

Změny obsahu volných aminokyselin a biogenních aminů v průběhu výroby vína

Bc. Barbora Ivičičová

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Barbora IVIČIČOVÁ**
Osobní číslo: **T080335**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Změny obsahu volných aminokyselin a biogenních aminů v průběhu výroby vína**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Stručně charakterizujte červená a bílá vína.
2. Popište význam sledování obsahu volných aminokyselin a biogenních aminů ve vzorcích vína.
3. Stručně charakterizujte jablečno–mléčné kvašení ve vztahu k volným aminokyselinám a biogenním aminům.

II. Praktická část

1. Založte experiment s nejméně 10 vzorky vína a sledujte obsah biogenních aminů a volných aminokyselin v průběhu výroby vzorků vín.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] STEIDL,R. Sklepní hospodářství, Národní salon vín, Valtice 2002.

[2] JACKSON, RON S. Wine science: principles, practice, perception,second edition, San Diego, CA. ; London : Academic, 2000.

[3] LANDETE J. M., FERRER S., PARDO I. Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine, Food control, Volume 18, Issue 12, 2007, pg. 1569-1574.

[4] LONVAUD-FUNEL A. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria,FEMS Microbiology Letters, Volume 199, Issue 1, 2006, pg. 9 -- 13 .

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Vendula Pachlová**

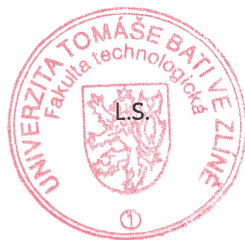
Datum zadání diplomové práce: **4. ledna 2010**

Termín odevzdání diplomové práce: **19. května 2010**

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Ivičičová Barbora

Obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V diplomové práci byly sledovány změny obsahu volných aminokyselin a biogenních aminů během výroby a zrání vybraných révových vín. V práci je stručně popsána charakteristika révového vína a jeho vinifikace, charakteristika jablečno – mléčného kvašení a význam sledování obsahu biogenních aminů a volných aminokyselin v rámci lidského zdraví a organoleptických vlastností vína. Byla provedena analýza vinných vzorků pomocí automatického analyzátoru aminokyselin AAA 400. Výsledky byly zpracovány regresní analýzou.

Klíčová slova: biogenní aminy, volné aminokyseliny, jablečno – mléčné kvašení, alkoholové kvašení, bakterie mléčného kvašení

ABSTRACT

In this thesis were monitored changes in the quantities of free amino acids and biogenic amines during production and ripening of selected wines. The theses briefly describes the characteristics of grape wine and its wine making, a characteristic of malolactic fermentation and the importance of monitoring the content of biogenic amines and free amino acids in human health and organoleptic properties of wine. An analysis of wine samples was made using an automatic amino acid analyzer AAA 400. The results were processed by regression analysis.

Keywords: biogenic amines, free amino acids, malolactic fermentation, alcoholic fermentation, lactic acid bacteria

Chci poděkovat své vedoucí diplomové práce, Ing. Vendule Pachlové a panu doc. Ing. Františkovi Buňkovi, Ph.D., za cenné připomínky a velkou dávku trpělivosti. Velký dík patří mé rodině, příteli a přátelům. Panu Janu Zálešákovi z Prušánek (VÍNO NECHORY s.r.o.) děkuji za poskytnutí vzorků vína a za odborné konzultace.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHARAKTERISTIKA RÉVOVÉHO VÍNA A JEHO VINIFIKACE	12
1.1 SLOŽENÍ HROZNU	12
1.2 ROZDĚLENÍ VINNÝCH ODRŮD	14
1.3 TECHNOLOGIE VÝROBY BÍLÉHO A ČERVENÉHO RÉVOVÉHO VÍNA.....	14
1.4 VINNÉ KVASINKY A JEJICH VYUŽITÍ	16
1.5 SLOŽENÍ VÍNA.....	21
2 JABLEČNO - MLÉČNÉ KVAŠENÍ	24
2.1 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	24
2.2 STARTEROVÉ KULTURY BMK	25
2.3 HLAVNÍ ÚČINKY JABLEČNO – MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	26
2.4 INHIBIČNÍ FAKTORY JMK	27
2.5 BIOGENNÍ AMINY A VOLNÉ AMINOKYSELINY BĚHEM JMK	28
3 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ A VOLNÝCH AMINOKYSELIN VE VZORCÍCH VÍNA	30
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
4 CÍLE PRÁCE	36
5 METODICKÁ ČÁST	37
5.1 PLÁN EXPERIMENTU	37
5.2 CHARAKTERISTIKA POUŽITÝCH VÍN.....	37
5.2.1 Modrá odrůda André	37
5.2.2 Modrá odrůda Frankovka	38
5.2.3 Modrá odrůda Dornfelder.....	38
5.2.4 Modrá odrůda Rulandské modré	39
5.2.5 Modrá odrůda Modrý Portugal.....	39
5.2.6 Bílá odrůda Müller Thurgau.....	40
5.2.7 Bílá odrůda Veltlínské zelené	40
5.2.8 Bílá odrůda Rulandské šedé	41
5.2.9 Bílá odrůda Ryzlink vlašský.....	41
5.2.10 Směs modrých odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka	41
5.3 POUŽITÉ METODY STANOVENÍ	42
5.3.1 Příprava vzorků na stanovení biogenních aminů a volných aminokyselin	42
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	43
6.1 VYHODNOCENÍ VZORKŮ VÍNA	43
6.1.1 Víno odrůdy André.....	43

6.1.2	Víno odrůdy Frankovka.....	46
6.1.3	Víno odrůdy Dornfelder	48
6.1.4	Víno odrůdy Rulandské modré.....	52
6.1.5	Víno odrůdy Modrý Portugal	54
6.1.6	Víno odrůdy Müller Thurgau	57
6.1.7	Víno odrůdy Veltlínské zelené.....	60
6.1.8	Víno odrůdy Rulandské šedé.....	62
6.1.9	Víno odrůdy Ryzlink vlašský	64
6.1.10	Víno ze směsi odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka	66
6.2	DISKUZE.....	69
7	ZÁVĚR.....	71
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	72
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	75
	SEZNAM OBRÁZKŮ	76
	SEZNAM TABULEK.....	77
	SEZNAM PŘÍLOH.....	78

ÚVOD

Víno je alkoholický nápoj ze zkvašených hroznů. Postupem času se stalo oblíbeným alkoholickým nápojem, jehož kvalita roste díky modernější technice a pokrokům v technologii vinifikace. Naši pozornost si v případě vína zasluhují produkty metabolismu mikroorganismů, jež mohou mít ve velké kumulaci ve víně negativní vliv na zdraví člověka. Jsou to například biogenní aminy – dusíkaté báze nízké molekulární hmotnosti, které se nacházejí zejména ve fermentovaných nápojích a pokrmech. Jsou vytvářeny například některými bakteriemi mléčného kvašení při dekarboxylaci aminokyselin během fermentace.

Cílem této diplomové práce bylo sledovat změny biogenních aminů a volných aminokyselin v průběhu výroby vína. Získané výsledky mají přispět ke studiu vzniku biogenních aminů u révového vína.

První kapitola je věnována charakteristice révového vína a jeho vinifikaci, včetně chemického složení. Druhá kapitola stručně představuje jablečno – mléčné kvašení a s tím související produkci biogenních aminů. Třetí kapitola je věnována obsahu biogenních aminů a volných aminokyselin v použitých vzorcích vína.

V praktické části jsou ve 4. kapitole popsány cíle práce a v 5. je popsána každá studovaná vinná odrůda (celkem 10) a použité metody stanovení. Šestá kapitola obsahuje vlastní výsledky stanovení biogenních aminů a volných aminokyselin. Diskuze stručně shrnuje naměřené výsledky a konfrontuje je se soudobými poznatky. V 7. kapitole nalezneme závěr.

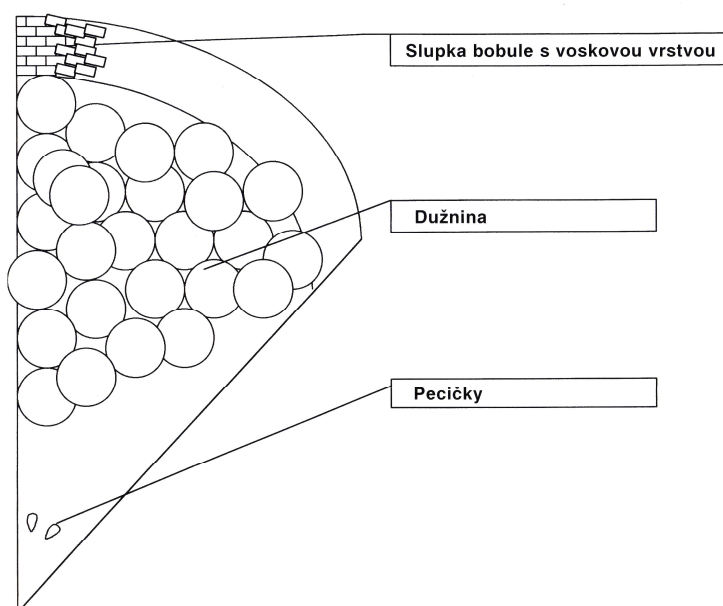
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA RÉVOVÉHO VÍNA A JEHO VINIFIKACE

Réva vinná (*Vitis vinifera*) je řazena mezi liánovité rostliny s mohutným kořenovým systémem, patřící do čeledi *Vitacea*. Rod *Vitis* je rozdělen podle ekologicko – geografického původu do tří skupin: severoamerická skupina, východoasijská a euroasijská skupina. Poslední skupina má jediný druh a to *Vitis vinifera*, který je dále dělen na dva poddruhy – révu vinnou lesní (subsp. *sylvestris*) a révu vinnou pravou (subsp. *sativa*). [6]

1.1 Složení hroznu

Hrozen révy vinné je složen z třapiny a bobulí. Hmotnost hroznu je tvořena ze 3 – 4% třapinou. Třapina je před dosažením optimální technologické zralosti zelená, pak dřevnatí a hnědne. Ze zelené nevyzrálé třapiny se mohou do moštu vyluhovat třísloviny a chlorofyl, díky kterým mohou být poškozeny senzorycké vlastnosti vína (např. chuť nebo barva vína). [6]



Obr. 1. Průřez bobulí hroznu [1]

Bobule hroznu je složena z:

- voskové vrstvy kutikuly
- slupky bobule (epidermis a hypodermis): Slupka je složena z 10 – 12 vrstev malých buněk zodpovědných za mechanickou pevnost a ochranu. Na slupce bývá velké množ-

ství kvasinek a bakterií, které mohou být díky dešti smyty, což může zapříčinit pomalejší spontánní kvašení. Ve slupkách červených odrůd je obsaženo červené barvivo oenocyanin, které je uvolňováno v kyselém a alkoholovém prostředí. Z tohoto důvodu se hrozen nechává zakvášet před lisováním. Slupky také obsahují největší množství fenolických látek (třísloviny, barviva), minerálních látek (vápník, draslík), pektinů, proteinů a hroznových enzymů. [1], [5]

- dužniny (mesokarp): Dužnina je složena z velmi velkých buněk. Hmotnost bobule je tvořena přibližně z 85% dužninou. Mezi hlavní složky jsou řazeny cukry glukóza a fruktóza, kyselina vinná a jablečná.
- pečičky a semena: V nich jsou obsaženy oleje a třísloviny, které mohou díky výskytu pečiček dodat vínu nepříjemně hořkou a škrablavou chuť. [1]

Tab. 1. Chemické složení jednotlivých částí hroznu v % hmot. [21]

Složka		Třrapina	Slupka	Semena	Dužnina
Voda		35-90	53-82	30-45	55-92
Monosacharidy	pentózy a pentózany	1-2,8	1-1,2	3,9-4,5	0,2-0,5
	hexosy	stopy	nepatrně	----	10-30
Sacharoza		----	----	----	do 1,5
Pektiny		0,7	0,9	----	0,1-0,3
Kyseliny		0,5-1,6	0,1-0,7	----	0,1-0,8
Třísloviny		1,3-3,0	0,01-2,0	1,8-5,0	stopy
Barviva		----	1,0-15,4	----	stopy
Enzymy		stopy	stopy	stopy	stopy
Vitaminy		stopy	stopy	stopy	stopy
N-látky		0,7-2,2	0,8-1,9	0,8-1,2	1,4-2,2
Aromatické látky		----	stopy	stopy	----
Oleje		----	1,5	10-20	----
Popeloviny		6-10	2-3,7	2-5	0,1-1,1

1.2 Rozdělení vinných odrůd

Odrůdy révy vinné pravé jsou pro praktické účely rozděleny na odrůdy:

- moštové pro bílá vína (např. Chardonnay, Müller Thurgau, Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský)
- moštové pro červená vína (např. André, Cabernet Moravia, Rulandské modré, Merlot)
- moštové pro výrobu tokajských vín (Furmint, Lihovina a Muškát žlutý)
- stolní (např. Arkadia, Diamant, Chrupka bílá, Olšava, Vitra [2]), přičemž některé moštové odrůdy lze využít i jako stolní. [6]

1.3 Technologie výroby bílého a červeného révového vína

Pod označením výroba vína (též vinifikace) se rozumí přeměna hroznů v mošt a posléze ve víno. Bílé hrozny jsou na rozdíl od červených pomlety a odstopkovány (viz. Obr.4). Červené hrozny jsou lehce podrceny za účelem popraskání slupky bobule a uvolnění šťávy (viz. Obr.3). Nesmí dojít k poškození třapiny, peciček a slupky. Mohly by být vyluhovány látky, jako jsou třísloviny, oleje a chlorofyl, které by negativně ovlivily organoleptické vlastnosti. K hojně využívaným typům drtičů patří mlýnky kombinované s odzrňovacím žlabem a pístovým čerpadlem. Rmut představuje rozdrčené bobule hroznů, tvořící kvasicí drť, v níž došlo k vyluhování některých látek. Moštem je nazývána tekutina z vinných hroznů, získaná buď lisováním rmutu nebo lisováním celých hroznů nebo samotkem. Následuje zasíření moštu pomocí sirných knotů nebo disiřičitanu draselného ($K_2S_2O_5$). Zdravé mošty jsou sířeny na koncentraci 20 – 40 mg SO_2 na litr. Sířením je mošt chráněn před účinky vzduchu, zabrání se hnědnutí a podpoří se vývoj buketu. Je také potlačeno množení bakterií a divokých kvasinek (např. zástupci *Candida*, *Kloeckera apiculata*). Zároveň je podpořena tvorba glycerolu při kvašení, díky němuž je zvýšen obsah bezcukerného extraktu a u vína je tak dosaženo plnější chuti. [1], [3]

Mezi další úpravy moštu před kvašením patří úprava cukernatosti. Podle zákona 321/2004 Sb. a ve znění pozdějších předpisů, je výrobce povinen nahlásit Státní zemědělské a potravinářské inspekci zvyšování cukernatosti nejméně 48 hodin před samotnou úpravou. U jakostních vín s přívlastkem je zvyšování cukernatosti zakázáno. Přislazuje se ihned po odkalení moštu. Pokud se mošt neodkaluje, pak ihned po vylisování. Doslazení během

kvašení moštu je méně vhodné a doslazení vína má i při následném překvácení vždy dopad na zhoršení jakosti. Objem moštu se zvýší o 0,66 l přidáním 1kg sacharosu. Docukřovat je povoleno pouze cukrem, který je za studena rozpuštěn v přiměřeném obsahu moštu. Docukřit mošt se má do 72 hodin po vylisování (viz. Příloha P VII). [6], [8], [23]

Rmut ze světlých hroznů pro výrobu bílého vína se lisuje ihned (maximálně 24 hodin). Vylisovaný mošt se následně odkalí a kvasný proces tedy neprobíhá na slupkách jak u červeného vína. Při výrobě červených vín se rmut nechává naležet (neboli nakvasit) na matolinách při teplotě 15°C maximálně 8 dnů. Vznikající oxid uhličitý může na povrch vynášet matolity, resp. nečistoty, které tvoří pevnou vrstvu, tzv. rmutový (nazývaný též matolinový) klobouk. Stykem se vzduchem probíhá na povrchu klobouku octové kvašení. Tento klobouk se musí neustále rozbíjet dlouhými tyčemi, aby měl mošt co největší styčnou plochu se slupkami. Jednou nebo dvakrát za den se mošt zespondu nádrže odpustí a přečerpá hadicí na rmutový klobouk, který je tímto stlačován směrem dolů. Macerací dochází k vyluhování tříslovin a antokyanových barviv, zvyšuje se obsah extraktu, buketních látek a barviv. U přípravy rmutů pro červená vína se teplota rmutu rovnou zvýší na kvasnou teplotu anebo za účelem uvolňování barviva, kdy následuje okamžité lisování, ochlazení a kvašení moštu. Tento pracovní úkon se provádí v případě „nezdravých“ hroznů za účelem zabránění delšího kontaktu s moštem. Prostřednictvím ochlazení rmutu na přibližně 5°C a delším ponecháním při této teplotě můžeme dosáhnout větší ovocné chuti vína, protože se před začátkem kvašení vyluhovalo více sloučenin, které jsou součástí tzv. primárního aroma. Přídavkem pektolytických enzymů je zvýšena rychlost štěpení pektinů. V tomto případě je důležitá teplota (má být přes 10°C), jinak je aktivita velmi nízká. Tímto krokem je zvýšena vylisovatelnost a zkrácena doba naležení rmutu. Po extrakci moštu následuje další vinifikační krok - alkoholové kvašení. [1], [3]

Alkoholové kvašení (neboli alkoholová fermentace) je biochemický proces rozkladu cukru obsaženého v mošti na alkohol etanol a CO₂ způsobený kvasinkami. Část etanolu je během zpracování vína přeměněno na buketní látky (např. estery). Souběžně s tvorbou etanolu vznikají vedlejší produkty, jako jsou glycerol, kyselina mléčná, vinná, octová a vyšší alkoholy.

Sumární rovnice alkoholového kvašení: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 C_2H_5OH + 2 CO_2 + \text{energie}$

1.4 Vinné kvasinky a jejich využití

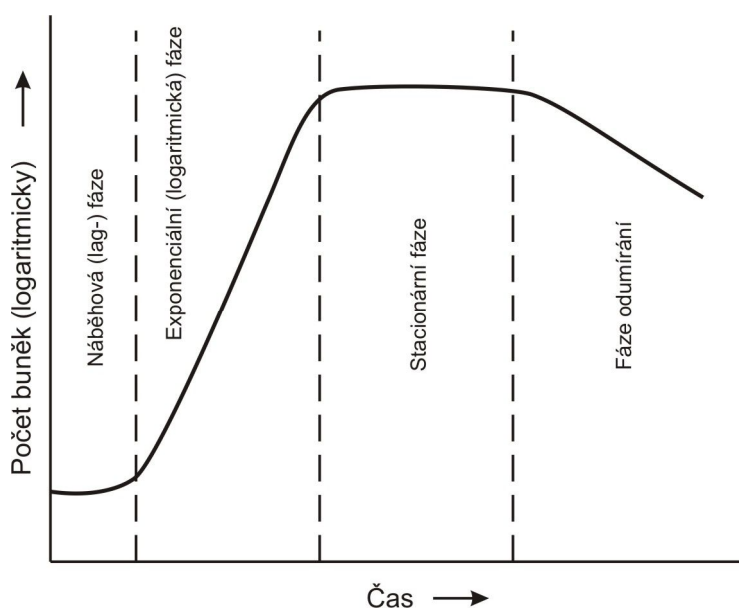
Pravými vinnými kvasinkami u alkoholového kvašení jsou míněny druhy kvasinek rodu *Saccharomyces cerevisiae*. Pro zahájení kvašení je zapotřebí asi 10 milionů buněk/ml a pro průběh kvašení teplota 20 – 30 °C. Při spontánním kvašení se očekává, že se kvasinky namnoží na potřebný počet buněk. U tohoto kvašení je dosaženo vyššího obsahu glycerolu, těkavých kyselin a většího množství vyšších alkoholů. Je zde vyšší potřeba oxidu siřičitého a často zůstává zbytkový cukr (kvašení se samovolně zastaví). Použitím čistých kultur kvasinek je od počátku dosaženo dostatečného množství buněk a zabráněno vzniku kvašení nežádoucím směrem. Velmi vhodný je přídavek čistých kvasinek v případě moštu o vysoké cukernatosti (vína s přívlastkem), moštu z nahnilých hroznů, problémů s kvašením v důsledku toxinů (např. fungicidy), opětovného překvašení a druhotného kvašení nebo velmi nízkých teplot. [6], [1] Bílá vína jsou dnes většinou rozkvašena pomocí přídavku čistých kultur kvasinek, které napomáhají bezproblémové prokvašení moštu. Jejich nevýhodou je, že mohou způsobit tzv. uniformitu vína. Za normálních okolností mošt kvasí tak dlouho, dokud není prokvašen všechen cukr. Víno má potom charakter tzv. suchého vína. Má-li víno obsahovat určitý podíl zbytkového cukru, musí se kvašení zastavit. Toho lze docílit různými metodami:

1. Víno je během filtrace přefiltrováno a kvasinky zůstávají zachycené na filtru.
2. Víno je v kvasné nádrži zchlazeno na nižší teplotu, takže činnost kvasinek ustane.
3. Víno se nechává kvasit v uzavřených nádobách. Vznikající oxid uhličitý nemůže unikat a kvašení je tak postupně potlačeno.
4. K vínu je přidán cukr nebo alkohol. Při obsahu alkoholu kolem 14% obj. a vysokém obsahu cukru kvasinky odumřou. [10]

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotní mikroorganismy, náležící mezi houby (*Fungi*). Život kvasinek v moštu může být rozdělen do 4 hlavních stádií:

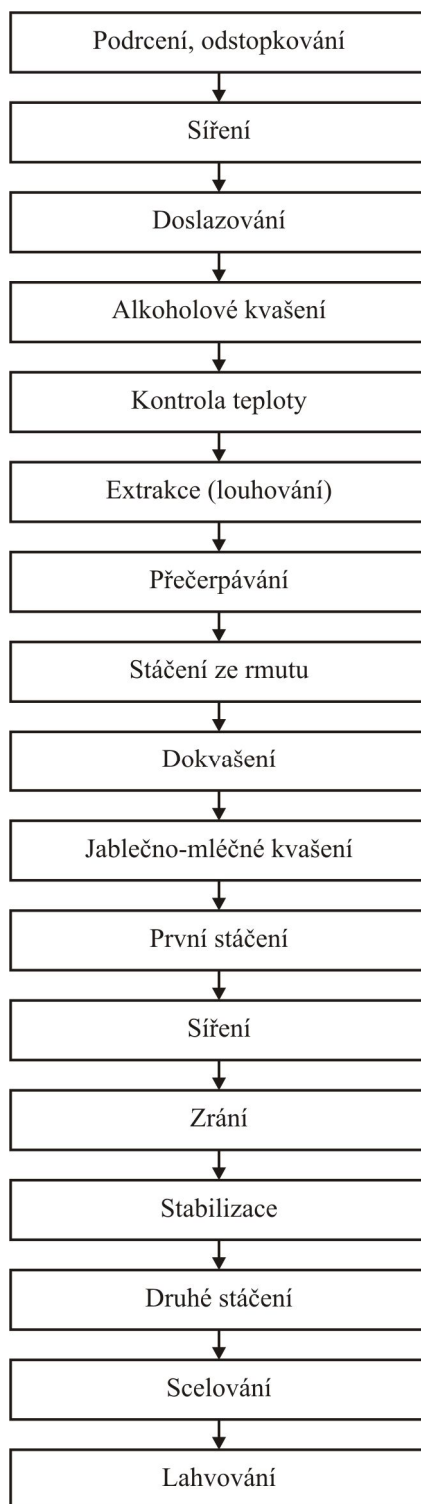
- 1) „Lag-fáze“ (adaptační fáze): V této etapě nastává přizpůsobení podmínkám okolního prostředí. Většinou máme snahu tuto fázi co nejvíce zkrátit. Toho lze dosáhnout např. optimálním množstvím inokula, přípravou inokula na půdě stejného složení jako je produkční půda, inokulum má být optimálně staré a v mnohých případech se doporučuje oddělit mikroorganismy inokula od media, ve kterém byly kultivovány.

- 2) „Exponenciální fáze“: Zde probíhá množení a začíná kvasný proces. Základní charakteristikou exponenciální fáze je přebytek živin, proces ještě není limitován nedostatkem některé živiny.
- 3) „Stacionární fáze“: V této fázi je koncentrace mikroorganismů konstantní a je dosaženo maximální koncentrace mikroorganismů. Dosažení této hodnoty závisí na několika současně působících faktorech: na koncentraci energetického a uhlíkatého zdroje, koncentraci kyslíku a v mediu, zdrojích dusíku, stopových prvků.
- 4) „Fáze odumírání“: Rychlost kvašení klesá, živých bakterií ubývá. Příčinou hynutí bakterií je destrukční působení fyzikálních i chemických faktorů prostředí na makromolekuly a jejich komplexy, resp. převládnutí těchto vlastně neustále působících procesů nad procesy oprav (reparace). Příkladem neustále a univerzálně působící destrukční síly je termální pohyb molekul nebo účinek světelného záření na molekuly. [1], [38], [39]

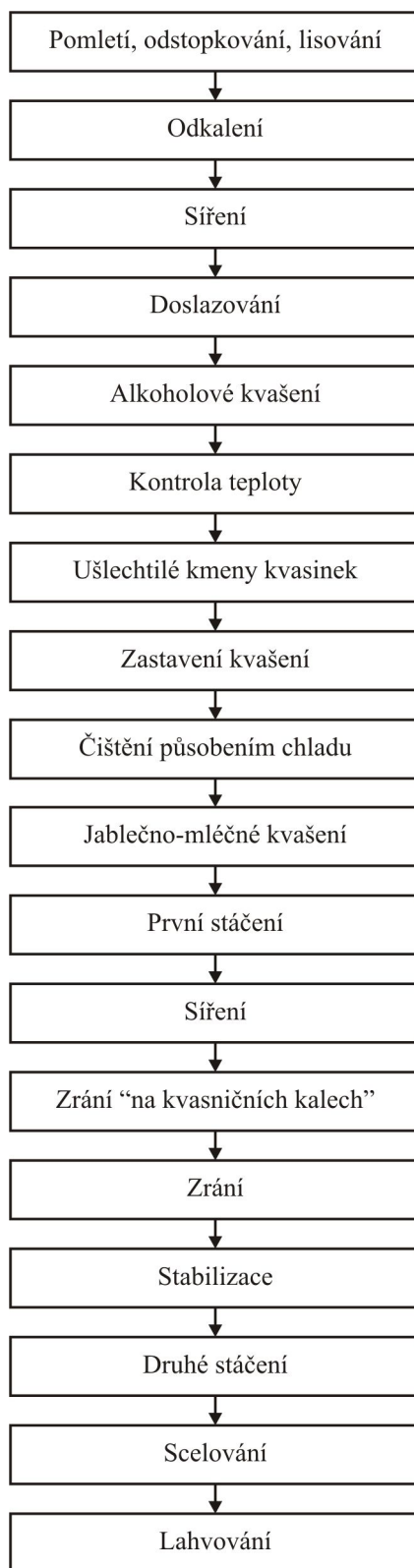


Obr. 2. Stadia kvasinek během alkoholového kvašení [4]

Jakmile začne hlavní kvašení ustupovat, je třeba zamezit negativnímu vlivu vzduchu na aroma vína doplněním vína stejné odrůdy a kvality do nádoby. Bílé víno lze stabilizovat též chladem, neboť silné podchlazení vína pod 0°C snižuje rozpustnost hydrogenvinanu draselného, který vypadává z vína ve formě krystalků, tzv. vinného kamene.



*Obr. 3. Vinifikace
modrého vína [10]*



*Obr. 4. Vinifikace
bílého vína [10]*

Po vyextrahování dostatku barviv a tříslovin ze slupek se červené víno nechá odtéci a přečerpá se do jiné nádrže či kádě. Okamžik stáčení ze rmutu je řízen aktuálním obsahem taninu ve slupkách. Víno se v závislosti na obsahu zbytkového cukru nechá dokvasit. [4]

Prokvašené víno může ihned po alkoholovém kvašení znovu kvasit. V tomto případě se jedná o jablečno - mléčné kvašení neboli biologické odbourávání kyselin. Toto kvašení není způsobeno kvasinkami, nýbrž bakteriemi mléčného kvašení, rodu *Oenococcus*, *Lactobacillus* nebo *Pediococcus*. Bakterie spotřebovávají ostrou kyselinu jablečnou na „zobleňší“ jemnou kyselinu mléčnou a oxid uhličitý. Jablečno - mléčné kvašení je vhodné zvláště pro červené víno, čímž ztrácí svoji kyselost a stává se lépe požitelným. Hlavními účinky jablečno - mléčného kvašení je tedy snížení acidity, snížení kyseliny jablečné (vína s touto kyselinou chutnají jako z nevyzrálých hroznů), vytvoření kyseliny mléčné (vína jsou plnější) a mikrobiologická stabilita (zvláště u červeného vína).[10]

Po jablečno - mléčném kvašení je víno stáčeno do jiné nádoby a lehce zasířeno. Síra na sebe váže acetaldehyd (vedlejší produkt kvašení), díky němuž by jinak i mladá vína chutnala „staře a unaveně“. Víno je pak ponecháno zrání. Aby bílá vína získala více aroma, jsou mnohými vinaři ponechávána ležet na odumřelých kvasničných kalech (tzv. metoda „sur lie“). Touto speciální úpravou víno není po prokvašení stáčeno, ale přečerpáno spolu s kvasinkami do jiné nádrže. Některá vína jsou dokonce plněna do lahví spolu s kvasinkami (např. odrůdy Muscadet). [10] K předcházení pozdějšího znehodnocení vína je víno školeno (stabilizováno), což zahrnuje čiření, stabilizaci, pasteraci a filtraci. K čiření vína, pokud neproběhne v dostatečné míře samovolně, se používá srážecích prostředků. [1], [10]

Čiření gelem kyseliny křemičité (H_2SiO_3) a želatinou patří ke klasickým postupům při čištění vína. Takto mohou být odstraněny kvasničné kaly v mladém víně nebo kaly vzniklé jinými přípravky pro ošetření vína. Gel kyseliny křemičité vykazuje na svém povrchu záporný elektrický náboj a spolu s želatinou, která má na povrchu kladně nabitý náboj, vytváří kompaktní těžký komplex kalu kyseliny křemičité a želatiny. K dalším čiřícím prostředkům, vykazující při pH běžném pro víno kladný náboj, patří vyzina (upravená blána plovacího měchýře jeseterovité ryby vyzy velké, lat. *Huso huso*), kasein nebo bílek. Při velmi vysokém obsahu záporně nabitých tříslovin vznikají usazeniny obsahující koagulát obou čiřících parametrů. Dále se může použít bentonit či hexakyanoželeznatan draselný.[1]

Mezi minoritní a výjimečně se využívající úpravy vína patří pasterace vína, kterou se např. zabraňuje zakalení vína (tepelný záhřev může zkoagulovat termolabilní vysokomolekulární látky). Provádí se krátkodobým ohřevem na 60 – 70°C v deskových průtokových výměnících tepla a následným rychlým ochlazením. K filtraci vína se používají nejčastěji deskové nebo naplavovací křemelinové filtry, obdobně jako v pivovarství a v moderních vinařských provozech se zavádí „cross-flow“ filtrace a membránové filtrace. Místo filtrů lze použít též vysokoobrátkové kalové odstředivky. Vinaři, kteří se ale orientují na kvalitu vína, od filtrace opouští, protože víno filtrace vždy ztrácí důležité chuťové vlastnosti (např. nekvalitním filtračním materiálem). Zvláště starší vína jsou filtrace více ovlivněna a jejich regenerace po provzdušení je delší. Doporučuje se proto filtrovat vína mladá. Druhým stáčením končí pro víno fáze zrání. Ošetřené víno je přetáčeno do jiných nádrží či sudů a kal přitom zůstává na dně původní nádoby. Ležácké nádoby jsou při skladování dolévány vínem za účelem zamezení přístupu vzduchu a kontaminace. Dlouho zrající vína se přetáčejí přibližně dvakrát ročně. Zcela vyčištěná jsou po dvou nebo třech letech. Mnohá červená vína jsou vyráběna z několika různých hroznových odrůd. Ty se většinou nechávají kvasit a zrát odděleně. Po druhém stáčení jsou v požadovaném poměru smíšeny. Mluvíme o scelování vín. Mnozí vinaři scelují vína po prvním stáčení. Posledním úkonem vinifikace je lahvování vína. Nelze lahvovat vína, která ještě dokváší. Proces zrání vína pokračuje v láhvi, kde ještě odpočívá. Během této doby je víno zjemňováno a víno se stává tzv. lahvově zralým. [10], [36]

1.5 Složení vína

Složení vína (respektive moštu) se mění se žádoucími a nežádoucími procesy. Po chemické stránce můžeme říct, že víno je vodný roztok etylalkoholu, obsahující anorganické i organické sloučeniny.

Po vodě je etanol (etylalkohol) s průměrnými 9 - 13 % obj. (to odpovídá 72 - 104 g/l) hlavní složkou vína. Jeho zásluhou je víno plné a extraktivní a podporuje i aroma ve víně. Vyšší alkoholy (jejichž směs se nazývá přiboudlina) jsou ve víně zastoupeny v relativně malém množství (150 - 700 mg/l). Mají důležitý vliv na vůni a chuť vína. Ve víně se nachází např. izoamylalkohol, propylalkohol, izobutylalkohol nebo hexylalkohol. Mezi další alkoholy patří metanol, který vzniká odbouráním pektinů a zvyšuje se jen intenzivním nakvácením rmutu (červené víno). Běžný obsah je u bílého vína mezi 17 - 100 mg/l,

u červeného mezi 60 - 230 mg/l. Významný je také 2,3 - butandiol, jež se nachází ve víně v množství 400 - 700 mg/l. Ve sladkých vínech je jeho výskyt odrazem kvašení. Glycerol, jako primární produkt kvašení, dodává vínu tělo a plnost. Vzniká převážně na počátku kvašení a je vytvářen především divokými kvasinkami. Monosacharidy glukóza a fruktóza jsou během kvašení přeměňovány rozdílnou rychlostí. Poměr mezi glukózou a fruktózou je 1:1 v moštu a během kvašení se mění ve prospěch fruktózy. [1]

Mezi hlavní kyseliny ve víně patří kyselina vinná. Tu během kvašení nezpracovávají kvasinky. Avšak asi 0,5 - 1,5 g/l kyseliny vinné se vysráží jako vinný kámen v důsledku obsahu alkoholu ve víně, který pozměňuje její rozpustnost. Velmi vysoký obsah kyseliny vinné (přes 12 g/l) může být snížen odkyselováním, při kterém je kyselina vinná odstraněna pomocí uhličitanu vápenatého. To přináší na jednu stranu zakulacení a plnost vína. Víno pak mívá různé cizí příchutě a tóny nebo může zoctovatět atd. Kyselina jablečná je oproti kyselině vinné lehce zpracovávána mikroorganismy. I kvasinky přeměňují během kvašení kyselinu jablečnou. Vzniká přitom alkohol, nikoliv kyselina mléčná jako při biologickém odbourávání kyselin. Kyselina mléčná vzniká ve víně ve větším množství jen při bakteriální přeměně kyseliny jablečné na mléčnou. Kvasinky mohou také za nepřístupu vzduchu vytvářet kyselinu octovou (0,3 - 0,6 g/l.) Primárně ale vzniká v aerobním prostředí oxidací etanolu na kyselinu octovou. Obsah přes 0,6 g/l této kyseliny se považuje za znamení aktivní bakteriální činnosti. Přirozený obsah kyseliny citronové se pohybuje mezi 50 - 300 mg/l a může být enzymaticky odbourávána bakteriemi jablečno - mléčného kvašení. To má význam při biologickém odbourávání kyselin, kdy může vznikat diacetyl (máselná pachut'). Celkový obsah kyseliny citronové nesmí překročit 1 g/l. Kyselina jantarová vzniká především odbouráváním kyseliny jablečné kvasinkami a je tak pravidelně vznikajícím vedlejším produktem kvašení. Její obsah se v průměru pohybuje do 1 g/l. [1]

Obsah minerálních látek v moštu je snižován díky jejich krystalizaci, vysrážením a využitím kvasinkami. Množství ve víně činí 1,5 - 4 g/l. Nejvíce se podílí draslík (650 - 950 mg/l), dále vápník (v bílých vínech v množství cca 60 - 80 mg/l), mezní hodnotou je 220 mg/l. [1]

Dusíkaté sloučeniny, jako jsou aminokyseliny, amonné soli a bílkoviny, jsou ve značném množství (až do 75%) spotřebovávány kvasinkami. Při zrání vína na kvasinkách může být obsah aminokyselin vyšší. Celkový objem se ve víně pohybuje mezi 250 - 4500 mg/l. Obsah bílkovin se značně liší, je totiž ovlivněn odrůdou i ročníkem. Koncentraci bílkovin sni-

žuje kvašení, reakce s tříslovinami (polyfenoly) a ošetřením bentonitem. Termolabilní bílkoviny mohou vést v láhvi k zákalům. [1]

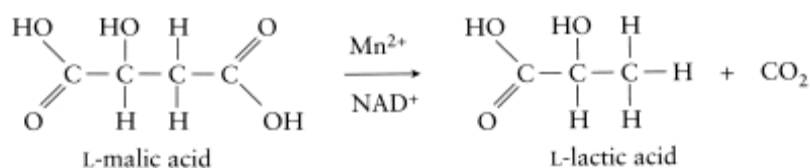
Obsah polyfenolů se pohybuje v bílých vínech mezi 150 - 250 mg/l, v červených vínech až do 4500 mg/l, podle způsobu zpracování. Během zrání a stárnutí dochází ke značným změnám, které mají vliv na chuť a barvu vína. Množství aromatických látek ve víně činí cca 0,8 – 1,2 g/l, přičemž polovinu tvoří vyšší alkoholy. Pro odrůdový charakter vína mají velký význam terpeny, velká skupina aromatických látek. Váží se na cukr a teprve během kvašení a skladování jsou uvolňovány a působí jako aroma. [1]

Tab. 2. Chemické složení zcela prokvašeného bílého vína [10]

Parametr	Obsah (hmot %)
Voda	83
Alkohol	12
Glycerin	cca 1
cukr (fruktóza)	1
kyseliny (vinná, jablečná, mléčná a další)	0,80
minerální látky (fosforečnany, sírany, křemičitany, sodík, hořčík, draslík, železo aj.)	0,30
dusíkaté látky (aminy, aminokyseliny, bílkoviny)	0,25
oxid uhličitý	0,03
Třísloviny (tanin)	0,02
buketní a aromatické látky (estery, vyšší aldehydy, laktáty)	<0,01
vitaminy	0,001
Červená vína se liší od bílých především vyšším obsahem tříslovin (až 0,3)	

2 JABLEČNO - MLÉČNÉ KVAŠENÍ

Jablečno - mléčné kvašení (nebo také bakteriální odbourávání kyselin či malolaktické kvašení, dále označeno jako JMK) je sekundární fermentace, která obvykle nastává na konci alkoholového kvašení kvasinek, ačkoliv se může objevit i dříve. Je to biologický proces vína, ve kterém je dikarboxylová kyselina L – jablečná (malát) přeměněna na monokarboxylovou kyselinu L – mléčnou (laktát) a CO₂ (viz. Obr.5). JMK je vedeno bakteriemi mléčného kvašení. [11], [15]



Obr. 5. Schématický průběh hlavní reakce

jablečno – mléčného kvašení [9]

2.1 Bakterie mléčného kvašení

Mezi bakterie mléčného kvašení (dále jen BMK), které se mohou vyskytovat ve víně, náleží skupiny bakterií patřící zpravidla do rodů: *Pediococcus*, *Lactobacillus* a *Oenococcus* (viz. Tab.3). Jejich společným znakem je tvorba kyseliny mléčné z fermentovaných sacharidů (další substráty a fermentační produkty jsou v příloze P VI). Mohou mít konzervační vlastnosti a tvořit vedlejší metabolity, které utvářejí chuť a aroma dané potraviny. V závislosti na druhu mohou BMK tvořit kyselinu mléčnou jako téměř jediný produkt metabolismu cukru (homofermentativní mléčné bakterie) či na kyselinu mléčnou, CO₂ a etanol (heterofermentativní mléčné bakterie). Hojně vyskytujícím se členem skupiny BMK ve víně je heterofermentativní bakteriální kmen *Oenococcus oeni*, dříve nazývaný *Leuconostoc oenos* (v příloze IV je snímek *O. oeni*). [37], [9]

Tab. 3. Příklady bakterií mléčného kvašení vyskytující se ve víně [9]

Rody	Druhy
<i>Oenococcus</i>	<i>O. oeni</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. pentosaceus</i> , <i>P. damnosus</i> , <i>P. cerevisiae</i> , <i>P. parvulus</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. cellobiosus</i> , <i>L. buchneri</i> , <i>L. casei</i> <i>L. hilgardii</i> , <i>L. trichodes</i> , <i>L. mesenteroides</i>

Transformace kyseliny jablečné nastává, když populace bakterií dosahuje asi 10^6 CFU/ml. Proto od konce alkoholového kvašení, kdy množství je zhruba $10^2 - 10^3$ CFU/ml, do začátku JMK nastává fáze množení bakterií, závislá na pH, teplotě a etanolu jako hlavních inhibičních faktorech. Potřebný čas přeměny se pohybuje od 5 dnů až 2 – 3 týdny podle fyzikálně – chemických podmínek média a množství transformovatelné kyseliny. [15], [9], [13], [18] Stejně jako kvasinky, tak i BMK jsou běžnými mikroorganismy hroznové šťávy před fermentací a také během vinifikačního procesu. [13]

Studie Teerade a kol. [19] ve svých závěrech potvrzuje ovlivnění aroma vína díky aktivitě BMK a výraznému vlivu pH na metabolickou aktivitu vinných BMK. Dále se potvrdila důležitost kyseliny L - jablečné, která přispívá k úsporám energie a ke zvýšenému růstu zvolených rodů BMK (*Lactobacillus*, *Pediococcus* a *Oenococcus*).

2.2 Starterové kultury BMK

Po alkoholovém kvašení a před začátkem JMK nemůže být víno sířeno pomocí SO_2 , který by inhiboval růst BMK. Během této přechodné doby je víno vystaveno jisté chemické oxidaci či vývoji mikrobiálního kažení. Proto by zpoždění mezi těmito fermentacemi mělo být co nejkratší. Z těchto důvodů jsou vinaři využívány jablečno - mléčné starterové kultury. V současné době je komerčně dostupno několik lyofilizovaných průmyslových starterů, z nichž nejúčinnější jsou kmeny *O. oeni*, původně izolovaných z vína. Donedávna potřebovaly tyto kultury reaktivační krok před zaočkováním do vína, dnes jsou však dostupné přípravky k okamžitému použití. Bakteriální populace udržuje svoji životaschopnost během

prvních dní a nakonec roste, přičemž navozuje degradaci kyseliny jablečné během 5 -7 dní. *O. oeni* starterové kultury musí být zaočkovány po dokončení alkoholového kvašení, aby došlo k omezení obsahu těkavých kyselin ve víně. Sensorické vyhodnocení vín, zaočkovaných různými kmeny *O. oeni*, ukázalo specifické kmenové ovlivnění, ačkoliv rozdíly nebyly nijak zvlášť výrazné. [13]

Steidl [1] ve své knize uvádí dvě nejpoužívanější starterové kultury současnosti. Jedná se o kulturu *Oenococcus oeni*, která je přidávána během dokvásaení za účelem využití teploty kvašení. Druhou kulturou je *Lactobacillus plantarum*. Tento kmen bakterií se přidává před alkoholovým kvašením, protože špatně snáší alkohol. Předností jejího použití je absence nežádoucích tónů po odbourávání kyselin. Nedostatkem je nedostatečné odbourání celého množství kyseliny jablečné, protože vznikající alkohol při zahájení kvašení činnost bakterií zastaví. Zbývající kyselinu jablečnou lze tedy po skončení JMK odbourat pomocí bakterií *O. oeni*.

2.3 Hlavní účinky jablečno – mléčného kvašení

Hlavním účinkem JMK je biologická deacidifikace (snížení celkové kyselosti) díky dekarboxylaci „v chuti ostré“ kyseliny jablečné na „zaoblenější“ kyselinu mléčnou. Odkyselení je zvláště žádoucí u červených vín, která jsou produkována v chladných oblastech, jako je Nový Zéland nebo Kanada. Neopomenutelná je i mikrobiologická stabilita vína. [13]

Dále dochází k metabolismu dalších substrátů. Sacharidy jsou katabolizovány za tvorby kyseliny mléčné a octové, kyselina citronová je přeměněna na kyselinu octovou a karbonylové sloučeniny, zejména na diacetyl, který je specifický pro svou máslovou či ořechovou příchut'. V koncentracích mezi 5 - 7 mg/l se může jeho máslový charakter stát výrazně nevhodný. Chuť a barva vína jsou často modifikovány v důsledku metabolické činnosti na fenolické sloučeniny (taniny, antokyaniny), které jsou základními složkami vína. [9]

Studii Liu [11] bylo potvrzeno, že JMK vedle aroma zvyšuje plnost a vůni vína a to díky tvorbě polyolů a polysacharidů BMK. Dopad JMK na chuť vína se různí podle druhů vinných BMK. Zvýšená ovocná chuť může být výsledkem tvorby esterů vinnými BMK, k máselné příchuti dochází v důsledku tvorby diacetylu při fermentaci citrátu vinnými BMK a redukce rostlinného aroma může být důsledkem katabolismu aldehydů opět vinnými BMK

2.4 Inhibiční faktory JMK

Steidl [1] ve své knize uvádí tyto předpoklady pro zahájení JMK:

- hodnota pH by měla být vyšší než 3,1. V případě potřeby lze zvýšit mírným odkyselováním pomocí uhličitanu vápenatého,
- teplota vína by měla být kolem 22 °C,
- ve víně by se neměl vyskytovat žádný volný SO₂,
- obsah zbytkového cukru by se měl pohybovat pod 20g,
- víno by se mělo zachovat v mírně kalném stavu a jeho ponechání na zdravých a jemných kvasnicích

Teplota a hodnota pH jsou nejdůležitějšími parametry, k dodržení činnosti bakterií ve víně. Optimální teplota pro jejich množení se pohybuje kolem 30°C a hodnota pH kolem 4,5. Při pH pod 3 nedochází prakticky k žádnému množení bakterií *Oenococcus oeni*, při pH přes 3,4 může dojít k množení nežádoucích bakterií rodu *Pediococcus*. Pro ohřev je nejvhodnější temperovaná místnost, ohřev některé ze stěn nádoby nebo podstavce nádoby (např. teplotou vodou). Pokud se ve víně nachází ještě vyšší zbytek cukru, je spotřebován bakteriemi a tím jsou vytvářeny nežádoucí vedlejší produkty, resp. vedlejší produkty v nežádoucí koncentraci (diacetyl, kyselina octová). Kvasinky uvolňují živiny (aminokyseliny), které odcházejí z buněk kvasinek a jsou spotřebovávány bakteriemi.

Malherbe a spol. [15] svou studii zaměřili na účinky fyzikálně – chemických faktorů. Největší inhibiční účinek mají pH, etanol, SO₂, teplota a mikrobiální interakce. Rychlost růstu bakterií a JMK stoupala s rostoucím pH (z 3,0 na 4,0). pH vína má selektivní účinek na druhy bakterií, které zde rostou. Při vyšším pH (3,5 – 4,0) dominují nad rodem *Oenococcus* rody *Lactobacillus* a *Pediococcus*. BMK jsou citlivé na etanol a obvykle nad obsahem 13,5 % etanolu je vykazován velmi pomalý nebo žádný růst. *O. oeni* je preferovanou starterovou kulturou kvůli toleranci obsahu etanolu. Etanol (12% v/v) má inhibiční účinek pouze na buněčný růst, ale ne na aktivitu BMK. Celková koncentrace oxidu siřičitého vyšší než 50 mg/l obecně omezuje růst BMK ve víně, zvláště při nízkém pH, kdy je větší podíl SO₂ v nedisociované, antimikrobiální podobě. Proto není doporučováno přidávat SO₂ do moštu po alkoholovém kvašení.

2.5 Biogenní aminy a volné aminokyseliny během JMK

Versari a kol. [12] došli ve své studii k závěru, že tvorba biogenních aminů během JMK je ovlivněna několika faktory, jako jsou např. růst mikroorganismů se specifickými enzymy dekarboxylázami a dostupnost volných aminokyselin (dále jen AMK). Tento závěr demonstrovali u degradace argininu u *O. oeni* přes dráhu arginin deiminázy, kdy je arginin deaminován na citrulin, který je následně dekarboxylován na ornitin. Dekarboxylací ornitinu pak vzniká putrescin. *O. oeni* zužitkoval pro bakteriální růst a tvorbu tyraminu pouze dodávaný tyrozin, jiné AMK (histidin, lyzin a ornitin) nebyly tímto kmenem metabolizovány na BA. Zvláště v usazeninách vína a ve vadných vínech byla objevena vysoká množství biogenních aminů po JMK (putrescin, histamin, metylamin a tyramin). Nebyla zjištěna žádná souvislost mezi délkou kontaktu se slupkou a koncentrací některých BA. Ve studii Liu [11] byla provedena pozorování katabolismu AMK vinnými BMK. Koncentrace některých AMK se ve výsledku zvýšila, zatímco koncentrace jiných se během JMK snížila. Jako hlavní AMK se zde jevil arginin. Při studii vlivu AMK kyseliny asparagové na růst a metabolismus kyseliny jablečné a glukózy u *O. oeni* se došlo k závěru, že nízká koncentrace této kyseliny stimulovala růst *O. oeni* a naopak vysoká koncentrace potlačovala jeho růst s odpovídajícím poklesem degradace kyseliny jablečné a vzrůstem využití glukózy. Nadměrné množství kyseliny asparagové mělo také za následek nadprodukcí kyseliny octové a snížení tvorby etanolu. Při zkoumání využití tyrozinu a fenylyalaninu bakteriemi *Lactobacillus plantarum* během JMK bylo zjištěno, že jsou dekarboxylovány za účelem tvorby odpovídajících aminů - tyraminu a fenyletylaminu, což způsobí převahu těchto dvou aminů spojených s *Lactobacillus plantarum*. Cílem studie Pramateftaki a kol. [14] bylo zkoumat populační dynamiku původních BMK v řeckých vínech při spontánním JMK a potenciál k tvorbě biogenních aminů. Bylo zjištěno nepatrné zvýšení biogenních aminů putrescinu a fenyletylaminu po JMK způsobené pravděpodobně výsledkem akcí různých sekundárně izolovaných kmenů *O. oeni* či dalších druhů BMK, které zůstaly neodhalené kvůli jejich velmi omezené přítomnosti ve vinných vzorcích.

Moreno – Arribas a kol. [20] svoji studii zaměřili na změny dusíkatých sloučenin během JMK, čiření a stabilizačního ošetření. Výsledky ukázaly, že rozdíl v obsahu volných AMK nekoresponduje s poklesem obsahu dusíku, který je nižší než ve vínech před JMK. V kontrolních vzorcích vína vzatých po čiřicích a stabilizačních ošetřeních byl obsah dusíku vyšší, pravděpodobně kvůli jeho uvolňování v důsledku činnosti kvasinek po ukončení

fermentace. To poukazuje na skutečnost, že AMK jsou pravděpodobně uvolňovány z proteinů vína nebo peptidů proteázou BMK. Matthews A. a kol. [16] se ve své studii zabývají hladinami jednotlivých peptidů a AMK. Obě studované proteázy byly zřejmě potlačovány amonným iontem, tryptonem a kasein hydrolyzátem a byly schopny dodat zjistitelné koncentrace AMK z proteinových a polypeptidových extraktů červeného a bílého vína. Moreno – Arribas [17] ve své práci taktéž souhlasí s výrokem, že tvorba biogenních aminů ve vínech závisí hlavně na přítomnosti kmenu BMK s odpovídající enzymatickou aktivitou dekarboxylázy a na přítomnosti prekurzorů AMK. Jako další faktory, které mohou ovlivňovat hojnost aminů, uvádí například přítomnost pH a SO₂.

JMK bylo rozpoznáno jako nepostradatelný vinifikační krok již před 40 lety. Trvalo ale více než 20 let přesvědčit o této skutečnosti vinaře. Dnes jsou díky mikrobiologickým studiím o víně poskytovány široké znalosti hlavních fyzikálních a chemických faktorů majících vliv na růst kvasinek a bakterií. Nicméně stále zůstává mnoho nejasných aspektů a vyskytují se praktické problémy. Z tohoto důvodu výzkum BMK a JMK stále pokračuje. [13]

3 OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ A VOLNÝCH AMINOKYSELIN VE VZORCÍCH VÍNA

Biogenní aminy (dále jen BA) jsou dusíkaté báze nízké molekulární hmotnosti, které se nacházejí zejména ve fermentovaných jídlech a nápojích (chemickou strukturu nejdůležitějších enologicky významných BA naleznete v příloze P V). V živých buňkách mají důležitou metabolickou funkci. Polyaminy (spermin, spermidin, putrescin a kadaverin) podporují růst a dělení buněk, replikaci DNA či diferenciaci buněk. Další aminy, jako jsou histamin a tyramin, jsou důležité pro kontrolu funkcí nervového systému a krevního tlaku. Ve vysokých koncentracích mohou aminy přivodit člověku bolesti hlavy, problémy s dýcháním, hypernízký tlak a alergie (viz příloha III). Největší toxické projevy můžeme sledovat u zvýšeného množství histaminu, který se nachází ve střevní sliznici díky mucinu. Odbourávání menších dávek BA pomocí enzymů monoaminoxidázy a diaminoxidázy není problémem. Kritickou se stává vysoká koncentrace BA, kdy je působení monoaminoxidázy a diaminoxidázy tlumeno inhibitory jako jsou např. některé léky, etanol či jiný amin v potravíně. Alkohol a produkt jeho odbourávání acetaldehyd může tlumit působení aminoxidáz, a tak setrvává amin v těle déle. [4], [22], [29]

BA jsou vytvářeny BMK při dekarboxylaci AMK během fermentace. BA jsou tvořeny hlavně *O. oeni*, hlavním činitelem JMK. Bylo zjištěno, že dalšími producenty může být i rod *Lactobacillus* nebo že BA mohou být tvořeny kvasinkami během JMK. BA jsou také navrhovány jako ukazatelé nedostatku hygieny během vinifikace či špatné kvality moštu. Dále mohou být aminy tvořeny cestou aminace aldehydů a ketonů transaminázami a enzymatickým odbouráváním jiných substancí obsahujících dusík. BA jsou tvořeny ve víně během různých stupňů vinifikace, některé se vyskytují přímo v hroznu. JMK je obecně považováno za základního činitele pro produkci BA - zejména putrescinu, histaminu a tyraminu. [4], [22], [29] Moreno a Azpilicueta [24] se ve své studii zabývali akumulací BA v červeném víně po filtraci křemelinou a bez filtrace. Zkoumáním vína filtrovaného a nefiltrovaného bylo zjištěno, že různá míra kalnosti neměla vliv na hromadění BA během stárnutí vína. Ve studii Del Preta a kol. [26], zkoumající vliv odrůdy hroznu na tvorbu BA ve víně, byla potvrzena domněnka, že rozmanitost odrůd hroznu souvisí s přítomností BA, a že klimatické podmínky rovněž ovlivňují hromadění těchto sloučenin. Hernández a kol. [27] svoji práci zaměřili na vliv původních a naočkovaných BMK na množství BA a volných AMK ve víně kvašeném v dubovém sudu. Srovnání koncentrací aminů získaných u

zkoumaných vín odhalily průkazné rozdíly v putrescinu a histaminu. Histamin byl významně zvýšen u vín prodobených JMK s původními bakteriemi. Mnohem méně zvětšený obsah BA byl ve víně se starterovými kulturami BMK. Nejnižší koncentrace aminů byly nalezeny ve vínech bez JMK. Kadaverin a tyramin byly méně ovlivněnými BA.

Landete a kol. [30] ve své práci zkoumali produkci BA v syntetickém mediu odpovídajícímu každému z mikroorganismů, ve víně a v hroznovém moštu a produkci BA pomocí BMK, bakterií octového kvašení a kvasinek. Výsledky studie tvrdí, že BMK jsou mikroorganismy zodpovědné za produkci histaminu, tyraminu a fenyletylaminu ve víně. V moštu tyto biogenní aminy mají nízké nebo nulové hodnoty. Koncentrace putrescinu, tryptaminu a kadaverinu nemůže být přisuzována mikroorganismům spojených s vinifikací. Koncentrace těchto aminů jsou totiž již objeveny jako přirozená součást hroznů v proměnlivých množstvích v závislosti na odrůdě. V hroznech byl objeven také putrescin (20 mg/l), který vděčí za svoji vysokou koncentraci v rostlinách nízkým koncentracím draslíku v půdě. Studie také popírá dřívější domněnku, že *Pediococcus* je hlavním rodem zodpovědným za produkci histaminu. Hlavním producentem histaminu je *O. oeni*, *Lactobacillus hilgardii*, *Leuconostoc mesenteroides* a v malé míře také *Pediococcus parvulus*. Žádné druhy kvasinek a bakterií octového kvašení nebyly schopny produkovat BA studované v této práci. Byla zpozorována 100% korelace mezi produkcí BA v syntetické půdě a ve víně. Obsahy BA vyprodukovaných v syntetické půdě byly vždy nižší než ve víně. Způsob předejití vysokého obsahu BA je v této práci navrženo snižováním délky procesu, který včlenění aminokyseliny do moštu nebo do vína (např. luhování slupek hroznů, kontakt s usazeninami) na minimum (to je nemožné u dlouho zrajících vín). Další faktory, které nejsou přístupné ke změně, jsou druh hroznů a druh půdy. Kontrola nad tímto problémem by byla podle autorů studie vyřešena zabráněním růstu původních BMK a očkováním komerčně vybraných typů *O. oeni* neschopných produkce BA.

Studie Carusol a spol. [31] pojednává o produkci BA pomocí kmenů kvasinek izolovaných z hroznů a vín a jako kritéria pro výběr vinných kvasinek. Všechny druhy produkovaly velmi nízké či nejistitelné množství histaminu, zatímco metylamin a agmatin byly vytvořeny všemi považovanými druhy stejně. Nejvyšší koncentrace celkových BA byla vytvořena díky *Brettanomyces bruxellensis*, s průměrnou hodnotou 15 mg/l vína. Za ním následoval kmen *Saccharomyces cerevisiae* s průměrem 12 – 14 mg/l. Vína kvašená těmito kmeny měla nejvyšší obsah etanolaminu (od 2,3 – 16 mg/l) a agmatinu (od 3,1 – 7,5 mg/l). Kvasi-

cí schopnost kmenů jiných druhů (*Kloeckera apiculata*, *Brettanomyces bruxellensis* a *Metschnikowia pulcherrima*) se měnila v důsledku produkce agmatinu a fenyletylaminu. Výsledky této studie však vyzdvihují význam použití vybraných kmenů *S. cerevisiae*, nejen díky jejich žádoucím technologickým vlastnostem, ale také v důsledku vyhnutí se potenciálních negativních účinků na lidské zdraví.

Studie Martín – Álvaroze a kol. [28] byla zaměřena na 4 faktory při výrobě vína: vliv přídavku pektolytických enzymů, užití komerčních jablečno - mléčných starterů, macerace a stárnutí vína na usazeninách. Výsledky potvrzují předchozí studie, že delší doba macerace by se mohla klonit k větší produkci BA. Komerční pektolytické enzymy jsou použity ke zvýšení výnosu šťávy, k usnadnění filtrování a k poskytnutí větší průzračnosti moštu a vína. Použitím těchto enzymů došlo k ovlivnění koncentrace kadaverinu a fenyletylaminu. To dokazuje, že nedochází k akumulaci aminů ve vínech. Byly také nalezeny rozdíly koncentrací BA mezi ročníkovými víny (vintage). Vína z roku 2001 měla významně vyšší hodnoty aminů než vína z roku 2002, způsobené rozmanitostí vinných mikroorganismů (hlavně kvasinek a bakterií), které jsou přirozeně selektovány každý rok. Vyšší koncentrace metylaminu a putrescinu byly ve vínech stárnoucích na usazeninách kvasinek, což bylo pravděpodobně způsobeno kontaktem vína s usazeninami. Touto studií byla také zdůrazněna důležitost očkovaní vína komerčními jablečno - mléčnými startery k omezení hodnot BA.

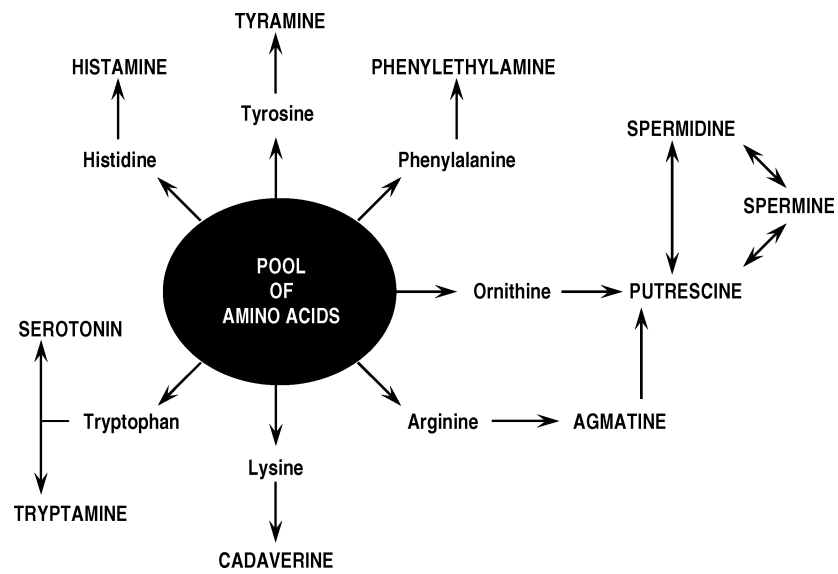
Obdobným zkoumáním jako v předchozí studii se zabýval Marques a kol.[34]. Cílem bylo zkoumat účinky některých enologických faktorů na vliv BA ve vínech (vinařská oblast, druh hroznu, protiplísňová ošetření hroznů, JMK startery a skladování vína na usazeninách). Výsledky ukázaly, že typ vinařské oblasti a druh hroznu ovlivnily množství BA. Na konci alkoholového kvašení nebyla objevena žádná významná množství BA ve vínech neošetřených a ošetřených různými protiplísňovými prostředky (nebylo překročeno množství 0,5 mg/l). Dva měsíce poté, co bylo ukončeno JMK, naočkovaná vína komerčními JMK startery obsahovala nižší koncentrace BA v porovnání s kontrolními nezaočkovanými vzorky. Co se týče faktoru skladování vína na usazeninách, zvýšilo se množství tyraminu a kadaverinu u vín uložených na usazeninách. Studií bylo potvrzeno, že červená vína obsahují vyšší úroveň BA než bílá vína, což může být vysvětleno lisováním se slupkami červeného moštu. To vede k extrakci vyššího množství živin a mikroorganismů. Produkci *O. oeni* během JMK vína, získaného používáním jiných kmenů *S. cerevisiae*, se zabývala studie

Rosi a kol. [32]. Ze získaných výsledků lze vyčíst, že schopnost *O. oeni* produkovat histamin a tyramin, je závislá na použitém bakteriálním kmenu, na vinném složení a na délce doby kontaktu mezi bakterií a kvasinkou po dokončení JMK. Tento aspekt je z praktického hlediska potvrzující nezbytností k oddělení bakteriální biomasy vína, abychom se vyvarovali ztrátě kvality. Výsledky také ukázaly, že formace BA je větší, když koncentrace aminokyselinových prekurzorů je vyšší, ačkoliv toto spojení nemusí být lineární.

Zajímavé jsou studie BA ve vínech s přívlastkem.[4] Bylo studováno 22 rakouských vín s přívlastkem a bylo zjištěno, že se stoupající gradací moštu stoupá i koncentrace aminů. Se zvyšujícím se stupněm botrytidové infekce (*Botrytis cinerea* – „ušlechtilá plíseň“) se silně zvyšoval fenyletylamin a izopentylamin. Ledová vína vykazovala nápadně nízké hodnoty díky specifické výrobě (koncentrace následkem mrazu a ne botrytidou). Definice kvality vína by měla brát na zřetel obsah BA kvůli zdraví spotřebitelů a komerčním zájmům. Marques a kol. [34] ve své studii uvádí, že regulační hranice pro obsah aminů ve vínech ještě nebyly organizací OIV (Organization International de la Vigne et du Vin) stanoveny. Dále ve své studii předkládá limity pro obsah histaminu ve víně, které by si evropské státy měly podle studie Marquese vytvořit: tyto limity se pohybují v intervalu 2 – 20 mg/l. Na písemný dotaz ohledně limitů BA v České republice není podle prohlášení Státní zemědělské a potravinářské inspekce v současné době právními předpisy limit stanoven.[16]

Aminokyseliny (dále jen AMK) jsou považovány za hlavní zdroje dusíku a uhlíku mezi vinnými substráty metabolizovanými BMK. Bylo zjištěno, že koncentrace AMK se snížila a zvýšila během JMK díky původním BMK. BA nejvíce korelovaly s jejich příslušnými prekurzory (viz. Obr.6) a celková koncentrace AMK korelovala pozitivně s obsahem BA. Množství AMK ovlivňuje utváření BA v přítomnosti BMK.[27]

Barrado a kol. [25] ve své studii stanovovali primární aminokyseliny pomocí vysokoúčinné kapalinové elektromagnetické chromatografie (HPLMC). Byly zpozorovány jisté korelace mezi AMK a typem vína a bylo identifikováno a kvantifikováno 8 AMK v několika vzorcích španělských vín. Byla nalezena skupina AMK (leucin, metionin a histidin), které jsou snadno asimilovány bakteriemi a kvasinkami, zodpovědnými za alkoholové kvašení a JMK. Dále byla zpozorována skupina 4 AMK (glycin, alanin, kyselina β – aminomáselná a asparagin), které jsou spotřebovány jen tehdy, jsou-li primární živiny vyčerpány.



Obr. 6. Aminokyselinové prekurzory biogenních aminů [22]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo v teoretické části jednak stručně charakterizovat červená a bílá vína a jejich výrobu, popsat sledování obsahu volných aminokyselin a biogenních aminů ve vzorcích vína a stručně charakterizovat jablečno – mléčné kvašení ve vztahu k volným aminokyselinám a biogenním aminům.

V praktické části byl založen experiment s nejméně 10 vzorky vína a byl sledován obsah biogenních aminů a volných aminokyselin v průběhu výroby vzorků vína.

5 METODICKÁ ČÁST

5.1 Plán experimentu

V diplomové práci byly zkoumány 4 bílé odrůdy vína (Müller Thurgau, Veltlínské zelené, Rulandské šedé a Ryzlink vlašský) a 6 modrých odrůd vína (Modrý Portugal, Rulandské modré, Dornfelder, Frankovka, André a směs modrých odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka). Tyto odrůdy byly posbírány na podzim roku 2008. Od podzimu 2008 do podzimu 2009 bylo během vinifikačního procesu odebráno celkem devětkrát výše jmenovaných 10 vzorků vín: 24.11.2008, 8.12.2008, 3.2.2009, 19.3.2009, 22.4.2009, 17.5.2009, 5.8.2009, 2.10.2009 a 11.11.2009 (stručný popis použitých odrůd je v přílohách P I a P II).

Při výrobě vína z odrůd André, Frankovka, Dornfelder, Rulandské modré, Modrý Portugal, Müller Thurgau a Veltlínské zelené byly použity ušlechtilé kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a bakterie *O. oeni* pro JMK. Víno bylo čiřeno pomocí TOSILU (30% roztok kyseliny křemičité), želatiny a CLARROUGE a sířeno pomocí PYROSULFITU (disiřičitan draselný, $K_2S_2O_5$).

Víno z odrůd Rulandské šedé, Ryzlink vlašský, směsi Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka bylo vyrobeno bez přídavku starterových kultur spontánním kvašením. Jako siřící prostředek byly použity sírné knoty. Nebylo provedeno čiření, které je nutné v případě vyššího výskytu bílkovin.

Byly sledovány změny ve množství biogenních aminů a volných aminokyselin ve vzorcích vína během vinifikačního procesu.

5.2 Charakteristika použitých vín

5.2.1 Modrá odrůda André

Byla posbírána 31.10.2008 (bráno jako 0. den sběru). Cukernatost rmutu byla 18°NM a byla zvýšena o $3,5^\circ\text{NM}$. Rmut byl posléze rozkvašen pomocí ušlechtilé kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a zasířen PYROSULFITEM (5g/hl). Kvasný proces probíhá na matolinách. Během kvasného procesu, v době nejintenzivnějšího kvašení a v době dokvašení, bylo provedeno opět zasíření PYROSULFITEM (3 x 5 g/hl). 10.11.2008 (10. den od

sběru) bylo provedeno lisování a byly dodány bakterie *O. oeni* pro JMK. Víno bylo odkale-
no z hrubých kalů a při stále probíhajícím JMK byla udržována teplota 18 – 18,5°C.
28.12.2008 (58. den sběru) bylo provedeno první stáčení a dosíření o 15 mg/l SO₂, po 10
dnech (7.1.2009 – 68.den sběru) bylo SO₂ zvýšeno o 15 mg/l. 15.1.2009 (76. den sběru) se
víno podruhé stáčelo a současně se čířilo TOSILEM (50g/hl) a želatinou (5g/hl). 2. února
2009 (94. den sběru) bylo víno potřetí stáčeno, volný SO₂ byl upraven na 40 mg/l.
15.5.2009 (196. den) byla provedena filtrace vína. Od té doby se víno nechalo zrát
v nerezových tancích.

5.2.2 Modrá odrůda Frankovka

Byla posbírána 24.10.2008 (bráno jako 0. den). Po pomletí a odstopkování byla cukernatost
změřena na 18°NM a zvýšena o 3,5°NM. Rmut byl rozkvašen pomocí ušlechtilé kultury
kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a zasířen PYROSULFITEM (5g/hl). Kvasný proces
probíhá na matolinách. Během kvasného procesu, v době nejintenzivnějšího kvašení a
v době dokvášení, bylo provedeno opět zasíření PYROSULFITEM (3 x 5 g/hl). 5.11. 2008
(12. den od sběru) bylo provedeno lisování a byly dodány bakterie *O. oeni* pro JMK. 6.11.
2008 (13. den od sběru) bylo víno odkaleno z hrubých kalů a při stále probíhajícím JMK
byla udržována teplota 18-18,5°C. 29.12.2008 (53. den od sběru) bylo provedeno první
stáčení a dosíření o 15 mg/l SO₂. Dvakrát po deseti dnech bylo opět zvýšeno zasíření o 15
mg/l (8. a 18. 1. 2009-64. a 74. den od sběru). 31.12.2008 (55. den od sběru) bylo víno či-
řeno pomocí TOSILU (50g/hl) a želatiny (5g/hl). Od 1. února byla zavedena pravidelná
měsíční kontrola volného SO₂ a jeho korekce na 40 mg/l. 23.6.2009 (230. den od sběru).
Víno zraje v nerezových tancích.

5.2.3 Modrá odrůda Dornfelder

Sběr hroznů proběhl 17.10.2008 (bráno jako 0. den). Po pomletí a odstopkování byla
cukernatost změřena na 17,5°NM a zvýšena o 3,5°NM. Rmut byl rozkvašen pomocí
ušlechtilé kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a zasířen PYROSULFITEM
(5g/hl).

Kvasný proces probíhá na matolinách. Během kvasného procesu, v době nejintenzivnějšího
kvašení a v době dokvášení, bylo provedeno opět zasíření PYROSULFITEM (3 x 5 g/hl).
1.11. 2008 (15. den od sběru) bylo provedeno lisování a byly dodány bakterie *O. oeni* pro

JMK. 2.11.2008 (56. den od sběru) došlo k hrubému odkalení. Během JMK bylo teplota moštu zvýšena na 18-18,5°C. 28.12.2008 (56. den od sběru) skončilo JMK a byl zvýšen volný SO₂ o 15 mg/l. 29.12. 2008 (57. den od sběru) bylo provedeno první stáčení vína. 8.1.2009 (67. den od sběru) bylo opět zvýšeno zasíření o 15 mg/l. 31.12. 2008 (59. den od sběru) bylo víno čiřeno pomocí TOSILU (50g/hl) a želatiny (5g/hl). Od 1. února byla zavedena pravidelná měsíční kontrola volného SO₂ a jeho korekce na 40 mg/l. 14. května 2009 (193. den od sběru) byla provedena filtrace. Víno je uchováváno po celou dobu v nerezových tancích.

5.2.4 Modrá odrůda Rulandské modré

Sběr této odrůdy proběhl 14.10.2008 (bráno jako 0. den). Po pomletí a odstopkování byla cukernatost změřena na 18,5°NM a zvýšena na 22°NM. Rmut byl rozkvašen pomocí ušlechtilé kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a zasířen PYROSULFITEM (5g/hl). Kvasný proces probíhá na matolinách. Během kvasného procesu, v době nejintenzivnějšího kvašení a v době dokvašení, bylo provedeno opět zasíření PYROSULFITEM (3 x 5 g/hl). 24.10.2008 (9.den od sběru) bylo provedeno lisování a dodání bakterií *O. oeni* pro JMK. 25.10.2008 (10. den od sběru) došlo k hrubému odkalení. 5.12.2008 (51. den od sběru) skončilo JMK, byl zvýšen volný SO₂ o 20 mg/l. Po deseti dnech (15.12.2008) bylo zvýšeno zasíření o 15 mg/l. 23.12.2008 (69. den od sběru) proběhlo první stáčení a čiření pomocí TOSILU (50 ml/hl), želatiny (5g/hl) a CLARROUGE (65g/hl). Byl zkontrolován volný SO₂ a upraven na 40 mg/l. 10.1. 2009 (87. den od sběru) bylo víno podruhé stáčeno. 10.8.2009 (299. den od sběru) bylo víno zfiltrováno. Víno zráló po celou dobu v nerezových tancích.

5.2.5 Modrá odrůda Modrý Portugal

Odrůda byla posbírána 1.10.2008 (bráno jako 0. den). Hrozny byly pomlety a odstopkovány. Cukernatost rmutu činila 19°NM a byla zvýšena na 22°NM. Rmut byl rozkvašen pomocí ušlechtilé kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a zasířen PYROSULFITEM (3 x 5g/hl). Kvasný proces probíhá na matolinách. Během kvasného procesu, v době nejintenzivnějšího kvašení a v době dokvašení, bylo provedeno opět zasíření PYROSULFITEM (5 g/hl). Po ukončení kvašení bylo provedeno lisování (9.10.2008 – 8. den od sběru), hrubé odkalení a zasíření na 50 mg/l SO₂. U Modrého Portugalu jako jediné modré zkoumané

odřůdy neproběhlo JMK. 29. 11. 2008 (81. den od sběru) bylo provedeno stáčení a zasíření na 40 mg/l SO₂. 23.12.2008 (105. den od sběru) bylo víno čiřeno TOSILEM (50 ml/hl) a želatinou (5g/hl). 23.1. 2009 (136. den od sběru) bylo víno podruhé stáčeno. 8. 5. 2009 (241. den od sběru) proběhlo 3. stáčení vína a filtrace. Dále se kontroloval obsah SO₂ a víno bylo ponecháno zrání v nerezových tancích.

5.2.6 Bílá odrůda Müller Thurgau

Byla posbívána 25.9.2008 (bráno jako 0. den). Hrozny byly pomlety a odstopkovány. Vzniklý rmut se nechal několik hodin odležet a pak byl ihned lisován. Průměrná cukernatost rmutu činila 18°NM. 26.9.2008 (1.den od sběru) byl vylisovaný mošt lehce odkalen z hrubých kalů, zasířen na 25 mg SO₂ a doslazen na 21°NM. 27.9.2008 (2. den od sběru) byl mošt dále rozkvašen pomocí ušlechtilé kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a teplota kvasného procesu byla regulována v rozmezí 17,8 – 18° C. Po ukončení alkoholového kvašení (8.10.2008 - 11.den od sběru) byl mošt zasířen na 50 mg SO₂ a bylo provedeno stáčení z hrubých kalů. Od poloviny ledna 2009 bylo u všech nádob provedeno druhé stáčení (15.1.2009 - 110. den od sběru) a nádoby byly sceleny. Pravidelně jednou za měsíc byla provedena kontrola volného SO₂. Na konci ledna (31.1.2009 - 126. den od sběru) bylo provedeno čiření pomocí BENTONITU SUPER v dávkách do 150 g/hl. V polovině února 2009 (15.2.-141. den od sběru) bylo víno potřetí stáčeno a současně zfiltrováno. Následovaly měsíční kontroly na volný SO₂ a jeho případně doplnění na 40 mg/l. Víno zráló v nerezových tancích.

5.2.7 Bílá odrůda Veltlínské zelené

Odrůda byla posbívána 15.10.2008 (bráno jako 0. den). Hrozny byly pomlety a odstopkovány. Vzniklý rmut se nechal několik hodin odležet, a pak byl ihned lisován. Průměrná cukernatost rmutu činila 17,5°NM. 16.10. 2008 (1.den od sběru) byl vylisovaný mošt lehce odkalen z hrubých kalů, zasířen na 25 mg SO₂ a doslazen na 21°NM. 17.10. 2008 (2. den od sběru) byl mošt dále rozkvašen pomocí ušlechtilé kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) a teplota kvasného procesu byla regulována v rozmezí 17,8 – 18° C. Po ukončení alkoholového kvašení (28.10.2008 – 13. den od sběru) byl mošt zasířen na 50 mg SO₂ a bylo provedeno stáčení z hrubých kalů. Druhé stáčení vína a čiření pomocí BENTONITU SUPER bylo provedeno 7.2. 2009 (115. den sběru), nádoby pak byly

sceleny. 18. 2. 2009 (126. den od sběru) bylo víno zfiltrováno a potřetí stáčeno. Následovala měsíční kontrola na volný SO₂ a jeho případné doplnění na 40 mg/l. Víno bylo ponecháno zrání v nerezových tancích.

5.2.8 Bílá odrůda Rulandské šedé

Odrůda byla posbírána 30.9. 2008 (bráno jako 0. den). Hrozny byly pomlety a odstopkovány a proběhlo zasíření. Vzniklý rmut se nechal několik hodin odležet, a pak byl ihned lisován. 4.10.2008 (4. den od sběru) následovalo zasíření a samovolné odkalení. V moštu proběhlo alkoholové kvašení. 17.10.2008 (17. den od sběru) bylo provedeno 2. zasíření kvůli zbytkovému cukru. 23.10. 2008 (23. den od sběru) bylo víno stáčeno. 15.1. 2009 (107. den od sběru) bylo víno znovu stáčeno. 14.2.2009 (137. den od sběru) byla provedena filtrace vína. Víno bylo ponechání zrání ve skleněných nádobách.

5.2.9 Bílá odrůda Ryzlink vlašský

Sběr hroznů proběhl 6.10. 2008 (bráno jako 0. den). Hrozny byly pomlety a odstopkovány. Vzniklý rmut se nechal několik hodin odležet, a pak byl ihned lisován. 10.10.2008 (4. den od sběru) následovalo zasíření a samovolné odkalení šťávy. V moštu proběhlo alkoholové kvašení. 23.10.2008 (17. den od sběru) bylo provedeno 2. zasíření. 30.10. 2008 (24. den od sběru) bylo víno stáčeno. 17.1. 2009 (103. den od sběru) bylo víno znovu stáčeno. 27.2.2009 (144. den od sběru) byla provedena filtrace vína. Víno bylo ponechání zrání ve skleněných nádobách.

5.2.10 Směs modrých odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka

Odrůdy byly posbírány 3.10.2008 (bráno jako 0. den) a smíchány dohromady. Hrozny byly pomlety a odstopkovány a bylo provedeno zasíření. 10.10.2008 (7. den od sběru) bylo provedeno odkalení před alkoholovým kvašením. 27.10.2008 (24. den od sběru) dochází ke konci alkoholového kvašení, podruhé se provádí zasíření a následně lisování. 3.11 2008 (31. den od sběru) a 15. 1. 2009 (104. den od sběru) je víno stáčeno. 28.3.2009 (176. den od sběru) je víno filtrováno. Víno bylo ponechání zrání v dřevěných sudech.

5.3 Použité metody stanovení

5.3.1 Příprava vzorků na stanovení biogenních aminů a volných aminokyselin

Množství 15 – 20 ml vína bylo přesně zváženo v 50 ml plastových zkumavkách a zmraženo na -80°C . Takto zmražené vzorky byly následně druhý den umístěny do lyofilizátoru typu ALPHA 1 – 4 LSC (sušení vymrazováním) a znovu zváženy. Potom byly ke vzorku do zkumavky přidány 3 ml sodnocitrátového dávkovacího pufru (pH 2,2) pro stanovení biogenních aminů nebo 10 ml litnocitrátového dávkovacího pufru pro stanovení volných aminokyselin. Po protřepání na třepačce (cca 40 minut) bylo kvantitativně převedeno 2 x 750 μl každého vzorku vína do dvou mikrozkušavek a ty byly ponechány 48 hodin ledniče. Následně byly mikrozkušavky každého vzorku vína centrifugovány na odstředivce (20000 g po dobu 45 minut a teplotě 4°C) za účelem odstranění nečistot a přefiltrovány přes mikrofiltr (porozita 0,45 μm) do jedné mikrozkušavky. Ke stanovení přítomnosti a obsahu volných aminokyselin a biogenních aminů byl používán automatický analyzátor aminokyselin AAA 400. Analýza byla provedena iontovýměnnou chromatografií pomocí sodnocitrátových pufrů (v případě biogenních aminů) nebo litnocitrátových pufrů (v případě volných aminokyselin), postkolonové ninhydrinové derivatizace a fotometrické detekce. Výsledky byly vyhodnoceny regresní analýzou (metoda nejmenších čtverců; program Microsoft Excel) a zobrazeny pomocí grafů.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

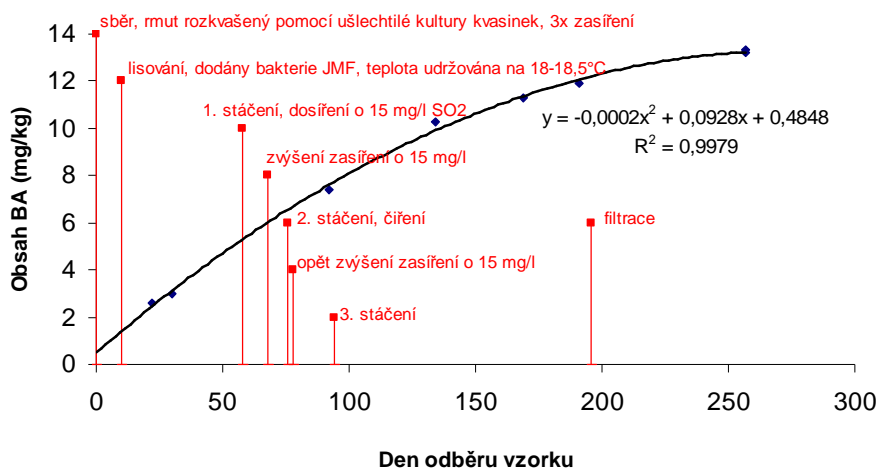
6.1 Vyhodnocení vzorků vína

V následujících subkapitolách je popsán vývoj obsahu 4 biogenních aminů (tyramin, putrescin, spermidin a histamin) u vzorků vína. U většiny případů je vývoj popsán i regresním modelem. Pokud byl obsah biogenního aminu v daném vzorku detekován pouze v několika málo obdobích, pak jsou uvedeny pouze sloupcové grafy. V každém grafu jsou naznačeny nejdůležitější vinifikační kroky. Následující kapitoly obsahují také komentář vývoje obsahu volných aminokyselin (příslušné grafy jsou uvedeny v přílohách práce).

6.1.1 Víno odrůdy André

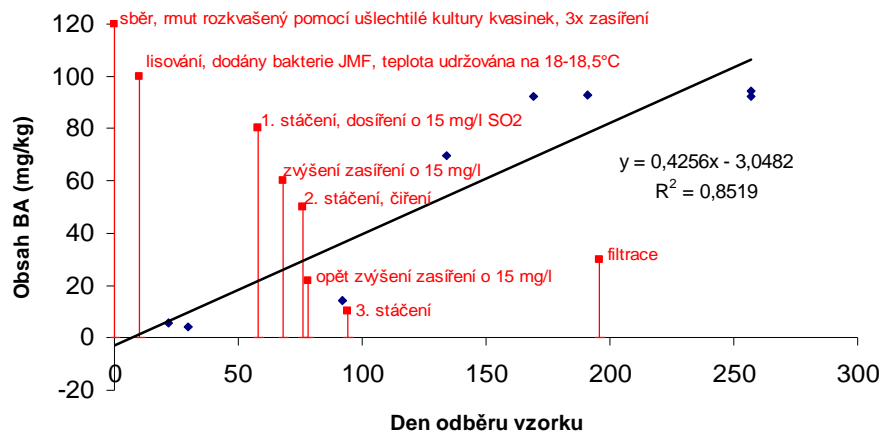
V grafech č.1, 2, 3 a 4 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy André. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky. Průběh byl popsán regresním modelem polynomu 2. řádu.

Graf č. 1: Vývoj obsahu tyraminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy André



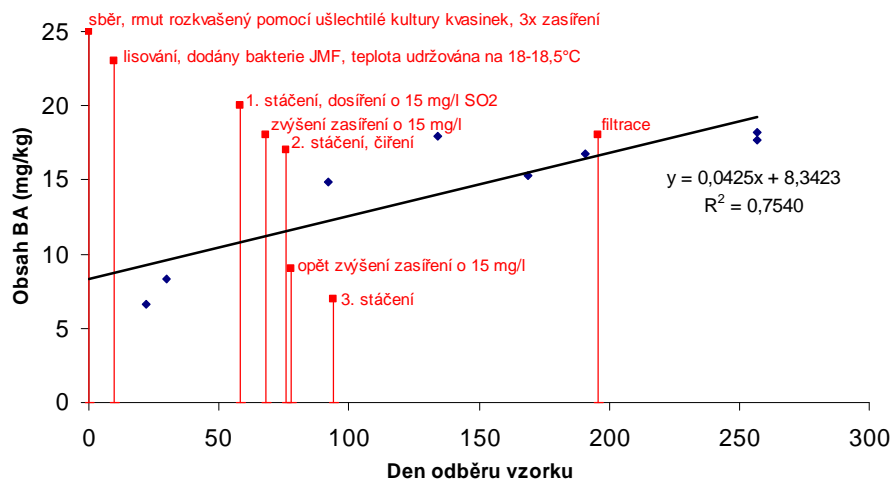
Tyramin byl detekován kolem 20. dne odběru vzorku, kdy probíhalo JMK. Během dalších vinifikačních kroků probíhal jeho nárůst a nejvyšší množství bylo zaznamenáno kolem 250. dne odběru vzorku v množství zhruba 13 mg/kg. V této době je již víno zfiltrováno a zraje v nerezových tancích.

Graf č. 2: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy André



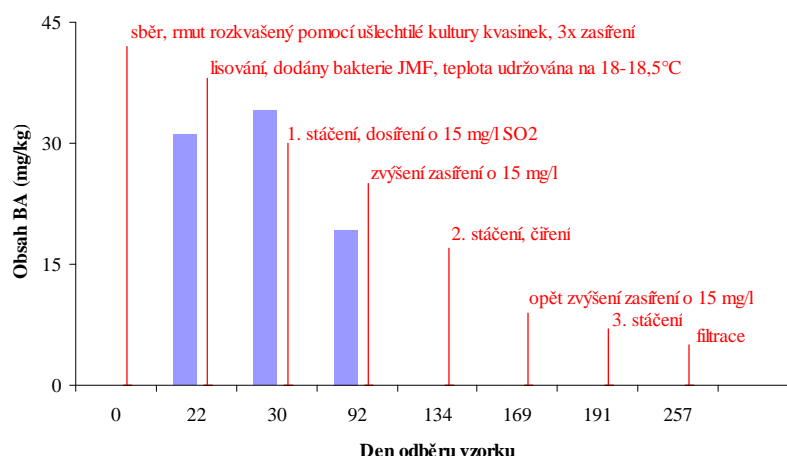
Biogenní amin putrescin byl objeven také během JMK a jeho množství se zvyšovalo. Před filtrací byl nejvyšší obsah kolem 90 mg/kg kolem 250. den odběru vzorku a tento obsah se nezměnil ani po filtraci. Průběh byl popsán lineárním regresním modelem.

Graf č. 3: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy André



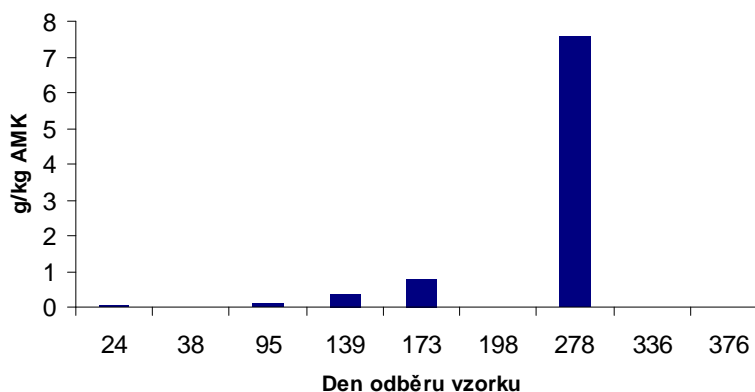
První objevené množství spermidinu činilo zhruba 7 mg/kg během JMK. Obsah se dále zvyšoval a nejvyšší koncentraci měl po filtraci zhruba 250. den odběru vzorku v průběhu zrání vína (cca 18 mg/kg). Použit byl lineární regresní model z důvodu nejvyššího koeficientu determinace. Nicméně z průběhu změn obsahu spermidinu je patrné, že by bylo pro popis vhodnější použití nelineárního regresního modelu, jehož aplikace by však přesáhla zamýšlený rámec této práce.

Graf č. 4: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy André



Obsah histaminu byl zaznamenán již před lisováním ve rmutu. Nejvyšší obsah histaminu byl detekován před 1. stáčením během JMK (34 mg/kg). Před zvýšením zasíření obsah klesl na necelých 20 mg/kg a dále již nebyl detekován. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf. V příloze P IX, grafy č. P IX/1 – 4 jsou uvedeny vývoje obsahů volných aminokyselin. Sloučeniny 1-methylhistidin, kyselina ami-noadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná byly detekovány pouze 95. den odběru vzorku po 3. stáčení vína a před filtrací, v jiných termínech nebyly detekovány. Zbylé zkoumané volné aminokyseliny měly nejvyšší zaznamenané množství 278. den odběru vzorku, což je po filtraci vína během jeho zrání.

Graf č. 5: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy André

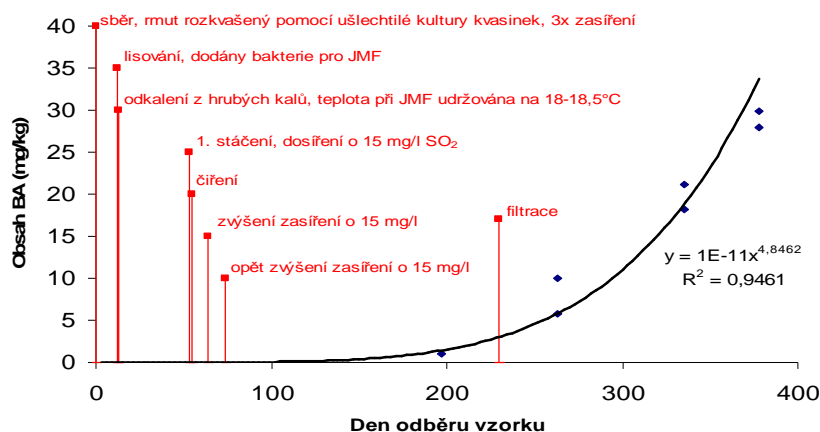


V grafu č. 5 bylo nejvyšší množství volných AMK detekováno 278. den odběru vzorku, kdy je víno zfiltrováno a zraje v nerezových tancích. 38., 198., 336. a 376. den odběru vzorku nebyly nalezeny žádné volné aminokyseliny.

6.1.2 Víno odrůdy Frankovka

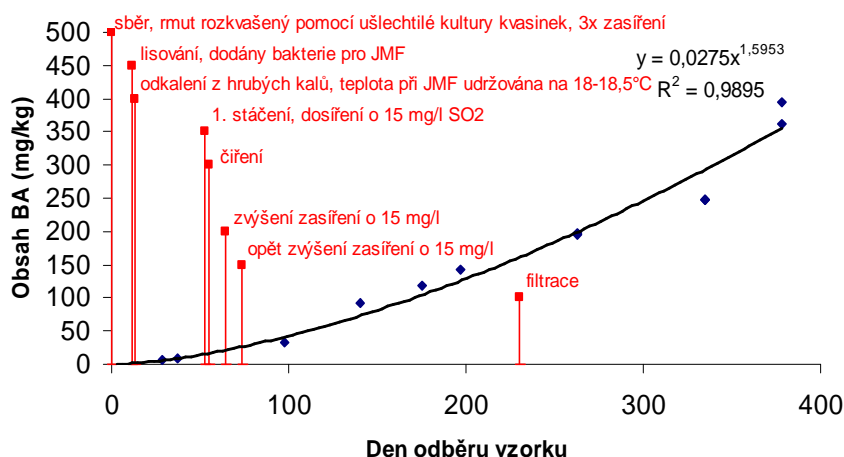
V grafech č.6, 7, 8 a 9 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Frankovka. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 6: Vývoj obsahu tyraminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Frankovka



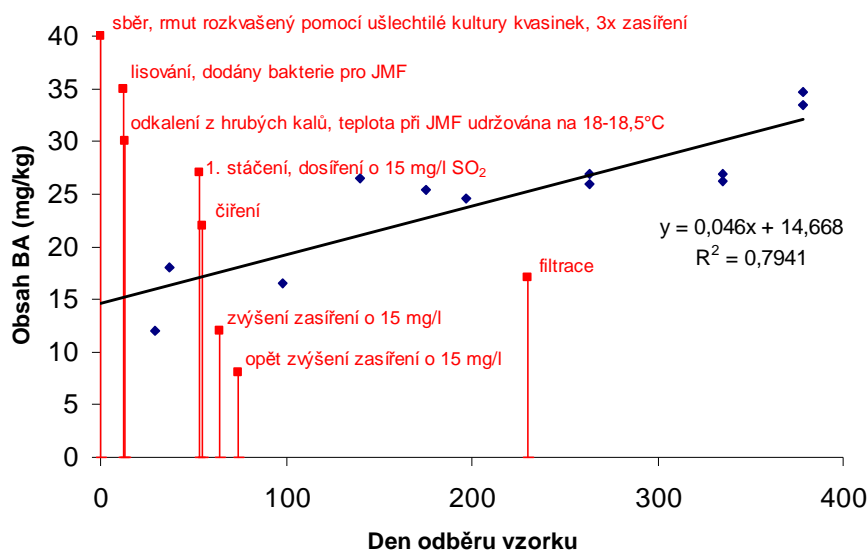
První detekované množství tyraminu bylo objeveno kolem 200. dne odběru vzorku po druhém zvýšení zasižení vína SO₂. Po filtraci vína začal obsah stoupat a největšího množství dosáhl kolem 380. dne odběru vzorku (cca 30 mg/kg), kdy víno zraje v nerezových tancích. Průběh byl popsán mocninným regresním modelem.

Graf č. 7: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Frankovka



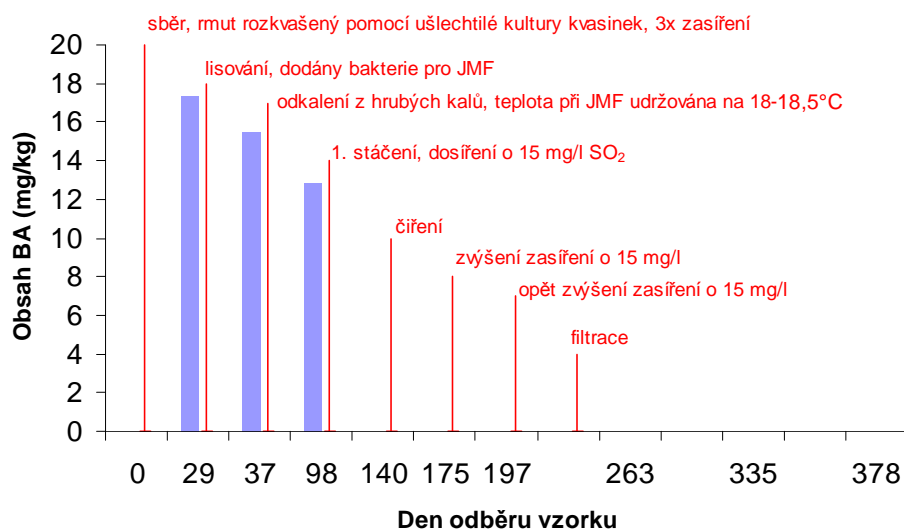
Obsah putrescinu se objevil okolo 50. dne odběru vzorku v průběhu JMK a svého největšího zjištěného množství dosáhl po filtraci kolem 380. dne odběru vzorku jako tyramin, nicméně jeho obsah ve víně je o mnoho větší (cca 380 mg/kg) než v případě tyraminu. Graf byl vyhodnocen mocninným regresním modelem.

Graf č. 8: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Frankovka



Obsah spermidinu byl oproti tyraminu a putrescinu zvýšený již na počátku objevení ve víně (kolem 12 mg/kg) během JMK. Nejvyšší obsah byl zaznamenán až při zrání vína opět po filtraci kolem 380. dnu odběru vzorku (cca 35 mg/kg). Hodnota spolehlivosti R byla nejvyšší při použití mocninného regresního modelu.

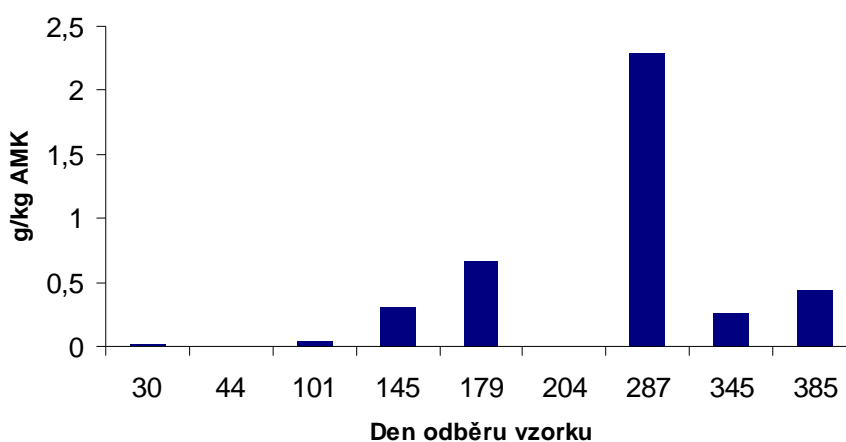
Graf č. 9: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Frankovka



Nejvyšší množství histaminu (cca 17 mg/kg) bylo nalezeno ve rmutu během alkoholového kvašení. Poté množství klesalo a po prvním stáčení histamin již nebyl detekován. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

V příloze P IX, grafy č.P IX/5 – 8 je první záznam vývoje obsahu volných aminokyselin 101. den odběru vzorku po 3. stáčení vína, kdy víno ještě nebylo filtrováno. Nejvyšší zaznamenané množství je 287. den odběru vzorku, kdy je víno již zfiltrováno a zraje v nerezových tancích. Výjimkou je glutamin, který má nejvyšší množství 179. den odběru vzorku, kdy nebylo víno ještě zfiltrováno. Po tomto dnu je sestupná tendence množství volných aminokyselin. Ve vzorku vína odrůdy Frankovka nebyly detekovány tyto sloučeniny: kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, kyselina β – aminomáselná a β – alanin. U 1 – metylhistidinu a kyseliny α – aminomáselné bylo zaznamenáno jediné množství ve 101. dnu odběru vzorku po třetím stáčení vína. V jiných termínech již nebyly detekovány.

Graf č. 10: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Frankovka

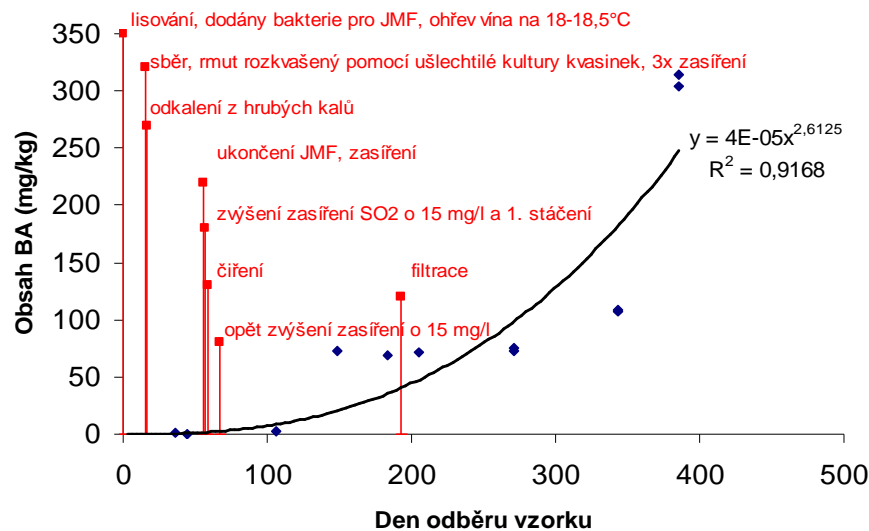


V grafu č.10 je možno konstatovat, že množství všech zaznamenaných volných AMK bylo nejvyšší 287. den odběru vzorku, kdy je víno zfiltrováno a zraje v nerezových tancích. 30., 44. a 204. den odběru vzorku měl téměř nulové hodnoty všech volných AMK.

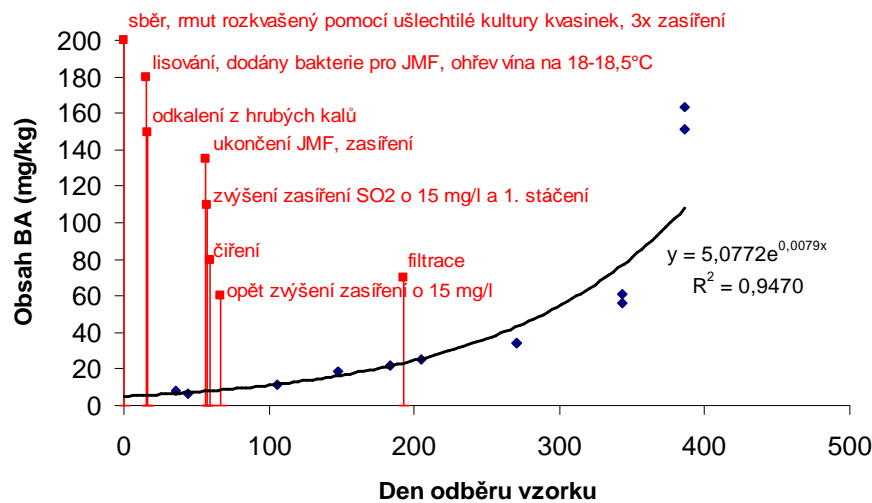
6.1.3 Víno odrůdy Dornfelder

V grafech č. 11, 12, 13 a 14 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Dornfelder. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 11: Vývoj obsahu tyraminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Dornfelder

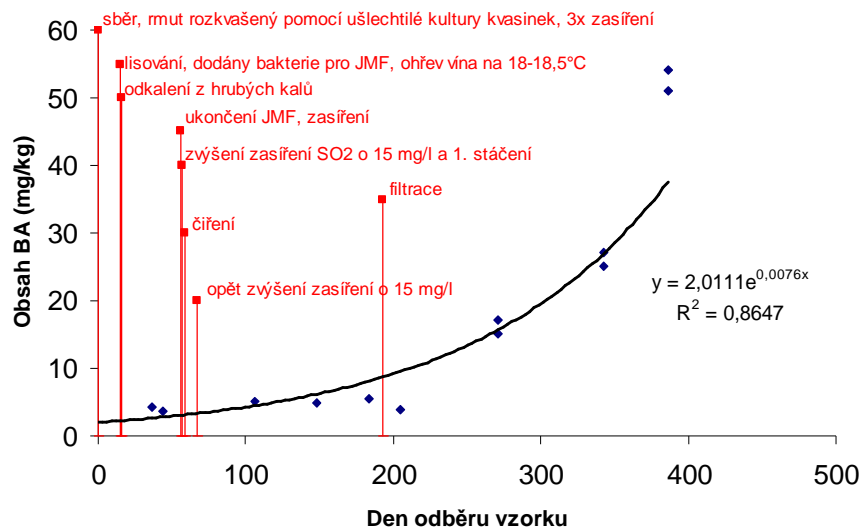


Graf č. 12: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Dornfelder



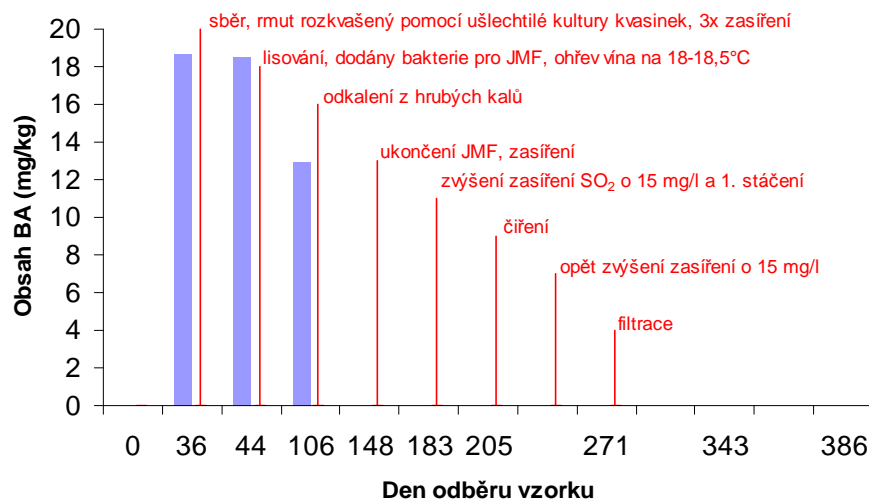
Obsah tyraminu byl poprvé zaznamenán během JMK, před filtrací a po filtraci zvýšené množství stagnovalo (kolem 60mg/kg), a pak stoupalo na nejvyšší množství kolem 380. dne odběru vzorku (asi 300 mg/kg). Graf byl popsán mocninným regresním modelem. Putrescin byl poprvé zaznamenán jako tyramin během JMK a se vzrůstající tendencí bylo jeho nejvyšší množství zaznamenáno opět kolem 380. dne odběru vzorku jako u tyraminu (asi 150 mg/kg). Na vyhodnocení dat byl použit exponenciální regresní model.

Graf č. 13: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Dornfelder



První zjiřitelné množství spermidinu bylo během JMK kolem 50. dnu odběru vzorku. Toto množství se udrželo až po filtraci, kdy začalo stoupat na svoje maximum kolem 380. dnu odběru vzorku (kolem 50 mg/kg). Graf byl popsán exponenciálním regresním modelem.

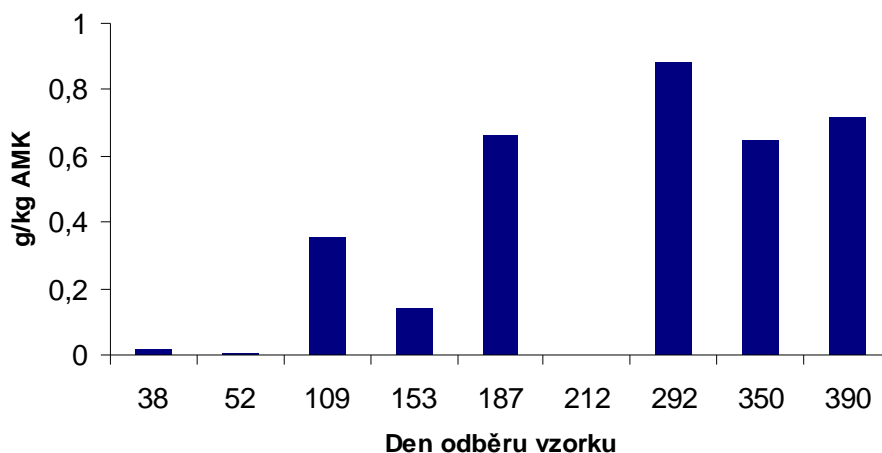
Graf č. 14: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Dornfelder



Největší množství histaminu bylo zaznamenáno během prvních vinifikačních procesů (18 mg/kg). Během JMK došlo k poklesu množství a po ukončení JMK již nebyl histamin detekován. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/ 9 – 12 jsou 292. den odběru vzorku uvedeny největší maxima sloučenin kyseliny asparagové, kyseliny glutamové, serinu a prolinu, kdy je víno již zfiltrováno. Poté následuje pokles v obsahu těchto biogenních aminů. Asparagin a glutamin mají nejvyšší obsah 187. den odběru vzorku (víno ještě není zfiltrováno), kyselina cysteová 292. a 350. den odběru vzorku a treonin 350. den odběru vzorku. V těchto dnech je již víno zfiltrováno. Glycin, alanin, valin, cystein, metionin, izoleucin a leucin mají své maximální obsahy 292. den odběru vzorku, kdy je již víno zfiltrováno. Citrulin má nejvyšší obsah 109. den odběru vzorku, kdy je víno ještě nezčiřeno. U tyrosinu a argininu bylo nejvyšší množství 187. den odběru vzorku, kdy víno ještě nebylo zfiltrováno. Zbytek uvedených volných AMK mělo nejvyšší obsah 292. den odběru vzorku, kdy je už víno zfiltrováno. V jiných termínech již nebyly detekovány. Kyselina aminoadipová a kyselina β – aminomáselná nebyly již také detekovány. Jediný zjištěný obsah β – alaninu a kyseliny α – aminomáselné byl během 109. dne odběru vzorku, kdy víno nebylo ještě zfiltrováno. Nejvyšší obsah 3 – metylhistidinu byl 187. den odběru vzorku, kdy ještě víno nebylo zfiltrováno a 390. den odběru vzorku, kdy víno již zraje v nerezových tancích..

Graf č. 15: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Dornfelder

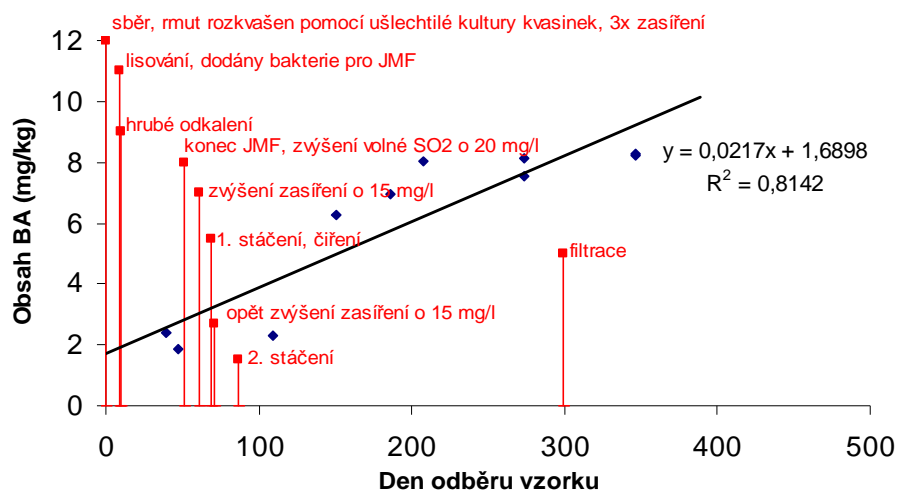


V grafu č. 15 je největší množství všech volných AMK zaznamenáno 292. den odběru vzorku po filtraci vína. Mezi další větší množství volných AMK můžeme považovat 187., 350. a 390. den odběru vzorku. 52. a 212. den nebyly zaznamenány žádné volné aminokyseliny.

6.1.4 Víno odrůdy Rulandské modré

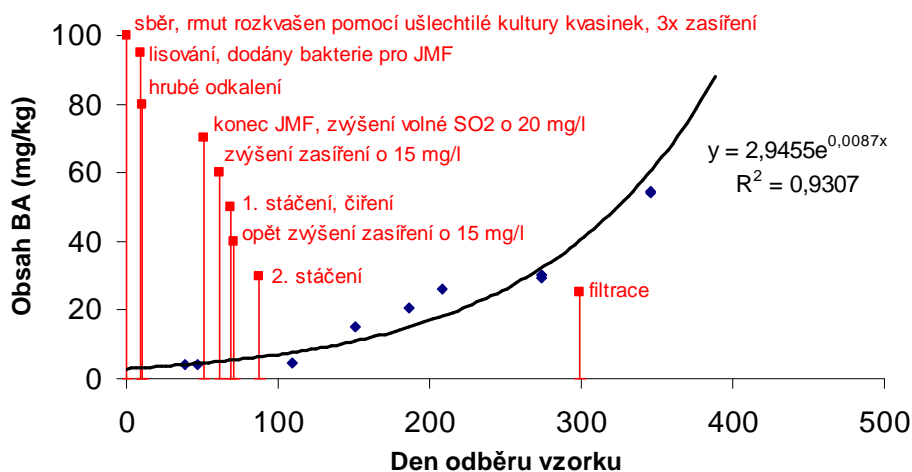
V grafech č.16, 17, 18 a 19 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Rulandské modré. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 16: Vývoj obsahu tyraminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Rulandské modré



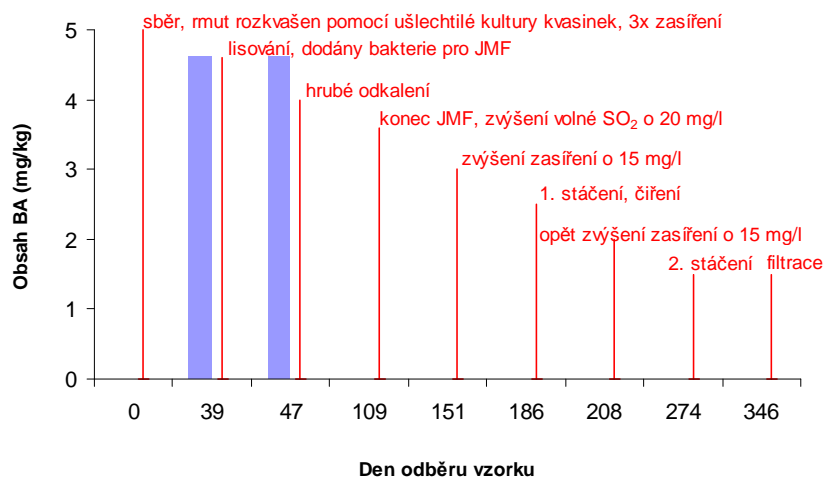
Obsah tyraminu byl poprvé zaznamenán ke konci JMK kolem 50. dne odběru vzorku (kolem 2 mg/kg), po druhém stáčení se obsah zvýšil a nejvyšší hodnota byla detekována po filtraci kolem 340. dne odběru vzorku v hodnotě kolem 8 mg/kg. Použit byl lineární regresní model z důvodu nejvyššího koeficientu determinace. Nicméně z průběhu změn obsahu spermidinu je patrné, že by bylo pro popis vhodnější použití nelineárního regresního modelu, jehož aplikace by však přesáhla zamýšlený rámec této práce.

Graf č. 17: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Rulandské modré



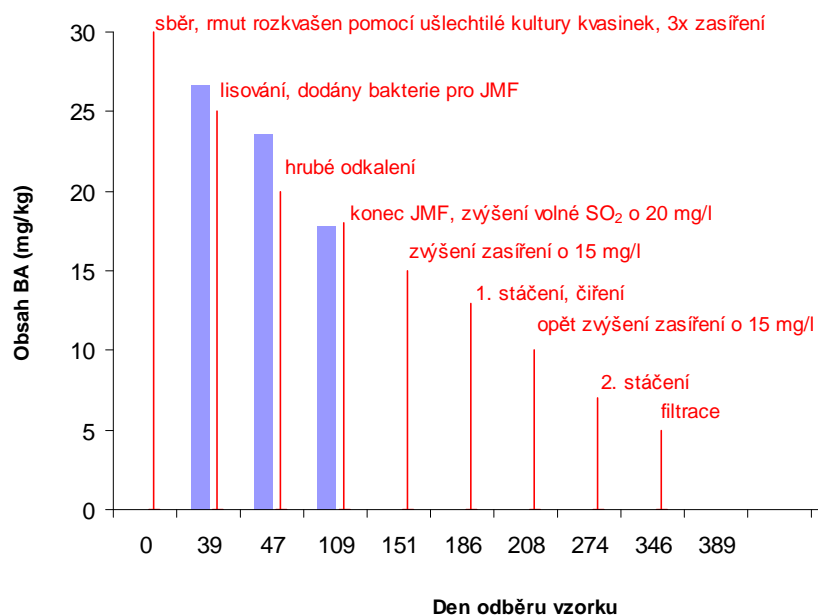
Obsah putrescinu se zvyšoval od 50. dnu odběru vzorku (před koncem JMK) po 350. den odběru vzorku (po filtraci), kdy bylo zaznamenáno nejvyšší množství (cca 50 mg/kg). Graf byl vyobrazen exponenciálním regresním modelem.

Graf č. 18: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Rulandské modré



Spermidin byl detekován pouze dvakrát - během alkoholového kvašení a po lisování. Jeho množství bylo 4,5 mg/kg. Pro neodstatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

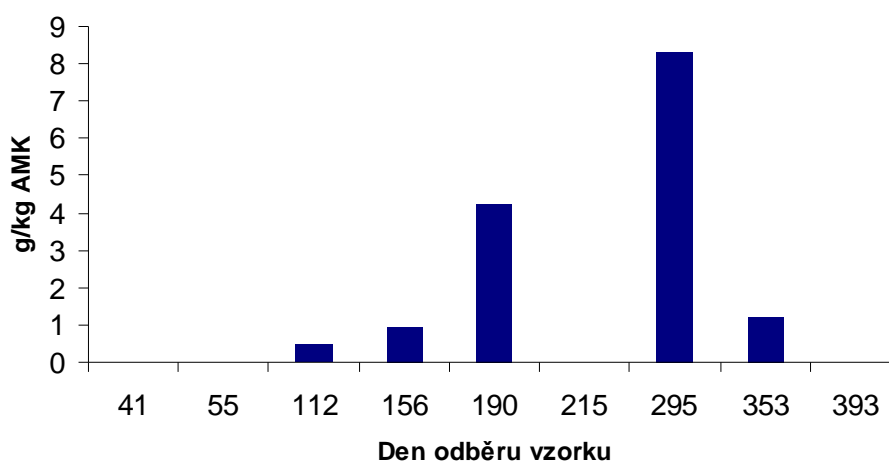
Graf č. 19: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Rulandské modré



Histamin se rovněž objevil ve formě rmutu během alkoholového kvašení a následně klesal. Před koncem JMK byl zaznamenán jeho poslední výskyt (kolem 18 mg/kg). Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu opět použit sloupcový graf.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/13 – 16 jsou uvedeny vývoje obsahů volných aminokyselin. Nejvyšší množství bylo zaznamenáno 190. den odběru vzorku, kdy u vína proběhlo 2. stáčení a 295. den odběru vzorku, tedy pár dnů před filtrací vína. Nejvyšší množství měly sloučeniny: prolin, alanin, arginin a kyselina α – aminomáselná. 1 – metylhistidin, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná měly jediné detekované množství 112. den odběru vzorku, kdy bylo víno podruhé stočeno a nezfiltrováno. Kyselina aminoadipová nebyla detekována.

Graf č. 20: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Rulandské modré

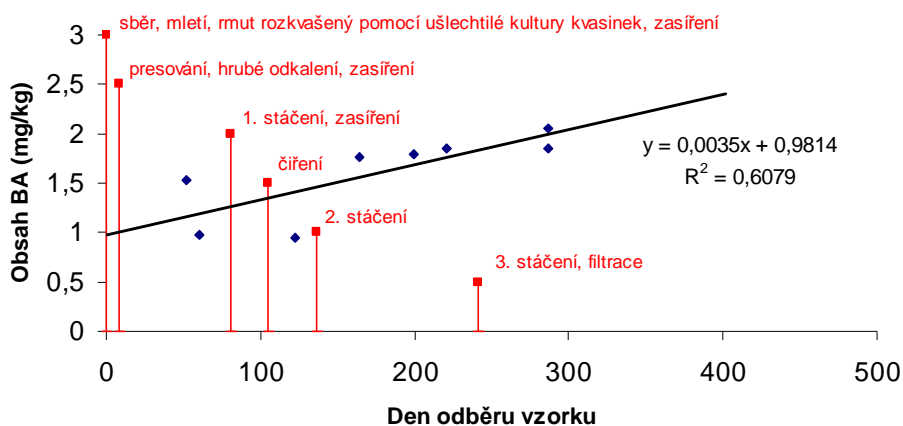


V grafu č. 20 je celkově největší množství volných AMK v pořadí 7. odběr vzorku. Víno je ve 295. dnu odběru vzorku pár dnů před filtrací. 41., 55., 215. a 393. den odběru vzorku je množství volných aminokyselin nulové.

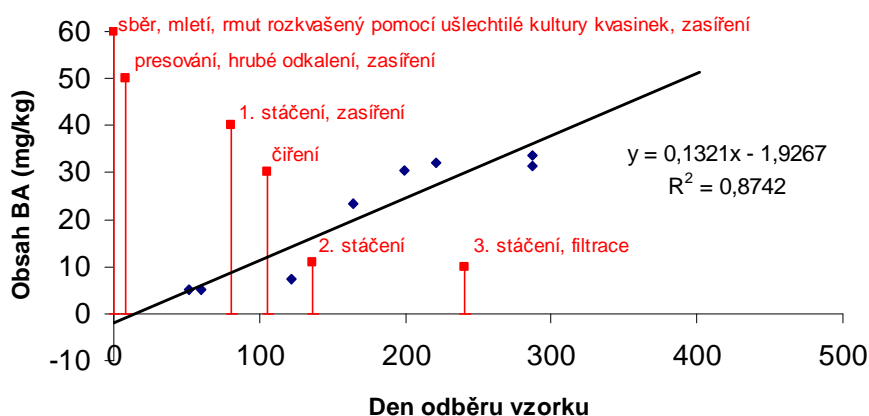
6.1.5 Víno odrůdy Modrý Portugal

V grafech č.21, 22, 23 a 24 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Modrý Portugal. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 21: Vývoj obsahu tyraminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Modrý Portugal

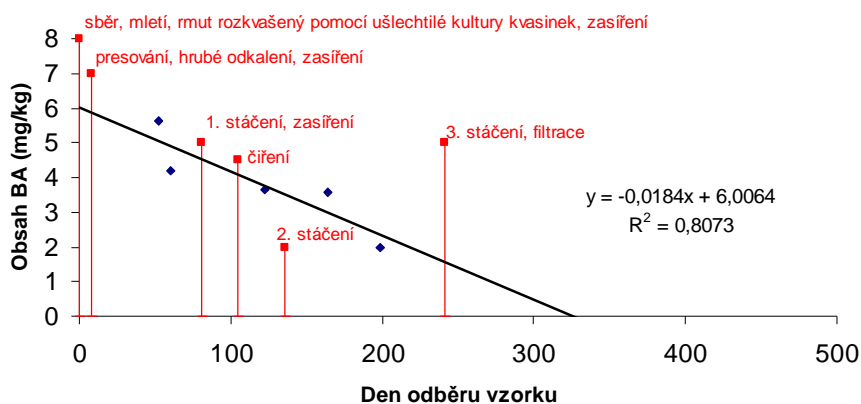


Graf č. 22: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Modrý Portugal



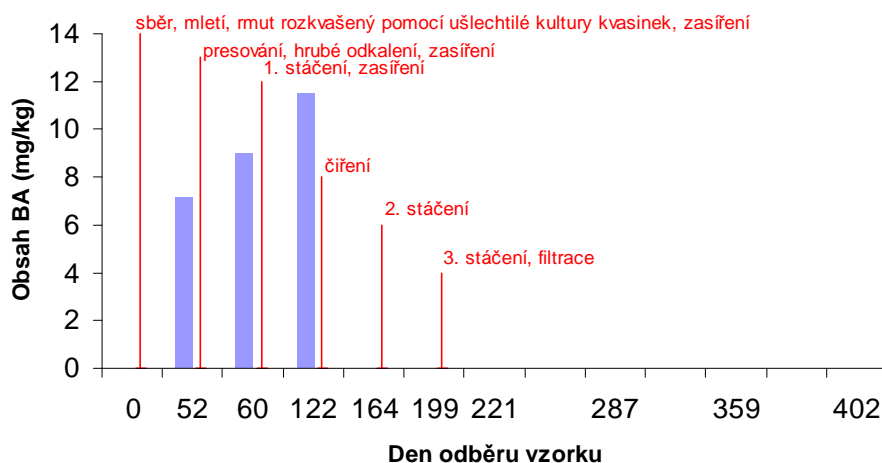
Počáteční obsah tyraminu a putrescinu byl zaznamenán po alkoholovém kvašení a lisování vína kolem 50. dnu odběru vzorku. Poté obsah tyraminu po prvním stáčení a číření kolem 120. dne odběru vzorku mírně klesl a následně se po druhém stáčení zvýšil. Nejvyššího množství tyraminu (kolem 2 mg/kg) dosáhl v době zrání po 3. stáčení a filtraci (290. den odběru vzorku). Ke zvýšení putrescinu došlo po 2. stáčení, nejvyšší množství bylo detekováno 280. den odběru vzorku po 3. stáčení a filtraci. Grafy byly popsány lineárním regresním modelem.

Graf č. 23: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Modrý Portugal



U obsahu spermidinu došlo k poklesu množství, kdy nejvyšší množství bylo před 1. stáčením 60. den odběru vzorku a nejnižší množství bylo detekováno po 2. stáčení 200. den odběru vzorku. Na vyhodnocení dat byl použit opět lineární regresní model.

Graf č. 24: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Modrý Portugal

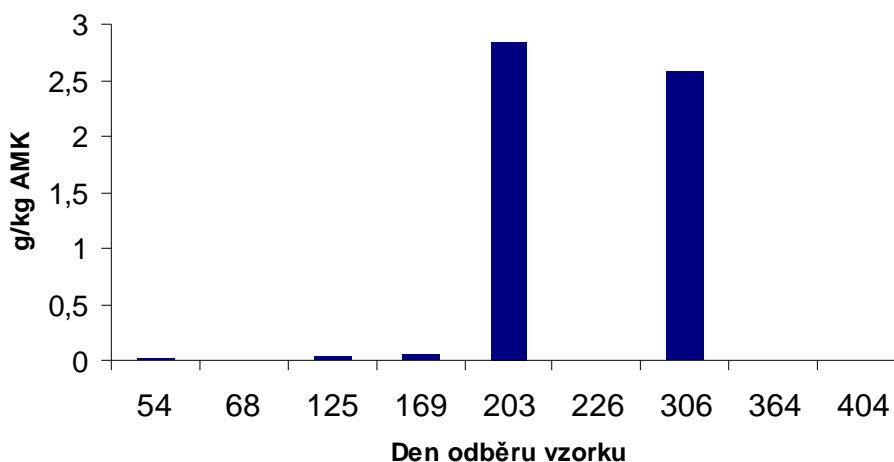


Množství histaminu se zvyšovalo po lisování a maximum histaminu se objevilo po 1. stáčení 122. den odběru vzorku v obsahu cca 11 mg/kg. Po číření histamin nebyl detekován. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/17 – 20 jsou uvedeny vývoje obsahů volných aminokyselin. Zkoumané volné aminokyseliny byly detekovány 203. den odběru vzorku po 2. stáčení vína a před filtrací a 306. den odběru vzorku po filtraci vína. Nejvyšší zaznamenané množ-

ství bylo u sloučenin argininu, alaninu a prolinu. U 1 – metylhistidinu byla detekce 125. den odběru vzorku, kdy bylo víno již čiřeno a připraveno na 2. stáčení. Kyselina aminodipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin a kyselina β – aminomáselná nebyly vůbec detekovány během výroby vína.

Graf č. 25: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Modrý Portugal

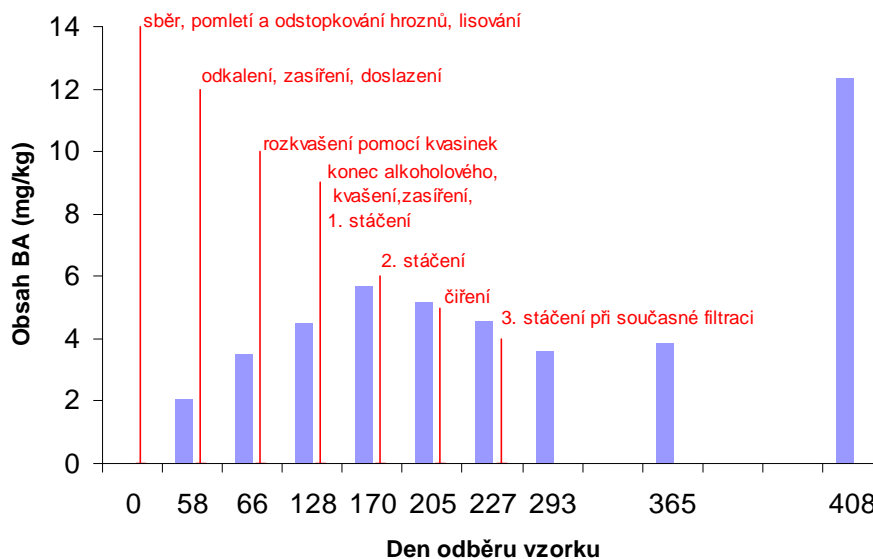


V grafu č.25 bylo největší zaznamenané množství volných aminokyselin detekováno 203. den odběru vzorku po 2. stáčení vína a před filtrací a 306. den odběru vzorku po filtraci vína. V dalších uvedených dnech odběru vzorku byl součet volných aminokyselin téměř nulový nebo se vůbec nevyskytovaly.

6.1.6 Víno odrůdy Müller Thurgau

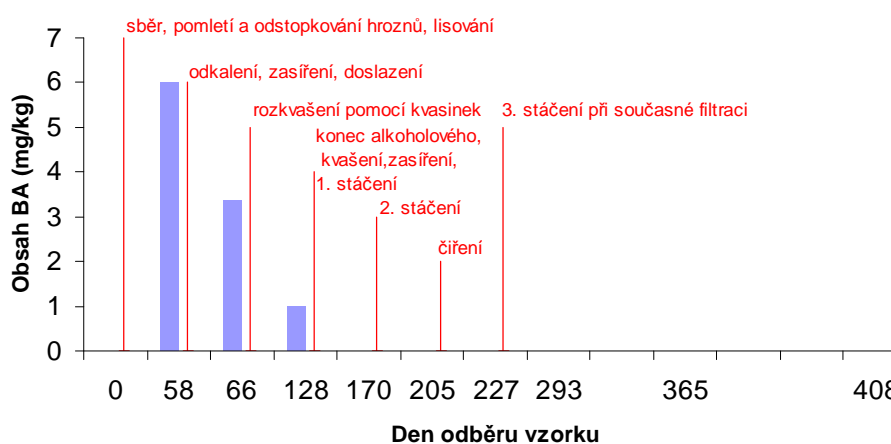
V grafech č.26, 27 a 28 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Müller Thurgau. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 26: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Müller Thurgau

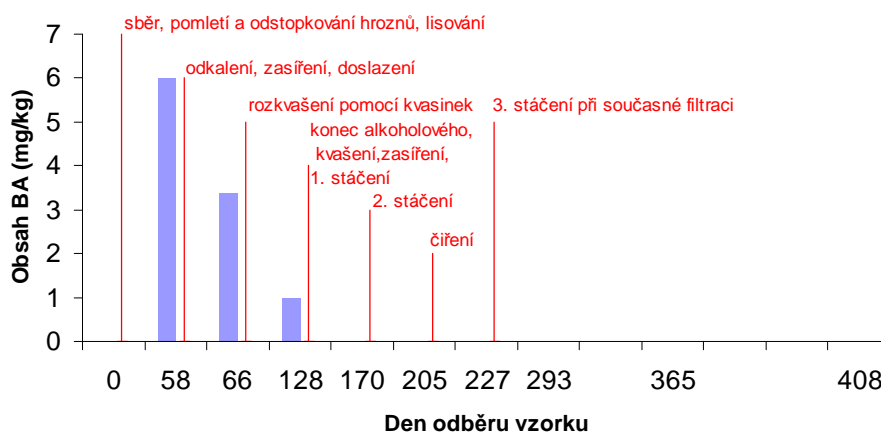


Množství putrescinu bylo detekováno kolem 50. dnu odběru vzorku. Poté došlo k mírnému nárůstu před 2. stáčením. Po 2. stáčení 170. den odběru vzorku se obsah zmenšil. Nejvyšší množství bylo detekováno kolem 408. dnu odběru vzorku po 3. stáčení a filtraci vína. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

Graf č. 27: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Müller Thurgau



Graf č. 28: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Müller Thurgau

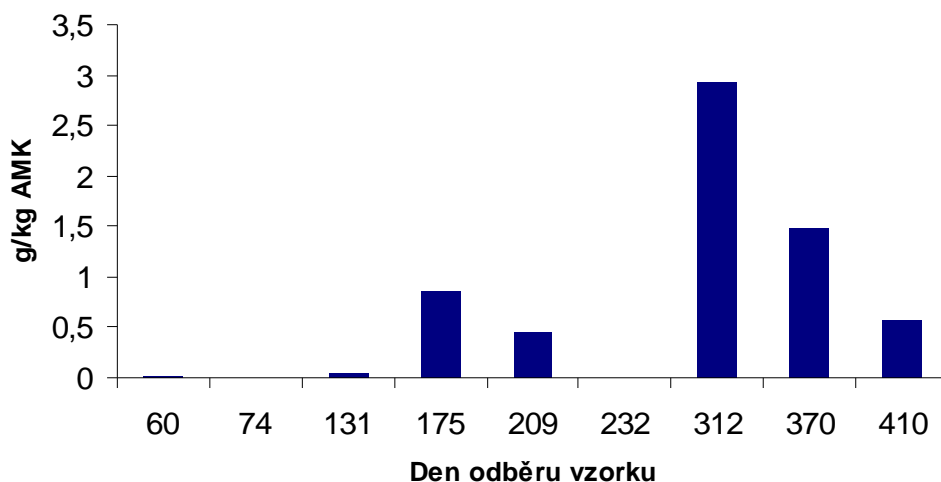


Nejvyšší množství histaminu a spermidinu bylo detekováno před odkalením a doslazením ve formě rmutu. Poté došlo k poklesu a po skončení alkoholového kvašení nebyly biogenní aminy již detekovány. U spermidinu bylo zaznamenáno maximální množství kolem 12 mg/kg, u histaminu kolem 6 mg/kg. Pro nedostatečný počet hodnot jsou místo regresních modelů použity u histaminu a spermidinu sloupcové grafy.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/21 – 24 jsou uvedeny vývoje obsahů volných AMK. Nejvyšší zaznamenané množství volných AMK bylo během 312. dnu odběru vzorku, kdy bylo víno ponecháno zrání. U sloučenin asparaginu a glutaminu bylo nejvyšší množství zaznamenáno 175. den odběru vzorku, kdy bylo víno podruhé stočeno a nebylo ještě zfiltrováno. U volné AMK 3 – metylhistidinu bylo nejvyšší množství detekováno 312. den odběru vzorku, kdy bylo zfiltrované víno ponecháno zrání. Jediné zaznamenané množství 1 – metylhistidinu a β – alaninu bylo 131. den odběru vzorku, kdy bylo víno čířeno a předcházelo mu 2. stáčení. Množství kyseliny β – aminomáselné, α – aminomáselné a kyseliny aminoadipové nebylo detekováno.

Vývoj obsahu tyraminu byl mimo rámec této práce, proto zde nebyl uveden graf.

Graf č. 29: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Müller Thurgau

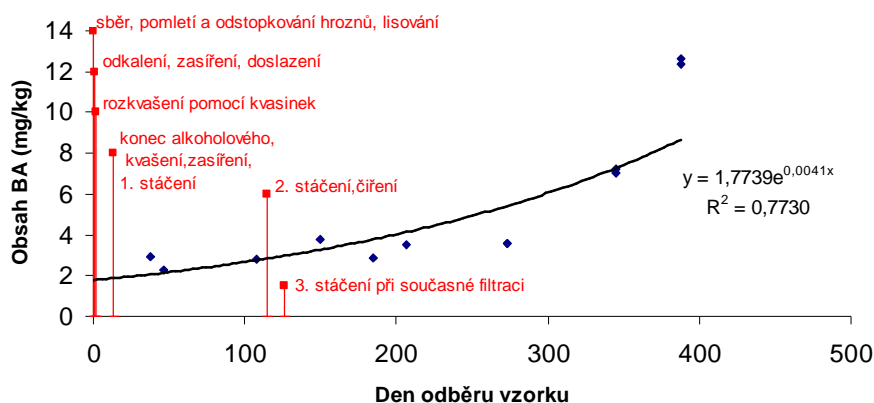


V grafu č. 29 je nejvyšší zaznamenané množství všech volných AMK 312. den odběru vzorku, kdy bylo zfiltrované víno ponecháno zrání. 232. den nebyly detekovány žádné volné aminokyseliny. 60., 74. a 131. den odběru vzorku bylo množství volných aminokyselin téměř nulový.

6.1.7 Víno odrůdy Veltlínské zelené

V grafech č. 30 a 31 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Veltlínské zelené. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznů zaznamenány vinifikační kroky.

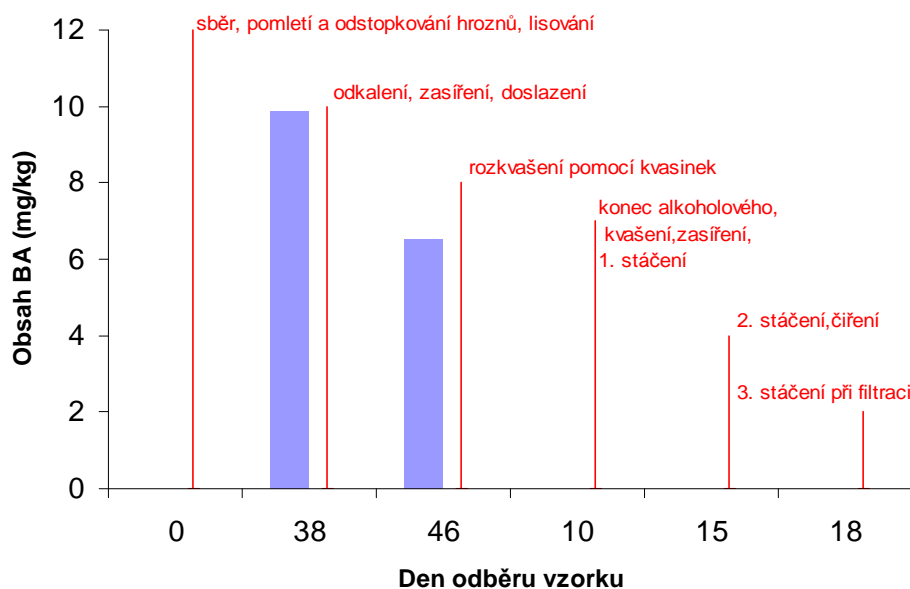
Graf č. 30: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Veltlínské zelené



Obsah putrescinu byl detekován po ukončení alkoholového kvašení kolem 50. dnu odběru vzorku. Po třetím stáčení a filtraci došlo k mírnému vzestupu, který pokračoval a kolem

380. dnu odběru vzorku bylo detekováno nejvyšší množství (12 mg/kg) tohoto biogenního aminu. Graf byl popsán regresním exponenciálním modelem.

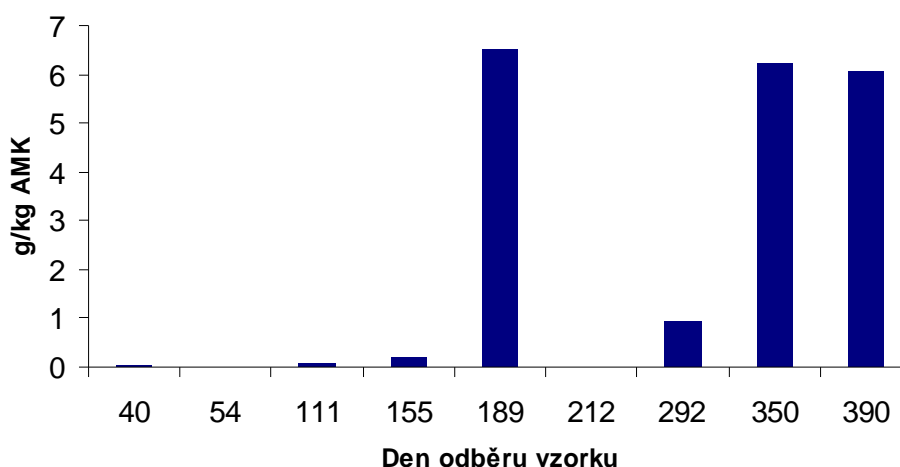
Graf č. 31: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Veltlínské zelené



Obsah spermidinu byl nejvyšší kolem 38. dne odběru vzorku, kdy došlo k pomletí a lisování hroznů. Po odkalení, zasíření a doslazení kolem 46. dnu odběru vzorku došlo k poklesu spermidinu (cca 6 mg/kg). Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/ 25 – 28 jsou uvedeny vývoje obsahů volných AMK. 189. den odběru vzorku bylo zaznamenáno nejvyšší množství volných AMK, kdy je víno ponecháno zrání v nerezových tancích. 292. den odběru vzorku dochází k poklesu a 350. den odběru vzorku je opět množství zvýšeno a toto množství je stejné i 390. den odběru vzorku (kromě sloučenin citrulinu, glutaminu a asparaginu, kde je stále nejvyšší množství 189. den odběru vzorku). Z uvedených volných AMK má největší množství sloučeniny alanin (400 mg/kg), prolin (2000 mg/kg), arginin (1900 mg/kg). U 3 – metylhistidinu byla první detekce zaznamenána 189. den odběru vzorku, 292. den odběru vzorku klesla a 350. den odběru vzorku opět stoupla. Sloučenina 1 – metylhistidin byla detekována pouze ve 111. dnu odběru vzorku, kdy skončilo alkoholové kvašení a víno bylo stočeno. Kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin a kyselina β – aminomáselná nebyly detekovány. Vývoj obsahu histaminu a tyraminu byl mimo rámec této práce, proto zde nejsou uvedeny grafy.

Graf č. 32: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Veltlínské zelené

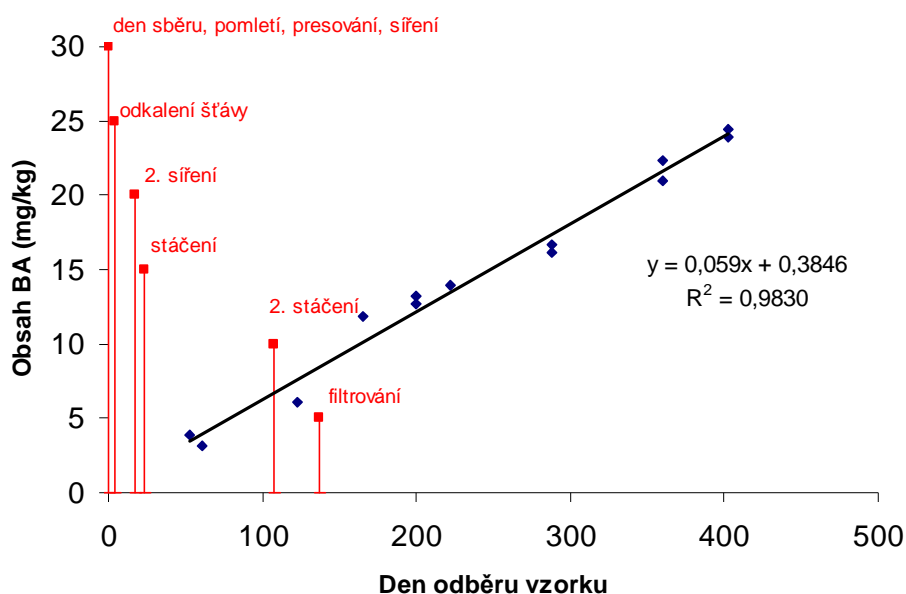


V grafu č.32 je nejvyšší zaznamenané množství volných AMK hned u 3 odběrů vzorku, tedy 189. den , kdy je víno ponecháno zrání v nerezových sudech. Dále 350. a 390. den odběru, kdy je víno zfiltrováno. Ve zbylých dnech je množství volných aminokyselin buď téměř nulové nebo žádné.

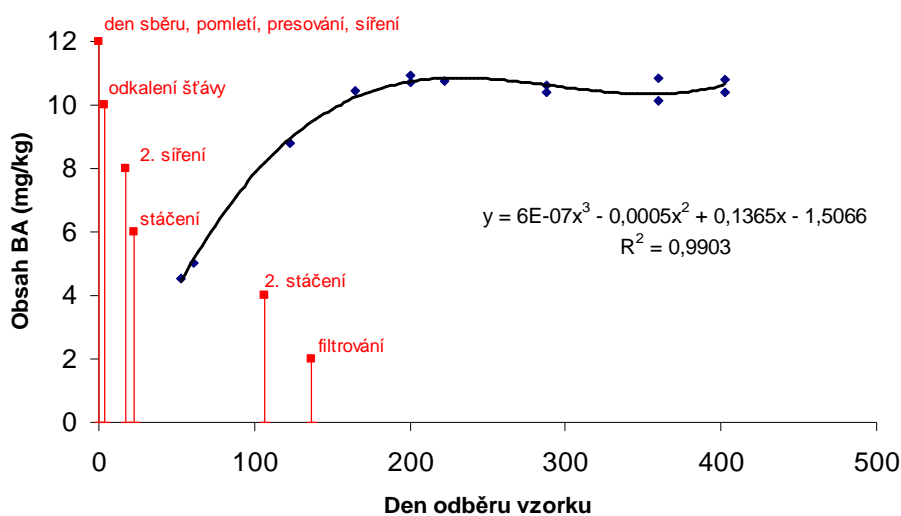
6.1.8 Víno odrůdy Rulandské šedé

V grafech č.33 a 34 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Rulandské šedé. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznů zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 33: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Rulandské šedé



Graf č. 34: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Rulandské šedé

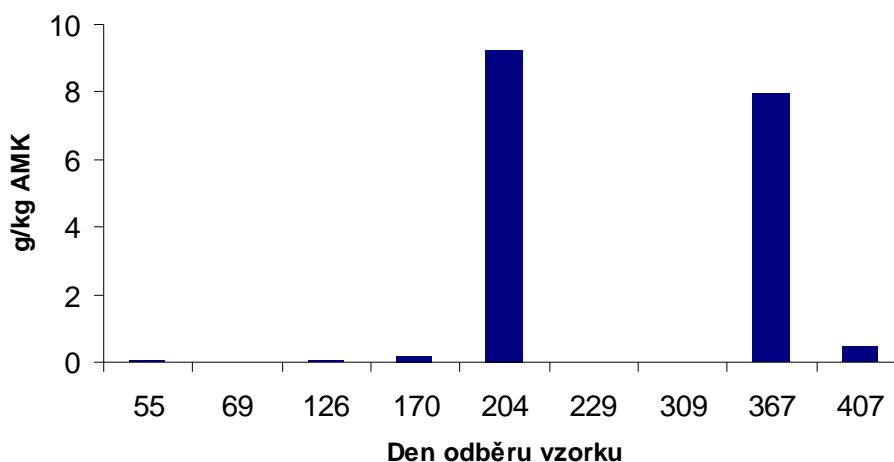


Putrescin a spermidin byl poprvé detekován po druhém stáčení vína kolem 50. dnu odběru vzorku. Po zfiltrování vína se obsah začal zvyšovat a svého maxima dosáhl putrescin v množství 25 mg/kg a spermidin v množství 11 mg/kg 400. den odběru vzorku, kdy bylo víno ponecháno zrání ve skleněných nádobách. Vývoj obsahu putrescinu byl popsán regresním lineárním modelem. Změny obsahu spermidinu byly popsány regresním modelem polynomu 3. stupně, na druhou stranu by pravděpodobně bylo vhodnější aplikovat jinou funkci z oblasti nelinerárních modelů.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/29 – 32 jsou uvedeny vývoje obsahů volných AMK. První zaznamenané množství uvedených volných AMK byly detekovány 204. den odběru vzorku. 367. den odběru vzorku došlo ke zvýšení obsahu u sloučenin kyseliny cysteové, kyseliny asparagové, threoninu, serinu, kyseliny glutamové, tyrosinu, fenylalaninu, ornitinu, argininu, etanolaminu, kyseliny γ – aminomáselné, glycinu, alaninu, citrulinu a metioninu. Naopak pokles v ten samý den byl detekován u sloučenin histidinu, lyzinu, leucinu, izoleucinu, cysteinu, asparaginu, glutaminu, prolinu a valinu. Obě dvě množství byla zjištěna ve zrací fázi vína. Obsah kyseliny aminoadipové a kyseliny α – aminomáselné nebyl detekován. U 1 – metylhistidinu, β – alaninu a kyseliny β – aminomáselné bylo zjištěno množství pouze ve 126. dnu odběru vzorku, kdy bylo víno stočeno, ale ještě nebylo zfiltrováno. U 3 – metylhistidinu bylo zaznamenáno množství 204. den odběru vzorku, které se pak zvýšilo 367. den odběru vzorku. V těchto obou dnech již víno pouze zraje.

Vývoj obsahu histaminu a tyraminu byl mimo rámec této práce, proto zde nejsou uvedeny grafy.

Graf č. 35: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Rulandské šedé

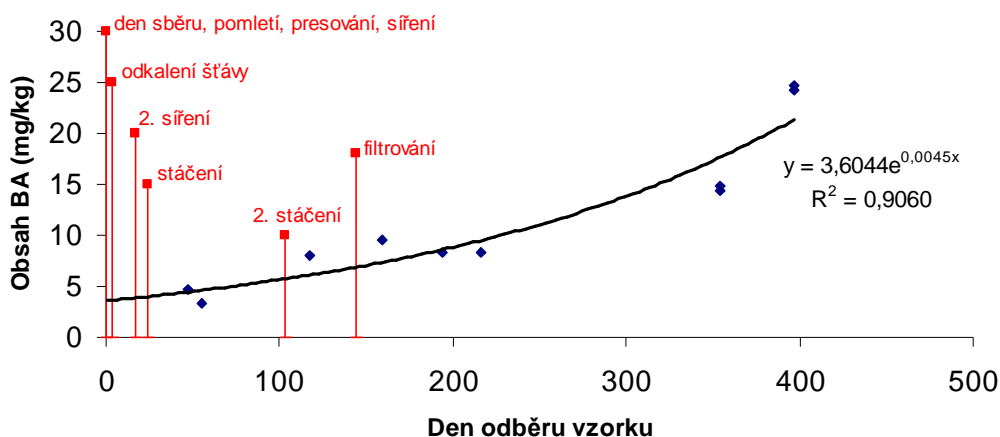


V grafu č. 35 bylo nejvyšší zaznamenané množství volných AMK detekováno 204. a 367. den odběru vzorku. V těchto dnech již dochází ke zrání vína. V dalších uvedených dnech odběru vzorku byl součet volných AMK téměř nulový nebo žádný.

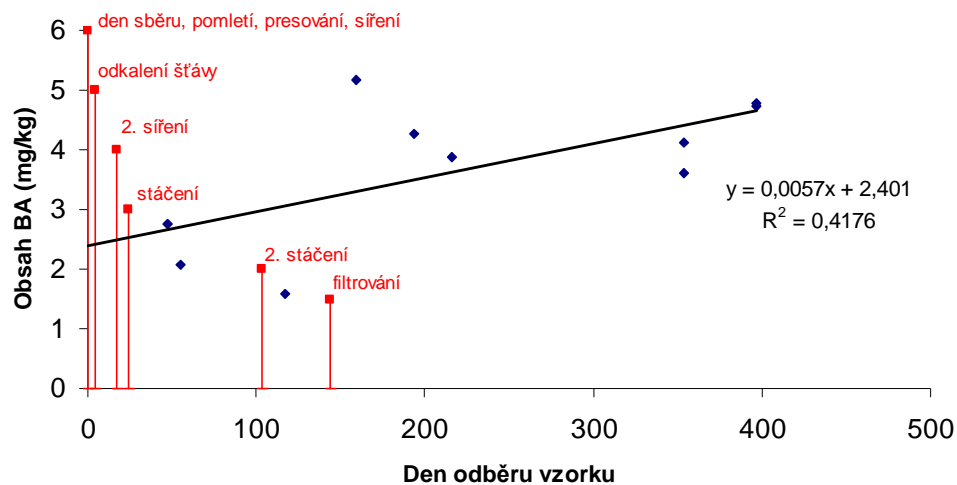
6.1.9 Víno odrůdy Ryzlink vlašský

V grafech č.36, 37 a 38 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Ryzlink vlašský. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 36: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Ryzlink vlašský

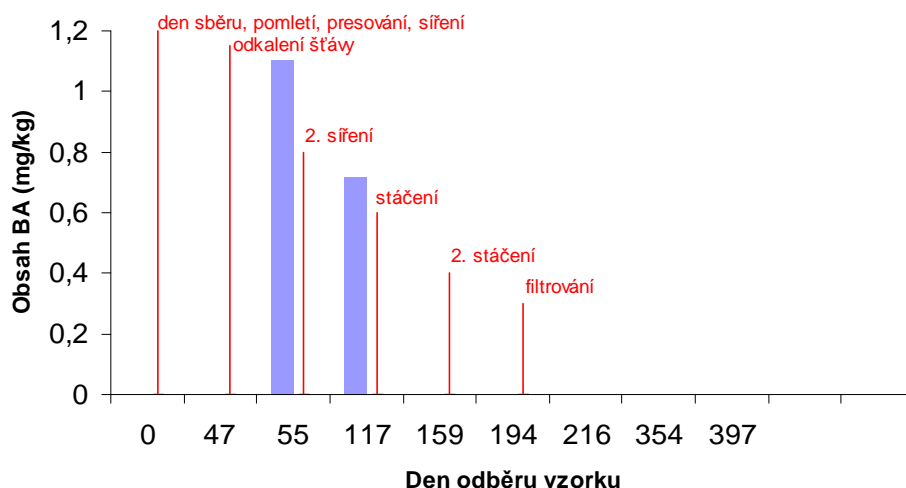


Graf č. 37: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Ryzlink vlašský



Obsah putrescinu a spermidinu ve víně byl poprvé detekován po 1.stáčení vína kolem 50. dne odběru vzorku. Po zfiltrování vína došlo u putrescinu k mírnému poklesu kolem 200. dne odběru vzorku a zvýšení u spermidinu kolem 150. dnu odběru vzorku na 5,5 mg/kg. Nejvyšší obsah putrescinu byl ve zrací fázi vína 400. den odběru vzorku (25 mg/kg) a vývoj byl vyhodnocen regresním exponenciálním modelem. Obsah spermidinu klesl 400. den odběru vzorku na hodnotu kolem 5 mg/kg a vývoj byl vyhotoven pomocí lineárního regresního modelu z důvodu nejvyššího koeficientu determinance. Z průběhu změn obsahu spermidinu je patrné, že by bylo pro popis vhodnější použití nelineárního regresního modelu, jehož aplikace by však přesáhla zamýšlený rámec této práce.

Graf č. 38: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůdy Ryzlink vlašský

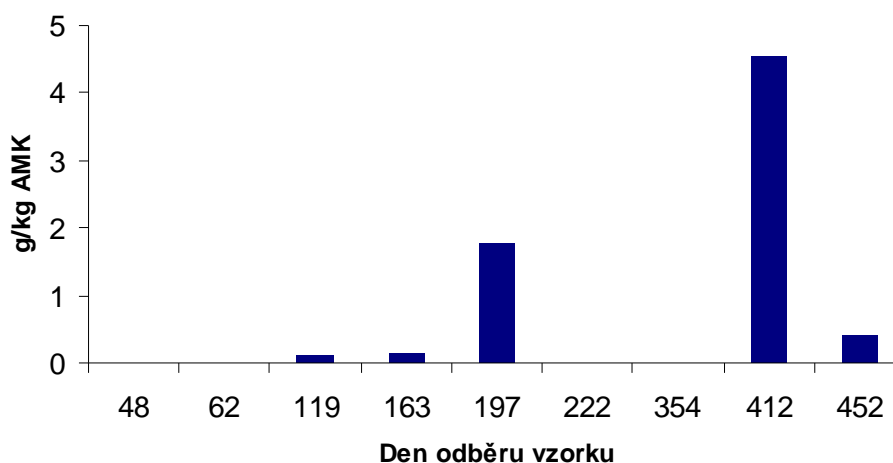


Nejvyšší obsah histaminu byl detekován po odkalení hroznové šťávy kolem 55. dnu odběru vzorku. Následoval pokles po 2. zasíření a před stáčením vína nebyl histamin již detekován. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/33 – 36 jsou uvedeny vývoje obsahů volných AMK. První detekované množství volných AMK bylo zjištěno 119. den odběru vzorku, kdy víno ještě není zfiltrováno. Následovalo zvýšení obsahu 197. den odběru vzorku a 412. den odběru vzorku, kdy už víno zraje. Po 412. dnu následoval pokles obsahu volných aminokyselin. U sloučenin 1 - metylhistidinu, kyseliny aminoadipové a kyseliny α - aminomáselné bylo jediné množství detekováno 119. den odběru vzorku, v jiných termínech nebyly detekovány. Víno v této době je již podruhé stočeno a nezfiltrováno. Sloučeniny β - alanin a kyselina β - aminomáselná nebyly detekovány.

Vývoj obsahu tyraminu byl mimo rámec této práce, proto zde není uveden graf.

Graf č. 39: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůdy Ryzlink vlašský

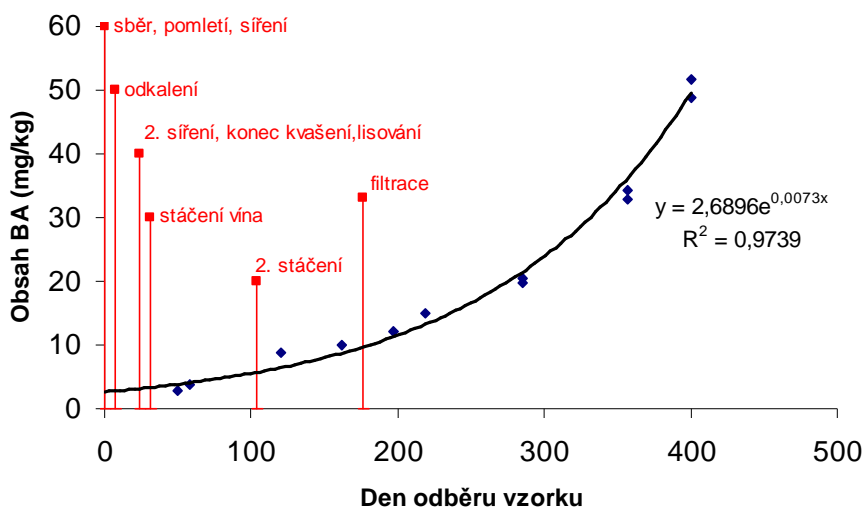


V grafu č. 39 bylo nejvyšší celkové zaznamenané množství volných AMK 197., 412. a 452. den odběru vzorku. V těchto dnech odběru je víno již ponecháno zrání a pozorování. V dalších uvedených dnech odběru vzorku byl součet volných AMK téměř nulový nebo žádný.

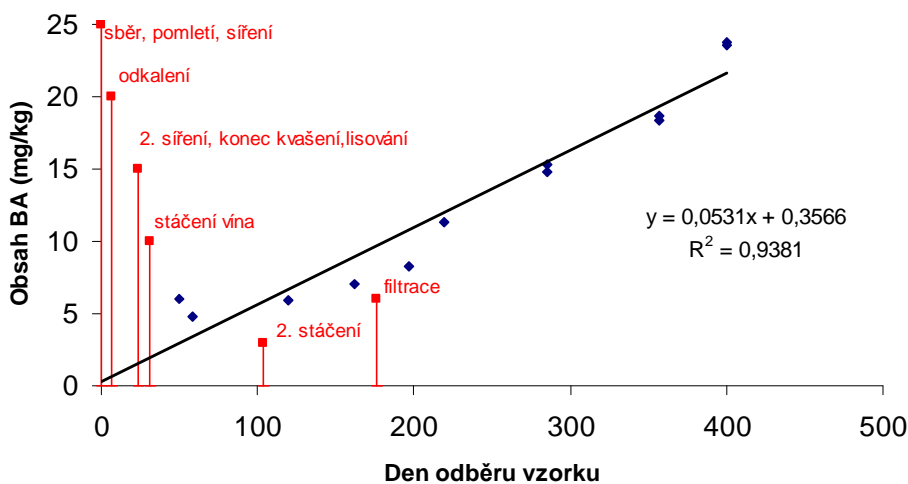
6.1.10 Víno ze směsi odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka

V grafech č. 40, 41, 42 a 43 jsou vyobrazeny vývoje BA z hroznů odrůdy Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka. Textovými poli jsou od 0. dne sběru hroznu zaznamenány vinifikační kroky.

Graf č. 40: Vývoj obsahu tyraminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka

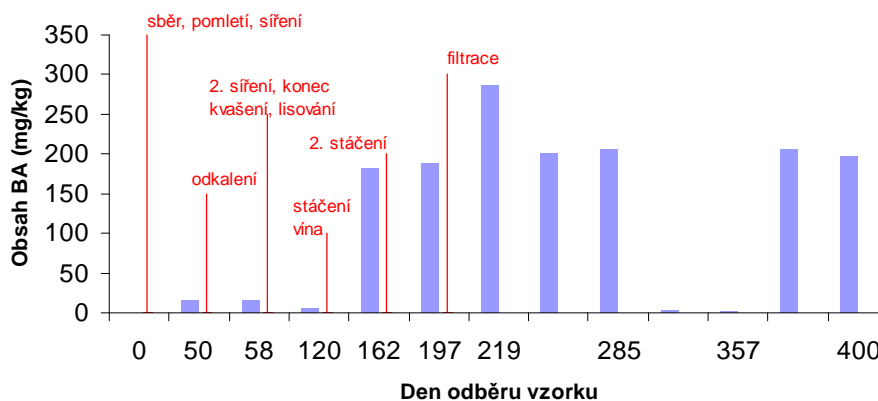


Graf č. 41: Vývoj obsahu spermidinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka



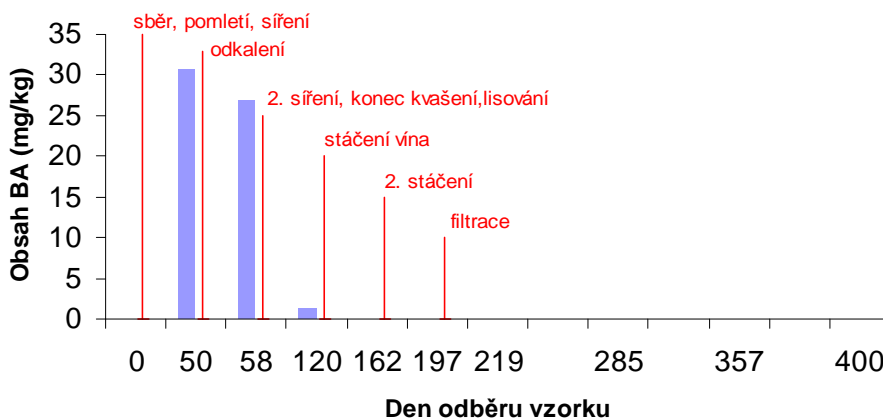
Obsah spermidinu a tyraminu byl poprvé detekován po prvním stáčení vína kolem 50. dnu odběru vzorku. Po druhém stáčení se obsah zvyšoval na své maximum, které bylo detekováno 400. den odběru vzorku, kdy je víno ve fázi zrání. Graf spermidinu byl popsán lineárním regresním modelem, graf tyraminu exponenciálním regresním modelem.

Graf č. 42: Vývoj obsahu putrescinu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka



První zaznamenání výskytu putrescinu bylo ve formě rmutu kolem 50. dnu odběru vzorku. Po prvním stáčení vína došlo k zvýšení obsahu a po filtraci dosáhl putrescin svého maxima (219. den odběru vzorku). Následovalo snižování obsahu tohoto biogenního aminu a během 400. dnu odběru bylo množství biogenního aminu 200 mg/kg. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

Graf č. 43: Vývoj obsahu histaminu (mg/kg) během výroby vína z hroznů odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka

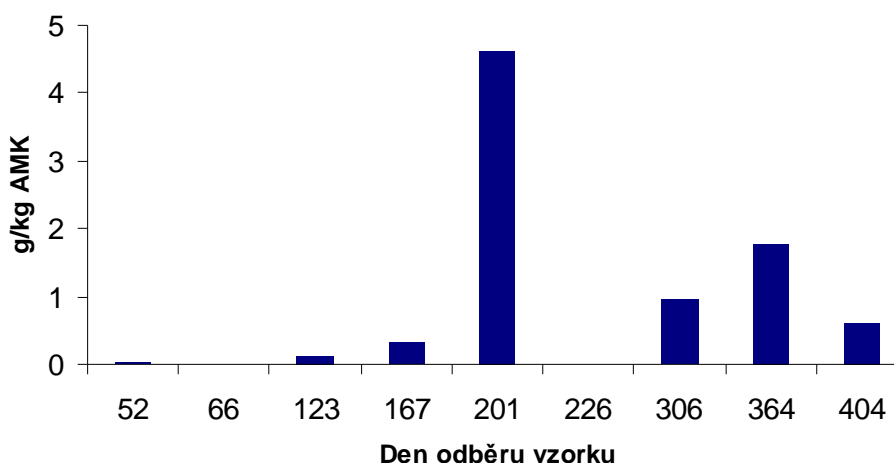


Nejvyšší obsah histaminu byl ve formě rmutu (kolem 30 mg/kg) před odkalením moštu. Po odkalení došlo k poklesu obsahu a po stočení vína již nebyl histamin detekován. Pro nedostatečný počet hodnot je místo regresního modelu použit sloupcový graf.

V příloze P IX, v grafech č. P IX/37 – 40 jsou uvedeny vývoje obsahů volných AMK. Nejvyšší detekované množství většiny volných aminokyselin bylo 201. den odběru vzorku, kdy víno již zraje, po 201. dnu následoval pokles. Pouze u kyseliny cysteové 404. den odběru

vzorku a u cysteinu 364. den odběru vzorku došlo k nejvyššímu zvýšení obsahu. Jediné detekované množství sloučenin β -alaninu a 1-methylhistidinu bylo 123. den odběru vzorku, kdy je víno podruhé stočeno a není ještě zfiltrováno. Po celou dobu analýzy volných AMK nebyly v žádném termínu detekovány sloučeniny kyselina aminoadipová, kyselina β -aminomáselná a kyselina α – aminomáselná.

Graf č. 44: Celkové množství všech volných AMK (g/kg) z hroznů odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka



V grafu č. 44 je nejvyšší celkové množství volných aminokyselin 201. den odběru vzorku, kdy je víno již ponecháno zrání. 22. a 66. den odběru vzorku bylo celkové množství volných aminokyselin nulové.

6.2 Diskuze

V diplomové práci jsou sledovány obsahy biogenních aminů a volných aminokyselin v průběhu vinifikačních kroků u odrůd André, Frankovka, Dornfelder, Rulandské modré, Modrý Portugal a směs vín Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka, dále pak. Müller Thurgau, Rulandské šedé, Ryzlink vlašský a Veltlínské zelené. U odrůd André, Frankovka, Dornfelder a Rulandské modré byly použity starterové kultury. U odrůd Modrý Portugal, Müller Thurgau a Veltlínské zelené byly také použity starterové kultury bakterií. Poslední skupina vín odrůd Rulandské šedé, Ryzlink vlašský a směs vín Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka byla ponechána spontánnímu kvašení.

Z dosažených výsledků můžeme konstatovat, že nejvyšší koncentraci biogenních aminů měly modré odrůdy, z toho nejvíce odrůda Frankovka, která je zastoupena také ve směsi vín Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka. Nejnižší koncentrace BA byla zrna-

menána ve vínech, kam nebyly záměrně přidány bakterie mléčného kvašení, což koresponduje s výsledky autorů [27],[34].

Nízká koncentrace BA byla takto zaznamenána u bílého vína odrůdy Müller Thurgau, Veltlínské zelené, Rulandské šedé, Ryzlink vlašský a modré odrůdy Modrý Portugal, u kterého jako jediného modrého vína nebyly přidány bakterie mléčné kvašení a koncentrace BA byla obdobná s bílými víny než s červenými. Toto však neznamená, že zde nejsou přítomny bakterie mléčného kvašení, které se sem dostávají z prostředí. Na základě srovnání vývoje obsahu biogenních aminů a volných aminokyselin lze předpokládat, že s narůstajícím množstvím volných aminokyselin narůstá i obsah biogenních aminů, což se shoduje s výsledky autorů [25], [27]. Bílé odrůdy Rulandské šedé a Veltlínské zelené a modré odrůdy Rulandské modré a Dornfelder tuto teorii ovšem vyvracejí. Na velkou koncentraci BA mají buď malý součet všech volných AMK nebo naopak. Nejvyšší množství všech volných AMK má bílá odrůda Rulandské šedé a nejnižší modrá odrůda Dornfelder.

Jedním ze způsobů, jak předejít problému vysokého obsahu biogenních aminů, by mohlo být zachovávat vhodné hygienické podmínky při vinifikaci a potlačení růstu spontánně přítomných mikroorganismů. Dalším významným krokem je testace bakterií, které přidáváme záměrně na dekarboxylázovou aktivitu a selekce kmenů s absencí či nízkou aktivitou těchto procesů.

7 ZÁVĚR

Biogenní aminy jsou dusíkaté báze nízké molekulární hmotnosti, které se nacházejí zejména ve fermentovaných nápojích a jídlech. Jsou vytvářeny bakteriemi mléčného kvašení při dekarboxylaci aminokyselin během fermentace a ve velké kumulaci ve víně mají negativní vliv na zdraví člověka.

Bylo zjištěno, že nejvyšší koncentraci biogenních aminů měly modré odrůdy, z toho nejvíce odrůda Frankovka, která je zastoupena také ve směsi vín Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka. Nízká koncentrace BA byla zaznamenána u bílých vinných odrůd, kde nebyly přidány starterové kultury bakterií mléčného kvašení. Jediná modrá odrůda Modrý Portugal měla také nízkou koncentraci BA, protože zde nebyly přidány starterové bakterie stejně jako u bílých odrůd.

Na základě srovnání vývoje obsahu biogenních aminů a volných aminokyselin lze předpokládat, že s narůstajícím množstvím volných aminokyselin narůstá i obsah biogenních aminů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] STEIDL, R. *Sklepní hospodářství*. 1.vydání. Valtice : Národní salon vín, 2002. 307 s. ISBN 80-903201-0-4
- [2] *Encyklopedie-vina.cz* [online]. c2010 [cit. 2010-04-11]. Odrůdy pro stolní vína. Dostupné z WWW: <<http://www.encyklopedie-vina.cz/clanky/odrudy-revy-vinne-v-cr/odrudy-pro-stolni-vina>>.
- [3] STEIDL, R.; RENNER, W. *Problémy kvašení vín*. 1.vydání. Valtice : Národní salon vín, 2004. 74 s. ISBN 80-903201-3-9
- [4] EDER, R. *Vady vína*. 1.vydání. Valtice : Národní salon vín, 2006. 263 s. ISBN 80-903201-6-3
- [5] FARKAŠ, J. *Vinárstvo I : Technológia vína*. 2.vydání. Bratislava : SVTL, 1960. 395 s.
- [6] ROP.O., HRABĚ,J.: *Nealkoholické a alkoholické nápoje*, 1. vydání, Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009. 127s., ISBN: 978-80-7318-748-4
- [7] *Ovine.cz* [online]. c2010 [cit. 2010-04-11]. Encyklopedie vína/Odrůdy. Dostupné z WWW: <<http://www.ovine.cz/web/structure/20.html>>
- [8] *Právní předpisy* [online]. 2008 [cit. 2010-04-14]. Szpi.gov.cz. Dostupné z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006014&doctype=ART>>
- [9] JACKSON, R. S. *Wine science: Principles, practice, perception* [online]. London : Academic Press, 2000 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123790620>>. ISBN 012379062X
- [10] PRIEWE, J. *Víno-malá škola*.1. vydání. Praha : Knižní klub, 2002. 96 s. ISBN 80-242-0848-2.
- [11] LIU, S.-Q. Malolactic fermentation in wine-beyond deacidification : A review. *Journal of Applied Microbiology*. 2002, 92, s. 589-601
- [12] VERSARI, A; PARPINELLO, G. P.; CATTANEO, M. Leuconostoc oenos and malolactic fermentation in wine : A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 1999, 23, s. 447-455
- [13] LONVAUD-FUNEL, A. Microbiology of the malolactic fermentation : Molecular aspects. *FEMS Microbiology Letters*. 1995, 126, s. 209-214

- [14] PRAMATEFTAKI, P.V. et al. Evolution of malolactic bacteria and biogenic amines during spontaneous malolactic fermentation in a Greek winery. *Letters in Applied Microbiology*. 2006, 43, s. 155-160. ISSN 0266-8254
- [15] MALHERBE, S.; BAUER, F.F.; DU TOIT, M. Understanding Problem Fermentations : A review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*. 2007, 2, s. 169-186
- [16] Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Písemné sdělení, Brno, 8.4.2010
- [17] MORENO-ARRIBAS, M. V.; POLO, M. C. Winemaking Biochemistry and Microbiology : Current Knowledge and Future Trends. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005, 45, s. 265-286. ISSN 1040-8398
- [18] RENOUF, V. et al. Lactic acid bacteria evolution during winemaking: Use of *rpoB* gene as a target for PCR-DGGE analysis . *Food Microbiology*. 2006, 23, s. 136-145
- [19] TERRADE, N. et al. A new chemically defined medium for wine lactic acid bacteria . *Food Research International*. 2009, 42, s. 363-367
- [20] MORENO-ARRIBAS, M.V.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. ; MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J. Evolution of red wine anthocyanins during malolactic fermentation, postfermentative treatments and ageing with lees. *Food Chemistry*. 2008, 1, s. 149-158
- [21] *Czechwines.cz* [online]. c2010 [cit. 2010-04-08]. Réva a víno. Dostupné z WWW: <http://www.czechwines.cz/revavol.htm>
- [22] ANCÍN-AZPILICUETA, C.; GONZÁLEZ-MARCO, A.; JIMÉNEZ-MORENO, N. Current Knowledge about the Presence of Amines in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2008, 48, s. 257-275
- [23] *Czechwines.cz* [online]. 2010 [cit. 2010-04-11]. Povolené úpravy moštu. Dostupné z WWW: <http://www.czechwines.cz/revaindex.html>
- [24] MORENO, N. J.; AZPILICUETA, C. A.. Influence of wine on the accumulation of biogenic amines during aging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2004, 84, s. 1571-1576
- [25] BARRADO, E.; RODRIGUEZ, J.A.; CASTRILLEJO, Y. Determination of primary amino acids in wines by high performance liquid magneto-chromatography. *Talanta*. 15.5.2009, 3, s. 672-675
- [26] DEL PRETE, V. et al. Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes. *Food Chemistry*. 2009, 112, s. 474-481

- [27] HERNÁNDEZ-ORTE, P. et al. Biogenic amine determination in wine fermented in oak barrels: Factors affecting formation. *Food Research International*. 2008, 41, s. 697-706
- [28] MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J., et al. Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. *Eur Food Res Technol*. 2006, 222, s. 420-424
- [29] LONVAUD-FUNEL, A.. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 199, s. 9-13
- [30] LANDETE, J.M.; FERRER, S.; PARDO, I. Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. *Food Kontrol*, 2007,12,s. 1569-1574
- [31] CARUSOL, M. et al. Formation of biogenic amines as criteria for the selection of wine yeasts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2002, 18, s. 159-163
- [32] ROSI, I.; NANNELLI, F.; GIOVANI, G. Biogenic amine production by *Oenococcus oeni* during malolactic fermentation of wines obtained using different strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT - Food Science and Technology*. 2009, 42, s. 525-530
- [33] PEÑA-GALLEGO, A. et al. Biogenic amine determination in wines using solid-phase extraction: A comparative study. *Journal of Chromatography A* , 10.5.2009, 15, s. 3398-3401
- [34] MARQUES, A. P.; LEITAO, M. C.; ROMAO, M. V. San. Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors. *Food chemistry*. 2008, 107, s. 853-860
- [35] SMIT, A.Y.; DU TOIT, W.J.; DU TOIT, M. Biogenic Amines in Wine: Understanding the Headache. *South African Society for Enology & Viticulture*.2008,2, s.109-126
- [36] *Vscht.cz* [online]. c2010 [cit. 2010-04-14]. VINAŘSTVÍ A VÝROBA NEALKO NÁPOJŮ. Dostupné z WWW: <<http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/vinarstvi.pdf>>
- [37] *Sbcr.cz* [online]. 2010 [cit. 2010-05-16]. Zákony na webu. Dostupné z WWW: <<http://www.sbcr.cz/cgi-bin/khm.cgi?akce=Vyhledat4&typ=1&oblastv=6&soubor=Z%E1kon+o+vinohradnictv%ED+a+vina%F8stv%ED&OK=Hledat&indexcis=1&razeni=1&pr=1&no=1&ms=1>>
- [38] RYCHTERA, M. ; PÁČA, J. *Bioinženýrství kvasných procesů*. Praha : VŠCHT, 1987. 154 s.
- [39] KAPRÁLEK, F.. *Základy bakteriologie*. Praha : Karolinum, 2000. 241 s. ISBN 80-7184-811-5

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

JMK Jablečno – mléčné kvašení

BMK Bakterie mléčného kvašení

BA Biogenní aminy

ES Evropské společenství

AMK Aminokyselina

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Průřez bobulí hroznu [1]</i>	12
<i>Obr. 2. Stadia kvasinek během alkoholového kvašení [4]</i>	17
<i>Obr. 3. Vinifikace modrého vína [10]</i>	18
<i>Obr. 4. Vinifikace bílého vína [10]</i>	19
<i>Obr. 5. Schématický průběh hlavní reakce</i>	24
<i>Obr. 6. Aminokyselinové prekurzory biogenních aminů [22]</i>	34

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Chemické složení jednotlivých částí hroznu v % hmot. [21]</i>	<i>13</i>
<i>Tab. 2. Chemické složení zcela prokvašeného bílého vína [10]</i>	<i>23</i>
<i>Tab. 3. Příklady bakterií mléčného kvašení vyskytující se ve víně [9]</i>	<i>25</i>

SEZNAM PŘÍLOH

PI	Stručný popis bílých odrůd vín použitých v diplomové práci
PII	Stručný popis modrých odrůd vín použitých v diplomové práci
PIII	Vybrané biogenní aminy a jejich farmakologické účinky
PIV	Mikrosnímek <i>Oenococcus oeni</i> , vyskytující se ve víně
PV	Chemická struktura nejdůležitějších enologicky významných biogenních aminů
PVI	Substráty a fermentační produkty bakterií mléčného kvašení
PVII	Stanovení cukernatosti
PVIII	Rozdělení jakostních vín s přívlastkem
PIX	Grafy volných aminokyselin

PŘÍLOHA P I: STRUČNÝ POPIS BÍLÝCH ODRŮD VÍN POUŽITÝCH V DIPLOMOVÉ PRÁCI [7]

Müller Thurgau je bílá odrůda vypěstována prof. dr. H. Müllerem v německém Geisenheimu v roce 1882. V listině povolených odrůd je zapsána od roku 1941. Je vyznačována žlutou barvou a jemně muškátovou až broskvovou vůní. Tato odrůda má harmonickou chuť s nižším obsahem kyselin a příjemnými aromatickými látkami. Víno je doporučováno k pokrmům, jako jsou maso, ryby nebo bílé měkké sýry.

Veltlínské zelené je odrůdou *Vitis vinifera* L., jejíž původ je víceméně neznámý, možná pochází z Dolních Rakous, možná ze severoitalské oblasti Valtelina. Má světle žlutou barvu a vůni od jemně muškátové až po medově lipovou. Chuť je svěží, jemně nahořklá, kořenitá.

Rulandské šedé je řazeno mezi francouzské odrůdy, přesněji mezi pupenové mutace v rámci skupiny odrůd Pinot. Pravděpodobně však tato odrůda vznikla v Burgundsku, odkud byla rozšířena po celé Francii a zvláště do věhlasné francouzské oblasti Champagne. Víno je doporučováno do archivu, je vyznačováno plností, decentností a vyšší barevností. Má zlato-žlutou barvu, neutrální vůni a plnou kořenitou chuť.

Původ odrůdy **Ryzlink vlašský** není jednoznačný. Odrůda nemá s Ryzlinkem rýnským kromě názvu nic společného. Je charakterizována světle-zelenou barvou, příjemnou květinovou nebo jablečnou vůní. Chuť je označována za plnou a harmonickou s výraznými kyselinami. Víno Ryzlinku vlašského je vhodné pro výrobu šumivých vín.

PŘÍLOHA P II: STRUČNÝ POPIS MODRÝCH ODRŮD VÍN POUŽITÝCH V DIPLOMOVÉ PRÁCI [7]

Modrý Portugal je odrůda řazena mezi středně rané moštové modré odrůdy. Její původ není jednoznačný. Je ale známo, že v roce 1772 byla převezena z Portugalska do Rakouska. Vína jsou jemná, květinově aromatická, příjemně pitelná, světle červené barvy. Hodí se k drůbežímu masu, rybám a sýrům.

Rulandské modré je středně raná až pozdní moštová odrůda. V České republice je místo českého názvu na etiketě vína z této odrůdy povoleno také použití synonyma Pinot Noir. Její vlastí je francouzské Burgundsko - bývá také někdy neoficiálně nazývána **Modrá burgunda**. Víno je vyznačováno plnou, jakostní a v mládí ostružinovou chutí. V plné zralosti vína je chuť přeměněna na sametovou nebo kořenitou s hořkomandlovou příchutí.

Poměrně za mladou můžeme považovat odrůdu **Dornfelder**. Tato středně raná modrá moštová odrůda byla zapsána do Státní odrůdové knihy České republiky v roce 2004. Samotné víno je vyznačováno výrazně tmavě červenou barvou, s výrazným ovocným aroma, extraktivní až tělnaté chuti. Hodí se k těžším či kořeněným úpravám masa, ke grilovaným pokrmům, zvěřině a sýrům.

Frankovka je považována za velmi starou odrůdu, která podle některých pramenů má německý původ. Ve 20. století se stala nejčastěji pěstovanou modrou odrůdou na Moravě. Ale již před rokem 1900 byla nahrazována Modrým Portugalem a později i Svatovavříneckým vínem. Tato odrůda je charakterizována tmavě rubínovou barvou. Vůní připomíná jádra peckovin nebo skořici. Chuť je vyznačována plností a pikantností.

Mezi pozdní moštové odrůdy českého původu je řazena odrůda **André**. Barva je obvykle tmavá a intenzivně červená. Vůně je odrůdová, svou hloubkou a plností je podobná jižním typům vína. Chuť vína bývá harmonická.

Svatovavřínecké (též nazývána jako Saint Laurent) je středně raná až pozdní moštová modrá odrůda. Barva vína je obvykle zařazena mezi sytě červenou barvu, která může přecházet až do fialové. Vůně vína je ovocitá s typickým odrůdovým aromatem, připomínající sušené švestky, povidla nebo černý rybíz. Chuť je označována za plnou a příjemně natrpklou. V mladších ročnících vína je obsaženo více kyselin. Víno je plné, kvalitní a vhodné do směsí zejména s Modrým Portugalem.



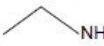

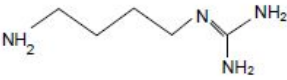
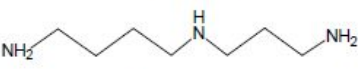
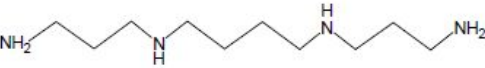
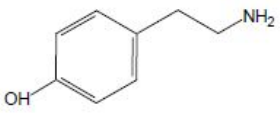
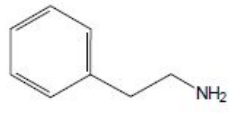
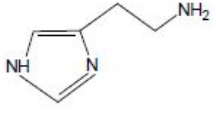
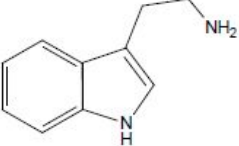
PŘÍLOHA P III: VYBRANÉ BIOGENNÍ AMINY A JEJICH FARMAKOLOGICKÉ ÚČINKY [21]

Amin	Prekurzor	Farmakologický účinek
Histamin	Histidin	uvolňuje adrenalin a noradrenalin
		stimuluje hladké svaly dělohy, střev a dýchacího ústrojí
		stimuluje smyslové a motorické neurony
		ovládá žaludeční kyselinovou sekreci
Tyramin	Tyrosin	periferní vazokonstrikce
		zvyšuje srdeční výstup
		způsobuje slzení a tvorbu slin
		zvyšuje rychlost dýchání
		zvyšuje hladinu krevního cukru
		uvolňuje noradrenalin ze sympatického nervového systému
		způsobuje migrénu
Putrescin a Cadaverin	Ornithin a Lysin	způsobuje nízký tlak
		způsobuje bradykardii (zpomalená srdeční činnost)
		způsobuje tonickou křeč čelistních svalů (paréza)
		znásobuje toxicitu dalších aminů
Fenylethylamin	Fenylalanin	uvolňuje noradrenalin ze sympatického nervového systému
		zvyšuje krevní tlak
		způsobuje migrénu
Tryptamin	Tryptofan	zvyšuje krevní tlak

PŘÍLOHA P IV: MIKROSNÍMEK *OENOCOCCUS OENI* VYSKYTUJÍCÍ SE VE VÍNĚ. [9]



PŘÍLOHA P V: CHEMICKÁ STRUKTURA NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH ENOLOGICKY VÝZNAMNÝCH BIOGENNÍCH AMINŮ [35]

<u>Aliphatic amines</u>	
<p>Putrescine</p> 	<p>Cadaverine</p> 
<p>Ethylamine</p> 	<p>Methylamine</p> 
<p>Agmatine</p> 	
<p>Spermidine</p> 	
<p>Spermine</p> 	
<u>Aromatic amines</u>	
<p>Tyramine</p> 	<p>β-phenylethylamine</p> 
<u>Heterocyclic amines</u>	
<p>Histamine</p> 	<p>Tryptamine</p> 

PŘÍLOHA P VI: SUBSTRÁTY A FERMENTAČNÍ PRODUKTY BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ [9]

Substráty	Produkty
Kyseliny:	
L-malát	L-laktát, CO ₂ , sukcinát, acetát
citrát, pyruvát	laktát, acetát, CO ₂ , acetoin, diacetyl
glukonát	laktát, acetát, CO ₂
2-oxoglutarát	4-hydroxybutyrát, CO ₂ , sukcinát
vinan	laktát, acetát, CO ₂ , sukcinát
sorbát	2,4-hexadien-1-ol
chlorogenát	etylkatechol, dihydrošikimat
Sacharidy:	
glukóza	laktát, etanol, acetát, CO ₂
fruktóza	laktát, etanol, acetát, CO ₂ , manitol
arabinóza, xylóza	laktát, acetát
nebo ribóza	
Polyoly:	
manitol	(pravděpodobně je z glukózy)
2,3- butandiol	2-butanol
glycerol	1,3-propandiol
Aminokyseliny:	
arginin	ornitin, CO ₂ , NH ₄
histidin	histamin, CO ₂
fenylethylamin	2-fenylethylamin, CO ₂
tyrozin	tyramin, CO ₂
lyzin	kadaverin, CO ₂
serin	etanolamin, CO ₂
glutamin	aminobutyrate, CO ₂
Neznámé substráty:	
(pravděpodobně sacharidy)	propanol, izopropanol, izobutanol, 2-metyl-1-butanol, 3-metyl-1-butanol, etylacetát, acetaldehyd, <i>n</i> -hexanol, <i>n</i> -octanol, glycerol, 2,3-butandiol, erytritol, arabitól, dextran, diacetyl

PŘÍLOHA P VII: STANOVENÍ CUKERNATOSTI

Podle zákona 321/2004 Sb. (Zákon o vinohradnictví a vinařství) je cukernatostí rozuměn obsah zkvasitelných cukrů v hroznovém moštu, vyjádřený ve stupních normalizovaného moštoměru (dále jen °NM). Stupněm °NM je vyjádřen obsah zkvasitelných cukrů ve vinných hroznech, vyjádřený v kilogramech na 1 hektolitr hroznového moštu. Podle vyhlášky č. 28/2010 Sb., konkrétně § 4a, lze u červeného vína vyrobeného z hroznů révy vinné sklizených v České republice zvýšit celkový obsah alkoholu přidáním cukru na 12 % objemových ve vinařské zóně A a na 12,5 % objemových ve vinařské zóně B. U vína s označením původu vyrobeného z hroznů révy vinné sklizených v České republice lze zvýšit celkový obsah alkoholu na 15 % objemových. U jakostních vín s přívlastkem výběr z bobulí nebo ledové víno nesmí obsah těkavých kyselin překročit 30 miliekvivalentů na litr vína. U jakostních vín s přívlastkem výběr z cibéb nebo slámové víno nesmí obsah těkavých kyselin překročit 35 miliekvivalentů na litr vína. [37], [8]

Podle minimální potřebné cukernatosti jsou vína rozdělena do kategorií:

Stolní víno (nejméně 11°NM) – Je to nejnižší kategorie vína. Na výrobu tohoto vína se vztahují předpisy Evropského společenství. Podkategorií stolního vína je zemské víno, které bylo vyrobeno z vinných hroznů s minimální cukernatostí alespoň 14 °NM. Víno splňuje požadavky na jakost stanovené prováděcím právním předpisem a předpisům ES. K výrobě zemského vína smí být užity jen vinné hrozny sklizené v zeměpisné jednotce, která nese zeměpisné označení podle odstavce v zákoně. U stolního vína, s výjimkou zemského vína, nesmí být na etiketě uváděn ani ročník nebo odrůda.

Jakostní víno (nejméně 15°NM) - Víno lze uvést do oběhu, jestliže bylo vyrobeno z vinných hroznů sklizených na vinici vhodné pro jakostní víno stanovené oblasti, které byly sklizeny ve stejné vinařské oblasti. Vinné hrozny, z nichž bylo víno vyrobeno, dosáhly cukernatosti nejméně 15°NM. Výroba vína, s výjimkou stáčení, proběhla ve vinařské oblasti, v níž byly vinné hrozny sklizeny. Jakostní víno lze rozdělit na jakostní víno, jakostní víno odrůdové (vyrábí se nejvýše ze 3 odrůd) a jakostní víno známkové (vyrábí se smíšením jakostních vín).

Jakostní vína s přívlastkem (více jak 19°NM, při splnění zákonem daných podmínek) - Víno lze uvést do oběhu, jestliže byla vyrobena z vinných hroznů, rmutu nebo hroznového moštu, popřípadě z vína vyrobeného z vinných hroznů sklizených na vinici vhodné pro

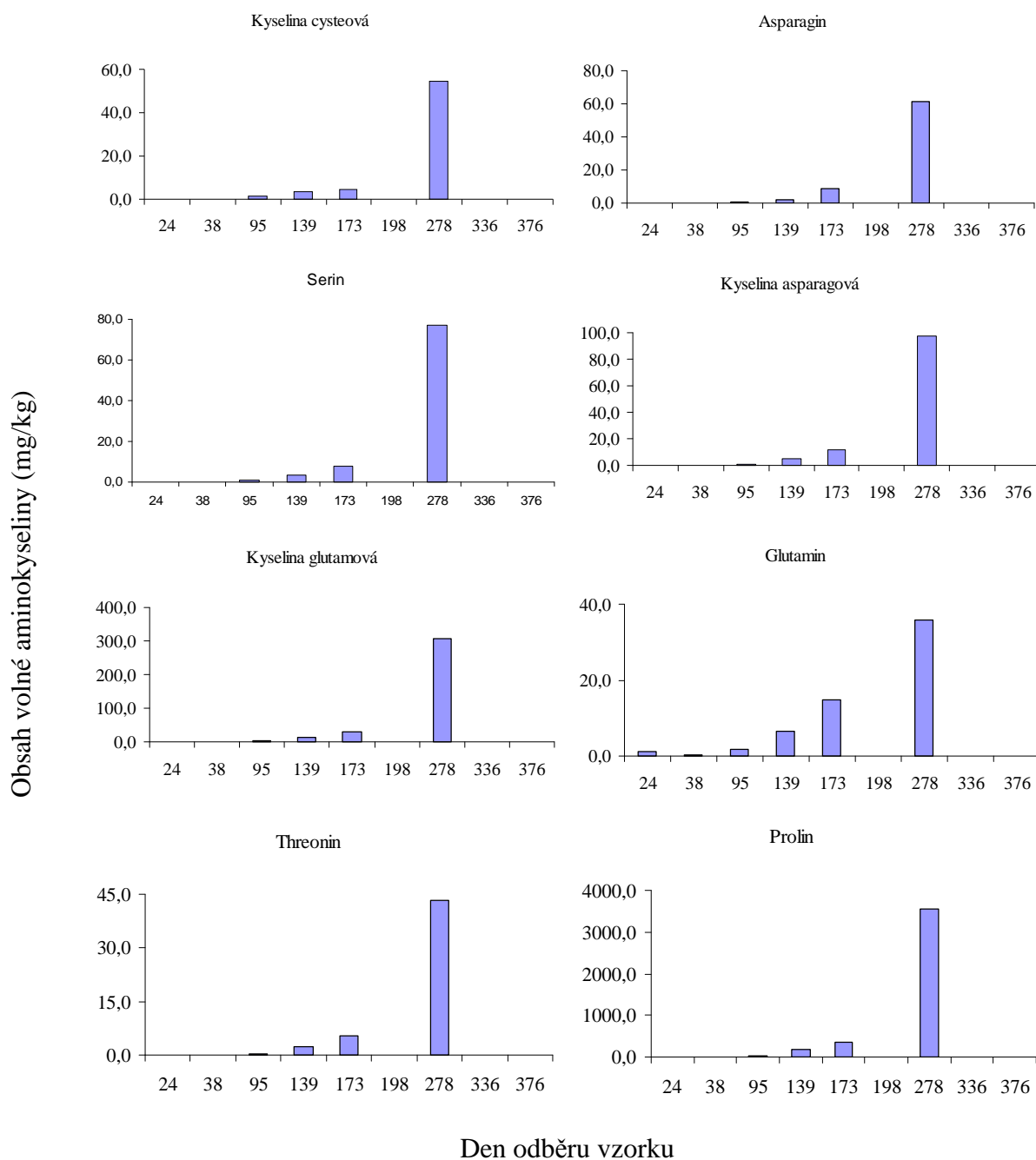
jakostní víno stanovené oblasti, které splňují požadavky pro jednotlivý druh jakostního vína s přívlastkem nebo smísením jakostních vín s přívlastkem. Výroba byla provedena ve vinařské oblasti, v níž byly vinné hrozny sklizeny. Víno splňuje požadavky předpisů ES. U těchto vín není povoleno zvýšení obsahu alkoholu, např. doslazením moštu.[8] Seznam jakostních vín s přívlastkem je v příloze VIII.

PŘÍLOHA P VIII: ROZDĚLENÍ JAKOSTNÍCH VÍN S PŘÍVLASTKEM [8]

Rozdělení jakostních vín s přívlastkem	
název vína	minimální stupně normalizovaného moštoměru (°NM)
kabinetní víno	19°
pozdní sběr	21°
výběr z hroznů	24°
výběr z bobulí	27°
ledové víno	27° (hrozny musí být sklizeny při teplotě 7°C a nižší)
slámové víno	27° (hrozny musí být skladovány na slámě či rákosu nebo zavěšeny ve větraném prostoru po dobu nejméně 3 měsíců)
výběr z cibéb	32° (napadení bobulí ušlechtilou plísní šedou- <i>Botrytis cinerea</i>)

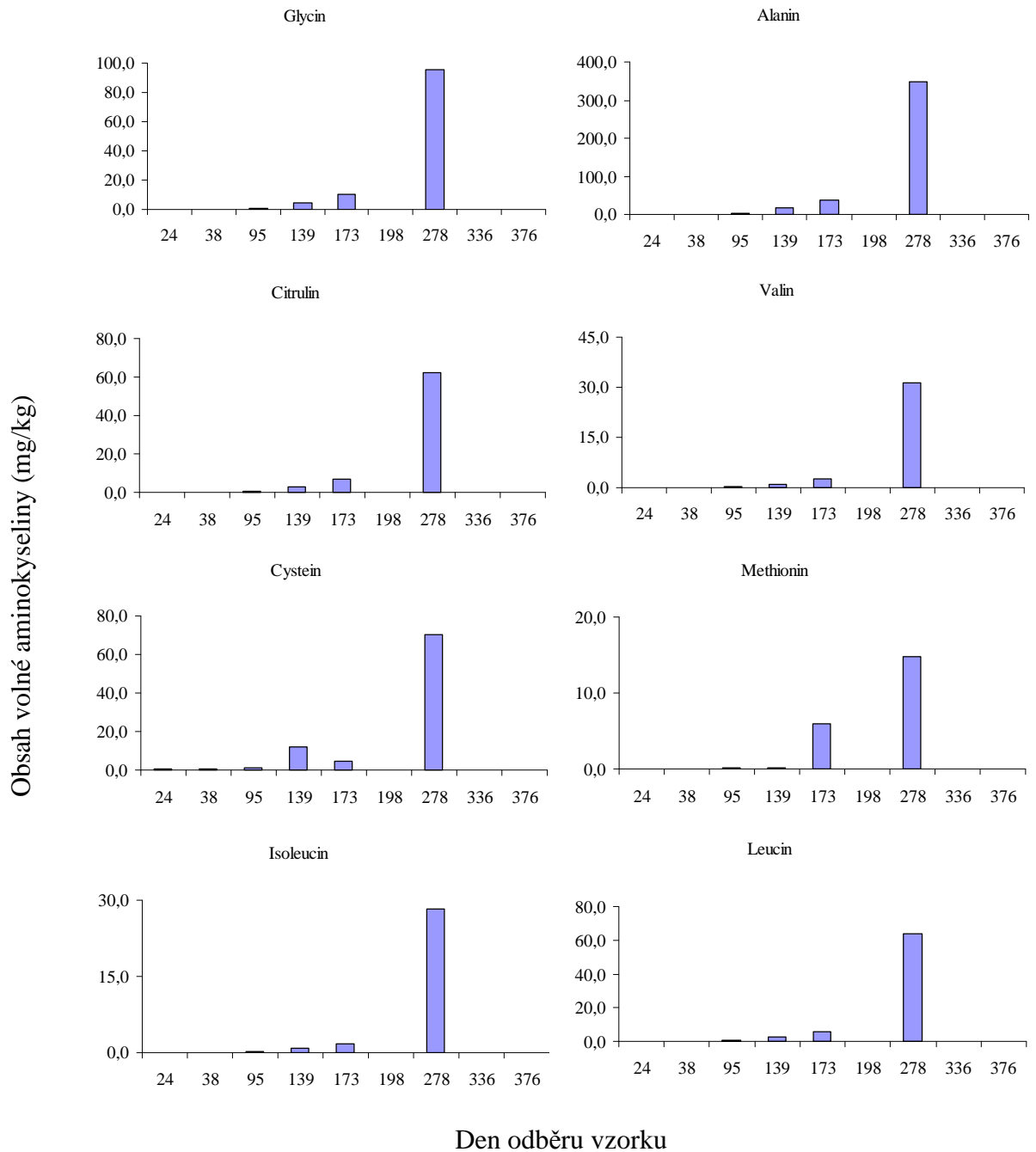
PŘÍLOHA P IX: GRAFY VOLNÝCH AMINOKYSELIN

Graf č. P IX/1: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, asparagin, serin, kyselina asparagová, kyselina glutamová, glutamin, treonin a prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy André



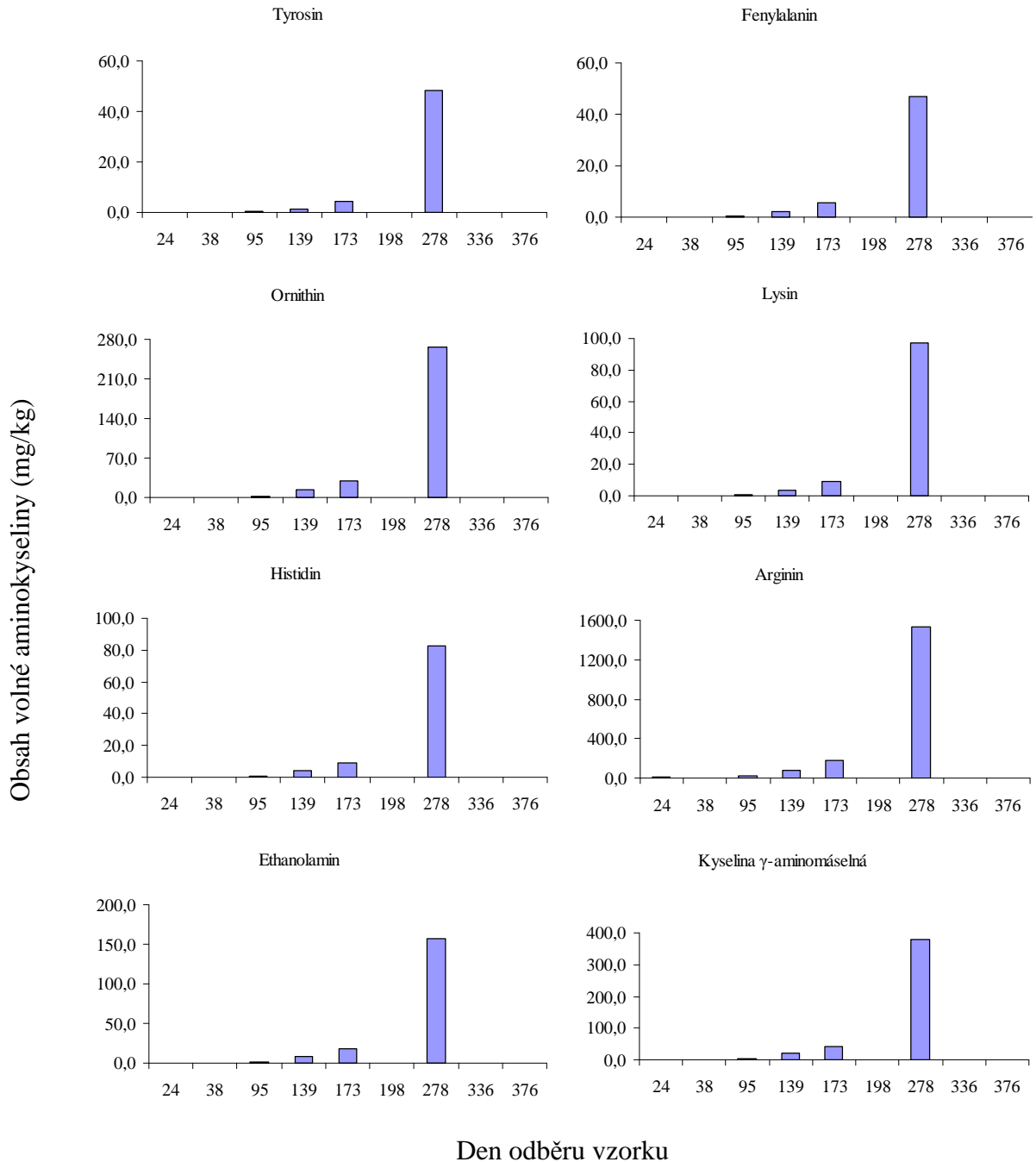
Nejvyšší zaznamenané množství volných aminokyselin bylo během 278. odběru vzorku, kdy je víno zfiltrováno a zraje v nerezových tancích.

Graf č. P IX/2: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy André



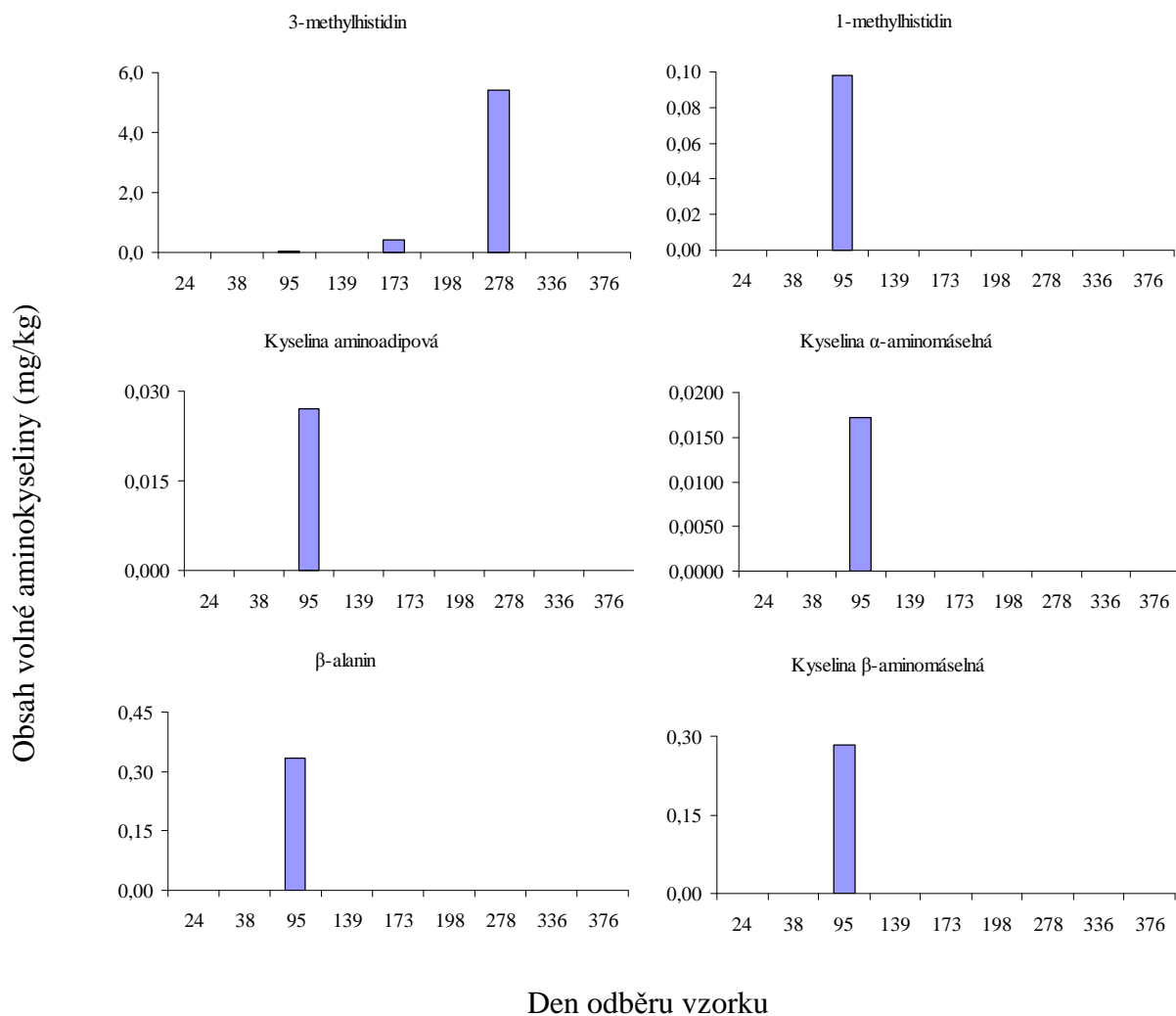
Nejvyšší zaznamenané množství volných aminokyselin bylo během 278. odběru vzorku, kdy je víno zfiltrováno a zraje v nerezových tancích.

Graf č. P IX/3: Obsah volných AMK (tyrosin, fenylalanin, ornitin, lizin, histidin, arginin, etanolamin a kyselina γ - aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy André



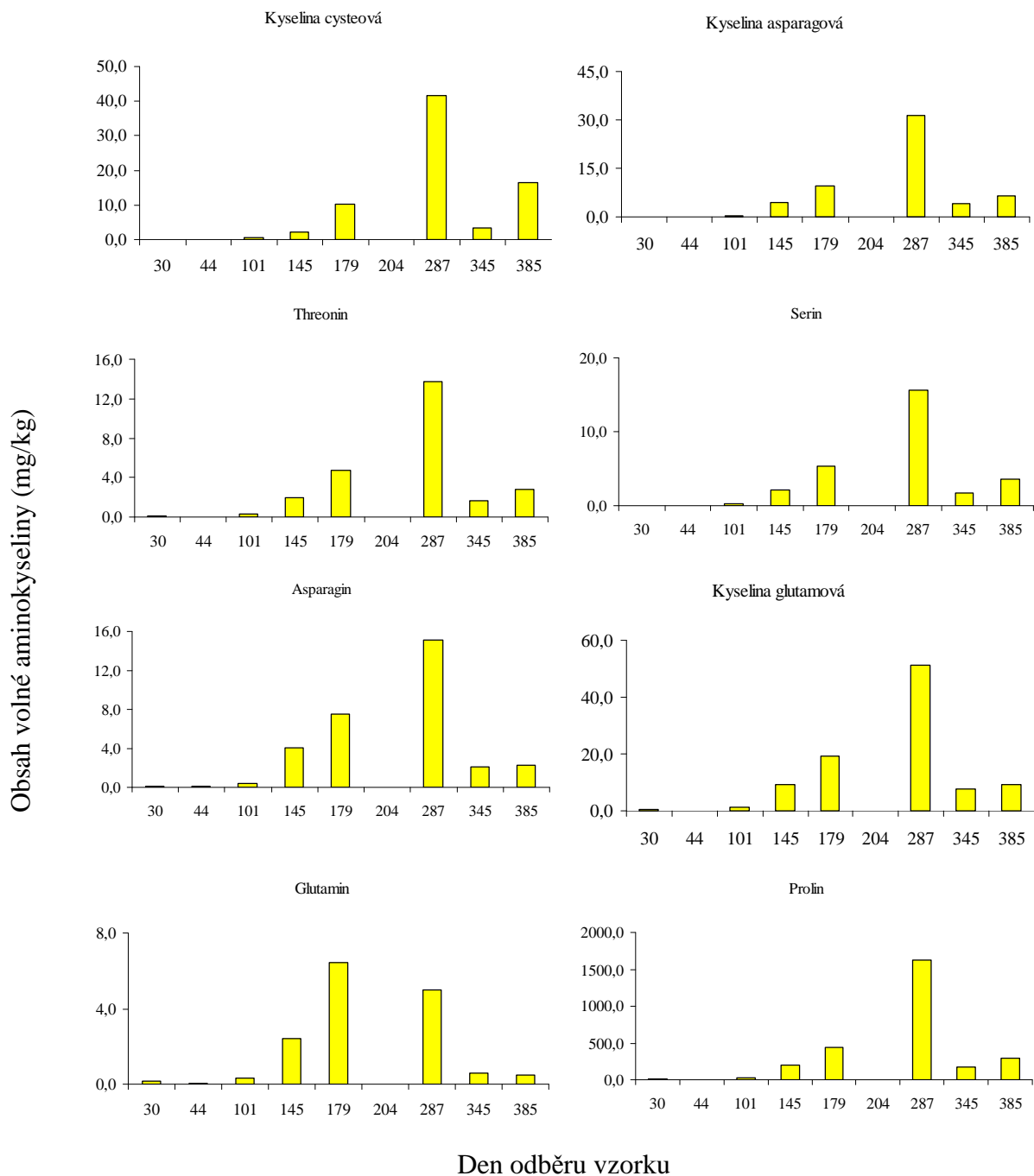
Nejvyšší zaznamenané množství volných aminokyselin bylo během 278. odběru vzorku, kdy je víno zfiltrováno a zraje v nerezových tancích.

Graf č. P IX/4: Obsah volných AMK (3 – methylhistidin, 1 – methylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α - aminomáselná, β - alanin, kyselina β - aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy André



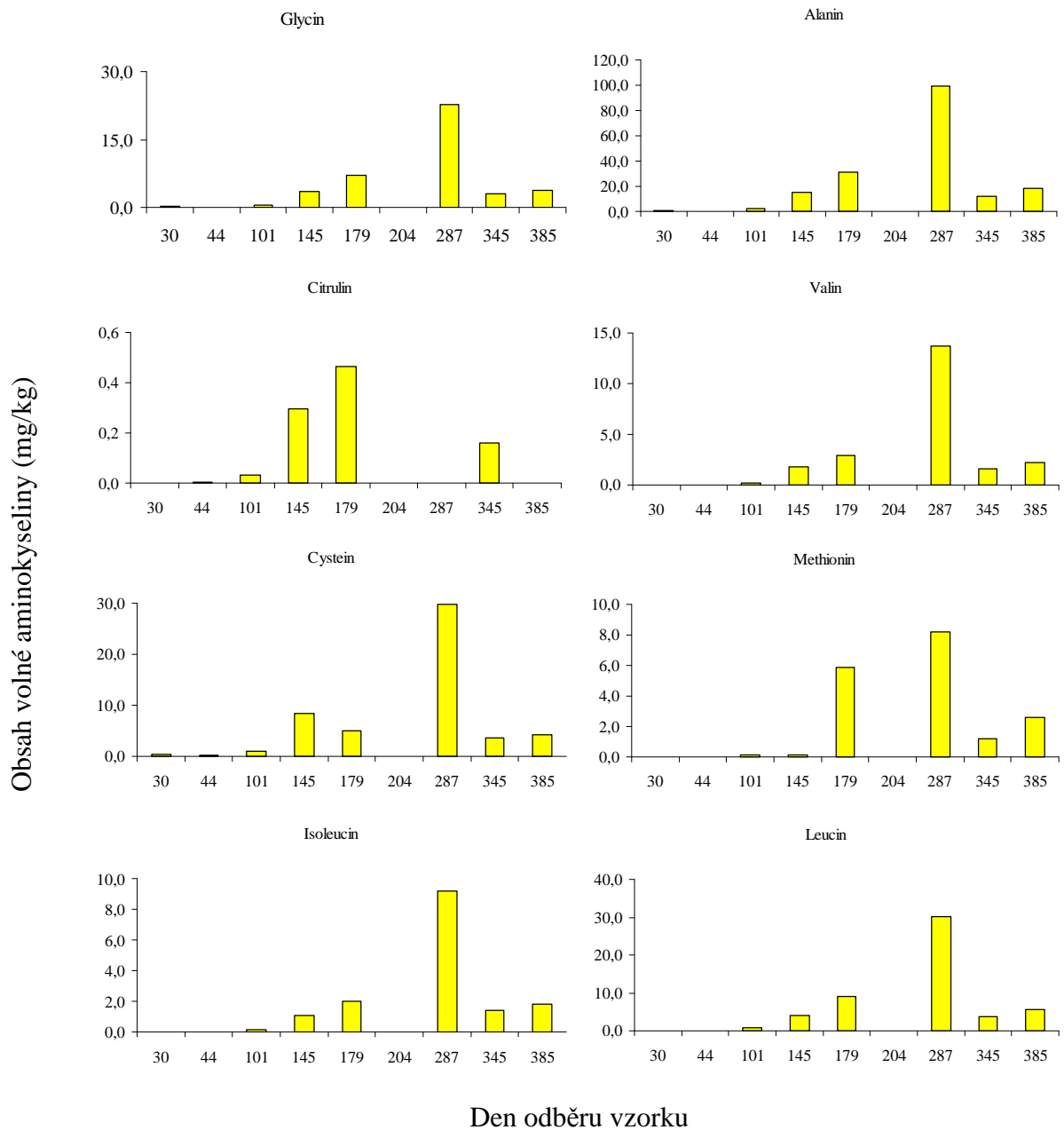
Volná aminokyselina 3 – metylhistidin měla nejvyšší zaznamenané množství 278. den odběru vzorku (po filtraci během zrání vína). Zbylé volné aminokyseliny (1 – metylhistidin, kys. aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β –alanin, kyselina β – aminomáselná) byly detekovány pouze 95. den odběru vzorku po 3. stáčení vína a před filtrací.

Graf č. P IX/5: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Frankovka



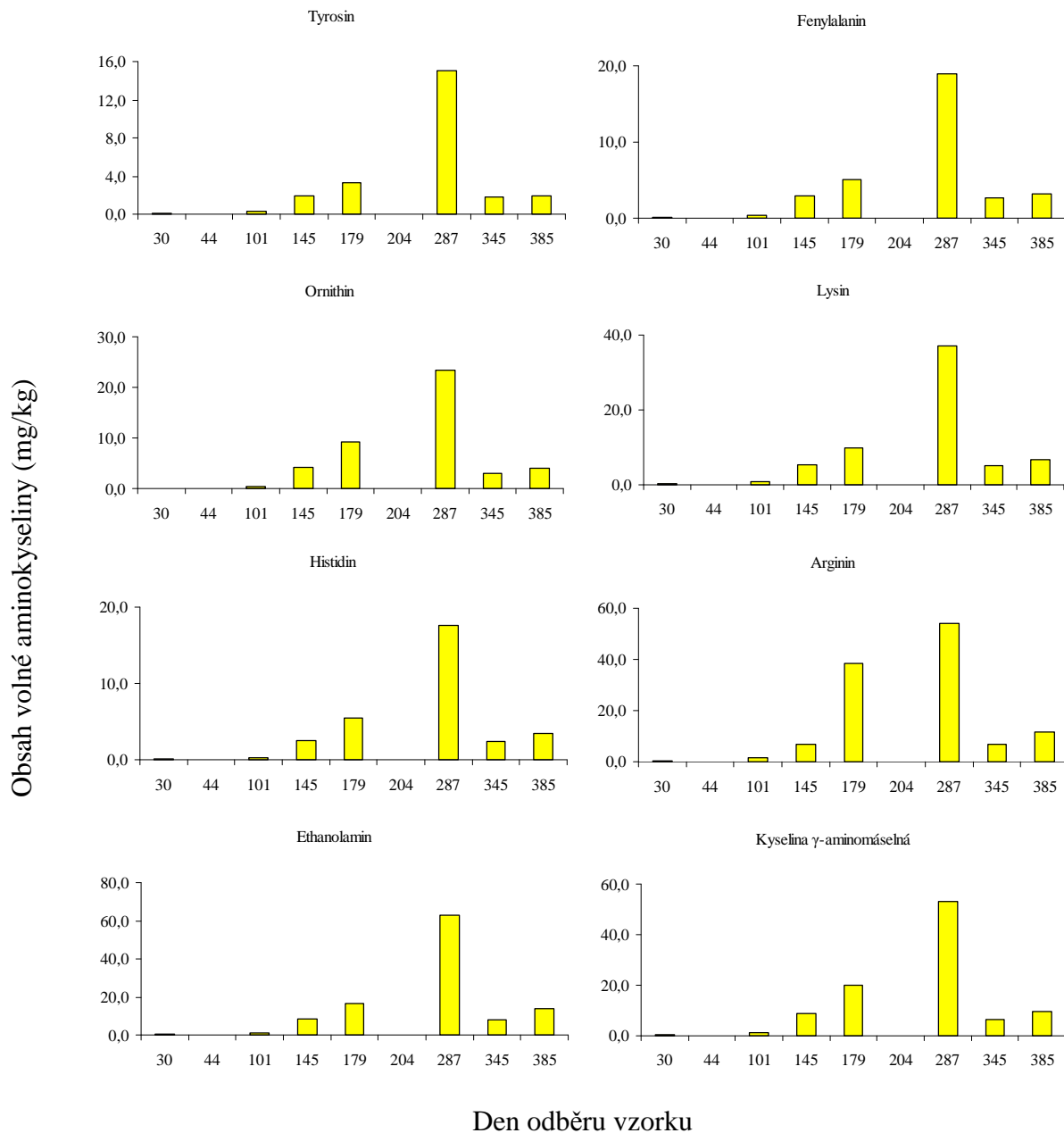
První záznam množství volných aminokyselin je 101. den odběru vzorku před filtrací vína. Nejvyšší zaznamenané množství je 287. den odběru vzorku, kdy je víno zfiltrováno a zraje v nerezových tancích. Výjimkou je glutamin, který má nejvyšší množství 179.den odběru vzorku, kdy nebylo víno ještě zfiltrováno.

Graf č. P IX/6: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Frankovka



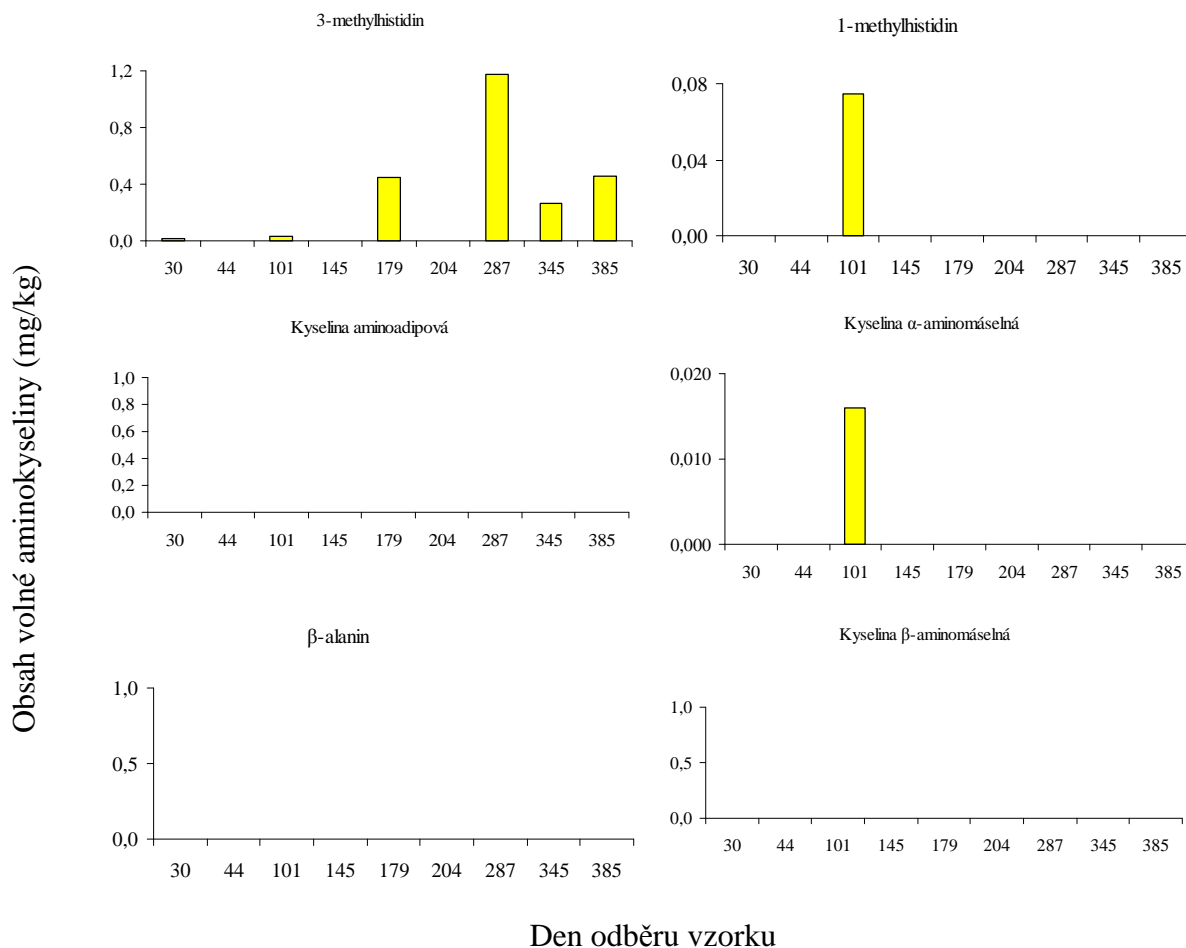
První detekované množství volných aminokyselin bylo zjištěno ve 101. dnu odběru vzorku po 3. stáčení vína, kdy víno ještě nebylo filtrováno. Nejvyšší množství bylo zaznamenáno 287.den odběru vzorku, kdy je víno již zfiltrováno a zraje. Po tomto dnu je sestupná tendence množství volných aminokyselin.

Graf č. P IX/7: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ -aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Frankovka



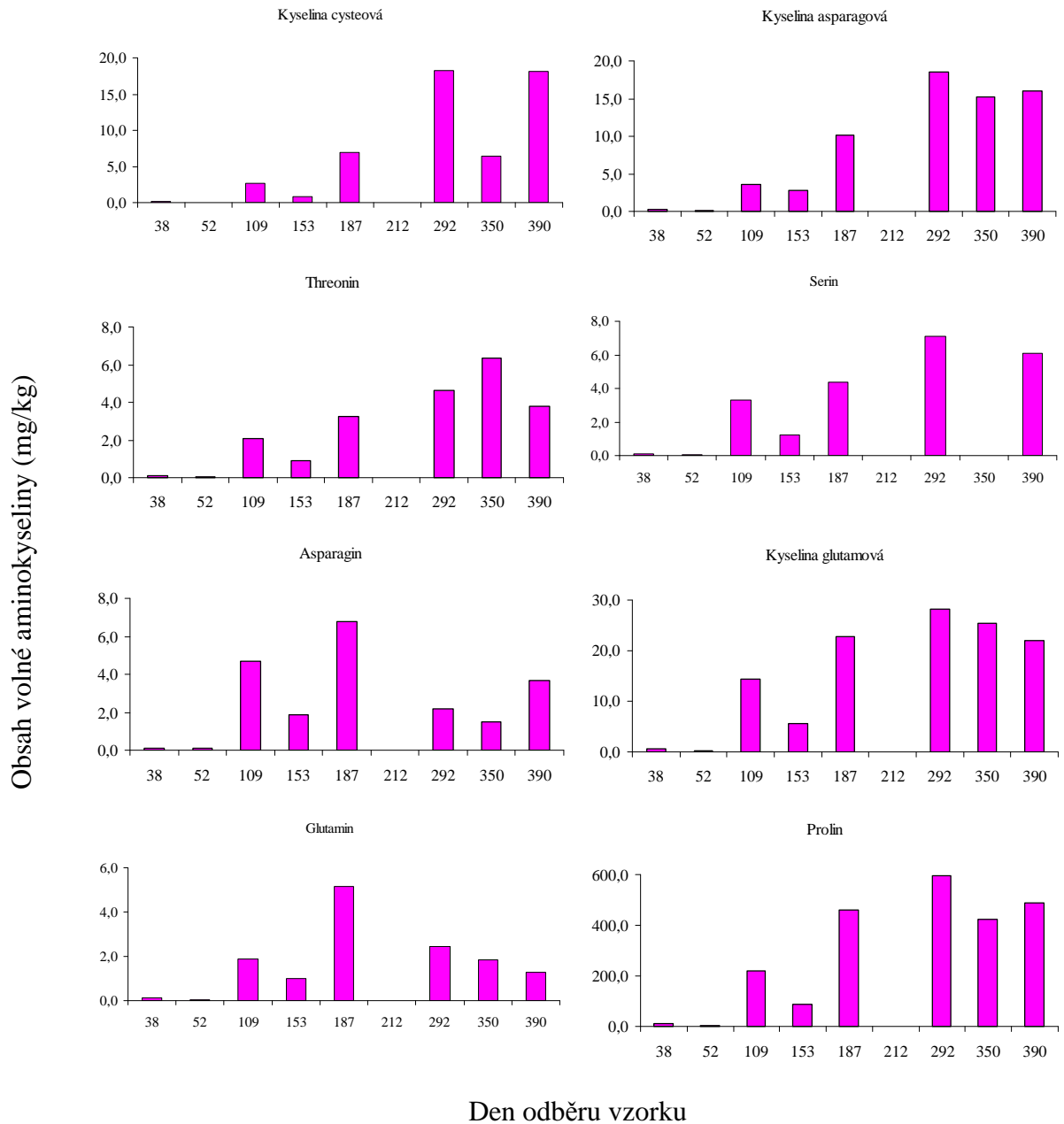
První zjištěné množství volných AMK je ve 101. dnu odběru vzorku, kdy bylo víno po třetí stáčeno a nebylo ještě zfiltrováno. Nejvyšší obsah všech uvedených volných aminokyselin je 287. den odběru vzorku, kdy je víno po filtraci a zraje v nerezových tancích.

Graf č. P IX/8: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Frankovka



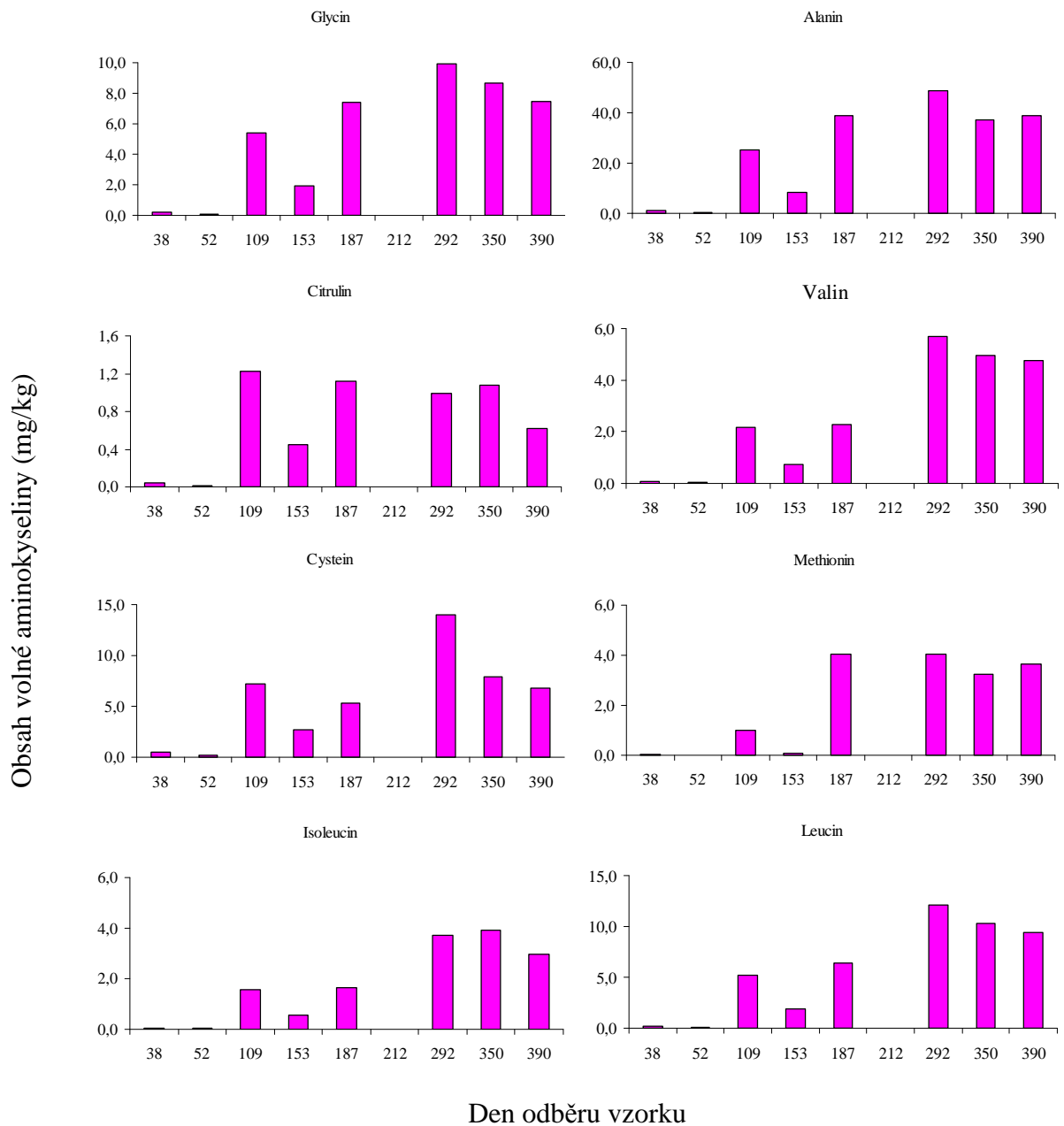
Ve vzorku vína odrůdy Frankovka nebyly detekovány tyto sloučeniny: kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, kyselina β – aminomáselná a β – alanin. U 1 – metylhistidinu a kyseliny α – aminomáselné bylo zaznamenáno jediné množství ve 101. dnu odběru vzorku po třetím stáčení vína. Nejvyšší množství 3 – metylhistidinu bylo zaznamenáno ve 287. dnu odběru vzorku, kdy je víno po filtraci, a zraje v nerezových tančích.

Graf č. P IX/9: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Dornfelder



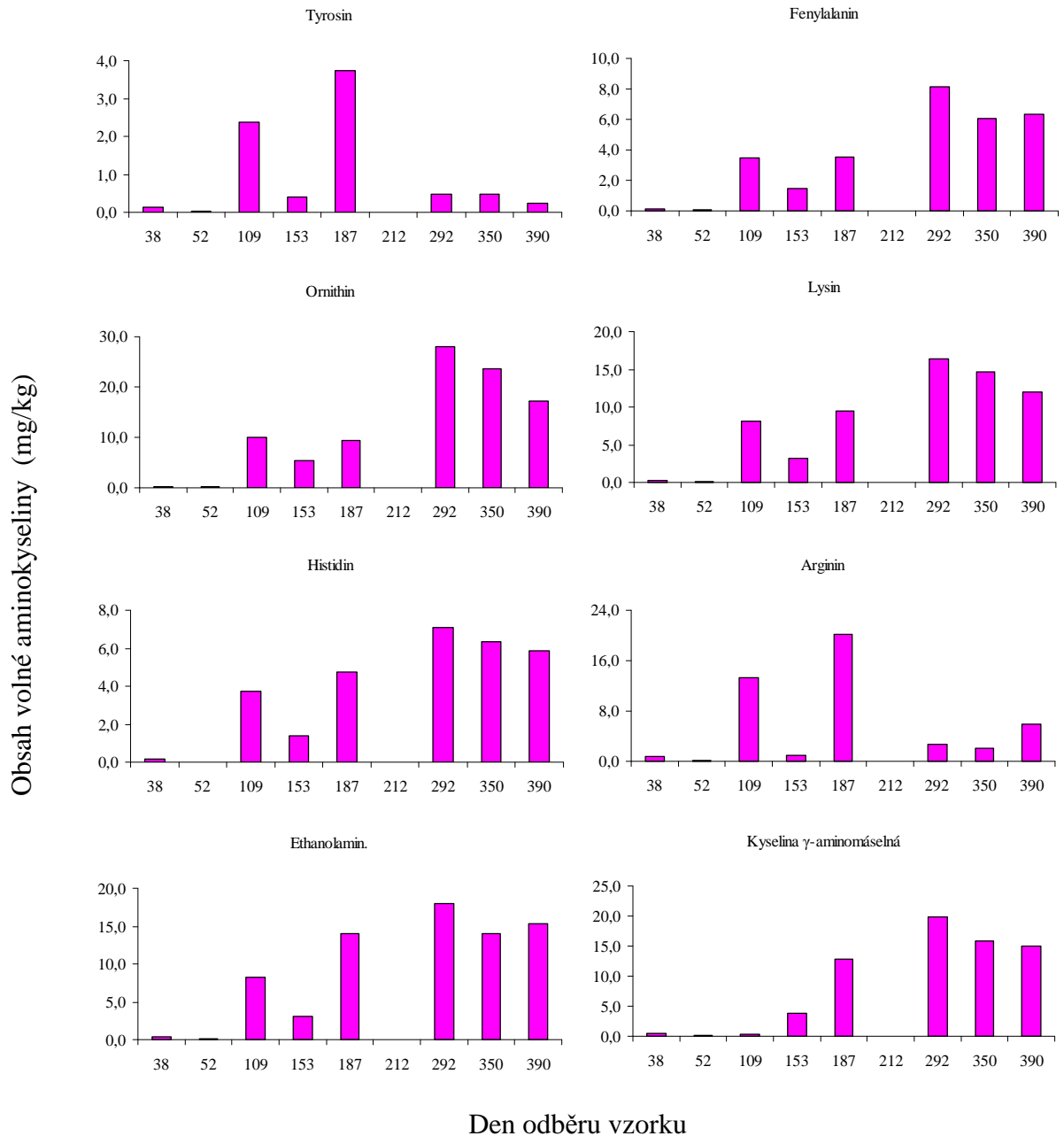
Kyselina asparagová, kyselina glutamová, serin a prolin mají největší maximum svého obsahu 292. den odběru vzorku, kdy je víno již zfiltrováno. Poté následuje pokles v obsahu těchto biogenních aminů. Asparagin a glutamin mají nejvyšší obsah 187. den odběru vzorku (víno ještě není zfiltrováno), kyselina cysteová 292. a 350. den odběru vzorku a treonin 350. den odběru vzorku. V těchto dnech je již víno zfiltrováno.

Graf č. P IX/10: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Dornfelder



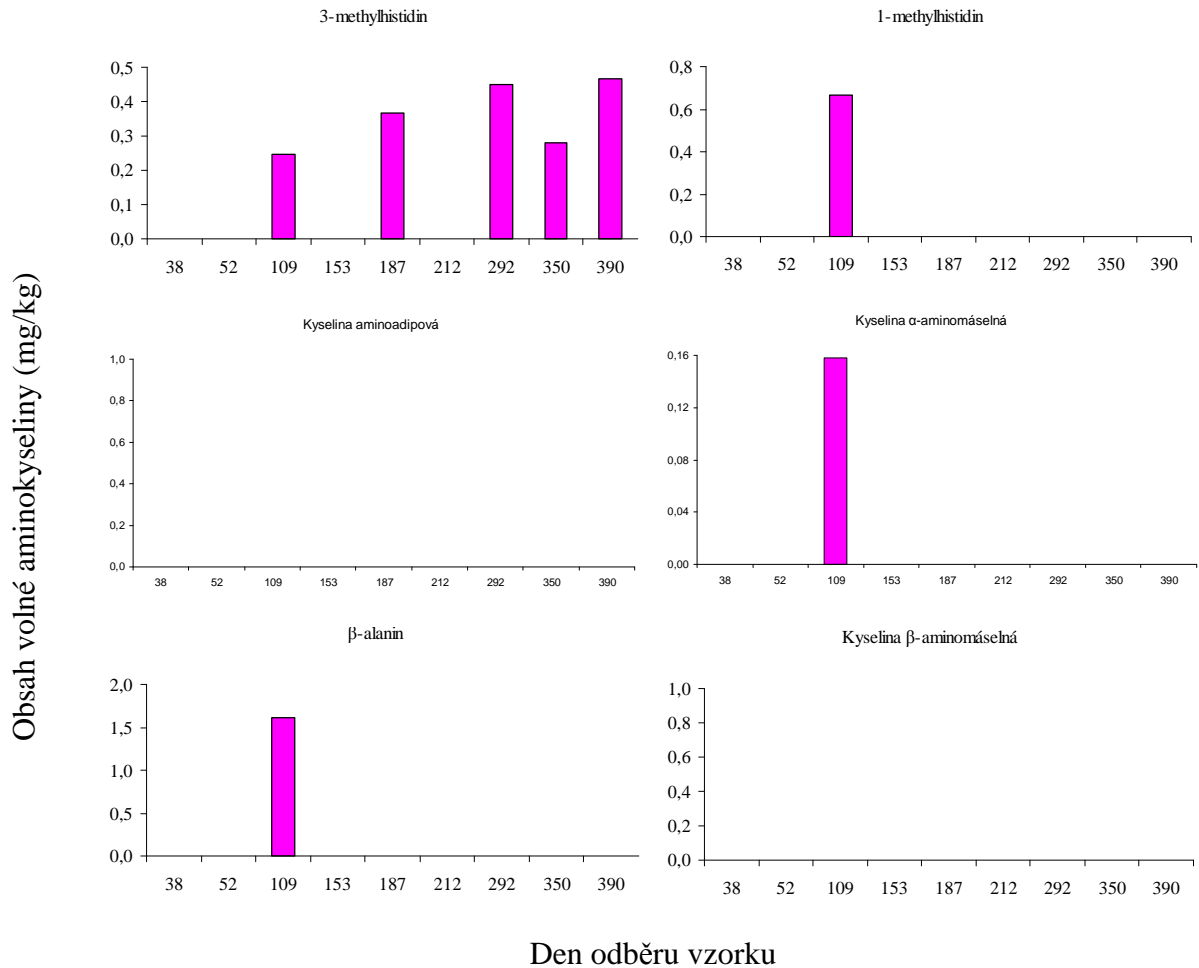
Glycin, alanin, valin, cystein, metionin, izoleucin a leucin mají své maximální obsahy 292. den odběru vzorku, kdy je již víno zfiltrováno. Citrulin má nejvyšší obsah 109. den odběru vzorku, kdy je víno ještě nezčiřeno.

Graf č. P IX/11: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Dornfelder



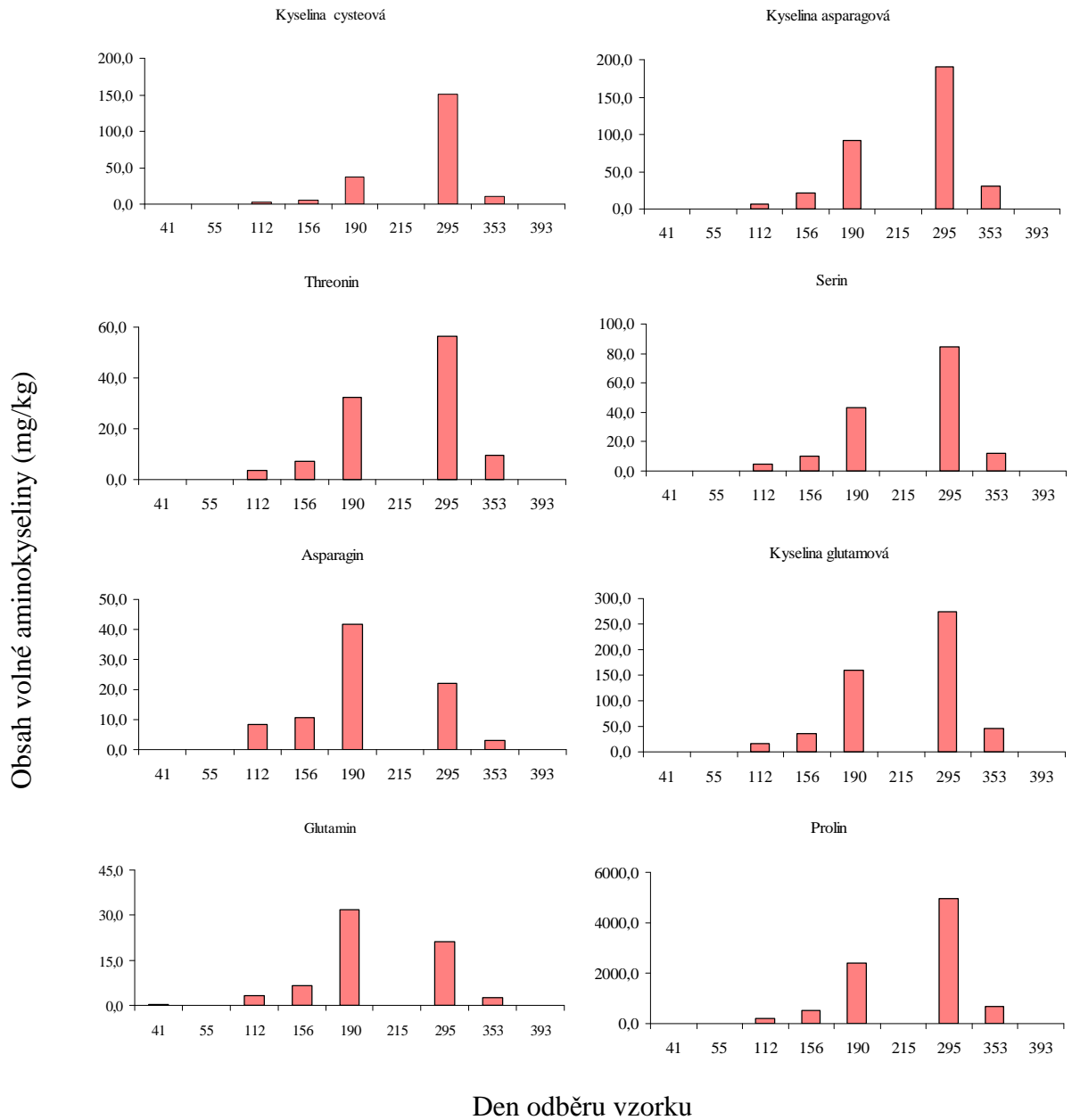
U tyrosinu a argininu bylo nejvyšší množství 187. den odběru vzorku, kdy víno ještě nebylo zfiltrováno. Zbytek zde uvedených volných AMK mělo nejvyšší obsah 292. den odběru vzorku, kdy je už víno zfiltrováno. Poté následuje pokles uvedených biogenních aminů.

Graf č. P IX/12: Obsah volných AMK (3 – methylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Dornfelder



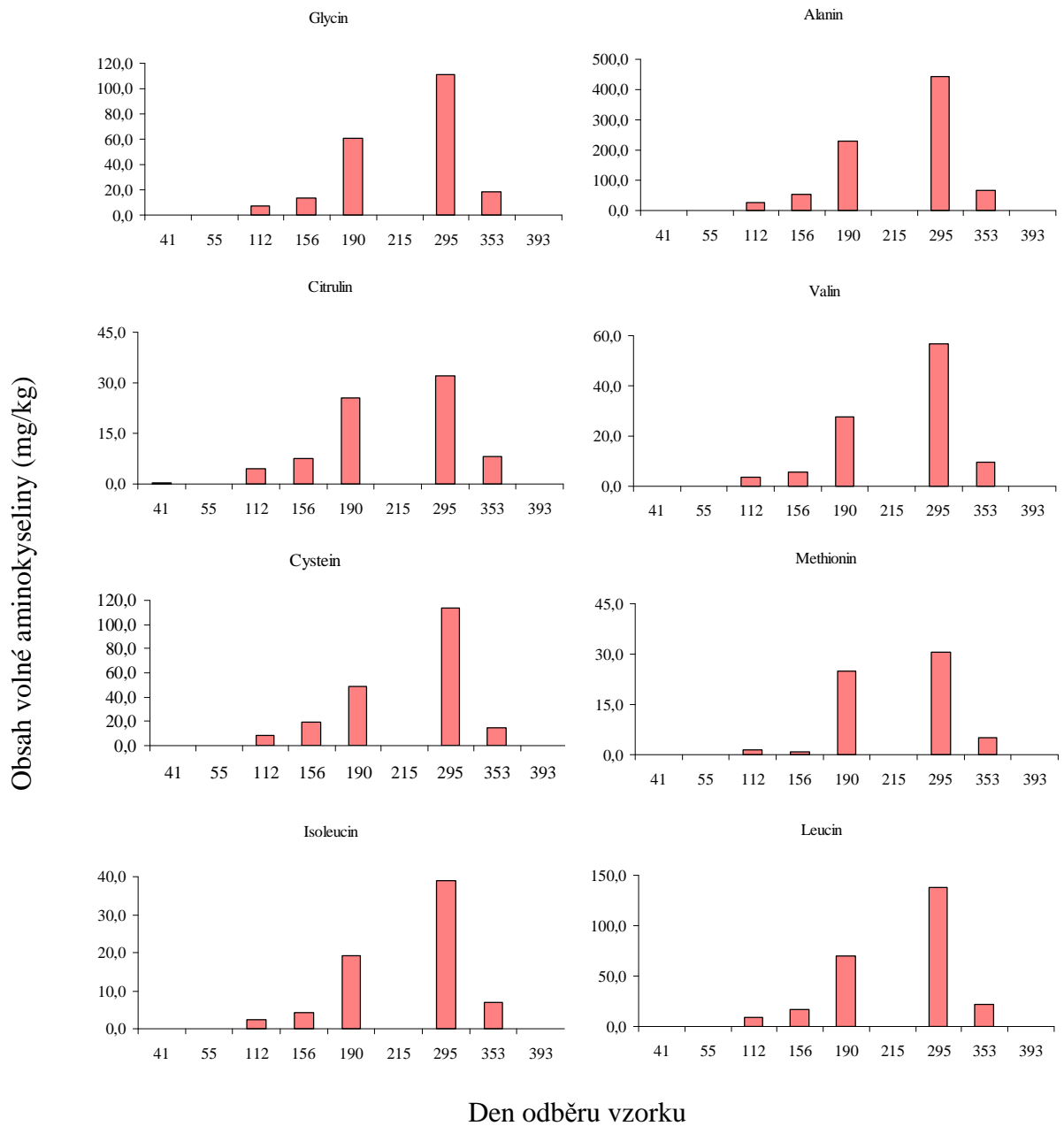
Kyselina aminoadipová a kyselina β – aminomáselná nebyly detekovány. Jediný zjištěný obsah β – alaninu a kyseliny α – aminomáselné bylo během 109. dne odběru vzorku, kdy víno nebylo ještě zfiltrováno. Nejvyšší obsah 3 – metylhistidinu byl 187. (víno ještě nebylo zfiltrováno) a 390. den odběru vzorku (víno již zraje v nerezových tancích).

Graf č. P IX/13: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské modré



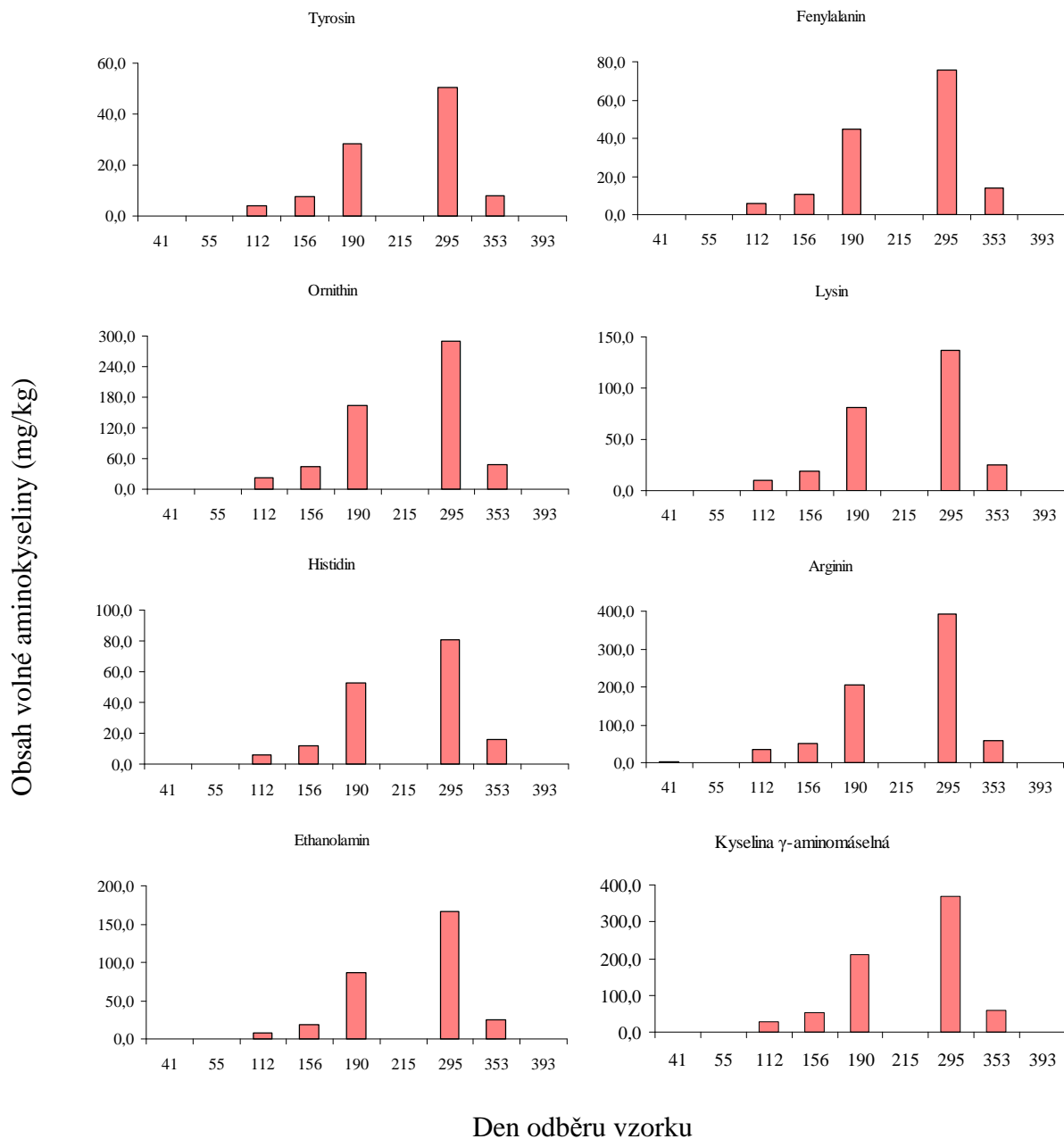
Nejvyšší množství volných aminokyselin bylo zaznamenáno 190. den odběru vzorku, kdy u vína proběhlo 2. stáčení a 295. den odběru vzorku, tedy pár dnů před filtrací vína. Nejvyšší množství měl prolin.

Graf č. P IX/14: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské modré



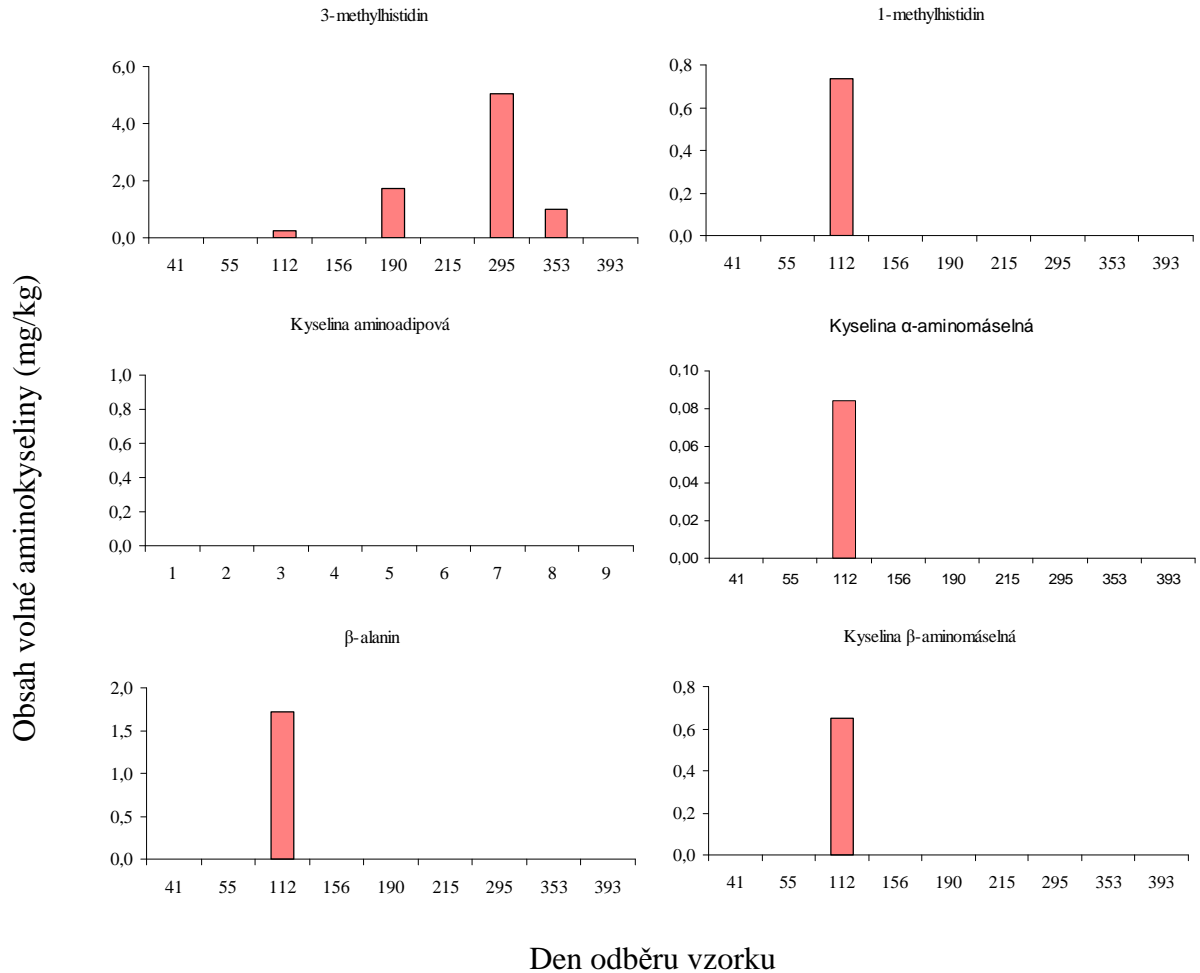
Nejvyšší množství volných aminokyselin bylo zaznamenáno 190. den odběru vzorku, kdy u vína proběhlo 2. stáčení a 295. den odběru vzorku, tedy pár dnů před filtrací vína. Nejvyšší množství měl alanin.

Graf č. P IX/15: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin a kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské modré



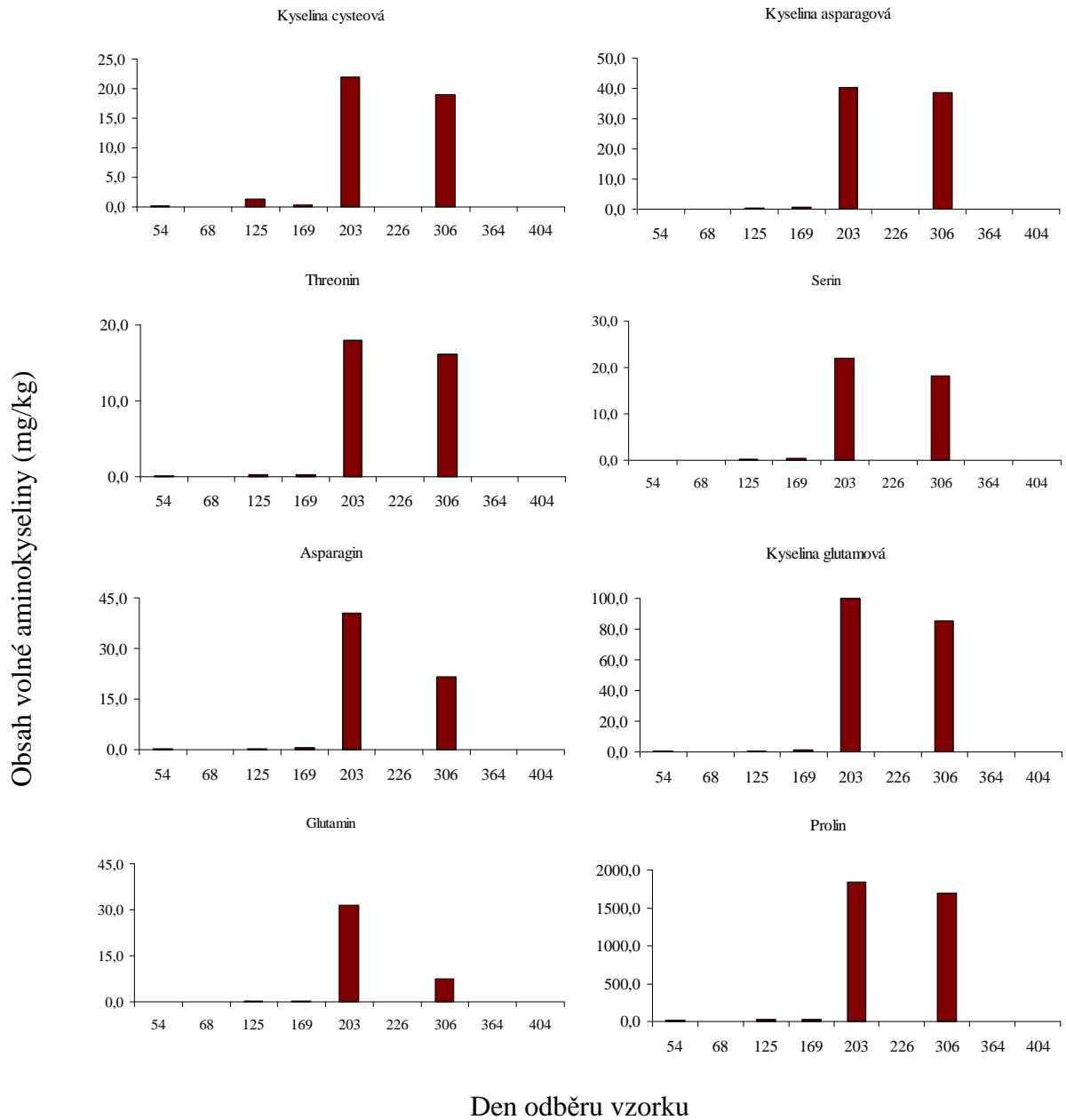
Nejvyšší množství volných aminokyselin bylo zaznamenáno 190. den odběru vzorku, kdy u vína proběhlo 2. stáčení a 295. den odběru vzorku, tedy pár dnů před filtrací vína. Nejvyšší množství měl arginin a kyselina α – aminomáselná.

Graf č. P IX/16: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské modré



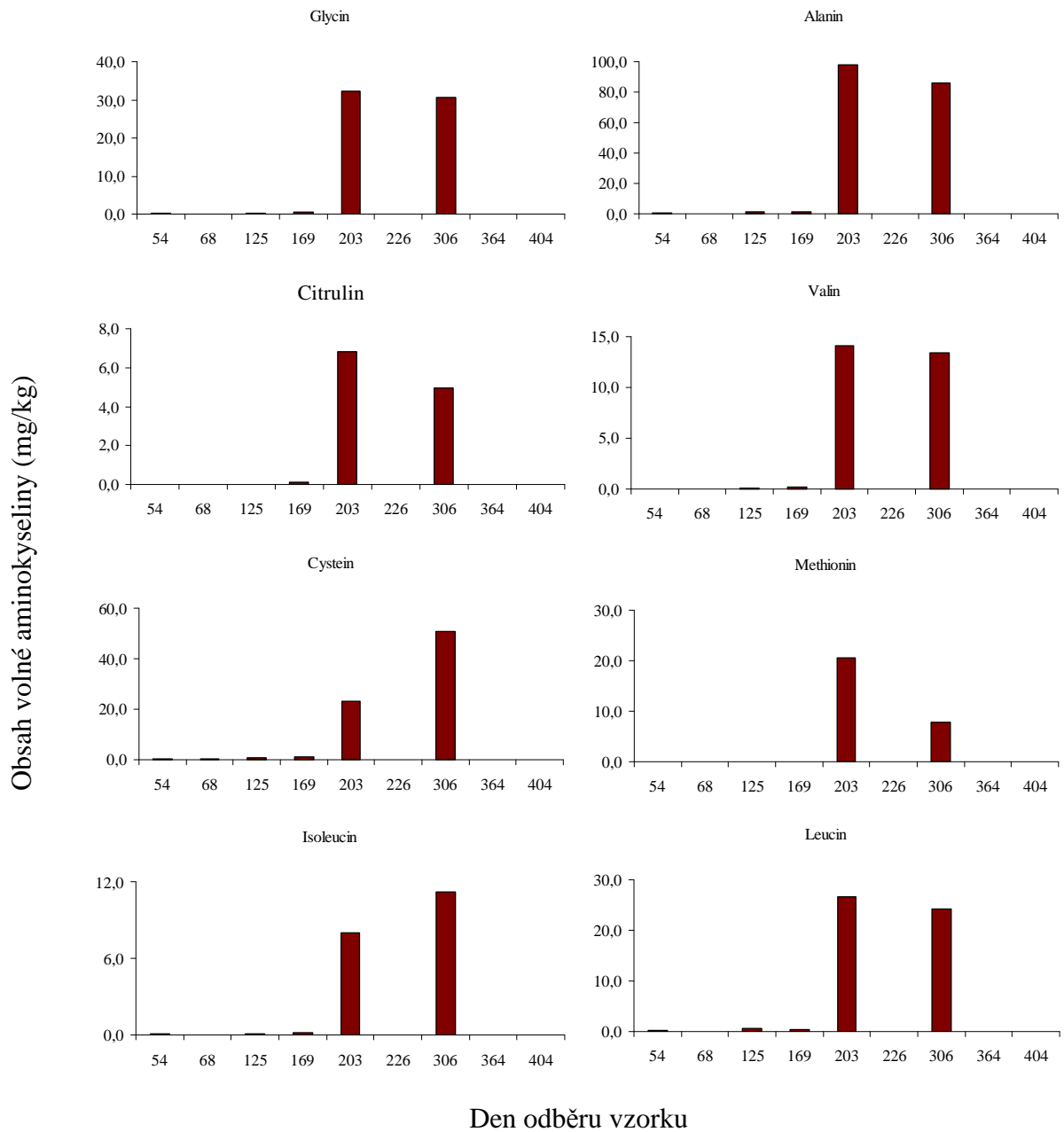
U volné aminokyseliny 3 – metylhistidinu bylo nejvyšší množství zaznamenáno 295. den odběru vzorku, tedy pár dnů před filtrací vína. 1 – metylhistidin, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná měly jediné detekované množství 112. den odběru vzorku, kdy bylo víno podruhé stáčeno a nezfiltrováno. Kyselina aminoadipová nebyla detekována.

Graf č. P IX/17: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Modrý Portugal



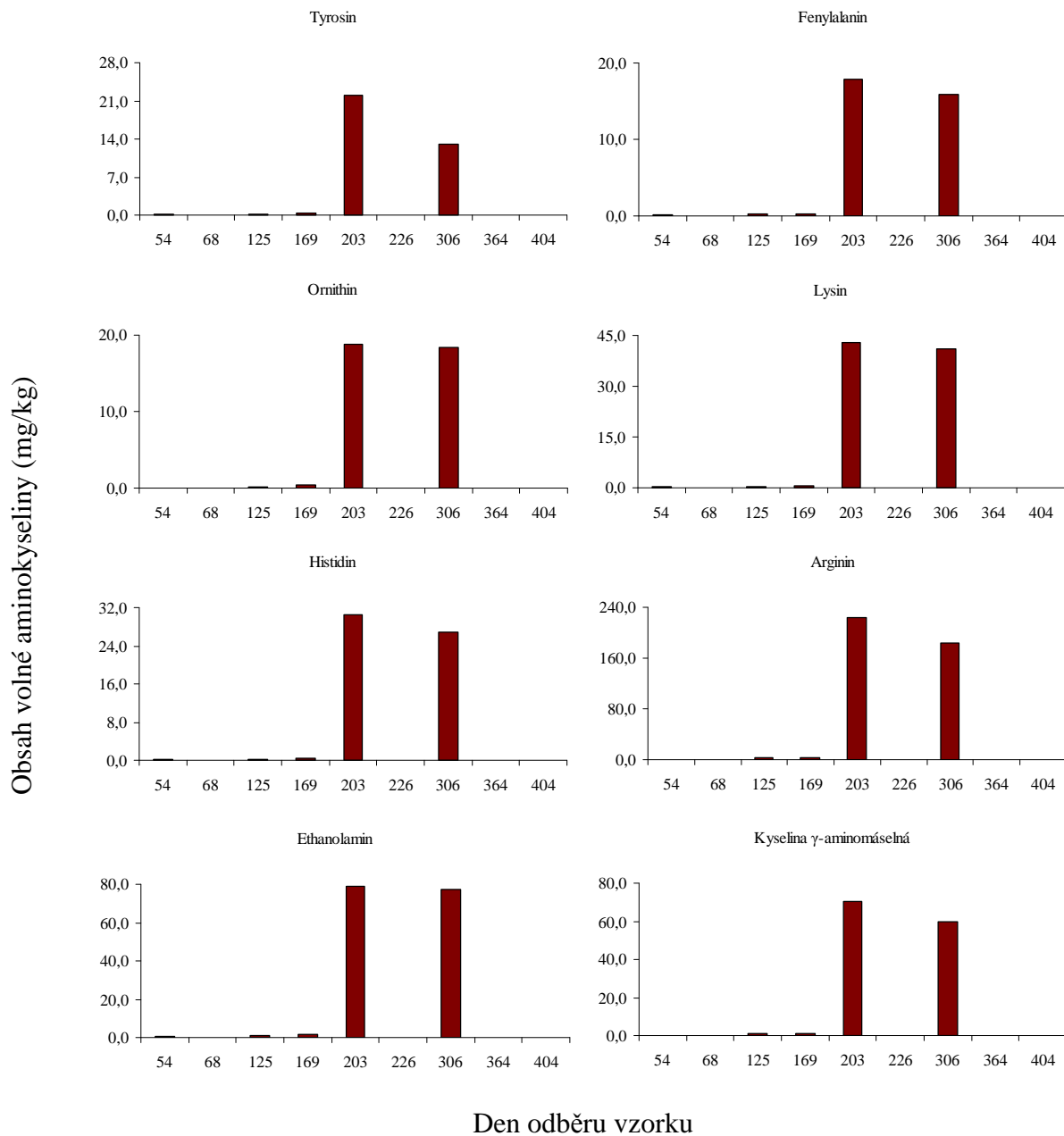
Zkoumané volné aminokyseliny byly detekovány 203. den odběru vzorku po 2. stáčení vína a před filtrací a 306. den odběru vzorku po filtraci. Nejvyšší zaznamenané množství bylo u prolinu.

Graf č. P IX/18: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Modrý Portugal



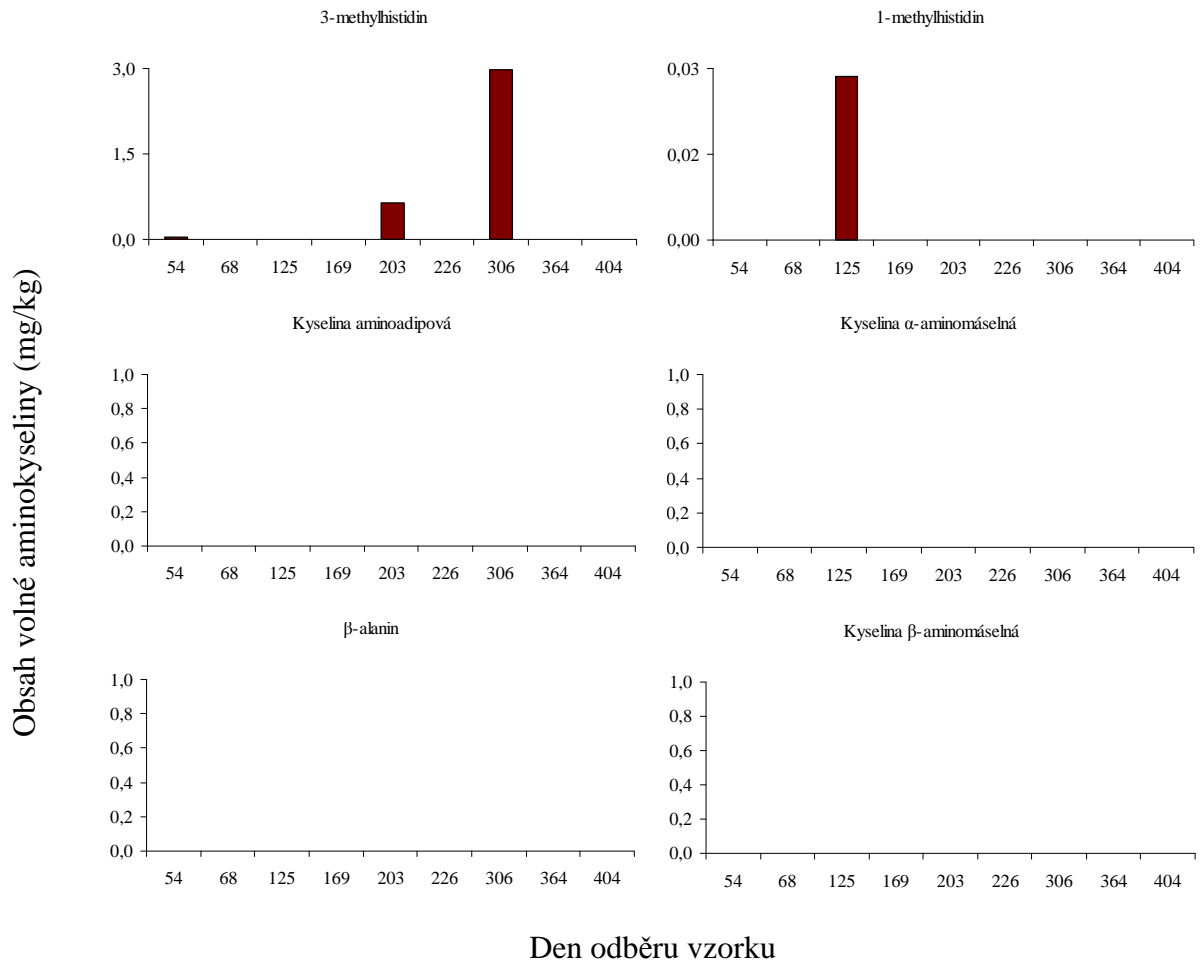
Zkoumané volné aminokyseliny byly detekovány 203. den odběru vzorku po 2. stáčení vína a před filtrací a 306. den odběru vzorku po filtraci vína. Nejvyšší zaznamenané množství bylo u alaninu.

Graf č. P IX/19: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Modrý Portugal



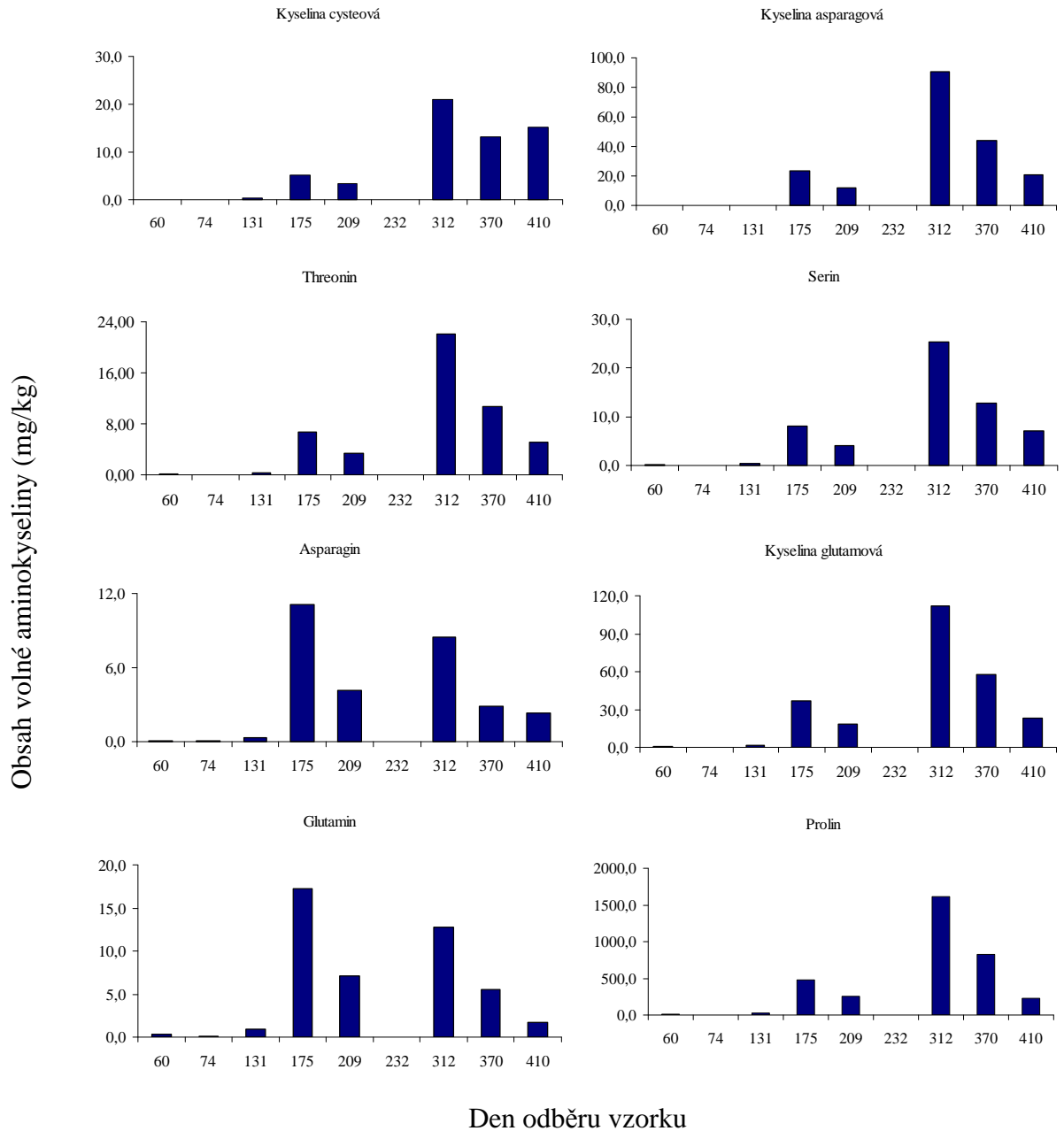
Zkoumané volné aminokyseliny byly detekovány 203. den odběru vzorku po 2. stáčení vína a před filtrací a 306. den odběru vzorku po filtraci vína. Nejvyšší zaznamenané množství bylo u argininu.

Graf č. P IX/20: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Modrý Portugal



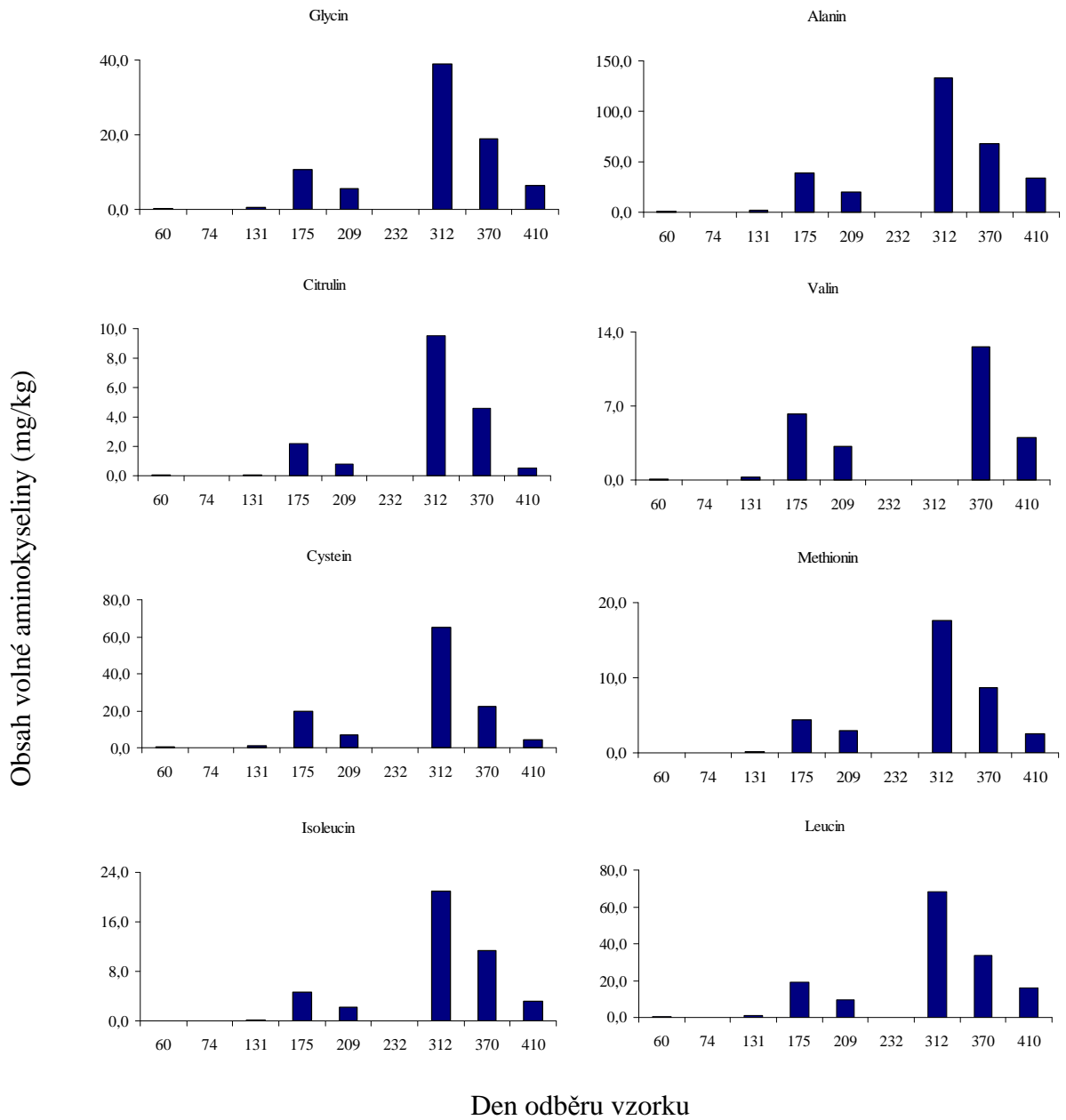
U 3 – metylhistidinu bylo detekováno množství 203. den odběru vzorku po 2. stáčení vína a před filtrací a 306. den odběru vzorku po filtraci vína. U 1 – metylhistidinu byla detekce 125. den odběru vzorku, kdy bylo víno již čířeno a připraveno na 2. stáčení. Kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin a kyselina β – aminomáselná nebyly vůbec detekovány během výroby vína.

Graf č. P IX/21: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Müller Thurgau



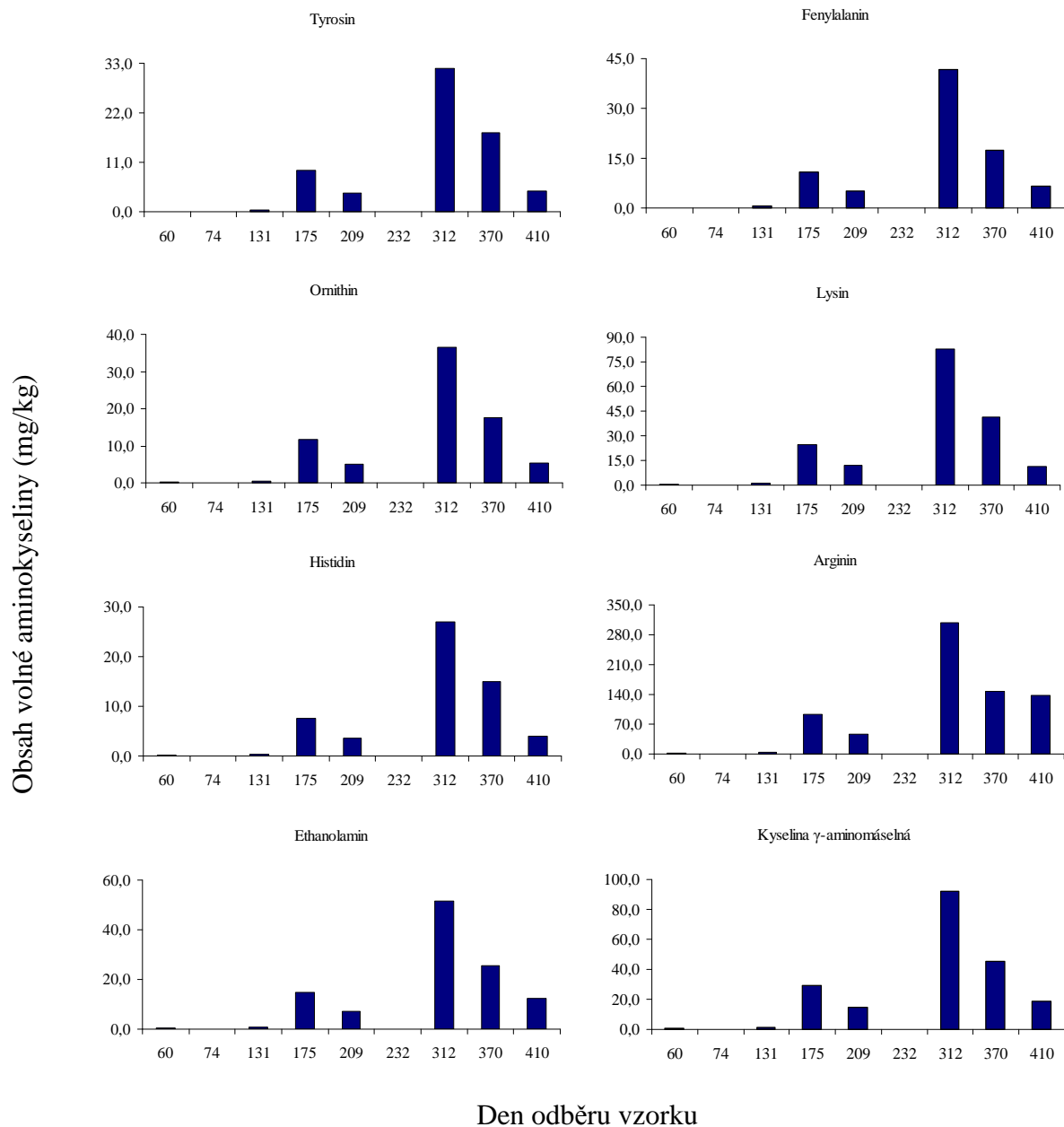
Nejvyšší zaznamenané množství volných AMK bylo během 312. dnu odběru vzorku, kdy bylo víno ponecháno zrání. U asparaginu a glutaminu bylo nejvyšší množství zaznamenáno 175. den odběru vzorku, kdy bylo víno podruhé stočeno a nebylo ještě zfiltrováno.

Graf č. P IX/22: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin a leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Müller Thurgau



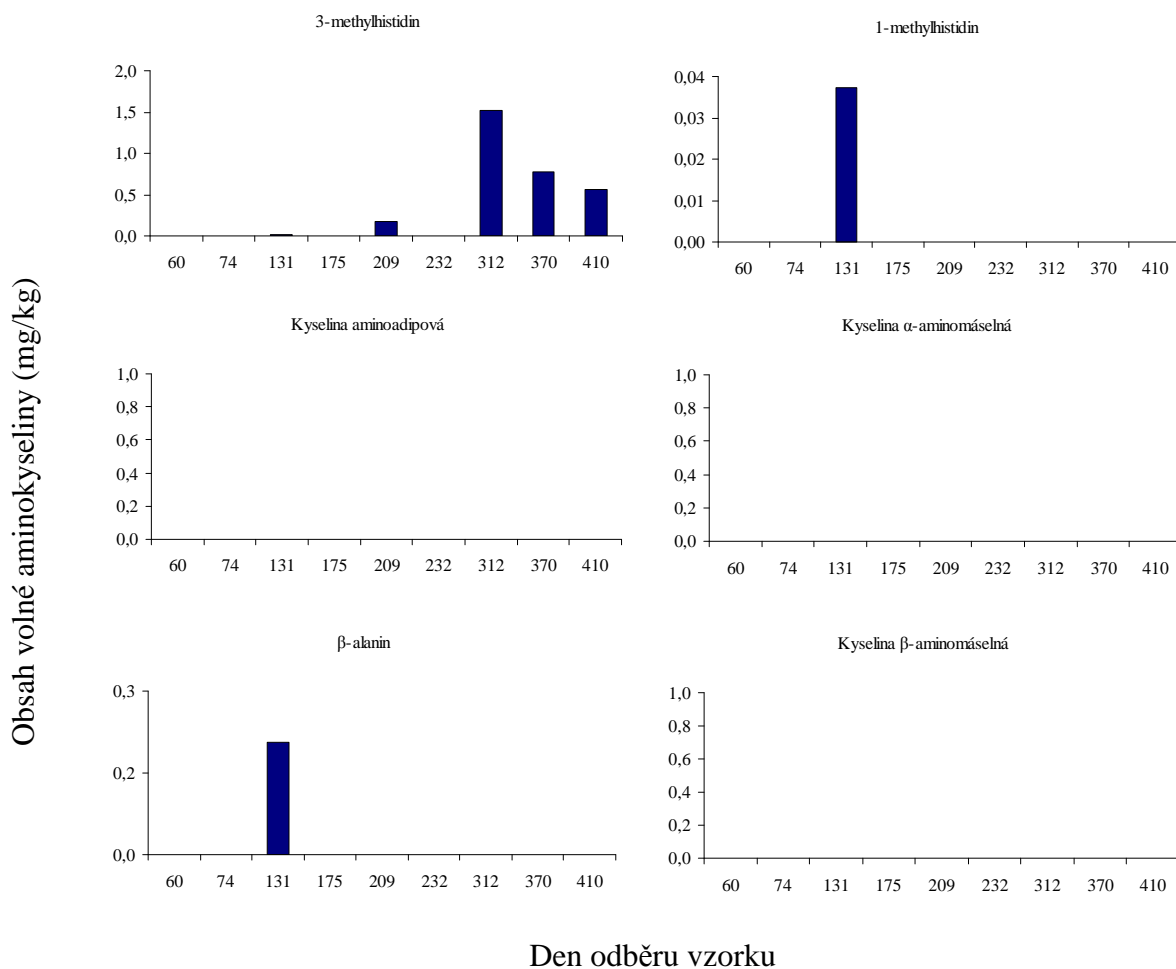
Nejvyšší zaznamenané množství volných AMK bylo během 312. dnu odběru vzorku, kdy bylo zfiltrované víno ponecháno zrání.

Graf č. P IX/23: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Müller Thurgau



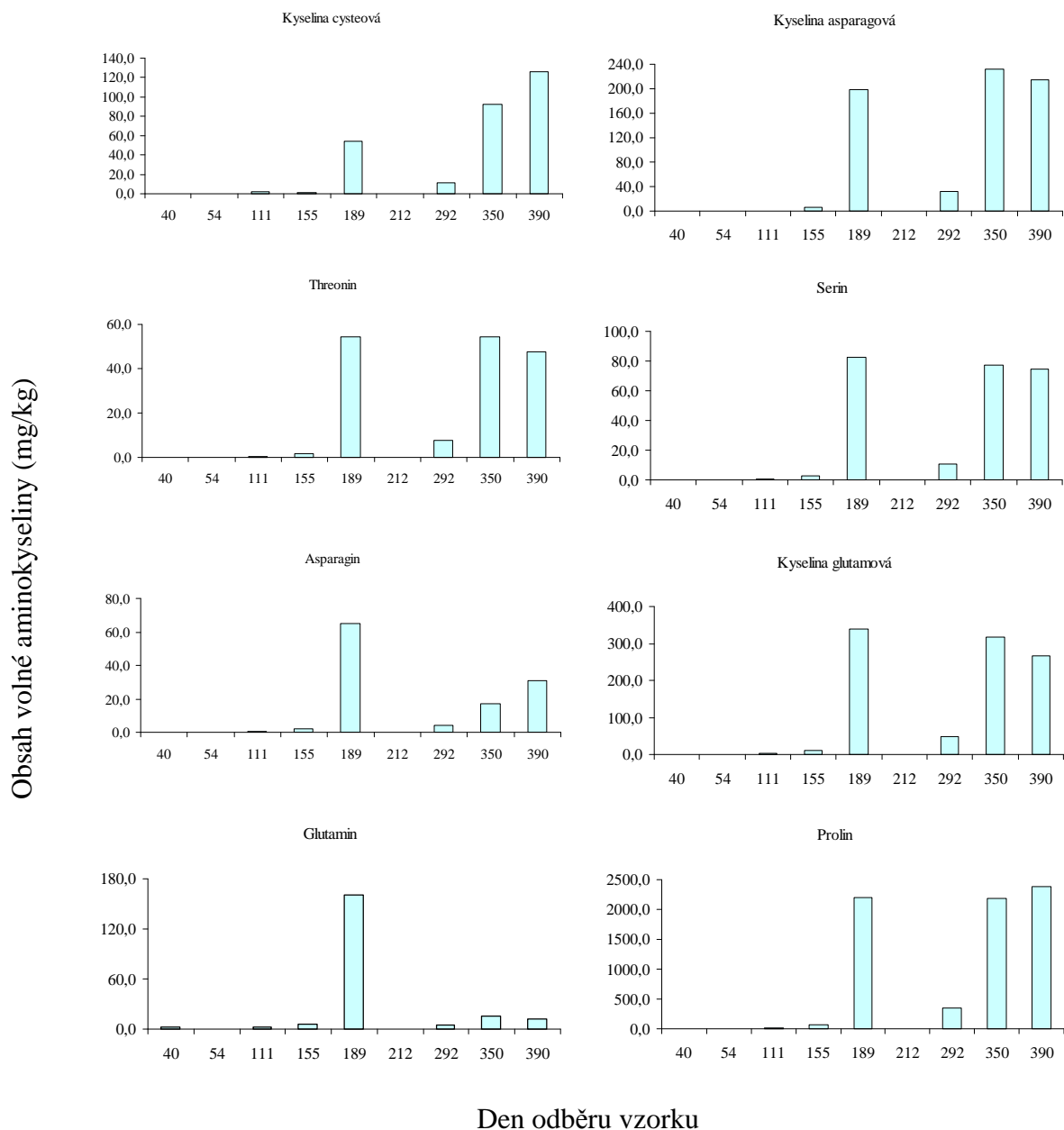
Nejvyšší zaznamenané množství volných AMK bylo během 312. dnu odběru vzorku, kdy bylo zfiltrované víno ponecháno zrání.

Graf č. P IX/24: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Müller Thurgau



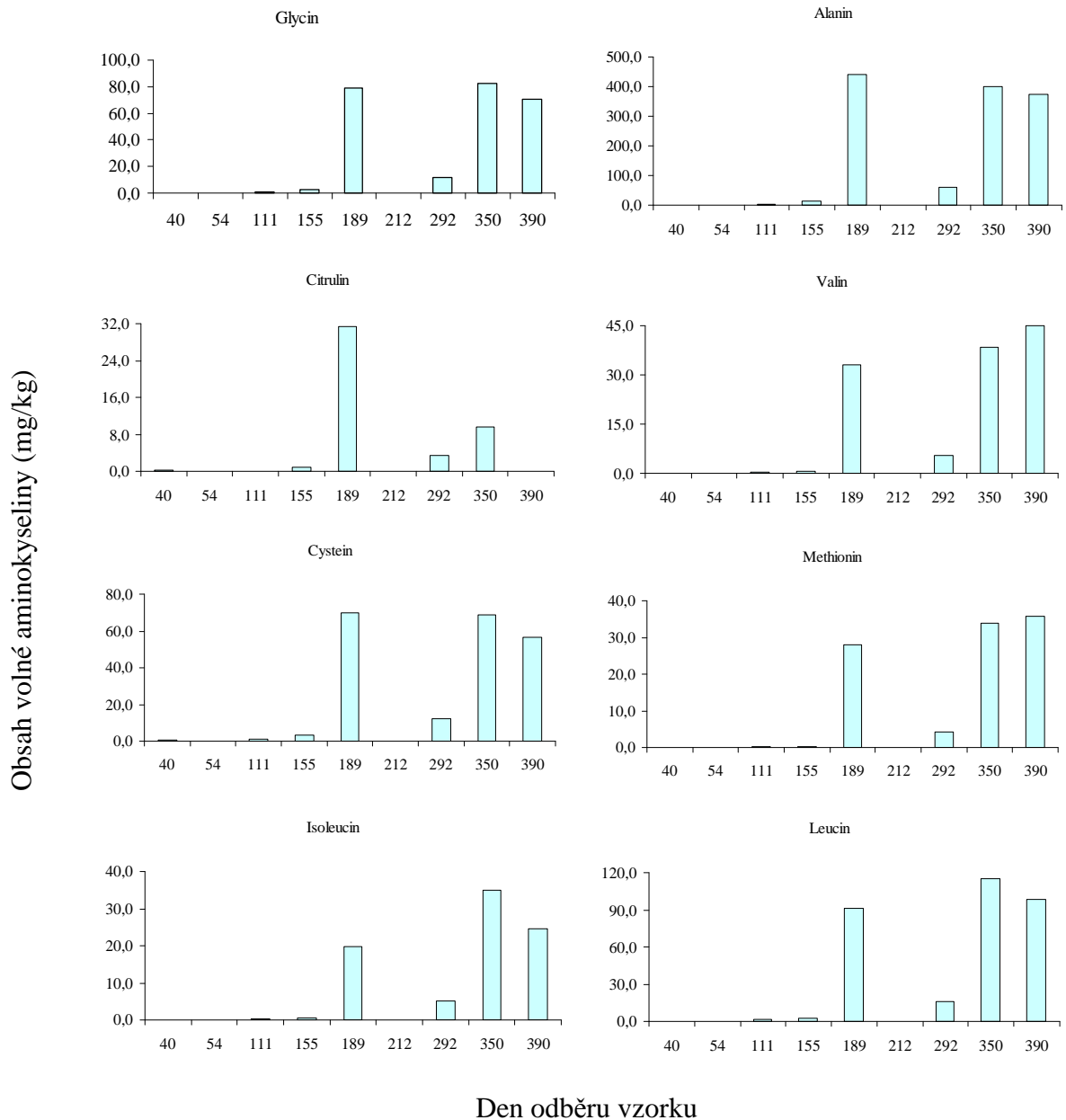
U volné aminokyseliny 3 – metylhistidinu bylo nejvyšší množství detekováno 312. den odběru vzorku, kdy bylo zfiltrované víno ponecháno zrání. Jediné zaznamenané množství 1 – metylhistidinu a β – alaninu bylo 131. den odběru vzorku, kdy bylo víno čířeno a předcházelo mu 2. stáčení. Množství kyseliny β – aminomáselné, α – aminomáselné a kyseliny aminoadipové nebylo detekováno.

Graf č. P IX/25: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Veltlínské zelené



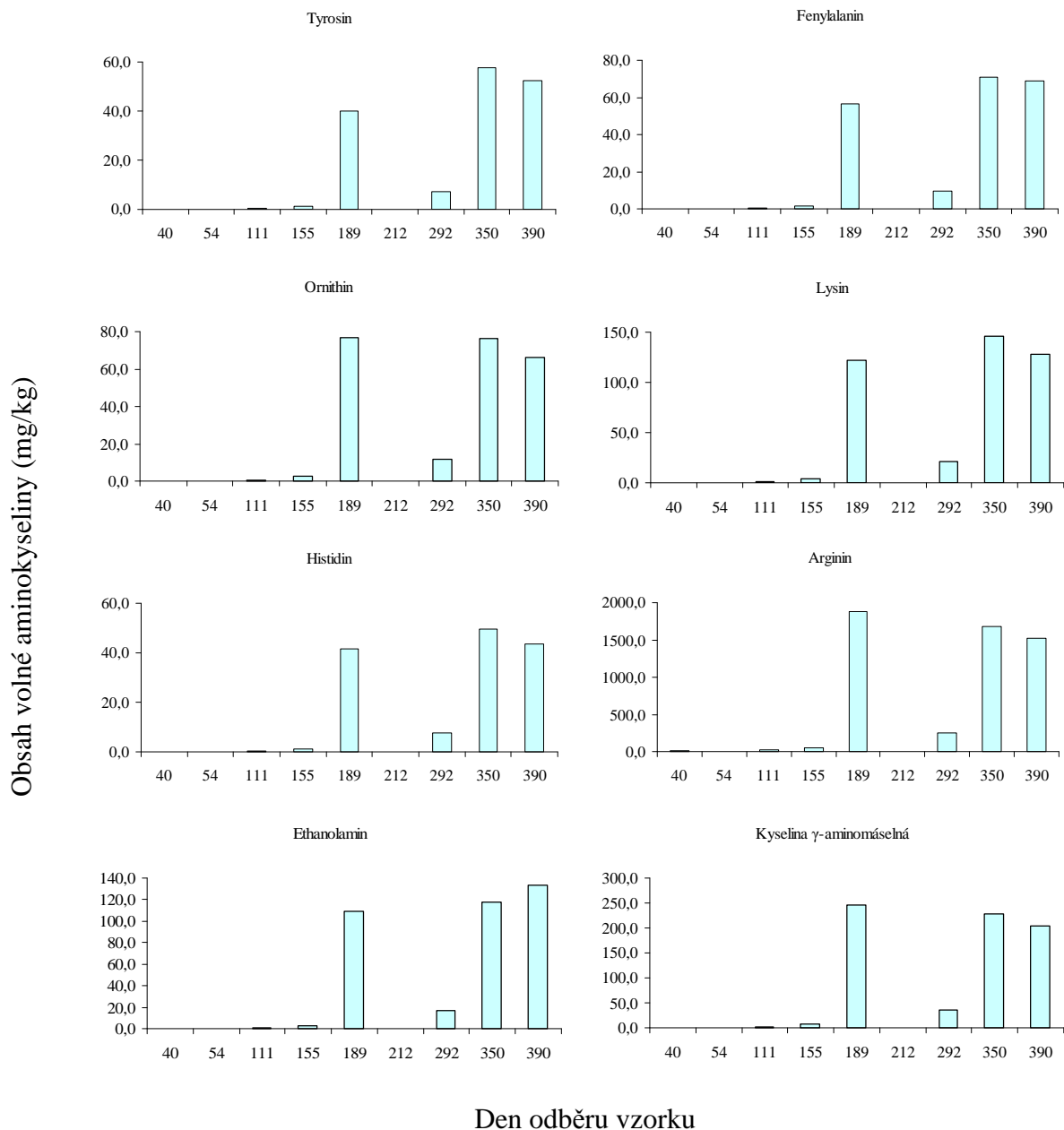
Nejvyšší zaznamenané množství volných AMK bylo 189. den odběru vzorku, kdy je víno ponecháno zrání v nerezových tancích. 292. den odběru vzorku dochází k poklesu a 350. den odběru vzorku je opět množství zvýšeno a toto množství je stejné i 390. den odběru vzorku (kromě glutaminu a asparaginu, kde je stále nejvyšší množství 189. den odběru vzorku). Z uvedených volných AMK má největší množství prolin (2000 mg/kg).

Graf č. P IX/26: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Veltlínské zelené



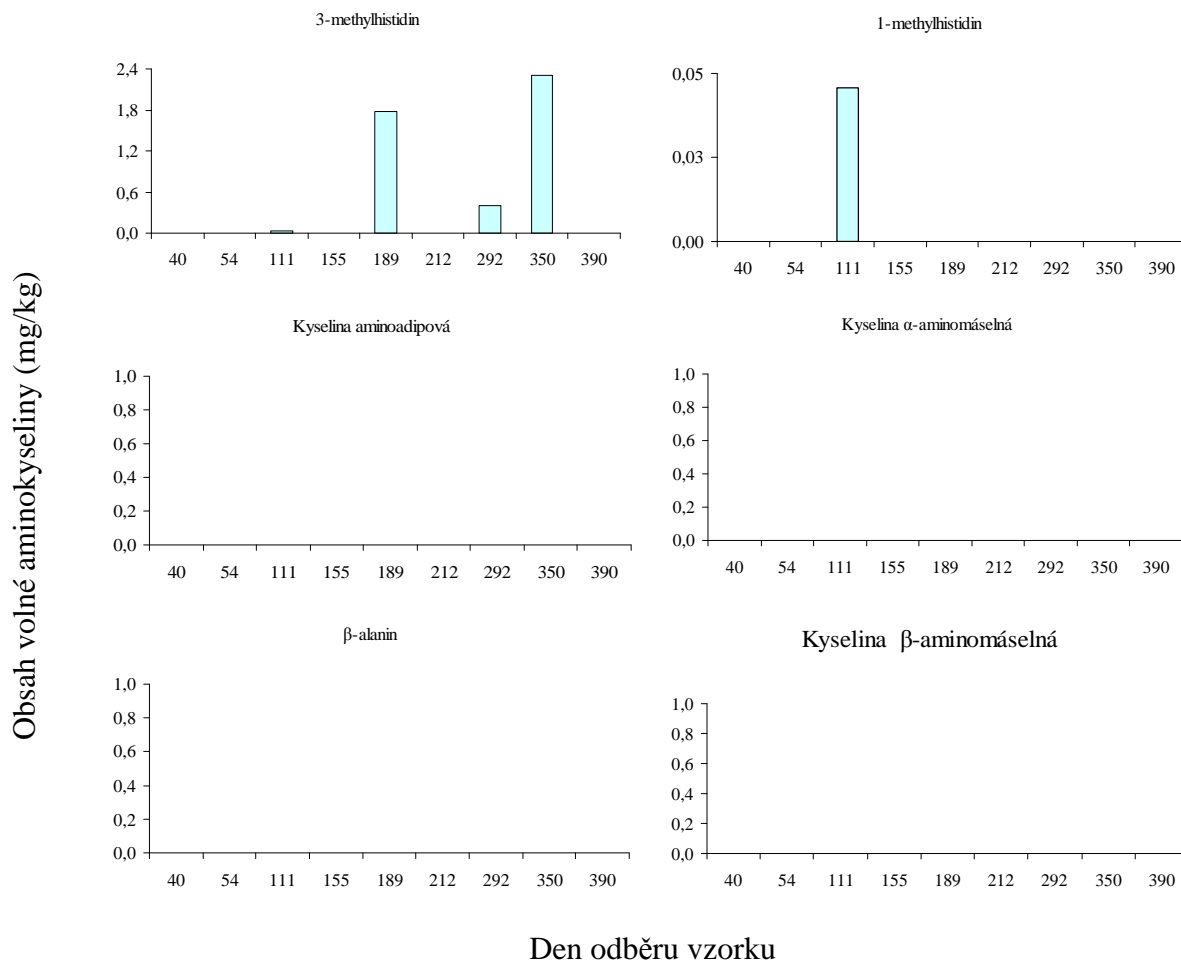
Nejvyšší zaznamenané množství volných AMK bylo 189. den odběru vzorku, kdy je víno ponecháno zrání v nerezových tancích. 292. den odběru vzorku dochází k poklesu a 350. den odběru vzorku je opět množství zvýšeno a toto množství je stejné i 390. den odběru vzorku (kromě citrulinu, kde je stále nejvyšší množství 189. den odběru vzorku). Z uvedených volných AMK má největší množství alanin (400 mg/kg).

Graf č. P IX/27: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Veltlínské zelené



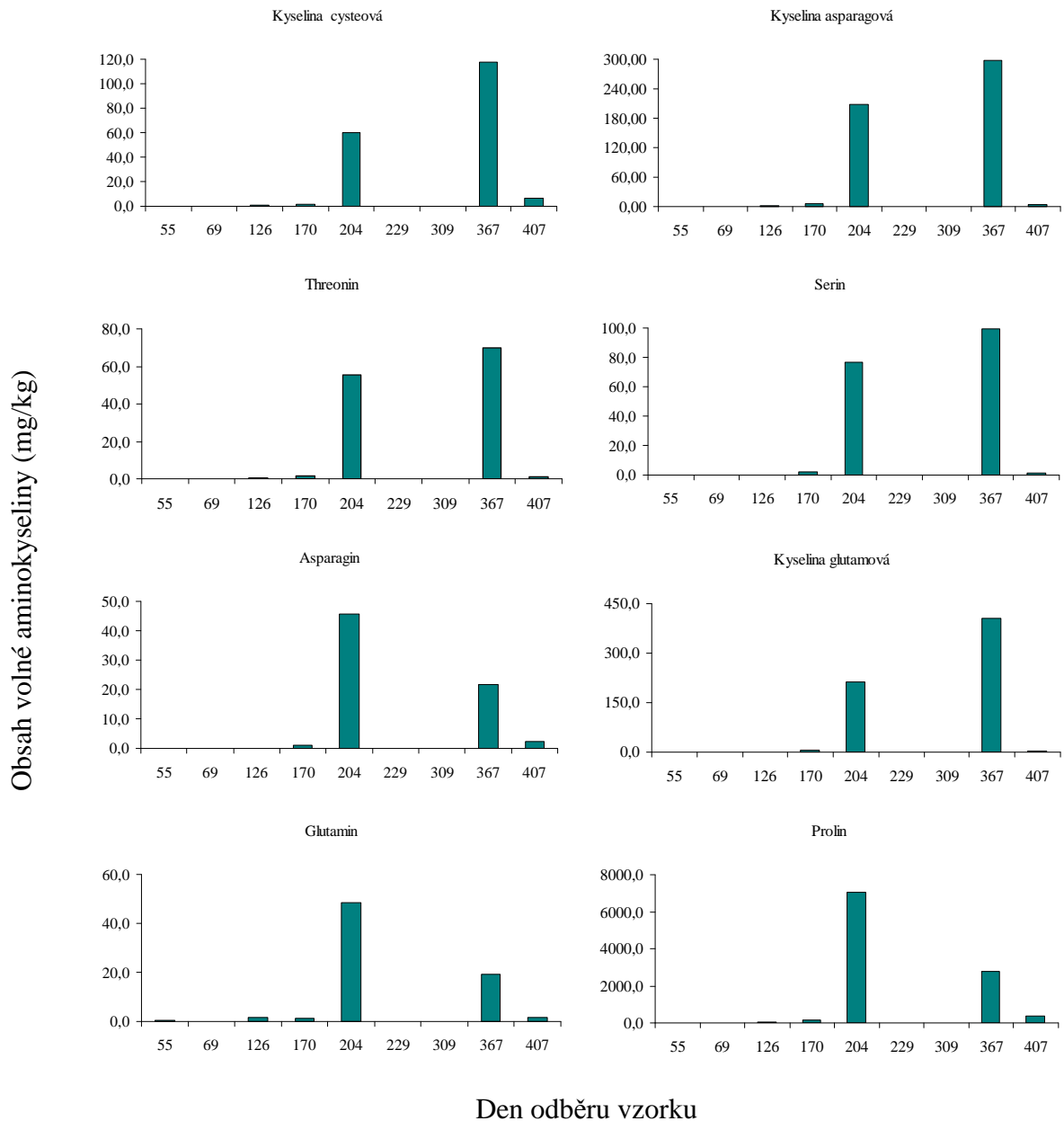
Nejvyšší zaznamenané množství volných AMK bylo 189. den odběru vzorku, kdy je víno ponecháno zrání v nerezových tancích. 292. den odběru vzorku dochází k poklesu a 350. den odběru vzorku je opět množství zvýšeno a toto množství je stejné i 390. den odběru vzorku. Z uvedených volných AMK má největší množství arginin (1900 mg/kg).

Graf č. P IX/28: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Veltlínské zelené



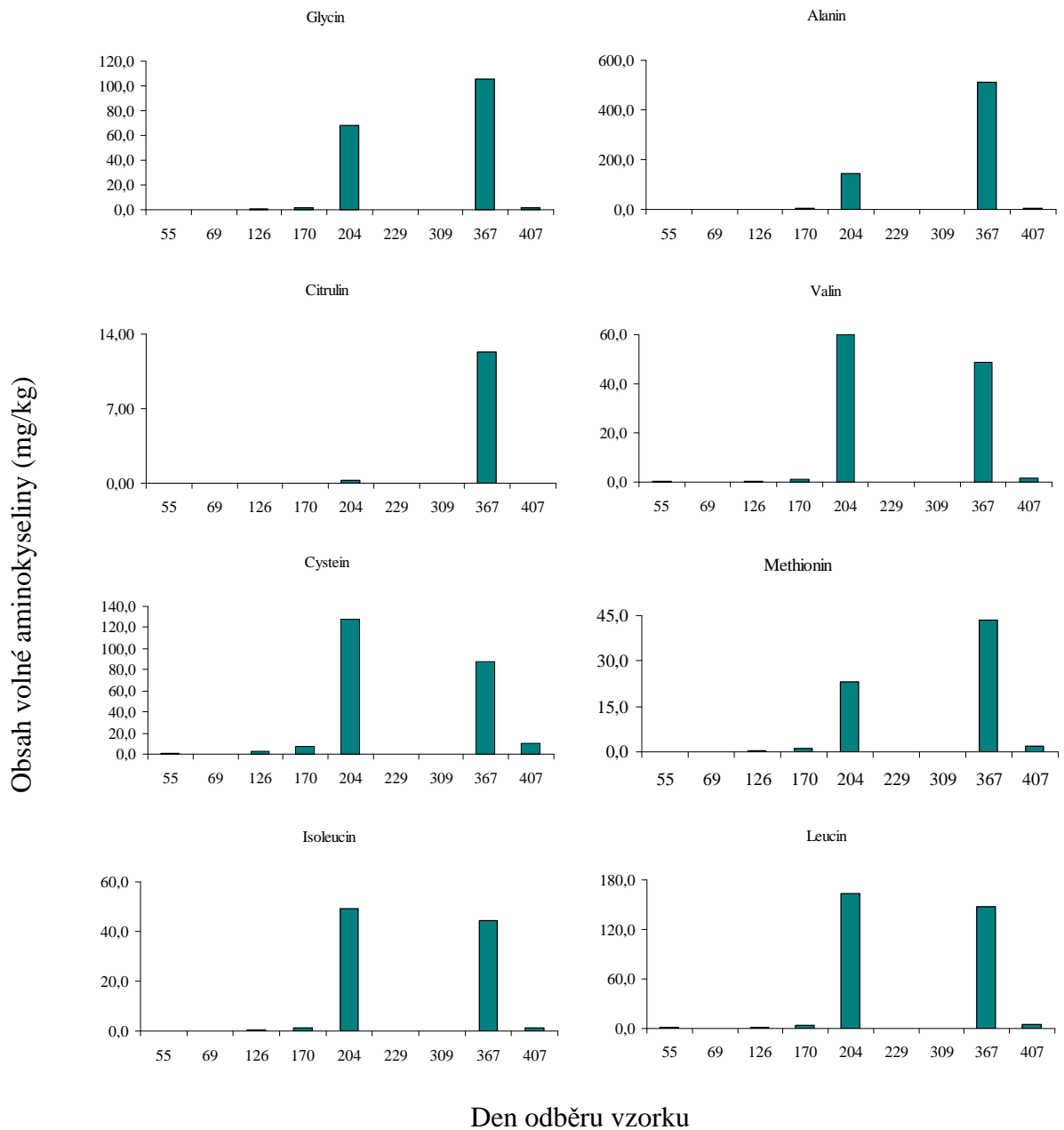
U 3 – metylhistidinu byla první detekce zaznamenána 189. den odběru vzorku, 292. den odběru vzorku klesla a 350. den odběru vzorku opět stoupla. 1 – metylhistidin byl detekován pouze ve 111. dnu odběru vzorku, kdy skončilo alkoholové kvašení a víno bylo stočeno. Kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin a kyselina β – aminomáselná nebyly detekovány.

Graf č. P IX/29: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské šedé



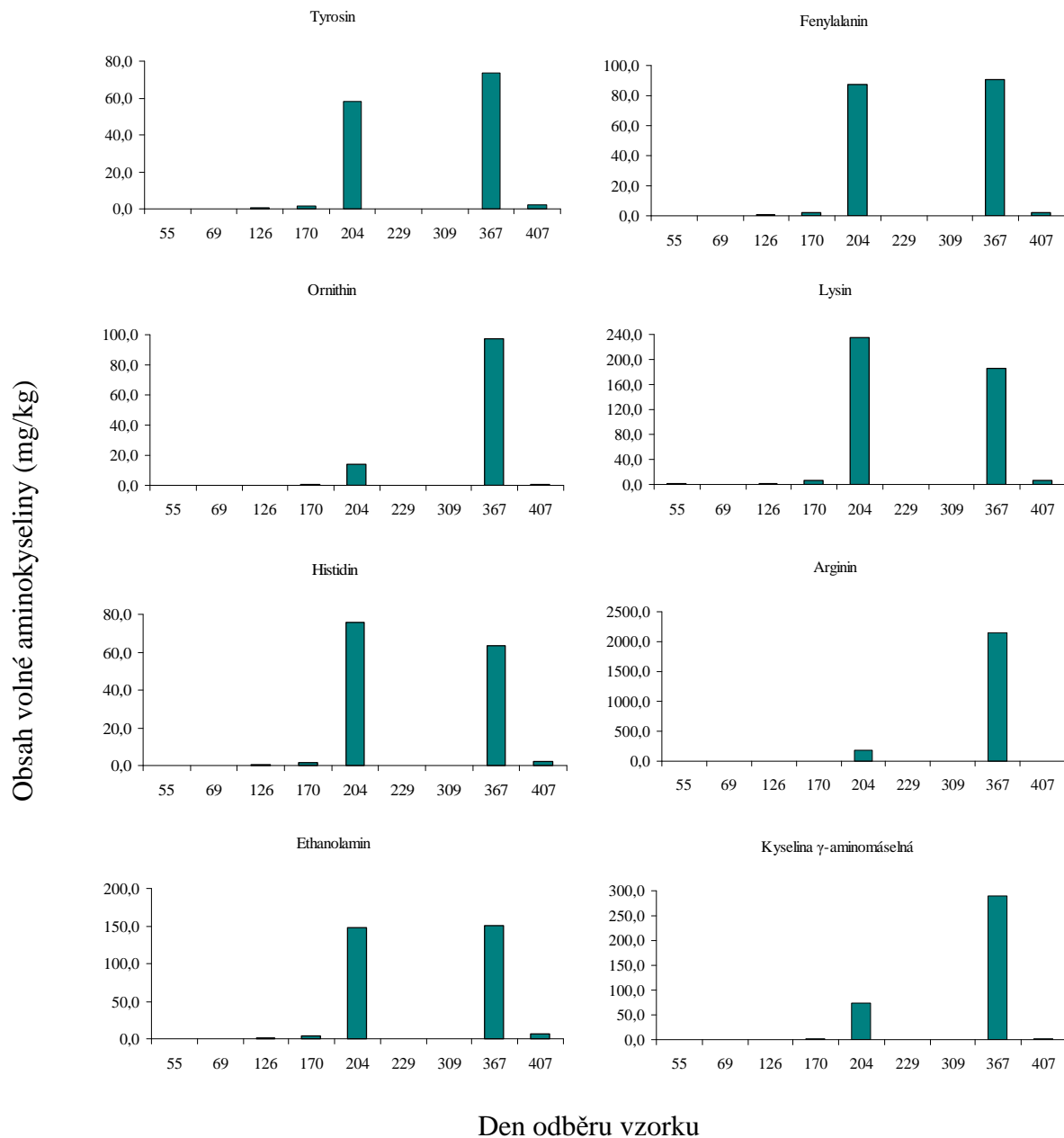
Detekované množství volných aminokyselin bylo 204. den odběru vzorku, kdy u kyseliny cysteové, kyseliny asparagové, treoninu, serinu a kyseliny glutamové došlo 367. den odběru vzorku ke zvýšení obsahu a u asparaginu, glutaminu a prolin naopak obsah klesnul. Obě dvě množství byla zjištěna ve zrací fázi vína.

Graf č. P IX/30: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské šedé



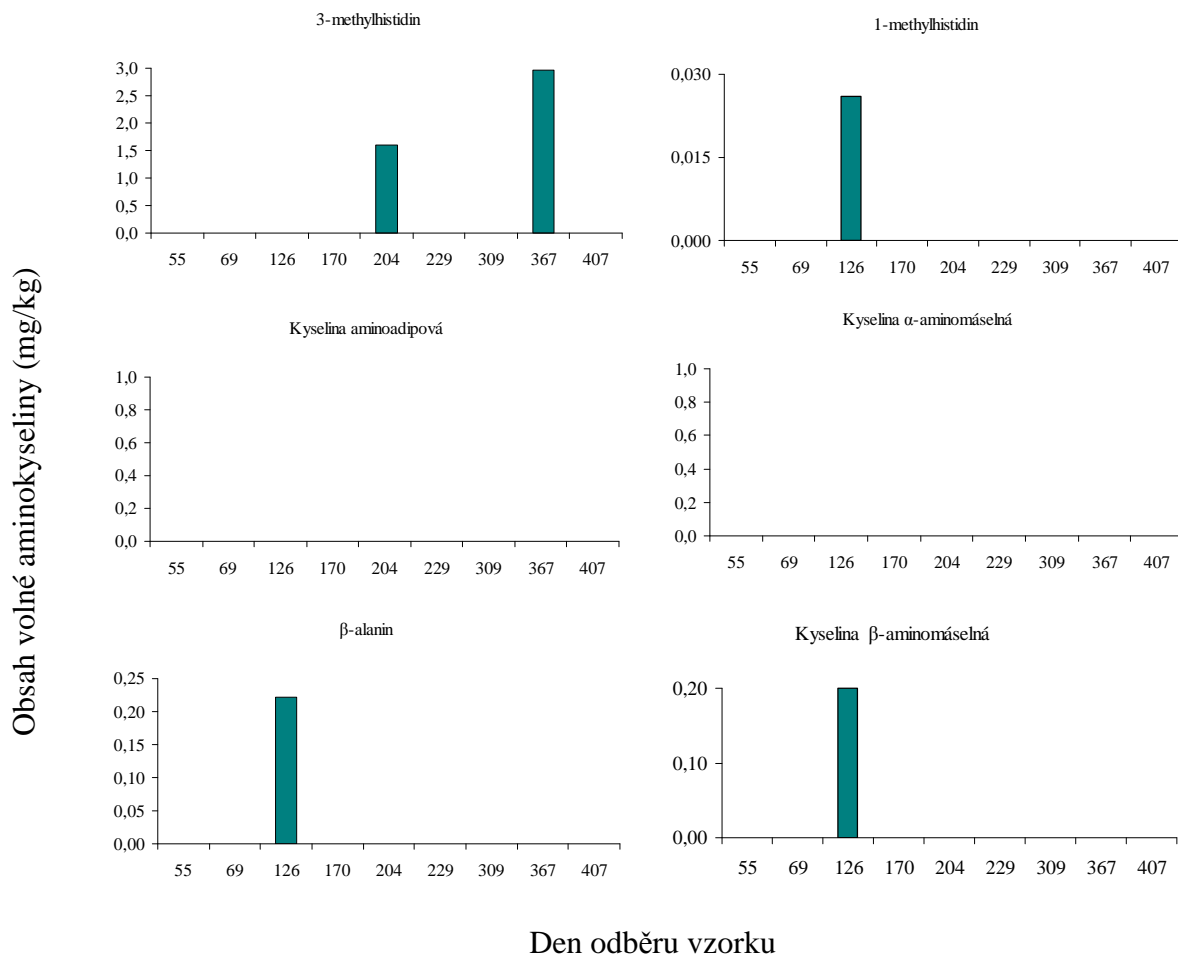
První zaznamenané množství uvedených volných AMK bylo 204. den odběru vzorku. 367. den odběru vzorku došlo ke zvýšení obsahu u glycinu, alaninu, citrulinu a metioninu. Naopak pokles v ten samý den byl detekován u leucinu, izoleucinu, cysteinu a valinu. Obě dvě množství byla zjištěna ve zrání fázi vína.

Graf č. P IX/31: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské šedé



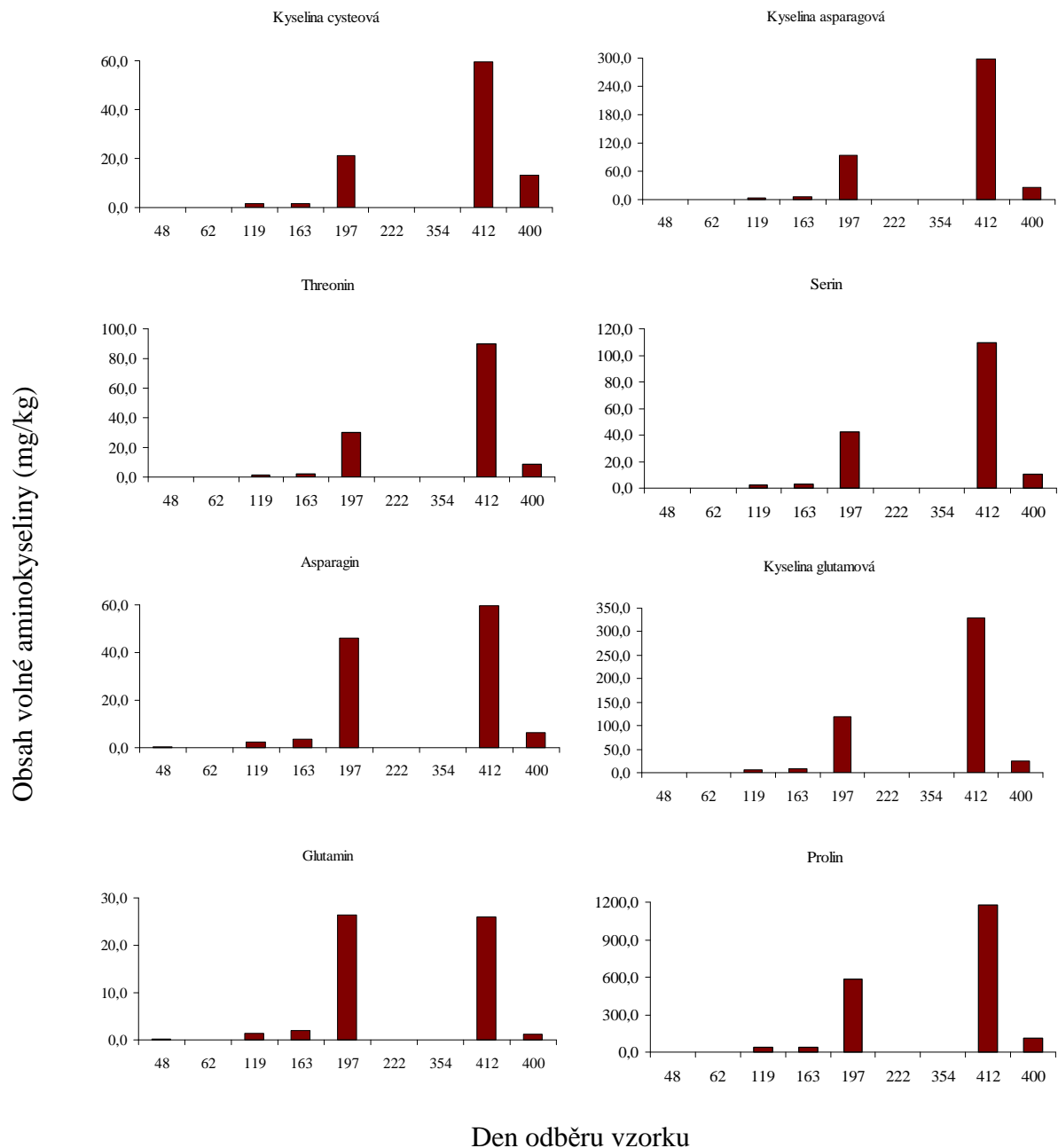
První zaznamenané množství uvedených volných AMK bylo 204. den odběru vzorku. 367. den odběru vzorku došlo ke zvýšení obsahu u tyrozinu, fenylalaninu, ornitinu, argininu, etanolaminu a kyseliny γ – aminomáselné. Naopak pokles v ten samý den byl detekován u histidinu a lyzinu. Obě dvě množství byla zjištěna ve zračí fázi vína.

Graf č. P IX/32: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Rulandské šedé



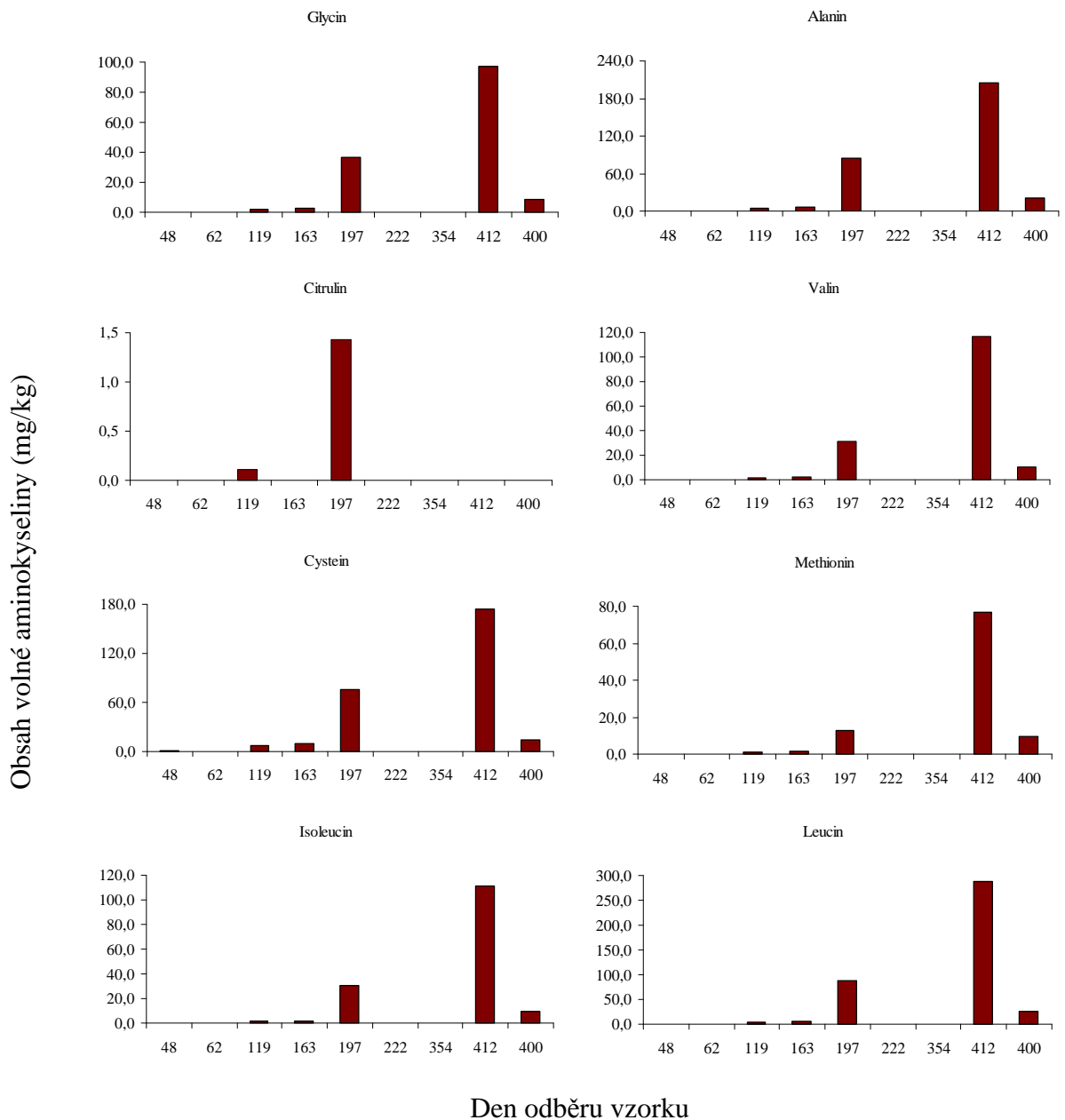
Obsah kyseliny aminoadipové a kyseliny α – aminomáselné nebyl zjištěn. U 1 – metylhistidinu, β – alaninu a kyseliny β – aminomáselné bylo zjištěno množství pouze ve 126. dnu odběru vzorku, kdy bylo víno stočeno, ale ještě nebylo zfiltrováno. U 3 – metylhistidinu bylo zaznamenáno množství 204. den odběru vzorku, které se pak zvýšilo 367. den odběru vzorku. V těchto obou dnech již víno pouze zraje.

Graf č. P IX/33: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Ryzlink vlašský



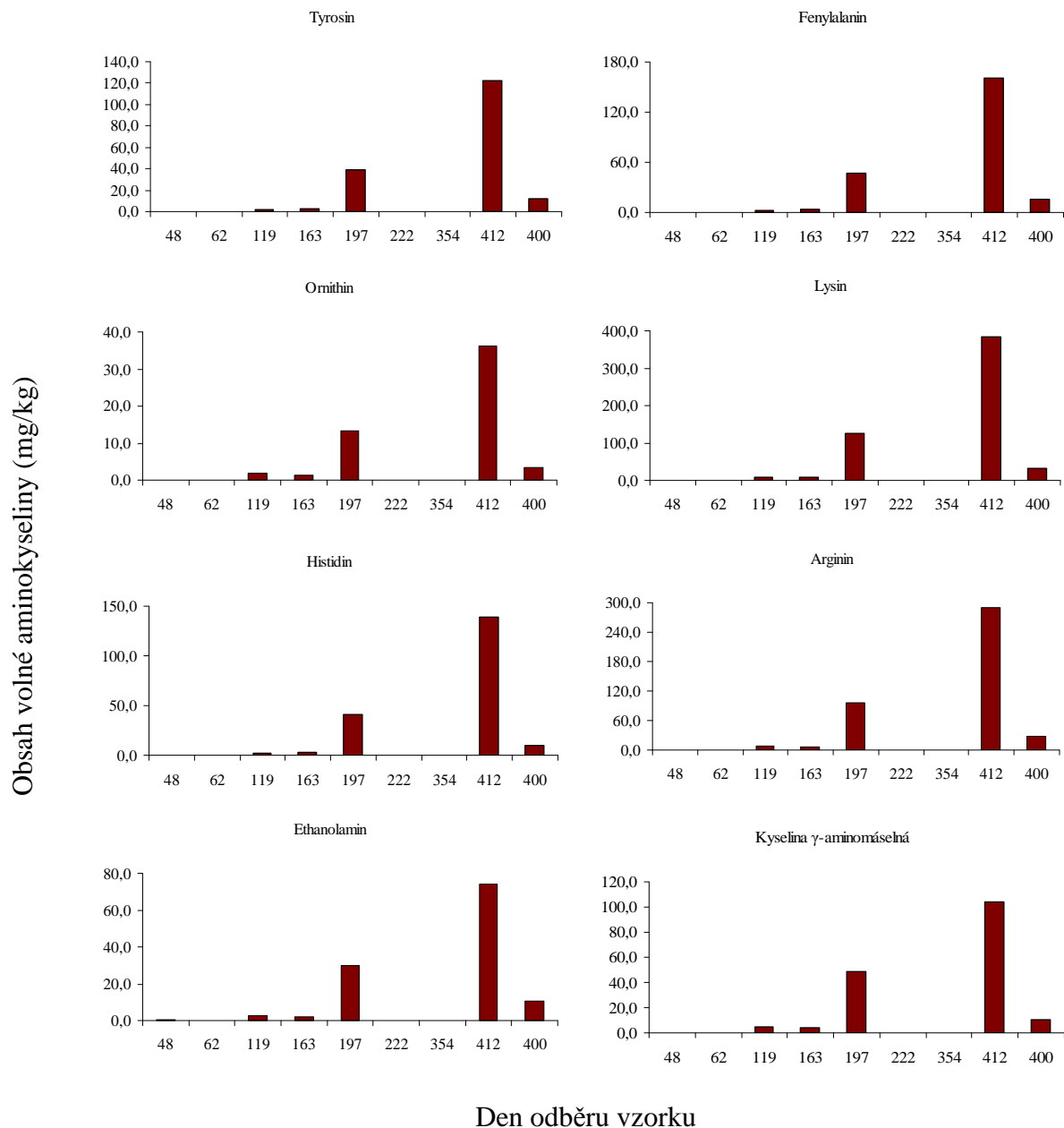
První detekované množství bylo zjištěno 119. den odběru vzorku, kdy víno ještě není zfiltrováno. Následovalo zvýšení obsahu 197. den odběru vzorku a 412. den odběru vzorku, kdy už víno zraje. Po 412. dnu následoval pokles obsahu volných aminokyselin.

Graf č. P IX/34: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Ryzlink vlašský



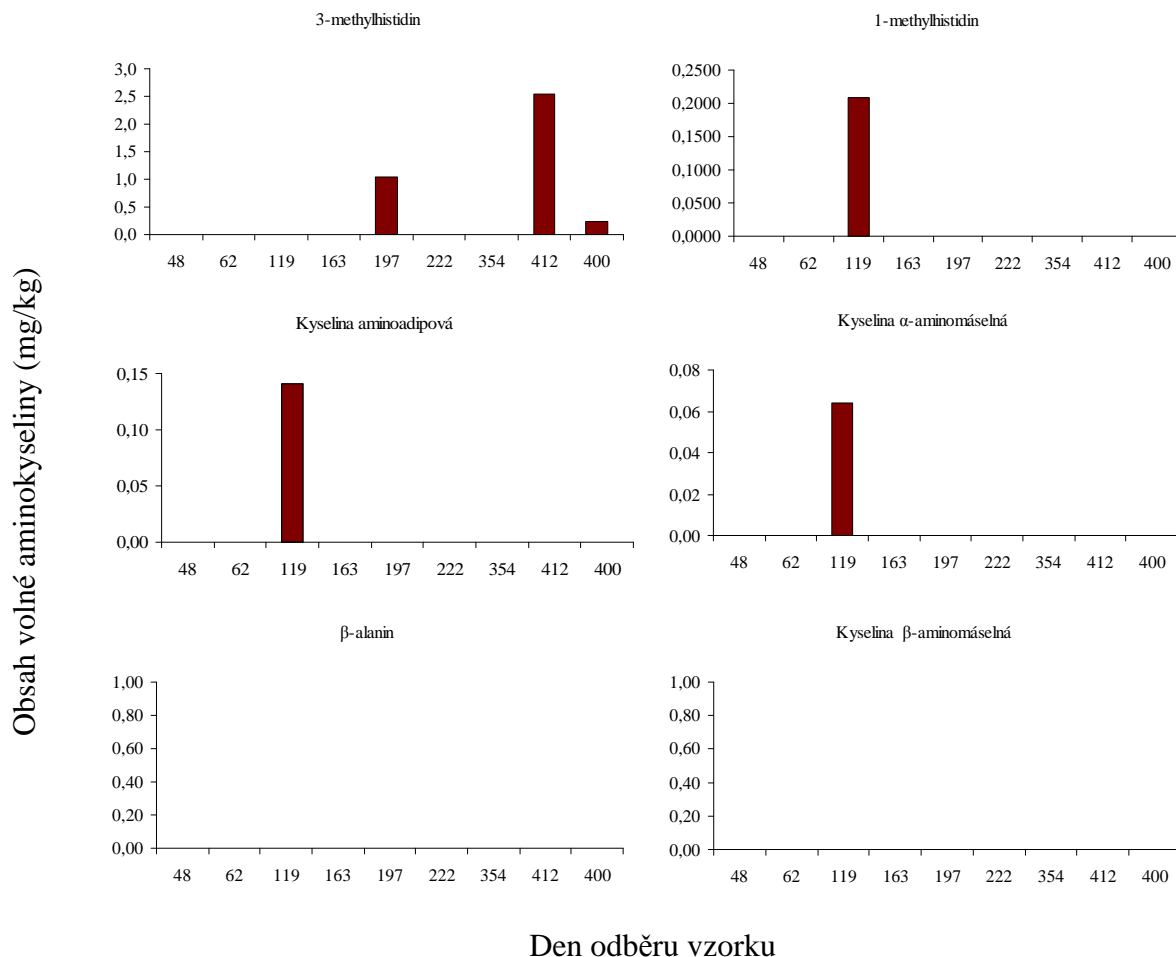
První detekované množství bylo zjištěno 119. den odběru vzorku, kdy víno ještě není zfiltrováno. Následovalo zvýšení obsahu 197. den odběru vzorku a 412. den odběru vzorku, kdy už víno zraje. Po 412. dnu následoval pokles obsahu volných aminokyselin.

Graf č. P IX/35: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Ryzlink vlašský



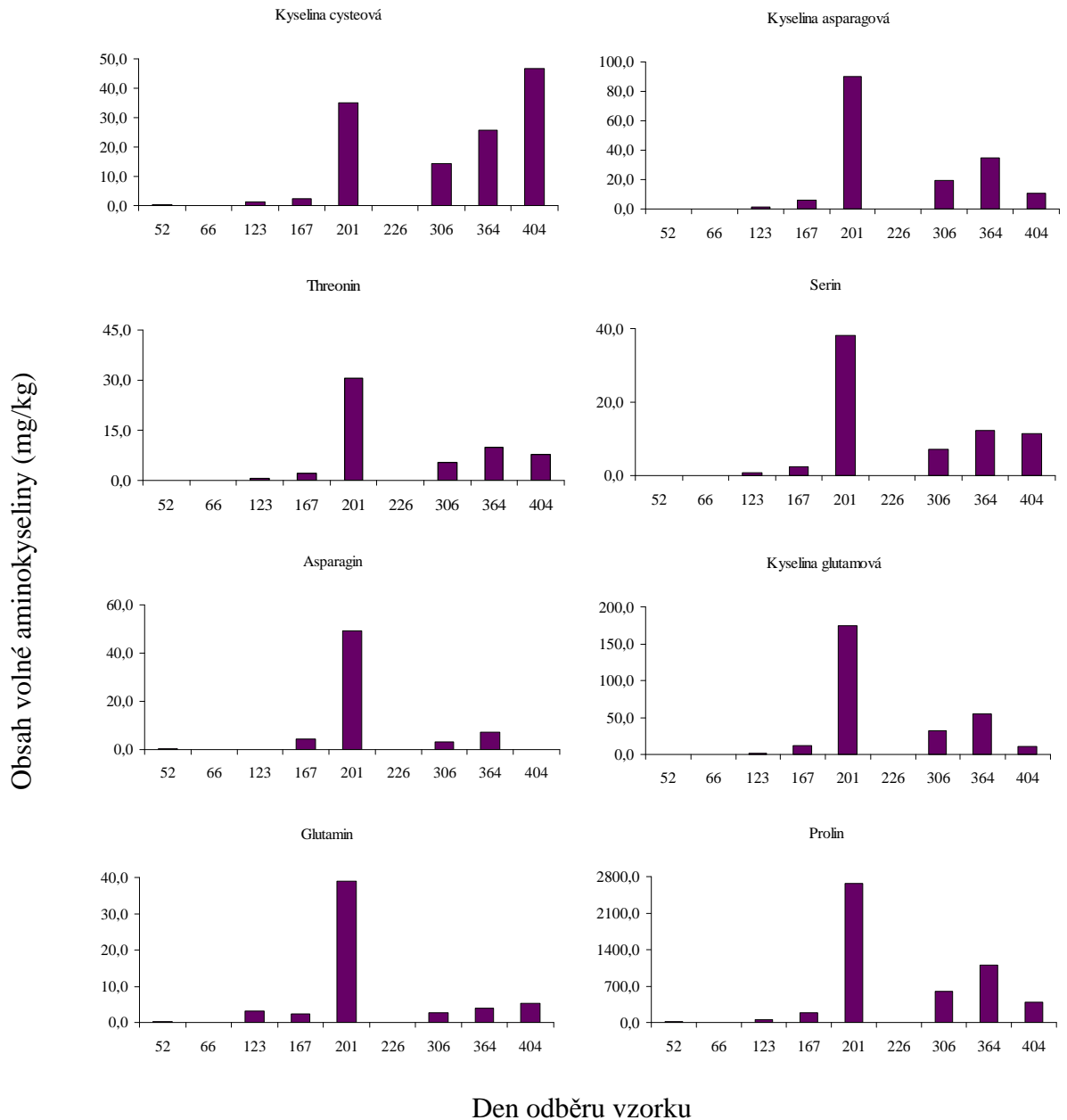
První detekované množství bylo zjištěno 119. den odběru vzorku, kdy víno ještě není zfiltrováno. Následovalo zvýšení obsahu 197. den odběru vzorku a 412. den odběru vzorku, kdy už víno zraje. Po 412. dnu následoval pokles obsahu volných aminokyselin.

Graf č. P IX/36: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína odrůdy Ryzlink vlašský



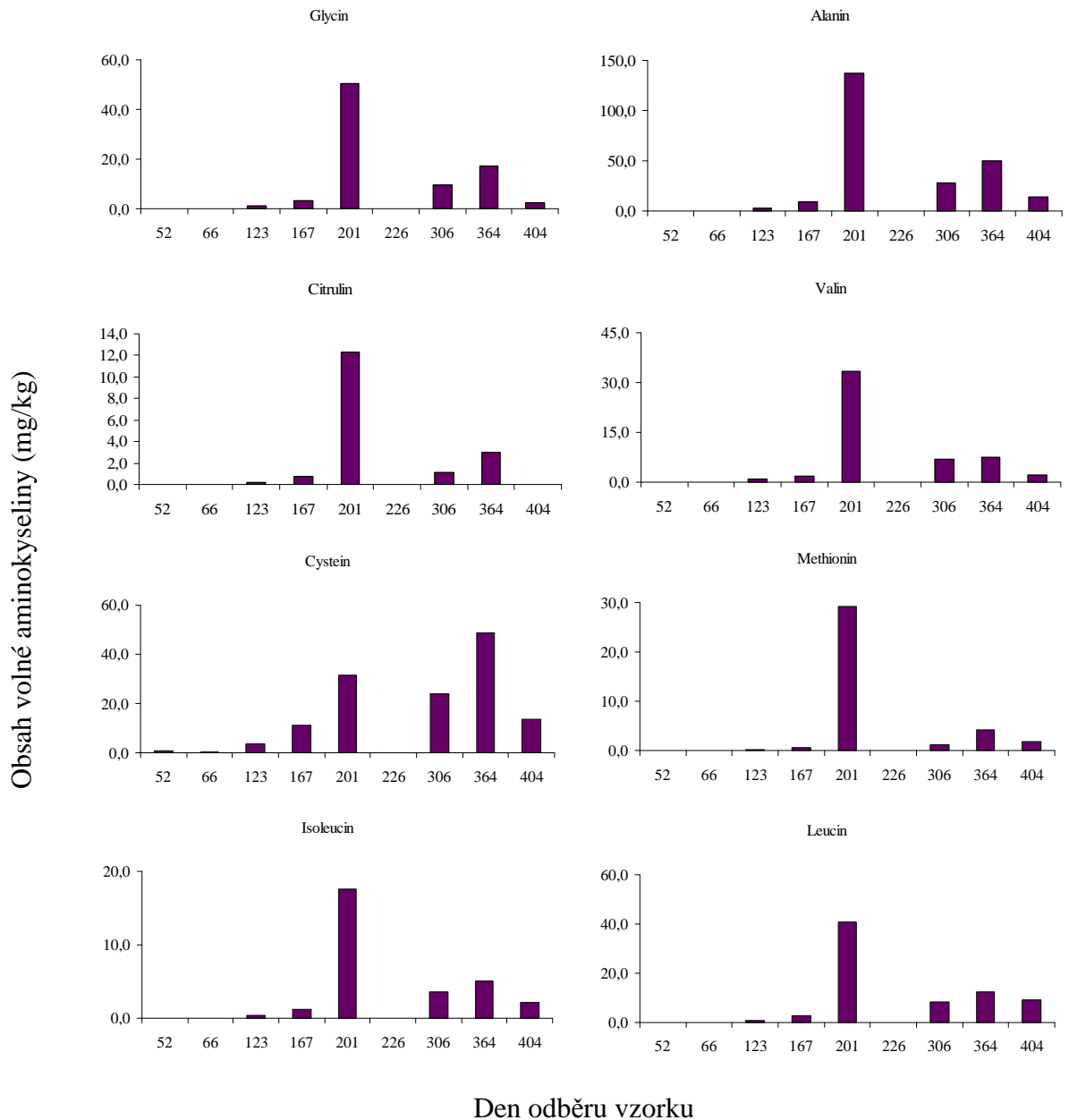
U volných AMK 1 – metylhistidinu, kyselina aminoadipové a kyseliny α – aminomáselné bylo jediné množství detekováno 119. den odběru vzorku. Víno v této době je již podruhé stočeno a nefiltrováno. První detekované množství 3 – metylhistidinu bylo zjištěno 119. den odběru vzorku, kdy víno ještě není zfiltrováno. Následovalo zvýšení obsahu 197. den odběru vzorku a 412. den odběru vzorku, kdy už víno zraje. Po 412. dnu následoval pokles 3 – metylhistidinu. Sloučeniny β – alanin a kyselina β – aminomáselná nebyly detekovány.

Graf č. P IX/37: Obsah volných AMK (kyselina cysteová, kyselina asparagová, treonin, serin, asparagin, kyselina glutamová, glutamin, prolin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína z odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka



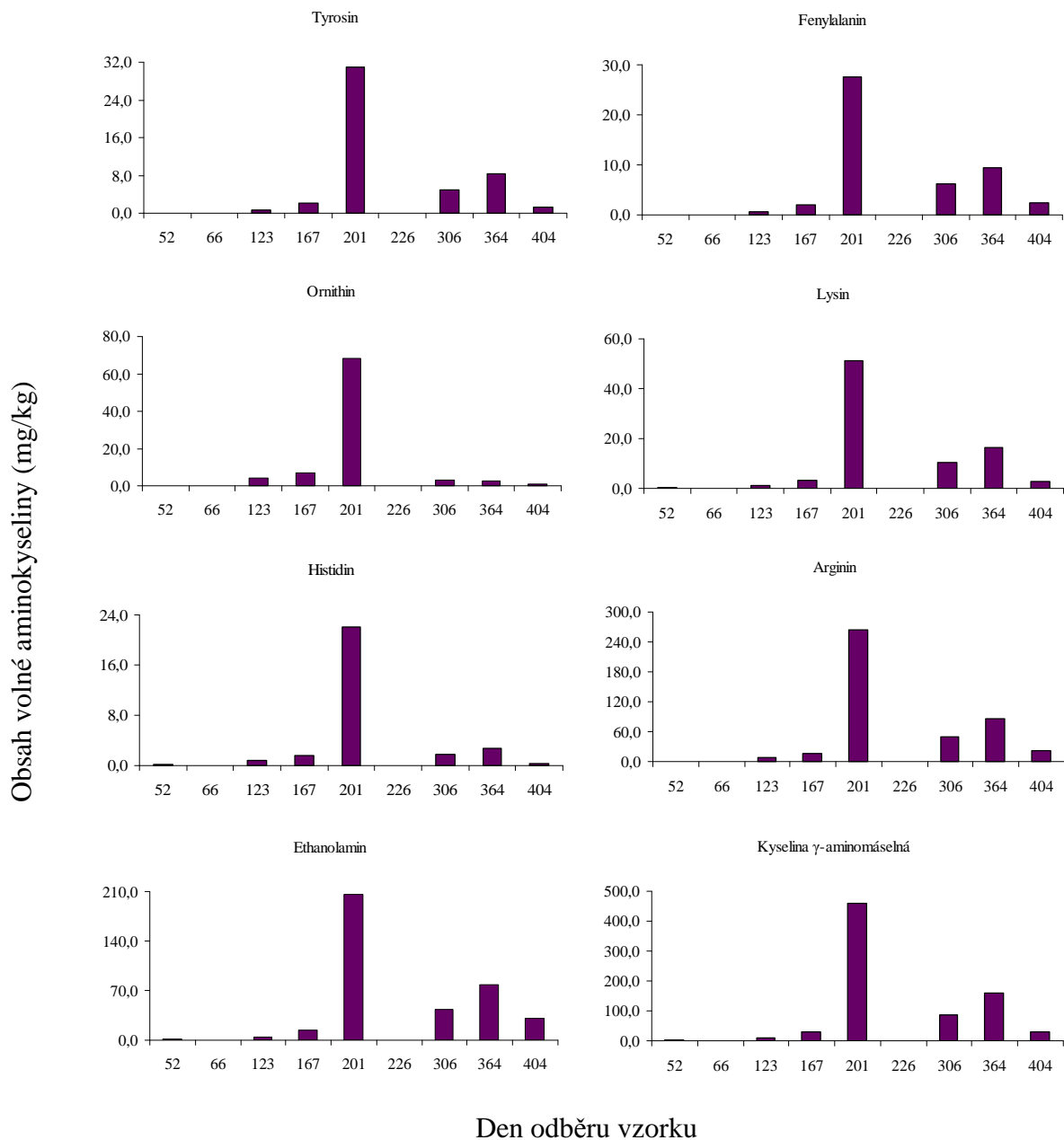
Nejvyšší detekované množství bylo 201. den odběru vzorku, kdy víno již zraje. Po 201. dnu následoval pokles volné aminokyseliny. Pouze u kyseliny cysteové 404. den odběru vzorku došlo k nejvyššímu zvýšení obsahu.

Graf č. P IX/38: Obsah volných AMK (glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, izoleucin, leucin) v mg/kg vína v průběhu zrání vína z odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka



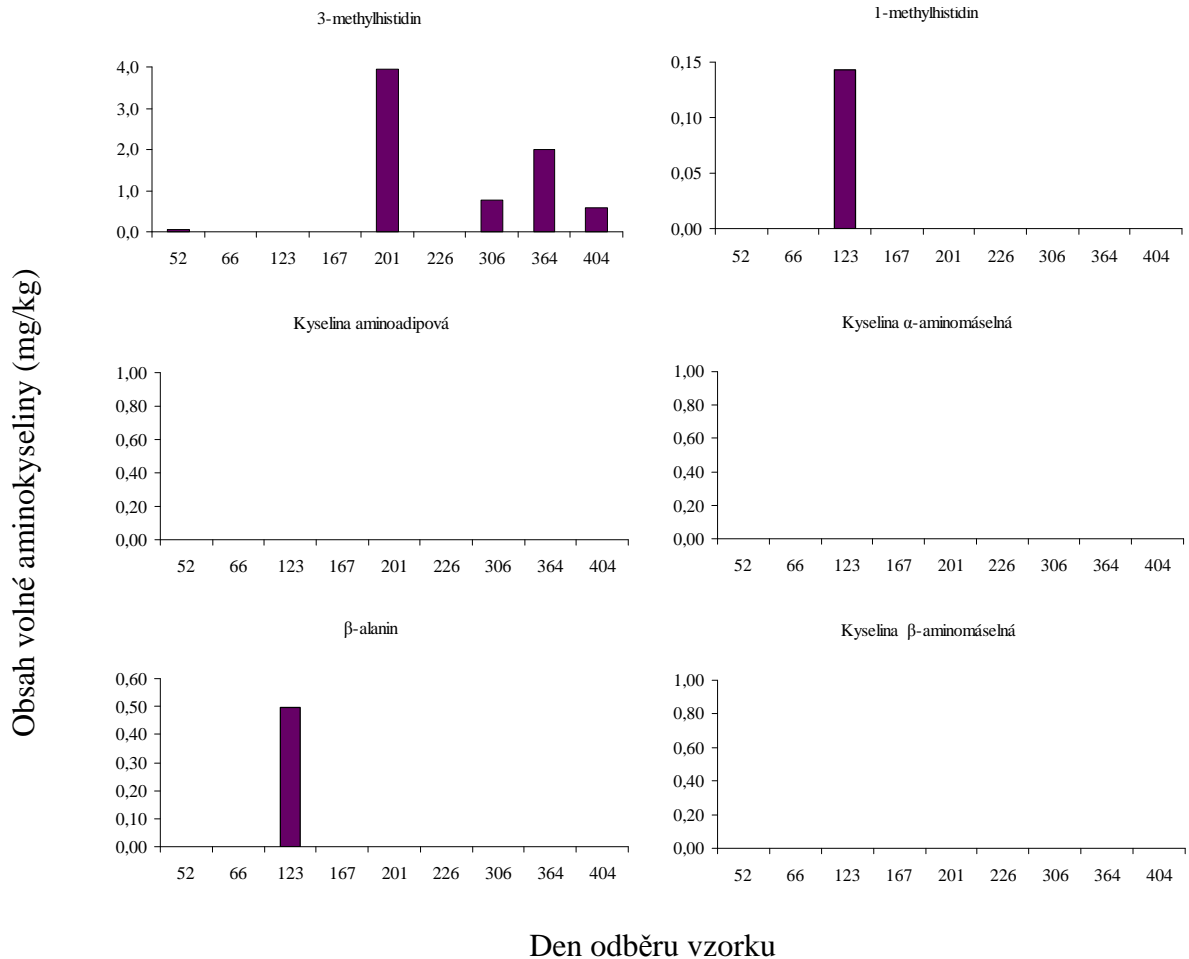
Nejvyšší detekované množství bylo 201. den odběru vzorku, kdy víno již zraje. Po 201. dnu následoval pokles volné aminokyseliny. Pouze u cysteinu 364. den odběru vzorku došlo k nejvyššímu zvýšení obsahu.

Graf č. P IX/39: Obsah volných AMK (tyrozin, fenylalanin, ornitin, lyzin, histidin, arginin, etanolamin, kyselina γ – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína z odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka



Nejvyšší detekované množství bylo 201. den odběru vzorku, kdy víno již zraje. Po 201. dnu následoval pokles volné aminokyseliny.

Graf č. P IX/40: Obsah volných AMK (3 – metylhistidin, 1 – metylhistidin, kyselina aminoadipová, kyselina α – aminomáselná, β – alanin, kyselina β – aminomáselná) v mg/kg vína v průběhu zrání vína z odrůd Modrý Portugal, Svatovavřínecké a Frankovka



Nejvyšší detekované množství 3 – metylhistidinu bylo 201. den odběru vzorku, kdy víno již zraje. Po 201. dnu následoval pokles volné aminokyseliny. Jediné detekované množství β – alaninu a 1 – metylhistidinu bylo 123. den odběru vzorku, kdy je víno podruhé stočeno a není ještě zfiltrováno. Po celou dobu analýzy volných AMK nebyly detekovány kyselina aminoadipová, kyselina β – aminomáselná a kyselina α – aminomáselná.