

Možnosti snížení obsahu SO₂ ve víně biologickou cestou.

Bc. Katarína Anetová

Diplomová práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Katarína Anetová**
Osobní číslo: **T13417**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Možnosti snížení obsahu SO₂ ve víně biologickou cestou**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Význam použití SO₂ v technologických procesech přípravy vína.
2. Význam a charakteristika biologicky aktivních látek.
3. Charakteristika modelových odrůd vinné révy.

II. Praktická část

1. Určení bodů, při kterých dochází ke snížení biologických hodnot vína v průběhu výroby.
2. Stanovení SO₂ a biologických hodnot v průběhu výroby vína.
3. Možnost regulace SO₂ v technologických procesech výroby vína.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] GARRIDO, Jorge, Fernanda BORGES. Wine and grape polyphenols A chemical perspective. Food Research International. 2013, vol. 54, issue 2, s. 1844-1858. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.08.002. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996913004353>.
- [2] JACKSON, Ron S. Wine science: principles, practice, perception. 2nd ed. San Diego: Academic Press, c2000, xv, 648 p. ISBN 978-0-12-379062-0.
- [3] MICHLOVSKÝ, Miloš. Oxid šířičitý v enologii. Vyd. 1. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2012. ISBN 978-809-0531-901.
- [4] MORENO-ARRIBAS, M., M. POLO. Wine chemistry and biochemistry. New York: Springer, c2009, xv, 735 p. ISBN 9780387741185.
- [5] PÉREZ-MAGARINO, Silvia a M Luisa GONZÁLEZ-SAN JOSÉ. Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. Food Chemistry. 2006, vol. 96, issue 2, s. 197-208. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.02.021. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814605001706>.
- [6] RIVERO-PÉREZ, M.D., P. MUNIZ, M.L. GONZÁLEZ-SANJOSÉ. Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. Food and Chemical Toxicology. 2008, vol. 46, issue 8, s. 2815-2822. DOI: 10.1016/j.fct.2008.05.014. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691508002524>.

Vedoucí diplomové práce:

prof. Ing. Vlastimil Fic, DrSc.
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

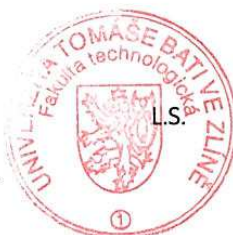
2. února 2015

Termín odevzdání diplomové práce:

22. dubna 2015

Ve Zlíně dne 2. února 2015


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Avetova' Katarina

Obor: Technologie potravin

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že 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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že 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.

Ve Zlíně 22.4.2015

Katarina Avetova

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na možnost regulace obsahu SO₂ ve víně biologickou cestou. Popisuje formy a funkce SO₂ ve víně a charakterizuje biologicky aktivní látky vína. Uvádí metody stanovení oxidu siřičitého, antioxidační kapacity a polyfenolických látek. Dále se zabývá charakteristikou modelových odrůd *Vitis vinifera* L. Objekty zkoumání práce byly tři modelové odrůdy (Veltlínské zelené, Ryzlink rýnský, Rulandské modré) v průběhu vinifikace. V práci jsou uvedeny výsledky analýz volného a celkového SO₂ stanovené titrační metodou, celková antioxidační kapacita stanovená metodou DPPH a celkový obsah polyfenolů stanovený Folin-Ciocalteuovou metodou. Na základě výsledků byly zjištěny změny analyzovaných parametrů v průběhu vinifikace u jednotlivých odrůd. Výsledkem řešení dané problematiky je návrh podrobnějších analýz chemického složení vína v průběhu vinifikace, které by vedly k snížení dávek SO₂.

Klíčová slova: oxid siřičitý, biologicky aktivní látky, *Vitis vinifera* L., volný a celkový SO₂, celková antioxidační kapacita, celkový obsah polyfenolů

ABSTRACT

This thesis is focusing on the possibility of the content regulation of the SO₂ in the wine from the perspective of biology. It describes functions of SO₂ in the wine and also it characterizes the bioactive compounds in the wine. The thesis mentions the methods to specify the sulphur dioxide, the antioxidant capacity and polyphenols content and also to acquaint with the characterization of the model varieties of *Vitis vinifera* L. Objects of the thesis were three model varieties (Green Veltliner, Riesling, Pinot Noir) in the vinification. In the thesis are results of the analysis of free and total SO₂ set by the titration method, the total antioxidant capacity set by DPPH method and the total content of polyphenols set by the Folin-Ciocalteu method. In pursuance of the results were determined changes of analysed parameters in the vinification on the individual varieties. The result of resolution of the given issue is recommendation of detailed analyses of the chemical content of the wine in the vinification which would lead to reduction of SO₂.

Keywords: sulfur dioxide, bioactive compounds, total antioxidant capacity, *Vitis vinifera* L., free and total SO₂, total polyphenols content

Moje úprimné poďakovanie patrí vedúcemu mojej diplomovej práce pánovi prof. Ing. Vlastimilovi Ficovi, DrSc. za odborné vedenie a cenné rady, ktorými ma usmerňoval pri písaní diplomovej práce. Moje poďakovanie rovnako patrí pánovi prof. RNDr. Vlastimilovi Kubáňovi, DrSc. za odborné pripomienky k danej problematike. Ďalej ďakujem laborantke pani Jaroslave Řemenovskej za jej pomoc v laboratóriu.

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

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČASŤ	12
1 POUŽITIE SO₂ V TECHNOLOGICKÝCH PROCESOCH PRÍPRAVY VÍNA.....	13
1.1 CHEMICKÉ VLASTNOSTI SO ₂	13
1.1.1 Vodný roztok SO ₂	13
1.2 FORMY A FUNKCIE SO ₂ VO VÍNE.....	14
1.2.1 Voľný SO ₂	14
1.2.2 Molekulárny SO ₂	15
1.2.3 Viazaný SO ₂	16
1.2.3.1 Acetaldehyd	17
1.2.3.2 Cukry.....	18
1.2.3.3 Farebné látky.....	19
1.3 LIMITY POUŽITIA SO ₂ V ENOLÓGII.....	19
1.3.1 Limity použitia SO ₂ v enológii pre biovino.....	19
1.4 SO ₂ V MUŠTE A VÍNE	21
1.5 VPLYV SO ₂ NA KVASINKY	22
2 BIOLOGICKY AKTÍVNE LÁTKY VÍNA	26
2.1 FENOLOVÉ ZLÚČENINY	26
2.2 NEFLAVONOIDNÉ ZLÚČENINY	28
2.2.1 Fenolové kyseliny.....	28
2.2.1.1 Hydroxybenzoové kyseliny.....	28
2.2.1.2 Hydroxyškoricové kyseliny.....	28
2.2.2 Stilbény.....	29
2.3 FLAVONOIDNÉ ZLÚČENINY	29
2.3.1 Flavonoly a flavony	30
2.3.2 Flavanoly	31
2.3.2.1 Taníny	31
2.4 ANTHOKYANY	32
2.4.1 Anthokyany a SO ₂	33
2.5 ANTIOXIDAČNÁ AKTIVITA FLAVONOIDOV	34
2.6 REDUKTONY	35
3 METÓDY STANOVENIA	36
3.1 CELKOVÁ ANTIOXIDAČNÁ KAPACITA (CAK).....	36
3.1.1 Metóda DPPH	36
3.1.2 Metóda TEAC	37
3.1.3 Metóda FRAP.....	37
3.1.4 HPLC metóda s elektrochemickou detekciou	38
3.2 STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLOV	38
3.2.1 Folin-Ciocalteuová metóda	38
3.3 METÓDY STANOVENIA SO ₂	38
3.3.1 Stanovenie SO ₂ jodometricky	38

3.3.2	Destilačná metóda	39
3.3.3	Prietoková injekčná analýza.....	39
3.3.4	Chromatografické metódy.....	39
4	MODELOVÉ ODRODY VITIS VINIFERA L.....	40
4.1	VELTLÍNSKE ZELENÉ.....	40
4.2	RIZLING RÝNSKY	41
4.3	RULANDSKÉ MODRÉ	42
II	PRAKTICKÁ ČASŤ	44
5	CIEĽ PRÁCE	45
6	MATERIÁL A PRÍSTROJE.....	46
6.1	VZORKY MODELOVÝCH ODRÔD POUŽITÉ PRI ANALÝZE.....	46
6.1.1	Doby odberu vzoriek	46
6.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	47
6.3	POUŽITÉ PRÍSTROJE A POMÔCKY.....	47
7	METODIKA STANOVENÍ.....	48
7.1	STANOVENIE VOĽNÉHO A CELKOVÉHO SO ₂ JODOMETRICKY.....	48
7.1.1	Stanovenie voľného SO ₂	48
7.1.2	Stanovenie celkového SO ₂	48
7.1.3	Vyjadrenie výsledkov	49
7.2	STANOVENIE CELKOVEJ ANTIOXIDAČNEJ KAPACITY METÓDOU DPPH.....	49
7.2.1	Základný roztok.....	49
7.2.2	Stanovenie CAK vo vzorkách	49
7.2.3	Príprava kalibračných roztokov.....	50
7.2.4	Vyjadrenie výsledkov	50
7.3	STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLOV	50
7.3.1	Stanovenie celkového obsahu polyfenolov vo vzorkách	50
7.3.2	Príprava kalibračných roztokov.....	51
7.3.3	Vyjadrenie výsledkov	51
7.4	MERANIE HODNÔT PH	51
8	VÝSLEDKY A DISKUSIE.....	52
8.1	NAMERANÉ HODNOTY PH.....	52
8.2	STANOVENIE VOĽNÉHO A CELKOVÉHO SO ₂	53
8.2.1	Stanovenie voľného a celkového SO ₂ u Veltlínskeho zeleného	54
8.2.2	Stanovenie voľného a celkového SO ₂ u Rizlingu rýnskeho.....	56
8.2.3	Stanovenie voľného a celkového SO ₂ u Rulandského modrého	57
8.3	STANOVENIE CELKOVEJ ANTIOXIDAČNEJ KAPACITY	59
8.3.1	Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity u Veltlínskeho zeleného	60
8.3.2	Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity u Rizlingu rýnskeho	61
8.3.3	Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity u Rulandského modrého	62
8.4	STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLOV	65
8.4.1	Stanovenie celkového obsahu polyfenolov u Veltlínskeho zeleného	66
8.4.2	Stanovenie celkového obsahu polyfenolov u Rizlingu rýnskeho.....	67
8.4.3	Stanovenie celkového obsahu polyfenolov u Rulandského modrého	69

8.5	ZÁVISLOSŤ CELKOVEJ ANTIOXIDAČNEJ KAPACITY NA CELKOVOM OBSAHU POLYFENOLOV	70
8.6	SÚHRNNÁ DISKUSIA.....	73
	ZÁVER	75
	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	77
	ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK.....	84
	ZOZNAM OBRÁZKOV	85
	ZOZNAM TABULIEK	87
	ZOZNAM PRÍLOH.....	88

ÚVOD

Oxid siričitý je hlavný antiseptický, antioxidačný a konzervačný prostriedok používaný pri spracovaní hrozna a výrobe vína. Aplikovanie SO_2 môže pozitívne, ale aj negatívne ovplyvniť radu biochemických procesov v priebehu spracovania hrozna a vína, a tým ovplyvniť výslednú kvalitu konečného produktu. Chémia oxidu siričitého vo víne je pomerne zložitá vzhľadom k jeho disociácii do niekoľkých foriem a schopnosti väzieb na rôzne látky prítomné vo víne, ako aj látky produkované kvasinkami a baktériami.

Nakoľko sa jedná o syntetickú aditívnu látku, sú legislatívne stanovené maximálne koncentrácie SO_2 , ktoré môže víno ako konečný produkt obsahovať. Konzumácia oxidu siričitého prítomného vo víne nepredstavuje vážne zdravotné riziko. Avšak u časti populácie môže konzumácia vína obsahujúceho SO_2 vyvolať nežiadúce účinky ako bolesti hlavy, brucha, svrbenie pokožky a ďalšie symptómy. Trendom súčasnej doby je záujem spotrebiteľov o potraviny pestované a vyrábané s čo najmenším obsahom syntetických aditívnych látok. Produkcia vína je rovnako ovplyvnená týmito požiadavkami.

Je dôležité poznať z chemického hľadiska jednotlivé formy a vlastnosti SO_2 vo víne vzhľadom k antimikrobiálnej a antioxidačnej stabilite vína. Zloženie a charakter biologicky aktívnych látok vína môže výrazne ovplyvniť antioxidačnú kapacitu v priebehu vinifikácie. Antioxidačné vlastnosti vína sú pripisované predovšetkým polyfenolickým látkam. V priebehu vinifikácie dochádza k významným biochemickým a fyzikálno-chemickým procesom, ktoré môžu viesť k zvýšeniu alebo k zníženiu antioxidačnej kapacity vína.

V práci sú popísané metódy stanovenia SO_2 , celkovej antioxidačnej kapacity a celkového obsahu polyfenolov. K analýze vzoriek modelových odrôd v priebehu vinifikácie bola použitá titračná metóda pre stanovenie voľného a celkového SO_2 , celková antioxidačná kapacita vzoriek bola stanovená metódou DPPH a k stanoveniu celkového obsahu polyfenolov bolo použité Folin-Ciocalteuovo činidlo.

Charakter modelových odrôd *Vitis vinifera* L. týkajúci sa pôvodu, morfológických charakteristík, vegetačného cyklu, odolnosti voči mikroorganizmom a škodcom, adaptáciou na terroir atď., môže mať rovnako vplyv na biologickú hodnotu vína.

I. TEORETICKÁ ČASŤ

1 POUŽITIE SO₂ V TECHNOLOGICKÝCH PROCESOCH PRÍPRAVY VÍNA

Oxid siričitý SO₂ je hlavná konzervačná, antiseptická a antioxidačná látka používaná pri výrobe a k ochrane vína. Je dlhodobo používaný k potlačeniu oxidácie, k inhibícii rastu nežiaducich mikroorganizmov, vrátane divých kvasiniek, octových a mliečnych baktérií. Význam SO₂ spočíva vo viazaní sa na rôzne zlúčeniny vína, čím sa môže zabrániť nežiaducim organoleptickým zmenám [1].

1.1 Chemické vlastnosti SO₂

Oxid siričitý vzniká spaľovaním síry, pričom za prítomnosti kyslíku síra horí a uvoľňuje sa charakteristický sírny pach [2].

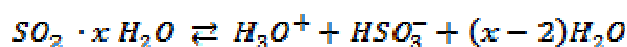


Obr. 1. Reakcia vzniku SO₂ [3]

SO₂ je bezfarebný, páchnuci, dráždivý, jedovatý plyn. V závislosti na teplotných a tlakových podmienkach môže byť SO₂ prítomný v kvapalnom alebo plynnom skupenstve. V oblasti nad kritickou teplotou a nad kritickým tlakom (T_k, p_k) je prítomný vo forme tzv. nadkritickej tekutiny (supercritical fluid). Kvapalný má dobré rozpúšťacie vlastnosti rôznych organických a anorganických látok. SO₂ sa dobre rozpúšťa v studenej vode a vo víne, ale so zvyšujúcou sa teplotou rozpustnosť klesá. Všeobecne platí, že pri 20 °C sa v 1 dm³ vody rozpustí 39 dm³ SO₂, avšak rozpustnosť je polovičná v porovnaní s 0 °C, ale dvojnásobná oproti teplote 40 °C [2, 3].

1.1.1 Vodný roztok SO₂

Kyselina siričitá H₂SO₃ je dvojsýtna kyselina, pričom je vodným roztokom SO₂, v ktorom je hydratovaný oxid siričitý SO₂ · x H₂O. Kyselina siričitá je slabá a nestála kyselina, ktorá ľahko parciálne disociuje a ustáli sa rovnovážny stav [3].



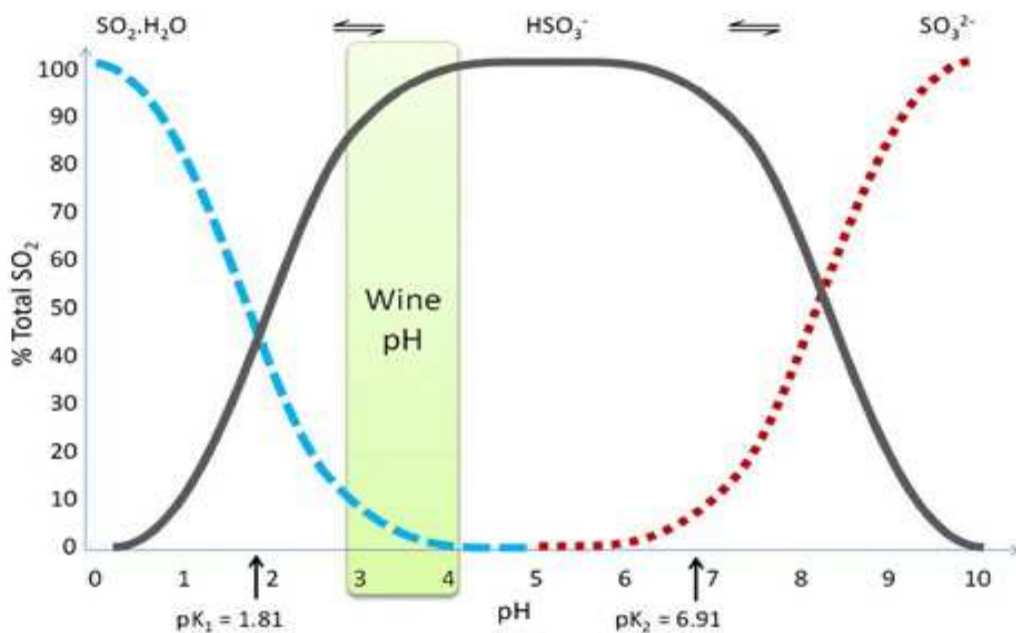
Obr. 2. Disociácia SO₂ vo vodnom roztoku [3]

1.2 Formy a funkcie SO₂ vo víne

Kyselina siričitá disociuje vo vodnom roztoku na substanciu voľného SO₂ a časti SO₂, ktorý sa viaže s ďalšími látkami vo víne, tzv. viazaný SO₂. Ich súčet tvorí celkový SO₂. Nedisociovaná H₂SO₃ je prítomná v zanedbateľnom percentuálnom zastúpení, čo predstavuje v muštach maximálne 1 až 3 mg.l⁻¹. Nedisociovaná H₂SO₃ nepôsobí inhibične na mikroorganizmy [4, 5].

1.2.1 Voľný SO₂

Voľný SO₂ pozostáva z troch substancií. Tieto substancie tvorí molekulárny, nazývaný aj aktívny SO₂, siričitanové ióny SO₃²⁻ a hydrogénsiričitanové ióny HSO₃⁻. Množstvo jednotlivých substancií závisí od disociačnej konštanty a od pH prostredia [4].



Obr. 3. Disociácia SO₂ v roztokoch a závislosť percenta celkového SO₂ na pH, pK₁ a pK₂ sú disociačné konštanty reakcií zobrazených na Obr. 2. Vo zvýraznenej časti je znázornené optimálne pH vína [36]

Podiel voľného SO₂ nezávisí na hodnote pH, je to prebytok SO₂, ktorý sa neviazal so zložkami vína. Pôsobenie voľného SO₂ je predovšetkým v jeho antioxidačnej schopnosti. Oxidácia je zabránená väzbou SO₂ s prekursorami oxidačných reakcií alebo oxidovanými zlúčeninami. Hydrogénsiričitanové ióny HSO₃⁻ sú prevládajúcou formou voľného SO₂ pri hodnotách pH 2 – 7 a tým sú najviac zastúpenou formou v oblasti pH vína a muštu. HSO₃⁻

inhibujú enzýmy, ktoré zapríčiňujú oxidatívne hnednutie muštu. Sírčitánové ióny SO_3^{2-} existujú v oblasti pH 7 – 10 a sú jedinou formou, ktorá priamo reaguje s kyslíkom, avšak reakcia je veľmi pomalá. V oblasti pH vína sa tieto ióny nevyskytujú [4, 6].

1.2.2 Molekulárny SO_2

Molekulárny SO_2 je najdôležitejšou formou SO_2 vzhľadom k jeho antiseptickým vlastnostiam. Ľahko prechádza jednoduchou difúziou cez bunkovú membránu mikroorganizmov a tým inhibuje aktivitu enzýmov a proteínov v bunke. Molekulárny SO_2 najviac prevláda v oblasti pH 0 - 2 ($\text{p}K_1 = 1,81$) a so zvyšujúcim sa pH koncentrácie klesajú, tzn. že so zvyšujúcim sa pH vína je nutné intenzívnejšie zasírenie [6, 7].

Pre výpočet molekulárneho SO_2 je možné použiť Henderson-Hasselbalchovu rovnicu, pričom sa zanedbá nízka koncentrácia SO_3^{2-} v roztoku pufovaného vína.

$$[\text{SO}_2 \text{ mol.}] = \frac{[\text{HSO}_3^-]}{10^{\text{pH} - \text{p}K_1}} \quad (1)$$

Avšak SO_2 reaguje s množstvom rôznych látok vo víne a molekulárny SO_2 je len malým percentom voľného SO_2 a nie celkového SO_2 . Preto pre výpočet hodnôt voľného SO_2 prítomného v molekulárnej forme sa používa vzorec:

$$\text{SO}_2 \text{ mol.} = \frac{\text{voľný SO}_2}{10^{\text{pH} - \text{p}K_1} + 1} \quad (2)$$

V oblasti pH vína, ktoré predstavuje približne pH 3,0 – 4,0 je 94 – 99 % SO_2 prítomného vo forme SO_3^{2-} a HSO_3^- , len malá časť 1 – 6 % je v molekulárnej forme.

Tab. 1. Podiel molekulárneho SO₂ vo vodnom roztoku v závislosti na pH [2]

Hodnota pH	Molekulárny SO ₂ [%]	HSO ₃ ⁻ [%]
3,00	6,06	93,94
3,10	4,88	95,12
3,20	3,91	96,09
3,30	3,13	96,87
3,40	2,51	97,49
3,50	2,00	98,00
3,60	1,60	98,40
3,70	1,27	98,73
3,80	1,01	98,99
3,90	0,81	99,19
4,00	0,64	99,36

Pre ochranu vína pred oxidáciou a mikrobiálnym pôsobením boli doporučené minimálne hodnoty molekulárneho SO₂ vo víne. Antioxidačné účinky má 0,6 – 0,9 mg.l⁻¹ molekulárneho SO₂. Antimikrobiálne účinky má 0,8 – 1,3 mg.l⁻¹ molekulárneho SO₂. 1,5 mg.l⁻¹ molekulárneho SO₂ je hodnota vhodná pre vína so zvyškovým cukrom, avšak pre tiché vína môže táto hodnota výrazne negatívne ovplyvňovať sensorické vlastnosti vína. 2,0 – 2,5 mg.l⁻¹ molekulárneho SO₂ má silné fungicídne účinky, napriek tomu sa prejavuje ostrý siričitanový zápach [8].

Koncepciu voľného a molekulárneho oxidu siričitého je dôležité posúdiť súčasne vo vzťahu k mikrobiologickej stabilite a k schopnosti absorbovať kyslík. Koncentráciu voľného SO₂ je potrebné regulovať podľa žiadanej ochrany proti oxidácii, oproti tomu koncentrácia molekulárneho SO₂ sa upraví podľa žiadanej antiseptickej ochrany, bez toho aby boli ovplyvnené sensorické vlastnosti vína. Napriek týmto poznatkom nie je možná nezávislá regulácia koncentrácie molekulárneho SO₂ od voľného SO₂. So zvyšujúcou sa koncentráciou voľného SO₂ sa zvyšuje aj koncentrácia molekulárneho SO₂, tým sa dosiahne vysoká antioxidačná a antimikrobiálna ochrana, ale súčasne aj riziko vzniku nežiaducich organoleptických zmien [2].

1.2.3 Viazaný SO₂

Oxid siričitý sa viaže s rôznymi zložkami vína reverzibilne aj ireverzibilne. Stabilné zlúčeniny sa tvoria naviazaním sulfonylovej funkčnej skupiny na karbonylovú skupinu, najčastejšie na acetaldehyd, alebo cez disulfidové väzby, napríklad reakciou s chinónmi. Nesta-

bilné zlúčeniny sú napríklad s cukrami, tanínmi, kyselinou pyrohroznovou a 2-oxoglutarovou, ktoré sú v priebehu kvasenia metabolizované kvasinkami [10].

1.2.3.1 Acetaldehyd

Acetaldehyd je vedľajším produktom alkoholovej fermentácie. Vzniká neschopnosťou enzýmu alkoholdehydrogenázy redukovať acetaldehyd na alkohol. Obsah acetaldehydu klesá s ukončovaním fermentácie, nakoľko acetaldehyd môže byť transportovaný späť do bunky kvasiniek a metabolizovaný na ethanol. Voľný acetaldehyd dáva vínu nežiaduci zápach po zvetranosti [10].

Faktory, ktoré ovplyvňujú tvorbu acetaldehydu sú napr. druh kvasiniek, teplota, pH, O₂, prídavok SO₂ a dostupnosť živín kvasiniek počas fermentácie a iné. Medzi tieto premenné sa SO₂ radí ako hlavný faktor, nakoľko záleží, či je pridaný pred, počas alebo po fermentácii. SO₂ zabraňuje alkoholdehydrogenáze metabolizovať acetaldehyd na ethanol, alebo sa priamo viaže s acetaldehydom a tým zníži množstvo acetaldehydu, ktoré môže byť transformované na ethanol [30].

Oxid siričitý pridávaný do muštu vo fázy pred fermentáciou spôsobuje tvorbu acetaldehydu ako prostriedok ochrany kvasiniek pred SO₂. Viazaný acetaldehyd nebude možné v priebehu fermentácie odbúrať, vzhľadom k jeho vysokej afinite s SO₂ [9].

Acetaldehyd vzniká pri každej alkoholovej fermentácii a s väzbou na SO₂ vzniká kyselina aldehyd-sulfonová [2].



Obr. 4. Reakcia vzniku kyseliny aldehyd-sulfonovej [10]

Vytvorená kyselina aldehyd-sulfonová je ochranným prostriedkom kvasiniek proti voľnému SO₂. Koncentrácia zasírenia rmutu bude závisieť od väzby acetaldehydu a SO₂, ktorý sa viaže [2].

V priebehu kvasenia sa víno nemôže nikdy siriť, nakoľko by došlo k zvýšeniu produkcie acetaldehydu, rovnako to platí aj pri spájaní muštu s kvasiacim vínom. Ihneď po dokvasení sa musia nádoby doplniť a zabrániť kontaktu vína so vzduchom, až následne po vykvasení sa môžu vína siriť. Oxidom siričitým sa obmedzuje pôsobenie acetaldehydu. Na vyviazanie

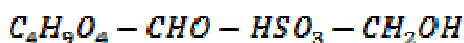
1 mg acetaldehydu je potrebných približne 1,45 mg SO₂, t.j. na liter vína asi 30 – 50 mg SO₂. Aby bolo víno chránené pred oxidáciou, musí po vyviazaní acetaldehydu zostať aspoň 30 mg.l⁻¹ SO₂. Preto prvá dávka zasírenia by mala byť 60 – 80 mg.l⁻¹ SO₂ [20].

Aldehydické zlúčeniny, predovšetkým acetaldehyd, ktorý je so zlúčenín v prevládajúcej koncentrácii v rozmedzí 50 až 200 mg.l⁻¹, sa môže podieľať na aromatickom charaktere vína vôňou pripomínajúcou po bylinách alebo zvetranom jablku,. Zvetraný tón je možné ucítiť, ak je acetaldehyd v prebytku voči oxidu siričitému [11].

Zlučováním s oxidom siričitým sa acetaldehyd transformuje na siričitý aldehyd. Tento stabilný sulfonový acetaldehyd zabraňuje zvetranej „pachuti“. V praxi sa na odstránenie zvetranosti vína odporúča pridať nízku dávku SO₂ tak, aby vznikol mierny prebytok voľného SO₂ v pomere k acetaldehydu. Tento charakter zvetranosti sa objavuje aj v madeirizovaných vínach, kde je žiaduci [9].

1.2.3.2 Cukry

Vzhľadom k tomu, že v molekulách rôznych cukrov sú prítomné aldehydické a keto skupiny, je možné naviazanie SO₂ s cukrami. V mušte sa viaže asi 40 – 70 % pridaného SO₂ s cukrami. Schopnosť viazať sa má predovšetkým glukóza, v zanedbateľnej miere fruktóza. 1 g glukózy viaže 0,3 mg SO₂ pri koncentrácii 50 mg.l⁻¹ voľného SO₂. Napriek nízkej schopnosti viazať SO₂ sa táto hodnota nemôže zanedbať vzhľadom k veľkému podielu glukózy v muštach a v likérových vínach. Väzbou vzniká kyselina glukózo-sulfonová a kyselina fruktózo-sulfonová. Komplex cukor-SO₂ sa rozpadá v priebehu fermentácie, nakoľko je cukor metabolizovaný kvasinkami [2, 10].



Obr. 5. Kyselina glukózo-sulfonová a kyselina fruktózo-sulfonová [10]

1.2.3.3 Farebné látky

SO₂ bráni niektorým oxidačným reakciám, ako napríklad redukcii dichinónov na difenoly. Ireverzibilná väzba SO₂ s chinónmi tanínov spôsobuje ich odfarbenie a zabraňuje ďalším oxidačným reakciám. Oxid siričitý zabraňuje Maillardovým reakciám neenzymového hnednutia väzbou s karbonylovou skupinou cukrov [10].

1.3 Limity použitia SO₂ v enológii

Oxid siričitý má pri technologickej príprave vína svoje doposiaľ nezastupiteľné miesto. Napriek tomu sa jedná o aditívum, ktoré môže predstavovať pre konzumenta potenciálne zdravotné riziko. Z toho dôvodu sú stanovené podľa NEPR (ES) č. 606/2009 maximálne koncentrácie SO₂ pre príslušné druhy vín [9].

Tab. 2. Maximálne koncentrácie SO₂ pre príslušné druhy vín [9]

Druh vína	Celkový SO ₂ [mg.l ⁻¹]
Biele a ružové víno pod 5 g.l ⁻¹ cukru	200
Biele a ružové víno od 5 g.l ⁻¹ cukru	250
Červené víno pod 5 g.l ⁻¹ cukru	150
Červené víno od 5 g.l ⁻¹ cukru	200
Neskorí zber	300
Výber z hrozna	350
Výber z bobulí, výber z cibéb, ľadové víno, slamové víno	400
Likérové víno s obsahom cukru pod 5 g.l ⁻¹	150
Likérové víno s obsahom cukru od 5 g.l ⁻¹	200
Šumivé víno akostné	185
Šumivé víno ostatné	235

Všeobecne záväzným právnym predpisom je stanovené uvádzať na etikete údaj o prítomnosti SO₂ vo víne, ak celkový obsah je vyšší než 10 mg.l⁻¹ SO₂ a to výrazom „siričitany“ alebo „oxid siričitý“. Nepovinným údajom na etikete je uvádzanie piktogramu upozorňujúci na obsah SO₂ [12].

1.3.1 Limity použitia SO₂ v enológii pre biovíno

Pre výrobu biovína sa musí činnosť, respektíve obhospodarovanie viníc podrobiť kontrolám niektorého kontrolného zväzu pre ekologické hospodárstvo. Inšpektori zväzu sledujú na prihlásenej vinici dodržovanie všetkých pestovateľských nariadení potrebných pre zís-

kanie hrozna z ekologického pestovania révy. Z takéhoto hrozna je potom možné vyrábať biovino [20]. Ako biovino je možné označovať vína v EU, ktoré pochádzajú z hrozna z uznaných bioviníc a ich príprava bola certifikovaná ako ekologická. K produkcii biovín sú vhodnejšie odolnejšie odrody révy, nakoľko z legislatívy je obmedzená, znížená a v niektorých prípadoch zakázaná aplikácia určitých chemických prípravkov [9].

Vino musí pochádzať z bio hrozna a maximálny obsah celkového oxidu siričitého v suchom biovine je nižší o 50 mg.l^{-1} a v ostatnom o $30 \text{ mg.l}^{-1} \text{ SO}_2$ než v konvenčnom vine [9].

Tab. 3. Maximálne koncentrácie SO_2 v konvenčnom vine a biovine [9]

Druh vína	Konvenčné víno	Biovino
	Celkový SO_2 [mg.l^{-1}]	Celkový SO_2 [mg.l^{-1}]
Biele a ružové víno pod 2 g.l^{-1} cukru	200	150
Biele a ružové víno od 5 g.l^{-1} cukru	250	220
Červené víno pod 2 g.l^{-1} cukru	150	100
Červené víno od 5 g.l^{-1} cukru	200	170
Neskorí zber	300	270
Výber z hrozna	350	320
Výber z bobulí, výber z cibéb, ľadové víno, slamové víno	400	370
Likérové víno s obsahom cukru pod 5 g.l^{-1}	150	120
Likérové víno s obsahom cukru od 5 g.l^{-1}	200	170
Šumivé víno akostné	185	155
Šumivé víno ostatné	235	205

Pre biovino existuje zoznam zakázaných a obmedzene povolených látok a postupov.

Zakázané enologické postupy:

- čiastočné zahustenie chladom,
- odsírenie fyzikálnymi metódami,
- elektrodialýza a ošetrovanie katexom proti vínnemu kameňu,
- čiastočná dealkoholizácia.

Obmedzené využitie enologických metód:

- tepelné ošetrovanie max. do $70 \text{ }^\circ\text{C}$,

- filtrácia len s pórmami väčšími než 0,2 μm ,
- iontomeničové živice pre rektifikovaný muštový koncentrát a reverznú osmózu pre mušt [9].

1.4 SO₂ v mušte a víne

Rastliny a súčasne *Vitis vinifera* L. prijímajú síru v anorganickej forme. Z pôdy ju čerpajú vo forme síranových aniónov, zo vzduchu prostredníctvom listov oxid siričitý a z prípravkov na ochranu rastlín v podobe síranov a elementárnej síry. V emisiách zaťažených oblastiach môže zapríčiniť kumulácia síry problémy tým, že sa zníži odolnosť viniča voči rôznym chorobám [21].

K emisným zdrojom patrí spaľovanie palív obsahujúcich síru, výroba elektrickej energie, výroba tepelnej energie, rafinérie ropy, dopravné prostriedky a spracovanie kovov. V týchto zariadeniach môže pri spaľovaní palív obsahujúcich síru dochádzať k jej oxidácii na oxidy síry SO_x a následnému úniku do ovzdušia. Medzi prírodné zdroje je možné zaradiť vulkanickú činnosť a lesné požiare. Koncentrácie oxidu sírového SO₃ sú v ovzduší v podstate menšie než koncentrácie SO₂ [22].

Podľa Českého hydrometeorologického ústavu v roku 2013 sa imisné hodnoty oxidu siričitého zisteného v lokalite Mikulov-Sedlec pohybovali v 2. štvrťročnom aritmetickom priemere na úrovni 4,1 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ SO₂ a v 3. štvrťročnom aritmetickom priemere na úrovni 4,4 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ SO₂ [23]. Všeobecne v tomto období prebieha vegetačné obdobie *Vitis vinifera* L. [poznámka autora].

Vinič sa ošetruje rôznymi chemickými prípravkami obsahujúcimi síru a meď. Pre správnu chemickú ochranu viniča sú dôležité poznatky o biológii a epidemiológii patogéna, sledovanie výskytu a šírenia choroby a sledovanie meteorologických podmienok. Alternatívou k zníženiu použitia chemických prípravkov sú správne agrotechnické opatrenia alebo tzv. „pomocné prípravky“, ktoré slúžia na ochranu v systéme ekologickej ochrany viniča. Tieto prípravky obsahujú účinné látky akými sú napr., bór a pomarančový olej, feniklový rastlinný olej, KHCO₃, atď. Ich účinnosť spočíva v podpore odolnosti viniča proti múčnatke, botrytíde, k zvyšovaniu rezistencie viniča proti hubovým chorobám a pod. [31, 32].

Šírenie zozbieraného hrozna má chrániť rmut pred oxidáciou a zabrániť nežiaducemu hnednutiu. Šírenie je možné uskutočniť pomocou prášku vo forme disiričitanu draselného

$K_2S_2O_5$. Tento prášok je soľou kyseliny disiričitej a obsahuje približne len polovičné množstvo účinnej látky (57 %), je rozpustný len v kyslom prostredí. Koncentrácie dávko- vaného SO_2 závisia na zdravotnom stave hrozna a mechanického narušenia [33].

Tab. 4. Doporučené koncentrácie SO_2 do rmutu podľa zdravotného stavu hrozna [33]

Koncentrácie	SO_2 [mg.l ⁻¹]	vodný roztok SO_2 [g.hl ⁻¹]	$K_2S_2O_5$ [g.hl ⁻¹]
Zdravé hrozno	0 - 50	0 - 5	0 - 10
Nahnité hrozno	50 - 75	5 - 7,5	10 - 15
Botrytické hrozno	75 - 100	7,5 - 10	15 - 20

Nižšie koncentrácie SO_2 je možné použiť:

- ak pri zbere sú hrozná zdravé a dobre vyzreté s dostatočným celkovým obsahom kyselín a nepoškodené hrozná v priebehu prepravy do lisovne,
- je chladné počasie v priebehu zberu, čím je aj nižšia teplota hrozna,
- pri rýchlom spracovaní hrozna,
- pri nenakvasenom rmute [33].

Sírenie je možné vylúčiť len v prípade skutočne zdravého materiálu a okamžitého zakvase- nia [34].

SO_2 sa pridáva do vín aj tesne pred fľaškovaním, kde sú využívané predovšetkým jeho anti-oxidačné vlastnosti. Do bielych vín je pridávaný zvyčajne v koncentráciách s obsahom voľného SO_2 v rozmedzí od 25 do 40 mg.l⁻¹. Dávky záležia aj od typu plnenia fliaš vínom. Kde nie je použité plnenie za zníženého tlaku alebo použitý CO_2 , môže byť vo fľaši v priestore medzi vínom a zátkou prítomný kyslík v koncentrácii 5 ml.l⁻¹ vzduchu. V tomto prípade je nutné pridať ďalších 5 – 6 mg.l⁻¹ SO_2 na viazanie približne 1,25 mg kyslíka [35].

1.5 Vplyv SO_2 na kvasinky

Z mikroflóry vinice sa do rmutu a muštu dostáva niekoľko druhov kvasiniek. Táto biodi- verzita závisí od niekoľkých faktorov, ako odroda, klimatické podmienky v priebehu zre- nia, zdravotný stav a ochrana hrozna, technologické spracovanie a mnoho iných [56].

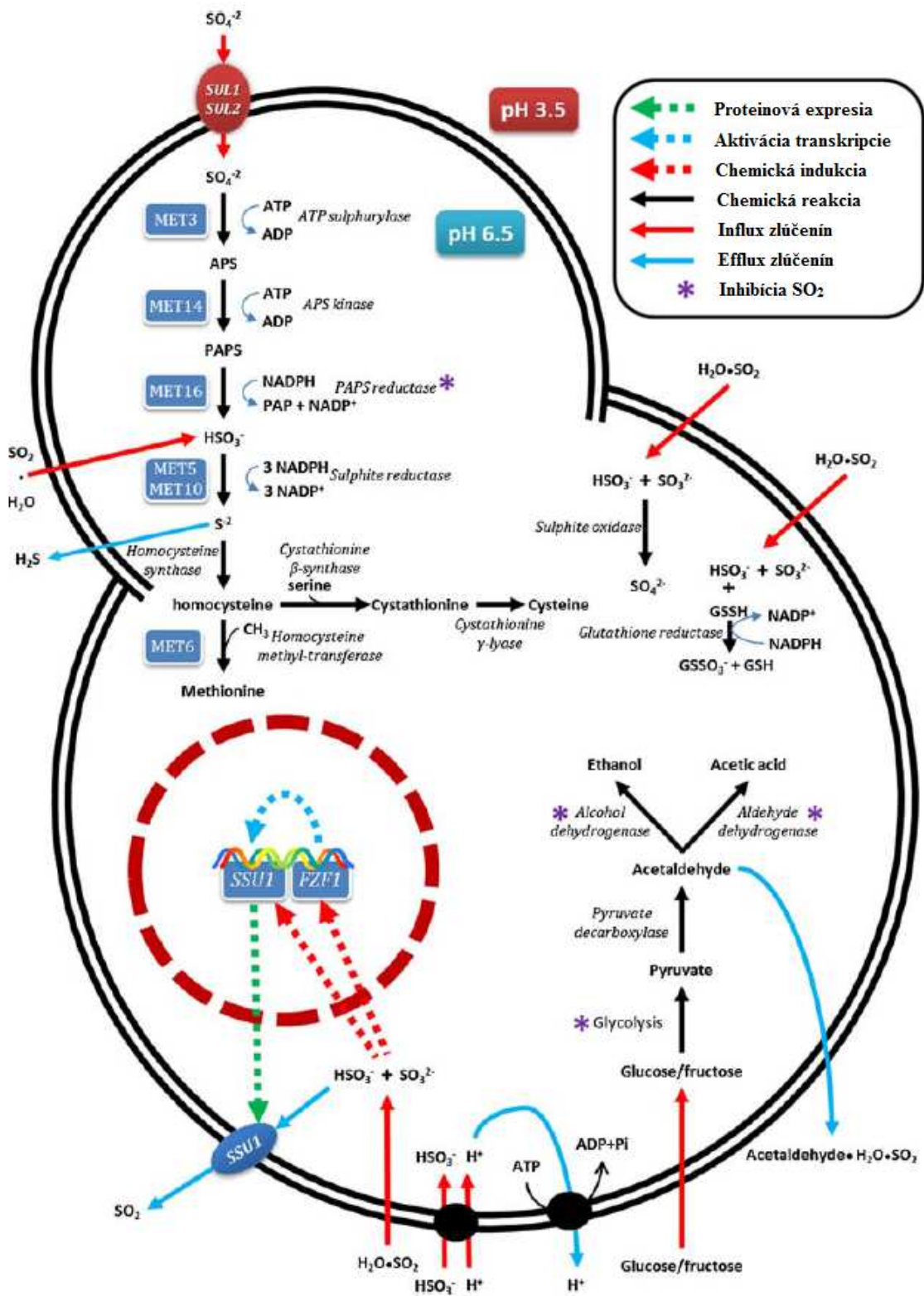
Na spontánnej alkoholovej fermentácii sa podieľajú rôzne druhy kvasiniek aj za prítomnos- ti SO_2 . Na počiatku zahajujú alkoholovú fermentáciu zvyčajne rody *Kloeckera*, *Hansenias-*

pora a *Candida*. Neskôr prevažujú rody *Pichia* a *Metschnikowia*. Na hlavnom fermentačnom procese sa podieľajú kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae*, ktoré sú odolnejšie voči vyšším koncentráciám ethanolu, SO_2 , CO_2 a pod. Ďalšie kvasinky, ako napr. rody *Kluyveromyces*, *Torulasporea*, *Zygosaccharomyces*, *Schizosaccharomyces* a *Brettanomyces*, sa môžu vyskytovať v mušte v priebehu fermentácie a dokonca aj vo víne, kedy spôsobujú niektoré organoleptické vady [56].

Vína obsahujú oxid siričitý aj bez sírenia, zvyčajne sa hodnoty pohybujú medzi 12 – 64 mg.l^{-1} , ktoré sú pripisované metabolizmu kvasiniek. Hlavné faktory, ktoré ovplyvňujú biosyntézu oxidu siričitého sú druh kvasiniek, teplota kvasenia a obsah síry v hrozne [35].

Antiseptické vlastnosti SO_2 sú pripisované molekulárnej forme SO_2 , tým že molekulárna forma nemá náboj, ľahko prechádza jednoduchou difúziou cez bunkovú membránu kvasiniek. Bez ohľadu na transport SO_2 do bunky, vzhľadom k intracelulárnemu pH, ktoré je v rozmedzí 5,5 až 6,5, prevládajú hydrogénsiričitanové ióny HSO_3^- , preto molekulárna forma má antiseptické vlastnosti. Síra je kľúčovým prvkom v kvasinkách, je využívaná pri syntéze aminokyselín ako sú methionín, *S*-adenozylmethionín a cystein. Biosyntéza sírnych aminokyselín (SAAB, Sulphur Amino Acid Biosynthesis) je spojená s aktívnym transportom síranov SO_4^{2-} cez membránu bunky [36].

Na obrázku (Obr. 6.) je zobrazený transport síranových iónov z vonkajšieho prostredia do bunky, ktorý je regulovaný aktivitou génov pre špecifické transportéry síranových iónov Sul1p a Sul2p. Gény MET 3, MET 14, MET 16, MET 5/MET 10 sú kódy pre katalytické enzýmy ATP-sulfurylázy (adenozin-3-fosfosulfuryláza), APS-kinázy (adenozin-5-fosfosulfátkináza), PAPS-reduktázy (3'-fosfoadenozin-5'-fosfosulfátreduktáza) a sulfitreduktázy. Každý z týchto génov vyžaduje koenzými alebo kofaktory pre katalýzu síranových iónov SO_4^{2-} na sulfid S^{2-} . Sulfid S^{2-} sa ďalej podieľa na syntéze aminokyselín obsahujúcich síru ako adenzin, methionin, cystein a syntézu sulfánu H_2S . Oxidovaná forma glutathionu (GSSH, glutathiondisulfid) sa redukuje glutathionreduktázou na glutathion-S-sulfonát (GSSO_3^-) a glutathion (GSH). FZF1 (Five Zinc Fingers) je transkripčný faktor génu SSU1 podieľajúci sa na sírnom metabolizme. Gén SSU1 je síranová pumpa, ktorá sa podieľa na transporte SO_2 mimo bunku [36].



Obr. 6. Asimilácia síranov bunkou *S. cerevisiae* v prítomnosti SO₂. Biosyntéza sírnych aminokyselín a redukcia síry [36]

Sírny metabolismus kvasiniek nadväzuje na metabolismus dusíkatých látok. Mušty obsahujú veľké množstvo dusíkatých látok ako amónne ióny, aminokyseliny, peptidy, ktoré sú zdrojom dusíka pre rast kvasiniek. Pokiaľ prekuzory aminokyselín v bunke chýbajú, kvasinka postupne odumiera, sulfidy sa nemajú na čo viazať a v podobe sulfánu sú uvoľňované do prostredia [21, 37]. Asimilovateľný dusík, ktorý sa môže pridávať vo forme hydrogénfosforečnanu amónneho $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, je dôležitý pre dobrý priebeh fermentácie s obmedzenou tvorbou nežiaducich sírnych zlúčenín [38].

V priebehu fermentácie môžu kvasinky produkovať rôzne zlúčeniny síry, ktoré negatívne ovplyvňujú kvalitu vína. Predovšetkým sa jedná o sulfán, ktorý pripomína zápach po skazených vajciach, ďalšími látkami sú rôzne nežiaduce merkapatany a thioestery [37].

2 BIOLOGICKY AKTÍVNE LÁTKY VÍNA

Biologicky aktívne látky (bioaktívne látky) sú esenciálne a neesenciálne zlúčeniny (napr. vitamíny alebo polyfenoly), ktoré sú prítomné v prírode, sú súčasťou potravín a majú preukázaný vplyv na ľudské zdravie. Biologicky aktívne látky sú taktiež označované ako nutraceutiká. Tento termín poukazuje na ich prítomnosť v ľudskej výžive a biologickú aktivitu [26]. Bioaktívne látky sa líšia chemickou štruktúrou a funkciami. V potravinách sa zvyčajne vyskytujú v nízkych koncentráciách, pri ktorých sú účinné [27].

Antioxidačná aktivita vína bola preukázaná v biologických systémoch *in vitro* a *in vivo*, pripisovaná biologicky aktívnym látkam vo víne akými sú polyfenoly, predovšetkým flavonoidné zlúčeniny [28].

2.1 Fenolové zlúčeniny

Fenolové zlúčeniny existujú vo voľnej alebo v konjugovanej forme, pretože môžu byť viazané na triesloviny alebo na jednu alebo viacej molekúl cukru, a to na glukózu, galaktózu, sacharózu alebo manózu za vzniku mono-, di-, tri- alebo tetraglykosidov. V priebehu viniifikácie a skladovania vína nastáva pomalá hydrolýza, pri ktorej sa fenolové kyseliny odštiepujú a zostávajú vo voľnej forme [14].

Fenolové zlúčeniny ovplyvňujú farbu vína, pôsobia na organoleptickú kvalitu vína v priebehu uskladnenia a archivácie vín. Okrem farby ovplyvňujú horkosť, zvieravý pocit v chuti, absorpciu kyslíka a priebeh starnutia muštu a vína. Za farbu a štruktúru vína sú zodpovedné fenolové zlúčeniny. Sú to zlúčeniny, ktorých molekula obsahuje jedno alebo viacej fenolových jadier [11].

Vo víne sa najviac vyskytujú nasledujúce fenolové zlúčeniny:

- fenolové kyseliny, ktoré musia byť brané do úvahy pri výrobe bielych vín,
- flavony a flavonoly,
- triesloviny (taníny), ktoré sú zodpovedné za trpkosť červených vín a taktiež ovplyvňujú farbu vína,
- anthokyany, ktoré sa podieľajú na farbe hrozna a červených vín, ale nie sú obsiahnuté v bielych odrodách hrozna.

- stilbeny, ktoré nemajú senzorické vlastnosti, ale ich veľký význam je v pôsobení na zdravie [16].

Priemerné koncentrácie fenolových látok vo víne sú ovplyvnené:

- klimatickými podmienkami ročníka vinifikácie,
- typom a spôsobom vinifikácie,
- charakteristikou odrody,
- zdravotným stavom zozbieraného hrozna [11].

Tab. 5. Hodnoty fenolových zlúčenín vo víne v mg.l^{-1} [11]

Zlúčenina	Biele vína	Červené vína
Fenolové kyseliny	1 – 10	100 – 200
Flavonoidy	stopy	do 15
Triesloviny	1 – 100	1 000 – 5 000
Anthokyany	stopy	200 – 500

Jednoduchšie fenolové zlúčeniny označované ako neflavonoidy sú skupinou, ktorá sa vyskytuje predovšetkým v mušte. Môžu ovplyvniť horkosť a arómu vína, ale ich účinnosť je menšia než účinnosť flavonoidov [15].

V priebehu vinifikácie môže dochádzať k podstatným chemickým zmenám fenolových zlúčenín vplyvom enzýmovej aktivity. K významným enzýmom s enzýmovou aktivitou patria polyfenoloxidázy, ktoré oxidujú polyfenoly na chinóny a hydrolázy, ktoré štiepia esterové a glykozidové väzby. K polyfenoloxidázam sa radí endogénny enzým tyrosináza a exogénny enzým lakáza. Polymerizáciou chinónov vznikajú hnedé pigmenty, ktoré sú zodpovedné za hnednutie muštu. Medzi hydrolázy vína patrí tanáza, ktorá svojou aktivitou štiepi esterové väzby s odštiepením kyseliny gallovej z polymérnych flavanolov. Hydrolýza môže pomaly prebiehať spontánne v kyslom prostredí [16].

Je všeobecne známe, že červené vína majú väčší ochranný účinok vďaka obsahu antioxidantných látok uvoľňovaných zo šupky a semien hrozna, predovšetkým polyfenolov. Fľašované červené víno obsahuje asi $1,8 \text{ g.l}^{-1}$ polyfenolov, zatiaľ čo biele víno len $0,2 - 0,3 \text{ g.l}^{-1}$ polyfenolov. Pri výrobe bielych vín je šupka a semená okamžite odstránené z muštu. Ako *in vitro* antioxidantná kapacita silne koreluje s celkovým obsahom polyfenolov *in vitro*, pričom biele vína majú päť až desaťnásobne menšiu antioxidantnú aktivitu ako vína červe-

né. Štúdiami bolo dokázané, že polyfenoly extrahované z červeného vína bránia rozvoju kardiovaskulárnych ochorení a rakoviny. Tieto účinky sú v dôsledku synergického efektu bioaktívnych látok. Synergické účinky polyfenolov spočívajú predovšetkým v obsahu resveratrolu, kyseliny kávovej a katechínom [13].

2.2 Ne flavonoidné zlúčeniny

2.2.1 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny sú obsiahnuté vo vakuolách buniek dužiny a v šupke hrozna. V zriedených roztokoch alkoholu sú bezfarebné, avšak oxidáciou môžu spôsobiť žltnutie. Aj keď nemajú zvláštnu arómu alebo chuť, sú prekurzormi niektorých prchavých fenolov produkovaných mikroorganizmami [16].

Fenolové kyseliny sú zvyčajne rozdelené do dvoch hlavných skupín a to na deriváty benzoových kyselín obsahujúcich sedem atómov uhlíka (C6 – C1) a škoricové kyseliny obsahujúce deväť atómov uhlíka (C6 – C3). Túto skupinu obsahujú tiež stilbény (C6-C2-C6). Tieto zlúčeniny existujú prevažne ako hydroxybenzoové a hydroxyškoricové kyseliny, ktoré sa môžu vyskytovať buď vo voľnej alebo konjugovanej forme [14, 16].

2.2.1.1 Hydroxybenzoové kyseliny

Hydroxybenzoové kyseliny sú obsiahnuté v hrozne a vo víne. K najviac obsiahnutým patrí kyselina p-hydroxybenzoová, protokatechová, vanilová, gallová a syringová. Kyselina gallová patrí k významným fenolovým zlúčeninám, je prekurzorom hydrolyzovateľných tanínov a súčasťou kondenzovaných tanínov [14].

2.2.1.2 Hydroxyškoricové kyseliny

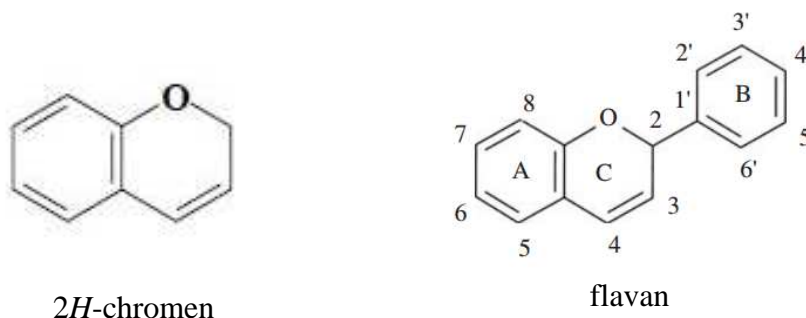
Hydroxyškoricové kyseliny sa podieľajú na hnednutí vína a sú prekurzormi prchavých fenolových zlúčenín. Vinné estery škoricových kyselín sú ľahko oxidovateľné enzýmom tyrosináza, ktorý sa prirodzene vyskytuje v hrozne, a tiež enzýmom lakáza z *Botrytis cinerea*. K najviac obsiahnutým patrí kyselina p-kumarová, kávová, ferulová a sinapová. Škoricové kyseliny sa najviac vyskytujú v *cis* alebo *trans* izomernej forme [15, 16].

2.2.2 Stilbény

Stilbény nemajú výrazný vplyv na organoleptické vlastnosti vína a hrozna, ale ich prínosom je ochrana proti chorobám hrozna a antioxidačné pôsobenie v ľudskom organizme. Medzi najviac uvádzaný stilbén v hrozne a víne je resveratrol. Resveratrol bol identifikovaný v listoch vínnej révy a v šupke hrozna. Niektorí autori uvádzajú, že sa jedná o fytoalexín. Fytoalexíny sú nízkomolekulárne zlúčeniny produkované po napadnutí rastliny patogénom. Veľa fytoalexínov sú fenolovej povahy. [15].

2.3 Flavonoidné zlúčeniny

Flavonoidné zlúčeniny sú rozsiahlou skupinou rastlinných fenolov obsahujúcich v molekule dva benzenové kruhy (kruh A a B) spojené trojuhlíkovým reťazcom. U väčšiny flavonoidov je C3 reťazec súčasťou heterocyklického kruhu odvodeného od 2H-pyranu (kruh B). Z toho vyplýva, že flavonoidy sú odvodené od kyslíkatej heterocyklickej zlúčeniny 2H-chromenu, substituovaného v polohe C2 fenylovou skupinou, ktorý sa nazýva flavan. Ide o usporiadanie C6-C3-C6. Väčšinou bývajú všetky tri kruhy substituované hydroxyskupinami alebo methoxyskupinami alebo glykosidickou skupinou. Jednotlivé deriváty sa líšia stupňom substitúcie a oxidácie. Vyskytujú sa ako voľné látky alebo častejšie ako glykosidy, acylované glykosidy alebo taktiež ako polymery [17].

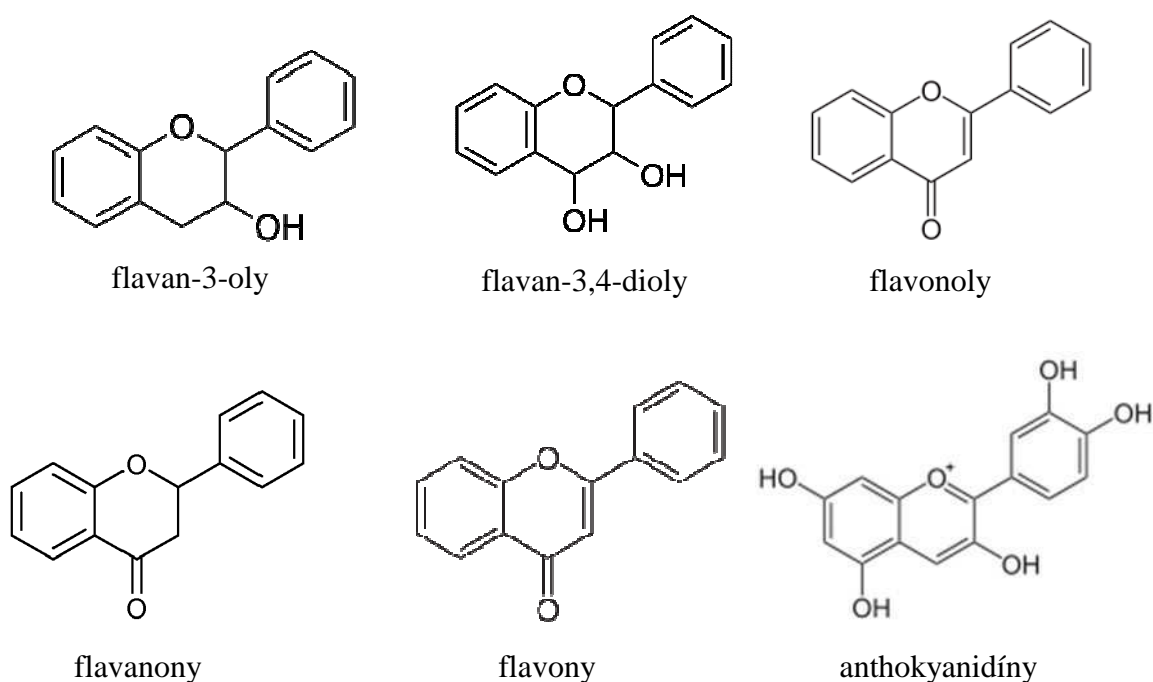


Obr. 7. Chemická štruktúra 2H-chromenu a flavanu [10]

Flavonoidy zvyčajne existujú vo forme *O*-glykosidov, v ktorých je prítomná D-glukosa, L-rhamnosa, D-galaktosa, L-arabínosa, D-xyloza, D-apíosa alebo D-glukuronová kyselina [17].

Podľa stupňa oxidácie C3 reťazca a jeho substitúcie sa delia nasledujúce základné štruktúry flavonoidov:

- katechíny (flavan-3-oly),
- leukoanthokyanidíny (flavan-3,4-dioly),
- flavanony,
- flavanonoly,
- flavony,
- flavonoly (dihydroflavony),
- anthokyanidíny [17].



Obr. 8. Základné chemické štruktúry vybraných flavonoidných látok [17]

2.3.1 Flavonoly a flavony

Najväčšie zastúpenie z flavonolov má kvercetín, v menšej miere je prítomný myricetín, kamferol a izoramnetín. Myricetín a izoramnetín sú špecifickejšie pre červené odrody. Flavonoly obsahujú pyronové jadro. Sú to žlté pigmenty, z toho dôvodu málo prispievajú k farbe červených vín. V glykosidovej forme sú prítomné v šupke červeného a bieleho hrozna. Tieto heteroglykosidy v priebehu vinifikácie hydrolyzujú na cukry a centrálnu štruktúru, tzv. aglykon. Flavonoly sa nachádzajú predovšetkým v šupke hrozna, prakticky takmer žiadne sa nenachádzajú v dužine alebo semenách. Stopka a listy *Vitis vinifera* L.

obsahujú významné množstvo týchto látok, ktoré sa môžu dostať do vína zámerným ponechaním stopiek alebo ich nedôsledným odstránením. Flavony vznikajú odvodením zo štruktúry flavonolov a vo víne sú v nízkej koncentrácii [15, 16].

2.3.2 Flavanoly

Flavanoly obsahujú pyranové jadro. K hlavným zástupcom vo víne a v hrozne patria flavan-3-oly. Tie tvoria veľkú skupinu rozličných izomerických foriem katechínov a ich polymerov. V štruktúre katechínu sú dva asymetrické uhlíky (C2 a C3), čím je možné získať štyri rôzne izomery: katechín, epikatechín, gallokatechín a epigallokatechín. Hydroxylová skupina v polohe C3 môže byť esterifikovaná kyselinou gallovou, pričom so zvyšujúcou sa esterifikáciou polymérneho flavanolu sa zvyšuje trpkosť a horkosť [16].

Flavan-3,4-dioly (leukoanthokyanidíny) sa nachádzajú v nízkych koncentráciách. Sú označované ako proanthokyanidíny alebo prokyanidíny. Prokyanidíny sú bezfarebné polymery obsiahnuté predovšetkým v nezrelom modrom hrozne a zrelom bielom hrozne. Hydrolýzou v kyslom prostredí sa vytvárajú nestabilné karbokatióny, ktoré sa menia v hnedé kondenzačné produkty, predovšetkým na červený kyanidín. Ak je polymér tvorený z gallokatechínu a/alebo epigallokatechínu kyslou hydrolýzou vzniká delfinidín, v tomto prípade sa polymery nazývajú prodelfinidíny. Avšak termín prokyanidíny je všeobecne používaný pre všetky kondenzované taníny [16].

Flavanoly ovplyvňujú horkosť vína. Ich polymerizáciou sa tvoria taníny a vplyvom týchto zlúčenín a ich derivátov sa podieľajú na horkosti, trpkosti a farbe vína, predovšetkým červených vín. Tieto faktory rovnako ovplyvňujú antioxidačnú aktivitu, monomery majú vyššiu antioxidačnú aktivitu ako polymery a s glykozyláciou molekúl klesá antioxidačná aktivita [15].

2.3.2.1 Taníny

Taníny sú látky, ktoré sú schopné tvoriť stabilné komplexy s proteínmi a inými rastlinnými polymermi, ako sú polysacharidy. Súčasťou chuti vína je horkosť a tzv. adstringencia, čo je vnem trpkosti, zvieravosti a trieslovitosti v ústach. Horkosť je chuťový vnem, ktorý sa prejavuje na zadnej časti jazyka, pri adstringencii sa chuťový vnem prejavuje v celej ústnej dutine. Jedná sa o sťahujúci, drsný a vysušujúci vnem. Tento chuťový vnem je vyvolaný vzájomnou reakciou tanínov s bielkovinami slín v ústnej dutine [16, 18].

Polymerizáciou flavanolov sa tvoria taníny, ktoré musia byť dostatočne veľké, aby tvorili komplexy s proteínmi. Potrebná molekulová hmotnosť pre tvorbu komplexu tanín-proteín je medzi 600 – 3500 kDa, čo predstavuje asi 2 – 10 podjednotiek flavanolov. Z toho vyplýva, že monomery flavanolov nemôžu byť považované za taníny. Nízkomolekulové zlúčeniny s nižším stupňom polymerizácie, ktoré sa nachádzajú v semenách poskytujú vínu horčú príchuť. V šupke sa nachádzajú vysokomolekulové a vysokopolymerizované zlúčeniny, ktoré sa podieľajú na adstringentnom tóne [16, 18].

Kondenzované prokyanidíny sú tvorené z viac ako desiatich flavanolových podjednotiek a majú molekulovú hmotnosť vyššiu ako 3000 kDa [16].

Celkový obsah tanínov, stupeň polymerizácie je ovplyvnený podmienkami pestovania, stupňom zrelosti, zdravotným stavom hrozna a odrodou [16].

2.4 Anthokyany

Anthokyanové farbivá sú rastlinné farbivá, z hľadiska názvoslovnia sa termín anthokyany všeobecne používa na označenie:

- anthokyanidínov, kedy sa jedná o centrálnu štruktúru, tzv. aglykon bez väzby sacharidových jednotiek,
- anthokyanínov, čo sú zlúčeniny anthokyanidínov s rôznym počtom sacharidových jednotiek [11].

Anthokyany sú najrozšírenejšou skupinou rastlinných farbív rozpustných vo vode. Ich stavba je charakterizovaná uhlíkovým skeletom C6-C3-C6, preto sa radia medzi flavonoidné rastlinné fenoly. Farebný odtieň a stabilita anthokyanov sú funkciou ich vnútornej stavby a vonkajších faktorov. Preto je pre nich charakteristická široká škála farebných odtieňov od tmavo modrých a fialových, cez červené, ružové až po oranžové tóny [19].

Prirodzene sa vyskytujúce anthokyany sú heteroglykosidy, skladajúce sa z cukornej zložky a aglykonu (anthokynidínu). Anthokyanidíny sú polyhydroxyderiváty a polymethoxyderiváty 2-fenylbenzopyryliového alebo taktiež flavyliového kationu. Samotná cukorná zložka, poprípade jej acylácia, nemá veľký vplyv na reakcie vyvolávajúce štruktúrne zmeny [19].

Podľa substitúcie cukornej zložky, väčšinou glukózy na C3, sa určí typ anthokynov. Malvidín-3-*O*-glykozid (oenín) je základným pigmentom v hrozne spolu s delphinidínom, peonidínom, kyanidínom a petunidínom [15].

Anthokyany sa v priebehu dozrievania plodov rodu *Vitis* L. hromadia v hypodermálnej bunkovej vrstve šupky bobúľ alebo u tzv. farbiarok v ich dužine. Anthokyanové farbivá sa uvoľňujú zo šupiek hrozna v priebehu vinifikácie, sú značne nestabilné, reaktívne, ľahko podliehajú oxidácii, kondenzačným aj deštrukčným reakciám spojených so zmenou farebnosti vína [19].

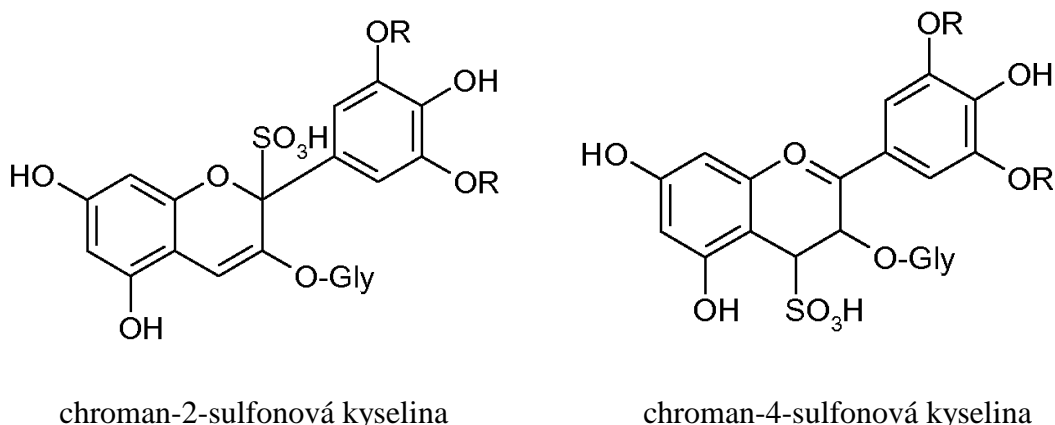
V priebehu fermentácie anthokyany interagujú (tzv. kopigmentácia) s tanínmi a flavan-3-olmi (tzv. kopigmenty). Priama reakcia je medzi anthokyanínmi a favanolmi za vzniku pigmentov, dimerov spojených kovalentnými väzbami. Za účasti napr. kyseliny pyrohrozbovej, vinylfenolov a vinylflavanolov sa tvoria pyranoanthokynidíny. Do týchto interakcií sa môže zároveň zapojiť prostredníctvom reaktívnych karbonylových zlúčenín aj acetaldehyd. Tieto vytvorené štruktúry sú farebne stabilnejšie a odolnejšie voči odfarbujúcemu účinku SO₂ v kyslom prostredí [17, 24].

Ďalšími reakciami sa u starých vín môžu postupne tvoriť až hnedočervené vysokomolekulárne nerozpustné kondenzačné produkty, ktoré tvoria sedimenty nazývané flobafeny. Na ich vzniku sa môžu okrem flavonoidov podieľať aj ďalšie zložky vín napr. redukujúce cukry, proteíny, ióny kovov, kyselina askorbová a iné [17].

Na farbu anthokyanových farbív má výrazný vplyv hodnota pH. Vďaka amfoternému charakteru anthokyanov sa anthokyany podobajú pH indikátorom. Najintenzívnejšiu červenú farbu anthokyanové roztoky dosahujú pod hodnoty pH 3. So zvyšujúcim sa pH sa stráca červené sfarbenie až do bodu, približne pH 4 – 5, v ktorom sa javia ako bezfarebné. Ďalším zvyšovaním pH prechádza sfarbenie roztoku do fialového až modrého sfarbenia, ktoré sa skladovaním alebo zvýšením teploty mení na žlté [19].

2.4.1 Anthokyany a SO₂

Odfarbovanie anthokyanov oxidom siričitým je spojené s nukleofilnou reakciou negatívne nabitého bisulfitového iónu s flavyliovým kationom za tvorby chroman-2 (alebo -4) – sulfonovej kyseliny [19].



Obr. 9. Produkty reakcie anthokyanových farbív s SO_2 [17]

2.5 Antioxidačná aktivita flavonoidov

Ochranné účinky flavonoidov v biologických systémoch spočívajú v ich antioxidačnej aktivite eliminovať voľné radikály, vytvárať zlúčeniny s kationmi kovov, majú inhibičný účinok na enzýmy, napr. inhibujú oxidázy. Voľný radikál je akýkoľvek atóm, molekula alebo ión, ktorý má vo vonkajšej sfére svojho elektrónového obalu aspoň jeden nespárovaný elektrón. Všetky voľné radikály obsahujúce kyslík sa označujú ako reaktívne formy kyslíka (ROS, Reactive Oxygen Species). Voľné radikály zahŕňajú superoxid $O_2^{\cdot-}$, hydroxylový radikál HO^{\cdot} , peroxy ROO^{\cdot} , hydroperoxy HO_2^{\cdot} atď. ROS môžu zahŕňať aj látky, ktoré nie sú voľnými radikálmi, ale z nich môžu vzniknúť napr. peroxid vodíka H_2O_2 , ozón O_3 , singletový kyslík 1O_2 atď. [25].

Molekulárny kyslík O_2 je sám o sebe biradikál. Adíciou jedného elektrónu na molekulárny kyslík vznikne superoxidový anión $O_2^{\cdot-}$. Ten patrí k „primárnym“ ROS, ale môže ďalej reagovať s inými molekulami za vzniku „sekundárnych“ ROS, a to buď priamo, alebo zvyčajne prostredníctvom enzýmov alebo katalýzou kovov [25].

Antioxidačné vlastnosti flavonoidov ovplyvňuje počet a usporiadanie hydroxylových skupín v ich štruktúre. Všeobecne platí, že eliminácia voľných radikálov spočíva v nahradení vodíka hydroxylových skupín flavonoidov voľnými radikálmi. Touto reakciou sa stabilizujú voľné radikály a vznikne relatívne stabilný flavonoid-radikál [25, 29].



Obr. 10. Reakcia vzniku flavonoid-radikálu
[25]

3 METÓDY STANOVENIA

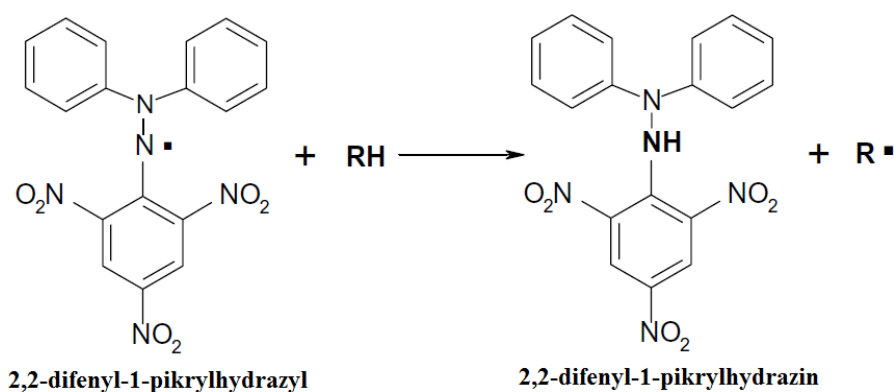
3.1 Celková antioxidačná kapacita (CAK)

Pojem celková antioxidačná kapacita (CAK) je parameter, ktorý kvantifikuje kapacitu vzorky biologického materiálu eliminovať radikály. Existuje niekoľko metód pre stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity. Základné rozdelenie môže byť na metódy založené na eliminácii radikálov (napr. DPPH, ABTS^{•+}, ORAC) a metódy založené na hodnotení redoxných vlastností (napr. FRAP, HPLC-ECD) [47].

3.1.1 Metóda DPPH

Táto metóda, ktorá využíva stabilný 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylový radikál (DPPH[•]) sa bežne využíva pre zistenie antiradikálovej aktivity čistých syntetických antioxidantov, rastlinných extraktov alebo iných prírodných látok [44].

V prítomnosti antioxidačných látok môže radikál DPPH[•] (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) prijať elektrón alebo atóm vodíka z antioxidačnej molekuly, pričom dochádza k redukcii radikálu za vzniku DPPH-H (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazin). Čím je väčšia koncentrácia voľných radikálov antioxidačných látok, tým dochádza k úbytku radikálu DPPH[•]. Táto absorbancia sa prejaví zmenou farby, ktorú je možné zmerať v UV/VIS spektre v rozmedzí 515 – 520 nm [45].



Obr. 13. Štruktúra radikálu DPPH a jeho redukcia antioxidantom RH [46]

Metóda umožňuje reakciu testovanej vzorky s DPPH v zmesi metanolu a vody, čím sa uľahčí extrakcia antioxidačných látok zo vzorky. Stanovenie antioxidačnej kapacity rôz-

nych druhov potravín pomocou DPPH je porovnateľná s inými metódami zameranými na toto stanovenie. Výhodou metódy je, že DPPH reaguje s celou testovanou vzorkou po dostatočnú dobu uvedenú v metóde, pričom reaguje aj malá koncentrácia prítomných antioxidantov. Pri metóde DPPH je možné použiť polárne aj nepolárne organické rozpúšťadlá a na detekciu hydrofilných aj lipofilných antioxidantov [44].

Celkovú antioxidačnú kapacitu je možné vyjadriť v ekvivalentoch kyseliny askorbovej alebo v jednotkách štandardu Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylovej kyseliny) [47].

3.1.2 Metóda TEAC

Metóda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) odpovedá antioxidačnej aktivite vzorky ktorá sa vzťahuje ku štandardnej látke – Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylovej kyseliny), ktorá predstavuje vo vode rozpustný syntetický analog vitamínu E. Metóda stanovenia je založená na zhášaní umelo pripraveného stabilného radikálu ABTS ((2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonová kyselina)) [48].

Zhášanie radikálu ABTS^{•+} antioxidantom sa sleduje spektrofotometricky na základe zmien absorpčného spektra ABTS^{•+} najčastejšie pri 734 nm. Pre spektrofotometrickú metódu stanovenia celkovej antioxidačnej kapacity s ABTS sú popísané aplikácie merania v hydrofilnom aj lipofilnom prostredí [47].

3.1.3 Metóda FRAP

Metóda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) je založená na redukcii komplexu Fe³⁺-2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin) Fe(TPTZ)³⁺ antioxidantom na Fe(TPTZ)²⁺ v kyslom prostredí. Nárast absorbancie pri 593 nm je mierou antioxidačnej kapacity vzorky a je možné ju vyjadriť na ekvivalentné množstvo iónov Fe²⁺. Metóda FRAP odráža schopnosť látok redukovať Fe³⁺ a s celkovou antioxidačnou kapacitou vzorky nemusí pozitívne korelovať [47, 48].

3.1.4 HPLC metóda s elektrochemickou detekciou

Použitím amperometrických alebo coulochemických detektorov pri analýze HPLC (HPLC-ECD) je možné veľmi presne detekovať elektroaktívne látky. Pri HPLC-ECD sa na pracovnú elektródu detektoru aplikuje určitý kladný potenciál. Ak je látka pri tomto potenciály oxidovaná, prejaví sa to na zobrazení píku látky. Látku je možné charakterizovať retenčným časom aj potenciálom, pri ktorom sa oxiduje. To umožňuje analyzovať komplexné zmesi a identifikovať v nich jednotlivé účinné antioxidantné látky na základe hodnoty potenciálu aplikovaného na elektródu. Hodnotenie antioxidantných vlastností látok pomocou HPLC-ECD koreluje s rôznymi inými metódami na testovanie CAK, napr. s metódou DPPH [47].

3.2 Stanovenie celkového obsahu polyfenolov

3.2.1 Folin-Ciocalteuová metóda

Folin-Ciocalteuová metóda je vhodná pre kvantitatívne stanovenie polyfenolov v rastlinných extraktoch v UV/VIS spektre. Pri spektrofotometrickom stanovení je potrebné použiť štandardnú látku, následne sa touto metódou meria celková koncentrácia hydroxylových skupín fenolových látok v rastlinnom extrakte. Táto metóda je založená na oxidácii a redukcii fenolových látok s Folin-Ciocalteuovým činidlom za vzniku modrého sfarbenia. Folin-Ciocalteuové činidlo je zmes kyseliny fosfowolframovej a kyseliny fosfomolybdenovej. Maximálna absorbancia závisí na alkalite roztoku a koncentrácii fenolových zlúčenín v roztoku, preto je do roztoku pridávaný uhličitan sodný Na_2CO_3 [49].

S Folin-Ciocalteuovým činidlom reagujú fenolové látky na základe dostupnosti hydroxylových skupín prítomných v aromatickom kruhu, reakcia je ovplyvnená aj prítomnosťou iných skupín, ktoré môžu znížiť alebo zvýšiť redukčný potenciál molekuly [49].

3.3 Metódy stanovenia SO_2

3.3.1 Stanovenie SO_2 jodometricky

Princíp metódy je založený na priamej oxidácii voľného SO_2 prítomného vo víne odmerným roztokom jódu. Po alkalickej hydrolyze NaOH sa uvoľní SO_2 z väzieb s karbonylovými zlúčeninami a po okyslení H_2SO_4 sa následne odmerným roztokom jódu

stanový celkový SO_2 . Bod ekvivalencie sa detekuje vizuálne alebo potenciometricky. Výsledky jodometrického stanovenia môžu byť nepresné, nakoľko jódom môžu byť oxidované ďalšie látky prítomné vo víne. [50, 51, 52].

3.3.2 Destilačná metóda

Medzi destilačné metódy patrí optimalizovaná Monier-Williamsová metóda. SO_2 je prúdom dusíka z okyslenej vzorky unášaný do adsorpčnej banky s neutralizovaným roztokom H_2O_2 za vzniku H_2SO_4 . Vzniknutá H_2SO_4 sa titruje odmerným roztokom NaOH na indikátor metylovej červenej s farebným prechodom z fialovo-modrej na olivovo-zelenú [53].

3.3.3 Prietoková injekčná analýza

Pri prietokovej injekčnej analýze (FIA, Flow Injection Analysis) je analyzovaná vzorka nastrekovaná do nosného prúdu, ktorý obsahuje NaOH a H_2SO_4 . Pôsobením NaOH sa uvoľní viazaný SO_2 z väzieb a okyslením H_2SO_4 sa zníži pH a tým sa uvoľní plynný SO_2 . SO_2 je unášaný v prúde na plynovú difúziu membránu, kde dochádza k oddeleniu. SO_2 ďalej reaguje s *p*-rosanilinom a formaldehydom, pričom vznikne farebný komplex, ktorý je detekovaný spektrofotometricky [51].

3.3.4 Chromatografické metódy

Pre stanovenie siričitanov vo víne je možné použiť kvapalinovú chromatografiu (HPLC, High Performance Liquid Chromatography). Siričitany vo víne reagujú s činidlom N-(9-akridinyl)-maleimid za tvorby fluorescenčného produktu. Fluorescencia je priamo úmerná obsahu siričitanov vo vzorke a meria sa pri 436 nm [51].

Voľný a viazaný SO_2 je možné stanoviť plynovou chromatografiou (GC, Gas Chromatography). Uvoľnený SO_2 po prídavku NaOH je zachytený tetrachlórortuťnatým iónom a následne je okyslený H_2SO_4 . K detekcii sa používa plameňofotometrický detektor (FPD, Flame Photometric Detector) alebo chemiluminiscenčný detektor (CLD, Chemiluminescence detector) [51].

4 MODELOVÉ ODRODY *VITIS VINIFERA* L.

4.1 Veltlínske zelené

Genetická príslušnosť Veltlínskeho zeleného sa podobá podľa genetických analýz najviac odrodám Tramín a St. Georgen. Pôvod Veltlínskeho zeleného sa odhaduje na Dolné Rakúsko, ale možný pôvod je aj v Taliansku. Táto odroda je rozšírená predovšetkým v Rakúsku, svoje veľké zastúpenie má aj v Česku a na Slovensku [39].

Odrode vyhovujú slnečné, vzdušné a teplé, ale nie vysušajúce polohy. Veltlínske zelené je veľmi úrodná odroda s vysokými nárokmi na pôdu. Pôdy by mali byť dobre zásobované živinami, hlboké, ľahšie, teplé a primerane vlhké. Neznáša silne vápenaté pôdy, ani trvalo zamokrené [40].



Obr. 14. Veltlínske zelené [41]

List Veltlínskeho zeleného je stredne veľký, čepeľ je okrúhla, päťlaločná so stredne hlbokými hornými výrezmi. Strapec je stredne veľký až veľký, v priemere asi 150 mm dlhý, hustý s krátkou stopkou. Bobuľa je stredne veľká, guľatá v priemere má 15 mm. Farba bobule je žltozelená. Zberová zrelosť začína začiatkom októbra [39, 40].

Veltlínske zelené je stredne odolné voči zimným mrazom, jarnými mrázikmi neznáša dlhotrvajúce suchu. Je náchylné na peronospóru a múčnatku. Je celkom odolný voči hnilobe hrozna, ktoré hnije iba pri dlhotrvajúcich jesenných dažďoch [39].

Harmonické víno má jemnú vôňu pripomínajúcu lipový kvet, biele korenie alebo broskyne. Chuť je jemne horko-mandľová s príjemnými kyselinami, ktoré umožňujú dlhoročné skladovanie a zrenie vína vo fľašiach [39, 40].

4.2 Rizling rýnsky

Predpokladá sa, že táto odroda vznikla v Porýní ako semenáč divého viniča *Vitis vinifera* var. *silvestris* alebo voľným krížením odrody Heunisch a semenáča Tramínu v okolí horného toku Rýna. V Nemecku je najväčšia oblasť pestovania Rizlingu rýnskeho v údoliach Rýna a jeho prítokov. Z Nemecka sa rozšíril do vinohradníckych štátov Európy, predovšetkým do Francúzska, Švajčiarska, Rakúska, Maďarska, Slovenska, Česka a Rumunska [39].

Rizling rýnsky je veľmi náročný na polohu, vysokú kvalitu vína dosahuje predovšetkým v južne orientovaných svahoch. Pritom je Rizling rýnsky odroda severného pásma vinohradov. Z toho dôvodu sa vo veľkej miere nepestuje v južných európskych štátoch. Darí sa mu na kamenistých až skalnatých svahoch so suchými a bridličnatými pôdami, vyhovujú mu aj piesočnaté a štrkovité pôdy [39].



Obr. 15. Rizling rýnsky [42]

List Rizlingu rýnskeho je stredne veľký, čepeľ je päťlaločná so stredne hlbokými hornými výrezmi. Strapec je malý až stredný, dlhý v priemere 105 mm. Bobuľa je malá až stredná, v priemere 13 mm. Farba bobule je žltozelená so zlatohnedým zafarbením od slnečnej strany. Zberová zrelosť začína v polovici októbra. Hrozno sa zberá medzi poslednými odrodami a často sa vyrábajú z neho aj tzv. ľadové vína [39, 40].

Rizling rýnsky je odolný voči zimným mrazom a aj jarným mrazíkom. Proti peronospóre a múčnatke potrebuje dôslednú preventívnu ochranu. Botrytída sa vyskytuje iba pri prezretí hrozna [39].

Táto odroda poskytuje vína s vynikajúcim ovocným buketom. Vína sú korenisté, kvetové s vôňou pripomínajúcou lipový kvet a značným obsahom kyselín [39].

4.3 Rulandské modré

Rulandské modré je zaužívané synonymum pre víno z odrody Burgundské modré. Názov „Burgundské“ pre víno je právne chránený francúzsky oblastný názov. Z toho vyplýva, že odroda pochádza z Francúzska z oblasti Bourgogne (Burgundsko). Pestovanie Rulandského modrého je rozšírené po celom Francúzsku, ďalej Švajčiarsku a v severnom Taliansku. Veľké zastúpenie má aj v zámorských krajinách ako napr. Kalifornia, Argentína, Čile, Juhoafrická republika a Austrália. V menšom rozsahu sa pestuje v strednej a východnej Európe [39].

Rulandské modré je náročné na polohy, pôdy by mali byť dostatočne hlboké, kypré, lepšie zavlažované, avšak nie premokrené. Vhodné pôdy sú štrkovito-hlinité alebo ľahšie piesočnato-hlinité pôdy [39].



Obr. 16. Rulandské modré [43]

List Rulandského modrého je stredne veľký, okrúhly, čepeľ je zvyčajne päťlaločná, môže byť aj trojlaločná s plytkými hornými výrezmi. Strapec je malý až stredne veľký, väčši-

nou hustý. Bobuľa je malá, v priemere 14 mm. Farba bobule je tmavo modrofialová, dužina je nesfarbená. Zberová zrelosť začína v prvej polovici októbra [39, 40].

Rulandské modré je relatívne dobre odolné voči zimným mrazom, ale náchylné na jarné mrazíky. Pri dostatočnej preventívnej ochrane nie je príliš náchylné na peronospóru a múčnatku. Odolnosť odrody je porovnateľná s Rizlingom rýnskym. Je však citlivejšia na botrytídu, predovšetkým pri daždivom jesennom počasí [39].

Červené vína z tejto odrody patria k tým najkvalitnejším, avšak kvalita závisí od kvality hrozna pri výrobe vína. Víno je plné, korenisté, alkoholické s vynikajúcim mandľovým buketom a nie príliš intenzívnej farby. Najvyššia kvalita sa dosahuje pri zrení vo fľaši po niekoľkých rokoch [39].

II. PRAKTICKÁ ČASŤ

5 CIEĽ PRÁCE

Cieľom diplomovej práce je v teoretickej časti popísať význam použitia SO₂ v technologických procesoch prípravy vína. Charakterizovať význam biologicky aktívnych látok vína. Ďalej charakterizovať modelové odrody *Vitis vinifera* L. a ich vlastnosti. Popísať metódy stanovenia SO₂, celkovej antioxidačnej kapacity a polyfenolických látok.

V praktickej časti diplomovej práce je cieľom uskutočniť analýzy vybraných modelových odrôd *Vitis vinifera* L. – Veltlínske zelené, Rizling rýnsky a Rulandské modré. Stanoviť voľný a celkový SO₂, určiť celkovú antioxidačnú kapacitu a celkový obsah polyfenolov v technologických procesoch prípravy vína. Na základe vykonaných analýz určiť technologické procesy, pri ktorých za daných podmienok dochádza k zníženiu biologických hodnôt vína a navrhnúť reguláciu dávok SO₂ v týchto procesoch.

6 MATERIÁL A PRÍSTROJE

6.1 Vzorky modelových odrôd použité pri analýze

V experimentálnej časti diplomovej práce bola analyzovaná hroznová šťava a víno z 3 rôznych odrôd rodu *Vitis vinifera* L. (Veltlínske zelené, Rizling rýnsky a Rulandské modré) odoberané v priebehu celej vinifikácie. Vzorky boli odoberané do plastových nádobiek, tak aby po uzavretí nádoby bol minimálny kontakt vzduchu so vzorkou. Po uzavretí boli vzorky skladované pri teplote 8 ± 2 °C a následne analyzované *in vitro*. Vzorky boli poskytnuté vinárstvom z vinárskej oblasti Morava, podoblasti Mikulovskej a obhospodarujúce vinice vo vinárskej obci Novosedly, v ktorej boli modelové odrody vypestované.

Výnimky, ktoré boli v technologických procesoch oproti konvenčnej výrobe vín:

- bez prídavku exogénneho SO₂,
- bez prídavku enzýmov,
- bez číriacich a stabilizačných prostriedkov,
- bez filtrácie.

6.1.1 Doby odberu vzoriek

Tab. 6. Časový prehľad odberu vzoriek pre jednotlivé odrody

Vzorka číslo	Technologický proces	Odroda		
		Veltlínske zelené	Rizling rýnsky	Rulandské modré
		odber vzoriek [dni]		
0	mušt po vylisovaní	0	0	0
1	mušt pred stočením	21	24	17
2	víno po stočení	30	31	31
3	víno v priebehu zrenia v tanku	45	45	45
4		66	75	61
5		96	90	76
6		111	105	91
7	víno na fľaškovanie	126	145	131

6.2 Použité chemikálie

- destilovaná voda
- Folin-Ciocalteovo činidlo p. a. (Penta, Chrudim, ČR)
- šstandard tanínu p. a. (Lach-Ner, Neratovice, ČR)
- šstandard kyseliny askorbovej p. a. (Lach-Ner, Neratovice, ČR)
- roztok Na_2CO_3 p. a. (Lach-Ner, Neratovice, ČR)
- roztok DPPH p. a. (Sigma-Aldrich, Seelze, Nemecko)
- roztok H_2SO_4 p. a. (Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- roztok NaOH p. a. (Penta, Chrudim, ČR)
- roztok škrobu p. a. (Penta, Chrudim, ČR)
- roztok chelatonu 3 p. a. (Penta, Chrudim, ČR)
- roztok jódu p. a. (Penta, Chrudim, ČR)
- roztok formaldehydu p. a. (Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- methanol p. a. (Lach-Ner, Neratovice, ČR)
- tlmivé roztoky s pH 4 a pH 7 p. a. (Penta, Chrudim, ČR)

6.3 Použité přístroje a pomôcky

- laboratorne sklo a pomôcky
- analytické váhy (TB-224A, Denver Instrument Company, New York, USA)
- pH meter (GRYF 107 L, GRYF HB, Havlíčkův Brod, ČR)
- spektrofotometer (Lambda 25 UV/VIS, PerkinElmer, Waltham, USA)
- digitálna byreta (Solarus, Hirschmann, Eberstadt, Nemecko)

7 METODIKA STANOVENÍ

7.1 Stanovenie voľného a celkového SO₂ jodometricky

K stanoveniu voľného a celkového SO₂ vo víne bola použitá metóda OIV-MA-AS323-04B : R2009 [50].

7.1.1 Stanovenie voľného SO₂

Do 500 ml Erlenmeyerovej banky so zábrusom sa napipetovalo 50 ml vína tak, že pipeta sa stále dotýkala dna banky. Ihneď po napipetovaní sa pridali 3 ml roztoku 10 obj. % H₂SO₄, 1 ml roztoku chelatonu 3 a 1 ml roztoku škrobu. Ihneď sa titrovalo 0,02 mol.l⁻¹ roztokom jódu do vzniku modrofialového sfarbenia (spotreba V₁).

Koncentrácia voľného SO₂ - X₁ (mg.l⁻¹):

$$X_1 = V_1 \cdot f \cdot 12,8 \quad (3)$$

kde: V₁ – spotreba 0,02 mol.l⁻¹ roztoku jódu pri titrácii [ml]

f – faktor 0,02 mol.l⁻¹ roztoku jódu

12,8 – koeficient pre prepočet na SO₂ pri použití 0,02 mol.l⁻¹ I₂

7.1.2 Stanovenie celkového SO₂

Ihneď po titrácii voľného SO₂ sa pridalo k vzorke 8 ml roztoku 4 mol.l⁻¹ NaOH, banka sa uzavrela a premiešala. Po 5 minútach sa pridalo 10 ml roztoku 10 obj. % H₂SO₄, následne sa titrovalo 0,02 mol.l⁻¹ roztokom jódu do modrofialového sfarbenia, ktoré vydržalo aspoň 15 sekúnd (spotreba V₂).

K analyzovanej vzorke sa pridalo 20 ml roztoku 4 mol.l⁻¹ NaOH, banka sa uzavrela a premiešala. Po 5 minútach sa pridalo 200 ml studenej destilovanej vody a 30 ml roztoku 10 obj. % H₂SO₄. Následne sa titrovalo 0,02 mol.l⁻¹ roztokom jódu do vzniku modrofialového sfarbenia (spotreba V₃).

Koncentrácia celkového SO₂ - X₂ (mg.l⁻¹):

$$X_2 = (V_1 + V_2 + V_3) \cdot f \cdot 12,8 \quad (4)$$

kde: V₁, V₂, V₃ – spotreba 0,02 mol.l⁻¹ roztoku jódu pri titrácii SO₂ [ml]

f – faktor 0,02 mol.l⁻¹ roztoku jódu

12,8 – koeficient pre prepočet na SO₂ pri použití 0,02 mol.l⁻¹ I₂

7.1.3 Vyjadrenie výsledkov

Výsledky voľného SO₂ a celkového SO₂ sú vyjadrené ako priemer z 12 hodnôt, ktoré odpovedajú štyrom odberom stanovené paralelne trikrát, v každom technologickom procese.

7.2 Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity metódou DPPH

Celková antioxidačná kapacita (CAK) bola stanovená spektrofotometricky metódou DPPH. Ako štandard bola použitá kyselina askorbová. Metóda bola prevzatá s miernou modifikáciou pre analyzované vzorky od Sun et al. (2009) [54].

7.2.1 Základný roztok

Ako základný roztok bol použitý 0,1 mmol.l⁻¹ roztok DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) v methanole. Základný roztok bol uchovávaný v mraziacom priestore chladničky.

7.2.2 Stanovenie CAK vo vzorkách

Do odmerných baniek so zábrusom bola napipetovaná mikropipetou reakčná zmes zložená z 8,55 ml základného roztoku DPPH a 450 µl analyzovanej vzorky. Banky boli uzavreté a riadne premiešané. Banky boli uložené do tmy na 60 minút pri laboratórnej teplote. Po uplynutí 60 minút bola meraná absorbancia na spektrofotometre pri 515 nm proti slepému pokusu. Ako slepý pokus bol použitý methanol. Kontrolná vzorka bola pripravená zmiešaním 8,55 ml základného roztoku DPPH a 450 µl methanolu. Pri každom technologickom procese boli štyri odbery vzoriek, ktorých absorbancia bola meraná trikrát.

Inaktivácia [%] bola vypočítaná podľa vzťahu:

$$I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (5)$$

kde: A₀ – absorbancia kontrolnej vzorky pri vlnovej dĺžke 515 nm

A₁ – absorbancia analyzovanej vzorky pri vlnovej dĺžke 515 nm

Z hodnôt inaktivácie bola zostavená kalibračná krivka. Hodnoty boli preložené krivkou a do rovnice lineárnej regresie sa dosadili hodnoty inaktivácie jednotlivých vzoriek, z ktorej boli vypočítané hodnoty koncentrácie v mg ekvivalentu kyseliny askorbovej.l⁻¹.

7.2.3 Príprava kalibračných roztokov

Zásobný roztok pre kalibráciu bol pripravený navážením 100 mg štandardu kyseliny askorbovej, prevedený do 100 ml odmernej banky a doplnilo sa po rysku destilovanou vodou. Zo zásobného roztoku bola riedením pripravená kalibračná rada o štyroch koncentráciách: 40, 60, 80 a 100 mg.l⁻¹. Reakčná zmes kalibračných roztokov bola pripravená ako v kapitole 7.2.2.

Absorbancia z každej koncentrácie štandardu kyseliny askorbovej bola meraná na spektrofotometre paralelne trikrát.

7.2.4 Vyjadrenie výsledkov

Z nameraných hodnôt bola zostrojená kalibračná krivka ako závislosť inaktivácie (percentuálny úbytok absorbancie) na koncentrácii štandardu kyseliny askorbovej. Výsledky sa preložili priamkou a zistila sa rovnica lineárnej regresie, z ktorej boli vypočítané hodnoty koncentrácie v mg ekvivalentu kyseliny askorbovej.l⁻¹.

Výsledky CAK sú vyjadrené ako priemer z 12 hodnôt, ktoré odpovedajú štyrom odberom stanovené paralelne trikrát, v každom technologickom procese.

7.3 Stanovenie celkového obsahu polyfenolov

Celkový obsah polyfenolov bol stanovený spektrofotometricky pomocou Folin-Ciocalteuovho činidla. Ako štandard bol použitý tanín. Metóda bola prevzatá s miernou modifikáciou pre analyzované vzorky od Hosu et al. [55].

7.3.1 Stanovenie celkového obsahu polyfenolov vo vzorkách

Reakčná zmes k stanoveniu celkového obsahu polyfenolov bola zložená z 1 ml vzorky, 1 ml Folin-Ciocalteuovho činidla a destilovanej vody doplnenej do 50 ml odmernej banky po rysku a všetko bolo riadne premiešané. Po troch minútach sa pridalo 5 ml 20% roztoku Na₂CO₃, vzorky boli riadne premiešané a uložené do tmy na 30 minút pri laboratórnej tep-

lote. Po uplynutí 30 minút bola meraná absorbanca na spektrofotometre oproti slepému pokusu pri vlnovej dĺžke 700 nm. Slepý pokus bol pripravený rovnako ako reakčná zmes, ale namiesto 500 µl vzorky bola použitá destilovaná voda. Pri každom technologickom procese boli štyri odbery vzoriek, ktorých absorbanca bola meraná trikrát.

7.3.2 Príprava kalibračných roztokov

Zásobný roztok pre kalibráciu bol pripravený navážením 50 mg štandardu tanínu, štandard bol prevedený do 100 ml odmernej banky a doplnilo sa po rysku destilovanou vodou. Zo zásobného roztoku bola riedením pripravená kalibračná rada o štyroch koncentráciách: 4, 6, 8 a 10 mg.l⁻¹. Reakčná zmes kalibračných roztokov bola pripravená ako v kapitole 7.3.1.

Absorbanca z každej koncentrácie štandardu tanínu bola meraná na spektrofotometre paralelne trikrát.

7.3.3 Vyjadrenie výsledkov

Z nameraných hodnôt bola zostrojená kalibračná krivka ako závislosť absorbancie na koncentrácii štandardu tanínu. Výsledky sa preložili priamkou a zistila sa rovnica lineárnej regresie, z ktorej boli vypočítané hodnoty koncentrácie v mg taninu.l⁻¹ vzorky.

Výsledky celkového obsahu polyfenolov sú vyjadrené ako priemer z 12 hodnôt, ktoré odpovedajú štyrom odberom stanovené paralelne trikrát, v každom technologickom procese.

7.4 Meranie hodnôt pH

Pri každom technologickom procese boli štyri odbery vzoriek, ktorých hodnoty pH boli merané pH-metrom *in vitro* paralelne trikrát.

Výsledky hodnôt pH sú vyjadrené ako priemer z 12 hodnôt, ktoré odpovedajú štyrom odberom stanovené paralelne trikrát, v každom technologickom procese.

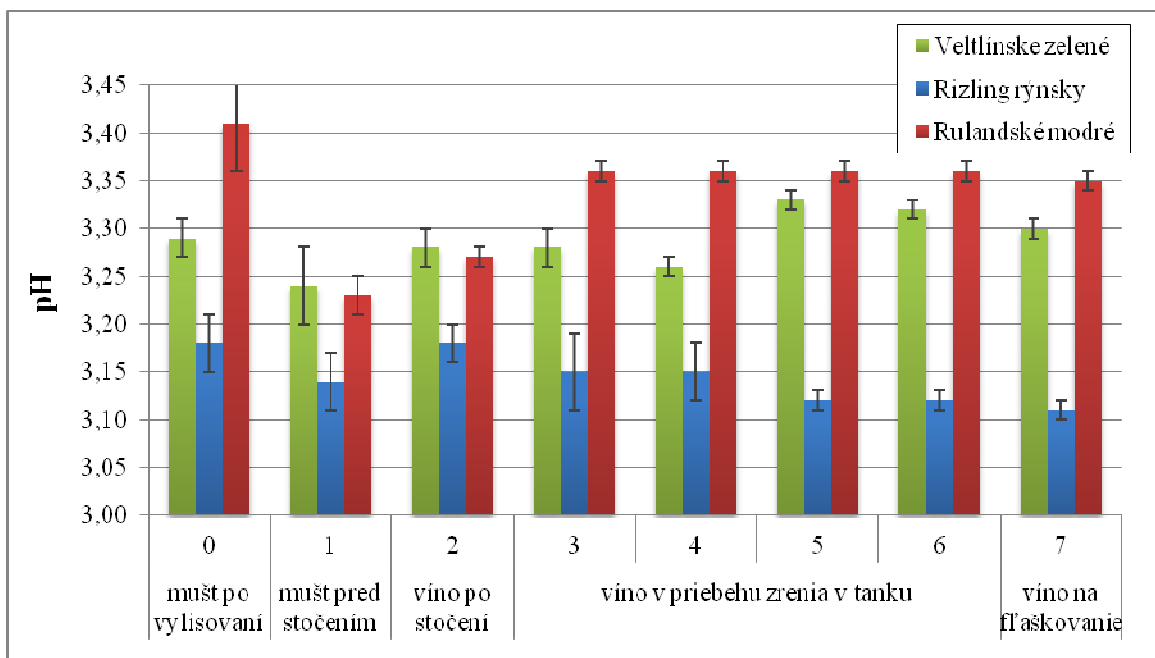
8 VÝSLEDKY A DISKUSIE

8.1 Namerané hodnoty pH

Postup merania pH a vyjadrenie výsledkov sú uvedené v kapitole 7.4. Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt medziproduktov výroby vína v technologických procesoch sú uvedené v tabuľke (Tab. 7.).

Tab. 7. Namerané hodnoty pH pre jednotlivé odrody v technologických procesoch

Vzorka číslo	Technologický proces	pH		
		Veltínske zelené	Rizling rýnsky	Rulandské modré
0	mušt po vylisovaní	3,29 \pm 0,02	3,18 \pm 0,03	3,41 \pm 0,05
1	mušt pred stočením	3,24 \pm 0,04	3,14 \pm 0,03	3,23 \pm 0,02
2	víno po stočení	3,28 \pm 0,02	3,18 \pm 0,02	3,27 \pm 0,01
3	víno v priebehu zrenia v tanku	3,28 \pm 0,02	3,15 \pm 0,04	3,36 \pm 0,01
4		3,26 \pm 0,01	3,15 \pm 0,03	3,36 \pm 0,01
5		3,33 \pm 0,01	3,12 \pm 0,01	3,36 \pm 0,01
6		3,32 \pm 0,01	3,12 \pm 0,01	3,36 \pm 0,01
7	víno na fľaškovanie	3,30 \pm 0,01	3,11 \pm 0,01	3,35 \pm 0,01



Obr. 17. Priebeh hodnôt pH pre jednotlivé odrody počas vinifikácie

Z výsledkov uvedených v tabuľke (Tab. 7.) a grafickom zobrazení na obrázku (Obr. 17.) je zrejmé, že priemerné hodnoty pH sa pohybovali v rozmedzí od pH 3,33 \pm 0,01 do pH

3,26 ± 0,01 pre Veltlínske zelené, od pH 3,18 ± 0,03 do pH 3,11 ± 0,01 pre Rizling rýnsky a od pH 3,41 ± 0,05 do pH 3,23 ± 0,02 pre Rulandské modré. Pokles hodnôt pH u jednotlivých odrôd bol zaznamenaný u vzorky 1 – mušt pred stočením. Väčší pokles pH bol u Rulandského modrého z pH 3,41 ± 0,05 na pH 3,23 ± 0,02. Tieto poklesy pH možno vysvetliť tým, že v priebehu alkoholovej fermentácie došlo k rôznym biochemickým a fyzikálno-chemickým zmenám akými sú napr. odbúravanie cukrov a produkcia ethanolu kvasinkami, odbúravanie kyselín, tvorba CO₂, zmeny teplôt fermentačného média a iné.

Zvýšenie hodnôt pH bolo u vzorky 2 – víne po stočení a počas technologického procesu „víno v priebehu zrenia v tanku“ u Veltlínskeho zeleného a u Rulandského modrého. Je možné, že pri stočení vína bolo víno v kontakte s väčšou koncentráciou kyslíka, tým došlo k oxidácii zložiek vína čo bolo možnou príčinou mierneho zvýšenia pH. U Rizlingu rýnskeho bol počas technologického procesu „víno v priebehu zrenia v tanku“ analyzovaný mierny pokles hodnôt pH.

V rámci vinifikácie nedošlo k významným zmenám hodnôt pH u jednotlivých odrôd, tým pádom je možné tvrdiť, že výroba bola „štandardizovaná“.

8.2 Stanovenie voľného a celkového SO₂

Postup stanovenia voľného SO₂ je uvedený v kapitole 7.1.1. Hodnoty voľného SO₂ boli vypočítané podľa vzťahu (3):

$$X_1 = V_1 \cdot f \cdot 12,8$$

$$X_1 = 0,50 \cdot 0,9533 \cdot 12,8$$

$$X_1 = \underline{6,1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ voľného SO}_2}$$

Postup stanovenia celkového SO₂ je uvedený v kapitole 7.1.2. Hodnoty celkového SO₂ boli vypočítané podľa vzťahu (4):

$$X_2 = (V_1 + V_2 + V_3) \cdot f \cdot 12,8$$

$$X_2 = (0,50 + 1,23 + 1,84) \cdot f \cdot 12,8$$

$$X_2 = \underline{43,6 \text{ mg.l}^{-1} \text{ celkového SO}_2}$$

Vzorový výpočet voľného SO₂ a celkového SO₂ je uvedený zo vzorky č. 0 – mušt po vylišovaní odrody Veltlínske zelené.

8.2.1 Stanovenie voľného a celkového SO₂ u Veltlínskeho zeleného

Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt SO₂ medziproduktov výroby vína v technologických procesoch u odrody Veltlínske zelené sú uvedené v tabuľke (Tab. 8.).

Tab. 8. Hodnoty voľného a celkového SO₂ pre Veltlínske zelené

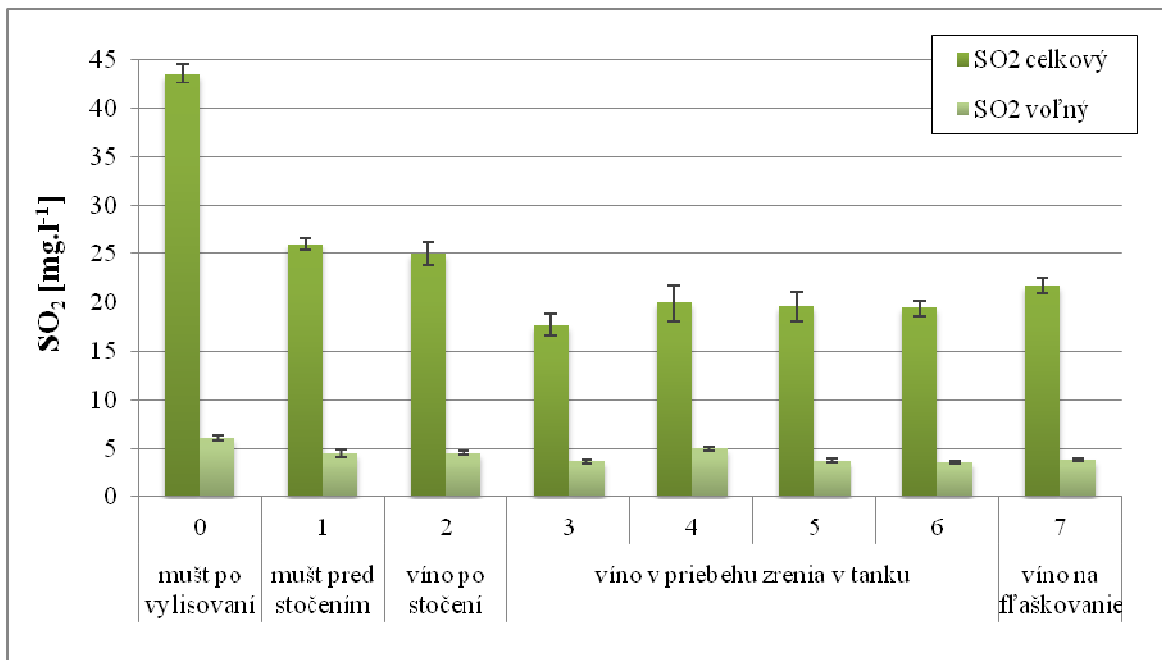
Vzorka číslo	Technologický proces	Veltlínske zelené	
		Voľný SO ₂ [mg.l ⁻¹]	Celkový SO ₂ [mg.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	6,1 \pm 0,3	43,6 \pm 1,1
1	mušt pred stočením	4,5 \pm 0,3	26,0 \pm 0,6
2	víno po stočení	4,6 \pm 0,2	25,1 \pm 1,2
3	víno v priebehu zrenia v tanku	3,7 \pm 0,2	17,7 \pm 1,1
4		5,0 \pm 0,2	19,9 \pm 1,9
5		3,8 \pm 0,2	19,6 \pm 1,6
6		3,6 \pm 0,2	19,4 \pm 0,9
7	víno na fľaškovanie	3,9 \pm 0,1	21,7 \pm 0,8

Z výsledkov uvedených v tabuľke (Tab. 8.) vyplýva, že priemerné hodnoty voľného SO₂ u Veltlínskeho zeleného sa pohybovali v rozmedzí od 3,6 \pm 0,2 mg.l⁻¹ do 6,1 \pm 0,3 mg.l⁻¹ v priebehu vinifikácie. Najvyššia priemerná hodnota 6,1 \pm 0,3 mg.l⁻¹ bola stanovená u vzorky 0 – mušt po vylisovaní. Najnižšia priemerná hodnota 3,6 \pm 0,2 mg.l⁻¹ bola stanovená u vzorky 6 – víno v priebehu zrenia v tanku.

Priemerné hodnoty celkového SO₂ boli v rozmedzí od 17,7 \pm 1,1 mg.l⁻¹ – 43,6 \pm 1,1 mg.l⁻¹ počas vinifikácie. Najvyššia priemerná hodnota 43,6 \pm 1,1 mg.l⁻¹ bola stanovená u vzorky 0 – mušt po vylisovaní. Najnižšia stanovená priemerná hodnota bola 17,7 \pm 1,1 mg.l⁻¹ celkového SO₂ u vzorky 3 – víno v priebehu zrenia v tanku.

Na obrázku (Obr. 18.) sú graficky znázornené zmeny SO₂ v priebehu vinifikácie u odrody Veltlínske zelené. Z tabuľky (Tab. 8.) je zrejmé, že došlo k významnému poklesu priemerných hodnôt SO₂ pri vzorke 1 – mušt pred stočením zo 6,1 \pm 0,3 mg.l⁻¹ na 4,5 \pm 0,3 mg.l⁻¹ voľného SO₂ a zo 43,6 \pm 1,1 mg.l⁻¹ na 26,0 \pm 0,6 mg.l⁻¹ celkového SO₂. Ďalší pokles bol u vzorky 3 – víno v priebehu zrenia v tanku, kde priemerné hodnoty klesli zo 4,6 \pm 0,2 mg.l⁻¹ na 3,7 \pm 0,2 mg.l⁻¹ voľného SO₂ a z 25,1 \pm 1,2 mg.l⁻¹ na 17,7 \pm 1,1 mg.l⁻¹ celkového SO₂. U vzorky 4 – víno v priebehu zrenia v tanku došlo k zvýšeniu priemerných hodnôt z 3,7 \pm 0,2 mg.l⁻¹ na 5,0 \pm 0,2 mg.l⁻¹ voľného SO₂ a z 17,7 \pm 1,1 mg.l⁻¹ na 19,9 \pm 1,9 mg.l⁻¹ celkového SO₂. Pokles oxidu siričitého vo vzorke 1 – mušt pred stočením je možné vysvet-

liť tým, že SO_2 sa viaže na rôzne látky prítomné v mušte a vo víne ako napr. taníny, acetaldehyd, anthokyany, cukry a pod., neviazaná časť SO_2 je vo voľnej forme. Je všeobecne známe, že k ukončeniu fermentačného procesu dochádza k spomaleniu aktivity kvasiniek, k flokulácii a sedimentácii makromolekulárnych organických zlúčenín a k ďalším biochemickým procesom. Súčasťou týchto zlúčenín môže byť viazaný SO_2 , ktorého určitá koncentrácia sa v priebehu procesu stáčania vína odstráni, čím je možné vysvetliť pokles hodnôt SO_2 .



Obr. 18. Priebeh zmien SO_2 počas viniifikácie u Veltlínskeho zeleného

8.2.2 Stanovenie voľného a celkového SO₂ u Rizlingu rýnskeho

Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt SO₂ medziproduktov výroby vína v technologických procesoch u odrody Rizling rýnsky sú uvedené v tabuľke (Tab. 9.).

Tab. 9. Hodnoty voľného a celkového SO₂ pre Rizling rýnsky

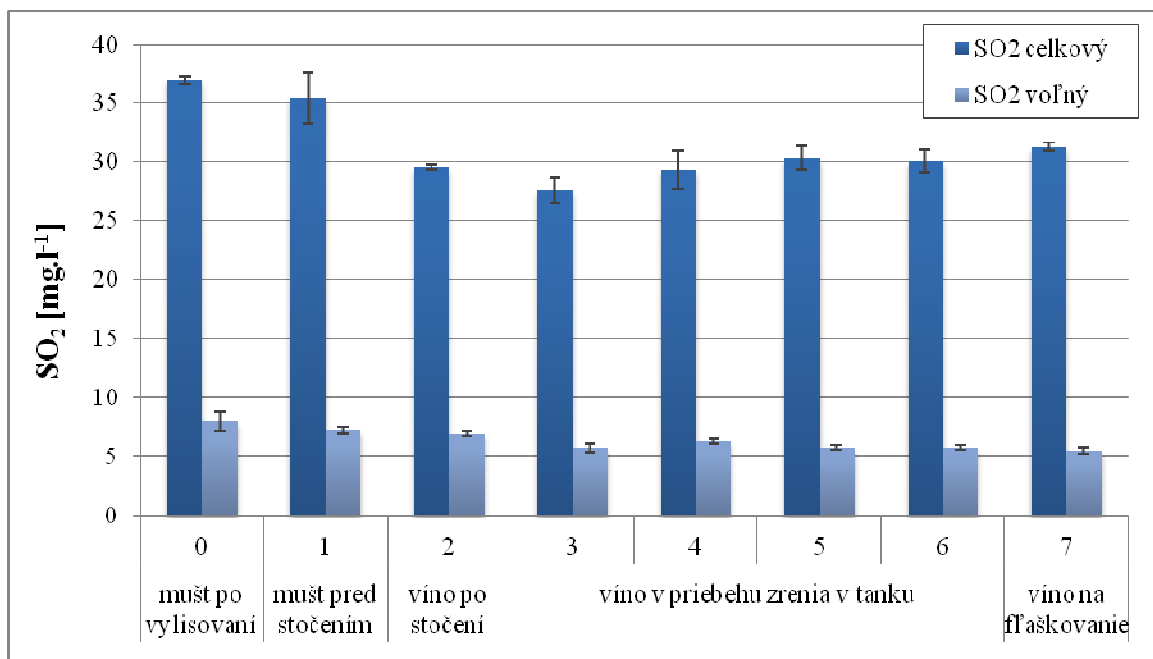
Vzorka číslo	Technologický proces	Rizling rýnsky	
		Voľný SO ₂ [mg.l ⁻¹]	Celkový SO ₂ [mg.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	8,0 \pm 0,8	37,0 \pm 0,4
1	mušt pred stočením	7,2 \pm 0,2	35,5 \pm 2,2
2	víno po stočení	7,0 \pm 0,3	29,5 \pm 0,2
3	víno v priebehu zrenia v tanku	5,7 \pm 0,4	27,6 \pm 1,1
4		6,3 \pm 0,2	29,4 \pm 1,6
5		5,8 \pm 0,2	30,4 \pm 1,1
6		5,8 \pm 0,2	30,1 \pm 1,1
7	víno na fľaškovanie	5,5 \pm 0,3	31,3 \pm 0,4

V tabuľke (Tab. 9.) sú uvedené výsledky analyzovaného voľného SO₂ u odrody Rizling rýnsky v priebehu vinifikácie, z ktorých je zrejmé, že priemerné hodnoty voľného SO₂ boli v rozpätí 5,5 – 8,0 mg.l⁻¹. U vzorky 0 – mušt po vylisovaní bola zistená najvyššia priemerná hodnota 8,0 \pm 0,8 mg.l⁻¹ voľného SO₂. Najnižšia priemerná hodnota 5,5 \pm 0,3 mg.l⁻¹ voľného SO₂ bola zistená u vzorky 7 – víno na fľaškovanie.

Hodnoty celkového SO₂ boli v rozpätí 27,6 – 37,0 mg.l⁻¹ počas vinifikácie. U vzorky 0 – mušt po vylisovaní bola stanovená najvyššia priemerná hodnota 37,0 \pm 0,4 mg.l⁻¹ celkového SO₂. U vzorky 3 – víno v priebehu zrenia v tanku bola stanovená najnižšia priemerná hodnota 27,6 \pm 1,1 mg.l⁻¹ SO₂.

Priebeh zmien SO₂ počas vinifikácie je graficky znázornený na obrázku (Obr. 19.), kde u vzorky 2 – víno po stočení je výraznejší pokles hodnôt celkového SO₂. Z tabuľky (Tab. 9.) vyplýva, že došlo u vzorky 2 k poklesu priemerných hodnôt z 35,5 \pm 2,2 mg.l⁻¹ na 29,5 \pm 0,2 mg.l⁻¹ celkového SO₂. Je možné sa domnievať, že pokles nastal viazaním SO₂ na látky prítomné v mušte a vo víne, ktoré ukončením fermentačného procesu sedimentujú a sú separované pri stočení vína. V ďalších technologických procesoch u vzoriek 3 až 7 došlo k nepatrným zmenám hodnôt SO₂, ktoré možno považovať z časového hľadiska za technologicky nevýznamné. Zmeny voľného SO₂ v priebehu vinifikácie súvisia s vlastnosťou viazať sa na substancie vína alebo s prítomnosťou kyslíka vo víne, v oboch prípadoch

doch dochádza k zníženiu jeho koncentrácie, k ďalším faktorom patrí pH, teplota média, obsah alkoholu a pod.



Obr. 19. Priebeh zmien SO₂ počas vinifikácie u Rizlingu rýnskeho

8.2.3 Stanovenie voľného a celkového SO₂ u Rulandského modrého

Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt SO₂ v technologických procesoch výroby vína u odrody Rulandské modré sú uvedené v tabuľke (Tab. 10.).

Tab. 10. Hodnoty voľného a celkového SO₂ pre Rulandské modré

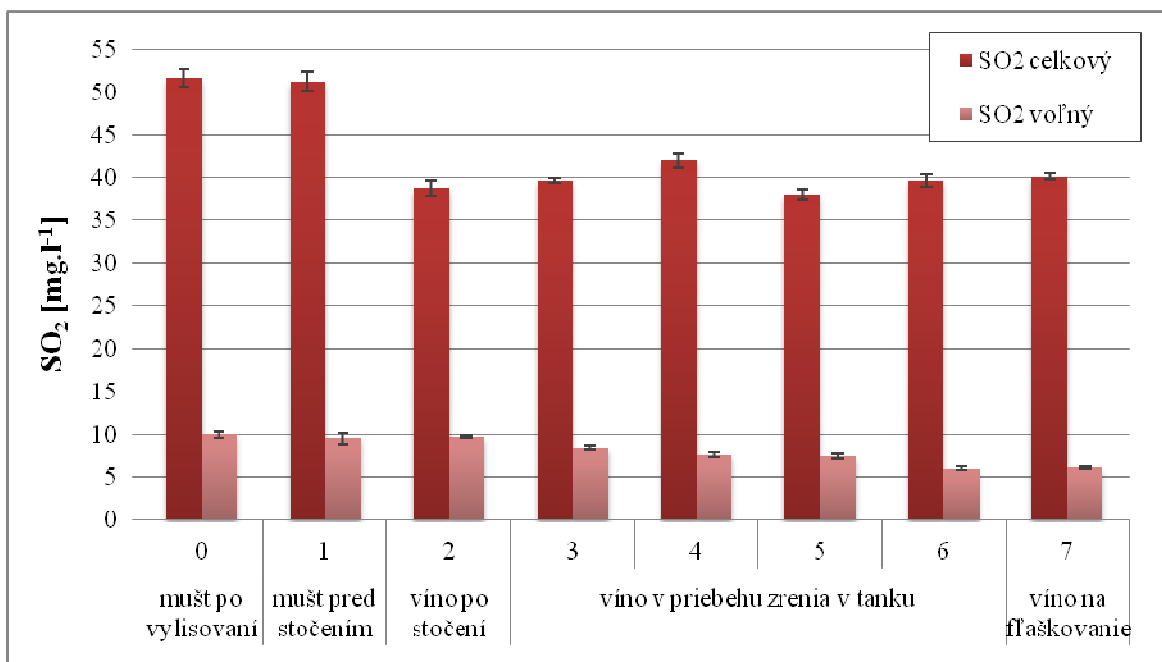
Vzorka číslo	Technologický proces	Rulandské modré	
		Voľný SO ₂ [mg.l ⁻¹]	Celkový SO ₂ [mg.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	10,0 \pm 0,4	51,6 \pm 1,1
1	mušt pred stočením	9,6 \pm 0,7	51,2 \pm 1,1
2	víno po stočení	9,8 \pm 0,2	38,7 \pm 0,9
3	víno v priebehu zrenia v tanku	8,5 \pm 0,2	39,6 \pm 0,4
4		7,6 \pm 0,3	41,9 \pm 0,8
5		7,4 \pm 0,3	38,1 \pm 0,6
6		6,0 \pm 0,2	39,6 \pm 0,7
7	víno na fľaškovanie	6,1 \pm 0,2	40,1 \pm 0,4

Z výsledkov uvedených v tabuľke (Tab. 10.) je zrejmé, že hodnoty boli v rozpätí 6,0 – 10,0 mg.l⁻¹ voľného SO₂ u odrody Rulandské modré počas vinifikácie. Najvyššia priemerná

hodnota $10,0 \pm 0,4 \text{ mg.l}^{-1}$ voľného SO_2 bola stanovená u vzorky 0 – mušt po vylisovaní. Najnižšia priemerná hodnota $6,0 \pm 0,2 \text{ mg.l}^{-1}$ voľného SO_2 bola stanovená u vzorky 6 – víno v priebehu zrenia v tanku.

V priebehu vinifikácie boli hodnoty celkového SO_2 v rozmedzí $38,1 - 51,6 \text{ mg.l}^{-1}$. Bola stanovená najvyššia priemerná hodnota $51,6 \pm 1,1 \text{ mg.l}^{-1}$ celkového SO_2 u vzorky 0 – mušt po vylisovaní. U vzorky 5 – víno v priebehu zrenia v tanku bola stanovená najnižšia priemerná hodnota $38,1 \pm 0,6 \text{ mg.l}^{-1}$.

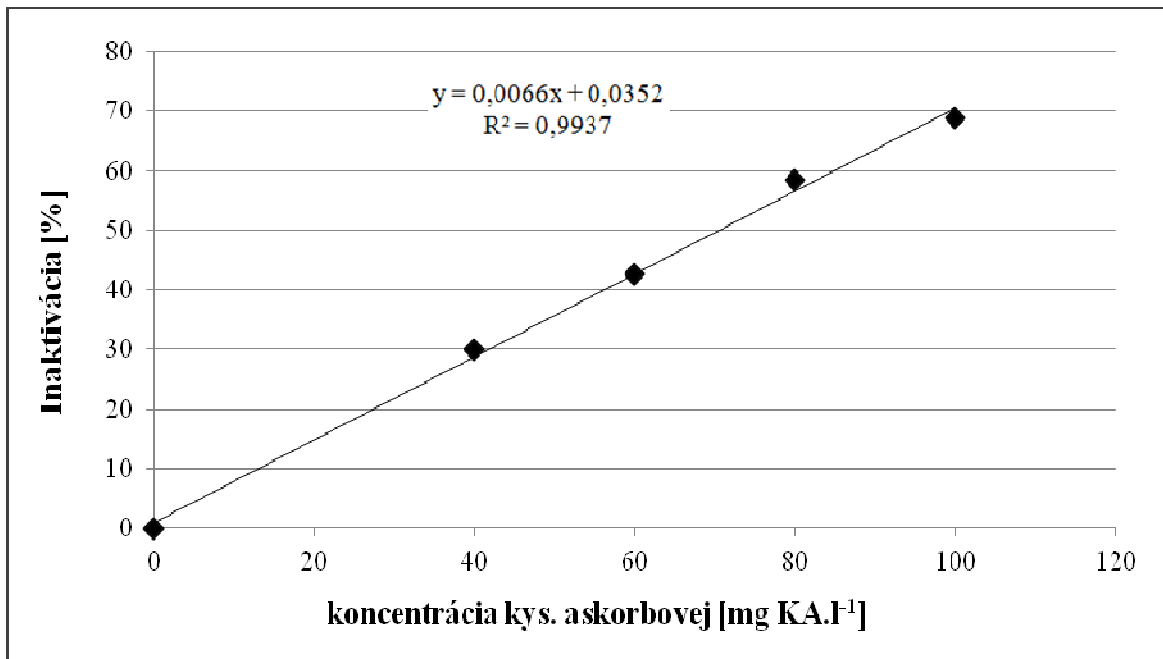
Zmeny hodnôt SO_2 v priebehu vinifikácie sú graficky znázornené na obrázku (Obr. 20.) u odrody Rulandské modré. Z tabuľky (Tab. 10.) je zrejmé, že došlo k významnému poklesu priemerných hodnôt SO_2 u vzorky 2 – víno po stočení z $51,2 \pm 1,1 \text{ mg.l}^{-1}$ na $38,7 \pm 0,9 \text{ mg.l}^{-1}$ celkového SO_2 . V priebehu alkoholovej fermentácie vína dochádza k významným biochemickým procesom, k flokulácii a sedimentácii organických látok, ktorých časť je separovaná v priebehu stočenia vína. Väzbou SO_2 na organické látky vína je možné odstránenie podielu celkového SO_2 v tomto procese. Z časového hľadiska technologických procesov u vzorky 3 až 7 neboli zaznamenané výrazné zmeny hodnôt celkového SO_2 . Voľný SO_2 je formou SO_2 , ktorý nevytvoril väzby so žiadnou substanciou vo víne, avšak jeho koncentrácie sú ovplyvnené ďalšími biochemickými a fyzikálno-chemickými vlastnosťami.



Obr. 20. Priebeh zmien SO_2 počas vinifikácie u Rulandského modrého

8.3 Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity

Podľa postupu uvedeného v kapitole 7.2 boli získané hodnoty inaktívácie kyseliny askorbovej, z ktorých bola zostavená kalibračná krivka. Zostavenie kalibračnej krivky a získanie rovnice regresie sa uskutočnilo pri odbere vzoriek v každom technologickom procese.



Obr. 21. Kalibračná krivka kyseliny askorbovej

Preložením hodnôt priamkou, bola získaná rovnica lineárnej regresie v tvare:

$$y = 0,0066x + 0,0352$$

kde: y – inaktívacia [%]

x – koncentrácia kyseliny askorbovej [mg.l⁻¹]

Tab. 11. Hodnoty pre kalibračnú krivku kyseliny askorbovej

Koncentrácia kys. askorbovej [mg.l ⁻¹]	Absorbancia kalibračných roztokov	Inaktívacia [%]
40	0,6853	29,86
60	0,5612	42,56
80	0,4055	58,50
100	0,3055	68,73

Koeficient determinácie závislosti inaktívácie na koncentrácii kyseliny askorbovej bol $R^2 = 0,9937$.

Zo získanej rovnice regresie bola prepočítaná celková antioxidačná kapacity vzoriek vyjadrená v mg kyseliny askorbovej.l⁻¹.

Pri výpočtoch boli zohľadnené riedenia vzoriek, pričom u vzoriek vykazujúcich rýchle odfarbenie pôsobením antiradikálovej aktivity DPPH, tzn. väčšiu antioxidačnú kapacitu vzorky, bol použitý vyšší koeficient riedenia.

8.3.1 Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity u Veltlínskeho zeleného

Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt celkovej antioxidačnej kapacity (CAK) vyjadrenej v mg kyseliny askorbovej.l⁻¹ v technologických procesoch výroby vína u odrody Veltlínske zelené sú uvedené v tabuľke (Tab. 12.).

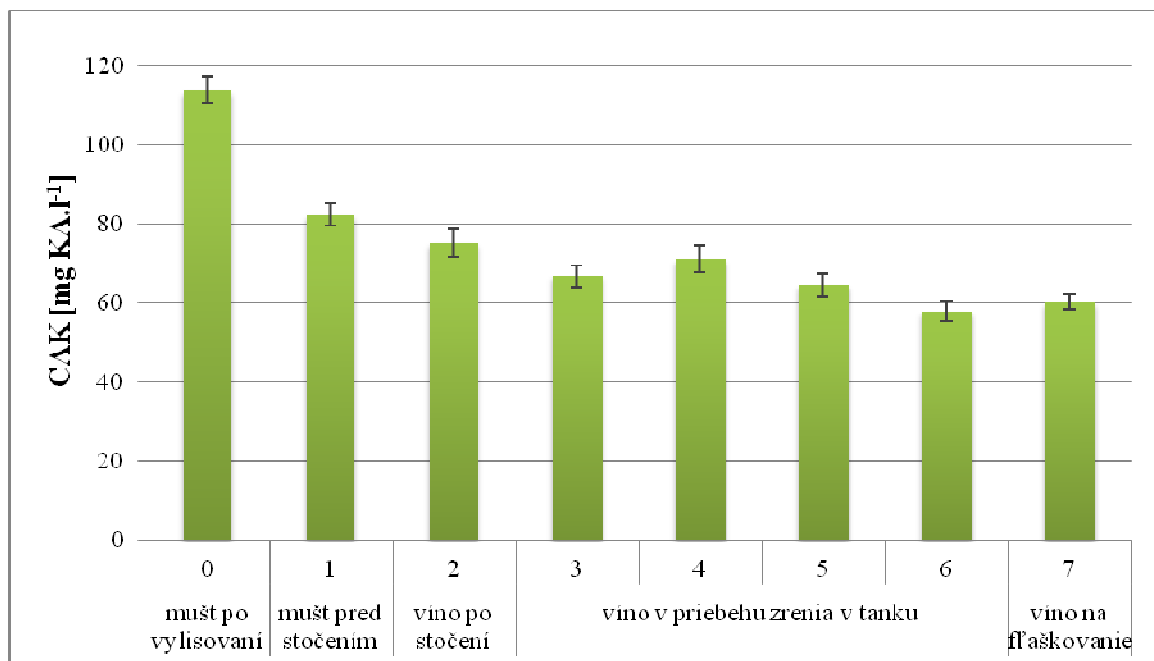
Tab. 12. Hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pre Veltlínske zelené

Vzorka číslo	Technologický proces	Veltlínske zelené
		CAK [mg KA.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	113,8 \pm 3,5
1	mušt pred stočením	82,3 \pm 2,8
2	víno po stočení	75,1 \pm 3,5
3	víno v priebehu zrenia v tanku	66,8 \pm 2,9
4		71,1 \pm 3,4
5		64,4 \pm 2,9
6		57,9 \pm 2,5
7	víno na fľaškovanie	60,3 \pm 1,9

Z výsledkov uvedených v tabuľke (Tab. 12.) je evidentné, že hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity sa pohybovali v rozpätí od 57,9 \pm 2,5 mg KA.l⁻¹ do 113,8 \pm 3,5 mg KA.l⁻¹. U vzorky 0 – mušt po vylisovaní bola stanovená najvyššia priemerná hodnota CAK 113,8 \pm 3,5 mg KA.l⁻¹ a najnižšia priemerná hodnota 57,9 \pm 2,5 mg KA.l⁻¹ bola stanovená vo vzorke 6 – víno v priebehu zrenia v tanku.

Z grafického zobrazenia na obrázku (Obr. 22.) je zřejmé, že výrazný pokles CAK nastal u vzorky 1 – mušt pred stočením, kde hodnoty klesli z 113,8 \pm 3,5 mg KA.l⁻¹ na 82,3 \pm 2,8 mg KA.l⁻¹. V priebehu vinifikácie dochádzalo k postupnému znižovaniu CAK až na najnižšiu priemernú hodnotu 57,9 \pm 2,5 mg KA.l⁻¹. Je možné sa domnievať, že vplyvom biochemických zmien v priebehu fermentačného procesu, oxidáciou vína pri stočení z kvasníc,

vplyvom zmien vína počas zrenia, z časového hľadiska vinifikácie a mnohých ďalších faktorov došlo k zníženiu CAK v priebehu vinifikácie.



Obr. 22. Priebeh zmien celkovej antioxidačnej kapacity počas vinifikácie u Veltlínskeho zeleného

8.3.2 Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity u Rizlingu rýnskeho

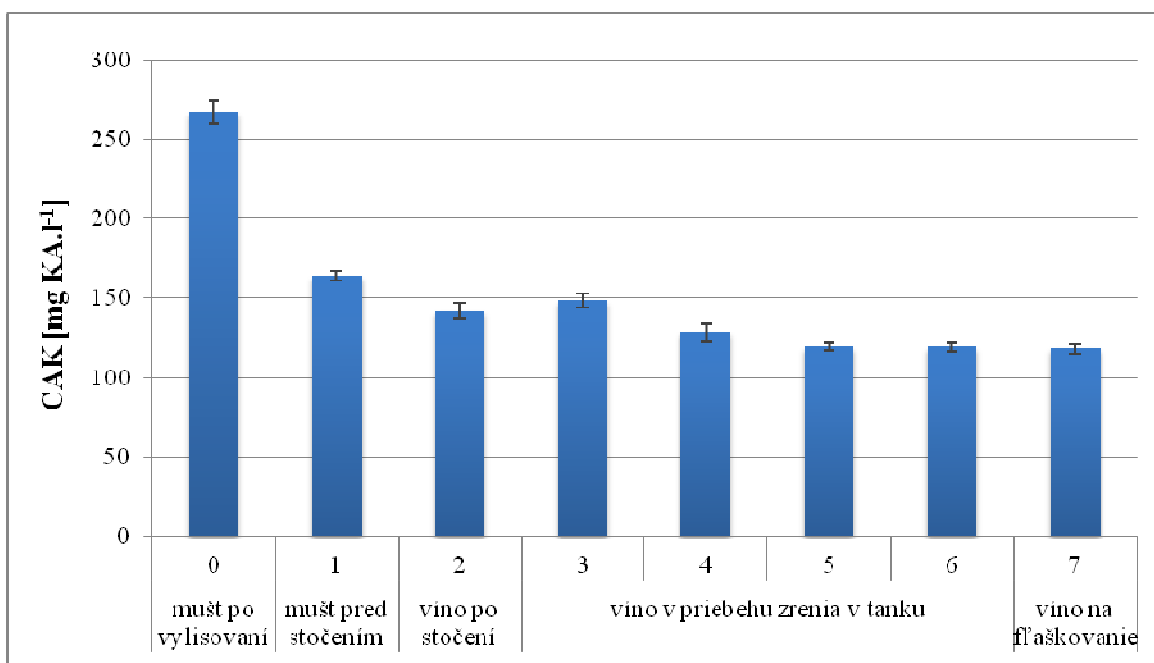
Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt celkovej antioxidačnej kapacity (CAK) vyjadrenej v mg kyseliny askorbovej.l⁻¹ v technologických procesoch výroby vína u odrody Rizling rýnsky sú uvedené v tabuľke (Tab. 13.).

Tab. 13. Hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pre Rizling rýnsky

Vzorka číslo	Technologický proces	Rizling rýnsky
		CAK [mg KA.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	266,8 \pm 7,3
1	mušt pred stočením	163,6 \pm 3,0
2	víno po stočení	142,1 \pm 4,8
3	víno v priebehu zrenia v tanku	148,5 \pm 4,3
4		128,6 \pm 5,6
5		119,3 \pm 2,6
6		118,9 \pm 2,9
7	víno na fľaškovanie	118,3 \pm 3,2

V tabuľke (Tab. 13.) sú uvedené výsledky, z ktorých vyplýva, že hodnoty CAK boli v roz-
pätí od $266,8 \pm 7,3$ mg KA.l⁻¹ do $118,3 \pm 3,2$ mg KA.l⁻¹. Stanovená najvyššia priemerná
hodnota $266,8 \pm 7,3$ mg KA.l⁻¹ bola u vzorky 0 – mušt po vylisovaní. U vzorky 7 – víno na
fľaškovanie bola stanovená najnižšia priemerná hodnota $118,3 \pm 3,2$ mg KA.l⁻¹.

Z grafického zobrazenia na obrázku (Obr. 23.) a výsledkov z tabuľky (Tab. 13.) je evident-
ný pokles CAK u vzorky 1 – mušt pred stočením, pričom priemerné hodnoty klesli z
 $266,8 \pm 7,3$ mg KA.l⁻¹ na $163,6 \pm 3,0$ mg KA.l⁻¹. Pokles priemerných hodnôt bol zazname-
naný v priebehu celej vinifikácie, avšak od vzorky 5 – víno v priebehu zrenia v tanku až po
vzorku 7 – víno na fľaškovanie neboli evidované výraznejšie zmeny celkovej antioxidačnej
kapacity. Je všeobecne známe, že celková antioxidačná kapacita je ovplyvnená radou látok
a zlúčenín prítomných v mušte a víne, priebehom biochemických zmien, pôsobením fyzi-
kálnych faktorov, ktoré môžu mať za následok pokles hodnôt CAK v priebehu vinifikácie.



Obr. 23. Priebeh zmien celkovej antioxidačnej kapacity počas vinifikácie u Rizlingu rýn-
skeho

8.3.3 Stanovenie celkovej antioxidačnej kapacity u Rulandského modrého

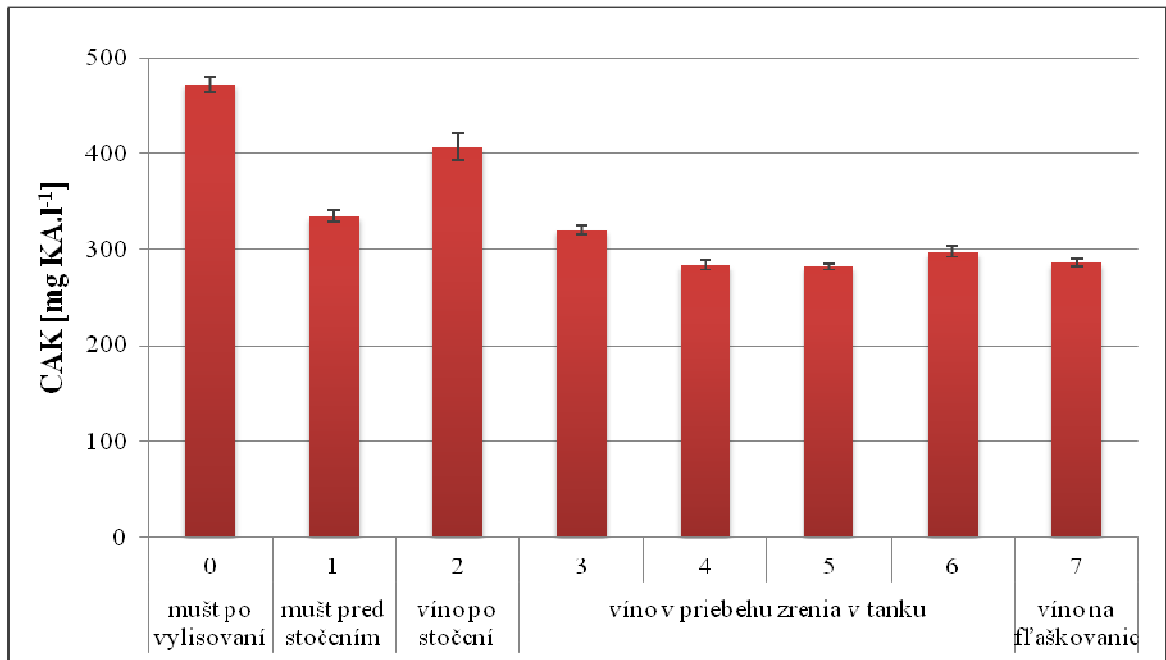
Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt celkovej antioxidačnej kapacity (CAK) vyjadre-
nej v mg kyseliny askorbovej.l⁻¹ v technologických procesoch výroby vína u odrody Ru-
landské modré sú uvedené v tabuľke (Tab. 14.).

Tab. 14. Hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pre Rulandské modré

Vzorka číslo	Technologický proces	Rulandské modré
		CAK [mg KA.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	472,5 ± 7,6
1	mušt pred stočením	335,2 ± 5,9
2	víno po stočení	407,6 ± 14,2
3	víno v priebehu zrenia v tanku	320,8 ± 5,1
4		283,9 ± 4,7
5		282,4 ± 3,4
6		297,8 ± 5,5
7	víno na fľaškovanie	286,4 ± 3,5

Z výsledkov v tabuľke (Tab. 14.) je evidentné, že priemerné hodnoty CAK boli v rozmedzí od 472,5 ± 7,6 mg KA.l⁻¹ do 282,4 ± 3,4 mg KA.l⁻¹. Najvyššia priemerná hodnota 472 ± 7,6 mg KA.l⁻¹ bola stanovená u vzorky 0 – mušt po vylisovaní. Najnižšia priemerná hodnota 282,4 ± 3,4 mg KA.l⁻¹ bola stanovená z vzorky 5 – víno v priebehu zrenia v tanku.

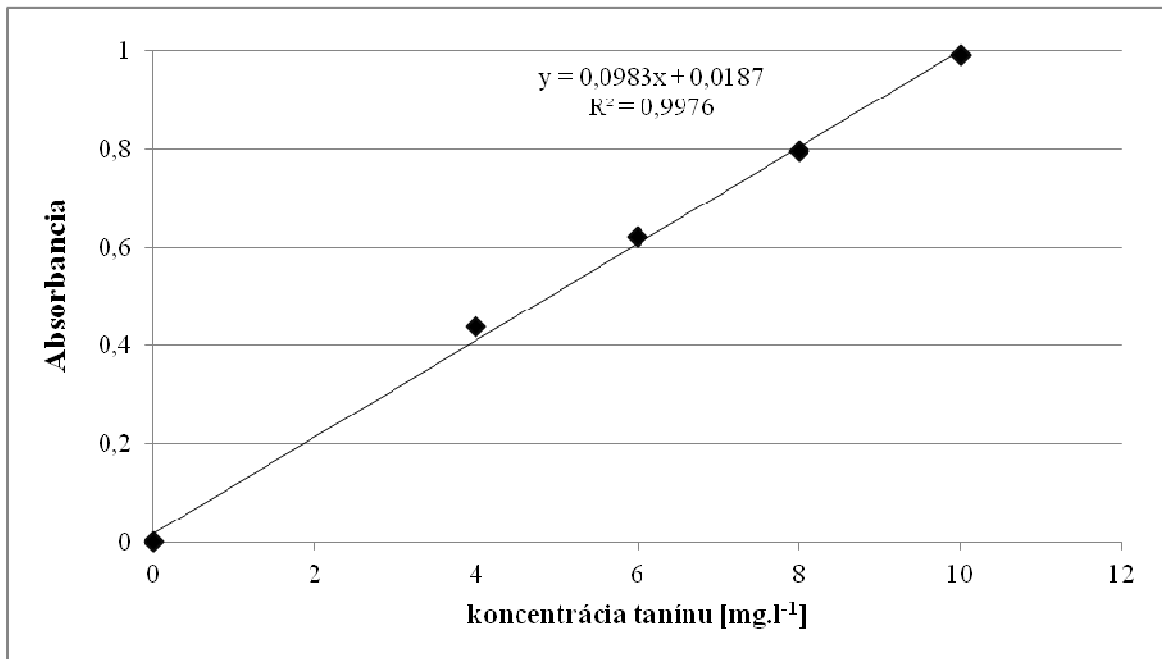
Na obrázku (Obr. 24.) je graficky znázornený priebeh zmien CAK počas vinifikácie. Z obrázku (Obr. 24.) a hodnôt v tabuľke (Tab. 14.) vyplýva, že došlo k výraznému poklesu CAK u vzorky 1 – mušt pred stočením z priemernej hodnoty 472,5 ± 7,6 mg KA.l⁻¹ na 335,2 ± 5,9 mg KA.l⁻¹. U vzorky 2 – víno po stočení nastalo zvýšenie hodnôt CAK na priemernú hodnotu 407,6 ± 14,2 mg KA.l⁻¹. Ďalší pokles bol zaznamenaný u vzorky 3 – víno v priebehu zrenia v tanku, kde priemerná hodnota klesla na 320,8 ± 5,1 mg KA.l⁻¹ a u vzorky 4 – víno v priebehu zrenia v tanku s poklesom priemernej hodnoty na 283,9 ± 4,7 mg KA.l⁻¹. Od vzorky 4 neboli zaznamenané ďalšie významnejšie zmeny v hodnotách celkovej antioxidačnej kapacity.



Obr. 24. Priebeh zmien celkovej antioxidačnej kapacity počas vinifikáci u Rulandského modrého

8.4 Stanovenie celkového obsahu polyfenolov

Podľa postupu uvedeného v kapitole 7.3 boli získané hodnoty absorbančie kalibračných roztokov štandardu tanínu, z ktorých bola zostavená kalibračná krivka v závislosti na ich koncentráciách. Zostavenie kalibračnej krivky a získanie rovnice regresie sa uskutočnilo pri odbere vzoriek v každom technologickom procese.



Obr. 25. Kalibračná krivka tanínu

Preložením hodnôt priamkou, bola získaná rovnica lineárnej regresie v tvare:

$$y = 0,0983x + 0,0187$$

kde: y – absorbančia

x – koncentrácia tanínu [mg.l⁻¹]

Tab. 15. Hodnoty pre kalibračnú krivku tanínu

Koncentrácia tanínu [mg.l ⁻¹]	Absorbancia kalibračných roztokov
4	0,4383
6	0,6210
8	0,7960
10	0,9919

Koeficient determinácie závislosti absorbančie na koncentrácii tanínu bol $R^2 = 0,9976$.

Zo získanej rovnice regresie bol prepočítaný celkový obsah polyfenolov vyjadrený v mg tanínu.l⁻¹.

Pri výpočtoch boli zohľadnené riedenia vzoriek, pričom u vzoriek vykazujúcich väčšiu koncentráciu polyfenolov bol použitý vyšší koeficient riedenia.

8.4.1 Stanovenie celkového obsahu polyfenolov u Veltlínskeho zeleného

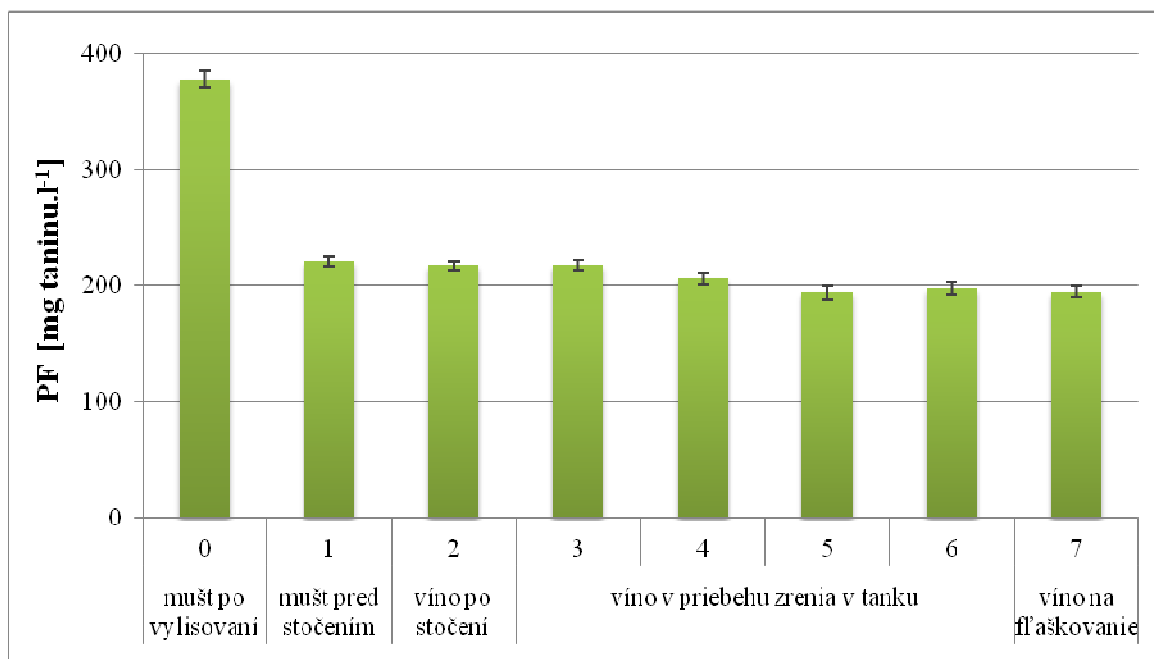
Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt celkového obsahu polyfenolov vyjadrené v mg tanínu.l⁻¹ v technologických procesoch výroby vína u odrody Veltlínske zelené sú uvedené v tabuľke (Tab. 16.).

Z hodnôt uvedených v tabuľke (Tab. 16.) je zrejmé, že priemerné hodnoty celkového obsahu polyfenolov boli počas vinifikácie v rozmedzí od $378 \pm 7,3$ mg tanínu.l⁻¹ do $193,7 \pm 6,4$ mg tanínu.l⁻¹. U vzorky 0 – mušt po vylisovaní bola stanovená najvyššia priemerná hodnota $378,0 \pm 7,3$ mg tanínu.l⁻¹. Najnižšia priemerná hodnota $193,7 \pm 6,4$ mg tanínu.l⁻¹ bola stanovená u vzorky 5 – víno v priebehu zrenia v tanku.

Tab. 16. Hodnoty celkového obsahu polyfenolov pre Veltlínske zelené

Vzorka číslo	Technologický proces	Veltlínske zelené
		Obsah polyfenolov [mg tanínu.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	$378,0 \pm 7,3$
1	mušt pred stočením	$220,8 \pm 4,5$
2	víno po stočení	$217,8 \pm 3,8$
3	víno v priebehu zrenia v tanku	$217,9 \pm 4,0$
4		$205,6 \pm 5,0$
5		$193,7 \pm 6,4$
6		$197,2 \pm 5,6$
7	víno na fľaškovanie	$194,7 \pm 4,7$

Na obrázku (Obr. 26.) je graficky znázornený priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie. Z tabuľky (Tab. 16.) je evidentné, že u vzorky 1 – mušt pred stočením došlo k výraznému poklesu priemerných hodnôt z $378 \pm 7,3$ mg tanínu.l⁻¹ na $220,8 \pm 4,5$ mg tanínu.l⁻¹. Pokles hodnôt obsahu polyfenolov bol zaznamenaný v priebehu celej vinifikácie, avšak od vzorky 5 už nedošlo k významnejším zmenám hodnôt.



Obr. 26. Priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie u Veltlínskeho zeleného

8.4.2 Stanovenie celkového obsahu polyfenolov u Rizlingu rýnskeho

Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt celkového obsahu polyfenolov vyjadrené v mg tanínu.l⁻¹ v technologických procesoch výroby vína u odrody Rizling rýnsky sú uvedené v tabuľke (Tab. 17.).

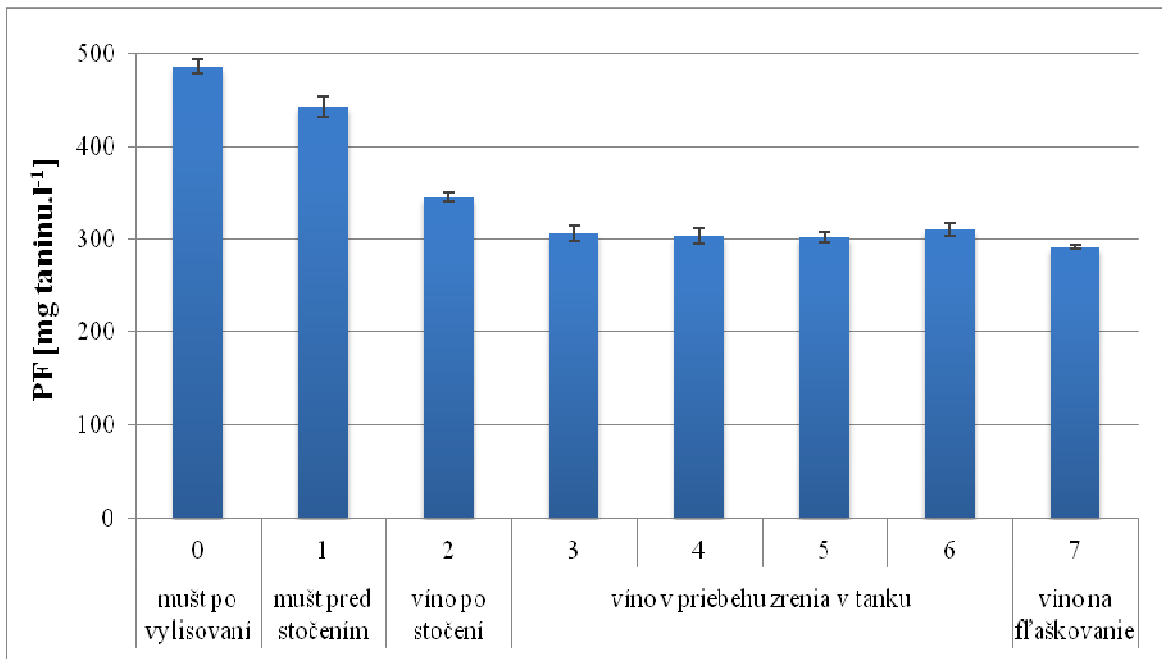
Tab. 17. Hodnoty celkového obsahu polyfenolov pre Rizling rýnsky

Vzorka číslo	Technologický proces	Rizling rýnsky
		Obsah polyfenolov [mg tanínu.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	486,1 \pm 7,2
1	mušt pred stočením	441,9 \pm 11,1
2	víno po stočení	345,1 \pm 5,3
3	víno v priebehu zrenia v tanku	305,3 \pm 8,3
4		303,0 \pm 57,8
5		301,5 \pm 5,6
6		310,0 \pm 6,6
7	víno na fľaškovanie	290,9 \pm 2,0

V tabuľke (Tab. 17.) sú uvedené výsledky, z ktorých je zrejmé, že priemerné hodnoty celkového obsahu polyfenolov boli v rozmedzí od 486,1 \pm 7,2 mg tanínu.l⁻¹ do 290,9 \pm 2,0 mg

tanínu.l⁻¹. Najvyššia priemerná hodnota $486,1 \pm 7,2$ mg tanínu.l⁻¹ bola stanovená u vzorky 0 – mušt po vylisovaní. Najnižšia priemerná hodnota $290,9 \pm 2,0$ bola stanovená u vzorky 7 – víno na fľaškovanie.

Počas vinifikácie došlo k poklesu hodnôt celkového obsahu polyfenolov graficky zobrazených na obrázku (Obr. 27.) a vyjadrených v tabuľke (Tab. 17.). Z priemernej hodnoty $486,1 \pm 7,2$ mg tanínu.l⁻¹ stanovenej u vzorky 0 – mušt pred stočením došlo k poklesu na priemernú hodnotu $441,9 \pm 11,1$ mg tanínu.l⁻¹ stanovenej u vzorky 1 – mušt pred stočením. Ďalší významný pokles bol u vzorky 2 – víno po stočení, kde hodnoty klesli na priemernú hodnotu $345,1 \pm 5,3$ mg tanínu.l⁻¹ a u vzorky 3 – víno v priebehu zrenia v tanku, pričom hodnoty klesli na priemernú hodnotu $305,3 \pm 8,3$ mg tanínu.l⁻¹, v ďalších vzorkách v priebehu vinifikácie neboli zaznamenané výrazné zmeny v obsahu polyfenolov.



Obr. 27. Priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie u Rizlingu rýnskeho

8.4.3 Stanovenie celkového obsahu polyfenolov u Rulandského modrého

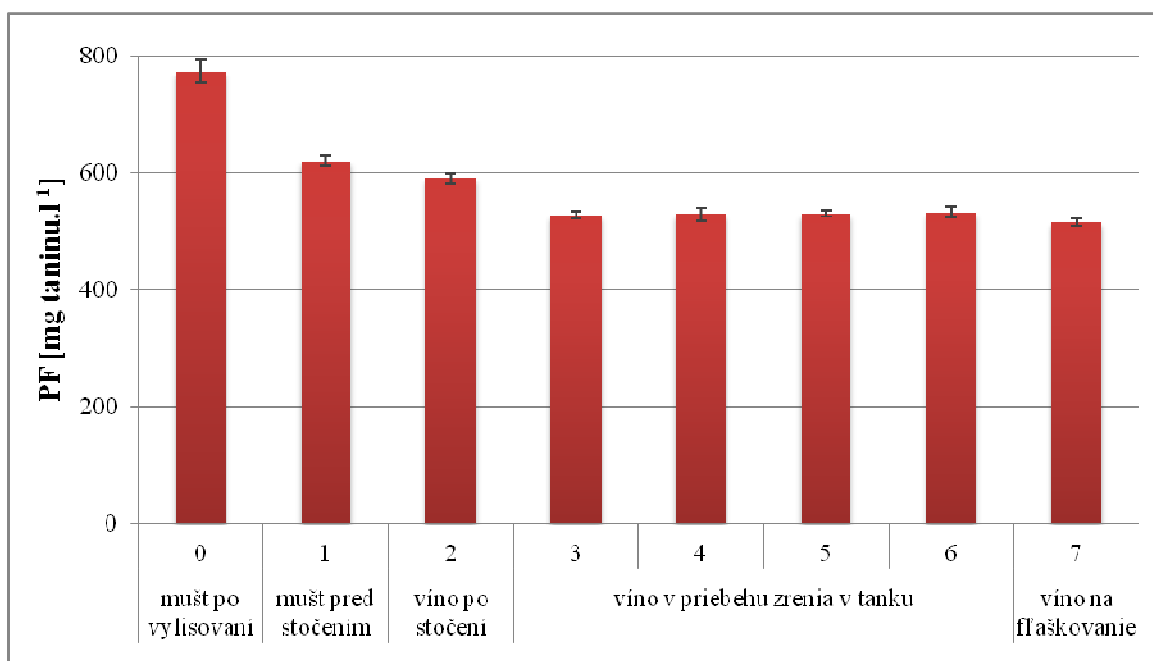
Priemery (\pm smerodajná odchýlka) hodnôt celkového obsahu polyfenolov vyjadrené v mg tanínu.l⁻¹ v technologických procesoch výroby vína u odrody Rulandské modré sú uvedené v tabuľke (Tab. 18.).

Tab. 18. Hodnoty celkového obsahu polyfenolov pre Rulandské modré

Vzorka číslo	Technologický proces	Rulandské modré
		Obsah polyfenolov [mg tanínu.l ⁻¹]
0	mušt po vylisovaní	773,2 \pm 19,5
1	mušt pred stočením	620,2 \pm 9,0
2	víno po stočení	590,1 \pm 8,7
3	víno v priebehu zrenia v tanku	527,2 \pm 6,1
4		528,8 \pm 11,4
5		529,9 \pm 5,1
6		532,3 \pm 9,8
7	víno na fľaškovanie	515,2 \pm 6,2

V výsledkoch uvedených v tabuľke (Tab. 18.) je evidentné, že priemerné hodnoty celkového obsahu polyfenolov boli v rozmedzí od 773,2 \pm 19,5 mg tanínu.l⁻¹ do 515,2 \pm 6,2 mg tanínu.l⁻¹. U vzorky 0 – mušt po vylisovaní bola stanovená najnižšia priemerná hodnota 773,2 \pm 19,5 mg tanínu.l⁻¹. U vzorky 7 – víno na fľaškovanie bola stanovená najnižšia priemerná hodnota 515,2 \pm 6,2 mg tanínu.l⁻¹.

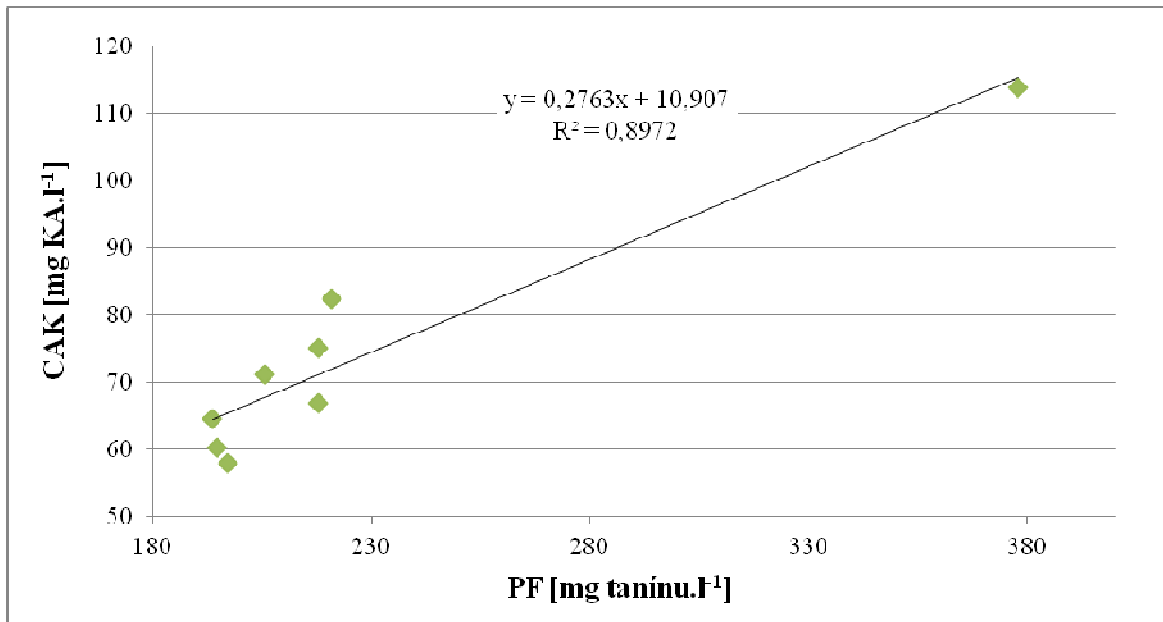
Na obrázku (Obr. 28.) je graficky znázornený priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie, kde u vzorky 1 – mušt pred stočením nastal pokles priemerných hodnôt uvedených v tabuľke (Tab. 18.) z $773,2 \pm 19,5$ mg tanínu.l⁻¹ na $620,2 \pm 9,0$ mg tanínu.l⁻¹. Ďalší pokles bol u vzorky 2 – víno po stočení na priemernú hodnotu $590,1 \pm 8,7$ mg tanínu.l⁻¹ a u vzorky 3 – víno v priebehu zrenia v tanku na priemernú hodnotu $527,2 \pm 6,1$ mg tanínu.l⁻¹. Od vzorky 3 – víno v priebehu zrenia v tanku neboli z časového hľadiska zaznamenané významnejšie zmeny v obsahu polyfenolov, mierny pokles nastal u vzorky 7 – víno na fľaškovanie, pričom priemerná hodnota klesla na $515,2 \pm 6,2$ mg tanínu.l⁻¹.



Obr. 28. Priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie u Rulandského modrého

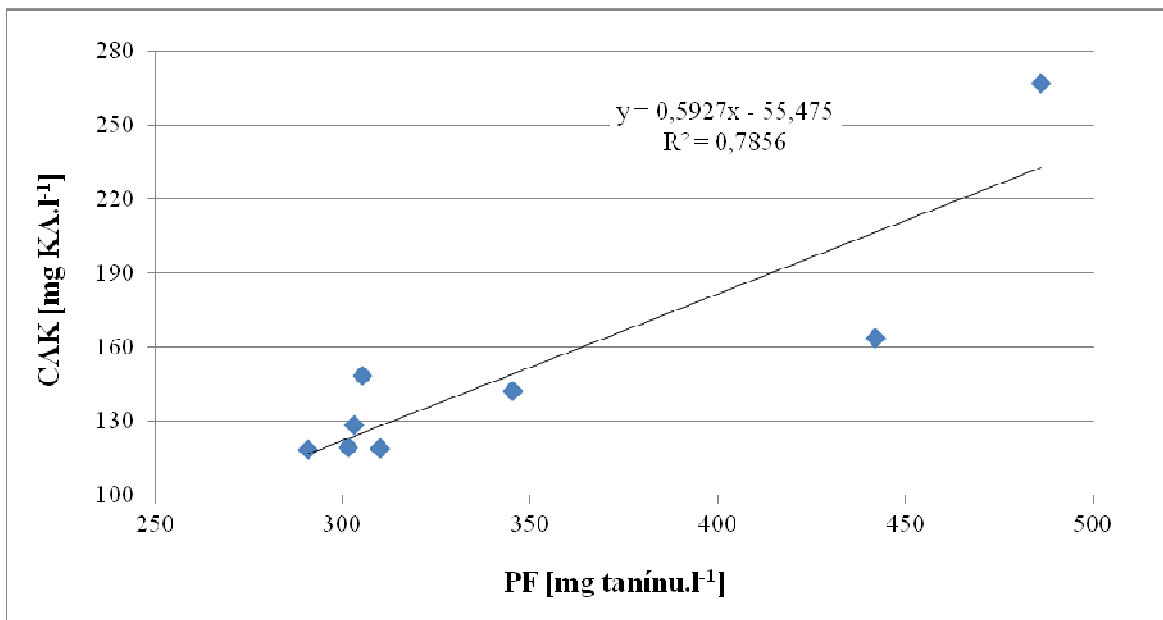
8.5 Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov

Na obrázku (Obr. 29.) je graficky znázornená závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov z priebehu vinifikácie odrody Veltlínske zelené. Závislosť je zostrojená z priemerných hodnôt CAK uvedených v tabuľke (Tab. 12.) a z priemerných hodnôt celkového obsahu polyfenolov uvedených v tabuľke (Tab. 16.).

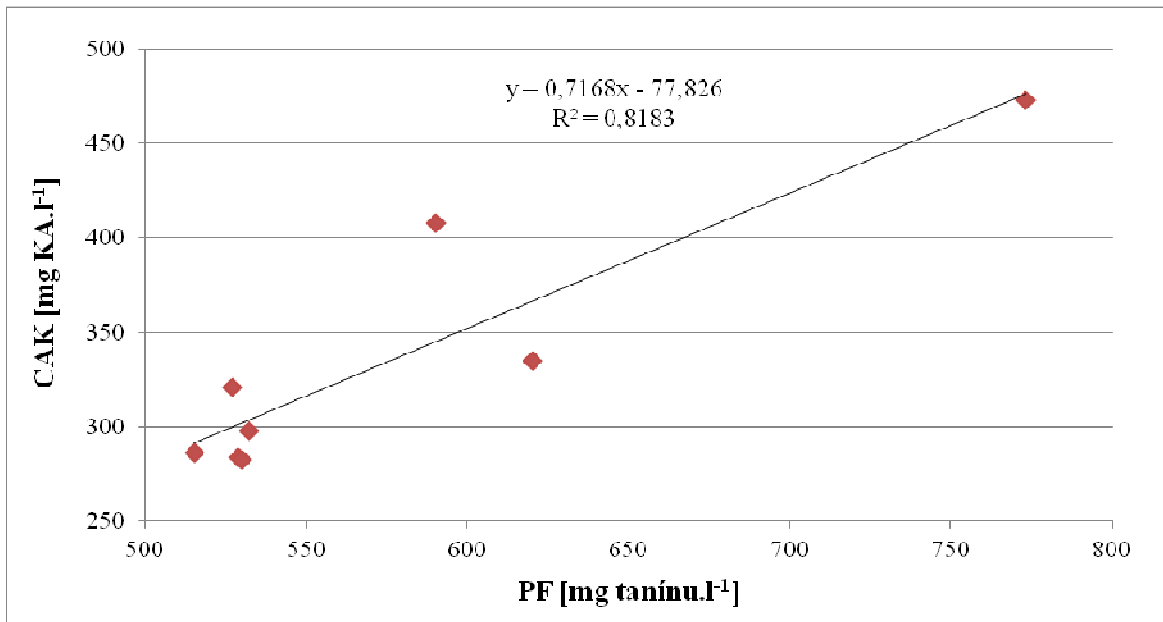


Obr. 29. Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov u Veltlínskeho zeleného

Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov z priebehu vinifikácie odrody Rizling rýnsky je graficky znázornená na obrázku (Obr. 30.). Závislosť je zostrojená z priemerných hodnôt CAK uvedených v tabuľke (Tab. 13.) a z priemerných hodnôt celkového obsahu polyfenolov uvedených v tabuľke (Tab. 17.).



Obr. 30. Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov u Rizlingu rýnskeho



Obr. 31. Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov u Rulandského modrého

U odrody Rulandské modré z priebehu vinifikácie bola zostrojená závislosť z výsledkov celkovej antioxidačnej kapacity uvedených v tabuľke (Tab. 14.) a z výsledkov celkového obsahu polyfenolov uvedených v tabuľke (Tab. 18.), ktorá je graficky zobrazená na obrázku (Obr. 31.).

Burin et al. [57] uvádza, že celková antioxidačná kapacita koreluje s celkovým obsahom polyfenolov ale je ovplyvnená obsahom jednotlivých fenolických látok. V práci Katalinić et al. [58] uvádza, že víno je komplexná zmes fenolových zlúčenín a antioxidačná aktivita vín nie je vlastnosťou jednej fenolovej zlúčeniny, preto by mali byť určené skupiny fenolových zlúčenín, ktoré sú najvýznamnejšie pre stanovenie antioxidačnej aktivity vína.

Bola zistená korelácie medzi celkovou antioxidačnou kapacitou a celkovým obsahom polyfenolov z priebehu vinifikácie u všetkých odrôd. Z obrázku (Obr. 29.) je zrejmé, že koeficient determinácie u Veltlínskeho zeleného mal hodnotu $R^2 = 0,8972$. U odrody Rizling rýnsky bol koeficient determinácie $R^2 = 0,7856$, ktorý je znázornený na obrázku (Obr. 30.). Z grafického zobrazenie na obrázku (Obr. 31.) je evidentné, že koeficient determinácie u odrody Rulandské modré bol $R^2 = 0,8183$.

8.6 Súhrnná diskusia

V tejto práci bolo hlavným cieľom sledovať priebeh zmien biologicky aktívnych látok medzi produktov výroby vína v priebehu vinifikácie, následne určiť body, v ktorých dochádza k ich zníženiu a navrhnúť možnosť regulácie dávok SO_2 v týchto bodoch.

Prostredníctvom základných chemických analýz bol stanovený voľný a celkový SO_2 , celková antioxidačná kapacita, celkový obsah polyfenolov a boli zmerané hodnoty pH u jednotlivých vzoriek odobraných v priebehu vinifikácie. Priemerné hodnoty pH sa pohybovali v rozmedzí pH 3,10 – 3,45 pre všetky odrody. Tieto hodnoty zodpovedajú pH vína, ktoré podľa Divol et al. [6] je v rozmedzí pH 3 – 4. Z toho vyplýva, že proces výroby vína bol štandardizovaný a nedošlo k výraznejším biochemickým, mikrobiologickým alebo fyzikálno-chemickým zmenám, ktoré by mohli významne ovplyvniť rozpätie hodnôt pH vína.

U jednotlivých odrôd v priebehu vinifikácie bol stanovený voľný aj celkový SO_2 aj napriek tomu, že nebol použitý exogénny SO_2 . Furdíková et al. [21] popisuje, že *Vitis vinifera* L. prijíma síru v anorganickej forme, z pôdy vo forme síranových aniónov a listami zo vzduchu ako oxid siričitý. Jackson et al. [35] uvádza, že síra je prítomná vo víne aj bez sírenia v koncentráciách 12 – 64 mg.l^{-1} , ktoré sú pripisované predovšetkým kvasinkám. Vo vzorkách bol stanovený voľný SO_2 u odrody Veltlínske zelené v rozpätí 3,6 – 6,1 mg.l^{-1} a celkový SO_2 v koncentrácii 19,4 – 43,6 mg.l^{-1} . U Rizlingu rýnskeho boli hodnoty medzi 5,5 – 8,0 mg.l^{-1} voľného SO_2 a hodnoty celkového SO_2 boli stanovené na 27,6 – 37,00 mg.l^{-1} . Stanovené hodnoty voľného SO_2 boli u odrody Rulandské modré v rozmedzí 6,0 – 10,0 mg.l^{-1} a hodnoty celkového SO_2 v rozmedzí 38,1 – 51,6 mg.l^{-1} .

Zúñiga et al. [59] uvádzajú, že polyfenoly najviac ovplyvňujú celkovú antioxidačnú kapacitu, avšak látky, ktoré sú schopné tvoriť zlúčeniny s prechodnými iónmi kovov a siričitanmi rovnako ovplyvňujú antiradikálovú schopnosť vína a interakcie medzi týmito zlúčeninami môžu znížiť alebo zvýšiť antioxidačnú kapacitu vína. V analyzovaných vzorkách boli zaznamenané rozdiely v hodnotách, pričom u Veltlínskeho zeleného sa priemerné hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pohybovali v rozmedzí 57,9 – 113,8 mg KA.l^{-1} v priebehu vinifikácie. U odrody Rizling rýnsky boli priemerné hodnoty CAK v rozmedzí 118,3 – 266,8 mg KA.l^{-1} a u odrody Rulandské modré boli stanovené priemerné hodnoty CAK v rozmedzí 282,4 – 472,5 mg KA.l^{-1} v priebehu vinifikácie.

Celkový obsah polyfenolov sa menil v priebehu vinifikácie a to u Veltlínskeho zeleného sa priemerné hodnoty pohybovali v rozpätí 193,7 – 378,0 mg tanínu.l⁻¹. U Rizlingu rýnskeho boli zaznamenané priemerné hodnoty v rozpätí 290,9 – 486,1 mg tanínu.l⁻¹. Stanovené priemerné hodnoty celkového obsahu polyfenolov u Rulandského modrého v priebehu vinifikácie boli 515,2 – 773,2 mg tanínu.l⁻¹. Podľa Yildirim et al. [60] hrozno a víno obsahujú veľkú koncentráciu polyfenolov, ktorých obsah môže byť až 1 800 mg.l⁻¹, avšak obsah týchto látok ovplyvňuje rada faktorov napr. samotná koncentrácia polyfenolov v hrozne, použitie technológií pri spracovaní a zmeny počas procesu zrenia vína.

Boli zistené korelácie medzi celkovou antioxidačnou kapacitou a celkovým obsahom polyfenolov. Koeficienty determinácie činili u Veltlínskeho zeleného $R^2 = 0,8972$, u Rizlingu rýnskeho $R^2 = 0,7856$ a u Rulandského modrého $R^2 = 0,8183$.

Na hladine významnosti 5 % boli zistené štatisticky významné rozdiely medzi chemickými parametrami stanovené v priebehu vinifikácie u odrôd Veltlínske zelené a Rizling rýnsky, výsledky sú zobrazené v prílohe P I.

Vzhľadom k získaným poznatkom a výsledkom uskutočnených analýz medziproduktov výroby vína by bolo potrebné sledovať aj ďalšie chemické parametre a zmeny chemického zloženia vzoriek vína v priebehu vinifikácie, na základe ktorých by bolo možné určiť dávky SO₂ vzhľadom k jeho antiseptickým, antioxidačným a redukčným vlastnostiam pre udržanie biologickej stability vína. Avšak podľa Záhorského [4] pre dosiahnutie antimikrobiálnej ochrany by mali byť dávky SO₂ regulované podľa molekulárneho SO₂ a to v koncentráciách 1,0 mg.l⁻¹ pre biele vína a 0,8 mg.l⁻¹ pre červené vína.

ZÁVER

V tejto práci bol sledovaný priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov, celkovej antioxidačnej kapacity, voľného a celkového SO₂ počas vinifikácie u modelových odrôd Veltlínske zelené, Rizling rýnsky a Rulandské modré. Cieľom práce bolo na základe výsledkov určiť, v ktorých technologických procesoch dochádza k zníženiu biologickej stability u modelových odrôd v priebehu vinifikácie.

Boli namerané hodnoty pH u modelových odrôd v jednotlivých technologických procesoch, pričom významné zmeny hodnôt pH boli zaznamenané v mušte pred stočením a vo víne po stočení. V ďalších technologických procesoch neboli zaznamenané významné zmeny hodnôt pH.

V priebehu technologických operácií sa vylúčili neodvôvodnené manipulačné zásahy (neúčelné stáčanie vína, filtrácia, atď.) v dôsledku čoho sa stabilizovali biologické hodnoty vína, ktoré umožňujú zníženie doplnkových dávok SO₂. Výrazný pokles voľného a celkového SO₂ bol zaznamenaný u Veltlínskeho zeleného v mušte pred stočením a vo víne v priebehu zrania v tanku. U Rizlingu rýnskeho bol pokles voľného a celkového SO₂ u vína po stočení a vína v priebehu zrenia v tanku. U Rulandského modrého bol zaznamenaný pokles celkového SO₂ u vína po stočení, pokles koncentrácie voľného SO₂ bol v mušte pred stočením a vo víne v priebehu zrenia v tanku.

U modelových odrôd v priebehu vinifikácie bol zaznamenaný pokles hodnôt CAK. Významné poklesy boli v mušte pred stočením, následné poklesy boli mierne u všetkých odrôd. Jediné u odrody Rulandské modré došlo k zvýšeniu hodnôt CAK vo víne po stočení, v dôsledku ďalších látok prítomných v mušte a víne modrých odrôd. V ďalších vzorkách tejto odrody bol zaznamenaný mierny pokles hodnôt.

Pokles celkového obsahu polyfenolov bol zaznamenaný u odrody Veltlínske zelené v mušte pred stočením, v ďalších technologických procesoch došlo k nepatrnému poklesu hodnôt.

Bola zistená korelácia medzi celkovou antioxidačnou kapacitou a celkovým obsahom polyfenolov u modelových odrôd z priebehu vinifikácie.

Zo získaných výsledkov bolo zistené že k významným zmenám v priebehu vinifikácie dochádza počas alkoholovej fermentácie a pri stočení vína. Pozorované zmeny, avšak nie tak výrazné, boli zaznamenané aj v procese zrenia vína v tanku.

Medzi modelovými odrodami Veltlínske zelené a Rizling rýnsky bol zistený štatisticky významný rozdiel v analyzovaných chemických parametroch.

K možnosti regulácie dávok SO_2 musí byť prihliadnuté k charakteru odrody, vegetačnému cyklu, klimatickým podmienkam a celkovo terroir odrody, vplyv má aj technologické spracovania a technologické vybavenie vinárstva. Dôležitým aspektom k regulácii SO_2 musí byť znalosť funkcie SO_2 vo víne a jeho väzba na látky prítomné vo víne, taktiež úzko súvisiaci obsah voľného SO_2 a s ním spojený molekulárny SO_2 . Pred samotným dávkovaním SO_2 musí byť uskutočnená podrobná chemická analýza vzoriek v priebehu vinifikácie, ktorá poskytne širší prehľad chemického zloženia a zmien v biochemických procesoch.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATURY

- [1] SALAHA, Maria-Ioanna, Stamatina KALLITHRAKA, Ioannis MARMARAS, Elisabeth KOUSSISSI a Irini TZOUROU. A natural alternative to sulphur dioxide for red wine production: Influence on colour, antioxidant activity and anthocyanin content. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2008, roč. 21, č. 8, s. 660-666 [cit. 2015-02-03]. DOI: 10.1016/j.jfca.2008.03.010.
- [2] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Oxid siřičitý v enologii*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2012. ISBN 978-80-905319-0-1.
- [3] POLÁČEK, Štefan, Jozef KULICH a Alena VOLLMANNOVÁ. *Anorganická chémia*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2003, s. 345-347. ISBN 80-8069-137-1.
- [4] ZÁHORSKÝ, Jozef. Oxid siričitý vo víne. *Vinič a víno: Odborný časopis pre vinohradníkov a vinárov*. 2013, roč. 13, č. 3, s. 87.
- [5] FARKAŠ, Ján. *Biotechnológia vína*. 2. rozš. vyd. Bratislava: Alfa, 1983, s. 492.
- [6] DIVOL, Benoit, Maret du TOIT a Edward DUCKITT. Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2012, roč. 95, č. 3, s. 601-613 [cit. 2015-02-05]. DOI: 10.1007/s00253-012-4186-x
- [7] HENDERSON, Pat. Sulphur Dioxide. *Practical Winery and Vineyard Journal* [online]. 2009 [cit. 2015-02-05]. Dostupné z: <http://www.practicalwinery.com/janfeb09/page1.htm>
- [8] DELANOE, Dominique a Christian MAILLARD. *Il controllo tecnologico del vino attraverso l'analisi*. 2. vyd. Brescia: AEB, 1994, s. 136-137. ISBN 88-7122-446-9.
- [9] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Příprava bílých vín*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-4-9.
- [10] JACKSON, Ronald S. *Wine Science: Principles and Applications*. 3. vyd. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2008, s. 281-295. ISBN 978-0-12-373646-8.

- [11] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014, s. 131-. ISBN 978-80-905319-2-5.
- [12] PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) 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: *Úřední věstník Evropské unie*. 2012. Dostupné z: http://www.biokont.cz/images/nk_eu_203_2012.pdf
- [13] FERNÁNDEZ-MAR, M.I., R. MATEOS, M.C. GARCÍA-PARRILLA, B. PUERTAS a E. CANTOS-VILLAR. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin. *Food Chemistry* [online]. 2012, roč. 130, č. 4, s. 797-813 [cit. 2015-02-23]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.08.023.
- [14] GARRIDO, Jorge a Fernanda BORGES. Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International* [online]. 2013, roč. 54, č. 2, s. 1844-1858 [cit. 2015-02-23]. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.08.002.
- [15] SANDLER, Merlot a Roger PINDER. *Wine: A Scientific Exploration* [online]. London and New York: Taylor & Francis, 2003, s. 199-223 [cit. 2015-02-25]. ISBN 978-0-203-36138-2.
- [16] MORENO, Juan. *Enological chemistry* [online]. Waltham, MA: Academic Press, 2012, s. 54-61 [cit. 2015-02-26]. ISBN 978-0-1-12-388438-1.
- [17] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Rozš. a preprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, s. 186-. 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [18] KOVÁČ, Jozef. Polyfenoly v hrozne a vo víne. *Vinič a víno: Odborný časopis pre vinohradníkov a vinárov*. 2012, roč. 12, č. 4, Príloha 2.
- [19] BALÍK, Josef. *Anthokyaninová barviva v hroznech a vínech: Anthocyanin pigments in grapes and wines*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2010, s. 8-40. ISBN 978-80-7375-412-9
- [20] KRAUS, Vilém. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2008, s. 89-179. ISBN 978-80-86767-09-3.
- [21] FURDÍKOVÁ, Katarína a Fedor MALÍK. Kolobeh síry vo víne. *Vinič a víno: Odborný časopis pre vinohradníkov a vinárov*. 2008, roč. 8, č. 1, s. 5-8.

- [22] Oxidy síry. *Integrovaný registr znečišťování: Ministerstvo životního prostředí ČR* [online]. 2006 [cit. 2015-03-09]. Dostupné z: <http://www.irz.cz/node/80>
- [23] SO₂ - oxid siřičitý: Hodinové, denní, čtvrtletní a roční imisní charakteristiky. *Český hydrometeorologický ústav* [online]. 2014 [cit. 2015-03-09]. Dostupné z: http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/uoco/isko/tab_roc/2013_enh/pollution_hdqy/CZBBV_SO2_CZ.html
- [24] SLUGENĚ, Dušan. Úloha mikrooxidácie pri príprave moderných vín. *Vinič a víno: Odborný časopis pre vinohradníkov a vinárov*. 2011, roč. 11, č. 5, s. 159-161.
- [25] BARTOSZ, G. *Food oxidants and antioxidants: chemical, biological, and functional properties* [online]. Boca Raton: CRC Press, 2013, s. 337-338 [cit. 2015-03-12]. ISBN 978-1-4398-8242-9.
- [26] BIESALSKI, Hans-Konrad, Lars Ove DRAGSTED, Ibrahim ELMADFA, Rolf GROSSKLAUS, Michael MÜLLER, Dieter SCHRENK, Paul WALTER a Peter WEBER. Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition* [online]. 2009, roč. 25, č. 11-12, s. 1202-1205 [cit. 2015-03-13]. DOI: 10.1016/j.nut.2009.04.023.
- [27] KRIS-ETHERTON, Penny M, Kari D. HECKER, Andrea BONANOME, Stacie M. COVAL, Amy E. BINKOSKI, Kirsten F. HILPERT, Amy E. GRIEL a Terry D. ETHERTON. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine* [online]. 2002, roč. 113, č. 9, s. 71-88 [cit. 2015-03-13]. DOI: 10.1016/s0002-9343(01)00995-0.
- [28] RIVERO-PÉREZ, M.D., P. MUÑIZ a M.L. GONZÁLEZ-SANJOSÉ. Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2008, roč. 46, č. 8, s. 2815-2822 [cit. 2015-03-14]. DOI: 10.1016/j.fct.2008.05.014.
- [29] RICE-EVANS, Catherine. Flavonoid Antioxidants. *Current Medicinal Chemistry* [online]. 2001, roč. 8, č. 7, s. 797-807 [cit. 2015-03-14]. DOI: 10.2174/0929867013373011.

- [30] FRIVIK, Siss K. a Susan E. EBELER. Influence of sulfur dioxide on the formation of aldehydes in white wine. *American Journal of Enology & Viticulture* [online]. 2003, roč. 54, č. 1, s. 31-38 [cit. 2015-03-14]. Dostupné z: <http://www.ajevonline.org/content/54/1/31.short>
- [31] VANEK, Gašpar. Niektoré zásady pri ochrane viniča. *Vinič a víno: Odborný časopis pre vinohradníkov a vinárov*. 2013, roč. 13, č. 1, s. 10-11.
- [32] VANEK, Gašpar. Pripravme sa včas na ochranu viniča. *Vinič a víno: Odborný časopis pre vinohradníkov a vinárov*. 2014, roč. 14, č. 2., s. 44-46.
- [33] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. vyd. 2., Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, s. 27. ISBN 978-80-903201-9-2.
- [34] STEIDL, Robert a Wolfgang RENNER. *Moderní příprava červeného vína*. 2. vyd. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006, s. 33. ISBN 80-903201-7-1.
- [35] JACKSON, Ronald S. *Wine science: principles and applications*. 4. vyd. Amsterdam: Elsevier, 2014, s. 402. ISBN 978-0-12-381468-5.
- [36] DIVOL, Benoit, Maret du TOIT a Edward DUCKITT. Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2012, roč. 95, č. 3, s. 601-613 [cit. 2015-03-17]. DOI: 10.1007/s00253-012-4186-x.
- [37] BOEKHOUT, T. a V. ROBERT. *Yeasts in food: beneficial and detrimental aspects*. Boca Raton: CRC Press, 2003, s. 393-397. ISBN 0-8493-1926-9.
- [38] STURGEON, J. Q., J. C. BOHLSCHEID a C. G. EDWARDS. The effect of nitrogen source on yeast metabolism and H₂S formation. *Journal of Wine Research* [online]. 2013, roč. 24, č. 3, s. 182-194 [cit. 2015-03-18]. DOI: 10.1080/09571264.2013.793175.
- [39] POSPÍŠILOVÁ, Dorota, Daniel SEKERA. *Ampelografia slovenska*. Bratislava: Výskumná a šľachtiteľská stanica vinárska a vinohradnícka Modra, 2005, s. 149-188. ISBN 80-96-9350-9-7.
- [40] SEDLO, Jiří, Ivana LUDVÍKOVÁ a Olga JANDUROVÁ. *Přehled odrůd révy*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, 2011, s. 41-87. ISBN 978-80-903534-6-6.

- [41] *Obrázok Veltlínskeho zeleného* [online]. [cit. 2015-03-23]. Dostupné z: http://www.vitisselect.com/veltlinke_zelene.htm
- [42] *Obrázok Rizlingu rýnskeho* [online]. [cit. 2015-03-23]. Dostupné z: http://www.schlinkhaus.com/images/gallery/Riesling_grape_matured_full.jpg
- [43] *Obrázok Rulandského modrého* [online]. [cit. 2015-03-23]. Dostupné z: <http://winefolly.com/wp-content/uploads/2014/01/147f7a701fa9d80973d458c6d496a6c8.jpeg>
- [44] KEDARE, Sagar B. a R. P. SINGH. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2011, roč. 48, č. 4, s. 412-422 [cit. 2015-03-28]. DOI: 10.1007/s13197-011-0251-1.
- [45] CARMONA-JIMÉNEZ, Yolanda, M. Valme GARCÍA-MORENO, Jose M. IGARTUBURU a Carmelo Garcia BARROSO. Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chemistry* [online]. 2014, roč. 165, s. 198-204 [cit. 2015-03-28]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.106.
- [46] PAIXAO, N., R. PERESTRELO, J. MARQUES a J. CAMARA. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry* [online]. 2007, roč. 105, č. 1, s. 204-214 [cit. 2015-03-28]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.04.017.
- [47] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chemické listy*. 2004, roč. 98, č. 4, s. 174-179.
- [48] ANTOLOVICH, Michael, Paul D. PRENZLER, Emilios PATSALIDES, Suzanne MCDONALD a Kevin ROBARDS. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst* [online]. 2001, roč. 127, č. 1, s. 183-198 [cit. 2015-03-30]. DOI: 10.1039/b009171p.
- [49] BLAINSKI, Andressa, Gisely LOPES a João de MELLO. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules* [online]. 2013, roč. 18, č. 6, s. 6852-6865 [cit. 2015-04-05]. DOI: 10.3390/molecules18066852.

- [50] *Compendium of International Methods of Wine and Musts Analysis: Sulfur dioxide*. 2. vyd. Paris: OIV Paris, 2012.
- [51] DVOŘÁK, Josef. Pavel DOSTÁLEK, Pavel ČEJKA, Vladimír KELLNER, Jiří ČULÍK, Tomáš HORÁK, Marie JURKOVÁ. Significance of SO₂ in Beer: Methods for determination SO₂ in beer. *Kvasný průmysl*. 2007, roč. 53, č. 11 – 12, s. 338-343.
- [52] ČMELÍK, Jiří, Jiří MACHÁT, Eva NIEDOBOVÁ, Vítězslav OTRUBA a Viktor KANICKÝ. Determination of free and total sulfur dioxide in wine samples by vapour-generation inductively coupled plasma–optical-emission spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2005, roč. 383, č. 3, s. 483-488 [cit. 2015-04-05]. DOI: 10.1007/s00216-005-3382-2.
- [53] MONTES, C., J. H. VÉLEZ, G. RAMÍREZ, M. ISAACS, R. ARCE a M. J. AGUIRRE. Critical Comparison between Modified Monier-Williams and Electrochemical Methods to Determine Sulfite in Aqueous Solutions. *The Scientific World Journal* [online]. 2012, s. 1-6 [cit. 2015-04-05]. DOI: 10.1100/2012/168148.
- [54] SUN, Baoshan, Isabel SPRANGER, Jingyu YANG, Conceição LEANDRO, Lei GUO, Sónia CANÁRIO, Yuqing ZHAO a Chunfu WU. Red Wine Phenolic Complexes and Their *in vitro* Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2009, roč. 57, č. 18, s. 8623-8627 [cit. 2015-04-06]. DOI: 10.1021/jf901610h.
- [55] HOSU, Anamaria, Vasile-Mircea CRISTEA a Claudia CIMPOIU. 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 Chemistry* [online]. 2014, roč. 150, s. 113-118 [cit. 2015-04-07]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.10.153.
- [56] MORENO-ARRIBAS, M. a M. POLO. *Wine chemistry and biochemistry* [online]. New York: Springer, 2009, s. 4 [cit. 2015-04-08]. ISBN 978-0-387-74118-5. Dostupné z: <http://web.a.ebscohost.com.proxy.k.utb.cz/ehost/detail/detail?sid=da145d0c-72db-40fc-8fa4->

5befb5eb8fdc%40sessionmgr4003&vid=0&hid=4104&bdata=Jmxhbmc9Y3Mmc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#db=nlebk&AN=261476

- [57] BURIN, Maria, Denise FALCAO, Valdemiro GONZAGA, Roseane FETT, Pierre FOSIER a Terezinha BORDIBNON-LUIZ. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. *Ciência e tecnologia de alimentos*. 2010, roč. 30, č. 4, s. 1027-1032. Dostupné z: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v30n4/v30n4a30.pdf>
- [58] KATALINIĆ, V., M. MILOS, D. MODUN, I. MUSIĆ a M. BOBAN. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry* [online]. 2004, vol. 86, issue 4, s. 593-600 [cit. 2015-04-16]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.10.007.
- [59] ZÚÑIGA, María C., Rodolfo E. PÉREZ-ROA, Claudio OLEA-AZAR, V. Felipe LAURIE a Eduardo AGOSIN. Contribution of metals, sulfur-dioxide and phenolic compounds to the antioxidant capacity of Carménère wines. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2014, roč. 35, č. 1, s. 37-43 [cit. 2015-04-17]. DOI: 10.1016/j.jfca.2014.04.003.
- [60] YILDIRIM, Hatice K., Yasemin D. AKCAY, Ulgar GUVENC, Ahmet ALTINDISLI a Eser Y. SOZMEN. Antioxidant activities of organic grape, pomace, juice, must, wine and their correlation with phenolic content. *International Journal of Food Science and Technology* [online]. 2005, roč. 40, č. 2, s. 133-142 [cit. 2015-04-17]. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.00921.x.
- [61] ECCLI, Erwin. Die SO₂ - Bestimmung unter Berücksichtigung der Reduktone. *Obst- und Weinbau* [online]. 2008, č. 12, s. 395 [cit. 2015-04-17]. Dostupné z: file:///C:/Users/Acer/Downloads/eccli_die_so2-bestimmung_unter_ber_cksichtigung_der_reduktone.pdf
- [62] TEMPERLI, Theo a Frank HESFORD. Schwefeldioxid, Oxidationsschutz und Reduktone in Wine. *Obst- und Winebau* [online]. 2005, č. 6, s. 17-19 [cit. 2015-04-17]. Dostupné z: [file:///C:/Users/Acer/Downloads/wa_oen_05_pub_962_d_de%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Acer/Downloads/wa_oen_05_pub_962_d_de%20(1).pdf)

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

T_k	Kritická teplota.
p_k	Kritický tlak.
ROS	Reactive Oxygen Species.
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity.
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power.
HPLC	High Performance Liquid Chromatography.
ECD	Electrochemical detection.
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl.
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonová kyselina).
UV/VIS	Ultraviolet/Visible spectrophotometry.
NEPR (ES)	Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (Európske spoločenstvo).
CAK	Celková antioxidačná kapacita.
SO ₂ mol.	Molekulárny oxid siričitý.
a pod.	A podobne.
p. a.	Pre analýzu.
napr.	Napríklad.
tzn.	To znamená.

ZOZNAM OBRÁZKOV

<i>Obr. 1. Reakcia vzniku SO₂ [3]</i>	13
<i>Obr. 2. Disociácia SO₂ vo vodnom roztoku [3]</i>	13
<i>Obr. 3. Disociácia SO₂ v roztokoch a závislosť percenta celkového SO₂ na pH, pK₁ a pK₂ sú disociačné konštanty reakcií zobrazených na Obr. 2. Vo zvýraznenej časti je znázornené optimálne pH vína [36].....</i>	14
<i>Obr. 4. Reakcia vzniku kyseliny aldehyd-sulfonovej [10]</i>	17
<i>Obr. 5. Kyselina glukózo-sulfonová a kyselina fruktózo-sulfonová [10].....</i>	18
<i>Obr. 6. Asimilácia síranov bunkou S. cerevisiae v prítomnosti SO₂. Biosyntéza sírnych aminokyselín a redukcia síry [36]</i>	24
<i>Obr. 7. Chemická štruktúra 2H-chromenu a flavanu [10]</i>	29
<i>Obr. 8. Základné chemické štruktúry vybraných flavonoidných látok [17].....</i>	30
<i>Obr. 9. Produkty reakcie anthokyanových farbív s SO₂ [17].....</i>	34
<i>Obr. 10. Reakcia vzniku flavonoid-radikálu [25]</i>	34
<i>Obr. 11. Štruktúra kvercetínu, kde M je koordinácia iónov kovov [25]</i>	35
<i>Obr. 12. Oxidácia katechínu na chinónový katechín [29]</i>	35
<i>Obr. 13. Štruktúra radikálu DPPH a jeho redukcia antioxidantom RH [46].....</i>	36
<i>Obr. 14. Veltlínske zelené [41].....</i>	40
<i>Obr. 15. Rizling rýnsky [42].....</i>	41
<i>Obr. 16. Rulandské modré [43]</i>	42
<i>Obr. 17. Priebeh hodnôt pH pre jednotlivé odrody počas vinifikácie</i>	52
<i>Obr. 18. Priebeh zmien SO₂ počas vinifikácie u Veltlínskeho zeleného</i>	55
<i>Obr. 19. Priebeh zmien SO₂ počas vinifikácie u Rizlingu rýnskeho</i>	57
<i>Obr. 20. Priebeh zmien SO₂ počas vinifikácie u Rulandského modrého</i>	58
<i>Obr. 21. Kalibračná krivka kyseliny askorbovej</i>	59
<i>Obr. 22. Priebeh zmien celkovej antioxidačnej kapacity počas vinifikácie u Veltlínskeho zeleného</i>	61
<i>Obr. 23. Priebeh zmien celkovej antioxidačnej kapacity počas vinifikácie u Rizlingu rýnskeho</i>	62
<i>Obr. 24. Priebeh zmien celkovej antioxidačnej kapacity počas vinifikáci u Rulandského modrého</i>	64
<i>Obr. 25. Kalibračná krivka tanínu.....</i>	65

<i>Obr. 26. Priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie u Veltlínskeho zeleného</i>	<i>67</i>
<i>Obr. 27. Priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie u Rizlingu rýnskeho</i>	<i>68</i>
<i>Obr. 28. Priebeh zmien celkového obsahu polyfenolov počas vinifikácie u Rulandského modrého</i>	<i>70</i>
<i>Obr. 29. Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov u Veltlínskeho zeleného</i>	<i>71</i>
<i>Obr. 30. Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov u Rizlingu rýnskeho</i>	<i>71</i>
<i>Obr. 31. Závislosť celkovej antioxidačnej kapacity na celkovom obsahu polyfenolov u Rulandského modrého</i>	<i>72</i>

ZOZNAM TABULIEK

<i>Tab. 1. Podiel molekularneho SO₂ vo vodnom roztoku v závislosti na pH [2].....</i>	16
<i>Tab. 2. Maximálne koncentrácie SO₂ pre príslušné druhy vín [9]</i>	19
<i>Tab. 3. Maximálne koncentrácie SO₂ v konvenčnom víne a biovíne [9].....</i>	20
<i>Tab. 4. Doporučené koncentrácie SO₂ do rmutu podľa zdravotného stavu hrozna [33].....</i>	22
<i>Tab. 5. Hodnoty fenolových zlúčenín vo víne v mg.l⁻¹ [11].....</i>	27
<i>Tab. 6. Časový prehľad odberu vzoriek pre jednotlivé odrody</i>	46
<i>Tab. 7. Namerané hodnoty pH pre jednotlivé odrody v technologických procesoch</i>	52
<i>Tab. 8. Hodnoty voľného a celkového SO₂ pre Veltlínske zelené</i>	54
<i>Tab. 9. Hodnoty voľného a celkového SO₂ pre Rizling rýnsky</i>	56
<i>Tab. 10. Hodnoty voľného a celkového SO₂ pre Rulandské modré</i>	57
<i>Tab. 11. Hodnoty pre kalibračnú krivku kyseliny askorbovej</i>	59
<i>Tab. 12. Hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pre Veltlínske zelené</i>	60
<i>Tab. 13. Hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pre Rizling rýnsky</i>	61
<i>Tab. 14. Hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pre Rulandské modré</i>	63
<i>Tab. 15. Hodnoty pre kalibračnú krivku tanínu.....</i>	65
<i>Tab. 16. Hodnoty celkového obsahu polyfenolov pre Veltlínske zelené</i>	66
<i>Tab. 17. Hodnoty celkového obsahu polyfenolov pre Rizling rýnsky</i>	67
<i>Tab. 18. Hodnoty celkového obsahu polyfenolov pre Rulandské modré</i>	69

ZOZNAM PRÍLOH

P I Súhrnná tabuľka výsledkov analýz v priebehu vinifikácie pre jednotlivé odrody

PRÍLOHA P I: SÚHRNNÁ TABUĽKA VÝSLEDKOV ANALÝZ V PRIEBEHU VINIFIKÁCIE PRE JEDNOTLIVÉ ODRODY

	Odroda	Vzorka číslo							
		0	1	2	3	4	5	6	7
voľný SO ₂ [mg.l ⁻¹]	VZ	6,1 ^a ± 0,3	4,5 ^a ± 0,3	4,6 ^a ± 0,2	3,7 ^a ± 0,2	5,0 ^a ± 0,2	3,8 ^a ± 0,2	3,6 ^a ± 0,2	3,9 ^a ± 0,2
	RR	8,0 ^b ± 0,8	7,2 ^b ± 0,2	7,0 ^b ± 0,3	5,7 ^b ± 0,4	6,3 ^b ± 0,2	5,8 ^b ± 0,2	5,8 ^b ± 0,2	5,5 ^b ± 0,3
celkový SO ₂ [mg.l ⁻¹]	VZ	43,6 ^a ± 1,0	26,0 ^a ± 0,6	25,1 ^a ± 1,2	17,7 ^a ± 1,0	19,9 ^a ± 1,9	19,6 ^a ± 1,6	19,4 ^a ± 0,9	21,7 ^a ± 0,8
	RR	37,0 ^b ± 0,4	35,5 ^b ± 2,2	29,5 ^b ± 0,2	27,6 ^b ± 1,1	29,4 ^b ± 1,6	30,4 ^b ± 1,1	30,1 ^b ± 1,0	31,3 ^b ± 0,4
CAK [mg KA.l ⁻¹]	VZ	113,8 ^a ± 3,5	82,3 ^a ± 2,8	75,1 ^a ± 3,5	66,8 ^a ± 2,9	71,1 ^a ± 3,4	64,4 ^a ± 2,9	57,9 ^a ± 2,5	60,3 ^a ± 1,9
	RR	266,8 ^b ± 7,3	163,6 ^b ± 3,0	142,1 ^b ± 4,8	148,5 ^b ± 4,3	128,6 ^b ± 5,6	119,3 ^b ± 2,6	118,9 ^b ± 2,9	118,3 ^b ± 3,2
PF [mg tanínu.l ⁻¹]	VZ	378,0 ^a ± 7,30	220,8 ^a ± 4,5	217,8 ^a ± 3,8	217,9 ^a ± 4,0	205,6 ^a ± 5,0	193,7 ^a ± 6,4	197,2 ^a ± 5,6	194,7 ^a ± 4,7
	RR	486,1 ^b ± 7,2	441,9 ^b ± 11,1	345,1 ^b ± 5,3	305,3 ^b ± 8,3	303,0 ^b ± 57,8	301,5 ^b ± 5,6	310,0 ^b ± 6,6	290,9 ^b ± 2,0
voľný SO ₂ [mg.l ⁻¹]	RM	10,0 ± 0,4	9,6 ± 0,7	9,8 ± 0,2	8,5 ± 0,2	7,6 ± 0,3	7,4 ± 0,3	6,0 ± 0,2	6,1 ± 0,2
celkový SO ₂ [mg.l ⁻¹]		51,6 ± 1,1	51,2 ± 1,1	38,7 ± 0,9	39,6 ± 0,4	41,9 ± 0,8	38,1 ± 0,6	39,6 ± 0,7	40,1 ± 0,4
CAK [mg KA.l ⁻¹]		472,5 ± 7,6	335,2 ± 5,9	407,6 ± 14,2	320,8 ± 5,1	283,9 ± 4,7	282,4 ± 3,4	297,8 ± 5,5	286,4 ± 3,5
PF [mg tanínu.l ⁻¹]		773,2 ± 19,5	620,2 ± 9,0	590,1 ± 8,7	527,2 ± 6,1	528,8 ± 11,4	529,9 ± 5,1	532,3 ± 9,8	515,2 ± 6,2

Priemery (± smerodajná odchýlka) hodnôt jednotlivých chemických parametrov. Hodnoty sú priemerom 12 stanovení. Pozorované rozdiely u odrôd VZ a RR v nameraných hodnotách boli štatisticky vyhodnotené s použitím Študentovho *t* – testu s hodnotou pravdepodobnosti *P* < 0,05 ako štatisticky významné.

Pozn.: VZ – Veltlínske zelené, RR – Rizling rýnsky, RM – Rulandské modré, CAK – celková antioxidačná kapacita vyjadrená v mg kyseliny askorbovej.l⁻¹, PF – celkový obsah polyfenolov