



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**VLIV PŘÍDAVKU TUZEMSKÝCH VÍN PŘI VÝROBĚ
VINNÝCH KLOBÁS**

THE EFFECT OF THE ADDITION OF LOCAL WINES IN THE PRODUCTION OF WINE SAUSAGES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Eliška Brlíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1540/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Eliška Brlíková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Vliv přídavku tuzemských vín při výrobě vinných klobás

Zadání diplomové práce:

- 1) Zpracování literární rešerše k dané problematice (charakteristika a složení vinných klobás, technologie výroby vinných klobás, charakteristika a chemické složení vína přidávaného do vinných klobás, senzorická analýza)
- 2) Charakterizace vybraných vín
- 3) Výroba vinných klobás s různým přídavkem vína
- 4) Senzorická analýza vyrobených vinných klobás
- 5) Vyhodnocení výsledků, jejich diskuze a závěr práce

Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Eliška Brlíková
student(ka)

RNDr. Renata Mikulíková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Cílem této diplomové práce bylo zjistit vliv přídavku několika druhů tuzemských vín při výrobě vinných klobás. Vybrané vinné odrůdy byly charakterizovány pomocí základních i moderních analytických metod (kapalinová chromatografie s detektorem s diodovým polem) a získané výsledky byly porovnány s výsledky senzorické analýzy. Senzorická analýza byla rozdělena na dvě části, v první bylo hodnoceno šest netradičních vinných odrůd použitých při výrobě vinných klobás a v druhé části byly hodnoceny vzorky s přídavkem tradičně používané vinné odrůdy Veltlínské zelené ovšem v třech různých objemech. Pomocí programu Statistica byla data získaná ze senzorické analýzy zpracována a vyhodnocena vzájemná korelace. Pomocí metody plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem byl stanoven obsah mastných kyselin ve standardním vzorku vinné klobásy. Na základě všech stanovovaných výsledků byla zvolena nejlepší vinná odrůda k výrobě vinných klobás, jednalo se o modrou moštovou odrůdu André.

Abstrackt

The aim of this diploma thesis was to determine the effect of the addition of several types of local wines in the production of wine sausages. Selected wine varieties were characterized using basic and modern analytical methods (liquid chromatography with a diode array detector) and the obtained results were compared with the results of sensory analysis. The sensory analysis was divided into two parts, the first evaluated six non-traditional wine varieties used in the production of wine sausages and the second part evaluated samples with the addition of the traditionally used wine variety Veltlínské zelené, but in three different volumes. Using the Statistica program, the data obtained from the sensory analysis were processed and the mutual correlation was evaluated. Using the gas chromatography method with a flame ionization detector the fatty acid content of a standard sample of wine sausage has been determined. Based on all the determined results, the best wine variety for the production of wine sausages was chosen, it was the blue grape variety André.

Klíčová slova

Vinná klobása, obsah kyselin, senzorická analýza, HPLC-DAD, GC-FID

Key words

Wine sausage, acid content, sensory analysis, HPLC-DAD, GC-FID

BRLÍKOVÁ, Eliška. Vliv přídavku tuzemských vín při výrobě vinných klobás. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/130768>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Renata Mikulíková.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala své vedoucí RNDr. Renatě Mikulíkové Ph.D. za ochotu, trpělivost, odborné rady a lidský přístup při realizaci diplomové práce. Velké díky za podporu patří i všem mým nejbližším.

1 OBSAH

1	OBSAH	5
2	ÚVOD.....	7
3	TEORETICKÁ ČÁST	8
3.1	Maso	8
3.1.1	Složení masa	8
3.1.2	Masné výrobky	10
3.2	Vinné klobásy	11
3.2.1	Historie.....	11
3.2.2	Složení	12
3.2.3	Technologický postup.....	12
3.2.4	Kuchyňské tepelné opracování	12
3.3	Víno	13
3.3.1	Historie révy vinné.....	13
3.3.2	Výroba vína.....	13
3.3.3	Odrůdy révy vinné	14
3.3.4	Aromatické látky ve víně	16
3.3.5	Kyseliny ve víně	17
3.4	Analytické metody	18
3.4.1	Charakteristika vína	18
3.4.2	Kapalinová chromatografie (HPLC).....	18
3.4.3	Plynová chromatografie (GC)	21
3.5	Senzorická analýza	23
3.5.1	Smyslové vnímání.....	24
3.5.2	Hodnotitelé.....	25
3.5.3	Senzorická laboratoř	25
3.5.4	Příprava vzorků.....	26
3.5.5	Senzorická analýza masných výrobků.....	26
3.5.6	Metody laboratorní senzorické analýzy	27

4	PRAKTICKÁ ČÁST	28
4.1	Použité chemikálie a vzorky	28
4.2	Použité přístroje a pomůcky	28
4.3	Příprava vzorků	29
4.3.1	Vinné klobásy.....	29
4.3.2	Plynová chromatografie.....	30
4.3.3	Kapalinová chromatografie.....	31
4.4	Měření a vyhodnocení.....	31
4.4.1	Stanovení hustoty vína pyknometricky	31
4.4.2	Stanovení celkového alkoholu ve víně titračně	31
4.4.3	Stanovení sacharózy ve víně	32
4.4.4	Stanovení volného a celkového SO ₂ ve víně	33
4.4.5	Stanovení mastných kyselin ve vzorku vinné klobásy	34
4.4.6	Stanovení celkového obsahu kyselin a obsahu těkavých kyselin ve víně	34
4.5	Senzorická analýza	34
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	35
5.1	Hustota vín.....	35
5.2	Obsah celkového alkoholu ve víně	35
5.3	Obsah sacharózy ve víně	36
5.4	Obsah celkových a těkavých kyselin ve víně	36
5.5	Obsah volného a celkového SO ₂ ve víně.....	37
5.6	Obsah mastných kyselin ve vinné klobáse	38
5.7	Senzorická analýza	39
5.8	Statistické zpracování	42
6	ZÁVĚR	46
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	48
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	51
9	PŘÍLOHY	52

2 ÚVOD

Vinné klobásky se začaly objevovat v historických pramenech už v polovině 18. století. Jejich původ je ovšem neznámý, přestože vykazují velkou podobnost s bavorskými bílými klobáskami, které pochází z Německa. Vinné klobásky se tradičně konzumovaly v období zimního slunovratu, tedy křesťanského svátku zvaného Vánoce, kdy symbolizovali svým tvarem a zbarvením Slunce.

Dnes se již vinné klobásky běžně prodávají ve všech obchodních řetězcích, a přesto není úplně známo, jaké víno se nejvíce hodí k jejich výrobě. Legislativa nám pouze udává, že musí jít o víno, bez bližší specifikace moštové odrůdy a jeho obsah musí být minimálně 5 hmot. % celkového objemu vinné klobásky.

V této práci bylo mimo nejběžněji používanou vinnou odrůdu vybráno i dalších šest moštových odrůd vín, ze kterých byly podle zvoleného technologického postupu vyrobeny vinné klobásky. Samotná vína byla nejprve charakterizována stanovením základních parametrů, které se ve víně stanovují (hustota, obsah alkoholu a SO_2). Dále byl pomocí moderní analytické metody HPLC s detektorem DAD stanoven celkový obsah kyselin a těkavých kyselin. Vyrobené vinné klobásky byly senzoricky ohodnoceny s důrazem na vnímání kyselosti v předkládaných vzorcích a poté byly tyto data vyhodnoceny pomocí programu Statistica. V standardním vzorku vinné klobásky byl stanoven pomocí analytické metody GC-FID obsah mastných kyselin, který nám dodal představu o hodnotě vinných klobásk ve výživě člověka.

Všechny důležité poznatky a závěry jsou sepsány a diskutovány v jednotlivých kapitolách této diplomové práce.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Maso

Všechny části živočichů, které jsou v čerstvém nebo upraveném stavu a hodí se k lidské výživě, jsou definovány jako maso. Specificky definováno se jedná převážně o příčně pruhovanou svalovinu z těl jatečných zvířat. [1] [2]

Maso je velmi důležitou složkou výživy člověka, protože dokáže pokrýt většinu jeho nutriční potřeby. Důležité je kombinovat živočišnou stravu se stravou rostlinnou, jedině tak dosáhneme kvalitní a vyvážené zdravé stravy. [2]

3.1.1 Složení masa

Maso je tvořeno svalovou tkání bohatou na vodu, bílkoviny, tuky a další látky v různém poměru v závislosti na typu zvířete, z něhož svalová tkáň pochází. Bílkoviny jsou nejvýznamnější složkou z masa, a to hned minimálně ze dvou důvodů. Prvním je nezpochybnitelné nutriční hledisko. O masu můžeme říct, že se jedná o tzv. plnohodnotnou bílkovinu, tedy bílkovinu, která obsahuje všechny esenciální aminokyseliny. Druhé hledisko je technologické. Různé druhy masa mají odlišnou rozpustnost ve vodě a solných roztocích, to má za následek rozmanitost následného technologického zpracování. [2]

3.1.1.1 Voda

Obsah vody v mase se značně liší, podle toho, z jakého zvířete maso pochází a o jakou část jatečního zvířete jde. Velkou roli v obsahu vody hraje i stáří a životní podmínky zvířete. Nejčastěji se však uvádí obsah vody v mase přibližně 75 %. Voda je velmi důležitou složkou potravin, vytváří ideální reakční prostředí a značně ovlivňuje senzorické vlastnosti výrobku. [3]

Obsaženou vodu dělíme na vodu strukturální (vázanou), která je navázána uvnitř globulárních proteinů, pomocí vodíkových iontů. Hydratační (povrchovou), kdy voda makromolekul tvoří jednu nebo dvě vrstvy na povrchu biopolymerů. Nejvíce se však voda vyskytuje v tzv. volné formě, a ta je v mase držena kapilárními silami. [3]

Ke ztrátě vody dochází již při posmrtné ztuhlosti (*rigor mortis*) a pak také např. tepelném opracování, kdy v obou případech dochází ke smršťování filament. [3]

3.1.1.2 Bílkoviny

Jak už bylo řečeno, maso je výborný zdroj bílkovin pro člověka, protože obsahuje esenciální aminokyseliny. Obsah bílkovin v mase se liší podle toho, o jakou anatomickou část jatečního zvířete se jedná. V libovém mase se uvádí průměrný obsah bílkovin okolo 18–22 % hm. Bílkoviny přítomné v mase se rozdělují do tří skupin na myofibrilární, sarkoplazmatické a stromatické. [1] [3]

Největší skupinou bílkovin jsou myofibrilární bílkoviny, tvoří až polovinu všech bílkovin v masu. Tato skupina se dá rozdělit do dalších podtříd podle struktury nebo velikosti. Mezi nejdůležitější a nejvíce zastoupené patří vláknité proteiny myofilament, které vytváří základní strukturu myofibril. Jedná se o aktin a myosin. Další podtřídou tvoří regulační proteiny, kde je třeba zmínit komplexy tropomyosin-troponin nebo také M-protein a C-protein. Poslední skupinou jsou podpůrné strukturální proteiny, ty mají uplatnění ve struktuře myofibril. Patří sem např. titin, nebulin a další. [3]

Sarkoplazmatické bílkoviny jsou rozpustné ve vodě nebo slabých vodných roztocích solí. Řadíme zde z více než padesáti druhů například albuminy, myogen, globulin a myoglobin. Největší význam se klade na hemová barviva myoglobin a hemoglobin, díky nimž má maso typickou červenou barvu. [2] [3]

Stromatické bílkoviny tvoří intramuskulární pojivovou tkáň. Tato tkáň se vlastnostmi liší již na úrovni svalů, záleží také, o jaký druh jatečního zvířata se jedná a jak byl daný jedinec starý. Složení těchto bílkovin je převážně z kolagenních a elastických vláken, ta jsou obklopena proteoglykanovým matrixem. Do stromatických bílkovin řadíme kolagen a elastin. [3]

3.1.1.3 Lipidy

Nejzastoupenější formou lipidů v masu jsou tuky, tedy estery mastných kyselin a glycerolu. Tuk je v těle zvířat rozložen velmi nerovnoměrně. Je uložen buď přímo ve svaích (intracelulární tuk), anebo mezi svalovými vlákny (intracelulární tuk). Dále pak extracelulární tuk, který tvoří základ pro samostatnou tukovou tkáň. Z hlediska chuti je nejvýznamnější intramuskulární tuk, ten tvoří tzv. mramorování masa a podílí se na jeho křehkosti. Tuky jsou také významnými nosiči aromatických látek. Nejčastěji se v masu vyskytují triacylglyceroly vyšších mastných kyselin, mezi které patří kyselina palmitová, stearová a olejová. Jen ve velmi malém množství jsou v masu obsaženy fosfolipidy, které mají díky kyselině fosforečné polární charakter. Působí tak často jako emulgátory tuků. [1]

3.1.1.4 Vitamíny a minerální látky

Velmi důležitou součástí masa jsou vitamíny skupiny B, hlavní pozornost se klade na vitamín B12, který je obsažen výhradně v živočišných potravinách. Tento fakt je důležitý pro vegetariány a další skupiny lidí, kteří ze své stravy záměrně vynechávají živočišné produkty. Deficit tohoto vitamínu a dalších složek je třeba řádně a pravidelně nahrazovat. [1]

Z hlediska minerálních látek v masu je určitě potřebné zmínit vápník. Ten je důležitý při kontrakci svalů a srážení krve. Dále například železo, které je v masu obsaženo ve využitelnější formě než například v rostlinné stravě. [1] [2]

3.1.2 Masné výrobky

Na trhu existuje velké množství masných výrobků, které se od sebe značně liší technologií výroby. Jednotlivé výrobky jsou rozděleny do skupin podle společných technologických postupů. Vše je uvedeno ve Vyhlášce č. 69/2016 Sb. Jednou ze skupin jsou tepelně neopracované masné výrobky, do které patří i vinné klobásy. [4]

3.1.2.1 Tepelně neopracované masné výrobky

Tepelně neopracované masné výrobky se rozdělují do dvou skupin. Vinné klobásy patří podle Vyhlášky č. 69/2016 do skupiny c) tepelně neopracovaných masných výrobků pro tepelnou úpravu zpracovaných masných výrobků, které jsou určeny ke kuchyňské úpravě. Ve všech částech těchto výrobků tedy nedošlo k tepelnému opracování, které by odpovídalo působením teploty 70 °C po dobu 10 minut. Takto vyrobené masné produkty jsou skladovány v modifikované atmosféře a uchovávány v chladu. Teplota výrobků při skladování nesmí překročit 5 °C. Způsob kuchyňské tepelné úpravy volíme podle charakteru daného výrobku. V případě vinných klobás je zvykem konečná úprava pečením, smažením a zřídka i vařením. [4] [5]

3.1.2.2 Výroba

Obecně se při výrobě tepelně neopracovaných masných výrobků dodržuje několik technologických postupů, které mají většinou za úkol zvýšit údržnost konečného produktu, zajistit dokonalou barvu a chuť. Pomineme-li tedy základní surovinu, kterou je maso, ve všech případech se setkáme s přidavkem solících směsí a koření. Pokud se jedná o velkovýrobu je běžný přídavek antioxidantů, barviv, látek ovlivňujících pH, vaznost, údržnost a dalších. [5]

Nepoužívanější solící směsí je chlorid sodný, který dodává výrobku nejen pozitivní senzorické vlastnosti, ale i ty technologické. Solící směsí zvyšují rozpustnost myofibrilárních bílkovin, a tím vytváří strukturu masného výrobku. V případě dusitanu sodného jde také o vznik typického růžového zbarvení výrobku. Reakcí dusitanů s hemovými barvivy nedochází k oxidaci železa v hemu. Vzniká nitroxymyoglobin, který má typickou červeno-růžovou barvu a u konzumenta vyvolává pocit čerstvosti výrobku. [5]

Koření je složka podporující chuť a aroma, často ovšem ovlivňuje i barvu, vzhled, a dokonce i údržnost výrobku. Koření se podává buď ve formě přírodní nebo ve formě extraktů. V domácí či běžné malovýrobně se setkáme většinou s přírodní formou koření. Požadavky na vlastnosti koření jsou uvedeny ve Vyhlášce č.398/2016 Sb. [5]

3.1.2.3 Technologický obal

Masný výrobek se plní tradičně do přírodních obalů, ty však byly v některých případech nahrazeny obaly umělými. Za nejkvalitnější přírodní technologický obal jsou stále považovány přírodní střeva. Jejich výjimečnost spočívá v jejich stravitelnosti, také vytvářejí jednotný

výrobek, díky své chemické podobnosti. Navíc u spotřebitelů vyvolává pocit tradiční výroby a je velmi oblíbený.

Kromě přírodních a umělých obalů se také používají klišovková střeva, ta mají své využití dnes už převážně jen pro trvanlivé salámy. Vinné klobásy jsou tradičně plněny do přírodních skopových střev.

Přírodní střeva jsou schopna kopírovat změny, které vznikají vypařováním. Nevytváří se tak záhyby a celkově umožňují např. při sušení salámů větší odpar vody. Negativní vlastností přírodních obalů je vyšší mikrobiální kontaminace. Potencionální kontaminace může být snížena promýváním střev v kyselých roztocích. Další komplikací při použití přírodních střev jako technologického obalu může být zbytkový tuk, který má tendence žluknout. Přírodních střev je celkový nedostatek, nejčastěji se dováží z asijských států. [5]

3.1.2.4 Modifikovaná atmosféra

Balením potravin do modifikované atmosféry chceme zvýšit jejich údržnost, zachovat čerstvost a také zamezit mikrobiální kontaminaci. Složení modifikované atmosféry se liší, podle toho, jaký výrobek balíme. Důležité je si uvědomit, jak daný produkt v průběhu času pracuje a čeho chceme použitím modifikované atmosféry docílit. V případě balení masa jde o výrobky, ve kterých již neprobíhají metabolické přeměny a výměna plynů je tedy nežádoucí. Nejrozšířenější je vakuové balení masa v poměru obsahu kyslíku s oxidem uhličitým 80:20. Tento poměr se může lišit podle druhu baleného masa. Modifikovaná atmosféra nezaručuje absolutní ochranu výrobku před nežádoucími vlivy, volíme tedy kombinaci s dalšími konzervačními zákroky, nejčastěji sníženou teplotu. [6]

3.2 Vinné klobásy

Vinné klobásy se řadí do kategorie tepelně neopracovaných masných výrobků. Logicky tedy vyplývá, že největším podílem v těchto výrobcích je maso. Jako maso definujeme v úzkém slova smyslu požitelnou svalovou tkáň jatečných zvířat. [4]

3.2.1 Historie

Obecně se o klobásách hovoří už od dob starého Řecka. Co se týče vinných klobás, první zmínky najdeme v dobových kuchařkách z období 19. století. Vinné klobásy se tradičně konzumovaly při oslavách zimního slunovratu, což je pohanský svátek širší společnosti dnes více známý jako Vánoce. Vinná klobása stočená do spirály, se po tepelné úpravě zbarvuje do růžova a připomíná tak právě Slunce. Zajímavostí zůstává, že vinná klobása je v dnešní době opravdu klasický český pokrm. Můžeme však najít jakousi podobnost s bílými klobásami z Bavorska, kdy se Německo řadí k zemi s největší konzumací klobás obecně. [7] [8]

3.2.2 Složení

Jak už samozřejmě název napovídá, zvláštní přísadou, která odlišuje vinnou klobásu od ostatních je právě víno. Podle určitých nepsaných pravidel se má používat víno bílé s vůní muškátu, který nejvíce dokresluje chuť společně s použitým kořením. Další nedílnou složkou je vepřové a hovězí maso v různém poměru. V Tabulce 1 vidíme seznam povinných složek ve vinné klobásě. [9]

Tabulka 1 Povinné složky vinné klobásy

Povinné složky	a) vepřové maso, hovězí maso (použije se jedna z těchto základních surovin nebo jejich libovolná kombinace), víno
	b) obsah masa minimálně 60 % hmotnostních
	c) obsah tuku maximálně 25 % hmotnostních
	d) obsah vína minimálně 2,5 % hmotnostních

Dále se do vinných klobás přidává voda, jedlá sůl, cukr, směs koření, mléko, vejce, žemle, strouhanka a ve velkých výrobních podnicích i přídatné látky podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 (s výjimkou zvýrazňovačů chuti). [9]

3.2.3 Technologický postup

Maso je rozmleto na řezačce. V kutru se k masu přidá voda, kuchyňská sůl, směs koření, rohlíky a další přísady podle receptu. Vše se opět promíchá a rozele na kutru do jemného díla. Po vychlazení se dílo plní do skopových střev o maximálním průměru 24 mm. Hotové klobásy se rozdělí na porce a zabalí do ochranné atmosféry. [10]

3.2.4 Kuchyňské tepelné opracování

Způsoby tepelného opracování se liší použitou teplotou, způsobem, jakým je teplo sdíleno a také přítomností vody v teplotním médiu. Základní dělení rozlišuje tepelné opracování na suché a mokré. Vinné klobásy se tepelně upravují nejčastěji pečením a smažením, což jsou suché způsoby tepelného opracování. Opracování probíhá v otevřené nádobě s nízkým parciálním tlakem vodní páry, při teplotách nad 100 °C. [5]

Při pečení je teplo nejčastěji přenášeno přirozenou nebo nucenou konvekci vzduchu a ta působí na ohřívání výrobek ze všech stran. Teplota vzduchu často přesahuje 100 °C, v jádře výrobku je dosaženo teploty 65–67 °C. Teplotní gradient se vytváří rychle. Intenzivním odpařováním vody do vnějšího prostředí je povrchová vrstva odvodněna. K denaturačním změnám bílkovin přibývá oxidace vzdušným kyslíkem a intenzivnější termické procesy. [5]

Smažení využívá horkou tukovou lázeň. Díky roztavenému tuku je zajištěn rovnoměrný záhřev celého povrchu nad 100 °C. Podmínky jsou zde podobné jako u pečení. V důsledku malé tepelné vodivosti tuku, je výrobek chráněn před místním přehřátím. Vnější vrstva je

zbavena vlhkosti a díky tomu vznikají charakteristické aroma i chuť. Pokud se však teplota dostane nad 135 °C začíná se vyvíjet nepříjemné aroma a chuť, při překročení teploty 150 °C je tento proces velmi intenzivní a znatelně zhoršuje jakost výrobku. [5]

3.3 Víno

Víno je produktem úplného nebo částečného alkoholového kvašení rmutu nebo vinného moštu z registrovaných odrůd révy vinné (*Vitis L.*). Vinný mošt, ze kterého se víno vyrábí je tekutý neředěný produkt získaný přirozenou cestou z čerstvých vinných hroznů, ve kterých nepřekračuje obsah alkoholu 1 % obj. [11].

V České republice je momentálně registrováno 28 moštových odrůd révy vinné. Každá z nich je specifická svým složením organických, které se dají stanovit jak analyticky, tak v případě zkušených vinařů i jen senzorickým posouzením. Jednu z těch nejvýznamnějších rolí ve složení a charakteristice vína hrají aromatické látky. [12]

3.3.1 Historie révy vinné

První zmínky o pěstování révy vinné byly zaznamenány před více než 65 miliony let v euroasijské oblasti. Rozvoj a domestikace šla vždy ruku v ruce s rozvojem lidské civilizace. Podle archeologických nálezů semen révy můžeme určit jako počátek domestikace oblast Blízkého a Středního východu. Rozšíření révy vinné do Evropy, a to konkrétně na dnešní území Moravy, bylo uskutečněno Římany za vlády Marka Aurelia Proba. V průběhu let došlo také ke značným změnám původní révy vinné. Dnešní odrůdy jsou převážně vytvářeny křížením nebo samoopylováním. [12]

3.3.2 Výroba vína

Výroba vín se liší pro bílé a modré moštové odrůdy. Obecně se jedná o alkoholové kvašení, tedy přeměna sacharidů na ethanol.

Bílé moštové odrůdy se mohou zpracovávat řízeným nebo spontánním kvašením. Spontánní kvašení probíhá pomocí mikroorganismů, které se na hroznech vyskytly již při pěstování na vinicích. V případě řízeného kvašení se přidávají aktivní suché kvasinky do moštu a po celou dobu procesu se stejně jako u spontánního kvašení reguluje a sleduje teplota kvašení. Ta má vliv na daný typ vína, které chce vinař vyrobit. Řízené kvašení bychom mohli ještě rozdělit na chladné a kvašení při vyšších teplotách. Chladné kvašení se pohybuje v rozmezí teplot okolo 12-16 °C a je vhodné spíše pro aromatická vína s jemnou chutí a svěží kyselinkou. Je důležité po celou dobu hlídat obsah oxidu siřičitého, jehož spotřeba při použití tohoto typu kvašení může být o něco vyšší. Při kvašení za vyšších teplot by celkový proces neměl překročit 25 °C a v prvotní fázi ještě před samotným začátkem kvašení by měl mít mošt 15-18°C. V průběhu kvašená je pak proces udržován při 20-22°C. Tato metoda je vhodná pro

vína plná v chuti. Nejčastěji se bílé moštové odrůdy kvasí v nerezových tancích, a to reduktivním způsobem, kdy přístup kyslíku je buď žádný nebo minimální. Vše se vždy liší od typu produkovaného vína.

Modré moštové odrůdy jsou významné svojí tzv. fenolickou zralostí hroznů, kdy se sleduje poměr a obsah anthokyaninů a taninů. Tyto látky vytvářejí společně vyváženou chuť a stabilní barvu. Nejběžněji se tyto odrůdy zpracovávají macerací rmutů. Tato metoda má tři části. První je předfermentační, kdy není obsažen žádný alkohol a trvá v řádu hodin až dnů. Druhá část je samotné alkoholové kvašení kdy se zvyšuje obsah alkoholu, což má za následek extrakci taninů ze slupek a pak také ze semen. Poslední část je pofermentační a nastává přibližně při 10-16 % obj. alkoholu, tato fáze může trvat týden až měsíc. Celkově tento proces macerace vede ke stabilizaci barviv a optimalizaci chutí. Toho lze dosáhnout pomocí udržování správné teploty, která se běžně pohybuje v rozmezí 28-30 °C, pokud chceme dosáhnout velmi dobré extrakce volíme vyšší teplotu okolo 30-35 °C. Výsledná kvalita se odvíjí od počáteční kvality použitých hroznů a jejich dostatečné zralosti. Důležitým krokem je makrooxidace (5-8 mg/l/den) a mikrooxidace (5-20 mg/l/měsíc). Při této reakci se oxiduje přiváděným kyslíkem vznikly alkohol na acetaldehyd, díky kterému se mohou extrahované anthokyaniny a taniny polymerizovat a tím se stabilizuje barva a zjemní výsledná chuť vína. Tomuto procesu předchází jablečno-mléčná fermentace, která je potřebná k dalšímu zjemnění chutě, a to přeměnou kyseliny jablečné na mléčnou. Modré moštové odrůdy se běžně dávají zrát do dřevěných sudů, ve kterých se extrahují ze dřeva do vína další zajímavé aromatické látky, zároveň zde probíhá zmíněná mikrooxidace. Nerezové tanky se používají pro výrobu lehkých ovocných vín s krátkou macerací. [12]

3.3.3 Odrůdy révy vinné

Odrůda neboli kultivar je označení pro užitný organismus s vlastnostmi, které ho odlišují od ostatních organismů. Ke stanovení odrůdy ve víně slouží především aromatické látky a kyseliny. Další látky, které se ve víně stanovují z důvodu odrůdové charakterizace jsou minerální látky, které mohou určit geografický původ a jsou tudíž nedílnou součástí při určování autenticity vín. Fenolické látky se stanovují z důvodu určení zralosti hroznů a jejich vlivu na chuť a barvu vín. Dále se mohou stanovovat také aminokyseliny, popřípadě bílkoviny. [12] [13]

V této diplomové práci budou použity převážné bílé moštové odrůdy révy vinné. Konkrétně odrůda Veltlínské zelené, Chardonnay, Ryzlink rýnský, Müller Thurgau a také Veltlínské červené rané. Z modrých moštových odrůd budou použity odrůdy Modrý Portugal a André.

3.3.3.1 Veltlínské zelené

Odrůda hojně rozšířená v oblasti střední Evropy a nejvíce v Rakousku. V České republice se pěstuje pouze na Moravě. Stejně jako odrůda Ryzlink vlašský se jedná o u nás jednu z nejvíce pěstovaných bílých moštových odrůd. Jedná se o odrůdu vhodnou především pro jakostní vína, ale také všechny stupně přívlastkových a také cuvée. Veltlínské zelené je také vhodná odrůda pro využití spontánního kvašení. Většinou se využívá krátkodobá macerace k dosažení plně chuti a aroma. Je vhodné i pro šumivá vína. Aroma má přirovnávané k domácímu ovoci, mandlím, s tóny lipového květu, dokonce chřestu a zelenému hrášku. Chuť bývá popisována jako plná s pikantní kyselinkou. [12]

3.3.3.2 Chardonnay

Aromatická odrůda skupiny Pinot. Tradičně se pěstuje v oblasti Francie. Na našem území v Čechách i na Moravě. Tvorbu esterů tvořící aroma lze podpořit výběrem vhodných kvasinek a teplotou kvašení. Víno má poté více aroma a alkoholu a chuť je méně plná. Chardonnay řadíme do skupiny suchých vín v kategorii pozdního sběru. Tato odrůda se velmi hodí pro výrobu šumivých vín a do cuvée. Aroma této odrůdy můžeme charakterizovat jako ovocné, blízké jablkům, hruškám, kdoulím nebo broskvím. Chuť těchto vín bývá plnější se svěží kyselinou. [12]

3.3.3.3 Ryzlink rýnský

Stará odrůda s neznámým původem. V České republice pěstována jak na území Čech, tak i Moravy. Nejčastěji se vyskytující jako jakostní a kabinetní víno a v posledních letech i pozdní sběr. Ryzlink rýnský má aroma méně intenzivnější, ale velmi podobné Ryzlinku vlašskému. V tomto případě je tedy důležité rychlé zpracování, aby se aroma zachovalo. Tato odrůda se hodí i k výrobě šumivých vín, cuvée, dokonce i k výrobě ledových vín. Díky pěstování v oblastech s vyšším obsahem vápníku mívá Ryzlink rýnský mírně vyšší obsah kyselin. Často se můžeme setkat s jemným buketem a vůní po hořkých mandlích. [12]

3.3.3.4 Müller Thurgau

Jedná se o vyšlechtěný kříženec, který se řadí mezi jednu z nejpěstovanějších odrůd v České republice. Podle toho, kdy se Müller Thurgau sklízí, lze velmi dobře ovlivnit obsah kyselin. Ideálně se hodí jako víno kabinetní s obsahem kyselin přibližně 6 g/l. Pokud se tato odrůda kvasí v chladnějších podmínkách, teploty v rozmezí 15-18 °C, zvýrazní se primární aromatické látky. Mošt voní po muškátu s ovocnými tóny. Odrůda je vhodná pro výrobu cuvée. [12]

3.3.3.5 Veltlínské červené rané

Původ této odrůdy je nejasný. Zjistilo se ovšem, že se jedná s velkou pravděpodobností o křížence Veltlínského červeného a Sylvánské odrůdy. Pěstuje se především na území České

republiky, Slovenska a Rakouska. Veltlínské červené rané je vhodné hlavně k výrobě kvalitních jakostních vín i cuveé. Opět je velmi důležité zvolit správný postup při zpracování, aby se zachovalo aroma. Provádí se tedy důkladné odkalení, na zakvašení se zvolí čistá kultura a po dobu celého procesu kvašení se udržuje nízká teplota. Získáme tím víno s jemně ovocným aroma, s tóny domácího ovoce. Chuť je jemná s pikantní kyselinou. [12]

3.3.3.6 Modrý Portugal

Tradiční a stálá odrůda se zatím neznámým původem se pěstuje v regionech střední Evropy. Pěstovaná na území Čech i Moravy. Modrý Portugal je odrůda vhodná pro mnoho technologií zpracování a k výrobě velmi kvalitních, dokonce i přívlastkových vín se zráním v dřevěných sudech. Vína z této odrůdy se vyznačují rubínovou barvou, plnou chutí a výrazným ovocným aroma po červeném ovoci, které je podpořené jemnou tříslovinou. [12]

3.3.3.7 André

André je odrůda vyšlechtěna na Jižní Moravě. Vznikla zkřížením odrůdy Frankovka a Svatovavřínecké. I kvůli svému původu je samozřejmě pěstována převážně na jihu Moravy, jen výjimečně v Čechách nebo na Slovensku. Podle fenolické zralosti semen je vždy upraven celý proces výroby. Pokud je sklizeno víno s dobře fenolicky dozralými semeny, má tato sklizeň potenciál na zrání v sudech. Největší uplatnění nachází tato odrůda při výrobě přívlastkových vín s obsahem alkoholu více než 13 %. André je odrůda vhodná pro dlouhé skladování. Chuťově se jedná o plné víno s ovocným charakterem a čokoládovým podtónem. [12]

3.3.4 Aromatické látky ve víně

Aromatické látky se podílejí na aroma a odlišují od sebe jednotlivé odrůdy a druhy vín. Mezi nejdůležitější patří monoterpeny, karotenoidy, norisoprenoidy a methoxypyraziny. [12]

Monoterpeny, jejich deriváty a terpenické sloučeniny jsou obsaženy hlavně ve slupce hroznů. Je známo okolo padesáti sloučenin, mezi ty nejvýznamnější se řadí např. linalool, nerol, citronelool a také terpineol. Monoterpeny jsou obsaženy hlavně v odrůdách tzv. muškátových, najít je můžeme ale také v odrůdě Ryzlink rýnský. Podle obsahu monoterpenů se vína dělí na intenzivně aromatická, aromatická a neutrální. Nízký obsah monoterpenů a jejich derivátů v žádném případě neznamená, že se jedná o víno, které je málo aromatické. Jen je jejich aroma tvořeno jinými aromatickými sloučeninami, než jsou monoterpeny. [12]

Karotenoidy a norisoprenoid, které se získávají degradací některých karotenoidů, jsou další významné látky podílející se na aroma vín. Karotenoidy se vyskytují především v pevné části bobule, a to jak slupce, tak i dužině. Norisoprenoidy se uvolňují nejen z části bobulí, ale také později přímo ve víně. Mezi nejvýznamnější zástupce této skupiny patří β -damascenon, α -ionon, a β -ionon. [12]

Methoxypyraziny jsou aromatické látky velmi citlivé na světlo a jako zástupce můžeme uvést isobutylparazin, který oplývá bylinným až travnatým aroma. [12]

Reakcí alkoholu s kyselinou vznikají estery, které se také podílejí na výsledném aroma vína. Nejzastoupenější skupinou esterů tvořící aroma vín jsou těkavé etylestery, které jsou součástí výsledného buketu vín. Přítomné estery vznikají z chemických esterifikačních reakcí nebo působením kvasinek a bakterií. Mezi etylestery patří např. octan etylnatý, mléčnan etylnatý a také etylestery mastných kyselin. Všichni zástupci nesou charakteristickou vůni vín. [14]

3.3.5 Kyseliny ve víně

Ve víně jsou obsaženy organické kyseliny, jejich hmotnostní podíl je však velmi malý a v čase proměnlivý. Kromě organických kyselin je ve víně obsaženo i malé množství minerálních kyselin. Kyselost se hodnotí podle pH nebo organolepticky. Bílá vína jsou obecně kyselejší a jejich hodnota pH se pohybuje okolo 3,3. Červená vína mají hodnotu pH mírně vyšší, nejčastěji v rozmezí 3,4 – 3,6. Správně je udávána kyselost podle celkové acidity, kterou tvoří hlavně organické kyseliny, ale také minerální kyseliny (často ve formě solí), CO_2 a SO_2 . [14]

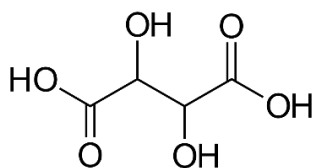
Obsah a množství organických kyselin je přímo ovlivněn klimatickými podmínkami při zrání hroznů. Acidita moštu, ze kterého později vznikne víno je až z 95 % způsobena obsahem kyseliny vinné (Obrázek 1) a kyseliny jablečné (Obrázek 2). Tyto dvě kyseliny se vyskytují vždy a ve všech částech révy vinné. V přibližně desetkrát menším množství se ve víně vyskytuje i kyselina citronová. Celkový obsah kyselin klesá v důsledku jablečno-mléčné fermentace. V průběhu této fermentace je např. záměrně odbourávaná kyselina jablečná. Několik kyselin vzniká až v průběhu samotné fermentace. Jsou produktem metabolismu kvasinek a bakterií. [14]

Kyselina vinná má typickou kovovou příchut' a působí agresivně. V moštech je obsažena v množství 3–7 g/l a ve víně 2–5 g/l. Zajímavostí je, že se tato kyselina v přírodě, kromě révy vinné, skoro nevyskytuje. Probíhající fermentace nemá vliv na obsah kyseliny vinné. Úbytek je způsoben jejím vysrážením do podoby vínanu draselného, tzv. vinného kamene. [14]

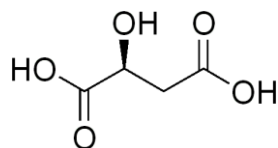
Kyselina jablečná se hojně vyskytuje ve vínech vyrobených z méně vyzrálých hroznů. Obsah této kyseliny se značně liší v závislosti na použité odrůdě hroznů a také klimatických podmínkách. Její obsah v moštu je 3-12 g/l a ve víně 0-5 g/l. Obsah v hroznech se s vyzráváním snižuje. [14]

Kyselina citronová je obsažena ve větším množství v hroznech, které byly napadeny ušlechtilou plísní nebo v případě ledového vína. V takovém případě je její obsah až 0,6 g/l. Její běžné množství v moštech se pohybuje okolo 0,2-0,5 g/l a ve víně ještě méně, a to 0,05-0,5 g/l. Kyselina citronová je zkrasitelná bakteriemi mléčného kvašení, které ji rozkládají a snižují její

obsah ve vínech. Tato kyselina se rozkládá mléčným kvašením na diacetyl, který způsobuje máselnou pachut'. [14]



Obrázek 1 Kyselina vinná [15]



Obrázek 2 Kyselina jablečná [16]

3.4 Analytické metody

3.4.1 Charakteristika vína

Víno se dá charakterizovat pomocí jednoduchých i moderních analytických metod. Existuje seznam základních parametrů, které se u každého vína nejčastěji stanovují, patří mezi ně hustota, obsah alkoholu, kyselin, SO₂ a cukrů.

Při stanovování hustoty vína pyknometricky se počítá s poměrem hmotnosti látky k jejímu objemu při dané teplotě (20 °C). V destilační aparatuře s vodní parou se vydestiluje alkohol ze zalkalizovaného vzorku vína a určí se pyknometricky jeho hustota. Určuje se přesným vážením prázdného pyknometru a pyknometru s přesně vymezeným objemem vody a vína. Stanovení hustoty vína se dá využít také pro stanovení veškerého extraktu, ten představuje netěkavé látky rozpuštěné ve víně po oddestilování alkoholu a dalších těkavých látek. [11]

Výsledkem kvasného procesu fermentace vinného moštu, který obsahuje cukry vzniká alkohol, který lze stanovit pyknometricky nebo titračně. Při pyknometrické metodě vycházíme z principu, že alkohol je sumou těkavých alkoholů a esterů, které se při destilaci etanolu neoddělí. Výsledek je vyjádřen v objemových procentech (% obj.), jako objemový poměr množství etanolu v litrech v objemu 100 litru vína při 20 °C. [11]

Při titračním stanovování alkoholu se jedná o oxidometrickou metodu podle Rebeleina, která je založena na zoxidování alkoholu, který byl získán destilací, a to oxidační směsí kyseliny dusičné a chromanu draselného. Zpětnou titrací chromanu draselného roztokem thiosíranu se stanoví jodometricky hmotnostní koncentrace alkoholu (g.l-1). Pomocí přepočtu i objemová procenta alkoholu. [11]

3.4.2 Kapalinová chromatografie (HPLC)

Kapalinová chromatografie spadá do kategorie analytických technik, jejichž principem je separace směsi látek mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Podle svých vlastností jsou fáze pojmenovány na mobilní a stacionární. Mobilní fází je kapalina a stacionární fází sorbent, který je umístěn plošně nebo v koloně. Historie této techniky se datuje od roku 1903. První

experimenty separace částic tímto způsobem zkoušel ruský botanik M. S. Tsvet. Od té doby se samozřejmě celá metoda značně vyvinula. Očekávané efektivity samotné separace bylo dosaženo až s použitím vysokého tlaku při separaci. Kvůli vysokému tlaku je však kladen vysoký nárok na kvalitu všech komponent kapalinového chromatografu. [17] [18]

HPLC (Obrázek 4) se v dnešní době využívá jak pro kvantitativní, tak pro kvalitativní analýzy. Konkrétně se kapalinová chromatografie nejčastěji využívá pro analýzu látek, které vykazují špatnou termickou stabilitu a těkavost. Je známo hned několik mechanismů, podle kterých můžeme dané látky separovat. Jedná se o adsorpční, rozdělovací, afinitní, gelové permeační a iontové výměnný. [17] [18]

V této diplomové práci byla metoda HPLC-DAD použita k zjištění celkového obsahu kyselin, těkavých a jednotlivých kyselin ve vzorcích vín.

3.4.2.1 Mobilní fáze a vzorkování

Již samotný výběr mobilní fáze je pro celou analýzu velmi zásadní. Pokud je mobilní fáze méně polární než fáze stacionární, jedná se o chromatografii s normálními fázemi, tzv. NP-LC. V opačném případě má mobilní fáze vyšší polaritu oproti stacionární fázi a nazývá se chromatografie s reverzními fázemi neboli RP-LC. Celá analýza touto metodou je významně ovlivněna elučním módem. Pokud je zvolena izokratická eluce, je složení mobilní fáze po celou dobu analýzy konstantní. V opačném případě se jedná o gradientovou eluci, kdy se mění nejen složení mobilní fáze, ale tím i eluční síla rozpouštědla. Pokud volíme NP-LC jsou vhodná nepolární rozpouštědla (např. hexan a chloroform). Při použití RP-LC se volí obvykle směs vody s methanolem, ethanolem nebo acetonitrilem.

Mobilní fáze je uchovávána v zásobních nádobách z vhodného materiálu, tím je nejčastěji sklo nebo polymerní materiál. Nádoby musí být vždy dobře uzavřeny, aby nedocházelo k odparu, nebo kontaminaci z okolního prostředí. Aby mohlo docházet k vyrovnání tlaků, nádoby se umísťují výše než chromatograf. Nejdříve prochází mobilní fáze přes filtr, kde dojde k záchytu částic, které by mohly celý proces znečistit. Dále následuje velmi důležitý krok a to odplynění. Jedná se o odstranění vzduchových bublin pomocí vakua, ultrazvuku nebo probublávání heliem. Takto připravená mobilní fáze je dále vysokotlakovým čerpadlem převedena na kolonu, kam je zároveň vzorek z vialky dávkován ventilem nebo automatickým dávkovačem. [17] [18]

3.4.2.2 Kolony

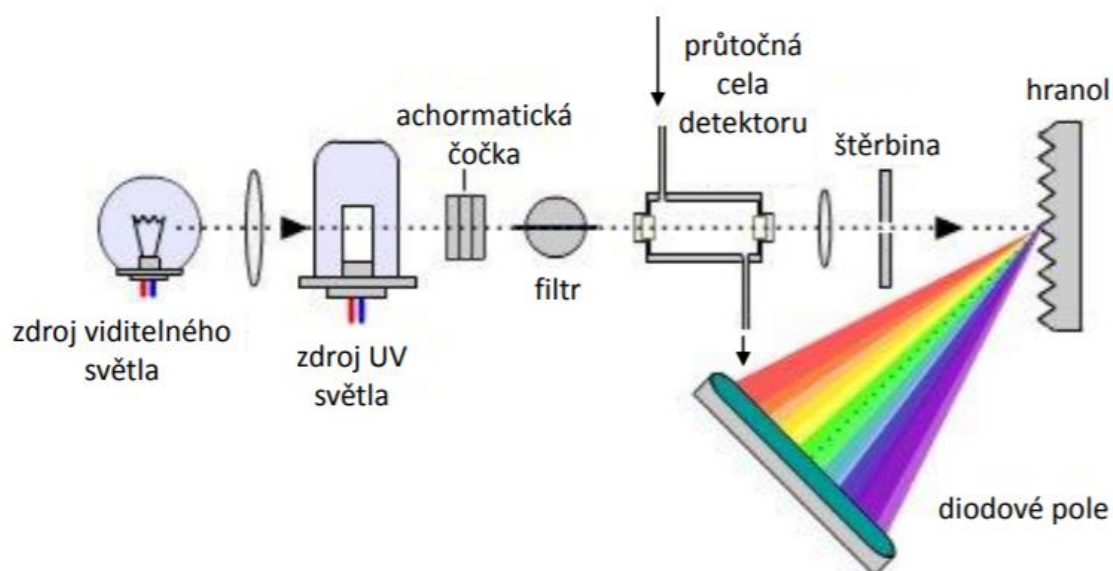
V koloně dochází k samotné separaci analytu na základě odlišné afinity ke stacionární fázi. Čím větší má analyt pozitivní afinitu ke stacionární fázi, tím déle je v koloně zadržen, což se projeví na retenčním čase. Kolony mohou být plněny pevným materiálem, např. oxidem hlinitým a oxidem křemičitým. Druhou možností je, že stacionární fází je kapalina a ta je vázaná

na nosič. Kolona se může nacházet po celou dobu měření v termostatu, který udržuje po celou dobu žádanou teplotu. [17] [18]

3.4.2.3 Detekce

Detektor je důležité zařízení na konci kolony, díky kterému se fyzikálně chemické vlastnosti analytu převádí na elektrický signál, který je dále zpracován. Analyt po opuštění kolony protéká skrz detektor, který je různě citlivý na určitou vlastnost separovaných složek. Signál, který detektor vysílá je zaznamenáván v závislosti na čase. Zaznamenává se retenční čas, který značí čas od nástřiku analytu na kolonu po vrchol zaznamenaného píku. Jedná se o specifickou vlastnost pro každou látku a její různé koncentrace. Pro kapalinovou chromatografii existuje široké spektrum detekcí, např. UV-VIS, fluorescenční, elektrochemická a další. Často se také využívá kombinace HPLC s hmotnostní spektrometrií, tzv. LC-MS. [17] [18] [19] [20]

DAD detektor, který vidíme na Obrázku 3 se řadí mezi detektory využívající diodové pole, díky kterému dokážou snímat celé spektrum vybraných vlnových délek bez přerušení separace. Pomocí DAD lze detekovat velké množství látek, které absorbují světlo v rozmezí vlnové délky od 190 do 900 nm. Světlo, které projde měrnou celou detektoru je rozptýleno na disperzní mřížce a získané spektrum dopadá na senzitivní diodu, která zaznamenává intenzitu jednotlivých vlnových délek. Výsledkem je poté signál, který je převeden pomocí softwaru nejčastěji na 3D záznam, kde lze vidět závislost absorbance, vlnové délky a času. [17]

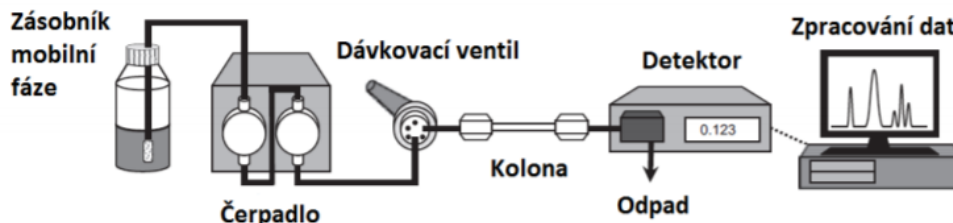


Obrázek 3 Schéma DAD [21]

3.4.2.4 Vyhodnocení dat

Výstupem z měření pomocí kapalinové chromatografie je chromatogram. Chromatogram je soubor píků Gaussovského tvaru. Identifikace sloučenin se provede podle retenčního času.

Plocha píku je přímo úměrná koncentraci dané sloučeniny ve vzorku. Můžeme tedy provést jak kvalitativní, tak kvantitativní analýzu. Chromatografy používané v dnešní době jsou propojeny s počítačem, kde se pomocí programu kontrolují a nastavují jednotlivé parametry a minimalizuje se tak chybovost při výpočtu plochy pod píky apod. [17]



Obrázek 4 Schéma HPLC

3.4.3 Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie (GC) je separační analytická metoda, která se využívá k separaci látek v plynném stavu. Jednotlivé části vzorku jsou ve vialce rozpuštěny a v injektoru převedeny do plynné fáze, aby mohly být distribuovány mezi mobilní a stacionární fází. Mobilní fází je inertní plyn, který slouží jako přenašeč vzorku kolonou, nedochází zde k interakci mezi fází a vzorkem.

Plynová chromatografie je využívána především k separaci organických sloučenin, které je možné převést do plynného stavu a mají bod varu nižší než 400 °C. Výhody plynové chromatografie spočívají v její relativní jednoduchosti, možnosti analyzovat vzorky již v malém množství a také účinnosti daných separací.

Plynový chromatograf je složen z dávkovacího zařízení, termostatu, ve kterém je umístěna kolona, tlakové nádoby s inertním plynem, detektoru a zařízení ke zpracování signálu a vyhodnocovacího zařízení (Obrázek 5). Od místa vstřiku po detektor se nachází zařízení v termostatu, který udržuje konstantní teplotu. [19] [23] [24]

V této diplomové práci byla použita tato analytická metoda ke stanovení obsahu mastných kyselin ve standardním vzorku vinné klobásky.

3.4.3.1 Mobilní fáze a vzorkování

Inertní plyn, který tvoří mobilní fázi je umístěn v tlakové nádobě. Nejčastěji se v dnešní době používá jako mobilní fáze helium, které má velmi dobré separační vlastnosti a dusík, případně vodík. Pokud chceme použít tyto plyny k separaci, musí vykazovat vysokou míru čistoty (99,99%). Za tlakovou nádobou je umístěno regulační zařízení, díky kterému je regulován průtok plynu po dobu celé separace.

Samotný vzorek je do kolony dávčován pomocí dávkovače, ty jsou v dnešní době už převážně automatické. Dávkovač je injekční stříkačka s jehlou, která dávkuje vzorek přes gumové septum. Nástřik vzorku na kolonu lze provést třemi způsoby. Mezi nejběžnější způsoby dávkování patří v dnešní době metoda splitless injection, tedy nástřik bez děliče toku,

kdy se jedná o způsob vhodný například pro stopovou analýzu, nástřikový objem kolony tvoří pouze 0,5 – 5 µl. Druhou možností je použití metody nástřiku pomocí děliče toku (split injection), která je vhodná pro koncentrované vzorky. Posledním způsobem je nástřik přímo do kolony (on column), který se ovšem v dnešní době využívá jen velmi výjimečně. Principem správného dávkování je co nejkratší doba odpaření separovaného vzorku. [19] [24]

3.4.3.2 Kolony

Kolona je nejdůležitější částí samotného chromatografu, dochází zde k separaci složek vzorku mezi mobilní a stacionární fází. Kolony využívané v plynové chromatografii dělíme na náplňové a kapilární.

Náplňové kolony se od dob vynalezení kolon kapilárních používají velmi zřídka, většinou jen v případech, kdy není nutné vysoké rozlišení nebo je potřeba zvýšit kapacitu kolony. Náplňové kolony jsou dlouhé 1–10 m s průměrem 2–6 mm.

Nejpoužívanější typ kapilárních kolon je vyroben z oxidu křemičitého, který je potažen vrstvou polyimidu, ten zajišťuje ochranu před polámáním. Dnes již méně častým materiálem pro výrobu kapilárních kolon je nikl a nerezová ocel. Vnitřní průměr kolony se pohybuje od 0,1 do 0,53 mm a délka od 15 do 150 m. Nejběžnějším typem kapilární kolony je kolona, která má vnitřní stěnu pokrytou tenkým filmem kapalné stacionární fáze (WCOT). Tloušťka filmu se pohybuje od 0,1 do 0,5 µm a je tvořena např. nepolárním polydimethylsiloxanem nebo polárním polyethylenglykolem (PEG). Tuto vrstvu filmu lze velmi snadno modifikovat a upravit tak selektivitu kolony. Dalším typem kapilární kolony je SCOT, tedy kolona s mikročásticemi, které jsou vázané ke stacionární fázi na vnitřní stěně kapiláry. Vnitřní průměr SCOT kolon je větší než u WCOT kolon. [25]

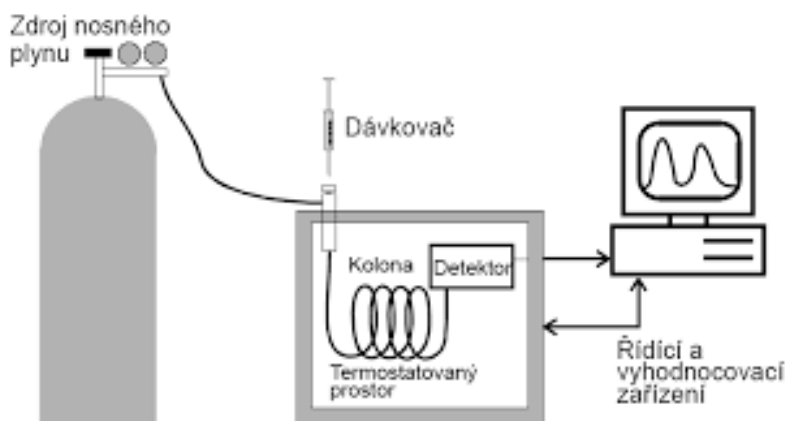
3.4.3.3 Detekce

Detektor je důležité zařízení na konci kolony, díky kterému se fyzikálně chemické vlastnosti analytu převádí na elektrický signál, který je dále zpracován. Analyt společně s nosným plynem po opuštění kolony protékají skrz detektor, který je různě citlivý na určitou vlastnost separovaných složek. Signál, který detektor vysílá je zaznamenáván v závislosti na čase. Zaznamenává se retenční čas, který značí čas od nástřiku analytu na kolonu po vrchol zaznamenaného píku. Jedná se o specifickou vlastnost pro každou látku a její různé koncentrace. Detektory se dají rozdělit do dvou skupin na destruktivní a nedestruktivní. Jak už název napovídá při použití destruktivního detektoru dochází k nevratným změnám analytu, naopak u nedestruktivního detektoru je analyt bez změn. Mezi destruktivní detektory můžeme zařadit např. FID (plamenově ionizační detektor), MS (hmotnostní spektrometr) a k nedestruktivním detektorům např. ECD (detektor elektronového záchytu) a TCD (tepelně vodivostní detektor). [19] [24] [20]

Plamenově ionizační detektor (FID) patří mezi často používané způsoby detekce analyzovaného vzorku. Vzorek je přiváděn na vodíkový plamen, kde vzorek podléhá pyrolýze nebo chemické dekompozici vlivem vysoké teploty. Vlivem pyrolýzy vzniká iont CHO^+ , který je zaznamenáván a převeden na elektrický signál. Odezva detektoru je tedy lineární k proudu uhlíku, který prochází detektorem. FID má vysokou citlivost a i přesto, že se jedná o destruktivní metodu detekce je velmi oblíbený. [26] [27]

3.4.3.4 Vyhodnocení dat

Výstupem z měření pomocí plynové chromatografie je chromatogram. Chromatogram je soubor píků Gaussovského tvaru. Kdy podle retenčního času lze poznat konkrétní sloučeninu. Plocha píku je přímo úměrná koncentraci dané sloučeniny ve vzorku. Můžeme tedy provést jak kvalitativní, tak kvantitativní analýzu. Chromatografy používané v dnešní době jsou propojeny s počítačem, kde se pomocí programu kontrolují a nastavují jednotlivé parametry a minimalizuje se tak chybovost při výpočtu plochy pod píky apod. [17]



Obrázek 5 Schéma GC [22]

3.5 Senzorická analýza

Potřeba senzorické analýzy v potravinářství se datuje přibližně k druhé polovině minulého století. Byl to důsledek vzrůstající tendence počtu potravinových závodů a množství produktů, které byly přiváděny zákazníkům na trh. Výsledky z těchto analýz nejsou potřebné jen pro vývoj daného produktu, ale také pro lepší marketing a celkovou identifikaci potraviny. Senzorická analýza je vědecká metoda využívající všech lidských smyslů k analýze. Celý tento proces analýzy probíhá za přesně definovaných podmínek, ty mají minimalizovat zkreslení výsledků. Podmínky jsou stanovené pro místo konání analýzy, způsob servírování vzorků i chování hodnotitelů. Lidé, kteří provádějí test by měli být minimálně poučeni o základních zásadách, které by se měly dodržovat během testu. Pokud se jedná o hodnotitele s dlouholetou praxí a vzděláním, mluvíme o akreditovaném znalci. Tito znalci bývají často zaměřeni na jednu konkrétní komoditu a v ní jsou odborníci. Výsledky senzorické analýzy jsou

často velmi různorodé, a to jednoznačně kvůli tomu, že jsou založeny na lidském vnímání, pozorování a hodnocení produktu [28] [29].

3.5.1 Smyslové vnímání

Při sensorickém hodnocení využívá každý hodnotitel všechny svoje smysly. Jednoznačně nejdůležitější bývá chuť, čich a zrak přímo následovaný hmatem a sluchem [28] [29].

3.5.1.1 Chuť

Smyslovým orgánem chuti je povrch jazyka a dutina ústní. Hlavně na povrchu jazyka se nachází chuťové papily, uvnitř kterých jsou chuťové pohárky. Ty mají tvar brv a jsou částečně pohyblivé. Chemické látky difundují do sekretu slinných žláz, který se vyskytuje na povrchu chuťových pohárků a dojde k reakci s chuťovými receptory. Reakce je založená na uvolnění specifických G-proteinů, ty zajistí tok iontů, které vedou signál do temenního laloku mozkové kůry. Zde je informace zpracována na vjem. Rozlišujeme pět základních chutí, a to sladkost, slанost, hořkost, kyselost a chuť umami. Další chutě jsou zatím v diskusi. Donedávna se předpokládalo, že každá chuť má své specifické místo na jazyku, dnes už ale víme, že chuťové receptory jsou rozmístěny po celé ploše jazyka. Každý člověk má rozmístění a také počet specifických receptorů individuální. Je ale možné, že se receptory pro jednu chuť vyskytují ve větší míře jen na určité ploše jazyka [28].

3.5.1.2 Čich

Orgánem čichu je nejen nos, ale s ním i celá horní část nosní dutiny. Díky struktuře olfaktorického epitelu se na velmi malém povrchu vytváří dostatečně velký povrch k interakci s chemickými sloučeninami. Receptory jsou nervové buňky pokryty sekretem z Bowmanových žláz, který je udržuje vlhké. Životnost těchto buněk je přibližně měsíc, než dojde k jejich obnově a jejich počet s věkem klesá. Vonné látky ze vzduchu jsou nasáty nosem a zachyceny a rozpuštěny v sekretu čichových žlázek obsahujících přenosový protein. Vytvořený komplex je přenesen přímo k receptorům s G-proteiny, kde dojde k změně konformace. Tato reakce vygeneruje elektrický signál vedený do mozku, který jej zpracuje do formy vjemu, tedy vůně. Celková citlivost vnímání vůní není u člověka tak rozšířená, máme však vcelku slušnou schopnost rozlišovací, a to již při nízkých koncentracích. Samostatný čich není při sensorické analýze tak důležitý, je ale důležitou součástí tzv. flavour, tedy kombinací chutě, čichu a hmatových informací z ústní dutiny [28].

3.5.1.3 Zrak, hmat a sluch

Jelikož se nejedná o ty nejdůležitější smysly při sensorické analýze, dojde zde pouze ke stručnému popisu. Zrak je při analýze tohoto typu důležitý hlavně z psychologického hlediska. Člověk je zvyklý na určitou podobu daného produktu a již na první pohled dokáže rozlišit, jestli

se mu produkt líbí či nikoliv. Zrak může dobře sloužit také k hodnocení barvy, velikosti a jednotnosti struktury produktu. Hmat poskytuje již zmíněnou hmatovou informaci z vnitřku ústní dutiny, ale také z povrchu rtů, popřípadě rukou. Tato informace o produktu je využívána spíše kvalifikovanými hodnotiteli k ohodnocení struktury jemnosti nebo například měkkosti produktu. Sluch má při senzorickém hodnocení nejmenší využití, pomocí vnímání zvuku můžeme ohodnotit texturu například dostatečnou křupavostí či křehkostí, ty bývají často spjaty i s čerstvostí [29].

3.5.2 Hodnotitelé

Účastníky senzorické analýzy můžeme rozdělit do třech základních skupin, podle míry jejich proškolení. Pokud se jedná o jednotlivce bez jakékoliv předešlé zkušenosti s takovým typem analýzy, mluvíme o spotřebiteli. Spotřebitel hodnotí produkt často zaujatě, nezná základní pravidla, která by se měla dodržovat při hodnocení. Výsledky hodnocení jsou však velmi důležité pro marketing a dokážou dodat obraz o tom, co chce běžný člověk, tedy zákazník. Druhou skupinou jsou osoby se základním proškolením označovány jako hodnotitelé. V rámci proškolení byli poučeni o tom, že během senzorické analýzy by se neměli navzájem ovlivňovat názory, měli by být potichu a v klidu. Před analýzou by neměli kouřit, použít výrazné vůně a jíst výrazná jídla, která by mohla ovlivnit jejich vnímání chuti. Senzorické analýzy ve větších i menších podnicích jsou často zaměřeny pouze na jeden produkt nebo na produkty velmi podobné. To samozřejmě vyplývá z toho, co daný závod vyrábí. V těchto firmách se tedy vyskytuje jedinec nebo skupina jedinců, kteří jsou úzce specializovaní na senzorickou analýzu jedné komodity produktů. Těmto jedincům se říká experti. Existují také metodičtí experti, kteří mohou hodnotit široký sortiment potravin. Obecně jsou tito lidé schopni již při velmi malých koncentracích látek poznat rozdíl mezi produkty. Jsou pravidelně proškolováni a zkoušeni a vedeni k tomu, aby byli schopni daný produkt i řádně popsat. Nerozvíjí se tedy pouze jejich smyslové vnímání, ale také systematickosti a schopnost vyjádření, což jsou velmi důležité požadavky na jedince, který se účastní jakékoliv senzorické analýzy. Z toho vyplývá, že v populaci jsou jedinci, kteří mají přirozeně větší dispozice k tomu, být senzorickými hodnotiteli. Mají sensiblnější smysly, dobré vyjadřovací a popisné schopnosti a jsou systematictí. Podle toho, čeho chceme dosáhnout jako výsledku, oslovíme buď spotřebitele, hodnotitele nebo experty k provedení senzorické analýzy [28] [29].

3.5.3 Senzorická laboratoř

Bezpochybně dalším důležitým bodem, který by měl být při senzorické analýze dodržen je vhodné prostředí. Jelikož jde o to, aby se zamezilo, co v největší míře ovlivnění analýzy vnějšími vlivy, je zvolené prostředí velmi zásadní. Pro tyto případy bylo sepsáno několik přesně daných podmínek, které by měla taková místnost splňovat. Podmínky jsou shrnuty v ČSN EN

ISO 8589. Zde bude zmíněno stručně jen několik nejzákladnějších požadavků. Samozřejmostí je čistá místnost, dobře větraná od případných pachů. Nic by nemělo působit rušivě a tomu je přizpůsobena i zvolená barva malby stěn, izolace hluku z venkovního prostředí, zastření oken a naprostá absence výzdoby v místnosti. Při sensorické analýze hodnotí běžně několik jedinců najednou, a proto je důležité oddělit jejich prostor. K tomuto účelu slouží kóje, které zajišťují soukromí při samotném hodnocení. Počet těchto kóji je omezen na 4-15 kusů v jedné sensorické laboratoři. Velmi důležité je zvolit odpovídající světlo, umělé by mělo imitovat přírodní zdroj při specifických podmínkách popsanych v již dříve zmíněné normě ČSN EN ISO 8589. V normě je popsána i ideální vzdušná vlhkost a teplota v místnosti [28] [29] [30].

3.5.4 Příprava vzorků

V přípravně vzorku, tedy místnosti, která je v těsné blízkosti sensorické laboratoře, avšak odděleně, se připravují vzorky. Je zde dostatek potřebného nádobí, skladovacích prostor a pomůcek pro přípravu vzorků. Vzorky jsou připravovány hodnotitelům podle běžných zvyklostí způsobu servírování dané potraviny. Dochází tak k minimalizaci rušivých dějů. Nádoby musí být neutrální, čisté a pro všechny hodnotitele stejné. Vzorky jsou podávány v dostatečném množství, tak aby hodnotitelé dokázali z dané porce vše dostatečně sensoricky zanalyzovat. Opět platí pravidlo, že hodnotitelé dostávají každý stejně velkou porci. Důležitá součást přípravy vzorků hodnotitelům je jejich označení a to tak, aby vše bylo čitelné, jasné a odpovídalo údajům ve formuláři. Dochází také k naprosté randomizaci, tedy náhodnému označení všech vzorků. Vyvarujeme se tak zbytečnému spekulování a asociacím od hodnotitelů a zvýšíme objektivnost sensorické analýzy [28] [29].

3.5.5 Sensorická analýza masných výrobků

Každá komodita, která se sensoricky hodnotí má svá specifika. V tomto případě se zaměříme na sensorickou analýzu masných výrobků, přesněji vinných klobás. Klobásy se řadí do tepelně neopracovaných masných výrobků, tepelně se opracovávají těsně před samotnou sensorickou analýzou. V našem případě byla zvolena tepelná úprava pečením. Existují předepsané základní parametry, které se u těchto výrobku hodnotí. Jedná se o vzhled a barvu, vzhled v nákroji, konzistenci, chuť a vůni, popř. šťavnatost. Celkově se hodnotí podle škály po pěti stupních: vynikající, velmi dobrá, dobrá, méně dobrá, nevyhovující. Specificky u barvy a vzhledu se zaměřujeme na pravidelnost, homogenitu, jestli je dílo bez tukových podlitin či není deformované. Pro vzhled v nákroji je důležité sledovat homogenitu, vypracovanost a nežádoucí přítomnost vzduchových dutin. Správná konzistence se vyznačuje prvky jako je nepopraskanost, pevnost na povrchu, napnutost, elasticita, pevnost při krájení a pevnost při skusu specifickou pro daný výrobek. Při hodnocení chutě i vůně by měl dbát hodnotitel na to, aby byla výrazná, zároveň harmonická, čistá, typická pro druh výrobku, bez cizích pachů,

kořenitá a v tomto případě samozřejmě také masová. Při senzorické analýze masných výrobků se používá standardních neutralizátorů jako jsou voda a pečivo. Pokud je to možné vzhledem ke složení hodnotitelů, můžeme přistoupit k použití vodky jako tekutého neutralizátoru. Vodka se používá pro schopnost zbavit se pocitu tučnosti v ústech [31].

3.5.6 Metody laboratorní senzorické analýzy

Zvolená metoda závisí na druhu posuzovaného vzorku, míře proškolení hodnotitelů, a také na hladině statistické spolehlivosti. Nejčastěji se používá metoda hodnocení pomocí stupnic, které dělíme na hédonické a intenzitní. Hédonické stupnice určují stupeň oblíbenosti a neoblíbenosti. Pomocí intenzitních stupnic lze vyjádřit intenzitu zvoleného senzorického znaku. Použití stupnic upravuje norma ČSN ISO 4121. [29]

4 PRAKTICKÁ ČÁST

4.1 Použité chemikálie a vzorky

Vzorky vín pocházely z Dolních Kounic z vinařství Musil od vinaře Ing. Ladislava Musila.

0,35 M roztok K_2CrO_4

konc. HNO_3

30 % roztok KI

0,35 M $Na_2S_2O_3$

škrobový maz

konc. HCl

30 % NaOH

Carrez I a Carrez II roztok

$CaCO_3$

nasycený roztok $Pb(C_2H_3O_2)_2$

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$

0,5 M H_2SO_4

vinan sodno-draselný

1 M NaOH

16 % H_2SO_4

0,02 M roztok jódu

transesterifikační směs (koncentrace inertního standardu kyseliny heptadekanové C17 0,5 mg/ml)

hexan HPLC kvality

miliQ voda

destilovaná voda

4.2 Použité přístroje a pomůcky

kuchyňský robot, kuřák, trouba, vortex, analytické váhy, pyknometr, vodní lázně, sušárna, termostat, lednice s mrazákem, destilační aparatura, běžné laboratorní sklo Simax, pipety, GC-FID značky Trace 1300 TM od firmy Thermo Fischer s kolonou Zebron GC FAME (30 m, 0.25 mm, 0.20 μ m) (Phenomenex, USA),

HPLC Dionex UltiMate 3000 s DAD detektorem řady Vanquish (Thermo Fischer, USA) s kolonou Kinetex C18 EVO 150 mm, 4,6 mm, 2.6 μ m (Phenomenex, Washington, DC, USA)

4.3 Příprava vzorků

4.3.1 Vinné klobásy

Vzorky vinných klobás byly připraveny v prostorách FCH VUT v Brně. Všechny suroviny, kromě vína byly zakoupeny v obchodním řetězci Makro. Víno pocházelo z vinařství Musil. Klobásy byly vyrobeny podle technologického postupu z receptu [32].

Postup přípravy vinných klobás podle zvoleného receptu: Nejemno nameleme zvlášť vepřovou plec a vepřový bok. Dáme vychladit alespoň na 30 minut. Rohlíky nakrájíme na kusy dlouhé 5 cm, dáme je do misky, zalijeme mlékem a necháme v lednici 1 hodinu nasakovat. Všechny suroviny musí být po celou dobu co nejstudenější. Do robotu dáme nejprve umletou vepřovou plec, k ní přidáme sůl a koření (pepř, mletý muškátový oříšek, mletý hřebíček) a postupně přidáváme ledovou smetanu, vychlazené víno a vejce. Po promíchání surovin přidáme nejemno umletý vepřový bok a namočené rohlíky a vypracujeme jemné pojivé dílo. Hotové zamíchané dílo opět vychladíme na 1 hodinu v lednici. Poté ho narazíme do skopových střev o maximálním průměru 24 mm. Takto připravené vinné klobásy (Obrázek 6) pečeme na 180-200 °C přibližně 25 minut. [32]



Obrázek 6 Ukázka vyrobené vinné klobásy

Vždy byla připravena jedna dávka, která byla rozdělena na půl. Do poloviční dávky bylo přidáno 40 ml (poloviční dávka) dané odrůdy vína. Celkově se vyrobilo od každé odrůdy vína přibližně 1,5 m klobás. Dílo bylo plněno do skopových střev o kalibru 18/21 mm. Takto, připravené klobásy byly upečeny v troubě na program pečení při 200 °C po dobu přibližně 25 minut. K senzorické analýze byly podávány vzorky o velikosti 4 cm.

Pro druhou část senzorické analýzy byly připraveny klobásy stejným způsobem. Rozdíl byl v přidavku vína (Tabulka 2) odrůdy Veltlínské zelené. Byl vytvořen tzv. standardní vzorek, který odpovídal původnímu receptu a poté vzorek s dvojnásobným množstvím vína a s dvakrát

menším množstvím vína. Celkově bylo vyrobeno přibližně 3 metry standardního vzorku a 1,5 m vzorků s různými objemovými přídávky vína odrůdy Veltlínské zelené. Dílo bylo plněno do skopových střev o kalibru 18/21 mm. Připravené klobásy byly upečeny v troubě při 200 °C po dobu přibližně 25 minut. K sensorické analýze byly podávány vzorky o velikosti 4 cm (Obrázek 7).



Obrázek 7 Vzorky vinných klobás připravené k sensorické analýze

Tabulka 2 Přídavek vín

	Přídavek na dávku (ml)	Podíl z celkového objemu (%)
poloviční dávka	20	4-5
standard	40	8-9
dvojnásobek	80	16-17

4.3.2 Plynová chromatografie

Přibližně 2 g vzorku standardní vinné klobásy byly lyofilizovány. Lyofilizované vzorky byly naváženy po 10 mg do tří krimpovacích vialek a do každé bylo pipetováno 1,8 µl transesterifikační směsi s koncentrací inertního standardu kyseliny heptadekanové C17 0,5 mg/ml. Celkově byly připraveny tři referenční vzorky, ty byly uzavřeny víčkem a vloženy do termostatu s teplotou 85 °C na 120 minut. V termostatu vlivem zvýšené teploty proběhla derivatizace. Po vyjmutí z termostatu byla tekutá část z vialek odlita do čistých 5 ml vialek. Bylo přidáno 0,5 ml NaOH a 1 ml hexanu HPLC kvality. Po uzavření vialky víčkem byla 5 minut protřepávána, aby došlo k oddělení fází. Z horní nepolární fáze bylo odpipetováno 100 µl do šroubovací vialky a přidáno 900 µl čistého hexanu HPLC kvality. Vialka byla uzavřena víčkem se silikonovým septem. Takto připravený vzorek byl analyzován metodou GC-FID.

4.3.3 Kapalinová chromatografie

Z každé odrůdy vína bylo odebráno 200 µl vzorku, který byl naředěn 8 µl Milli-Q vody. Toto ředění bylo provedeno celkově 5x. Naředěný vzorek byl přefiltrován přes 0,45 µm nylonový filtr do vialky a analyzován pomocí analytické metody HPLC-DAD.

4.4 Měření a vyhodnocení

4.4.1 Stanovení hustoty vína pyknometricky

Vzorek vína byl nejprve vytřepán v Erlenmeyerově baňce, aby došlo k odstranění přítomného CO₂. Víno se zfiltrovalo do suché odměrky a vložilo do vodní lázně, kde se temperovalo na 20 °C po dobu 20 minut společně se vzorkem destilované vody. Mezi tím byl zvážen prázdný a suchý pyknometr na analytických vahách s přesností na čtyři desetinná místa. Pyknometr byl naplněn až k hrdlu vytemperovanou destilovanou vodou a uzavřen zátkou. Přebytečná voda vytekla kapilárou v zátce. V pyknometru nesměly být žádné vzduchové bubliny. Takto naplněný pyknometr byl zvážen a následně vyprázdněn. Poté byl pyknometr opláchnut trochou etanolu a vysušen v sušárně. Stejný postup naplnění a zvážení byl proveden se vzorkem vína. Pro výpočet hustoty vína byl použit následující vzorec. [11]

$$\rho_v = \frac{(m_{pv} - m_{pp})}{V_p}$$
$$V_p = \frac{(m_{pvo} - m_{pp})}{\rho_{vo}}$$

ρ_v = hustota vína [g · ml⁻¹]

m_{pv} = hmotnost pyknometru naplněného vínem [g]

m_{pp} = hmotnost prázdného pyknometru [g]

m_{pvo} = hmotnost pyknometru naplněného vodou [g]

V_p = objem použitého pyknometru [ml]

ρ_{vo} = hustota vody při teplotě 20 °C (0,9982 g · ml⁻¹)

4.4.2 Stanovení celkového alkoholu ve víně titračně

Nejprve byla připravena oxidační směs do 500 ml kuželovité baňky, kdy bylo pipetováno 10 ml 0,35 mol·l⁻¹ roztoku K₂CrO₄ a přidáno 25 ml koncentrované HNO₃. Baňka byla umístěna k vývodu z chladiče destilační aparatury, trubice chladiče sahala pod hladinu až na dno baňky. Do destilační baňky bylo pipetováno 1 ml vzorku vína a 10 ml destilované vody. Směs se v destilační baňce zahřála. Celá destilace trvala tři minuty od jejího začátku. Po uplynutí tří minut byla trubice destilační aparatury opláchnuta destilovanou vodou a přidalo se 250 ml destilované vody a 10 ml roztoku 30 % KI. Titrovalo se roztokem 0,35 M Na₂S₂O₃. Ke konci titrace bylo přidáno 10 ml škrobového mazu a titrace pokračovala do světlomodré barvy. Tato

spotřeba byla označena jako a. Následně se opět do 500 ml kuželovité baňky pipetovalo 10 ml $0,35 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ roztoku K_2CrO_4 a bylo přidáno 25 ml koncentrované HNO_3 a také 250 ml destilované vody a 10 ml 30 % roztoku KI . Tento roztok byl titrován odměrným roztokem $0,35 \text{ M Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Ke konci titrace bylo přidáno 10 ml škrobového mazu a titrace pokračovala do světlomodré barvy. Tato spotřeba byla označena jako b. Pro výpočet hmotnostní koncentrace alkoholu a objemového zlomku alkoholu byly použity následující vzorce. [11]

$$c_{\text{mD}} = (1 - a/b) \cdot 120$$

c_{mD} = hmotnostní koncentrace alkoholu [$\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]

a = spotřeba odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ vzorku bez destilátu [ml]

b = spotřeba odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ vzorku bez destilátu [ml]

$$w_{\text{VD}} = (1 - a/b) \cdot 15,2$$

w_{VD} = objemový zlomek alkoholu [% obj.]

4.4.3 Stanovení sacharózy ve víně

U vína, kde se očekává nižší množství cukrů se pipetuje do 100 ml odměrných baněk 20 ml vzorku vína. V baňce A probíhá inverze, v baňce B jsou cukry bez inverze. V obou baňkách byl upraven celkový objem pomocí destilované vody na 30 ml. Do baňky A bylo přidáno 2,5 ml koncentrované HCl . Tato baňka se dále zahřívá ve vodní lázni na $67\text{--}70^\circ\text{C}$ po dobu 5 minut, při kterých probíhala inverze. Následně se obsah baňky zchladil a zneutralizoval 30 % roztokem NaOH na pH papírek.

Bílá vína se mohou čerit pomocí Carrezových roztoků. Do obou baněk bylo přidáno po 5 ml roztoku Carrez I. a Carrez II. a objem se důkladně promíchal. Po 5 minutách stání byl objem doplněn po rysku destilovanou vodou, promíchán a zfiltrován.

Červená vína se čerí nasyceným roztokem neutrálního octanu olovnatého. Do obou baněk bylo přidáno 0,5 g uhličitane vápenatého a 1 ml nasyceného roztoku neutrálního octanu olovnatého, objem se důkladně promíchal. Po 5 minutách stání byl objem doplněn po rysku destilovanou vodou, promíchán a zfiltrován.

Jeden mililitr filtrátu odpovídá 0,2 ml původního vína. Ve filtrátech A a B byl stanoven jodometricky obsah cukrů. Do 250 ml kuželovité baňky bylo pipetováno 10 ml měďnatého roztoku. Roztok byl tvořen 41,92 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10 ml roztoku $0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$, doplněný do 1 litru destilovanou vodou. Dále bylo do kuželovité baňky pipetováno 5 ml alkalicko-vinanového roztoku. Tento roztok byl tvořen 250 g vinanu sodno-draselného, 80 g NaOH , doplněný do 1 l destilovanou vodou. Obsah baňky byl promíchán, pipetou se přidalo 2 ml vzorku vína. Směs byla přivedena k varu během 4-5 minut. Po 1,5 minuty byla směs ochlazená přidávkem 25 ml destilované vody a dochlazená na laboratorní teplotu proudem studené vody. Dále bylo přidáno 25 ml roztoku KI , který byl tvořen 300 g KI , 100 ml roztoku $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{NaOH}$ doplněný do 1 litru destilovanou vodou. Dále také 10 ml roztoku 16 % H_2SO_4 a 10 ml škrobového mazu.

Směs byla okamžitě titrována roztokem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ z modrofialové barvy do bílé barvy. Pro stanovení slepého pokusu bylo místo 2 ml vzorku vína pipetováno 2 ml destilované vody, jinak je postup zcela totožný. Pro výpočet koncentrace redukujících cukrů ve víně a následně množství sacharózy byly použity následující vzorce. [11]

$$x = (a - b) \cdot \frac{c_S}{c_D}$$

x = hodnota rozdílu spotřeb

a = spotřeba roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci slepého pokusu [ml]

b = spotřeba roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci vzorku vína [ml]

c_S = skutečná koncentrace roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]

c_D = daná koncentrace roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)

K zjištěné hodnotě rozdílu spotřeb (x) byla přiřazena odpovídající hmotnost stanovených redukujících cukrů podle tabulek. Následně bylo toto množství vyjádřeno jako koncentrace redukujících cukrů ve víně ($\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$). Rozdíl obsahů redukujících cukrů po inverzi (A) a před inverzí (B) byl vynásoben faktorem 0,95. Výsledkem je tedy množství sacharózy ve vzorku vína.

4.4.4 Stanovení volného a celkového SO_2 ve víně

Pro stanovení volného oxidu siřičitého byl zvolen postup, při kterém se do titrační baňky pipetovalo 50 ml vzorku vína a bylo přidáno 10 ml 16 % kyseliny sírové a 5 ml 0,5 % škrobového mazu. Následně byl vzorek vína ihned titrován roztokem jódu o koncentraci $0,02 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ do modrofialového zbarvení. Tato spotřeba byla označena písmenem a.

Celkový oxid siřičitý byl stanoven podle postupu, kdy se do titrační baňky odpipetovalo 50 ml vzorku vína, přidalo se 25 ml $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ roztoku NaOH. Po 15 minutách bylo přidáno 15 ml 16 % roztoku H_2SO_4 a 5 ml 0,5 % škrobového mazu. Následně byl vzorek vína ihned titrován roztokem jódu o koncentraci $0,02 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ do modrofialového zbarvení. Tato spotřeba byla označena písmenem b.

Při titraci červených vín byl obsah titrační baňky prosvěcován ze strany baterkou, aby se lépe odhadl bod ekvivalence, tedy bod barevné změny. Množství volného a celkového oxidu siřičitého byl vypočten podle následujících vzorců. [11]

$$X_{VO} = a \cdot 12,8 \cdot \frac{c_S}{c_D}$$

$$X_{CE} = b \cdot 12,8 \cdot \frac{c_S}{c_D}$$

X_{VO} = množství volného oxidu siřičitého [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

X_{CE} = množství celkového oxidu siřičitého [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

a = spotřeba roztoku jódu na volný oxid siřičitý [ml]

b = spotřeba roztoku jódu na celkový oxid siřičitý [ml]

c_S = skutečná koncentrace roztoku jodu [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]

c_D = daná koncentrace roztoku jodu ($0,02 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)

4.4.5 Stanovení mastných kyselin ve vzorku vinné klobásy

Stanovení obsahu mastných kyselin bylo provedeno metodou plynové chromatografie s FID detektorem série Trace 1300 TM od firmy Thermo Fischer. K separaci mastných kyselin byla použita kapilární kolona Zebron GC FAME (30 m, 0.25 mm, 0.20 μm) (Phenomenex, USA). Objem dávkovaného vzorku byl 1 μl v modu split. Split poměr byl 10. Jako nosný plyn byl zvolen vodík o průtoku 0.5 ml/min.

4.4.6 Stanovení celkového obsahu kyselin a obsahu těkavých kyselin ve víně

Pro stanovení obsahu kyselin, včetně těch těkavých byla zvolena metoda HPLC-DAD. Jednalo se o chromatografickou sestavu Dionex UltiMate 3000 s DAD detektorem řady Vanquish (Thermo Fischer, USA) s použitím kolony Kinetex C18 EVO 150 mm, 4,6 mm, 2.6 μm (Phenomenex, Washington, DC, USA) při průtoku 1,2 ml/min, teplota kolony 25 °C v gradientové eluci s mobilními fázemi: A: ACN:TrisHCl:MeOH 84:14:2 a mobilní fáze B: MeOH:EtAc 60:40. Hodnota pH TrisHCl byla 8.

4.5 Senzorická analýza

Senzorická analýza se konala dne 8.6.2021 v laboratoři senzorické analýzy v prostorách FCH VUT v Brně od 9:30 do 16:00. Všichni příchozí respondenti hodnotili celkově devět vzorků vinných klobás. Hodnocení bylo provedeno pomocí předem připravených dotazníků (Příloha č. 1). Hodnotitelé byli převážně proškolení akademičtí pracovníci a studenti Fakulty chemické.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Hustota vín

Pyknometrickou metodou stanovení hustoty bylo změřeno, že největší hustotu z vybraných vzorků vín vykazuje modrá moštovací odrůda André (Tabulka 3). Hustota mohla mít vliv na konzistenci a texturu vzorku. Z výsledků senzorické analýzy vidíme, že vzorek s přídavkem odrůdy André má nejlépe hodnocenou konzistenci, textura byla hodnocena jako průměrná. Nejmenší hustota byla naměřena u bílé moštovací odrůdy Chardonnay. Vzorek vinné klobásy s přídavkem odrůdy Chardonnay byl hodnocen z hlediska konzistence velmi pozitivně, hodnocení textury vzorku bylo druhé nejhorší. Rozdíl mezi hustotami odrůd André a Chardonnay jsou tři desetinná místa, i přes to je zde vidět mírný vliv na konečnou texturu vzorku a její pozitivní i negativní hodnocení při senzorické analýze.

Tabulka 3 Výsledné hodnoty hustoty vín

Odrůda vína	Hustota (kg/m ³)
Veltlínské zelené	0,993
Chardonnay	0,992
Müller Thurgau	0,993
Ryzlink rýnský	0,994
Veltlínské červené rané	0,993
Modrý Portugal	0,993
André	0,995

5.2 Obsah celkového alkoholu ve víně

Byla použita oxidometrická metoda podle Rebeleina, která je založena na oxidaci alkoholu získaného destilací. Oxidace probíhá pomocí oxidační směsi kyseliny dusičné a chromanu draselného. Hmotnostní koncentrace alkoholu byla stanovena zpětnou titrací chromanu draselného roztokem thiosíranu sodného jodometricky. Přepočtem byla získána objemová procenta alkoholu.

Celkový obsah alkoholu byl proměřen u všech sedmi zvolených druhů vzorků vín (Tabulka 4). Největší obsah alkoholu byl naměřen u bílé moštovací odrůdy Chardonnay (13,76 % obj.). Bílá moštovací odrůda Müller Thurgau měla nejmenší obsah celkového alkoholu (11,94 % obj.). Při porovnání obsahu alkoholu ve vínech s výsledky senzorické analýzy nelze vyvodit žádná významná souvislost.

Tabulka 4 Výsledné hodnoty obsahu celkového alkoholu ve víně

Odrůda vína	Celkový obsah alkoholu (% obj.)
Veltlínské zelené	12,63
Chardonnay	13,76
Müller Thurgau	11,94
Ryzlink rýnský	12,05
Veltlínské červené rané	12,44
Modrý Portugal	12,50
André	12,08

5.3 Obsah sacharózy ve víně

Koncentrace sacharózy se stanovuje z rozdílu množství redukujících cukrů po inverzi a před inverzí, tento rozdíl se násobí faktorem 0,95. Jelikož je sacharóza neredukující sacharid, za varu neredukuje alkalicko-měďnatý roztok.

Obsah cukrů ve víně, tedy obsah fruktózy a glukózy byl naměřen u bílé moštovací odrůdy Chardonnay, celkových 5,7 g/l (Tabulka 5). Hodnota 0,2 g/l představuje nejmenší naměřenou hodnotu cukru, naměřena byla u modré moštovací odrůdy André. Vliv obsahu sacharózy ve zvolených odrůdách vína na senzorické hodnocení je popsán společně s obsahem celkových kyselin v kapitole 5.4 Obsah celkových a těkavých kyselin ve víně.

Tabulka 5 Výsledné hodnoty obsahu sacharózy ve víně

Odrůda vína	Obsah cukru (g/l)
Veltlínské zelené	4,1
Chardonnay	5,7
Müller Thurgau	4,0
Ryzlink rýnský	2,0
Veltlínské červené rané	3,6
Modrý Portugal	0,5
André	0,2

5.4 Obsah celkových a těkavých kyselin ve víně

K získání těchto výsledků byla využita analytická metoda HPLC s DAD detektorem. Výsledné hodnoty celkového obsahu kyselin (Tabulka 6) byly použity k porovnání s vnímáním kyselosti vzorků vinných klobás v rámci senzorického hodnocení a obsahu sacharózy ve vzorcích vína. Přehled obsahů jednotlivých kyselin ve víně můžeme vidět v Tabulce 7.

Odrůda Chardonnay má největší celkový obsah kyselin z všech měřených vzorků vín. V senzorické analýze byla ohodnocena jako nejlepší klobása pouze jedním z hodnotitelů a její celkové výsledné hodnocení je spíše podprůměrné. Zajímavostí je, že tato odrůda má zároveň i největší obsah cukrů. Můžeme tedy usuzovat, že kombinace vysokého obsahu kyselin a cukrů hodnotitelé chuťově nijak nezaujala a není pro použití do vinných klobás úplně vhodná. Odrůda s druhým největším celkovým obsahem kyselin je Ryzlink rýnský, který má zároveň i nejmenší obsah cukrů z bílých moštových odrůd vín. Organolepticky by tedy měl vykazovat

velmi kyselou chuť, což mělo podle výsledků sensorické analýzy velký vliv na celkové hodnocení tohoto vzorku. Hodnotitelé se při tomto vzorku velmi rozcházel, což bývá u sensorické analýzy běžné, protože jde o subjektivní hodnocení. Vzorek s použitím odrůdy Ryzlink rýnský byl zvolen jako nejchutnější, ale zároveň jako nejméně chutný.

Tabulka 6 Výsledné hodnoty obsahu celkových a těkavých kyselin ve víně

Odrůda vína	Celkové kyseliny (g/l)	Těkavé kyseliny (g/l)
André	7,1 ± 0,1	0,66 ± 0,02
Modrý Portugal	5,7 ± 0,1	0,63 ± 0,02
Veltlínské červené rané	6,6 ± 0,1	0,65 ± 0,01
Chardonnay	11,0 ± 0,1	1,80 ± 0,01
Ryzlink rýnský	9,9 ± 0,1	0,62 ± 0,02
Veltlínské zelené	5,6 ± 0,1	0,35 ± 0,01
Müller Thurgau	9,4 ± 0,1	0,56 ± 0,01

Tabulka 7 Výsledné hodnoty obsahu jednotlivých kyselin ve víně

Odrůda vína	kyselina vinná (g/l)	kyselina jablečná (g/l)	kyselina mléčná (g/l)
André	3,29±0,01	-	2,36±0,01
Modrý Portugal	1,82±0,01	-	3,66±0,02
Veltlínské č. rané	3,04±0,01	2,43±0,01	0,23±0,01
Chardonnay	1,8±0,01	5,19±0,02	0,12±0,01
Ryzlink rýnský	2,41±0,01	5,09±0,02	0,20±0,01
Veltlínské zelené	2,74±0,01	2,23±0,01	0,23±0,01
Müller Thurgau	3,35±0,01	4,93±0,01	0,15±0,01

5.5 Obsah volného a celkového SO₂ ve víně

Oxid siřičitý působí ve víně redukčně a konzervačně. V menším množství má pozitivní vliv na aroma vína. Pokud je obsah SO₂ ve víně vyšší než 10 mg·l⁻¹, je povinnost tuto informaci uvést na etiketě. Maximální přípustná koncentrace SO₂ ve vínech je určena na 200 mg·l⁻¹. Volný oxid siřičitý rozpuštěný ve víně stanovujeme jodometrickou titrací. Roztok jódu přímo oxiduje volný SO₂ a v alkalickém prostředí může po uvolnění z vazeb oxidovat i vázaný oxid siřičitý.

Největší obsah volného oxidu siřičitého a zároveň celkového obsahu oxidu siřičitého vykazovala bílá moštovací odrůda Ryzlink rýnský (Tabulka 8). Nejmenší hodnota obsahu volného SO₂ byla naměřena u bílé moštovací odrůdy Veltlínské zelené. Nejmenší obsah celkového SO₂ byla však naměřena u modré moštovací odrůdy Modrý Portugal.

Tabulka 8 Výsledné hodnoty obsahu volného a celkového SO₂ ve víně

Odrůda vína	Obsah volného SO ₂ (mg/l)	Obsah celkového SO ₂ (mg/l)
Veltlínské zelené	21	86
Chardonnay	28	106
Müller Thurgau	39	130
Ryzlink rýnský	71	179
Veltlínské červené rané	22	113
Modrý Portugal	38	80
André	31	85

5.6 Obsah mastných kyselin ve vinné klobáse

Pomocí metody GC-FID byl získán přehled o obsahu mastných kyselin v standardním vzorku vinné klobásy (Tabulka 9). Standardní vzorek byl vyroben podle zvoleného receptu s přidavkem vinné odrůdy Veltlínské zelené. Průměrné hodnoty obsahu mastných kyselin z třech referenčních vzorků, které byly ve vzorku identifikovány jsou rozděleny na SFA (nasycené mastné kyseliny), MUFA (mono-nenasycené mastné kyseliny) a PUFA (poly-nenasycené mastné kyseliny). Z SFA byla největším podílem zastoupená kyselina palmitová, což není překvapením, protože jde o nejrozšířenější kyselinu obsaženou v tucích, nejčastěji živočišného původu. Převážný podíl použitého masa k výrobě vinných klobás tvořil vepřový bok, který je na obsah tuků opravdu bohatý, což se z výsledků potvrdilo. Z MUFA byla nejvýrazněji zastoupena kyselina elaidová. Jedná se o trans formu kyseliny oktadekenové, kde se dvojná vazba nachází na devátém uhlíku. Trans formy mastných kyselin není vhodné konzumovat ve vyšších množstvích, zvyšují totiž riziko arteriosklerózy a vznik diabetu. Ze skupiny PUFA byly identifikovány pouze dvě kyseliny. Významněji zastoupenou byla kyselina linolová. Tato kyselina patří do skupiny omega-6 mastných kyselin, které jsou pro tělo esenciální. Celkový příjem v potravě by měl tvořit až 5 % z celkového příjmu lipidů. [33]

Tabulka 9 Výsledné hodnoty obsahu mastných kyselin v standardním vzorku klobásy

	název MK	mg/ml
SFA	kapronová	0,004720
	kaprylová	0,005042
	kaprinová	0,011974
	laurová	0,007396
	myristová	0,227899
	palmitová	0,388710
	stearová	0,157853
MUFA	myristolejová	0,002986
	palmitolejová	0,036565
	elaidová	0,353287
	olejová	0,001797
PUFA	linolová	0,228336
	α -linolenová	0,016492
celkový obsah		1,266887

V následující Tabulce 10 můžeme vidět procentuální zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin ve vzorku vinné klobásy a celkové zastoupení lipidů ve vzorku. Přestože se jedná o vzorek vyrobený převážně z masa a dalších živočišných produktů (např. smetana, vejce) není obsah lipidů příliš vysoký. Poměr jednotlivých skupin MK naznačuje, že by se měl konzument vyhnout častému požívání vinných klobás ve větším množství, protože z hlediska lipidů jsou až z 50 % tvořeny SFA, které mohou mít negativní vliv na lidské zdraví.

Tabulka 10 Hodnoty procentuálního zastoupení MK v standardním vzorku klobásy

Zastoupení skupin mastných kyselin		
SFA	MUFA	PUFA
50,79 %	29,41 %	59,43 %
Zastoupení lipidů ve vzorku		12,67 %

5.7 Senzorická analýza

Celkově bylo hodnoceno šest parametrů na stupnici od 1 do 5. Kdy 1 se rovnala nejlepšímu hodnocení a hodnota 5 nejhoršímu. V Tabulce 11 a Tabulce 12 je uvedeno celkové zhodnocení první části sensorické analýzy.

Tabulka 11 Výsledky sensorického hodnocení jednotlivých parametrů u vinných klobás

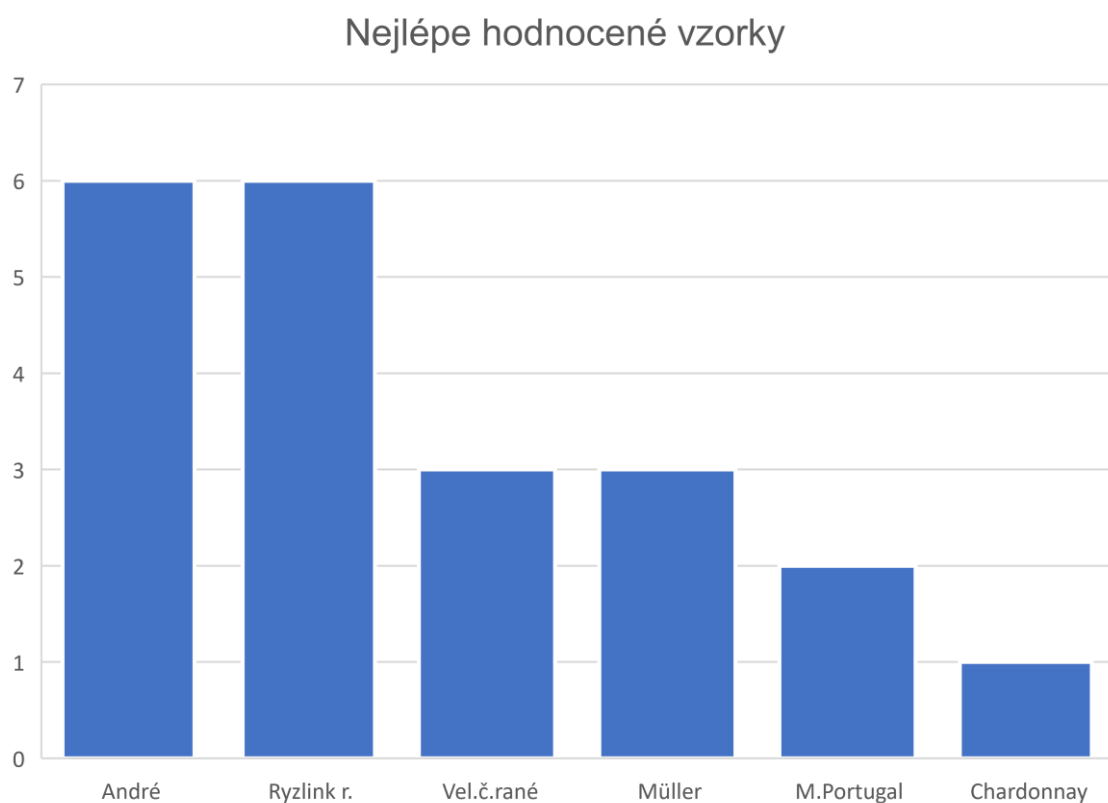
Odrůda vína	Ozn. vzorku	Řez	Vůně	Konzistence	Textura	Chuť	Kyselost
Ryzlink r.	A321	2,24	2,29	2,33	2,20	2,00	2,33
André	A283	1,62	2,33	2,05	2,24	2,00	2,14
M. Portugal	A683	1,90	2,14	2,43	2,48	2,43	2,24
Müller	A592	2,33	2,45	2,43	2,90	2,48	2,62
Chardonnay	A429	1,76	2,57	2,19	2,76	2,43	2,33
Vel. č. rané	A183	2,10	2,45	2,19	2,19	2,19	2,38

V první části sensorické analýzy byly hodnoceny jednotlivé parametry u vzorků s přídavky vín různých vinných odrůd. Hodnotitelé měli také za úkol seřadit podle svých preferencí vzorky od nejchutnější po nejméně chutnou. Z vyhodnocení vyplývá, že jako nejchutnější byly shodně zvoleny vzorky obsahující bílou moštovou odrůdu Ryzlink rýnský a zároveň modrou moštovou odrůdu André. Zajímavostí je, že odrůda Ryzlink rýnský byla zvolena také jako nejméně chutná varianta vína ve vinné klobáse. Jelikož je sensorické hodnocení velmi subjektivní, lze na těchto výsledcích pěkně vidět, jak má každý hodnotitel odlišné preference pro to, co je chutné a co ne. Ryzlink rýnský má podle analýz nejmenší podíl cukrů z bílých moštových odrůd, to mohlo zvýraznit kyselost tohoto vína, která byla zhodnocena většinou jako žádoucí, zároveň větší část hodnotitelů odradila a tento vzorek ohodnotili, jako nejméně chutný. Modrá moštová odrůda André má celkově nejmenší obsah cukrů ze všech použitých vzorků vín, ale také poměrně vyšší celkový obsah kyselin. Na přímou otázku intenzity a vyváženosti kyselosti byla nejlépe vyhodnocena právě odrůda André. Můžeme tedy shrnout, že z vybraných odrůd vín se k výrobě vinné klobásy nejlépe podle vyhodnocení sensorické analýzy hodí modrá moštová odrůda André. Bereme na vědomí, že zde nebyla hodnocena vinná odrůda Veltlínské zelené, která je nejběžnější odrůdou používanou při výrobě vinných klobás. Při této sensorické analýze byly zhodnoceny pouze alternativy k této tradičně používané odrůdě. To, že byla zvolena jako nejchutnější právě modrá moštová odrůda André lze vysvětlit kladnou odezvou na intenzitu a vyváženost kyselosti, která byla podle hodnotitelů nejvhodnější. Za nejchutnější ji tedy zvolili hodnotitelé preferující jemnější, a ne tak výraznou vinnou až nakyslou chuť.

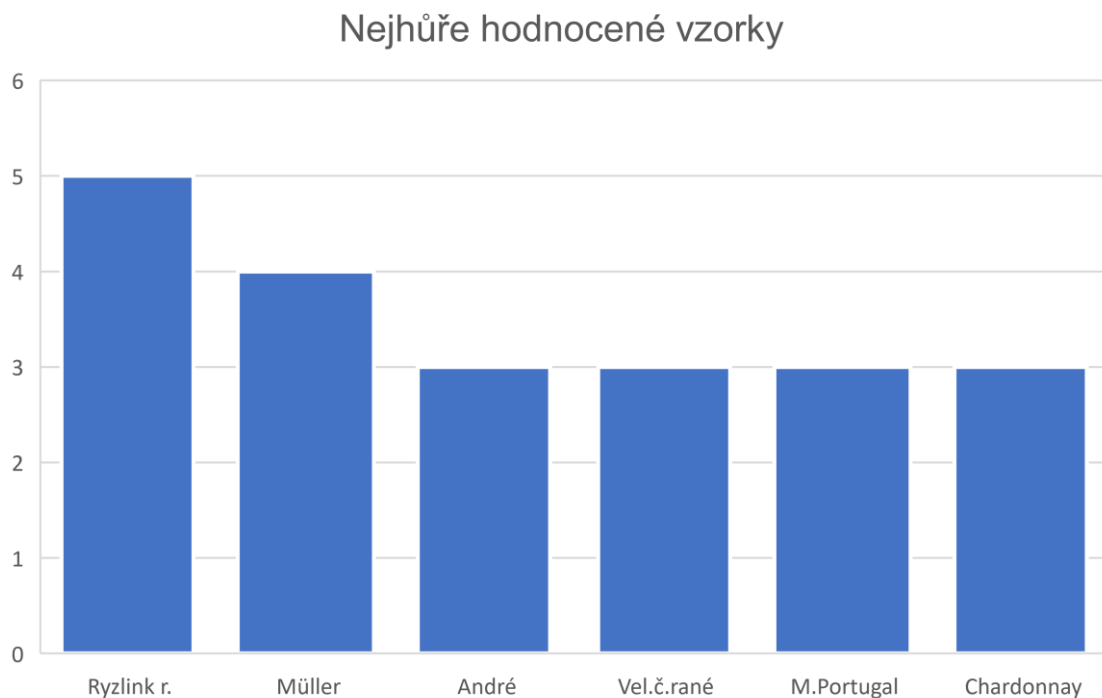
Výsledek je to trochu překvapivý, pokud přihlédneme k tomu, že se tradičně modré moštové odrůdy k výrobě vinných klobás nepoužívají. Grafické znázornění nejlépe a nejhůře ohodnocených vzorků vinných klobás z první části sensorické analýzy můžeme vidět na Obrázku 8 a Obrázku 9.

Tabulka 12 Výsledky první části sensorické analýzy

Odrůda	Označení vzorku	nejchutnější	nejméně chutné
André	A283	6	3
Vel. č. rané	A183	3	3
Ryzlink r.	A321	6	5
Müller	A592	3	4
M. Portugal	A683	2	3
Chardonnay	A429	1	3



Obrázek 8 Grafické znázornění výsledků první části sensorické analýzy

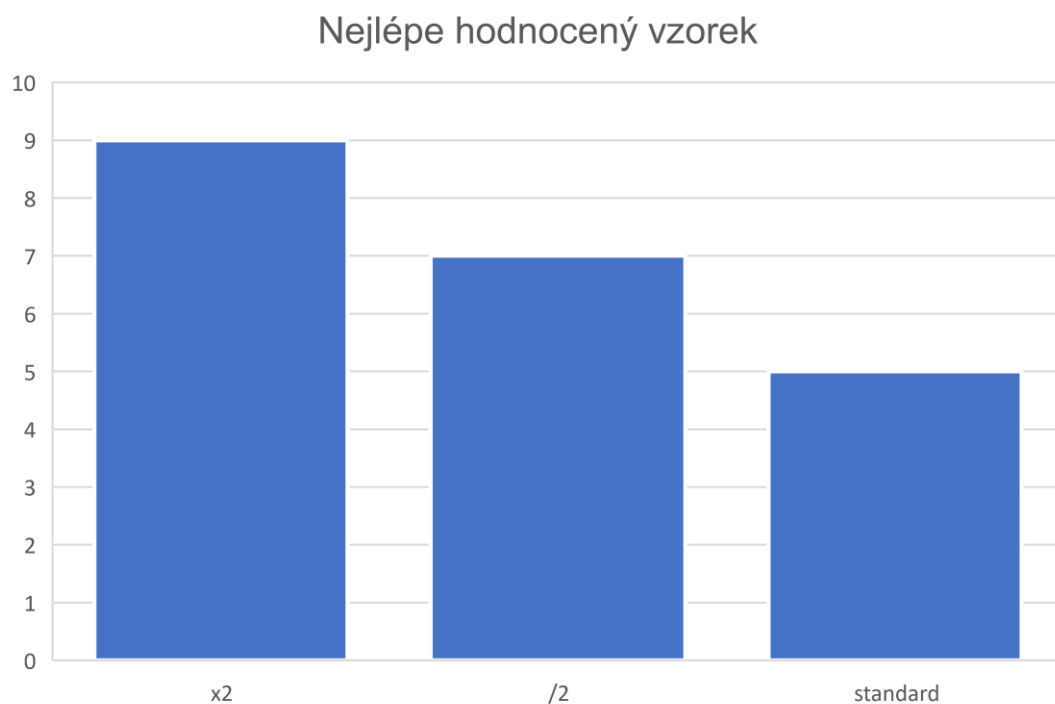


Obrázek 9 Grafické znázornění výsledků první části senzorické analýzy

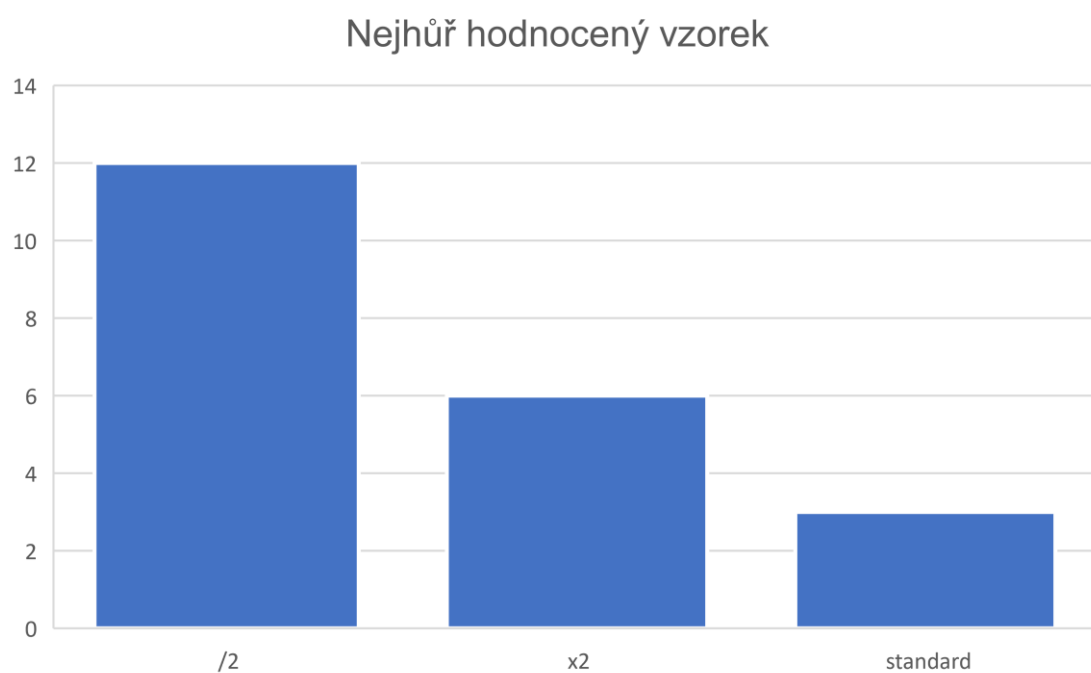
V druhé části senzorické analýzy byly hodnoceny vzorky s odrůdou Veltlínské zelené, které se lišily množstvím přidaného vína ve vzorku. Standardní vzorek obsahoval 8-9 hmotnostních % vína a byl připraven podle zvoleného receptu. Zároveň vzorek, ve kterém bylo pouze poloviční množství vína obsahoval 4-5 hmot. % vína, což odpovídá minimálnímu přídavku vína do vinných klobás podle legislativního nařízení. Dvojnásobná dávka obsahovala 16-17 hmot. %. Z výsledků druhé části senzorické analýzy (Tabulka 13) jednoznačně vyplývá, že hodnotitelé zvolili jako nejlepší vzorek ten, který obsahoval dvojnásobné množství vína než standardní vzorek. Nejhorším vzorkem byl převážnou většinou respondentů zvolen vzorek s nejmenším přídavkem vína. Byla tedy kladně hodnocená výraznější vinná chuť, aroma a také jemnost klobásy. Klobásy s nejmenším přídavkem vína byly po chuti více masové a nevýrazné. Grafické znázornění nejlépe a nejhůře ohodnocených vzorků vinných klobás z druhé části senzorické analýzy můžeme vidět na Obrázku 10 a Obrázku 11.

Tabulka 13 Výsledky druhé části senzorické analýzy

Přídavek	Označení vzorku	nejlepší	nejhorší
dvojnásobný	B213	9	6
poloviční	B842	7	12
standard	B631	5	3



Obrázek 10 Grafické znázornění výsledků druhé části senzorické analýzy



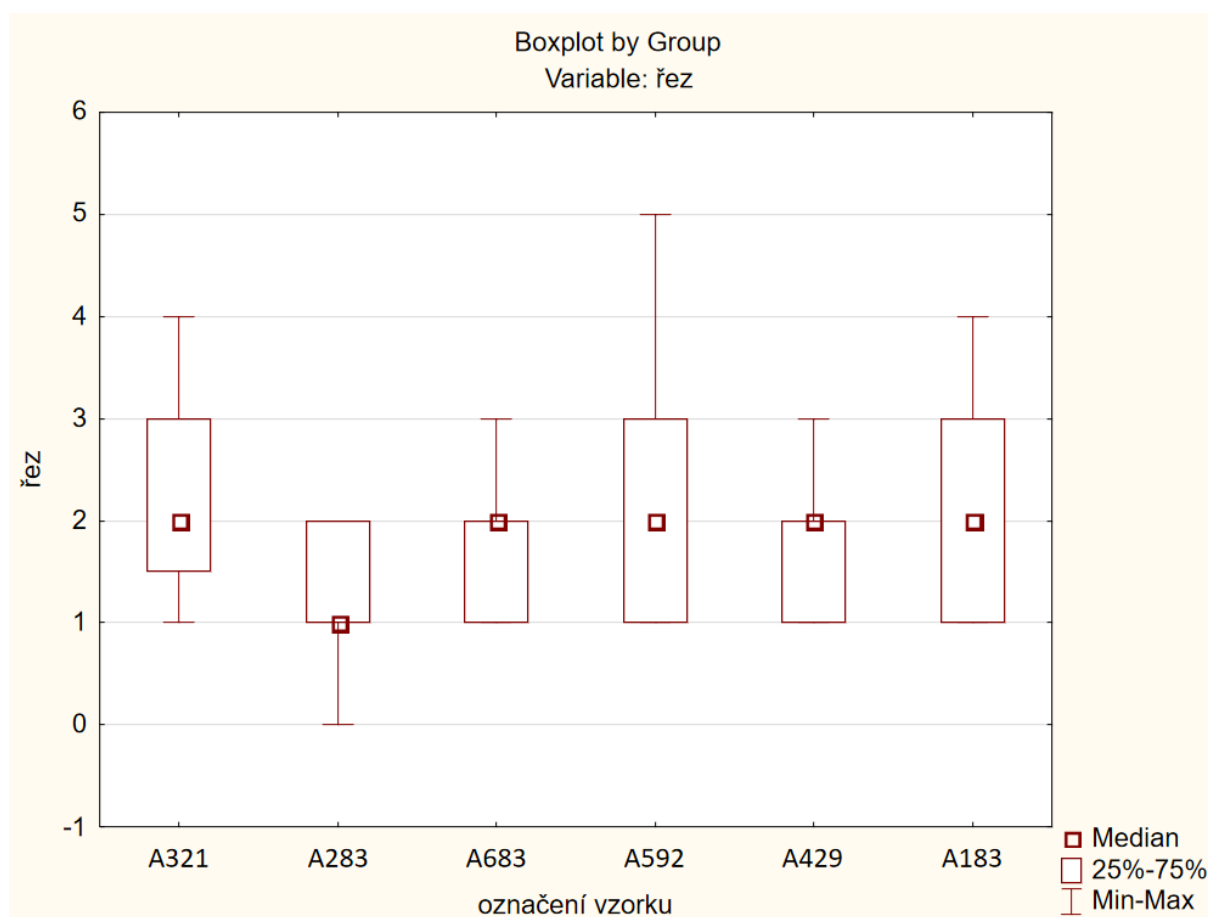
Obrázek 11 Grafické znázornění výsledků druhé části senzorické analýzy

5.8 Statistické zpracování

Pomocí programu Statistica byly statisticky zpracována data získaná ze senzorické analýzy. Mezi sebou byly porovnány jednotlivé parametry, které hodnotitelé při senzorické analýze hodnotili a na základě provedených testů byla zhodnocena jejich vzájemná korelace. Korelace

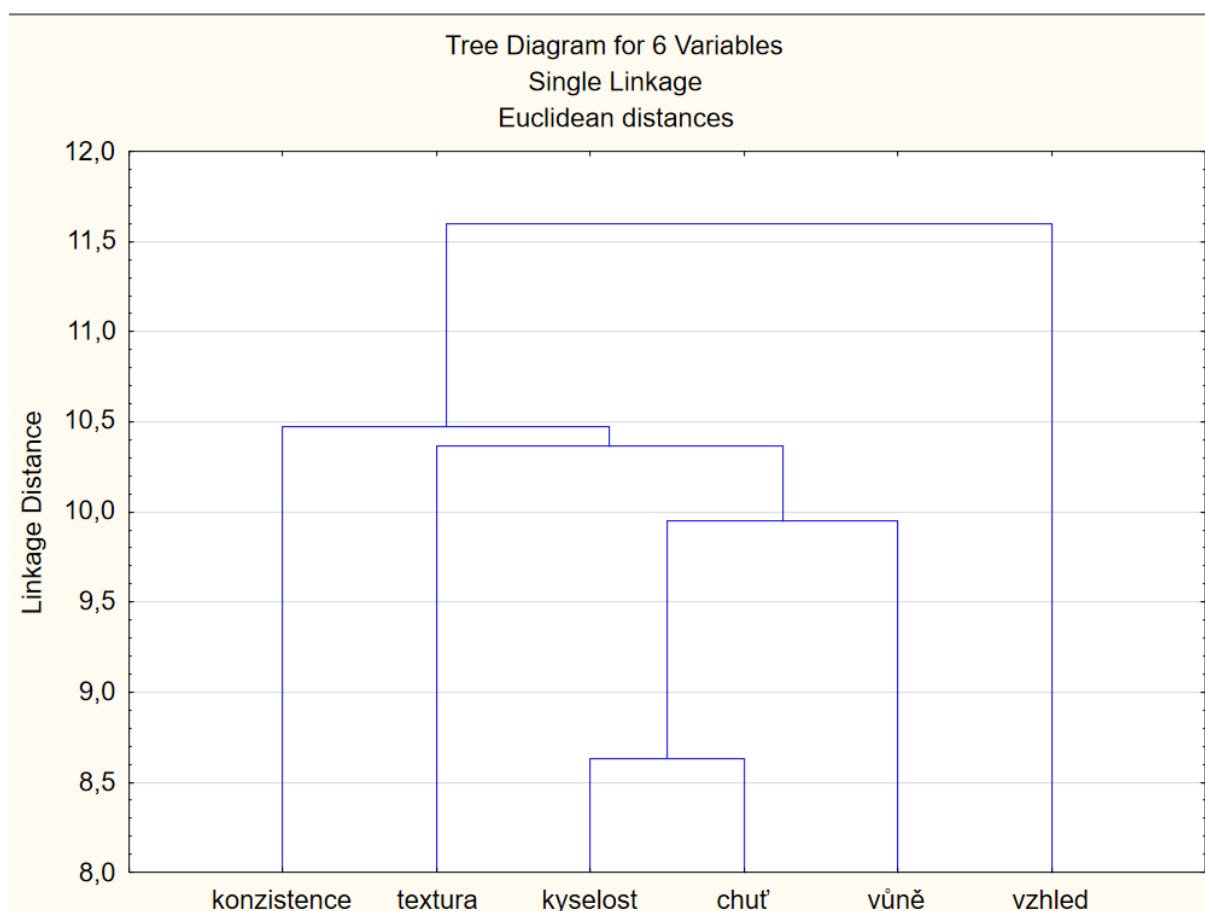
je vztah, kdy se dvě a více veličin navzájem ovlivňují, tedy pokud se změní jedna, změní se zákonitě i ta druhá.

Nejprve byla provedena základní deskriptivní analýza dat první části senzorické analýzy, při které byl použit Shapiro-Wilkův test. Shapiro-Wilkův test slouží k otestování, jestli jsou data normálně distribuovaná. Je zvolena základní hypotéza H_0 , která předpokládá, že data normálně distribuovaná jsou, jejím opakem je hypotéza H_a . Je potřeba zvolit si hladinu významnosti (α), která je standardně 95 %, tedy $\alpha=0,05$. Výsledkem testu normality je hodnota p . Pokud je hodnota $p > \alpha$, znamená to, že platí hypotéza H_0 a data jsou normálně distribuována. V opačném případě se potvrzuje hypotéza H_a a vzorky nepocházejí z populace s normální distribucí dat. Při použití Shapiro-Wilkova testu vyšly všechny hodnoty $p < \alpha$, z čehož vyplývá, že data byly nenormálně distribuována a k dalšímu statistickému zpracování bylo třeba použít neparametrické metody. Dříve než byla použita neparametrická metoda Kruskal-Wallis Anova, byly odhaleny pomocí boxových grafů odlehlé hodnoty. Pokud se jednalo pouze o jednu odlehlou hodnotu, byla odstraněna. V případě některých stanovovaných veličin však byly odlehlé hodnoty převážně všechny, v takových případech byly také všechny zanechány. Z hodnot p Kruskal-Wallis Anova vyplynulo, že se mezi sebou liší pouze hodnoty popisující vzhled vinné klobásy na řezu. Konkrétně se od sebe statisticky významně lišily z hlediska vzhledu vinné klobásy na řezu vzorky obsahující modré moštové odrůdy André a Modrý Portugal (Obrázek 12). Poté byl stanoven Spearmanův korelační koeficient, který se využívá pro nenormálně distribuovaná data a jeho výhodou je rezistentnost vůči odlehlým hodnotám. Pomocí tohoto koeficientu bylo zjištěno, že v rámci celkového hodnocení mezi sebou jednotlivé parametry korelují. V rámci jednotlivých odrůd však již ne vždy dochází ke statisticky významné korelaci všech parametrů navzájem. Z výsledků také vyplývá, že u modré moštové odrůdy André záporně koreluje vzhled vinné klobásy na řezu se všemi ostatními parametry, ovšem nejedná se o statisticky významnou korelaci. U bílé moštové odrůdy Chardonnay pro změnu vzhled vinné klobásy na řezu koreluje statisticky významně pouze s parametrem popisující konzistenci vzorku vinné klobásy.



Obrázek 12 Boxový graf odlišnosti vzhledu na řezu

Před provedením shlukové analýzy byly data v programu Statistica standardizována. Poté se provedla shluková analýza, která byla znázorněna pomocí klastrů. Na základě této analýzy vidíme, které parametry hodnocené při senzorické analýze spolu vzájemně souvisí (Obrázek 13). Například vzhled na řezu, který jak už bylo dříve popsáno, nevykazoval u některých vzorků korelaci, nesouvisí s žádným z parametrů. Další důležitou informací vyplývající z této shlukové analýzy je očividná souvislost mezi hodnocenou kyselostí a celkovou chutností hodnocených vzorků.



Obrázek 13 Shluková analýza hodnocených parametrů

Pomocí statistického zpracování se tedy potvrdilo očekávání, že jednotlivé odrůdy svými odlišnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi ovlivňují základní parametry, které se při senzorické analýze masných výrobků hodnotí a zároveň se tyto parametry mezi sebou ve většině případů statisticky významně ovlivňují, tedy korelují spolu.

Výsledky z druhé části senzorické analýzy byly zpracovány stejným způsobem jako výsledky z první části. Pomocí základní deskriptivní analýzy bylo zjištěno, že naměřená data jsou opět nenormálně distribuovaná a na základě toho byly použity neparametrické metody. Z hodnot p Kruskal-Wallis Anova vyplynulo, že se mezi sebou liší pouze hodnoty popisující konzistenci vzorků vinných klobás. Statisticky významně se mezi sebou lišily konzistence standardní vinné klobásy a klobásy s polovičním přídavkem vína.

6 ZÁVĚR

V této diplomové práci byl sledován vliv přídavku vybraných tuzemských vín při výrobě vinných klobás. Každá vinná odrůda je specifická hlavně svou chutí a aroma, tedy chemickým složením, které má vliv na celkové vnímání chutnosti vyrobené vinné klobásy.

Bylo vybráno celkově šest druhů vín, které se běžně při výrobě vinných klobás nepoužívají a jedna odrůda, která se tradičně používá (Veltlínské zelené). Vyrobil se tedy standardní vzorek vinné klobásy a šest dalších alternativ, které byly pomocí senzorické analýzy hodnoceny 21 účastníky této analýzy. Senzorická analýza byla zaměřena mimo jiné na vnímání kyselosti předkládaných vzorků vinných klobás. Dále byly vyrobeny klobásy, které se lišily od standardního vzorku množstvím přidaného tradičně používaného vína. Přídavek činil jak dvojnásobné množství, tak dvakrát menší. Opět byly tyto vzorky senzoricky zhodnoceny a účastníky seřazeny od nejchutnější po tu nejméně chutnou. Celkově byly jednotlivé druhy vín podrobeny základní charakteristické analýze, díky které byl získán přehled o obsahu alkoholu, celkových kyselin, cukrů, SO_2 a hustotě. Tato naměřená data byla porovnána s výsledky senzorické analýzy a vyhodnocena.

Z výsledků můžeme vyvodit závěr, že zdaleka ne všechny odrůdy vína jsou vhodné pro výrobu vinných klobás, přesto je těžké jednoznačně určit, která je ta nejvhodnější, protože senzorická analýza je subjektivní hodnocení na základě osobité chuti každé z hodnotících. Ovšem v této diplomové práci jsme došli k závěru, že jako nejchutnější byla zvolena modrá moštová odrůda André. Tato odrůda má ze zvolených odrůd průměrný obsah celkových kyselin a velmi malý obsah cukrů, došlo tedy k vyvážené chuti, která nebyla tak výrazně vinná až kyselá. Zároveň bylo z výsledků senzorické analýzy vidět, že vysoký obsah kyselin a velmi nízký obsah cukrů rozdělil hodnotící na dvě skupiny. Jedna skupina ohodnotila výrazně kyselejší chuť jako velmi žádoucí, a naopak druhá skupina jako naprosto nepřipustnou. Naměřená hustota vín se velmi nelišila, a přesto šlo pozorovat mírný vliv na konzistenci vzorku vinné klobásy. V druhé části senzorické analýzy se hodnotitelé jednotně shodli na tom, že nejchutnější jim přišla varianta s dvojnásobným přídavkem vína oproti standardnímu vzorku.

Data ze senzorické analýzy byla poté statisticky zpracována. Výsledkem je zjištění, že se jedná o data nenormálně distribuovaná a jednotlivé parametry posuzované v senzorické analýze se mezi sebou převážně statisticky významně ovlivňují a existuje mezi nimi korelace (kladná i záporná). Pomocí shlukové analýzy bylo zjištěno, že nejvíce spolu souvisí vnímání kyselosti a celkové chuti. Z druhé části senzorické analýzy vyplynula souvislost mezi objemem přidaného vína a konzistencí klobásy, kdy statisticky významný rozdíl byl zaznamenán mezi standardním vzorkem a vzorkem s polovičním přídavkem vína,

Pomocí metody GC-FID bylo také ve standardním vzorku stanoven obsah mastných kyselin, ze kterého lze vyvodit výživovou hodnotu vinných klobás. Na základě přehledu o poměru nasycených a nenasycených mastných kyselin, můžeme říct, že vinné klobásy nejsou

určeny k časté konzumaci ve velkém množství, protože by mohly způsobit zdravotní komplikace.

Konečný výsledek můžeme tedy shrnout tak, že jako nejvhodnější odrůda při výrobě vinných klobás je modrá moštová odrůda André, což je mírné překvapení, protože se modré moštové odrůdy tradičně při výrobě vinných klobás nepoužívají. Tato odrůda zaujala hodnotitelé ve vinné klobáse svou vyváženou intenzitou kyselosti a celkově jemnějším chuťovým dojmem. Každá odrůda přidána do vinné klobásy pak měla vliv na její texturu, vzhled na řezu, konzistenci, vůni, kyselost, a tedy i celkovou chuť. Hodnotitelé také kladně ohodnotili vyšší obsah vína ve vinných klobásách, ten tvořil v našem případě až trojnásobek minimálního přidaného množství podle legislativy. Statisticky zpracovaná data ukazují korelační závislosti mezi všemi stanovovanými parametry, tudíž volba vinné odrůdy při zpracování vinných klobás je opravdu důležitá, pokud chceme dosáhnout výsledku, který bude odpovídat nejen našim představám o chutné vinné klobáse, ale který bude chutnat např. i potencionálním zákazníkům a konzumentům.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] PIPEK, Petr. *Technologie masa I*. Praha: VŠCHT, 1989. ISBN 80-708-0039-9.
- [2] STEINHAUSER, Ladislav. *Produkce masa: vysokoškolská učebnice*. 2. Tišnov: Last, 2000. ISBN 80-900-2607-9.
- [3] KAMENÍK, Josef. *Maso jako potravina: produkce, složení a vlastnosti masa*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2014. ISBN 978-80-7305-673-5.
- [4] *Vyhláška č. 69/2016 Sb.* In: .
- [5] PIPEK, Petr. *Technologie masa II*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 1998. ISBN 80-719-2283-8.
- [6] Ochrana obalem před oxido-redukčními změnami. *Balení potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019, s. 187-194. ISBN 978-80-7592-052-2.
- [7] Vinná klobása je český vynález? Podívejte se, jak se vyrábí. In: *Český rozhlas* [online]. [cit. 2021-06-18]. Dostupné z: <https://regiony.rozhlas.cz/vinna-klobasa-je-cesky-vynalez-podivejte-se-jak-se-vyrabi-7418995>
- [8] Vinná klobása: symbol zimního slunovratu, který byste měli zpracovat do 48 hodin. In: *Jíměto.cz* [online]. [cit. 2021-06-18]. Dostupné z: <https://www.jimeto.cz/vinna-klobasa/>
- [9] GABROVSKÁ, Dana. Vinná klobása. In: *Cechovní normy* [online]. 2021 [cit. 2021-05-11]. Dostupné z: <https://www.cehovninormy.cz/norma/klobasa-tepelne-opracovana-bila-varena/>
- [10] Cechovní normy - vinná klobása. *Cechovní normy* [online]. [cit. 2021-07-16]. Dostupné z: <https://www.cehovninormy.cz/index.php/vyroby/1040-vinna-klobasa-1-8-kg>
- [11] FIC, Vlastimil. *Sborník aplikačních postupů: víno - analýza, technologie výroby, gastronomie*. Český Těšín: 2 Theta, 2014. ISBN 978-80-86380-71-1.
- [12] PAVLOUŠEK, Pavel. *Encyklopedie révy vinné*. 2., aktualiz. vyd. Brno: Computer Press, 2008. ISBN 978-80-251-2263-1.
- [13] *Zákon č. 219/2003 Sb., o uvádění do oběhu osiva a sadby pěstovaných rostlin a o změně některých zákonů (zákon o oběhu osiva a sadby)*. In: . Praha, 2003, číslo 219. Dostupné také z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/narodni-odrudovy-urad/100050394.html>
- [14] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-2-5.
- [15] Kyselina vinná. In: *Wikipedia* [online]. [cit. 2021-06-28]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina_vinná

- [16] Kyselina jablečná. In: *Wikipedia* [online]. [cit. 2021-06-28]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina_jablečná
- [17] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 978-80-260-4243-3.
- [18] High Performance Liquid Chromatography. *Chemistry Libretexts* [online]. 2020 [cit. 2021-07-16]. Dostupné z: <https://chem.libretexts.org/@go/page/307>
- [19] VOLKA, Karel. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-708-0227-8.
- [20] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [21] Schéma DAD. In: *VŠCHT* [online]. 2018 [cit. 2021-07-25]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz-15%20Detektory%20v%20kapalinové%20chromatografii_VH2018.pdf
- [22] Schéma plynového chromatografu. In: *Seminář z analytické chemie* [online]. 2010 [cit. 2021-06-28]. Dostupné z: http://chemie.ocikvideni.cz/ZS/11_chromatografie.pdf
- [23] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [24] Gas Chromatography. *Chemistry Libretexts* [online]. 2020 [cit. 2021-07-14]. Dostupné z: <https://chem.libretexts.org/@go/page/301>
- [25] CHRISTIAN, Gary D., Purnendu K. DASGUPTA a Kevin SCHUG. *Analytical chemistry*. 7th ed. Hoboken: Wiley, 2014. ISBN 978-0-470-88757-8.
- [26] Theory of Gas Chromatography. *Gas chromatography*. 1. Amsterdam: Elsevier, 2012, s. 1-24. ISBN 978-0-12-385540-4.
- [27] HOLM, Torkil. Aspects of the mechanism of the flame ionization detector. *Journal of Chromatography A*. 1999, **842**(1-2), 221-227. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(98)00706-7
- [28] LAWLESS, Harry T. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. New York, NY: Springer New York, 2010. Food Science Text Series. ISBN 978-1-4419-6487-8.
- [29] BUŇKA, František, Jan HRABĚ a Bohumír VOSPĚL. *Senzorická analýza potravin I*. Vyd. 2. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2010. ISBN 978-80-7318-887-0.
- [30] ČSN EN ISO 8589: *Senzorická analýza - Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště*. Druhé. Praha: Český normalizační institut, 2007.
- [31] KŘÍŽ, Oldřich, František BUŇKA a Jan HRABĚ. *Senzorická analýza potravin II.: statistické metody*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007. ISBN 978-80-7318-494-0.

- [32] VANĚK, Roman. Vinná klobása s bramborovou kaší. *Kouzlo kuchyně Čech a Moravy, aneb, Dědictví našich babiček*. Praha: Prakul Production, 2012, s. 135. ISBN 978-80-905048-8-2.
- [33] GROFOVÁ, Zuzana. Mastné kyseliny. *Medicína pro praxi*. 2010, (710, 388-390).

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

NP-LC – kapalinová chromatografie s normálními fázemi

RP-LC – kapalinová chromatografie s reverzními fázemi

DAD – detektor diodového pole

LC-MS – kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

GC – plynová chromatografie

GSC – plynová chromatografie s pevnou látkou jako stacionární fází

GLC – plynová chromatografie s kapalinou jako stacionární fází

WCOT – Wall Coated Open Tubular

PEG – polyethylenglykol

SCOT – Support Coated Open Tubular

FID – plamenově ionizační detektor

MS – hmotnostní spektrometr

ECD – detektor elektronového záchytu

TCD – tepelně vodivostní detektor

MK – mastné kyseliny

SFA – nasycené mastné kyseliny

MUFA – mono-nenasycené mastné kyseliny

PUFA – poly-nenasycené mastné kyseliny

9 PŘÍLOHY

Hodnotitelský protokol

Senzorické hodnocení tepelně opracovaného výrobku

Věk:	Datum:
Zdravotní stav:	Hodina:

Jste kuřák?

Už jste někdy ochutnali vinnou klobásu?

Číslo vzorku	
--------------	--

Vzhled na řezu: jednolitý pravidelný vzhled, bez vzduchových bublin

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrý	dobry	méně dobrý	nevyhovující

Vůně: příjemná, harmonická, kořeněná

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Konzistence: (hodnocení hmatem/nožem) pevná, mírně elastická

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Textura: (hodnocení v ústech) vláčná, křehká, příjemná

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Chuť: bohatá, kořeněná, vyvážená, mírná kyselost

Celkové hodnocení

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Kyselost (vyvážená s ohledem na obsah vína, příjemná)

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Seřadte podle svých preferencí ochutnávané vinné klobásy od nejchutnější po nejméně chutnou.

hodnocení	označení vzorku
nejchutnější	
nejméně chutná	

Číslo vzorku	
--------------	--

Vzhled na řezu: jednoduchý pravidelný vzhled, bez vzduchových bublin

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrý	dobry	méně dobrý	nevyhovující

Vůně: příjemná, harmonická, kořeněná

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Konzistence: (hodnocení hmatem/nožem) pevná, mírně elastická

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Textura: (hodnocení v ústech) vláčná, křehká, příjemná

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Chuť: bohatá, kořeněná, vyvážená, mírná kyselost

Celkové hodnocení

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Kyselost (vyvážená s ohledem na obsah vína, příjemná)

1	2	3	4	5
vynikající	velmi dobrá	dobrá	méně dobrá	nevyhovující

Seřaďte podle svých preferencí ochutnávané vinné klobásy od nejchutnější po nejméně chutnou.

hodnocení	označení vzorku
nejchutnější	
nejméně chutná	