

## Uspořádání vaší fermentace

Přeložila Zdena Tejkalová

Pro provedení následujících aktivit bude každá skupina potřebovat přibližně 200 ml zkvašeného moštu, 200 ml hroznové šťávy a 50 ml vína. Šťáva z červených hroznů a červené víno jsou zajímavější než bílé, protože citlivost pigmentů na pH způsobí změnu barvy během titrace (aktivita 3). Hroznovou šťávu a víno lze koupit v lahvích či jiných baleních. Kvasinky, fermentační nádoby a vínoměry můžete koupit ve vinařských obchodech.

### Pomůcky

Pro každou skupinu studentů budete potřebovat:

- Droždí (0.5 g)
- Červenou hroznovou šťávu (250 ml)
- 250 ml baňku
- Fermentační tubu

### Postup

1. 0.5 g kvasnic dejte do 10 ml vlažné vody a míchejte, dokud se úplně nerozpustí.
2. Kvasinkovou suspenzi nalijte do baňky s 250 ml hroznové šťávy.
3. Zakryjte baňku fermentační tubou a ponechte na teplém místě.

Poznámka: fermentace by měla být zahájena nejméně jeden den před experimenty; nejlepších výsledků dosáhnete po 3-4 dnech. Pro srovnání, doporučujeme přípravu vzorků nejméně týden předem. Většina kvasinkových kmenů může produkovat obsah alkoholu 14-16 % během 1-2 týdnů kvašení, pokud je v hroznové šťávě dostatečné množství cukru.

### Jak vyrobit vytřepávací válec

Vytřepávací válec využijete při měření obsahu CO<sub>2</sub> v aktivitě 4.

### Pomůcky

- 100 ml plastový odměrný válec
- Gumová zátka s cca 5 mm otvorem uprostřed
- Plastová či skleněná trubička s menším vnějším průměrem
- Silikonová hadička (~50 cm dlouhá)
- Svorka

---

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* 24.  
[www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech](http://www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech)

### **Postup**

1. Ustříhnete či uřežete horní 2 cm odměrného válce.
2. Plastovou či skleněnou trubičku dejte do otvoru v gumové zátce a ujistěte se, že je skutečně natěsno.
3. K oběma koncům trubičky připojte alespoň 20 cm silikonové hadičky.
4. Gumovou zátku dejte do ústí válce. Silikonová hadičky uvnitř by měla téměř dosahovat dna a vnější by měla měřit alespoň 20 cm.
5. K vnějšímu upevnění trubičky použijte svorku.

---

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* **24**.  
[www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech](http://www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech)

## Aktivita 1a: měření obsahu cukru pomocí pyknometru

Množství cukru v hroznové šťávě ovlivní jak obsah alkoholu, tak sladkost připraveného vína. V této aktivitě zjistíte obsah cukru měřením hustoty pyknometrem, či nádobou s přesným objemem. Zvážením prázdné a plné nádoby pyknometru lze spočítat hustotu kapaliny.

### Pomůcky

- Pyknometr se zátkou
- Váhy
- 20 % roztok sacharózy (hm. %)
- Hroznová šťáva
- Pipeta
- Papírové utěrky

### Postup

1. Zvažte prázdný pyknometr a zátku, hmotnosti zapište.
2. Naplňte pyknometr 20% sacharózovým roztokem. Uzavřete zátkou (trocha tekutiny odteče kapilárou). Utřete vylitou kapalinu a zvažte plný pyknometr.
3. Měření zopakujte s hroznovou šťávou.
4. Vypočítejte hustotu:

$$\text{hustota} = (\text{hmotnost plného} - \text{hmotnost prázdného}) / \text{objem}$$

Hustota se udává v g/ml, hmotnost prázdného a plného pyknometru v g a objem v ml.

Příklad: pyknometr má kalibrovaný objem 25.687 ml (podle výrobce). Kapalina má hmotnost 27.15 g. Tudiž hustota je  $27.15/25.687 = 1.057$  g/ml.

5. Hustotu použijte k výpočtu hmotnosti moštu, koncentrace cukru a teoretického výtěžku alkoholu s využitím rovnice dole; výsledky zapište do tabulky 1a.

Hmotnost moštu se vypočítá:

$$\text{hmotnost moštu} = (\text{hustota} - 1) \times 1000$$

Kde hmotnost moštu je v °Oe a hustota v g/l.

Teoretický výtěžek alkoholu se vypočítá následovně:

$$\text{teoretický výtěžek alkoholu (v obj. \%)} = \text{hmotnost moštu (v } ^\circ\text{Oe)} \times 0.1267$$

Příklad: je-li hustota 1.057 g/ml, pak hmotnost moštu je  $(1.057-1) \times 1000$ , což odpovídá 57 °Oe. Výtěžek alkoholu tedy může být maximálně 7.2 %.

	<b>20% sacharóza</b>	<b>Hroznová šťáva</b>
--	----------------------	-----------------------

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* 24.  
www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech

<b>Hmotnost moštu (°Oe)</b>		
<b>Koncentrace cukru (°Bx)</b>		
<b>Teoretický výtěžek alkoholu (obj. %)</b>		

Tabulka 1a: Výpočet obsahu cukru ve vzorcích

## Otázky

1. Jak přesný byl váš výsledek ve srovnání s očekávanou hodnotou?
2. Jak reprodukovatelná byla vaše měření? Srovnajte je s ostatními skupinami.
3. Pokud jste zpracovávali i aktivitu 1, byly vaše výsledky pro tyto dvě metody srovnatelné (hustota versus refraktometrie)?
4. Víno má typicky kolem 12 % alkoholu. Odhadněte, kolik cukru musí být přidáno do hroznové šťávy k získání 12% alkoholu.

---

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* 24.  
[www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech](http://www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech)

## Aktivita 4: stanovení obsahu oxidu uhličitého

Abyste zjistili, jak vaše fermentace postupuje, lze stanovit koncentraci jak výchozí složky (glukóza), tak produktů (oxid uhličitý a alkohol). Obsah oxidu uhličitého je také důležitý při výrově šumivého vína. V této aktivitě srovnáte obsah oxidu uhličitého v hroznové šťávě, kvasícím moštu a hotovém víně s využitím jednoduché doma vyrobené verze Veits-Höchstheimer vytřepávacího válce.

### Pomůcky

- Veits-Höchstheimer vytřepávací válec
- 100 ml hroznové šťávy, kvasícího moštu a vína

### Postup

1. Bez třepání opatrně naplňte Veits-Höchstheimer vytřepávací válec 100 ml hroznové šťávy a to tak, že kapalinu necháte volně stékat po stěně válce.
2. Válec uzavřete víčkem a utáhněte svorku.
3. Opatrně protřepejte, držte zátku a svorku (viz obrázek dole). Z kapaliny se bude uvolňovat oxid uhličitý, čímž bude tlak ve válci stoupat. Válec vezměte nad dřez, opatrně uvolněte a povolte svorku. Vlivem natlakování válce se trocha kapaliny vylije.
4. Toto opakujte 3-4krát, dokud se nebude vylévat žádná kapalina.
5. Změřte konečný objem kapaliny ve válci a zjistěte obsah oxidu uhličitého s využitím grafu 1. Své výsledky zanepte do tabulky 4.
6. Kroky 1-5 zopakujte s moštem a vínem.

**Pozor:** Hroznová šťáva a mošt jsou extrémně sladké a lepkavé. Zkuste je nevylít.

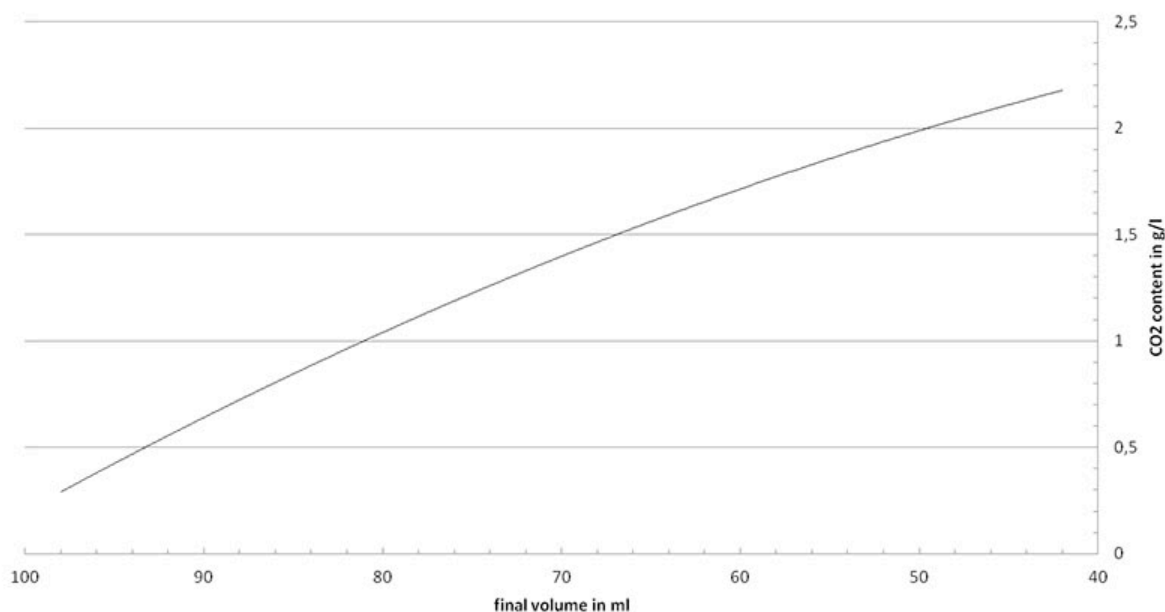


*Použití třepacího válce  
Obrázek se svolením experimenta*

---

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* 24.  
[www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech](http://www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech)



Graf 1: Standardní křivka měření obsahu  $\text{CO}_2$   
Obrázek se svolením experimenta

	Obsah $\text{CO}_2$ (g/l)
<b>Hroznová šťáva</b>	
<b>Mošt</b>	
<b>Víno</b>	

Tabulka 4: Obsah  $\text{CO}_2$  ve vzorcích

Příklad: Obsah moštu po vytřepání je 65 ml, což odpovídá zhruba 1.56 g/l rozpuštěného oxidu uhličitého. Dvě molekuly oxidu uhličitého ( $\text{MW} = 46 \text{ g/mol}$ ) a dvě molekuly ethanolu ( $\text{MW} = 46 \text{ g/mol}$ ) vzniknou fermentací jedné molekuly glukózy. Z čehož vyplývá, že fermentací 3.2 g/l cukru vznikne 1.56 g/l oxidu uhličitého a 1.64 g/l ethanolu. To znamená, že z hroznové šťávy s koncentrací cukru 15-20 %, pouze 3.2 % jsou rozpuštěna v moštu ve formě oxidu uhličitého.

## Otázky

1. Ve svém vzorku zjistíte množství rozpuštěného oxidu uhličitého.
2. Vypočítejte, jakému množství cukru to odpovídá.
3. Vypočítejte procento oxidu uhličitého, který zůstal v roztoku v porovnání s jeho celkovou produkcí..

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* 24.  
www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech

## Aktivita 5: zakalení a čiření

Některé látky, především bílkoviny, mohou způsobit zakalení a před prodejem vína musí být odstraněny procesem nazývaným *čiření*. Nejjednodušší způsob je přidání vodného roztoku křemeliny, která naváže bílkovina a odstraní se sedimentací. Zakalení se měří fotometrem při vlnové délce 630 nm před a po ošetření. Čím zakalenější roztok, tím méně světla projde a tím menší odečet na spektrofotometru.

### Pomůcky

- Pipeta
- 2 ml trubice z centrifugy
- Stolní centrifuga
- Suspenze křemeliny (100 g/l)
- Fotometr (nastavený na vlnovou délku 630 nm)
- 5 ml hroznové šťávy, nefiltrovaného moštu, filtrovaného moštu a vína

### Postup

1. Odpipetujte 1.9 ml filtrovaného moštu do 2 ml odstředivé trubice.
2. Přidejte 0.1 ml čerstvě promíchané suspenze křemeliny a pořádně zamíchejte.
3. Odstřed'ujte 2 minuty na nejvyšší rychlost. Supernatantem (kapalina) je vyčiřený mošt.

Poznámka: ujistěte se, že vzorek je v centrifuze vyvážený (např. zkumavkou s vodou).

4. Naplňte čtyři spektrofotometrické kyvety hroznovou šťávou, nefiltrovaným moštem, filtrovaným moštem a vyčiřený mošt.
5. Vzorky změřte na spektrofotometru při 630 nm a výsledky запиšte do tabulky 5.

	Transmise při 630 nm (%)
<b>Hroznová šťáva</b>	
<b>Nefiltrovaný mošt</b>	
<b>Filtrovaný mošt</b>	
<b>Vyčiřený mošt</b>	
<b>Víno</b>	

Tabulka 5: Světelná transmise před a po čiření

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* 24.  
[www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech](http://www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech)

## Otázky

1. Pozorovali jste kromě křemeliny nějaké jiné zbarvené částice?
2. Přemýšlejte nad dlouhodobým skladováním vína. Proč si myslíte, že se víno číří?

---

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* **24**.  
[www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech](http://www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech)



## Aktivita 6: mikroskopie kvasinek

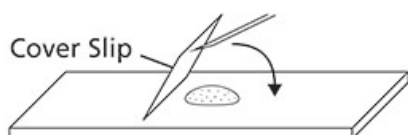
Kvasinka je jednobuněčný mikroorganismus s průměrem cca 10  $\mu\text{m}$ . Během fermentace kvasinkové buňky přenáší glukózu buněčnou membránou a za anaerobních podmínek ji přeměňují na ethanol a oxid uhličitý. Kvasinkové buňky, které aktivně metabolizují cukr, rychle rostou a nepohlavně se rozmnožují asymetrickým dělením. To můžete pozorovat u pučících kvasinek.

### Pomůcky

- Vzorek moštu
- Světelný mikroskop
- Sklíčka a krycí sklíčka
- Kapátka
- Popisovač

### Postup

1. Označte skleněné sklíčko.
2. Protřepejte vzorek moštu, kápněte malou kapku na sklíčko a zakryjte krycím sklíčkem jako na obrázku dole.
3. Pozorujte vzorek, začněte s nejmenším zvětšením.
4. Nakreslete obrázek pučící kvasinky.



*Příprava vzorku na mikroskopování.*

### Otázky

1. Jaké procento kvasinek ve vašem vzorku pučí?
2. Jaké je procento pučících buněk ve vašem vzorku v porovnání s ostatními skupinami?
3. Popište, jak to souvisí s délkou fermentace.

---

Doplňující materiál k:

Wendt T (2012) Analýza vína ve škole. *Science in School* 24.  
[www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech](http://www.scienceinschool.org/2012/issue24/wine/czech)