

Vliv obsahu oxidu siřičitého na oxidaci bílých vín

Bc. Ondřej Tureček

Diplomová práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Ondřej Tureček**
Osobní číslo: **T20065**
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Vliv obsahu oxidu siřičitého na oxidaci bílých vín**

Zásady pro vypracování

1. Studium dostupné literatury a provedení literární rešerže na dané téma.
2. Technologie výroby bílých vín s různými obsahy oxidu siřičitého a různými postupy.
3. Chemická a senzorická analýza bílých vín vzhledem ke zpracování.
4. Zpracování výsledků a diskuze.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Michlovský M. Oxid siřičitý v enologii. Rakvice: Vinselekt Michlovský a.s., 2012. ISBN 978-80-905319-0-1
- [2] Fic V. Víno: analýza, technologie, gastronomie. Český Těšín: 2 THETA. 2015. ISBN 978-80-86380-77-3
- [3] Compendium of international methods of wine and must analysis. Paris: OIV. 2021. ISBN 978-2-85038-035-8
- [4] Vědecké zdroje uvedené v databázích Web of Science, SCOPUS, knižní odborné publikace

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Jiří Mlček, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 18. února 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou 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);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové 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.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Tématem této diplomové práce bylo sledování vlivu obsahu oxidu siřičitého na oxidaci bílých vín. Teoretická část práce popisuje chemické složení a technologické postupy používané při výrobě bílých vín. V praktické části bylo analyzováno 8 vzorků, s rozdílným obsahem celkového oxidu siřičitého, u kterých byl sledován v průběhu skladování obsah volného oxidu siřičitého jodometricky. Antioxidační aktivita, celkový obsah polyfenolů a flavonoidů byly sledovány pomocí spektrofotometrických metod a obsah jednotlivých polyfenolů byl měřen s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Na začátku a konci uskladnění byly připravené vzorky sensoricky hodnoceny formou pořadové zkoušky z hlediska stupně oxidace a obsahu síry. Výsledky této práce ukazují, že oxid siřičitý ovlivňuje obsah flavonoidů a polyfenolických látek ve vínech, což má následný vliv na antioxidační aktivitu vín a jejich odolnost vůči nežádoucím sensorickým změnám.

Klíčová slova: víno, oxid siřičitý, antioxidační aktivita, polyfenoly, flavonoidy

ABSTRACT

The subject of this thesis was the influence of sulphur dioxide content on the oxidation of white wines. The theoretical part of the thesis describes the chemical composition and technological procedures used in the production of white wines. In the practical part, 8 samples with different total sulphur dioxide contents were analysed and the free sulphur dioxide content was monitored iodometrically during storage. The antioxidant activity, total polyphenol and flavonoid content was monitored by spectrophotometric methods and the content of individual polyphenols was measured using high-performance liquid chromatography. At the beginning and at the end of storage, the prepared samples were sensory evaluated by means of an ordinal test in terms of degree of oxidation and sulphur content. The results of this work show that sulphur dioxide affects the flavonoid and polyphenolic content of wines, which in turn affects the antioxidant activity of wines and their resistance to undesirable sensory changes.

Keywords: wine, sulphur dioxide, antioxidant activity, polyphenols, flavonoids

*„Nezralý hrozen – zralý – rozinka: všechno přeměny, nikoli v čiré »nic«,
nýbrž v něco, co ještě není teď.“*

Marcus Aurelius Antoninus – Hovory k sobě

Poděkování,

tímto bych rád poděkovat všem, kteří mi byli nápomocni při zpracování této diplomové práce. Především děkuji prof. Ing. Jiřímu Mlčkovi, Ph.D., vedoucímu diplomové práce, za odborné rady, připomínky a nápomoc při jejím zpracování. Dále také děkuji Ing. Lence Fojtíkové za její pomoc při práci v laboratoři.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 HISTORIE SÍRY VE VINAŘSTVÍ	12
2 TECHNOLOGIE VÝROBY BÍLÝCH VÍN	14
2.1 SKLIZEŇ HROZNŮ	14
2.2 PŘÍJEM SUROVINY	15
2.3 DRCENÍ A Odstopkování	16
2.4 LISOVÁNÍ	17
2.5 ÚPRAVA MOŠTU	18
2.5.1 Pro vzdušnění	18
2.5.2 Odkalení	18
2.5.3 Zvýšení cukernatosti	19
2.5.4 Přikyselování a odkyselování.....	19
2.6.1 Kvasinky alkoholového kvašení	20
2.6.2 Průběh fermentace.....	21
2.6.3 Jablečno-mléčná fermentace	21
2.7 ŠKOLENÍ VÍN	21
2.7.1 Stabilizace	21
2.7.2 Stáčení	22
2.7.3 Číření.....	22
2.7.4 Filtrace.....	22
2.8 DALŠÍ VÝROBNÍ OPERACE.....	22
2.8.1 Slazení	22
2.9 SÍŘENÍ VÍN.....	23
2.9.1 Účinky oxidu siřičitého	23
2.9.2 Formy oxidu siřičitého ve vínech.....	24
2.9.3 Způsoby aplikace siřičitanů do vín	24
2.9.4 Obsah oxidu siřičitého ve vínech	25
3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ BÍLÝCH VÍN	26
3.1 VODA	26
3.2 ALKOHOLY.....	26
3.2.1 Ethanol	26
3.2.2 Methanol	27
3.2.3 Vyšší alkoholy.....	27
3.3 POLYOLY A DIOLY	27
3.4 SACHARIDY	28
3.4.1 Monosacharidy	28
3.4.2 Oligosacharidy	28

3.4.3	Polysacharidy	28
3.5	DUSÍKATÉ SLOUČENINY	29
3.6	VITAMÍNY	29
3.7	ENZYMY	29
3.8	MINERÁLNÍ LÁTKY	30
3.9	KYSELINY	30
3.9.1	Kyselina vinná.....	30
3.9.2	Kyselina jablečná	30
3.9.3	Kyselina mléčná	31
3.9.4	Kyselina jantarová.....	31
3.9.5	Kyselina octová.....	31
3.10	FENOLICKÉ SLOUČENINY	31
3.10.1	Fenolové kyseliny	32
3.10.2	Flavonoidy.....	32
3.10.3	Taniny	33
3.11	AROMATICKÉ LÁTKY.....	34
II	PRAKTICKÁ ČÁST.....	35
4	CÍL PRÁCE	36
4.1	DÍLČÍ CÍLE	36
5	METODIKA PRÁCE.....	37
5.1	PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	37
5.2	STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO JODOMETRICKY – METODA OIV-MA-AS323-04B : R 2009	38
5.3	SENZORICKÁ ANALÝZA – POŘADOVÁ ZKOUŠKA	39
5.4	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	39
5.5	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	40
5.6	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLU METODOU FOLIN-CIOCALTEU	41
5.7	STANOVENÍ OBSAHU FLAVONOIDŮ	41
5.8	STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH POLYFENOLŮ VYSOKOÚČINNOU KAPALINOVOU CHROMATOGRAFIÍ	41
5.9	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ	42
6.1	STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO	43
6.2	SENZORICKÉ HODNOCENÍ POŘADOVOU ZKOUŠKOU	44
6.3	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY MĚŘENÁ METODOU DPPH.....	45
6.4	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY MĚŘENÁ METODOU ABTS.....	47
6.5	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU FENOLICKÝCH SLOUČENIN	48
6.6	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU FLAVONOIDŮ	50

6.7	STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH FENOLICKÝCH LÁTEK	51
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	58
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	66
	SEZNAM OBRÁZKŮ	67
	SEZNAM TABULEK.....	68
	SEZNAM PŘÍLOH.....	69

ÚVOD

Víno jako nápoj provází lidstvo již po tisíce let. V minulosti se stalo součástí mnoha náboženských tradic, ať už jde o konzumaci vína v průběhu židovských svátků či jeho rituálního významu při křesťanské eucharistii. Dnes má tento alkoholický nápoj také své jisté místo při konání společenských akcí a významně se podílí na turistickém a kulturním rozvoji regionů.

Víno jakožto nápoj je živým komplexem biologicky aktivních látek, a to především polyfenolů, které jsou v průběhu uskladnění vín náchylné ke své oxidaci. Z tohoto důvodu jsou už od nepaměti hledány způsoby, kterými by bylo možné zajistit údržnost tohoto nápoje. V dnešní době je bezesporu nejvýznamnější exogenně přidávanou sloučeninou do vín oxid siřičitý, díky jeho redukčnímu potenciálu. Tento byl již v raných dobách vinařství aplikován do vín pomocí spalování sirných svící. V moderním vinařství se však vyvinula řada sofistikovanějších způsobů přidavku sirných sloučenin do vín. Cílem užití síry je její schopnost ochrany vín vůči působení nežádoucích mikroflóry nebo také oxidační působení vzdušného kyslíku na polyfenolické látky.

V současnosti je použití oxidu siřičitého v procesu vinifikace prozatím nenahraditelné, ovšem existují směry přístupu k celému oboru vinařství a vinohradnictví, jejichž snahou je snižování používání exogenních látek v průběhu pěstování hroznů révy vinné a v následném procesu vinifikace. Řada těchto přístupů, jejichž cílem je mj. snížení dávek oxidu siřičitého ve vínech je náročná na kvalitu vstupní suroviny a na postupy využívané ve vinicích. V průběhu výroby vín je možné využít dřevěné sudy, které dodávají do vín taniny nebo míchat vína na jemných kalech, čímž se zvýší jejich přirozená ochrana před nežádoucími oxidačními reakcemi. Nicméně i za použití řady opatření, vedoucích k přirozené udržitelnosti vín, je stále potřeba alespoň malého přídatku siřičitanů.

Negativní stránkou oxidu siřičitého ve vínech je jeho alergenní potenciál, způsobující citlivým jedincům řadu zdravotních obtíží. Proto jsou i z těchto důvodů legislativně ustanoveny maximální limity celkového oxidu siřičitého ve vínech.

K zajištění redoxní rovnováhy je potřeba stále hledat vhodný poměr oxidu siřičitého ve vínech takovým způsobem, aby jeho obsah neměl negativní vliv na organoleptické vlastnosti vín a zároveň aby zajistil požadovanou ochranu před vnějšími vlivy.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 HISTORIE SÍRY VE VINAŘSTVÍ

Podle současných archeologických výzkumů jsou počátky vinařství starší více než 7 500 let. Nejstarší dochované zbytky vín v keramických amforách byly nalezeny v oblasti dnešního Iráku, Iránu, Ázerbájdžánu, Východního Turecka a Gruzie. Na základě zdejších nalezišť mnoho výzkumníků věří, že počátky vinařství byly založeny nebo alespoň zdokonaleny v oblasti pohoří jižního Kavkazu [1]. Tato tvrzení potvrzují archeologické výzkumy v dnešní Arménii, kde bylo prokázáno první užití oxidu siřičitého, datované přibližně do roku 700 před n. l. Nicméně již Homér zmiňuje použití síry při vinifikaci vín ve svých eposech, které jsou zřejmě datovány do roku 800 před n. l [2]. Obecně je také myšleno, že ve stejné oblasti jižně od Kavkazského pohoří došlo k domestikaci révy vinné (*vitis vinifera*) a to díky nálezům domestikované révy vinné v Gruzii. Přes Blízký východ se výroba vín šířila dále směrem na západ do středomoří díky Féniciánům, Řekům a později díky Římanům dále severněji do keltských a germánských zemí, což dalo základ dnešním vinařským oblastím v Evropě.[1].

S nástupem křesťanství se výroba vín přesunula do klášterů díky jejich využití při řadě liturgických obřadů [3]. S křesťanským vlivem na výrobu, se postupně vytratily pohanské způsoby uchovávání a konzervace vín, což mělo za následek zvyšující se potřebu využití oxidu siřičitého ve vinifikaci. V období mezi 9. a 13. stoletím v důsledku klimatického oteplování a sním spojeným nízkým obsahem kyselin v surovině, výrazně vzrostly obsahy siřičitanů ve vínech, a to mnohdy až na více než 1 000 mg/l, což vedlo až k zákazu přísadků síry do vín [2].

V období mezi 14. a 16. stoletím produkce a spotřeba vín vzrostla a je tak považováno za tzv. zlatý věk vinařství v Evropě, což mělo také za následek další rozvoj sklepního hospodářství [3, 4]. V průběhu 15. století byl císařem svaté říše římské vydán dekret, kterým bylo rozhodnuto o legalizaci síry, přičemž byly zároveň určeny její maximální možné dávky, a to konkrétně 32 mg/l oxidu siřičitého ve víně [2].

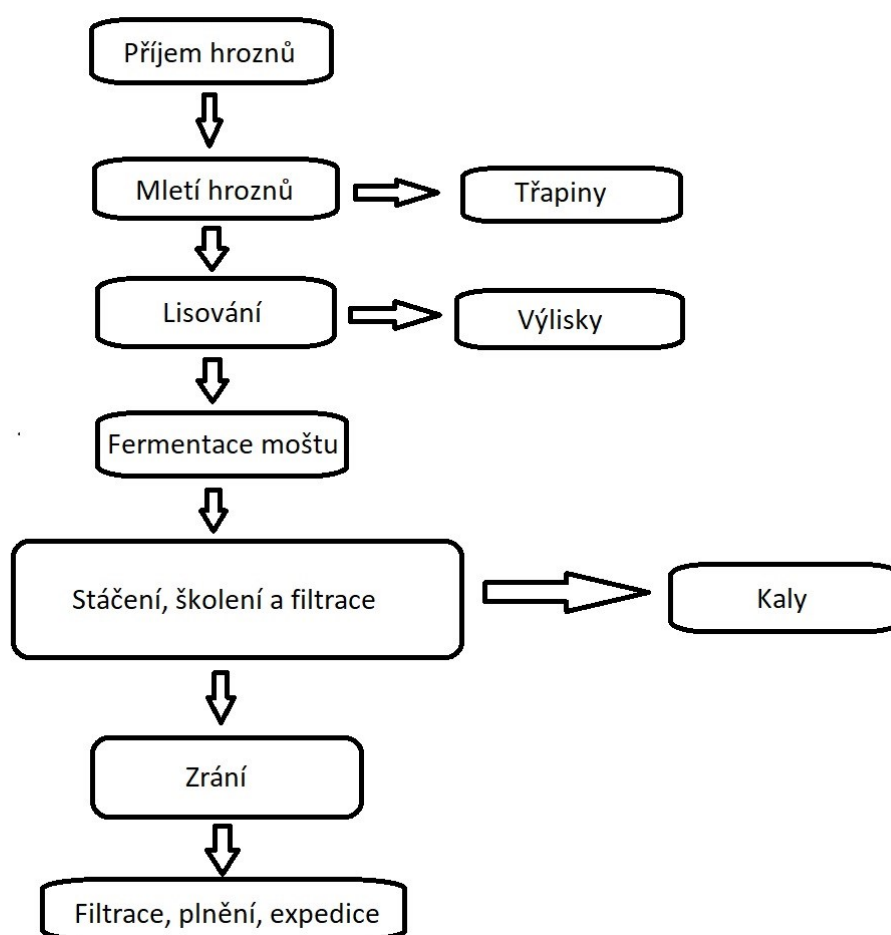
S příchodem 19. století se společně s vědeckými objevy rozšířily znalosti v oblasti vědeckého zkoumání mikrobiologie, chemie a biochemie, což mělo za následek vývoj nových filtrační technologií. Zároveň je zkoumáno působení oxidu siřičitého na mikroorganismy [2, 4]. Ze Severní Ameriky byla V 60 letech 19. století na evropský kontinent zavlečena mšička révokaz (*Viteus vitifoliae*), která zdevastovala evropské vinice. Situace se začala zlepšovat se začátkem roubování zranitelných evropských odrůd na

odolnější podnože amerických druhů, díky čemuž se začalo Evropské vinohradnictví v průběhu 20. století s nástupem mechanizace opět rozvíjet [5].

V současnosti se vinohradnictví a vinařství stále rozvíjí, jsou využívány stále modernější a šetrnější technologie a pokračuje se ve šlechtění nových odrůd révy, se zaměřením zejména na odolnost vůči houbovým chorobám [3].

2 TECHNOLOGIE VÝROBY BÍLÝCH VÍN

Víno je podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, v patném znění definováno jako nápoj získaný výhradně úplnou nebo částečnou fermentací čerstvých, rozdrcených nebo nerozdrcených vinných hroznů nebo hroznového moštu [6]. Mošty nebo rmuty určené pro výrobu vín jsou získávány z plodů moštových odrůd evropské révy vinné (*Vitis vinifera L.*) nebo plodů interspecifických odrůd, tedy kříženců révy vinné (*Vitis vinifera L.*) s americkými druhy (*Vitis spp.*) nebo s asijskými druhy, nejčastěji *Vitis amurensis Rupr* [7].



Obrázek 1 Schéma výroby bílých vín

2.1 Sklizeň hroznů

Stanovení termínu sklizně hroznů závisí na požadované zralosti suroviny. Mezi základní kritéria k definování zralosti a stanovení správného termínu sklizně patří cukernatost hroznů, obsah titrovatelných kyselin, obsah kyseliny vinné a jablečné, hodnota pH, obsah asimilovatelného dusíku v moštu, aromatická zralost hroznů a fenolická zralost hroznů.

Vinohradnictví rozlišuje tři základní typy zralosti. Průmyslová zralost klade důraz na dosažení co nejvyšších výnosů s uspokojivou cukernatostí hroznů. S dalšími kvalitativními znaky se v případě průmyslové zralosti nepočítá. Fyziologická zralost nastává v době, kdy se slupky bobulí stávají průhlednou, uvnitř jsou vidět semena, následně se slupka začne vybarvovat do typického odrůdového zabarvení a aroma hroznů začíná být taktéž odrůdově typické. Při technologické zralosti jsou kvalitativní parametry suroviny v nejlepším souladu cukernatosti, pH, aroma a fenolické zralosti. Fyziologická a technologická zralost spolu souvisejí a jsou základem pro výrobu vysoce kvalitních vín [7].

Po stanovení požadovaného stupně zralosti a termínu sklizně je vhodná kvalitní a šetrná sklizeň. Hrozny je možné sklízet ručně či pomocí kombajnu. Ruční sklizeň umožňuje lepší selekci hroznů v případě viditelných houbových infekcí. V době nevhodných povětrnostních podmínek, které mohou způsobovat ztráty na kvalitě suroviny, je vhodné využít mechanizovanou sklizeň. Ideální teplota sklizně hroznů bílých odrůd by neměla překročit 20°C. Díky tomu se lépe zachová aroma, které je silně těkavé a s vyššími teplotami se výrazně snižuje. Transport do vinifikačních zařízení k dalšímu zpracování by měl být proveden bez prodlevy. V případě, kdy je nutné surovinu uchránit před oxidací, je možné použít oxid siřičitý, oxid uhličitý nebo suchý led [8].

2.2 Příjem suroviny

Výrobní surovina může být přijímána ve formě celých hroznů, rozdrčených hroznů a rmutu nebo moštu. O příjmu suroviny tak rozhoduje zvolený způsob sklizně a přepravy. V případě sklizně celých hroznů mohou být k přepravě využity bedny a kontejnery. Při mechanizované sklizni mohou být přímou součástí techniky mlýnkoodzrňovače a lisy. Ve výrobě se tak přijímá již rmut či mošt. Příjem suroviny by měl být co nejšetrnější, aby nedocházelo k její nežádoucím změnám [9].

Příjmová zařízení slouží jako vstup do zpracovatelské technologie a jejich účelem je zajistit šetrný a rychlý příjem suroviny. Zásadou k dosažení správného příjmu je využití krátkých dopravních cest, postup zpracování odshora dolů (tzv. samospádem), využití různých typů dopravníků, čerpadel a odsávacích zařízení. Technologicky může být příjem surovin realizován prostřednictvím příjmových van, překlápěčů na plastové velkoobjemové bedny, vibračních plastových násypek nebo transportních pásů [10].

Při příjmu suroviny je potřeba zhodnotit její hmotnost a další kvalitativní parametry, zejména obsah kyselin a cukernatost, tedy obsah zkvasitelných cukrů v hroznovém moštu, vyjádřený ve stupních normalizovaného moštoměru [9, 11].

Stanovení cukernatosti lze provést moštoměrem. Množství cukru obsaženého v moštu ovlivňuje jeho hustotu, čím hlouběji se tedy moštoměr potopí, tím méně cukru obsahuje.

Typy moštoměrů:

- Klosterneuburský moštoměr (°KMW) – udává obsah zkvasitelných cukrů v moštu v hmotnostních procentech, vyjádřených v kilogramech na 100 kg hroznového moštu.
- Öchsleho moštoměr (°Oe) – udává relativní hustotu moštu [9].
- Normalizovaný moštoměr (°NM) – udává obsah zkvasitelných cukrů v moštu vyjádřený v kilogramech na 1 hektolitr hroznového moštu [11].

Další stanovení cukernatosti moštu lze provést refraktometrem, jehož princip měření funguje na schopnosti tekutin o různé hustotě vykazovat různý lom světla. Čím je mošt hustší, tím je světlo více lámáno [9].

Stanovení obsahu titrovatelných kyselin lze provést neutralizací roztokem hydroxidu sodného o známé normalitě [12].

2.3 Drcení a Odstopkování

Podstatou drcení bobulí hroznů je narušení jejich slupky takovým způsobem, aby došlo k uvolnění dužiny a moštu. Drcení bobulí je významné z hlediska zvýšení efektivity lisování, jelikož podrcená surovina zvyšuje kapacitu lisu přibližně o 30 až 50 % a zároveň umožňuje rychlejší proces lisování. V průběhu drcení je nutné zabezpečit, aby semena a třapiny zůstaly nepoškozené. Proces odstopkování tedy slouží k odstranění těchto třapin, případně dalších nečistot v podobě zbytků listů a letorostů, aby díky jejich přítomnosti v surovině nedocházelo v procesu dalších výrobních postupů k uvolňování látek negativně ovlivňujících organoleptické vlastnosti moštů a vín [13].

K účelu drcení slouží drtiče, soustava dvou válců, jejichž vzájemná vzdálenost lze libovolně regulovat a které jsou vyrobeny z materiálů odolných vůči korozi, jako je například nerezová ocel, hliník a pryž. V současnosti jsou standartními zařízeními využívanými k drcení a odstopkování mlýnkoodstopkovače. Tyto jsou vybaveny válcovitým sítem, jehož plocha obsahuje otvory k propadu bobulí. Oddělení třapin od bobulí je umocněno šnekem,

protiběžně se otáčejícím vůči sítu. V celém procesu jsou třapiny odváděny koncem síta ven ze zařízení a bobule propadávají skrz síto mezi válce, kde jsou drceny. Moderními konstrukcemi k účelu oddělení bobulí od třapin jsou zařízení pro separaci bobulí, které využívají mechanických vibrací [10].

Drcení a odstopkování hroznů přináší v průběhu výroby také řadu nevýhod. Při drcení a narušení povrchu bobulí dochází k uvolňování většího množství kalových částic do moštu a zvyšování objemu kalů. Odstranění třapin zase vylučuje jejich schopnost přechodu termolabilních bílkovin do moštu, způsobující bílkovinné zákaly vín. Pokud tedy není nutná macerace hroznů před lisování, tak je možné se těmito operacím zcela vyhnout [9].

2.4 Lisování

Cílem lisování je vymačkání tekutiny, tedy moštu z pevných částí bobulí. Na rozdíl od červených vín se v případě výroby většiny bílých vín přistupuje k lisování před počátkem samotné fermentace. První mošt odtékající z lisovacího zařízení ještě před počátkem samotného lisování se nazývá samovolný odtok a jeho množství se pohybuje kolem 85 - 95 %. Se zbylou lisovanou částí se do moštu dostávají větší množství fenolických sloučenin, draslíku, pektinů a „travnatého“ nebo také „zeleného“ aroma. Lisovaná část moštu vykazuje také vyšší a nestálou kyselost. Z těchto důvodů bývají vína vyrobená ze samovolného odtoku kvalitnější. [14, 15].

V dnešní době se využívá jak diskontinuální, tak kontinuální způsob lisování. Nejstaršími diskontinuálními zařízeními jsou vertikální šroubové lisy, jejichž koše jsou tradičně vyrobeny ze dřeva a v případě modernějších verzí z nerezové ocele, fungující na mechanickém utahování páky kolem šroubu, utahující vrchní část lisu proti pevné spodní desce. V průběhu modernizace byly tyto vřetenové lisy postupně nahrazovány hydraulickými, u nichž stlačování lisované suroviny zajišťuje hydraulický píst s ruční pumpou [13, 15].

Modifikovanou verzí je lis horizontální, jehož pohyblivé části se k sobě pohybují ze stran, čímž vytváří na surovinu požadovaný tlak [14].

Moderními diskontinuálními zařízeními jsou lisy pneumatické. Koše těchto lisů jsou ve svém vnitřku opatřeny membránou, která při své expanzi vytváří tlak na surovinu. Pneumatické lisy jsou především velmi šetrné k lisované surovině a v porovnání

s předešlými způsoby lisování dochází k výrazně nižšímu uvolňování nežádoucích sensoricky významných látek a polyfenolů do moštu [10, 14].

Do kategorie kontinuálních lisů se řadí lisy šnekové a pásové, které se v dnešním moderním vinařství již více nevyužívají. V případě šnekových lisů je surovina vystavena tlaku pohybujícího se šroubu podél perforovaného válcového pouzdra. U pásových lisů je surovina vedena mezi dvěma pohybujícími se perforovanými pásy, které jsou vedeny přes řadu válců. Mošty získané těmito kontinuálními způsoby jsou více zakalené a obsahují více nežádoucích polyfenolů, což snižuje jejich vstupní kvalitu při výrově vín [10].

2.5 Úprava moštu

Na základě řady parametrů jako jsou povětrnostní podmínky v daném vinařském roce, kvality vstupní suroviny či dle provedených analýz lze před začátkem samotného kvašení přistoupit k určitým úpravám moštu. Tyto umožňují vinaři ovlivnit výsledný produkt vzhledem k jeho požadavkům [9].

2.5.1 Provzdušnění

K provzdušnění lze přistoupit v případech, kdy je mošt vylisován z výrazně nahnílých hroznů nebo byl-li v průběhu prozatímního zpracování přesířen. Výsledkem provzdušnění by měla být podpora rozvoje kvasinek a snadnější prokvašení. Rizikem provzdušnění může být množení nežádoucích mikroorganismů a následného octovatění vína [9].

2.5.2 Odkalení

Odkalení má za úkol odstranit z moštu nežádoucí suspenzní částice (zbytky slupek, třapin, semen, hlíny, hmyzu), čímž dojde k čiření moštu. K tomuto dochází povětšinou v tzv. odkalovacích nádobách, zpravidla po dobu 12 - 24 hodin, v závislosti na okolní teplotě. Princip odkalení spočívá na pomalém oddělení pevných částic, které samovolně sedimentují na dno odkalovací nádoby za vzniku hrubých kalů, od kterých se následně mošt oddělí stočením do jiné nádoby. Samotná sedimentace může být podpořena činností enzymu pektinázy, která hydrolyzuje pektiny za vzniku kladně nabitých uronových kyselin, které se následně váží se záporně nabitými pektiny, čímž dojde k flokulaci. Rizikem této operace je oxidace moštu nebo případné nežádoucí pomnožení divokých kvasinek [16].

2.5.3 Zvýšení cukernatosti

Zvyšování cukernatosti neboli také zvyšování přirozeného obsahu alkoholu či obohacování je na Evropské úrovni řízeno Nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, v platném znění. V legislativě České republiky je pak dále rozvedeno Zákonem o vinohradnictví a vinařství, v platném znění.

Enologické postupy, kterými je povoleno zvyšovat přirozený obsah alkoholu jsou podle typu obohacované suroviny přídavky sacharózy, zahuštěného hroznového moštu, rektifikovaného moštového koncentrátu, částečným zahuštěním včetně reverzní osmózy či částečným zahuštěním chladem, přičemž se tyto postupy vzájemně vylučují [6].

Mezní hodnoty zvyšování cukernatosti nesmí ve vinařské zóně A překročit 3 % objemová, ve vinařské zóně B 2 % objemová a ve vinařské zóně C 1,5 % objemová (viz Příloha P I). V případě mimořádně nepříznivých povětrnostních podmínek v průběhu vinařského roku mohou být tyto hodnoty členskými státy Evropské unie zvýšeny o 0,5 %. Zároveň v případě bílých vín nesmí zvyšování cukernatosti zvýšit celkový obsah alkoholu ve vinařské zóně A na více než 11,5 % objemových, ve vinařské zóně B na více než 12 % objemových, ve vinařské zóně C I na více než 12,5 % objemových, ve vinařské zóně C II na více než 13 % objemových a ve vinařské zóně C III na více než 13,5 % objemových [6, 17].

V České republice je zákonem č. 321/2004 Sb., v platném znění zakázáno u jakostních vín s přívlastkem zvyšovat přirozený obsah alkoholu. Zákon o vinohradnictví a vinařství dále ukládá výrobcům povinnost hlásit zvyšování cukernatosti orgánu dozoru nejméně 48 hodin před započítáním této operace [11].

Vzorec výpočtu zvýšení cukernatosti přídavkem sacharózy:

$$x = \text{množství moštu (hl)} * \text{°NM, o které je třeba zvýšit cukernatost moštu} * 1,1$$

2.5.4 Přikyselování a odkyselování

Přikyselování a odkyselování je stejně jako obohacování upraveno Nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, v platném znění, jenž stanoví, že prikyselení lze provést do výše 4 g/l, vyjádřených jako kyselina vinná, nebo 53,3 miliekvivalentu na litr. Odkyselení je povoleno do výše 1 g/l vyjádřených jako kyselina vinná nebo 13,3 miliekvivalentu na litr. Přikyselení a odkyselení stejného produktu se vzájemně vylučuje a lze provést pouze ve vinařské zóně, ve které byly hrozny určené pro výrobu vín sklizeny [6].

K odkyselení je možné použít přípravků na bázi hydrogenuhličitanu draselného nebo uhličitanu vápenatého, které reagují s kyselinou vinnou a jablečnou, kterou vysráží ve formě vinanu vápenatého [18]. K přikyselení lze použít L(+) kyseliny vinné, L(-) kyseliny jablečné, DL-kyseliny jablečné nebo kyseliny mléčné [19].

2.6 Fermentace moštu

Alkoholové kvašení je nejzásadnější proces při výrobě vín, díky kterému kvasinky přetváří cukry obsažené v moštu na alkohol a oxid uhličitý, přičemž se vytváří řada dalších sloučenin mající vliv na výsledné chuťové vlastnosti a aroma vín. Podstatnými faktory ovlivňující tento proces je teplota, obsah kyslíku a živin v moštu a čas. V průběhu fermentace může docházet ke vznikům vad vín či k problémům s řádným fermentačním procesem, proto v moderním vinařství vznikly principy řízeného kvašení, které mají za cíl těmto problémům předcházet [14, 20]. Řízené kvašení je proces několika faktorů začínající již ve vinohradě. Z hlediska fermentace vín je řízené kvašení podstatné z hlediska kontroly teplot v průběhu kvasného procesu. Zejména v dnešní době probíhá fermentace moštů za velmi nízkých teplot, což vede ke zvýšení kvality, především co se týče zachování odrůdové typičnosti a aromatického projevu [21].

Průběh fermentace lze vyjádřit níže uvedenou chemickou reakcí:



2.6.1 Kvasinky alkoholového kvašení

Zcela zásadním druhem kvasinek jsou *Saccharomyces cerevisiae*. V dnešním moderním vinohradnictví se využívá jejich čistých startovacích kultur, které zajišťují bezproblémové a rychlejší prokvašení moštu [22]. Použití účelově selektovaných kmenů kvasinek umožňuje výrobcům vín určit chuťový a aromatický profil daného vína ještě před samotným započítím kvašení [23].

Divoké kmeny kvasinek se běžně vyskytují v půdě vinohradů, na okolní vegetaci, ve vzduchu a v průběhu růstu hroznů ulpívají taktéž na jejich povrchu. Spontánní kvašení těmito divokými druhy kvasinek v současnosti nabývá znovu velkého významu, kdy se někteří výrobci vín vrací takzvaně ke kořenům a vytváří vína, která se snaží prosadit svou typičností. Jejich nevýhodou je, že fermentační procesy divokých kvasinek mohou být oproti kultivovaným kmenům příliš pomalé, což může mít za následek znehodnocení moštu nežádoucími bakteriemi a dalšími mikroorganismy [24].

2.6.2 Průběh fermentace

Fermentace moštů probíhá anaerobně v kvasných nádobách, které se plní asi z 90 % celkového objemu, tak aby při bouřlivém kvašení nedošlo k úniku moštu z nádoby. Po dobu prvních dvou až tří dnů po začátku kvašení se kvasinky přizpůsobují prostředí a jejich počet v moštu je poměrně stabilní. Následující 3 – 6 den dojde k exponenciálnímu růstu jejich počtu až na 10 – 100 milionů buněk na 1 ml. Po dobu dalších přibližně 10 dnů zůstává jejich počet stejný, jelikož v moštu dochází kvasinkám výživa. V důsledku úbytku výživy a zvyšující se koncentrace alkoholu životaschopné kvasinky odumírají a následuje jejich prudký množstevní pokles. Teplota moštu se u bílých vín drží v počátku kvašení kolem 18 °C, následně se teplota snižuje až na hodnotu 14 °C [13, 23].

2.6.3 Jablečno-mléčná fermentace

Cílem jablečno-mléčné či také malolaktické fermentace je biologické odbourání v chuti ostré kyseliny jablečné, za vzniku kyseliny mléčné, která je sensoricky kulatější a hladší. Sekundárními produkty tohoto kvašení jsou oxid uhličitý a teplo. Malolaktická fermentace je způsobena bakteriemi mléčného kvašení a případě vín především bakterií druhu *Oenococcus oeni* [25].

Průběh malolaktické fermentace lze vyjádřit níže uvedenou reakcí:



2.7 Školení vín

Před samotnou finalizací výroby je v dnešním moderním vinařství vyvinuta řada přípravků a technologických postupů k zajištění stability a čistoty výsledných vín. Tyto další vstupy do výroby snižuje důslednost v předešlých technologických procesech. Jimiž je především hospodaření ve vinicích k zajištění kvalitní výrobní suroviny [26].

2.7.1 Stabilizace

Stabilizací vín jsou myšleny postupy, jejichž cílem je dosažení produktu v požadované kvalitě a stabilitě, avšak tyto operace je třeba využívat především v případě nutnosti a pokud možno je co nejvíce minimalizovat. Stabilizace vín se běžně provádí povolenými enologickými postupy, jimiž mohou být přídavky látek pro stabilizaci vinného kamene, přídavky látek pro ošetření vín při projevech vad nebo přídavky látek pro jejich konzervační účinky [9].

2.7.2 Stáčení

Cílem stáčení je oddělení vína od kalů, které mohou mít na vína negativní účinky, způsobené rozkladem kvasinek v důsledku čehož se může ve vínech následně tvořit sirka. Stáčení se provádí jednoduchým vyprázdněním nádoby s vínem a současným naplněním prázdné nádoby. V principu je možné stáčení dělit na uzavřené, kdy víno nepřichází do kontaktu se vzduchem a otevřené, kdy je víno stáčeno takovým způsobem, kdy je vyústění stáčení hadice v nádobě tak vysoko, aby při výtoku vína docházelo k jeho kontaktu se vzduchem, čímž dojde k provzdušnění [9].

2.7.3 Číření

Číření spočívá v přimísení látek agregujících díky rozdílným elektrickým nábojům volně vázané částice a nestabilní látky, které následně sedimentují, čímž dojde k vyčeření vín. Číření se provádí za účelem urychlení čištění vína, odstranění rizika vzniku bílkovinných zákalů, zlepšení filtrace nebo případně k odstranění nežádoucích vad. Nevýhodou číření je jeho vliv na organoleptické vlastnosti vín, u kterých tato operace může snížit jejich chuťový nebo aromatický vjem. Nejzákladnějšími čířícími preparáty jsou bentonit, křemičitá sol, želatina a vaječný bílek [27].

2.7.4 Filtrace

Filtrace pomáhá dosáhnout nejlepší možné finalizace a stability vín před jejich distribucí na trh. Úkolem filtrace je separace pevných částic z vín pomocí filtračního zařízení. V současnosti se stále používají různé typy filtračních metod. Těmi nejčastějšími je křemelinová filtrace, membránová filtrace a cross-flow filtry [28].

2.8 Další výrobní operace

2.8.1 Slazení

Podle Nařízení Komise v přenesené pravomoci (EU) 2019/934, v platném znění, se vína mohou sladit pouze hroznovým moštem a zahuštěným hroznovým moštem, které pocházejí ze stejné oblasti jako slazené víno nebo rektifikovaným moštovým koncentrátem, a to tak že celkový obsah alkoholu slazeného vína nebude zvýšen o více než 4 % objemová. Vína s chráněným označením původu mohou být slazená způsobem uvedeným v předpisech Evropské unie pouze tehdy, pokud to členský stát povolí [29]. V České republice je zákonem

o vinohradnictví a vinařství, v platném znění, slazení jakostních vín s přívlastkem zakázáno. Před začátkem sazení musí výrobce orgánu dozoru podat hlášení o slazení [11].

2.9 Síření vín

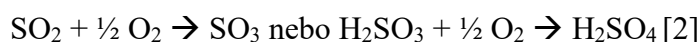
Oxid siřičitý je široce používanou a jednou z nejvýznamnějších látek v enologii. Těmi nejpodstatnějšími důvody využití oxidu siřičitého ve vinařství jsou zejména jeho pozitivní vlivy na antioxidační a antimikrobiální vlastnosti vín, které brání vzniku oxidace a inhibují růst nežádoucí mikroflóry ve vínech. Nevýhodou siřičitanů je zvýšená citlivost určité skupiny lidí, u kterých mohou vyvolat alergické reakce, které se projevují bolestmi hlavy, bolestmi břicha a závratěmi. Z tohoto důvodu jsou stanoveny a legislativně dány maximální povolené limity pro hladinu celkového oxidu siřičitého ve víně [30].

2.9.1 Účinky oxidu siřičitého

2.9.1.1 Antioxidační účinky

Oxid siřičitý chrání vína před oxidací chemického původu. Kyslík v množství 16 mg oxiduje 64 mg oxidu siřičitého. Teoreticky tak 32 mg oxidu siřičitého spotřebuje při navázání kyslíku přibližně 8 mg O₂/l vína.

Tuto saturaci kyslíku lze vyjádřit níže uvedenou schématickou rovnicí:



Oxid siřičitý jakožto antioxidant ve víně má schopnost odstranit látky jako jsou peroxid vodíku, karbonylové sloučeniny, chinonové sloučeniny, redukuje oxidované polyfenoly a může vrátit zpět produkty oxidace chinonu do původní polyfenolové formy [31].

2.9.1.2 Antiseptické účinky

Antiseptické účinky oxidu siřičitého se využívají k potlačení rozvoje mikroorganismů a následného vzniku druhotného kvašení nebo k zabránění vzniku vad bakteriálního původu. Aktivní oxid siřičitý nebo kyselina siřičitá je schopna pronikat do buněk mikroorganismů, kde inhibuje jejich růst, rozmnožování a případně způsobuje jejich usmrcení. Účinnost oxidu siřičitého je závislá na jeho koncentraci ve víně, přičemž bakterie jsou k obsahu oxidu siřičitého vnímavější než kvasinky. Při malých dávkách oxidu siřičitého je jeho účinnost pro mikroorganismy spíše inhibující a dočasná. Naopak vyšší dávky způsobují smrt a zánik mikroflóry vín [32].

2.9.1.3 *Působení proti oxidázám*

Oxid siřičitý je schopen chránit vína taktéž před oxidací enzymatického původu, kterou mohou způsobovat tyrosinázy vyskytující se přirozeně v hroznech nebo lakázy, produkované plísní *Botrytis cinerea*. Běžně jsou ve vínech taktéž oxidem siřičitým potlačeny účinky polyfenoloxidázy [2].

2.9.1.4 *Organoleptické působení*

Organolepticky působí oxid siřičitý pozitivně na aroma vín a odstraňuje pach zvětralosti, jelikož je schopný blokovat acetaldehydy a další těkavé látky, které se mohou tvořit v procesu fermentace nebo při oxidaci ethanolu. Pozitivní vliv má oxid siřičitý také nepřímo na barvu vín, kdy je schopen redukce hnědých barviv, pocházejících například z oxidace chinonů nebo reverzibilních změn antokyanů a tříslovin. Nevýhodou užití oxidu siřičitého z hlediska smyslových vlastností je jeho typický pach, který je přímo úměrný jeho koncentraci ve víně. Práh vjemu oxidu siřičitého se přibližně pohybuje mezi 2 až 3 mg oxidu siřičitého ve formě kyseliny siřičité na jeden litr vína [2, 32].

2.9.2 **Formy oxidu siřičitého ve vínech**

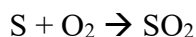
Ve víně se nacházejí siřičitany ve dvou formách, volné a vázané. Volný oxid siřičitý je dostupná forma siřičitanů ve víně, která je schopná reagovat, a tak projevovat jak germicidní, tak antioxidační vlastnosti. Vázaný oxid siřičitý je ten, který již reagoval ať už reverzibilně či nevratně s jinými molekulami ve víně. Součet volného a vázaného oxidu siřičitého definuje celkovou koncentraci siřičitanů ve víně [33].

Účinnost oxidu siřičitého se běžně přikládá obsahu jeho volné formy, nicméně působnost oxidu siřičitého především proti mikroorganismům je spojená hlavně s množstvím aktivního neboli také molekulárního oxidu siřičitého ve víně. Aktivitu oxidu siřičitého ovlivňuje pH vína, kdy při nízkém pH je převládajícím druhem molekulární oxid siřičitý, který má germicidní vlastnosti. Při pH vína pohybujícím se mezi 3,0 a 3,8 je převládajícím typem aniont kyselého siřičitanu (HSO_3^-), který působí jako antioxidant [2, 33].

2.9.3 **Způsoby aplikace siřičitanů do vín**

2.9.3.1 *Sírné knoty a sírné svíce*

Spalováním sírných knotů či svící reaguje elementární síra se vzdušným kyslíkem, čímž se vytváří oxid siřičitý dle následující rovnice:

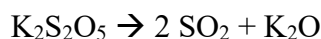


Tyto se užívají především k šíření vín, kdy se knoty nebo svíce spálí v prázdné nádobě, které se posléze naplní vínem [9].

Antimikrobiální účinek oxidu siřičitého získaného spalováním je v podstatě dvojitý. Jednak jde-li o jeho účinky ve víně a zároveň o jeho účinky na vnitřní stěny nádoby. Nicméně v dnešní době se od spalování sirných knotů a svící spíše upouští, jelikož dávkování oxidu siřičitého tímto postupem je nepřesné a má své omezující hranice [2].

2.9.3.2 *Pyrosulfít draselný*

Jedná se o sůl kyseliny disiřičité, která reaguje dle následujícího vzorce:



V kyselém prostředí vzniká 128 g oxidu siřičitého z 222 g pyrosulfitu draselného [9].

2.9.3.3 *Zkapalnělý oxid siřičitý*

Zkapalnělý oxid siřičitý je v současnosti dostupný v koncentracích 20, 30, 40 a 50 %, což udává jeho účinnost. Uvádí se na trh v tlakových lahvích, ze kterých se do vín dávkuje pomocí dávkovače [34].

2.9.4 **Obsah oxidu siřičitého ve vínech**

Maximální povolené limity celkového obsahu oxidu siřičitého ve vínech jsou v rámci Evropské unie vymezeny v dodatku 10 části B Nařízení Komise v přenesené pravomoci (EU) 2019/934, v platném znění, dle kterého nesmí tichá bílá vína v okamžiku uvádění na trh překročit hodnotu 200 miligramů na litr obsahu celkového oxidu siřičitého. S přihlédnutím k obsahu zbytkového cukru u bílých vín, která obsahují nejméně 5 gramů cukru na litr, lze celkový obsah oxidu siřičitého v okamžiku uvádění na trh zvýšit na 250 miligramů na litr. Dále pak dle chráněného zeměpisného označení, chráněného označení původu nebo jakostní třídy vín je možné obsah siřičitanů zvyšovat až na 400 miligramů na litr [35].

Mezní hodnoty oxidu siřičitého mají rovněž upravena i vína biologické produkce podle prováděcího Nařízení Komise (EU) č. 203/2012, v platném znění, jejichž maximální hodnota je v případě bílých vín 150 miligramů na litr, přičemž hodnota zbytkového cukru musí být nižší než 2 gramy na litr [36].

3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ BÍLÝCH VÍN

Chemické složení vín je velmi variabilní a nestálé, jelikož je podmíněno řadou faktorů, počínaje kvalitou hroznů, způsobem vinifikace a konče zráním vín [37]. Primárními složkami vín je ethanol a voda. Nicméně základní organoleptické vlastnosti vín jsou dány více než dvaceti sloučeninami [1].

3.1 Voda

Voda je kvantitativně nejvíce zastoupenou sloučeninou ve vínech. Odvíjí se tak od ní základní vlastnosti vín a je nezbytnou součástí mnoha chemických reakcí spojených s fermentací a zráním vín. Příkladem je skutečnost, že ve vínech mají významnou roli především sloučeniny, které jsou alespoň částečně ve vodě rozpustné. Vodou jsou také ovlivněny tokové vlastnosti vín [1].

3.2 Alkoholy

Druhou nejvíce zastoupenou složkou ve vínech jsou alkoholy, kterých se ve vínech vyskytuje více než 30, avšak většina pouze ve stopovém množství [38]. Alkoholy jsou organické sloučeniny obsahující jednu nebo více hydroxylových skupin. Jednoduché alkoholy obsahují jednu hydroxylovou skupinu, zatímco dioly a polyoly obsahují dvě nebo více hydroxylových skupin [1].

Skutečný obsah alkoholu ve víně se dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, v platném znění, musí v závislosti na vinařské zóně pohybovat od 8,5 % objemových do 15 % objemových. Odchylně však může víno s chráněným zeměpisným označením či chráněným označením původu obsahovat nejméně 4,5 % objemových skutečného alkoholu. Horní hranice skutečného alkoholu může být zvýšena na 20 % objemových u vín z určených vinařských oblastí vyrobených bez obohacení nebo za předpokladu, má-li víno chráněné označení původu a je vyrobené bez obohacení nebo s obohacením postupy částečného zahuštění, umožňuje-li to specifikace dotyčného chráněného označení původu [6].

3.2.1 Ethanol

Ethanol je nejdůležitějším alkoholem ve složení vín a je primárním metabolitem produkovaným kvasinkami během alkoholového kvašení hroznových cukrů přítomných v moštu. Ethanol se významně podílí na fyzikálně-chemických vlastnostech

a mikrobiologické stabilitě vín. Zároveň jakožto navíc zastoupenou těkavou sloučeninou ve vínech ovlivňuje jejich aromatické a chuťové vnímání v závislosti na své koncentraci [39]. Ethanol je významný v průběhu zrání vín, jelikož reaguje s organickými kyselinami za tvorby esterů. Koncentrace alkoholu ve vínech zároveň ovlivňuje stabilitu těchto esterů [1].

3.2.2 Methanol

Vzniká ve víně jako vedlejší produkt reakce zahrnující enzymatickou hydrolyzu pektinových methoxylových skupin v průběhu fermentace. Obsah methanolu ve vínech je vzhledem k jeho toxicitě regulován Mezinárodní organizací pro révu a víno (OIV), která v usnesení OENO 19/2004, stanovila maximální možný limit obsahu metanolu v červených vínech na 400 mg/l a v bílých nebo růžových vínech na 250 mg/l [40].

3.2.3 Vyšší alkoholy

Alkoholy mající více než dva atomy uhlíku se nazývají jako vyšší alkoholy. Tyto vyšší alkoholy se ve vínech vyskytují v poměrně nízkém zastoupení, avšak mají významnou roli, co se týče aromatické složky vín, kterou tvoří přibližně z 50 %. Kvantitativně jsou ve vínech nejvíce zastoupeny 1-propanol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol a 3-methyl-1-butanol [1].

3.3 Polyoly a dioly

Polyalkoholy neboli také polyoly jsou alkoholy obsahující více než dvě hydroxylové skupiny, zatímco dioloy obsahují hydroxylové skupiny dvě. Polyoly a dioly vznikají redukcí karbonylových skupin monosacharidů jakožto sekundární produkt v procesu fermentace [41, 38].

Nejvýznamnějším polyolem přítomným ve vínech je glycerol, jehož obsah se může přirozeně pohybovat mezi 5 až 6 g/l, což z něj zároveň dělá třetí nejzastoupenější látku ve vínech. Glycerol je podstatný především z organoleptického hlediska, protože pozitivně přispívá k plnosti vín [42].

Dalšími polyoly a dioly obsažených ve vínech jsou erytritol, arabitol, xylitol, ribitol, mezoinositol, mannitol, sorbitol, butan-2,3-diol a propan-1,3-diol [38].

3.4 Sacharidy

Sacharidy jsou polyhydroxyaldehydy a polyhydroxyketony, jenž mají v molekule alespoň tři alifaticky vázané atomy uhlíku a sloučeniny nebo také sloučeniny tvořící se z nich vzájemnou kondenzací za vzniku acetalových vazeb [43].

Obecně se sacharidy dělí na jednoduché monosacharidy a glykosidy neboli oligosacharidy, a polysacharidy. Oligosacharidy se skládají z minimálně dvou monosacharidových jednotek. Hranice mezi oligosacharidy a polyglykosidy je 20 monosacharidových jednotek [44].

3.4.1 Monosacharidy

Molekula monosacharidů obsahuje tři až sedm atomů uhlíku, hydroxylové skupiny a jednu skupinu aldehydovou nebo ketonovou [45].

V mošttech a následně vínech mohou být monosacharidy zastoupeny triózami, konkrétně dihydroxyacetonem, jakožto produktem oxidace glycerolu a glyceraldehydem, který je pozůstatkem metabolismu kvasinek. Nicméně tyto látky se ve zdravých vínech vyskytují spíše ve stopovém množství. Dalšími významnějšími monosacharidy obsažených ve vínech jsou pentózy, konkrétně L-arabinóza, která může být ve víně obsažena v množství 0,2 – 1,5 g/l. Kvasinky rodu *Saccharomyces* pentózy v průběhu fermentace nezkašují, ty tak následně zůstávají ve vínech v nezanedbatelném množství a podílí se na jejich chuťovém charakteru. Nejdůležitější skupinou monosacharidů jsou hexózy, především D-glukóza, D-fruktóza a D-galaktóza. Tyto jsou zkvašovány v průběhu fermentace za vzniku ethanolu jakožto primárního produktu [38].

3.4.2 Oligosacharidy

Oligosacharidy jsou ve vínech zastoupeny pouze v minimálních koncentracích. Většina oligosacharidů ve vínech pochází z polysacharidů obsažených ve slupkách bobulí, které byly štěpeny endogenní enzymatickou činností. Z tohoto hlediska jsou tak spíše významné u červených vín, v průběhu jejichž výroby proběhla macerace rmutu [44].

3.4.3 Polysacharidy

Polysacharidy jsou ve vínech obsaženy v přímé závislosti na procesu výroby a pohybují se v koncentracích od 0 až 2 g/l. Ve vínech jsou zastoupeny především pektinové polysacharidy, které do nich přechází ze slupek a dužiny bobulí, kde tvoří spolu celulózu a hemicelulózu hlavní složky buněčných stěn. Pektinové polysacharidy jsou specifické

složky pektinu, který je bohatý na kyselinu galakturonovou. Vysoké zastoupení polysacharidů ve vínech tvoří také arabinogalaktanové proteiny. Dalším zdrojem vinných polysacharidů jsou parietální mannoproteiny, které se uvolňují z kvasinkových buněk [46].

3.5 Dusíkaté sloučeniny

Dusík se v moštu a následně víně vyskytuje v anorganické a organické formě a hraje důležitou roli v průběhu fermentace, jako zdroj živin pro kvasinky. Pro správný rozvoj alkoholového kvašení je zapotřebí, aby mošt obsahoval dostatečné množství dusíkatých sloučenin, které umožní dostatečně rychlé pomnožení kvasinek na začátku fermentace a stimuluje kvasinky k syntéze sloučenin vína. Nedostatečné množství dusíkatých látek v moštu může mít za následek příliš pomalou fermentaci, čímž může dojít k nedokonalému prokvašení s následným negativním vlivem na aroma vín. Naproti tomu příliš vysoké koncentrace dusíku v moštu mohou mít za následek vznik vín s příliš herbálním aroma [47].

Po dokončení fermentace tak ve vínech zůstává přibližně 10 mg/l amoniakálního dusíku, 1 až 3 g/l aminokyselin a až 4 g/l peptidů. Jejich obsah ve víně je závislý především na odrůdě použité suroviny a způsobu vinifikace [38].

3.6 Vitamíny

Z hlediska obsahu vitamínů nejsou vína příliš významnou potravinou. V menších množstvích se ve vínech vyskytují především vitamíny rozpustné ve vodě, tedy vitamíny skupiny B a vitamín C. Nejpodstatnějším hydrofilním vitamínem obsaženým ve vínech je vitamín C. Přidávky kyseliny L-askorbové do vín slouží preventivně vůči zákalům, nežádoucím změnám v důsledku oxidace a také umožňuje snížení množství přídavků oxidu siřičitého [38, 48]. Dle Nařízení Komise v přenesené pravomoci (EU) 2019/934, v platném znění, je maximální možný přídavek kyseliny L-askorbové do vín 250 mg/l [29].

3.7 Enzymy

V celém procesu výroby vína dochází k biochemickým přeměnám, které jsou katalyzovány specifickými enzymy. Enzymy se například podílejí na oxidaci fenolických sloučenin, při tvorbě těkavých látek již před začátkem fermentace a při přeměně aromatických prekurzorů na aromaticky aktivní sloučeniny. Jako hlavní zdroje enzymů jsou přirozeně hrozny a kvasinky. Nicméně v průběhu zpracování je možné využít komerčních enzymů s různými biochemickými aktivitami, jako jsou glykosidázy, glukonázy, pektinázy a proteázy.

Pochopení důležitých účinků enzymů během procesu výroby vín může pomoci v postupech a optimalizaci zpracování vín [49].

3.8 Minerální látky

Množství minerálních látek ve vínech je závislé na odrůdě, počasí, půdě, způsobu hnojení a vyzrálosti hroznů. Obsah minerálních látek ve vínech se pohybuje v rozmezí od 3 do 5 g/l. Nejčastěji nastoupeným prvkem ve vínech je draslík, který je významný z hlediska iontové rovnováhy a neutralizace organických kyselin. Nejvíce obsaženým aniontem ve vínech je fosfor, který je v podobě kyseliny fosforečné hlavní součástí metabolismu. Dalšími látkami obsaženými ve vínech jsou chloridy, sírany, siřičitany, fosfáty, sirovodík, sodík, vápník, hořčík, železo a měď [38].

3.9 Kyseliny

Kyseliny se vyznačují ionizací a uvolňováním vodíkových iontů ve vodě. Stupeň ionizace ve víně závisí především na obsahu kationtů, pH a ionizačních vlastnostech konkrétních kyselin. Kyseliny ve víně se obvykle dělí do dvou kategorií, těkavé a vázané, jejichž vzájemný součet je nazýván jako celková kyselost. Standartně se celková kyselost vín pohybuje od 5,5 do 8,5 mg/l, přičemž kyselost bílých vín, u kterých neproběhlo malolaktické kvašení se přibližuje spíše k tomuto hornímu limitu. Nejvíce zastoupenými kyselinami ve vínech je kyselina vinná, jablečná a v závislosti na zdravotním stavu hroznů nebo vinifikaci i kyselina octová, jantarová a mléčná [1].

3.9.1 Kyselina vinná

Koncentrace kyseliny vinné ve vínech se pohybuje v rozmezí 1,5 g/l až 3,0 g/l. Přiměřená koncentrace kyseliny vinné dodává vínu příjemnou plnou chuť, avšak příliš vysoké koncentrace kyseliny vinné ve vínech jsou nežádoucí, jelikož může způsobit nepříjemně svíravou chuť [50].

3.9.2 Kyselina jablečná

Kyselina jablečná se ve vínech vyskytuje v koncentraci od 0 do 5 g/l. Ve vínech se vyskytuje ve svém levotočivém izomeru a má významný vliv na sensorickou podobu vín. Nicméně za pomoci jablečno-mléčného kvašení lze kyselinu L-jablečnou dekarboxylovat na kyselinu D-mléčnou, čímž se sníží acidita vína o polovinu. Vlivem jablečno-mléčné fermentace se tak kyselost vína zjemní a chuť se více zakulatí [38, 51].

3.9.3 Kyselina mléčná

Kyselina mléčná je ve vínech přítomna v množství od 0,05 do 3 g/l. Kyselina mléčná se ve vínech nachází ve dvou izomerech, tedy D a L formě v závislosti na tom, zda je produktem kvasinek nebo malolaktické fermentace [1, 38].

3.9.4 Kyselina jantarová

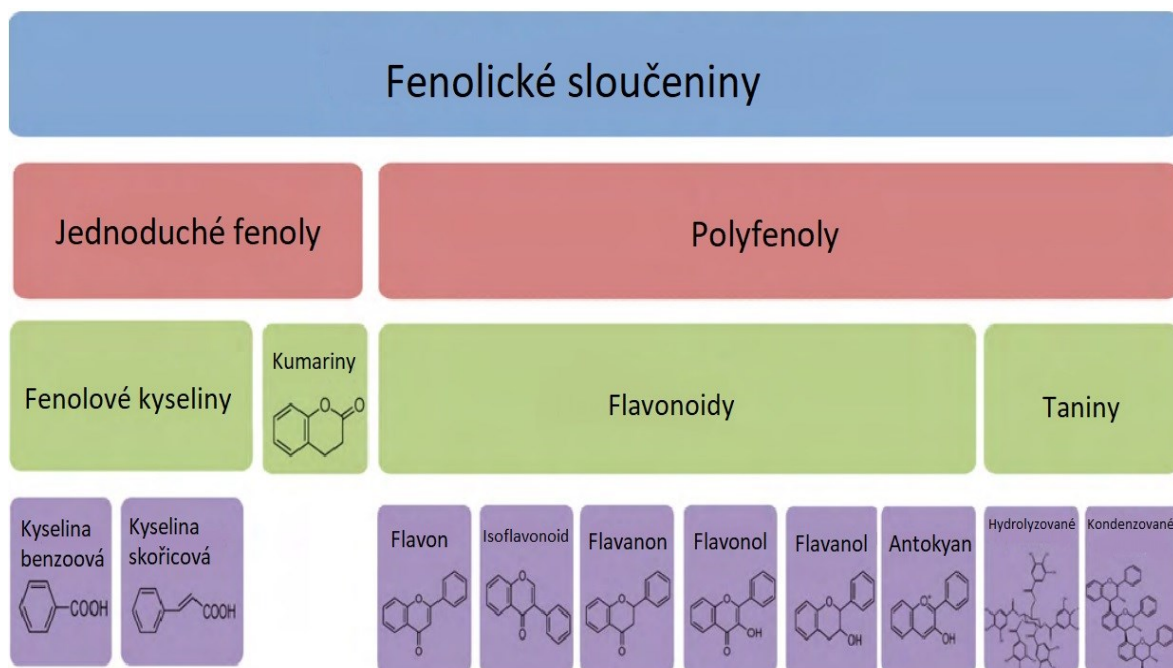
Je jedním z nejběžnějších vedlejších produktů metabolismu kvasinek. Kyselina jantarová je jednou z nejvýznamnějších organických kyselin u ušlechtilých vín [1].

3.9.5 Kyselina octová

Kyselina octová je nejběžnější a nejvíce obsaženou těkavou kyselinou ve vínech. Přirozeně vína obsahují 0,15 až 0,7 g/l kyseliny octové. Při hodnotách nad 0,8 g/l začíná být sensoricky vnímatelná a zhoršuje chuťovou a aromatickou kvalitu vín [52].

3.10 Fenolické sloučeniny

Struktura fenolických sloučenin je založena na nejméně jednom hydroxysubstituovaném benzenovém jádru. Obecně lze rozdělit polyfenoly ve vínech na fenolové kyseliny, flavonoidy, kumariny a taniny. Fenolovými kyselinami jsou myšleny hydroxylové deriváty kyseliny benzoové a skořicové. Mezi flavonoidy se řadí antokyany, flavanony, flavanoly, flavony, flavonoly a isoflavonoidy [53, 54].



Obrázek 2 Rozdělení fenolických sloučenin [55]

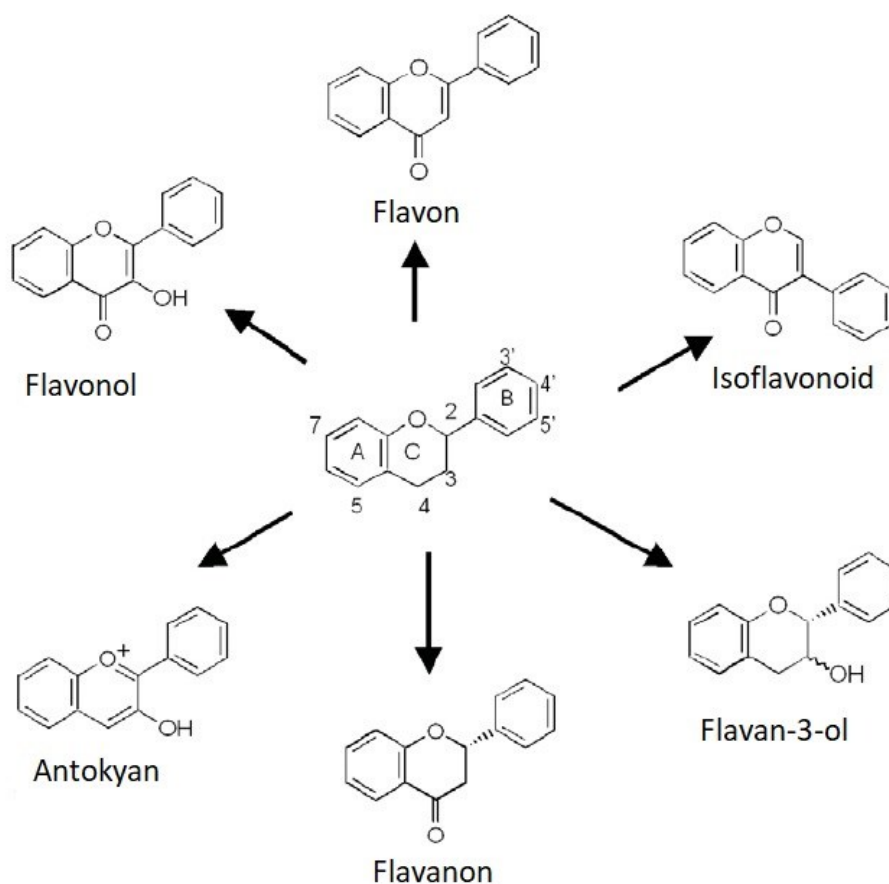
Obsah fenolových sloučenin ve vínech je významný z hlediska jejich antioxidačních vlastností, které podporují stabilitu vín a organoleptických vlastností, jelikož dodávají vínům jejich strukturu, barvu a chuť [55].

3.10.1 Fenolové kyseliny

Jsou to nejjednodušší struktury polyfenolických sloučenin. Hydroxybenzoové a hydroxyskořicové kyseliny jsou ve vínech nejčastěji v podobě esterů kyseliny vinné. Nejčastějšími deriváty kyseliny hydroxybenzoové přítomnými v bílých vínech, jsou kyselina protocatechová, gallová a vanilová. Kyselina hydroxyskořicová je ve vínech nejčastěji obsažena v podobě kyseliny ferulové, p-kumarové a kávové [53, 54].

3.10.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou charakteristické systémem tří benzenových jader s centrálním jádrem obsahujícím kyslík (jádro C). Vinné flavonoidy mají všechny hydroxylové substituční skupiny stejné (jádro A). Různé třídy flavonoidů jsou definovány rozdílem v oxidačním stavu a substituci na jádře B [56].



Obrázek 3 Flavonoidy [58]

3.10.3 Taniny

Taniny mají vysokou vaznou schopnost s proteiny a sacharidy.

Taniny se ve vínech vyskytují ve dvou podobách, a to konkrétně jako hydrolyzovatelné a kondenzované taniny. Hydrolyzovatelné taniny složeny z esterifikovaných fenolických kyselin. Kondenzované taniny, běžně nazývané prokyanidiny jsou polymery flavan-3-olových struktur [57].

Tabulka 1 Obsah fenolických sloučenin v bílých vínech [58]

Fenolická sloučenina	Obsah [mg/l]
Kyselina gallová	1 - 30
Kyselina protokatechová	0 - 3
Kyselina jantarová	0 - 1
Kyselina vanilová	0 - 8
Kyselina kávová	0 - 6
Kyselina ferulová	1 - 20
Kyselina p-kumarová	5 - 15
Resveratrol	0 - 6
Katechin	0 - 15
Epikatechin	0 - 10
Kvercetin	0 - 20
Kaempferol	0 - 3
Myricetin	0 - 4
Rutin	0 - 25
Hydrolyzovatelné taniny	10 -100
Prokyanidiny	100 - 200

Fenolové látky vín se řadí mezi významné antioxidanty a podílejí se na jejich celkové antioxidační kapacitě, což je parametr kvantifikující schopnost antioxidantů eliminovat volné radikály. Celková antioxidační kapacita by se měla rovnat součtu antioxidační kapacity látek přítomných v médiu [59, 60].

3.11 Aromatické látky

Obsah aromatických látek ve vínech se pohybuje v rozmezí 0,8 až 1,2 g/l, přičemž jejich větší část je tvořena vyššími alkoholy. Nejčastějšími aromatickými látkami vín jsou odrůdová aromata, jako jsou terpeny a thioly a estery, které jsou výsledkem esterifikace. Obecně lze rozdělit aromatické látky na primární, tedy látky odrůdově typické a sekundární, které se ve víně vytváří v průběhu fermentace a zrání [9, 38].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo stanovit vliv obsahu oxidu siřičitého na oxidaci v průběhu skladování po dobu 4 měsíců u vzorků bílého vína, s různou koncentrací celkového oxidu siřičitého. V intervalu měření 1 měsíce tak byly sledovány změny bioaktivních látek a antioxidační aktivity v průběhu skladování v závislosti na obsahu celkového oxidu siřičitého.

4.1 Dílčí cíle

- Stanovení obsahu volného oxidu siřičitého pomocí jodometrie v průběhu skladování.
- Provedení sensorické analýzy a její vyhodnocení pořadovou zkouškou.
- Sledování změn antioxidační aktivity pomocí spektrofotometrické metody DPPH a ABTS v průběhu skladování.
- Stanovení celkového obsahu polyfenolů a flavonoidů spektrofotometricky v průběhu skladování.
- Stanovení jednotlivých polyfenolických látek pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie v průběhu skladování.

5 METODIKA PRÁCE

5.1 Příprava vzorků

K dosažení cílů této práce bylo vyrobeno 40 litrů vína v kategorii CHZO – moravské zemské víno. K výrobě tohoto vína byly použity hrozny odrůd Pálava a Irsai Oliver v poměru 1:1, jejichž specifikace je uvedena v Tabulce 2.

Tabulka 2 Hrozny použité pro přípravu vzorků

Odrůda	Registrační číslo vinice	Rok výsadby	Vedení	Oblast	Podoblast	Obec	Trat'
Pálava	628964/0198	2011	Vysoké	Morava	Mikulovská	Dolní Dunajovice	Zimní vrch
Irsai Oliver	628964/0198	2019	Vysoké	Morava	Mikulovská	Dolní Dunajovice	Zimní vrch

Sběr hroznů určených pro přípravu vzorků byl proveden dne 14.9.2021, kdy bylo sklizeno 40 kg hroznů moštové odrůdy Pálava a 40 kg moštové odrůdy Irsai Oliver. Následně byly hrozny podrceny a odstopkovány na mlýnkoodstopkovači a lisovány na vertikálním lisu s dřevěným košem a hydraulickou panenkou. Z 80 kg hroznů bylo vylisováno 55 litrů moštu, což odpovídá vylisnosti 68,75 %. Cukernatost moštu byla měřena cejchovaným moštoměrem s korekcí na teplotu 15 °C s výslednou hodnotou 18,2 °NM. Dále byl vylisovaný mošt odkalován po dobu 18 hodin. Ztráta při stočení z hrubých kalů byla 5 litrů, se zůstatkem 50 litrů moštu. Cukernatost odkaleného moštu byla po odkalení zvýšena na 20,2 °NM přidáním 1,1 kg sacharózy. Fermentace takto upraveného moštu proběhla ve 150 l plastové nádobě s plovoucím víkem a kvasnou zátkou, při teplotě pohybující se v rozmezí 15 - 16 °C a s využitím spontánního kvašení. Po ukončení fermentace bylo dne 25.10.2021 víno stočeno z jemných kalů a filtrováno deskovým filtrem s deskami se zádržností 8 a 3 mikrony. Filtrované víno bylo adjustováno do 8 skleněných nádob o objemu 5 litrů. Následně proběhl do každé nádoby přídavek 40% roztoku hydrogensířičitanu amonného v množství uvedeném v Tabulce 3.

Tabulka 3 Celkový obsah oxidu siřičitého ve vzorcích vína

Číslo vzorku	Množství přidaného 40% roztoku hydrogensířičitanu amonného na 5 l vína [ml]
1	0,000
2	0,375
3	0,750
4	1,125
5	1,500
6	1,875
7	2,250
8	2,625

5.2 Stanovení oxidu siřičitého jodometricky – metoda OIV-MA-AS323-04B : R 2009

Volný oxid siřičitý byl stanoven přímou titrací roztoku jódu. Po alkalické hydrolyze SO_2 byl další titrací stanoven i vázaný oxid siřičitý. Celkový oxid siřičitý je součtem volného a vázaného SO_2 .

Ve vzorcích vín bylo provedeno stanovení volného a celkového SO_2 . Standardizace odměrného roztoku jodu byla provedena na thiosíran sodný standardizovaný na dichroman draselný.

Stanovení volného SO_2

Do 500 ml kónické baňky se zbroušenou zátkou se napipetuje 50 ml vína tak, že pipeta se stále dotýká dna baňky. Poté se ihned přidají 3 ml roztoku H_2SO_4 (1:10 objemově), 1 ml 30 g/l roztoku chelatonu 3 a 1 ml 0,5 % roztoku škrobu. Následně se neprodleně titruje 0,02 mol.l⁻¹ roztokem jodu do vzniku modrofialového zbarvení, které vydrží aspoň 15 s (získaná spotřeba roztoku jódu se využije ve výpočtu volného SO_2 jako hodnota V_1).

Stanovení celkového SO_2

Ihned po titraci volného SO_2 se ke vzorku přidá 8 ml roztoku 4 M NaOH, uzavře se zátkou a zamíchá. Po 5 min se přidá 10 ml roztoku H_2SO_4 (1:10 objemově) a titruje se 0,02 mol.l⁻¹ roztokem jodu do modrofialového zbarvení, které vydrží aspoň 15 s (získaná spotřeba roztoku jódu se využije ve výpočtu celkového SO_2 jako hodnota V_2).

K analyzovanému vzorku se dále přidá 20 ml roztoku 4 M NaOH, uzavře se zátkou a zamíchá. Po 5 minutách se přidá 200 ml studené destilované vody a 30 ml roztoku H₂SO₄ (1:10 objemově). Ihned se titruje 0,02 mol.l⁻¹ roztokem jodu do vzniku modrofialového zbarvení, které vydrží aspoň 15 s (získaná spotřeba roztoku jódu se využije ve výpočtu celkového SO₂ jako hodnota V₃).

Výpočet obsahu SO₂

Koncentrace volného SO₂ [mg/l] = V₁ * f * 12,8

Koncentrace celkového SO₂ (mg/l) = (V₁ + V₂ + V₃) * f * 12,8

kde 12,8 – koeficient pro přepočítání na SO₂ při použití 0,025 M I₂; f = faktor 0,02 mol.l⁻¹ roztoku jodu

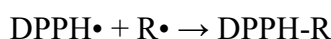
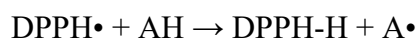
5.3 Senzorická analýza – pořadová zkouška

Pravidla provedení pořadové zkoušky se řídí technickou normou ČSN ISO 8587 – Senzorická analýza – Metodologie – Pořadová zkouška. Cílem metody je uspořádání série vzorků do pořadí v závislosti na intenzitě vybraného parametru.

K senzorické analýze bylo vybráno 10 hodnotitelů, s platným osvědčením o absolvování senzorické zkoušky pro hodnocení vín. Hodnotitelé obdrželi sérii 8 vzorků, umístěných v náhodném pořadí. Úkolem hodnotitelů bylo seřadit předložené vzorky podle intenzity senzorického vjemu po síře a síly oxidace. Seřazená série byla následně hodnotiteli zapsána do záznamu senzorického hodnocení (viz Příloha P II).

5.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Jde o spektrofotometrickou metodu založenou na přenosu vodíkového atomu testované látky (AH) stabilnímu radikálu DPPH• (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl), který tvoří komplex purpurové, tmavě fialové barvy s maximem absorpce při 515 nm. V průběhu reakce dochází k redukci za vzniku světle žluté až bezbarvé neradikálové formy difenylpikrylhydrazinu – DPPH-H. Barevná změna závisí na koncentraci antioxidantu (AH) lineárně.



Celková antioxidační aktivita byla stanovena modifikovanou metodou s DPPH [61]. Pro analýzu byl připraven roztok DPPH v metanolu. Následně se takto připravený roztok (kontrolní roztok, A_k) spektrofotometricky měří při vlnové délce 515 nm proti metanolu UV/VIS spektrometrem Lambda 25 (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Vzorek vína o objemu 210 μ l se napipetoval do zkumavky s přidavkem 4 ml roztoku DPPH, která se uzavřela. Po 60 minutách inkubace ve tmě při laboratorní teplotě, se produkt barevné reakce (A) měří spektrofotometricky při dané vlnové délce proti metanolu.

Inaktivace (I, %), jako úbytek absorbance, se vypočte:

$$I = \frac{A_k - A}{A_k} \times 100$$

Výsledky inaktivace jsou následně přepočítány pomocí lineární regresní rovnice se standardem (Trolox) a vyjádří se jako mg ekvivalentu Troloxu (TE).l⁻¹.

5.5 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Metoda je založena na testování schopnosti vzorku zhášet kation-radikál ABTS (2,2'-azinobis (3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonové kyseliny)). Antioxidanty zháší radikál ABTS a chovají se jako donory vodíku. Ty jsou sledovány spektrofotometricky na základě změny absorbance ABTS (nejčastěji se měří úbytek absorbance při $\lambda = 734$ nm). V reakční směsi se kation-radikál ABTS generuje oxidací ABTS různými sloučeninami, např. peroxodisíranem draselným, oxidem manganičitým aj.

Analýza byla provedena pomocí modifikované metody [62]. Kationtový radikál ABTS⁺ byl získán reakcí 7 mmol.l⁻¹ ABTS roztoku diamonné soli s roztokem 2,45 mmol.l⁻¹ K₂S₂O₈ smíchaným v poměru 1: 1 (v/v). Roztok byl inkubován 16 hodin při pokojové teplotě ve tmě. Následně bylo přidáno 50 μ l vzorku vína k 4 ml ABTS⁺ roztoku zředěnému k dosažení absorbance menší než 0,800. Absorbance byla měřena při 734 nm po době inkubace 30 minut na UV/VIS spektrometru Lambda 25 (PerkinElmer, Waltham, MA, USA).

Výsledky inaktivace (výpočet dle vzorce uvedeného pro metodu s DPPH) se uvádí jako úbytky absorbance, které jsou následně přepočítány pomocí lineární regresní rovnice se standardem (Trolox) a vyjádří se jako mg ekvivalentu Troloxu (TE).l⁻¹.

5.6 Stanovení celkového obsahu polyfenolu metodou Folin-Ciocalteu

Spektrofotometrická metoda s použitím Folin-Ciocalteuova činidla je založena na redukci komplexu směsi kyseliny fosforečno-wolframové a kyseliny fosforečno-molybdenové fenolickými látkami v alkalickém prostředí. K analýze byla použita modifikovaná metoda [63, 64]. Stanovení se provádí při vlnové délce 765 nm po 30 min. inkubace.

Do odměrné baňky o objemu 10 ml bylo pipetováno 100 μ l vzorku, 5 ml destilované vody, následně 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 1,5 ml 20% uhličitanu sodného. Nakonec byla odměrná baňka doplněna destilovanou vodou po rysku na objem 10 ml. Následovala inkubace po dobu 30 minut. Vzniklý produkt barevné reakce (modře zbarvený) byl změřen UV/VIS spektrometrem Lambda 25 (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Jako slepý vzorek byla použita výše uvedená směs, kde byl vzorek nahrazen vodou.

Vyhodnocení celkového obsahu polyfenolů bylo provedeno přepočtem z kalibrační křivky na standard kyselinu gallovou a výsledky byly vyjádřeny v mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE).l⁻¹ vzorku.

5.7 Stanovení obsahu flavonoidů

Stanovení celkových flavonoidů bylo provedeno podle modifikované metody [65, 66].

Do zkumavky bylo pipetováno 0,425 ml vzorku vína (ředěno dle potřeby) a 4,25 ml 20% etanolu. Do směsi bylo přidáno 0,19 ml 0,5 M NaNO₂. Do takto připravené směsi bylo po 5 minutách přidáno 0,19 ml 0,3 M AlCl₃.6H₂O a roztok byl inkubován po dobu 5 minut. Následně bylo přidáno 1,25 ml 1 M NaOH. Po 10 minutách byl roztok proměřen při vlnové délce 506 nm na spektrometrickém přístroji Lambda 25 (PerkinElmer, Waltham, MA, USA).

Pro vyhodnocení byla použita metoda kalibrační křivky na standard rutin. Výsledek byl vyjádřen v mg ekvivalentu rutinu (RE).l⁻¹ vzorku.

5.8 Stanovení jednotlivých polyfenolů vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií

K separaci a identifikaci jednotlivých fenolických látek ve víně byla využita metoda vysoce účinné kapalinové chromatografie s DAD detektorem.

Před vlastním měřením byly vzorky vína filtrovány přes nylonové mikrofiltry (Syringe Filter, Nylon 0,22 μ m). Stanovení bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) na přístroji UltiMate® 3000 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA)

s DAD detektorem za použití kolony Phenomenex Kinetex C 18: 150mm x 4,6 mm; 5 μm . Byly použity mobilní fáze A – destilovaná voda/kyselina octová v poměru 99 : 1, v/v) a mobilní fáze B – destilovaná voda/acetonitril/kyselina octová v poměru 67 : 32 : 1, v/v/v). Průběh analýzy byl gradientový (0 – 10 min: 90 % A + 10 % B; 10 – 16 min: 80 % A + 20 % B; 16 – 20 min: 60 % A + 40 % B; 20 – 25 min: 50 % A + 50 % B; 25 – 27 min: 60 % A + 40 % B; 27 – 35 min: 90 % A + 10 % B). Průtok mobilních fází byl 1 ml.min⁻¹, objem nástřiku 10 μl , teplota kolony: 30°C, délka analýzy 45 min. Odezvy DAD detektoru byly zaznamenávány při vlnové délce 275 nm [67, 68].

U vzorků byly stanovovány vybrané jednotlivé polyfenolické látky, a to:

- Fenolové kyseliny (kyselina gallová, vanilová a protokatechová, (kyselina ferulová, kávová a p-kumarová)
- Flavonoidy (kvercetin, rutin, kaempferol, myricetin, epikatechin, katechin)
- Stilbeny (resveratrol)

Vyhodnocení bylo provedeno na základě analýzy standardů jednotlivých polyfenolických látek. Kvantitativní vyhodnocení, bylo uskutečněno metodou kalibrační křivky a následného výpočtu koncentrace dané látky ve vzorku. Obsah jednotlivých polyfenolů byl vyjádřen jako ekvivalentní množství mg standardu v 1 l vzorku.

5.9 Statistické vyhodnocení

Data získaná z měření byly předzpracována v programu Microsoft Office Excel, kde byly získány základní statistické charakteristiky (aritmetický průměr, směrodatná odchylka souboru a průměru). Dále byla data seříděna a připravena pro další zpracování v programu Statistika CZ 12. V tomto programu byla provedena analýza ANOVA ($\alpha = 0,05$), jejímž cílem bylo prověřit, jestli existují statisticky významné rozdíly mezi alespoň dvěma středními hodnotami jednotlivých souborů dat. Pro nalezení konkrétních rozdílných souborů dat byl použit Tukeyův HSD post-hoc test, který je jedním z nejpoužívanějších testů a je kompromisní mezi silou testu a možností výskytu chyby, kdy skutečně platí nulová hypotéza, ale je na základě provedených výpočtů je zamítnuta.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Stanovení oxidu siřičitého

V průběhu skladování byly v intervalech přibližně jednoho měsíce sledovány změny v obsahu volného a celkového oxidu siřičitého ve vzorcích č. 2 až 8. U vzorku č. 1 tyto parametry sledovány nebyly, jelikož do něj nebyl přidán žádný oxid siřičitý.

Naměřené hodnoty volného obsahu oxidu siřičitého v průběhu skladování jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 4 Obsah volného SO₂

Číslo vzorku	Datum měření				
	29.10.2021	25.11.2021	04.01.2022	26.01.2022	25.02.2022
Obsah volného SO ₂ [mg/l] ± směrodatná odchylka					
2	12,10 ± 1,07	10,59 ± 1,07	9,08 ± 1,85	5,3 ± 1,07	4,54 ± 1,07
3	29,5 ± 0,00	26,48 ± 1,07	16,64 ± 1,07	15,13 ± 1,07	9,08 ± 1,07
4	54,47 ± 0,00	41,61 ± 1,07	26,48 ± 1,07	26,48 ± 1,07	20,42 ± 1,07
5	80,19 ± 2,14	63,54 ± 0,00	46,14 ± 1,07	46,14 ± 1,07	34,04 ± 1,07
6	103,64 ± 1,07	87,75 ± 1,07	67,33 ± 1,07	64,3 ± 1,07	52,2 ± 0,00
7	133,89 ± 0,00	110,44 ± 1,07	84,72 ± 1,07	83,21 ± 1,07	68,08 ± 1,07
8	155,08 ± 1,07	137,68 ± 1,07	105,15 ± 1,07	104,39 ± 1,85	86,24 ± 1,07

Podle naměřených dat se obsah volného oxidu siřičitého pohyboval na počátku uskladnění od 12,10 do 155,08 mg/l. Mezi prvním měřením z 29.10.2021 a měřením z 25.11.2021 byl zaznamenán průměrný úbytek obsahu oxidu siřičitého 16 %. V následujícím intervalu měření, mezi 25.11.2021 a 4.1.2022, byl zaznamenán průměrný pokles obsahu SO₂ nejvyšší a pohyboval se na 26 %. Naopak nejnižší průměrný úbytek obsahu oxidu siřičitého byl naměřen v období od 4.1.2022 do 26.1.2022, a to v hodnotě 8 %. V tomto období vykazoval nejvyšší úbytek obsahu oxidu siřičitého vzorek č. 2, celkem 42 %, což byl také nejvyšší úbytek volného SO₂ za celou dobu sledování tohoto parametru. Naproti tomu ostatní vzorky vykazovaly v tomto období nejnižší pokles volného oxidu siřičitého pohybující se v rozsahu 0 – 9 %, což byly také nejnižší naměřené úbytky v průběhu uskladnění. Dále v období mezi 26.1.2022 a 25.2.2022 byl naměřen 23% úbytek volného oxidu siřičitého. Průměrný úbytek volného SO₂ po celou dobu uskladnění byl 56 %, přičemž nejvyšší procentuální úbytky byly zaznamenány u vzorků s nižší koncentrací oxidu siřičitého. Po čtyřech měsících uskladnění vzorků se jejich obsah volného SO₂ pohyboval v rozmezí 4,54 až 86,24 mg/l.

Snopek (2019) ve své disertační práci uvádí průměrný úbytek volného oxidu siřičitého u sledovaných vzorků vín po jednom měsíci skladování 3,34 %, což je o 12,66 % méně než naměřený úbytek v rámci této diplomové práce. Po 6 měsících skladování dále uvádí průměrný pokles volného oxidu siřičitého 14,53 %, což je výrazně méně, konkrétně o 47,47 %, než je v rámci této práce naměřeno u vzorků po 4 měsících jejich uskladnění [58]. Dle naměřených hodnot, uvedených v článku Fišera *et al.* (2022) se úbytek volného oxidu siřičitého u testovaných vzorků vín pohyboval na 37 % po 150 dnech skladování [69]. Úbytek obsahu volného SO₂ je zpravidla závislý na použité technologii výroby, uskladnění vín či na obsahu karbonylových sloučenin vázajících oxid siřičitý [2].

Grafické znázornění poklesu obsahu volného oxidu siřičitého v průběhu uskladnění je přílohou této práce (viz Příloha P III).

Analýza celkového obsahu oxidu siřičitého proběhla ve dvou termínech, s rozestupem 3 měsíců. Mezi těmito dvěma měřeními byl zaznamenán pouze 2% pokles průměrného obsahu celkového SO₂. Tyto výsledky tak odpovídají disertační práci Snopek (2019), který uvádí, že po jednom a šesti měsících skladování vín byl obsah celkového oxidu siřičitého téměř totožný a výraznější úbytek celkového SO₂ v hodnotách 10,73 % byl zaznamenán až po 12 měsících uskladnění [58].

Naměřené hodnoty celkového obsahu oxidu siřičitého v průběhu skladování jsou uvedeny v Tabulce 5.

Tabulka 5 Obsah celkového SO₂

Číslo vzorku	Datum měření	
	25.11.2021	25.02.2022
Obsah celkového SO ₂ [mg/l] ± směrodatná odchylka		
2	32,53 ± 1,07	31,63 ± 1,85
3	62,79 ± 1,07	60,77 ± 1,07
4	92,29 ± 1,07	91,18 ± 1,07
5	111,20 ± 0,00	109,12 ± 1,07
6	135,41 ± 1,07	133,89 ± 1,07
7	161,88 ± 1,07	161,44 ± 0,00
8	189,12 ± 1,07	188,64 ± 1,85

6.2 Senzorické hodnocení pořadovou zkouškou

Při vyhodnocení pořadové zkoušky podle Friedmana, ze dne 2.11.2021 se s 99% spolehlivostí podařilo prokázat, že rozdíl v oxidaci existuje mezi vzorky č. 1 - 4, 1 - 5, 1 - 7

a 1 - 8. Po vyhodnocení pořadové zkoušky lze tedy konstatovat, že vzorek č. 1 je oxidativnější než vzorky 4, 5, 7 a 8. Následným vyhodnocením pořadové zkoušky ze dne 17.2.2022 se s 99% spolehlivostí podařilo prokázat, že rozdíl v oxidaci existuje mezi vzorky č. 1 - 5, 1 - 6, 1 - 7, 1 - 8 a 2 - 5, 2 - 7 a 2 - 8. Vzhledem k tomu lze posoudit vzorek č. 1 jako oxidativnější než vzorky 5, 6, 7 a 8 a vzorek č. 2 jako oxidativnější než vzorky 5, 7 a 8. Ostatní vzorky se ve znaku oxidace statisticky významně nelišily. Z výsledků sensorického hodnocení tedy vyplývá, že vzorky byly v průběhu skladování vystaveny oxidativním procesům. Na základě provedené pořadové zkoušky se podařilo prokázat, že oxidace se v časovém odstupu provedeného hodnocení více projevovala u vzorků s nižšími obsahy volné a celkové síry.

Dále se při vyhodnocení pořadové zkoušky podle Friedmana, ze dne 2.11.2021 s 99% spolehlivostí podařilo prokázat, že rozdíl ve vnímání síry existuje mezi vzorky č. 1 - 5, 7 a 8. Na základě hodnocení lze tedy konstatovat, že vzorek č. 1 je méně cítit po oxidu siřičitém než vzorky 5, 7 a 8. Následujícím hodnocením vzorků, ze dne 17.2.2022, se pořadovou zkouškou podle Friedmana s 99% spolehlivostí podařilo prokázat, že rozdíl ve hledaném znaku, vnímání síry, existuje mezi vzorky č. 1 - 5, 6, 7 a 8 a mezi vzorky č. 2 - 5, 7 a 8. A lze tak konstatovat, že vzorek č. 1 je méně cítit po oxidu siřičitém než vzorky 5, 6, 7 a 8 a vzorek č. 2 je méně cítit po oxidu siřičitém než vzorky 5, 7 a 8. Ostatní vzorky se ve znaku vnímání oxidu siřičitého statisticky významně nelišily. Z výsledků sensorického hodnocení ve znaku vnímání oxidu siřičitého tedy vyplynulo, že vzhledem k poklesu volného oxidu siřičitého v průběhu skladování, byly vzorky s jeho vyšším obsahem sensoricky více cítit po síře. Nicméně již z průběhu sensorického hodnocení bylo patrné, že oba posuzované znaky se vzájemně ovlivňují, jelikož hodnotitelé logicky posoudili vzorky, které shledali jako oxidativnější, jako vzorky s nižším obsahem síry a naopak.

Žádné další choroby a vady se dle hodnotitelů v předložených vzorcích nevyskytovaly.

6.3 Stanovení antioxidační aktivity měřená metodou DPPH

Analýza antioxidační aktivity měřená metodou s využitím DPPH proběhla v 5 intervalech. Naměřené hodnoty antioxidační aktivity sledovaných vzorků v průběhu jejich skladování jsou uvedeny v Tabulce 6.

Tabulka 6 Antioxidační aktivita měřená metodou DPPH

Číslo vzorku	Datum měření				
	26.10.2021	24.11.2021	03.01.2022	25.01.2022	23.02.2022
	Antioxidační aktivita - metoda DPPH [mg/l] ± směrodatná odchylka				
1	116,75 ± 3,87 ^a	105,64 ± 4,79 ^a	88,63 ± 3,36	118,12 ± 7,89 ^{ab}	132,58 ± 0,22 ^b
2	183,77 ± 0,86 ^a	188,41 ± 8,98 ^{a,A}	137,8 ± 0,00	176,47 ± 8,11 ^a	175,07 ± 4,10 ^a
3	213,55 ± 5,32 ^a	198,03 ± 2,77 ^{a,A}	168,91 ± 11,39 ^A	210,14 ± 0,15 ^{a,A}	202,00 ± 0,48 ^a
4	230,32 ± 5,53 ^{a,A}	219,35 ± 1,36 ^{a,B}	187,48 ± 4,07 ^{AB}	227,14 ± 5,29 ^{a,AB}	221,5 ± 3,81 ^a
5	245,19 ± 4,07 ^{a,AB}	237,82 ± 6,52 ^{a,B}	206,43 ± 2,23 ^{BCD}	245,07 ± 6,95 ^{a,BC}	244,06 ± 0,63 ^a
6	259,16 ± 7,90 ^{a,BC}	258,56 ± 10,61 ^{a,C}	218,25 ± 3,24 ^{CD}	249,74 ± 3,59 ^{a,C}	261,87 ± 3,62 ^a
7	268,33 ± 1,23 ^{a,C}	265,96 ± 1,32 ^{a,C}	222,91 ± 12,32 ^{DE}	269,78 ± 1,90 ^{a,D}	280,78 ± 6,02 ^{a,A}
8	270,62 ± 2,80 ^{a,C}	267,02 ± 3,98 ^{a,C}	241,85 ± 0,03 ^E	269,7 ± 3,13 ^{ab,D}	277,53 ± 1,86 ^{b,A}

Poznámky k tabulce 6: hodnoty se stejnými indexy značí statistickou neprůkaznost na hladině významnosti $p > 0,05$ (malá písmena – statistická neprůkaznost mezi daty měření; velká písmena – statistická neprůkaznost mezi vzorky).

Podle naměřených hodnot se antioxidační aktivita pohybovala na počátku měření, tj. dne 26.10.2021, v rozmezí 117,75 až 270,62 mg/l, přičemž antioxidační aktivita stoupala spolu s koncentrací oxidu siřičitého ve vzorcích. Studie provedená Abramovič *et al.* (2015) ukazuje, že obsah oxidu siřičitého ve víně zvyšuje antioxidační aktivitu měřenou metodou s využitím DPPH [70]. Za celé období měření byla průměrná naměřená antioxidační aktivita vzorků 214,06 mg/l, což je výsledek, který téměř odpovídá hodnotě antioxidační aktivity 227 mg/l u bílých vín původem z České republiky, zkoumaných ve studii Lachman *et al.* (2007) [71].

V období mezi 26.10.2021 a 3.1.2022 byl zaznamenán 19% úbytek průměrné antioxidační aktivity. Nejvýraznější pokles antioxidační aktivity za toto období byl zaznamenán u vzorků s nižšími obsahy oxidu siřičitého. Nejvíce poklesla antioxidační aktivita u vzorku č. 1, která klesla o 26 %, následovaná vzorkem č. 2 u kterého klesla o 24 %. Naopak nejmenší úbytek antioxidační aktivity byl evidován u vzorku č. 8, jehož antioxidační aktivita poklesla o 10 %. Následně byl v období mezi 3.1.2022 a 23.2.2022 zaznamenán dle naměřených hodnot nárůst antioxidační aktivity u všech sledovaných vzorků v průměru o 24 %. Nejvyšší nárůst antioxidační aktivity mezi 3.1.2022 a 23.2.2022 proběhl v případě vzorku č. 1 o 45 %. Se zvyšující se koncentrací oxidu siřičitého ve vzorcích nárůst antioxidační aktivity za zmíněné období postupně klesal, s výjimkou vzorku č. 7. Za celou dobu měření, od 26.10.2021 do 23.2.2022, klesla antioxidační aktivita u vzorků č. 2 až 5 v rozmezí 0,5 – 5 %. U vzorků č. 6 až 8 naopak antioxidační aktivita stoupla o 1 – 5 %. Uvedené hodnoty, naměřené mezi 26.10.2021 a 23.2.2022, byly s výjimkou vzorku č. 8 statisticky neprůkazné ($p > 0,05$) viz Tabulka 6. Nejvýraznější nárůst antioxidační aktivity v průběhu skladování proběhl statisticky průkazně ($p < 0,05$) mezi daty 26.10.2021 a 23.2.2022 u vzorku č. 1 o 14 %.

Grafické znázornění antioxidační aktivity vzorků v průběhu skladování je přílohou této práce (viz Příloha P IV).

6.4 Stanovení antioxidační aktivity měřená metodou ABTS

Analýza antioxidační aktivity měřená metodou s využitím ABTS proběhla v 5 intervalech. Naměřené hodnoty antioxidační aktivity sledovaných vzorků v průběhu jejich skladování jsou uvedeny v Tabulce 7.

Tabulka 7 Antioxidační aktivita měřená metodou ABTS

Číslo vzorku	Datum měření				
	26.10.2021	24.11.2021	04.01.2022	26.01.2022	23.02.2022
	Antioxidační aktivita - metoda ABTS [mg/l] ± směrodatná odchylka				
1	117,74 ± 0,09 ^a	104,18 ± 2,31 ^{ab}	93,51 ± 2,59 ^{bc}	99,81 ± 2,31 ^{bc}	115,18 ± 9,23 ^{ab}
2	203,78 ± 0,09	147,57 ± 10,46 ^a	145,64 ± 1,50 ^{ab}	130,94 ± 1,32 ^b	184,50 ± 3,30 ^A
3	268,85 ± 2,26	181,72 ± 10,86 ^{a,A}	193,56 ± 1,68 ^{ab}	174,58 ± 0,47 ^a	195,75 ± 1,60 ^{ab,A}
4	330,91 ± 0,16	206,34 ± 15,60 ^{a,A}	241,89 ± 2,59 ^b	206,37 ± 0,41 ^a	258,13 ± 5,51 ^b
5	380,58 ± 12,07	263,6 ± 2,43 ^{a,B}	294,20 ± 1,08 ^b	258,73 ± 1,62 ^a	309,7 ± 2,98 ^{b,B}
6	422,25 ± 0,56	268,02 ± 2,22 ^{a,BC}	334,42 ± 9,56	281,61 ± 0,69 ^a	307,01 ± 1,25 ^B
7	466,78 ± 1,07	294,11 ± 2,89 ^{CD}	376,87 ± 7,09	334,71 ± 5,44 ^A	349,57 ± 0,99
8	482,3 ± 0,66	309,57 ± 10,78 ^{a,D}	393,79 ± 1,83 ^b	325,88 ± 6,52 ^{a,A}	391,91 ± 4,81 ^b

Poznámky k tabulce 7: hodnoty se stejnými indexy značí statistickou neprůkaznost na hladině významnosti $p > 0,05$ (malá písmena – statistická neprůkaznost mezi daty měření; velká písmena – statistická neprůkaznost mezi vzorky).

Antioxidační aktivita měřená metodou s využitím ABTS byla mezi jednotlivými měřeními velmi kolísavá a vykazovala opakovaný úbytek a následný nárůst. Tyto výkyvy jsou graficky znázorněny v Příloze P V.

Dne 26.10.2021 byla antioxidační aktivita vzorku č. 1 117,74 mg/l a se zvyšujícím se obsahem oxidu siřičitého stoupala až na 482,30 mg/l u vzorku č. 8. Mezi 26.10.2021 a 24.11.2021 byl zaznamenán u všech testovaných vzorků celkový průměrný 31% úbytek antioxidační kapacity. Následně mezi 24.11.2021 a 4.1.2021 proběhl nárůst antioxidační aktivity u vzorků č. 2 až 8 o 19 %. Vzorek č. 1 za toto období vykázal pokles antioxidační kapacity 10 % a vzorek č. 2 1 %. Dále mezi 4.1.2022 a 26.1.2022 byl naměřen úbytek antioxidační aktivity u vzorků č. 2 až 8 v průměru o 11 %. Výjimkou byl za toto období vzorek č. 1 se 7% nárůstem. Od 26.1.2022 do 23.2.2022 byl naměřen opět nárůst antioxidační aktivity v průměru o 18 %, a to u všech sledovaných vzorků. Nicméně i přes tyto občasné výkyvy antioxidační aktivita všech sledovaných vzorků po dobu celého skladování klesla v průměru o 19 %. Naměřené úbytky mezi 26.10.2021 až 23.2.2022 jsou s výjimkou vzorku č. 1 statisticky průkazné ($p < 0,05$) viz Tabulka 7. Za celou dobu skladování klesla antioxidační aktivita nejméně u vzorku č. 1, u kterého byl zaznamenán

pokles o 2 % a vzorku č. 2 s 9% úbytkem, což může mít souvislost s obsahem volného SO₂, jelikož u vzorku č. 2 byla na konci uskladnění antioxidační kapacita získaná díky obsahu volného oxidu siřičitého téměř vyčerpána a u vzorku č. 1 neproběhl žádný přírůstek siřičitanů. Dne 23.2.2022, se antioxidační aktivita vzorků pohybovala mezi 115,18 až 391,91 mg/l. Průměrná antioxidační aktivita vzorků po celou dobu jejich uskladnění byla 261,16 mg/l. V porovnání s výsledky studie Fernández-Pachón *et al.* (2004) byla průměrná antioxidační aktivita bílých španělských vín 115,87 mg/l. Tyto hodnoty naměřené ve studii Fernández-Pachón *et al.* (2004) by tak odpovídaly hodnotám antioxidační aktivity vzorku č. 1 [72].

Snopek (2019) ve své disertační práci uvádí průměrný úbytek antioxidační aktivity měřené s využitím ABTS o 10,15 %, po 6 měsících uskladnění, což ukazuje na stejný trend poklesu antioxidační aktivity, jako v této diplomové práci [58]. V porovnání s antioxidační aktivitou měřenou s využitím DPPH jde o rozdílný trend, jelikož metoda DPPH po 4 měsících uskladnění vykazovala u vzorku 2 - 7 přibližně stejnou antioxidační aktivitu jako na počátku měření či naopak u vzorku č. 1 a 8 mírně stoupala. Porovnání antioxidační aktivity měřené metodami ABTS a DPPH zkoumala ve své práci Floegel *et al.* (2011), jejíž výsledky ukazují, že metoda ABTS ve srovnání s metodou DPPH lépe vyjadřuje antioxidační kapacitu nápojů, včetně vín [73].

6.5 Stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin

Celkový obsah polyfenolů ve zkoumaných vzorcích v průběhu jejich uskladnění je uveden v Tabulce 8.

Tabulka 8 Celkový obsah fenolických sloučenin

Číslo vzorku	Datum měření				
	26.10.2021	24.11.2021	03.01.2022	25.01.2022	23.02.2022
	Celkový obsah polyfenolů [mg/l] ± směrodatná odchylka				
1	150,00 ± 1,70	131,75 ± 2,75 ^a	128,35 ± 0,75 ^a	120,73 ± 0,61	138,55 ± 1,45
2	191,65 ± 7,35 ^A	165,75 ± 3,35 ^{a,A}	149,10 ± 0,30 ^{ab,A}	142,15 ± 8,16 ^{b,A}	170,30 ± 5,00 ^{a,A}
3	197,05 ± 7,35 ^{a,A}	184,55 ± 0,05 ^{a,AB}	158,55 ± 4,15 ^{b,AB}	146,18 ± 5,60 ^{b,AB}	168,35 ± 1,65 ^{b,A}
4	212,35 ± 8,85 ^{a,A}	199,45 ± 3,35 ^{ab,BC}	159,60 ± 5,10 ^{c,AC}	155,58 ± 3,41 ^{c,BC}	183,65 ± 8,15 ^{b,AB}
5	250,50 ± 1,50 ^B	221,95 ± 0,35 ^{CD}	171,15 ± 5,25 ^{a,BCD}	170,68 ± 0,83 ^{a,D}	197,50 ± 6,40 ^{ABC}
6	246,75 ± 12,95 ^{a,B}	234,15 ± 16,55 ^{ab,DE}	179,20 ± 1,40 ^{c,D}	164,03 ± 2,24 ^{c,CD}	201,85 ± 13,65 ^{bc,BCD}
7	254,65 ± 15,25 ^{a,B}	259,15 ± 6,05 ^{a,E}	188,15 ± 5,55 ^{b,D}	165,68 ± 6,56 ^{b,CD}	227,40 ± 3,50 ^D
8	254,60 ± 5,50 ^{a,B}	259,85 ± 0,35 ^{a,E}	182,70 ± 5,40 ^{b,D}	167,50 ± 5,74 ^{b,CD}	217,15 ± 15,85 ^{BCD}

Poznámky k tabulce 8: hodnoty se stejnými indexy značí statistickou neprůkaznost na hladině významnosti $p > 0,05$ (malá písmena – statistická neprůkaznost mezi daty měření; velká písmena – statistická neprůkaznost mezi vzorky).

Na počátku měření, dne 26.10.2021, se celkový obsah polyfenolů v analyzovaných vzorcích pohyboval mezi 150,00 až 254,60 mg/l. Obsahem polyfenolů ve vínech jse zabývala ve své práci Mitrevska *et al.* (2020), jejichž výsledky ukázaly, že celkový obsah polyfenolů u bílých vín ze Severní Makedonie se pohyboal v rozmezí 169,48 až 434,27 mg/l [74]. Další studie Čeryová (2021) zabývající se celkovým obsahem polyfenolů uvádí jejich obsah mezi 226,80 až 568,30 mg/l u muškátových odrůd révy vinné původem ze Slovenska [75]. Naměřené výsledky celkového obsahu polyfenolů v této práci se v porovnání s těmito publikovanými hodnotami pohybovaly spíše v jejich nižších mezích. Tento rozdíl může být zapříčiněn rozdílným geografickým původem, rozdílností odrůd, vyzrálostí suroviny či využitím jiné zpracovatelské technologie jako je macerace nebo delší průběh lisování. Mitić *et al.* (2010) ve své práci uvádí publikované obsahy polyfenolů u vín vybraných evropských zemí a jižní Afriky, dle kterých se v České republice celkový obsah polyfenolů v bílých vínech pohybuje mezi 103 – 125 mg/l, tedy o něco méně než je naměřeno v této diplomové práci [76]. Se zvyšujícím se obsahem oxidu siřičitého stoupal ve zkoumaných vzorcích i obsah fenolických sloučenin. Abramovič *et al.* (2015) ve své studii uvádí, že obsah oxidu siřičitého ve víně ovlivňuje výsledky měření celkového obsahu polyfenolů s využitím Folin-Ciocalteuova činidla, tedy že se zvyšujícím se obsahem oxidu siřičitého roste i naměřený obsah fenolických látek [70].

Mezi prvním měřením a měřením ze dne 25.1.2022 byl zjištěn průměrný úbytek obsahu polyfenolů o 29 %. Následně byl zaznamenán opětovný nárůst obsahu fenolických látek v průměru o 22 %, mezi měřením ze dne 25.1.2022 a 23.2.2022. Obecně za celé sledované období vykazoval nejnižší úbytek vzorek č. 1., který byl 8 %. Úbytek celkového obsahu polyfenolů u vzorků č. 2 – 8 se pohyboval mezi 11 – 21 % z nichž nejvyšší byl zaznamenán u vzorku č. 5. Pokles celkového obsahu polyfenolů mezi měřením z 26.10.2021 a 23.2.2022 je u všech vzorků statisticky průkazný ($p < 0,05$) viz Tabulka 8.

Snopek (2019) ve své disertační práci uvádí průměrný 6% úbytek celkového obsahu polyfenolů ve sledovaných bílých vínech za období 6 měsíců skladování, což je trend, který odpovídá datům naměřeným v této diplomové práci, dle kterých průměrný úbytek celkového obsahu polyfenolů v analyzovaných vzorcích taktéž klesl v průměru o 14 % [58].

Lachman *et al.* (2007) ve své studii uvádějí, že obsah polyfenolických látek úzce souvisí s antioxidační aktivitou vín [71]. Toto tvrzení dále uvádí ve své práci i Floegel *et al.* (2011), která zároveň doplňuje, že obsah antioxidační kapacity koreluje s celkovým obsahem polyfenolů, přičemž u metody ABTS je tato korelace vyšší než u metody DPPH [73].

Tomuto tvrzení by odpovídaly i výsledky této diplomové práce, jelikož s úbytkem celkového obsahu polyfenolů se současně snížila i antioxidační kapacita měřená metodou ABTS.

Grafické znázornění obsahu celkových fenolických látek v průběhu uskladnění je přílohou této práce (viz Příloha P VI).

6.6 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Celkový obsah flavonoidů ve zkoumaných vzorcích v průběhu jejich uskladnění je uveden v Tabulce 9.

Tabulka 9 Celkový obsah flavonoidů

Číslo vzorku	Datum měření				
	27.10.2021	25.11.2021	03.01.2022	26.01.2022	23.02.2022
Celkový obsah flavonoidů [mg/l] ± směrodatná odchylka					
1	61,74 ± 0,49 ^a	54,38 ± 2,71 ^b	58,76 ± 0,68 ^{abc}	60,73 ± 1,89 ^{acd}	61,19 ± 0,55 ^{acd}
2	91,13 ± 1,81 ^{aA}	84,59 ± 1,61 ^A	92,86 ± 0,03 ^{ab}	93,05 ± 1,37 ^{abc,A}	91,82 ± 2,11 ^{abc,A}
3	86,70 ± 0,74 ^{a,ABC}	81,20 ± 2,05 ^{a,AB}	87,38 ± 0,30 ^{a,A}	87,06 ± 3,48 ^{a,AB}	87,27 ± 1,51 ^{a,AB}
4	83,91 ± 2,55 ^{ac,BC}	80,02 ± 0,33 ^{ab,AB}	85,74 ± 1,29 ^{abc,AB}	85,99 ± 1,37 ^{acd,ABC}	86,51 ± 2,33 ^{acd,BC}
5	85,22 ± 0,08 ^{a,ABCD}	77,7 ± 0,25 ^{b,BC}	85,77 ± 1,70 ^{ac,AB}	76,38 ± 0,14 ^{b,D}	84,62 ± 2,13 ^{ac,BCD}
6	88,18 ± 3,04 ^{a,ABCD}	75,56 ± 0,47 ^{b,CD}	79,69 ± 0,44 ^{bc,C}	85,74 ± 2,65 ^{ad,ABCE}	83,63 ± 0,38 ^{acd,BCDE}
7	81,77 ± 1,89 ^{a,BCDE}	72,09 ± 0,33 ^{DE}	77,64 ± 1,56 ^{CD}	83,52 ± 0,16 ^{ab,BCDEF}	83,47 ± 0,05 ^{ab,BCDE}
8	80,09 ± 1,11 ^{a,CDE}	68,50 ± 0,90 ^E	77,97 ± 0,14 ^{ab,CD}	77,81 ± 0,19 ^{bc,DF}	77,97 ± 0,30 ^{abc}

Poznámky k tabulce 6: hodnoty se stejnými indexy značí statistickou neprůkaznost na hladině významnosti $p > 0,05$ (malá písmena – statistická neprůkaznost mezi daty měření; velká písmena – statistická neprůkaznost mezi vzorky).

Na počátku měření, 27.10.2021, se obsah flavonoidů v analyzovaných vzorcích pohyboval od 61,74 až 91,13 mg/l. Mezi měřeními z 27.10.2021 a 25.11.2021 proběhl u všech sledovaných vzorků pokles obsahu flavonoidů v průměru o 10 %. V následujícím období obsah flavonoidů ve sledovaných vzorcích až na výjimky stoupal či stagnoval. Celkově za celou dobu uskladnění, mezi 27.10.2021 až 23.2.2022, se obsah flavonoidů výrazně nezměnil, jelikož průměrný úbytek u všech vzorků činil 0 %. Téměř po celou dobu měření vykazovala získaná data vysokou míru statistické neprůkaznosti ($p > 0,05$), viz Tabulka 9. Na konci měření, 23.2.2022 se obsah flavonoidů ve vzorcích pohyboval v rozmezí 61,19 – 91,82 mg/l.

Grafické znázornění obsahu celkových flavonoidů v průběhu uskladnění je přílohou této práce (viz Příloha P VII).

Z porovnání obsahu flavonoidů a obsahu SO_2 ve sledovaných vzorcích lze vyčíst, že nejméně flavonoidů bylo přítomno ve vzorku č. 1 a naopak nejvíce ve vzorku č. 2. Společně se zvyšujícím se obsahem SO_2 se obsah flavonoidů s ohledem na jisté výkyvy u dalších

vzorků postupně snižoval. Z těchto dat tedy může vyplívat, že obsah oxidu siřičitého ovlivňuje obsah flavonoidů ve víně, přičemž je třeba zvolit jeho správnou koncentraci, jelikož žádný nebo naopak příliš vysoký přídavek siřičitanů může tento obsah flavonoidů negativně ovlivnit. V tomhle ohledu by se tak jevila jako ideální koncentrace oxidu siřičitého ta, která byla použita u vzorku č. 2, tento však při provedeném senzoričtém hodnocení vykazoval známky oxidace. Mnohem ideálnější koncentrace oxidu siřičitého příznivě ovlivňující obsah flavonoidů byly tedy použity u vzorku č. 3 a 4, u kterých na základě senzoričtého hodnocení nebyly uvedené vzorky výrazně cítit po oxidu siřičitém či nevykazovaly známky oxidace.

Podle dat uvedených ve studii Mitić *et al.* (2010) je průměrný obsah flavonoidů u srbských bílých vín 55,08 mg/l [76]. Snopek (2019) ve své práci naměřil průměrný obsah flavonoidů 36,00 mg/l u vzorků moravských vín [58]. Obsah flavonoidů naměřený u vzorků této diplomové práce byl o něco vyšší než průměrné hodnoty v uvedených pracích, nicméně šlo spíše o rozdíl v řádu desítek, který může být dán rozdílnými geografickými podmínkami, při pěstování révy vinné, vyzrálostí hroznů a technologickými postupy používanými při výrobě vín.

6.7 Stanovení jednotlivých fenolických látek

V analyzovaných vzorcích byla v průběhu uskladnění zjištěna přítomnost celkem 18 fenolických látek.

Z řad fenolových kyselin byly v analyzovaných vzorcích zastoupeny kyselina gallová, protokatechová, neochlorogenová, 4-hydroxybenzoová, vanilová, chlorogenová, kávová, siringová, p-kumarová, ferulová, sinapová a etylester kyseliny protokatechové. Z flavanoidů byl detekován epigallokatechin, katechin, epikatechin, kvercetin, kaempferol a ze stilbenů resveratrol.

V průběhu skladování byl detekovaný obsah jednotlivých fenolických látek velmi proměnlivý. Nejzastoupenější látkou v analyzovaných vzorcích byla kyselina chlorogenová, kyselina kávová a epigallokatechin.

Obsah jednotlivých polyfenolů ve zkoumaných vzorcích v průběhu jejich uskladnění je uveden v Tabulce 10.

Tabulka 10 Obsah jednotlivých fenolických látek

Datum měření	Kyselina gallová					Kyselina protokatechová					Kyselina neochlorogenová				
	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022
Číslo vzorku	Obsah jednotlivých fenolických látek [$\mu\text{g/ml}$] \pm směrodatná odchylka														
1	0,03 \pm 0,01	0,12 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.	0,34 \pm 0,08	0,10 \pm 0,03	0,10 \pm 0,02	0,34 \pm 0,02	0,70 \pm 0,09	0,90 \pm 0,29	0,41 \pm 0,03	0,02 \pm 0,00	0,04 \pm 0,01	0,22 \pm 0,06
2	0,01 \pm 0,00	0,04 \pm 0,03	N.D.	1,24 \pm 0,01	N.D.	0,14 \pm 0,05	0,04 \pm 0,03	0,09 \pm 0,03	0,26 \pm 0,04	0,64 \pm 0,09	1,24 \pm 0,08	0,26 \pm 0,22	0,03 \pm 0,02	0,04 \pm 0,00	0,24 \pm 0,05
3	N.D.	0,02 \pm 0,01	0,01 \pm 0,00	1,37 \pm 0,02	N.D.	0,17 \pm 0,03	0,02 \pm 0,00	0,11 \pm 0,01	0,21 \pm 0,02	0,55 \pm 0,11	0,97 \pm 0,22	0,28 \pm 0,13	0,03 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,22 \pm 0,06
4	0,01 \pm 0,01	0,05 \pm 0,03	0,01 \pm 0,00	1,27 \pm 0,03	N.D.	0,13 \pm 0,04	0,01 \pm 0,01	0,08 \pm 0,02	0,26 \pm 0,12	0,63 \pm 0,13	0,97 \pm 0,19	0,22 \pm 0,15	0,03 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,18 \pm 0,04
5	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,01 \pm 0,00	1,27 \pm 0,02	N.D.	0,09 \pm 0,08	0,01 \pm 0,00	0,03 \pm 0,02	0,21 \pm 0,03	0,89 \pm 0,21	0,79 \pm 0,35	0,14 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,27 \pm 0,03
6	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	1,22 \pm 0,05	N.D.	0,13 \pm 0,05	0,03 \pm 0,02	0,04 \pm 0,03	0,20 \pm 0,03	0,98 \pm 0,10	1,03 \pm 0,38	0,13 \pm 0,07	0,05 \pm 0,02	0,01 \pm 0,00	0,25 \pm 0,01
7	0,05 \pm 0,05	0,03 \pm 0,01	0,02 \pm 0,00	1,13 \pm 0,02	N.D.	0,15 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,21 \pm 0,05	0,97 \pm 0,06	1,10 \pm 0,31	0,16 \pm 0,05	0,04 \pm 0,01	0,03 \pm 0,02	0,30 \pm 0,04
8	0,01 \pm 0,00	0,07 \pm 0,02	0,01 \pm 0,00	1,03 \pm 0,04	N.D.	0,10 \pm 0,04	0,10 \pm 0,03	0,05 \pm 0,01	0,16 \pm 0,03	0,99 \pm 0,17	0,85 \pm 0,28	0,23 \pm 0,09	0,03 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02	0,24 \pm 0,04
Fenolická látka	Kyselina 4-hydroxybenzoová					Epigallokatechin					Katechin				
1	0,52 \pm 0,11	0,08 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,03 \pm 0,00	N.D.	0,84 \pm 0,33	0,98 \pm 0,22	0,08 \pm 0,02	1,29 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04	N.D.	N.D.	0,15 \pm 0,04	N.D.	0,09 \pm 0,01
2	1,00 \pm 0,03	0,04 \pm 0,03	0,03 \pm 0,02	0,05 \pm 0,01	N.D.	1,42 \pm 0,14	0,50 \pm 0,35	0,18 \pm 0,12	1,29 \pm 0,03	0,10 \pm 0,06	N.D.	N.D.	0,17 \pm 0,07	N.D.	0,08 \pm 0,01
3	0,86 \pm 0,13	0,02 \pm 0,01	0,05 \pm 0,00	0,04 \pm 0,01	N.D.	0,19 \pm 0,09	0,45 \pm 0,17	0,44 \pm 0,03	1,14 \pm 0,03	0,47 \pm 0,18	N.D.	N.D.	0,19 \pm 0,02	N.D.	0,07 \pm 0,01
4	0,52 \pm 0,09	0,02 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,05 \pm 0,00	N.D.	0,42 \pm 0,25	0,31 \pm 0,15	0,37 \pm 0,05	1,20 \pm 0,06	0,44 \pm 0,02	N.D.	N.D.	0,21 \pm 0,05	N.D.	0,06 \pm 0,01
5	0,23 \pm 0,09	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	N.D.	0,76 \pm 0,33	0,12 \pm 0,06	0,21 \pm 0,11	1,24 \pm 0,06	0,24 \pm 0,07	N.D.	N.D.	0,13 \pm 0,04	N.D.	0,06 \pm 0,03
6	0,06 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	N.D.	1,33 \pm 2,02	0,01 \pm 0,01	0,27 \pm 0,13	1,27 \pm 0,06	0,11 \pm 0,05	N.D.	N.D.	0,17 \pm 0,11	N.D.	0,05 \pm 0,01
7	0,10 \pm 0,03	0,02 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,01 \pm 0,01	0,46 \pm 0,25	0,39 \pm 0,03	1,55 \pm 0,21	0,05 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,26 \pm 0,02	N.D.	0,03 \pm 0,01
8	0,10 \pm 0,05	0,03 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	N.D.	N.D.	3,82 \pm 4,31	1,06 \pm 0,27	0,31 \pm 0,11	1,74 \pm 0,08	0,05 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,25 \pm 0,10	N.D.	0,01 \pm 0,01

Fenolická látka	Kyselina vanilová					Kyselina chlorogenová					Kyselina kávová				
Datum měření	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022
Číslo vzorku	Obsah jednotlivých fenolických látek [$\mu\text{g/ml}$] \pm směrodatná odchylka														
1	0,95 \pm 0,31	0,31 \pm 0,06	0,04 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,08 \pm 0,02	2,58 \pm 1,06	0,93 \pm 0,03	0,39 \pm 0,08	0,29 \pm 0,04	0,46 \pm 0,06	2,21 \pm 0,75	8,41 \pm 4,26	0,15 \pm 0,03	0,11 \pm 0,01	N.D.
2	1,19 \pm 0,12	0,23 \pm 0,18	0,05 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02	0,11 \pm 0,03	3,64 \pm 0,31	0,64 \pm 0,51	0,38 \pm 0,03	0,21 \pm 0,01	0,43 \pm 0,05	2,52 \pm 0,31	0,87 \pm 0,73	0,12 \pm 0,02	0,08 \pm 0,01	N.D.
3	1,02 \pm 0,25	0,24 \pm 0,11	0,07 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	2,70 \pm 0,85	0,53 \pm 0,26	0,45 \pm 0,04	0,24 \pm 0,02	0,45 \pm 0,03	2,36 \pm 0,61	0,67 \pm 0,29	0,12 \pm 0,00	0,04 \pm 0,02	N.D.
4	1,00 \pm 0,23	0,21 \pm 0,13	0,05 \pm 0,01	0,16 \pm 0,04	0,11 \pm 0,02	2,87 \pm 0,62	0,44 \pm 0,31	0,34 \pm 0,06	0,19 \pm 0,04	0,52 \pm 0,05	2,03 \pm 0,47	0,52 \pm 0,35	0,10 \pm 0,02	N.D.	N.D.
5	0,83 \pm 0,37	0,14 \pm 0,06	0,04 \pm 0,01	0,12 \pm 0,03	0,10 \pm 0,01	2,99 \pm 1,38	0,33 \pm 0,12	0,20 \pm 0,06	0,21 \pm 0,03	0,39 \pm 0,04	1,42 \pm 0,67	0,35 \pm 0,15	0,07 \pm 0,01	N.D.	N.D.
6	0,94 \pm 0,34	0,15 \pm 0,07	0,03 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02	0,07 \pm 0,01	2,87 \pm 1,21	0,32 \pm 0,15	0,11 \pm 0,02	0,25 \pm 0,03	0,43 \pm 0,03	1,67 \pm 0,71	0,37 \pm 0,15	0,06 \pm 0,02	N.D.	N.D.
7	1,10 \pm 0,30	0,19 \pm 0,07	0,04 \pm 0,01	0,18 \pm 0,05	0,08 \pm 0,02	3,14 \pm 0,70	0,40 \pm 0,09	0,15 \pm 0,02	0,40 \pm 0,07	0,50 \pm 0,03	1,17 \pm 0,40	0,49 \pm 0,11	0,03 \pm 0,00	N.D.	N.D.
8	0,92 \pm 0,26	0,26 \pm 0,10	0,03 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02	0,07 \pm 0,01	2,98 \pm 1,01	0,65 \pm 0,20	0,13 \pm 0,02	0,69 \pm 0,17	0,42 \pm 0,09	0,57 \pm 0,24	0,56 \pm 0,28	0,03 \pm 0,01	N.D.	N.D.
Fenolická látka	Kyselina syringová					Epikatechin					Kyselina trans-p-kumarová				
1	0,11 \pm 0,06	0,13 \pm 0,03	N.D.	0,08 \pm 0,02	0,15 \pm 0,01	2,46 \pm 0,87	0,69 \pm 0,02	0,12 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02	0,04 \pm 0,01	0,25 \pm 0,10	0,14 \pm 0,01	0,01 \pm 0,00	0,21 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02
2	0,18 \pm 0,01	0,07 \pm 0,06	0,08 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02	2,63 \pm 0,36	0,48 \pm 0,39	0,11 \pm 0,05	0,12 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,39 \pm 0,03	0,10 \pm 0,08	0,02 \pm 0,00	0,17 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01
3	0,15 \pm 0,05	0,07 \pm 0,03	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,21 \pm 0,01	1,79 \pm 0,45	0,49 \pm 0,24	0,10 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,04 \pm 0,00	0,39 \pm 0,10	0,10 \pm 0,04	0,02 \pm 0,00	0,15 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02
4	0,19 \pm 0,06	0,07 \pm 0,05	0,11 \pm 0,02	0,13 \pm 0,03	0,16 \pm 0,02	1,97 \pm 0,98	0,40 \pm 0,26	0,08 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01	0,03 \pm 0,00	0,41 \pm 0,10	0,10 \pm 0,06	0,02 \pm 0,00	0,15 \pm 0,01	0,13 \pm 0,03
5	N.D.	0,05 \pm 0,02	0,06 \pm 0,02	0,19 \pm 0,04	0,21 \pm 0,02	1,13 \pm 0,66	0,26 \pm 0,11	0,06 \pm 0,02	0,17 \pm 0,09	0,03 \pm 0,01	0,34 \pm 0,15	0,08 \pm 0,03	0,01 \pm 0,00	0,16 \pm 0,01	0,25 \pm 0,04
6	N.D.	0,05 \pm 0,02	0,07 \pm 0,05	0,16 \pm 0,03	0,19 \pm 0,02	0,95 \pm 0,76	0,18 \pm 0,07	0,05 \pm 0,03	0,17 \pm 0,06	0,04 \pm 0,01	0,48 \pm 0,22	0,07 \pm 0,03	0,01 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02	0,25 \pm 0,01
7	N.D.	0,06 \pm 0,02	0,14 \pm 0,05	0,14 \pm 0,02	0,16 \pm 0,04	0,28 \pm 0,13	0,30 \pm 0,08	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,48 \pm 0,11	0,10 \pm 0,03	0,02 \pm 0,00	0,19 \pm 0,02	0,28 \pm 0,04
8	0,16 \pm 0,06	0,08 \pm 0,04	0,13 \pm 0,05	0,17 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04	0,33 \pm 0,11	0,18 \pm 0,19	0,08 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,55 \pm 0,20	0,13 \pm 0,04	0,01 \pm 0,00	0,19 \pm 0,01	0,29 \pm 0,02

Fenolická látka	Kyselina ferulová					Kyselina sinapová					Kyselina elagová				
Datum měření	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022
Číslo vzorku	Obsah jednotlivých fenolických látek [$\mu\text{g/ml}$] \pm směrodatná odchylka														
1	0,08 \pm 0,03	0,02 \pm 0,00	N.D.	N.D.	0,15 \pm 0,01	0,13 \pm 0,06	0,05 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	N.D.	0,04 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	0,12 \pm 0,01	0,02 \pm 0,02	N.D.	N.D.	0,15 \pm 0,02	0,15 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,02 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3	0,10 \pm 0,03	0,02 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,10 \pm 0,02	0,05 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,14 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
4	0,10 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,04 \pm 0,01	0,07 \pm 0,02	0,01 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,21 \pm 0,09	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
5	0,07 \pm 0,04	0,01 \pm 0,00	N.D.	N.D.	0,02 \pm 0,00	0,06 \pm 0,03	0,01 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,31 \pm 0,03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
6	0,09 \pm 0,03	0,01 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,01 \pm 0,02	0,08 \pm 0,03	0,01 \pm 0,00	N.D.	N.D.	0,18 \pm 0,11	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
7	0,09 \pm 0,01	0,02 \pm 0,00	N.D.	N.D.	N.D.	0,09 \pm 0,02	0,02 \pm 0,00	N.D.	N.D.	0,17 \pm 0,03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
8	0,09 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.	0,08 \pm 0,03	0,02 \pm 0,01	N.D.	N.D.	0,15 \pm 0,03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fenolická látka	Rutin					Kyselina hydroxyskořicová					Ethylester kyseliny protokatechické				
1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,20 \pm 0,06	0,04 \pm 0,00	N.D.	N.D.	N.D.
2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,60 \pm 0,04	0,06 \pm 0,06	N.D.	N.D.	N.D.
3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,48 \pm 0,14	0,03 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.
4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,46 \pm 0,11	0,01 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.
5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,37 \pm 0,13	0,01 \pm 0,00	N.D.	N.D.	N.D.
6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,44 \pm 0,15	0,01 \pm 0,00	N.D.	N.D.	N.D.
7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,41 \pm 0,10	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,34 \pm 0,11	0,01 \pm 0,00	N.D.	N.D.	N.D.

Fenolická látka	Resveratrol					Kyselina trans-skořicová					Kaempferol				
Datum měření	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022	31.10.2021	26.11.2021	05.01.2022	26.01.2022	01.03.2022
Číslo vzorku	Obsah jednotlivých fenolických látek [$\mu\text{g/ml}$] \pm směrodatná odchylka														
1	0,03 \pm 0,01	0,03 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,18 \pm 0,07	0,08 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.
2	0,13 \pm 0,02	0,03 \pm 0,03	0,04 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,22 \pm 0,02	0,05 \pm 0,04	N.D.	N.D.	N.D.
3	0,13 \pm 0,02	0,03 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,23 \pm 0,05	0,05 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.
4	0,14 \pm 0,01	0,03 \pm 0,02	0,05 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,23 \pm 0,06	0,05 \pm 0,03	N.D.	N.D.	N.D.
5	0,12 \pm 0,03	0,02 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,21 \pm 0,08	0,04 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.
6	0,11 \pm 0,06	0,02 \pm 0,01	0,05 \pm 0,04	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,23 \pm 0,08	0,04 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.
7	0,17 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,25 \pm 0,07	0,05 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.
8	0,12 \pm 0,05	0,03 \pm 0,01	0,04 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,22 \pm 0,07	0,07 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.
Fenolická látka	Kvercetin														
1	0,59 \pm 0,17	0,07 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.										
2	0,76 \pm 0,07	0,04 \pm 0,04	N.D.	N.D.	N.D.										
3	0,61 \pm 0,16	0,02 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.										
4	0,34 \pm 0,18	0,02 \pm 0,02	N.D.	N.D.	N.D.										
5	0,03 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.										
6	0,04 \pm 0,02	0,01 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.										
7	0,03 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.										
8	0,03 \pm 0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.										

7 ZÁVĚR

V teoretické části této práce byly popsány konvenční technologické postupy výroby bílých vín a jejich chemické složení.

V praktické části byly vyrobeny a připraveny vzorky s různou koncentrací oxidu siřičitého, u nichž byly v odstupeu přibližně jednoho měsíce prováděny analýzy zaměřující se na obsah oxidu siřičitého, antioxidační aktivity, fenolických látek a flavonoidů. Laboratorní analýzy byly podpořeny senzorickým hodnocením v podobě pořadové zkoušky.

Naměřené hodnoty obsahu volného oxidu siřičitého ve zkoumaných vzorcích vykazovaly mezi jednotlivými měřeními klesající tendenci s konečným více než polovičním úbytkem, z čehož plyne, že vzorky byly v průběhu skladování vystaveny oxidativním procesům. Naměřený celkový obsah oxidu siřičitého v průběhu skladování nevykazoval významné odchylky.

Výsledky měření celkového obsahu polyfenolů ve zkoumaných vzorcích ukázaly, že v průběhu uskladnění jejich obsah klesal, avšak bylo zjištěno, že se zvyšující se koncentrací oxidu siřičitého se také zároveň zvyšuje množství polyfenolických látek, které ovlivňují antioxidační kapacitu zkoumaných vzorků. Obsah oxidu siřičitého a obsah fenolických látek také přímo ovlivňoval antioxidační aktivitu vzorků. Tuto skutečnost ukázala metoda měření antioxidační aktivity s využitím ABTS, která v průběhu uskladnění vykazovala stejný klesající trend jako celkový obsah polyfenolů. Naopak antioxidační aktivita vzorků měřená metodou DPPH ukázala, že po 4 měsících skladování se u většiny vzorků výrazně nezměnila. V případě celkového obsahu flavonoidů bylo zjištěno, že oxid siřičitý může ovlivňovat jejich obsah ve vínech, v závislosti na jeho koncentraci. Žádná nebo příliš vysoká koncentrace oxidu siřičitého negativně ovlivňovala obsah flavonoidů ve vzorcích. Z výsledků dále vyplývá, že koncentraci oxidu siřičitého ve víně je třeba určit takovým způsobem, aby byly zachovány požadované organoleptické vlastnosti vín, tak aby nevykazovaly známky chorob nebo vad.

V dalším zkoumání dané problematiky by měla proběhnout analýza poměru antioxidační kapacity dané oxidem siřičitým a dalšími antioxidanty. Případně by bylo vhodné navýšit počet vzorků a zohlednit více technologických postupů užívaných při vinifikaci, jako je např. macerace, ležení na kvasnicích nebo uskladnění v dubových sudech, čímž lze zvýšit antioxidační kapacitu vín a zároveň tak snížit přídávky SO₂ s ohledem na zachování požadované jakosti.

I přes snahy začlenit do procesu vinifikace výrobní postupy či látky, které by mohly snížit přídávky oxidu siřičitého do vín stále platí, že tato látka je stále základním konzervantem a je tak téměř u většiny producentů v přiměřených dávkách nezbytná z hlediska jejího pozitivního vlivu na stabilitu a ochranu aroma vín. Na druhé straně je k šíření vín třeba přistupovat s citem z důvodu negativních vlivů, který mohou mít siřičitany na lidské zdraví. Nicméně i přes negativa siřičitanů je víno obecně považováno v přiměřeném množství za nápoj zdraví prospěšný.

Nakonec se tak naskytuje příležitost pro výrok lékaře Paracelsa užívaný v toxikologii: *„Rozdíl mezi lékem a jedem tvoří dávka“*.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] JACKSON, R. S. Wine Science: principles and applications. Third Edition. Burlington: Isevier, 2008. ISBN 978-0-12-373646-8.
- [2] MICHLOVSKÝ, M. Oxid siřičitý v enologii. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2012. ISBN 978-80-905319-0-1.
- [3] ANONYM. Historie a současnost vinařství v ČR. Národní vinařské centrum: obecně prospěšná společnost [online]. Valtice: Národní vinařské centrum [cit. 2022-03-08]. Dostupné z: <https://www.vinarskecentrum.cz/o-vine/historie-a-soucasnost>
- [4] VOGEL, W. Víno z vlastního sklepa: pro začínající i zkušené výrobce domácího vína. [Líbeznice]: Víkend, 2010. ISBN 978-80-7433-026-1.
- [5] HAŁAJ, R., B. OSIADACZ, T. KLEJDYSZ a P. STRAŻYŃSKI. *Viteus vitifoliae* (Fitch, 1885) a new species of aphid in Poland (Hemiptera: Aphidomorpha. Polish Journal of Entomology / Polskie Pismo Entomologiczne [online]. 2011, 80(3), 457-464 [cit. 2022-03-08]. ISSN 0032-3780. Dostupné z: doi:10.2478/v10200-011-0033-0
- [6] EVROPSKÁ UNIE. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 1308/2013, ze dne 17. prosince 2013, kterým se stanoví společná organizace trhů se zemědělskými produkty a zrušují nařízení Rady (EHS) č. 922/72, (EHS) č. 234/79, (ES) č. 1037/2001 a (ES) č. 1234/2007. In: Úř. věst. L 347. 2013, s. 671. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02013R1308-20211207>.
- [7] PAVLOUŠEK, P. Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví. Praha: Grada, c2011. ISBN 978-80-247-3314-2.
- [8] VÝROBA BÍLÝCH BIOVÍN: SKLIZEŇ. EKOVÍN: svaz integrované produkce hroznů a vína [online]. c2015 [cit. 2022-02-20]. Dostupné z: <http://www.ekovin.cz/ekovin/sekce-ekologicke-produkce/sklizen>.
- [9] STEIDL, R. Sklepní hospodářství. V českém jazyce vyd. 2., aktualiz. Přeložil J. SEDLO. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978-80-903201-9-2.
- [10] FIC, V. Víno: analýza, technologie, gastronomie. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.
- [11] ČESKÁ REPUBLIKA. ZÁKON 321/2004 Sb., ze dne 29. dubna 2004 o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů, v platném znění, In: ASPI [právní informační systém].

- [12] PAVLOUŠEK, P. Výroba vína u malovinařů. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-3487-3.
- [13] MICHLOVSKÝ, M. Příprava bílých vín. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-4-9.
- [14] ROBINSON, J. a J. HARDING, ed. The Oxford Companion to Wine. Fourth Edition. New York: Oxford University press, 2015. ISBN 978-0-19-870538-3.
- [15] MARGALIT, Y. Concepts in Wine Technology: Small Winery Operations. Third Edition. San Francisco: The wine appreciation guild, c2004. ISBN 978-1-935879-80-0.
- [16] MICHLOVSKÝ, M. Technologie šampaňského. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2016. ISBN 978-80-905319-7-0.
- [17] Zvyšování cukernatosti: Pravidla pro obohacování - zvyšování přirozeného obsahu alkoholu. Státní zemědělská a potravinářská inspekce [online]. Brno: SZPI, 2021, 19.08.2021 [cit. 2022-02-26]. Dostupné z: <https://www.szpi.gov.cz/clanek/vino.aspx?q=Y2hudW09OA%3D%3D>.
- [18] LIMBERG, J. Úprava kyselosti v nepříznivých letech. Vinařský ráj [online]. Čejkovice: Vinařský ráj, c2021, 07.10.2021 [cit. 2022-02-26]. Dostupné z: <https://www.vinarskyraj.cz/blog/uprava-kyselosti-v-nepriznivych-letech>.
- [19] Přikyselování: sezóna 2020. Svaz vinařů České republiky [online]. Svaz vinařů České republiky, c2017, 05.10.2020 [cit. 2022-02-26]. Dostupné z: <https://www.svcr.cz/cs/prikyselovani-sezona-2020>.
- [20] ROBINSON, J. Jancis Robinson's Wine Course. Third Edition. Abbeville, 2003. ISBN 0-7892-0883-0.
- [21] STEIDL, R. Po cestách ke špičkovému vínu. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978-80-903-201-8-5.
- [22] HUTKINS, R. Microbiology and Technology of Fermented Foods. Second Edition. Hoboken: John Wiley, c2019. ISBN 9781119027560.
- [23] FRANKISH, E. A Complete Guide to Quality in Small-Scale Wine Making. 2013. ISBN 9780124080812. Dostupné také z: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&an=503588&scope=site>
- [24] MACNEIL, K. The Wine Bible. Second Edition. New York: Workman Publishing Co., c2021. ISBN 978-0-7611-8083-8.
- [25] BAMFORTH, Ch. a R. WARD, ed. The Oxford Handbook of Food Fermentations. New York: Oxford University Press, 2014. ISBN 978-0-19-974270-7.

- [26] VÝROBA BÍLÝCH BIOVÍN: ŠKOLENÍ. EKOVIN: svaz integrované produkce hroznů a vína [online]. c2015 [cit. 2022-02-28]. Dostupné z: <http://www.ekovin.cz/ekovin/sekce-ekologicke-produkce/skoleni>.
- [27] BALÍK, J. Číření vína. Vinařský obzor. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, 2012, 2012(1), 30 - 33. ISSN 1212-7884.
- [28] ANONYM. Filtration Methods in Winemaking. Grapeworks [online]. Dingley Village: Titanium machinery & equipments, c2022 [cit. 2022-03-01]. Dostupné z: <https://grapeworks.com.au/about-us/>
- [29] EVROPSKÁ UNIE. Nařízení Komise v přenesené pravomoci (EU) 2019/934 ze dne 12. března 2019: kterým se doplňuje nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, pokud jde o vinařské oblasti, kde lze zvýšit obsah alkoholu, povolené enologické postupy a omezení týkající se výroby a ošetření výrobků z révy vinné, minimální procentní podíl alkoholu pro vedlejší výrobky a jejich likvidaci a zveřejnění složek OIV. 2019, ročník 2019, Úř. věst. L 149, s. 1. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02019R0934-20220130>.
- [30] MAKHOTKINA, O. a P. A. KILMARTIN. The use of cyclic voltammetry for wine analysis: Determination of polyphenols and free sulfur dioxide. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2010, 668(2), 155-165 [cit. 2022-03-04]. ISSN 00032670. Dostupné z: [doi:10.1016/j.aca.2010.03.064](https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.03.064)
- [31] LYU, X., L. DIAS ARAUJO, S. Y. QUEK a P. A. KILMARTIN. Effects of antioxidant and elemental sulfur additions at crushing on aroma profiles of Pinot Gris, Chardonnay and Sauvignon Blanc wines. *Food Chemistry* [online]. 2021, 346 [cit. 2022-03-04]. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2020.128914](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128914)
- [32] MICHLOVSKÝ, M. Víno a oxid siřičitý. Vinařský obzor. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, 2012, 2012(11), 569 - 571. ISSN 1212-7884.
- [33] MONRO, T. M., R. L. MOORE, M. C. NGUYEN, H. EBENDORFF-HEIDEPRIEM, G. K. SKOUROUMOUNIS, G. M. ELSEY a D. K. TAYLOR. Sensing Free Sulfur Dioxide in Wine. *Sensors* [online]. 2012, 12(8), 10759-10773 [cit. 2022-03-04]. ISSN 1424-8220. Dostupné z: [doi:10.3390/s120810759](https://doi.org/10.3390/s120810759)
- [34] PTÁČEK, P. Abeceda začínajícího vinaře: síření a školení. Vinařský obzor. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, 2014, 2014(1), 10 - 15. ISSN 1212-7884.
- [35] EVROPSKÁ UNIE. Nařízení Komise v přenesené pravomoci (EU) 2019/934 ze dne 12. března 2019, kterým se doplňuje nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, pokud jde o vinařské oblasti, kde lze zvýšit obsah alkoholu, povolené

enologické postupy a omezení týkající se výroby a ošetření výrobků z révy vinné, minimální procentní podíl alkoholu pro vedlejší výrobky a jejich likvidaci a zveřejnění složek OIV. In: Úř. věst.. 2019, s. 1, L 149. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02019R0934-20190627>

[36] EVROPSKÁ UNIE. Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 203/2012 ze dne 8. března 2012, kterým se mění nařízení (ES) č. 889/2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 834/2007, pokud jde o prováděcí pravidla pro ekologickou produkci vína. In: Úř. věst.. 2012, s. 42—47, L 71. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32012R0203>

[37] MARGALIT, Y. Concepts in Wine Chemistry, Third Edition. San Francisco: The wine appreciation guild, c1997. ISBN 978-1-935879-81-7.

[38] MICHLOVSKÝ, M. Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-2-5.

[39] CRETIN, B. N., D. DUBOURDIEU a A. MARCHAL. Influence of ethanol content on sweetness and bitterness perception in dry wines. LWT [online]. 2018, 87, 61-66 [cit. 2022-03-12]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.08.075

[40] ZHANG, C. Y., N. B. LIN, X. S. CHAI, ZHONG-LI a D. G. BARNES. A rapid method for simultaneously determining ethanol and methanol content in wines by full evaporation headspace gas chromatography. Food Chemistry [online]. 2015, 183, 169-172 [cit. 2022-03-12]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.048

[41] Polyalkoholy. Bezpečnost potravin [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, c2021 [cit. 2022-03-12]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92501.aspx>

[42] VOLDŘICH, R. Technologie šumivých vín. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1984.

[43] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 1. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-3-7.

[44] APOLINAR-VALIENTE, R., P. WILLIAMS a T. DOCO. Recent advances in the knowledge of wine oligosaccharides. Food Chemistry [online]. 2021, 342 [cit. 2022-03-12]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.128330

[45] ODSTRČIL, J. a M. ODSTRČILOVÁ. Chemie potravin. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2006. ISBN 80-7013-435.6.

[46] JONES-MOORE, H. R., R. E. JELLEY, M. MARANGON a B. FEDRIZZI. The polysaccharides of winemaking: From grape to wine. Trends in Food Science & Technology [online]. 2021, 111, 731-740 [cit. 2022-03-13]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.03.019

- [47] BURIN, V. M., V. CALIARI a M. T. BORDIGNON-LUIZ. Nitrogen compounds in must and volatile profile of white wine: Influence of clarification process before alcoholic fermentation. *Food Chemistry* [online]. 2016, 202, 417-425 [cit. 2022-03-13]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2016.01.096
- [48] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-4-5.
- [49] SCUTARAŞU, E. C., C. E. LUCHIAN, L. VLASE, L. C. COLIBABA, A. M. GHELDIU a V. V. COTEA. Evolution of phenolic profile of white wines treated with enzymes. *Food Chemistry* [online]. 2021, 340 [cit. 2022-03-13]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127910
- [50] ERNANDES, E. N. a B. F. REIS. Automatic spectrophotometric procedure for the determination of tartaric acid in wine employing multicommutation flow analysis process. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2006, 557(1-2), 380-386 [cit. 2022-03-14]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2005.10.036
- [51] VARGAS, E., M. A. RUIZ, F. J. FERRERO, S. CAMPUZANO, V. RUIZ-VALDEPEÑAS MONTIEL, A. J. REVIEJO a J. M. PINGARRÓN. Automatic bionalyzer using an integrated amperometric biosensor for the determination of L-malic acid in wines. *Talanta* [online]. 2016, 158, 6-13 [cit. 2022-03-14]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2016.05.050
- [52] GIMÉNEZ-GÓMEZ, P., M. GUTIÉRREZ-CAPITÁN, J. M. RÍOS, F. CAPDEVILA, A. PUIG-PUJOL a C. JIMÉNEZ-JORQUERA. Microanalytical flow system for the simultaneous determination of acetic acid and free sulfur dioxide in wines. *Food Chemistry* [online]. 2021, 346 [cit. 2022-03-14]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.128891
- [53] KENNEDY, J. A., C. SAUCIER a Y. GLORIES. Grape and Wine Phenolics: History and Perspective. *American journal of enology and viticulture*. *American journal of enology and viticulture*, 2006, 2006(57), 239-248. ISSN 0002-9254. Dostupné z: doi:https://www.ajevonline.org/content/57/3/239
- [54] ESCARPA, A. a M. C. GONZALEZ. An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic Compounds in Foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2001, 31(2), 57-139 [cit. 2022-03-15]. ISSN 1040-8347. Dostupné z: doi:10.1080/20014091076695
- [55] HURTADO-FERNÁNDEZ, E., M. GÓMEZ-ROMERO, A. CARRASCO-PANCORBO a A. FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ. Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food

- material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2010, 53(5), 1130-1160 [cit. 2022-03-15]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2010.07.028
- [56] WATERHOUSE, A. L., G. L. SACKS a D. W. JEFFERY. *Understanding wine chemistry*. Chichester, West Sussex: Wiley, 2016. ISBN 9781118627808.
- [57] NISHIUMI, Shin. Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. *Frontiers in Bioscience* [online]. 2011, S3(1) [cit. 2022-03-15]. ISSN 1945-0516. Dostupné z: doi:10.2741/229
- [58] SNOPEK, L. Změny bioaktivních a senzoryckých významných látek réвовých vín v průběhu skladování. Zlín, 2019. Disertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Jiří Mlček.
- [59] AVAN, Aslı, Sema DEMIRCI ÇEKIÇ, Seda UZUNBOY a Reşat APAK. Spectrophotometric Determination of Phenolic Antioxidants in the Presence of Thiols and Proteins. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2016, 17(8) [cit. 2022-03-17]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms17081325
- [60] PAULOVÁ, H., H. BOCHOŘÁKOVÁ a E. TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 2004, (98), 174 - 179. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/issue/view/160>
- [61] ROP, O., T. JUŘÍKOVÁ, J. MLČEK, D. SUMCZYNSKI a Z. SENGE. Antioxidant activity and selected nutritional values of plums (*Prunus domestica* L.) typical of the White Carpathian Mountains. *Scientia Horticulturae*, 2009, 122, 545-549, Dostupné z: doi:10.1016/j.scienta.2009.06.036.
- [62] HOSU A, CRISTEA V. M., CIMPOIU C. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. *Food Chem.* 2014, 150, 113-8, Dostupné z: doi: 10.1016/j.foodchem.2013.10.153.
- [63] SINGLETON, V. L. a J. A. ROSSI. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 1965, 16(3), 144-158.
- [64] SUMCZYNSKIS, D., Z. BUBELOVÁ, J. SNEYD, S. ERB-WEBER, J. MLČEK. Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food Chem.* 2015, 74, 319-25, Dostupné z: doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.065.

- [65] LI, H., X. WANG, Y. LI, P. LI a H. WANG. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*. 2009, 112, 454–460, Dostupné z: doi: 10.1016/j.foodchem.2008.05.111.
- [66] SAEED, N., M. R. KHAN a M. SHABBIR. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complement Altern Med* 12, 221 (2012), Dostupné z: doi: 10.1186/1472-6882-12-221
- [67] RODRIGUEZ, A., M. LAGE-YUSTY a J. LOPEZ-HERNANDEZ. HPLC-analysis of polyphenolic compounds in Spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. *Food Research International*, 2009, 42, 1018-1022. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2009.04.009.
- [68] MACHŮ L, L. MIŠURCOVÁ, J. V. AMBROŽOVÁ, J. ORSAVOVÁ, J. MLČEK, J. SOCHOR a T. JUŘÍKOVÁ. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*. 2015, 20, 1118-33, Dostupné z: doi: 10.3390/molecules20011118.
- [69] FIŠERA, M., K. ŠUSTOVÁ, P. TVRZNÍK, H. VELICHOVÁ, L. FIŠEROVÁ, E. LUKÁŠKOVÁ a S. KRÁČMAR. REDUCE THE SULPHUR DIOXIDE CONTENT OF WINE BY BIOLOGICAL PROCESS IN RELATION TO THE CONTENT OF POLYPHENOLIC SUBSTANCES. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences* [online]. 2022, 11(5) [cit. 2022-04-17]. ISSN 1338-5178. Dostupné z: doi:10.55251/jmbfs.5975
- [70] ABRAMOVIČ, H., T. KOŠMERL, N. POKLAR ULRIH a B. CIGIĆ. Contribution of SO₂ to antioxidant potential of white wine. *Food Chemistry* [online]. 2015, 174, 147-153 [cit. 2022-04-23]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2014.11.030
- [71] LACHMAN, K., M. ŠULC a M. SCHILLA. Comparison of the total antioxidant status of Bohemian wines during the wine-making process. *Food Chemistry* [online]. 2007, 103(3), 802-807 [cit. 2022-05-07]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2006.09.024
- [72] FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S., D. VILLAÑO, M. C. GARCÍA-PARRILLA a A. M. TRONCOSO. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2004, 513(1), 113-118 [cit. 2022-05-06]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2004.02.028

- [73] FLOEGEL, A., D. KIM, S. CHUNG, S. I. KOO a O. K. CHUN. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2011, 24(7), 1043-1048 [cit. 2022-05-07]. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2011.01.008
- [74] MITREVSKA, K., S. GRIGORAKIS, S. LOUPASSAKI a A. C. CALOKERINOS. Antioxidant Activity and Polyphenolic Content of North Macedonian Wines. *Applied Sciences* [online]. 2020, 10(6) [cit. 2022-04-23]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app10062010
- [75] ČERYOVÁ, N. PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SLOVAK VARIETAL WINES OF MUSCAT TYPE. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* [online]. 2021, 10(5) [cit. 2022-04-23]. ISSN 13385178. Dostupné z: doi:10.15414/jmbfs.4292
- [76] MITIĆ, M. N., M. V. OBRADOVIĆ, Z. B. GRAHOVAC a A. N. PAVLOVIĆ. Antioxidant Capacities and Phenolic Levels of Different Varieties of Serbian White Wines. *Molecules* [online]. 2010, 15(3), 2016-2027 [cit. 2022-04-30]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules15032016

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

°KMW	Stupeň Klosterneuburského moštoměru
°Oe	Stupeň Oechsleho moštoměru
°NM	Stupeň normalizovaného moštoměru
OIV	International Organisation of Vine and Wine (Mezinárodní organizací pro révu a víno)
CHZO	Chráněné zeměpisné označení
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
DPPH-H	difenylopikrylhydrazin
UV/VIS	Spektrometrie v ultrafialové a viditelné části spektra
TE	Ekvivalent troloxu
ABTS	(2,2'-azinobis (3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonové kyseliny))
GAE	Ekvivalent kyseliny gallové
RE	Ekvivalent rutinu
DAD	Detektor diodového pole
UHPLC	Ultra-High-performance liquid chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
ANOVA	Variační analýza

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Schéma výroby bílých vín.....	14
Obrázek 2 Rozdělení fenolických sloučenin	31
Obrázek 3 Flavonoidy	32

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Obsah fenolických sloučenin v bílých vínech	33
Tabulka 2 Hrozny použité pro přípravu vzorků.....	37
Tabulka 3 Celkový obsah oxidu siřičitého ve vzorcích vína	38
Tabulka 4 Obsah volného SO ₂	43
Tabulka 5 Obsah celkového SO ₂	44
Tabulka 6 Antioxidační aktivita měřená metodou DPPH	46
Tabulka 7 Antioxidační aktivita měřená metodou ABTS	47
Tabulka 8 Celkový obsah fenolických sloučenin	48
Tabulka 9 Celkový obsah flavonoidů	50
Tabulka 10 Obsah jednotlivých fenolických látek	52

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Vinařské zóny

Příloha P II: Záznam senzoričského hodnocení

Příloha P III: Grafické znázornění obsahu volného SO₂ v průběhu skladování

Příloha P IV: Grafické znázornění antioxidační aktivity měřené metodou s využitím DPPH v průběhu skladování

Příloha P V: Grafické znázornění antioxidační aktivity měřené metodou s využitím ABTS v průběhu skladování

Příloha P VI: Grafické znázornění celkového obsahu fenolických sloučenin v průběhu skladování

Příloha P VII: Grafické znázornění celkového obsahu flavonoidů v průběhu skladování

PŘÍLOHA P I: VINAŘSTKÉ ZÓNY

(Dodatek I Nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, v patném znění)

1) Vinařská zóna A zahrnuje:

a) v Německu: plochy vinic nezahrnuté v bodu 2 písm. a);

b) v Lucembursku: vinařskou oblast Lucembursko;

c) v Belgii, Dánsku, Estonsku, Irsku, Litvě, Nizozemsku, Polsku a Švédsku: vinařské oblasti těchto členských států;

d) v České republice: vinařskou oblast Čechy.

2) Vinařská zóna B zahrnuje:

a) v Německu plochy vinic ve stanovené pěstitelské oblasti Bádensko;

b) ve Francii plochy vinic v departementech neuvedených v této příloze a v těchto departementech:

— Alsasko: Bas-Rhin, Haut-Rhin,

— Lotrinsko: Meurthe-et-Moselle, Meuse, Moselle, Vosges,

— Champagne: Aisne, Aube, Marne, Haute-Marne, Seine-et-Marne,

— Jura: Ain, Doubs, Jura, Haute-Saône,

— Savojsko: Savoie, Haute-Savoie, Isère (obec Chapareillan),

— Val de Loire: Cher, Deux-Sèvres, Indre, Indre-et-Loire, Loir-et-Cher, Loire-Atlantique, Loiret, Maine-et-Loire, Sarthe, Vendée, Vienne, jakož i plochy vinic v okrese Cosne-sur-Loire departementu Nièvre;

c) v Rakousku vinařskou oblast Rakousko;

d) v České republice vinařskou oblast Morava a plochy vinic nezahrnuté v bodu 1 písm. d);

e) na Slovensku plochy vinic v těchto oblastech: Malokarpatská vinohradnícka oblast, Južnoslovenská vinohradnícka oblast, Nitrianska vinohradnícka oblast, Stredoslovenská vinohradnícka oblast a Východoslovenská vinohradnícka oblast a plochy vinic nezahrnuté v bodu 3 písm. f);

f) ve Slovinsku plochy vinic v těchto oblastech:

- v oblasti Podravje: Štajerska Slovenija, Prekmurje,
 - v oblasti Posavje: Bizeljsko Sremič, Dolenjska, Bela krajina a plochy vinic v oblastech nezahrnutých v bodu 4 písm. d);
 - g) v Rumunsku vinařská oblast Podişul Transilvaniei;
 - h) v Chorvatsku plochy vinic v těchto subregionech: Moslavina, Prigorje-Bilogora, Plešivica, Pokuplje a Zagorje-Međimurje.
- 3) Vinařská zóna C I zahrnuje:
- a) ve Francii plochy vinic
 - v těchto departementech: Allier, Alpes-de-Haute-Provence, Hautes-Alpes, Alpes-Maritimes, Ariège, Aveyron, Cantal, Charente, Charente-Maritime, Corrèze, Côte-d’Or, Dordogne, Haute-Garonne, Gers, Gironde, Isère (s výjimkou obce Chapareillan), Landes, Loire, Haute-Loire, Lot, Lot-et-Garonne, Lozère, Nièvre (s výjimkou okresu Cosne-sur-Loire), Puy-de-Dôme, Pyrénées-Atlantiques, Hautes-Pyrénées, Rhône, Saône-et-Loire, Tarn, Tarn-et-Garonne, Haute-Vienne, Yonne,
 - v okresech Valence a Die departementu Drôme (s výjimkou kantonů Dieulefit, Loriol, Marsanne a Montélimar),
 - v okrese Tournon a v kantonech Antraigues, Burzet, Coucouron, Montpezat-sous-Bauzon, Privas, Saint-Etienne-de-Lugdarès, Saint-Pierre-ville, Valgorge a La Voulte-sur-Rhône departementu Ardèche;
 - b) v Itálii plochy vinic v oblasti Valle d’Aosta a v provinciích Sondrio, Bolzano, Trento a Belluno;
 - c) ve Španělsku plochy vinic v provinciích A Coruña, Asturias, Cantabria, Guipúzcoa a Vizcaya;
 - d) v Portugalsku plochy vinic v části regionu Norte, který odpovídá stanovené pěstitelské oblasti „Vinho Verde“, jakož i v oblastech „Concelhos de Bombarral, Lourinhã, Mafra e Torres Verdas“ (s výjimkou „Freguesias da Carvoeira e Dois Portos“), které náleží k „Região vitícola da Extremadura“;
 - e) v Maďarsku všechny plochy vinic;
 - f) na Slovensku plochy vinic v oblasti Tokajská vinohradnická oblast’;
 - g) v Rumunsku plochy vinic nezahrnuté v bodě 2 písm. g) nebo bodě 4 písm. f);

h) v Chorvatsku plochy vinic v těchto subregionech: Hrvatsko Podunavlje a Slavonija.

4) Vinařská zóna C II zahrnuje:

a) ve Francii plochy vinic

— v těchto departementech: Aude, Bouches-du-Rhône, Gard, Hérault, Pyrénées-Orientales (s výjimkou kantonů Olette a Arles-sur-Tech), Vaucluse,

— v části departementu Var na jihu vymezené severní hranicí obcí Evenos, Le Beausset, Solliès-Toucas, Cuers, Puget-Ville, Collobrières, la Garde-Freinet, Plan-de-la-Tour a Sainte-Maxime,

— v okrese Nyons a kantonu Lorient-sur-Drôme v departementu Drôme,

— ve správních jednotkách departementu Ardèche, které nejsou zahrnuty v bodu 3 písm. a);

b) v Itálii plochy vinic v těchto oblastech: Abruzzo, Campagna, Emilia-Romagna, Friuli-Venezia Giulia, Lazio, Liguria, Lombardia (s výjimkou provincie Sondrio), Marche, Molise, Piemonte, Toscana, Umbria, Venezia (s výjimkou provincie Belluno), včetně ostrovů náležejících k těmto regionům, například ostrov Elba a ostatní ostrovy toskánského souostroví, ostrovy Ponziene, Capri a Ischia;

c) ve Španělsku plochy vinic v těchto provinciích:

— Lugo, Orense, Pontevedra,

— Ávila (s výjimkou obcí, které odpovídají stanovené pěstitelské oblasti („comarca“) Cebreros), Burgos, León, Palencia, Salamanca, Segovia, Soria, Valladolid, Zamora,

— La Rioja,

— Álava,

— Navarra,

— Huesca,

— Barcelona, Girona, Lleida,

— v části provincie Zaragoza ležící na sever od řeky Ebro,

— v obcích provincie Tarragona zahrnutých do označení původu Penedés,

— v části provincie Tarragona, která odpovídá stanovené pěstitelské oblasti („comarca“) Conca de Barberá.

d) ve Slovinsku plochy vinic v těchto oblastech: Brda nebo Goriška Brda, Vipavska dolina nebo Vipava, Kras a Slovenska Istra;

e) v Bulharsku plochy vinic v těchto oblastech: Dunavska ravnina (Дунавска равнина), Černomorski rajon (Черноморски район), Rozova dolina (Розова долина);

f) v Rumunsku plochy osázené révou v těchto vinařských oblastech: Dealurile Munteniei și Olteniei s vinicemi Dealurile Buzăului, Dealu Mare, Severinului a Plaiurile Drâncei, Colinele Dobrogei, Terasale Dunării, jižní vinařská oblast včetně písků a jiné příznivé oblasti;

g) v Chorvatsku plochy osázené révou v těchto subregionech: Hrvatska Istra, Hrvatsko primorje a Dalmatinska zagora;

5) Vinařská zóna C III a) zahrnuje:

a) v Řecku plochy vinic v těchto nomoi (okresech): Florina, Imathia, Kilkis, Grevena, Larisa, Ioannina, Levkas, Achaia, Messinia, Arcadia, Korinthia, Iraklio, Chania, Rethymno, Samos, Lassithi, jakož i ostrov Thira (Santorini);

b) na Kypru plochy vinic v nadmořské výšce nad 600 metrů;

c) v Bulharsku plochy vinic nezahrnuté v bodu 4 písm. e).

6) Vinařská zóna C III b) zahrnuje:

a) ve Francii plochy vinic

— v departementech na Korsice,

— v části departementu Var, která leží mezi mořem a hranicí tvořenou těmito obcemi (včetně nich): Evenos, Le Beausset, Solliès-Toucas, Cuers, Puget-Ville, Collobrières, La Garde-Freinet, Plan-de-la-Tour a Sainte-Maxime,

— v kantonech Olette a Arles-sur-Tech departementu Pyrénées-Orientales;

b) v Itálii plochy vinic v těchto oblastech: Calabria, Basilicata, Apulia, Sardinia a Sicilia, včetně ostrovů náležejících k těmto oblastem, například ostrovy Pantelleria a Liparské, Egadské a Pelagijské ostrovy;

c) v Řecku plochy vinic nezahrnuté v bodu 5 písm. a);

d) ve Španělsku: plochy vinic nezahrnuté v bodu 3 písm. c) ani bodu 4 písm. c);

e) v Portugalsku plochy vinic nezahrnuté v bodu 3 písm. d);

f) na Kypru plochy vinic v nadmořské výšce nejvýše 600 metrů;

h) v Chorvatsku plochy osázené révou v těchto subregionech: Sjeverna Dalmacija a Srednja i Južna Dalmacija.

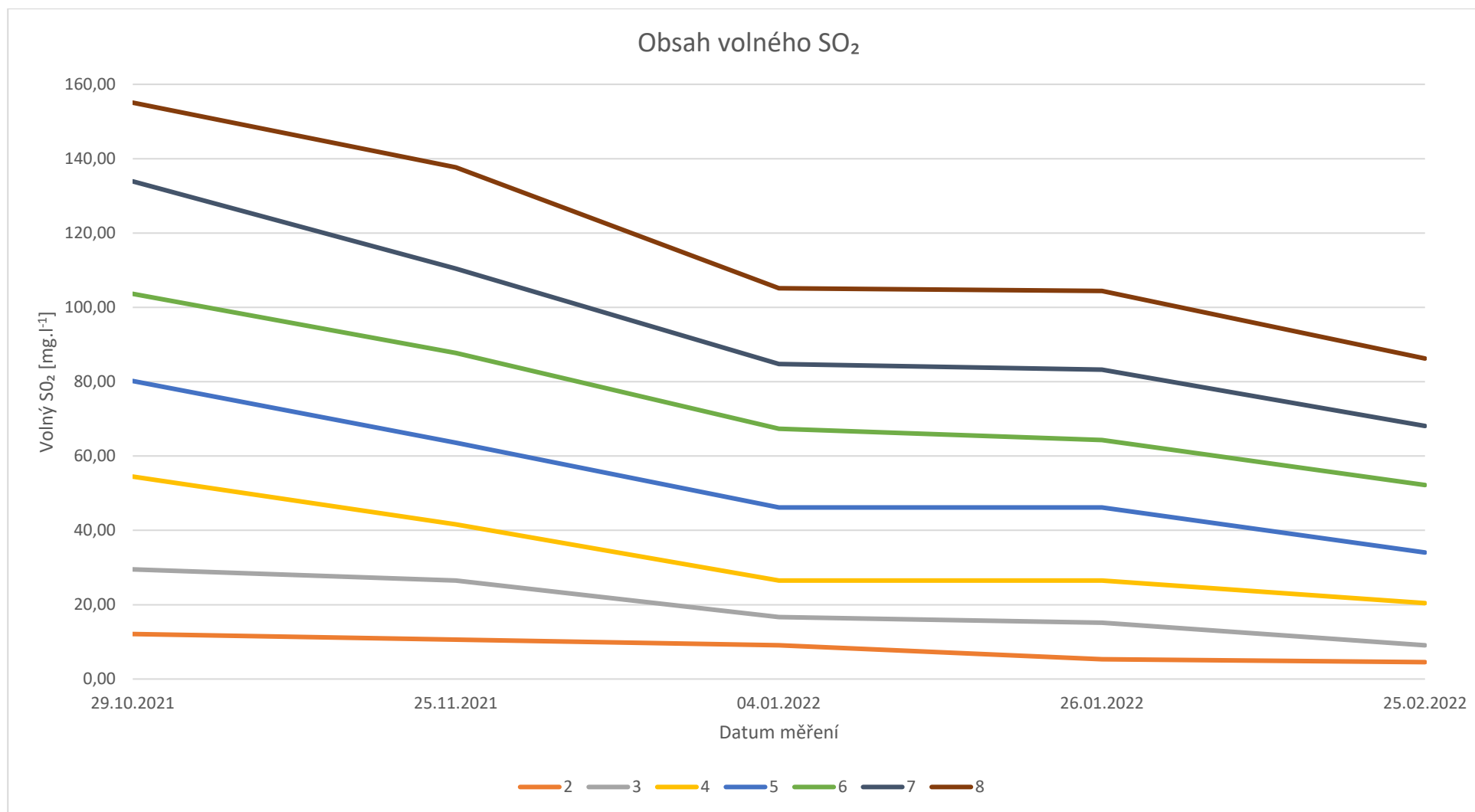
PŘÍLOHA P II: ZÁZNAM SENZORICKÉHO HODNOCENÍ

ZÁZNAM SENZORICKÉHO HODNOCENÍ

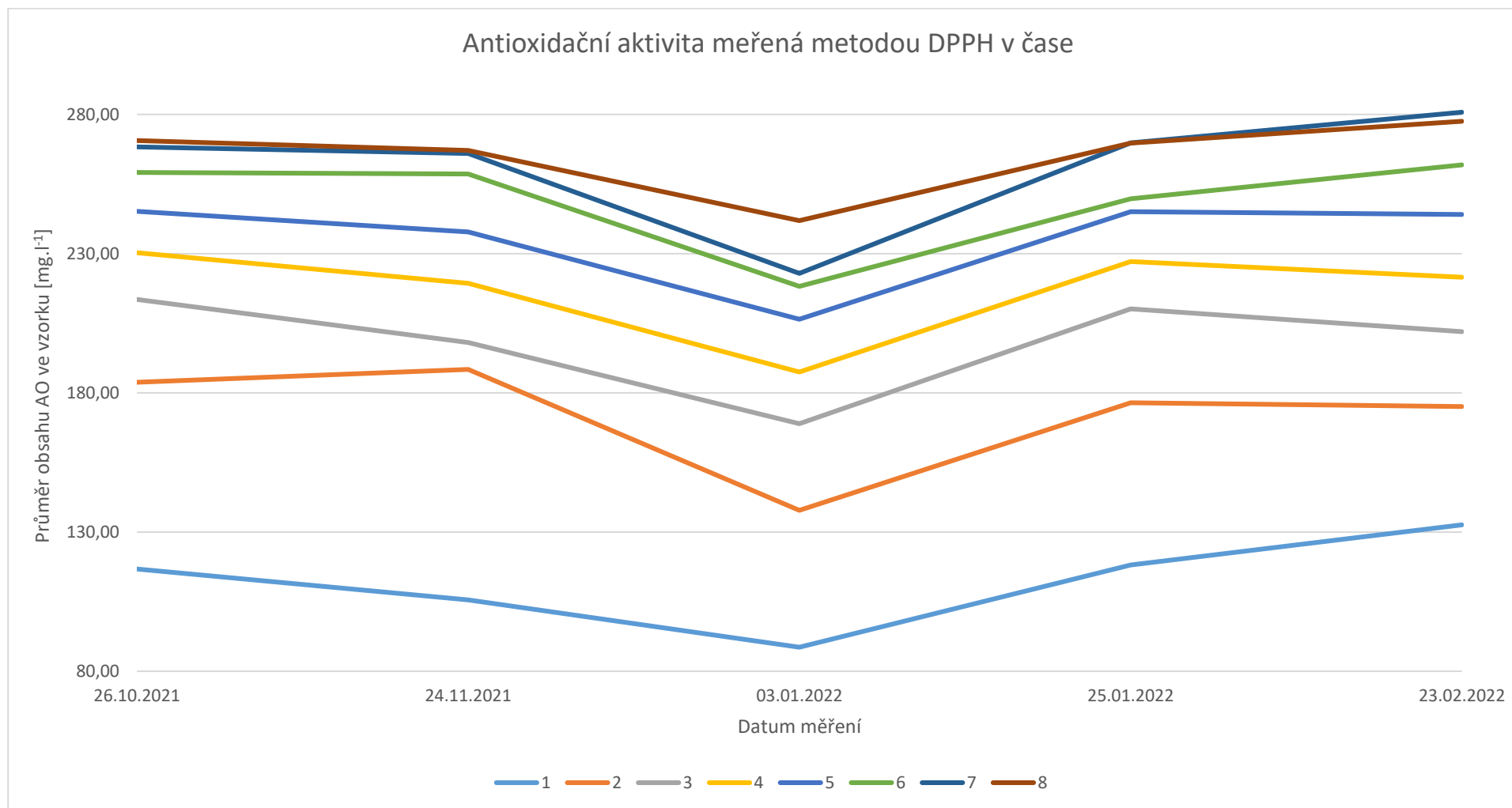
Datum:

Hodnotitel:

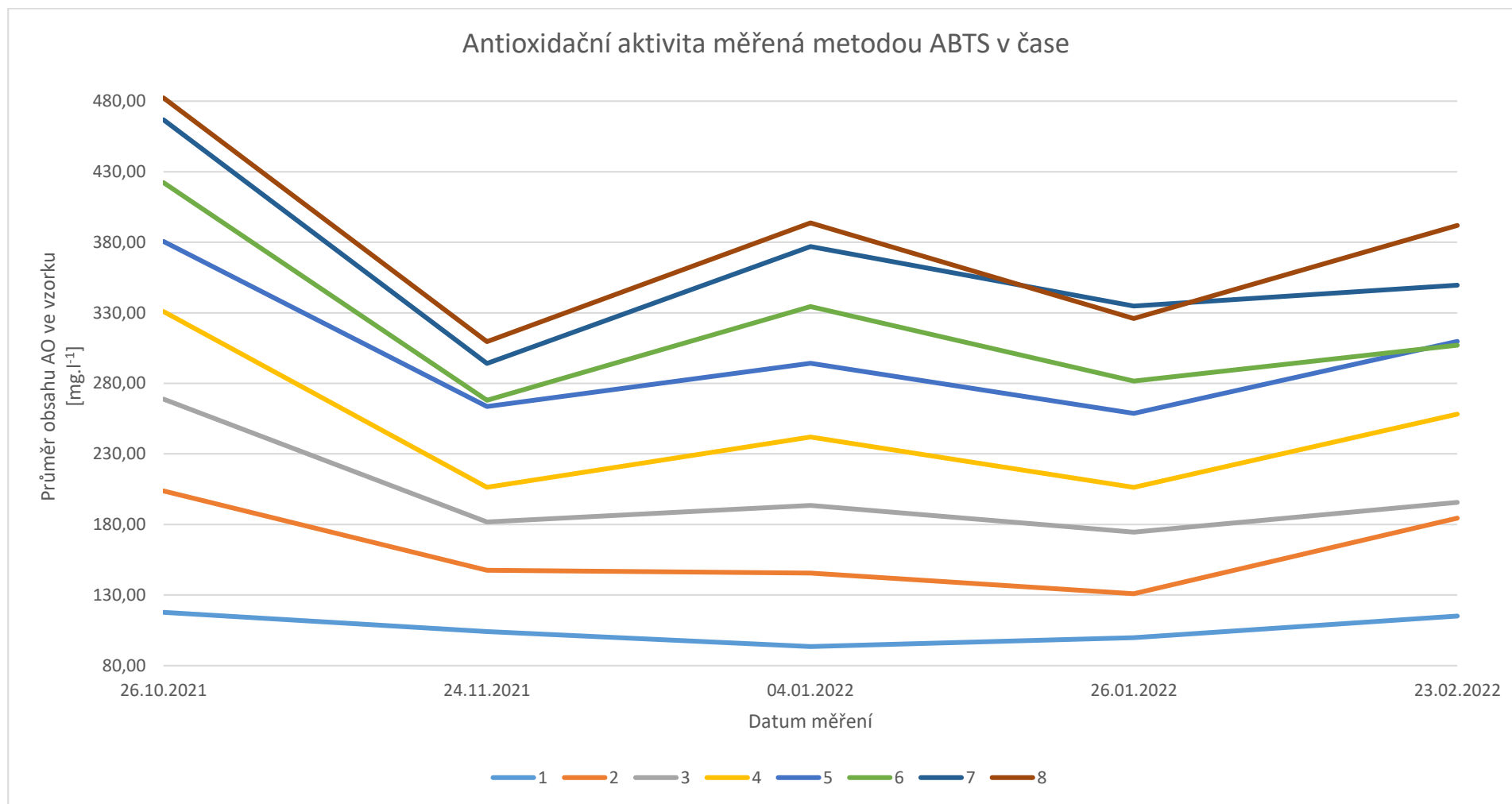
Seřad'te vzorky vzestupně podle stupně oxidace							
Seřad'te vzorky vzestupně podle vnímání oxidu siřičitého							
Další případné choroby a vady ve vzhledu, barvě, chuti a vůni podle přílohy č. 3 k vyhlášky č. 88/2017 Sb.							

PŘÍLOHA P III: GRAFICKÉ ZNÁZORNĚNÍ OBSAHU VOLNÉHO SO₂ V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ

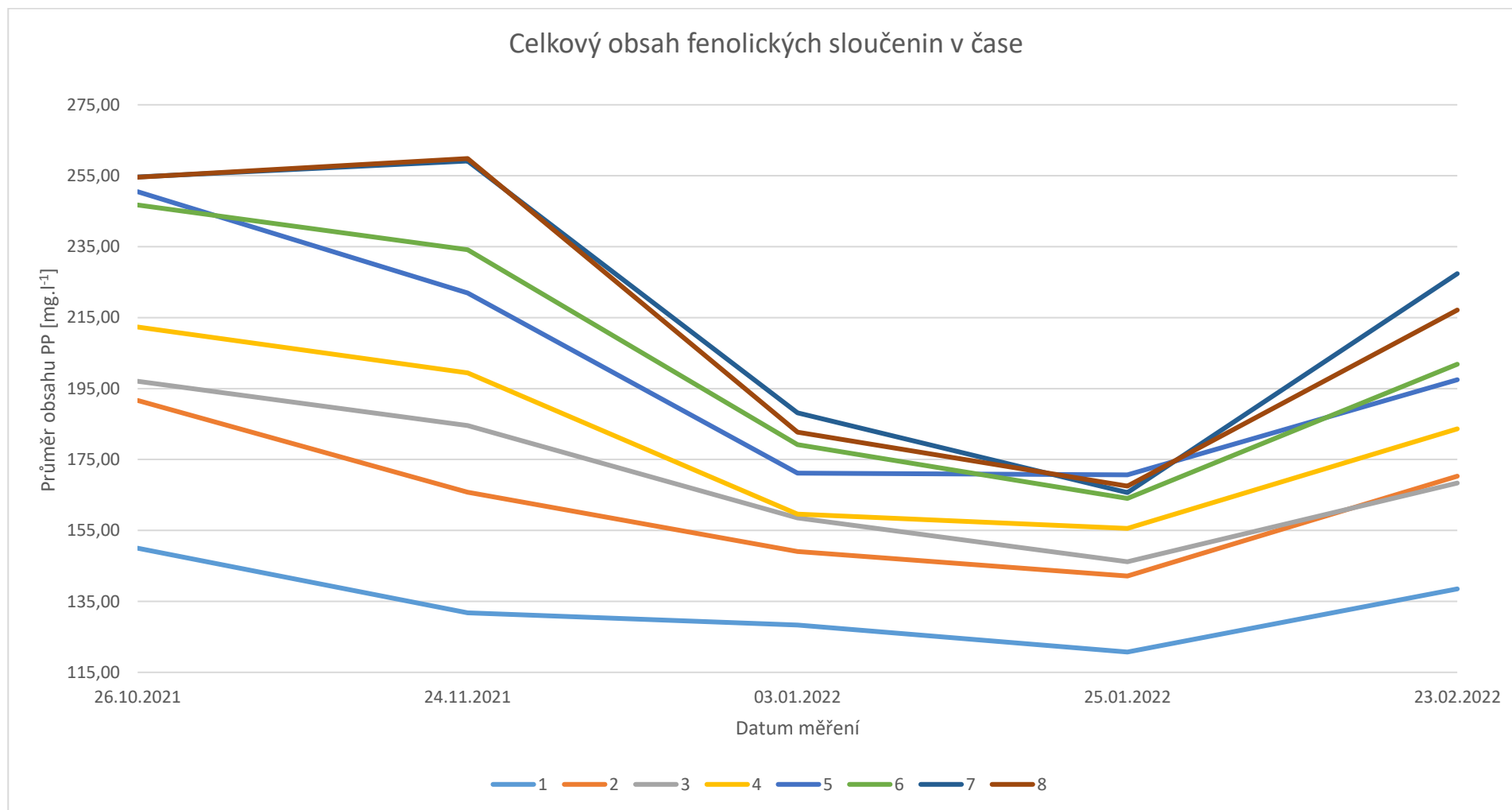
PŘÍLOHA P IV: GRAFICKÉ ZNÁZORNĚNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY MĚŘENÉ METODOU S VYUŽITÍM DPPH V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ



PŘÍLOHA P V: GRAFICKÉ ZNÁZORNĚNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY MĚŘENÉ METODOU S VYUŽITÍM ABTS V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ



PŘÍLOHA P VI: GRAFICKÉ ZNÁZORNĚNÍ CELKOVÉHO OBSAHU FENOLICKÝCH SLOUČENIN V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ



PŘÍLOHA P VII: GRAFICKÉ ZNÁZORNĚNÍ CELKOVÉHO OBSAHU FLAVONOIDŮ V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ

