**Mendelova univerzita v Brně**

Zahradnická fakulta v Lednici

# POROVNÁNÍ ENOLOGICKÝCH PŘÍPRAVKŮ NA BÍLKOVINOU STABILITU U BÍLÝCH VÍN

## Diplomová práce

**Vedoucí diplomové práce:**
Ing. Kamil Prokeš

**Vypracoval:**
Bc. Jaromír Čuta

Lednice 2016

**Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem práci: P*orovnání enologických přípravků na bílkovinou stabilitu u bílých vín* vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

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

V Lednici dne:

……..

podpis

**Poděkování**

Děkuji svému vedoucímu Ing. Kamilu Prokešovi za vedení diplomové práce a za cenné rady. Dále bych chtěl poděkovat za pomoc při praktickém pokusu Bc. Zdeňkovi Pavlů a také své nejbližší rodině za pomoc a podporu nejen při psaní diplomové práce.

# Obsah

**1. Úvod** ... 8
**2. Cíl práce** ... 9
**3. Literární přehled** ... 10
**3.1. Složení vína** ... 10
3.1.1. Bílkoviny ve víně ... 10
3.1.2. Termolabilní bílkoviny ... 10
**3.2. Bílkoviny a bílkovinné zákaly** ... 11
3.2.1. Zjištění potřeby bentonitu ... 12
3.2.2. Stabilizace ... 12
3.2.3. Bílkovinné zákaly ... 13
3.2.4. Odstranění bílkovinných zákalů ... 14
3.2.5. Odstranění taninových zákalů ... 15
**3.3. Metody zjišťování stability vína** ... 16
3.3.1. Pěnová zkouška ... 16
3.3.2. Tepelný test s přídavkem nasyceného roztoku síranu amonného ... 16
3.3.3. Test s kyselinou fosfomolybdenovou ... 17
3.3.4. Bentotest ... 17
3.3.5. Etanolový test ... 17
3.3.6. Taninový srážecí test ... 17
**3.4. Čiření vína** ... 19
**3.4.1. Fyzikální způsoby čiření vína** ... **20**
**3.4.2. Chemické způsoby čiření vína** ... **21**
**3.4.3. Čiřící přípravky** ... **21**
3.4.3.1. Vyzina ... 21
3.4.3.2. Želatina ... 22
3.4.3.3. Vaječný bílek ... 22
3.4.3.4. Agar ... 22
3.4.3.5. Tanin ... 23
3.4.3.6. Bentonit ... 23

**3.5. Bentonit** ... 24
3.5.1. Původ a složení ... 25
3.5.2. Aplikace na čiření a stabilizaci ... 25
3.5.3. Adsorpce bílkovin ... 26
**4. Materiál a metody** ... 27
**4.1. Odrůda Hibernal** ... **29**
**4.2. Odrůda Tramín červený** ... **30**
**4.3. Typy bentonitových přípravků** ... **32**
4.3.1. Aktiv G ... 32
4.3.2. Bentogran ... 32
4.3.3. Bentolit super ... 33
4.3.4. Bentovin ... 33
4.3.5. VULCOBENT JUF ... 33
4.3.6. Majorbenton B ... 33
4.3.7. NaCalit ... 34
4.3.8. Pluxbenton ... 34
4.3.9. Pluxcompact ... 34
4.3.10. Siha puranit ... 35
4.3.11. Siha – puranit UF ... 35
4.3.12. Siha aktiv bentonit ... 35
4.3.13. Siha Ca – bentonit G ... 36
4.3.14. Vulcobent protex P ... 36
**4.4. Metody stanovení** ... **37**
4.4.1. Stanovení zůstatku kalů ... 37
4.4.2. Stanovení zákalů turbidimetrem ... 37
4.4.3. Test s kyselinou fosfomolybdenovou ... 38
4.4.4. Tepelný test ... 38
**4.5. Statistické vyhodnocení** ... **38**
**5. Výsledky** ... 39
5.1. Stanovení zůstatku bentonitových kalů ... 39
5.2. Stanovení zákalů – turbidita ... 40
5.3. Vizuální srovnání jednotlivých vzorků ... 41
5.4. Měření termolabilních bílkovin ... 44
5.5. Tepelný test ... 46

5.6. Statistické zhodnocení ..... 48
5.7. Ekonomické zhodnocení ..... 50
**6. Diskuze** ..... 51
**7. Závěr** ..... 53
**8. Souhrn** ..... 54
**9. Použitá literatura** ..... 55

**Seznam obrázků**

Obrázek 1 *Princip turbidimetrie (Autor)*

Obrázek 2 *Srovnání bobtnavosti bentonitů (www.proneco.cz)*

Obrázek 3 *Potřeba bentonitu u Rulandského šedého (www.proneco.cz)*

Obrázek 4 *Bentonitové přípravky (Autor)*

Obrázek 5 *Odrůda Hibernal (SEDLO a kol., 2011)*

Obrázek 6 *Tramín červený (SEDLÁČEK, 2012)*

Obrázek 7 *TURBIDIMETR WTW (Autor)*

Obrázek 8 *Odrůda Hibernal – kontrolní vzorek*

Obrázek 9 *Odrůda Hibernal, vzorek č. 1 (Bentovin)*

Obrázek 10 *Odrůda Hibernal – vzorek č. 14 (přípravek Majorbenton B)*

Obrázek 11 *Odrůda Tramín červený – kontrolní vzorek*

Obrázek 12 *Odrůda Tramín červený – vzorek č. 1 (Bentovin)*

Obrázek 13 *Odrůda Tramín červený – vzorek č. 14 (Majorbenton B)*

**Seznam grafů**

Graf 1 *Stanovení množství kalů*

Graf 2 *Srovnání kontrolních vzorků*

Graf 3 *Srovnání vzorků s bentonitovými přípravky*

Graf 4 *Stanovení termolabilních bílkovin – kontrolní vzorky*

Graf 5 *Stanovení termolabilních bílkovin, s přídavkem bentonitů*

Graf 6 *Tepelný test na termolabilní bílkoviny (kontrolní vzorky)*

Graf 7 *Tepelný test termolabilních bílkovin, s přídavkem bentonitů*

Graf 8 *Srovnání kontrolních vzorků, Tramín červený*

Graf 9 *Srovnání kontrolních vzorků, Hibernal*

Graf 10 *Korelace mezi termostabilními bílkovinami*

Graf 11 *Korelační matice – kaly, turbidita*

**Seznam tabulek**

Tabulka 1 *Srovnání bentonitových přípravků*

Tabulka 2 *Hodnoty korelace v absolutní hodnotě a interpretace míry závislosti*

Tabulka 3 *Korelační matice – turbidita, term. Bílkoviny, tepelný test*

Tabulka 4 *Korelační matice – kaly, turbidita*

Tabulka 5 *Srovnání přípravků – dávkování, kaly, cena*

# 1. Úvod

Víno patří už po staletí k oblíbeným a hodnotným nápojům, jelikož má posilňující, uklidňující a v neposlední řadě, také zdravotní účinek. Důležité je však dodržovat rozumné konzumační dávky.

V současné době jsou kladeny čím dál tím větší nároky jak na vinaře, tak na víno samotné. A nemluvě o přísných podmínkách jak národní, tak evropské legislativy. Konzumenta jako první upoutá barva, čistota, jiskrnost a také vizuální vzhled, jelikož v poslední době nakupují spíš oči. Tyto aspekty nám už na první pohled dokáží říct, zda bude víno chutné a stabilní.

Využitím enologických přípravků, v tomto případě bentonitu, dokážeme dané kritéria do značné míry ovlivnit. Stabilita vína je jeden z nejsledovanějších aspektů při výrobě a v konečné fázi u lahvování. Pomocí bentonitu dokážeme zajistit stabilitu v láhvi a také zabránit vzniku bílkovinného zákalu.

Ve vínech se nejčastěji vytváří bílkovinné a krystalické zákaly. Bílkovinné zákaly se tvoří díky termolabilním bílkovinám, jež pochází z hroznů, ale také z některých enologických přípravků. Krystalické zákaly vznikají vysrážením vinného kamene, což je ve skutečnosti draselná sůl kyseliny vinné. Draslík se do vína uvolňuje z hroznů anebo použitím disiřičitanu draselného při výrobě vína.

V minulosti, kdy ještě nebyly na trhu enologické přípravky, docházelo k samočištění vína. Jednalo se však o dlouhodobý proces, který si dnes moderní vinař, který chce prodávat víno ve velkém, nemůže dovolit. Technologický proces byl díky těmto přípravkům značně urychlen.

Na trhu nalezneme velké množství čiřících přípravků, od různých značek, s různým složením a dobou bobtnání či kombinací těchto látek. Při prodeji hraje velkou roli marketing. Lze proto na trhu nalézt drahé bentonitové přípravky, které mají hezčí obal ale svou kvalitou se vyrovnají bentonitu, jež je podstatně levnější, akorát je zabalen do obyčejného obalu.

## 2. Cíl práce

Cílem diplomové práce je shrnout problematiku, která se týká stability vína, čiření a tvorby zákalů. V další části se zabývá popsáním a porovnáním vybraných enologických přípravků. V praktické části jsou analyzovány vzorky vín pomocí daných metod a následně vyhodnoceny.

# 3. Literární přehled

## 3.1. Složení vína

Víno je jediný druh nápoje, jež nepotřebuje na zlepšení senzorických vlastností a jakosti žádné přísady. Pokud chceme získat stabilní víno, které se po naplnění do lahví nebude kalit, musíme provést menší zákroky, které těmto krokům zabrání. Vhodnější je začít s úpravami rovnou u moštu před kvašením, než zasahovat do hotového vína. Hotové víno je citlivější na vnější zásahy a oxidace více, než mošt. Aby byly účinky zákroků co nejlepší je nutné znát složení moštu.

Mošt obsahuje především vodu, cukry, kyseliny, třísloviny, barviva či dusíkaté látky. Celková jakost je ovlivněna mnoha faktory, k těm hlavním patří: odrůda hroznů, vegetační období, povětrnostní podmínky či zatížení hroznů na jednom keři (FARKAŠ, 1980).

### 3.1.1. Bílkoviny ve víně

Ve víně se nacházejí buď jednoduché bílkoviny – proteiny, vytvářející při štěpení aminokyseliny nebo bílkoviny složené – proteidy, označujeme je jako dusíkaté látky. Původcem jsou kvasinky, makromolekuly jejich buněčné blány, jež jsou nositeli biochemických projevů života. Dohromady obsahuje buňka 30 – 75 % dusíkatých látek. Působením alkoholu anebo při zahřátí na 70 °C mohou ve vínech vytvářet sedliny (ACKERMAN, 2001).

Z dalších výživných látek sem patří a tvoří podstatnou část bílkovin také peptidy, peptony a albuminy. Množství těchto látek se pohybuje mezi 40 až 70 %, je odvislé od charakteru živné půdy, výživy, teploty nebo množství přítomného kyslíku (FARKAŠ, 1980). Na molekuly bílkovin se váží dále molekuly vody a další anorganické ionty (VELÍŠEK, 2002).

### 3.1.2. Termolabilní bílkoviny

Látky reagují na změny teplot a vedou ke změně konzistence a mění i vizuální stav vína vytvořením zákalu. Srážení je nerovnoměrné a záleží na charakteru bílkovin a chemickém složení vína. Čím více dusíkatých látek je víně, tím více dochází ke tvorbě sraženin. Samotné vysrážení bílkovin je proces na delší dobu (zpravidla 2 – 3 roky). Nejrychlejší způsob vysražení je zahřátí vína alespoň na 70 °C, ale zároveň dochází ke snižování organoleptických hodnot vína (ANONYM 1, 2006).

## 3.2. Bílkoviny a bílkovinné zákaly

Víno obsahuje velké množství organických látek; z dusíkatých převažují aminokyseliny a bílkoviny. Aminokyseliny působí velmi pozitivně na kvalitu vína, především při kvašení, naopak bílkoviny mohou působit negativně na čistotu a stabilitu vína (PAVLOUŠEK, 2010). Množství bílkovin se ve vínech značně liší, je to dáno odrůdou či ročníkem, v suchých letech bílkovin přibývá. Kvašení, reakce s třískovinami nebo ošetření bentonitem snižuje koncentraci bílkovin (STEIDL, 2010).

Bílkoviny, jež jsou původci zákalů ve víně, pochází většinou z hroznů. Tato skupina *„pathogenesis related protein“* se tvoří jako obranné látky proti mikrobiálnímu napadení. Druhá skupina bílkovin může vznikat při metabolismu kvasinek, je dobře rozpustná ve vodě a při tvorbě zákalů nehraje žádnou velkou roli. V období s dlouhou vegetací

a pozitivním průběhem zrání stoupá potřeba bentonitu, stejně tak s vyšší intenzitou slunečního záření. Réva vinná reaguje na stresové situace (např. sucho, mikrobiální napadení, …) tím, že si začne ukládat obranné látky, jako jsou fenoly a bílkoviny. S rostoucím stresem daným klimatickými faktory se ukládá více fenolů a naopak klesá obsah bílkovin a potřeba bentonitu. U bílých vín je nestabilita bílkovin nejzávažnějším kvalitativním nedostatkem nemikrobiální povahy. Zákaly nebo sedimenty se zpravidla vytváří už v nalahvovaných vínech a spouštěčem může být časté střídání teplot (PAVLOUŠEK, 2010). Mezi další faktory, které ovlivňují tvorbu, patří: *pH vína, obsah polysacharidů nebo taninů.* Změny pH mohou být způsobeny:

- častým střídáním teplot,
- mikrobiální činností (kvašením),
- chemickým odkyselením (DELFINI a kol., 2001).

K odstranění bílkovinných zákalů se používá bentonit, který má negativní náboj a ve víně spolu s pozitivně nabitými bílkovinami vytváří spojení, jež vede k sedimentaci kalů na dno nádoby. Cílem je eliminovat obsah nestabilních, na teplo citlivých bílkovin, aby se nevytvářely zákaly (MORENO a kol., 2009).

### 3.2.1. Zjištění potřeby bentonitu

Pomocí řady výzkumů byly vyvinuty prostředky s cílem dosažení bílkovinné stability. Princip zjištění potřeby bentonitu je založen na pozitivním bílkovinném testu, kdy se do malých množství vína přidávají různé dávky bentonitu. Zkoušku je nutné provést dvakrát, kdy v novém testu zjistíme potřebnou dávku bentonitu (STEIDL, 2010). Nejčastěji se však používá test, kdy se vyčiřené víno zahřívá po dobu 4 hodin při teplotě 37 °C. Zákal je posuzován vizuálně a vhodná dávka bentonitu se určí jako množství, při kterém zákal nevznikl (KRAUS a kol., 2010).. Tradičně, stabilita bílkovin byla testována zpracováním vzorků vín při 80 °C po dobu 8 hodin. Studie však zjistili, že 2 hodiny jsou plně dostačující. Během srovnání různých stabilizací bílkovin je doporučeno vystavení vzorků 80 °C po dobu pouhých 30 minut. Po ochlazení, je vzorek zamlžený – můžeme provést kontrolu buď okem anebo pomocí nefelometrie. Je – li zjištěno, že je nestabilní, vzorky vína jsou upraveny a testovány, abychom zjistili jakou formu nápravy je třeba zvolit (JACKSON, 2008).

### 3.2.2. Stabilizace

Víno se během delší doby stává stabilním vůči srážkám a dalším změnám. Vinař však potřebuju stabilizaci uspíšit, než aby čekal na přirozené pochody. V potaz musí brát ale kvalitu a údržbu vína, jelikož některé stabilizační přípravky mají tendenci snižovat kvalitu, obzvlášť pokud jsou provedeny nepečlivě, naopak pokud vinař dodrží návod

a pracuje pečlivě, je schopen získat stabilitu za jakýchkoliv podmínek. Stabilizační postupy by měly být navrženy tak, aby bylo víno schopné vydržet v lahvi alespoň jeden rok, aniž by došlo k poškození kvality vína. U některých vín můžu docházet k vysrážení pigmentů (především u červených vín) nebo tvorbě krystalů, což nemusí být vždy na škodu, ale spotřebitel očekává víno kvalitní a bez vad. Stabilizační přípravky by měly zabránit vzniku těchto chyb a zároveň jim předcházet (RANKINE, 2002).

### 3.2.3. Bílkovinné zákaly

Příčiny vzniku zákalů ve víně jsou složité. Zpravidla vznikají sražením termolabilních bílkovin. Už v minulosti byly problémem a v roce 1875 popsány jako sraženiny bílkovin s třísloviny (FARKAŠ, 1980). Vyskytují se u vín s nedostatečně odstraněnými bílkovinami. Při klasické výrobě vína dochází běžně k odstranění několikerým přetáčením víne ze sudu do sudu během 2 – 3 let, anebo využitím čiřících látek (ANONYM 2, 2015).

Během dozrávání dochází ke zvýšení bílkovin, naopak při dozrávání dochází k poklesu. Celkový obsah však nemusí vždy nutně vést ke tvorbě zákalů. Do tohoto součtu spadají bílkoviny labilní, ale i stabilní. Komplikace mohou způsobit také vysoké hodnoty polysacharidů nebo nízké pH. U některých polysacharidů – kvasinkových mannoproteinů – dochází k tvorbě negativního elektrického náboje, skrz který se vytváří nerozpustné sloučeniny reagující s jinými látkami ve víně. Předcházet tomuto problému může tzv. *ležení vína na kvasnicích*, kdy dochází k uvolňování mannoproteinů, to vede ke kladnému ovlivňování stability vína (PAVLOUŠEK, 2010).

Bílkovinné zákaly mohou způsobit větší ekonomické ztráty, než krystalické formace. Výsledkem zákalů je shlukování rozpuštěných bílkovin, které reagují na teplo, které urychluje proces, stejně tak reagují s taniny a těžkými kovy. Většina bílkovin, která suspenduje ve víně má izoelektrický bod nad rozmezím pH vína. Izoelektrický bod je pH, při kterém je bílkovina elektricky neutrální. V tomto důsledku má většina rozpuštěných bílkovin pozitivní náboj, který je generován ionizací aminoskupiny.

Podobný náboj u proteinů zpomaluje shlukování, zatímco Brownův pohyb a asociace s vodou zpožďuje usazování. Naproti tomu, denaturace bílkovin produkuje zákaly (JACKSON, 2008).

Výskyt bílkovinových zákalů je jedním z hlavních problémů v zalahvovaných vínech. Některé z bílkovin lze u bílých a růžových vín denaturovat (rozložit), což vede k tvorbě zákalu nebo v některých případech i tvorbě sraženiny. Nicméně, bílkovinná nestabilita nekoreluje s celkovými koncentracemi bílkovin, jelikož jednotlivé bílkoviny se chovají odlišně. Někteří autoři se domnívají, že další faktory můžou hrát důležitou roli při srážení bílkovin, včetně síranu.

Bylo provedeno několik studií o chemické povaze nestabilních bílkovin. Berg tvrdí, že bílkoviny s nejnižšími izoelektrickými body byly nejvíce stabilní během pomalého tepelného testu. Tyto data byly potvrzeny několika instituty, které podaly zprávu o tom, že nestabilní bílkoviny mají nízký izoelektrický bod a nízkou relativní molekulovou hmotnost.

O několik let později, byly bílkoviny související s patogenezí, stejně tak thaumatiny či chitinázy identifikovány jako příčiny tvorby zákalů. Všechny tyto bílkoviny mají molekulovou hmotnost mezi 20 až 45 kDa. Nestabilní bílkoviny jsou tedy přítomny hlavně v rozmezí této molekulové hmotnosti. Vzhledem k tomu, že bílkovinný zákal představuje velký problém, vinaři často lečí bílá a červená vína pomocí bentonitu s cílem odstranit nestabilní bílkoviny. Bentonit elektrostaticky spolupracuje s bílkovinami, které produkují čiření. Bylo však prokázáno, že použití bentonitu může ovlivnit chuť. Nevhodné je použití bentonitu u šumivých vín, jelikož výrazně ovlivňuje kvalitu a tvorbu pěny. V tomto důsledku je doporučeno použít ultrafiltraci, přídavek chitinu nebo oxidu zirkoničitého, i když jejich aplikace je zatím ještě experimentální. Správné dávkování bentonitu je nezbytné pro jeho správné použití. Nicméně existuje spoustu metod pro zjištění stability bílkovin u bílých vín. V tomto důsledku vypočtená dávka bentonitu se může lišit podle použité metody (ESTERUELAS a kol., 2009).

### 3.2.4. Odstranění bílkovinných zákalů

Jako hlavní preparát slouží bentonit, který odbourává zákaly už přes 50 let. Aplikací dochází ke spojení mezi jeho negativním nábojem s pozitivním nábojem bílkovin,

a dochází tak k sedimentaci na dno nádoby. Odstranění je odvislé v závislosti na obsahu bílkovin a dávkách bentonitu. Při dávkování je nutné dodržovat předepsané zásady a pracovat precizně, jinak by mohly mít vyšší dávky negativní dopady a ovlivnit aroma nebo chuť vína. Použitím dochází k odstranění jak labilních, tak stabilních bílkovin. Cílem je snížit labilní, které mají negativní dopady. U červených vín působí vzájemně uvolňované taniny ze semen s bílkovinami, jež zvyšuje přirozenou stabilitu červených vín. V případě červených vín je nutné být obezřetný, jelikož může docházet ke ztrátě či změně barvy (PAVLOUŠEK, 2010).

### 3.2.5. Odstranění taninových zákalů

Taniny se mohou podílet přímo nebo nepřímo na rozvoji zákalu. Po vystavení kyslíku třísloviny oxidují a polymerizují do hnědých koloidů. V závislosti na načasování a míře oxidace, může dojít ke ztrátě intenzity barvy či k posunu odstínu. Pomocí přídavku oxidu siřičitého dochází k omezení oxidace, díky svým antioxidačním a enzymatickým vlastnostem. Nícméně, plesnivé ovoce, které je znečištěné houbovými polyfenolovými oxidázy, je obzvláště náchylné k oxidativním zákalům. Vzhledem k tomu, že oxidázy jsou špatně inaktivovány oxidem siřičitým, pasterizace může být vhodným prostředkem k ochraně šťáv. Hrozny zbavené houbových infekcí vzácně rozvinou oxidační zákaly. Vzhledem k tomu se zákaly obvykle vyvíjí již během zrání a vysráží se před plněním, což nezpůsobuje zákaly v lahvi (JACKSON, 2008).

## 3.3. Metody zjišťování stability vína

Při výrobě vína je důležitá stabilizace bílkovin, tradiční metodou, která vede k odstranění bílkovin je použití látek majících schopnost vázat bílkoviny. Podpůrné analýzy sloužící k ošetření vína, se provádějí pomocí analytických metod a jejich přesnost ovlivňuje několik faktorů – zkušenosti laboranta, pečlivost nebo vybavení dané laboratoře. Výhodou však je, že tyto kontroly se mohou provádět i ve vlastním podniku, kde slouží k samokontrole nebo jako podklad pro následné ošetření vína. Týkají se především sudového vína určeného k lahvování (PAVLOUŠEK, 2010).

Různé testy stability bílkovin mohou být klasifikovány podle jejich účinku, např. Bentotest či testy kyseliny trichloroctové srážejí všechny bílkoviny do vzorku a tyto metody informovaly o potřebě přídavku bentonitu. Tepelné zkoušky patří pravděpodobně mezi nejčastěji používaná metody ověření. Všechny verze teplotních zkoušek jsou založeny na akceleraci oxidace, kondenzace a srážení fenolických sloučenin
s bílkovinami při vysokých teplotách. Tepelné zkoušky obvykle vyžadují nižší dávku bentonitu pro stabilizaci vína než u ostatních testů (ESTERUELAS a kol., 2009).

### 3.3.1. Pěnová zkouška

Na zjištění stability vína se může použít jednoduchá metoda, tzv. *pěnová zkouška*, která kopíruje situaci v nalahvovaném víně. Jedná se jednoduchý test, kdy do zkumavky vložíme 10 ml čiřeného vína, zahřejeme ve vodní lázni na 80 °C a protřepáváme do vytvoření pěny (BALÍK, 2011). Pokud se pěna během 60 vteřin neztratí, může dojít k vytvoření zákalu. Díky této metodě se dá snadno stanovit dávka bentonitu, 1 mm výšky pěny = cca 10 g bentonitu na 100 l vína. Vždy je ale dobré provést i druhou orientační zkoušku v malém objemu vína (např. v 10 l) a na základě tohoto testu provedeme přepočet přídavku bentonitu na větší objem vína (PAVLOUŠEK, 2010).

### 3.3.2. Tepelný test s přídavkem nasyceného roztoku síranu amonného

Na přípravu zkoušky je potřeba 25 ml zkumavka, do které aplikujeme 20 ml čirého vína, k tomu přidáme 1 ml nasyceného roztoku síranu amonného a protřepeme. Důležitá je temperace po dobu 9 hodin, při 45 °C v termostatické skříni. Následným zchlazením na 20 °C posuzujeme případný vznik sedimentu nebo zákalu, pokud se vyskytnou, jsou přítomny termolabilní bílkoviny (BALÍK, 2011).

### 3.3.3. Test s kyselinou fosfomolybdenovou

Odpipetujeme 20 ml čirého vína, přidáme 1 ml čirého 10 % roztoku kyseliny fosfomolybdenové a protřepeme. Necháme vzorek 20 minut odstát, poté hodnotíme vznik zákalu (BALÍK, 2011).

### 3.3.4. Bentotest

Na provedení testu je potřeba 10 ml čistě přefiltrovaného vína a 1 ml roztoku „Bentotestu“ a následné promíchání směsi ve zkumavce. V případě, že se po uplynutí 30 sekund vytvoří sraženina, obsahuje víno bílkoviny. Velikost sraženiny udává odhadovanou potřebu bentonitu (RANKINE, 2002). Bentotest zahrnuje přídavek činidla na bázi kyseliny fosfomolybdenové (10%) a doporučuje se pro vyhodnocení rizika bílkovinného zákalu. Kapalina se zbarví modře a zákal se objeví okamžitě. Bentotest nereaguje na tepelně citlivé bílkoviny, takže systematicky nadhodnocuje riziko bílkovinných problémů (RIBÉREAU a kol., 2006).

### 3.3.5. Etanolový test

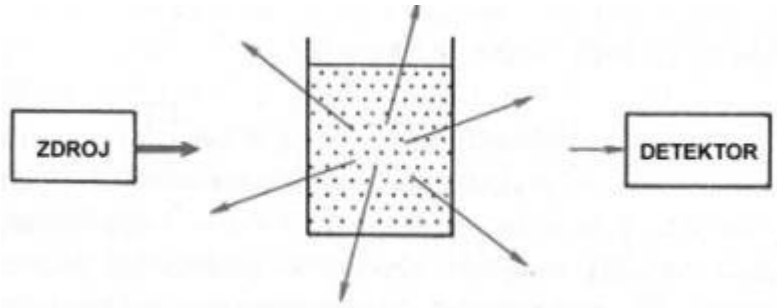
Etanolový test je založen na snížení dielektrické konstanty roztoku, což snižuje rozpustnost bílkovin. Testovací sraženiny síranu amonného bílkovin využívají vysoké koncentrace solí, ale sraženiny jsou neúplné (ESTERUELAS a kol., 2009). Zkouška se skládá z přidání absolutního etanolu na stejný objem vína. Zákal vzniká v přítomnosti alkoholu, měří se nefelometricky. Krátce poté, co jsou látky smíšeny, nejsou složeny jen z nestabilních bílkovin, ale také z polysacharidů a mannoproteinů. Je poměrně běžné, že vína která jsou dokonale termostabilní, jsou zakalené, když jsou vystaveny etanolovému testu. Zejména v případě, že již získaly vysoký obsah mannoproteinů prostřednictvím stárnutí kalů. Tento test vede k používání vyšších dávek bentonitu, než je skutečně potřeba k dosažení stability (RIBÉREAU a kol., 2006).

### 3.3.6. Taninový srážecí test

Taninová srážecí zkouška je založena na předpokladu, že bílkoviny ve víně se během skladování vážou na fenolové sloučeniny, např. taniny. Tato zkouška poskytuje informace o některých vinných bílkovinách, které mají schopnost vysrážet polyfenolické sloučeniny. Taninový test je ovlivněn mnoha vnitřními faktory: pH, koncentrací železa či draslíku. Nejedná se tedy o ideální ukazatel optimálních dávek bentonitu (ESTERUELAS a kol., 2009).

### 3.3.7. Turbidimetrie

Jedná se o optickou metodu, založenou na měření procházejícího světla zeslabeného rozptylem na částicích (*obr. č. 1*). Pro měření turbidimetrií je nutné získat dostatečně stálou suspenzi. K tomu slouží ochranné polymery např. polyetylenglykol. Pomocí absorpčních fotometrů a spektrofotometrů se měří absorpce záření po průchodu koloidním roztokem nebo roztokem s jemnou sraženinou. Fotometrická citlivost je nepřímo úměrná vlnové délce. Z turbidimetrických metod se dosahuje největší citlivosti modrým světlem.




**Obrázek 1** *Princip turbidimetrie (Autor)*

Vztah mezi absorbancí a koncentrací částic je v měřeném rozsahu u malých částic většinou lineární. Ke změně na nelineární odezvu může dojít změnou vlnové délky záření. V případě, že dojde ke změnám částic a vzniknou částice odlišné velikosti, dojde ke změnám výsledků měření absorbance (ŠTERN, 2011).

## 3.4. Čiření vína

První teoretický přístup ke zkrášlování vína byl prezentován roku 1928, jako série nabitých a vybitých koloidních částic. Autoři ukázali, pomocí elektroforézy, že želatinové částice měly pozitivní vliv na pH vína a že částice odpovědné za zákaly byly negativně nabité. Výsledky čiření závisely na recipročním vypouštěním přítomných částic (RIBÉREAU a kol., 2006). Čiřením rozumíme jeden z technologických procesů při krášlení vína. Tento proces vede k vyčištění vína a rozumí se jím přídavek buď přírodních nebo syntetických materiálů, s cílem stabilizovat produkt (RANKINE, 2002). Využitím přírodních inertních látek dochází k sedimentaci nečistot na dno nádoby a ty jsou společně s kaly odstraněny při stáčení vína. Použitím čiřidel získáváme kvalitní čistotu vína, barvu, dobrý chuťový projev a zabezpečíme stabilitu vína (SEDLÁČEK, 2012; GRAINGER a kol., 2005).

**Účinnost je závislá na:**

- použitém čiřidle,
- dávce přípravku,
- pH vína,
- teplotě,
- stáří vína.

Čiření je založeno na principu opačných elektrických nábojů, jež se na sebe navazují. Dochází k tvorbě spojených větších částic, které sedimentují na dno. Pomocí čiření dosáhneme čistoty a čirosti vína, stejně tak slouží k urychlení sedimentace. Základním bodem každého zákazníka je čirost. U mladých vín je relativně velké množství dnových kalových částic. Postupným stáčením lze dosáhnout čirosti, kdy dochází k eliminaci hrubých částic. Následná filtrace by měla odstranit i ty nejjemnější cizí částice a mikroorganismy. K měření čirosti se používají turbidimetry, jež určují závislost na počtu a velikosti částic v roztoku (PAVLOUŠEK, 2010).

Rozpuštěné látky dělíme na krystaloidy a koloidy. Během čiření dochází k eliminaci především koloidů, jež se velice těžce odstraňují. Nachází se ve víně buď formě solu (jemně rozptýleny a volně pohyblivé) – způsobují matnost vína, anebo ve formě gelu (volně pohyblivé už nejsou) - jedná se o čiřidla U koloidů může dojít k obklopení částicemi opačného náboje a stávají se pak stabilnější vůči srážení. Mezi tyto látky patří např. pektiny, hemicelulózy nebo rostlinné gumy. Nejrychlejší srážení koloidů nastává při pH 3. Čiření je úspěšné, pokud ve víně neprobíhají intenzivní biochemické pochody např. alkoholové kvašení či biologické odbourávání kyselin (ANONYM 3, 2010).

Před každým čiřením je nutné udělat předběžné zkoušky, aby došlo ke správnému stanovení dávky čiřidla. Aby bylo možné provést čiření, musí být víno dokvašené a nesmí docházet k odbourávání kyselin. Nejlepší aplikace je při stálé, nižší teplotě. Namíchaný přípravek je těžší, než víno a rychle sedimentuje. Čiření je vhodné provádět jednou, v některých případech se může i opakovat, ale může docházet ke ztrátám barvy nebo chutě (POLO, 2008).

### 3.4.1. Fyzikální způsoby čiření vína

Sedimentaci hrubých a jemných částic ve víně používáme u těchto technologických krocích:

- odkalení moštu,
- sedimentaci v mladých vínech,
- odkalení – sedimentace po jablečno – mléčném kvašení.

Jedním ze základních technologických postupů je sedimentace hrubých částic na dno ve spojení se stáčením, a to jak u velkovinařů, tak i u drobných vinařů. Stáčením zabezpečujeme i další procesy, které probíhají ve víně:

- Tvorba vhodných podmínek pro rozpouštění kyslíku ve víně.
- Kyslík pomáhá s eliminací vzniku sirky a pachuti po kvasnicích.
- Stáčení umožňuje mikrooxidaci, jež je velmi důležitý proces při výrobě červených vín.
- Snaha zabránit nadměrnému provzdušňování – předcházet vzniku chorob.
- U bílých vín proto minimalizujeme kontakt s kyslíkem, aby nezačala oxidáza.
- Pravidelnost stáčení – vhodný termín nelze přesně definovat, je závislý na konkrétním víně (PAVLOUŠEK, 2010).

### 3.4.2. Chemické způsoby čiření vína

Základem chemického čiření s využitím čířících látek je vzájemný opačný elektrostatický náboj mezi určitými látkami ve víně a čiřícím prostředkem. Při aplikaci je nutné dodržovat předepsané hodnoty dávkování, aby nedošlo k odstranění i jiných látek, než těch nežádoucích (KRAUS a kol., 2010). Důležité je zamezit styku s kyslíkem, který by mohl způsobit oxidaci. K úplně absorbci negativních látek je nutné čiřící látky důkladně promíchat v celém objemu vína. Po čiření klesají veškeré kaly na dno nádoby, tento kal je nutné odstranit stočením vína, následován filtrací. Čiření s využitím čiřících látek nemusí probíhat u každého vína bez výjimky. U některých vín postačí spontánní čiření a následná filtrace (PAVLOUŠEK, 2010).

### 3.4.3. Čiřící přípravky

Čiřících přípravků je na trhu spousta, jsou dodávány pod různými obchodními názvy a najdeme je v prodejnách s vinařskými potřebami (PAVLOUŠEK, 2010). Jsou rozdělovány na ty, které mají kladný anebo záporný elektrický náboj. Existují i přípravky, které nemají žádný náboj. Mezi ty kladné patří: *vyzina, želatina či vaječný bílek*; do záporných se řadí: *agar, tanin nebo bentonit*. Do skupiny bez náboje spadá aktivní uhlí nebo vinné kvasnice, mají dobré adsorpční schopnosti. Čiření je považováno za úspěšné, když ve víně neprobíhají intenzivní pochody, mezi které patří alkoholové kvašení nebo biologické odbourávání kyselin (VYDAŘILÁ, 2013).

#### 3.4.3.1. Vyzina

Vyrábí se ze sušených měchýřů vyzy, jesetera nebo sumce. Patří k šetrným čiřidlům, ale spadá do kategorie dražších přípravků. Na trhu ji můžeme najít ve formě lístků, prášků nebo roztoků (RIBÉREAU a kol., 2006). Využívá se k čiření kvalitních dražších vín, jelikož se dá zakoupit v tekuté podobě a lze ji dávkovat rovnou do vína bez zdlouhavých příprav (MARKO, 2013). Řadí se mezi nejjemnější čiřidla, jelikož neodebírá vínu žádnou z jeho cenných látek. Po aplikaci se zhruba po 10 – 14 dnech víno vyčistí, poté může následovat stáčení a filtrace (KRAUS a kol., 2010). Dávkování je v rozmezí 1 – 2 $g.hl^{-1,}$ podtrhuje brilantnost vína a posiluje jeho žlutou barvu (STEIDL, 2010).

#### 3.4.3.2. Želatina

Jedná se o čistý chemický klih, vyrábějící se z telecích kostí nebo prasečí kůže. Mezi hlavní složky patří: *glycin, prolin, hydroxyprolin nebo kyselina glutamová.* Výroba želatiny spadá až do 18. století, v současné době je na trhu několik druhů, jež se vyrábí kyselou, alkalickou nebo enzymatickou hydrolýzou (RIBÉREAU a kol., 2006). Po aplikaci dochází ke zlepšení aromatického projevu a chuťových vlastností především u červených vín. Dávky se pohybují většinou kolem 3 – 10 $g.hl^{-1}$ (PAVLOUŠEK, 2010). Ve víně dochází ke srážení s taninem, proto nesmíme zapomínat na přídavek taninu. Přídavek by měl být zhruba od 2 až 4 $g.hl^{-1}$ menší, než želatiny. Želatina slouží především k odstranění menších chuťových vad vína a také k urychlení sedimentace při čiření dalšími látkami (KRAUS a kol., 2010).

#### 3.4.3.3. Vaječný bílek

Patří mezi nejstarší čiřící látky na světě a slouží především k čiření červených vín. Odstraňuje tanin u vín, který mají jeho vysoký obsah. Bílkoviny ve vejcích jsou především albumin a globulin, každý bílek obsahuje 3 – 4 g bílkovin (RANKINE, 2002). Používá se sušený, čerstvý nebo ve formě čiřícího prostředku. U jemných vín se pohybuje aplikace čerstvých bílků mezi 1 – 2, u třískovitějších vín jsou to 3- 4 bílky $hl^{-1}$. (KRAUS a kol., 2010).

#### 3.4.3.4. Agar

Jedná se o ester polygalaktosy a kyseliny sírové. Vyrábí se z mořských řas, a jeho částice jsou nabity negativním elektrickým nábojem. Je vhodný k odstranění zákalů po přečiření želatinou nebo slizových zákalů. Dávkování je v rozmezí 5 – 30 $g.hl^{-1}$. Navážené množství se namočí přes noc ve vodě, poté se vymačká přebytečná voda, rozšlehá a za neustálého míchání se vlévá do vína. V současné době se už používá jen výjimečně (ANONYM 3, 2010).

#### 3.4.3.5. Tanin

Řadí se mezi čiřící látky s negativním elektrickým nábojem a slouží k čiření vín v různých poměrech se želatinou. Slouží především k úpravě chuťového charakteru, jak bílých, tak červených vín a dále k úpravě nebo zjemnění taninů ve vínech (PAVLOUŠEK, 2010). Dávkuje se v rozmezí 2 – 15 $g.hl^{-1}$. Vyznačuje se schopností vysrážet bílkoviny a nejvíce se používá k urychlení čištění bílých vín, které jsou chudé na třísloviny (VYDAŘILÁ, 2013**).** Pokud je dávkován v menším/povoleném množství podstatně zlepšuje chuť – víno je vláčné a chutné. Naopak pokud je dávka překročena – zanechává v ústech pocit sucha, působí mdle a ploše a víno je stahující až hořké. Tanin je také důležitý, pokud chceme, aby mělo víno dobrou jakost a uchovatelnost (BERRY, 2006).

#### 3.4.3.6. Bentonit

Tento přírodní minerální jíl, je složen převážně z montmorillonitu, jehož účinnou látkou je hydrát koloidního křemičitanu hlinitého. Obsahuje výměnné kationy, jež hrají důležitou roli v jejich fyzikálně – chemických vlastnostech. Množství těchto kationů je různý a liší se geografickým původem (RIBÉREAU a kol., 2006*). Podrobnější informace jsou v následující kapitole.*

## 3.5. Bentonit

Bentonit je látka, která obsahuje směsi minerálů, především silikáty vápníku, sodíku a hliníku. Tato čiřící látka má vysokou bobtnavost a slouží k udržení stabilního vína i při změnách teplot (STEIDL, 2010). Jedná se o čiřící látku se záporným nábojem, která slouží k odstranění termolabilních bílkovin (PAVLOUŠEK, 2010). Větší využití najde u bílých vín, protože u červených vín dochází k velkým ztrátám barvy. Bentonit můžeme využít již v moštech, a to před kvašením nebo i během kvašení. Převážně se dává až do vína po jeho stočení, popřípadě scelení. V praxi se dávkuje ve formě bentonitové suspenze, která se připraví rozmícháním a nabobtnáním práškového bentonitu ve vodě. Používá se 50 – 150 $g.hl^{-1}$ a účinek je okamžitý. Dávka bentonitu se určí předběžnou zkouškou. Po vyčiření se musí víno během 14 – 20 dní zfiltrovat (KRAUS a kol., 2010).

Vlivem použití bentonitu ve vínech může docházet po konzumaci v lidském organismu k pohlcování některých živin a tím pádem způsobovat jejich nedostatek - např. vitamin A (VRBOVÁ, 2001). Použitím bentonitu může dojít k nepovolenému zvýšení obsahu sodíku ve víně. Proto se smí používat jen čisté vápenaté nebo směsné bentonity. U vín s vysokým pH jsou nejlepší volbou směsné bentonity. Nevýhodou však je, že dochází k tvorbě většího množství kalů (STEIDL, 2010). Rozlišujeme několik druhů bentonitu:

- *Ca – bentonit* – slouží na odkalování moštů. Díky němu je sedimentace rychlá a tvoří se malý podíl vytvořeného kalu.
- *Na – bentonit* – nástup je pomalý, dochází k tvorbě většího množství kalů a váže poměrně mnoho bílkovin.
- *Na – Ca – bentonit* – aplikací i tvorbou kalů se řadí mezi výše dva zmíněné.

### 3.5.1. Původ a složení

Název pochází z Fort Benton, v Montaně, kde bylo první naleziště a označují se jím půdní minerály, kde hlavní složkou je montmorillonit. Obsah montmorillonitu je u kvalitních bentonitů 80 % a více, abychom mohli považovat látku za bentonit musí obsahovat alespoň 60 % (POLO, 2009). Využití ve vinařství bylo poprvé v roce 1934 v Kalifornii, v Německu došlo k zavedení až v roce 1947 a evropské enologické učebnice se o bentonitu jako o zjemňovacím/krášlícím materiálu nezmiňovaly až do roku 1950 (HORNSEY, 2007). Bentonit se však nepoužívá pouze ve vinařství, ale můžeme jej objevit při odbarvování olejů, úpravě ropných kalů nebo při utěsňování vodních nádrží.

Na první pohled se může zdát divné, že tato jílová hmota se dá použít k vyčiření a krášlení vína a dokáže stabilizovat víno proti srážení bílkovin, které mohou nastat, když je víno uloženo na teplém místě. Například v Austrálii se jedná o nejvíce rozšířenou čiřící látku (RANKINE, 2002).

Dnešní naleziště pochází z vulkanické činnosti, která vznikla před 100 miliony lety a vzniká zvětráváním horniny. V Evropě můžeme najít naleziště v Bavorsku a okolo Středozemího moře, musíme však rozlišovat typy bentonitů, jelikož ne všechny se dají použít k ošetření nápojů. Čistota látky se dá odvodit především z barvy, čím je bentonit světlejší, tím vyšší je jeho čistota, naopak tmavší zabarvení signalizuje vyšší podíl železa. Bentonitová krystalická mřížka obsahuje oxidy křemíku a hliníku, dále oxidy železa, vápníku, hořčíku a sodíku. Prvky spojující mřížku jsou jen z části rozpustné, proto se např. hlíník uvolňuje v menším množství a naopak sodík se objevuje zcela kompletně (OCHMAN, 2015).

### 3.5.2. Aplikace na čiření a stabilizaci

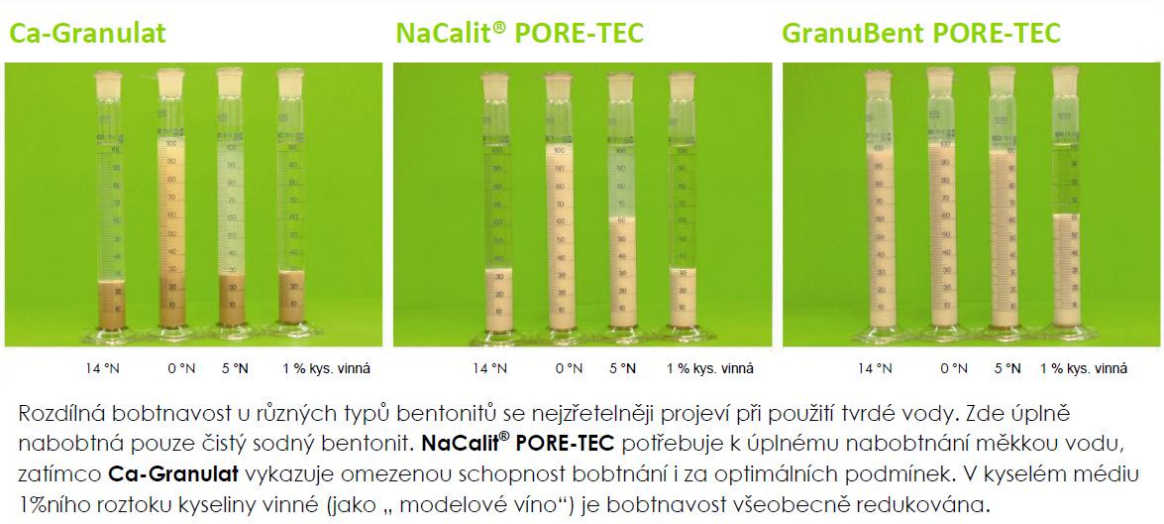
Při výrobě vín a nápojů se používá bentonit k čiření, adsorpci bílkovin a předchází tvorbě bílkovinových zákalů. Účinek spočívá v tom, že po přidání do nápoje dochází během pár minut k hrubé flokulaci. Dochází k sedimentaci kalů, jelikož jemné částice ztěžknou a uzavřou se (POLO, 2009). Zároveň dochází k adsorpci bílkovin, třísloviny a redukci neutrálních koloidů (např. polysacharidů) spojených se stabilitou nápojů. Dávky bentonitů jsou rozdílné a závislé na dobrém ročníku, plodu a stanovišti rostliny.

V letech, kdy dochází k minimu srážek vedou k vyšší potřebě bentonitu, stejně tak umístění rostlin na kyprých písčitých či mělkých půdách. Naopak rostliny umístěné na těžkých nebo obtížně propustných půdách mají potřebu nižší (OCHMAN, 2015).

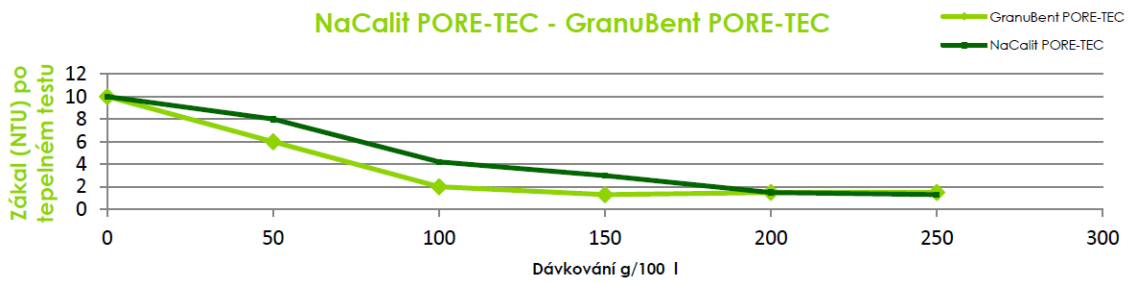
### 3.5.3. Adsorpce bílkovin

Bobtnání bentonitu napomáhá po přidání do vody také ukládání kladně nabitých iontů jako je sodík a vápník, který se vrství v krystalové mřížce montmorillonitu. Jednomocné ionty sodíku vedou k úplnému nabobtnání, jelikož voda proniká do struktury, zatímco u vápníku se voda ukládá pouze na okrajích. K optimální adsorpci bílkovin dojde po úplném nabobtnání bentonitu. V případě, že dojde k nenabobtnání je adsorpce až dvakrát menší oproti nabobtnanému. K měření adsorpce lze použít modelové roztoky, které umožní odstupňovat a porovnat bentonity vzhledem k adsorpční síle.

V praxi vznikají rozdíly v optimálních dávkách nutné ke stabilizaci především u odrůd, které mají vyšší potřebu bentonitu a komplexní složení bílkovin. Na přiloženém obrázku (*č. 2*) je vidět srovnání různých druhů bentonitů, jako vzorek posloužilo Rulandské šedé. Srovnáván byl sodný bentonit ku sodno-vápenatému (*obr. č. 3*) a je znát, že rozdíly jsou omezeny zvýšenou dávkou o 50 – 100 g/100 l (OCHMAN, 2015).




**Obrázek 2** *Srovnání bobtnavosti bentonitů (www.proneco.cz)*




**Obrázek 3** *Potřeba bentonitu u Rulandského šedého (www.proneco.cz)*

# 4. Materiál a metody

Pro praktický pokus, byly stěžejní bentonitové přípravky, kterých bylo 14, od různých výrobců, s různou cenou a účinkem. Pokus probíhal v laboratorních podmínkách se stejným postupem přípravy a ve stejnou dobu, aby byly výsledky zatíženy stejnou odchylkou a nevznikly rozdílné výsledky z důvodu rozdílných postupů či jiných laboratorních chyb během měření.

Byly zvoleny dvě odrůdy vína, a to *Hibernal* a *Tramín červený*, ročník 2014. Na každou odrůdu jsme měli 15 vzorků, kdy jeden byl vždy kontrolní. Pro odrůdu *Hibernal* a *Tramín Červený* byly použity nádoby o objemu 25. Do každého nádoby byl nutný přídavek síry v objemu 1,5 ml. Přídavky bentonitových směsí byly stanoveny na co nejnižší koncentrace. Problémem u některých preparátů byly špatná míchatelnost nebo delší bobtnavost, viz. *tab. č. 1.*

Samotný pokus byl vypracován tak, že došlo ke stočení vína do menších nádob. Do lahví o objemu 0,7 litrů byly aplikovány jednotlivé bentonitové přípravky. Na obrázku č. 4 jsou vidět namíchané bentonity, které byly po době potřebné k nabobtnání, aplikovány do vína.

**Obrázek 4** *Bentonitové přípravky (Autor)*

Bylo nutné provést přesný výpočet navážky každého bentonitu, pro danou odrůdu a poté ji důkladně rozmíchat s vodou. U některých preparátů bylo nutné delší nabobtnávání. Byly zvoleny nejnižší doporučené dávky z důvodu zjištění vlivu těchto látek při takovéto koncentraci. Po aplikaci do vín, bylo víno ponecháno nějakou dobu v klidu. Po uplynutí potřebné doby došlo ke stočení vín a stanovení množství jednotlivých sedimentů v odměrných válcích.

Dalším pracovním krokem bylo měření zákalů pomocí turbidimetrie. Pomocí této metody byly stanoveny i termostabilní bílkoviny včetně použití tepelného testu stability.

**Tabulka 1** *Srovnání bentonitových přípravků*

| Název | Míchatelnost | Dávkování g/hl | Bobtnavost |
|---|---|---|---|
| AKTIV G | Špatně | 40 | Bobtnání 6 – 12 hod. 1 kg/10 l |
| BENTOGRAN | Dobře | 12 | 1:10, 15 – 20 min. |
| Bentonit Super | Dobře | 40 | 1:10, 12 hodin bobtnání. |
| Bentovin | Špatně | 40 | Nabobtnávání nebylo potřeba. |
| VULCOBENT JUF | Dobře | 20 | Nabobtnávání nebylo potřeba. |
| MAJOR BENTON B | Dobře | 40 | Bobtnání 12 – 24 hodin. |
| Na Calit | Dobře | 40 | 5 – 7 x vody, odležení 6 – 12 hodin. |
| PLUX BENTON | Dobře | 20 | 1:15, 12 hodin odležet |
| PLUXCOMPACT | Dobře | 20 | 1:20, 12 hodin bobtnání. |
| SIHA Aktiv Bentonit | Dobře | 20 | Bobtnání několik hodin. |
| SIHA CA – BENTOVIT G | Dobře | 20 | Bobtnání několik hodin. |
| Siha PURANIT | Dobře | 20 | Bobtnání, cca den. |
| Siha PURANIT UF | Dobře | 20 | Bobtnání během několika hodin. |
| Vulcobent PROTEX P | Dobře | 40 | Bobtnání 6 – 12 hod. |

## 4.1. Odrůda Hibernal

Hibernal *(obr. 5)* se řadí mezi pozdní interspecifické bílé odrůdy. Vyšlechtěna byla v roce 1944 Dr. Helmutem Beckerem na Ústavu pro šlechtění révy vinné v Geisenheimu, pomocí křížení odrůd Seibel 7053 a Ryzlinku rýnského, klon 239 (KRAUS a kol., 2005).

**Obrázek 5** *Odrůda Hibernal (SEDLO a kol., 2011)*

V České republice byla zapsána do Státní odrůdové knihy v roce 2004. Udržovatelem této odrůdy je u nás Prof. Vilém Kraus. V roce 2010 činila plocha pěstování 33 ha, průměrný věk odrůd byl 5 let a osázené plochy vinic mají rostoucí tendenci. Název odrůdy je spojen se schopností dobře odolávat zimním mrazům, pochází z latiny, z podstatného jména *hiberna = zima* či *hibern = přezimovat* (POSPÍŠIL, 2014).

**Odrůdové znaky:**

- Hrozen je středně velký, hustý.
- Bobule jsou malé až středně velké, kulaté s barvou do červenošeda, dužnina je bez zbarvení.
- List je středně velký až velký, tvar čepele je srdcovitý, bez vyznačených laloků s mělkými horními bočními výkroji, vrchní strana čepele je středně puchýřovitá.
- Růst je středně bujný s polovzpřímenými letorosty.
- Sklizeň je vhodné provést v poslední dekádě října.

Odrůda je odolná proti napadení plísní révovou a padlím révovým, naopak proti napadení plísní šedou je středně odolná až odolná. Výhodou je nenáročnost na půdu, ale je potřeba se vyhýbat extrémně suchým půdám. (SEDLO a kol., 2011).

Vína jsou výborné kvality, mají jemně aromatickou vůni až kořenitou. Výnos hroznů je středě vysoký, cukernatost je vyšší, než u Ryzlinku rýnského. Každoročně lze vyrobit přívlastkové víno. Odrůda je vhodná i pro výrobu biovína (SIMONOVÁ, 2002).

## 4.2. Odrůda Tramín červený

Jedná se o jednu z nejstarších kulturních odrůd, která byla pěstována už ve starém Římě pod názvem *Vitis aminea (obr. 6).* Díky ní vzniklo několik klasických evropských odrůd révy a je vhodným partnerem při šlechtění nových odrůd (SEDLÁČEK, 2012).

**Obrázek 6** *Tramín červený (SEDLÁČEK, 2012)*

Zlatožlutý plný tramín, má nízký obsah kyselin a mírně olejovitou strukturu. Svou charakteristickou vůni připomíná exotickou směs liči, růžových květů, tureckého medu či zázvoru. U sladších variant – pozdní sběr – je navíc obohacen o med (CALLEC, 2002).

Tramín je tradiční odrůdou všech severních vinohradnických oblastí Evropy a pěstovat se dá i v chladnějších oblastech. Od roku 1941 je odrůda zapsána ve Státní odrůdové knize České republiky, v současné chvíli je povolen pouze jeden klon PO – 202/A. V roce 2010 bylo zastoupení odrůdy zhruba na 3,5 % plochy, tedy 561 ha. Průměrný věk vinic činil 16 let. Slovo „červený“ se někdy v názvu vína vypouští ((KRAUS a kol., 2005). V ČR lze uvádět pojmenování Tramín nebo také z němčiny pocházející „Gewürtztraminer“ (SANDLER a kol., 2003).

**Odrůdové znaky:**

- Hrozen je malý až střední, hustě cylindrický.
- Bobule jsou malé až střední, kulaté nebo lehce oválné, šedočervené barvy na krátké stopce, s tlustou slupkou.
- Dužnina je masitá až tekutá, má jemnou a příjemnou, odrůdovou chuť.
- List je malý, kruhový, trojlaločný, málo členěný a silně zelený.
- Vhodné jsou úrodné půdy, kdy je růst středně silný až bujný, bez vyššího obsahu vápna.
- Zrání je střední až pozdní a sběr probíhá ve druhé polovině října (SOTOLÁŘ, 2007).

Je odolná vůči zimním mrazům, stejně tak ji nepoškodí ani jarní mrazíky. Středně odolná je vůči houbovým chorobám, citlivější je pak na padlí révy. Zásluhou tlusté slupky nedochází k hnití hroznů (KRAUS a kol., 2005; ESTREICHER, 2006).

Jde o geneticky nejstarší u nás pěstovanou odrůdu, která má nízký výnos ale vysokou kvalitu a cukernatost. Hrozny jsou surovinou pro výrobu vín s přívlastkem. Víno je výborné kvality, plné, kořeněné a aromatické (SIMONOVÁ, 2002).

## 4.3. Typy bentonitových přípravků

Jednotlivé preparáty byly od různých výrobců, měly různé skupenství, odlišené zastoupení určitých látek nebo různou dobu bobtnání. Rozdílná byla i cena, ale u většiny přípravků se pohybovala v podobné rovině. Srovnání cen najdete v tabulce *č. 5* pod textem.

### 4.3.1. Aktiv G

Speciální bentonit ke krášlení vína odstraňuje kladně nabité bílkoviny z vína, může snižovat i obsah třislovina a těžkých kovů. Má vysoký obsah sodíku. Dávkování: 30 –350 g / hl. Potřebné množství bentonitu je nasypáno do 10 – 15 násobku vody a necháno hodinu nabobtnat. Přebytečné množství vody se sleje a poté se důkladně promíchá gel s vínem (LIPERA, 2010).

### 4.3.2. Bentogran

Je nový granulovaný bentonit, který má výjimečnou čistotu a vysokou schopnost bobtnat. Řadí se do kategorie s velmi malým dávkováním, díky dehydrataci a zmenšenému objemu. Bentogran jsou granule slonovinové barvy, mají průměr 1000 – 2000 mikrónů. Výhoda granulí je že nezpůsobuje problémy s rozpuštěním a vyhýbá se problémům které vznikají při použití práškových preparátů. Při výrobě dochází k úplné eliminaci nerozpustných částic z montmorilonitového jádra, proto stačí aplikovat pouze malé dávky.

Bentonit pohlcuje velké množství vody, má vysoký index bobtnavosti, zhruba 30 až 35 ml a je účinný při odstraňování bílkovin. Čiření probíhá rychle a účinně. V momentě přidání do vína dochází vlivem kyselosti prostředí k čiření a spojování s bílkovinami a jinými kladně nabitými částicemi. Výsledný sediment je velice kompaktní. Bentonit je možné použít na čiření vín, octů, moštů nebo dalších lihovin. V případě, že je preparát aplikován během kvašení, adsorbuje polyfenoloxidázu, která je přítomná v moštech z hroznů napadených botrytidou, tím zlepšuje stálost vína. Výsledkem jsou menší dávky kysličníku siřičitého (ZEZULOVÁ, 2014).

### 4.3.3. Bentolit super

Jedná se o jemný, béžovo – bílý prášek bez zápachu. Má velice dobrou schopnost bobtnat. Víno čiří rychle, dokonale a vytváří kompaktní sedlinu. Výhodou je silný deproteizační efekt a slouží k zabezpečení komplexní bílkovinové stability. Vytváří homogenní gel, který má nízký podíl objemových ztrát (ANONYM 6, 2012). Založen na sodné bázi, vhodný i k použití pro flotaci (SEDLÁČEK, 2012).

### 4.3.4. Bentovin

Tento bentonit je práškového typu, jež se těží na Slovensku. Díky příliš vysoké bobtnavosti, se snižuje schopnost vytvářet suspenzi. Další nevýhodou je poměrně velké množství kalů, jež se tvoří při sedimentaci v čiřeném roztoku. Velkou předností je však nízká cena a dobrá schopnost odstranit bílkoviny z vína (PŠEJA, 2006).

### 4.3.5. VULCOBENT JUF

Jedná se o jemnozrnný vápníkový bentonit, speciálně vybraný k ošetření hroznových moštů. Má velmi výraznou schopnost adsorbovat bílkoviny. Tento bentonit lze snadno rozpustit a nemá sklon k tvorbě hrudek. Může se přidávat rovnou k moštu, pokud se od začátku intenzivně rozmíchá. Předbobtnání bentonitu ve vodě je efektivnější a hospodárnější než bobtnání v ošetřovaném moštu, protože při bobtnání zůstává přijatá tekutina v bentonitu a nelze ji vylisovat. Přebytečnou vodu lze odlít.

### 4.3.6. Majorbenton B

Je práškový bentonit, který obsahuje cca 90 % montmorilonitu. Umožňuje dokonalé vyčiření a ve spojení s dalšími bílkovinnými čiřidly vyvolává rychlé vločkování a malé množství sedlin. Výhodou je velká adsorpční schopnost způsobená velkou absorbcí vody (10 – 15 x). Ve vínech působí jako elektronegativní koloid, adsorbující kladně nabité částice a zvlášť proteinové koloidní substance, který způsobují nestabilitu vín. Dále dokáže poskytnout vínu účinnou ochranu před rizikem měďnatého zákalu. Zásluhou fixace třísloviny – koloidních látek, které jsou nerozpustné při nízké teplotě, předchází zákalům u barev. Pro co nejlepší účinek je vhodné nechat přípravek zhruba 6 až 12 hodin nabobtnat (ZEZULOVÁ, 2014).

### 4.3.7. NaCalit

Je granulovaný sodno - vápenatý bentonit, který je vhodný pro použití v nápojové technologii. Granulace probíhá pomocí nových technologií. Výhodou je snadná rozpustnost a pórovito – houbovitá vrchní struktura, která slouží k intenzivnější a selektivnější adsorbci bílkovin a jiných koloidů. Má silný čiřící účinek, jak u problematických vín, tak u vín s vysokým pH. Minerály obsažené v bentonitu jsou šetrné k nápojům, barvě, mají příznivý vliv u filtrace a jsou extrémně chudé na železo. Aby byl účinek co nejlepší, je doporučené provést předbobtnání, minimálně 6 – 12 hodin předem (ANONYM 5, 2010).

### 4.3.8. Pluxbenton

Pluxbenton jsou šedé granule bez zápachu. Jedná se o přírodní sodný bentonit, který má vysoce čiřící účinek a vysoký poměr Na : Ca. Má nejlepší účinek na redukci bílkovin z granulových bentonitů. Aplikace může být provedena rovnou do moštu, během kvašení nebo do vína. Pokud jej aplikujeme rovnou do moštu, zabezpečí dobré vyčiření, což je základ k získání kvalitního vína. Dochází k redukci oxidačních enzymů, jež mohou ohrozit kvalitu. Z toho důvodu je jejich užití obzvláště vhodné při zpracování hroznů napadených plísní Botrytis cinerea. Aby došlo k dokonalému prokvašení, je doporučená aplikace během fermentace, výstupem bude čiré víno s minimálním množstvím sedlin. Při aplikaci přímo do vína zajistí vyčiření a bílkovinnou stabilitu vína (ANONYM 6, 2008).

### 4.3.9. Pluxcompact

Bentonit je získáván speciálním procesem, jedná se o jemný, lehce hořčicově zbarvený prášek. Bílkoviny jsou odstraňovány jako u sodného bentonitu a vytváří obdobný objem kalů jako bentonit vápenatý. I při aplikaci malých dávek má vynikající čiřící schopnosti s odstraněním bílkovin a malým množstvím kalů (SEDLÁČEK, 2012). Má zvláštní schopnosti, které jej předurčují jako ideální čiřidlo pro vína bílá, červená a rosé. K dosažení větší efektivnosti je dobré přidat při konečném ošetření další bílkovinná čiřidla (Balncool či Pulviclar). Díky nižším dávkám nezasahuje do těla ani struktury vína a nezpůsobuje tak usazeniny, což je i ekonomická výhoda při výrobě kvalitních vín (ANONYM 6 2008).

### 4.3.10. Siha puranit

Speciální, granulovaný bentonit na sodno – vápenaté bázi, je špičkový přípravek sloužící k efektivnímu čiření a stabilizaci vín. Výhodou je: maximální schopnost čiření a adsorpce; dobré suspenzační vlastnosti; relativně malý objem kalů nebo nízký obsah železa. Využití najde už u zmíněné stabilizace nebo může sloužit jako pomůcka k čiření v kombinaci s želatinou a solem křemičitým. Tento druh má vysokou aktivitu, takže ve srovnání s konkurenčními preparáty stačí pouze malé dávky. Ke správnému provedení je opět nutné nabobtnání (nejlépe jeden den), přebytečná voda se slívá (BEGEROW, 2006).

### 4.3.11. Siha – puranit UF

Tento druh, je bentonit bez písku určený speciálně pro ultrafiltrační zařízení. Díky tomu nepoškozuje membrány, čerpadla a potrubí. Důležité je však, že se vyznačuje vysokým efektem čiření a účinně stabilizuje. Přípravek je možné použít jednak ke stabilizaci bílkovin, tak na podporu čiření v kombinaci s přídavkem želatinového solu křemičitého před krášlením. Hlavní předností je, že stačí jen malé množství bentonitu oproti běžným preparátům. Aby proběhlo čiření kvalitně a rozsah byl co největší, je nutné nechat látku nabobtnat. Pokud bychom chtěli bobtnání urychlit a zkrátit, můžeme přidat teplou vodu okolo 60 °C (BEGEROW, 2012).

### 4.3.12. Siha aktiv bentonit

Aplikací tohoto čiřidla dochází k odstranění kladně nabitých bílkovin, jak z moštu tak z vína nebo octu. K výhodám patří: úspěšná adsorbce bílkovin; vysoký podíl sodíku nebo tvorba kompaktního kalového sedimentu. Další výhodou je též rychlá rozpustnost. Vhodné je opět nechat látku předbobtnat několik hodin dopředu, docílí se tím větší efektivity a hospodárnosti (BEGEROW, 2006).

### 4.3.13. Siha Ca – bentonit G

Jedná se o speciální bentonit, ve formě granulí, který slouží ke krášlení vína. Mezi hlavní výhodu patří: odstraňování kladně nabitých bílkovin, jak z vín, tak také z ovocných šťáv či octu. Je speciálně sladěný na specifické požadavky v nápojích. Před aplikací je lepší nechat látku několik hodin nabobtnat ve vodě, aby mělo čiření co nejlepší výsledek. Výhodou předbobtnání je, že vsáklá tekutina zůstává v bentonitu a nelze ji vylisovat, naopak přebytečnou vodu můžeme odlít.

Aktivní složkou je montmorillonit, jílový nerost, který má zvláštní krystalickou strukturu a vysokou bobtnavost. Tento vrstvovitý křemičitan hlinitý má mezi jednotlivými lamelami z vrstev křemičitanu uloženo různé množství pevně vázané krystalové vody a vyměnitelných kladných iontů. Tato zvláštní kombinace dokáže využít přebytku negativního náboje a adsorbovat kladně nabité látky. Bobtnavost je rozdílná a je ovlivněna podmínkami okolí. V malém množství dokáže i nahromadit třísloviny nebo jiné negativně nabité koloidy (BEGEROW, 2006).

### 4.3.14. Vulcobent protex P

Tento vápenato-sodný bentonit je ideálním přípravkem k odstranění bílkovin z moštů, vín a dalších nápojů. V práškové formě je vysoce efektivní a zároveň absorbuje také taniny a jiné nečistoty. Největší uplatnění najde u vín s vysokým pH a v moštech. Hlavní složkou je montmorillonit, ve vrstvených strukturách a skupiny tvoří zejména křemičitany, jako vápník a sodík. Důležitou roli hraje předbobtnání výrobku, které má poté lepší účinek a lépe na sebe navazuje látky. Doporučené předbobtnání je zhruba 6 – 12 hodin (ANONYM 7, 2011 ).

## 4.4. Metody stanovení

Většina metod, jež slouží pro určování bílkovin nebo pro zjišťování stability vína proti bílkovinným zákalům, vyžaduje laboratorní podmínky a určité zkušenosti. V současné chvíli jsou vypracovány i postupy, které zvládne bez obtíží i člověk s málo zkušenostmi (*viz. Kapitola 3.3.*).

### 4.4.1. Stanovení zůstatku kalů

Ke stanovení bentonitových kalů došlo stočením vína, kdy zůstatek bentonitů byl ze skleněných demižónů odebrán a poté přelit do odměrného válce, kde došlo ke zjištění objemu kalů. Stočení vína probíhalo s maximální opatrností a přesností, jelikož během stáčení může dojít i k odsátí kalů, což by mohlo vést ke zkresleným výslekdům. Výsledné hodnoty byly přepočteny na l/hl.

### 4.4.2. Stanovení zákalů turbidimetrem

Laboratorní turbidimetr značky WTW Turb 550 IR (*obr. č. 7*) je ideální pro nefelometrické stanovení (v úhlu 90°) podle normy ISO 7027 s automatickou tříbodovou kalibrací, s vestavěnými hodinami reálného času a s digitálním rozhraním RS 232. Přístroj má dvouřádkový LCD displej, který umožňuje vykonávat i komparativní měření, přičemž současně ukazuje aktuální a předcházející hodnotu (ANONYM 8, 2015).

**Obrázek 7** *TURBIDIMETR WTW (Autor)*

Pro stanovení zákalů bylo vždy potřeba aplikovat do odměrné kyvety 20 ml vzorku vína. Jeden vzorek byl u každé odrůdy kontrolní, aby mohlo dojít k ověření výsledků.

### 4.4.3. Test s kyselinou fosfomolybdenovou

Do zkumavky pipetujeme 20 ml čirého vína, přidáme 1 ml čirého 10 % roztoku kyseliny fosfomolybdenové a promícháme. Po 20 minutách hodnotíme vnik zákalu způsobený termolabilními bílkovinami.

### 4.4.4. Tepelný test

K použití tohoto testu je potřeba 100 ml čistého vína, které bylo přefiltrováno. Víno plníme do průhledných lahví, vkládáme do termostatické skříně nebo vodní lázně a teplota by se měla pohybovat kolem 70 °C po dobu 2 až 3 hodin. Důležité je následné zchlazení a pokud dojde k výskytu mléčného zákalu nebo sraženiny, obsahuje víno termolabilní bílkoviny. Výstupní množství nám ukazuje, kolik bentonitu bude potřeba přidat (STEIDL, 2010). Vzorky byly poté ještě přeměřeny na turbidimetru.

## 4.5. Statistické vyhodnocení

Analytické parametry byly statisticky vyhodnoceny a zpracovány do grafů či tabulek a jsou prezentovány ve výsledkové části této diplomové práce. Výsledky všech měření byly zpracovány graficky pomocí programu MS Excel. Statistické hodnoty byly vytvořeny korelační maticí, programem STATISTICA 12.

K nejčastěji používaným měřením síly závislosti dvou číselných proměnných patří korelační koeficient. Jedná se o matematický postup, který číselně vyjadřuje zjištění o souvislostech dvou veličin a porovnává, do jaké míry je uspořádání analyzovaných dat podle veličiny X stejné jako podle veličiny Y. Vhodný je i pro monotónní závislost – nevyžaduje linearitu. Tento poměr je kovariací obou proměnných k součinu jejich směrodatných odchylek. Korelační koeficient nabývá hodnot z intervalu <-1, 1>. Statisticky významné korelační koeficienty jsou označeny červeně a tučně. V případě, že je hodnota korelačního koeficientu rovna nule, korelační závislost mezi veličinami neexistuje (PROKEŠ, 2016).

**Tabulka 2** *Hodnoty korelace v absolutní hodnotě a interpretace míry závislosti*

| Hodnota korelace v abs. hodnotě | Interpretace závislosti |
|---|---|
| **0,01 – 0,09** | triviální, žádná |
| **0,10 – 0,29** | nízká až střední |
| **0,30 – 0,49** | střední až podstatná |
| **0,50 – 0,69** | podstatná až velmi silná |
| **0,70 – 0,89** | velmi silná |
| **0,90 – 0,99** | téměř perfektní |

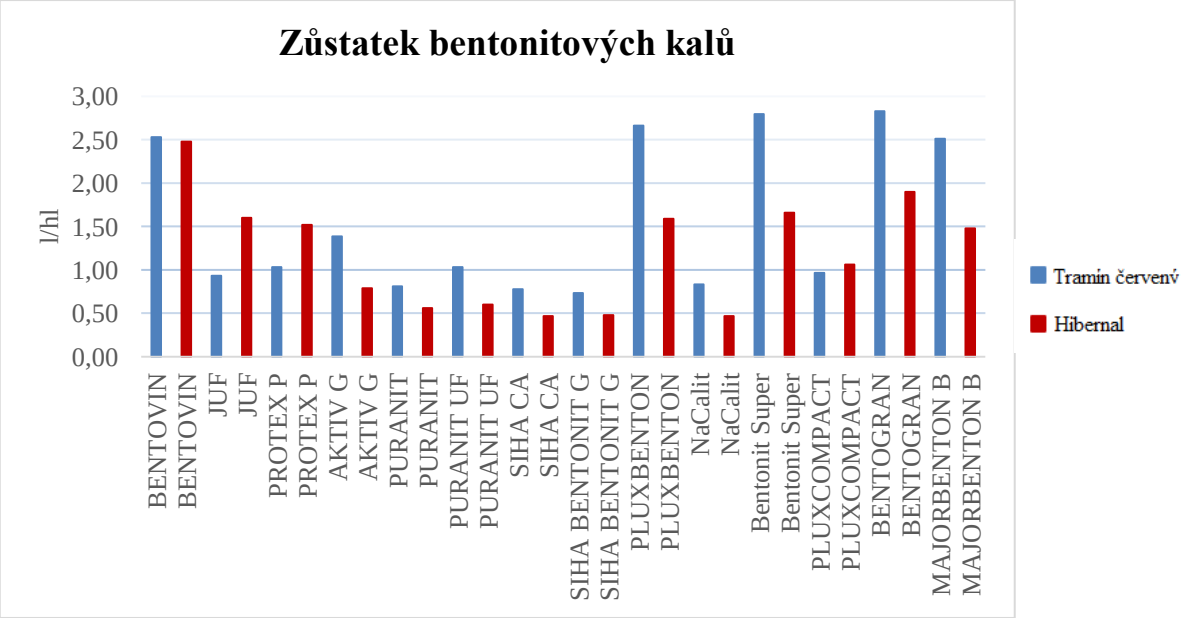
# 5. Výsledky

V této kapitole se zabývám porovnáním jednotlivých výsledků, které jsou formou grafů. U měření, kde byly použity kontrolní vzorky, došlo k vytvoření samostatných grafů, aby nedocházelo ke zkreslení výsledných dat. Tyto vzorky vykazovaly oproti vyčiřeným vzorkům daleko vyšší hodnoty kalů.

## 5.1. Stanovení zůstatku bentonitových kalů

Při stanovení množství kalů, po sedimentaci bentonitů, byla naměřena nejmenší hodnota u odrůdy Tramín červený, u přípravků *SIHA BENTONIT G*, který vykazoval hodnotu 0,73 l/hl zbytkových kalů. Naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna u přípravku *Bentogran*, který měl 2,83 l/hl zbytkových kalů. U odrůdy Hibernal byly nejmenší zůstatkové hodnoty shodně naměřeny u přípravků *Siha Ca* a *NaCalit*, tedy 0,47 l/hl. Nejvyšší hodnota pak byla naměřena u přípravku *Bentovin*, který vykazoval 2,48 l/hl.

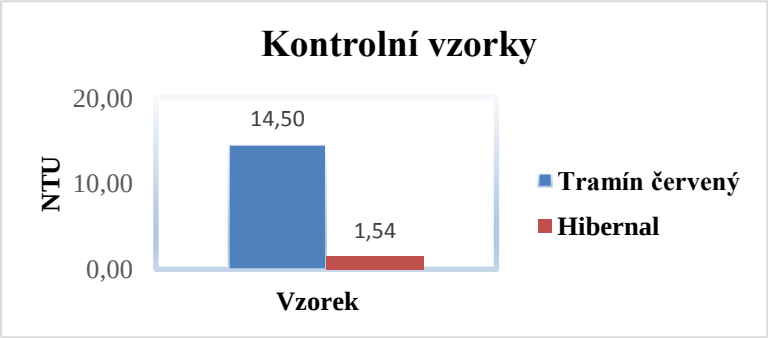
V grafu *č. 1* je vidět, že zůstatkové hodnoty se u obou odrůd docela liší. U některých přípravků, např. *Bentovin* můžeme sledovat podobné hodnoty zůstatkových kalů, naopak největší rozdíl vidíme u přípravku *Bentonit Super*, který je u odrůdy Tramín červený skoro jednou tak velký. Tyto změny mohou být způsobeny rozdíly v odrůdách, obsahem bílkovin nebo nízkou dávkou enologického přípravku.




**Graf 1** *Stanovení množství kalů*

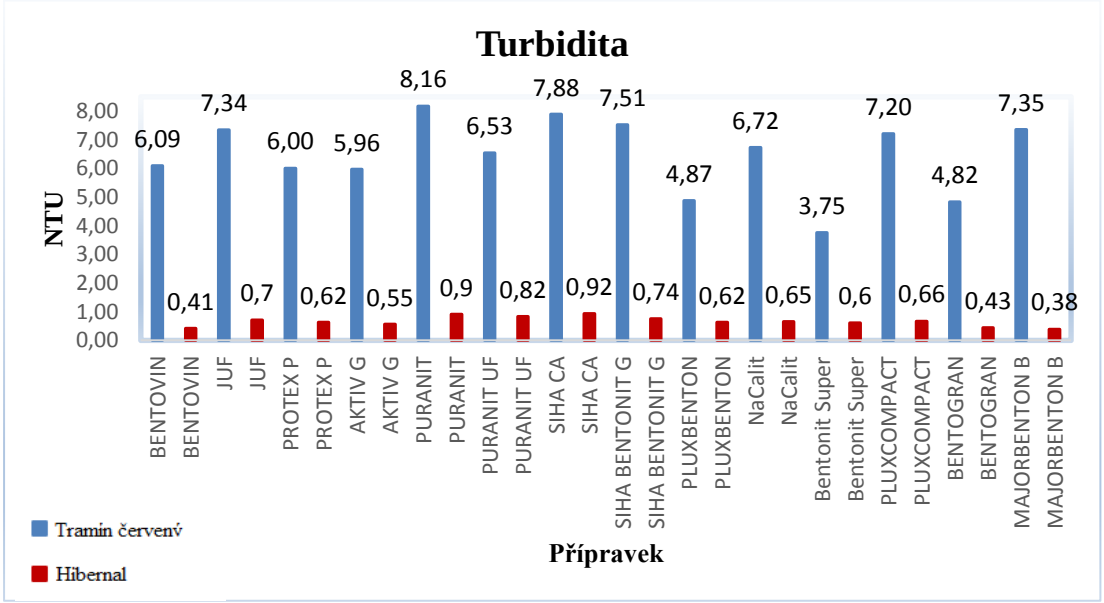
## 5.2. Stanovení zákalů – turbidita

Při měření zákalů pomocí turbidimetru, došlo k hodnocení 14 vzorků + 1 vzorek byl kontrolní, bez obsahu bentonitových přípravků. Z prvního grafu (*č. 2*) vyplývá, že kontrolní vzorky mají mnohem vyšší obsah zákalů, než vzorky u kterých byly použity bentonitové přípravky. Je vidět, že jsou několikanásobně vyšší rozdíly mezi odrůdami, kdy odrůda Tramín červený obsahovala mnohem více zákalů.




**Graf 2** *Srovnání kontrolních vzorků*

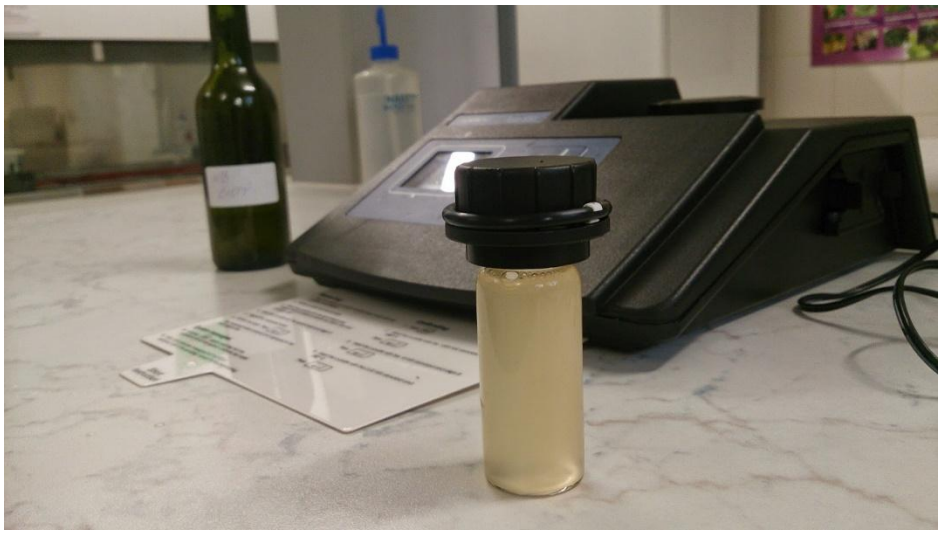
V grafu č. 3 je vidět, že u odrůdy Tramín červený byly nejmenší hodnoty naměřeny u přípravku *Bentonit Super* a naopak nejvyšší hodnoty u přípravku *PURANIT*. U odrůdy Hibernal byly nejmenší hodnoty naměřeny u přípravku *Majorbenton B* a nejvyšší u přípravku *SIHA Ca*. U vzorků, které měly nejnižší hodnoty, tak bylo množství zákalů minimální. Naopak pokud se hodnoty zvyšovaly, tak i množství zákalů ve vínech bylo vyšší. Odrůda Tramín červený vykazovala oproti odrůdě celkově daleko vyšší hodnoty zákalů.




**Graf 3** *Srovnání vzorků s bentonitovými přípravky*

### 5.3. Vizuální srovnání jednotlivých vzorků

Na *obr. č. 8* se nachází kontrolní vzorek pro odrůdu *Hibernal*. Už na první pohled je vidět, že víno obsahuje vysoký obsah zákalů. S pomocí turbidimetru došlo k vyhodnocení.



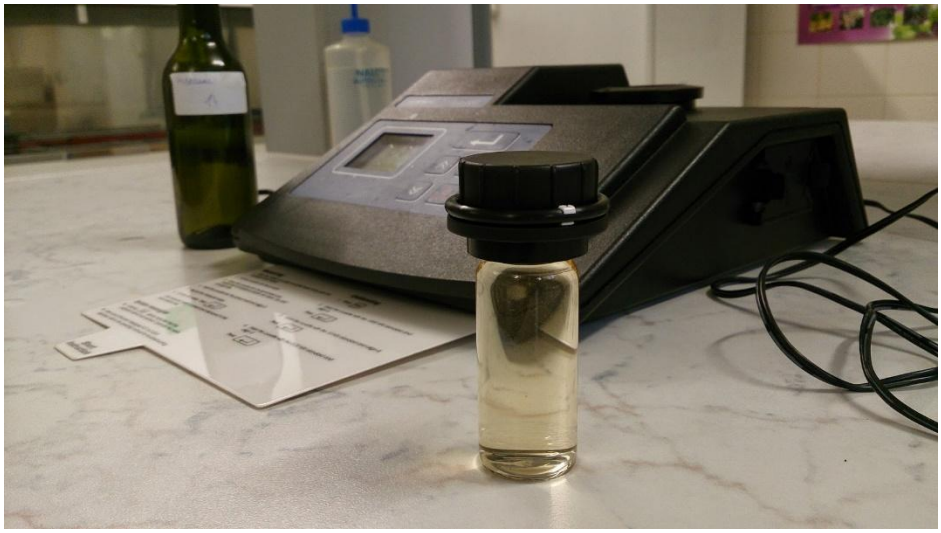
**Obrázek 8** *Odrůda Hibernal – kontrolní vzorek*

---

Obrázek *č. 9* ukazuje vzorek *č. 1*, s přípravkem *Bentovin*. Na této fotce je dobře vidět rozdíl oproti kontrolnímu vzorku, kdy vzorek s bentonitem, je několikanásobně čiřejší. Statistické vyhodnocení toto tvrzení jen potvrdilo.

**Obrázek 9** *Odrůda Hibernal, vzorek č. 1 (Bentovin)*

Na posledním obrázku je vzorek *č. 14*, s přípravkem *Majorbenton B*. Stejně jako na předchozím obrázku je vidět, že i tento přípravek u této odrůdy vykazuje minimální, tvorbu zákalů a víno je pěkně čiré i při použití nízkých dávek bentonitů.



**Obrázek 10** *Odrůda Hibernal – vzorek č. 14 (přípravek Majorbenton B)*

---

Na tomto obrázku (*č. 11*) je kontrolní vzorek pro odrůdu *Tramín červený*. Zde je také vidět, že víno bez použití bentonitu, má vysoký obsah zákalů a postrádá čirost.

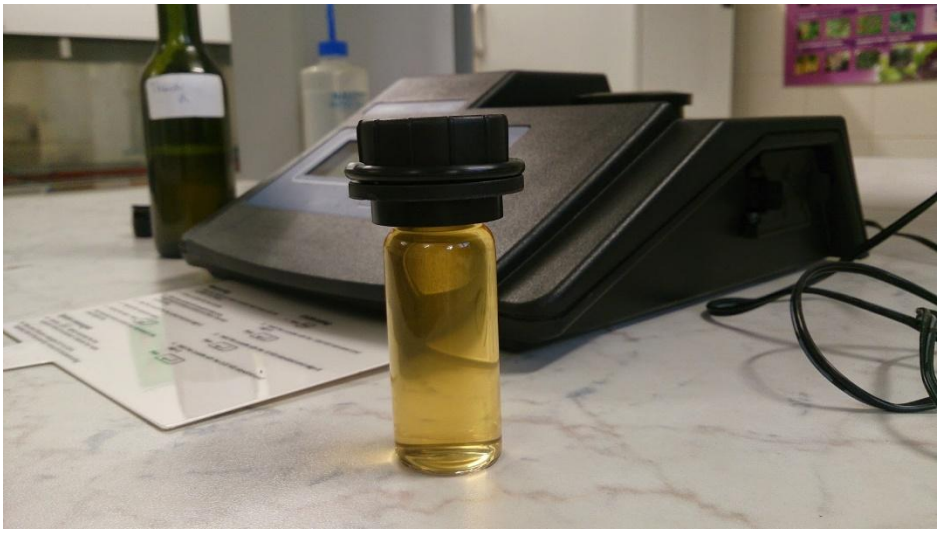
**Obrázek 11** *Odrůda Tramín červený – kontrolní vzorek*

Obrázek (*č. 12)* nabízí pohled na vzorek (*č. 1)*, u odrůdy *Tramín červený* a přípravek *Bentovin*. Zde je vidět, že dávka bentonitu úplně nevyčiřila víno, a bylo by možná vhodné tuto dávku navýšit.

**Obrázek 12** *Odrůda Tramín červený – vzorek č. 1 (Bentovin)*

---

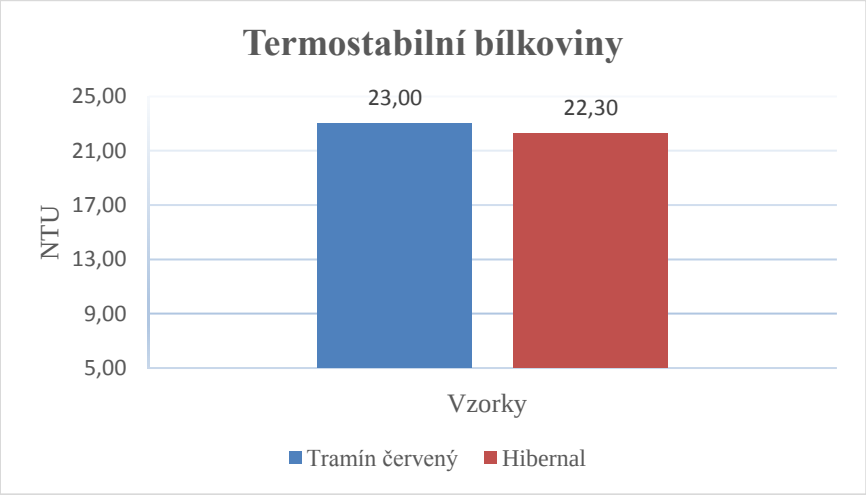
Na posledním obrázku *(č. 13)* se nachází vzorek *(č. 14)*, přípravek *Majorbenton B*. Oproti předchozímu vzorku u odrůdy *Hibernal*, obsahuje větší množství kalů a není tak čirý. Opět to může být způsobeno dávkou bentonitu nebo odrůdou.



**Obrázek 13** *Odrůda Tramín červený – vzorek č. 14 (Majorbenton B)*

## 5.4. Měření termolabilních bílkovin

Měření probíhalo opět pomocí turbidimetru. V grafu *č. 4* vidíme naměřené hodnoty u kontrolních vzorků. Rozdíly mezi odrůdami, u vzorků bez použití bentonitů, jsou minimální. I přesto, ale odrůda Tramín červený vykazovala o něco větší množství obsažených termolabilních bílkovin.

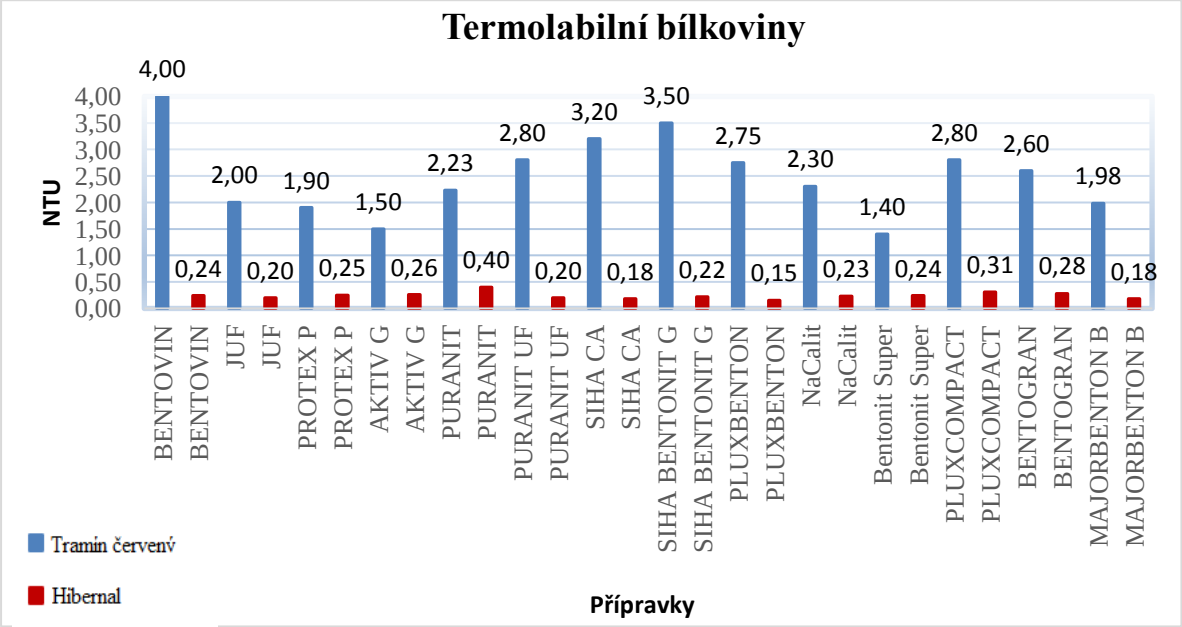



**Graf 4** *Stanovení termolabilních bílkovin – kontrolní vzorky*

*Test s kyselinou fosfomolybdenovou :*

Do zkumavky pipetujeme 20 ml čirého vína, přidáme 1 ml čirého 10 % roztoku kyseliny fosfomolybdenové a promícháme. Po 20 minutách hodnotíme vnik zákalu způsobený termolabilními bílkovinami. V grafu *(č. 5)* vidíme porovnání vzorků s přídavkem bentonitů. Odrůda *Tramín červený*, opět vykazovala vyšší hodnoty – obsahy termolabilních bílkovin, oproti odrůdě *Hibernal*. Tedy čím vyšší hodnota, tím více bílkovin bylo v daném vzorku. Nejmarkantnější rozdíl je vidět u přípravku *Bentovin*, kdy u *Tramínu červeného* dosahovaly hodnoty *4 NTU* a u *Hibernalu* pouze *0,24 NTU*. Je vidět, že odrůda *Hibernal* měla několikanásobně nižší obsah termolabilních bílkovin.

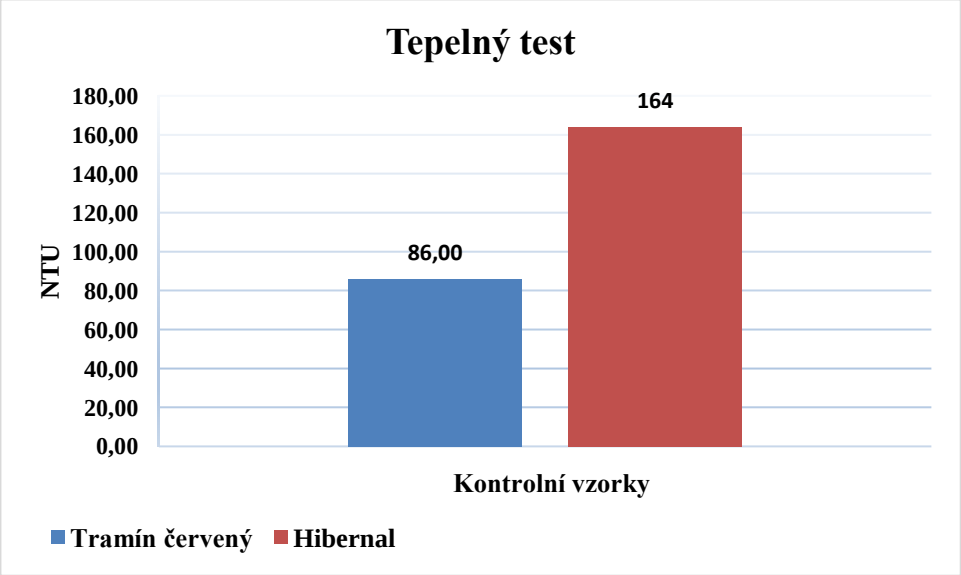
Nejmešní hodnoty vykazovaly u odrůdy Tramín červený, přípravek Bentonit Super a naopak nejvyšší hodnoty přípravek Bentovin. U odrůdy Hibernal byla nejnižší hodnota termolabilních bílkovin naměřena u přípravku Pluxbent. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u přípravku Puranit. Na tomto měření a grafu je dobře vidět nepoměr mezi obsahem bílkovin u daných odrůd.




**Graf 5** *Stanovení termolabilních bílkovin, s přídavkem bentonitů*

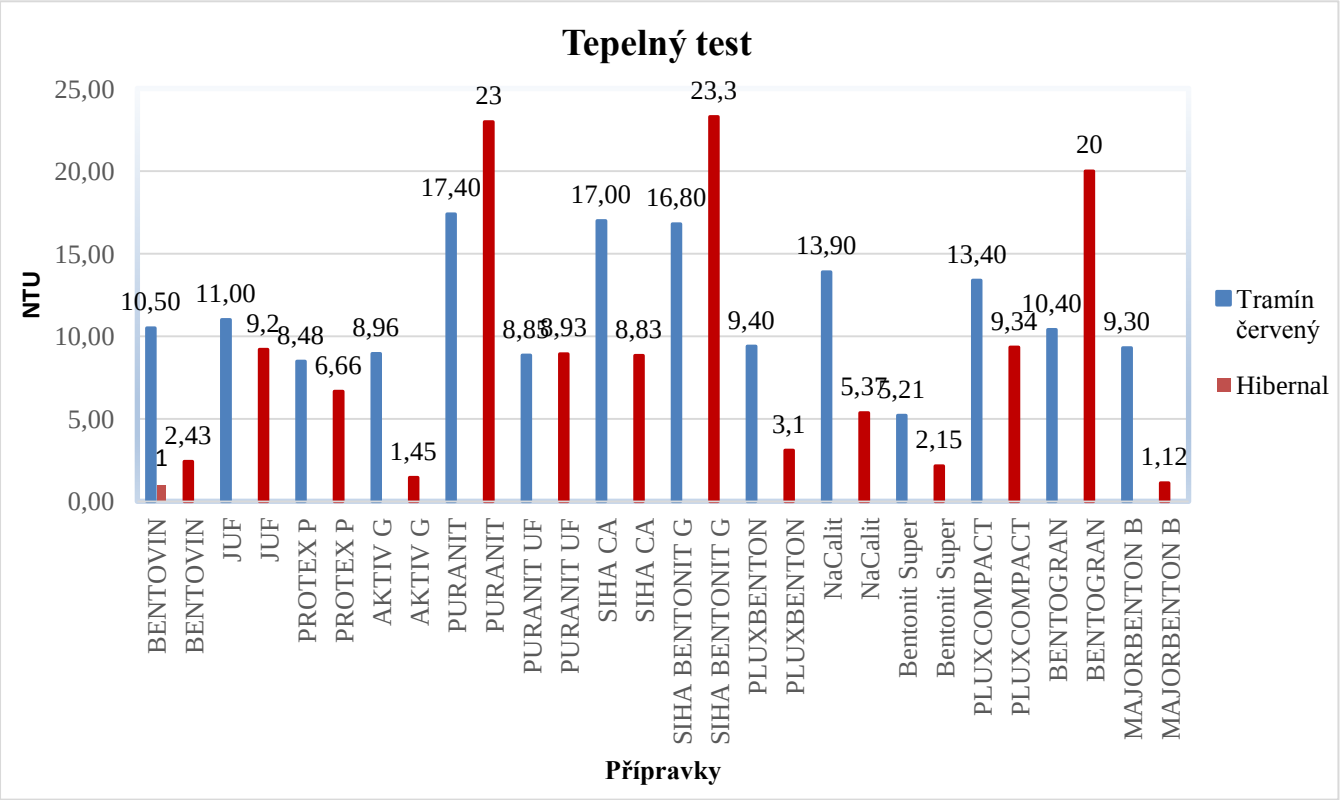
## 5.5. Tepelný test

Poté byly vzorky vloženy do pece, kde došlo k zahřátí na 70 °C, po dobu 3 hodin. Po zchlazení, následovalo opět měření na turbidimetru a vyhodnocení je vidět v grafu *č. 6*. U kontrolních vzorků je vidět, že odrůda *Hibernal* měla poprvé vyšší hodnoty, než odrůda Tramín červený, skoro jednou tolik. Po provedení testu na nevyčiřeném víně, tedy obsahoval kontrolní vzorek více termolabilních bílkovin.




**Graf 6** *Tepelný test na termolabilní bílkoviny (kontrolní vzorky)*

I v tomto měření je patrný rozdíl a nárůst hodnot u odrůdy Hibernal, která vykazovala u tohoto testu vyšší hodnoty a obsahy bílkovin. Oproti kontrolním vzorkům měly obě odrůdy po použití bentonitových přípravků daleko nižší naměřené hodnoty bílkovin ve vínech. Nejmenší hodnoty u odrůdy Tramín červený vykazoval přípravek Bentonit Super, který měl 5,21 NTU. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny u přípravku Puranit, který obsahoval 17,40 NTU bílkovin. U odrůdy Hibernal byla nejmenší hodnota zjištěna u přípravku Majorbenton B, obsahoval 1, 12 NTU bílkovin. Nejvyšší hodnoty vykazoval přípravek Siha Bentonit G, který měl 23,3 NTU. Přípravky Puranit, Siha Bentonit G a Bentogran, měly obdobné výsledky, kdy množství bílkovin bylo vysoké oproti ostatní přípravkům.



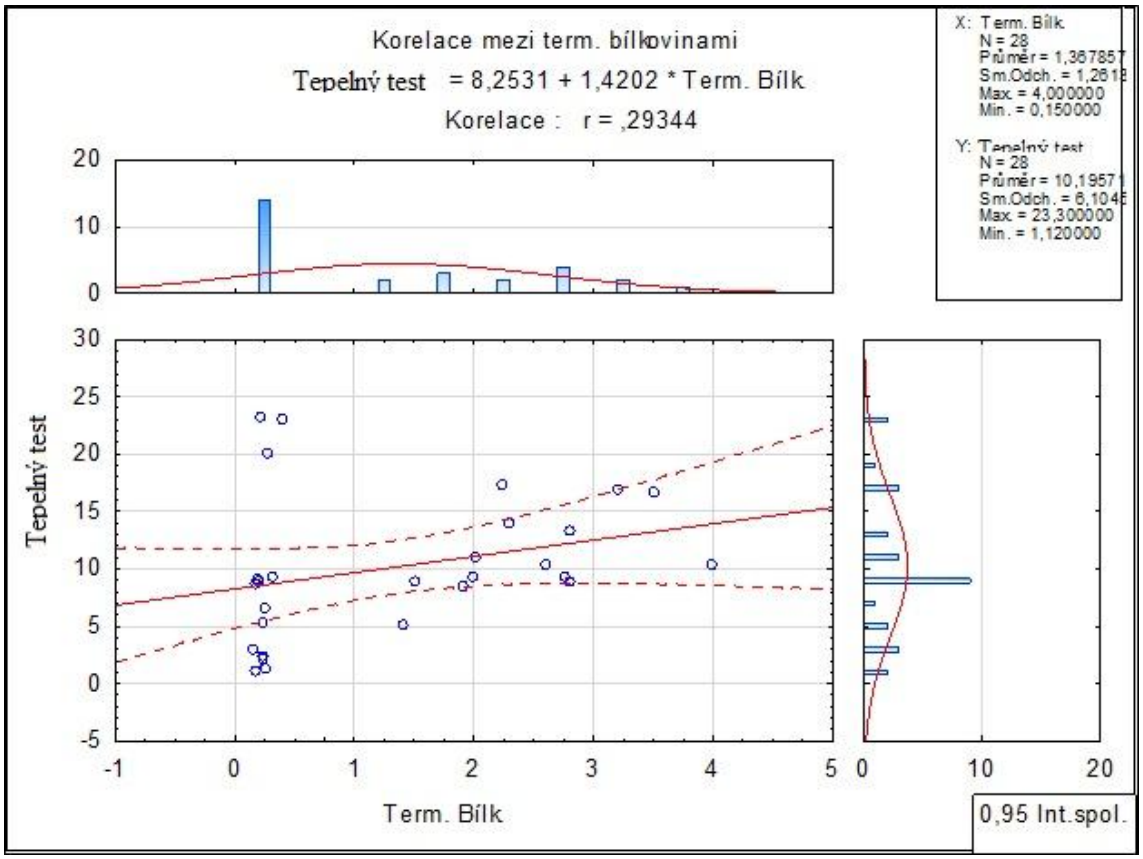

**Graf 7** *Tepelný test termolabilních bílkovin, s přídavkem bentonitů*

## 5.6. Statistické zhodnocení

Korelační matice v tabulce (*č. 3*) ukazuje vliv použití kyseliny fosfomolybdenové a tepelného testu na přítomnost bílkovin. Výsledky ukazují pozitivní, statisticky významné korelace a je zde vidět statisticky průkazný, téměř perfektní rozdíl.

**Tabulka 3** *Korelační matice – turbidita, term. Bílkoviny, tepelný test*

| | Průměry | Sm.odch. | Turbidita | Term. Bílk. | Tepelný test |
|---|---|---|---|---|---|
| Turbidita | 3,54214 | 3,085705 | 1,000000 | 0,906020 | 0,312601 |
| Termolabilní bílkoviny | 1,36786 | 1,261323 | 0,906020 | 1,000000 | 0,293444 |
| Tepelný test | 10,19571 | 6,104589 | 0,312601 | 0,293444 | 1,000000 |

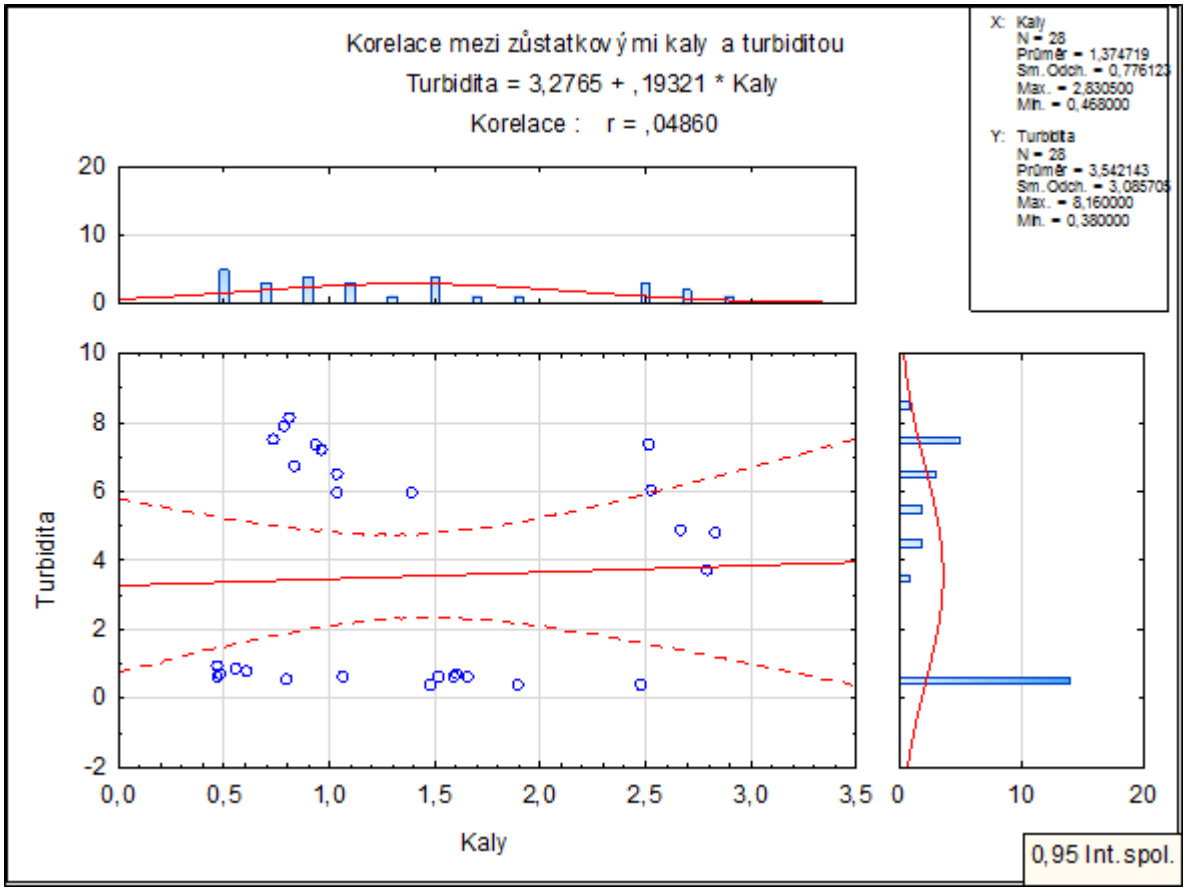



**Graf 8** *Korelace mezi termostabilními bílkovinami*

Korelační matice v tabulce (*č. 4*) ukazuje vliv zůstatkových kalů a hodnoty turbidity. Výsledky nám říkají, že neexistuje průkazný rozdíl mezi těmito hodnotami, tzn. že i když se zvyšuje obsah kalů, tak se nezvyšuje turbidita.

**Tabulka 4** *Korelační matice – kaly, turbidita*

| | Průměry | Sm.odch. | Kaly | Turbidita | Term. Bílk. | Term. Bílkoviny – tepelný test |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kaly | 1,37472 | 0,776123 | 1,000000 | 0,048596 | 0,197973 | -0,332882 |
| Turbidita | 3,54214 | 3,085705 | 0,048596 | 1,000000 | 0,906020 | 0,312601 |




**Graf 9** *Korelační matice – kaly, turbidita*

## 5.7. Ekonomické zhodnocení

Tabulka (č. 5) ukazuje srovnání bentonitových přípravků – jejich cenu, dávkování, tvorbu kalů a především výpočet ceny jedné dávky. Nejdražším bentonitovým přípravkem byl, preparát *Bentogran*, který stál 205 Kč/Kg. I přesto, že cena je tak vysoká, tak je doporučeno a bylo dávkováno pouze 12 g/hl, tak tvorba kalů byla u obou odrůd průměrná oproti jiným přípravkům a cena jedné dávky vyšla na 2, 46 kč. Naopak nejlevnějším preparátem byl přípravek *Bentovin*, který lze koupit za pouhých 17 Kč/kg. Zde je však nutné aplikovat vyšší dávku. Tvorba kalů je podobná jako u dražšího přípravku. Cena jedné dávky tak vychází na pouhých 0, 66 Kč. Musíme však počítat s tím, že tento bentonit je velice špatně rozpustný. Nejnižší množství kalů vyprodukoval přípravek *Plux Benton*, který u obou odrůd měl velice nízké hodnoty. Cena přípravku je 61 Kč, míchatelnost a rozpustnost je dobrá a cena jedné dávky vyhází na 1, 22 Kč.

| Název | Cena (Kč/Kg) | Dávkování (g/hl) | Tvorba kalů (l/hl) | | Cena dávky |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Tramín červený | Hibernal | |
| AKTIV G | 70 | 40 | 2,53 | 2,48 | 2,8 |
| BENTOGRAN | 205 | 12 | 0,93 | 1,60 | 2,46 |
| Bentonit Super | 49 | 40 | 1,03 | 1,52 | 1,96 |
| Bentovin | 17 | 40 | 1,38 | 0,79 | 0,66 |
| JUF | 55 | 20 | 0,81 | 0,56 | 1,1 |
| MAJOR BENTON B | 84 | 40 | 1,03 | 0,60 | 3,36 |
| Na Calit | 71 | 40 | 0,78 | 0,47 | 2,84 |
| PLUX BENTON | 61 | 20 | 0,73 | 0,48 | 1,22 |
| PLUXCOMPACT | 107 | 20 | 2,66 | 1,59 | 2,14 |
| SIHA Aktiv Bentonit | 69 | 20 | 0,83 | 0,47 | 1,38 |
| SIHA CA – BENTOVIT G | 72 | 20 | 2,79 | 1,66 | 1,44 |
| Siha PURANIT | 95 | 20 | 0,96 | 1,06 | 1,9 |
| Siha PURANIT UF | 118 | 20 | 2,83 | 1,90 | 2,36 |
| Vulcobent PROTEX P | 128 | 40 | 2,51 | 1,48 | 5,12 |

**Tabulka 5** *Srovnání přípravků – dávkování, kaly, cena*

# 6. Diskuze

Na založení pokusu byly použity vína Tramín červený a Hibernal, jež nebyly čířené, pouze přefiltrované. Byly odloženy také kontrolní vzorky, které byly ponechány bez použití bentonitových přípravků pro následné porovnání. Samotná aplikace přípravků probíhala ve sklepě, kde poté zůstaly vzorky ležet po dobu 14 dní, při zachování stejné teploty.

Použitím enologických přípravků, bentonitů, dochází ke ztrátám či k usazování kalových částic. Sledovaná vína nebyla filtrována, byly zachovány stejné podmínky pro jednotlivé aplikace čiřidel, proto by měl být podíl kalů co nejnižší. U bentonitu hraje velkou roli množství jednotlivé dávky. Během čiření může i vinař sám ovlivnit některé faktory, a to: zvolit bentonitový přípravek, stanovit velikost dávky nebo teplotu vhodnou pro čiření. Existují také ale faktory, které ovlivnit nelze – např. obsah bílkovin, který je ve víně přinesen z vinice. Účinnost celé aplikace je závislá především na nabobtnání, dokonalém rozmíchání v čiřeném víně, na typu bentonitu nebo na teplotě vína.

V diplomové práci byly aplikovány co nejnižší dávky a i přesto byl pozorován úbytek kalů. Nejmenší zůstatek kalů u odrůdy Tramín červený, měl přípravek SIHA Ca, kterého bylo do vína aplikováno 20 $g.hl^{-1}$. Nejvyšší zůstatek kalů měl přípravek Bentogran, kterého bylo aplikováno 12 $g.hl^{-1}$. U odrůdy Hibernal měl nejmenší zůstatek kalů přípravek SIHA Ca, kterého 20 $g.hl^{-1}$. Nejvyšší zůstatek kalů byl u přípravku Bentovin, kterého bylo do vína přidáno 40 $g.hl^{-1}$. Zde je vidět, že u odrůdy Tramín Červený skončil přípravek SIHA Ca s nejvyšším zůstatkem kalů a naopak u odrůdy Hibernal měl zůstatek kalů nejmenší. Nepřímý vliv na množství kalů mohlo mít rozdílné dávkování.

Termolabilní bílkoviny jsou ve vínech nežádoucí, jelikož mohou vést k tvorbě zákalů v lahvích. Jejich úplným odstraněním můžeme zaručit stabilitu vína vůči těmto zákalům. U jednotlivých bentonitů byly zjištěny rozdíly, které jsou patrné z grafů. Tímto pokusem se potvrdil fakt, že na snižování termolabilních bílkovin ve vínech je vhodné použit bentonit. Oproti kontrolním vzorkům je vidět podstatné rozdíly v přídavku bentonitu do vína. Opět zde platí, že i menší dávka, než doporučená výrobcem může vést k zajištění stability.

V případě kontrolních vzorků je vidět, že hodnoty termolabilních bílkovin jsou u obou odrůd skoro stejné. Naopak u vzorků, kde byly použity bentonitové přípravky, je vidět patrný rozdíl. Především odrůda Tramín červený vykazovala vyšší hodnoty a tím pádem, měla i vyšší obsah termolabilních bílkovin. Nejmarkantnější rozdíl je vidět u přípravku Bentovin, kdy u odrůdy Tramín červený vykazoval hodnoty 4 NTU a naopak u odrůdy Hibernal hodnoty pouze 0,24 NTU. Hodnoty bílkovin byly tedy u odrůdy Tramín červený skoro čtyřikrát vyšší.

Použitím tepelného testu došlo k zajímavému zjištění, kdy najednou vykazovala odrůda Hibernal jednou tak vyšší hodnoty bílkovin. I při dalším měření u vzorků s použitím bentonitových přípravků byly výsledné hodnoty vyšší oproti odrůdě Tramín červený. Nejviditelnější rozdíl je dobře vidět na přípravku Majorbenton B, kdy odrůda Tramín červený vykazovala 9, 30 NTU bílkovin a u odrůdy Hibernal to bylo pouze 1, 12 NTU bílkovin.

Průběh čiření je však individuální, rok od roku, záleží také na dané odrůdě. Každoroční zkušenosti vinařů lze poté použít v následujících ročnících. Specifikum pro odrůdy ročníku 2014, je napadení hroznů ušlechtilou plísní *Botrytis cinerea.* Díky ní obsahovaly vína *glukany*, které drží ve vznosu kaly, proto *vyšší kalovost* a vyšší výsledné hodnoty NTU. Jako nápravu lze použít enzym *betaglukanáza*, který velice dobře funguje a je schopný rozštěpit tyto molekuly a dojde k odstranění kalovosti ve vínech.

VAŠÍČEK (2003) ve své diplomové práci na téma změn alkalických kovů podle použitého bentonitu popisuje porovnání různých typů bentonitů a poukazuje, že samotná účinnost bentonitu je závislá na nabobtnání, dokonalém rozptýlení v daném víně a také na typu bentonitu či chemickém složení vína. Poukazuje také na to, že bentonity ovlivní charakter vína, a to tím, že ovlivní obsah bílkovin.

Veškeré práce zaměřené na čiření vína pomocí bentonitu se shodují v tom, že se jedná o velmi důležitý prvek, který dokáže pozitivně ovlivnit kvalitu vína.

V současné chvíli přibývá důkazů o tom, že závislost bílkovin na vznik zákalu je ovlivněna řadou faktorů nebílkovinného původu – polyfenoly, pH či přítomností polysacharidů. Byly vyvinuty různé postupy a metody na odstranění bílkovin z vín. Ale i přesto, že krášlení vína bentonitem je nespecifické a může v některých případech vést ke zhoršení kvality vína, tak zůstává jedinou účinnou metodou ke stabilizaci vína

# 7. Závěr

V dnešní moderní době spotřebitel vyžaduje především mladé, svěží víno s příjemným aroma a perfektní čirostí. Tyto důvody nás nutí hledat nové směry a metody při ošetřování vína. Víno patří v současné chvíli mezi vysokoobrátkové zboží a při jeho ošetřování dochází často k urychleným krokům nebo postupům s opačným efektem. Největší nedostatky jsou především v přidávání vysokých dávek, díky kterým se stává víno nepitelným.

Tato diplomová práce byla zaměřená na porovnání čířících přípravků se zaměřením na bílkovinou stabilitu u bílých vín. Byl proveden pokus u dvou odrůd nečiřeného vína, kam byly aplikovány čiřící přípravky od různých výrobců, s různým složením
a dávkováním. Využity byly především přípravky na bázi bentonitu. Aplikace probíhala přímo do skleněných demižónů, a ty byly uloženy ve sklepě po dobu 14 dní při stejné teplotě. Poté následovalo provedení laboratorní analýzy.

Využití enologických přípravků má velký vliv na danou kvalitu a složení vína. Vše, však dokáže ovlivnit technolog, který musí umět zvolit správnou kombinaci těchto přípravků a jejich dávkování. A dále také kombinace mikrofiltrace, použití chemických prostředků a plnění do lahví za sterilních podmínek. Každý čiřící přípravek působí na jiný druh látek obsažených ve víně, proto je důležité vždy používat daný přípravek cíleně a s předem odzkoušenou dávkou. Nutné je též dodržení podmínek správného aplikace, aby došlo k zajištění požadovaného účinku. Úplné stability vína se dá dosáhnout kombinací správného čiření bentonitem, přídavkem chemických stabilizačních přípravků a využitím mikrobiologické filtrace. Z praxe však plyne fakt, že stabilní víno může být i bez přidání chemických stabilizátorů.

Na základě mých poznatků předkládám řešení pro optimální čiření vína z technologického hlediska. Důležité je začít s čiřením již v prvních fázích výroby vína, kdy nedochází k negativnímu vlivu na kvalitu, a je zde také lepší účinnost přípravků díky vyššímu obsahu kyselin. Pomocí bentonitů dojde nejen k odkalení moštů, ale také odstranění nežádoucích látek a také lze eliminovat i obsah termolabilních bílkovin (FERREIA a kol., 2001).

# 8. Souhrn

Diplomová práce na téma *Porovnání enologických přípravků na bílkovinou stabilitu u bílých vín* se v teoretické části zabývala bílkovinami ve víně a bílkovinnými zákaly. Dále byly popsány způsoby zjišťování stability vína proti bílkovinným zákalům a také způsoby čiření vína. A v konečné fázi byl popsán hlavní enologický přípravek, a to bentonit. V praktické části byly popsány komerčně dostupné přípravky, na bentonitovém základu. Tyto látky byly aplikovány do nevyčiřeného vína a sledovala se jejich účinnost. Víno bylo uloženo ve skleněných demižónech, po dobu 14 dní, při stejné teplotě. Všechny varianty následně prošly laboratorním rozborem. Dané výsledky byly statisticky zpracované a vyhodnoceny s doporučením pro praktické využití.

**Klíčová slova:** enologické přípravky, bentonit, bílkoviny, bílkovinná stabilita, zákaly.

## Resume

The topic of this thesis is the comparison of oenology agents for white wines, focusing on protein stability. The theoretical part of the work describes proteins in wine and common hazes in wine. Next the methods of protein hazes and fining of wine. Finally was described commercially available agent, such as bentonite.

This work, in experimental part, analyses fourteen commercial clearing agents available on our market. Bentonite were used at different doses in an unfined white wine and their efficiency was observed. The tested samples were stored at same temperatures. The wine was stored for a period of fourteen days. At the end of the period all the samples underwent laboratory analysis.

The results were statistically processed and evaluated with recommendations for practice.

**Key words:** fining agents, protein haze, protein stability, fining, bentonite.

# 9. Použitá literatura


ACKERMANN, Petr. *Vinařský slovník*. Vyd. 1. Praha: Radix, 2001. ISBN 80-86031-34-9.

ANONYM 1. *Termolabilní bílkoviny* [online]. 2006 [cit. 2016-02-24]. Dostupné z: http://www.wineofczechrepublic.cz/o-nas/slovnik/145-termolabilni-vino.html

ANONYM 2. *NEDOSTATKY, VADY A NEMOCI VÍN: Bílkovinné zákaly* [online]. 2015 [cit. 2016-02-24]. Dostupné z: http://vino.lbc.cz/vady.htm

ANONYM 3. *ČIŘENÍ VÍNA* [online]. (2010) [cit. 2016-02-24]. Dostupné z: http://www.wine.cz/reva/

ANONYM 4. *ENOLOGICAL BENTONITES: BENTOLIT SUPER*. ESSECO[online]. Itálie, 2012 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.enartis.com/upload/images/01_2015/150120185008.pdf

ANONYM 5. *NaCalit: PORE-TEC*. Vinařský ráj [online]. Čejkovice, 2010 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.vinarskyraj.cz/getattachment/Katalog/Pripravky-a-merici-pomucky/Skoleni-vina/Bentonity/NaCalit-PORE-TEC/Nacalit-PORE-TEC.pdf.aspx

ANONYM 6. *BENTONIT: Čiřidlo, stabilizátor*. Vinařské potřeby [online]. Velké Bílovice, 2008 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.vinarskepotreby.cz/doc/bentonit_bs_enartis.pdf

ANONYM 7. *VULCOBENT: PROTEX P*. VULCASCOT [online]. Vídeň, 2011 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.vulcascot.at/media/content/downloads/emdeutsch_wein_jungweinbehandlung.pdf

ANONYM 8. *Laboratorní přístroje: Turbidimetr Turb® 550/Turb® 550 IR* [online]. 2015 [cit. 2016-04-07]. Dostupné z: http://www.wtwcz.com/laboratorni-pristroje-99/

BALÍK, Josef. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 3. vyd. /. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2011, 96 s. ISBN 80-7157-933-5.

BERRY, C.J.J. First steps in winemaking. 9th ed. Hemel Hempstead: Nexus Special Interests, 2006. ISBN 9781854861399.

CALLEC, Christian. *Velká encyklopedie vína*. 1.vyd. Čestlice: Rebo Productions, 2002. ISBN 80-7234-245-2.

DELFINI, Claudio a Joseph V FORMICA. *Wine microbiology: science and technology*. New York: Marcel Dekker, 2001, 490 s. ISBN 0-8247-0590-4.

ESTERUELAS, Mireia a a kol. *Comparison of Methods for Estimating Protein Stability in White Wines* [online]. 2009, 11 s. [cit. 2016-03-31]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Joan_Miquel_Canals/publication/279664399_Comparison_of_Methods_for_Estimating_Protein_Stability_in_White_Wines/links/559eab6e08aea946c06a3aef.pdf?origin=publication_detail

ESTREICHER, Stefan K. *Wine: from Neolithic times to the 21st century*. New York: Algora Pub., c2006. ISBN 9780875864785.

FERREIRA, Ricardo B, Maria A PIÇARRA-PEREIRA, Sara MONTEIRO, Virgílio B LOUREIRO a Artur R TEIXEIRA. The wine proteins. Trends in Food Science & Technology [online]. 2001, 12(7), 230-239 [cit. 2016-05-04]. DOI: 10.1016/S0924-2244(01)00080-2. ISSN 09242244. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224401000802

GRAINGER, Keith a Hazel TATTERSALL. *Wine production: vine to bottle*. Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2005. ISBN 9781405113656.

HORNSEY, Ian S. *The chemistry and biology of winemaking*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2007, xi, 457 p. ISBN 0-85404-2660.

JACKSON, Ron S. *Wine science: principles and applications*. 3rd ed. Burlington: Elsevier Acad. Press, 2008. ISBN 978-0-12-373646-8.

KRAUS, Vilém. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. 1. vyd. Praha: Praga Mystica, 2005. ISBN 80-86767-00-0.

KRAUS, V.; HUBÁČEK V.; ACKERMANN, P. *Rukověť vinaře*. Vyd. 1. Praha: Květ, 2010. 262 s. ISBN 80-209-0286-4.

OCHMAN, David. *Bentonit: Bentonit pro efektivní čiření a stabilizaci*. *Proneco* [online]. 2015,1-8 [cit. 2016-02-05]. Dostupné z: http://www.proneco.cz/images/dokumenty/bentonit.pdf

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

POLO, M a María Victoria MORENO-ARRIBAS (eds.). *Wine chemistry and biochemistry*. New York: Springer, c2009. ISBN 978-0-387-74118-5.

POSPÍŠIL, Pavel. Hodnocení pěstitelských vlastností nových PIWI odrůd. *Bakalářská práce*. 2014, 46 s.

PŠEJA, Radek. *Srovnání čiřících účinků bentonitů na jakost révových vín*. Lednice, 2006. Diplomová práce.

RANKINE, Bryce a Maynard A AMERINE. *Making good wine: manual of winemaking practice for Australia and New Zealand*. South Melbourne, Australia: Sun, 2002, xvii, 374 s. ISBN 0-7251-0563-1.

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

RIBÉREAU-GAYON, Pascal, Denis DUBOURDIEU a Bernard DONÈCHE.*Handbook of enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments* . 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley, 2006. ISBN 0470010371.

SANDLER, Merton a Roger PINDER (eds.). *Wine: a scientific exploration*. 1st pub. New York: Taylor & Francis, 2003. ISBN 0-415-24734-9.

SEDLÁČEK, Milan. *ČIŘENÍ VÍNA: Bentolit Super*. [online]. 2012, 1 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.znalecvin.cz/cireni-vina/

SEDLÁČEK, Milan. *ČIŘENÍ VÍNA: Pluxcompact*. [online]. 2012, 1 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.znalecvin.cz/cireni-vina/

SEDLÁČEK, Milan. *Tramín červený*. [online]. 2012, 1 [cit. 2016-03-17]. Dostupné z: http://www.znalecvin.cz/tramin-cerveny/

SEDLO, Jiří, Ivana LUDVÍKOVÁ a Olga JANDUROVÁ. RÉVA - Přehled odrůd 2011. 1. vyd. Velké Bílovice: Svaz vinařů, 2011. ISBN: 978-80-903534-6-6

SIMONOVÁ, Joanna. O víně. 1.vyd. Bratislava: Slovart, 2002. ISBN 80-7209-386-X.

SOTOLÁŘ, R., 2007: Atlas odrůd - réva, Multimediální atlas podnožových, moštových a stolních odrůd révy[online]. URL: http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/556/Databaze. html (2015).

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

ŠTERN, Petr. *Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia*. 2., upr. vyd. Praha: Univerzita Karlova, 2011. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 978-80-246-1979-8.

VAŠÍČEK, Přemysl. *Změny alkalických kovů ve víně podle použitého bentonitu*. Mendelova univerzita v Brně, 2003, diplomová práce, 52 stran

VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2., upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-00-3.

VRBOVÁ, T. *Víme, co jíme? aneb: průvodce éčky v potravinách*. Vyd. 1. Praha: EcoHouse, 2001. ISBN 80-238-7504-3.

VYDAŘILÁ, Ludmila. Srovnání účinků různých čiřících prostředků při výrobě vína [online]. Zlín, 2013 [cit. 2016-02-24]. Dostupné z: http://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/25100/vydařilá_2013_bp.pdf?sequence=1 . UTB ZLÍN.

ZEZULOVÁ, Lucie. *BENTOGRAN*. COMPO spol. s.r.o. [online]. Praha, 2014 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.compo.cz/uploads/assets/psyo_shop/AEB/bentogran.pdf

ZEZULOVÁ, Lucie. *MAJORBENTON B: BENTONIT*. COMPO spol. s.r.o. [online]. Praha, 2014 [cit. 2016-02-17]. Dostupné z: http://www.compo.cz/uploads/assets/psyo_shop/AEB/majorbenton-b.pdf