

Obsah fenolických látek v různých odrůdách révy vinné

Bc. Romana Machovská

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Romana MACHOVSKÁ**
Osobní číslo: **T09663**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Obsah fenolických látek v různých odrůdách révy vinné**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizujte dané odrůdy révy vinné a její fenolická stádia.
2. Popište chemické složení, fenolické látky a třísloviny révy vinné.

II. Praktická část

1. Provedte sběr vzorků daných odrůd révy vinné.
2. Analyzujte jednotlivé odrůdy révy vinné a popište metody použité při stanovování obsahu polyfenolů, antioxidační aktivity.
3. Vyhodnoťte zjištěné výsledky.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 2, OSSIS, Tábor 1999.

[2] DOSTÁL, J. a kol. Biochemie pro bakaláře, MU Brno 2008.

[3] PAVLOUŠEK, P. Encyklopedie révy vinné, Computer Press, a. s., Brno 2008.

[4] IVANOVA, V a kol.. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods, J. Serb. Chem. Soc., 2009, 75, s. 45-59.

[5] JIN, Z.M, a kol. Phenolic Compound Profiles in Berry Skins from Nine Red Wine Grape Cultivars in Northwest China, Molecules, 2009, 14, s. 4923-4935.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Jiří Mlček, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

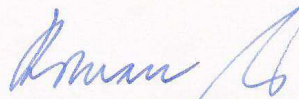
Datum zadání diplomové práce:

6. ledna 2012

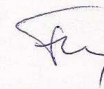
Termín odevzdání diplomové práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 15. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Machovská Romana

Obor: THEVP

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 užit 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 30.března 2012

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 nevyjádřeně 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 přihlídnou k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá obsahem polyfenolických látek ve vybraných odrůdách révy vinné. K analýzám byly použity extrakty ze tří druhů hroznů. Jeden druh byl z bílých hroznů Muškátu moravského a dva další druhy byly z hroznů Burgundy modré a Frankovky. Dále byla stanovena antioxidační a antimikrobiální aktivita extraktů z daných odrůd. Vzor-ky byly hodnoceny pomocí vhodnými metodami, jejími postupy a výpočty byly získány jednotlivé výsledky.

Klíčová slova: fenofáze, polyfenolické látky, třísloviny, antioxidanty, DPPH, činidlo Folin - Ciocalteu, Müller – Hintonův agar

ABSTRACT

Diploma thesis deals with content of polyphenolic substances in selected varieties of grapes. For analysis were used extracts from three kinds of grapes. The first was a cultivar of white grapes of Muškát moravský and the other cultivars were the grapes of Burgunda modrá and Frankovka. Next was determined antioxidant and antimicrobial activity of extract from the mentioned cultivars. The samples were evaluated using appropriate methods, its procedures and calculations were obtained individual results.

Keywords: phenophases, polyphenolic substances, tannins, antioxidants, DPPH, reagent Folin - Ciocalteu, Müller – Hinton agar

Děkuji vedoucímu diplomové práce Ing. Jiřímu Mlčkovi Ph.D. za odborné vedení a velmi užitečnou pomoc při vypracování této diplomové práce, Ing. Fojtíkové za zprostředkování provedení látkového rozboru extraktů z hroznů k mé diplomové práci.

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

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 VINNÁ RÉVA	13
1.1 CHARAKTERISTIKA VINNÉ RÉVY	13
1.2 ODRŮDY HROZNŮ RÉVY VINNÉ	15
1.2.1 Burgundské modré	15
1.2.2 Frankovka.....	16
1.2.3 Muškát moravský	17
2 FENOLOGICKÁ STÁDIA	18
2.1 DORMANCE	18
2.2 RAŠENÍ	18
2.3 INTENZIVNÍ RŮST RÉVY VINNÉ	18
2.4 KVETENÍ.....	19
2.5 UZAVÍRÁNÍ HROZNŮ	19
2.6 ZAMĚKÁNÍ HROZNŮ.....	20
2.7 ZRALOST HROZNŮ	20
3 PODNEBÍ A POČASÍ	21
3.1 TEPLOTNÍ PODMÍNKY	21
3.2 SLUNEČNÍ PODMÍNKY	22
3.3 VLHKOSTNÍ PODMÍNKY	22
3.4 POVĚTRNOSTNÍ PODMÍNKY	22
4 SLOŽENÍ HROZNŮ	23
4.1 SLOŽENÍ HROZNŮ	23
4.1.1 Třapina	23
4.1.2 Slupka.....	23
4.1.3 Semena	24
4.1.4 Dužina	24
5 CHEMICKÉ SLOŽENÍ	26
5.1 CUKRY	26
5.2 ORGANICKÉ KYSELINY	27
5.3 MINERÁLNÍ LÁTKY	28
5.4 DUSÍKATÉ LÁTKY	28
5.5 AROMATICKÉ LÁTKY	29
5.6 FENOLICKÉ LÁTKY	29
6 FENOLICKÉ LÁTKY	30

6.1	FENOLOVÉ KYSELINY	31
6.2	TŘÍSLOVINY.....	32
6.2.1	Taniny hroznů a vín.....	33
6.3	FLAVONOIDY	33
6.3.1	Flavonoly.....	34
6.3.1.1	Kvercetin.....	34
6.3.2	Flavanoly.....	34
6.3.2.1	Katechiny	35
6.3.3	Proantokyany.....	35
6.3.4	Anthokyany	35
6.3.5	Leukoanthokyany	36
6.3.6	Flavanony	36
6.3.7	Isoflavonoidy.....	37
6.4	STILBENY	37
6.5	LIGNANY	37
7	POLYFENOLY A KVALITA VÍNA.....	38
7.1	BARVA VÍNA.....	38
7.2	TRPKOST VÍNA.....	38
8	POLYFENOLY A JEJICH VLIV NA LIDSKÉ ZDRAVÍ.....	40
8.1	FUNKCE ALKOHOLU NA ZDRAVÍ.....	40
8.1.1	Cévní mozková příhoda	41
8.1.2	Krevní tlak.....	41
8.1.3	Rakovina	41
II	PRAKTICKÁ ČÁST	43
9	CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	44
10	MATERIÁL	45
10.1	POUŽITÁ ČINIDLA, ROZTOKY A PŘÍSTROJE.....	45
10.2	POUŽITÉ MIKROORGANISMY	46
10.3	VZORKY VYBRANÝCH ODRŮD	46
11	METODY	47
11.1	ZÍSKÁNÍ EXTRAKTŮ	47
11.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY ZA POUŽITÍ DPPH.....	47
11.2.1	Pracovní postup.....	48
11.2.1.1	Příprava standardu kyseliny askorbové a vzorků.....	48
11.2.1.2	Příprava DPPH.....	48
11.2.1.3	Metoda DPPH	48
11.3	STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ	48
11.3.1	Pracovní postup.....	49
11.3.1.1	Příprava standardu.....	49
11.3.1.2	Metoda s činidlem Folin - Ciocalteu.....	49

11.4	STANOVENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY	49
11.4.1	Pracovní postup:.....	49
11.4.1.1	Disková difúzní metoda v agaru	49
12	VÝSLEDKY A DISKUZE	51
12.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	51
12.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ POLYFENOLŮ V S ČINIDLEM FOLIN-CIOCALTEU	54
12.3	SROVNÁNÍ CELKOVÝCH OBSAHŮ POLYFENOLŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY VE VYBRANÝCH ODRŮDÁCH RÉVY VINNÉ	57
12.4	DISKOVÁ DIFÚZNÍ METODA.....	58
13	SHRNUTÍ.....	60
14	ZÁVĚR.....	64
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	66
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	73
	SEZNAM OBRÁZKŮ	74
	SEZNAM TABULEK.....	75
	SEZNAM POUŽITÝCH GRAFŮ	76
	SEZNAM PŘÍLOH.....	77

ÚVOD

Víno je velice bohaté na obsahové látky. Zároveň se zařazuje mezi nápoje, v nichž se vyskytuje velké množství látek prospěšných našemu zdraví.

Nadměrná konzumace alkoholu je však nesmírně škodlivá. Způsobuje cirhózu jater, nemoci zažívacího ústrojí a celkovou postupnou devastaci organismu.

V malém množství však může víno působit opravdu prospěšně. Velmi známý je blahodárny vliv vína zejména na srdeční onemocnění. Významné jsou jeho antimikrobiální účinky způsobené spojením alkoholu a fenolických látek, které jsou obsaženy ve víně.

Fenolické látky působí pozitivně proti bakteriím a plísním. Víno pomáhá rovněž proti virovým onemocněním zažívacího traktu.

Fenolické látky patří do široké skupiny antioxidantů. Antioxidanty jsou látky obsažené v potravinách. Těchto látek využívá tělo ke své ochraně proti molekulám volných radikálů vytvářených při normální látkové přeměně. Mezi klíčové antioxidanty patří vitamín E, C a β -karoten.

Významný je také inositol. Inositol zvyšuje aktivitu přirozených ničitelů buněk nádorového bujení a brání tak nádorovým buňkám dále se šířit a metastazovat. Najdete jej kromě révy vinné také v luštěninách, rýži, sóji, grapefruitech, celozrnných potravinách, ve vnitřnostech a ořeších.

Mezi další důležité antioxidanty řadíme flavonoidy, obsažené v citrusech a hroznovém víně, a také např. radikálový lutein. Antioxidanty se také nacházejí v čaji, kávě a ostatních druzích ovoce a zeleniny.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VINNÁ RÉVA

1.1 Charakteristika vinné révy

Málokterá kulturní plodina upoutala na sebe tolik pozornosti jako réva vinná. Po staletí básníci opěvují její plody, malíři zachycují zvláštní atmosféru vinařského prostředí i člověka žijícího ve vinařské krajině. Vinařství jako zvláštní odvětví zemědělské výroby se staletou tradicí je také předmětem vědeckého zájmu [1].

Réva vinná (*Vitis vinifera*) je rostlina z čeledi révovitých. Její zralé plody (bobule) se používají především jako surovina pro výrobu vína a dalších nápojů, nebo k přímé konzumaci. Původní volně rostoucí réva lesní (*Vitis vinifera subsp. sylvestris*) vykazuje velkou rozmanitost hroznů v chuti, barvě, velikosti i tvaru bobulí. Díky její velké heterozygotnosti mohly postupně vzniknout stovky odrůd révy vinné, ať již samovolným křížením, nebo jako kultivary šlechtěním [2].

Réva vinná je liánovitá rostlina, pseudoliána (nikoliv však liána, která se obtáčí po opoře vlastním tělem) pnoucí se po oporách, k nimž se přichycuje vlastními úponky. Jedinci kulturních odrůd na vinicích, které vinaři nenechávají dožít takového stáří, dorůstají výšky nejvýše 4 m při průměru kmene do 50 cm. Kořeny běžně dosahují délky přes 10 metrů a to i na skalnatém podloží. Kulturní odrůdy (*V. vinifera subsp. vinifera*) jsou jednodomé, divoké (*V. vinifera subsp. sylvestris*) jsou dvoudomé. Plodem jsou bobule kulovitěho tvaru o průměru 0,4 – 1,5 cm a délce až 2,5 cm – u divokých odrůd bývají drobnější. Jejich barvy jsou velmi rozmanité, od zelené, zelenožluté, žluté po červenou až tmavofialovou [2].

Organoleptické vlastnosti a kvalitu vín ovlivňuje mnoho různých faktorů. Kvalita vůně a chuti závisí na vyváženosti dílčích vůní a chutí. Jednotlivá vína se vzájemně liší v závislosti na odrůdě révy, zralosti hroznů, eventuálním napadení mikroorganismy (zvláště plísní *Botrytis cinerea*), podmínkách během kvašení moštu (dominantním druhem mikroorganismů jsou kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, proto při fermentaci hraje důležitou roli pH a teplota) a dalších faktorech [3]. Skleněná láhev je součástí kvality vína. Lahví začíná jeho vzestup k nejušlechtlejší za všech poživatin. Láhev víno chrání a konzervuje, umožňuje jeho zrání a stárnutí, slouží k tomu, že s ním lze v přesných objemech obchodovat a užívat je. Milovníci vína prokazují často láhvi čest i tím, že ji uchovávají, i když už je prázdná.



Obr. 1: Réva vinná [4]

Víno není živoucí, zato však citlivý produkt. Děsí se světla a miluje chlad. Libuje si při vysoké vlhkosti vzduchu. Prostory, ve kterých člověka mrazí nebo které vyvolávají jeho nevolnost, jsou pro ně ideální. Jenomže takové prostory se vyskytují takřka výlučně ve starých zámcích s klenutým sklepením. Moderní sklepy, pokud jsou ovšem vystavěny inteligentně, se jim mohou přiblížit [5].

Vína jsou ve srovnání s jinými nápoji připravenými kvašením velmi kyselá (hodnota pH bývá v mezích 2,8 – 3,8 hlavním nositelem kyselé chuti je vinná kyselina) a mají relativně vysoký obsah ethanolu. Ethanol má významný vliv na charakter chuti. Jeho obsah souvisí s obsahem cukrů v moštu, teda se stupněm zralosti hroznů a se stupněm prokvašení. Je korekčním faktorem kyselé chuti [3].

U vína všeobecně platí, že ideální skladovací teplota se pohybuje okolo 13 °C. Vyhrazuje se i užší prostor od 7° C do 18 °C nebo ještě přísněji od 10 °C do 15 °C [6].

Stolní víno se vyrábí z hroznů (sklizených na území České republiky, které dosáhly nejméně 11 stupňů cukernatosti; hrozny s cukernatostí 10 stupňů mohou být zpracovány na základě zvláštního povolení) nebo rmutu, moštu. Mohou to být vína získaná z hroznů moštových odrůd a odrůd registrovaných jako stolní (i z dovozu). Ke zpracování mohou být použity také hrozny neregistrovaných odrůd vysazených před 1. 9. 1995. Stolní víno nesmí být označováno názvem odrůdy ani názvem vinařské oblasti. Jakostní víno se vyrábí z hroznů

moštových odrůd sklizených ve vinařských oblastech ČR, které dosáhly nejméně 15 stupňů cukernatosti, nebo ze rmutu, případně z moštu těchto hroznů. Odrůdové jakostní víno musí obsahovat nejméně 85 % vína vyrobeného z odrůdy uvedené na obalu. Známkové jakostní víno smí být vyráběno smísením odrůdových jakostních vín. Víno s přívlastkem se vyrábí z hroznů, rmutu nebo moštu jedné moštové odrůdy révy vinné stanovené pro vinařskou oblast prováděcím právním předpisem, sklizených ve viničních tratích. Víno s přívlastkem musí obsahovat nejméně 85 % vína vyrobeného z odrůdy uvedené na obalu [3].

Dělat dobré víno je řemeslo, vyrábět velká vína je umění. Zdatní sklep mistři se proto teší vážnosti umělců. Některým byly dokonce postaveny pomníky – například Domu Perignovi, mnichovi z Champagne. Takoví vinaři vědí, jak dát vínu výraz a vybroušenost. Tak se vlastně starají o to, že se při pití vína nemůže nudit. Neboť i to nejlepší víno nemá valnou cenu, jestliže se dobré vždy stejným způsobem [5].

1.2 Odrůdy hroznů révy vinné

V práci popisujeme jen tři odrůdy révy vinné, protože jsou použity jejich extrakty z hroznů do praktické části k analýzám. Jsou zde popsány z červených odrůd Burgunda modrá a Frankovka a z bílých odrůd Muškát moravský.

1.2.1 Burgundské modré

Burgundské (bílé, šedé i modré) označujeme jako Rulandské. Přijali jsme označení vzniklé v Německu jako místní název Rulandské modré, jméno získalo po obchodníkovi Johanu Rulandovi. Máme tedy název nemající nic společného s původem odrůdy ani s naší zemí [7]. Burgundské modré pochází z Francie. Lisuje se z hroznů burgundské révy [8]. Hrozny jsou malé, krátké, válcovité, na krátké stopce, s malými kulatými bobulemi modré barvy [6]. Do Čech jí přivezl Karel IV. Dává víno poněkud drsnější, jehož hodnoty vystupují až po delším zrání v sudech a v lahvích [8]. Víno je velmi dobré jakosti, jemné, plné, příjemně trpké, rubínové barvy. Burgundské modré patřilo v Čechách k nejrozšířenějším odrůdám. V minulém století bylo touto odrůdou osázeno padesát procent viniční plochy. Pro nízké výnosy postupně ustupovalo odrůdám s většími výnosy [6].



Obr. 2: Burgunda modrá [9]

1.2.2 Frankovka

Je rozšířena v mnoha zemích celé Evropy, ale její původ není přesně znám [6]. Frankovka je odrůda, která není v našich podmínkách zcela spolehlivá a pěstuje se asi na 5 % plochy. Je méně odolná proti zimním mrazům a také ráda sprchává v důsledku nepříznivého počasí v době květu. Podaří-li se ročník, hroznů bývá dostatek, dobře vyžívají a také víno z nich je velmi dobré [5]. Hrozen je velký, rozvětvený až křídlatý, bobule jsou kulaté, středně velké, ojíňené. Víno se vyznačuje intenzivní červenou barvou, příjemnou odrůdovou vůní a chutí, menším obsahem tříslovin a poněkud vyšším obsahem kyselin [6].



Obr. 3: Frankovka [10]

1.2.3 Muškát moravský

Mladá odrůda tuzemského původu vznikla křížením odrůd Muškát Ottonel a Prachttraube. Zrání bobulí je rané. Obsah kyselin je nižší, a proto je nutné pro výrobu suchých vín sklízet hrozny zavčas, aby vína nebyla plochá. Vína Muškátu moravského jsou vhodná do směsí a jako součást značkových vín i sektů. Barva vína je světle žlutá, vůně výrazně muškátová, chuť lehčí s nižším obsahem kyselin. Nehodí se k archivaci, je vhodné jako aperitiv k předkrmům z husích jater nebo k plodům moře [11].



Obr. 4: Muškát moravský[12]

2 FENOLOGICKÁ STÁDIA

Fenologie je vědou zabývající se studiem přirozených úkazů, které se periodicky opakují, a jejich vztahu ke klimatickým podmínkám v průběhu vegetačního období. Směřuje k hledání závislosti mezi průběhem počasí a nástupem jednotlivých fenofází a intervaly mezi nimi.

Fenologické údaje jsou základní pro určení podstatných rozhodnutí při pěstování révy vinné, jako jsou výběr stanoviště, uspořádání výsadby a způsoby ošetřování. Fenologické údaje poskytují výchozí materiál pro studium vzájemných vztahů mezi počasím, podnebím a chováním jednotlivých odrůd, a umožní předpovídání jejich chování v nových vinařských oblastech [13].

2.1 Dormance

V podzimním období po opadu listů vstupuje réva vinná do období klidu – dormance. V průběhu dormance v rostlinách neprobíhá fotosyntéza, ale rostlina si udržuje svoje základní metabolické funkce. Zásobní látky většinou ve formě polysacharidů jsou uloženy především v kořenech a starém dřevě [14]. Ve vegetačním klidu má réva vinná přezimující očka špičatá až kulatá, podle odrůdy světle až tmavě hnědá; pupenové šupiny více či méně uzavřeny [15].

2.2 Rašení

V jarním období, obvykle po vzestupu teploty, začínají nejdříve slzení révy vinné, kdy z řezných ran vytéká míza bohatá na minerální látky. Ve druhé polovině dubna začíná rašení [13]. Rašení oček probíhá u různých odrůd v různou dobu; existují odrůdy raně rašící, ovšem i u stejných odrůd mohou očka rašit v různých dobách v závislosti na klimatických změnách [15]. Rašení může být negativně ovlivněno zimními mrazy anebo suchem v zimě nebo na konci minulého vegetačního období. Rašení může být opožděné i nízkou zásobou polysacharidů v rostlině [14].

2.3 Intenzivní růst révy vinné

Fáze intenzivního růstu letorostů révy vinné probíhá v prvním měsíci po rašení, v našich klimatických podmínkách je to v měsíci květnu. Růst je iniciován především zásobními

látkami obsaženými v rostlině. V listech začíná postupně probíhat fotosyntéza a kořenový systém začíná přijímat vodu a živinu [14].

2.4 Kvetení

V průběhu intenzivního růstu révy vinné jsou na letorostech rozeznatelná květenství, která se postupně zvětšují. Na jednou letorostu bývá obvykle žádné nebo až 3 květenství. V jednom kvěťoví bývá v závislosti na odrůdě 50 – 200 květů. V závislosti na teplotě a vlhkosti nastupuje fenofáze kvetení, kdy dochází k oddělování květních čepiček od květů a následnému opylení a oplození [14]. Teplota půdy je mnohem výraznější než teplota vzduchu, a tak je teplená jímavost půdy důležitým faktorem. Největší hrozbou kvetení je mráz; mnoho vinic je chráněno topnými nebo postřikovými systémy [16]. Kvetení u jedné odrůdy trvá obvykle 7-14 dnů, v závislosti na velikosti květenství a počasí [14].



Obr. 5: Kvetení révy vinné [17]

2.5 Uzavírání hroznů

Po úspěšném opylení a oplození následuje vývoj bobulí. Hrozny postupně prochází stádiem, kdy je bobule ve velikosti broku, následně potom fenofází, kterou lze označit za hráškovatění bobulí. Velmi významným vývojovým krokem je u révy vinné uzrávání hroznů. Všechna tato vývojová stádia jsou významná především z pohledu agrotechnických zásahů ve vinici – zelených prací, ochrany proti houbovým chorobám a mimokořenové výživy. V

bobulích se v tomto stádii zvyšuje především obsah kyselin, prekurzorů taninů, barviv a aromatických látek [14].

2.6 Zaměkání hroznů

Zaměkání bobulí je charakterizované změnou barvy a konzistence bobule. Bobule začínají v tomto stádiu na omak měknout. Současně se u modrých odrůd objevuje první zbarvení a zvyšuje se postupně obsah antokyaninových barviv. U bílých odrůd dochází postupně k přeměně zeleného barviva na žluté. V bobulích dochází k velmi významným biochemickým změnám. V bobulích se zvyšuje obsah cukrů a klesá obsah organických kyselin, zvyšuje se obsah antokyaninových barviv a aromatických látek a klesá pozvolna obsah taninů. Tato fenofáze je odrůdově velmi rozdílná. U raných odrůd začíná již v 1. – 2. dekádě července, u pozdních odrůd až koncem srpna [14].

2.7 Zralost hroznů

V závislosti na přístupu k vypěstovaným hroznům rozlišujeme několik typů zralosti hroznů. Průmyslová zralost hroznů – průmyslová zralost koresponduje pouze s vysokým obsahem cukrů a pokud možno při vysokém výnosu. Ostatní kvalitativní parametry se neberou příliš v úvahu.

Fyziologická zralost hroznů – hrozny by měly být v takovém stupni zralosti, aby jejich semena byla schopná reprodukce.

Technologická zralost hroznů – úzce souvisí s tím, jaké chceme vyrobit víno a jakou technologií. Zahrnujeme sem především aromatickou a fenolickou zralost. Technologická zralost by měla být v budoucnosti základem produkce kvalitních hroznů [14].

3 PODNEBÍ A POČASÍ

Počasí a fenologie révy vinné jsou společně velmi úzce spojeny. Výkyvy kvality v jednotlivých letech se téměř vždy vysvětlují přes proměnlivost, které jsou způsobeny klimatickými faktory a nástupy jednotlivých fenofází [13].

Evropa má různé klimatické oblasti, ale na většině území Evropy panuje mírné klima. Na základě klimatických podmínek jsou evropské vinohradnické oblasti klasifikovány do tří různých zón. V každé z těchto tří zón jsou specifické podmínky pro pěstování vinné révy. Různá je jak kvalita hroznů (např. obsah cukru), tak intenzita infekčního tlaku chorob. Klima není stálé, ale neustále se mění. S těmito změnami se mění regionální podmínky pro pěstování révy především v hraničních oblastech [28].

3.1 Teplotní podmínky

Teplota je klíčovým faktorem růstu kvalitní vinné révy – dýchání rostliny, transpirace a fotosyntézy. Příliš vysoké teploty nežádoucím způsobem urychlují zrání, nicméně při správné volbě odrůdy zde vzniká produkce kvalitních sladkých a likérových vín [19].

Tab. 1: Doporučení odrůd na základě průměrných teplot za vegetační období [20]

Teplota °C	Doporučené odrůdy
13 – 15	Müller Thurgau, Rulandské šedé, Tramín červený, Ryzlink rýnský
15 – 17	Ryzlink rýnský, Tramín červený, Rulandské modré, Chardonnay, Sauvignon blanc, stolní odrůdy révy vinné
17 – 19	Viognier, Syrah, Cabernet Sauvignon, stolní odrůdy révy vinné
19 - 24	Stolní odrůdy a odrůdy pro produkci hroznů

V severních oblastech a všude ve vyšších nadmořských výškách, kde jsou teploty nižší, je zrání pomalejší ale i obtížnější. Vznikají zde však skvělá vína s nižším obsahem alkoholu, nízkým obsahem cukru a intenzivními sensorickými vlastnostmi. Příliš nízké teploty zde mohou poškodit nové výhonky révy, když keře zpravidla odolávají teplotám až – 15 °C [19].

3.2 Sluneční podmínky

Intenzita a délka slunečního svitu významnou měrou ovlivňuje celkové fyziologické vlastnosti révy. Např. v severním a severozápadním Španělsku réva získává kolem 2.000 hodin přímého slunečního záření, v oblastech kolem zálivu Cádiz a některých jihovýchodních částech pak více než 3.000 hodin ročně. Jsou to jedny z oblastí s nejdelší ročním slunečním svitem na světě [19].

3.3 Vlhkostní podmínky

Dešťové srážky, resp. jejich průměrný úhrn, jsou dalším klíčovým faktorem v růstu a zrání vinné révy. Zásadně ovlivňují vlastní kubický objem sklizně a zásadně i kvalitu bobulí. Zimní srážky zlepšuje kvalitu sklizně, zatímco mírné úhrny letních dešťů pomáhají vytvářet bohaté hrozny bobulí, i když ne nutně nejvyšší kvality. Nejlepší ročníky se tak velmi často shodují s horkými a relativně suchými léty [19].

3.4 Povětrnostní podmínky

Povětrnostní podmínky jednotlivých regionů mají významný vliv na vzdušnou vlhkost. Nejčastěji však na španělských vinařských oblastech panují mírné a mírně vlhké větry. Mlhy a nízké oblačnosti mají na révu velmi negativní vliv, zejména v období vegetace. Vysoká vzdušná vlhkost totiž vytváří prostředí pro rozvoj a šíření plísní a dalších onemocnění [19].

4 SLOŽENÍ HROZNŮ

4.1 Složení hroznů

Hrozen se skládá z třapiny a bobulí. Bobule sestává ze slupky, dužniny a semen. Vyzrálost a zdravotní stav všech těchto součástí má vliv na jakost vyrobeného vína. Podíl jednotlivých částí hroznů je v závislosti na vyžrání, odrůdě a vlastností stanoviště různý a zjišťujeme ho pomocí uvolňovacích rozborů. Pro vylisnost má výrazný význam struktura hroznů, která je dána poměrem dužniny k pevným částem hroznů [21].

4.1.1 Třapina

Třapina tvoří 3 – 5 % hmotnosti hroznů. Její chemické složení závisí především na odrůdě hroznů, dále pak na podmínkách stanoviště a zralosti. Obsah vody v třapině se pohybuje od 35 % do 90 %, dále jsou přítomny cukry, kyseliny vinná a jablečná, třísloviny a rostlinná barviva. Na budoucí víno mají negativní vliv nevyzrálé třapiny, které se při zpracování snadno drtí a vyluhují do moštu [21]. Aby se do moštu nevylohovaly třísloviny a chlorofyl, je potřeba hrozny před lisováním odstopkovat. Zejména obsah chlorofylu poškozuje jakost vína. Třapiny z dobře vyžrálých hroznů mají nižší obsah chlorofylu [22].

4.1.2 Slupka

Slupky činí 9 – 11 % z celkové hmotnosti hroznů [21]. Slupka je pokryta voskovou vrstvičkou proti odparu vody a vniknutí škodlivých mikroorganismů, její součástí jsou třísloviny, kyseliny, barviva, cukry, aromatické a minerální látky. Vyluhováním slupky přechází do vína třísloviny, procentuelně je slupky modrých odrůd obsahují více než odrůdy bílé [22]. Slupky bílých odrůd obsahují flavonová barviva a chlorofyl. V červených a modrých odrůdách jsou pak anthokyaniny u nichž poměr jednotlivých anthokyaninů závisí na odrůdě. Vzhledem k tomu, že anthokyaniny jsou jen ve slupce, s výjimkou barvířek, u nichž jsou částečně i v dužnině, můžeme z modrých odrůd vyrobit i bílá nebo podle technologie růžová vína. Anthokyaniny se uvolňují z buněk slupky až po jejím umrtvení alkoholem, teplem nebo atmosférou CO₂. Dále ve slupkách bobulí jsou koncentrovány aromatické látky, které z nich vyluhujeme krátkým nakvašením po odzrnění hroznů. Dále je poměrně vysoký obsah tříslovin u modrých odrůd, ale i u některých bílých [21].

4.1.3 Semena

Další pevnou součástí hroznu jsou semena, kterých bývá 1 – 4 v bobuli. Pokud bobule semena neobsahuje, bývá malá, tzv. hráškovitá (mirandage). Pouze některé stolní odrůdy jsou vyšlechtěny na produkci bezsemenných plodů. Semena tvoří 3 – 4 % z celkové hmotnosti bobulí. Významné složky jsou třísloviny (3 – 6 %) a oleje (10 – 20 %). Třísloviny jsou jemné a jsou vítány při vyloužení do červených vín. Oleje jsou žlutozelené až zelené barvy a jsou velmi ceněny pro přípravu jemných kulinářských výrobků. Další rozpustné součásti jsou cukry, kyseliny, proteiny a poměrně vysoký obsah popelovin [21]. Tuky jsou ve víně nevítané, získají se za lisování vysokým tlakem [22].



Obr. 6: Složení hroznu [23]

4.1.4 Dužina

Dužnina pro nás z hlediska zpracování i přímé spotřeby je nejvýznačnější součástí. Tvoří průměrně 85 – 90 % hmotnosti bobule. Z toho 5 – 8 % tvoří svazky cévní, zbytek je mošt. Dužnina obsahuje hlavně cukry, glukosu a fruktosu, dále kyseliny jablečnou, vinnou jednak volné, jednak vázané převážně jako K-soli a Ca-soli, dusíkaté látky, pektiny, enzymy, minerální látky a vitaminy. Barviva a třísloviny jsou zastoupeny nepatrně a jejich množství závisí na odrůdě. Vnější část dužniny bobule je šťavnatější. Část vnitřní, která obsahuje

silnější svazky cévní, je tužší. Konzistence dužniny závisí na obsahu pektinů, které jsou vítány u stolních hroznů. Pro moštové hrozny znamenají snížení vylisnosti a zvýšení obsahu methanolu ve víně [21].

5 CHEMICKÉ SLOŽENÍ

To, že „kvalita vína se rodí ve vinici,“ je dobře známou skutečností. Kvalitní hrozen v optimální technologické zralosti je pro výrobu kvalitních vín nezbytný. Zralost hroznů je výsledkem mnoha fyziologických a biochemických procesů probíhající v révovém keři.

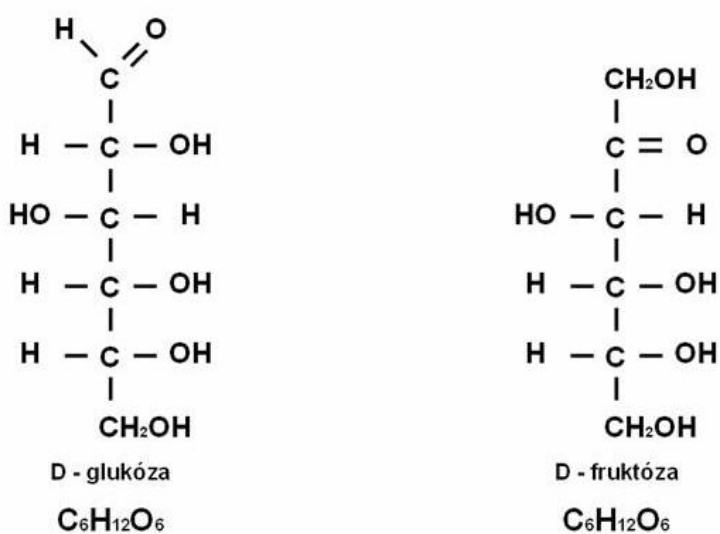
Zralost významu jednotlivých látek obsažených v bobulích je základem výroby dobrého a kvalitního vína [24].

5.1 Cukry

Nejvýznamnější cukry obsažené v bobulích révy vinné představují glukóza a fruktóza [24]. Ostatní cukry jsou méně zastoupeny nebo jsou ve stopách. Jsou to sacharóza, ve stopách ribóza, xylóza, galaktóza, stachióza, rhamnóza, arabinóza, maltóza a další [21].

Cukry vznikají především v listech, v malé míře potom v zelených bobulích. Základním fyziologickým dějem, který se na tvorbě cukrů podílí, je fotosyntéza. Dostatečně velká a zdravá listová plocha je základem pro kvalitní cukernatost hroznů.

Nejdůležitějším transportním cukrem v révovém keři je sacharóza, která se v bobulích enzymaticky štěpí na glukózu a fruktózu. Po zaměkání má v bobulích révy vinné větší zastoupení glukóza než fruktóza. Nicméně v době zralosti a sklizně je jejich poměr přibližně 1 : 1.



Obr. 7: Glukóza i fruktóza [25]

Obsah cukrů je důležitý pro určení možného (potenciálního) obsahu alkoholu ve víně. Vzájemný vztah alkoholu a zbytkového cukru určuje typ vína. Vysoká cukernatost, a tím i vysoký obsah alkoholu, často negativně ovlivňuje kvalitu bílých vín. Vysoký obsah alkoholu u bílých vín dnes představuje celosvětový problém [24].

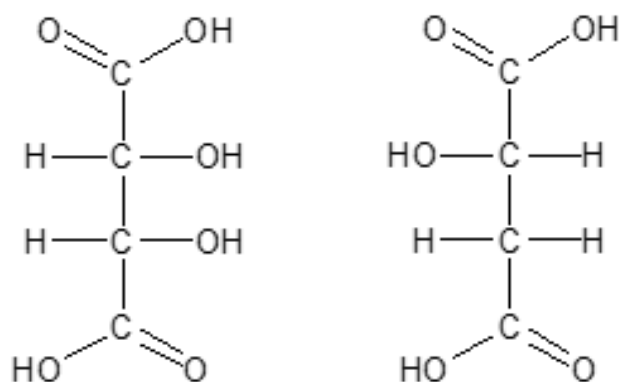
5.2 Organické kyseliny

Druhou nejvýznamnější skupinou obsahových látek v bobulích jsou organické kyseliny. Patří mezi ně v první řadě kyselina vinná a kyselina jablečná, které tvoří 70-90 % ze všech organických kyselin, jež se nacházejí v bobulích révy vinné. V malém množství se v hroznech vyskytuje rovněž kyselina citrónová.

Kyselina vinná je nejsilnější kyselinou, je zodpovědná za kyselou chuť v hroznech a víně. Kyselina jablečná poskytuje hroznům a vínu „zelenou chuť“, s ostrými, hrubými, nezralými tóny [24].

Na obsah kyselin má rozhodující vliv počasí. Při nižších teplotách, podmračném počasí a dostatku vody v půdě se vytváří poměrně více kyselin než cukrů. Vznikají jednak jako produkt fotosyntézy, jednak jako produkt disimilace organických látek [21].

Kyseliny ovlivňují hlavně sensorický projev vyrobeného vína, ale zároveň mohou sloužit jako konzervační činidlo. U bílých vín je vyšší obsah kyselin pozitivní, protože podporuje svěžest chuti a zvýrazňuje aromatický projev vína. U modrých odrůd je z pohledu chuťových vlastností vína žádoucí nižší obsah kyseliny jablečné. Chuťově drsnější kyselina jablečná se ve víně odbourává využitím jablečno-mléčné fermentace [24].



Obr. 8: Kyselina jablečná a kyselina vinná [26]

5.3 Minerální látky

V hroznech se minerální látky podílejí především na tvorbě chuťových vlastností a extraktu vína. Na obsah minerálních látek v hroznech a ve víně má velký vliv půda a její geologický původ a zároveň počasí panující v daném roce. Významný je rovněž vliv výživy révy vinné v podmínkách konkrétní vinice.

Jednou z hlavních minerálních látek obsažených v bobulích révy vinné je draslík. V průběhu dozrávání se jeho koncentrace v hroznech zvyšuje ve vztahu k akumulaci cukrů. Draslík ovlivňuje také obsah kyselin a hodnotu pH v moštu a víně.

Vápník ovlivňuje pozitivně chuťové a aromatické vlastnosti. Hořčík může ve vysokých koncentracích způsobovat nahořklou chuť ve víně [24].

Tab. 2: Obsah minerálních látek ve 100g bobule [20]

Minerální látky (mg)	Obrůdy podle barvy bobule	
	modrá barva bobule	bílá barva bobule
sodík	2	2
draslík	320	250
vápník	4	19
hořčík	4	7
fosfor	16	22
železo	0,3	0,3
zinek	0,1	0,1

5.4 Dusíkaté látky

V hroznech se mohou vyskytovat dusíkaté látky v různých. V bobulích a moštu může být dusík zastoupený v minerálních (NH_4 , NO_3) nebo v organických formách jako volné aminokyseliny, bílkoviny nebo některé vitamíny [24].

5.5 Aromatické látky

Celkové aroma vína je určováno vzájemným působením řady aromatických látek. Některé odrůdy potřebují pro tvorbu typického odrůdového aroma velké množství těchto látek, vyskytujících se u příslušné odrůdy v určitém poměru, a naopak existuje mnoho výrazné, tzv. impact aroma.

U hroznů se mluví především o primárním, hroznovém nebo odrůdovém aroma. Tvoří ho aromatické látky objevující se v nepoškozených buňkách bobulí [24]. Aromatické látky jsou obsaženy převážně ve slupce. Jsou to těkavé látky, které jsou směsí aromatických a alifatických alkoholů, jejich esterů s kyselinami, aldehydů a heterocyklických sloučenin. Syntetizují se ze sacharidů nebo jako produkty odbourávání bílkovin. Složení aromatických látek co do množství i poměru jednotlivých složek je závislé na odrůdě a pro ni typické. Podle nich lze rozeznat Tramín, Ryzlink rýnský, Veltlínské zelené a další. Množství aromatických látek je do určité hladiny přímo závislé na vyzrálости hroznu. Při přezrávání některých odrůd se po dosažení určitého vrcholu množství aromatických látek snižuje, což je typické nejen pro Muller Thurgau, ale též pro Sauvignon (pokud požadujeme typickou "kopřivu") a pro Tramín. Proto je nutné při sklizni věnovat pozornost ne pouze maximálnímu množství sklizně, ale i optimální zralosti z hlediska technologického [21].

5.6 Fenolické látky

Množství fenolických látek je velmi pestré [27]. Fenoly jsou sloučeniny s hydroxylovou skupinou vázanou na uhlík aromatického jádra. Fenoly jsou většinou krystalické látky, omezeně rozpustné ve vodě, často charakteristického zápachu. Řada jednoduchých fenolů denaturuje bílkoviny, některé jsou významně toxické. Na rozdíl od alkoholů se fenoly chovají ve vodním prostředí jako velmi slabé kyseliny. Ve vodě nerozpustné fenoly lze rozpustit ve vodném roztoku silného hydroxidu, protože vzniká fenolátový anion. Fenoly lze poměrně snadno oxidovat, nevznikají však aldehydy a ketony jako u alkoholů, ale produkty s chinoidním uspořádáním [28].

6 FENOLICKÉ LÁTKY

Fenolické látky jsou sloučeniny s velkým významem pro vinohradnictví a vinařství. Ve složení a obsahu fenolických látek v hroznech a vínech existuje výrazný rozdíl mezi odrůdami určenými pro výrobu bílých a červených vín. Fenolické látky odpovídají za mnoho důležitých charakteristik vína, především barvu, hořký a tříslovitý chuťový projev a antioxidační vlastnosti. Složení fenolických látek je odlišné v bílých a červených vínech a také ve vínech mladých a starších ročníků. Některé fenolické látky (hydroxyskořicové kyseliny) mají vliv na hnědnutí moštů a bílých vín [24].

Tab. 3: Obsah jednotlivých skupin fenolických látek v bílých a červených vínech [24]

Skupina fenolických látek	Bílá vína		Červená vína	
	Mladá	Starší	Mladá	Starší
Non-flavonoidy				
Hydroxyskořicové kyseliny	154	130	165	60
Hydroxybezoové kyseliny	10	15	60	60
Hydrolyzovatelné taniny (pocházejí	0	100	0	250
Stilbeny (Resveratrol)	0,5	0,5	7	7
Celkový obsah (mg/l)	164,5	245,5	232	37
Flavonoidy				
Monomerní flavanoly	25	15	200	100
Proanthokyanidiny a kondez. taniny	20	25	750	1000
Flavonoly	-	-	100	100
Anthokyany	-	-	400	9
Ostatní	-	-	50	75
Celkový obsah (mg/l)	45	40	1500	1365
Fenoly celkově	209,5	285,5	1732	1742

Fenolické látky u odrůd révy vinné se nacházejí v třapině, v dužině, ve slupce bobulí i v semenech. Jejich obsah ovlivňuje odrůda, pěstitelské podmínky, mezi než můžeme zařadit nejen klimatické a půdní vlastnosti stanoviště, ale i agrotechnické zásahy používané na vinici [24].

Složení fenolických látek ve vyrobeném víně závisí jak na kvalitě hroznů, tak na použitém způsobu bonifikace, zejména na podmínkách macerace. U modrých odrůd révy vinné obsahuje 30 – 40 % všech fenologických látek slupka a 60 – 70 % semena [24].

Patří sem fenolové kyseliny, flavonoly, anthokyaniny a třísloviny. Jsou to morfní, hygroskopické látky, které s vodou, ethanolem a acetonem vytváří koloidní roztoky. Větší část se nachází v pevných částech hroznu, z které se dostávají do moštů při lisování [29]. Vína a hrozny obsahují velké řady fenolických látek, které patří k non-flavonoidy a flavonoidy [30].

Tab. 4: Přehled fenolických látek v hroznu [24]

Flavonoidy	
Anthokyaniny (barviva)	slupka – 0,5-0,5 g na kg hroznu
	semena – 1-8 g na kg hroznu
Taniny – flavanoly (katechiny a proanthokyanidiny)	dužina – 80 mg na kg hroznu
	slupka – 0,3-3 g na kg hroznu třápina – 0,03-0,4 g na kg hroznu
Flavanoly	slupka – 10-10 mg na kg hroznu
Flavonoly	slupka – 0-10 mg na kg hroznu
	střepina – 0-35 mg na kg hroznu
Non-flavonoidy	
Stilbeny	slupka – 0-20 mg na kg hroznu
	semena – 0-35 mg na kg hroznu
Hydroxyskořicové kyseliny	slupka – 60-800 mg na kg hroznu

6.1 Fenolové kyseliny

Z fenolových kyselin hroznové mošty obsahují kyselinu p-hydroxybenzoovou, vanilinovou, galovou, syrinovou, salicylovou, p-kumarovou, kávovou a ferulovou. Jsou volné, i vázané v rozličných sloučeninách, zejména s anthokyaniny, katechiny a s kyselinou vinnou. Obsah fenolkarbonových kyselin je v červených moštech vyšší než v bílých. V průměru se jejich

obsah ohybuje v rozpětí 30 – 100 mg.l⁻¹, pro bílá 1 – 15 mg.l⁻¹. V mošttech se však kyseliny galová, kávová, kumarová ve volné formě nezjistili.

Kyseliny galová a digalová tvoří podstatnou část hroznových tříslovin (oenotaníny), v kterých se ve formě esteru vážou na glukózu [29].

6.2 Třísloviny

Druhou velmi důležitou skupinou fenolických sloučenin jsou taniny (třísloviny), mezi které se řadí také sloučeniny patřící mezi flavan-3-oly, Zařazujeme sem katechin, epikatechin, jejich dimery, trimery, a různé vyšší oligomery, které označujeme také jako prokyanidiny. Taniny se nacházejí v třapíně, slupkách a semenech. Taniny v třapíně nemají velký význam, neboť většina hroznů se před lisováním odstopkovává. Nejdůležitější jsou taniny obsažené ve slupkách bobulí a semenech. Ty přímo ovlivňují chuťové vlastnosti vína, a jejich vyzrálost je proto důležitá [24]. Dále napomáhají čířícím procesům v červených a bílých mošttech a vínech. Jako polyfenolické rostlinné látky s rozličnou strukturou mají určité společné fyzikálně-chemické a fyziologické vlastnosti. Jejich molekulová hmotnost je od 500 do 3000 sráží alkaloidy, želatinu a bílkoviny. Třísloviny je možné rozdělit podle Freudenberga do dvou skupin a několik podskupin:

- Hydrolyzovatelné třísloviny:
 - galotaniny – estery kyseliny galové a cukrů,
 - elagotaniny – estery kyselin elagalových a cukrů,
 - estery fenylní karboxylových kyselin.
- Kondenzované třísloviny:
 - třísloviny na bázi katechinů (flavan-3-oly),
 - třísloviny na bázi lekoantokyadinů (flavan-3,4-dioly),
 - třísloviny na bázi hydroxystilbenu [31].

Hydrolyzovatelné třísloviny moštů mají strukturu polyesterů tvořených dvěma základními složkami: cukernou a fenolkarboxylovou kyselinou. Účinkem hydrolytických enzymů a některých kyselin, případně zásad se štěpí na původní složky. Hlavní složkou je pentaglykoglukóza. Necukernou složkou jsou zejména kyselina galová, digalová, metylgalové ky-

seliny a kyseliny elagové. Nekondenzované třísloviny v prostředí minerálních kyselin kondenzují na flobafény [31].

Koncentrace a struktura taninů se v průběhu dozrávání mění, poměrně vysoká je již v době zaměkání bobulí. V semenech jejich obsah klesá po začátku vybarvování hroznů do doby zralosti. Taniny ve slupce mají komplexnější strukturu a malou proměnlivost ve své polymerizaci v průběhu dozrávání. Ve slupce se vysoká koncentrace anthokyaninů většinou pojí s vysokou koncentrací taninů [24].

6.2.1 Taniny hroznů a vín

Obsah proanthokyanidinů prokyanidinového typu v semenech hroznů červených odrůd je 2-5 krát vyšší než ve slupkách. V semenech se převážně vyskytují oligomery s 2-6 jednotkami flavanolů, ve slupkách jsou přítomny také vyšší oligomery. Existují 4 dimerní prokyanidiny s vazbou $C_4 \rightarrow C_8$ a 4 dimery s vazbou $C_4 \rightarrow C_6$, i prodelfinidiny. Podobné složení taninů mají také červená vína, kam taniny přecházejí především ze semen vinných hroznů. Katechiny a nižší oligomery jsou málo trpké a vykazují současně spíše hořkou chuť. Málo hořké a nejvíce trpké jsou oligomery obsahující více než 4 molekuly oligomerů. Kromě bezbarvých taninů jsou v červených vínech přítomny komplexy taninů s polysacharidy a minerálními látkami a barevné produkty reakcí taninů s antokyany. Dimerní a oligomerní taniny podobné struktury se také vyskytují v dalším ovoci [32].

6.3 Flavonoidy

Nejčastěji se vyskytující polyfenoly v naší výživě jsou flavonoidy. Odhadovaný příjem flavonoidů ve výživě člověka je v rozmezí několika desítek až stovky gramů za den, v závislosti na výživových zvyklostech. Bylo např. prokázáno, že japonská populace má vyšší příjem flavonoidů, což je přičítáno konzumaci zeleného čaje.

Mezi hlavní skupiny flavonoidů ve výživě člověka patří flavanoly, flavanony, flavony flavonoly, proantokyanidiny, kyanidiny a izoflavonoidy.

Velká část flavonoidů je glykosylována. Navázaný cukr bývá glukosa, rhamnosa, méně často galaktosa, arabinosa, xylosa, glukuronová kyselina a další cukry. Obvykle je navázána jedna cukerná jednotka, ale mohou být i dvě, tři či více. Cukry mohou být dále substituovány např. malonylovou skupinou. [33].

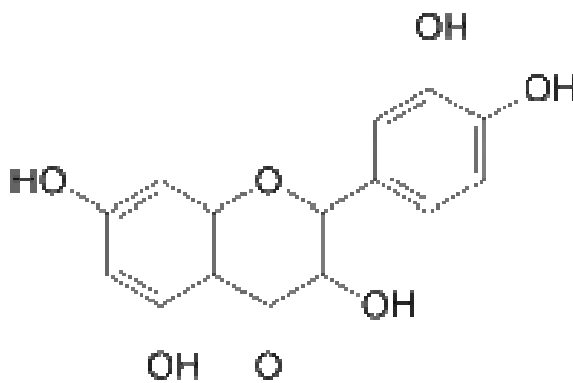
6.3.1 Flavonoly

Flavonoly jsou společně s flavony důležitými žlutými barvivy [32]. V moštích a vínech se nacházejí v glykosidické formě a jejich aglykon tvoří kvercetin, miricetin a kemferol. Jejich koncentrace v červených odrůdových moštích je vyšší (2 – 10 mg/l) jak v bílých. Kvercetin s ramnozou tvoří glykosid, který se nejčastěji vyskytuje v hroznových moštích [29].

6.3.1.1 Kvercetin

Kvercetin je jedním z nejsilnějších a nejrozšířenějších biologicky aktivních flavonoidů, které se nacházejí v ovoci a zelenině. Chemickou strukturou patří mezi flavonoly a má široké spektrum účinků, kterými pomáhá působit proti nemocem. [34].

Podobně, jako je tomu u většiny flavonoidů, jsou jeho nejbohatším zdrojem barevné a zelené rostlinné části. Vysoké koncentrace se nacházejí v běžně přijímaných potravinách jako cibule (300 mg/kg čerstvé váhy), jablka (21 – 72 mg/kg), kapusta (100 mg/kg), červené víno (4 – 16 mg/l) a zelený a černý čaj (10 – 25 mg/l) a také např. v borůvkách a jiných bobulovinách, v třešních, v bylinách (např. kopřiva, libeček, kapary), v brokolici či tykvi. Tepelnou úpravou nebo zmrazením se neničí [34].



Obr. 9: Kvercetin [35]

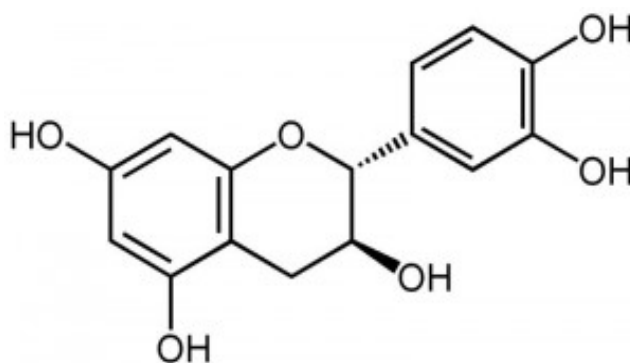
6.3.2 Flavanoly

Hlavními flavanoly jsou katechiny. Patří k nim např. katechin, epikatechin, epigallokatechin a jejich estery s kyselinou galovou. Jsou hlavně přítomné v čaji. Nálev ze zeleného čaje obsahuje kolem 1 g/l katechinů. V černém čaji je obsah redukován asi na polovinu

v důsledku oxidace na komplexnější polyfenoly během fermentace. Další zdroje jsou červené víno (270 mg/l) a čokoláda. [34].

6.3.2.1 Katechiny

Katechiny jako flavan-3-oly jsou chemicky příbuzné lekoantokyanům a z rostlinných flavonů jsou na nejvyšším redukčním stupni. Vyskytují se jako monomery, jejich převážná část v hroznových moštích je v polymerní formě a jsou součástí kondenzovaných tříslovin. Jejich monomery jsou bezbarvé, bez charakteristických vlastností polyfenolových pigmentů a tříslovin. V dimerní formě vykazují vlastnosti tříslovin. Hroznové mošty obsahují d-katechin, galokatechin, katechingalál a epikatechingalát [29].



Obr. 10: Katechin [36]

6.3.3 Proantokyany

Proantokyany jsou polymerní flavanoly. Jsou přítomny v rostlinách jako komplexní směsi polymerů s průměrným stupněm polymerace 4 – 11. Vyskytují se také vázány esterově s kyselinou galovou nebo ve formě dvojité spojených dimerů. Jejich struktura je velmi složitá, ale přesto v poslední době dochází ve výzkumu těchto látek k strmému rozvoji, v souvislosti se zdokonalováním separačních a identifikačních metod.

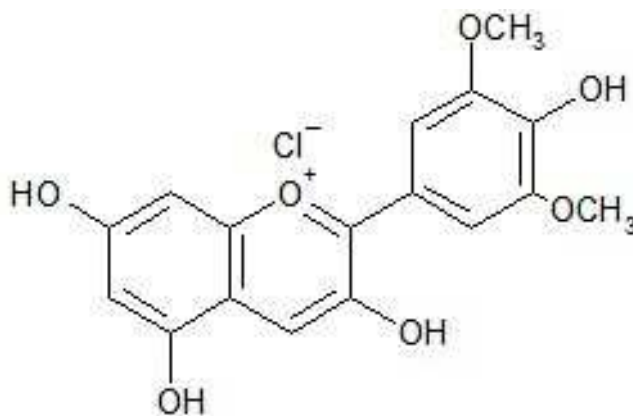
Vykazují astringentní účinky a výskytem jsou obvykle asociovány s flavanolovými katechiny. Běžným zdrojem jsou jablka, hrušky, hrozny, červené víno, čaj, čokoláda, kakao. [33].

6.3.4 Anthokyany

Velmi významnou skupinou fenolických látek jsou anthokyany. Jejich obsah v bobulích révy vinné se zvětšuje od fáze zaměkání k fázi zralosti. U většiny odrůd révy vinné se ant-

hokyany nacházejí pouze v horních vrstvách buněk slupky. Jen málo odrůd, které se nazývají „barvířky“, obsahuje anthokyonová barviva i v dužině [24].

Hlavním anthokyanovým barvivem v bobulích je malvidin. Dále bobule obsahuje delphinidin, kyaniduj, perunicin, peonidin. Většinou se tyto látky objevují ve formě 3-glukosidu. Vyskytují se i jako estery s kyselinou octovou, kyselinou koumarovou a kyselinou kávovou. Anthokyany jsou základem barevnosti růžových a červených vín. Macerace má velký vliv na extrakci barviv [24].



Obr. 11: Malvidin [30]

Jsou to glykosidické anthokyany, kterým cukernou složku tvoří nejčastěji ramnóza, galaktza, genciobióza a ojediněle xylóza, vázané v poleze 3, 5 a 7. Barevnost intenzivně ovlivňuje přítomnost minerálních látek a pH prostředí [29].

6.3.5 Leukoanthokyany

Leukoanthokyany (flavan-3,4-dioly), které obsahují mošty, se nacházejí v hojném množství v mnohých rostlinách a mají vlastnosti vitamínu P. Podle Robinsona nejvíce leukoanthokyany obsahují semena, z kterých se po čase nakvašení a losování vytlačí do moštů a mladých vín. Účinkem minerálních látek se transformují na příslušné anthokyany [29].

6.3.6 Flavanony

Flavanony jsou také nazývány „citrusové“ flavonoidy. Jsou to látky typicky se vyskytující v pomerančích a grapefruitech. K hlavním se řadí naringenin, hesperetin a jejich glykosidy. [33].

6.3.7 Isoflavonoidy

Zvláštní skupinu flavonoidů tvoří isoflavonoidy. Patří k nim především isoflavony daidzein a genistein. Nachází se hlavně v luštěninách, vydatným zdrojem je sója (1 – 3 mg/g) a veškeré produkty z ní. Jejich průměrný příjem potravou je v Japonsku vzhledem k vysoké konzumaci sóji 30 – 40 mg/den, zatímco u evropské populace jen 1 – 9 mg. [33].

6.4 Stilbeny

Nejdůležitějším zástupce stilbenů je resveratrol, látek která se vyskytuje ve slupkách hroznů révy vinné. Resveratrol je přítomen i ve víně. Antioxidační účinek resveratrolu je podstatnou součástí známého francouzského paradoxu [37].

K dietárním polyfenolům se řadí dále stilbeny. Nejsou v rostlinné říši příliš rozšířeny, avšak jeden z nich v nedávné minulosti vyvolal zvýšenou pozornost vědců. Jedná se o resveratrol, který byl po určitou dobu dáván do souvislosti s tzv. Francouzským paradoxem (V jedné oblasti Francie byl zaznamenán nápadně nízký výskyt kardiovaskulárních onemocnění a tato skutečnost byla vysvětlena zvýšenou konzumací červeného vína, za jehož hlavní účinnou složku byl považován právě resveratrol). Vzhledem k tomu, že koncentrace resveratrolu ve většině vín je podstatně nižší ve srovnání s ostatními polyfenoly, zdá se být jeho příspěvek k antioxidačním vlastnostem červeného vína nevýznamný. Je mu však věnována pozornost též v souvislosti s jeho antikancerogenními účinky, které byly popsány v roce 1997 [33].

6.5 Lignany

Isoflavony, lignany, kumestany a stilbeny tvoří nejrozrůznější skupiny fytoestrogenů a jsou v rostlinách přítomny především ve formě glykosidů. Lignany jsou v nejrůznějších semenech, celých zrnech, luscích zeleniny a v ovoci, ale při technologickém zpracování využívajícím moderní techniky mletí je obvykle frakce lignanů oddělena společně se slupkami a vlákninou. Z tohoto důvodu není lidská strava na lignany příliš bohatá. Nejdůležitějším zdrojem lignanů jsou rostlinné oleje, zejména lněný olej [38].

7 POLYFENOLY A KVALITA VÍNA

Fenolických sloučenin, zejména antokyanů, flavonoly, katechiny, a jiné flavonoidy, hrají významnou roli v jakosti vína. Přispívají k sensorické vlastnosti vín, zejména barvy a trpkosti [39].

Pro výrobu kvalitnějšího vína může být vyšší obsah polyfenolů s vyšší tendencí k oxidačnímu zhnědnutí lisované frakce [40].

7.1 Barva vína

Fenolické látky v červeném víně jsou z hroznové kůže, stejně jako z hroznových pecek, hroznové stopky, nebo hroznové dřeně, z nichž důležitými zdroji jsou všechny flavanoly, které jsou přenášeny do vína během údržby spolu s hroznovou šťávou na první fázi kvašení vína. Naopak, bílá vína jsou obvykle vyrobeny ze šťávy bez kontaktu s kůží hroznu a to je hlavní důvod pro relativně nízký obsah polyfenolů a na spodní antioxidační aktivitu bílého vína ve srovnání s červeným vínem [41].

Antokyaniny se skládají z molekuly cukru a vlastní barevné molekuly – aglykonu. Barva vína je závislá na typu aglykonu, celkové koncentraci antokyanů, ale především na pH prostředí a přítomnosti SO₂. Významný vliv na projevení barevných sloučenin a jejich stabilitu mají reakce antokyanů s acetaldehydem (vznikajícím především oxidací etanolu) a taniny, jejichž průběh je možné ovlivňovat jak během výroby, tak i při zrání vína [42].

7.2 Trpkost vína

Třísloviny byly stále více používány během posledních desetiletí [43]. Fenolické složky pocházejí z vinných hroznů, zvláště z kůže, která jsou odstraněny během vinifikace bílého vína [3]. Trpkost je důležitý rys červeného vína a má významnou roli v jeho celkové kvalitě [44].

Fenoly mají řadu významných rolí ve vinohradnictví a včetně ochrany UV, odolnosti k chorobám, opylování, barvu a obrana proti predaci v rostlinách, stejně jako opar formace, odstín a chuť s vínem [45].

V několika posledních letech byly fenolickým látkám, zejména flavonoidům a stilbenům prokázány prospěšné fyziologické účinky, zejména antioxidační vlastnosti, které mohou být spojeny se spotřebou červeného vína [46].

8 POLYFENOLY A JEJICH VLIV NA LIDSKÉ ZDRAVÍ

Víno obecně a především červenému vínu byly už ve starém Řecku i Římě přisunovány léčivé a posilující účinky. Bylo doporučováno lidem starým, zesláblým či stíženým chmurnými [5].

Víno bylo důležitá součást lidské kultury po více než 6000 let. Epidemiologické studie prokázaly vztah mezi konzumací červeného vína a nižším rizikem ischemické choroby srdeční [47].

Téměř každý ví, co je "francouzský paradox". Ten může být formulován jako: „Jestliže budeme mít nadměrnou konzumaci potravin s vyšším obsahem tuku, tak by mělo být základním pravidlem pit mírné množství červeného vína (cca dvě skleničky denně). Toto množství by mělo částečně chránit před srdečními poruchami [48].

Bylo zjištěno u zvířat a lidí, že absorbují mnoho polyfenolů s velmi cennými potenciálními přínosy protinádorového onemocnění [49]. Studie prokázaly, že mírná konzumace alkoholu snižuje úmrtnost a ICHS (ischemická choroba srdeční). Existují důkazy, že červené víno může nabídnout větší ochranu než bílé víno, pivo a lihoviny [44]. Červené víno je jedinečný nápoj, a to nejen kvůli jeho obsahu alkoholu, ale mnohem více kvůli přítomnosti polyfenolů, především kondenzovaných tříslovin, antokyanů a fenolových kyseliny [48].

Červené víno je bohatý dietní zdroj polyfenolů, a polyfenolických flavonoidy získané z červeného vína byly vyhodnoceny chrání proti oxidaci LDL [50]. Flavonoidy, které se vyskytují jak v jedlých rostlin a potraviny pocházejí z rostlin, tvoří podstatnou složek lidské stravy. Denní příjem flavonoidů v západních zemích se odhaduje, že má být mezi 0,5 a 1,0 g. Zdá se však, že daný příjem je často nižší [51]. Červená vína neobsahují významné množství vitaminů nebo selen, ale jejich ochranné účinky byly připsány fenolickým složkám a ty jsou navrhovány, že působí jako antioxidanty [41].

8.1 Funkce alkoholu na zdraví

Vypije-li zdravý dospělý člověk za den 2 až 3 dl vína při nasyceném žaludku, je dávka která svým obsahem průměrně 24 až 36g absolutního lihu jeho organismu neuškodí.

V některých případech předepisuje lékař určité množství vína, především při některých chorobách chronických a červené víno při střevních katarrech [52].

Výzkumy naznačují, že aspirin společně s mírnou konzumací alkoholu poskytují větší ochranu než každý zvlášť. Mírná konzumace alkoholu navíc inhibuje produkci tromboxy-
nů, chemických látek, které bouřlivě vysílají signály k destičkám, aby se zapojily do akce.

Jsou zde ale i další způsoby, kterými mírné množství alkoholu, zvláště vína, působí při prevenci srdečních selhání. Někdy, když jsme ve stresu, produkují bílé krvinky chemické látky zvané leukotrieny, které se podílejí na tvorbě zánětu. Protizánětlivé léky mohou zabránit tvorbě leukotrienů, ale to dokážou i fenolové sloučeniny, které jsou obsažené v červeném víně. Ženy až do období menopauzy mají obvykle vysoké hodnoty HDL. Zvyšovat hladinu HDL u mužů i u žen pomáhá mírná konzumace alkoholu [52].

8.1.1 Cévní mozková příhoda

Cévní mozková příhoda nastane, jestli není mozková tkáň dostatečně zásobena okysličenou krví, kterou nutně potřebuje. K takové situaci může dojít, když se například ucpe jedna z tepen vedoucí do mozku nebo když dojde k protržení stěny cév a následnému krvácení do mozku.

U lidí, kteří pijí jednu nebo dvě skleničky denně je o 25 % nižší pravděpodobnost, že skončí v nemocnici s krvácením do mozku než abstinenti. Ale lidé, kteří pijí tři a více sklenek denně, karta se obrací a ohrožení je o 40 % vyšší než u abstinentů [52].

8.1.2 Krevní tlak

Hypertenze neboli vysoký krevní tlak, to je jedním z nebezpečných ukazatelů na možnost infarktu myokardu či mrtvice. Vysoký krevní tlak upozorňuje na potíže, které jsou na dohled. Pokud krevní tlak stoupá, měli bychom se mít na pozoru.

Zdá se, že ve víně je látka, která obsahuje kladnou reakci na snižování tlaku. Lidé, kteří si vybírají víno, bývají spíše ženy, jsou také klidnější, méně kouří, většinou vzdělanější a najdeme u nich méně příznaku chorob [52].

8.1.3 Rakovina

Říká se: Konzumace destilátů, piva, koktejlů a jiných alkoholických nápojů může zvýšit nebezpečí ohrožení rakovinou a u těhotných žen způsobit poškození plodu.

Téměř všechny karcinogeny jsou mutageny, což znamená, že způsobují mutace a rozpad DNA, jež nese genetický kód. Některé buňky v těle napomáhají rakovinnému bujení a porodu mutačních procesů.

Alkohol, se považuje za 45 % příčinu případů rakoviny hrtanu a ústní dutiny, a u rakoviny jater přikládá alkoholu vliv na vznik 35 všech případů tohoto onemocnění. Těžký alkoholismus je většinou doprovázen kouřením a je nesnadné účinky obou faktorů od sebe oddělit, proto u těžkých alkoholiků je skutečně možné, aby rakovinu jícnu způsoboval žaludeční reflex, což znamená navracení potravy a žaludečních šťáv do spodní části jícnu.

U lidí pijící jednu sklenku denně a méně se riziko onemocnění rakovinou snižuje o 10 % [52].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

9 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce s názvem Obsah fenolických látek v různých odrůdách révy vinné bylo:

1. sběr hroznů odrůdy Burgundy modré, Frankovky a Muškátu moravského pro stanovení níže uvedených parametrů
2. popsat metodu stanovení celkových polyfenolů s činidlem Folin – Ciocalteu, metodu na stanovení antioxidační aktivity za použití DPPH a stanovení antimikrobiální aktivity pomocí difúzních disků na agar.
3. analyzovat polyfenolické látky, antioxidanty a antimikrobiální aktivitu v daných odrůdách révy vinné

10 MATERIÁL

Pro metodu stanovení antioxidantů v bobulích a ve slupkách révy vinné je vhodné využití metody volného radikálu DPPH s použitím UV/VIS spektrofotometru.

Ke stanovení obsahu celkových polyfenolů byla použita metoda s činidlem Folin - Ciocalteu a spektrometrickým měřením.

Stanovení antimikrobiální aktivity bylo pomocí diskové difúzní metody v agaru.

10.1 Použitá činidla, roztoky a přístroje

DPPH - 1,1-Difenyl-2-pikrylhydrazyl , Aldrich, Germany

CH₃OH - metanol, Penta, ČR

KA a její roztok - kyselina askorbová, Ing.Petr Lukeš, ČR

0,1M NaOH - Penta, ČR

20 % Na₂CO₃ - Penta, ČR

Folin-Ciocalteu činidlo - Sigma, Germany

Müller – Hintonův agar - HiMedia Laboratories

Destilovaná voda

UV/VIS spektrofotometr - Carl Zeiss Jena, Germany

Inkubátor Memmert – Germany

Spekol 11 je jednopaprskový spektrofotometr, vybavený mikroprocesorovou jednotkou. Podle druhu připojené měřicí násady se mění i druh jeho použití k měření nejrůznějších veličin. Zdrojem záření je halogenová projekční žárovka, přijímačem prošlého záření je vakuová fotonka citlivá na modrou (rozsah λ : 340 - 620 nm) nebo červenou (620 - 850 nm). Indikace naměřené hodnoty je digitální čtyřmístná. Záření prochází nejprve kondenzorem a filtrem, který vymezí příslušnou vlnovou délku (v rozmezí 340 - 850 nm). Po průchodu kyvetou dopadá zeslabené záření na fotonku a dále se vyhodnocuje [53].

10.2 Použité mikroorganismy

Escherichia coli $1,3 \cdot 10^7$ cfu/ml

Staphylococcus aureus $1,2 \cdot 10^7$ cfu/ml

10.3 Vzorky vybraných odrůd

Vzorky vybraných odrůd použité k vypracování diplomové práce jsou z Burgundy modré, Muškátu moravského a Frankovky. Jsou požity jejich slupky, bobule a pozdní sběry. Hrozny byly použity pro získání extraktů z bobulí a ze slupek.

Tab. 5: Vzorky odrůd pro stanovení antioxidační aktivity, celkových polyfenolů a antimikrobiální aktivity

Odrůda	Složka hroznu
Burgunda modrá	Bobule
Burgunda modrá - pozdní sběr	Bobule
Burgunda modrá	Slupky
Muškrát moravský	Bobule
Muškrát moravský	Slupky
Frankovka – pozdní sběr	Bobule
Frankovka	Slupky

11 METODY

11.1 Získání extraktů

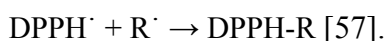
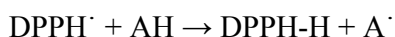
Z rozmražených hroznů byly odstraněny třapiny a bobule byly homogenizovány v 90 % metanolu. Poté se nechaly vyluhovat po dobu 30 minut a při protřepávání měly pouze 4 °C. Bylo nutné si odděleně od zbytku směsi předpřipravit kvasinky v malé kádince. K 3,5 ml vzorku se přidaly kvasinky (granulované) a stejný poměr destilované vody (3,5 ml). Nechaly se 20 minut rozkvasit a poté se přidaly ke zbytku směsi (kvasinky spotřebovaly glukózu a vznikl CO₂). Po smíchání se vše převedlo do Erlen-Mayerových baněk s objemem 500 ml tak, aby u uzávěru zůstalo co nejméně volného prostoru pro vzduch. Zazátkovaly se uzávěrem propustným pro plyny, aby CO₂ mohl unikat ven a baňky se uložily ve tmě, na dobu 3-5 dní.

V centrifuze se množství 1990 g materiálu odstředilo po dobu 10 minut. Po dalších 30 minutách se provedla druhá extrakce a opětovné odstředování. Sediment se opláchnul 90 % metanolem a znovu odstředil. Supernatanty se sloučily a celkový objem byl zaznamenán [54].

11.2 Stanovení antioxidační aktivity za použití DPPH

Tato metoda je považována za jednu ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků [55]. Spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem difenylpikrylhydrazylem - DPPH• (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl). Při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky. Pokles absorbance při 517 nm se měří buď po uplynutí určitého konstantního času nebo se pracuje v kinetickém režimu. Reakci je možno sledovat i metodou elektronové spinové rezonance (ESR) nebo HPLC. U barevných vzorků je výhodné využití HPLC, při které je hodnocen pík radikálu DPPH•, na rozdíl od spektrofotometrie je zde zabarvení vzorku eliminováno [56].

Při tomto testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem (R•) roztok odbarví:



11.2.1 Pracovní postup

11.2.1.1 Příprava standardu kyseliny askorbové a vzorků

Připraví roztok kyseliny askorbové. Rozpustí se 0,16 g kyselina askorbové ve 200 ml destilované vody. Tím se získá koncentrace 800 mg/l. Vzorky extraktů z hroznů se analyzovaly bez dalších úprav. Pipetované množství k analýze bylo 450 μ l pro metodu DPPH.

11.2.1.2 Příprava DPPH

DPPH (24 mg) rozpustíme v metanolu (100 ml) pro získání základního roztoku o koncentraci 240 mg.l⁻¹. Smícháním 20 ml zásobního roztoku s 90 ml metanolu se získává pracovní roztok k absorpaci 1,1 \pm 0,02 jednotek při 515 nm pomocí spektrofotometru.

11.2.1.3 Metoda DPPH

Roztok kyseliny askorbové (KA) se následně naředí na koncentrace 200 mg/l; 160 mg/l; 120 mg/l; 80 mg/l; a 40 mg/l. Pro každé ředění se připraví dvě odměrné baňky, celkem tedy deset baněk. Do každé baňky se dá 450 μ l roztoku kyseliny askorbové daného ředění a 8,55 ml pracovního roztoku. Po smíchání se dá na jednu hodinu do tmy a nechá se reagovat. Po jedné hodině se měří absorbance na spektrofotometru vzhledem k metanolu. Měří se i absorbance pracovního roztoku. Ze získaných hodnot se vypočítá pokles absorbance dle vzorce. Výsledky se zanesou do grafu a získá se kalibrační křivka.

11.3 Stanovení celkových polyfenolů

Polyfenoly jsou nejvíce obsaženy ve slupce vína a po narušení buněk přechází do vína. Veškeré fenolické sloučeniny obsažené ve víně se oxidují činidlem Folin – Ciocalteu. Toto činidlo se skládá ze směsi kyseliny fosfowolframové a kyseliny fosfomolybdenové, která se během oxidace fenolů redukuje na směs modrých oxidů wolframu a molybdenu. Vytvořené modré zabarvení má maximální absorpci v oblasti vlnové délky asi 750 nm. Je úměrné celkovému množství původně přítomných fenolických sloučenin. Toto činidlo je doplněno vodou na 20 % roztok [58].

11.3.1 Pracovní postup

11.3.1.1 Příprava standardu

Fenolický standard (5000 mg/l kyseliny galové). Připraví se zásobní roztok kyseliny galové o koncentraci rozpuštěním 500 mg kyseliny galové v destilované vodě a doplnění se na konečný objem 100 ml.

11.3.1.2 Metoda s činidlem Folin - Ciocalteu

Ze standardního roztoku taninu bylo odpipetováno do 6 ti 50 ml odměrných baněk 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 ml roztoku. Současně se do sedmé 50 ml odměrné baňky odpipetoval 1 ml čirého roztoku vína (při obsahu polyfenolů vyšším, než 1000 mg/1 litr vína, se pipetuje pouze 0,5 ml) zředěného destilovanou vodou v poměru 1:5 (20 %). Do všech odměrných baněk se přidalo cca 20 ml destilované vody, 1 ml Folin – Ciocalteu činidla a obsah se promíchal. Po třech minutách se přidalo 5 ml 20% roztoku Na_2CO_3 , obsah se opět promíchal a doplnil destilovanou vodou po rysku. Po 30 minutách se změřila intenzita zbarvení v 10 mm kyvetě při 700nm proti slepému pokusu (nulový obsah taninu) [59].

11.4 Stanovení antimikrobiální aktivity

Ke stanovení antimikrobiální aktivity se používá několik metod: disková difúzní metoda v agaru, diluční metoda v bujónu, gradientová difúzní metoda v agaru.

11.4.1 Pracovní postup:

Pro měření antimikrobiální aktivity z extraktů bylo použito diskové difúzní metody v agaru. Pro diskovou difúzní metodu se používá Müller – Hintonův agar. Na agar se zaočkují inokula mikroorganismů a poté se na něj pokládají disky s antimikrobiální či jinou zkoumanou látkou. Pak se misky s agarem inkubují při 35 °C po dobu 16 až 24 hodin. Po inkubaci se citlivost na danou látku projeví inhibiční zónou růstu, její průměr se měří v celých mm posuvným měřidlem (např. šuplerou) [60].

11.4.1.1 Disková difúzní metoda v agaru

Několik kolonií se nabere bakteriologickou kličkou z povrchu agaru a zhotoví se inokolum. Použijí se kolonie mikroorganismů *Stafylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Kolonie se

suspendují do fyziologického roztoku. Vatový tampón se zvlhčí suspenzí a tampónem se naočkuje pomocí něj Müller – Hintonův agar. [61]

Z filtračního papíru s Ø 10 mm se připraví jeden centimetr velké disky. Pro extrakt z jedné odrůdy révy vinné se připraví celkem čtyři disky. Celkově se na disk napipetuje 15 µl metanolového extraktu. Na kontrolní disk se napipetuje stejné množství čistého 90 % metanolu. Po zaschnutí se disky kladou na Müller – Hintonův agar. Na jednu misku se položí dva disky. Na jeden vzorek připadají čtyři misky, dvě misky s mikroorganismy *Stafylococcus aureus* a dvě s *Escherichia coli*. Disk napuštěný metanolem slouží jako kontrolní [60].

12 VÝSLEDKY A DISKUZE

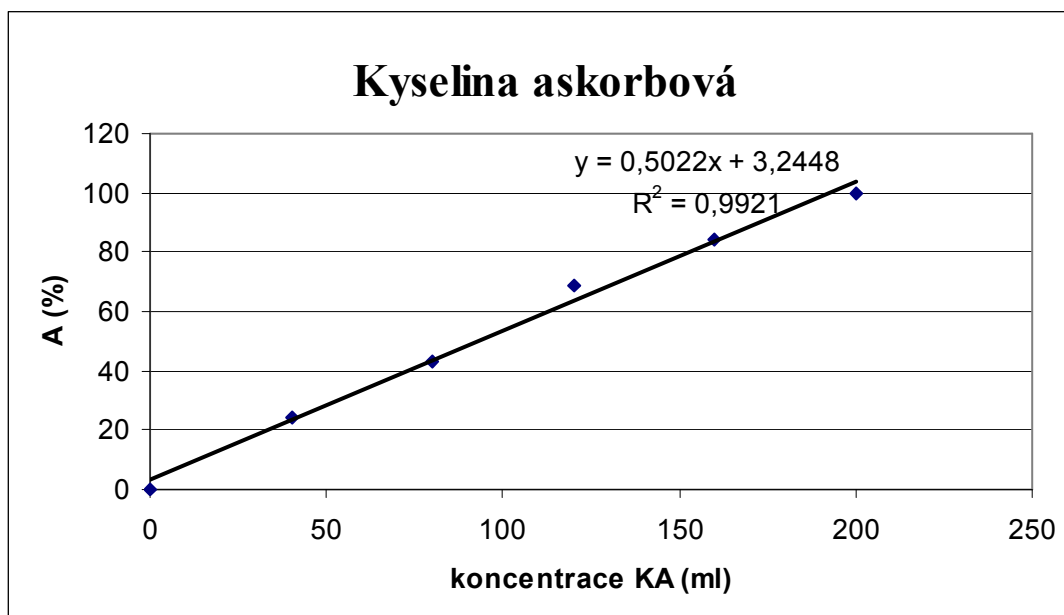
12.1 Výsledky stanovení antioxidační aktivity

Výsledky kalibrační křivky, které jsme naměřili, byly podle metodiky, která je popsána v kapitole 11.2. Průměrný obsah jednotlivých antioxidantů byl vypočten podle vzorce (%) = $(A_0 - A_1/A_0) \cdot 100$, přičemž hodnota A_1 je absorpance vzorku a pracovního roztoku po reakci DPPH na koncentrovanou KA metanolem a A_0 je absorpance samotného pracovního roztoku DPPH na metanol.

Tab. 6: Naměřené hodnoty absorpance ze standardního KA

Koncentrace (ml)	Absorbance (ml)	Hodnota poklesu intenzity zbarvení (%)
40	0,692	24,58
80	0,368	43,41
120	0,266	68,84
160	0,121	84,30
200	0,039	99,7

Graf 1: Kalibrační křivka KA



Výše uvedeným postupem se získaly výsledky obsahu antioxidantů z extraktů v červených a bílých vybraných odrůdách hroznů, buď v jejich bobulích, nebo ve slupkách, kde místo KA byl použit vzorek odrůdy.

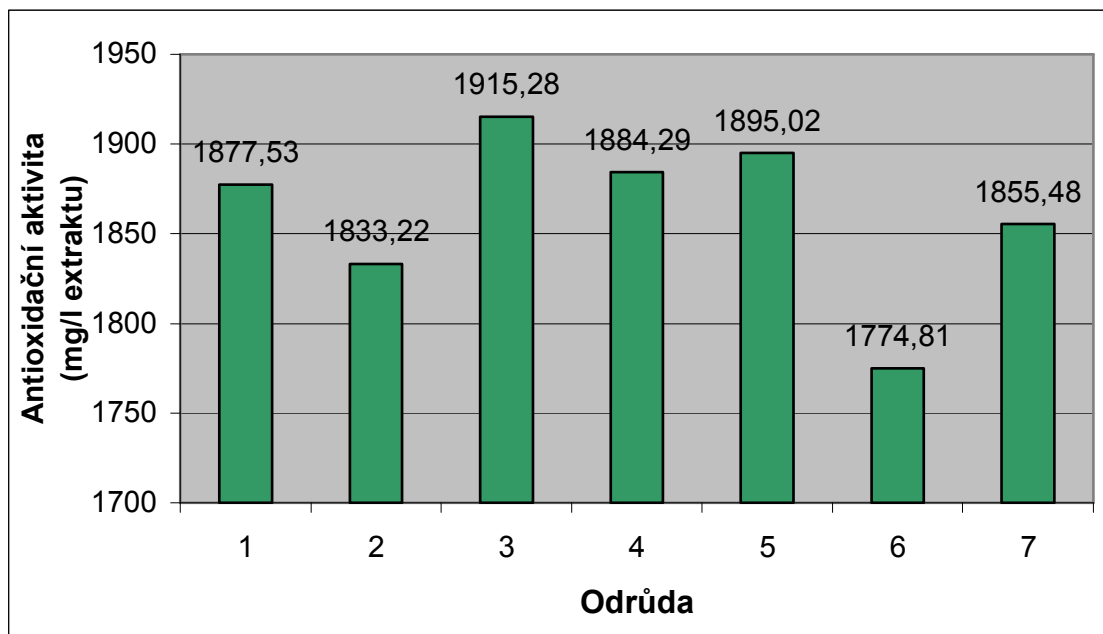
Tab. 7 :Stanovení antioxidační aktivity v odrůdách révy vinné vyjádřených na kyselinu askorbovou (mg AAE.l⁻¹ extraktu)

Vzorek (ml)	Složka hroznů	Antioxidační aktivita (mg/l extraktu)
Burgunda Modrá	Bobule	1877,53
Muškát Moravský	Slupky	1855,48
Frankovka	Bobule – pozdní sběr	1884,29
Muškát Moravský	Bobule	1774,81
Frankovka	Slupky	1895,02
Burgunda Modrá	Bobule – pozdní sběr	1833,22
Burgunda Modrá	Slupky	1915,28

Z tabulky číslo 8 lze vyčíst výsledné hodnoty antioxidační aktivity v červených i bílých odrůdách révy vinné. Bílé odrůdy ve srovnání s červenými mají antioxidační aktivitu mnohem nižší. Nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena ve slupkách Burgundy modré 1915,28 mg/l extraktu a nejnižší naměřená antioxidační aktivita byla v bobulích Muškátu Moravského 1774,81mg/l extraktu.

Vyšší antioxidační aktivita u červených odrůd je způsobena tím, že mají více tříslovin než bílé, které ovlivňují celkové vlastnosti vín. Bílé odrůdy mají větší obsah cukrů a organických kyselin a patří k odrůdám s výraznou vůní a chutí než červená vína.

Graf 2: Antioxidační aktivita vybraných odrůd révy vinné



Pozn. 1 – Burgunda modrá (bobule), 2 – Burgunda modrá – pozdní sběr (bobule), 3 – Burgunda modrá (slupky), 4 – Frankovka – pozdní sběr (bobule), 5 – Frankovka (slupky), 6 – Muškát moravský (bobule), 7 – Muškát moravský (slupky)

Z grafu č. 2 lze vyčíst, že z bobulí vybraných odrůd byla stanovena antioxidační aktivita z Frankovky s obsahem 1884,29 mg/l extraktu, který dosahoval nejvyšší hodnot a nejnižší hodnota z bobulí byla naměřena v Muškátu moravském s antioxidační aktivitou 1774,81 mg/l extraktu. Vyšší antioxidační aktivitu měly bobule červených vín je, protože obsahují více tříslovin, které dodávají barvu a také trpkost vínům. Nejvyšší antioxidační aktivitu ve slupkách ze všech vybraných odrůd byla stanovena v Burgundě modré pozdního sběru s naměřenou hodnotou 1915,28 mg/l extraktu a nejnižší antioxidační aktivita byla v Muškátu moravském, která obsahovala 1855,48 mg/l extraktu. V bobulích – pozdního sběru u Frankovky měla vyšší antioxidační aktivitu 1884,29 mg/l extraktu než v bobulích – pozdního sběru u Burgundy modré, která měla antioxidační aktivitu 1833,22 mg/l extraktu.

U Burgundy modré byla naměřena vyšší antioxidační aktivita ve slupkách, která dosahovala hodnot 1915,28 mg/l extraktu a nižší byla v bobulích – pozdního sběru, která měla antioxidační aktivitu 1833,22 mg/l extraktu. U odrůdy Frankovky byla také vyšší antioxidační aktivita ve slupkách s hodnotou 1895,02 mg/l extraktu a v bobulích – pozdního sběru byla

antioxidační aktivita nižší, která dosahovala hodnot 1884,29 mg/l extraktu. I Muškát moravský měl vyšší antioxidační aktivitu ve slupkách s hodnotou 1855,48 mg/l extraktu a bobule měla antioxidační aktivitu 1774,81 mg/l extraktu.

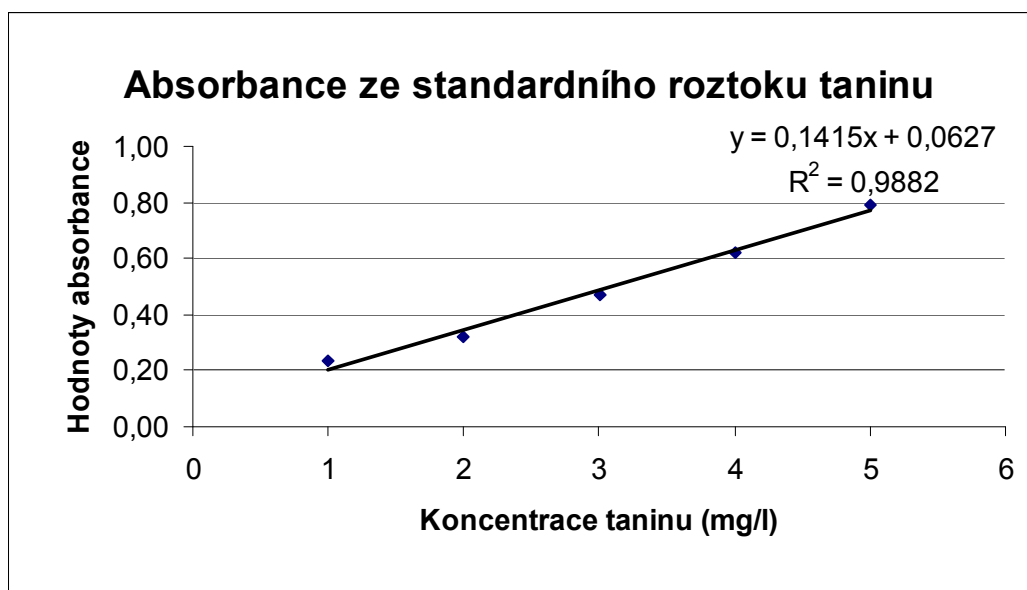
12.2 Výsledky stanovení polyfenolů v s činidlem Folin-Ciocalteu

Výsledky kalibrační křivky, které jsme naměřili, byly podle metodiky, která je popsána v kapitole 11.3. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost absorbance na koncentraci standardů taninu.

Tab. 8: Naměřené hodnoty absorbance ze standardního taninu

Koncentrace (mg/l)	Absorbance (ml)
1	0,234
2	0,319
3	0,473
4	0,618
5	0,792

Graf 3: Kalibrační křivka taninu



Výše uvedeným postupem se získali hodnoty absorbance jednotlivých vzorků odrůd po vylisování. Obsah polyfenolů je vyjádřen v mg/l extraktu.

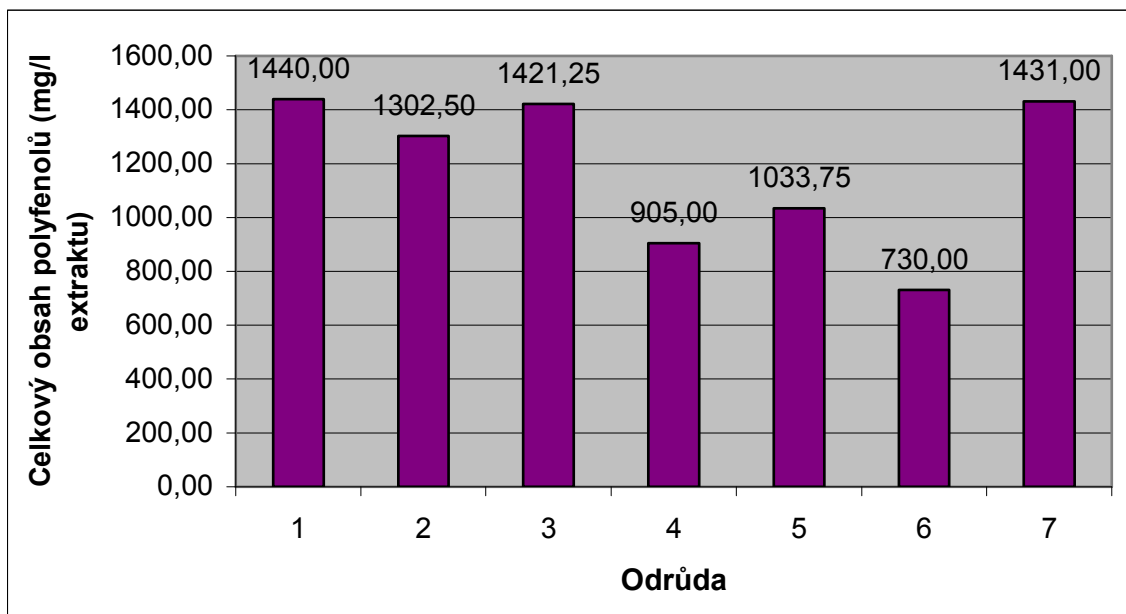
Tab. 9: Obsah celkových polyfenolů v odrůdách révy vinné vyjádřených jako obsah taninu (mg.l⁻¹ extraktu)

Odrůda	Složka hroznu	Obsah polyfenolů (mg/l extraktu)
Burgunda modrá	Bobule	1440,00
Burgunda modrá – pozdní sběr	Bobule	1302,50
Burgunda modrá	Slupky	1 421,25
Muškát moravský	Bobule	730,00
Muškát moravský	Slupky	1431,00
Frankovska – pozdní sběr	Bobule	905,00
Frankovka	Slupky	1033,75

Z tabulky číslo 9 lze vyčíst výsledné hodnoty koncentrace polyfenolických látek ve vybraných odrůdách révy vinné. V průměru vyšší koncentrace mají červené odrůdy ve srovnání s bílými. Jedním z důvodů proč je vyšší obsah polyfenolické látky v červených odrůdách je že obsahují více tříslovin, které dodávají barvu a také charakteristickou trpkost.

Touto metodou byl stanoven nejvyšší obsah polyfenolů ze slupek Burgundy modré 1440,00 mg/l extraktu. Nejnižší obsah polyfenolických látek byl stanoven v bobulích Muškátu moravského a to 730 mg/l extraktu. O něco vyšší obsah byl stanoven ve slupkách Frankovky pozdního sběru a to 905,00 mg/l extraktu.

Graf 4: Celkový obsah polyfenolů ve vybraných odrůdách révy vinné



Pozn. 1 – Burgunda modrá (bobule), 2 – Burgunda modrá – pozdní sběr (bobule) 3 – Burgunda modrá (slupky), 4 – Frankovka – pozdní sběr (bobule), 5 – Frankovka (slupky), 6 – Muškát moravský (bobule), 7 – Muškát moravský (slupky)

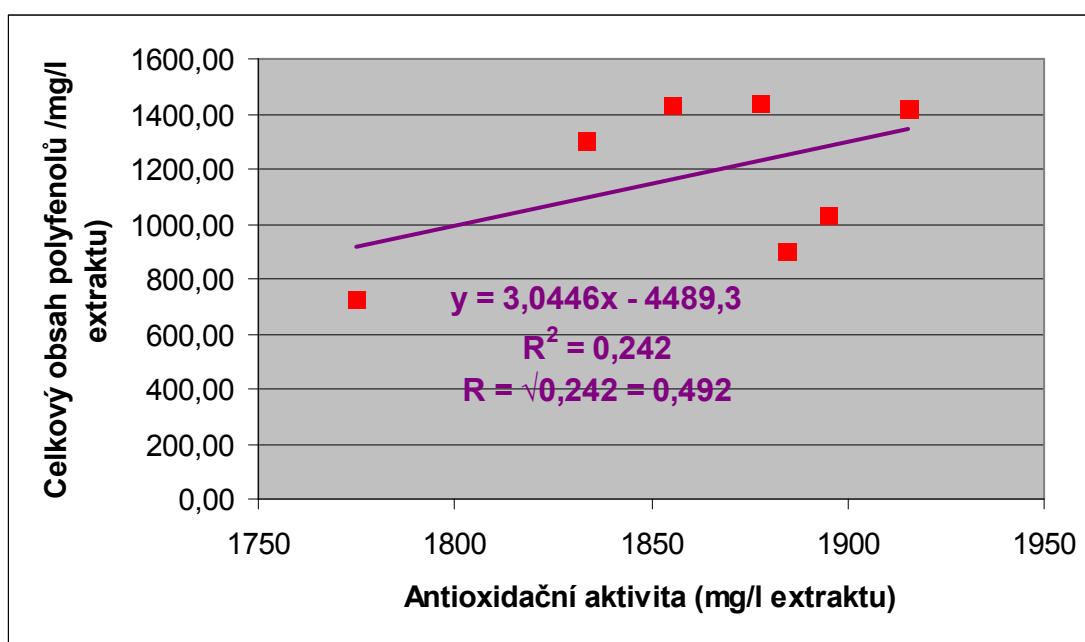
Podle grafu 4 je zřejmé, že z vybraných odrůd v bobulích měla Burgunda modrá nevyšší obsah polyfenolů 1440,00 mg/l extraktu a v bobulích Frankovky byl stanoven nejnižší obsah polyfenolů 1033,75 mg/l extraktu. Ve slupkách ze všech stanovovaných odrůdy byl nejvyšší obsah polyfenolů v Muškátu moravském. Tyto slupky měly naměřenou hodnotu 1431,00 mg/l extraktu. Nejnižší celkový obsah polyfenolů ve slupkách měla Frankovka s hodnotou 905,00 mg/l extraktu. Burgunda modrá měla v bobulích – pozdního sběru obsah polyfenolů 1302,50 mg/l extraktu, který byl vyšší než obsah polyfenolů ve Frankovky – pozdního sběru s obsahem polyfenolů 905,00 mg/l extraktu.

U Burgundy modré byl stanoven touto metodou vyšší obsah polyfenolů ve slupkách. U této vybrané odrůdy to je 1440,00 mg/l extraktu. V bobulích byl obsah stanoven mnohem nižší obsah polyfenolů 1302,50 mg/l extraktu. Obsah polyfenolů vybrané odrůdy Muškátu moravského ve slupkách byl 1431,00 mg/l extraktu a měl vyšší hodnotu než stanovený obsah polyfenolů v bobulích, které měly obsah polyfenolů 730 mg/l extraktu. Ve slupkách Frankovky byl stanoven obsah polyfenolů mnohem vyšší a to 1033,75 mg/l extraktu než

v bobulích – pozdního sběru. V bobulích – pozdního sběru byl stanoven obsah polyfenolů 905,00 mg/l extraktu.

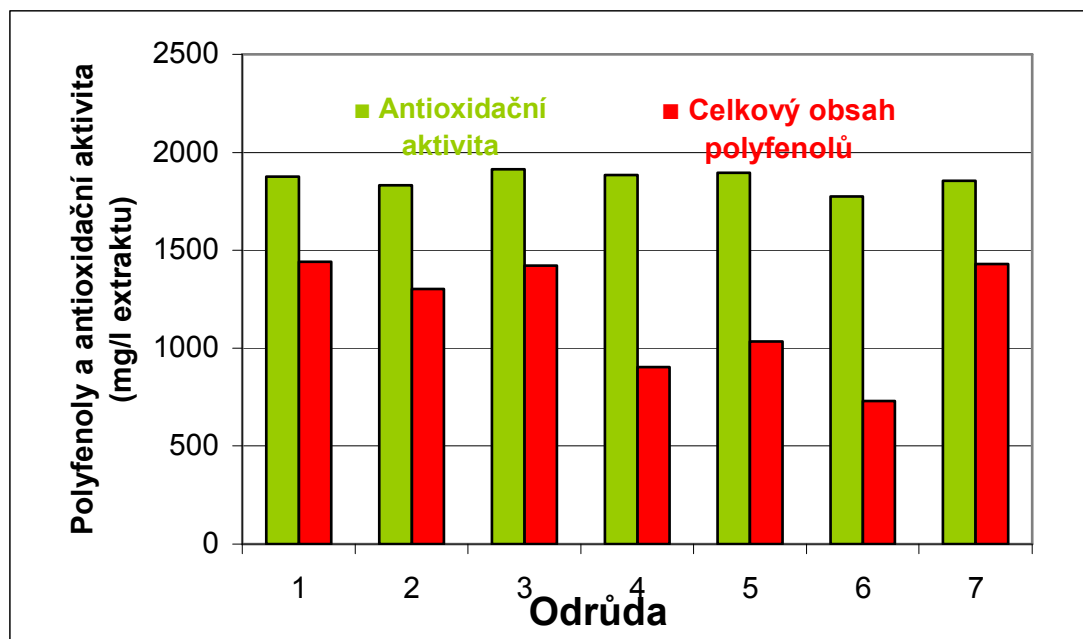
12.3 Srovnání celkových obsahů polyfenolů a antioxidační aktivity ve vybraných odrůdách révy vinné

Graf 5 :Korelace celkových obsahů polyfenolů a antioxidační aktivity ve vybraných odrůdách révy vinné



Z grafu vidíme, že rovnice regrese je: $y = 3,0446 \cdot x - 4489,3$ a index korelace je $R^2 = \sqrt{0,242} = 0,492$. Korelační koeficient 0,492 je ukazatel, který měří lineární vztah mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů v extraktech z hroznů. Hodnota korelačního koeficientu se pohybuje od -1 do 1. Záporná korelace, určuje záporný vzájemný vztah veličin, při kladných hodnotách se objevuje kladná závislost a u hodnot blízkých nule mluvíme většinou o slabé vzájemné závislosti. Podle našeho koeficientu korelace, který je 0,492. Můžeme usoudit, že se jedná o střední korelaci mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů

Graf 6: Srovnání celkových obsahů polyfenolů a antioxidační aktivity ve vybraných odrůdách révy vinné



Pozn. 1 – Burgunda modrá (bobule), 2 – Burgunda modrá – pozdní sběr (bobule), 3 – Burgunda modrá (slupky), 4 – Frankovka – pozdní sběr (bobule), 5 – Frankovka (slupky), 6 – Muškát moravský (bobule), 7 – Muškát moravský (slupky)

Z grafu můžeme vyčíst, že antioxidační aktivita byla v některých odrůdách z extraktu hroznů mnohem vyšší navzdory obsahu polyfenolů. Nižší obsah polyfenolů byl u extraktu z Frankovky, která špatně odolává zimě a mrazům. Frankovka má také menší obsah tříslovin a taky vyšší obsah kyselin. Nižší obsah polyfenolů byl také z extraktu Muškátu moravského v jeho bobulích. Bobule Muškátu moravského mají vyšší obsah cukrů a tak je obsah kyselin nižší.

12.4 Disková difúzní metoda

Výsledky antimikrobiální aktivity, které jsme naměřili, byly podle metodiky, která je popsána v kapitole 11.4, byly provedeny u všech vzorků odrůd. Stanovení bylo provedeno u každého extraktu čtyřikrát na jeden mikroorganismus.

Tab. 10: Stanovení antimikrobiální aktivity v odrůdách révy vinné diskovou difúzní metodou v agaru

Vzorek		Průměr*/šířka inhibiční zóny (mm)					
		E. coli (CCM 4517)			S. aureus (CCM 4516)		
		1.	2.	Ø	1.	2.	Ø
Muškát moravský - bobule	miska 1	10/0	10/0		10/0	10/0	
	miska 2	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0
Muškát moravský - slupky	miska 1	10/0	10/0		10/0	10/0	
	miska 2	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0
Burgunda modrá pozdní sběr - bobule	miska 1	10/0	10/0		10/0	10/0	
	miska 2	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0
Burgunda modrá - bobule	miska 1	10/0	10/0		10/0	10/0	
	miska 2	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0
Burgunda modrá - slupky	miska 1	10/0	10/0		10/0	10/0	
	miska 2	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0
Frankovka pozdní sběr - bobule	miska 1	10/0	10/0		10/0	10/0	
	miska 2	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0
Frankovka - slupky	miska 1	10/0	10/0		10/0	10/0	
	miska 2	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0

* - tj. Ø disku + 2x zóna

Pro stanovení antimikrobiální aktivity byl použit extrakt bez úpravy, protože jsme zjišťovali antimikrobiální účinek hroznů při jejich konzumaci. U hroznů nebyly zjištěny žádné antimikrobiální účinky. Negativní výsledek může být příčinou nízké koncentrace látek rozpustěných v extraktu a přítomných na difúzním disku. Z tabulky můžeme tedy vyčíst, že extrakty z hroznů neměly inhibiční vliv na *Stafylococcus aureus* a *Escherichia coli*.

13 SHRNUTÍ

Fenolické sloučeniny se přirozeně vyskytují v rostlinách. Fenolické látky patří do skupiny antioxidantů, které se dostávají z hroznů do moštů při lisování. Obsah antioxidantů je využíván proti ochraně nebezpečným účinkům volných radikálů [62].

Pro zjištění antioxidační aktivity, obsahu celkových polyfenolů a antimikrobiální aktivity byly získány extrakty ze dvou červených odrůd hroznů Burgundy modré a Frankovky a z jedné bílé odrůdy - hroznů Muškátu moravského. U Burgundy modré byly použity slupky, bobule a bobule - pozdní sběr, u Frankovky sluky a bobule - pozdní sběr. Z bílých odrůd to byl Muškát moravský, ze kterého byly použity slupky a bobule.

U červených vín je vyšší antioxidační aktivita jak ve slupkách, tak i v bobulích a především v bobulích – pozdní sběr. Nejvyšší antioxidační aktivitu měla odrůda Burgunda modrá, která je drsnější odrůda a její obsah látek vystupuje a právě až po delším zrání [8]. O něco nižší byl obsah u Frankovky, to může být způsobeno, že Frankovce naše podmínky pro pěstování moc nevyhovují [5]. U bílých vín je obsah antioxidantů menší, námi byla vybrána výrazná odrůda Muškátu moravského, která měla nejnižší obsah antioxidantů jak ve slupce, tak i v bobulích.

Pro zjištění obsahu antioxidantů v extraktech hroznů byla zvolena metoda používající DPPH činidlo. Princip spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem difenyl-pikrylhydrazylem - DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) s antioxidanty obsaženými ve vzorku. Při reakci dochází k poklesu absorbance při 517 nm a barva DPPH roztoku se změní z fialové přes žlutou.

Podle námi naměřenými výslednými hodnotami antioxidační aktivity v bobulích měla Burgunda modrá nejvyšší antioxidační aktivitu 1877,53 mg/l extraktu a nejnižší byla naměřena v bobulích Muškátu moravského 1774,81 mg/l extraktu. Ve slupkách nejvyšší antioxidační aktivitu měla také Burgunda modrá 1915,28 mg/l extraktu a ve slupkách Muškátu moravského byla stanovena nejnižší antioxidační aktivita 1855,48 mg/l extraktu.

Podobnou prací se zabýval Baiano Antoinetta a kol., který v regionu Apulie, která leží v jihovýchodní Itálii, extrahoval a analyzoval jejich obsahy polyfenolů a antioxidační aktivity v semenech, slupce a dužiny sedm stolních hroznů révy vinné. Z celých bobulí stanovil nejvyšší obsah fenolických látek u odrůd Italia a Michele Palieri. Zjistil, že také semena bobulí měly vysoký vliv na antioxidační aktivitu extraktu. Je to z důvodu vyššího obsahu

fenolů než slupka a obsahují vysoké množství proantokyanidinů. Proantokyanidiny jsou flavanoidy známé vysokými antioxidačními vlastnostmi. Nejsilnější antioxidační aktivita však byla ze šťávy z hroznů, díky jejich obsahu hydroxycinnamylových kyselin. U bílých hroznů z odrůdy Italia měl nejvyšší obsah polyfenolů extrakt z bobule, zatímco u bezsemenné odrůdy Thompson byl prokázán nejmenší obsah polyfenolů extraktu z bobule [63].

V práci Bartolomé B. a kol. je, že antioxidanty z hroznů mají částečně ochranné účinky proti kardiovaskulárním onemocněním, proto je doporučováno střídání pití vína. Antioxidační aktivita z extraktů slupek hroznů je poměrně vysoká v porovnání s jinými potravinami a je ovlivněna odrůdou, etapou zrání hroznů a ročníku sklizně. Antioxidační aktivita ze slupek se převádí do vína. Nasvědčují tomu odrůdy s vysokou antioxidační aktivitou ve slupkách, které potom mají také vysokou antioxidační aktivitu ve víně [64].

Námi naměřené výsledné hodnoty koncentrace polyfenolických látek měly v průměru vyšší koncentrace červené odrůdy ve srovnání s bílými. Jedním z důvodů proč je vyšší obsah polyfenolické látky v červených odrůdách je že obsahují více tříslovin, které dodávají barvu a také charakteristickou trpkost.

Metodou Folin - Ciocalteu byl stanoven nejvyšší obsah polyfenolů ve slupce odrůdy Muškátu moravského 1431,00 mg/l extraktu z hroznů. Další nejvyšší obsah polyfenolů měla slupka Burgundy modré 1440,00 mg/l extraktu. Nejnižší obsah polyfenolických látek byl stanoven v bobulích Muškátu moravského a to 730 mg/l extraktu. O něco vyšší obsah stanoven ve slupce Frankovky pozdního sběru a to 905,00 mg/l extraktu.

Obsah polyfenolických látek mají získané extrakty ze zkoumaných odrůd podobné hodnoty. Stanovený obsah polyfenolických látek u extraktu z odrůdy Burgundy modré měl nejvyšší hodnotu ve slupkách, které obsahují kolem 40 % fenolických látek. Polyfenoly obsažené ve slupkách přecházejí do vína na začátku výrobního procesu, při nakvašení rmutu [65].

Šulc a kol. měřili celkové polyfenoly v hroznech vybraných odrůd v moštu, bobulích a semenech. Jejich výsledky hroznového moštu obsahovaly obecně největší množství celkových polyfenolů. V této práci je dokázán vyšší obsah polyfenolů u červených odrůd oproti bílým. Průměrný obsah celkových polyfenolů hroznového moštu u bílých odrůd se pohyboval v rozmezí 172,77 mg.l⁻¹ - 254,00 mg.l⁻¹ hroznového moštu a u modrých odrůd 165,82 mg.l⁻¹ - 447,06 mg.l⁻¹ hroznového moštu [66].

V semenech byl obsah celkových polyfenolů vyšší v porovnání s jeho obsahem ve slupkách bobulí. Průměrný obsah v roce 2001 ze všech hodnocených odrůd činil 91 450 mg.kg⁻¹ sušiny, z toho maximum vykazala červená odrůda Burgunda modrá (124 110 mg.kg⁻¹ sušiny) a minimum bílá odrůda Kerner s 67 400 mg.kg⁻¹ sušiny. V roce 2002 byl nejvyšší obsah naměřen u bílé odrůdy Aurelius (133 860 mg.kg⁻¹ sušiny) a naopak nejnižší u bílé odrůdy Kerner (78 430 mg.kg⁻¹ sušiny) [66].

Pro stanovení antimikrobiální aktivity jsme požili diskovou difúzní metodu v agaru, kde se používá Müller – Hintonův agar. Extrakty z hroznů neměly inhibiční vliv na *Stafylococcus aureus* a *Escherichia coli* a nebyly zjištěny žádné antimikrobiální účinky. Negativní výsledek může být příčinou nízké koncentrace látek rozpuštěných v extraktu a přítomných na difúzním disku.

Adedayo M. R. a Ajiboye A. E. tvrdí, že *Staphylococcus aureus* je méně náchylný k antimikrobiálním látkám, což již už dříve uváděl autor Saxena (1983) [67].

En-Qin Xia a kol. u rostlinných polyfenolů prokázali antibakteriální potenciál, protiplísňový a antivirový efekt [68]. Rodriguez-Vaquero a kol. ukázali, že hroznové víno potlačuje růst mikroorganismů *Escherichia coli*. Zvýšenou koncentrací polyfenolů vína byly účinné proti všem testovaným bakteriím. Na extraktech bez alkoholu červených a bílých vín byla stanovena antimikrobiální aktivita některých patogenů, jako je *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Candida albicans*. Výsledky naznačují, že polyfenolické sloučeniny obsažené v červeném víně byly jednou z příčin za antimikrobiální účinky. Některé studie uvádějí, že fenolické sloučeniny inhibují i další patogeny jako je *Salmonella typhimurium* a *Listeria monocytogenes* [69].

Podle En-Qin Xia a kol. různé druhy bakterií vykazují citlivost k fenolickým sloučeninám [67]. Papadopoulo a kol. prokázali, že mikroorganismus *Staphylococcus aureus* byl nejvíce citlivý na extrakty z vína, poté následuje *Escherichia coli* a nejmenší dopad inhibice byl zjištěn u *Candida albicans* [70]. Stejně výsledky získali Radovanovic a kol., jimi naměřené průměrné zóny inhibice růstu *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* jsou 16 - 22 mm a 12 - 20 mm, respektive později byli méně citlivé na fenolické sloučeniny [71]. Rotava a kol. ukázali, že fenolické sloučeniny z hroznů (*Vitis vinifera*) bez jadérek inhiboval růst bakterií *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*, přičemž se neukázalo žádný vliv na inhibici růstu bakterií *Salmonella* sp [72]. Rodriguez-Vaquero a kol. ukázali, že *Flavobac-*

terium sp. nebyla inhibována všech testech [73]. Reakce byly také různě dlouhé, například Karapinar a kol. prokázali, že šťáva (z nezralých hroznů z *Vitis vinifera*) okamžitě snížila původní populace *Salmonella typhimurium*. U některých mikrobiálních druhů byla antibakteriální aktivita příliš pomalá [74]. Baydar a kol. ukázali, že extrakt z hroznových jader proti *Staphylococcus aureus* inhiboval až po 48 hodinách a *Aeromonas hydrophila* již už po jedné hodině [75].

14 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá analýzou tří vzorků révy vinné (Burgunda modrá, Muškát moravský a Frankovka). Analýza byla zaměřena na jejich antioxidační aktivitu, celkový obsah polyfenolických látek a antimikrobiální aktivitu. Právě tyto látky mají vliv na kvalitu vína a hlavně na lidské zdraví.

Teoretická část se zabývá charakteristikou révy vinné, popisuje podrobněji tři odrůdy, jejichž vzorky byly analyzovány. Složení hroznů je nejčastěji sledováno ve slupce, semenech a u dužniny bobule. Významné látky obsažené v hroznech jsou popsány z chemického složení. Především se jedná o fenolické sloučeniny, jejich obsah ovlivňuje odrůda a pěstительské podmínky. Fenolické látky mají vliv na trpkost a barvu vína. Fenoly také ovlivňují lidské zdraví, protože jsou to jedny z nejvýznamnější antioxidačních látek.

V praktické části byla stanovena antioxidační aktivita, celkový obsah polyfenolů a antimikrobiální aktivita z extraktů daných odrůd révy vinné ze slupek, bobulí a bobulí - pozdních sběrů. Naměřené výsledky ve vybraných odrůdách ze získaných vzorků dokazují, že červené odrůdy mají vyšší obsah polyfenolů a větší antioxidační aktivitu než bílé odrůdy.

Antioxidační aktivitu a obsah celkových polyfenolických látek v odrůdách révy vinné ovlivňuje řada faktorů při nástupu jednotlivých fenofází s průběhem počasí. Při pěstování mají vliv na obsah významných látek v bobulích a ve slupkách i teplotní, sluneční, vlhkostní a větrnostní podmínky a intervaly mezi fenofázemi. Obsah celkových polyfenolických látek je významně ovlivněn ročníkem.

Antimikrobiální aktivita nebyla u daných odrůd prokázána. Negativní výsledek může být příčinou nízké koncentrace látek rozpuštěných v extraktu a přítomných na difúzním disku.

Pro srovnání vzájemného vztahu mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů v extraktech daných odrůd byl stanoven korelační koeficient. Podle našeho koeficientu korelace bylo stanoveno, že se jedná o střední korelaci mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů, což může být způsobeno tím, že antioxidační aktivitu v některých odrůdách netvoří v nadměrné míře pouze obsah polyfenolů.

Teplotní podmínky mají vliv na obsah polyfenolů v hroznech, vysoké teploty urychlují zrání bobulí a na tom je závislá i tvorba barviva. Také záleží na intenzitě slunečního záření a délce slunečního svitu na bobule. Oblačnost má negativní vliv při vegetaci. Vzdušnou

vlhkostí se rychleji šíří plísně a další onemocnění hroznů, které se pak nedají zpracovat. Tyto podmínky však nemůžou vinaři ovlivnit.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] FROLEC, V., *Tradiční vinařství na Moravě*, Universita J.E. Purkyně, Brno 1974, ISBN 55-992-74
- [2] ANONYM. *Druhy vín* [online].[cit. 2011-01-14]. Dostupný z: <http://vino-radce.cz/druhy-vin/>
- [3] VELÍŠEK, J.; HAJŠLOVÁ, J., *Chemie potravin II.*, OSSIS, Tábor 2009, ISBN 978-8086659-12-1
- [4] ANONYM. [online].[cit. 2011-05-17]. Dostupný z : <http://www.zahrada.cz/forum/reva-vinna/cervenani-listu-revy-28809/?kotva=cervenani-listu-revy-28828>
- [5] PRIEWE, J., *Víno. Praktická škola*, Knihní klub, Praha 2001 ISBN 80-242-0695-1
- [6] GOLD, R. M., *Jak a proč postavit vinný sklep*, Geronimo Collection, s. r. o, Praha 5 2002, ISBN 80-238-7848-4
- [7] ŠEVČÍK, L., *Červená vína: Hledání pravdy o Víně*, Grada Publishing a.s., Praha 2003, ISBN 80-247-0639-3
- [8] DAŠEK, F. a PÁTEK, J., *Vinařská abeceda*, Blok, Brno 1983, ISBN 47-017-83
- [9] ANONYM. *Burgunda modrá* [online].[cit. 2011-05-17]. Dostupný z : <http://www.vino.sk/odrody-vina/rulandske-modre.html>
- [10] ANONYM. *Frankovka* [online].[cit. 2011-05-17]. Dostupný z : <http://www.rajhradskeklasteri.cz/informace/frankovka/17>
- [11] ANONYM. *Původ vína* [online].[cit. 2011-03-22]. Dostupný z: <http://www.prodej-vina.info/o-vine/historie-vina/>
- [12] ANONYM. *Muškat moravský* [online].[cit. 2011-05-17]. Dostupný z : <http://www.moraviavitis.cz/index.php?UrlQuery=1#muskat-moravsky>
- [13] PAVLOUŠEK, P., *Pěstování révy vinné v zahradách*, Brno 2005, CP Books, ISBN 80-251-0840-6
- [14] PAVLOUŠEK, P., *Encyklopedie révy vinné*, Computer Press, a. s., Brno 2008, ISBN 978-80-251-2263-1

- [15] ANONYM. *Růstové fáze révy vinné* [online].[cit. 2011-02-21].
<http://atic.cz/encyklopedie/objekty1.phtml?id=106497>
- [16] ANONYM. *Roční cyklus révy vinné* [online].[cit. 2011-02-21]. Dostupný z:
<http://www.encyklopedie-vina.cz/clanky/rozdeleni-vina/rocni-cyklus-revy-vinne.html>
- [17] ANONYM. *Kvetení révy vinné* [online].[cit. 2011-07-03]. Dostupný z :
<http://www.cuketka.cz/?p=364>
- [18] ANONYM. *Klimatické podmínky pro vinohradnictví v Evropě* [online].[cit. 2011-06-28]. Dostupný z: <http://www.ekovin.cz/sekce-ekologicke-produkce/klimaticke-podminky-pro-vinohradnictvi-v-evrope>
- [19] ANONYM. *Španělská rozmanitost, aneb klimatické podmínky* [online].[cit. 2011-06-28]. Dostupný z: <http://www.vino-spanelsko.cz/spanelska-rozmanitost-aneb-klimaticke-podminky.html>
- [20] PAVLOUŠEK, P., *Pěstujeme stolní odrůdy révy vinné*, 1 vyd. Praha: GRADA, 2009. ISBN 978-80-247-2787-5
- [21] ANONYM. *Hrozen jako surovina* [online].[cit. 2011-04-08]. Dostupný z:
<http://czechwines.cz/reva/index.html>
- [22] ANONYM. *Složení hroznu* [online].[cit. 2011-04-08]. Dostupný z:
<http://vinar.unas.cz/slozeni.html>
- [23] ANONYM. *Složení hroznů* [online].[cit. 2011-04-08]. Dostupný z:
<http://www.trhvin.cz/pruvodce-vinem/217-slozeni-hroznu>
- [24] PAVLOUŠEK, P., *Výroba vína u malovinařů*, Grada Publishing a. s., Praha 2010, ISBN 978-80-247-3487-3
- [25] ANONYM. *Glukóza i fruktóza* [online].[cit. 2011-04-22]. Dostupný z :
<http://predmety.skylan.sk/chemia/schemy/fotosynteza.png>
- [26] ANONYM. *Kyselina jablečná a kyseliny vinná* [online].[cit. 2011-04-08]. Dostupný z : <http://projektysipvz.gytool.cz/ProjektySIPVZ/Default.aspx?uid=596+>
- [27] JIN, Z., a kol., *Phenolic Compound Profiles in Berry Skins from Nine Red Wine Grape Cultivars in Northwest China*, *Molecules*, 2009, 14, s. 4923-4935

- [28] DOSTÁL, J.; PAOULOVÁ, H.; SLANINA, J., *Biochemie pro bakaláře*, MU, Brno-Kraví Hora 2008, ISBN 80-210-3232-4
- [29] MINÁRIK, E. a NAVARA, A., *Chémia a mikrobiológia vína*, Prídofa, Bratislava 1986, ISBN 64-174-86
- [30] ANONYM. *Malvidin* [online].[cit. 2011-08-24]. Dostupný z: <http://spanish.alibaba.com/product-gs-img/malvidin-chloride-373715376.html>
- [31] IVANOVA, V., a kol., *Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods*, Journal of the Serbian Chical Society, 2009, 75, s. 45-59
- [32] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-01-1.
- [33] TRNA, J., TÁBORSKÁ, E. *Přírodní polyfenolické antioxidanty* [online].[cit. 2011-8-24]. Dostupné na : <http://www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf>
- [34] ANONYM. *Kvercetin* [online].[cit. 2011-8-24]. Dostupný z: <http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=92407>
- [35] ANONYM. *Kvercetin* [online].[cit. 2011-8-24]. Dostupný z: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id3455/>
- [36] ANONYM. *Katechin* [online].[cit. 2011-8-27]. Dostupný z: <http://www.health2know.com/diet-tips/>
- [37] KUNOVÁ, V., *Zdravá výživa*, Grada Publishing, a.s, Praha 2004, ISBN:978-80-247-3433-0
- [38] MORAVCOVÁ, J. a KLEINOVÁ, T., *fytoestrogeny ve výživě – přinášející užitek nebo riziko?*, Chemické Listy, 96, 2002 [online].[cit. 2011-9-01]. Dostupné na : http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2002_05_03.pdf
- [39] MAZZA, G., a kol., *Anthocyanins, Phenolics, and Color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir Wines from British Columbia*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47, s. 4009-4017
- [40] PATEL, PARIMAL, a kol., *Influence of Juice Pressing Conditions on Polyphenols, Antioxidants, and Varietal Aroma of Sauvignon blanc Microferments*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58, s. 7280–7288

- [41] FUHRMAN, B., a kol., *White Wine with Red Wine-like Properties: Increased Extraction of Grape Skin Polyphenols Improves the Antioxidant Capacity of the Derived White Wine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49, s. 3164-3168
- [42] NEVES, A. C., a kol., *Effect of Addition of Commercial Grape Seed Tannins on Phenolic Composition, Chromatic Characteristics, and Antioxidant Activity of Red Wine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58, s. 11775–11782
- [43] JACQUI, M. M., a kol., *Thermodynamics of Grape and Wine Tannin Interaction with Polyproline: Implications for Red Wine Astringency*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58, s. 12510–12518
- [44] BURNS, J., a kol., *Relationship among Antioxidant Activity, Vasodilation Capacity, and Phenolic Content of Red Wines*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48, s. 220-230.
- [45] MONAGAS, M., a kol., *Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle*, European Food Research and Technology, 2004, 3-4, s. 331–340.
- [46] DELL'AGLI, M., a kol., *In Vitro Inhibition of Human cGMP-Specific Phosphodiesterase-5 by Polyphenols from Red Grapes*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53, s. 1960-1965
- [47] BROUILLARD, R; GEORGE, F., *Polyphenols produced during red wine ageing*, Biofactors. 1997, 4, s. 403-410
- [48] YI, W., a kol., *Study of Anticancer Activities of Muscadine Grape Phenolics in Vitro*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53, s. 8804-8812
- [49] BURNS, J., a kol., *Relationship among Antioxidant Activity, Vasodilation Capacity, and Phenolic Content of Red Wines*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48, s. 220-230
- [50] LAPIDOT, T., a kol. *Bioavailability of Red Wine Anthocyanins As Detected in Human Urine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 49, s. 4297-4302
- [51] ROSSMAN M., *Víno*, vydavatelství obchodu, Praha 1962

- [52] JONES F., *Víno. Každý den sklenku pro zdraví*, Knížní klub, Praha 1998, ISBN 80-7176-756-5
- [53] ANONYM: *VIS absorbační spektrofotometre*. [online].[cit. 2011-6-21]. Dostupný z: http://www.kch.zcu.cz/cz/di/sks/04-VIS_ABSORPCNI_SPEKTROFOTOMETRIE.pdf
- [54] TOTUŠEK, J., a kol., *Hodnocení polyfenolů a antioxidační aktivity v hroznech a listech Vitis Vinifera L.*, MZLU v Brně, Brno 2008, ISBN 978-80-7375-208-8
- [55] LOCATELLI M., GINDRO R., TRAVAGLIA F., COISSON J. D., RINALDI M., ARLORIO M., *Study of the DPPH center dot-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation*, Food Chemistry 2009, 114, s. 889 – 897.
- [56] PAULOVÁ, H., a kol., *Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro*, Chemické listy., 2004, 4, s. 174-179
- [57] ŠULC, M., a kol., *Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor*, Chemické Listy, 2007, 101, s. 584–591
- [58] STEIDL, R., LEINDL, G., *Cesta ke špičkovému vínu.*, Valtice 2004. ISBN 80-903201-4-7, [online].[cit. 2011-9-4]. Dostupný z : <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2010:043:0001:0060:CS:PDF>
- [59] SAMBROOK, J., a kol., *Molecular cloning: a laboratory manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Book 1989
- [60] SVOBODOVÁ, B., *Jedlé květy vybraných druhů planých rostlin a jejich zdravotní a gastronomický význam*, Zlín, 2011, Diplomová práce, Univerzita Tomáš Bati ve Zlíně, s. 65
- [61] SMÍŠEK J., *Antimikrobiální látky*. [online] [cit. 2011-2-4]. Dostupný z WWW: <http://mikrobiologie.unas.cz/soubory/atb.pdf>
- [62] KLEINER, S. M., *Fitness výživa*, Grada Publishing, a. s., Praha 2010, ISBN 978-80-247-3253-4

- [63] BAIANO, A. a TERRACONE C., *Varietal Differences among the Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Seven Table Grape Cultivars Grown in the South of Italy Based on Chemometrics*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59, s. 9815–9826
- [64] BARTOLOMÉ, B., a kol., *In vitro antioxidant activity of red grape skins*, European Food Research and Technology, 2004, 2, s. 173-177
- [65] ANONYM. *Vliv podle druhu vína*. [online].[cit. 2012-2-15]. Dostupný z : http://www.vinoazdravi.cz/index.php?soubor=vliv_podle_druhu_vina
- [66] ŠULC, M. a kol., *Obsah celkových polyfenolických látek v hroznech vybraných odrůd révy vinné*, Česká zemědělská univerzita, PRAHA.
- [67] ADEDAYO M. R., a AJIBOYE A. E., *Antimicrobial property of palm wine*, International Research Journal of Mikrobiology, 2011, 8, s. 265-269
- [68] EN-QIN, X. a kol. *Biological Activities of Polyphenols from Grapes*, International Journal of Molecular Science, 2010, 11, 622–646
- [69] RODRIGUEZ-VAQUERO, M.J.; ALBERTO, M.R.; MANCA-DE-NADRA, M.C. *Influence of phenolic compounds from wines on the growth of Listeria monocytogenes*, Food Control, 2007, 18, 587–593
- [70] PAPADOPOULOU, C.; SOULTI, K.; ROUSSIS, I.G. *Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of Taphylococcus aureus, Escherichia coli and Candida albicans*, Food Technology and Biotechnology, 2005, 43, 41–46
- [71] RADOVANOVIC, A.; RADOVANOVIC, B.; JOVANCICEVIC, B. *Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines*, Food Chemistry, 2009, 117, 326–331
- [72] ROTAVA, R.; ZANELLA, I.; DA SILVA, L.P.; MANFRON, M.P.; CERON, C.S.; ALVES, S.H.; KARKOW, A.K.; SANTOS, J.P.A., *Antibacterial, antioxidant and tanning activity of grape by-product*, Ciencia Rural, 2009, 39, 941–944
- [73] RHODES, P.L.; MITCHELL, J.W.; WILSON, M.W.; MELTON, L.D., *Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from Vitis vinifera variety Ribier*, International Journal of Food Mikrobiology, 2006, 107, 281–286

-
- [74] KARAPINAR, M.; SENGUN, I.Y., *Antimicrobial effect of koruk (unripe grape—*Vitis vinifera*) juice against Salmonella typhimurium on salad vegetables.*, Food Kontrol, 2007, 18, 702–706
- [75] JAYAPRAKASHA, G.K.; TAMIL, S.; SAKARTAH, K.K., *Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts.* Food Research International, 2003, 36, 117–122

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ATB	Antimikrobiální látka
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DPPH	Difenylpikrylhydrazyl
HDL	High density lipoproteins
HPLC	Vysoceúčinná kapalinová chromatografie
ICHS	Ischemické choroby
KA	Kyselina askorbová
LDL	Low density lipoproteins
UV	Ultrafialové záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. 1 Réva vinná
- Obr. 2 Burgunda modrá
- Obr. 3 Frankovka
- Obr. 4 Muškát moravský
- Obr. 5 Kvetení révy vinné
- Obr. 6 Složení hroznu
- Obr. 7 Glukóza i fruktóza
- Obr. 8 Kyselina jablečná a kyselina vinná
- Obr. 9 Kvercetin
- Obr. 10 Katechin
- Obr. 11 Malvidin
- Obr. 12 Spektrofotometr (Spekol 11)
- Obr. 13 Zjednodušené schéma spektrofotometru

SEZNAM TABULEK

- Tab. 1 Doporuční odrůd na základě průměrných teplot za vegetační období
- Tab. 2 Obsah minerálních látek ve 100g bobule
- Tab. 3 Obsah jednotlivých skupin fenolických látek v bílých a červených vínech
- Tab. 4 Přehled fenolických látek v hroznu
- Tab. 5 Vzorčky odrůd pro stanovení antioxidační aktivity, celkových polyfenolů a antimikrobiální aktivity
- Tab. 6 Naměřené hodnoty absorbance ze standardního KA
- Tab. 7 Stanovení antioxidační aktivity v odrůdách révy vinné vyjádřených na kyselinu askorbovou (mg AAE.l^{-1} extraktu)
- Tab. 8 Naměřené hodnoty absorbance ze standardního taninu
- Tab. 9 Obsah celkových polyfenolů v odrůdách révy vinné vyjádřených jako obsah taninu (mg.l^{-1} extraktu)
- Tab. 10 Stanovení antimikrobiální aktivity v odrůdách révy vinné diskovou difúzní metodou v agaru

SEZNAM POUŽITÝCH GRAFŮ

- Graf 1 Kalibrační křivka KA
- Graf 2 Antioxidační aktivita vybraných odrůd révy vinné
- Graf 3 Kalibrační křivka taninu
- Graf 4 Celkový obsah polyfenolů ve vybraných odrůdách révy vinné
- Graf 5 Korelace celkových obsahů polyfenolů a antioxidační aktivity ve vybraných odrůdách révy vinné
- Graf 6 Srovnání celkových obsahů polyfenolů a antioxidační aktivity ve vybraných odrůdách révy vinné

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI Vinařské oblasti a podoblasti České republiky dle vyhlášky č. 254/2010 Sb.

Příloha PII Spektrofotometr

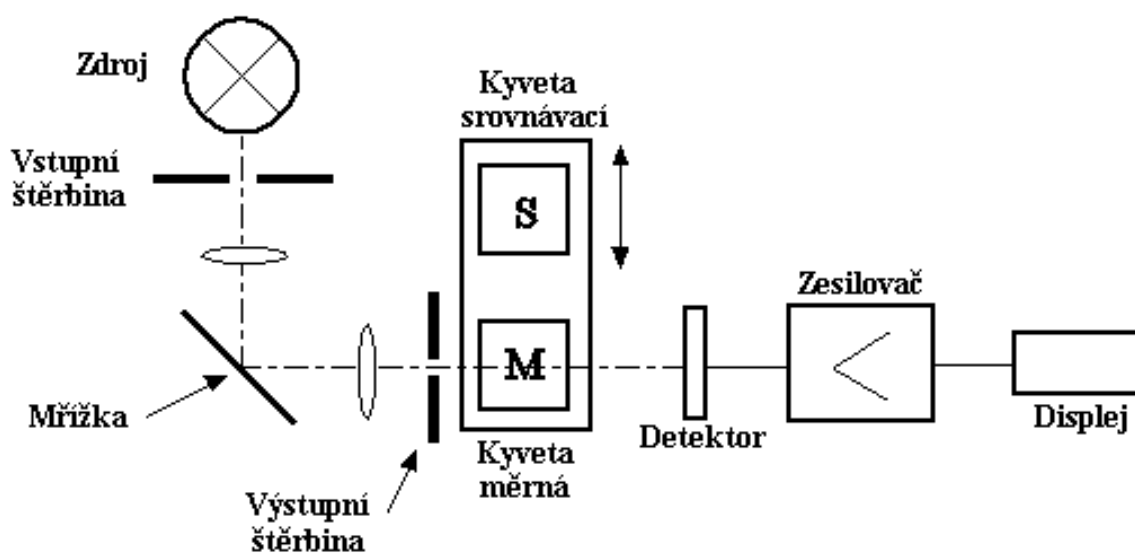
PŘÍLOHA PI: VINAŘSKÉ OBLASTI A PODOBLASTI ČESKÉ REPUBLIKY DLE VYHLÁŠKY Č. 254/2010 SB.

- (1) Vinařské podoblasti ve vinařské oblasti Morava jsou mikulovská, slovácká, velkopavlovická a znojemská.
- (2) Vinařské podoblasti ve vinařské oblasti Čechy jsou mělnická a litoměřická.



PŘÍLOHA PII: SPEKTROFOTOMETR

Obr. 12: Spektrofotometr (Spekol 11)



Obr. 13: Zjednodušené schéma spektrofotometru