

**Mendelova univerzita v Brně**

**Zahradnická fakulta**

**Význam a řízení obsahu asimilovatelného dusíku v hroznových  
mošttech**

Diplomová práce

**Vedoucí práce**

**Doc. Ing. Josef Balík, Ph. D.**

**Vypracovala**

**Bc. Michaela Ficová**

**Lednice 2017**

## ZADÁNÍ

## **ZADÁNÍ**

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Význam a řízení asimilovatelného dusíku v mošttech vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

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

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

V Lednici dne:

.....

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Josefu Balíkovi, Ph. D. za odborné vedení práce, vstřícnost, věnovaný čas, ochotu a rady v průběhu zpracování mé diplomové práce. Díky patří také Ing. Ludmile Šuderlové za pomoc při práci v laboratoři při experimentální části práce. Děkuji také mé rodině, která mne v průběhu studia trpělivě podporovala a poskytla užitečné rady.

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	11
<b>2</b>	<b>CÍL PRÁCE</b> .....	12
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ ČÁST</b> .....	13
<b>3.1</b>	<b>VINIFIKACE HROZNŮ</b> .....	13
<b>3.2</b>	<b>HROZNOVÝ MOŠT</b> .....	16
<b>3.3</b>	<b>DUSÍK</b> .....	19
<b>3.3.1</b>	<b>DUSÍKATÉ LÁTKY</b> .....	19
<b>3.3.2</b>	<b>DUSÍKATÉ LÁTKY V HROZNECH</b> .....	21
<b>3.3.3</b>	<b>DUSÍKATÉ LÁTKY V MOŠTECH</b> .....	22
<b>3.3.4</b>	<b>VÝZNAM DUSÍKU</b> .....	23
<b>3.3.5</b>	<b>NADBYTEK A NEDOSTATEK DUSÍKU</b> .....	24
<b>3.3.6</b>	<b>ASIMILOVATELNÝ DUSÍK</b> .....	25
<b>3.3.7</b>	<b>MOŽNOSTI ŘÍZENÍ ASIMILOVATELNÉHO DUSÍKU</b> .....	26
<b>3.3.8</b>	<b>METODY STANOVENÍ ASIMILOVATELNÉHO DUSÍKU</b> .....	28
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ MATERIÁL</b> .....	31
<b>4.1</b>	<b>POUŽITÉ ODRŮDY RÉVY VINNÉ</b> .....	31
<b>4.2</b>	<b>VYBRANÉ PĚSTITELSKÉ LOKALITY</b> .....	33
<b>4.3</b>	<b>POUŽITÉ KOMERČNÍ ŽIVNÉ SOLI</b> .....	34
<b>4.4</b>	<b>PŘÍPRAVA MATERIÁLU PRO EXPERIMENT</b> .....	36
<b>5</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ METODY</b> .....	39
<b>5.1</b>	<b>ÚPRAVA ASIMILOVATELNÉHO DUSÍKU POMOCÍ ČISTÝCH CHEMIKÁLIÍ A KOMERČNÍCH ŽIVNÝCH SOLÍ</b> .....	39
<b>5.2</b>	<b>STANOVENÍ ASIMILOVATELNÉHO DUSÍKU FORMALDEHYDOVOU TITRACÍ</b> .....	39
<b>5.3</b>	<b>STANOVENÍ OBSAHU TITROVATELNÝCH KYSELIN</b> .....	40
<b>5.4</b>	<b>STANOVENÍ OBSAHU ROZPUSTNÉ SUŠINY</b> .....	41

<b>5.5</b>	<b>STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ</b> .....	42
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	43
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	58
<b>8</b>	<b>SOUHRN A RESUMÉ</b> .....	60
<b>9</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	61

## SEZNAM TABULEK

**Tabulka 1:** *Potřeba asimilovatelného dusíku v závislosti na cukernatosti moštu.*

**Tabulka 2:** *Označení experimentálních vzorků.*

**Tabulka 3:** *Přepočet obsahu cukru ze °Bx na °NM.*

**Tabulka 4:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Müller Thurgau (MT – VB), vinařská obec Velké Bílovice.*

**Tabulka 5:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Müller Thurgau (MT – R), vinařská obec Ratíškovice.*

**Tabulka 6:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Muškát moravský (MM – VB), vinařská obec Velké Bílovice.*

**Tabulka 7:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Muškát moravský (MM – R), vinařská obec Ratíškovice.*

**Tabulka 8:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Sauvignon (SG – VB), vinařská obec Velké Bílovice.*

**Tabulka 9:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Sauvignon (SG – R), vinařská obec Ratíškovice.*

**Tabulka 10:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Ryzlink rýnský (RR – VB), vinařská obec Velké Bílovice.*

**Tabulka 11:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Ryzlink rýnský (RR – R), vinařská obec Ratíškovice.*

**Tabulka 12:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Veltlínské zelné (VZ – VB), vinařská obec Velké Bílovice.*



**Tabulka 13:** *Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy Veltlínské zelené (VZ – R), vinařská obec Ratíškovice.*

**Tabulka 14:** *Výsledky analýzy pH, obsahu moštu, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku u moštu použitého k úpravě čistými chemikáliemi a komerčními živnými solemi.*

**Tabulka 15:** *Stanovení asimilovatelného dusíku v roztocích čistých chemikálií a v moštu po zvýšení YAN čistými chemikáliemi.*

**Tabulka 16:** *Stanovení asimilovatelného dusíku v roztocích komerčních živných solí a v moštu po zvýšení YAN komerčními živnými solemi.*

## SEZNAM OBRÁZKŮ

**Obrázek 1:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku u všech odrůd (MT, MM, SG, RR a VZ) z Velkopavlovické vinařské podoblasti (Velké Bílovice). Interval spolehlivosti 0,95.*

**Obrázek 2:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku u všech odrůd (MT, MM, SG, RR a VZ) ze Slovácké vinařské podoblasti (Ratiškovice). Interval spolehlivosti 0,95.*

**Obrázek 3:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Müller Thurgau z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.*

**Obrázek 4:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Muškát moravský z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.*

**Obrázek 5:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Sauvignon z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.*

**Obrázek 6:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Ryzlink rýnský z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.*

**Obrázek 7:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Veltlínské zelené z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.*

**Obrázek 8:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku v moštu po jeho navýšení o 50 g.hl<sup>-1</sup> pomocí čistých chemikálií a komerčních živných solí. Interval spolehlivosti 0,95.*

# 1 ÚVOD

Pro správný růst a vývoj révy vinné je dusík základním stavebním prvkem. Je významnou živinou pro rostliny, ale i pro půdní mikroorganismy. Ovlivňuje růst letorostů, ale i barvu listů. Asimilovatelný dusík v moštu je významným parametrem kvality vína. Jeho množství je ovlivněno hnojením, klimatickými podmínkami, odrůdou, ročníkem, délkou macerace hroznů a technologií výroby vína.

Složení dusíkatých látek v moštu mohou být výrazně ovlivněny senzoričné vlastnosti vína. Aromatický profil vína je ovlivněn aminokyselinami, které jsou prekurzory aromatických látek. Ovlivňují zejména aromatický charakter bílých a růžových vín.

Dusíkaté látky jsou důležité pro rozmnožování a činnost kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Kvasinky využívají dusík ve formě amoniálních iontů nebo aminokyselin. Jelikož je dusík významným prvkem ovlivňující budoucí víno je třeba se mu věnovat již ve vinici a dále jeho množství ovlivnit v moštu ještě před samotnou fermentací (BAROŇ, 2010). V případě nedostatku se jeho množství zvyšuje pomocí komerčních živných solí.

Nedostatek, ale i nadbytek dusíku má negativní vliv na růst révy, vývoj hroznů a následnou fermentaci. Nedostatek omezuje intenzitu růstu, snižuje výnosy, omezuje rychlost alkoholové fermentace a přispívá k produkci siřných sloučenin. Nadbytek vede k nadměrnému růstu, vyšší náchylnosti k houbovým chorobám, snížení kvality hroznů a vadnutí třapin (KRAUS *et al.*, 1997).

## 2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je prostudovat literaturu pojednávající o vinifikaci hroznů se zaměřením na význam asimilovatelného dusíku v hroznových mošttech. V období zralosti hroznů srovnat a upravit obsah asimilovatelného dusíku v mošttech pomocí komerčních živných solí u vybraných bílých odrůd révy vinné a vyhodnotit získané výsledky.

## 3 LITERÁRNÍ ČÁST

### 3.1 Vinifikace hroznů

Kvalita vína je ve velké míře ovlivněna termínem sklizně a zpracováním hroznů. Termín sklizně je závislý na vyzrálosti hroznů (obsahu cukru, kyselin, tříslovin, barviv, pH), zdravotním stavu hroznů a požadovaném typu vína. Zpracování by mělo být rychlé, šetrné, precizní a probíhat za vhodných hygienických podmínek (STEIDL, LEINDL, 2004).

Prvním krokem při zpracování hroznů je jejich drcení a odstopkování, tedy oddělení bobulí od třepin. Drcením se odstraní třepiny a hrozny se podrtí, aby se z nich při lisování mošt lépe uvolňoval (FARKAŠ, 1980).

V některých případech, zejména u bílých aromatických odrůd, pokud jsou hrozny zdravé, se rmut před lisováním nechává macerovat, aby došlo k extrakci buketních látek (STEIDL, 2002).

Dalším krokem je lisování hroznů. Při lisování je snaha získat co nejvíce moštu v požadované kvalitě co nejrychleji, aby se zabránilo nežádoucí oxidaci. Průměrná výlisnost je 75 %. U hroznů s vyšším obsahem pektinů je výlisnost velmi malá, proto se využívá pektolytických enzymů, které výlisnost zvyšují. Nejvíce dusíkatých látek je obsaženo v semenech a ve slupce, samotok proto obsahuje nejméně dusíkatých látek. (FARKAŠ, 1980). Zvyšováním tlaku při lisování se zvyšuje i obsah dusíkatých látek (BAROŇ, 2013).

V období mezi sklizní a fermentací moštu se používají postupy, které ovlivní budoucí kvalitu a charakter vína. Seznam povolených enologických postupů a ošetření je uveden v nařízení rady ES č. 606/2009. Mezi tyto postupy patří provzdušňování, tepelné ošetření, odstředění a filtrace, užití oxidu uhličitého, argonu nebo dusíku, také ve směsi, aby vznikla inertní atmosféra a výrobek byl tak chráněn před vzduchem; užití vinných kvasnic, užití následujících postupů na podporu tvorby kvasinek (přídavek hydrogenfosforečnanu diamonného nebo síranu amonného až do stanoveného množství, přídavek siřičitanu amonného nebo disiřičitanu amonného až do stanoveného množství, přídavek thiamin hydrochloridu); síření, ošetření bílých moštů a ještě kvasících mladých bílých vín aktivním uhlím; čiření, odkalení, doslazení, odkyselení, dokyselení, ošetření enzymy, případně úprava tříslovin a mnoho dalších.

Přídavek oxidu siřičitého na hrozny nebo do rmutu má více účinků: potlačuje oxidační enzymy, potlačuje nežádoucí kvasinky a bakterie, vyvazuje vzdušný kyslík a zvyšuje vyluhování tríslovin. Čím dříve je přidán, tím lépe lze rmut chránit před účinky vzduchu, zamezit hnědnutí a podpořit rozvoj buketu a čistoty charakteru. Rmut nebo hrozny by měly být sířeny tak, aby se obsah volného SO<sub>2</sub> pohyboval mezi 20 a 25 mg.l<sup>-1</sup>. Proveďte se předběžná selekce nežádoucích bakterií a kvasinek (STEIDL, RENNER, 2004). Dnešním trendem je síření eliminovat na- menší dávky. Nižší dávky jsou možné při zdravých a dobře vyzrálých hroznech s dostatečným celkovým obsahem kyselin, chladném počasí během sklizně, rychlém zpracování hroznů a nenakvácení rmutu (STEIDL, 2002).

Důležitým krokem vinifikace je odkalování moštů, při kterém dochází k sedimentaci kalů v nádobě a následné stočení čistého moštu. Díky němu má víno čisté tóny ve vůni i v chuti. Naprosto nezbytné je v ročnicích, kdy byly hrozny nahnilé, případně velmi znečištěné. (STEIDL, RENNER, 2004). Kaly se do moštu dostávají lisováním a jsou složeny ze slupek, semen a pevných částic dužiny. Z chemického hlediska kaly obsahují trísloviny, dusíkaté látky, pektiny, celulózy a minerální látky. Odkalené mošty mají pomalejší start kvašení. Při rychlém prokvašení dochází ke ztrátě aroma (FARKAŠ, 1980).

V ročnicích s nepříznivými meteorologickými podmínkami mohou mít hrozny nižší cukernatost. Menší cukernatost bývá také při příliš velké úrodě hroznů. Je-li obsah cukru nízký, je nutné ho upravit tak, aby výsledný obsah alkoholu ve víně dosahoval zákonné hodnoty. V České republice je povoleno doslazovat pouze vína bez původu a vína jakostní. Zvýšení cukernatosti je možné přídavkem sacharózy, zahuštěným hroznovým moštem nebo rektifikovaným moštovým koncentrátem. Ke zvednutí cukernatosti o 1 °NM je potřeba 1,1 kg cukru. Cukřená vína jsou na dusík chudší, než vína přírodní (LEONNHARDT, 1954).

V ročnicích, kdy je obsah kyselin vyšší než 12 g.l<sup>-1</sup> je odkyselení důležitým opatřením, které ovlivňuje kvalitu vína, i když kyselejší mošt zaručuje mikrobiologicky čistší prokvašení. Odkyselování se smí provést maximálně o 1 g.l<sup>-1</sup>. Většinou v průběhu fermentace a zrání vína ještě část kyselin „vypadne“ v podobě vinného kamene (hydrogendvinanu draselného). Je šetrnější odkyselovat mošt než hotové víno. Ke snížení obsahu kyseliny vinné se používá uhličitan vápenatý nebo hydrogenuhličitan draselný. Pokud chceme odstranit stejné množství kyseliny vinné a kyseliny jablečné je

nutné použít podvojný odkyselování (uhličitan vápenatý s malým množstvím podvojný vápenatý soli kyseliny vinný a jablečný), (STEIDL, 2002).

Naopak pokud je kyselin v hroznovém moštu málo je žádoucí je přidat. Z moštů s nízkým obsahem kyselin vznikají neharmonická, mdlá vína, která snadno podléhají různým chorobám a vadám (FARKAŠ, 1980). Přikyselovat lze kyselinou vinnou a jablečnou (nařízení ES č. 1410/2003).

V případě nepříznivého počasí, kdy hrozny nahnívají, jako tomu bylo v ročníku 2014 je vhodné mošt ošetřit aktivním uhlím. Aktivní uhlí jako adsorpční prostředek na sebe váže látky způsobující vůni, chuť a barviva. Lze jím tedy odstranit pachů po hnilobě, případně vysokou barvu (STEIDL, 2002).

Dalším možným ošetřením moštu před kvasem je úprava tříslovin. Vyšší obsah tříslovin se do moštu dostává při delším naležení rmutu. V takovém případě nebo jako prevence před hořkostí se používají absorpční látky a prostředky, jako je želatina, kasein nebo polyvinylpyrrolidon (PVPP).

Nakonec přichází na řadu fermentace moštu. Z vinice pochází asi jen 1 až 3 % žádoucích kvasinek. Většinou se jedná o 16 různých druhů kvasinek, z nichž pouze pět může zcela prokvasit mošt. Silně jsou zastoupeny apikulátní kvasinky, které vytvářejí kyselinu octovou a její estery. Ve spontánních podmínkách se nejprve rozvíjejí „divoké kvasinky“, které na počátku fermentace činí až 90 %. Teprve asi od 4 % objemových alkoholu mají převahu „pravé vinné kvasinky“ *Saccharomyces cerevisiae*. Život kvasinek v moštu může být rozdělen do čtyř fází:

- Počáteční fáze: přizpůsobení se podmínkám okolního prostředí,
- Rozmnožovací fáze: Kvasinky se rovnoměrně rozmnožují,
- Fáze hlavního kvašení: rovnoměrný nárůst kultur kvasinek, maximální tvorba alkoholu,
- Fáze odumírání: rychlost kvašení klesá, kvasinky začínají postupně odumírat (VOGEL, 2010).

Množení kvasinek v klasických vinifikačních podmínkách probíhá pučením. Pro množení kvasinek je velmi důležitý obsah dusíku v moštech a přístup kyslíku. V jednom mililitru moštu je potřeba 2 – 4 miliony buněk kvasinek pro rychlé zahájení kvašení. Toho lze dosáhnout použitím čistých kultur kvasinek. Jedním z nejdůležitějších míst rozmnožování kvasinek je lis, počet zárodků může být po opuštění lisu až tisíckrát vyšší. Většina vinařů dává přednost čistým kulturám kvasinek před spontánním

kvašením, i když používání čistých kultur kvasinek vede k určité uniformitě vín (DEAK, 2008). Při použití čistých kultur kvasinek v moštu, je nutná jejich rehydratace a je vhodné řídit se údaji výrobce. Pro nastartování kvasného procesu je obecně snahou dosáhnout na počátku kvašení vyšších teplot. Průběh fermentace ovlivňují tyto faktory: teplota, cukernatost moštu, síření hroznů a moštu, obsah kalů a ostatní nežádoucí látky, např. kovy. V závislosti na teplotě kvasinky produkují i vedlejší produkty. Při nižších teplotách se tvoří etylové estery a při vyšších teplotách estery kyseliny octové (STEIDL, RENNER, 2004).

Doba zastavení kvašení má velký vliv na budoucí charakter vína. Vinař by měl mít představu, jestli má být víno těžší s vyšším obsahem alkoholu nebo naopak lehčí. Důležitým faktorem je i obsah zbytkového cukru, podle kterého se víno rozděluje na suché, polosuché, polosladké a sladké. Významný vliv má také vzájemný vztah mezi cukrem a kyselinami. Fermentace se zastavuje prudkým zchlazením nebo stočením z kvasnic a zasířením (STEIDL, 2002).

### **3.2 Hroznový mošt**

Dle nařízení ES č. 479/2008 o společném organizaci trhu s vínem je hroznový mošt tekutý výrobek získaný přirozenou cestou nebo fyzikálním postupem z čerstvých vinných hroznů. Připouští se skutečný obsah alkoholu v hroznovém moštu až do 1 % obj.

Na kvalitu hroznového moštu mají velký vliv agrotechnické zásahy ve vinici a technologie zpracování hroznů. U agrotechnických zásahů jde v první řadě o vedení, řez keřů, systém hnojení a ochranu proti nemocem a škůdcům (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1976). Hroznový mošt je roztok skládající se z vody, cukrů, kyselin, tříslovin, aromatických látek, dusíkatých látek, barviv, minerálních látek, vitamínů, enzymů a vosků (FARKAŠ, 1980). Jeho hustota se pohybuje mezi 1,060 a 1,200 g.cm<sup>-3</sup>. Kvalitu a složení ovlivňuje zejména poloha vinice, počasí, agrotechnika, charakter odrůdy, způsob pěstování a způsob zpracování hroznů. Voda tvoří podstatnou část moštu 70 – 80 %.

Důležitou roli v moštích hrají monosacharidy glukóza (hroznový cukr) a fruktóza (ovocný cukr). Vytvářejí se asimilací v zelených buňkách listů. U celého procesu je důležité světlo, bez něj by asimilace nemohla probíhat. Při sběru hroznů



v technologické zralosti je obsah glukózy a fruktózy vyrovnaný. V našich podmínkách mošty obsahují 150 – 260 g.l<sup>-1</sup> cukru.

Významnou složkou jsou organické kyseliny, jejich množství se během dozrávání hroznů mění a pohybuje se v rozmezí 6 až 12 g.l<sup>-1</sup>. Organické kyseliny se tvoří z cukrů, vznikají jako vedlejší produkty látkové přeměny při dýchání. Stavební látkou je acetaldehyd, který nejprve přechází na kyselinu jablečnou, redukcí dává kyselinu jantarovou a oxidací kyselinu vinnou (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1976). V největším množství se vyskytuje kyselina vinná a kyselina jablečná. Kyselina vinná odpovídá za kyselou, ostrou chuť v moštích a kyselina jablečná poskytuje tzv. „zelenou chuť“ s nezralými tóny (PAVLOUŠEK, 2011). V menším množství se vyskytuje kyselina citronová. Tyto kyseliny se v moštích vyskytují ve formě volné, vázané a ve formě solí. V nepatrném množství se vyskytuje kyselina jantarová, šťavelová, octová, glykolová a fumarová. Ve vztahu k obsahu a složení kyselin je hodnota pH odrůdově závislá. Mošty s vysokou hodnotou pH (nad 3,4) mají vyšší sklon k oxidaci, ztrácí komplexnost, chuť a svěžest, což je nebezpečné zejména u bílých moštů. Tyto mošty a následně i vína nejsou mikrobiálně stabilní a mohou být kontaminovány divokými mléčnými bakteriemi, octovými bakteriemi a kvasinkami rodu *Brettanomyces* (PAVLOUŠEK, 2011).

Fenolické látky obsažené v moštu mají významný vliv při vytváření chuti a charakteru vína. Jsou označovány jako přírodní antioxidanty. Podle chemických vlastností a účinků se fenolické látky dělí na flavonoly, fenolové kyseliny, antokyany a třísloviny. Flavonoly jsou označovány, jako důležitá žlutá barviva, vyskytují se ve slupce a třepinách. Nacházejí se v glykosidické formě v moštích a jejich aglykon tvoří kvercetin, myricetin a kemferol. Fenolové kyseliny se rozdělují na kyselinu benzoovou a kyselinu skořicovou a jejich deriváty. Antokyany patří k nejrozšířenější skupině rostlinných barviv. Jsou to glykosidy různých aglykonů, které se nazývají antokynidiny. Významným zástupcem v hroznech révy vinné je malvidin. Třísloviny jsou charakteristické svou svíravou chutí. Do moštů se dostávají z třepin a semen. Hořké chuťové tóny se odvozují od nízkomolekulárních sloučenin s nižším stupněm polymerizace a tříslovité tóny od vysokomolekulárních s vyšším stupněm polymerizace (SLANINOVÁ, 2015).

Další složkou moštu jsou dusíkaté látky, jejichž množství se pohybuje v rozmezí 0,2 – 1,6 g.l<sup>-1</sup>. Na jejich množství má vliv charakter půdy vinice, způsob hnojení, postup zpracování hroznů a odrůda. Rozdělení dusíkatých látek v moštu: celkový dusík 0,20 – 1,60 g.l<sup>-1</sup>, bílkovinný dusík 0,01 – 0,10 g.l<sup>-1</sup>, aminokyselinový dusík 0,17 – 1,12 g.l<sup>-1</sup>,

aminový dusík 0,005 – 0,02 g.l<sup>-1</sup>, amidický dusík 0,01 – 0,04 g.l<sup>-1</sup>, amoniakální dusík 0,10 – 0,20 g.l<sup>-1</sup> a ostatní dusík 0,01 – 0,12 g.l<sup>-1</sup>. Hrozny napadené botrytidou či jinými plísněmi, mají vždy dusíkatých látek méně protože *Botrytis cinerea* využívá část rozpustných dusíkatých látek na stavbu vlastních buněk. Zároveň se při tom uvnitř bobule přeměňují některé rozpustné dusíkaté látky na nerozpustné. Tyto faktory mohou být příčinou pomalého kvašení moštů, protože obsah asimilovatelných dusíkatých sloučenin je nižší. Rozpustné dusíkaté látky jsou tedy významnou živinou pro kvasinky (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1976). V moštu jsou podstatné amonné soli, které se spotřebovávají během alkoholové fermentace jako výživa pro kvasinky. Během fermentace se obsah dusíkatých látek značně snižuje, protože je kvasinky spotřebují pro svou výživu.

Část vitamínů z hroznů přechází lisováním do moštu. Vitamíny se účastní biochemických a fyzikálně chemických procesů při přeměně moštu na víno. Nejdůležitějším vitamínem je kyselina askorbová, která zabraňuje oxidaci moštu a má tedy podobný účinek jako oxid siřičitý. Pro alkoholové kvašení moštů je důležitý biotin, thiamin a kyselina pantotenová (PAVLOUŠEK, 2011).

Ve víně se vyskytují stovky těkavých látek, které tvoří jeho aroma. Jsou produkty a meziprodukty metabolismu bobulí révy vinné, vyskytují se především v jejich slupce. Vyskytují se ve formě volné i vázané, na kvalitu vína mají přímý vliv formy volné (VALÁŠEK, 2014). Primární aromatické látky přecházejí do moštu zejména ze slupek hroznů. Jejich množství závisí na odrůdě, stanovišti, agrotechnice ve vinici a délce macerace hroznů. Při alkoholovém kvašení moštu vzniká sekundární aroma. Jejich množství se pohybuje od 0,8 do 1,2 g.l<sup>-1</sup> V hroznech a moštech se vyskytující aromatické látky: terpeny, alkoholy, karbonylové sloučeniny, estery a těkavé kyseliny.

Z půdy a při zpracování hroznů se do moštu dostávají minerální látky. Na jejich množství má vliv zejména složení půdy, vyžrálost hroznů, hnojení a množství srážek. Čím déle je mošt ve styku s pevnými částicemi hroznů, tím je obsah minerálních látek ve víně vyšší. Ve větším množství se vyskytuje kyselina fosforečná, kyseliny sírová, draslík, vápník a hořčík (FARKAŠ, 1980).

Nezbytnou složkou moštů jsou i enzymy. Jsou to biologické katalyzátory, tvořené živou buňkou. I v malém množství urychlují některé reakce probíhající v moštech i ve víně. Procesy, které díky nim probíhají, mohou být pozitivní, ale i negativní. Mezi pozitivní procesy patří invertáza sacharózy na invertní cukr, působení enzymů na tvorbu aromatických látek a štěpení pektinových látek pomocí pektolytických enzymů.

Negativně působí enzymy oxidázy, které katalyzují oxidační procesy vzdušného kyslíku v moštu (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1976).

### 3.3 Dusík

Atmosféra obsahuje 78 % dusíku a je tak hlavním zdrojem dusíku v přírodě. Tato forma dusíku ale není přímo využitelná rostlinami. Rostliny čeledi bobovitých jsou schopné poutat vzdušný dusík, protože bobovité mohou žít v symbióze s hlízkovými bakteriemi rodu *Rhizobium* a právě tyto bakterie poutají vzdušný dusík. Pokud se používají minerální dusíkatá hnojiva, jsou tyto bakterie neaktivní. Vázaný dusík je závislý na teplotě půdy, pH půdy, vlhkosti půdy a obsahu dusíku v půdě. Vázaný dusík je formě organické a pro révu vinou se stane dostupným až po přeměně na formu anorganickou pomocí organismů žijících v půdě (PAVLOUŠEK, 2014). Jedním z nejvýznamnějších zástupců bobovitých je jetel inkarnát (PAVLOUŠEK, 2013).

Jako stavební látka se dusík zúčastňuje tvorby mnoha sloučenin. Příznivě působí na plodnost révy vinné, pokud je ve vyrovnaném poměru s ostatními živinami. Je složkou chlorofylu a spolu zajišťuje přeměnu sluneční energie na energii chemickou, je stavebním kamenem všech aminokyselin, ze kterých se tvoří bílkoviny (BAROŇ, 2010).

#### 3.3.1 Dusíkaté látky

V hroznech, moštu a víně můžeme rozeznávat různé formy dusíkatých látek.

##### **Celkový dusík**

V hroznovém moštu slouží obsah celkového dusíku jako ukazatel zralosti v závislosti na ročníku. Jeho hodnota se může rok od roku lišit v závislosti na odrůdě révy a oblasti pěstování. Červená vína mají obvykle téměř dvojnásobné množství dusíku oproti vínům bílým. Je to dáno způsobem zpracování hroznů. Dusíkaté látky, které nejsou spotřebovány při fermentaci, zůstávají ve víně a jsou součástí bezcukerného extraktu (BAROŇ, 2013).

##### **Minerální dusík**

Minerální dusík, ve formě amonných solí, je v dužině bobulí nejběžnější formou během jejich růstové fáze. Má velký vliv na změnu barevnosti bobulí. Během zrání

hroznů se jeho množství snižuje a v okamžiku sklizně činí 5 - 10 %. Amonné ionty prezentují důležitou součást asimilovatelného dusíku, protože bývají kvasinkami jako zdroj výživy upřednostňovány (PAVLOUŠEK, 2011). Jejich množství zásadně ovlivňuje dynamiku, se kterou mošt začíná kvasit i následný průběh celé fermentace. Tato forma dusíku obvykle na konci fermentace úplně zmizí (BAROŇ, 2010).

### **Organický dusík**

Organický dusík existuje v různých formách. Mezi nejdůležitější patří: aminokyseliny, oligopeptidy a polypeptidy, proteiny, amidy, nukleový dusík a pyraziny.

#### **▪ Aminokyseliny**

Aminokyseliny jsou deriváty karboxylových kyselin, které ve svých molekulách obsahují jednu nebo několik aminoskupin. Jsou to amfoterní sloučeniny (BAROŇ, 2010). V moštích a ve víně jich bylo identifikováno 32. Pocházejí z hroznů, kde jsou obsaženy zejména ve slupce nebo vznikají při autolýze kvasinek. Jejich obsah v moštu a ve víně je závislý na odrůdě a způsobu zpracování hroznů. Jsou užitečné díky jejich antioxidačním, antimikrobiálním, emulgujícím a povrchově aktivním vlastnostem (RIBÉRAU-GAYON *et al.*, 2006). Doposud bylo ve víně identifikováno 22 aminokyselin. Mezi ně patří: alanin, arginin, kyselina asparagová, kyselina glutamová, glycin, histidin, leucin, izoleucin, lyzin, metionin, ornitin, fenylalanin, prolin, serin, treonin, tyrozin a valin. Některé aminokyseliny se při alkoholové fermentaci spotřebují úplně - arginin, fenylalanin a histidin. Kyselina glutamová, leucin, izoleucin, valin, serin, lyzin, tyrozin a tryptofan se sice při kvašení spotřebují, ale při autolýze kvasinek jejich obsah stoupne na vyšší hodnotu, než byla v původním moštu. Obsah kyseliny asparagové a glutamové je v moštu velmi vysoký a kvašením klesá (WEB 10 – STÁVEK). Během fermentace je přídavek aminokyselin významný, stejně tak jejich vliv na biosyntézu aromatických látek (JACKSON, 2008).

#### **▪ Oligopeptidy a polypeptidy**

Oligopeptidy a polypeptidy vznikají spojením maximálně čtyř aminokyselin pomocí peptidické vazby. Reprezentují majoritního dusíkatého zástupce ve víně. Dusík v této formě není v moštích a vínech snadno stanovitelný (BAROŇ, 2010).

- **Amidy**

Amidy se vyskytují se zejména ve formě asparaginu a glutaminu. Do této skupiny se také řadí močovina (FARKAŠ, 1980). Močovina je diamid kyseliny uhličitě. Z vinařského hlediska je močovina důležitá jako prekurzor etylkarbamátu. Je tvořena enzymatickým štěpením ornitinu a argininu pomocí enzymu argináza (BELL, HENSCHKE, 2005).

- **Proteiny**

Proteiny jsou makromolekuly, které vznikly spojením velkého množství aminokyselin. Obsah bílkovin je ovlivněn odrůdou a ročníkem. V suchých letech je jejich obsah vyšší. Koncentraci bílkovin snižuje kvašení, reakce s tříslovinami a ošetření bentonitem. Termolabilní bílkoviny jsou zodpovědné za zákaly v bílých vínech (STEIDL, 2002).

- **Nukleový dusík**

Nukleový dusík je přítomný v purinových a pyrimidinových bázích, nukleotidech, nukleosidech a nukleových kyselinách. V mošttech nebo ve víně zatím nebyla tato forma dusíku studována (BAROŇ, 2010).

- **Pyraziny**

Pyraziny jsou šestičlenné heterocykly, které obsahují dva dusíky a čtyři uhlíky. Postranní uhlovodíkové řetězce často mění jejich velmi výrazné aromatické vlastnosti. Tyto řetězce jsou zodpovědné například za charakteristické aroma odrůdy Cabernet Sauvignon (BAROŇ, 2010).

### **3.3.2 Dusíkaté látky v hroznech**

Dusíkaté látky v hroznech jsou důležitým parametrem při výrobě vína. Jejich množství v hroznech je kolísavé a závisí na odrůdě, charakteru a druhu půdy ve vinici, způsobu hnojení a množství srážek během vegetace (FARKAŠ, 1980). Import dusíkatých látek do bobule před zaměkáním probíhá pomocí floému a xylému. Více než polovina veškerého dusíku je importována po zaměkání a akumulace dusíku probíhá během zrání (FIC, *et al.*, 2015). Nedostatky se často zjistí až na základě kvality vína. Většinou sklep mistr hledá nedostatky v technologii zpracování hroznů, ale problém

může být již ve vinici. V určitých částech bobule je různý podíl asimilovatelného dusíku. Nejvíce se ho nachází v dužině 60 až 65 %, ve slupce je obsaženo 20 až 30 % a v semenech 10 až 15 %. Významný vliv na jeho uvolnění má technologie zpracování hroznů. Při maceraci hroznů se ho tedy uvolňuje více než při okamžitém lisování hroznů. U bílých odrůd je tedy obsah asimilovatelného dusíku nižší než u červených, s výjimkou, kdy byly hrozny bílé odrůdy macerovány, případně lisovány celé bobule (PAVLOUŠEK, 2013). Z celkového množství dusíku z hroznů se do moštu dostane jen 20 %, zbytek zůstane ve výliscích – slupkách a semenech (BAROŇ, 2010). Za teplého a suchého počasí se v hroznech vytváří větší obsah bílkovin, jenž může způsobit problémy s kvašením moštů a ve víně pak vést k častějšímu výskytu bílkovinných zákalů (PAVLOUŠEK, 2011).

Od okamžiku zaměkání bobulí, kdy v hroznech nastává rychlý vzestup cukrů, se také stupňuje ukládání dusíkatých sloučenin, zejména aminokyselin. V chladných ročnících je podíl volných aminokyselin vyšší než v teplých. Ukládání aminokyselin v hroznech je závislé na termínu sklizně, aktuálním hnojení dusíkem, ročníku, dlouhodobém zásobení dusíkem, ročníku, vodní bilanci, odlistění, hustotě výsadby a napadení plísní šedou. Při rané sklizni je obsah aminokyselin nižší. Velké množství se jich do bobulí uloží ještě v poslední periodě zrání. Pro obsah živin v bobulích není vhodné radikální odlistění v zóně hroznů, jejich obsah se snižuje. Pokud má réвовý keř vyrovnaný růst a celkově prospívá, tak ukládá více zásobních dusíkatých látek do starého dřeva a kořenů. Tyto zásobní látky mohou být cenné pro zrání a zásobení hroznů dusíkem, který je využitelný kvasinkami. Při napadení plísní šedou docházejí hrozny nejen o aminokyseliny, ale i o thiamin (vitamín B<sub>1</sub>), (STEIDL, RENNER, 2004).

### **3.3.3 Dusíkaté látky v mošttech**

Mošty z hroznů révy vinné obsahují relativně vysokou koncentraci dusíkatých látek. Tyto látky tvoří polypeptidy (25 – 40 % celkového dusíku), aminokyseliny (25 – 30 %), amonné ionty (3 – 10 %) a proteiny (5 – 10 %), (BAROŇ, 2013).

Dusíkaté látky v moštu mohou významně ovlivnit sensorické vlastnosti vína. Prekurzory aromatických esterů jsou především aminokyseliny a výrazně ovlivňují ovocné a květinové aroma v bílých a růžových vínech. V moštu je po sklizni vyšší podíl volných aminokyselin, amonných iontů je pouze 5 – 10 % (PAVLOUŠEK, 2013).

Z aminokyselin mají dominantní zastoupení arginin, prolin,  $\alpha$  – alanin, serin, kyselina glutamová a její amidové formy glutaminu, který zajišťuje transport amonných iontů. Prolin je hůře asimilovatelný kvasinkami a snižuje tedy potenciál alkoholové fermentace, v drtivé většině ho kvasinky nespotřebují. Množství volných aminokyselin se zvyšuje během zrání (GARDE – CERDAN, *et al.*, 2009). Koncentrace se od zaměkání po optimální zralost více než zdvojnásobí. Ideálně je potřeba provést mnohem detailnější analýzu jednotlivých aminokyselin a to především prolinu a argininu. Koncentrace prolinu se dva týdny před sklizní rapidně zvýší. Prolin by tedy mohl být znakem zralosti (BAROŇ, 2010). Množství a druh dusíkatých látek v moštu ovlivňuje množství vzniku kyseliny jantarové během fermentace. Kyselina jantarová vzniká jako vedlejší produkt během alkoholového kvašení z kyseliny glutamátové, oxidačním procesem (ŠVEJCAR, MINÁRIK, 1976). Pokud je v moštu příliš nízký obsah thiaminu, dochází během alkoholového kvašení ke zvýšení obsahů sloučenin – kyseliny pyrohroznové a kyseliny ketoglutarové, vyvazující oxid siřičitý (STEIDL, RENNER, 2004). Albuminy a proteiny vytvářejí v hroznových mošttech plnost a svěžest (LEONHARDT, 1954).

### 3.3.4 Význam dusíku

Dusík je důležitý pro růst révy vinné, kvalitu hroznů a výnosy. Jako stavební látka se zúčastňuje tvorby mnoha sloučenin v rostlinných organismech. Do půdy je dodáván ve velkém množství pomocí umělých hnojiv, zeleného hnojení nebo chlěvským hnojením (ŠAFAŘÍKOVÁ, 2014). V umělých hnojivech se vyskytuje ve formě amoniakální  $\text{NH}_4^+$ , ledkové  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  a formě anodické (močovina)  $\text{NH}_2^-$ . Obsah dusíku se v půdě rychle mění, dávky se musí volit podle pozorování růstu a úrodnosti, pokud nebyly těsně před hnojením prováděny půdní rozbory. Příjem dusíku závisí na velikosti keřů, sklizně a obsahu půdní vláhy (BAROŇ, 2010).

Úkolem hnojení je zajistit plynulou a harmonickou výživu révy vinné. Výživa je přijímána pomocí kořenů révy vinné, které se většinou nacházejí v hloubce 15 – 35 cm. Dusíkatá hnojiva putují do hlubších horizontů rychleji (DOHNAL *et al.*, 1975). Z 1 ha 10 t hroznů za rok odčerpá 40 – 120 kg dusíku (FARKAŠ, 1980). Mezi příjmem dusíku a draslíku byly zjištěny interakce – zvýšené dávky dusíku potlačují příjem draslíku především při jeho nízké hladině v rostlině. Vysoká hladina draslíku v révě vinné

podporuje příjem dusíku a proto je možné při optimálním zásobení révy draslíkem snížit dávkování dusíku (KRAUS, 1979).

Hlavním významem asimilovatelného dusíku je zabezpečit výživu pro kvasinky, aby došlo k přeměně cukrů obsažených v hroznovém moštu na etanol. Pro ideální průběh kvašení by měl být minimální obsah asimilovatelného dusíku  $150 \text{ mg.l}^{-1}$ , jeho potřeba souvisí s cukernatostí moštu. Potřeba asimilovatelného dusíku v závislosti na cukernatosti moštu je uvedena v tabulce 1. Kvasinky pro správný průběh fermentace potřebují více než asimilovatelný dusík. Na správný průběh fermentace má velký vliv také kyslík, teplota kvašení, vitamíny a minerální látky (PAVLOUŠEK, 2013).

Asimilovatelný dusík také ovlivňuje obsah těkavých látek ve víně. Na počátku fermentace se zvyšuje množství především kyseliny octové. Přídavkem síranu amonného na počátku fermentace je možné snížit množství těkavých kyselin až o 40% (BELLY *et al.*, 2003).

**Tabulka 1:** *Potřeba asimilovatelného dusíku v závislosti na cukernatosti moštu.* (PAVLOUŠEK, 2013)

Cukernatost moštu °NM	Potřebný asimilovatelný dusík $\text{mg.l}^{-1}$
21	200
22	225
23	250
24	275
25	300

### 3.3.5 Nadbytek a nedostatek dusíku

Nadbytek dusíku v keřích révy vinné způsobuje zesílený vegetativní růst. Dochází k asimilačním poruchám – listy mají sytě zelenou barvu, dřevo vyžívá pomaleji. Vegetační doba se prodlužuje a keře jsou náchylnější k chorobám a škůdcům (KRAUS, 1979). Nadbytek asimilovatelného dusíku díky přídavku komerční výživy pro kvasinky může negativně ovlivnit sensorickou kvalitu vína. Dochází ke zvýšené tvorbě těkavých kyselin, vyšších alkoholů a sirnatých sloučenin, které mají typické „sirkové“ aroma. Může se také objevit syndrom UTA, který způsobuje, že se mladá bílá vína sensoricky chovají jako vína výrazně starší (PAVLOUŠEK, 2013).



Nedostatek asimilovatelného dusíku bývá často způsobem stresovými situacemi, ke kterým dochází již ve vinici. Ke stresovým situacím se řadí stres způsobený vysokými nebo naopak příliš nízkými výnosy, suchem, ozeleněním vinice výhradně travními druhy, poškození hroznů hnilobami (PAVLOUŠEK, 2013). Nedostatek dusíku vede ke snížení produkce bílkovin a tím pádem k útlumu růstu, listy žloutnou. Pokud se nedostatek vyskytuje na počátku vegetace, trpí tím růst jednotlivých orgánů rostliny. Vyskytne-li se nedostatek dusíku v druhé polovině vegetace, trpí tím hlavně tvorba obsahových látek jednotlivých orgánů (KRAUS, 1979). Nedostatek dusíku je hlavním důvodem zpomalené a neúplné alkoholové fermentace (BOULTON, *et al.*, 1996). Nedostatek asimilovatelného dusíku v mošttech také vede k tvorbě sirek (STEIDL, RENNER, 2004).

### 3.3.6 Asimilovatelný dusík

Asimilovatelný dusík neboli YAN (z anglického yeast assimilable nitrogen) je dusík využitelný pro kvasinky během alkoholové fermentace. Je tvořen organickou formou – volné aminokyseliny a anorganickou formou – amonné ionty. Právě organická forma dusíku je využitelná pro kvasinky během alkoholové fermentace (ANCIN *et al.*, 1999). Jakmile je obsah asimilovatelného dusíku nízký má za důsledek sníženou rychlost fermentace (BELTRANG, *et al.*, 2005). Jeho množství se pohybuje v řádech desítek až stovek  $\text{mg N.l}^{-1}$ . Nejvýznamnějšími zástupci jsou prolin, arginin a glutamin. Za vhodný zdroj dusíku jsou považovány amonné ionty, asparagin a glutamin. Naopak nevhodný je prolin a močovina, které se v podstatě nespotřebovávají. Arginin kvasinky asimilují obtížně, pokud je jediným zdrojem dusíku (BAROŇ, 2013). Asimilace různých aminokyselin závisí na fungování transportního systému a systému regulace metabolismu (UGLIANO, *et al.*, 2007). Asimilace aminokyselin vždy neznamená růst těl kvasinek. Snadno asimilovatelné aminokyseliny nejsou nejvíce zastoupeny v buňkách kvasinek, ale jsou nejlépe transformovatelné (LOURENS, REID, 2002). Pro bezproblémový průběh fermentace je nutné, aby mošt obsahoval 180 – 200  $\text{mg.l}^{-1}$  asimilovatelného dusíku. Z tohoto množství by měli amonné ionty tvořit 60 – 90  $\text{mg.l}^{-1}$ . Hrozny s vyšší cukernatostí obvykle vyžadují vyšší obsah YAN. Pro jednoduché a rychlé stanovení asimilovatelného dusíku v moštu se využívá formaldehydová titrace (PAVLOUŠEK, 2011).

Asimilovatelný dusík také ovlivňuje množství těkavých kyselin ve víně. Na počátku fermentace ovlivňuje především množství kyseliny octové (BAROŇ, 2013).

### 3.3.7 Možnosti řízení asimilovatelného dusíku

Množství dusíku je nutné monitorovat nejen ve vinici, ale i v moštu bezprostředně před fermentací. Optimalizace dusíku může přispět ke kvalitativním faktorům ve víně (BELL, HENSCHKE, 2005). Hroznový mošt je poměrně chudý na aminokyseliny a amoniak (KUNKEE, 1991). Pokud je množství asimilovatelného dusíku nižší než 130 mg.l<sup>-1</sup> je vhodné ho do moštu přidat. Přídavek je důležitý k zisku dobré kinetiky fermentace. V případě, že je obsah 200 – 350 mg.l<sup>-1</sup> je další přídavek spíše škodlivý (BELLY *et al.*, 1990). Přídavek nadměrného množství dusíku může mít negativní vliv na mikrobiální stabilitu vína a akumulaci etykarbamátu, který je považován za karcinogenní (GUTIÉRREZ, *et al.*, 2012). U vín s vyšším zbytkovým cukrem může docházet k opakovanému rozkvášení vín, u kterých už byla fermentace zastavena.

Jednou z možností jak se s nedostatkem živin v moštech vyrovnat je přídavek látek podporujících kvašení. Pro podporu tvorby kvasinek je možné použít dle nařízení ES č. 606/2009:

- přídavek hydrogenfosforečnanu diamonného nebo síranu amonného až do stanoveného množství,
- přídavek siřičitanu amonného nebo disiřičitanu amonného až do stanoveného množství,
- přídavek thiamin hydrochloridu.

### Thiamin (vitamín B1)

Ve zdravých hroznech se vyskytuje v dostatečném množství vitamín B1. Jeho nízký obsah v moštu a při kvašení zvyšuje koncentraci vedlejších produktů fermentace, které vyvazují oxid siřičitý. Nedostatek thiaminu se vyskytuje především u nahnílých hroznů. Jeho přídavek se doporučuje, zejména pokud byl mošt tepelně ošetřen, hrozny z kterých mošt pochází, byly napadeny botrytidou nebo se mošt využije na výrobu speciálních vín. Má také důležitou úlohu ve vztahu k potřebě oxidu siřičitého v hotovém víně (RIBÉRAU-GAYON *et al.*, 2006). Povolený přídavek vitamínu B1 je 0,6 mg.l<sup>-1</sup>.

### **Buněčné stěny kvasinek**

Buněčné stěny kvasinek jsou přirozené části kvasinek, které se vytvářejí při rozkladu buněk kvasinek a extrakcí rozpustných částí. Výsledkem je čistý roztok, který není výživou, ale podporuje množení kvasinek a výkonost kvasného procesu. Jejich účinek je založen na vysokém obsahu nenasycených mastných kyselin, sterolů a na absorpci látek brzdící alkoholovou fermentaci (STEIDL, RENNER, 2004). Steroly nevyužívají jako zdroj energie, ale začleňují se do nových buněčných stěn. Silná buněčná stěna je důležitá, když se zvyšuje obsah alkoholu, protože tvorba sterolů samotnými kvasinkami probíhá pouze za přítomnosti kyslíku. Dodané buněčné stěny kvasinek mohou mít absorpční vliv na sloučeniny, které jsou toxické pro kvasinky. Buněčné stěny mají významný podíl na optimalizaci alkoholové fermentace, ale nemohou zcela nahradit dusík (WEB 5). Dle nařízení rady ES č. 606/2009 je povolené množství obohacení o buněčné stěny kvasinek o 40 g.h<sup>-1</sup>.

### **Hydrogenfosforečnan diamonný - (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**

Je to bílý krystalický prášek se slabě pronikavým zápachem. Snadno rozpustný ve vodě. Jeho molekulární hmotnost je 132, 05 g.mol<sup>-1</sup>. Mošt obohacuje o dusíkaté komponenty. Kvasinka dokáže amonné ionty rychle asimilovat a využít ke stavbě buněčné stěny. Povolený přídavek je 100 g.h<sup>-1</sup>, což odpovídá navýšení dusíku v moštu o 258 mg.l<sup>-1</sup> (BAROŇ, 2013).

### **Síran amonný - (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

Síran amonný je tvořen bílými nebo bezbarvými krystalky. Je bez zápachu, snadno rozpustný ve vodě. Je označován jako E517. Přípravuje se chemicky ze syntetického čpavku (amoniaku) a kyseliny sírové. V přírodě se vyskytuje vzácně při sopečné činnosti (WEB 4, 2015). Jeho maximální přídavek je stanoven EU na 100 g.h<sup>-1</sup>. Tato hodnota odpovídá 210 mg.h<sup>-1</sup> dusíku (BAROŇ, 2013). Dodává kvasinkám amonné látky.

Důležité je i načasování použití živných solí. Živné soli lze použít: před zakvašením moštu čistými kulturami kvasinek; během alkoholové fermentace, když se objeví vadné aroma (např. sirka); v době předčasného zastavení alkoholové fermentace; případně je možné dávkování rozložit. Není vhodné přidávat výživu do studeného

moštu, který nebudeme ihned zakvášet. Podpořil by se tak vývoj nežádoucích bakterií a divokých kvasinek. Kvasinky jsou schopné uložit si dusík do rezervy v podobě aminokyselin. Děje se to zejména ve stádiu rozmnožování a buňky kvasinek se tak stávají skoro nezávislé na příjmu dusíku v pozdější fázi kvašení (STEIDL, RENNER, 2004). Pokud se přidá potřebné množství výživy na počátku kvašení, sníží se obsah vznikajících těkavých kyselin o 20 až 30 %. Přídavek 10 g amonných solí na hektolitr může způsobit nárůst kyselosti moštu o  $0,52 \text{ g.l}^{-1}$  kyseliny vinné (BAROŇ, 2013).

U přídavku živných solí neplatí přísloví „čím více, tím lépe“. Při předávkování se mohou objevit negativní efekty:

- příliš thiaminu podporuje růst kvasinek rodu *Brettanomyces* - způsobují pach koňského potu,
- příliš hydrogenfosforečnanu diamonného může vést ke slané příchuti,
- příliš aminokyselin se může projevit jiným aroma, protože se bude vytvářet méně vyšších alkoholů a esterů,
- vyšší zbytek dusíku ve víně způsobuje nižší mikrobiologickou stabilitu vína (STEIDL, RENNER, 2004).

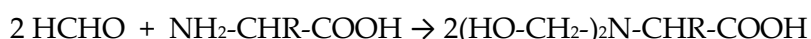
Přidavky dusíku musí být pečlivě hlídány a měla by se brát v úvahu počáteční koncentrace asimilovatelného dusíku v moštu a potenciální obsah alkoholu (MORENO-ARRIBAS *et al.*, 2009). Bez analýz se nedoporučuje přidávání amonných solí (BAROŇ, 2013).

### 3.3.8 Metody stanovení asimilovatelného dusíku

V minulých letech byla navržena celá řada metod na měření asimilovatelného dusíku v moštech. Je nutné říct, že výsledky měření nejsou vždy jednoznačné a není dosud známo, která z metod je stoprocentně spolehlivá (BAROŇ, 2010). Mezi metody, které se používají ke stanovení asimilovatelného dusíku, patří formaldehydová titrace, ninhydrinová metoda, metoda FAN (free amino nitrogen), plynová a kapalinová chromatografie. Ke stanovení celkového dusíku se využívá Kjeldahlova metoda.

## Formaldehydová titrace

Formaldehydová titrace je jednoduchá a poměrně přesná metoda stanovení asimilovatelného dusíku (GUMP, *et al.*, 2002). Norma ČSN EN 1133:1996 uvádí, že histidin, prolin a hydroxyprolin jsou detekovány ze 75%. Metoda je spojena s potenciometrickou detekcí. Metoda je nenáročná na aparaturu. Ke stanovení aminokyselin není možné využít běžné alkametrické nebo acidometrické titrace kvůli jejich amfoterní povaze. Aminokupiny lze zablokovat reakcí s formaldehydem.



Po přidání roztoku formaldehydu do analytického vzorku se uvolní z každé přítomné molekuly aminokyseliny jeden ion  $\text{H}^+$  a takto modifikované aminokyseliny se mohou potenciometricky titrovat roztokem hydroxidu sodného. Současně se titrují také amonné soli, a to tak že se v přítomnosti formaldehydu uvolňuje amoniak. Ten ihned reaguje s formaldehydem za vzniku hexametyléntetramínu  $(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$ , velmi slabé zásady, která nebarví fenolftalein. Při titraci vodného roztoku síranu amonného se tedy neutralizuje kyselina sírová, vázaná na amoniak v síranu amonném (BARTÍKOVÁ-ŠÍROVÁ, VESELÝ, 1965).

V některých případech analytického stanovení se uvádí výsledky jako formolové číslo. Norma ČSN EN 1133:1996 definuje formolové číslo jako počet milimolů NaOH spotřebovaného na jeden litr analyzovaného vzorku. Metoda formaldehydové titrace byla použita pro experimentální část práce.

## Metoda používající o-ftaldialdehyd - NOPA

Tato metoda je schopna detekovat dusík přítomný v  $\alpha$ -aminokyselinách pomocí deprivatizace primární aminokupiny specifickou látkou o-ftaldialdehydem. Pomocí této metody je detekováno asi 3,5 % amonných iontů, které jsou druhým hlavním zdrojem asimilovatelného dusíku (DUKES *et al.*, 1998).

## Metoda FAN (free amino nitrogen)

Tato metoda byla poprvé použita v roce 1972. Jako činidlo je v této metodě používán ninhydrin, který reaguje spolu s volnou  $\alpha$ -aminokyselinou za vzniku oxidu uhličitého, amoniaku a příslušného aldehydu. Měření vzorků probíhá na

spektrofotometru. Jsou indikovány všechny  $\alpha$ -aminokyseliny včetně prolinu, což zkrsluje množství asimilovatelného dusíku v moštu. Ninhydrin současně detekuje část amonných iontů (BAROŇ, 2010).

### **Plynová chromatografie – GC**

Stanovení aminokyselin pomocí plynové chromatografie je obtížné. Při stanovení aminokyselin je nutné pro dosažení potřebné těkavosti provést derivatizaci. Derivatizace se skládá ze dvou stupňů:

- Esterifikace aminokyseliny alkoholem v prostředí 3 mol.l<sup>-1</sup> roztoku HCl.
- Acylace aminoskupiny esteru anhydridem kyseliny (octové, trifluoroctové, pentafluorpropanové, heptafluorbutanové), (WEB 11 – KOPLÍK).

### **Vysokoučinný kapalinová chromatografie – HPLC**

Aminokyseliny samy o sobě neabsorbují v UV nad 240 nm s výjimkou fenylalaninu, tyrosinu a tryptofanu. Aminokyseliny ani nefluoreskují s výjimkou tryptofanu. Proto se před detekcí derivatizují – chemicky konvertují na deriváty absorbující, fluoreskující nebo deriváty elektrochemicky aktivní. Derivatizace může být pokolonová a předkolonová.

- Pokolonová – separované aminokyseliny vystupují z kolony a reagují s tokem derivatizačního činidla, kterým je ninhydrin.
- Předkolonová – deriváty se vytvoří reakcí aminokyselin s činidlem před nástřikem kolony (WEB 11 – KOPLÍK).

### **Kjeldhalova metoda**

Pomocí Kjeldhalovi metody se stanovuje množství celkového dusíku (suma bílkovinného a nebílkovinného dusíku) a tím i přibližné množství bílkovin nebo aminokyselin. Tato metoda je mezinárodně akceptovaná. Vychází z poznatku, že bílkoviny průměrně obsahují 16% dusíku (KÁŠ, *et al.*, 2006). Principem metody je mineralizace vzorku pomocí varu v kyselině sírové za přídavku katalyzátoru. Dusíkaté látky obsažené ve vzorku se převedou na amonné ionty (síran amonný), z nichž se po zalkalizování mineralizátu uvolní amoniak, který se po destilaci s vodní parou stanoví titračně (ZACHARIÁŠOVÁ, 2016).

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ MATERIÁL

### 4.1 Použité odrůdy révy vinné

Jednotlivé odrůdy révy vinné se od sebe navzájem velmi liší a mají významný vliv na budoucí kvalitu vína. Pro kvalitu vína je důležitý stupeň zralosti hroznů. Základními ukazateli stupně zralosti je obsah kyselin a cukernatost, důležitá je však i hodnota pH (FARKAŠ, 1980). Jednotlivé odrůdy lze třídit podle různých kritérií: kvality, původu, zařazení do ekologicko-geografických skupin, atd. (PAVLOUŠEK, 1999). Na odrůdě je závislý odběr dusíku z půdy. Podle toho se rozlišují odrůdy:

- S vysokou potřebou dusíku: Müller Thurgau, Neuburské, Tramín červený, Veltlínské zelené,
- Se střední potřebou dusíku: Ryzlink vlašský, Frankovka,
- S nízkou spotřebou dusíku: Rulandské bílé, Ryzlink rýnský, Zweigeltrebe (STEIDL, RENNER, 2004).

V experimentální části byly hodnoceny: Ryzlink rýnský, Muškát moravský, Müller Thurgau, Sauvignon a Veltlínské zelené.

#### **Ryzlink rýnský**

Ryzlink rýnský pochází pravděpodobně z německého Porýní. Vína vyrobená z této odrůdy patří k nejlepším a nejušlechtlejším (FARKAŠ, 1980). Tato odrůda má středně bujný růst. Hrozen je malý a poměrně hustý. Bobule jsou zelené se žlutým nádechem. Řadí se mezi pozdní odrůdy dozrávající koncem října (PÁTEK, 2002). Řadí se mezi nejnáročnější odrůdy na pěstitelskou polohu. Vhodné jsou jižní a jihozápadní svahy. Při nepříznivém počasí hůře dozrává a má vyšší obsah kyselin  $11 - 13 \text{ g.l}^{-1}$ , které nepůsobí rušivě, ale dobře doplňují dostatečně vyzrálá vína (FARKAŠ, 1980). Při vysazení na bujně podnoži do dobré půdy, sprchává, méně vhodná je tedy podnož *Kober 5 BB*. Doporučuje se používat podnože: *Teleki 5 C*, *SO 4*, *Kober 125 AA* a *Geinsenheim 26* (PAVLOUŠEK, 1999). Pokud se přehnojí dusíkem a draslíkem dochází k fyziologickému vadnutí třapin. Vyžaduje vyrovnané hnojení dusíkem, nedoporučuje se hnojení čerstvým hnojem (KRAUS *et al.*, 2000). Někdy bývá nazýván jako „král vín“. Do státní odrůdové knihy byl zapsán roku 1941 (MAŘÍK, BÍLÍK, 2004).

### **Veltínské zelné**

Původ této odrůdy je nejasný, pravděpodobně však pochází z Itálie nebo Rakouska. Odrůda roste bujně a díky tomu byla dříve ve velkém vysazována. Do státní odrůdové knihy byl zapsán roku 1941 (MAŘÍK, BÍLÍK, 2004). Hrozen je velký, dužina je šťavnatá a pevnější. Vyzrálé bobule mají žlutou barvu s hnědými tečkami. Dozrává koncem října, řadí se tedy mezi odrůdy pozdní (MALÍK, 2003). Kvalitní sklizně a vína poskytuje pouze ve velmi dobrých polohách, za které se považují slunečné a vzdušné plochy. Díky vysokým výnosům, které dává je náročná na půdní podmínky. Vhodné jsou hluboké, hlinité nebo sprašové půdy s dostatečnou vododržností a výživou. Nejlépe se jí daří na podnožích *SO 4* a *Teleki 5 C* (PAVLOUŠEK, 1999).

### **Muškát moravský**

Muškát moravský je odrůda vyšlechtěná v České republice. Vznikla křížením Muškát Ottonel x Prachtraube (MALÍK, 2003). Původně byl roku 1987 do státní odrůdové knihy zapsán jako MOPR a v roce 1993 byl přejmenován a zapsán jako Muškát moravský (MAŘÍK, BÍLÍK, 2004). Hrozny jsou středně velké až velké a rovnoměrně husté. Jejich chuť je výrazně muškátová. Na polohu není nijak náročný, ale nesnáší příliš suché plochy. Suchá půda snižuje vitalitu a plodnost keřů a má vliv na snížení muškátového aroma. Růst je bujný a díky tomu je agrotechnika náročnější. Podle půdních druhů se doporučují tyto podnože: půdy lehčí *Craciunel 2*, půdy s větším obsahem jílovitých částic *Teleki 5 C*, půdy těžké *Kober 125 AA*. Řadí se k ranějším odrůdám, je vhodné ho sklízet při nižší cukernatosti pro zachování dostatečného množství kyselin. Muškát dává vysoké výnosy, jeho plodnost je pravidelná. (PAVLOUŠEK, 1999).

### **Müller Thurgau**

Müller Thurgau byl vyšlechtěn v Německu, je křížencem Ryzlinku rýnského a Madlenky královské. Ve státní odrůdové knize je zapsán od roku 1941 (MAŘÍK, BÍLÍK, 2004). Růst letorostů je středně bujný. Hrozen středě velký až velký a poměrně řídký. Není příliš náročný na polohu, ale potřebuje hluboké a vododržné, dobře vyživované půdy. Lze ji pěstovat prakticky na všech používaných podnožích. V mělkých půdách je vhodná *Kober 5 BB*, v méně úrodných, ale dostatečně vlhkých půdách *Kober 125 AA*, a pro půdy dostatečně zásobené živinami jsou vhodné slaběji rostoucí podnože



*SO 4* a *Teleki 5 C* (PAVLOUŠEK, 1999). V letech s nižším slunečním svitem je asimilační činnost nízká. Ideální je hnojení kombinací organických hnojiv doplněna hnojivy draselnými (KRAUS *et al.*, 2000). Dozrává středně raně, v první polovině září. Obvykle dosahuje cukernatosti 15 – 19°NM. Tato odrůda je vhodná pro výrobu Svatomartinských a mladých vín. Po delším zrání víno ztrácí kyseliny a charakteristickou muškátovou chuť a aroma (FARKAŠ, 1980).

### **Sauvignon**

Odrůda Sauvignon pravděpodobně pochází z Francie z oblasti Bordeaux. Patří k nejpěstovanějším odrůdám světa. Prý vznikl samovolným opylením odrůdy Chenin blanc pylem Tramínu červeného. Roku 1952 byl zapsán do Státní odrůdové knihy (MAŘÍK, BÍLÍK, 2004). Roste bujně, ale listy jsou malé. Hrozny jsou spíše menší a husté. Barva hroznů je zelená až jemně nažloutlá. Sauvignon se řadí mezi náročné odrůdy, vyžaduje slunné stanoviště. Nejvhodnější jsou podnože *SO 4* a *Teleki 5 C*, naopak nevhodné jsou podnože bujné, např. *Kober 5 BB* (KRAUS *et al.*, 2000). Hnojení dusíkem snižuje výnosy, protože při bujném růstu méně rodí, hnojit by se tedy mělo opatrně (KRAUS *et al.*, 1999). Vhodné je hnojení chlévskou mrvou s přídavkem draselných hnojiv. Sauvignon dozrává začátkem října. Vína z této odrůdy jsou plná s harmonickými kyselinami (PÁTEK, 1998). V závislosti na ročníku, termínu sklizně a způsobu vinifikace lze vyrobit různé typy vína této odrůdy (STÁVEK, 2008).

## **4.2 Vybrané pěstitelské lokality**

Česká republika se člení na dvě vinařské oblasti – Čechy a Moravu. 96% tvoří Morava a zbylé 4% Čechy. Vinařské oblasti se dále dělí na šest podoblastí. V Čechách jsou dvě – mělnická a litoměřická a na Moravě čtyři – mikulovská, slovácká, velkopavlovická a znojemská (STÁVEK, 2008). Mnohaletým pozorováním bylo zjištěno, že určité odrůdy dávají v některých oblastech kvalitnější hrozny a větší výnosy než v oblastech jiných. Základem je tedy zvolit správnou odrůdu do správné lokality na vhodné podnoži. Jednotlivé pěstitelské lokality se liší půdními i klimatickými podmínkami. Nejlépe se révě vinné daří na půdách obrácených na sluneční stranu, pravidelně kypřených a hnojených. Neméně důležitá je expozice svahu, nejvhodnější

jsou jižní svahy, méně vhodné východní a západní svahy a nevhodné jsou svahy severní. Ideální sklon svahu je 25 až 35° (FARKAŠ, 1980).

Obě vybrané vinařské lokality – velkopavlovická s rozlohou 4 741 ha a slovácká o rozloze 4 188 ha patří do Moravské vinařské oblasti (WEB 1, 2017).

### **Velkopavlovická podoblast**

Z velkopavlovické vinařské podoblasti byly hrozny pro experimentální část odebírány z Velkých Bílovic, z největší vinařské obce v České republice. Město leží 180 m. n. m a s průměrnou roční teplotou 9,5°C je jedno z nejteplejších míst v republice. Průměrné množství srážek je zde 550 mm. Reliéf je mírně zvlněný s četnými plošinami, široce zaoblenými hřbety a mělkými rozevřenými údolími neckovitého profilu. Půda, většinou černozem promísená se žlutou spraší tvoří masivní mateční podklad. Místy se zde rovněž objevuje třetihorní jíl. Půdy v bílovských viničních tratích se vyznačují dobrou zásobou živin a záhřevností, jsou tak optimálním prostředím pro růst révy vinné a dalších teplomilných plodin (WEB 2, 2009). V katastru Velkých Bílovic je devět viničních tratí - Přední hora, Nová hora, Zadní hora, Široká hora, Dlouhá hora, Pod Belegřady, Obory, Obecní a Vinohrádky (Vyhláška č. 254/2010 Sb.).

### **Slovácká podoblast**

Ze Slovácké vinařské podoblasti byly hrozny odebírány z obce Ratíškovice. Tato obec nemá příliš bohatou historii v oblasti vinohradnictví a vinařství. Vinice se rozkládají na jižním svahu Nákla 256 m. n. m. Tato poloha patří k jedněm z nejteplejších v ČR. Záhřevné písčitohlinité půdy sycené artézskými vodami, ležící na vápenitých usazeninách Sarmatského moře, spolu s více jak 2000 hodinami slunečního svitu ročně spoluvytvářejí jedinečné terroir (WEB 3, 2017). V katastru Ratíškovic se nacházejí čtyři viniční tratě – Hrubé pole, Nácestky, Díly a Náklo (Vyhláška č. 254/2010 Sb.).

## **4.3 Použité komerční živné soli**

Řada firem prodává preparáty, které se využívají ve vinařské technologii. Patří mezi ně i živné soli na podporu fermentace. Výživy pro kvasinky se používají v případě deficitu přirozených aminokyselin. Volba výživy má dopad na enologické parametry,

mezi které se řadí délka fermentace, obsah glycerolu, těkavé kyseliny a aromatický profil vína (MARTINÉZ – MORENO *et al.*, 2014).

Pro experimentální část byly vybrány čtyři komerční živné soli. Patří mezi ně: Vitaferment PH, Supervit, Maxaferm a Nutrozim.

### **Vitaferment PH**

Tato komerční výživa byla zakoupena ve Vinařském ráji, vyrábí ji firma Lamonthé-Abient. Patří mezi základní fermentační výživy. Skládá se z hydrogenfosforečnanu diamonného a thiaminu. Napomáhá vysokému množení kvasinek na počátku fermentace a umožňuje udržování vysoké úrovně populace v průběhu fermentace. Doporučené dávkování je 10 – 50 g.h<sup>-1</sup>, 20 g.h<sup>-1</sup> Vitafermentu PH zvýší množství asimilovatelného dusíku o 40 mg.l<sup>-1</sup>. Používá se na počátku fermentace, případně v 1/3 alkoholové fermentace. Cena tohoto výrobku je 188 Kč s DPH (WEB 9, 2017).

### **Supervit**

Supervit je preparát vyráběný firmou Enartis. Byl zakoupen ve Velkých Bílovicích v BS Vinařských potřebách s.r.o. Je to bílý prášek jemně zapáchající po čpavku. Obsahuje síran amonný (61,8 %), hydrogenfosforečnan diamonný (38 %), koagulanty a hydrogenuhličitan draselný. Umožňuje a usnadňuje rychlé kvašení s pravidelným a kompletním průběhem. Výrobce doporučuje dávkovat 10 – 30 g.h<sup>-1</sup> při první nebo druhé fermentaci. Před přidáním do moštu dobře rozmíchat ve studené vodě a následně aplikovat do celého objemu. Cena za 1 kg tohoto výrobku je 182 Kč s DPH (WEB 6, 2017).

### **Maxaferm**

Tento produkt byl zakoupen u firmy BioPro, jeho výrobcem je firma DSM. Je to jemný prášek se světle hnědou barvou. Maxaferm je fermentační bio-regulátor složený z buněčných stěn inaktivovaných kvasinek, vitamínu B<sub>1</sub>, hydrogenfosforečnanu diamonného a síranu amonného. Maxaferm zajišťuje kompletní optimalizaci celého fermentačního procesu. Výrobce doporučuje dávkování 30 g.h<sup>-1</sup> na počátku fermentace a 40 – 50 g.h<sup>-1</sup> při restartování fermentace. Cena tohoto výrobku za 1 kg je přibližně 830 Kč s DPH (WEB 8, 2017).

## **Nutrozim**

Tento přípravek vyrábí italská firma Everintec. Skládá se ze síranu amonného, buněčných stěn kvasinek, thiaminu a celulózy. Je to velmi jemný prášek s nahnědlou barvou. Nutrozim je velmi účinné aditivum určené pro rovnoměrnou kinetiku fermentace, dokonce i v kritických podmínkách, jako je nízká teplota kvasu nebo čistý mošt. Snižuje startovací dobu sušených aktivních kvasinek a ulehčuje jim přežít nad původními kvasinkami. Používáním Nutrozimu se redukuje produkce nežádoucích vedlejších produktů (kyseliny octové, pyruvátu, atd.). Aplikuje se na počátku fermentace nebo v případě, že se fermentace předčasně zastavila. Dávka 20 – 70 g.hl<sup>-1</sup> se rozpustí ve vodě nebo moštu a přidá se do celého objemu nádoby. Cena za 1 kg tohoto výrobku je cca 650 Kč s DPH (WEB 7, 2011).

## **4.4 Příprava materiálu pro experimenty**

Pro experimentální část byly použity hrozny révy vinné z ročníku 2016. Materiál pro analýzu byl odebírán ze dvou vinařských podoblastí – velkopavlovické (město Velké Bílovice) a slovácké (obec Ratiškovice). Postupně byly odebrány hrozny z pěti odrůd révy vinné: Müller Thurgau, Muškát moravský, Veltlínské zelené, Ryzlink rýnský a Sauvignon. Jednotlivé hrozny byly sklizeny ze tří míst v jedné vinici, aby byl vzorek průměrný. První místo je dále v textu a tabulkách označováno jako měření 1, druhé místo z vinice jako měření 2 a třetí poloha odběru jako měření 3. V každém místě byly odebrány 3 - 4 hrozny v závislosti na velikosti hroznu odebírané odrůdy. V obou lokalitách byly hrozny sklizeny ve stejném termínu. První byl sbírán Müller Thurgau 10. 9. 2016, jako druhý Muškát moravský 11. 9. 2016, následoval Sauvignon 20. 9. 2016, Veltlínské zelené 5. 10. 2016 a jako poslední Ryzlink rýnský 18. 10. 2016. Z hroznů byl získán mošt ručním vymačkáním a následně byl odkalen při teplotě 6°C. Pro měření byl druhý den odebrán pouze čistý, čirý podíl moštu.

V rámci experimentální části byl měřen u jednotlivých moštů obsah titrovatelných kyselin. Popis stanovení jejich obsahu je popsán v kapitole 5. 3. U moštů byla také měřena rozpustná sušina, jejíž postup je uveden v kapitole 5. 4. Dále bylo u všech moštů stanovováno množství asimilovatelného dusíku pomocí formaldehydové titrace, která je podrobně popsána v kapitole 5. 2. Následně se u jednoho moštu zvyšovalo množství asimilovatelného dusíku pomocí čistých chemikálií a komerčních živných solí. Ke zvyšování asimilovatelného dusíku byly použity hydrogenfosforečnan

diamonný a síran amonný a komerční živné soli: Maxaferm, Nutrozim, Supervit a Vitaferment PH. Postup úpravy pomocí výživ je uveden v kapitole 5. 1. Také byly stanovovány hodnoty YAN rozpuštěných čistých chemikálií a komerčních živných solí ve vodě, tedy v roztoku určité koncentrace.

**Tabulka 2:** *Označení experimentálních vzorků.*

<b>Zkratka</b>	<b>Popis</b>
<b>MT<sub>VB</sub> 1</b>	Müller Thurgau 1. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>MT<sub>VB</sub> 2</b>	Müller Thurgau 2. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>MT<sub>VB</sub> 3</b>	Müller Thurgau 3. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>MT<sub>R</sub> 1</b>	Müller Thurgau 1. měření, hrozny Ratíškovice
<b>MT<sub>R</sub> 2</b>	Müller Thurgau 2. měření, hrozny Ratíškovice
<b>MT<sub>R</sub> 3</b>	Müller Thurgau 3. měření, hrozny Ratíškovice
<b>MM<sub>VB</sub> 1</b>	Muškat moravský 1. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>MM<sub>VB</sub> 2</b>	Muškat moravský 2. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>MM<sub>VB</sub> 3</b>	Muškat moravský 3. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>MM<sub>R</sub> 1</b>	Muškat moravský 1. měření, hrozny Ratíškovice
<b>MM<sub>R</sub> 2</b>	Muškat moravský 2. měření, hrozny Ratíškovice
<b>MM<sub>R</sub> 3</b>	Muškat moravský 3. měření, hrozny Ratíškovice
<b>SG<sub>VB</sub> 1</b>	Sauvignon 1. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>SG<sub>VB</sub> 2</b>	Sauvignon 2. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>SG<sub>VB</sub> 3</b>	Sauvignon 3. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>SG<sub>R</sub> 1</b>	Sauvignon 1. měření, hrozny Ratíškovice
<b>SG<sub>R</sub> 2</b>	Sauvignon 2. měření, hrozny Ratíškovice
<b>SG<sub>R</sub> 3</b>	Sauvignon 3. měření, hrozny Ratíškovice
<b>RR<sub>VB</sub> 1</b>	Ryzlink rýnský 1. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>RR<sub>VB</sub> 2</b>	Ryzlink rýnský 2. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>RR<sub>VB</sub> 3</b>	Ryzlink rýnský 3. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>RR<sub>R</sub> 1</b>	Ryzlink rýnský 1. měření, hrozny Ratíškovice
<b>RR<sub>R</sub> 2</b>	Ryzlink rýnský 2. měření, hrozny Ratíškovice
<b>RR<sub>R</sub> 3</b>	Ryzlink rýnský 3. měření, hrozny Ratíškovice
<b>VZ<sub>VB</sub> 1</b>	Veltlínské zelené 1. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>VZ<sub>VB</sub> 2</b>	Veltlínské zelené 2. měření, hrozny Velké Bílovice

<b>Zkratka</b>	<b>Popis</b>
<b>VZ<sub>VB</sub> 3</b>	Veltlínské zelené 3. měření, hrozny Velké Bílovice
<b>VZ<sub>R</sub> 1</b>	Veltlínské zelené 1. měření, hrozny Ratíškovice
<b>VZ<sub>R</sub> 2</b>	Veltlínské zelené 2. měření, hrozny Ratíškovice
<b>VZ<sub>R</sub> 3</b>	Veltlínské zelené 3. měření, hrozny Ratíškovice
<b>S.A. 1 – 3</b>	1. – 3. Stanovení YAN v roztoku síranu amonném 1. – 3. Stanovení YAN v roztoku hydrogenfosforečnanu
<b>H.D. 1 – 3</b>	diamonného
<b>M</b>	Mošt použitý ke stanovení asimilovatelného dusíku Komerční živná sůl Supervit použitá k zvýšení YAN v moštu, 1.
<b>Sup. 1 – 3</b>	– 3. Měření Komerční živná sůl Maxaferm použitá k zvýšení YAN v moštu,
<b>Max. 1 – 3</b>	1. – 3. Měření Komerční živná sůl Nutrozim použitá k zvýšení YAN v moštu, 1.
<b>Nut. 1 – 3</b>	– 3. Měření Komerční živná sůl Vitaferment PH použitá k zvýšení YAN
<b>Vit.</b>	v moštu, 1. – 3. Měření
$\bar{x} \pm s$	Průměr $\pm$ směrodatná odchylka
<b>VB</b>	Velké Bílovice
<b>R</b>	Ratíškovice
<b>M – U</b>	Mošt určený k úpravě čistými chemikáliemi a komerčními živnými solemi

## 5 EXPERIMENTÁLNÍ METODY

### 5.1 Úprava asimilovatelného dusíku pomocí čistých chemikálií a komerčních živných solí

Úprava YAN proběhla u jednoho moštu a v roztocích čistých chemikálií a roztocích komerčních živných solí. Množství asimilovatelného dusíku pomocí čistých chemikálií a komerčních živných solí (dále jako výživy) se zvyšovalo následujícím způsobem. Do 50 ml baňky byl vytvořen zásobní roztok. Na analytických vahách bylo naváženo 250 mg výživy a přeneseno pomocí vážní misky a stříčky do 50 ml baňky a dolito destilovanou vodou po rysku. Vodné roztoky i mošty byly obohaceny o 500 mg.l<sup>-1</sup> což odpovídá 50g.hl<sup>-1</sup>.

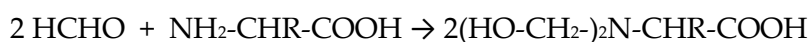
Pro stanovení množství asimilovatelného dusíku v roztocích u jednotlivých výživ se vždy napipetovalo 5 ml zásobního roztoku do 50 ml baňky a doplnilo destilovanou vodou po rysku, vznikl ředěný roztok. Ze zředěného roztoku se napipetovalo 10 ml do kádinky k vlastnímu stanovení a provedla se formaldehydová titrace.

V případě úpravy asimilovatelného dusíku v mošttech se napipetovalo 5 ml zásobního roztoku do 50 ml baňky a po rysku doplnilo moštem, vznikl obohacený mošt. 10 ml obohaceného moštu se napipetovalo do kádinky a provedla se formaldehydová titrace.

### 5.2 Stanovení asimilovatelného dusíku formaldehydovou titrací

U moštů ze všech vybraných odrůd révy vinné, z obou vinařských podoblastí bylo měřeno množství asimilovatelného dusíku pomocí formaldehydové titrace. Formaldehydová metoda slouží jako rychlé a jednoduché zjištění asimilovatelného dusíku (BAROŇ, 2010). Prolin je detekován pouze z 12 – 16 % (GUMP, *et al.*, 2002).

Ke stanovení aminokyselin není možné využít běžné alkalimetrické nebo acidometrické titrace kvůli jejich amfoterní povaze. Aminoskupiny lze zablokovat reakcí s formaldehydem.



Po této reakci se uplatní kyselý charakter karboxylové skupiny a takto modifikované aminokyseliny se mohou titrovat hydroxidem sodným.

Ke stanovení byl použit 0,1 M a 0,01 M roztok hydroxidu sodného a neutrální roztok formaldehydu.

K titraci bylo použito 10 ml ředěného roztoku, přidalo se 40 ml vody a vzorek se titroval (neutralizoval) 0,1 M roztokem NaOH do pH 8,1. Po té se přidalo 5 ml neutralizovaného formaldehydu a po 1 minutě se titrovalo 0,01 M roztokem hydroxidu sodného do bodu ekvivalence pH 8,1. Tímto způsobem se titrovaly mošty s čistými chemikáliemi i s živnými solemi a voda s přídavkem živných solí. Pro přídavek čistých chemikálií do vody byla použita modifikace podle BARTÍKOVÉ – ŠÍROVÉ A VESELÉHO (1966). Vzorky vody se síranem amonným a hydrogenfosforečnanem diamonným se titrovaly do bodu ekvivalence pH 7,0. Pomocí spotřeby 0,01 M hydroxidu sodného se vypočítalo množství asimilovatelného dusíku ze vzorce:

$$\text{YAN} = a * 0,14 * 100 * f$$

YAN – množství asimilovatelného dusíku v  $\text{mg.l}^{-1}$

a – spotřeba 0,01 M NaOH v ml

f – faktor 0,01 M NaOH

1 ml 0,01 M NaOH odpovídá 0,14 mg N

### 5.3 Stanovení obsahu titrovatelných kyselin

Celková kyselost se vyjadřuje pomocí titrovatelných kyselin, ty zahrnují všechny typy kyselin, organické, i anorganické. Na obsah titrovatelných kyselin má vliv odrůda a také stanoviště. Obsah veškerých kyselin v moštu závisí především na koncentraci kyseliny vinné a kyseliny jablečné (BALÍK, 2006). S množstvím kyselin úzce souvisí pH moštu. Pomocí pH se vyjadřuje stupeň kyselosti. Hodnota pH je záporný dekadický logaritmus vodíkových iontů v roztoku. Mošty nebo vína, která mají stejnou titrační kyselost, se od sebe liší koncentrací vodíkových iontů (FARKAŠ, 1980). Jde o bez jednotkový parametr, který má hodnotu 0 až 14. Hodnota pH se pohybuje v rozmezí 2,8 – 3,8; ideální je 3,1 – 3,4 (PAVLOUŠEK, 2011).



Obsah titrovatelných kyselin byl stanoven potenciometrickou titrací. Ke stanovení bylo vždy použito 10 ml moštu. Nejprve se změřilo pomocí kalibrovaného pH-metru pH a po té se přidalo 40 ml vody a vzorek se titroval 0,1 M roztokem NaOH do pH 8,1. Ze spotřeby hydroxidu sodného o známém faktoru se vypočítalo množství titrovatelných kyselin podle vzorce:

$$x = a * f * 0,0075 * 100 / n$$

x – obsah veškerých kyselin v %

a – spotřeba 0,1 M NaOH v ml

f – faktor 0,1 M NaOH

n – množství vzorku napipetovaného k titraci v ml

1 ml 0,1 M NaOH odpovídá 0,0075 g kyseliny vinné

#### 5.4 Stanovení obsahu rozpustné sušiny

Rozpustná sušina byla stanovena refraktometricky pomocí Abbeho refraktometru. Refraktometr pracuje na principu indexu lomu světla v cukerném roztoku. Před samotným měřením bylo nutné refraktometr seřídit. Na hranol otevřeného refraktometru se kápló pár kapek vody, hranol se uzavřel a přístroj se seřídil tak, aby ukazoval refrakci 0°. Při vlastním měření se na hranol refraktometru kápló malé množství moštu, hranol se uzavřel. Až hranice světla a stínu protнула nitkový kříž zorného pole, na stupnici se zjistil stupeň rozpustné sušiny ve stupních Brix (°Bx).

Cukernatost hroznů při sběru se v České republice uvádí ve stupních normalizovaného moštoměru (°NM). Stupně normalizovaného moštoměru udávají počet kilogramů cukru na 100 l moštu. Přepočít rozpustné sušiny ve °Bx na °NM je uveden v tabulce 2. Cukernatost je hodnota, která udává množství zkvasitelných cukrů v moštu, vyjádřených ve stupních normalizovaného moštoměru (Zákon č. 321/2004 Sb.). Podle cukernatosti jsou vína rozdělena do několika jakostních tříd. Víno od 14°NM je označováno jako moravské zemské, od 15°NM je víno označeno jako jakostní, kabinetní víno má minimálně 19°NM, jako pozdní sběr je označeno víno s alespoň 21°NM, s min. 24°NM je označováno víno jako výběr z hroznů.

**Tabulka 3:** *Přepočet obsahu cukru ze °Bx na °NM (BALÍK, 1998).*

<b>Rozpustná sušina</b> [°Bx]	<b>Obsah cukru</b> [°NM]	<b>Rozpustná sušina</b> [°Bx]	<b>Obsah cukru</b> [°NM]
15,8	14,1	19,0	17,8
16,1	14,3	19,5	18,4
16,3	14,6	19,7	18,7
16,5	14,9	19,5	20,7
16,8	15,2	20,0	18,9
17,0	15,4	20,6	19,7
17,5	15,8	21,1	20,2
18,1	16,7	22,0	21,3
18,6	17,3	22,9	21,9

## 5.5 Statistické vyhodnocení

Data z analytických měření byla zpracována v programu Microsoft Excel 2010 a programu Statistica.

V případě vyhodnocení výsledků u měření pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu YAN byl stanoven průměr a směrodatná odchylka.

Úprava asimilovatelného dusíku pomocí čistých chemikálií a komerčních živných solí byla vyhodnocena analýzou variance mezi jednotlivými přidanými výživami, vinařskými podoblastmi a odrůdami.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V tabulkách 4 – 13 jsou uvedeny výsledky stanovení pH, obsahu cukru, titrovatelných kyselin a množství asimilovatelného dusíku v moštích z jednotlivých odrůd z obou vinařských podoblastí. Pro každou odrůdu byly provedeny 3 měření. Dále jsou zde uvedeny průměrné hodnoty jednotlivých měření. Stejná data jsou i v tabulce 14, která uvádí analýzu moštu určeného pro úpravu komerčními živnými solemi a čistými chemikáliemi.

PAVLOUŠEK (2011) uvádí, že ideální pH moštu pro alkoholovou fermentaci je 3,1 – 3,4. V tomto intervalu se pohyboval mošt Müllera Thurgau - VB, Muškátu moravského - VB, Sauvignonu - R, Ryzlinku rýnského - VB, Veltlínského zeleného - VB a mošt - U z tabulky 14. Hodnota pH se může pohybovat v rozmezí 2,8 – 3,8. V případě, že je hodnota pod 3,1 doporučuje se mošt odkyselit a pokud je hodnota nad 3,4 je vhodné do moštu kyseliny přidat. pH nižší než 3,1 bylo u moštů z Veltlínského zeleného - R a Ryzlinku rýnského - R, naopak vyšší pH 3,66 bylo u Müllera Thurgau - VB; pH 3,49 měl Muškát moravský – R a Sauvignon – VB.

Obsah cukru se u všech odrůd pohyboval v rozmezí 15,4 až 22,5 °NM. Nejméně cukru obsahoval Müller Thurgau a Muškát moravský z Velkých Bílovic. Tyto hodnoty mohly být způsobeny raným termínem sklizně a polohou vinice. Naopak nejvíce cukru obsahoval Ryzlink rýnský z Velkých Bílovic ležící na jižním svahu. Podle FARKAŠE, (1980) má tedy ideální polohu, aby dosahoval vysokých cukernatostí a mošt určený k úpravě asimilovatelného dusíku.

Obsah titrovatelných kyselin měl poměrně velké rozpětí, jeho hodnoty se pohybovaly od 4,6 g.l<sup>-1</sup> do 8,2 g.l<sup>-1</sup>. Mošt Müllera Thurgau – VB měl vzhledem k obsahu cukru 18,1 °NM optimální obsah kyselin 7,7 g.l<sup>-1</sup>. Optimální množství kyselin měl i mošt z Muškátu moravského – VB, Muškátu moravského – R, Sauvignonu – VB, Sauvignonu – R, Ryzlinku rýnského – R a Veltlínského zeleného – R. Mošt z Müllera Thurgau – R měl obsah titrovatelných kyselin 6,3 g.l<sup>-1</sup> a cukernatost 21,2 °NM, jelikož kyseliny v průběhu fermentace a školení vína ještě vypadnou, bylo by vhodné tento mošt přikyselit. Nízký obsah kyselin měl i mošt z Ryzlinku rýnského – VB pouze 5,1 g.l<sup>-1</sup>, Veltlínské zelené – VB s obsahem kyselin 4,6 g.l<sup>-1</sup> a mošt – U 5,1 g.l<sup>-1</sup>.

V tabulce 1 je uvedena potřeba asimilovatelného dusíku v závislosti na cukernatosti moštu. Podle této tabulky je dostatečné množství YAN téměř u všech

měřených moštů kromě Ryzlinku rýnského – VB, který obsahuje při cukernatosti  $22,5 \pm 0,2$  °NM  $184 \pm 2$  mg.l<sup>-1</sup> asimilovatelného dusíku. Toto množství je však podle PAVLOUŠKA (2013) dostatečné proto, aby měla alkoholová fermentace zdárný průběh. Uvádí, že minimální množství asimilovatelného dusíku pro zdárný průběh alkoholové fermentace je 150 mg.l<sup>-1</sup>. Nedostatečné množství má také vzorek Ryzlinku rýnského – R, který obsahuje při cukernatosti  $19,6 \pm 0$  °NM pouze  $138 \pm 1$  mg.l<sup>-1</sup> YAN. Poslední vzorek moštu, který obsahuje malé množství asimilovatelného dusíku je mošt určený k úpravě výživami. Při cukernatosti  $21,9 \pm 0,2$  °NM obsahuje  $154 \pm 5$  mg.l<sup>-1</sup> YAN. Jsou i případy, kdy je přídavek výživy do moštu spíše škodlivý. Podle BELLY *et al.*, (1990) je přídavek škodlivý pokud hroznový mošt obsahuje 200 – 350 mg.l<sup>-1</sup> asimilovatelného dusíku. V rozmezí této hodnoty se pohybovaly pouze dva ze stanovovaných moštů a to Muškát moravský – R s hodnotou  $282 \pm 19$  mg.l<sup>-1</sup> YAN a Sauvignon – R s  $208 \pm 5$  mg.l<sup>-1</sup> asimilovatelného dusíku. Při formaldehydové titraci byl částečně stanoven také prolin, který kvasinky neumějí využít. Tím se tedy zvyšuje množství asimilovatelného dusíku ve všech měřených vzorcích.

**Tabulka 4:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy *Müller Thurgau* (MT – VB), vinařská obec Velké Bílovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
MT <sub>VB</sub> 1	3,25	14,9	7,9	114
MT <sub>VB</sub> 2	3,19	14,9	7,8	114
MT <sub>VB</sub> 3	3,18	16,5	7,3	153
$\bar{x} \pm s$	$3,21 \pm 0,03$	$15,4 \pm 0,7$	$7,7 \pm 0,3$	$127 \pm 18$

**Tabulka 5:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy *Müller Thurgau* (MT – R), vinařská obec Ratiškovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
MT <sub>R</sub> 1	3,64	18,9	6,3	162
MT <sub>R</sub> 2	3,68	18,7	6,3	158
MT <sub>R</sub> 3	3,66	18,9	6,2	159
$\bar{x} \pm s$	$3,66 \pm 0,02$	$18,8 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,1$	$160 \pm 2$

**Tabulka 6:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy **Muškat moravský (MM – VB)**, vinařská obec Velké Bílovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
MM <sub>VB</sub> 1	3,31	15,8	6,5	162
MM <sub>VB</sub> 2	3,39	16,1	7,0	166
MM <sub>VB</sub> 3	3,33	16,0	6,4	160
$\bar{x} \pm s$	3,34±0,03	15,9±0,1	6,6±0,3	163±2

**Tabulka 7:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy **Muškat moravský (MM – R)**, vinařská obec Ratiškovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
MM <sub>R</sub> 1	3,47	18,4	8,2	265
MM <sub>R</sub> 2	3,49	18,2	8,2	273
MM <sub>R</sub> 3	3,50	18,7	7,9	309
$\bar{x} \pm s$	3,49±0,01	18,4±0,2	8,1±0,1	282±19

**Tabulka 8:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy **Sauvignon (SG – VB)**, vinařská obec Velké Bílovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
SG <sub>VB</sub> 1	3,22	18,0	8,2	143
SG <sub>VB</sub> 2	3,22	18,4	8,2	143
SG <sub>VB</sub> 3	3,22	18,4	8,3	143
$\bar{x} \pm s$	3,49±0,01	18,3±0,2	8,2±0,1	143±0

**Tabulka 9:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy **Sauvignon (SG – R)**, vinařská obec Ratiškovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
SG <sub>R</sub> 1	3,25	20,4	7,7	215
SG <sub>R</sub> 2	3,27	20,6	8,1	202
SG <sub>R</sub> 3	3,25	20,9	7,9	206
$\bar{x} \pm s$	3,26±0,01	20,6±0,2	7,9±0,2	208±5

**Tabulka 10:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy *Ryzlink rýnský (RR – VB)*, vinařská obec Velké Bílovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
RR <sub>VB</sub> 1	3,13	22,7	5,0	182
RR <sub>VB</sub> 2	3,16	22,3	5,1	186
RR <sub>VB</sub> 3	3,16	22,5	5,1	185
$\bar{x} \pm s$	3,15±0,01	22,5±0,2	5,1±0,1	184±2

**Tabulka 11:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy *Ryzlink rýnský (RR – R)*, vinařská obec Ratiškovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
RR <sub>R</sub> 1	2,90	16,6	7,9	136
RR <sub>R</sub> 2	3,00	16,6	8,2	138
RR <sub>R</sub> 3	2,90	16,6	7,9	139
$\bar{x} \pm s$	2,93±0,05	19,6±0	8,0±0,1	138±1

**Tabulka 12:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy *Veltlínské zelné (VZ – VB)*, vinařská obec Velké Bílovice.

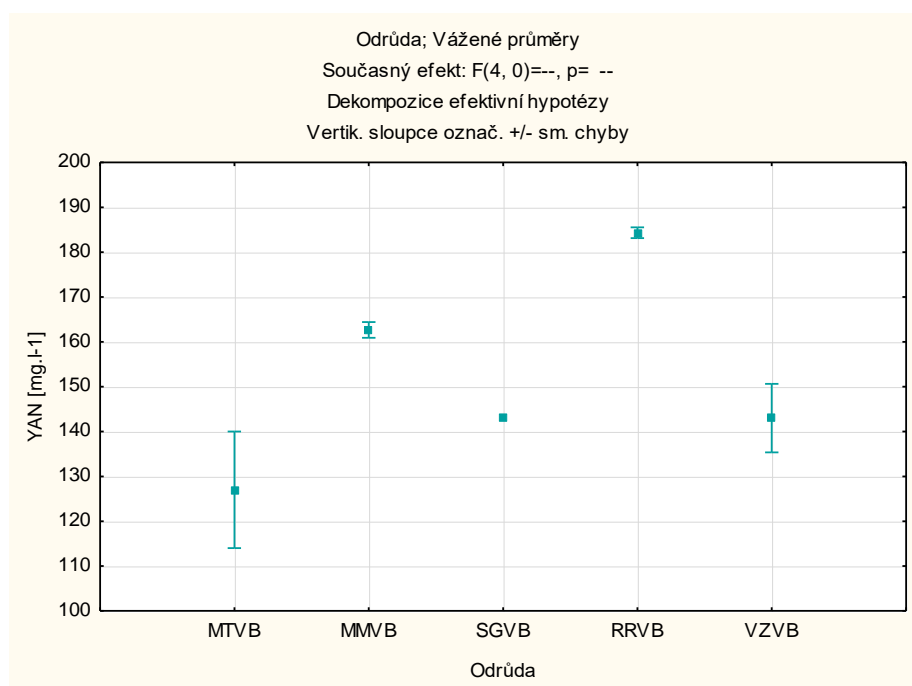
Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
VZ <sub>VB</sub> 1	3,17	17,8	4,8	153
VZ <sub>VB</sub> 2	3,13	17,8	4,7	128
VZ <sub>VB</sub> 3	3,14	18,1	4,4	148
$\bar{x} \pm s$	3,15±0,02	17,9±0,1	4,6±0,2	143±11

**Tabulka 13:** Výsledky analýzy pH, obsahu cukru, obsahu titrovatelných kyseliny a obsahu asimilovatelného dusíku moštů z odrůdy *Veltlínské zelené (VZ – R)*, vinařská obec Ratiškovice.

Odrůda	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
VZ <sub>R</sub> 1	2,91	17,2	7,2	109
VZ <sub>R</sub> 2	3,00	17,2	7,4	106
VZ <sub>R</sub> 3	3,00	17,8	7,1	95
$\bar{x} \pm s$	2,97±0,04	17,4±0,3	7,2±0,1	103±6

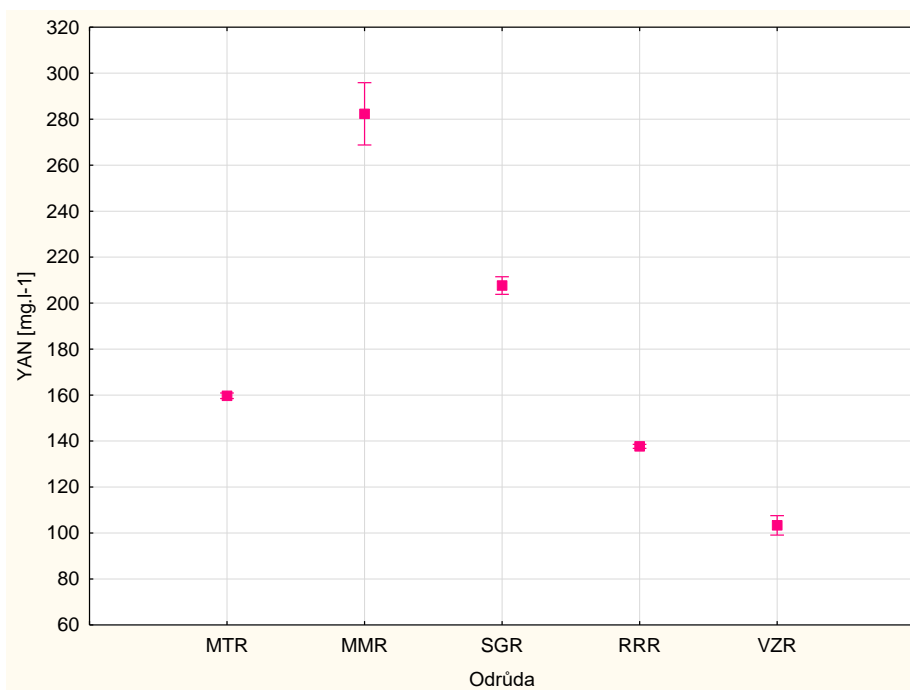
**Tabulka 14:** Výsledky analýzy pH, obsahu moštu, obsahu titrovatelných kyselin a obsahu asimilovatelného dusíku u moštu použitého k úpravě čistými chemikáliemi a komerčními živnými solemi.

Měření	pH	Obsah cukru [°NM]	Titrovatelné kyseliny [g.l <sup>-1</sup> ]	YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
1.	3,28	22,2	5,2	147
2.	3,31	21,7	5,1	158
3.	3,25	21,9	5,1	156
$\bar{x} \pm s$	3,28±0,02	21,9±0,2	5,1±0,1	154±5



**Obrázek 1:** Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku u všech odrůd (MT, MM, SG, RR a VZ) z Velkopavlovické vinařské podoblasti (Velké Bílovice). Interval spolehlivosti 0,95.

Na obrázku 1 je vidět, že mošty z Velkopavlovické vinařské podoblasti mohou mít dostatečné množství asimilovatelného dusíku pro zdárný průběh fermentace, ale i nedostatečné množství YAN, které je nejspíše způsobeno nedostatečným hnojením a stářím vinic. Veltlínské zelené pochází z vinice 50 let staré a Müller Thurgau se Sauvignon z 19 leté vinice.

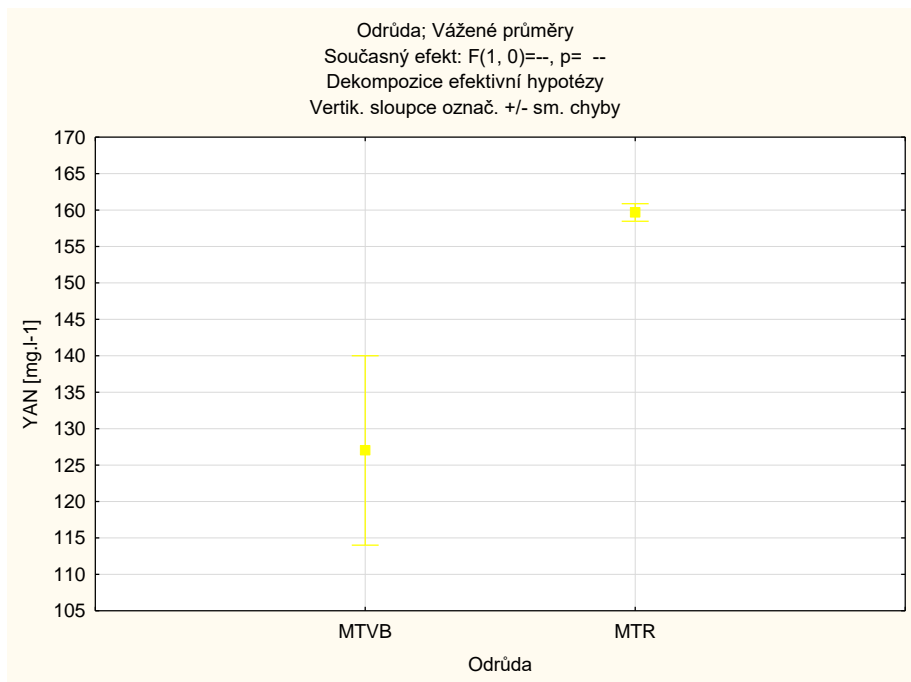


**Obrázek 2:** Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku u všech odrůd (MT, MM, SG, RR a VZ) ze Slovácké vinařské podoblasti (Ratiškovice). Interval spolehlivosti 0,95.

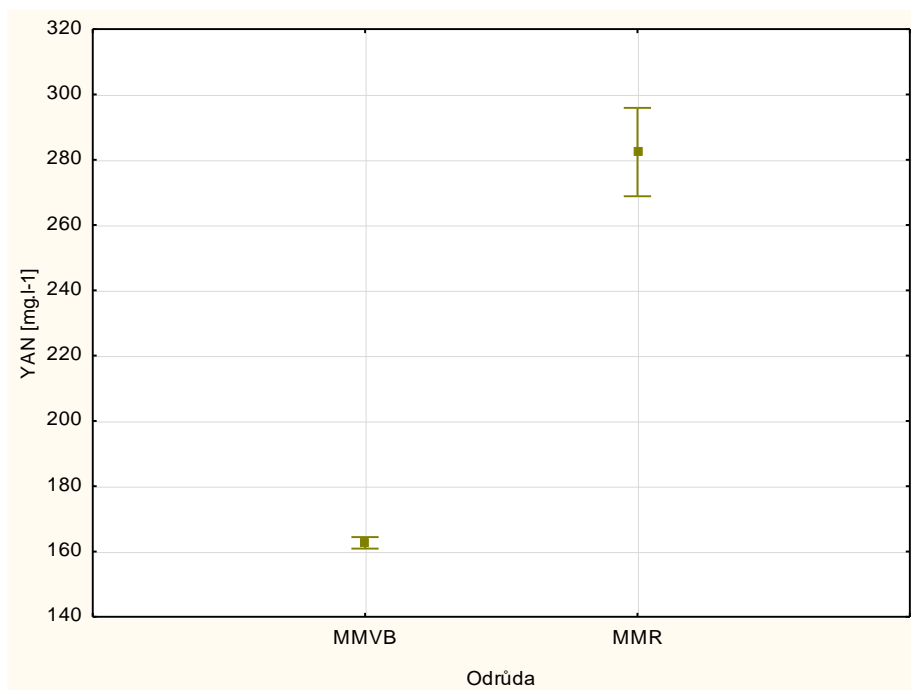
Muškrát moravský, Sauvignon a Ryzlink rýnský ze Slovácké vinařské podoblasti pocházejí z mladé, tří - leté vinice. Obsah živin a tedy i asimilovatelného dusíku je zde dostatečný u Muškátu moravského a Sauvignonu. Ryzlink rýnský má obsah YAN pod vhodnou minimální hodnou ( $150 \text{ mg.l}^{-1}$ ) pro zdárný průběh alkoholové fermentace -  $138 \pm 1 \text{ mg.l}^{-1}$ . Mohlo by to být způsobeno odrůdou, protože Ryzlink rýnský je podle STEIDLA, RENNERA (2004) náročný na polohu vinice a vyžaduje vyrovnané hnojení dusíkem. Veltlínské zelené a Müller Thurgau pocházejí z vinice 30 let staré, mohl by to být důvod jejich nízkého obsahu asimilovatelného dusíku, protože kořeny jsou už poměrně hluboko a dusík dodávaný do půdy se k nim nedostane v dostatečném množství.

Z obrázku 3 vyplývá, že množství asimilovatelného dusíku je statisticky významně vyšší u Mülleru Thurgau ze Slovácké vinařské podoblasti. Mošt z Ratiškovic obsahoval  $160 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN, zatímco mošt z Velkých Bílovic  $127 \pm 18 \text{ mg.l}^{-1}$ .





**Obrázek 3:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Müller Thurgau z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.*



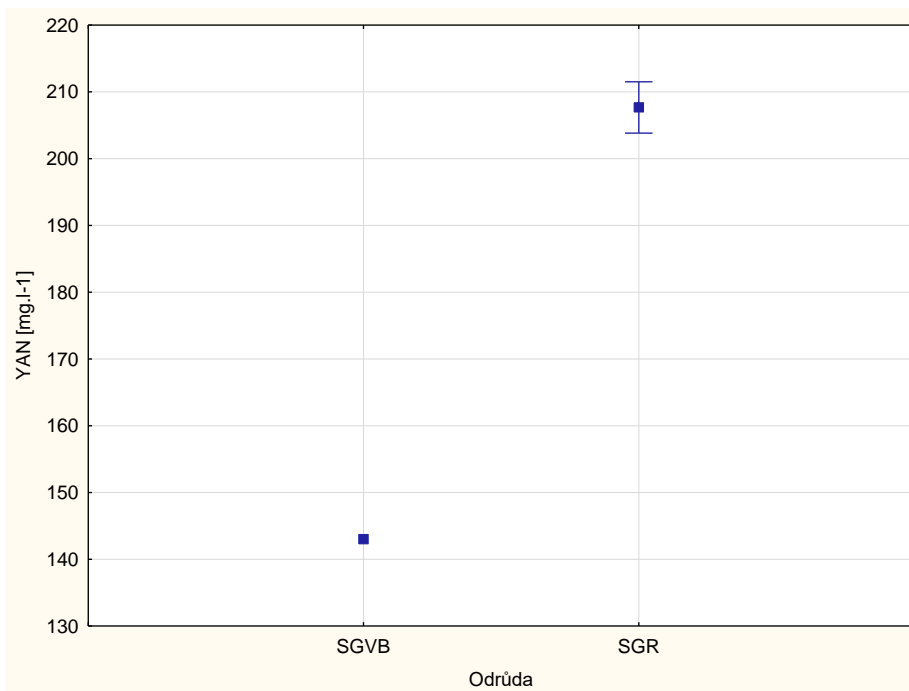
**Obrázek 4:** *Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Muškát moravský z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.*

I u moštů z Muškátu moravského znázorněného na obrázku 4 byl obsah asimilovatelného dusíku statisticky významně vyšší ve Slovácké vinařské podoblasti. U této odrůdy ale byly hodnoty u moštů z obou oblastí dostatečné pro správný průběh alkoholové fermentace.

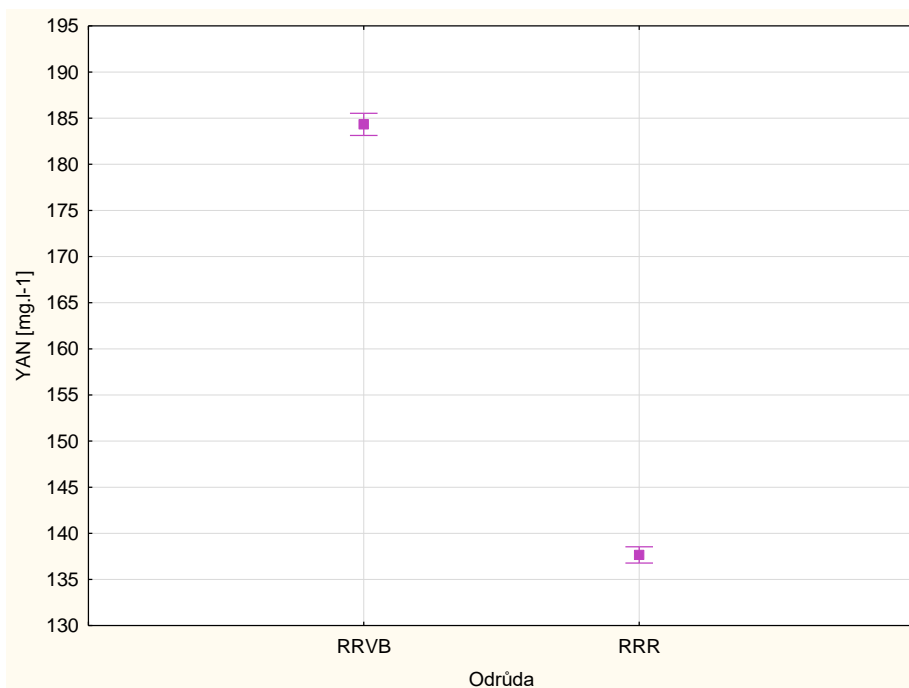
Obrázek 5 zobrazuje množství asimilovatelného dusíku v obou vinařských podoblastech v moštích z odrůdy Sauvignon. Průměrně  $208 \pm 5 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN obsahoval mošt ze Slovácké vinařské podoblasti. Méně asimilovatelného dusíku obsahoval Sauvignon z Velkopavlovické vinařské podoblasti. Nejspíše je to způsobeno nedostatečnou dávkou dusíku ve vinici při hnojení.

Srovnání obsahu asimilovatelného dusíku Ryzlinků rýnských je na obrázku 6. V tomto případě bylo množství asimilovatelného dusíku vyšší u Ryzlinku rýnského z Velkopavlovické vinařské podoblasti. Obsahoval  $184 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN. Ryzlink rýnský ze Slovácké podoblasti obsahoval  $138 \pm 1 \text{ mg.l}^{-1}$  asimilovatelného dusíku.

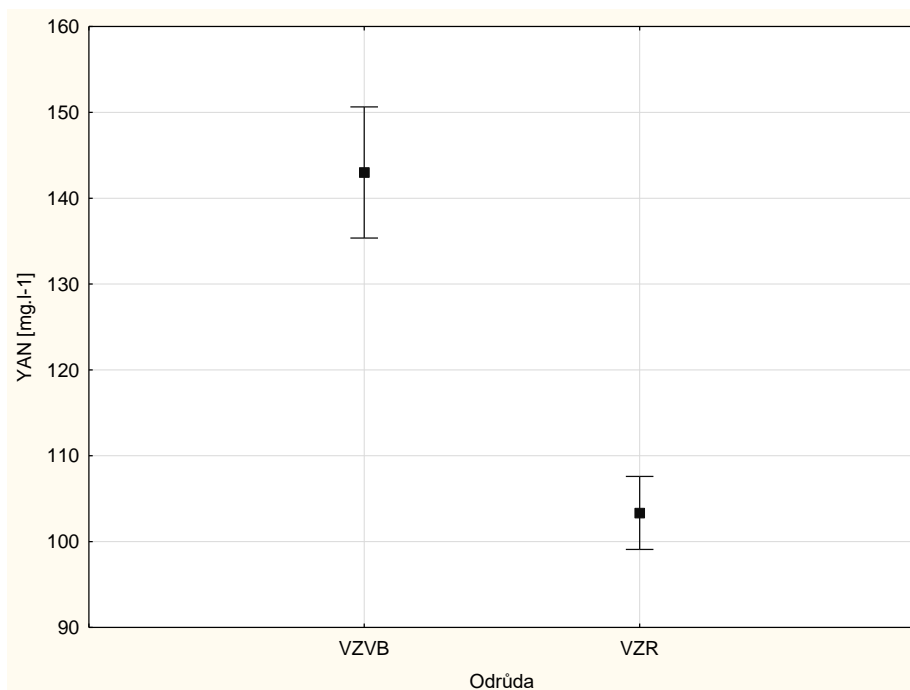
Obrázek 7 ukazuje porovnání moštů pocházejících z odrůdy Veltlínské zelené. Mošt z Velkopavlovické vinařské podoblasti pochází z 50 let staré vinice a mošt ze Slovácké vinařské podoblasti z 30 let staré vinice. Oba mošty jsou z poměrně starých vinic a obsah asimilovatelného dusíku je tedy nižší. STEIDEL A RENNER (2004) uvádějí, že pokud má révový keř vyrovnaný růst a celkově prospívá, tak ukládá více zásobních látek do starého dřeva a kořenů. V tomto případě révový keř nejspíše už zásobní látky vyčerpал a mohl být přetěžován velkými výnosy v minulých letech. Mošt z veltlínského zeleného z Velkých Bílovic obsahoval  $143 \pm 11 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN a mošt z Ratíškovic pouze  $103 \pm 6 \text{ mg.l}^{-1}$ .



**Obrázek 5:** Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Sauvignon z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.



**Obrázek 6:** Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Ryzlink rýnský z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.



**Obrázek 7:** Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku odrůdy Veltlínské zelené z Velkopavlovické vinařské podoblasti a Slovácké vinařské podoblasti. Interval spolehlivosti 0,95.

V tabulce 15 jsou výsledky stanovení asimilovatelného dusíku v roztocích čistých chemikálií a v moštu po zvýšení asimilovatelného dusíku pomocí čistých chemikálií. Hroznový mošt použitý k analýzám s přidavkem výživ obsahoval  $154 \pm 5$  mg.l<sup>-1</sup> YAN. Čistých chemikálií bylo v obou případech přidáno 500 mg.l<sup>-1</sup> což odpovídá 106 mg.l<sup>-1</sup> asimilovatelného dusíku z hydrogenfosforečnanu diamonného a 105 mg.l<sup>-1</sup> asimilovatelného dusíku ze síranu amonného.

Teoreticky samotný hydrogenfosforečnan diamonný obsahuje  $106 \pm 0$  mg.l<sup>-1</sup> asimilovatelného dusíku. Při opakovaném měření prakticky vycházela tato hodnota  $133 \pm 1$  mg.l<sup>-1</sup>, tedy o 27 mg.l<sup>-1</sup> více. Mošt a hydrogenfosforečnan diamonný by teoreticky měly obsahovat  $260 \pm 0$  mg.l<sup>-1</sup> YAN, skutečná hodnota byla  $273 \pm 4$  mg.l<sup>-1</sup> YAN. I zde tedy vycházela vyšší hodnota. Po přidání (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> by mošt obsahoval dostatek asimilovatelného dusíku pro správný průběh alkoholové fermentace, který by podle PAVLOUŠKA (2013) měl být při cukernatosti  $21,9 \pm 0,2$  °NM 225 mg.l<sup>-1</sup> asimilovatelného dusíku.

Teoreticky samotný síran amonný obsahuje  $105 \pm 0$  mg.l<sup>-1</sup> YAN. Při skutečném stanovení tato hodnota vycházela vyšší,  $127 \pm 1$  mg.l<sup>-1</sup> YAN. Mošt a síran amonný by

měly teoreticky obsahovat  $259 \pm 0 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN. Tato hodnota ve skutečnosti byla o  $18 \text{ mg.l}^{-1}$  vyšší. I po přidání síranu amonného by měl mošt při cukernatosti  $21,9 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{NM}$  dostatek asimilovatelného dusíku pro správný průběh kvašení.

U všech použitých přístrojů ke stanovení množství asimilovatelného dusíku proběhla řádná kalibrace, přesné napipetování a titrace. Rozdílné hodnoty jsou nejspíše způsobeny rozdílným chováním čistých chemikálií samostatně v roztocích a v moštích.

**Tabulka 15:** Stanovení asimilovatelného dusíku v roztocích čistých chemikálií a v moštu po zvýšení YAN čistými chemikáliemi.

Vzorky čistých chemikálií/ Mošt s přidavkem čistých chemikálií	Stanovený YAN [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	Teoretický YAN [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]
<b>Hydrogenfosforečnan diamonný</b>		
H.D. 1	134	-
H.D. 2	134	-
H.D. 3	131	-
$\bar{x} \pm s$	$133 \pm 1$	$106 \pm 0$
M + H.D. 1	272	-
M + H.D. 2	278	-
M + H.D. 3	269	-
$\bar{x} \pm s$	$273 \pm 4$	$260 \pm 0$
<b>Síran amonný</b>		
S.A. 1	127	-
S.A. 2	128	-
S.A. 3	125	-
$\bar{x} \pm s$	$127 \pm 1$	$105 \pm 0$
M + S.A. 1	279	-
M + S.A. 2	278	-
M + S.A. 3	273	-
$\bar{x} \pm s$	$277 \pm 3$	$259 \pm 0$

V tabulce 16 jsou výsledky stanovení obsahu asimilovatelného dusíku v roztocích komerčních živných solí a v moštu po přidavku komerčních živných solí. Mošt použitý k úpravě YAN obsahoval  $154 \pm 5 \text{ mg.l}^{-1}$  asimilovatelného dusíku. Obsah YAN byl zvyšován o  $500 \text{ mg.l}^{-1}$ , což odpovídá  $50 \text{ g.hl}^{-1}$ . Tato hodnota odpovídá doporučenému dávkování od výrobců komerčních živných solí. Doporučené dávkování se pohybuje od  $10$  do  $70 \text{ g.hl}^{-1}$ .

První přidávanou živnou solí byl Maxaferm. Samostatný Maxaferm zvyšoval množství asimilovatelného dusíku ze všech měřených komerčních živných solí nejméně, o  $28 \pm 1 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN. Tento přípravek byl nejdražší a v praxi by ho bylo potřeba více než jiných výživ, tím by se náklady na něj ještě více zvýšily. Při přidání této výživy do moštu bylo zvýšení YAN vyšší o  $31 \text{ mg.l}^{-1}$ , než by mělo být proti samostatnému Maxafermu. Vzhledem k cukernatosti moštu  $21,9 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{NM}$  by byl podle tabulky 1 obsah asimilovatelného dusíku  $213 \pm 1 \text{ mg.l}^{-1}$  po přidání výživy dostatečný.

Druhou výživou, která byla použita, byl Nutrozim. Čistý Nutrozim obsahoval  $56 \pm 8 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN. V moštu jeho navýšení při stejné navážce bylo opět jednou tak vyšší než ve vodě. Po navýšení asimilovatelného dusíku v moštu bylo jeho množství dostatečné pro správný průběh alkoholové fermentace.

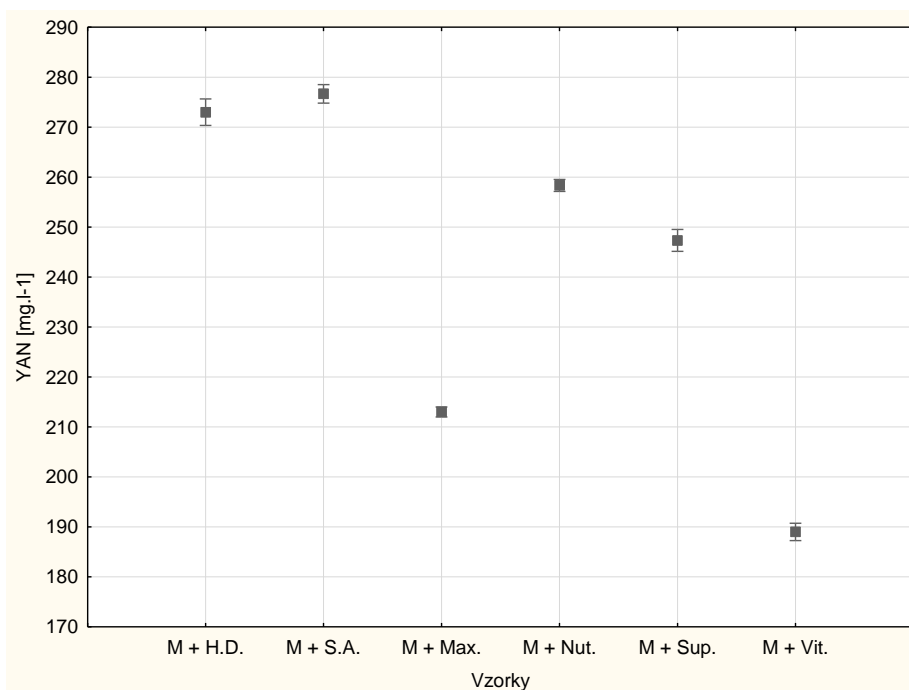
Další použitou komerční živnou solí byl Supervit. Asimilovatelný dusík se touto výživou zvyšoval nejvíce, o  $68 \pm 1 \text{ mg.l}^{-1}$ , tato živná sůl ale neobsahuje thiamin a buněčné stěny kvasinek. Tyto komponenty obsahuje přípravek Nutrozim, který zvyšoval YAN o  $56 \pm 8 \text{ mg.l}^{-1}$ . I zde bylo u přídatku do moštu naměřeno větší navýšení asimilovatelného dusíku. Mošt s přídatkem Supervitu obsahoval  $247 \pm 3 \text{ mg.l}^{-1}$  YAN. Podle literárních zdrojů je to dostatečné množství pro optimální rychlost alkoholové fermentace.

Jako poslední z komerčních živných solí byl použit Vitaferment PH. Vitaferment PH v roztoku zvýšil množství asimilovatelného dusíku o  $42 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$ . Po přidání do moštu byla hodnota YAN  $189 \pm 3 \text{ mg.l}^{-1}$ . V tomto případě byl rozdíl v navýšení YAN ve vodě a moštu nejmenší. Podle PAVLOUŠKA (2011) by při této hodnotě proběhla fermentace bez problému, ale s ohledem na cukernatost moštu by tato hodnota byla nedostačující.

Stejně jako v případě čistých chemikálií vycházelo při stanovení navýšení asimilovatelného dusíku menší u roztoků výživ s vodou. V moštech bylo navýšení YAN ve třech případech jednou tak vyšší, než ve vodě, což může souviset s kyselým prostředím moštu, který mohl uvolnit více asimilovatelného dusíku. Pokud vezmeme v potaz navýšení pouze asimilovatelného dusíku, vysoce obohacovala nejlevnější komerční živná sůl Supervit. Naopak nižší množství bylo stanoveno u nejdražší komerční živné soli Maxaferm, která však obsahuje další významné komponenty vedle asimilovatelného dusíku důležité pro alkoholové kvašení.

**Tabulka 16:** Stanovení *asimilovatelného dusíku* v roztocích komerčních živných solí a v moštu po zvýšení YAN komerčními živnými solemi.

Vzorky živných solí/ Mošt s přísadkou živných solí	Stanovený YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]	Teoretický YAN [mg.l <sup>-1</sup> ]
<b>Maxaferm</b>		
Max. 1	29	-
Max. 2	28	-
Max. 3	28	-
$\bar{x} \pm s$	28 ± 1	-
M + Max. 1	212	-
M + Max. 2	212	-
M + Max. 3	215	-
$\bar{x} \pm s$	213 ± 1	182 ± 1
<b>Nutrozim</b>		
Nut. 1	64	-
Nut. 2	45	-
Nut. 3	58	-
$\bar{x} \pm s$	56 ± 8	-
M + Nut. 1	259	-
M + Nut. 2	256	-
M + Nut. 3	260	-
$\bar{x} \pm s$	258 ± 2	210 ± 8
<b>Supervit</b>		
Sup. 1	67	-
Sup. 2	70	-
Sup. 3	68	-
$\bar{x} \pm s$	68 ± 1	-
M + Sup. 1	243	-
M + Sup. 2	249	-
M + Sup. 3	250	-
$\bar{x} \pm s$	247 ± 3	222 ± 1
<b>Vitaferment PH</b>		
Vit. 1	39	-
Vit. 2	45	-
Vit. 3	42	-
$\bar{x} \pm s$	42 ± 2	-
M + Vit. 1	189	-
M + Vit. 2	186	-
M + Vit. 3	192	-
$\bar{x} \pm s$	189 ± 3	196 ± 3



**Obrázek 8:** Analýza variance obsahu asimilovatelného dusíku v moštu po jeho navýšení o 50 g.hl<sup>-1</sup> pomocí čistých chemikálií a komerčních živných solí. Interval spolehlivosti 0,95.

Na obrázku 8 je znázorněno srovnání množství asimilovatelného dusíku v moštu po jeho navýšení pomocí čistých chemikálií a komerčních živných solí. Nejvíce obsah asimilovatelného dusíku navýšily čisté chemikálie. Z komerčních živných solí nejlépe dopadl Nutrozim s obsahem YAN 258 ± 2 mg.l<sup>-1</sup>. Podle jeho ceny 650 Kč za 1 kg jsem očekávala, že tento výrobek bude kvalitní. Očekávání splnil, jelikož navýšil množství asimilovatelného dusíku tak, aby alkoholová fermentace proběhla bez problému. Na druhém místě se umístil přípravek Supervit. Tento přípravek bych zařadila mezi základní výživy, které neobohacují mošt o thiamin a další prospěšné látky. Přesto navýšil množství asimilovatelného dusíku o potřebné množství a pro praxi doporučila. Na třetím místě se umístila výživa Maxaferm. Mošt po navýšení asimilovatelného dusíku touto živnou solí obsahoval 213 ± 1 mg.l<sup>-1</sup> YAN, tedy dostatečné množství pro zdárný průběh fermentace. Přesto mě tato komerční živná sůl zklamala. Navýšení asimilovatelného dusíku bylo nízké, její cena 830 Kč za 1 Kg poměrně vysoká a nejhůře se rozmíchávala. To by znamenalo i horší aplikaci v praxi ve větším množství. Jako čtvrtá se umístila komerční živná sůl Vitaferment PH. Výrobce uvádí, že 50 g.hl<sup>-1</sup> zvýší obsah asimilovatelného dusíku o 100 mg.l<sup>-1</sup>. Podle stanovení by 50 g.hl<sup>-1</sup> navýšilo obsah



YAN pouze o  $42 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$ , což zcela neodpovídá uvedené hodnotě. Mošt po navýšení YAN obsahoval  $189 \pm 3 \text{ mg.l}^{-1}$  asimilovatelného dusíku. Alkoholová fermentace by zde tedy proběhla bez problému, ale množství asimilovatelného dusíku by podle tabulky 1 mělo být vyšší.

## 7 ZÁVĚR

V diplomové práci je popsán význam a řízení obsahu asimilovatelného dusíku v mošttech. Asimilovatelný dusík je v hroznových mošttech potřebný pro správný průběh alkoholové fermentace. Za vhodný zdroj dusíku je považována zejména aminokyselinový dusík a amonné ionty, které jsou využitelné pro kvasinky. Pro bezproblémový průběh alkoholové fermentace je potřeba, aby mošt obsahoval minimálně  $150 \text{ mg.l}^{-1}$  asimilovatelného dusíku.

V rámci experimentální části diplomové práce byly vytvořeny v roce 2016 mošty z pěti bílých odrůd révy vinné ze dvou vinařských podoblastí. Mezi vybrané odrůdy patřil Müller Thurgau, Muškát moravský, Sauvignon, Ryzlink rýnský a Veltlínské zelené. První pěstitelskou lokalitou sklizených hroznů byly Velké Bílovice – Velkopavlovická vinařská podoblast a druhou zvolenou lokalitou Ratíškovice – Slovácká vinařská podoblast. Pro lepší porovnání byly jednotlivé odrůdy sklizeny ve stejných termínech z obou vinařských podoblastí. U získaného moštu byl stanoven obsah titrovatelných kyselin, pH, cukernatost, množství asimilovatelného dusíku formaldehydovou titrací a obsah asimilovatelného dusíku byl upraven pomocí čistých chemikálií (hydrogenfosforečnanu diamonného a síranu amonného) a komerčních živných solí (Maxaferm, Nutrozim, Vitaferment PH, Supervit) a následně stanoveno množství asimilovatelného dusíku.

Obsah titrovatelných kyselin se pohyboval v rozmezí  $4,6 - 8,2 \text{ g.l}^{-1}$ . V praxi by tedy bylo nutné některé mošty dokyselit a některé naopak odkyselit, i když hodnota  $8,2 \text{ g.l}^{-1}$  není až tak vysoká, ale v ročníku 2016 se vyskytovalo více kyseliny jablečné, která působí kyseleji oproti kyselině vinné. Rozpětí obsahu titrovatelných kyselin odpovídaly i hodnoty pH, které se pohybovaly od 2,93 do 3,66. Obsah cukru v mošttech se pohyboval v rozmezí 15,4 až 22,5 °NM. Množství asimilovatelného dusíku se pohybovalo v rozmezí  $103 \pm 6 \text{ mg.l}^{-1} - 282 \pm 19 \text{ mg.l}^{-1}$ . Nižší množství asimilovatelného dusíku bylo u tří vzorků: Ryzlinku rýnského – VB, Ryzlinku rýnského – R a moštu určeného k úpravě YAN. Ostatní vzorky měly dostatek asimilovatelného dusíku pro správný průběh alkoholové fermentace. Byly zjištěny statisticky významné rozdíly obsahu asimilovatelného dusíku v závislosti na odrůdě a lokalitě pěstování hroznů. Metoda formaldehydové titrace nestanovuje všechny aminokyseliny. Prolin, hydroxyprolin a histidin jsou stanoveny pouze částečně, díky tomu není tato metoda

zcela přesná. Při plném stanovení těchto aminokyselin by se množství asimilovatelného dusíku nepatrně zvýšilo. Prolin však kvasinky neumí využít.

Další částí experimentální části bylo navýšení asimilovatelného dusíku v čistých roztocích a v jednom moštu. Množství asimilovatelného dusíku bylo zvýšeno o  $50 \text{ g.l}^{-1}$  což odpovídá  $500 \text{ mg.l}^{-1}$ . Nejvíce obsah asimilovatelného dusíku navýšily čisté chemikálie – hydrogenfosforečnan diamonný a síran amonný. Komerční živné soli navýšily množství asimilovatelného dusíku v následujícím pořadí: Nutrozim, Supervit, Maxaferm a Vitaferment PH. Navýšení asimilovatelného dusíku by bylo ve všech případech dostatečné pro zdárný průběh alkoholové fermentace.

## 8 SOUHRN A RESUMÉ

### **Význam a řízení obsahu asimilovatelného dusíku v hroznových moštích**

Diplomová práce na téma Význam a řízení obsahu asimilovatelného dusíku v hroznových moštích byla vypracována na Ústavu posklizňové technologie zahradnických produktů na Zahradnické fakultě v Lednici Mendelovy univerzity v letech 2016/2017. Práce je zaměřena na význam asimilovatelného dusíku v hroznových moštích s ohledem na odrůdu a stanoviště. V praktické části bylo formaldehydovou titrací měřeno množství asimilovatelného dusíku v moštích v pěti bílých odrůdách révy vinné ze dvou vinařských podoblastí. Dále bylo navýšeno množství asimilovatelného dusíku hydrogenfosforečnanem diamonným, síranem amonným a čtyřmi komerčními živnými solemi.

*Klíčová slova:* Kvasinkami asimilovatelný dusík, hroznový mošt, živné soli, formaldehydová titrace.

### **Meaning and content control of the yeast assimilable nitrogen in grape must**

This master thesis is about the significance and the content management of the assimilable nitrogen in grape must. It has been written at the Institute of Post-Harvest Technology of Horticultural Products at the Faculty of Horticulture at the Mendel University in Brno in the academic year 2016/2017. The thesis focuses on the importance of assimilable nitrogen in the grape musts considering their variety and location. In the practical part was the amount of assimilable nitrogen in the grape musts of five white varieties from two regions measured by formaldehyde titration. The amount of assimilable nitrogen was increased by diammonium hydrogenphosphate, ammonium sulfate and four commercial nutrient salts.

*Keywords:* Yeast assimilable nitrogen, grape must, nutrient salts, formaldehyde titration.

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANCIN C., B. AYESTARN a J. GARRIDO. Clarification by Vacuum Filtration of Grenache Must. Utilization of Free Amino Acids During Fermentation and Bottle-Aging of Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1999, 47(3), 311 – 317.

BALÍK J. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998. 98 s. ISBN 80-7157-327-5.

BALÍK J. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 2. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004. 96 s. ISBN 80-7157-809-6.

BAROŇ M. *Vliv asimilovatelného dusíku na průběh fermentace moštů révy vinné*. Lednice, 2010. Disertační práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Marie Kyseláková.

BAROŇ M. *Vliv asimilovatelného dusíku na průběh fermentace moštů révy vinné*. Brno: FOLIA, 2013. ISBN 978-80-7375-713-7.

BELL S-J. a P. A. HENSCHKE. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 2005, 242 – 295.

BELLY M., RINALDI A., DUBOURDIEU D. Influence of assimilable nitrogen on volatile acidity production by *Sacharomyces cerevisiae* during high sugar fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2003, 96(6), 507 – 512.

BELLY M., SABLAYROLLES J. M., BARRE P. Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic in enological conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1990, 70, 246 – 252.

BELTRANG G., B. ESTEVE-ZARZOSO a N. ROZÈS. Influence of the Timing of Nitrogen additions during Synthetic Grape Must Fermentations on Fermentation Kinetics and Nitrogen Consumption. *American Chemical Society*. 2005, 53 (4), 996 – 1002.

BOULTON R. B., SINGLETON V. L., BISSON L. F., KUNKEE R. E. *Principles and practices of winemaking*. New York: Chapman & Hall Enology Library Press, 1996. ISBN 978-1-4757-6255-6.

DEAK T. *Handbook of food spoilage yeasts*. Vyd. 2. Boca Raton, CRC Press, 2008. ISBN 978-1-4200-4493-5.

DOHNAL T., KRAUS V., a PÁTEK J. *Moderní vinař*. Vyd. 1. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1975.

DUKES B. C., BUTZKE C. E. Rapid determination of primary amino acid in grape juice using an o-phthalaldehyde/N-acetyl-Lcysteine spectrophotometric assay. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1998, 49, 125 – 134.

FARKAŠ J. *Technologie a biochemie vína*. Vyd. 2. Praha, Bratislava: Nakladatelství technické literatur, n.p. společně s n.p. Alfa, 1980.

FIC V. a kolektiv autorů. *VÍNO - analýza - technologie - gastronomie*. Vyd. 1. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.

GARDE – CERDAN, T., LORENZO C., LARA J. F., PARDO F., ANCINAZPILICUETA C., SALINAS M. R. Study of the Evolution of Nitrogen Compounds during Grape Ripening. Application to Differentiate Grape Varieties and Cultivated Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009, 57, 2410 – 2419.

GUMP B. H., ZOECKLEIN B. W., FUGELSANG K. C., WHINTON R. S. Comparison of analytical methods for prediction of prefermentation nutritional status of grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2002, 53(4), 325-329.

GUTIÉRREZ A., CHIVA R., SANCHO M., BELTRAN G. ARROYO-LÓPEZ F. N., GUILLAMON J. M. Nitrogen requirements of commercial wine yeast strains during fermentation of a synthetic grape must. *Food Microbiology*. 2012, 31 (1), 25 – 32.

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

KÁŠ J, KODÍČEK M. a VALENTOVÁ O. *Laboratorní techniky biochemie*. Vyd. 1. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha, 2006. ISBN 80-7080-586-2.

KRAUS V., HUBÁČEK V. a ACKERMANN P. *Rukověť vinaře*. Praha: KVĚT a Brázda, 2000. ISBN 80-85362-34-1.

KRAUS V., KUTTELVAŠER V. a VURM B. *Encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: MELANTRICH, 1997. ISBN 80-7023-250-1.

KRAUS V. *Réva a víno v Čechách a na Moravě*. Praha: RADIX, 1999. ISBN 80-86-031-23-3.

KRAUS V. *Vinohradnictví II.: Základní agrotechnika révy vinné*. Vyd. 1. Mendelova univerzita v Brně, Lednice, Skripta, 1979.

KUNKEE, R. E. Relationship between nitrogen content of must and sluggish fermentation. In Proceedings of the International Symposium of Nitrogen in Grapes and Wine. Seattle, Washington. Davis CA: *American Society of Enology and Viticulture*, 1991.

LEONHARDT, G. *Weinfachbuch*. Vyd. 2. Deutsch: Fachbuchverlag leipzig, 1954. ISBN 114-210/170/53.

LOURENS K., REID G. Yeast nutrient management in winemaking. *The Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*. 2002. 50 – 54.

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

MARTÍNEZ-MORENO R., QUIRÓS M., MORALES P., GONZALEZ R. New insights into the advantages of ammonium as a winemaking nutrient. *International Journal of Food Microbiology*. 2014, 177, 128 – 135.

MAŘÍK K. a BÍLÍK L. *Cesty za moravským a českým vínem*. Praha: Professional publishing, 2004. ISBN 80-86419-75-4.

MORENO-ARRIBAS M. a M. POLO. *Wine chemistry and biochemistry*. New York: Springer, 2009, ISBN 9780387741185.

PÁTEK J. *Vinařské kalendárium: Všechno o pěstování a konzumaci vína, recepty a jiné povídky*. Brno: JOTA, 2002. ISBN 80-7217-193-3.

PÁTEK J. *Zrození vína: Všechno o pěstování, zpracování a konzumaci vína*. Brno: BOOKS, 1998. ISBN 80-7242-039-9.

PAVLOUŠEK P. Asimilovatelný dusík, důležitý parametr kvality hroznů. *Vinařský obzor*. 2013, 106, 380-382.

PAVLOUŠEK P. Několik poznámek k výživě révy vinné. *Vinařský obzor*. 2014, 107, 124-125.

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



PAVLOUŠEK P. *Vinohradnictví - odrůdy révy vinné*. Brno, Skripta. 1999. ISBN 80-7157-415-5.

RIBÉREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONÉCHE B., LONVAUD A. *Handbook of enology: The microbiology of wine and vinifications*. Vyd. 1. John Wiley and Sons, 2006. ISBN 0-470-01034-7.

SLANINOVA L. *Inovované nápoje z hroznových moštů*. Lednice, 2015. Mendelova univerzita v Brně. Diplomová práce. Vedoucí práce Josef Balík.

STÁVEK J. *Velkopavlovická vinařská podoblast*. Praha: Radix, 2008. ISBN 97-80-86031-76-7.

STEIDL R. a G. LEINDL. *Cesta ke špičkovému vínu: Základ, techniky, tipy*. Praha: Radix, 2004. ISBN 80-903201-4-7.

STEIDL R., W. RENNER a J. BALÍK. *Problémy kvašení vín*. Radix, spol., 2004. ISBN 80-903201-3-9.

STEIDL R. *Sklepní hospodářství*. Valtice: Radix, spol., 2002. ISBN 80-903201-0-4.

ŠAFAŘÍKOVÁ H. *Vinohradnické faktory ovlivňující obsah dusíkatých látek v hroznech*. Lednice, 2014. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Pavel Pavloušek.

ŠVEJCAR V. a E. MINÁRIK. *Vinařství: Biochemie vína*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1976. ISBN 55-907-76.

UGLIANO M., HENSCHKE P. A., HERDERICH M. J., PRETORIUS I. S. Nitrogen management is critical for wine flavour and style. *The Australian and New Zealand Wine Industry Journal*. 2007, 6, 24 -30.

VALÁŠEK P. *Aromatické látky vína, jejich vznik, vývoj a vlastnosti v průběhu technologie procesu*. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Zlín, 2014.

VESELÝ M. a O. BARTÍKOVÁ - ŠÍROVÁ. *Analytická chemia, kvantita vína*. Vyd. 4. Bratislava: Alfa, 1966.

VOGEL W. *Vino z vlastního sklepa*. Praha: vydavatelství Víkend, 2010. ISBN 978-80-7433-026-1.

ZACHARIÁŠOVÁ, Milena. *Stanovení celkového dusíku a výpočet obsahu bílkovin (metoda: Kjeldahlova)*. Praha, 2016. Návod do cvičení: Laboratoř analýzy potravin a přírodních produktů. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

## **INTERNETOVÉ ZDROJE A PRÁVNÍ PŘEDPISY**

Web 1 - Velkopavlovická vinařská podoblast. *Wine of Czech republic* [online]. [cit. 2017-02-07]. Dostupné z: <https://www.wineofczechrepublic.cz/nase-vina/vinarske-regiony/vinarska-oblast-morava/velkopavlovicka-podoblast.html>

Web 2 - *Velké Bílovice* [online]. Velké Bílovice, 2009 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://www.velkebilovice.cz/>

Web 3 - *Víno Toman* [online]. Ratíškovice, 2017 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://www.vinotoman.cz>

Web 4 – *Zdravá potravina* [online]. Praha, 2015 [cit. 2017-03-15]. Dostupné z <http://www.zdravapotravina.cz/seznam-ecek/E517>.

Web 5 – *Výživa pro kvasinky a její různé funkce*. Ekovín [online]. [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <http://www.ekovin.cz/ekovin/sekce-ekologicke-produkce/vyziva-pro-kvasinky-a-jeji-ruzne-funkce>.

Web 6 - *BS Vinařské potřeby* [online]. Velké Bílovice [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <https://www.vinarskepotreby.cz/nutriform-vit-supervit-1kg-enartis1.html?listtype=searchfulltext&searchparamfull=supervit>.

Web 7 - *EVER Trade* [online]. Pezinok, 2011 [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <http://www.evertrade.sk/wp-content/uploads/NUTROZIM.pdf>.

Web 8 - *BioPro* [online]. Praha [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <http://www.biopro.cz/xmedia/pdf/vyziva/12--MAXAFERM-APLIKACNI-LIST--S04-21-02-0406.pdf>.

Web 9 - *Vinařský ráj* [online]. Čejkovice [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <http://www.vinarskyraj.cz/katalog/pripravky-a-merici-pomucky/vyziva/vitaferment-ph>.

Web 10 - STÁVEK, J. *Aminokyseliny, víno a jeho senzorické vlastnosti*. Enolog [online]. Lednice [cit. 2017-04-04]. Dostupné z: <http://www.enolog.cz/aminokyseliny-vino-a-jeho-senzoricke-vlastnosti>

Web 11 - KOPLÍK, Richard. *Bilkoviny a aminokyseliny* [online]. Praha [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <https://web.vscht.cz/~koplikr/B%C3%ADkoviny%20a%20aminokyseliny.pdf>. Materiál k výuce. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

Vyhláška č. 254/2010 Sb., kterou se stanoví seznam vinařských podoblastí, vinařských obcí a viničních tratí. Příloha: Vinařské obce a viniční tratě v jednotlivých vinařských podoblastech. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/100227495.html>

Zákon č. 321/2004 Sb., *Zákon o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů*. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-321>

Nariadení komise ES č. 606/2009, kterým se stanoví některá prováděcí pravidla k nariadení Rady (ES) č. 479/2008, pokud jde o druhy výrobků z révy vinné, enologické postupy a omezení, která se na ně použijí. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32009R0606>

*ČSN EN 1133 - Ovocné a zeleninové šťávy. Stanovení formolového čísla.* Praha: Český normalizační institut, 1996.