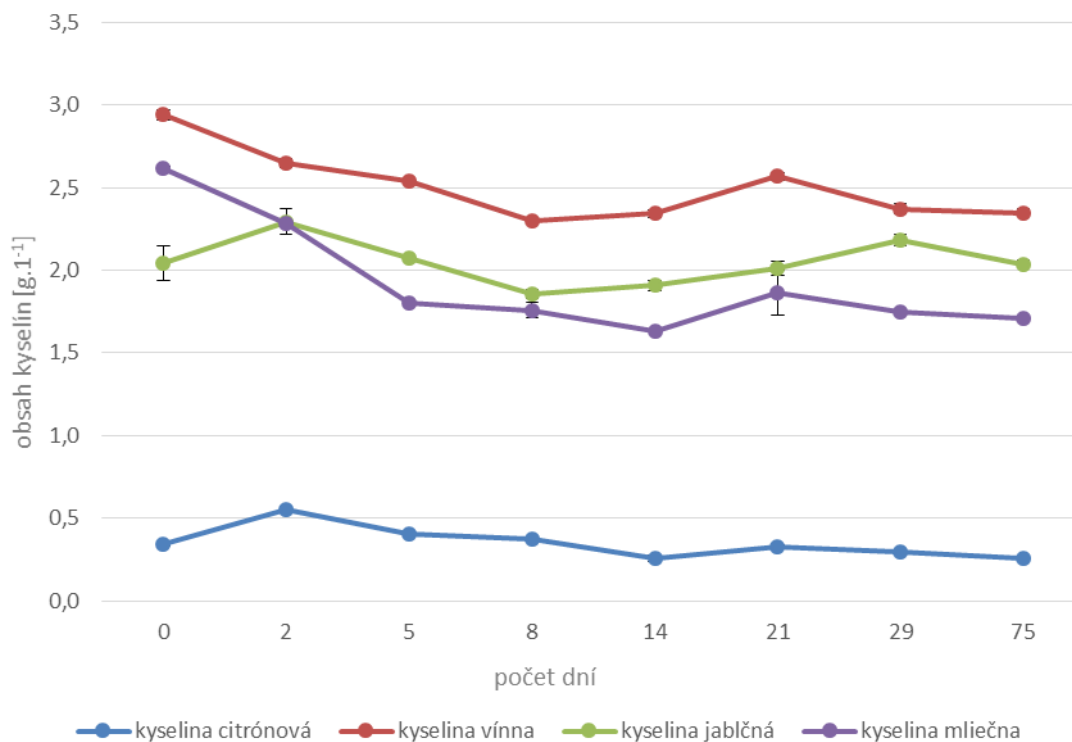
HASIL, (2014) uvádza v diplomovej práci výsledky pred a po jablčno – mliečnej fermentácii odrody Zweigeltrebe. Kyseliny jablčná mala na začiatku obsah $2,47 \text{ g.l}^{-1}$, odbúrala na jemnejšiu kyselinu mliečnu, ktorej obsah bol na začiatku pokusu čiže po alkoholovej fermentácii $0,03 \text{ g.l}^{-1}$ a na konci pokusu $1,36 \text{ g.l}^{-1}$.



Graf 5: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom mliečnych baktérií odrody Zweigeltrebe

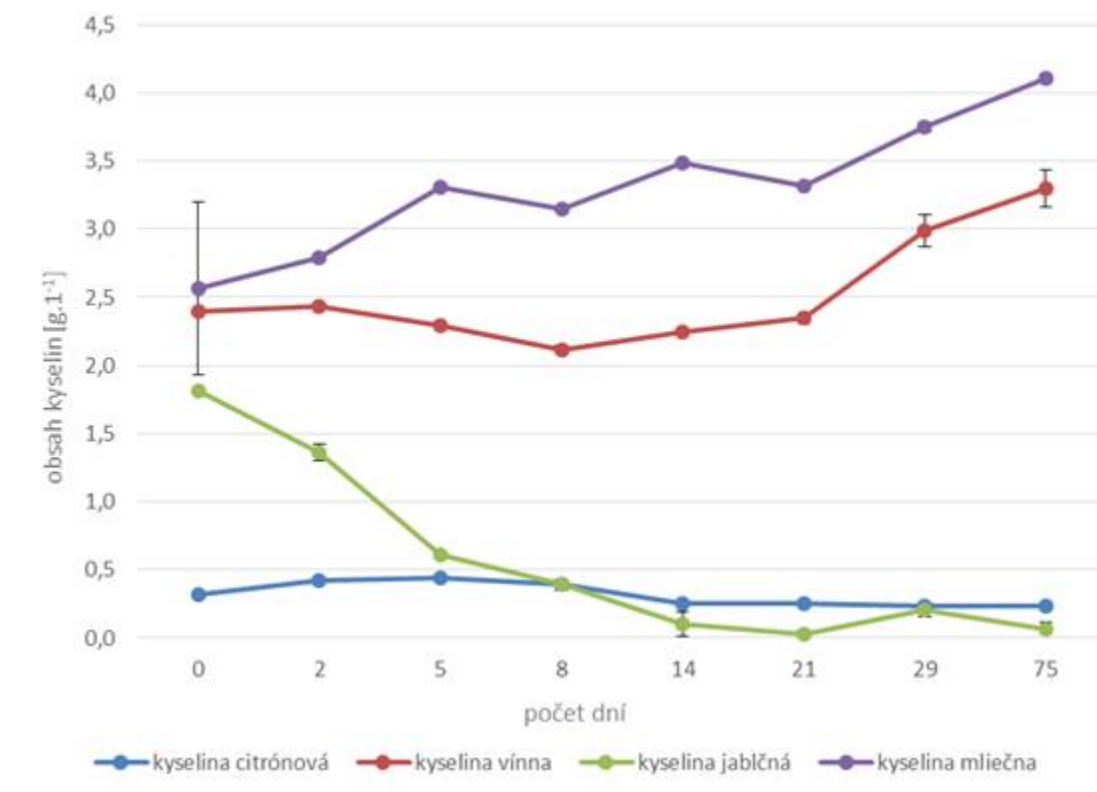
V grafe 6 sú znázornené zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom síry odrody Zweigeltrebe. Najmenej zastúpenou kyselinou bola kyselina citrónová, ktorej obsah na začiatku bol $0,34 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$ a na konci $0,25 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$. Naopak najviac zastúpenou kyselinou u tohto vína, bola kyselina vínna, ktorej obsah na začiatku pokusu bol $2,94 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$ a na 75 deň bol $2,35 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. Hneď za ňou nasledovala kyselina mliečna

s obsahom na začiatku $2,62 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$ a na konci pokusu bol výsledný obsah $1,71 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$. Najmenej sa zmenil obsah kyseliny jablčnej v tomto víne. Z obsahu, ktorý bol meraný na začiatku pokusu $2,04 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,11$ na $2,03 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$.



Graf 6: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom síry odrody Zweigeltrebe

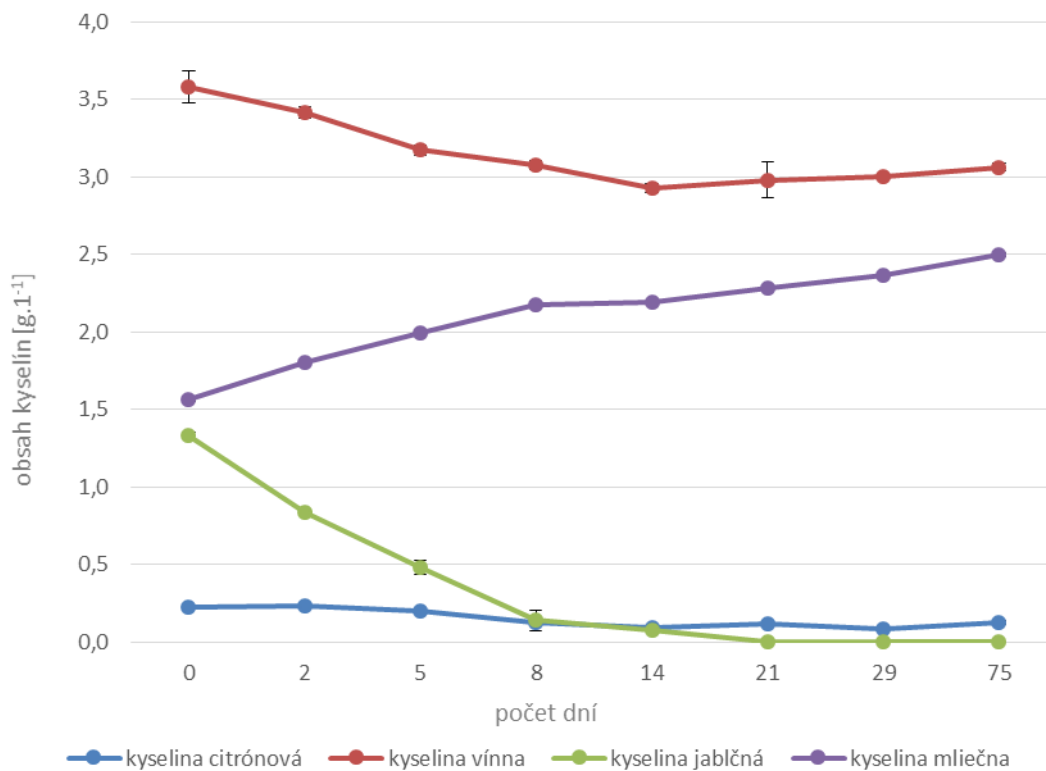
U vína kde nebolo vykonané žiadne ošetrovanie prišlo k najväčšiemu vzrastu kyseliny mliečnej spomedzi všetkých vín. Na začiatku víno obsahovalo $2,56 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,64$, po 75 dňoch sa hodnota zvýšila na obsah $4,11 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$. U tohto vína prišlo taktiež k odbúraní kyseliny jablčnej z hodnoty $1,81 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$ na hodnotu $0,06 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. Podľa toho je vidieť v grafe 7, že vo víne prebehla jablčno – mliečna fermentácia, ale v tomto prípade neriadena čiže spontánna. Obsah kyseliny vínnej sa počas 75 dní zvýšil o 1 g.l^{-1} . Obsah kyseliny citrónovej sa znížil z $0,32 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$ na výsledný obsah $0,23 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$, bol preukázaný štatistický významný rozdiel na hladine významnosti $p=0,05$ (Príloha, tab. 3).



Graf 7: Zmeny obsahu kyselín u vína bez ošetrenia odrody Zweigeltrebe

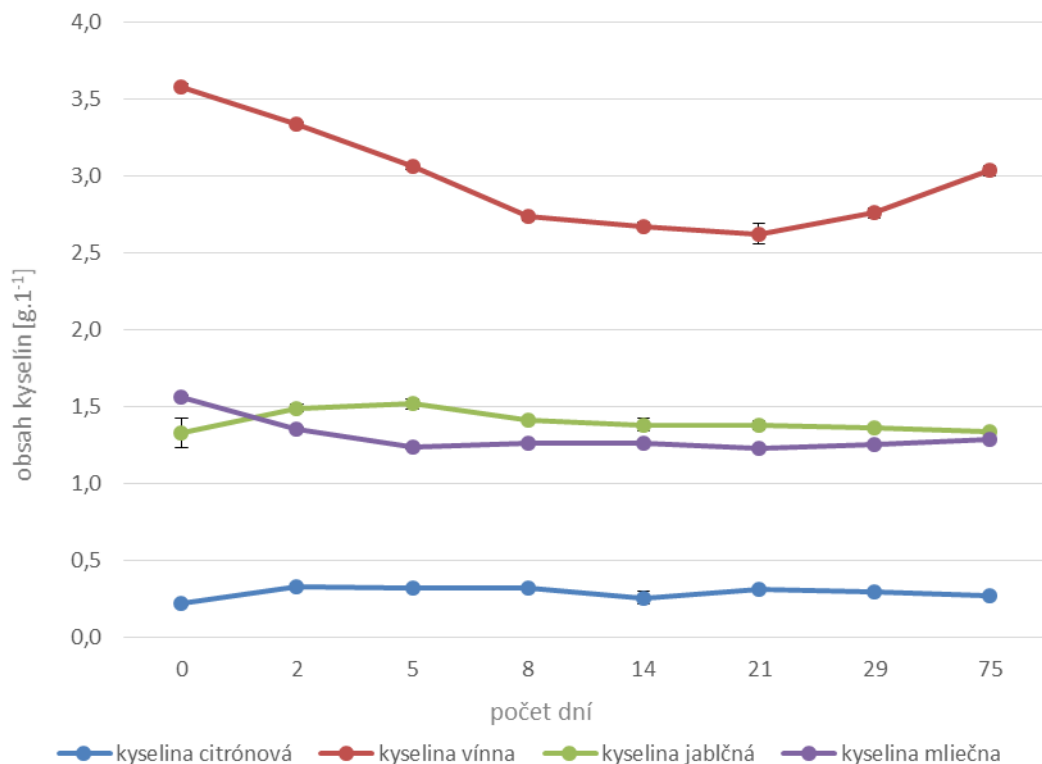
V grafe 8 sú uvedené zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom mliečnych baktérií u odrody Svätovavrinecké. Podobne ako u odrody Zweigeltrebe sa v tomto víne obsah kyseliny jablčnej z pôvodného obsahu $1,33 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$, na 21 deň od založenia pokusu odbúral na jemnejšiu kyselinu mliečnu. Čiže sa tým potvrdzuje, že aj u tohto vína prebehla jablčno – mliečna fermentácia. Obsah kyseliny mliečnej sa zvýšil počas 75 dní o $0,94 \text{ g.l}^{-1}$. Najvyšší obsah tvorila kyselina vínna, ktorej obsah sa z $3,58 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,05$ znížil na $3,06 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. U obsahu kyseliny citrónovej neprišlo k významným zmenám obsahu, ten sa znížil len o $0,09 \text{ g.l}^{-1}$ na obsah $0,12 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$, čo bolo aj najmenej s pomedzi všetkých vín. U tejto odrody, u vína, kde prebehla riadená JMF, bol nameraný najvyšší korelačný koeficient medzi kyselinou jablčnou a kyselinou mliečnou na hladine významnosti $p=0,05$ (Príloha, obr.8)

Štetkařová, (2014) uvádza, v diplomovej práci, kde sledovala priebeh jablčno – mliečnej fermentácie, u odrody Marlen, odbúranie kyseliny jablčnej už po 5 dni na kyselinu mliečnu. Počiatočný obsah kyseliny jablčnej bol na začiatku pokusu $2,76 \text{ g.l}^{-1}$. Obsah kyseliny mliečnej bol na začiatku pokusu $1,28 \text{ g.l}^{-1}$ a po 24 dňoch pokusu sa jeho obsah zvýšil na $2,29 \text{ g.l}^{-1}$. Počas pokusu sa teda hodnota kyseliny mliečnej zvýšila o 1 g.l^{-1} .



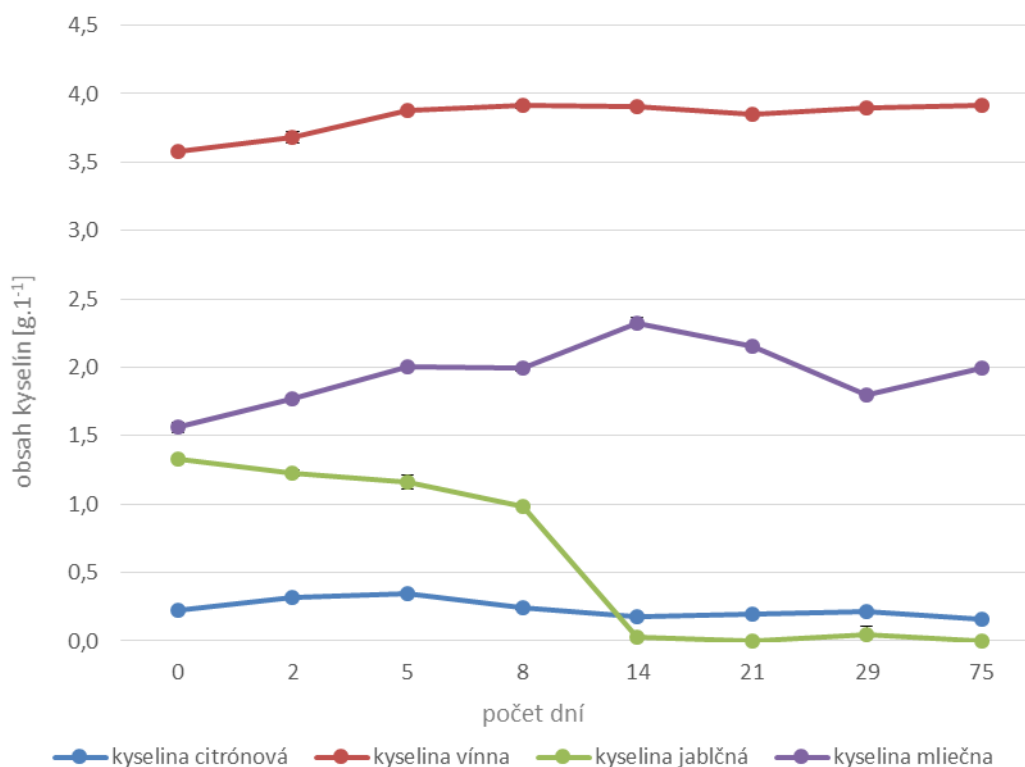
Graf 8: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom mliečnych baktérií odrody Svätovavrinecké

U vína Svätovavrinecké, do ktorého bola pridaná síra, neprišlo k výrazným zmenám v obsahu kyselín počas pokus, ako je vidieť v grafe 9, u obsahu kyseliny jablčnej, mliečnej a citrónovej počas 75 dní experimentu. Obsah kyseliny jablčnej sa najskôr mierne zvýšil a následne opäť znížil na pôvodnú hodnotu. Obsah kyseliny citrónovej sa vyvíjal podobne z obsahu $0,22 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$ sa mierne zvýšil na $0,27 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. Obsah kyseliny vínnej bol na začiatku $3,58 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,05$, následne sa začala znižovať, na 75 deň mala kyselina vínna obsah $3,03 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$.



Graf 9: Zmeny obsahu kyselín u vína s prídavkom síry odrody Svätovavrinecké

V grafe 10 je uvedená vývoj obsahu kyselín bez ošetrenia u odrody Svätovavrinecké. Obsah kyseliny vínnej bol na začiatku pokusu $3,58 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,05$ na 75 deň bol nameraný obsahu $3,92 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,01$, čo bol najväčší obsah kyseliny vínnej spomedzi všetkých vín. Obsah kyseliny citrónovej sa počas pokusu výrazne nemenil, v tomto prípade len o $0,04 \text{ g.l}^{-1}$. Víno na začiatku pokusu obsahovalo $1,33 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$ kyseliny jablčnej. Počas pokusu u tohto vína taktiež, ako u vína bez ošetrenia odrody Zweigeltrebe, prebehla spontánna jablčno – mliečna fermentácia, kedy sa kyselina jablčná úplne odbúrала na 14 deň od založenia pokusu. Tiež možno konštatovať ako u odrody Zweigeltrebe, že pravdepodobne jablčno – mliečna fermentácia začala už pred založením pokusu, o čom svedčí obsah kyseliny mliečnej $1,56 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,03$ na začiatku pokusu. Odbúraním kyseliny jablčnej sa obsah kyseliny mliečnej počas 75 dní ešte zvýšil a to na výsledný obsah $1,99 \text{ g.l}^{-1} \pm 0,02$. Štatisticky preukázateľné významné rozdiely na hladine významnosti $p = 0,05$ medzi kyselinou jablčnou (Príloha, tab.18) a kyselinou mliečnou (príloha, tab.24) sú uvedené v prílohách.

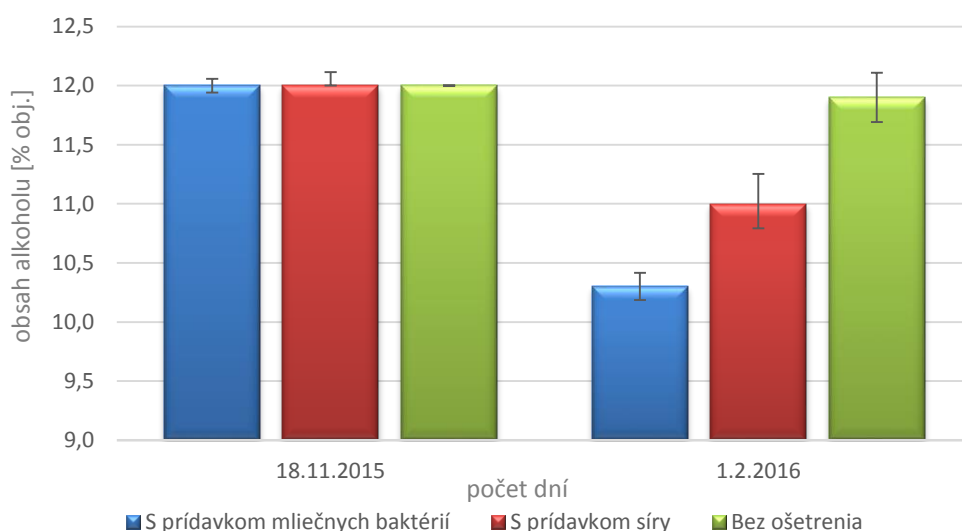


Graf 10: Zmeny obsahu kyselín u vína bez ošetrovania odrody Svätovavrinecké

5.4 Obsah alkoholu

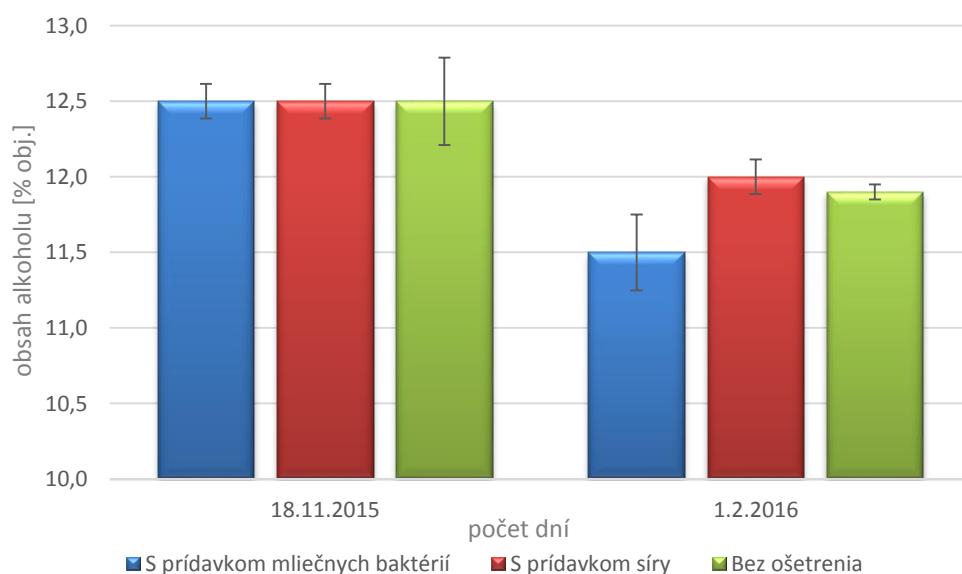
Obsah alkoholu na začiatku pokusu ako je možné vidieť v grafe 11 bol u odrody Zweigeltrebe 12 % obj., a v grafe 12 u odrody Svätovavrinecké bol obsah 12,50 % obj. alkoholu. Na konci pokusu sa najviac zmenil obsah alkoholu u vína odrody Zweigeltrebe s prídavkom mliečnych baktérií, v ktorom prebehla spontánne jablčno – mliečna fermentácia. Z počiatočného obsahu 12 % obj. sa obsah znížil počas 75 dní na 10,30 % obj. alkoholu, bol tu preukázaný štatisticky významný rozdiel na hladine významnosti $p = 0,05$ (Príloha, tab. 25). Ďalej u vína s prídavkom síry sa obsah počas 75 dní znížil o 1 % obj. alkoholu. Najmenší úbytok obsahu alkoholu spomedzi všetkých vín bol u vína bez ošetrovania ako je možné vidieť v grafe 11. Výsledný obsah bol 11,90 % obj. Baktérie majú rôzne toleranciu k alkoholu. Ak sa baktérie vytvoria a rastú vo víne, je ich tolerancia k etanolu vyššia pravdepodobne preto, že sa v priebehu rastu lepšie prispôbujú okolitým podmienkam. Baktérie druhu *Oenococcus oeni* sú v takomto prípade schopné prežiť koncentráciu etanolu nad 13 – 14 % obj (ARENA, de NADRA, 2005). RIBEREAU-GAYON et al., (1975) hovorí, že baktérie mliečneho kvasenia sú citlivé na obsah ethanolu v prostredí rovnako ako väčšina

mikroorganizmov. V laboratórnych podmienkach dochádza k inhibícii baktérií pri koncentrácii 8 – 10 % obj.. Závisí však na druhu, rode a na množstve baktérií.



Graf 11: Zmeny obsahu alkoholu na začiatku a na konci u odrody Zweigeltrebe

V grafe 12 sú znázornené zmeny obsahu alkoholu u odrody Svätovavrinecké, ktorého obsah na začiatku merania bol 12,50 % obj. Najväčší pokles obsahu alkoholu bol nameraný u vína s prídavkom mliečnych baktérií a to 11,50 % obj, taktiež tu bol preukázaný štatisticky významný rozdiel na hladine významnosti $p = 0,05$ (Príloha, tab.28). Obsah alkoholu u vína bez ošetrovania na obsah 11,90 % obj. Najmenší pokles obsahu alkoholu bol nameraný u vína s prídavkom síry, ktorého obsah bol na 75 deň 12 % obj..



Graf 12: Zmeny obsahu alkoholu na začiatku a na konci pokusu u odrody Svätovavrinecké

VESELÝ, (2015) uvádza výsledky obsahu alkoholu po spontánnej JMF červených vín, konkrétne obsah Frankovky modrej bol 12,54 % obj., André 13,02 % obj. a Cabernet Moravia 12,56 % obj. U vín, ktoré neboli ošetrené ale prebehla u nich JMF pokuse, ktorý je súčasťou tejto diplomovej práce boli namerané hodnoty u odrody Zweigeltrebe aj u odrody Svätovavrinecké 11,90 % obj. VESELÝ, (2015) ďalej vo svojej práci uvádza obsah alkoholu pri riadenej JMF, Frankovka 11,45 % obj., André 12,41 % obj. a Cabernet Moravia 13,20 % obj. V našom pokuse prišlo taktiež k tomu, že sa u všetkých vín kde boli pridané mliečne baktérie znížil obsah alkoholu najviac. U odrody Zweigeltrebe bol výsledný obsah u vína s prídavkom mliečnych baktérií 10,30 % obj. a u odrody Svätovavrinecké bol nameraný obsah 11,50 % obj.

5.5 Vývoj farebných zmien

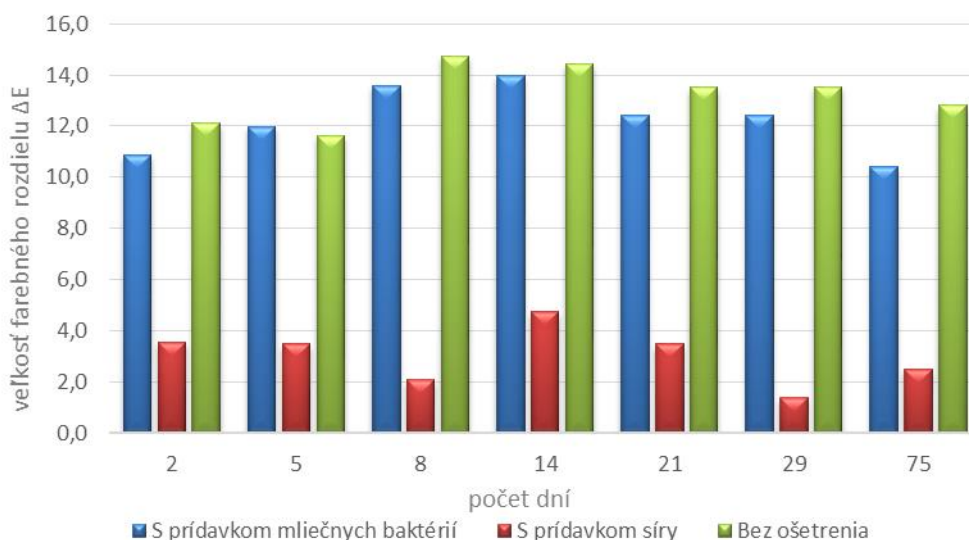
V grafoch 13 a 14 je znázornený vývoj farebných zmien, ktoré boli namerané počas 75 dní pokusu. U každej vzorky vína boli stanovené súradnice v chromatickom diagrame $L^*a^*b^*$. Bol meraný jas (L^*), percento červenej (a^*) a percento žltej (b^*). Pre porovnanie veľkosti farebného rozdielu medzi vínami bola vypočítaná veľkosť farebného rozdielu definované odchýlkou delta E (ΔE). RIVAS et al., (2006) uvádzajú, že hodnota nad 3 jednotky vyjadruje farebný rozdiel, ktorý je možné vizuálne vnímať ľudským okom.

Výsledky merania farebnosti vín na začiatku a na konci pokusu sú znázornené v tabuľke 5 a podrobnejšia tabuľka z každého merania je v prílohách (tab. 31). U odrody Zweigeltrebe aj odrody Svätovavrinecké prišlo k zníženiu hodnoty svetlosti vyjadrenej hodnotu (L^*) počas pokusu. Hodnota (a^*), ktorá udáva červeno-zelenú os, u odrody Zweigeltrebe sa znížila u vín kde prebehla riadená a spontánna JMF. Vo víne, kde JMF neprebehla, do ktorého bola pridaná síra sa hodnota mierne zvýšila. U odrody Svätovavrinecké boli výsledky rovnaké, čiže víno, kde JMF neprebehla sa hodnota (a^*) mierne zvýšila a u ostatných sa hodnota znížila počas pokusu. Hodnota (b^*), u všetkých vín, sa počas pokusu zvýšila, čo označuje zníženie podielu modrých tónov, najmä antokyanových farieb. Najväčšie zvýšenie hodnoty (b^*), bolo zamerané u odrody Zweigeltrebe. Na začiatku bola hodnota (b^*) 10,25 a na konci pokusu 15,40.

| | | | 18.11.2015 | 1.2.2016 |
|-----------------|--------------------------------|----|------------|----------|
| Zweigeltrebe | s prídavkom mliečnych baktérií | L* | 78,07 | 64,97 |
| | | a* | 23,09 | 12,48 |
| | | b* | 10,25 | 12,79 |
| | s prídavkom síry | L* | 80,59 | 77,31 |
| | | a* | 23,10 | 25,20 |
| | | b* | 4,03 | 7,18 |
| | bez ošetrovania | L* | 79,25 | 59,18 |
| | | a* | 22,49 | 14,81 |
| | | b* | 9,55 | 15,40 |
| Svätovavrinecké | s prídavkom mliečnych baktérií | L* | 79,40 | 60,20 |
| | | a* | 23,57 | 14,35 |
| | | b* | 6,74 | 9,62 |
| | s prídavkom síry | L* | 81,48 | 77,58 |
| | | a* | 23,74 | 26,57 |
| | | b* | 2,40 | 5,57 |
| | bez ošetrovania | L* | 79,64 | 58,38 |
| | | a* | 24,82 | 16,75 |
| | | b* | 6,28 | 9,69 |

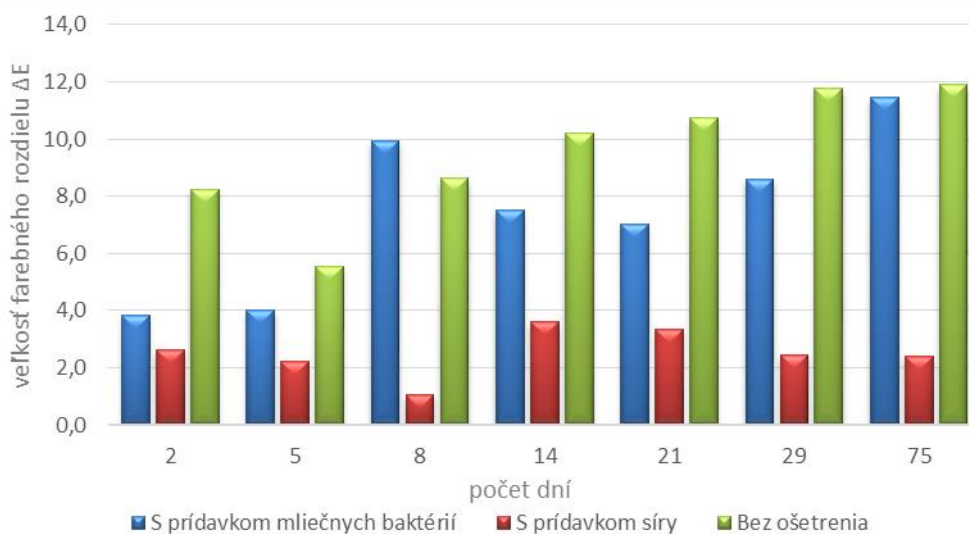
Tab. 5 Výsledky hodnôt L*a*b* na začiatku a na konci pokusu

U odrody Zweigeltrebe prišlo k najväčšiemu zvýšeniu veľkosti farebného rozdielu u vína bez ošetrovania a to na 8 deň pokusu ($\Delta E = 14,73$). Naopak k najväčšiemu zníženiu prišlo u vína s prídavkom síry na 29 deň ($\Delta E = 1,38$). Najvyššia hodnota farebného rozdielu, u vína s prídavkom mliečnych baktérií bolo na 14 deň ($\Delta E = 14,00$), na 75 deň sa hodnota farebného rozdielu mierne znížila na ($\Delta E = 10,41$). V grafe 13 výsledky poukazujú nato, že u vína s prídavkom mliečnych baktérií a u vína bez ošetrovania je možné vnímať farebný rozdiel ľudským okom, naopak u vína, kde bola pridaná sira farebný rozdiel nemožno postrehnúť ľudským okom.



Graf 13: Vývoj farebných zmien vyjadrených pomocou ΔE u odrody Zweigeltrebe

Graf 14 znázorňuje vývoj farebných zmien u vína Svätovavrinecké, kde je možné vidieť, že najvyššia hodnota ΔE bola u vína bez ošetrenia na 29 ($\Delta E = 11,78$) a 75 ($\Delta E = 11,89$) deň. U vína s prídavkom mliečnych baktérií bola najvyššia hodnota farebného rozdielu na 75 deň ($\Delta E = 11,44$). U vína s prídavkom síry, dosiahla hodnota farebného rozdielu svoje maximum na 14 deň pokusu ($\Delta E = 3,59$). Na základe výsledkov je možné sa domnievať, že pôsobením jablčno – mliečnej fermentácie dochádza k zmene farebného profilu červených vín. Keďže aj u vín bez ošetrenia prišlo k jablčno – mliečnej fermentácii ako sme mohli vidieť z výsledkov uvedených vyššie.



Graf 14: Vývoj farebných zmien vyjadrených pomocou ΔE u odrody Svätovavrinecké

5.6 Senzorické hodnotenie

Senzorické hodnotenie bolo vykonané v učebni senzorickej analýzy na Záhradníckej fakulte Mendelovej univerzity. Hodnotenia sa zúčastnilo 10 hodnotiteľov. Celkovo sa hodnotilo 6 vzoriek vína. Hodnotila sa intenzita farby, intenzita ovocnej vône, intenzita mliečneho/jogurtového aróma, celková kyslosť a celkový dojem z hodnoteného vína. K bodovému hodnoteniu bola použitá grafická úsečka. Výsledky hodnotenia senzorickej analýzy podľa úsečiek sú uvedené v tabuľke 5.

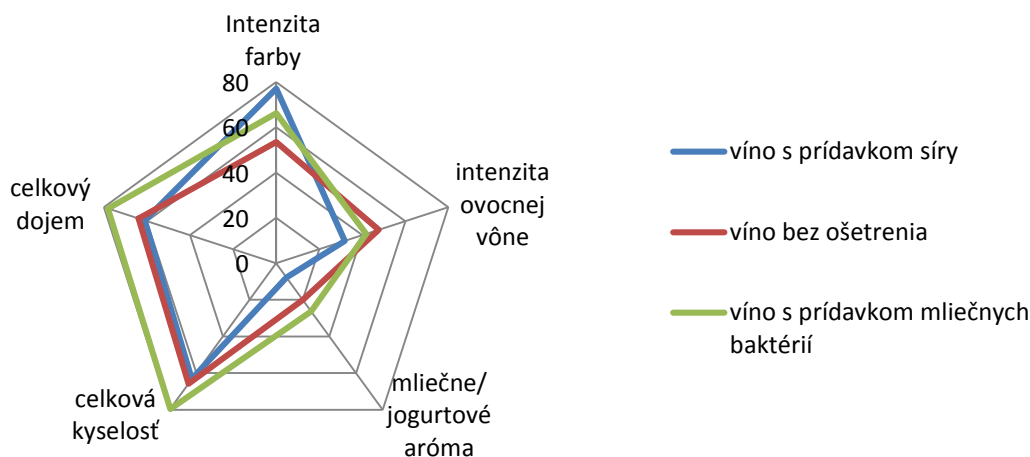
STEIDL, (2002) hovorí, že vo vínach, v ktorých prebehla jablčno - mliečna fermentácia sa stávajú vo vône zamatovejšie a zlepšujú aromatickú kompletnosť vín, vo vône prevláda ovocie, ktoré je prekryté tanínmi. Chut' vína je príjemne zladená,

harmonická, s plnou štruktúrou. Trendy, ktoré sa očakávajú od červených vín sú predovšetkým výrazná plnosť, štruktúra, harmonickosť a obsah trieslovín. Samozrejme záleží od odrody a ročníka.

| Odroda a spôsob ošetrenia (0 minimum - 10 maximum) | intenzita farby | intenzita ovocnej vône | mliečne/ jogurtové aróma | celková kyslosť | celkový dojem |
|---|--------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------|------------------|
| Sv. s prídavkom síry | 8,42 max | 2,06 min | 0,94 | 3,43 min | 6,52 |
| Sv. bez ošetrenia | 5,45 | 2,83 | 2,24 | 3,97 | 5,64 min |
| Sv. s mliečnymi baktériami | 6,85 | 2,25 | 3,16 max | 6,46 | 7,53 |
| Zw. s prídavkom síry | 7,71 | 3,19 | 0,79 min | 6,33 | 6,1 |
| Zw. bez ošetrenia | 5,35 min | 4,76 max | 2,04 | 6,59 | 6,39 |
| Zw. s mliečnymi baktériami | 6,62 | 4,18 | 2,64 | 7,96 max | 7,81 max |

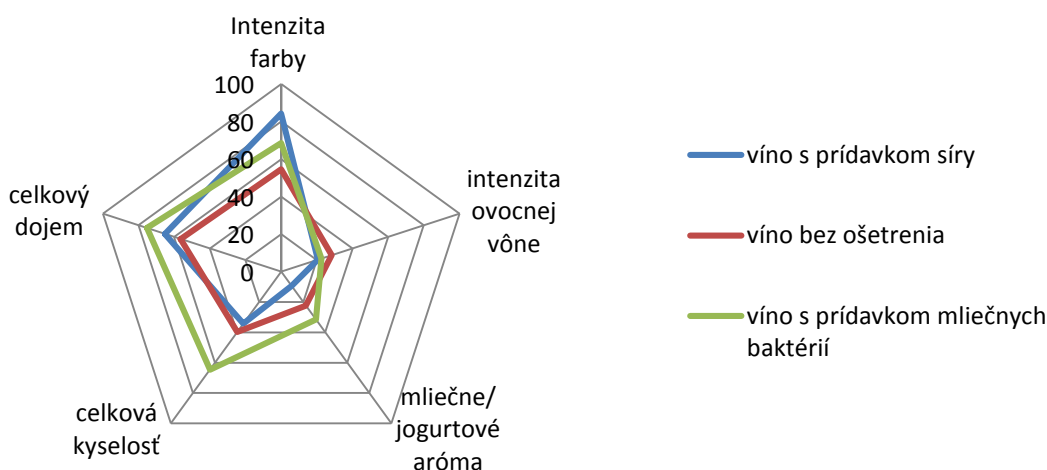
Tab. 6 Senzorické hodnotenie vín podľa úsečiek
(vysvetlivky Sv. – Svätovavrinské, Zw. – Zweigeltrebe)

Na základe celkového dojmu bolo najlepšie hodnotené víno odrody Zweigeltrebe s prídavkom mliečnych baktérií ako je vidieť v tabuľke 5. Hneď za ním nasledovalo víno odrody Svätovavrinské s prídavkom mliečnych baktérií. Podľa výsledkov môžeme jednoznačne potvrdiť, že jablčno – mliečna fermentácia mala u oboch odrôd vín pozitívny vplyv na celkový dojem vína ako vína, u ktorých jablčno – mliečna fermentácia neprebehla. Najmenej ohodnotili hodnotitelia víno odrody Svätovavrinské bez ošetrenia. Najlepšiu farbu mali vína s prídavkom síry, najmenej pôvabnú farbu mali vína bez ošetrenia. Intenzita ovocnej vône celkovo prevládala u odrody Zweigeltrebe, čo je aj pre túto odrodu charakteristickejšie. Najlepšiu intenzitu ovocnej vône malo víno bez ošetrenia. Mliečne alebo jogurtové arómy bolo najviac postrehnuteľné podľa hodnotiteľov u vín, kde boli pridané mliečne baktérie, najmenej u vín, kde bola pridaná síra. Víno kde prevládala celková kyslosť sa hodnotitelia zhodli na odrode Svätovavrinské s prídavkom síry. Víno, ktoré bolo pre hodnotiteľov najpriateľnejšie bolo víno Zweigeltrebe s prídavkom mliečnych baktérií. Rozdiely medzi senzorickými a analytickými hodnotami mohli byť spôsobené prítomnosťou ostatných látok ktoré vznikli pri jablčno – mliečnej, pri alkoholovej fermentácii, podľa kvality hrozien vo vinici a veľa ďalších faktorov. Tieto faktory mohli ovplyvniť senzorický prejav vín.



Graf 15: Sensorický profil intenzity chuti a vône vína odrody Zweigeltrebe

V grafe 15 sú uvedené výsledky senzoričného hodnotenia vína odrody Zweigeltrebe. Víno s prídavkom mliečnych baktérií hodnotitelia označili na základe celkového dojmu za najlepšie víno s pomedzi ostatných vín. Víno malo príjemnú ovocnú vôňu, chuť bola príjemná, nebola ostrá ani kyslá k čomu dopomohla jablčno – mliečna fermentácia. U vína s prídavkom síry hodnotitelia najlepšie ohodnotili intenzitu farby u tejto odrody. Vo vône bola príjemná ovocná vôňa a víno bolo chuťovo príjemné. U vína bez ošetrovania hodnotitelia hodnotili nižšie intenzitu farby. Naopak najlepšie zo všetkých vín u neho bola hodnotená veľmi príjemná intenzita ovocnej vône. Víno malo jemnú harmonickú chuť, čo mohlo byť zapríčinené spontánnou jablčno – mliečnou fermentáciou.



Graf 16: Sensorický profil intenzity chuti a vône vína odrody Svätovavrinské

V grafe 16 sú zobrazené výsledky senzorickeho hodnotenia vín odrôd Svätovavrinecké. Víno s prídavkom mliečnych baktérií bolo hodnotené najlepšie u tejto odrody, víno malo príjemnú harmonickú chuť a tvorilo najlepší celkový dojem z vína u odrody Svätovavrinecké. U vína s prídavkom síry bola spomedzi všetkých vín najlepšie hodnotená intenzita farby. Naopak najnižšie hodnotená intenzita ovocnej vône. U tohto vína bola najväčšia celková kyslosť čo malo za následok nepríjemnejšiu, ostrejšiu chuť. Víno bez ošetrovania, v ktorom prebehla spontánna JMF bolo spomedzi ostatných vín hodnotené najnižším celkovým dojmom. Víno bolo v chuti kyslejšie a malo nízku intenzitu farby.

6 ZÁVER

V diplomovej práci bolo popisované látkové zloženie vína s dôrazom na organické kyseliny, ktoré sú vo víne nenahraditeľnou súčasťou. Nie vždy sú klimatické podmienky, ročník a veľa ďalších vplyvov priaznivé a často sa pristupuje k úprave kyselín. Keďže v našich podmienkach sa zväčša jedná o vyšší obsah kyselín, pristupuje sa skôr k zníženiu obsahu kyselín. Medzi jeden z najpoužívanejších spôsobov znižovania kyselín u červených vín patrí bezpochybné jablčno – mliečna fermentácia /JMF/, kedy sa v chuti ostrá kyselina jablčná odbúrava na jemnejšiu kyselinu mliečnu. V experimentálnej časti bol založený pokus, na ktorý boli použité odrody červených vín Zweigeltrebe a Svätovavrinské. Sledoval sa vývoj u vín, do ktorých boli pridané mliečne baktérie, u vín kde bola pridaná síra a u vín kde nebolo použité žiadne ošetrovanie. Pozorovali sa zmeny obsahu kyselín, obsahu alkoholu, hodnoty pH, obsahu jednotlivých kyselín a priebeh riadenej a spontánnej JMF.

Obsah titrovateľných kyselín bol na začiatku pokusu u odrody Zweigeltrebe $7,21 \text{ g.l}^{-1}$ a pH 3,45. Po skončení pokusu sa obsah titrovateľných kyselín najviac znížil u vína s prídavkom mliečnych baktérií o $1,6 \text{ g.l}^{-1}$ a hodnota pH u tohto vína najviac stúpila o $0,13 \text{ g.l}^{-1}$. Naopak najmenší obsah titrovateľných kyselín bol nameraný u vína, do ktorého bola pridaná síra a v tomto prípade sa pH takmer nezmenilo. U odrody Svätovavrinské bol na začiatku pokusu nameraný obsah titrovateľných kyselín $6,99 \text{ g.l}^{-1}$ a hodnota pH bola 3,34. K najväčšiemu poklesu tu taktiež prišlo u vína s prídavkom mliečnych baktérií, kde sa obsah znížil o necelý 1 g.l^{-1} a hodnota pH sa zvýšila o $0,14 \text{ g.l}^{-1}$, u tohto vína prebehla riadená JMF. Takmer rovnaké výsledky boli namerané aj u vína bez ošetrovania, kde počas pokusu prebehla spontánna JMF. U vína s prídavkom síry sa obsah titrovateľných kyselín aj hodnota pH zmenili najmenej.

Obsah alkoholu bol pred založením pokusu u odrody Zweigeltrebe 12 % obj. a u vína odrody Svätovavrinské 12,5 % obj. K najväčšiemu poklesu alkoholu prišlo u oboch odrôd vín s prídavkom mliečnych baktérií. K najmenšiemu poklesu u odrody Zweigeltrebe prišlo u vína bez ošetrovania, kde prebehla spontánna JMF a u odrody Svätovavrinské u vína s prídavkom síry.

Zmeny obsahov jednotlivých kyselín boli nasledovné: obsah kyseliny citrónovej bol na začiatku u odrody Zweigeltrebe $0,34 \text{ g.l}^{-1}$ a u odrody Svätovavrinecké $0,22 \text{ g.l}^{-1}$. Obsah kyseliny citrónovej sa počas 75 dní pokusu výrazne nemenil, najmenší obsah bol nameraný u vína s prídavkom mliečnych baktérií *Oenococcus oeni* najväčší obsah bol nameraný u vín s prídavkom síry. Obsah kyseliny vínnej bol na začiatku nameraný okolo 3 g.l^{-1} a na konci sa hodnoty pohybovali tiež okolo 3 g.l^{-1} , až na víno odrody Svätovavrinecké, u ktorého sa obsah kyseliny vínnej zvýšil na $3,92 \text{ g.l}^{-1}$.

Obsah kyseliny jablčnej bol u odrody Zweigeltrebe na začiatku pokusu $2,94 \text{ g.l}^{-1}$. U vína s prídavkom mliečnych baktérií sa kyselina jablčná na 14 deň pokusu úplne odbúrala vďaka baktériám mliečneho kvasenia na jemnejšiu kyselinu mliečnu, ktorej bol výsledný obsah $3,87 \text{ g.l}^{-1}$. U vína s prídavkom síry sa obsah kyseliny jablčnej počas pokusu znížil takmer o 1 g.l^{-1} . U vína bez ošetrovania sa obsah kyseliny jablčnej odbúral niekedy medzi 29 až 75 dňom pokusu, čo potvrdzuje, že u tohto vína nastala spontánna JMF. U oboch odrôd bolo jediným negatívom, že obsah kyseliny mliečnej bol na začiatku vyšší, čo dokazuje že ešte pred založením pokusu vo vínach prebehlo čiastočné odbúranie.

U odrody Svätovavrinecké bol obsah kyseliny jablčnej na začiatku $1,33 \text{ g.l}^{-1}$, u vína s prídavkom síry sa počas pokusu zvýšil obsah o $0,3 \text{ g.l}^{-1}$. U vína s prídavkom mliečnych baktérií vďaka JMF sa kyselina jablčná odbúrala na kyselinu mliečnu, taký istý priebeh nastal aj u vína bez ošetrovania, v tomto prípade sa ale jednalo o spontánnu JMF. Grafy a tabuľky s výsledkami boli uvedené v diplomovej práci. Na potvrdenie preukázateľného rozdielu bola zvolená metóda jednofaktorovej analýzy na hladine významnosti $p = 0,05$ a korelačnej analýzy, ktoré sú uvedené v prílohách.

Podľa výsledkov rozborov a senzorickému hodnoteniu je možné konštatovať, že jablčno – mliečna fermentácia vďaka odbúraniu ostrejšej a kyslejšej kyseliny jablčnej na jemnejšiu kyselinu mliečnu mala pozitívny dopad na kvalitu vín, mala najlepšie výsledné hodnoty a chuťový prejav. Víno bolo harmonickejšie, plnšie a jemnejšie.

7 ZHRNUTIE

Diplomová práca bola zameraná na látkové zloženie vína, s dôrazom na organické kyseliny a možnosti ich regulácie predovšetkým pomocou jablčno – mliečnej fermentácie. V literárnej časti je popísané látkové zloženie vína s dôrazom na organické kyseliny vo víne, najmä kyselinu vínnu, jablčnú, mliečnu a citrónovú. Ďalej sa rozoberajú možnosti regulácie kyselín, zvyšovaním alebo znižovaním obsahu kyselín vo víne. Podrobnejšie sa rozoberá znižovanie kyseliny jablčnej v červených vínach a to pomocou JMF. V experimentálnej časti boli založené pokusné varianty u červených vín odrody Zweigeltrebe a Svätovavrinské, u ktorých sa sledovali zmeny akostných parametrov. Vína boli pozorované v priebehu riadenej JMF a spontánnej JMF v porovnaní s vínom, kde JMF neprebehla. U výsledných vín bola prevedená senzorká analýza vína. Z výsledkov merania a výsledkov senzorkkej analýzy sa potvrdzuje, že jablčno – mliečna fermentácia má pozitívny dopad na kvalitu vín. Víno je v chuti jemnejšie, harmonickejšie a plnšie.

Kľúčové slová: organické kyseliny, jablčno – mliečna fermentácia, regulácia kyselín, víno

RESUME

Thesis is focused on substance composition of wine, with the main focus on organic acid and possibilities of regulation, mainly with malic-lactic fermentation. In literary part is described substance composition of wine, with the main focus on organic acids, mainly tartaric acid, malic acid, lactic acid and citric acid. Further are described possibilities of acid regulation with increasing or decreasing of acids in wine. Deeply is describe decreasing of malic acid in red wines with help of apple-lactic fermentation. In experimental part are established testing variants of red wine variety Zweigeltrebe and Svätovavrinské. By these varieties of wine were notice changes in quality parameters. Wines were observed during the malic-lactic fermentation and compared with wines without this fermentation. After this test was performed a sensory analysis. Result of analysis confirm, that malic-lactic fermentation has positive influence on the quality of wine. Wine is gently harmonious and fuller.

Key words: organic acids, malic-lactic fermentation, acid reduction, wine

8 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

AMBROSI H., SWOBODA I. *Jak správně vychutnat víno*. Praha: Škola degustátorského umění. Euromedia Group - Knižní klub. 2001, ISBN 80-242-0642-0.

ADAMBERG K., KASK S., LAHT T.M., PAALME T. *The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study*. Int. J. Food Microbiol. 2003, 85 (1-2), 171-183.

ARENA M.E., de NADRA M.C. *Influence of ethanol and low pH on arginine and citrulline metabolism in lactic acid bacteria from wine*. Res. Microbiol. 2005, 156(8), 858-64.

BALÍK, J. *Vinařství – návody do laboratorního cvičení*. Brno: MZLU, 2005. ISBN 80-7157-809-6.

BALÍK, J. *Hodnocení obsahu kyselin a kyselosti réвовých vín*. Vinařský obzor. 2005, 98(7-8), 387-389.

BALÍK, J. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 3. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2006. ISBN 80-715-7933-5.

BALÍK, J. *Zásadní analýzy, výpočty postupy pro odkyselování pomocí uhličitanu vápenatého*. Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod vínem /. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republik, 2010, č. 12. ISSN 1212-7884. Dostupné z: <http://www.vinarskyobzor.cz/archiv>.

BAROŇ, M. *Biologické odbourání kyselin*. Vinařský obzor. 2011, 104(10) 510-512

BAROŇ, M. *Vinič a víno: Malolaktická Fermentácia*. Bratislava: Vydavateľstvo Z and J, 2013, roč. 13, č. 6. ISSN 1335-7514.

BAROŇ, M. *Základy Vinařství: Zmeny a pochody během zrání hroznů révy vinné*. Lednice, 2013.

EDER R., et al., *Vady vína*. Vyd. 1. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006, 263 s. ISBN 80-903-2016-3.

KNOLL, C. *Evaluating the influence of stress parameters on Oenococcus oeni and the subsequent volatile aroma composition of white wine*. Faculty of Agricultural Sciences, Nutritional Science and Environmental Management Justus-Liebig-University Gießen, Germany and Department of Microbiology and Biochemistry Geisenheim Research Center, Germany, Hamburg: 2011.

FARKAŠ, J. *Technológia a biochémia vína*, 1. vydání, Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1973, 773 s.

FARKAŠ, J. *Biotechnológia vína*. Bratislava: Vydavateľstvo technickej a ekonomickej literatury, 1983. 978 s. ISBN 63-076-83.

FELDKAMP, H. *Domáci výroba vína*. Český Těšín: Víkend, 2003. ISBN 80- 72-222-267-8.

FURDÍKOVÁ K., MALÍK F. *Jablčno-mliečna fermentácia*. Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod vínem. 2009, roč. 102, č. 7-8, s. 337339. ISSN 1212-7884.

HASIL, R. *Malolaktická fermentace a možnosti načasování inokulace mléčnými bakteriemi*. Lednice, 2014. Bakalářska práce.

HARMATHA, J. *Chemické faktory ovplyvňujúce chuť a liečivý účinok vína* [online]. 2011 [cit. 2016-05-09]. Dostupné z: <http://www.majgemer.sk/juraj-harmatha-chemicke-faktory-ovplyvnujuce-chut-a-liecivy-ucinok-vina>.

HORČIN, V. *Senzorické hodnotenie potravín*. Vyd. 1. Nitra: SPU, 2002, 139 s. ISBN 80-8069-112-6.

JACKSON, R. S. *Wine science: principles and applications*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2008. ISBN 978-012-3736-468.

KRAUS V., FOFFOVÁ Z., VURM B., KRAUSOVÁ D. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Vyd. 1. Praga Mystica, Praha 2005, s. 306; ISBN 80-86767-00-0.

KRAUS V., KUTTELVAŠER Z., VURM B. *Encyklopedie českého a moravského vína*. Nakladatelství Melantrich, Praha 1997; s. 224; ISBN 80-7023-250-1.

KUTTELVAŠER, Z. *Abeceda vína*, 1. Vydání, Praha: Nakladatelství Radix spol. s.r.o. 2003. ISBN 80-86031-43-8.

KYSELÁKOVÁ, Marie a Josef BALÍK, Jaromír VEVERKA. Přehled používaných hodnotících systémů tichých vín, *Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod s vínem*. 2003, roč. 96, č. 3, s. 145-146. ISSN 1212-7884.

LIPKA F., BELAN M., *Praktický sprievodca slovenskými vínami*. Bratislava: Belimex., 2006, ISBN 80-892-7202-9.

MALÍK, F. *Dobré víno – Polygrafia*. Bratislava: 1996, s. 341; ISBN 80-88780-04-7.

MINÁRIK, E., *Nevýhody nekontrolovanej spontánnej malolaktickej fermentácie*, *Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod s vínem*. 2008/1-2, ISSN 1212-7884.

MONAGAS, M., MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J., GOMÉZ-CORDOVÉS, C., & BARTOLOMÉ, B. (2006). Time course of the colour of young red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *International Journal of Food Science and Technology*, stránky 892-899.

ORAVEC, L. *Kyseliny vo víne ich význam a ich senzorická úprava*. Wine Palace - Víno, vinári, zoznam vín a ich hodnotenia. 2014. Dostupné z: <http://www.winepalace.sk/info/27-info-kyseliny-vo-vine-ich-vyznam-a-ich-senzoricka-uprava/>.

PAVELKOVÁ, I. *Několik poznámek k úspěšné jablčno- mléčné fermentace*. In: *VINÁŘSKÝ OBZOR*, 2007, č. 11, s. 543- 544.

PAVLOUŠEK, P. *Encyklopedie révy vinné*. 2., aktualiz. vyd. Brno: Computer Press, 2008. ISBN 978-80-251-2263-1.

PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. Vyd.2. Praha: Grada Publishing, 2010. 120 s. ISBN 9788024734873.

PAVLOUŠEK P. *Brzký termín odlistění zóny hroznů, nový pohled na agrotechniku révy vinné*. *Vinařský obzor*. 2012, 12, 608-611.

PÉREZ-MAGARINO S., GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M. L. *Prediction of red and rosé wine CIELab parameters from simple absorbance measurements*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2002. stránky 1313-1324.

POSPÍŠILOVÁ D., SEKERA D., RUMAN T. *Ampelografia Slovenska*. Bratislava: Výskumná a šľachtitelská stanica vinárska a vinohradnícka Modra, n. o. 2005.

PRIBILOVÁ, L. *Možnosti regulace kyselin v hroznových muštech a vínech*. Lednice, 2014. Bakalářská práce.

REGMI U., M. PALMA, C.G. BARROSO. Direct determination of organic acids in wine and wine-derived products by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta*. roč. 732, s. 137-144. ISSN 00032670. DOI: 10.1016/j.aca.2011.11.009.

RIBÉREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONÈCHE B. *Handbook of enology*. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley, 2006-, 2 v. ISBN 04-700-1037-1.

RIVAS E. G.-P., ALCALDE-EON C., SANTOS-BUELGA C., RIVAS-GONZALO J. C., ESCRIBANO-BAILÓN M. T. *Behaviour and characterisation of the colour during red wine making and maturation*. *Analytica Chimica Acta*, 2006. stránky 215-222.

ROP O., HRABĚ J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009, 129 s. ISBN 978-80-7318-748-4.

ROTTER, B. *Improved winemaking: Advencet Theory. Practical Solutions and opinions*. 2003. Dostupné z: <http://www.brsquared.org/wine/Articles/MLF/MLF.htm>.

STÁVEK, J. *Barevný potenciál vín z odrůd révy vinné pro červená vína*. *Vinařský obzor*, 2007. stránky 108-109.

STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 2., aktualiz. Překlad Jiří Sedlo. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 309 s. ISBN 978-80-903201-9-2.

STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 1. Valtice: Národní salon vín, 2002, 307 s. ISBN 80-903-2010-4.

STYGER G., PRIOR B., BAUER F.F. *Wine flavour and aroma*. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2011. stránky 1145-1159.

ŠIMONVIČ, D. *Zweigeltrebe*. 2009. Dostupné z: <http://www.vino.sk/encyklopedia-vina/odrody-vinica/zweigeltrebe/>.

ŠIMONVIČ, D. *Svätovavrinecké*. 2009. Dostupné z: <http://www.vino.sk/encyklopedia-vina/odrody-vinica/svaetovavrinecke/>.

ŠTĚTKÁŘOVÁ, L. Sledování průběhu malolaktické fermentace. Lednice, 2014. Diplomová práce.

ŠVEJCAR, V. *Vinárství-základy technologie*. Vyd. 1. Brno : MZLU, 1986. 56 s. ISBN 55-914-86.

TOMÁŠEK, I. *Organické kyseliny a jejich změny v hroznech, mošttech a ve víně*, diplomová práce, Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta v Lednici, 2005.

YAIR, M. *Concepts in Wine Chemistry*. San Francisco: The Wine Appreciation Guild, 2012. 3. vydání. ISBN 978-1-935879-81-7.

MORENO-ARRIBAS M.V., POLO C.M. *Wine Chemistry and Biochemistry*. Berlin: Springer. 2009, 3-27.

PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. Vyd.2. Praha: Grada Publishing, 2010. 120 s. ISBN 9788024734873.

VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, xx, 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*: 1. OSSIS, 2002. ISBN 9788086659008.

VESELÝ, R. *Vliv malolaktické fermentace na aromatický profil červeného vína*. Lednice, 2015. Diplomová práce.

ANONYM, 1. *Mendelu, Portál e-leringových prezentací: Vinařství*. 2013. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1262

ANONYM, 2. *Oenologie, La fermentation Malolactique ou FML*. 2015. Dostupné z: <http://www.oenologie.fr/la-fermentation-malolactique-ou-fml>

Citácie zo zákona a smerníc

NAŘÍZENÍ RADY (ES) č. 1493/1999 ze dne 17. května 1999 o společné organizaci trhu s vínem

NAŘÍZENÍ RADY (ES) č. 1234/2007 ze dne 22. října 2007 kterým se stanoví společná organizace zemědělských trhů a zvláštní ustanovení pro některé zemědělské produkty („jednotné nařízení o společné organizaci trhů“)

NAŘÍZENÍ (EP) a Rady č. 1308/2013 ze dne 17. prosince 2013, kterým se stanoví společná organizace trhů se zemědělskými produkty a zrušují nařízení Rady (EHS) č. 922/72, (EHS) č. 234/79, (ES) č. 1037/2001 a (ES) č. 1234/2007

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 606/2009 ze dne 10. července 2009, kterým se stanoví některá prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 479/2008, pokud jde o druhy výrobků z révy vinné, enologické postupy a omezení, která se na ně použijí