

# **MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ**

Zahradnická fakulta v Lednici

## **MANAGEMENT OXIDU SIŘIČITÉHO PŘI VÝROBĚ BÍLÝCH VÍN**

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

Vypracoval:

Jakub Herzán

Lednice 2014



### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto práci: Management oxidu siřičitého při výrobě bílých vín vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 Autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity o tom, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne 9. května 2014

---

**Poděkování:**

Děkuji všem, kteří se jakýmkoliv způsobem podíleli na vzniku této práce. Především děkuji vedoucímu mé bakalářské práce panu ing. Mojmíru Baroňovi Ph. D. za čas, který věnoval našim konzultacím, za udělení cenných rad, bez nichž by tato práce nedostala dnešní podoby, za poskytnutí odborné literatury a za trpělivost a shovívavost, kterou se mnou měl, když jsem tuto práci vytvářel.

# OBSAH:

<b>1. ÚVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....</b>	<b>2</b>
2.1 <i>Oxid siřičitý a jeho užití v enologii.....</i>	2
2.1.1 Síření při zpracování hroznů.....	3
2.1.2 Síření moštu .....	4
2.1.3 Síření vína .....	5
2.2 <i>Popis složek SO<sub>2</sub> ve víně .....</i>	6
2.2.1 Aktivní SO <sub>2</sub> .....	7
2.2.2 Volný SO <sub>2</sub> .....	7
2.2.3 Vázaný SO <sub>2</sub> .....	8
2.2.4 Sloučeniny vázající SO <sub>2</sub> .....	10
Acetaldehyd .....	10
Ketokyseliny .....	11
Cukry a deriváty cukrů .....	11
Dikarboxylové molekuly .....	12
Jiné vazby .....	12
2.2.5 Endogenní SO <sub>2</sub> .....	13
2.3 <i>Možnosti přídavku SO<sub>2</sub> .....</i>	13
2.3.1 Formy použití SO <sub>2</sub> .....	13
Spalování pevné síry .....	13
Plynný oxid siřičitý .....	14
Disiřičitan draselný (K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) .....	14
Síření pomocí vodných roztoků .....	14
2.3.2 Reduktivní typ vína.....	15
Mechanismus účinku SO <sub>2</sub> proti kvasinkám .....	16
2.3.3 Sur-lie.....	16
SO <sub>2</sub> při zpracování hroznů při metodě surlie.....	17
SO <sub>2</sub> při výrobě vín surlie .....	17
Malolaktická fermentace (MLF) při výrobě vín surlie .....	18
<b>3. Cíl práce.....</b>	<b>20</b>

<b>4. Experimentální část .....</b>	<b>21</b>
4.1 <i>Materiál a metody</i> .....	21
4.1.1 Popis zvolené odrůdy .....	21
4.1.2 Schéma experimentu .....	23
4.1.3 Parametry hroznů a moštu .....	24
4.1.4 Průběh fermentace .....	25
4.1.5 Školení vína na základě zvolených technologií.....	25
Reduktivní technologie – VARIANTA 1 .....	25
Reduktivní technologie s aplikací SO <sub>2</sub> pro ukončení fermentace – VARIANTA2 .....	25
Technologie sur-lie – VARIANTA 3 .....	26
4.1.6 Analytické metody .....	26
Stanovení volného a veškerého SO <sub>2</sub> jodometricky .....	27
Měření pomocí přístroje ALPHA .....	27
Stanovení obsahu bílkovin turbidimetricky .....	27
4.2 <i>Výsledky</i> .....	28
4.2.1 Monitoring vývoje SO <sub>2</sub> u jednotlivých variant .....	28
VARIANTA 1.....	28
VARIANTA 2.....	30
VARIANTA 3.....	32
4.2.2 Základní analytické parametry jednotlivých variant .....	33
4.2.3 Stanovení termolabilních bílkovin – potřeba čření .....	34
4.2.4 Senzorické hodnocení .....	35
<b>5. Diskuze.....</b>	<b>36</b>
<b>6. Závěr a doporučení pro praxi.....</b>	<b>38</b>
<b>7. Souhrn.....</b>	<b>39</b>
<b>8. Resume.....</b>	<b>40</b>
<b>9. Seznam použité literatury .....</b>	<b>41</b>

## Seznam tabulek a grafů:

Tab. 1: dávky oxidu siřičitého používané při vinifikaci (Steidl, 2010).....	4
Tab. 2: obsah volného oxidu siřičitého ve vínech v mg.l <sup>-1</sup> (Michlovský, 2012b).....	6
Tab. 3: Nárůst aktivního SO <sub>2</sub> (Ribéreau-Gayon et al., 2006).....	7
Tab. 4: Vlastnosti různých forem oxidu siřičitého využívané pro uchovávání vín (Ribéreau-Gayon et al., 2006).....	9
Tab. 5: Použití jednotlivých forem SO <sub>2</sub> (Kolektiv 2002).....	15
Tab. 6: Parametry hroznů a moštu.....	24
Tab. 7: Vývoj SO <sub>2</sub> u varianty 1.....	28
Graf 1: Vývoj volného SO <sub>2</sub> u varianty 1.....	29
Graf. 2: Vývoj veškerého SO <sub>2</sub> u varianty 2.....	29
Tab. 8: Vývoj SO <sub>2</sub> u varianty 2.....	30
Graf 3: Vývoj volného SO <sub>2</sub> u varianty 2.....	31
Graf 4: Vývoj veškerého SO <sub>2</sub> u varianty 2.....	31
Tab. 9: Vývoj SO <sub>2</sub> u varianty 3.....	32
Graf 5: Vývoj volného SO <sub>2</sub> u varianty 3.....	32
Graf 6: Vývoj veškerého SO <sub>2</sub> u varianty 3.....	33
Tab. 10: Analytické parametry jednotlivých variant.....	34
Tab. 11: Termolabilní bílkoviny u jednotlivých variant.....	35

# 1. ÚVOD

Ve vinařské technologii se jen těžko obejdeme bez použití oxidu siřičitého. Je to látka s širokým spektrem vlastností, díky nimž se stala nepostradatelnou při výrobě bezchybného vína.

Používá se už při sběru a zpracování hroznů pro své antioxidační a antiseptické účinky. Chrání hrozny a mošt proti působení oxidačních enzymů, které by jinak tyto suroviny absolutně znehodnotili a tak znemožnili výrobu špičkového vína. Zasíření sklizených hroznů také ulehčuje a urychluje extrakci buněčných stěn a uvolňování polyfenolů z vakuol buněk, čímž přispívá k lepší barvě a aromatickým projevům budoucího vína. Další výjimečnou vlastností oxidu siřičitého je jeho organoleptické neboli konzervační působení, díky němuž si jak bílé tak červené víno uchová správnou barvu a zamezí tvorbě nežádoucích zákalů ve víně. Jeho použití také chrání některé aromatické složky, například typu thiolů či kvasných esterů, které jsou velice náchylné k oxidaci.

Oxid siřičitý má mimo tyto významné vlastnosti negativní vliv na zdraví člověka, patří mezi alergen. Nejčastěji se požití většího množství oxidu siřičitého projeví bolestí hlavy nebo zvýšenou aciditou žaludečních šťáv. Právě proto se při výrobě vína víc a víc snažíme o minimalizaci použití oxidu siřičitého.

Jednou z metod, při níž jsme schopni snížit použití oxidu siřičitého na minimum je technologie surlie, při které se oxidačně-redukční potenciál udržovaný oxidem siřičitým nahradí mícháním kvasničních kalů, čímž dojde k zamezení oxidace a vzniku vína s osobitým charakterem, které se plně vyrovná vínům vyrobených běžnou cestou.



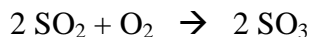
## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Oxid siřičitý a jeho užití v enologii

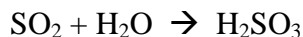
Oxid siřičitý vzniká spalováním síry:



Je to bezbarvý, štiplavě zapáchající plyn ve vysokých koncentracích jedovatý, pod tlakem je lehce zkapalnitelný. S kyslíkem reaguje (v chladu pomaleji) za vzniku oxidu sirového:



Ve vodném roztoku se mění na kyselinu siřičitou:



Kyselina siřičitá má v kyselém prostředí tyto, pro vinařskou technologii zásadní, účinky:

- *Biologický účinek* – zabránění aktivit apikulátních kvasinek a nežádoucích bakterií (octových a mléčných) (Delfini et al., 2002, Divol et al., 2012, Taboada-Rodríguez et al., 2013).
- *Antioxidační účinek* – vyvázání rozpuštěného kyslíku. Látky obsažené ve víně jsou tak chráněny před oxidací (Chinnici et al., 2013).
- *Účinek deaktivující enzymy* – deaktivuje enzymy přenášející kyslík a potlačuje degradaci barviv a aromatických látek (Coetzee et al., 2013).
- *Aroma zlepšující účinek* – vyvázáním kvasných produktů, především acetaldehydu, kyseliny pyrohroznové a jiných látek obsahujících ketonovou či karbonylovou skupinu. Zlepšuje tak aroma vína (Bakker et al., 1998, Coetzee et al., 2013, Dias et al., 2013).

I přesto, že při konzumaci nepřiměřených dávek poškozuje kyselina siřičitá zdraví, se bez ní v moderní technologii vína jen těžko obejdeme. Veškeré pokusy vyloučit SO<sub>2</sub> nevedly k uspokojivému výsledku – bezchybnému vínu (Steidl, 2010).

Používání SO<sub>2</sub> představuje jeden z nejúčinnějších prostředků, kterým vinař chrání víno. Sířen by měl být rmut, případně již hrozny. I když se tím mírně zvyšuje vyluhování fenolických látek, může se tak zabránit negativnímu oxidativnímu a mikrobiologickému vývoji. Rozhodování o tom, kdy a kolik oxidu siřičitého přidat, závisí na tom, v jaké fázi výroby vína se nacházíme a na strategii výroby (Barril et al., 2012).

### 2.1.1 Síření při zpracování hroznů

Přídavek SO<sub>2</sub> na hrozny má následující účinky:

- útlum oxidačních enzymů
- zastavení vývoje nežádoucí mikroflóry
- vyvázání vzdušného kyslíku.

Čím dříve se tento přídavek uskuteční, tím lépe bude rmut chráněn před účinky vzduchu, zabrání se hnědnutí a podpoří se vývoj buketu a čistých tónů.

Oxidace, které způsobují enzymy, jsou velmi rychlými procesy. SO<sub>2</sub> tyto enzymy úplně nebo částečně inhibuje. Například enzym polyfenoloxidáza, který oxiduje barviva a třísloviny v mošttech nebo bobulích, čímž způsobuje hnědnutí vína, je volným SO<sub>2</sub> inaktivován (Michlovský, 2012). Dále pak oxid siřičitý inhibuje a snadno ničí oxidázu hroznů tyrosinázu a obtížněji oxidázu lakázu, která je produkována plísní šedou (*Botrytis-cinerea*). Zabraňuje rovněž oxidáznímu zákalu bílých a červených vín pocházejících z nahnílých hroznů (Michlovský, 2012).

Rychlost destrukce oxidačních enzymů se zvyšuje s růstem obsahu SO<sub>2</sub>. Destrukce lakázy vyžaduje vyšší dávky SO<sub>2</sub>. Nicméně však zůstává reziduální oxidativní aktivita a tedy i nebezpečí pozdější oxidace, i když pomalejší, za delší dobu, avšak se závažnými následky. Touto sekundární oxidací vína vysvětlujeme vývoj chuti u mladých vín s obsahem tříslovin z hroznů mírně postižených hnilobou, chuti, která může být na začátku až velmi lichotivá, ale záhy následuje velmi zrychlené stárnutí

s možnou destrukcí barvy a kvality. Aktivní formou by zde měl být hydrogensulfid a ne aktivní  $\text{SO}_2$  kalkulovaný jako kyselina siřičitá. Oxid siřičitý v dávce  $5 \text{ mg.l}^{-1}$  značně snižuje oxidázní zákal (Michlovský, 2012).

Tab. 1: dávky oxidu siřičitého používané při vinifikaci (Steidl, 2010).

Zdravé hrozny, průměrná vyzrálost, nižší pH	$50 \text{ mg.l}^{-1}$ hotového vína
Zdravé hrozny, výborná vyzrálost, vyšší pH	50 až $80 \text{ mg.l}^{-1}$ hotového vína
Nahnilé hrozny	80 až $100 \text{ mg.l}^{-1}$ hotového vína

Nižší dávky jsou možné při:

- zdravých a dobře vyzrálých hroznech s dostatečným celkovým obsahem kyselin a při nepoškození hroznů během přepravy do lisovny,
- chladném počasí během sklizně,
- nenakvášení rmutu

### 2.1.2 Síření moštu

Množství by se mělo pohybovat kolem  $20\text{--}25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  volného  $\text{SO}_2$  v moštu. Další síření moštu je nutné pouze v případě:

- delší doby stání moštu,
- vysoké teploty během sklizně,
- sběru nahnilých hroznů, z důvodu potlačení vysokých populací apikulátních kvasinek a nežádoucích bakterií, které se na nahnilých hroznech vyskytují (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Ve víně se vždy bude nacházet jisté množství  $\text{SO}_2$  i kdyby se vinař rozhodl nesířit, protože  $\text{SO}_2$  je syntetizován téměř všemi kmeny *Saccharomyces cerevisiae*, a vzniká tedy jako vedlejší produkt alkoholového kvašení (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Jackson, 2008; König et al., 2009). Ve většině případů, je však vázán na organické sloučeniny

v kvasícím moštu. Přídavek SO<sub>2</sub> podporuje růst kmenů na něj rezistentních a může být příčinou pomalého nástupu kvašení.

Některé výzkumy dokonce zpochybnilly účinnost nebo výhody přídavku SO<sub>2</sub>, a to zejména u zdravých hroznů a u chlazené macerace při nízkých teplotách. Očkování *Saccharomyces cerevisiae* může být samo o sobě dostačující k potlačení jiných kvasinek (Egli et al., 1998; Jolly et al., 2006; Jackson, 2008).

### 2.1.3 Sírění vína

Účinnost SO<sub>2</sub> je závislá především na pH a na hladině fenolických látek. Proti růstu mikroorganismů je ale aktivní pouze molekulární SO<sub>2</sub>. Navíc příliš vysoká koncentrace SO<sub>2</sub> poskytuje typický štiplavý zápach a rovněž může u některých spotřebitelů vyvolat alergické reakce (Vally et al., 2003). Proto se v dnešní době ve vinařském průmyslu hledají způsoby jak používání SO<sub>2</sub> alespoň minimalizovat (Jackowetz et al., 2013, Santos et al., 2012).

Oxid siřičitý pomáhá upevňovat dostatečně nízkou hladinu oxidoredukce, která je během uchovávání a vyzrávání vína prospěšná pro rozvoj sensorických vlastností, reaguje s plynným nebo rozpuštěným kyslíkem a oxiduje se na sírany, tato reakce je katalyzována ionty železa nebo mědi. Vytváření síranů znamená „vysušování“ vína a dodává mu nepříjemný dojem tvrdosti neboli kovovost (Michlovský, 2012b).

Za nepřítomnosti volného oxidu siřičitého se ve víně projevují specifické pachy acetaldehydu (etanal) pocházejícího z alkoholové fermentace nebo z oxidace etanolu, pachy zvětralosti, velmi zralého až nahnílého jablka, oxidační pachy a obecně nepříjemné pachy pro víno vůbec. Toto specifické blokování etanal a dalších těkavých aldehydů je nenahraditelné a nutné pro všechna vína s výjimkou „oxidativních“ vín, jako jsou sherry vína, vína z Jury apod. (Michlovský, 2012a).

Při malé dávce SO<sub>2</sub> je jeho účinnost přechodná, velké dávky vyvolávají destrukci určité části původní mikrobiální populace. Účinnost dané dávky se zvyšuje snížením podílu původní populace, například filtrací. Během skladování působí oxid siřičitý proti všem mikroorganismům (kvasinky, mléčné bakterie a v menší míře octové bakterie) a zabraňuje tvorbě zákalů způsobovaných kvasinkami, refermentaci sladkých vín,

rozvoji *Brettanomyces* a tvorbě etylfenolů, rozvoji mázdrových kvasinek a různým bakteriálním chorobám (Michlovský, 2012a).

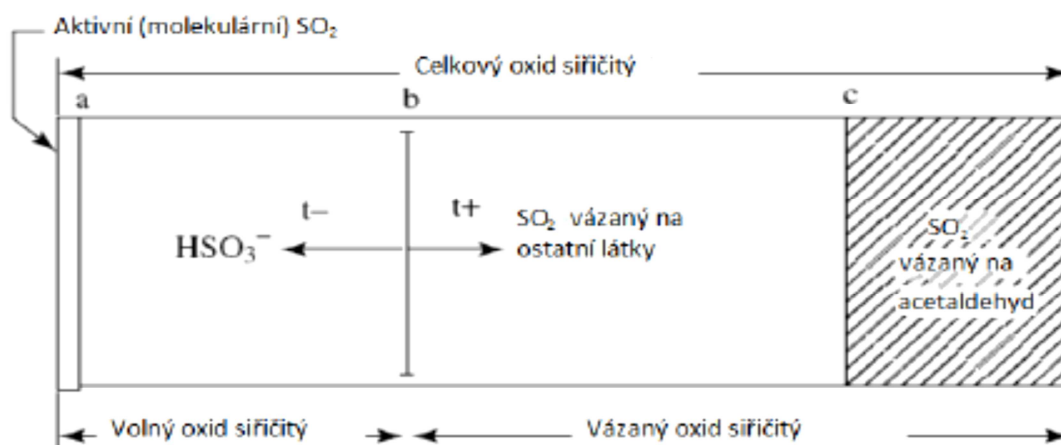
Tab. 2: obsah volného oxidu siřičitého ve vínech v  $\text{mg.l}^{-1}$  (Michlovský, 2012b).

Konzervační dávka	Červená vína	20 až 30
	Suchá bílá vína	30 až 40
	Sladká bílá vína	40 až 80
Konzumní dávka Nebo dávka pro lahvování	Červená vína	10 až 30
	Suchá bílá vína	20 až 30
	Sladká bílá vína	30 až 50
Expediční dávka V sudu nebo kontejneru	Červená vína	25 až 35
	Suchá bílá vína	36 až 45
	Sladká bílá vína	80 až 100

## 2.2 Popis složek $\text{SO}_2$ ve víně

Oxid siřičitý je analyticky rozlišován na volný a vázaný, jejich součet pak udává veškerý nebo celkový  $\text{SO}_2$ . Vázaný  $\text{SO}_2$  se váže na různé produkty kvašení (acetaldehyd, kyselina ketoglutarová, kyselina pyrohroznová aj.) a nepůsobí pak ani antimikrobiálně a nedeaktivuje oxidační enzymy. Pro lidské tělo je rozhodující obsah veškerého  $\text{SO}_2$ , proto nesmí víno při uvedení do oběhu přesáhnout zákonem dané hodnoty (Jackowetz et al., 2012, Jackowetz et al., 2013).

Obr. 1: Formy  $\text{SO}_2$  ve víně (Ribéreau-Gayon et al., 2006)



### 2.2.1 Aktivní SO<sub>2</sub>

Většina účinků oxidu siřičitého se připisuje volnému SO<sub>2</sub>. Později se však podařilo zjistit, že podstata jeho účinnosti, zejména proti mikroorganismům, je spojena s formou „molekulárního SO<sub>2</sub>“ nazývaného „aktivní SO<sub>2</sub>“ (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Z výzkumů vyplynulo, že aktivita volného SO<sub>2</sub> se zvyšuje zvýšením podílu alkoholu ve víně, ale rozdíly nejsou příliš výrazné (řádově o 0,1% aktivního SO<sub>2</sub> v případě prostředí vína). Aktivita volného oxidu siřičitého také rychle narůstá současně s teplotou. Při zvýšení teploty z 20 °C na 40 °C je aktivita až čtyřikrát vyšší.

Z pokusů vychází, že aktivita volného SO<sub>2</sub> se zvyšuje především s klesajícím pH čili rostoucí kyselostí prostředí. Výsledky popisuje Tab. 3.

Tab. 3: Nárůst aktivního SO<sub>2</sub> (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

Parametr	Změna parametru	Nárůst aktivního SO <sub>2</sub>
Obsah alkoholu	+ 1 % obj. alkoholu	+ 5 %
Teplota	+ 1 °C	+ 7 %
pH	−0,2	+ 50 %

### 2.2.2 Volný SO<sub>2</sub>

Jedná se o ion kyselého siřičitanu (HSO<sub>3</sub><sup>−</sup>). Je tedy ve formě plně ionizovaných solí. Antiseptické vlastnosti volného SO<sub>2</sub> vůči kvasinkám nebo bakteriím jsou proměnné v závislosti na pH čili vztahu k aktivní formě. Vycházíme tedy z poznatku, že čím je víno kyslejší, tím je pach a nepříjemná chuť SO<sub>2</sub> větší; samozřejmě při stejné hodnotě volného SO<sub>2</sub>. Nedostatečná kvalita vína, chybějící odrůdové vůně a velmi vysoká

acidita ovlivňují intenzitu vnímání volného SO<sub>2</sub>. U zdravého vína může být tedy dávka SO<sub>2</sub> přehnaná, ale nepříjemný pach je menší než u vína nekvalitního.

Podíl volného SO<sub>2</sub> ve víně nezávisí tak silně na pH. Vyjadřuje však přebytek oxidu siřičitého, který se nevázal se složkami vína za vzniku vázaného SO<sub>2</sub>. Zatímco molekulární SO<sub>2</sub> nás zajímá svou schopností aktivity vůči mikroorganismům ve víně, volný SO<sub>2</sub> je užitečný zejména svou antioxidační kapacitou. Jeho největší předností je schopnost vázat se s acetaldehydem a neutralizovat jeho oxidativní zápach. Volný SO<sub>2</sub> se také váže s barevnými látkami a může snižovat barevnost vína. U bílých vín se jedná o zamezení žloutnutí a u červených pokles barvy. Volný SO<sub>2</sub> se musí hodnotit odděleně od SO<sub>2</sub> molekulárního. Je tomu tak proto, že vína s nižším pH mají hodnoty molekulárního SO<sub>2</sub> dostačující na zničení a inhibici bakterií a kvasinek, zatímco volný SO<sub>2</sub> je na nízké hranici, aby dostatečně ochránil víno před oxidací. Dávku SO<sub>2</sub> musíme proto přizpůsobit podle množství volného SO<sub>2</sub> ve víně.

Pojetí volného a molekulárního SO<sub>2</sub> je třeba hodnotit současně ve vztahu k mikrobiologické stabilitě a ke kapacitě absorbovatelného kyslíku. Množství volného SO<sub>2</sub> musí být regulováno podle požadované ochrany proti oxidaci (Célia Barril et al., 2012), zatímco koncentrace molekulárního SO<sub>2</sub> se upravuje podle cílených mikroorganismů a dále také podle chuťových vlastností vína. Od hladiny 1mg.l<sup>-1</sup> molekulárního SO<sub>2</sub> dochází ke štípání v nose. Není možné však regulovat odděleně molekulární SO<sub>2</sub> a volný SO<sub>2</sub>. Pokud se zvýší koncentrace volného oxidu siřičitého pro jeho antioxidační schopnost, zvýší se i hodnota molekulárního SO<sub>2</sub> a jeho agresivita v sensorickém vnímání (Grant-Preece et al., 2013).

### **2.2.3 Vázaný SO<sub>2</sub>**

Vázaný oxid siřičitý je součtem všech siřičitanů vázaných na sloučeniny vína. Tyto jednotlivé sloučeniny nejsou sensoricky rozpoznatelné při degustaci. Důležitou hodnotou je přijatelná denní dávka, kdy ještě nedochází ke zdravotním komplikacím (Ishiwata et al., 2003). Označujeme ji jako ADI a počítá se podle celkového SO<sub>2</sub> ve víně, jehož většina je vázána (Corte et al., 2012). Z hlediska technologického má vázaný SO<sub>2</sub> malý význam. Nepůsobí antioxidačně ani na kvasinky a jeho působení na mléčné bakterie má malý vliv. Na jejich inhibici je třeba asi desetkrát více vázaného oxidu siřičitého než volného SO<sub>2</sub>.

Vázaný oxid siřičitý je takzvaná „paměť vývoje vína“. Udává kvalitu hroznů a následné enologické práce (Saidane et al., 2013). Hladina vázaného a volného SO<sub>2</sub> je přímo úměrná technologickým postupům ve vinařství. Čím menší je koncentrace celkového SO<sub>2</sub>, tím je přístup vinaře k pěstování hroznů a technologii vína šetrnější. Znamená to důkladnější přístup a ošetřování pěstovaných hroznů, lepší kontrolu nad hygienou ve sklepních prostorách a samotném víně a také správné uložení vína (manipulace bez přístupu vzduchu).

Nejlepším vinařem z tohoto pohledu je ten, který s úspěchem produkuje velké víno, plného výrazu typičností oblasti s nejmenší koncentrací SO<sub>2</sub>.

Tab. 4: Vlastnosti různých forem oxidu siřičitého využívané pro uchovávání vín (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

Vlastnosti	SO <sub>2</sub>	HSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	R-SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
<b>Proti kvasinkám</b>	+	Slabá	0
<b>Proti bakteriím</b>	+	Slabá	Slabá
<b>Antioxidační</b>	+	+	0
<b>Chut'ové zlepšení</b>	+	+	0
<b>Neutralizuje acetaldehyd</b>	+	+	+
<b>Senzorická odezva</b>	Štiplavý zápach, štiplavá chuť	Bez pachu, chuť slaná, hořká	Bez pachu, v normálních dávkách bez chuti



#### 2.2.4 Sloučeniny vázající SO<sub>2</sub>

Rozdíl mezi volným a vázaným SO<sub>2</sub> je znám více než jedno století. Nejdříve byl rozdíl připisován slučováním oxidu siřičitého s cukry, acetaldehydem a později i s dalšími látkami. Celý proces tvorby vazeb oxidu siřičitého a dalších substancí je však stále málo poznán (Saidane et al., 2013).

Mezi nejdůležitější vazby SO<sub>2</sub> ve vínech patří vazby s karbonylovými sloučeninami. Jsou to látky, které mají jednu nebo více aldehydových a ketonových funkcí. Je dokázáno, že nejreaktivnější formou oxidu siřičitého je HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> (molekulární SO<sub>2</sub>) (Jackowetz et al., 2013).

Sloučeniny, které vytvářejí vazby SO<sub>2</sub> v mošttech a ve víně:

- V mošttech, které pocházejí převážně ze zdravých hroznů, váže téměř všechnen volný oxid siřičitý kyselina pyrohroznová, kyselina oxoglutarová a glukóza.
- Ve vínech bílých je vazba se sloučeninami připisována hlavně acetaldehydu. Vedle acetaldehydu váže volný SO<sub>2</sub> (stejně jako v mošttech) kyselina pyrohroznová a kyselinaoxoglutarová.
- U hroznů postižených hnilobami se vyskytují však i jiné sloučeniny, silně vázající volný SO<sub>2</sub>. V těchto podmínkách se dostáváme k úplné bilanci vázaného SO<sub>2</sub>.
- V červených vínech dochází k vazbám oxidu siřičitého společně s antokyany a dalšími fenolovými sloučeninami.

##### *Acetaldehyd*

Acetaldehyd představuje největší část SO<sub>2</sub> vázaného ve víně. Jeho obsah ve víně se pohybuje od 30 do 130 mg.l<sup>-1</sup> a odpovídá vázanému SO<sub>2</sub> v hodnotách 44–190 mg.l<sup>-1</sup>.

Ve víně, kde je nižší obsah volného SO<sub>2</sub>, uvolňuje nízká disociace kyseliny aldehyd-sírové stopy acetaldehydu. Tato reakce má za následek stopy zvětralosti ve víně. Důležitým poznatkem je právě nepřítomnost volného acetaldehydu ve víně, pokud víno obsahuje volný SO<sub>2</sub> (Jackowetz et al., 2013).

Vazba acetaldehydu probíhá velice rychle. Například při pH 3,3 dosahuje vázání  $\text{SO}_2$  na acetaldehyd až 98 % během 90 minut. Po dalších pěti hodinách je vázání již zcela ukončeno.

Acetaldehyd ve víně je meziprodukt při produkci etanolu z cukrů. Tvoří se tedy hlavně při alkoholové fermentaci. Nejvyšší koncentrace se vyskytují za přítomnosti volného  $\text{SO}_2$  a aktivní kvasinky. Podíl acetaldehydu je větší při zdlouhavých fermentacích a při nedostatku tiaminu (Bartra et al., 2010, Jackowetz et al., 2013).

Tvorba acetaldehydu je totiž ochranným nástrojem kvasinky právě proti volnému  $\text{SO}_2$ , proto hlavně síření rmutu rozhoduje o podílu acetaldehydu a tím i o podílu vázaného  $\text{SO}_2$  ve víně.

Pokud je naším cílem vyrábět vína s nízkým podílem vázaného a také celkového  $\text{SO}_2$ , je doporučováno omezit přidávání  $\text{SO}_2$  do kvasícího a dokvášejícího moštu. V tomto případě je oxid siřičitý ihned vázán a ztratí jakoukoliv účinnost. Důkazem jsou mnohé pokusy, které vykazují vyšší kapacitu vázání zasiřených moštů (asi o 40 mg.l<sup>-1</sup>) oproti nezasířeným (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

### *Ketokyseliny*

Ve víně se vyskytují pravidelně dvě ketokyseliny, a to kyselina pyrohroznová a kyselina 2-oxoglutarová. Jedná se o sekundární produkty alkoholové fermentace. Tyto kyseliny sehrávají významnou roli v podílu kombinací s  $\text{SO}_2$ . Množství vázaného oxidu siřičitého těmito dvěma kyselinami je různé (F. Sonni et al., 2011).

Vytváření uvedených kyselin začíná již na začátku kvasného procesu. Tempo vytváření je nejvyšší na začátku fermentace a později klesá. Tímto mechanismem můžeme vysvětlit vysoký obsah těchto kyselin ve sladkých vínech. Faktory jako vyšší teplota fermentace a vyšší hodnota pH napomáhají lepší akumulaci ketokyselin a tím i vyšší hodnotě vázaného  $\text{SO}_2$  (Wells et al., 2012).

### *Cukry a deriváty cukrů*

Je známo, že v molekulách cukrů existují aldehydické funkce a ketofunkce, které dokážou vázat oxid siřičitý. Některé cukry jako fruktóza a sacharóza prakticky žádný

SO<sub>2</sub> nevážou, naopak arabinóza reaguje (váže kolem 8 mg SO<sub>2</sub> na gram arabinózy). Obsah arabinózy ve víně je ovšem menší než jeden gram, proto se tato vazba zanedbává.

Dalším cukrem je glukóza, která má zřetelně menší schopnost vázat (1 g glukózy váže asi 0,3 mg.l<sup>-1</sup> SO<sub>2</sub>). Je však zastoupena v mošttech a likérových vínech v hojném počtu, proto má tato vazba vliv na pokles koncentrace volného SO<sub>2</sub> (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Důležitou sloučeninou je keto-5-fruktóza (5-oxofruktóza). Tato substance se vyskytuje v řádově stovek mg.l<sup>-1</sup> právě v mošttech botritických hroznů. Produkují ji z fruktózy octové bakterie typu glukonobakter. Její koncentrace vzrůstá se zvyšující se schopností vázat SO<sub>2</sub> (Comitini et al., 2007).

Obsah této sloučeniny v mošttech se nemění fermentací; pro nízkou koncentraci této látky jsou proto zapotřebí zdravé hrozny.

#### *Dikarboxylové molekuly*

Látky, které mají dvě karbonylové skupiny. Vyskytují se v mošttech z hroznů zasáhnutých hnilobou. Tvoří se převážně z důsledku rozvoje *Botrytis cinerea*. Jedná se především o glyoxal a methylglyoxal. Tyto látky nepřesahují koncentraci 3 mg.l<sup>-1</sup>. Koncentrace glyoxalu a methylglyoxalu ovšem rapidně klesá při alkoholové fermentaci, proto mají uvedené dvě sloučeniny ve vínech při vázání SO<sub>2</sub> jen zanedbatelnou roli (Saidane et al., 2013).

#### *Jiné vazby*

Existují i další látky, které dokážou vázat ve víně oxid siřičitý. Jejich koncentrace jsou ovšem velmi malé, proto nemají na celkovou bilanci vázaného oxidu siřičitého ve víně velký vliv.

Jsou to tyto látky: kyselina gluonová, kyselina galakturonová, kyselina glyoxylová, kyselina oxalátová, glykoaldehyd, acetoin, diacetyl (Jackowetz et al., 2012).

### 2.2.5 Endogenní SO<sub>2</sub>

Je to forma oxidu siřičitého, kterou obsahují vína bez jakéhokoliv síření. Endogenní SO<sub>2</sub> vzniká enzymatickou činností kvasinky. Kvasinka transformuje málo se vyskytující elementární síru na sirné aminokyseliny (cystein, cystin, metionin, glutation) a jejich deriváty – sírany. Produkce endogenního SO<sub>2</sub> se pohybuje od několika mg.l<sup>-1</sup> až po 40 mg.l<sup>-1</sup>. Vyšší tvorbu této formy oxidu siřičitého zaznamenáváme u vín ve velmi čirém fermentačním prostředí a také při nedostatku metioninu a cysteinu.

Dále závisí tvorba endogenního SO<sub>2</sub> také na kmenu kvasinek. Tvorba je vysoká u kvasinek citlivých na SO<sub>2</sub>, které jsou normálně inhibovány zasířením moštu. Naopak existují uměle vyselektované kvasinky, které mají práh odolnosti vyšší. Většina vyselektovaných kmenů kvasinek produkuje SO<sub>2</sub> v menší míře (Bizaj et al., 2012, Ribéreau-Gayon et al., 2006).

## 2.3 Možnosti přídavku SO<sub>2</sub>

### 2.3.1 Formy použití SO<sub>2</sub>

V závislosti na složení prostředí se oxid siřičitý nalézá v různých formách, které nemají stejné vlastnosti. Je vyjadřován vždy ve formě SO<sub>2</sub> v mg.l<sup>-1</sup> bez ohledu na skutečně použitou formu. Účinek přísady je stejný bez ohledu na formu, kterou se produkt do vína dostává.

#### *Spalování pevné síry*

Toto síření se zakládá na spalování určitého množství pevné síry v prostoru sudu či jiné nádoby. Vzniklý oxid siřičitý vytěsňuje vzduch z nádoby, čímž se zamezí kontaktu plněného vína se vzduchem a zároveň dojde k jeho sycení přítomným SO<sub>2</sub>. Jedná se vlastně o plyný způsob síření. Jde o nejstarší formu použití oxidu siřičitého v enologii. Dříve se hojně používala pro úpravu volného oxidu siřičitého při stáčení. Dnes je jeho použití spíše specifikováno na konzervování prázdných nádob. Pro síření vína se používá již jen okrajově, jelikož je tato aplikace SO<sub>2</sub> značně nepřesná. Dalším nedostatkem je acidifikace vína, k níž dochází při opakovaném spalování síry v sudech nebo tancích.

Spalování síry se smí použít pouze na dřevěné a plastové nádoby. Plyn, který vzniká spalováním je agresivní vůči nátěrům kovových nádob a poškozuje i nerezavějící ocel. Sírění pomocí spalování se používá ve formě sirných plátků a pastilek.

Spalování síry má své hranice. Plynná síra má takovou vlastnost, že po překročení dané koncentrace v prostředí dojde k inhibici hoření.

#### *Plynný oxid siřičitý*

SO<sub>2</sub> se za běžné teploty zkapalňuje pod tlakem. Uchovává se v kovových lahvích o různých velikostech. Pro zjištění množství při aplikaci vysoké dávky do velkého objemu se používá vážení lahve, zatímco do menších objemů se používají dávkovače. Ty umožňují oxid siřičitý uvolňovat přímo z kovové láhve do nádoby.

Tato forma oxidu siřičitého se na trh dodává také v malých ampulkách vhodných pro několika set litrové objemy. Jde o flakony s kovovou kapslí, která se uvnitř sudu či nádoby proděraví.

#### *Disiřičitan draselný (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)*

Disiřičitan draselný neboli pyrosulfit draselný je bílý krystalický prášek (často se prodává v šumivých tabletách), jehož aktivita se projevuje až v kyselém prostředí. Jeho molekula teoreticky obsahuje 57,66 % SO<sub>2</sub> v praxi se však uvolní asi jen 50 % SO<sub>2</sub>. Přibližně tedy platí, že z 1 g pyrosulfitu se uvolní 0,5 g SO<sub>2</sub>. Při jeho přidání do vína dojde k reakci s kyselinou vinnou, při níž vznikne potřebný SO<sub>2</sub> a hydrogenvinan draselný (vinný kámen). Při jeho aplikaci je lepší požadované množství nejdříve rozpustit ve vodě, pak rovnoměrně rozmíchat v celém objemu ošetřovaného vína.

#### *Sírění pomocí vodných roztoků*

Jedná se o roztoky kyselého siřičitanu draselného (KHSO<sub>3</sub>), či siřičitanu amonného ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). Roztoky jsou k dostání v koncentracích 10, 18, 20 i 40 %. Jsou koncentrovanější a méně snadno se smíchávají. Jsou méně acidifikační než ostatní formy, protože jejich acidita je částečně neutralizována (Michlovský 2012).

Tab. 5: Použití jednotlivých forem SO<sub>2</sub> (Kolektiv 2002)

Forma SO <sub>2</sub>	Typy použití	Přednosti	Nedostatky
<b>Spalitelná síra:</b> knoty, plátky 1 g síry = 2 g SO <sub>2</sub> v ovzduší	Dřevěné nádoby	Jednoduché, čisté, dobrá aplikace do vína, Bez sedimentu na dně sudu	Nepřesné dávkování, nepohodlné použití, pouze malé dávky U knotů nebo plátku se ztrácí část síry odkapáváním na dno sudu
<b>Vodní roztok SO<sub>2</sub>:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Siřičitý roztok</li> <li>• Kyselý siřičitan draselný</li> <li>• Kyselý siřičitan amonný</li> </ul>	Přidávání po kapkách na sklizené hrozny; aplikace do vína s homogenizací	Polyvalentní, čistý roztok siřičitanu, relativně stabilní při kyselém siřičitanu draselném, velmi stabilní a nepáchnoucí při kyselém siřičitanu amonném	Nepříjemný přípravek, nestabilní titr, přínos draslíku a amonia, používá se výhradně na mošty
<b>Zkapalněný plynný SO<sub>2</sub></b>	Vpravení dávkovačem siřičitanu do vína	Jednoduchý, prostý, velmi čistý a úsporný	Nebezpečný pro uživatele, aplikovat velmi opatrně
<b>Pyrosiřičitan draselný:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Prášek</li> <li>• Šumivé tablety</li> </ul> 1 g pyrosiřičitanu draselného = 0,5 g SO <sub>2</sub>	Použití na sklizené hrozny, čištění kádí, Asepte stáček kalů	Jednoduché použití, u tablet je přesné dávkování a účinná homogenizace	Přínos draslíku (vysrážení vinného kamene)

### 2.3.2 Reduktivní typ vína

Reduktivní technologie výroby vín spočívá v zamezení zbytečného kontaktu vína se vzduchem, díky čemuž nedochází k nežádoucí oxidaci a tedy není zapotřebí sířit víno více než je třeba v závislosti na parametrech konkrétního vína (pH, zbytkový cukr, alkohol). Takové víno si pak zachová své výrazně expresivní ovocné aroma. Jsou to vína svěžích chutí a vůní, při kvašení za nízkých teplot často s projevy tropického ovoce. Jde o běžný typ vín, s nímž se můžeme setkat ve většině vinařských provozů.

Při výrobě vín se zbytkovým cukrem je nutné v okamžiku, kdy je jeho množství ve víně optimální, ukončit fermentaci. To lze provést přidáním takové dávky oxidu siřičitého, která zcela inhibuje růst kvasinek. Po dávce kolem  $100 \text{ mg.l}^{-1} \text{ SO}_2$  se fermentace zastaví a koncentrace cukru zůstává konstantní. S nižšími dávkami můžeme pracovat v závislosti na teplotě vína. Používají se při zastavování fermentace v kombinaci s chlazením produktu. Dávka však nesmí být příliš nízká. V takovém případě by došlo pouze k vyvázání  $\text{SO}_2$  a fermentace by pokračovala dál.

#### *Mechanismus účinku $\text{SO}_2$ proti kvasinkám*

Molekulární forma  $\text{SO}_2$  do buňky proniká aktivním transportem nebo prostou difúzí. Uvnitř buňky reaguje s řadou složek jako jsou koenzymy (NAD, FAD, FMN), kofaktorů a vitamínů (tiamin).  $\text{SO}_2$  v buňce ovlivňuje celou řadu enzymatických systémů a nukleové kyseliny.  $\text{SO}_2$  má také na svědomí podstatné snížení ATP (Michlovský, 2012).

#### **2.3.3 Sur-lie**

Surlie, ve francouzštině doslova „na kvasnicích“, je metoda, při které se mladé víno ponechává ležet delší dobu na kvasničných kalech „élevage“, někdy za současného intenzivního promíchávání „battonage“. Ponecháme-li mladé víno ležet na kvasnicích, probíhá po delší době jejich rozklad, tzv. autolýza. Při tomto procesu vznikají sloučeniny dusíku, polysacharidy a glykoproteiny. Jsou to látky, které patrně zlepšují kvalitu vín. Hodnotí se zvláště vznikající kulatost, mazlavost, jemnost a čistota vína (Steidl et al, 2010).

Význam sloučenin vzniklých autolýzou kvasinek:

- Polysacharidy zvyšují objem a kulatost vína v chuti.
- Mannoproteiny se vážou s antokyany a tříslovinami a zvyšují barevnou stabilitu a snižují trpkost v chuti.
- Látky z odumřelých kvasinek slouží jako výživa při jablečno-mléčné fermentaci.

- Zvyšuje se délka patra a struktura vína při pozdním uvolňování těkavých látek v polysacharidovém systému.
- Zabraňuje se oxidaci látek ovocných vůní.
- Při procesu proteolýzy dochází k hydrolýze bílkovin na aminokyseliny a peptidy, uvolnění většího množství dusíkatých látek, a to způsobuje složitější chuť vína (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

#### *SO<sub>2</sub> při zpracování hroznů při metodě surlie*

Důležité je vyhybat se hroznům, které mají velké množství tzv. elementární síry (příliš vysoké dávky sirných postřiků ve vinohradě, nevhodný termín ochrany); ta poskytuje velké množství sirných živin pro kvasinky před kvašením a dochází k produkci velkého množství sirovodíku. Nesprávné síření během zpracování hroznů rovněž vede k velkým problémům. Jestliže přidáváme velké množství SO<sub>2</sub> do moštu, dochází v průběhu fermentace k vyvázání SO<sub>2</sub> s acetaldehydem. Acetaldehyd se přirozeně v průběhu fermentace snižuje za vzniku etanolu. Pokud je nedostatek acetaldehydu v moštu, mohou se následně určité oxidované komponenty sirných látek v moštu, např. sulfáty SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> snáze přeměňovat na sirovodík. Kromě toho se může samotný SO<sub>2</sub> přeměnit na síru elementární a objevit se během následného kvašení či zrání vína ve formě sirovodíku (Kritzinger et al., 2013).

#### *SO<sub>2</sub> při výrobě vín surlie*

Vína obsahují malé množství tzv. endogenní SO<sub>2</sub> i bez jakéhokoliv síření. Enzymatické systémy kvasinky transportují málo se vyskytující elementární síru na sirné aminokyseliny (cystein, cystin, metionin, glutation) (Kritzinger et al., 2012). Produkují se i další aminokyseliny ze sulfidů a jiných těkavých vonných sloučenin, ze síranů a siřičitanů (viz Obr. 1). Produkce SO<sub>2</sub> se pohybuje od několika mg.l<sup>-1</sup> až po 30–40 mg.l<sup>-1</sup>, v některých situacích až do 150 mg.l<sup>-1</sup>. Tato produkce je proporcionální se spotřebou cukrů. Vyšší je při nižších teplotách a především v anaerobních podmínkách, dále ve velmi čirém fermentačním prostředí – nízkou turbiditou moštu, tedy v ostře vyčiřených mošttech, stejně jako při nedostatku aminokyselin metioninu či cysteinu.



Závisí také na kmenu kvasinek, je vyšší u kmenu citlivých na SO<sub>2</sub>, které je možné snadno tlumit zasiřením moštu (Maurizio Ugliano et al., 2011).

Víno by nemělo být zasiřeno během doby zrání na kalech, protože by mohlo dojít ke zvýšení koncentrace sirovodíku H<sub>2</sub>S. Ten se během zrání na kalech oxiduje a váže na jiné sloučeniny (Gobbi et al., 2013). Pokud je víno určeno ke zrání na kalech, je vhodné stanovit dávku SO<sub>2</sub> přibližně na 30 mg.l<sup>-1</sup>. Kvasinky samy produkují určité množství sirovodíku, ale pokud při dokončení fermentace není sensoricky zaznamenatelné, jen málokdy se tak stane později. To v praxi znamená, že po dokvašení není nutné přidávat SO<sub>2</sub>, neboť kaly mají vysokou antioxidační schopnost. Je třeba si ovšem uvědomit, že ponecháním vína delší dobu na kvasnicích v příliš reduktivních podmínkách přináší i několik rizik – např. vznik „sirky“. V podmínkách sudu pak možnou podporu kvasinek *Brettanomyces*, a tím i vznik nežádoucích „koňských pachů“ (Bizaj et al., 2012, Styger et al., 2011).

Je třeba mít na paměti, že brzké použití SO<sub>2</sub> po kvašení zvyšuje počet sloučenin tvořících vázaný SO<sub>2</sub>. Nadměrné síření má tendenci inhibovat vůni a chuť dřeva ve víně, ale nedostatečný obsah SO<sub>2</sub> zase může způsobovat předčasné stárnutí vína a snižovat tělnatost.

#### *Malolaktická fermentace (MLF) při výrobě vín surlie*

Malolaktická (od malic acid = kyselina jablečná, lactic acid = kyselina mléčná) fermentace, jablečno-mléčná fermentace či biologické odbourání kyselin je proces, při němž dochází k přeměně v chuti drsné kyseliny jablečné, přirozeně vyskytující se v hroznech, na jemnější kyselinu mléčnou. Víno, u něž proběhla MLF, je ve výrazu plnější a kulatější, má jemnější a sametovější kyselinu. Dalším nesporným kladem tzv. „odbouraných vín“ je vyšší stabilita a nižší potřeba oxidu siřičitého. Mnozí vinaři také sdílí pocit, že pro přirozenější souhru ovocnosti a dubového charakteru lze dosáhnout, pokud je MLF provedena v sudu (barrique). Z pohledu konzumenta je MLF technologickým krokem k produktu s nižším obsahem alergenu – SO<sub>2</sub>.

Když proběhne MLF u vína typu surlie, nemělo by být ve víně téměř žádné množství SO<sub>2</sub> (volné – nulové množství, jen co vyprodukují samy kvasinky; vázané pouze okolo 20–30 mg.l<sup>-1</sup>), aby došlo k nastartování MLF a víno bylo částečně bráněno před oxidací

pomocí  $\text{SO}_2$ . Sama metoda surlie v této situaci chrání víno před oxidací (míchání kalů chrání víno a sama produkce kvasinek  $\text{SO}_2$ ), ale také může docházet k nebezpečnému rozvoji nežádoucích bakterií. Nejbezpečnější výsledek proto přináší možnost očkování čistou kulturou bakterií na konci alkoholové fermentace nebo již v průběhu kvašení – zde je riziko, že kvašení neproběhne úplně, u přezrálého materiálu s vysokým pH také vznik kyseliny octové z metabolismu cukrů mléčnými bakteriemi. Doba bez  $\text{SO}_2$  má pro MLF kladný význam, neboť autolýza kvasinek pozitivně stimuluje bakterie a funguje jako dusíkatá a mikroprvková výživa.  $\text{SO}_2$  představuje pro bakterie velmi silný inhibitor. V případě vín, u kterých neproběhla MLF, je dobré hladinu  $\text{SO}_2$  držet na nízké úrovni okolo  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  volné  $\text{SO}_2$ , nebo nechat víno úplně bez přídavku  $\text{SO}_2$  a sledovat, zda MLF proběhne zdárně během ležení. Tato metoda však přináší vždy vyšší riziko defektů (Butzke et al., 2011, Ribéreau-Gayon et al., 2006).

### **3. Cíl práce**

Úkolem této bakalářské práce bylo pečlivě prostudovat dostupnou odbornou literaturu týkající se problematiky managementu oxidu siřičitého při výrobě bílých vín, popisu jeho složek ve víně a možností jeho přidavku do vína.

Cílem experimentální části bylo vyrobit na základě rozdílného dávkování oxidu siřitého vína jiných parametrů ze stejné vstupní suroviny. Experiment byl prováděn na třech vzorcích, u nichž v průběhu jejich zrání a školení docházelo k pravidelnému monitoringu SO<sub>2</sub>. Výsledky pak byly statisticky zhodnoceny.

## 4. Experimentální část

### 4.1 Materiál a metody

#### 4.1.1 Popis zvolené odrůdy

Rulandské šedé pravděpodobně vzniklo jako pupenová mutace z Rulandského modrého. Patří rovněž do skupiny burgundských odrůd. Odrůda pochází pravděpodobně z burgundska, odkud jí císař Karel IV. přivezl do Evropy. V Německu dal podklad k rozšíření kupec Johann Seger Ruland v roce 1711. Odtud vzniklo pojmenování Rulandské. U nás se ojediněle vyskytovala již v 15. století, souvislé výsadby jsou však evidovány až v roce 1910. Ve Francii se Rulandské šedé pěstuje cca na 900 ha. V ČR se Rulandské šedé pěstuje na 703 ha.

List je středně velký, okrouhlý, s puchýřkatým a zvlněným okrajem. 5-ti řapíkatý výkrojek je otevřený, ve tvaru písmene V. Bobule je malá, kulatá, šedočervená až šedomodročervená. V ročnících s intenzivním osluněním je barva slupky téměř modrá.

Odrůda raší středně raně, ve druhé polovině dubna. Kvete v první dekádě června. K zaměkání bobulí dochází v první dekádě srpna. Rulandské šedé dozrává koncem září až v první polovině října.

Rulandské šedé má střední až vysoké požadavky na stanoviště. Nároky však nejsou tak vysoké jako u Rulandského bílého, neboť hrozny dozrávají dříve.

Odrůdě Rulandské šedé vyhovují hluboké a výživné půdy. Velmi vhodné jsou hlinité půdy, na nichž se tvoří větší množství extraktivních látek. Velmi dobře snáší vyšší obsah aktivního vápna v půdě. Vhodné nejsou půdy kamenité a písčité. Na lehkých půdách mívá víno barvu do růžova a může být fádňí.

Rulandské šedé má dobrou odolnost k zimním mrazům. Avšak, je citlivé na jarní mrazíky. Odolnost k houbovým chorobám je označována za střední. Odolnost k plísni révy je střední až dobrá. O něco více náchylná může být tato odrůda k napadení padlím révy. Ochrana proti těmto houbovým chorobám je třeba věnovat velkou pozornost.

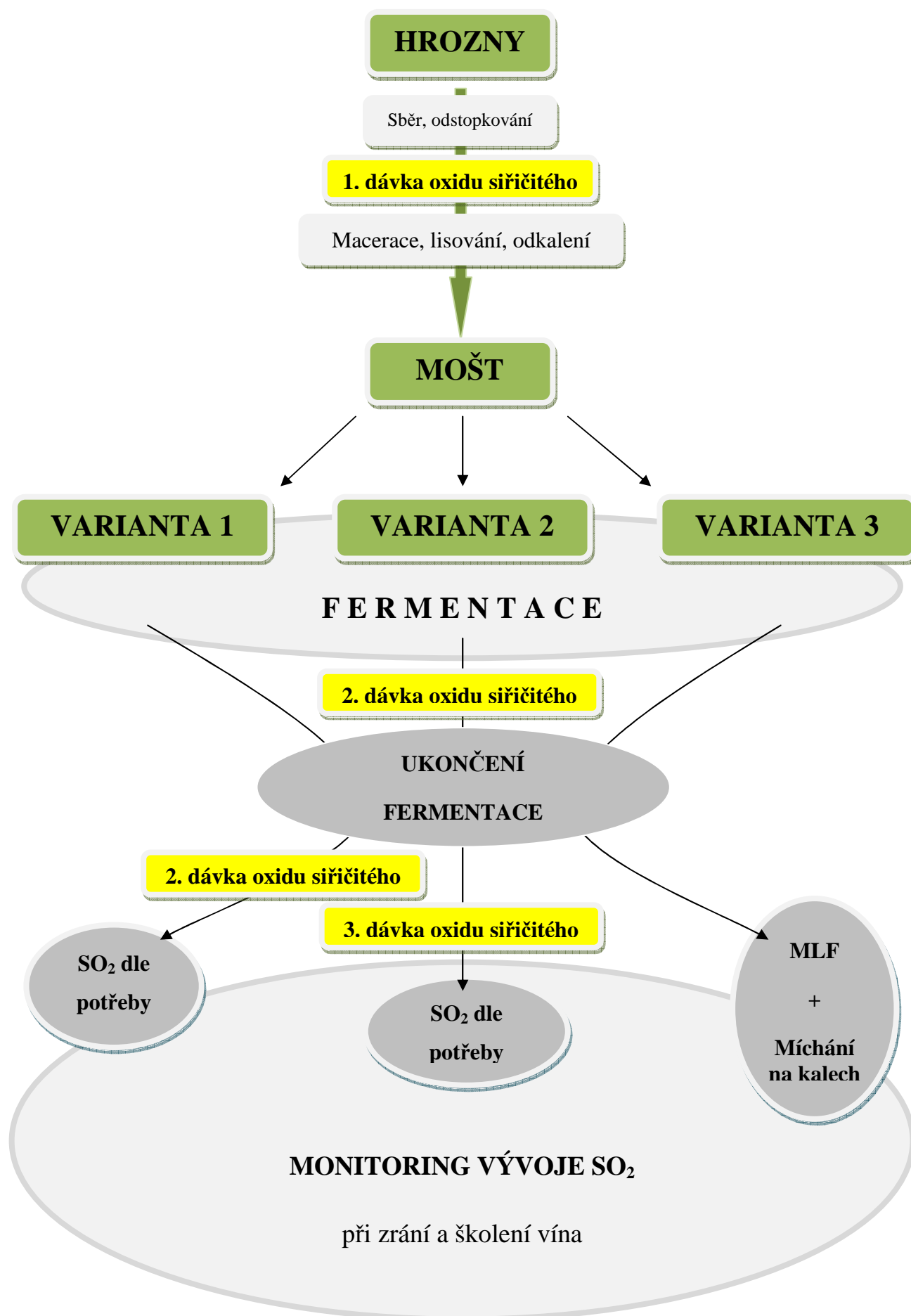
Rulandské šedé má střední až nižší odolnost k šedé hnilobě révy. V ročnících s deštivým počasím v období zaměkání může dojít k silnému napadení hroznů. Naopak v suchých ročnících dochází k výskytu ušlechtilé formy šedé hniloby.

Ve velmi dobrých lokalitách může být doporučované zatížení 8-10 oček na m<sup>2</sup>.

V lokalitách s horšími podmínkami je doporučené zatížení 6-8 oček na m<sup>2</sup>.

Rulandské šedé se vyznačuje chuťovou plností a extraktivností. Víno má výrazně květinově-ovocné aroma typickou chlebovinou, která umocňuje chuťový zážitek z vína (Pavloušek,2007).

#### 4.1.2 Schéma experimentu



#### 4.1.3 Parametry hroznů a moštu

Hrozny odrůdy Rulandské šedé byly sklizeny ručně dne 7.10.2013 do sběrných vozů. Byly vypěstovány na vinici ležící v oblasti Morava, podoblasti Velkopavlovická, vinařské obce Kobylí, viniční trať Rokytí. Vinice je s jižní expozicí, vysázena na hlinité půdě roku 2007. K pokusu bylo sklizeno cca 1750 kg hroznů z 1200 keřů, z čehož vyplývá, že zatížení na jeden keř bylo 1,46 kg na keř hroznů perfektního zdravotního stavu a výborné fenolické zralosti. Tento materiál byl okamžitě po sběru převezen do provozu firmy Vinařství Herzánovi, kde byl na mlínkoodstopkovači zbaven třapiny. Rmut byl pak ošetřen  $50 \text{ mg.l}^{-1}$  disičičitanem draselným a ponechán tříhodinové maceraci. Poté byl rmutovým čerpadlem dopraven na horizontální mechanický lis a vylišován. Do moštu bylo aplikováno  $300 \text{ mg.l}^{-1}$  přípravku firmy Lafort PolymustAF na odkalení. Následující den, tedy 8.10.2013, byl odkalený mošt stočen, rozdělen do tří plastových nádob stejného objemu a zakvašen čistou kvasinkovou kulturou VL1 od firmy Lafort. Před stočením z kalů byl odebrán vzorek moštu, který byl podroben analýze. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce.

Tab. 6: Parametry hroznů a moštu

Cukernatost	23° NM
Asimilovatelný dusík	$217,17 \text{ mg.l}^{-1}$
pH	3,16
Volný $\text{SO}_2$	$5 \text{ mg.l}^{-1}$
Veškerý $\text{SO}_2$	$20 \text{ mg.l}^{-1}$
Celkové kyseliny	$9,51 \text{ g.l}^{-1}$

#### 4.1.4 Průběh fermentace

Vzhledem k tomu, že poměr mezi naměřenými hodnotami asimilovatelného dusíku a obsahu cukrů byl ideální, nebyla do moštu přidána výživa pro kvasinky. Fermentace započala u všech tří variant několik hodin po inokulaci bez sebemenších problémů. Probíhala pozvolně a čistě při teplotách pohybujících se kolem 20°C.

#### 4.1.5 Školení vína na základě zvolených technologií

##### *Reduktivní technologie – VARIANTA 1*

Po ukončení fermentace dne 20. 10. 2013 bylo mladé víno stočeno z hrubých kalů. Následující dny a to každý druhý den došlo k zamíchání jemných kalů tohoto vína v celém objemu, pro zvýšení jeho plnosti v chuti. Tento úkon byl proveden celkem čtyřikrát a poté, dne 28.10.2013, bylo víno zasířeno disiřičitanem draselným na hodnotu 50 mg.l<sup>-1</sup> volného SO<sub>2</sub>. Následujících 5 měsíců se s vínem žádným způsobem nemanipulovalo a nechalo se zrát a formovat na jemných kalech. Dne 9.4.2014 bylo víno stočeno z jemných kalů, přísířeno o 10 mg.l<sup>-1</sup> volného SO<sub>2</sub> a vráceno zpět do plastové nádoby s plovoucím víkem. Vývoj oxidu siřičitého byl po celou dobu zrání sledován a to první dva měsíce každých cca 14 dnů, dále pak jedenkrát měsíčně, kdy byl odebrán vzorek vína, ve kterém byl stanoven obsah volného a veškerého oxidu siřičitého pomocí jodometrické titrace. Výsledky měření jsou shrnuty v tabulce a grafu níže.

##### *Reduktivní technologie s aplikací SO<sub>2</sub> pro ukončení fermentace – VARIANTA 2*

Během dokvácení byl u této varianty kontrolován obsah zbytkového cukru. Dne 14. 10. 2014, kdy bylo zjištěno takové množství zbytkového cukru, které bylo požadováno ve výsledném víně, došlo k aplikaci takového množství disiřičitanu draselného, jaké odpovídá 75 mg.l<sup>-1</sup> SO<sub>2</sub>, což je dostačující dávka k tomu, aby byla inhibována činnost kvasinek a tedy došlo k ukončení fermentace. 16. 10. 2014, tedy po dvou dnech došlo ke stočení mladého vína z hrubých kalů. Následující dny docházelo ve víně k vázání volného oxidu siřičitého především na acetaldehyd, který vznikl činností kvasinek během fermentace a po přidání vysoké dávky SO<sub>2</sub> též jako produkt kvasinek. Proto



muselo dojít dne 28. 10. 2014 k další aplikaci oxidu siřičitého, a sice o  $30 \text{ mg.l}^{-1}$ . Víno tedy bylo zasířeno na hodnotu přibližně  $60 \text{ mg.l}^{-1}$ , která byla již dostačující za daných podmínek k udržení zdravého stavu vína. Následujících 5 měsíců se s vínem žádným způsobem nemanipulovalo a nechalo se zrát a formovat na jemných kalech. Dne 9.4.2014 bylo víno stočeno z jemných kalů, přísířeno o  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  volného  $\text{SO}_2$  a vráceno zpět do plastové nádoby s plovoucím víkem. Vývoj oxidu siřičitého byl po celou dobu zrání sledován a to první dva měsíce každých cca 14 dnů, dále pak jedenkrát měsíčně, kdy byl odebrán vzorek vína, ve kterém byl stanoven obsah volného a veškerého oxidu siřičitého pomocí jodometrické titrace. Výsledky měření jsou shrnuty v tabulce a grafu níže.

### *Technologie sur-lie – VARIANTA 3*

U třetí varianty došlo během dokvášení dne 20. 10. 2013 ke stočení obsahu plastové nádoby z hrubých kalů do dřevěného dubového sudu. Zde byla během několika dalších dní fermentace úplně ukončena, a to dne 26. 10. 2013. Od této chvíle po další dva měsíce bylo prováděno míchání mladého vína na jemných kvasničních kalech a sice jedenkrát za dva dny, následující měsíce docházelo k tomuto úkonu přibližně jednou za 4 dny a tak se bude dít až do lahvování tohoto vína. Tímto procesem dochází k udržování oxidačně-redukčního potenciálu a dalších významných biochemických procesů typických právě pro batonáž a tedy technologii surlie. Dne 16.12.2014 byla do tohoto vína inokulována čistá kultura bakterie *Oenococcus oeni* za účelem malolaktické fermentace, která následně zdárně proběhla během několika týdnů. Tak jako u předešlých variant byl i u této sledován stejným způsobem obsah volného a veškerého oxidu siřičitého, i když během zrání tohoto vína nebyl aplikován. Výsledky měření jsou shrnuty v tabulce a grafu níže.

#### **4.1.6 Analytické metody**

V průběhu zrání těchto tří vín vyrobených ze stejné suroviny, ale jinou technologií s odlišným dávkováním oxidu siřičitého, byl monitorován právě vývoj  $\text{SO}_2$ . Ve finální části experimentu byly změřeny i ostatní parametry vína, aby mohlo dojít k celkovému zhodnocení variant a jejich vzájemnému porovnání.

### *Stanovení volného a veškerého SO<sub>2</sub> jodometricky*

Jedná se o odměrnou analytickou metodu stanovení volného a veškerého oxidu siřičitého, kdy odměrný roztok jodu oxiduje přímo SO<sub>2</sub> obsažený ve víně, případně po uvolnění SO<sub>2</sub> z vazeb s karbonylovými sloučeninami současně i veškerý SO<sub>2</sub>.

Postup stanovení volného SO<sub>2</sub>: Do titrační baňky odpipetujeme 50 ml vína. Poté přidáme 10 ml kyseliny sírové a 10 ml škrobového mazu a titrujeme 0,02 M roztokem jódu do modrého zbarvení, které vydrží minimálně 30 sekund.

Postup stanovení vázaného SO<sub>2</sub>: Do titrační baňky odpipetujeme 50 ml vína. Poté přidáme 25 ml roztoku NaOH a ponecháme 15 minut odstát. Pak přidáme 15 ml kyseliny sírové a 10 ml škrobového mazu a titrujeme 0,02 M roztokem jódu do modrého zbarvení, které vydrží minimálně 30 sekund.

### *Měření pomocí přístroje ALPHA*

Přístroj ALPHA je kompaktní FTIR analyzátor využívající vzorkovací techniku ATR, která významně zjednodušuje úpravu vzorku před analýzou. Před zahájením měření prvního vzorku byl přístroj důkladně propláchnut deionizovanou vodou a bylo změřeno pozadí (slepý vzorek = deionizovaná voda). Pro analýzu byl pomocí stříkačky odebrán 1 ml čirého vzorku, přičemž 0,5 ml posloužilo k proplachu systému a z druhého 0,5 ml vzorku byla provedena tři měření. V závislosti na kalibraci byla změřená data pomocí softwaru automaticky vyhodnocena a převedena do tabulky.

### *Stanovení obsahu bílkovin turbidimetricky*

Ve víně jsou bílkoviny jednoduché a složené proteiny. Do vína se dostávají z moštu. Během kvašení se většina bílkovin spotřebuje jako výživa pro kvasinky. Kvasinky však bílkoviny přeměňují na jiné bílkoviny, které zůstávají ve víně po odumření kvasinek. Při přítomnosti většího množství bílkovin ve víně dochází k reakci s tříslovinami a dochází k vzniku bílkovinného zákalu. Vzniku zákalu se předchází čířením vína bentonitem (Balík, 1998).

Turbidimetrie je založena na měření stupně zákalu (turbidity). Čirý vzorek vína se nechá temperovat po dobu 90 minut při teplotě 70°C, čímž dojde k vysrážení všech

přítomných termolabilních bílkovin a tedy k zakalení vína. Míra zákalu se pak měří na turbidimetru a na základě výsledku, který je udáván v jednotkách NTU, stanovíme množství čerícího přípravku.

## 4.2 Výsledky

### 4.2.1 Monitoring vývoje SO<sub>2</sub> u jednotlivých variant

U jednotlivých variant byl sledován postupný vývoj volného a veškerého SO<sub>2</sub> během jejich zrání. Tyto výsledky byly shrnuty do tabulek. Z nich byly poté vytvořeny grafy, které nám jasně ukazují jakým způsobem se volný a veškerý SO<sub>2</sub> vyvíjel.

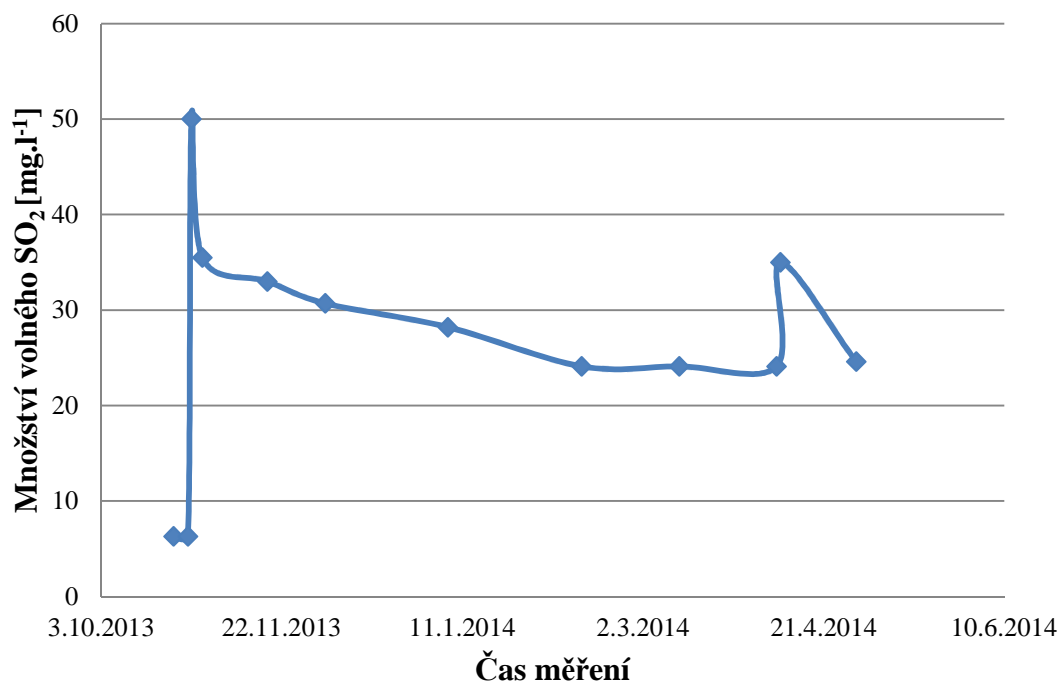
#### *VARIANTA 1*

Tab. 7: Vývoj SO<sub>2</sub> u varianty 1

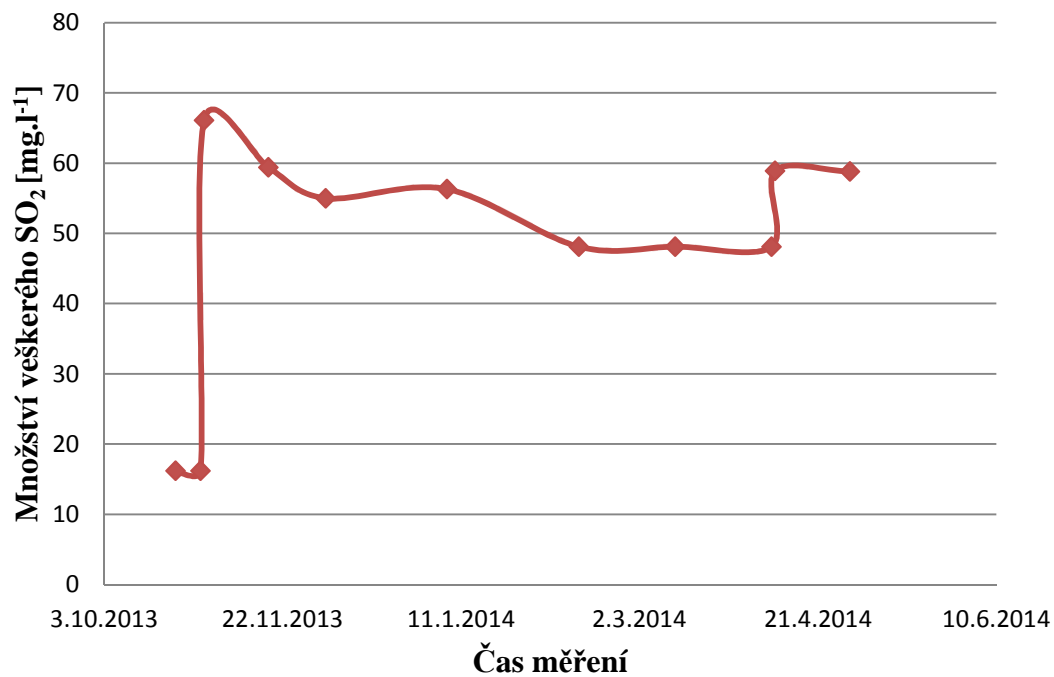
Datum měření/síření	Volný SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]	Veškerý SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]
23.10.2013	6,3	16,2
28.10.2013	+ 50	+ 50
31.10.2013	35,5	66,1
18.11.2013	33,0	59,4
4.12.2013	30,7	55,0
7.1.2014	28,2	56,3
13.2.2014	24,1	48,1
12.3.2014	24,1	48,1
9.4.2014	+ 10	+ 10
30.4.2014	24,6	58,9

Dne 28.10.2013 došlo k zasíření mladého vína o 50 mg.l<sup>-1</sup> disiřičitanem draselným. Z tohoto množství se zhruba 20 mg.l<sup>-1</sup> téměř ihned vyvázalo a zbylé množství volného SO<sub>2</sub> chránilo víno před oxidací a mikroby několik dalších měsíců za postupného vyvazování. Dne 9.4.2014 bylo víno přisířeno o 10 mg.l<sup>-1</sup>, který se během měsíce vyvázal. Tento vývoj volného i veškerého SO<sub>2</sub> znázorňuje graf č. 1 a 2.

Graf 1: Vývoj volného  $\text{SO}_2$  u varianty 1



Graf. 2: Vývoj veškerého  $\text{SO}_2$  u varianty 2



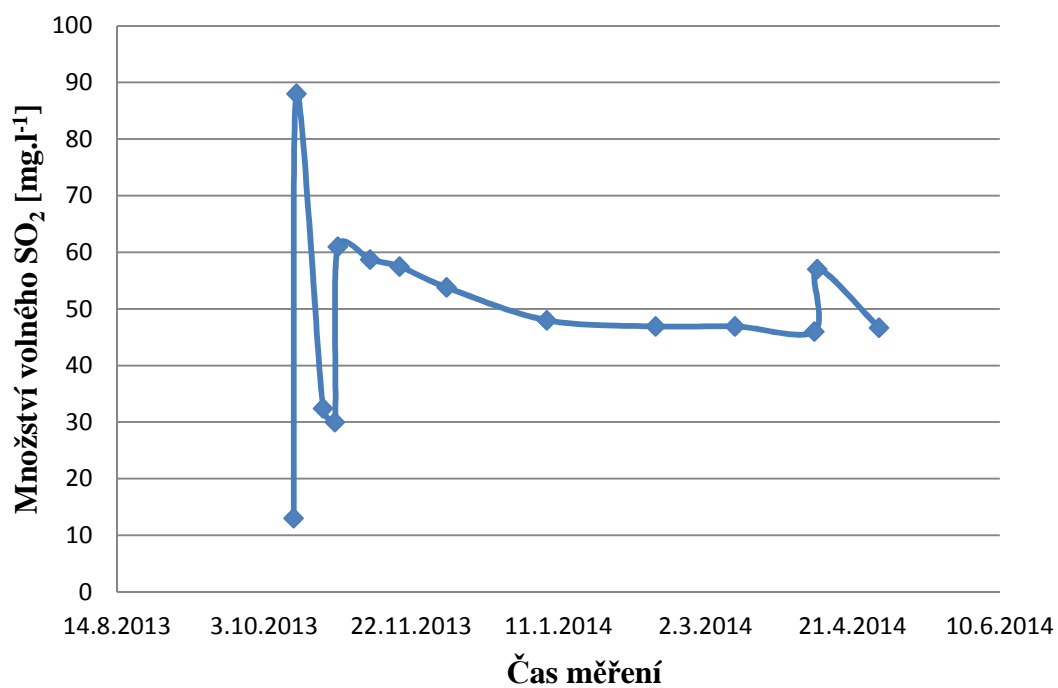
## VARIANTA 2

Tab. 8: Vývoj SO<sub>2</sub> u varianty 2

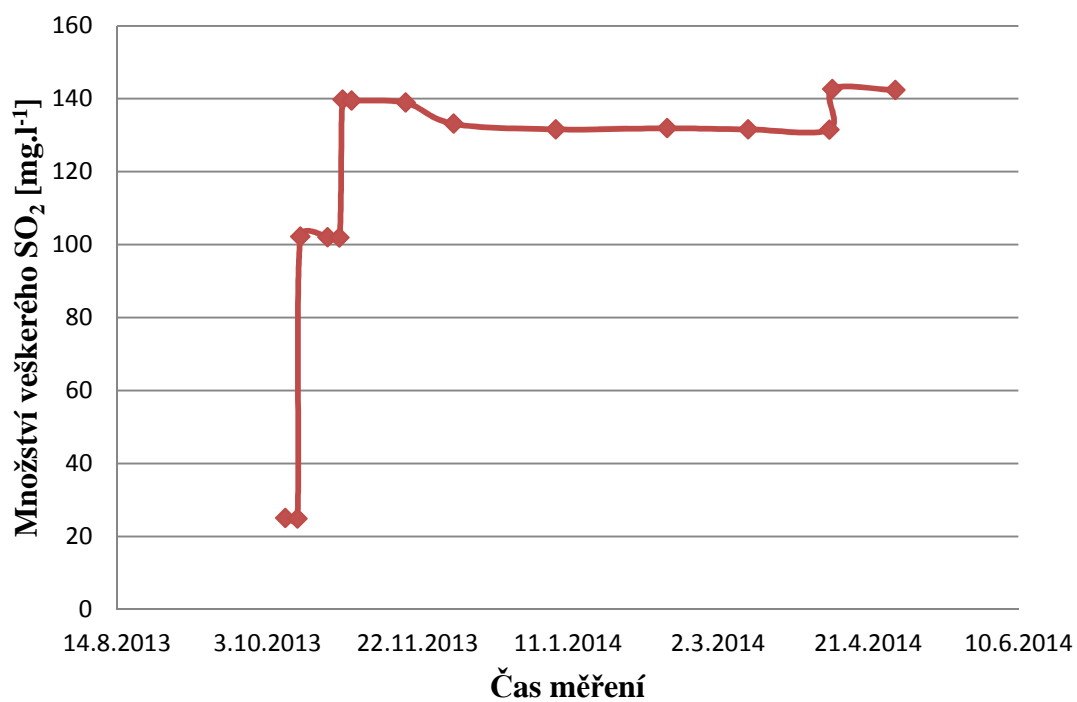
Datum měření/síření	Volný SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]	Veškerý SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]
14.10.2013	+ 75	+ 75
23.10.2013	32,4	102,2
28.10.2013	+ 30	+ 30
31.10.2013	58,7	139,5
18.11.2013	57,5	138,9
4.12.2013	53,8	133,1
7.1.2014	48,0	131,6
13.2.2014	46,9	131,9
12.3.2014	46,9	131,6
9.4.2014	+ 10	+ 10
30.4.2014	46,7	142,4

Dne 14.10.2013, kdy mošt ještě pozvolna dokvášel, byla aplikována dávka disiřičitanu draselného odpovídající hodnotě 75 mg.l<sup>-1</sup> oxidu siřičitého. Z tohoto množství se během několika dní více než 50 % vyvázalo vlivem kvasinek a jejich produktů a tak obsah volného SO<sub>2</sub> činil dne 23.10.2013 32,4 mg.l<sup>-1</sup>, což je pro mladé sladké víno z hlediska stability poměrně nízká dávka. Proto bylo víno přisířeno o 30 mg.l<sup>-1</sup> SO<sub>2</sub>. Víno tedy obsahovalo cca 60mg.l<sup>-1</sup> volného SO<sub>2</sub>, který se pozvolna vyvazoval a chránil víno několik dalších měsíců při jeho zrání. Dne 9.4.2014 bylo víno přisířeno dávkou odpovídající 10 mg.l<sup>-1</sup> SO<sub>2</sub>. Ta se během měsíce vyvázala. Tento vývoj volného i veškerého SO<sub>2</sub> znázorňují grafy 3 a 4.

Graf 3: Vývoj volného  $\text{SO}_2$  u varianty 2



Graf 4: Vývoj veškerého  $\text{SO}_2$  u varianty 2



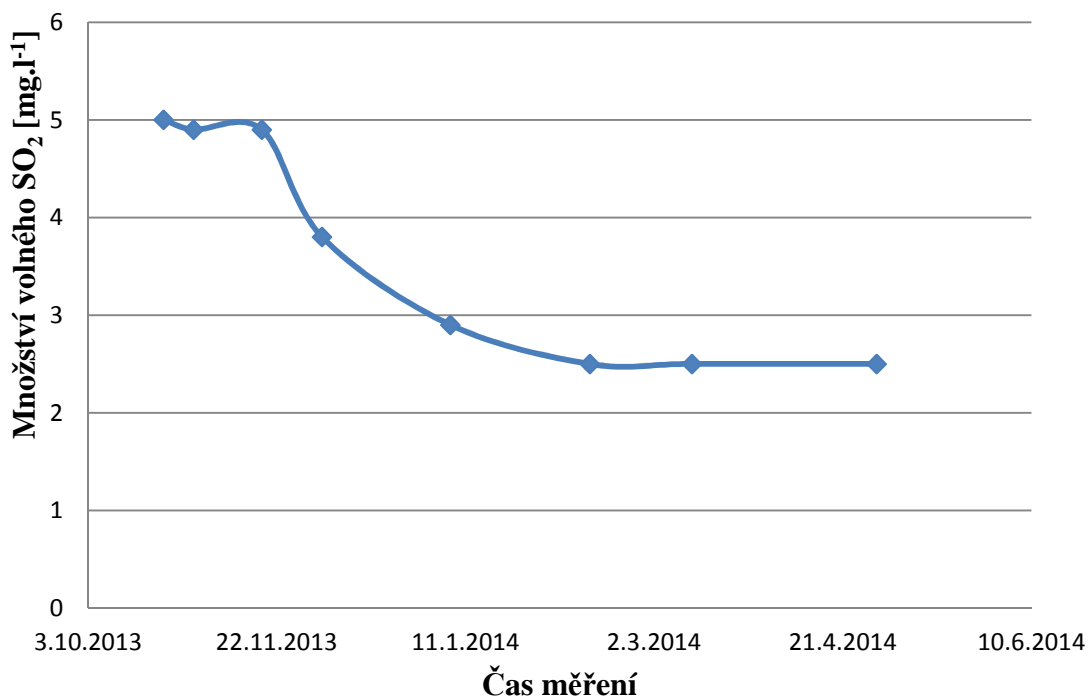
### VARIANTA 3

Tab. 9: Vývoj SO<sub>2</sub> u varianty 3

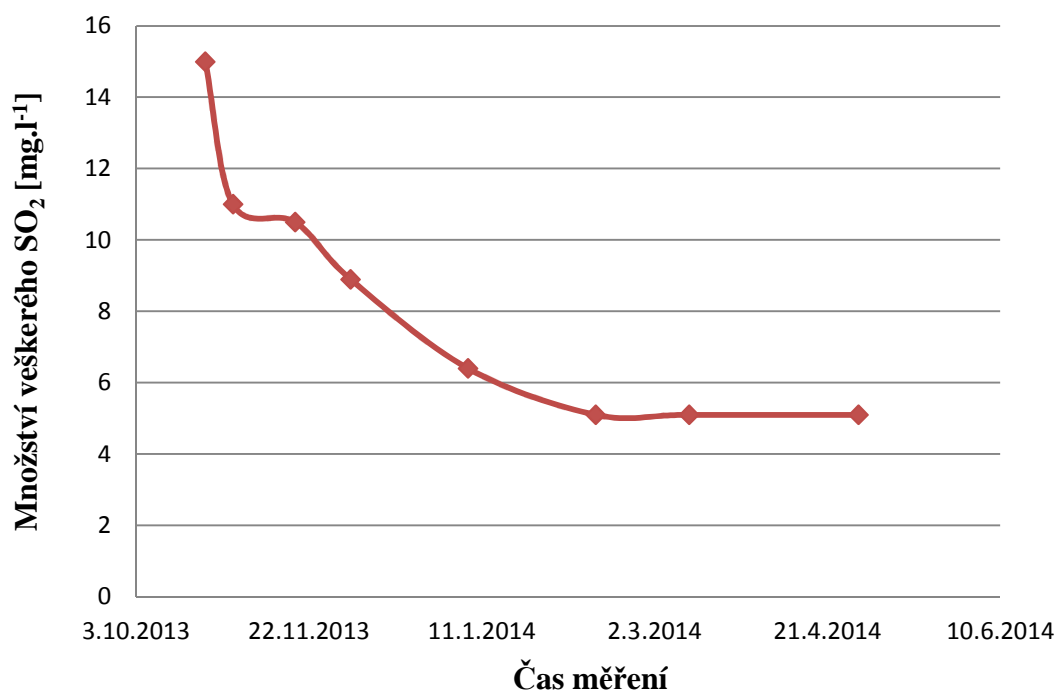
Datum měření/síření	Volný SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]	Veškerý SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]
23.10.2013	5,0	15,0
31.10.2013	4,9	11,0
18.11.2013	4,9	11,0
4.12.2013	3,8	8,9
7.1.2014	2,9	6,4
13.2.2014	2,5	5,1
12.3.2014	2,5	5,1
30.4.2014	2,5	5,1

Od momentu kdy byl zjištěn konec fermentace (26.10.2013) docházelo k technologické operaci zvané batonáž, díky níž nebylo potřeba víno sířit. V průběhu zrání byl i přesto sledován vývoj volného i veškerého SO<sub>2</sub>, který je znázorněn grafem 5 a 6.

Graf 5: Vývoj volného SO<sub>2</sub> u varianty 3



Graf 6: Vývoj veškerého SO<sub>2</sub> u varianty 3



#### 4.2.2 Základní analytické parametry jednotlivých variant

Dne 30.4.2014 byly odebrány vzorky všech variant nejen k poslednímu stanovení obsahu oxidu siřičitého, ale také k celkovému laboratornímu rozboru pomocí analyzátoru ALPHA. Z těchto výsledků je patrné, jaký vliv má daná technologie dávkování SO<sub>2</sub> na základní parametry vína.



Tab. 10: Analytické parametry jednotlivých variant

	naměřené hodnoty		
	varianta 1	varianta 2	varianta3
<b>alkohol [%]</b>	14,7	12,01	14,39
<b>titr. Kys. [g.l<sup>-1</sup>]</b>	7,83	8,12	6,31
<b>red. Cukry [g.l<sup>-1</sup>]</b>	0,7	34,5	1,9
<b>pH</b>	3,14	3,12	3,21
<b>k. jablečná [g.l<sup>-1</sup>]</b>	3,75	4,06	0
<b>k. mléčná [g.l<sup>-1</sup>]</b>	0,29	0,11	2,65
<b>k. octová [g.l<sup>-1</sup>]</b>	0,36	0,42	0,48
<b>k. vinná [g.l<sup>-1</sup>]</b>	2,62	3,08	3,08
<b>glycerol [g.l<sup>-1</sup>]</b>	7,98	7,46	8,04
<b>hustota [g.cm<sup>-3</sup>]</b>	0,99047	1,00646	0,98995

Jelikož u varianty 2 došlo k zastavení fermentace použitím oxidu siřičitého a tedy neproběhla do úplného konce, má tato varianta nejnižší obsah alkoholu a zároveň nejvyšší obsah zbytkového cukru. Varianta 3 vyrobená technologií surlie má nulový obsah kyseliny jablečné. Došlo u ní totiž k MLF v průběhu zrání. Toto víno má tedy nejnižší obsah kyselin (nejvyšší pH) a nejvyšší obsah kyseliny mléčné.

#### 4.2.3 Stanovení termolabilních bílkovin – potřeba čření

Jednotka NTU udává míru zakalení u daného vzorku po provedení teplotního šoku na víně. Čím vyšší výsledek je, tím více vzorek obsahuje termolabilních bílkovin a tím více je nutné použít bentonitu k vyčření vína.

Tab. 11: Termolabilní bílkoviny u jednotlivých variant

Vzorek	Bílk. Stabilita [NTU]	Dávka bentonitu [g.l <sup>-1</sup> ]
Varianta 1	6,12	0,4
Varianta 2	9,2	0,6
Varianta 3	0,41	0,1

Z výsledků na bílkovinnou stabilitu vyplývá, že varianta 3, tedy víno vyrobené metodou surlie je stabilnější než ostatní varianty. Také varianta, která byla zasířena po dokvašení má nižší obsah termolabilních bílkovin než varianta u které došlo k zastavení fermentace dávkou SO<sub>2</sub>.

#### 4.2.4 Senzorické hodnocení

Varianta 1, tedy víno vyrobené reduktivní metodou je víno suché, ve vůni květinové, ovocné aroma, které mírně zastírá pach po síře. Chuť je středně plná, ovocná s výraznou kyselinkou. Víno lehké s kratším, svěžím závěrem.

Varianta 2, víno vyrobené též reduktivní metodou s ponechaným zbytkovým cukrem. Ve vůni zavazí pach po síře, který překrývá tóny tropického ovoce a květin. Chuť je plná, ovocná. Kyselinka příjemně sladěná se zbytkovým cukrem. Středně dlouhý, svěží závěr.

Varianta 3 je víno vyrobené metodou surlie. Po celou dobu zrání nebylo ošetřeno oxidem siřičitým, oxidačně-redukční potenciál byl udržován mícháním jemných kalů. Ve víně jsou patrné mírné oxidační tóny. Ovocné aroma překrývají tóny vanilky a kokosu, dané zráním vína v dubovém sudu. Chuť je plná, jemná až sametová s příjemnou kyselinkou v závěru.

## 5. Diskuze

Ribéreau-Gayon et al., (2006) uvádí, že množství použitého bentonitu se u vín vyrobených metodou surlie snižuje minimálně o polovinu. Výsledky pokusu ukazují, že množství termolabilních bílkovin u vín vyrobených reduktivně, je vyšší několikanásobně. Konkrétně u varianty, která obsahuje  $60 \text{ mg.l}^{-1}$  veškerého  $\text{SO}_2$ , je potřeba 4x vyšší dávka bentonitu, u varianty se  $140 \text{ mg.l}^{-1}$  veškerého  $\text{SO}_2$  až 6x vyšší. Je tedy jasné, že vína surlie jsou vyráběna šetrnější cestou, však s vyššími nároky na čas a zkušenost sklepmistra.

Od hladiny  $1 \text{ mg.l}^{-1}$  molekulárního  $\text{SO}_2$  dochází ke štípání v nose. Není možné však regulovat odděleně molekulární  $\text{SO}_2$  a volný  $\text{SO}_2$ . Pokud se zvýší koncentrace volného oxidu siřičitého pro jeho antioxidační schopnost, zvýší se i hodnota molekulárního  $\text{SO}_2$  a jeho agresivita v senzorickém vnímání (Grant-Preece et al., 2013). Tento fakt se potvrdil při degustaci variant jedna i dvě. Navzdory tomu, že obě varianty neměli při degustaci nijak vysoký obsah volného oxidu siřičitého, hodnotitelé soudili, že tomu tak je. Díky tomu, že obě vína obsahují vysoké množství kyselin a tedy mají nízké pH, množství molekulárního  $\text{SO}_2$  ve víně stoupá a tak dochází k jeho nepříjemnému projevu při degustaci.

Doporučuje se vyvarovat přidávání oxidu siřičitého do kvasícího nebo dokvážejícího moštu – byl by okamžitě vázán a ztratil by jakoukoli další účinnost. Chceme-li při výrobě sladkého vína zastavit fermentaci, je nutné použít jedinou dostatečně velkou dávku k zablokování veškeré fermentační aktivity. Nejvyšší koncentrace acetaldehydu se vyskytují díky následným refermentacím. Řada dalších zasiření, která jsou přitom nutná, přispívá ke zvýšení podílu vázaného  $\text{SO}_2$  (Michlovský, 2012). Při našem experimentu byla použita dávka  $75 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{SO}_2$  pro zastavení fermentace a jak se ukázalo, je tato dávka dostačující. Během několika hodin došlo k vyvázání více než poloviny této dávky, proto byl ve víně zvýšen obsah volného  $\text{SO}_2$  aby se zamezilo případným refermentacím, během kterých by došlo ke zbytečnému navyšování vázaného oxidu siřičitého a také k narušení senzorické čistoty. Kdyby byla použita dávka pouze  $50 \text{ mg.l}^{-1}$  jako u varianty 1, nedošlo by k zastavení fermentace, přidaný oxid siřičitý by se hned vyvázal a fermentace by pokračovala dál. Pokud by došlo k zastavení fermentace přidáním příliš vysoké dávky  $\text{SO}_2$ , nemusel by se zbylý volný oxid siřičitý během zrání vína dostat na hodnotu senzoricky nepostřehnutelnou (Grant-

Preece et al., 2013) pro konzumenta - víno by bylo nepitelné. Z těchto důvodů je nutné přistupovat k zastavení fermentace pomocí oxidu siřičitého s rozvahou a určitou opatrností.

## 6. Závěr a doporučení pro praxi

Z výsledků experimentu je patrné, že varianta 2, tedy varianta s ponechaným zbytkovým cukrem má nejvyšší obsah veškerého oxidu siřičitého ( $142 \text{ mg.l}^{-1}$ ) i volného  $\text{SO}_2$  ( $46 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Je tomu tak především proto, že zde došlo k aplikaci  $75 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{SO}_2$  do dokvášejícího moštu za účelem zastavení fermentace. Než se tak stalo, více než polovina volného oxidu siřičitého zreagovala především s acetaldehydem, který vzniká jako meziprodukt alkoholové fermentace. Proto muselo být mladé víno dosířeno dávkou  $30 \text{ mg.l}^{-1}$ , aby bylo zamezeno možné refermentaci. Ta by nastala v případě nízkého obsahu volného oxidu siřičitého. S vínem pak už nebylo žádným způsobem manipulováno, nedocházelo tak ke zbytečnému kontaktu se vzduchem a tak vyvazování volného  $\text{SO}_2$  probíhalo pozvolně a plynule. Tyto výsledky znázorňují grafy 3 a 4. Vzhledem k pH vína a jeho mikrobiální stabilitě již nebylo nutné přidávat  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  oxidu siřičitého. Právě nízké pH bylo příčinou hodnocení vína jako přesířené i když obsahuje  $46 \text{ mg.l}^{-1}$  volného  $\text{SO}_2$ , což je hodnota pro sladké víno normální. Proto by měla být dávka  $\text{SO}_2$  stanovována současně ve vztahu k mikrobiologické stabilitě a ke kapacitě absorbovatelného kyslíku. Varianta 1 obsahuje veškerého oxidu siřičitého  $60 \text{ mg.l}^{-1}$  a volného  $25 \text{ mg.l}^{-1}$ . Po ukončení fermentace bylo aplikováno  $50 \text{ mg.l}^{-1}$  oxidu siřičitého a protože bylo víno opět uchováváno bez přístupu vzduchu, docházelo k pozvolnému vyvazování  $\text{SO}_2$ . U této varianty, bylo možné udržovat hladinu volného oxidu siřičitého v nízkých koncentracích, jelikož zde nehrozila refermentace. Množství  $20 - 30 \text{ mg.l}^{-1}$  volného  $\text{SO}_2$  stačí k udržení oxidačně-redukčního potenciálu vína. Vývoj  $\text{SO}_2$  u této varianty je znázorněn v grafech 1 a 2. U varianty 3 nebyl aplikován oxid siřičitý. Oxidačně-redukční potenciál byl udržován mícháním jemných kalů.  $\text{SO}_2$ , který je u této varianty přítomný (grafy 5 a 6) pochází z aplikace  $\text{SO}_2$  na rmut a také z metabolismu kvasinek (tzv. endogenní  $\text{SO}_2$ ).

Tento experiment nám ukazuje, jakých výsledků lze dosáhnout zvolením rozdílného managementu oxidu siřičitého při výrobě bílých vín. Na jedné straně sladké ovocné svěží víno, však s vyšším veškerým  $\text{SO}_2$ , na straně druhé víno plné, suché, se sametovou kyselinkou a nízkým obsahem veškerého  $\text{SO}_2$ .

## 7. Souhrn

Bakalářská práce se zabývá managementem oxidu siřičitého při výrobě bílých vín, popisuje složky  $\text{SO}_2$  ve víně, jejich vlastnosti a význam. Ukazuje na typy vín, které lze vyrobit právě na základě rozdílného dávkování  $\text{SO}_2$ .

V první kapitole došlo k seznámení s oxidem siřičitým jako chemickou látkou, s jejími vlastnostmi a významem pro víno. Dále byly popsány důvody aplikace oxidu siřičitého již na hrozny, poté do moštu a následně do vína. Následující kapitola se zabývala popisem jednotlivých složek oxidu siřičitého ve víně, konkrétně aktivní, volný a vázaný  $\text{SO}_2$  a také látkami, které se s ním vážou. Bylo zde také pojednáno o endogenním  $\text{SO}_2$ . V další části práce byly uvedeny formy oxidu siřičitého, kterými lze víno sířit. Zabývala se také reduktivním typem vín, technologickou metodou výroby vína s názvem surlie a problematikou malolaktické fermentace.

V experimentální části byla charakterizována odrůda Rulandské šedé. Dále byl popisován průběh zpracování hroznů, fermentace, následné školení vína a také veškeré metody použité k vyhodnocení. Je zde uvedeno také schéma, které znázorňuje průběh celého experimentu.

Výsledky uvádí monitoring vývoje obsahu volného i vázaného oxidu siřičitého u jednotlivých variant, jejich základní analytické parametry, potřebu čerčících prostředků pro danou variantu a také senzorické vyhodnocení.

Klíčová slova: Oxid siřičitý, výroba vína, kvasinky, surlie, malolaktická fermentace

## 8. Resume

This bachelor thesis deal with management of sulfur dioxide during white winemaking. It describes SO<sub>2</sub> elements in wine and their chemical properties and their significance. The thesis show stereotypes of wines which can be produced on basis of different dispensing of SO<sub>2</sub>.

First chapter deals with sulfur dioxide as chemical element, its properties and its importance for wine. Reasons of sulfur dioxide application on to grapes, to a juice and to a wine were described. The next chapter deals with description of individual elements of sulfur dioxide in wine, specifically active, free and bound SO<sub>2</sub> and also chemical substances that are bound there to. In the thesis was also discussed endogenous SO<sub>2</sub>. In the next part of the thesis were given forms of sulfur dioxide, which maybe used for sulfurization of wine. The thesis also deals with reductive types of wine, technological methods of wine production named surlie and problems of malolactic fermentation.

Pinot Gris variety was characterized in experimental part of the thesis. It was also described processing of grapes, fermentation, subsequent clarification and stabilization of wine and also all methods used for revaluation. There is also shown a diagram which illustrates process of the experiment.

Results are presented in monitoring of the development of volume of free and bound sulfur dioxide for each variant, their basic analytical parameters, need of clarifying agents for specific variant and also sensory evaluation.

Keywords: Sulfur dioxide, winemaking, yeast, surlie, malolactic fermentation

## 9. Seznam použité literatury

BALÍK, J. *Vinařství : Návod do cvičení*. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1998. 98 s. ISBN 80-7157-317-5.

BAKKER, J., BRIDLE, P., BELLWORTHY, S. J., GARCIA-VIGUERA, C., READER, H. P., WATKINS, S. J., 1998: Effect of sulphur dioxide and must extraction on colour, phenolic composition and sensory quality of red table wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN:1097-0010, 78, 3: 297-307.

BARRIL, C., CLARK, A. C., SCOLLARY, G. R., 2012: Chemistry of ascorbic acid and sulfur dioxide as an antioxidant system relevant to white wine. *Analytica Chimica Acta*, ISSN:0003-2670, 732: 186-193.

BARTRA, E., CASADO, M., CARRO, D., CAMPAMA, C., PINA, B., 2010: Differential expression of thiamine biosynthetic genes in yeast strains with high and low production of hydrogen sulfide during wine fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, ISSN:1364-5072, 109, 1: 272-281.

BIZAJ, E., CORDENTE, A. G., BELLON, J. R., RASPOR, P., CURTIN, C. D., PRETORIUS, I. S., 2012: A breeding strategy to harness flavor diversity of *Saccharomyces* interspecific hybrids and minimize hydrogen sulfide production. *Fems Yeast Research*, ISSN:1567-1356, 12, 4: 456-465.

BUTZKE, C. E., PARK, S. K., 2011: Impact of Fermentation Rate Changes on Potential Hydrogen Sulfide Concentrations in Wine. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, ISSN:1017-7825, 21, 5: 519-524.

COETZEE, C., LISJAK, K., NICOLAU, L., KILMARTIN, P., DU TOIT, W. J., 2013: Oxygen and sulfur dioxide additions to Sauvignon blanc must: effect on must and wine composition. *Flavour and Fragrance Journal*, ISSN:1099-1026, 28, 3: 155-167.

COMITINI, F., CIANI, M., 2007: The inhibitory activity of wine yeast starters on malolactic bacteria. *Annals of Microbiology*, ISSN:1590-4261, 57, 1: 61-66.

CORTE, L., ROSCINI, L., ZADRA, C., ANTONIELLI, L., TANCINI, B., MAGINI, A., EMILIANI, C., CARDINALI, G., 2012: Effect of pH on potassium metabisulphite



biocidal activity against yeast and human cell cultures. *Food Chemistry*, ISSN:0308-8146, 134, 3: 1327-1336.

DELFINI, C., GAIA, P., SCHELLINO, R., STRANO, M., PAGLIARA, A., AMBRÒ, S., 2002: Fermentability of Grape Must after Inhibition with Dimethyl Dicarbonate (DMDC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ISSN:0021-8561, 50, 20: 5605-5611.

DIAS, D. A., CLARK, A. C., SMITH, T. A., GHIGGINO, K. P., SCOLLARY, G. R., 2013: Wine bottle colour and oxidative spoilage: Whole bottle light exposure experiments under controlled and uncontrolled temperature conditions. *Food Chemistry*, ISSN:0308-8146, 138, 4: 2451-2459.

DIVOL, B., TOIT, M., DUCKITT, E., 2012: Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, ISSN:0175-7598, 95, 3: 601-613.

GOBBI, M., COMITINI, F., D'IGNAZI, G., CIANI, M., 2013: Effects of nutrient supplementation on fermentation kinetics, H<sub>2</sub>S evolution, and aroma profile in Verdicchio DOC wine production. *European Food Research and Technology*, ISSN:1438-2377, 236, 1: 145-154.

GRANT-PREECE, P., FANG, H., SCHMIDTKE, L. M., CLARK, A. C., 2013: Sensorially important aldehyde production from amino acids in model wine systems: Impact of ascorbic acid, erythorbic acid, glutathione and sulphur dioxide. *Food Chemistry*, ISSN:0308-8146, 141, 1: 304-312.

CHINNICI, F., SONNI, F., NATALI, N., RIPONI, C., 2013: Oxidative evolution of (+)-catechin in model white wine solutions containing sulfur dioxide, ascorbic acid or gallotannins. *Food Research International*, ISSN:0963-9969, 51, 1: 59-65.

ISHIWATA, H., NISHIJIMA, M., FUKASAWA, Y., 2003: Estimation of inorganic food additive (nitrite, nitrate and sulfur dioxide), antioxidant (BHA and BHT), processing agent (propylene glycol) and sweetener (sodium saccharin) concentrations in foods and their daily intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1998. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, ISSN:0015-6426, 44, 2: 132-143.

JACKOWETZ, J. N., DE ORDUNA, R. M., 2012: Metabolism of SO<sub>2</sub> binding compounds by *Oenococcus oeni* during and after malolactic fermentation in white wine. *International Journal of Food Microbiology*, ISSN:0168-1605, 155, 3: 153-157.

JACKOWETZ, J. N., DE ORDUNA, R. M., 2013: Survey of SO<sub>2</sub> binding carbonyls in 237 red and white table wines. *Food Control*, ISSN:0956-7135, 32, 2: 687-692.

JACKSON, R. S. *Wine science: principles and applications*. Canada : Academic, Press, 2008. 751 s. ISBN 978-0-12-373646-8.

KRITZINGER, E. C., BAUER, F. F., DU TOIT, W. J., 2012: Role of Glutathione in Winemaking: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ISSN:0021-8561, 61, 2: 269-277.

KRITZINGER, E. C., BAUER, F. F., DU TOIT, W. J., 2013: Influence of yeast strain, extended lees contact and nitrogen supplementation on glutathione concentration in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, ISSN:1755-0238, 19, 2: 161-170.

MICHLOVSKÝ, M. 2012: *Oxid siričitý v enologii*. 1. vyd. Vinselekt Michlovský, a.s. pp.151, ISBN 978-80-905319-0-1.

PAVLOUŠEK, P. *Encyklopedie révy vinné*. Brno: Computer Press, 2007. 320 s. ISBN 978-80-251-1704-0.

RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBOURDIEU, D., 2006: Chemical Nature, Origins and Consequences of the Main Organoleptic Defects. *Handbook of Enology*, ISSN:9780470010396: 231-284.

RIBÉREAU-GAYON, P., GLORIES, Y., MAUJEAN, A., DUBOURDIEU, D., 2006: Stabilizing Wine by Physical and Physico-chemical Processes. *Handbook of Enology*, ISSN:9780470010396: 369-386.

SAIDANE, D., BARBE, J.-C., BIROT, M., DELEUZE, H., 2013: Reducing the sulfur-dioxide binding power of sweet white wines by solid-phase extraction. *Food Chemistry*, ISSN:0308-8146, 141, 1: 612-615.

SANTOS, M., NUNES, C., SARAIVA, J., COIMBRA, M., 2012: Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations. *European Food Research and Technology*, ISSN:1438-2377, 234, 1: 1-12.

SONNI, F., CLARK, A. C., PRENZLER, P. D., RIPONI, C., SCOLLARY, G. R., 2011: Antioxidant Action of Glutathione and the Ascorbic Acid/Glutathione Pair in a Model White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ISSN:0021-8561, 59, 8: 3940-3949.

STEIDL, R., et al., *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 2., aktualiz. Překlad Jiří Sedlo. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 309 s. ISBN 978-80-903201-9-2.

STYGER, G., PRIOR, B., BAUER, F. F., 2011: Wine flavor and aroma. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, ISSN:1367-5435, 38, 9: 1145-1159.

TABOADA-RODRÍGUEZ, A., BELISARIO-SÁNCHEZ, Y. Y., CAVA-RODA, R., CANO, J. A., LÓPEZ-GÓMEZ, A., MARÍN-INIESTA, F., 2013: Optimisation of preservatives for dealcoholised red wine using a survival model for spoilage yeasts. *International Journal of Food Science & Technology*, ISSN:1365-2621, 48, 4: 707-714.

UGLIANO, M., KOLOUCHOVA, R., HENSCHKE, P. A., 2011: Occurrence of hydrogen sulfide in wine and in fermentation: influence of yeast strain and supplementation of yeast available nitrogen. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, ISSN:1367-5435, 38, 3: 423-429.

VALLY, H., THOMPSON, P., 2003: Allergic and asthmatic reactions to alcoholic drinks. *Addiction Biology*, ISSN:1369-1600, 8, 1: 3-11.

WELLS, A., OSBORNE, J. P., 2012: Impact of acetaldehyde- and pyruvic acid-bound sulphur dioxide on wine lactic acid bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, ISSN:1472-765X, 54, 3: 187-194.