

Studium vaznosti oxidu siřičitého ve věnech révy vinné

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

Vypracoval:

Bc. Stanislav Andrusiów

Na této stránce bude vložen originální formulář Zadání bakalářské práce. Vystavený, podepsaný a orazítkovaný formulář Vám připraví vedoucí bakalářské práce před jejím svázáním.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: **Studium vaznosti oxidu siřičitého ve vínech révy vinné** vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47 zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom, 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 **30. dubna 2017**

Poděkování

Děkuji všem, kteří se jakýmkoliv způsobem podíleli na vzniku této práce. Především děkuji paní Ing. Alici Beckové, za provedení patřičných rozborů vína, jak analytických, tak i na obsah volného a vázaného oxidu siřičitého ve víně. Dále vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Mojžíru Baroňovi Ph.D., za čas, který věnoval našim konzultacím, za udělení cenných rad a za trpělivost a shovívavost, kterou se mnou měl, když jsem tuto práci vytvářel. A v neposlední řadě také mé rodině, za trpělivost a schovívavost při zpracovávání samotné diplomové práce a při celém mém studiu.

Obsah

1. Úvod.....	8
2. Cíl práce.....	9
3. Literární přehled	10
3.1 Historie používání oxidu siřičitého ve vinařství	10
3.2 Oxid siřičitý ve víně.....	13
3.2.1 Působení oxidu siřičitého.....	14
3.2.2 Formy SO ₂ ve víně.....	16
3.2.3 Sloučeniny vázající SO ₂ ve víně.....	20
3.2.4 Endogenní SO ₂	26
3.2.5 Způsoby šíření ve vinařství.....	26
3.2.6 Dávkování SO ₂ do vína.....	28
3.3 Snížení obsahu SO ₂ ve víně pomocí Sur-lie	30
3.3.1 Proč Sur-lie	30
3.3.2 Kvasniční kaly	31
3.3.3 Ochranný účinek jemných kvasničných kalů	33
3.3.4 Oxid siřičitý při výrobě vín Sur-lie.....	34
3.3.5 Potenciální problémy spojené s managementem siřičitých látek	35
3.3.6 Výhody metody Sur-lie z pohledu použití oxidu siřičitého.....	36
4 Materiál a metodika	38
4.1 Materiál na výrobu	38
4.2 Postup výroby vín	38
4.3 Postup experimentu.....	39
4.4 Dávkování oxidu siřičitého	40
4.5 Stanovení oxidu siřičitého ve víně	41
5 Výsledky	43
5.1 Ročník 2015	43

5.2	Ročník 2016	46
6	Diskuze	50
7	Závěr	52
8	Souhrn, resume a klíčová slova	53
9	Seznam použité literatury	54

Seznam tabulek

Tab. 1	Limity siřičitanů ve víně (Michlovský, 2014)	17
Tab. 2	Nárůst aktivního SO ₂ (Ribéreau-Gayon, 2006)	17
Tab. 3	Podíl molekulárního aktivního SO ₂ při pH 3,0 podle obsahu alkoholu a teploty v % (Usseglio-Tomasset, 1995).....	18
Tab. 4	Vlastnosti různých forem SO ₂ využívané pro uchování vína (Rireau-Gayon, 2006)	20
Tab. 5	Ketokyseliny ve vínech (Michlovský, 2012).....	24
Tab. 6	Srovnání praktických dávek různých forem SO ₂ pro zvýšení o 10 mg/l (Fiala, 2010).....	28
Tab. 7	Výhody a nevýhody častého a méně častého dávkování SO ₂ do vína (Kraus a spol., 2008)	29
Tab. 8	"Lehké" siričné látky způsobující defekty vína (Nádeníčková et al., Ribéreau-Gayon, 2006)	35
Tab. 9	"Těžké" siričné látky způsobující defekty vína (Nádeníčková et al., Ribéreau-Gayon, 2006)	36
Tab. 10	Analytické hodnoty vylisovaného moštu	38
Tab. 11	Analytické hodnoty mladého vína ihned po dokvašení.....	39
Tab. 12	Způsob dávkování oxidu siřičitého do zkoumaných vín	41
Tab. 13	Obsah SO ₂ v RR 2015	43
Tab. 14	Obsah SO ₂ v VZ 2015	43
Tab. 15	Obsah SO ₂ v RR 2016	46
Tab. 16	Obsah SO ₂ v VZ 2016	46
Tab. 17	Obsah SO ₂ v Sg 2016	47

Seznam obrázků

Obr. 1 Formy oxidu siřičitého ve víně (Ribéreau-Gayon,2006).....	19
Obr. 2 Množství SO ₂ vázaného na antokyany v závislosti na volném oxidu siřičitém (Michlovský, 2012).....	21
Obr. 3 Schéma různých forem SO ₂ ve víně (Michlovský, 2012).....	22
Obr. 4 Jemné kvasniční kaly (Rotter, 2008)	32
Obr. 5 Vzorek vína s nadávkovaným oxidem siřičitým	39
Obr. 6 Vzorek vína Sg 2016 před a po promíchání jemných kvasničních kalů	40

Seznam grafů

Graf 1 Obsah SO ₂ v RR 2015	44
Graf 2 Obsah SO ₂ v VZ 2015	44
Graf 3 Obsah volného SO ₂ v roce 2015.....	45
Graf 4 Obsah celkového SO ₂ v roce 2015	45
Graf 5 Obsah SO ₂ v RR 2016	47
Graf 6 Obsah SO ₂ v VZ 2016	47
Graf 7 Obsah SO ₂ v Sg 2016	48
Graf 8 Obsah volného SO ₂ v roce 2016.....	49
Graf 9 Obsah celkového SO ₂ v roce 2016	49

1. Úvod

Oxid siřičitý se při výrobě vína používá již od nepaměti. Oxid siřičitý má řadu prospěšných vlastností, které jsou nezbytné při výrobě vína, ale má také negativní vliv na lidské zdraví (je alergen). V této závislosti je potřeba pečlivě zvažovat jakou dávku oxidu siřičitého do vína přidat, aby stanovená dávka byla dostatečně velká, aby ochránila víno, ale také aby nepřekročila stanovené limity, které by ohrozili zdraví člověka. Velice důležitá je první dávka oxidu siřičitého, která se přidává do vína buď ihned po dokvašení nebo po dalších technologických činnostech (např. Sur-lie). Část této dávky se naváže s látkami, které jsou obsaženy ve víně.

Ve víně je několik forem oxidu siřičitého, nejúčinnější je ve volné formě. Jen volný oxid siřičitý má většinu požadovaných vlastností. V ideálním případě by bylo dobré přidat do vína jen jednu dávku oxidu siřičitého, která pokryje veškerou manipulaci s vínem, případně do vína přidávat co nejméně dávek. Při první dávce je nutné počítat s tím, že se část přidaného oxidu siřičitého naváže a část zůstane ve volné formě. Dále se musí počítat s další manipulací vína, při které dochází také k navázání volného oxidu siřičitého, jako je stáčení, filtrace atd.

2. Cíl práce

Cílem této diplomové práce je provést studium vaznosti oxidu siřičitého ve vínech révy vinné, stanovit vhodný počet experimentálních variant a provést pokusy v provozních podmínkách. Na základě získaných zkušeností navrhnout doporučení pro návazný výzkum a technologii vín v praxi.

3. Literární přehled

3.1 Historie používání oxidu siřičitého ve vinařství

Nejstarší dochované nálezy vína jsou staré asi 8 tisíc let a pochází z Iránu. K desinfekci ve vinařství se tehdy používala pryskyřice. Staří Egypťané používali výluhy z bylin, aby svá vína stabilizovali a zlepšili chuť. Bohužel se žádné recepty (návody) z té doby nedochovaly. Již od starověku jsou známé prospěšné vlastnosti síry ve výrobě vína. Archeologické nálezy jasně dokazují, že se síra používala ke konzervaci vína již 700 let před Kristem. Ve starověku se využívaly hlavně amfory a ke konzervaci či stabilizaci se používali také byliny, sádra a pryskyřice. Konzervace pomocí síry se využívalo hlavně u sudů. Přechod od amfory k sudu trval asi 300 let, což je období mezi Juliem Césarem a pádem říše římské (Michlovský, 2012).

Kolem 3. století n. l. byla hlavní nádoba na přepravu vína amfora. Tehdy se na pláních Severní Evropy rozprostíraly rozsáhlé listnaté a jehličnaté lesy bez vinic. Galové byli velkými konzumenty vína, ale velmi málo jej vyrobily. Víno tedy kupovali za vysoké částky od Římanů. Jak už bylo řečeno dříve, na přepravu a uchování vína se používali hlavně amfory. Amfory byly dokonale těsné a ve vnitřní části vysmolené, ale byly jen na jedno použití, pro otevření bylo nutné hrdlo setnout mečem. Tyto nádoby byly téměř ideální pro uchování vína, ale nebyly ideální na dlouhé přepravní cesty. Křehkost amfor a jejich vysoká váha, a v neposlední řadě také hojnost kvalitního dřeva v okolních lesích mělo za důsledek, že se v hojném počtu začaly využívat dřevěné sudy. Tomuto posunu také napomohlo i to, že Galové spíše ovládali práci se dřevem než s hrnčírskou hlinou.

Uchovávat a přepravovat víno v sudech bylo velmi praktické a úsporné, ale na úkor kvality. Vína přepravovaná v sudech byla většinou naoctěná a značně oxidovaná. Další úskalí používání sudů bylo, že v sudech zůstávali zárodky bakterií, křísotvorné kvasinky a vzduch, který se dostával do sudu přes póry dřeva a podporoval rozvoj octových bakterií. Hlavně v těchto případech bylo nutné používat síru k šíření vína.

V době klimatického oteplování ve 13. století se réva vinná rozšiřovala až do Anglie a Belgie. Toto oteplení vyžadovalo používání velkého množství síry, jinak hrozilo, že značná většina vína zoctovátí. Používání síry podporovalo také křesťanství, které zásadně odmítalo pohanské využívání bylin a nerostů. V té době v důsledku oteplování

se vyráběla vína s nízkým obsahem kyselin, kde siřičitany v chuti nebyly tak znatelné. Tehdy obsah síry ve víně několika násobně přesahoval nynější povolené hranice. Od 14. století se klima v Evropě ochlazovalo, což mělo za důsledek vyšší aciditu vína a tím pádem se také zvýšilo i vnímání agresivních siřičitanů. V Německu za vlády Frederika III. (1415-1493) byl vydán zákaz používání SO₂ ve vínech. Tento zákaz se však dodržoval jen minimálně. V té době ani nebyly žádné prostředky a postupy na zjištění obsahu oxidu siřičitého ve víně. Zákazy byly vydány proto, že přesířená vína konzumentovi vadily. Zoxidovaná vína váže mnoho SO₂ a jeho koncentrace ve víně může dosahovat až 1000 mg/l. Z toho lze usuzovat, že tehdejší vína pravděpodobně obsahovala až desetkrát více siřičitanů než vína dnešní. Až císař Maxmilián I. v roce 1487 opět povolil používání síry a vymezil přesně její dávky. Bylo povoleno přidávat jen 16 gramů síry na 1000 litrů vína, což představovalo 32 g SO₂, což znamenalo 32 mg/l. Nařízení také upřesňuje, že se musí síra smíchat s dřevěnými pilinami a následně se společně spaluje na dně sudu před plněním vína (Michlovský, 2012).

Důkaz o nadměrném síření vín do dnešní doby se uchoval ve Štrasburku. V tamním sklepení se nachází sud s vínem z té doby. Toto víno má nízký obsah alkoholu, jen 9,4 % obj., a ještě v dnešní době je obsah oxidu siřičitého 350 mg/l. Lze usuzovat, že původní dávka mohla dosahovat až 2000 mg/l SO₂. Během let oxid siřičitý zoxidoval na sírany a ve víně zůstalo „jen“ 350 mg/l SO₂.

Další látkou, která se používala na ošetřování vína, bylo olovo ve formě octanu olovnatého. Jeho dobrou vlastností bylo, že zakulacoval víno a chránil proti zvrhnutí a jiným chorobám, tím pádem mohl ve víně zůstat zbytkový cukr a víno se znovu nerozkrvasilo. Jeho hlavní nevýhodou je, že je velmi jedovatý. Zoctovatěné víno po přidání octanu olovnatého ztratilo svou kyselost a zvýšila se sladkost. V této době se místo oxidu siřičitého používalo hlavně olovo. Jelikož lidé, kteří požili víno s olovem, velmi často trpěli závažnými bolestmi, tak vévoda württemberský vydal dekret, ve kterém nařídil trestat smrtí všechny ty, co budou falšovat víno olovem.

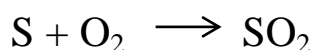
Rozšíření používání síry nastává s příchodem sudů. V enologii se použití SO₂ měnilo v závislosti klimatických změn, komercializace a vědeckých změnám. Používání sudů vytlačilo amfory ve kterých se používala pryskyřice a tím pádem se zvýšila

potřeba síry. Vzestup oxidu siřičitého také podpořilo křesťanství, které zavrhovalo používání bylinek a jiných přípravků a považovalo to za kacířství. Koncem 19. století jsou stanoveny zákonné předpisy, které omezují maximální možná obsah oxidu siřičitého ve víně. Začátkem 20. století bylo zjištěno, že oxid siřičitý působí na mikroorganismy, enzymy a na inaktivní mechanismy sloučenin. Byla známa již většina metod síření (spalování sirných plátů, roztoky a plyn). V pol. 20. století byla zjištěna specifická účinnost jen „aktivní SO₂“ neboli volné síry (Michlovský, 2012).

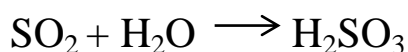
3.2 Oxid siřičitý ve víně

Oxid siřičitý je prostředek s antioxidačními, antiseptickými a sterilizačními vlastnostmi používaný při výrobě vína a ostatních potravin. V hotovém výrobku by neměl být znatelný, někdy se ale stává, že ho jde rozeznat ve vůni u čerstvě lahvovaného vína. Tato stopa však lze lehce odstranit mírným provzdušněním vína ve sklenici, větší koncentraci můžeme odstranit dekantací. Pokud je zjištěn ostrý závan síry ve víně, většinou se podobá zápachu hořící zápalky. Jestliže je aroma narušeno vůní zkažených vajec, došlo k přeměně na sirovodík, který je spojen s merkaptany, které nelze z vína odstranit (Kratochvíl, 2013).

Oxid siřičitý (SO₂) je bezbarvý, štiplavý plyn, který vzniká hořením síry,



který je ve vodním prostředí dobře rozpustný tím vzniká kyselina siřičitá (H₂SO₃).



Ta je ve velkém množství zdraví škodlivá, ale i přes to se s ní v moderním vinařství neobejdeme. Všechny pokusy vyloučit SO₂, z výroby vína, vedly k defektům vína a udržet víno bez SO₂ v perfektní kondici byly velmi náročné. Používáním oxidu siřičitého chrání vinař své víno a tato látka je nejúčinnější. Síra by měla být použita již při zpracování hroznů a rmutu. I když tak brzké použití síry podporuje uvolnění fenolických látek do moštu, tak se hlavně zabráňuje negativní oxidaci a rozvoji mikrobiologických látek. Rozhodování, kdy a v jakém množství použít oxid siřičitý, závisí na fázi výroby vína a na strategii výroby (Baroň 2013).

Použití oxidu siřičitého považujeme za pozitivní, jen při nízkých koncentracích, v závislosti na zdravotní nezávadnost. Vysoká koncentrace SO₂ může být nebezpečná pro lidské zdraví. Z tohoto důvodu je oxid siřičitý důležitým analogickým parametrem, na který je potřeba se zaměřit při kontrole jakosti vína a jsou stanoveny předpisy, které

udávají maximální povolenou koncentraci. V této době je oxid siřičitý zařazen mezi alergeny a jeho přítomnost musí být vyznačena na etiketě (Fic a spol., 2015).

3.2.1 Působení oxidu siřičitého

3.2.1.1 Biologický účinek

SO₂ brání aktivitě kvasinek a bakterií (různé druhy bakterií, hlavně octové a mléčné bakterie); tato schopnost je využívána již při zpracování hroznů (Steidl, 2010).

Účinnost SO₂ proti kvasinkám a bakteriálním onemocnění vína se využívá mnoho let. Oxid siřičitý ve formě H₂SO₃ rychle proniká do buněk a narušuje jejich rozvoj, růst a rozmnožování. Ve většině případů dochází ke smrti buňky. Dané množství SO₂ zničí jen určité množství populace nežádoucích mikroorganismů nikdy ne úplně všechny. SO₂ zamezí růst bakterií, aniž by je úplně zahubil. Jejich aktivita může opět nastat za příznivých podmínek, například při manipulaci s vínem. Oxid siřičitý má větší účinnost na bakterie než na kvasinky. Malá dávka SO₂ působí jen přechodně, naopak velká dávka vyvolává destrukci určité části mikroorganismů. Působení dané dávky se zvyšuje snížením podílu původní populace, např. filtrací. SO₂ během skladování vína působí na všechny mikroorganismy a zabraňuje vzniku zákalu způsobené kvasinkami, rozvoji *Brattenomyces*, rozvoji křísotvorných kvasinek a dalším bakteriálním chorobám (Michlovský, 2012).

3.2.1.2 Antioxidační účinek

SO₂ váže kyslík, mnoho látek ve víně je náchylné na oxidaci, touto schopností je víno ochráněno před oxidací. Víno pak zůstává ovocné, svěží a vyniká odrůdové aroma.

Udává se, že 16 mg kyslíku oxiduje 64 mg oxidu siřičitého, teoreticky 32 mg SO₂ naváže asi 8 mg O₂/l vína.



Tato reakce chrání vína před chemickou oxidací. Je účinná pouze ve víně. SO₂ zabraňuje intenzivní oxidaci fenolových látek a některých aromatických sloučenin. Dále udržuje hladinu oxidoredukce na nízké hladině, což je prospěšné pro senzorické

vlastnosti vína při jeho skladování a zrání. SO₂ účinně chrání tzv. křehké sloučeniny, které jsou významnými faktory kvalitního vína (aromatické látky, antokyany a třísloviny) (Michlovský, 2012).

3.2.1.3 Účinek proti oxidázám

Ochrana SO₂ u moštů a vín vyrobených z hroznů postižených hnilobou bylo jedna z prvních využití. Pokud víno neobsahuje volný SO₂, projevují se ve víně aroma z acetaldehydu pocházející z alkoholové fermentace, nebo z oxidace etanolu, zvětralé pachy, vůně jablka, oxidační pachy a všechny nepříjemné pachy ve víně, které výrazně snižují jeho kvalitu. Tato specifická schopnost, blokace acetaldehydu a ostatních těkavých aldehydů, je nenahraditelná a nutná pro většinu vín. SO₂ inhibuje a lehce ničí oxidázu hroznů, tak i oxidázu produkovanou plísní *Botrytis cinerea*. Touto schopností chrání SO₂ mošty před oxidací ještě před samotným kvašením. Chrání také víno před oxidázním zákalem bílých i červených vín pocházejících z nahnilých hroznů. Potřeba blokovat aldehydy ve víně prakticky ukazuje nemožnost vyrábět vína současného stylu úplně bez SO₂ (Michlovský, 2012).

3.2.1.4 Organoleptický účinek

SO₂ deaktivuje enzymy, které přenášejí kyslík a tím chrání barvu (zabraňuje hnědnutí) a aromatické látky ve víně. Navázáním se s produkty kvašení, např. kyselina pyrohroznová, acetaldehyd a dalších látek, které obsahují ketonovou a karbonylovou skupinu, zlepšuje aroma vína (Baroň, 2013).

SO₂ dokáže redukovat hnědé sloučeniny pocházející z oxidací, ze změn struktury antokyanů a tříslovin. Touto schopností chrání SO₂ barvu vína. Antokyany a SO₂ tvoří bezbarvou sloučeninu, která je v rovnováze s živě zbarvenou formou a tvoří podle podílu SO₂ a hodnoty pH barvu do fialova. SO₂ s barvou reaguje jen nepřímo, blokuje či likviduje oxidázní aktivitu a případně zabraňuje destrukci polyfenolů. Pokud zasíříme sklizené hrozny, tak se urychluje a zlehčuje extrakce buněčných stěn bobulí a uvolňování antokyanů. Mošt a následně pak i víno má lepší barvu. Naopak, pokud je obsah polyfenolů nižší, je nižší také obsah SO₂ (pod 30 mg/l), tak dochází k hnědnutí vína a zvětralosti chuti (Michlovský, 2012).

Řada odrůdových aromatických složek (tioly a kvasné estery) jsou velmi náchylné na oxidaci a je důležité je před ní chránit. Hyperoxidací nebo se směsí chinonů, které pochází z oxidace fenolů nastává jejich rozklad. Antioxidační či antioxidantní vlastnosti stanovují nutnost dostatečné koncentrace oxidu siřičitého proti odbourávání řady aromatických nebo fenolových sloučenin citlivých vůči oxidaci (Michlovský, 2012).

3.2.2 *Formy SO₂ ve víně*

Analyticky se ve víně rozlišuje oxid siřičitý na *volný* a *vázaný*, sečtením obou hodnot zjistíme *veškerý* oxid siřičitý ve víně (Steidl, 2010).

Přidáme-li do vína oxid siřičitý, nastávají změny, které mají za následek, že je ve víně obsažen v několika formách. Část SO₂ zůstává jako volný a část se naváže na látky obsažené ve víně. Volný oxid siřičitý reaguje ve víně s vodou a tím vzniká kyselina siřičitá, H₂SO₃. Tato dvojsytná kyselina tvoří vlivem nízkého pH iont SO₃²⁻ a HSO₃⁻. Tyto tři formy spolu s plynným oxidem siřičitým stanovujeme jako volný SO₂. Největší část oxidu siřičitého ve víně je zastoupeno vázaným SO₂, který tvoří vazby s látkami obsaženými ve víně. Mezi hlavní látky, které se váží s oxidem siřičitým je acetaldehyd, který váže 70 až 90% SO₂ (Fic a spol., 2015).

Vázaný SO₂ se naváže na sekundární produkty při kvašení (acetaldehyd, kyselina ketoglutarová, kyselina pyrohroznová atd.) a nemá žádný účinek, ani antibakteriální a ani nepůsobí na enzymy. Pro lidský organizmus je rozhodující obsah celkového oxidu siřičitého, z toho důvodu nesmí víno uvedené do prodeje přesáhnout zákonem stanovené hodnoty (Baroň, 2013).

Nařízení (ES) č. 606/2009 stanovuje maximální obsah oxidu siřičitého. Ve víně musí být obsah SO₂ v rozmezí 150 až 400 mg/l veškerého SO₂ (dle typu vína). V současné době je podporován výzkum produktů, které by nahradili oxid siřičitý, aby se snížili či úplně odstranily problémy zapříčiněnou případnou toxicitou (alergie, bolest hlavy). V rozmezí povolených dávek evropskými nařízeními není toxicita do této doby prokázána (Michlovský, 2014).

Druh vína	Veškerý SO ₂ mg/l
Červené víno	150
Bílé a růžové víno	200
Červené víno od 5 g/l zbytkového cukru	200
Bílé a růžové víno od 5 g/l zbytkového cukru	250
Pozdní sběr	300
Výběr z hroznů	350
Výběr z bobulí, výběr z cibéb, ledové a slámové víno	400
Likérové víno s obsahem cukru pod 5 g/l	150
Likérové víno s obsahem cukru nad 5 g/l	200
Šumivé víno jakostní	185
Šumivé víno ostatní	235

Tabulka 1 Limity sířičitanů ve víně (Michlovský, 2014)

3.2.2.1 Aktivní SO₂

Hlavní účinek SO₂ se přisuzuje volnému oxidu sířičitému. Během let se ale podařilo zjistit, že jeho účinnost, zejména proti mikroorganismům, je spojena s formou „molekulárního SO₂“ nazývaného také „aktivní SO₂“ (Michlovský, 2012).

Ze zkoumání vyplývá, že účinnost volného SO₂ se zvyšuje navýšením podílu alkoholu ve víně. Zvýšení není ale příliš výrazné (řádově jen o 0,1% aktivního SO₂ ve víně). Aktivita volného oxidu sířičitého narůstá také s teplotou. Při navýšení teploty z 20 °C na 40 °C je aktivita až čtyřikrát vyšší. Z pokusů je zřejmé, že aktivita volného SO₂ se hlavně zvyšuje při klesajícím pH, tzn. rostoucí kyselosti prostředí (Baroň, 2013).

Parametr	Změna parametru	Nárůst aktivního SO ₂
Obsah alkoholu	+ 1% obj. alk.	+ 5%
Teplota	+ 1 °C	+ 7%
pH	- 0,2	+ 50%

Tabulka 2 Nárůst aktivního SO₂ (Ribéreau-Gayon, 2006)

Obsah alk. v % obj.	Teplota (°C)		
	19	28	38
0	4,88		
10	7,36	15,40	27,55
20	10,95		

Tabulka 3 Podíl molekulárního aktivního SO₂ při pH 3,0 podle obsahu alkoholu a teploty v % (Usseglio-Tomasset, 1995)

3.2.2.2 Volný SO₂

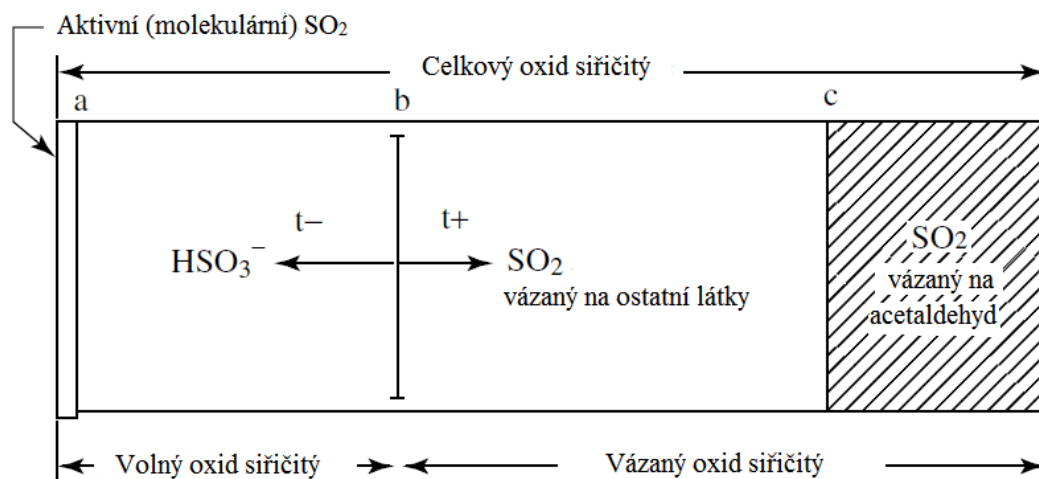
Volný SO₂ představuje iont kyselého siřičitanu (HSO₃⁻), který je ve formě plně ionizovaných solí. Účinek proti kvasinkám a bakteriím v dávce dané jako „volný SO₂“ je závislý na hodnotě pH, i když se připisuje i určitá účinnost také formě HSO₃⁻. Každopádně je potom pach případně nepříjemná chuť oxidu siřičitého při stejné hodnotě volného SO₂ tím větší čím je víno kyselější (Michlovský, 2012).

Špatná kvalita vína, chybějící odrůdové aroma a vysoká acidita vína značně ovlivňuje intenzitu vnímání volného oxidu siřičitého. U zdravého vína, u kterého je dávka SO₂ přehnaná není nepříjemný pach tak intenzivní jako u nekvalitního vína (Baroň, 2013).

Volný SO₂ vyjadřuje množství oxidu siřičitého, který se nenavázal na složky vína a tím vznikl vázaný SO₂. Molekulární SO₂ je důležitý hlavně proti mikroorganismům ve víně, tak volný SO₂ je užitečný svou antioxidační kapacitou. Jeho největší předností je jeho schopnost se vázat s acetaldehydem a tím neutralizovat jeho oxidativní zápach a zatuchlost. Volný SO₂ se také váže s barevnými látkami a tím může snižovat barvu vína. Tato schopnost je velmi důležitá hlavně u bílých vín, kdy zabraňuje hnědnutí, ale u červených vín snižuje barvu. Volný oxid siřičitý je nutné hodnotit odděleně od SO₂ molekulárního. Toto musíme brát v úvahu proto, že vína s nižším pH mají hodnotu molekulárního SO₂ dostačující pro odstranění a blokaci bakterií a kvasinek, kdež to volný SO₂ je na nízké hranici, aby mohl dostatečně ochránit víno před oxidací. Dávkování SO₂ musíme přizpůsobit podle množství volného oxidu siřičitého (Baroň, 2013).

Volný a molekulární SO₂ je důležité hodnotit současně ve vztahu k mikrobiologické stabilitě a ke kapacitě absorbovat kyslík. Koncentrace volného oxidu siřičitého je regulována podle požadované ochrany proti oxidaci, ale koncentrace molekulárního

SO₂ se upraví na cílené mikroorganismy, aniž by se nemyslelo na chuťové důsledky. Už nízká hladina molekulárního SO₂ je znatelná čichem a štípe v nose. To znamená, že není možné regulovat molekulární SO₂ nezávisle na volném oxidu siřičitém. Jakmile se zvýší koncentrace volného SO₂ pro jeho antioxidační schopnost, tak se automaticky zvýší koncentrace molekulárního oxidu siřičitého a tím také agresivní vůně pro spotřebitelův nos (Michlovský, 2012).



Obrázek 1 Formy oxidu siřičitého ve víně (Ribéreau-Gayon, 2006)

3.2.2.3 Vázaný SO₂

Jako sekundární produkt alkoholové fermentace vzniká mj. acetaldehyd. Ten se váže s oxidem siřičitým, přidaným do vína, do pevné vazby, ze které se SO₂ již neuvolňuje. Abychom docílili určitého množství volného oxidu siřičitého ve víně, který jediný zabraňuje oxidaci vazbou s rozpuštěným kyslíkem ve víně, je potřeba nejdříve vyvázat veškerý acetaldehyd (Kratochvíl, 2013).

Vázaný oxid siřičitý je suma všech siřičitanů, které se váží na sloučeniny vína. Tyto sloučeniny nejsou sensoricky rozpoznatelné při degustaci. Důležitá je přijatelná denní dávka, která ještě nezpůsobuje zdravotní komplikace. Tato dávka se označuje ADI a počítá se dle celkového SO₂ ve víně, kde většina je vázaná. Z praktického hlediska má vázaný oxid siřičitý malý význam. Nemá vliv antioxidační, ani na kvasinky a na mléčné bakterie je jeho vliv jen malý. Na inhibici mléčných bakterií je potřeba asi desetkrát větší množství než volného SO₂.

Vázanému oxidu siřičitému se také říká „paměť vína“. Ukazuje kvalitu hroznů a následné enologické práce. Koncentrace vázaného a volného oxidu siřičitého je přímo úměrná technologickým postupům ve vinařství. Hladina celkového SO_2 ukazuje jaký je přístup vinaře k pěstování hroznů a technologií vína. Pokud je hladina celkového oxidu siřičitého nízká, tak ukazuje šetrný přístup k pěstování révy, zpracování hroznů a samotné výrobě vína (Baroň, 2013).

„Nejlepším vinařem z tohoto pohledu je ten, který s úspěchem produkuje velká vína, plného výrazu typičnosti oblasti s nejmenší koncentrací SO_2 . Není přirozeně žádnou zásluhou předložit víno sice bez siřičitanů, ale naoxidované a nemocné.“

(Miloš Michlovský)

3.2.3 Sloučeniny vázající SO_2 ve víně

Již několik desítek let je znám rozdíl mezi volným a vázaným oxidem siřičitým. Rozdíl byl připisován slučováním SO_2 s acetaldehydem, cukry a následně i s dalšími látkami, které jsou obsaženy ve víně. Tento jev je stále málo prozkoumaný a je třeba se mu nadále věnovat (Baroň, 2013).

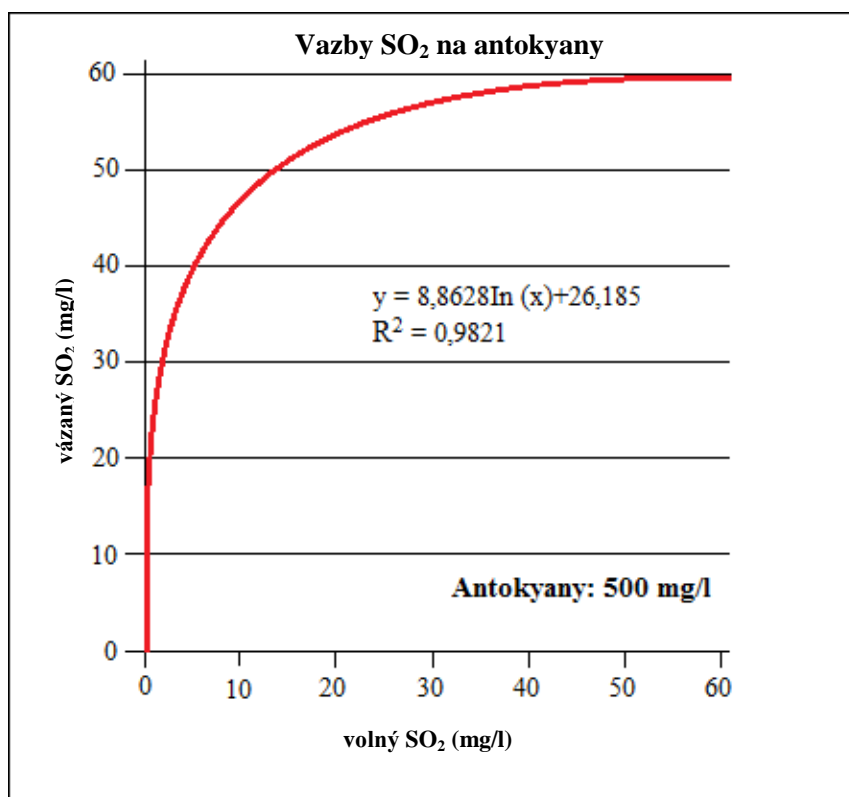
Mezi hlavní vazby oxidu siřičitého ve víně nastávají s karbonylovými sloučeninami (jsou to látky, které mají jednu nebo více aldehydových či ketonových funkcí). Během let se zjistilo, že nejkreativnější formou oxidu SO_2 je HSO_3^- (Michlovský, 2012).

Vlastnosti	SO_2	HSO_3^-	R-SO_3^-
Protí kvasinkám	+	Slabá	0
Protí bakteriím	+	Slabá	Slabá
Antioxidační	+	+	0
Chuťové zlepšení	+	+	0
Neutralizace acetaldehydu	+	+	+
Senzorická odezva	Štiplavý zápach, štiplavá chuť	Bez zápachu, chuť slaná či hořká	Bez zápachu, v normálních dávkách bez chuti

Tabulka 4 Vlastnosti různých forem SO_2 využívané pro uchování vína (Rireau-Gayon, 2006)

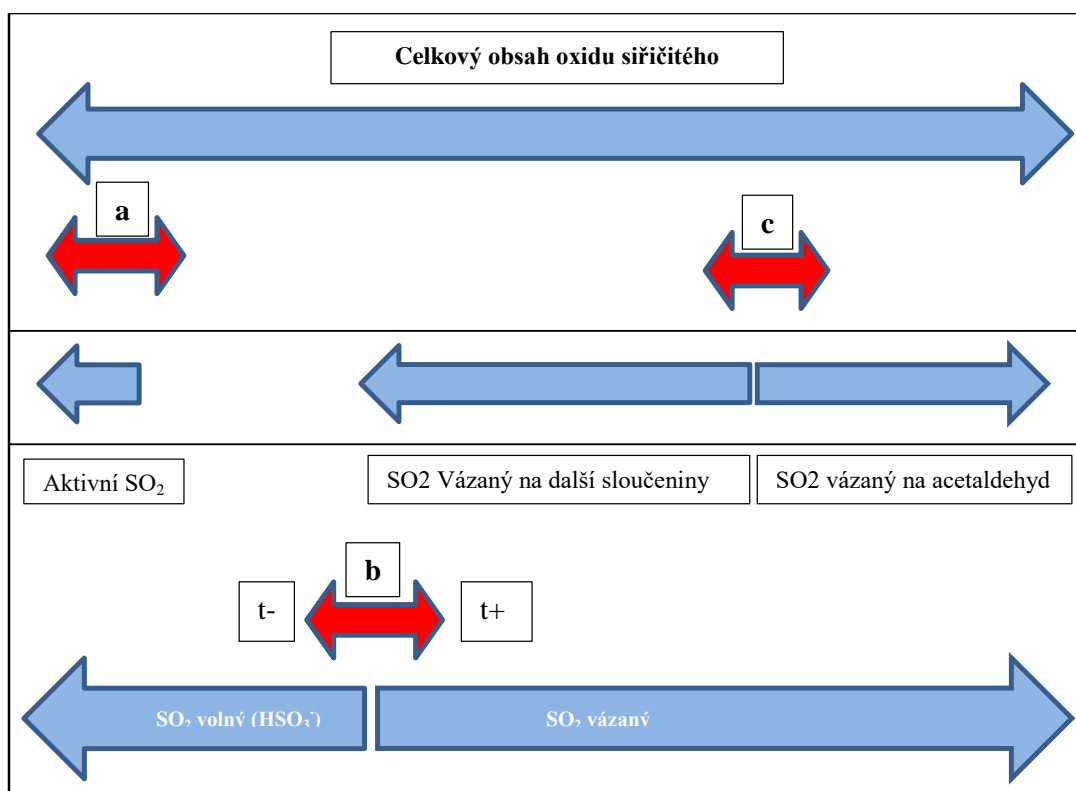
Vazby oxidu siřičitého v mošttech a ve víně jsou vázány na tyto sloučeniny:

- v mošttech lisovaných ze zdravých hroznů nebo jen minimálně napadených hnilobou hroznů, tak veškerý volný oxid siřičitý váže kyselina pyrohroznová, kyselina oxoglutarová a zanedbatelně glukóza. Vazba na další sloučeniny je zanedbatelná, pohybuje se jen v řádů několika %.
- v bílých vínech bez jakéhokoliv defektu je vazba s acetaldehydem, kyselinou pyrohroznovou a kyselinou oxoglutarovou.
- pokud byly hrozny napadeny hnilobami, plísní šedou nebo jinými hnilobami, tak bylo zjištěno, že se v mošttech, respektive ve víně nachází další sloučeniny, které silně váží SO_2 . V tomto případě se nastává úplná bilance vázaného oxidu siřičitého, která je tímto plně vysvětlitelná. To pak je vazba SO_2 důsledkem rozvoje různých plísní (mimo *Botrytis cinerea*) na hroznech a hlavně octových bakterií.
- formy oxidu siřičitého v červených vínech jsou méně známá, ve kterých se s SO_2 váží antokyany a fenolové sloučeniny. Vázaný oxid siřičitý při 500 mg/l antokyanů bude zřejmě asi 50-60 mg/l (Michlovský, 2012).



Obrázek 2 Množství SO_2 vázaného na antokyany v závislosti na volném oxidu siřičitém (Michlovský, 2012).

Obrázek 2 zobrazuje vztah mezi volným a vázaným oxidem siřičitým na antokyany ve víně. Z obrázku je zřejmé, že jde o logaritmickou funkci, ze které vyplývá, že volný SO_2 se až do 20 mg/l váže s antokyany a až pak se při následném dodání oxidu siřičitého zvyšuje obsah volného SO_2 . Vlastností siřičitanů je jejich vazba na molekuly obsahující karbonylovou skupinu. Tato forma představuje vázaný oxid siřičitý. Pokud porovnáme volný s vázaným SO_2 , tak vázaný oxid siřičitý má mnohem menší antiseptické či antioxidační vlastnosti, v některých případech může být i úplně neúčinný (Michlovský, 2012).



Obrázek 3 Schéma různých forem SO_2 ve víně (Michlovský, 2012)

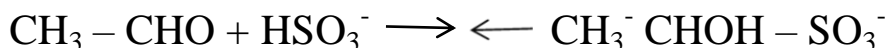
Obrázek 3 zobrazuje schéma všech forem oxidu siřičitého ve víně. V levé části se nachází „aktivní SO_2 “, jehož odtržení (**a**) s HSO_3^- je proměnlivé v závislosti na pH. Napravo je kyselina aldehyd-sírová (etanolsulfonová) představující vázanou část SO_2 na acetaldehyd. Stav (**c**) je definitivní tedy neměnný. Naopak stav (**b**) mezi volným a vázaným SO_2 na další sloučeniny je variabilní, závislí na teplotě (+/-) a na dávce volného oxidu siřičitého se pohybuje v jednom či druhém směru (Michlovský, 2012).

3.2.3.1 Acetaldehyd

Nejdůležitější alifatický aldehyd, který je obsažen ve všech vínech. Vzniká jako mezi produkt při alkoholové fermentaci, v hotových vínech vzniká oxidací ethanolu enzymem alkohol-dehydrogenázou. Vyšší obsah se nachází ve vínech typu sherry. U lehčích vín zvýrazňuje nepatrné množství acetaldehydu buket, ale jeho vyšší obsah je nežádoucí. Díky jeho nestabilitě, dochází k jeho další oxidaci, při které vzniká kyselina octová. Acetaldehyd je jedovatý, jeho vyšší obsah ve víně, jako jedna z látek způsobuje „kocovinu“ po nadměrném vypití vína (Kratochvíl, 2012).

Nezaměnitelnou vlastností oxidu siřičitého je, že tvoří s acetaldehydem aditační sloučeninu, která nemá negativní vliv na chuťové vlastnosti vína, a tvoří se kyselina acetadehyd siřičitá (Fic a spol., 2015).

Vazbu acetaldehydu s SO₂ ve víně můžeme vyjádřit následnou rovnicí:



Obsah acetaldehydu ve vínech se pohybuje od 30 do 130 mg/l a rovná se hodnotám mezi 44 až 190 mg/l vázaného oxidu siřičitého (Michlovský, 2012).

Ve vínech s nižším obsahem volného SO₂ se díky kyselině aldehyd-sírové uvolňují nízké stopy acetaldehydu, to má za následek zvětralosti ve víně. Důležité je vědět, že pokud se ve víně nachází volný oxid siřičitý, tak není ve víně přítomen volný acetaldehyd. Vazby oxidu siřičitého s acetaldehydem probíhají velice rychle. Při pH 3,3 (toto pH má většina vín) nastává vazba SO₂ na acetaldehyd až 98% za 90 minut. Vázání je zcela ukončeno do dalších pěti hodin (Baroň, 2013).

V mošttech z hroznů, které byly napadeny plísní botrytis cinerea se koncentrace acetaldehydu vyskytuje od 10 až max. 20 mg/l. Tato koncentrace vysvětluje průměrné vázání SO₂ na acetaldehyd méně než 10 mg/l. Acetaldehyd obsažený ve víně především je jako meziprodukt alkoholové fermentace. Jeho akumulace se převážně váže na podíl pyrohroznové fermentace a je zpravidla závislí na stavu provzdušnění. Vyšší koncentrace acetaldehydu se vyskytuje při dlouhých a problematických fermentacích a při nedostatku tiaminu (Michlovský, 2012).

Kvasinky si vytváří vlastní acetaldehyd, při alkoholovém kvašení, jako ochranný nástroj proti oxidu siřičitému. Z tohoto důvodu rozhoduje síření rmutu o podílu acetaldehydu a tím i o velikosti vázaného SO₂ ve víně (Baroň, 2013).

Z výše zmíněných důvodů plyne doporučení omezit dávkování oxidu siřičitého do kvasícího nebo dokvašujícího moštu. Tento SO₂ by byl okamžitě vázán a ztratil by jakoukoliv účinnost. Pokud chceme zastavit fermentaci, z důvodu výroby vína se zbytkovým cukrem, je nutné dávkovat jedinou dostatečně velkou dávkou k zablokování veškeré fermentační aktivity. Následné zastavení fermentace můžeme podpořit snížením kvasinkové populace např. odstředěním nebo zastavit kvašení pomocí chladem (-4 °C). Díky následným refermentacím se zvyšuje koncentrace acetaldehydu. Následné další síření, která jsou nezbytná, zvyšují podíl vázaného oxidu siřičitého. Také se stává, že chemická oxidace etanolu oxidoredukci může zvýšit obsah acetaldehydu a tím i následnou kapacitu vína vázat. Toto může nastat během uchovávání či při stáčení vína (Michlovský, 2012).

3.2.3.2 Ketokyseliny

Pravidelně se ve vínech nacházejí dvě ketokyseliny, kyselina pyrohroznová a kyselina 2-oxoglutarová. Tyto kyseliny jsou sekundárními produkty alkoholové fermentace. Obě kyseliny mají významnou roli v podílu vaznosti s oxidem siřičitým. Vaznost těchto kyselin s SO₂ je různá. Vznik obou kyselin je dán již na začátku fermentace, kdy je tempo jejich vzniku vyšší a následně klesá. Z tohoto důvodu je obsah těchto kyselin vyšší ve vínech s větším objemem zbytkového cukru. Řada faktorů, jako jsou vyšší teplota fermentace a vyšší pH, napomáhají akumulaci ketokyselin a tím také vyšší vaznost s oxidem siřičitým (Baroň, 2013).

Název	Vzorec	Průměrný obsah ve vínech (mg/l)
Kyselina pyrohroznová	CH ₃ -CO-COOH	10 až 500
Kyselina 2-oxoglutarová	COOH-CO-CH ₂ -CH ₂ -COOH	2 až 350

Tabulka 5 Ketokyseliny ve vínech (Michlovský, 2012)

Oxid siřičitý vázaný oběma kyselinami je velmi různý. Ve víně pocházejících z botrytických hroznů s obsahem 50 mg/l volné SO₂, jsou obě kyseliny schopny vázat průměrně 43 mg/l kyselina 2-oxoglutarová a 58 mg/l kyselina pyrohroznová. Podíly vazby oxidu siřičitého jsou v průměru 20,7 % u kyseliny pyrohroznové a 16,7 % u kyseliny 2-oxoglutarové (Michlovský, 2012).

3.2.3.3 Cukry a deriváty cukrů

V molekulách sacharidů aldehydické a ketonové funkce, které tvoří vazby s oxidem siřičitým. Cukry jako sacharóza a fruktóza s SO₂ prakticky žádné vazby netvoří, ale arabinóza se oxidem siřičitým tvoří vazbu kolem 8 mg/l SO₂ na jeden gram arabinózy. Jelikož je obsah arabinózy ve víně velmi nízký (< 1 g/l) je tato vazba zanedbatelná. Dalším cukrem, který tvoří vazby s oxidem siřičitým je glukóza. Glukóza má sice menší schopnost vázat se s oxidem siřičitým, váže asi 0,3 mg/l SO₂ na jeden gram glukózy. Jelikož je obsah glukózy ve vínech ve větším počtu, proto má vazba s oxidem siřičitým významný vliv na obsah volného SO₂ (Baroň, 2013).

3.2.3.4 Dikarboxylové molekuly

Látky obsahující dvě karboxylové skupiny. Jsou obsaženy v mošttech z hroznů, které byly zasaženy hnilobou. Jejich tvorba je podmíněna rozvojem *Botrytis cinerea*. Především se jedná o glyoxal a methylglyoxal, jejich obsah ve víně nepřesahuje 3 mg/l. Jejich koncentrace výrazně klesá při alkoholové fermentaci, z tohoto důvodu je jejich roli ve vazbě s SO₂ zanedbatelná (Baroň, 2013).

3.2.3.5 Jiné vazby

Vazby s oxidem siřičitým vytváří také nadbytek dusíku ve víně, což způsobuje zvyšování obsahu vázaného SO₂, aby se zachovala koncentrace volného oxidu siřičitého (Michlovský, 2014)

Víno obsahuje další látky, které tvoří vazby s oxidem siřičitým, ale jejich množství je velmi malé, z toho z důvodu nemají velký vliv na celkovou bilanci vázaného SO₂. Mezi tyto látky patří: kyseliny gluonová, galakturonová, glyoxylová a oxalátová, glykoaldehyd, acetoim a diacetyl (Baroň, 2013).

3.2.4 Endogenní SO₂

Tuto formu oxidu siřičitého obsahují vína, do kterých nebyl přidán žádný SO₂. Tento oxid siřičitý si dokáží vyrobit kvasinky svou enzymatickou činností. Kvasinka dokáže transformovat elementární síru, která je v menším množství, na sírné aminokyseliny (cystein, cystin, metionin, glutation) a jejich deriváty (sírany). Obsah endogenní SO₂ se pohybuje od několika mg/l až po 40 mg/l. Vyšší tvorba je zjištěna ve vínech ve velmi čirém kvasném prostředí a také při nízké hladině metioninu a cysteinu. Tvorba endogenní SO₂ je velmi závislá na kmenu kvasinek. Vysoká tvorba je u kvasinek citlivých na oxid siřičitý, které jsou blokovány v zasířených mošttech. Opakem jsou uměle vytvořeny kvasinky, které jsou odolnější vůči SO₂. Obecně je známo, že velké množství vyselektovaných kmenů kvasinek vytváří SO₂ v omezené míře (Baroň, 2013).

3.2.5 Způsoby síření ve vinařství

Síru u ve vinařství můžeme použít v několika formách. Každý způsob má své kladné i záporné vlastnosti a využívá se v různých fázích technologického postupu výroby vína.

3.2.5.1 Sírné knoty

Spalováním sírných knotů, obsahujících elementární síru, vzniká oxid siřičitý. Nejčastěji se používají k udržování prázdných sudů a nepřímému síření vína. Při hoření 1g síry vzniká 2 g oxidu siřičitého, samotná absorpce SO₂ závisí na nádobě a způsobu napouštění vína do nádoby. Obvyklá absorpce je v rozmezí od 30% do 70%. Tento způsob síření je oproti ostatním způsobům nejméně přesný. Při síření sírnými knoty se prakticky počítá s tím, že pokud shoří 1 g síry ve 100l sudu, tak se 1 litr vína nasytí asi 10 mg oxidu siřičitého. Sírné knoty se mohou také použít k síření sklepních prostorů (Fiala, 2010).

3.2.5.2 Pyrosulfit – K₂S₂O₅ (disiřičitan draselný) nebo Na₂S₂O₅ (sodný)

Pyrosulfit je bílý prášek, sůl kyseliny disiřičité a jeho účinnost je ve srovnání s oxidem siřičitým poloviční. Tato forma síry se nejčastěji používá při sklizni k síření nahnilých hroznů, dále se pak může použít na síření rmutu a čerstvě vylisovaného moštu. Toto opatření ochrání v moštu buketní látky a zabrání oxidaci (Fiala, 2010).

Disiřičitan draselný reaguje jen v kyselém prostředí. Přidáním $K_2S_2O_5$ do vína, dochází k reakci s kyselinou vinnou, při které se uvolňuje oxid siřičitý a vzniká hydrogenvinan draselný (vinný kámen) a voda. Díky této reakci dochází také k částečnému odkyselení vína (Fic a spol., 2015).

Tento způsob síření je celkem jednoduchý a přesný. Přidáním 2 g disiřičitanu draselného do 100 l vína, vzniká 10 mg/l volného SO_2 . Tento způsob síření můžeme využít jak na síření rmutu, moštu a mladého vína. Není příliš vhodný k síření zrajících a starších vín.

Za pomoci disiřičitanu draselného můžeme provést mokrou konzervaci sudů vodným roztokem oxidu siřičitého. Pro výrobu 100 litrů roztoku použijeme 100 g pyrosulfitu a 130 g kyseliny vinné (Fiala, 2010).

3.2.5.3 Kapalný roztok oxidu siřičitého 40%

Tato forma síry se nejčastěji používá k síření hroznů, rmutu či moštu. Pro síření vína není moc vhodný. Většinou se prodává v malém balení pro malovinaře jako 40% roztok SO_2 . Součástí roztoku je hydrogensiřičitan amonný $(NH_4)HSO_3$, z toho důvodu je vhodný pro síření moštu, ve kterém se uvolňují amonné ionty, které slouží jako výživa pro kvasinky při následné fermentaci. Ze stejného důvodu není vhodné jeho použití v hotových vínech.

3.2.5.4 Zkapalněný oxid siřičitý pod tlakem

Tento způsob síření vína je asi nejlepší, jelikož stlačený SO_2 neobsahuje žádné příměsi. Je dodáván v lahvích z oceli v různých velikostech od 5 do 50 kg. Většinou se používá pro velké objemy vína ve středních a velkých vinařstvích. Jeho použití je velmi jednoduché. Kapalným oxidem siřičitým se pod tlakem přepustí do dávkovacího válce, kde se určuje potřebná dávka v gramech. Odměřený oxid siřičitý se následně vpouští do nádoby ode dna, aby nedocházelo k úniku SO_2 (Fiala, 2010).

Nádoba (l)	Disiřičitan draselný (g)	Roztok SO ₂ 40% (ml)	Sirný knot 18 x 4 cm (cm)	Kapalný SO ₂ pod tlakem (g)
25	0,50	0,63	0,40	0,25
50	1,00	1,25	0,90	0,50
100	2,00	2,50	1,70	1,00
200	4,00	5,00	3,50	2,00
500	10,00	12,50	8,70	5,00
1000	20,00	25	17,50	10,00

Tabulka 6 Srovnání praktických dávek různých forem SO₂ pro zvýšení o 10 mg/l (Fiala, 2010).

Z tabulky lze zjistit, že nejmenší a nejpřesnější dávky jsou u kapalného oxidu siřičitého pod tlakem. Další v pořadí je disiřičitan draselný, který se používá hlavně u malovinařů.

3.2.6 Dávkování SO₂ do vína

Při dávkování oxidu siřičitého po kvašení musíme počítat s tím, že v mladém víně je nulový nebo velmi malý obsah volného SO₂ a obsah celkového SO₂ klesl na méně než jednu třetinu dávky, kterou jsme přidali do moštu před kvašením. První dávka oxidu siřičitého do vína po alkoholové fermentaci musí zabezpečit dostatečný obsah volného SO₂, kterého musí být minimálně 20-30 mg/l. Obsah menší než uvedené hodnoty nezajistí potřebnou ochranu a jeho množství musí být doplňováno. Pokud ale dáme vyšší dávku SO₂, než je potřeba, tak bráníme vývoji aromatických látek a taninů (Kraus a spol., 2008).

Před prvotním šířením dokvašeného vína se doporučuje provést laboratorní pokusy. Z důvodu diverzity sklizených hroznů může být dávka oxidu siřičitého příliš malá a tím pádem nedostatečná pro ochranu vína nebo naopak může být obsah volného SO₂ příliš vysoký, což může způsobovat komplikace. Vázaný SO₂ je navyšován volným oxidem siřičitým, ale podíl zvyšování se zmenšuje. Tím jak roste obsah volného SO₂. Pokud chceme zvýšit obsah volného oxidu siřičitého ve víně, které již obsahuje určitou koncentraci, musíme počítat s vázáním přidané dávky. Tato dávka je tím větší, čím je nižší obsah volného oxidu siřičitého. V normálních vínech, které již obsahuje oxid siřičitý, většinou dvě třetiny dodané dávky zůstanou ve volné formě a jedna třetina se naváže. Pokud je toto tvrzení pravdivé, tak pokud budeme chtít získat 20 mg/l volné

SO₂, tak je nutné přidat do vína 30 mg/l oxidu siřičitého. V praxi ale musíme počítat s možnými nestandardními stavy, které mohou mít za následek vyšší podíl vázání (Michlovský, 2012).

Zasířením vína vyšší dávkou SO₂ po dokvašení je spojeno s méně častým opakováním vyšších dávek oxidu siřičitého. Obsah 20-30 mg/l volného SO₂ je vhodné pro velkou většinu vín. Jen vína s velmi nízkým pH, vína jiskrně čistá a vína sterilní mohou být zasířena poloviční prvotní dávkou oxidu siřičitého. Další snižování hladiny volného oxidu siřičitého může být nebezpečné a může vést k oxidaci a nezvratným procesům ve víně. Na druhé straně vyšší obsah volné SO₂ vede k narušení příjemných chuťových vjemů (Kras a spol., 2008).

Dávka SO ₂	Výhody	Nevýhody
Častá opakovaná nižší dávka	<ul style="list-style-type: none"> - příznivě působí na chuťový vjem - podporuje vývoj barvy 	<ul style="list-style-type: none"> -nedostatečný účinek proti kvasinkám a bakteriím -související náhodný negativní bakteriální vývoj -častá kontrola vývoje vína -na konci zrání vyšší obsah oxidu siřičitého
Méně často opakovaná vyšší dávka	<ul style="list-style-type: none"> -velmi dobrý účinek proti kvasinkám -velmi dobrý účinek proti bakteriím -méně častá kontrola vína -na konci zrání nižší obsah oxidu siřičitého 	<ul style="list-style-type: none"> -méně příjemný momentální chuťový vjem -méně výrazná barva vína

Tabulka 7 Výhody a nevýhody častého a méně častého dávkování SO₂ do vína (Kraus a spol., 2008).

3.3 Snížení obsahu SO₂ ve víně pomocí Sur-lie

Již řadu let se snaží řada odborníků, výrobců vína a technologů odstranit nebo alespoň snížit oxid siřičitý ve výrobě vína. Do této doby se nenašel prostředek, který by úplně nahradil oxid siřičitý ve víně, který by měl stejné nebo podobné účinky. Sice jsou už přípravky, které částečně dokáží SO₂ nahradit, ale ve víně musí být aspoň malá část samotného oxidu siřičitého přítomna. Do té doby, pokud se nenajde dostatečná náhrada za oxid siřičitý, tak se budou výrobci snažit snížit obsah SO₂ ve víně pomocí technologických, fyzikálních a chemických postupů.

Jednou z metod technologických je způsob školení vína tzv. Sur-lie, kdy víno zraje na kvasničných kalech. Při tomto procesu dochází k autolýze kvasinek, při které se rozpadají odumřelé kvasinky a do vína předávají řada prospěšných látek. Další významnou vlastností odumřelých kvasinek je jejich redukční potenciál, který napomáhá snižování síření mladých vín. Tím mají kvasniční kaly příznivé účinky jak na samotné víno, kdy je víno kulatější, stabilní a má potenciál k delšímu nazrávání v láhvi, tak i na snižování obsahu oxidu siřičitého ve víně.

3.3.1 Proč Sur-lie

Pochází z francouzského výrazu, který doslova znamená „na kalech“. Tato metoda využívá hrubé či jemné kvasniční kaly při školení vína. Pro lepší kontakt kalů s vínem se kaly v nádobě promíchají tzv. „battonage“. Zraje-li víno na kvasničných kalech, dochází k jejich rozkladu tzv. autolýza. V tomto průběhu vznikají různé látky, které zlepšují kvalitu vína. Mezi tyto látky patří polysacharidy, glykoproteiny a dusíkaté sloučeniny. Tyto látky mají významný vliv na kulatost, jemnost a čistotu vína (Stejskal et al., Steidl, 2002).

Mezi důvody školení vína metodou Sur-lie jsou hlavně stylistické cíle. Zráním na kvasnicích se zlepšuje struktura a vzniká výrazné tělo vína. Výrazně se zlepšuje aroma, vůně a délka vína. Mezi další nezanedbatelné vlastnosti jemných kalů je silný reduktivní potenciál, který chrání víno před oxidací. Z tohoto důvodu není potřeba vyšších dávek oxidu siřičitého (Rotter, 2008).

Při zrání vína při metodě Sur-lie dochází k rozkladu kvasinek-autolýze kvasinek. Tento rozklad nastává ihned po úhynu kvasinek po alkoholové fermentaci. Autolýza probíhá velmi pomalu a trvá i několik let. Při tomto procesu se do vína uvolňují látky, které kladně ovlivňují sensorické vlastnosti a napomáhají ke komplexnosti vína. Během autolýzy se také uvolňuje řada aromatických látek (Pavloušek, 2010).

Zrání vína na jemných kvasničných kalech:

- zlepšuje stabilitu vína
- zlepšuje podmínky pro biologické odbourávání kyselin
- snižuje potřebu dávkování oxidu siřičitého
- zvyšuje obsah sloučenin dusíku
- zvyšuje hodnotu extraktu
- omezení vypadávání vinného kamene
- bílkovinná stabilita

3.3.2 Kvasniční kaly

Do dnešní doby není přesně známá struktura a chemické složení kvasničných kalů. Je jisté, že jejich součástí jsou částice menší jak 2 mm, převážně z odumřelých těch kvasinek. Především se jedná o polysacharidy, a to především celulóza, hemicelulóza a dusíkaté sloučeniny. Dále obsahují minerální soli a množství tuků z buněčných membrán. Tyto lipidické složky obsahují více nenasycených mastných kyselin, než nasycených. Mezi mastné kyseliny obsažené v kvasničných kalech patří kyselina linolová, palmová a olejová. Obsahem kvasničných kalů je také popelovina, která je obsažena jen kolem 5% (Ribéreau-Gayon, 2006).

Při metodě Sur-lie můžeme využít jak hrubé, tak i jemné kvasniční kaly.

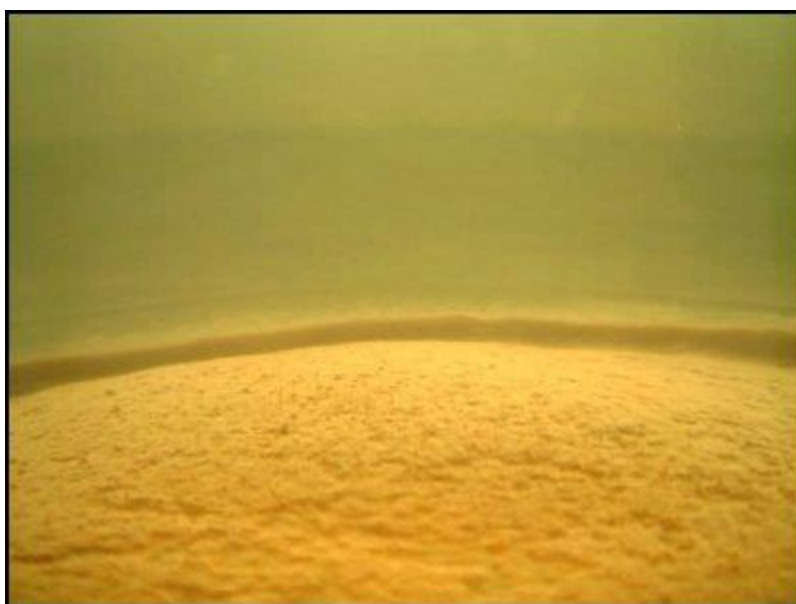
3.3.2.1 Hrubé (těžké) kvasniční kaly

Tyto kaly obsahují hrubé částice, které se usazují na dno nádoby v moštu či vína do 24 hodin. Hrubé kaly mohou tvořit části hroznů, bobulí, kvasinek, barviv a taninů. Dále obsahuje částice, které vznikly reakcí mezi polysacharidy a proteiny. Hrubé kaly jsou většinou zdrojem negativních aromatických a chuťových látek. Většinou se váží

s oxidem siřičitým a tím snižují účinek volného SO₂. Při využití hrubých kalů při školení metodou Sur-lie je velké nebezpečí vzniku sirky – H₂S.

3.3.2.2 Jemné kvasniční kaly

Tyto kaly obsahují velmi jemné částice, které jsou rozptýleny v moštu či víně i po 24 hodinách sedimentace. Jemné kvasniční kaly jsou zdrojem aminokyselin, polysacharidů, esterů a nukleových kyselin. Při metodě Sur-lie jsou jemné kvasniční kaly velmi vhodné pro školení mladých vín (Pavloušek, 2010).



Obrázek 4 Jemné kvasniční kaly (Rotter, 2008)

3.3.2.3 Autolýza kvasinek

Pod pojmem autolýza kvasinek můžeme rozumět tzv. „sebezničení“, což znamená vlastní degradaci buněčných složek kvasinek po jejich smrti. V průběhu procesu autolýzy je víno obohacováno sloučeninami, které jsou uvolněny v důsledku degradace intracelulárních složek. Rozpadajícím se těla kvasinek mají významný vliv na sensorické vlastnosti a biologickou stabilitu vína. Samotná autolýza je dobrým zdrojem živin jako jsou proteiny, vitamíny, stopové prvky a vlákniny. Proces autolýzy začíná úmrtím buňky. Nejdříve nastává dezorganizace membránového systému (cytoplazmatická membrána a ostatní organely) buňky. Toto umožňuje proteolitycký enzym, který napadá proteiny a rozděluje je na menší dílčí části jako jsou peptidy a aminokyseliny. Celkový proces autolýzy je silně ovlivněn teplotou a pH. Ve víně

proces probíhá při relativně nízkém pH v rozmezí 3 až 4 a při poměrně nízkých teplotách, a také v přítomnosti ethanolu. Tyto podmínky nejsou pro autolýzu příliš ideální a samotná autolýza kvasinek probíhá mnohem pomaleji. Z tohoto důvodu může být víno s kvasinkami v kontaktu delší dobu a tím můžou být využity kladné účinky autolýzy na víno (Dharmadhikari, 1998).

3.3.3 Ochranný účinek jemných kvasničných kalů

V mladém víně, ve kterém se nenachází žádné nežádoucí bakterie, jsou rozptýlené kaly převážně tvořeny buňkami kvasinek. Tyto kvasinky nejsou nijak škodlivé pro vína, ba naopak, obsahují řadu pozitivních vlastností. Jednou z jejich je už zmiňovaný redukční potenciál. Jeho síla je v tom, že dokáže redukovat veškerý kyslík, který víno přijalo přes hladinu, při míchání, filtraci či přečerpávání a neumožní tak oxidaci (Schneider, 2015).

Jemné kvasniční kaly také přispívají i k vazbám s mědí, tříslovinami a cizími aromatickými látkami. V průběhu jejich autolytického rozkladu vznikají mannoproteiny, které mají kladný vliv na chuť vína. Tyto kladné vlastnosti plní jen vznášející se jemné kaly a ne kaly usazené na dně nádoby. Z tohoto důvodu je nutné rozlišovat zrání na jemných kalech a na všech kalech. Jemné kvasniční kaly jsou získány stočením vína, bez filtrace, v popředí je pak jejich účinek redukční síly k získání svěžího mladého vína. Pokud je obsah jemných kvasnic nedostatečný, je pak jejich účinnost malá. Zvýšením účinnosti dosáhneme, pokud budeme tyto jemné kaly pravidelně promíchávat, tím docílíme jejich rozptýlení do celého objemu vína v nádobě. Teprve pak můžeme hovořit o metodě Sur-lie (Rotter, 2008).

3.3.3.1 Míchání kvasničných kalů

Je velmi důležité, aby se jemné kaly rozprostřely do celého objemu vína. Z tohoto důvodu je účelné usazený kvasniční kal míchat. Pak dochází k harmonizaci vína a k biochemickým procesům. Je také potřeba mít na paměti, že promícháváním se do vína dostává kyslík a tím víno oxiduje. Obsažený kyslík společně s jemnými kaly vytváří specifický sensorický styl vína Sur-lie. Kaly se musí promíchávat velmi intenzivně, aby byly všechny částice ve vznesu. Pravidlem je, že pokud máme více kalů, tím intenzivněji musíme víno promíchat (Rotter, 2008).

Délka zrání vína na jemných kvasničných kalech je závislá na typu a stylu vína. Zrání vína na jemných kalech může probíhat jen několik týdnů ale i několik měsíců. Standartní doba zrání na jemných kvasničných kalech je 8 až 10 měsíců, ale jsou vinaři, kteří nechávají svá vína na jemných kvasničných kalech 18 nebo dokonce 24 měsíců (Rotter, 2008).

Po celou tuto dobu zrání metodou Sur-lie je potřeba jemné kaly ve víně rozmíchávat. V první fázi po alkoholové fermentaci se míchání provádí velmi často, a to 2-3 krát týdně. V další fázi se promíchává 1-2 krát za 14 dní a v konečné fázi postačí míchat jen 1-2 krát za měsíc. Častější promíchávání jemných kalů způsobuje „krémovitější“ vjem vína (Steidl, 2010). Ideální teplota pro zrání na jemných kalech je teplota běžného vinného sklepa, která je 9-12 °C (Pavloušek, 2006). Je velmi důležité během zrání víno kontrolovat a při zjištění jakéhokoliv defektu toto víno ihned stočit z kalů a přidat SO₂.

Pravidelné míchání má řadu pozitivních vlastností:

- snižuje redukční aroma
- výrazně usnadňuje rozpad látek a tím jejich uvolňování do vína, mezi tyto látky patří aminokyseliny, polysacharidy a estery
- víno se pak stává krémovější, napomáhá vzniku těla a délky vína
- pokud víno leží v dubových sudech, tak stahuje dřevnatou chuť a harmonizuje aroma vína a dřeva
- vytváří sekundární reakci (míchání oxidativní)

3.3.4 Oxid siřičitý při výrobě vín Sur-lie

Jak je zmíněno již v předešlé kapitole, tak i kvasinky si dokáží vytvořit malé množství síry tzv. endogenní SO₂. Obsah oxidu siřičitého, bez jakéhokoliv síření, se může pohybovat v rozmezí 30- 40 mg/l, v některých mimořádných případech až 150 mg/l.

Vína, která jsou určena na zrání na kvasničných kalech, by neměla být sířena. Pokud by se tak stalo, tak hrozí velké riziko zvýšení koncentrace sirovodíku H₂S. To by mělo za následek oxidace a vazby na jiné sloučeniny. U vína zrajícího na jemných kalech, je žádoucí stanovit dávku oxidu siřičitého na hodnotu kolem 30 mg/l. Kvasinky produkují sirovodík, který není po skončení alkoholové fermentace sensoricky znatelný. Tato

skutečnost v praxi znamená, že není nutné po dokvašení dávkovat SO₂ do mladého vína, protože kvasniční kaly mají vysokou antioxidační schopnost. Je velmi důležité mít na mysli, že pokud ponecháme víno delší dobu na kvasnicích v podmínkách příliš redukčních, tak hrozí velké riziko vzniku „sirky“. Pokud víno na jemných kalech zraje v sudech, tak hrozí rozvoj kvasinek *Brettanomyces*, které podporují vznik nežádoucích animálních aromatických tónů (Nádeníčková, 2014).

3.3.5 Potenciální problémy spojené s managementem sirných látek

Je velmi důležité, aby se během celého výrobního procesu, pravidelně provádělo sensorické hodnocení a zaměřit se na přítomnost jakýchkoliv nepříjemných redukčních tónů. Mezi tyto tóny patří sirovodík (aroma po zkažených vejcech), velmi silná kvasnicová vůně (dochází při autolýze kalů bez máchání) nebo úplná ztráta aroma díky nadměrnému oxidativnímu stavu. Jedním z nejčastějších problémů je sirovodík (H₂S), jehož typickým příznakem je vůně zkažených vajec. Sirovodík vzniká z chemicky redukovaného oxidu siřičitého a je detekován už v jednotkách ppb (1 díl v 1 mld.). Jsou zde přítomny také řady nižších skupin síry a alkoholů. Tyto látky v určitém množství doplňují složitá aroma vín, ale pokud je ve víně obsaženo velké množství těchto látek, může být víno trvale znehodnoceno. V těchto případech je pak náprava defakto mizivá. Mezi tyto látky můžeme zařadit merkaptany, které představují závažný problém. Jsou to sloučeniny s thiolovou skupinou (-SH). Mohou to být hlavně etylmerkaptan nebo metylmerkaptan. Pokud je ve vínech těchto látek velké množství, pak můžeme ve vůni najít spálenou gumu či česnek, nebo zápach shnilého či zkvašeného zelí. Zaznamenání těchto vůní ve víně je znatelné již při malých dávkách v jednotkách ppb (Nádeníčková, 2014).

Sloučenina	Prahová citlivost µg/l	Charakteristika	Koncentrace zdravém víno µg/l	Koncentrace defektní víno µg/l	Bod varu °C
Sirovodík	0,8	shnilé vejce	0,3	16,3	- 61
Metylmerkaptan	0,3	zkvašené zelí zkažená voda	0,7	5,1	6
Etylmerkaptan	0,1	cibule, guma	0	10,8	35
Dimetyl sulfid	5	lanýž	1,4	2	35
Karbon disulfid		guma	1,7	2,4	46

Tabulka 8 "Lehké" sirné látky způsobující defekty vína (Nádeníčková et al., Ribéreau-Gayon, 2006).

Sloučenina	Prahová citlivost $\mu\text{g/l}$	Charakteristika	Koncentrace zdravém víno $\mu\text{g/l}$	Koncentrace defektní víno $\mu\text{g/l}$	Bod varu $^{\circ}\text{C}$
Dimetyl disulfid	2,5	chřest	0	2	109
2-Merkaptoetanol	130	spálená guma	72	124	157
Metyl-2-tetrahydrothiofenon	90	zemní plyn	68	276	84
2-Methylthio-etanol	250	vařený květák	56	80	170
Etylmetionát	300	železitost	1	2	90
Methionyl acetát	50	houby	1,5	3	92
Methionol	1200	vařená kapusta	838	1776	90
4-Methylthio-butanol	80	zemitost	36	35	96
Benzothiazol	50	guma	2	11	234

Tabulka 9 "Těžké" senné látky způsobující defekty vína (Nádeníčková et al., Ribéreau-Gayon, 2006).

3.3.6 Výhody metody Sur-lie z pohledu použití oxidu siřičitého

Z celkového pohledu je zřejmé, že pokud se dodržují určité zásady, při školení vín metodou Sur-lie, tak převažují výhody této metody před nevýhodami. Při ležení vín na jemných kalech se doporučuje nedávkovat žádné množství SO_2 a i po stočení z kalů je šíření vína spíše minimální s ohledem na volný oxid siřičitý. Pokud se ale zásady nedodrží, tak může nastat velmi vážný stav, který se už velmi těžce vrací do původního stavu.

3.3.6.1 Snížení oxidativně-redukčního potenciálu

Pokud stočíme mladé víno z hrubých kalů do jiné nádoby, tak ve většině případů dochází k oxidaci a ztrátě aroma. Toto můžeme pozorovat při ležení vína v láhvi. Jednou z hlavních výhod rozpadajících se kvasinek je jejich redukční potenciál, který zabraňuje oxidaci bílých vín. Míchání jemných kvasničných kalů je velmi důležité z hlediska rozprostření oxidativně-redukčního potenciálu na celou nádobu. Zmíněný potenciál se zmenšuje od hladiny ke dnu nádoby, na kterém se usazují kvasniční kaly. Pravidelným promícháváním se zastaví oxidace vína a redukce kalů (Kingbury, 1998).

3.3.6.2 Potencionální problémy

Největší problémy může přinést nadměrné používání síry již během ošetřování hroznů na vinici, rmutu či vylisovaného moštu. Tato síra dodává množství živin kvasinkám

před alkoholovou fermentací a následné produkci nezanedbatelného množství sirovodíku. Z tohoto důvodu je velmi důležité používat kvasinky, které produkují minimální množství sirovodíku v průběhu kvašení. Pokud nám vznikne co nejmenší množství sirovodíku během alkoholové fermentace, tak nepravděpodobné, že nastanou problémy při zrání vína. Pokud dávkujeme nadměrné množství SO₂ do moštu, tak se tento oxid siřičitý naváže v průběhu alkoholové fermentace s acetaldehydem. Mimo to se může oxid siřičitý změnit na síru elementární a v následném kvašení nebo zrání vína se může změnit na sirovodík (Rotter, 2008).

3.3.6.3 Náprava vín Sur-lie s redukčními tóny

Pokud se ve vínech objeví první příznaky redukčních tónů, tak tyto vína můžeme léčit rychlou a citlivou oxidací (provzdušněním). Tímto způsobem můžeme víno vrátit zpět do původního a zdravějšího stavu. Jelikož ve většině případech nastává ztráta aromatických a chuťových látek, tak je žádoucí víno stáhnout z hrubých kalů a nechat víno zrát pouze na jemných kvasničných kalech a tak zamezíme ztrátě aromatických a chuťových látek. Také zabráníme vzniku rušivých rostlinných a zelených aromatických tónů. Pokud necháme mladé víno ležet na jemných kvasničných kalech více jak dva měsíce a nezaznamenáme žádné nežádoucí tóny, tak se už nemusíme strachovat, že by víno získalo nějaké redukční tóny (Baroň, 2013).

4 Materiál a metodika

Cílem experimentální práce bylo zjistit optimální dávku oxidu siřičitého do mladého vína ihned po ukončení alkoholové fermentace a do vína, které nějakou dobu zrál na jemných kalech v provozních podmínkách malovinaře. Dále je cílem zjistit vaznost první dávky SO₂ u zmiňovaných vín a tím pádem také množství volného oxidu siřičitého, který je potřebný pro antioxidační a organoleptický účinek. Experiment byl proveden celkově na pěti vzorcích vín. Dva vzorky byly z roku 2015 a tři vzorky byly z roku 2016.

4.1 Materiál na výrobu

Hrozny použité na výrobu vína byly sbírány ručně do plných plastových bedýnek o nosnosti 30 kg. Na experiment byly použity odrůdy Ryzlink rýnský a Veltlínské zelené sbírané v roce 2015 a odrůdy Ryzlink rýnský, Veltlínské zelené a Sauvignon v roce 2016, vinařská podoblast Znojemská, obec Sedlešovice-Nový Šaldorf, viniční trať Kraví hora.

Odrůda	Ročník	Cukernatost °NM	Titrované kyseliny g/l	pH
Ryzlink rýnský	2015	24,0	8,6	3,1
Veltlínské zelené	2015	19,5	9,5	3,0
Veltlínské zelené	2016	19,5	7,9	3,1
Sauvignon	2016	20,5	7,3	3,7
Ryzlink rýnský	2016	21,5	9,2	3,0

Tabulka 10 Analytické hodnoty vylisovaného moštu

4.2 Postup výroby vín

Před lisováním byly hrozny odstopkovány a po dobu 12 hodin rmut maceroval. Z důvodu vyšších teplot a vyššího obsahu zkvasitelných cukrů v hroznech z ročníku 2015, byl do rmutu a následně do moštu dávkován oxid siřičitý z důvodu ochrany před samovolným rozkvašením. Následně byl rmut šetrně vylisován pomocí hydrolisu maximálním tlakem 2,5 MPa. Vylisovaný mošt byl samovolně přes noc odkalen. Po odkalení byly do moštu přidány odrůdové kvasinky a následně byl mošt přesunut do sklepních prostor, kde začalo a probíhalo kvašení za stálé teploty 11 °C v padesáti litrových demižonech. Jednotlivé odrůdy kvasily zhruba měsíc, až do doby než se

alkoholová fermentace samovolně zastavila. Po ukončení kvašení byla jednotlivá vína stažena z hrubých kvasničných kalů.

Odrůda	Ročník	Zbytkový cukr g/l	Titrované kyseliny g/l	pH	Alkohol % obj.
Ryzlink rýnský	2015	1,9	7,7	3,3	14,5
Veltlínské zelené	2015	1,6	8,3	3,3	12,0
Veltlínské zelené	2016	1,8	6,1	3,1	12,2
Sauvignon	2016	3,9	7,9	3,1	13,5
Ryzlink rýnský	2016	2,1	7,7	3,2	12,5

Tabulka 11 analytické hodnoty mladého vína ihned po dokvašení

4.3 Postup experimentu

Po dokvašení byla první část vín stažena do pěti pětilitrových demižonů, do kterých bylo nadávkováno určité množství disiričitanu draselného, po 5 dnech byl změřen obsah SO_2 se zaměřením na volný a celkový obsah oxidu siřičitého. Do jednotlivých demižonů byla dodána dávka SO_2 , v hodnotě 60, 80, 10, 120 a 140 mg/l.



Obrázek 5 Vzorek vína s nadávkovaným oxidem siřičitým.



Obrázek 6 Vzorek vína Sg 2016 před a po promíchání jemných kvasničných kalů

Druhá část vín byla stažena do dvaceti-pětilitrového demižonu, kde jednotlivé vzorky zrály na jemných kalech (metoda Sur-lie). Jediné vzorky byli rozdílne míchány či nemíchány na kvasničných kalech. Vína odrůdy Ryzlink rýnský a veltlínské zelené 2015 byly míchány na jemných kalech po celou dobu čtyřech měsíců jednou týdně. Ryzlink rýnský 2016 byl pouze stažen z hrubých kalů a následně zrál na jemných kalech po dobu třech měsíců a jednou týdně míchán. Odrůdy Sauvignon a Veltlínské zelené 2016 byly po dobu dvou měsíců pravidelně míchány jednou týdně a poslední měsíc zrál na jemných kalech bez míchání.

4.4 Dávkování oxidu siřičitého

Během experimentu byl použit $K_2S_2O_5$ (disiřičitan draselný). Tato forma je pro každého vinaře běžně dostupná, jeho dávkování je poměrně přesné a jednoduché. Po přidání 2 g disiřičitanu draselného na 100 l vína vznikne 10 mg/l volného oxidu siřičitého. Jelikož se na experiment používaly demižony o objemu 5 litrů, bylo potřeba stanovit množství přidávaného disiřičitanu draselného na patřičné množství.

Množství přidaného K ₂ S ₂ O ₅ g	Objem nádoby l	Dávka SO ₂ mg/l	Množství přidaného K ₂ S ₂ O ₅ g	Objem nádoby l	Dávka SO ₂ mg/l
6,0	50	60	0,6	5	60
8,0		80	0,8		80
10,0		100	1,0		100
12,0		120	1,2		120
14,0		140	1,4		140

Tabulka 12 Způsob dávkování oxidu siřičitého do zkoumaných vín

4.5 Stanovení oxidu siřičitého ve víně

Princip

Volný oxid siřičitý oxiduje s roztokem jódu. Jakmile se uvolní SO₂ z vazby s karbonylovými sloučeninami lze určit veškerý oxid siřičitý.

Přístroje a pomůcky

Kónická baňka, byreta a pipeta

Chemikálie a roztoky:

roztok jódu (0,02 mol.l⁻¹), roztok NaOH (1 mol.l⁻¹), 0,5% škrobový maz, 16% roztok H₂SO₄

Postup

volný oxid siřičitý

Odměřené množství zkoušeného vína (50 ml) nadávkuje do kónické baňky. Následně ihned dávkuje 16% roztok H₂SO₄ o objemu 10 ml, 0,5% škrobového mazu o objemu 5 ml a ihned titrujeme roztokem jódu. Jakmile se vše zabarví do modra, tak přestaneme a počkáme 30 sekund.

celkový oxid siřičitý

Odměřené množství zkoušeného vína (50 ml) nadávkuje do kónické baňky. po uplynutí 15 minut dávkuje 16% roztok H₂SO₄ o objemu 10 ml, 0,5% škrobového mazu o objemu 5 ml a ihned titrujeme roztokem jódu. Jakmile se vše zabarví do modra, tak přestaneme a počkáme 30 sekund.

Výpočet

$$x_{1,2} = a_{1,2} \cdot f \cdot 12,8$$

$$x_3 = x_2 - x_1$$

x_1 = mol.l⁻¹ volného SO₂ vyjádřeného v celých číslech

x_2 = mol.l⁻¹ celkového SO₂ vyjádřeného v celých číslech

$x_3 = \text{mol.l}^{-1}$ vázaného SO_2 vyjádřeného v celých číslech

$a_{1,2}$ = spotřeba roztoku jódu na volný nebo celkový SO_2

f = faktor roztoku jódu

5 Výsledky

5.1 Ročník 2015

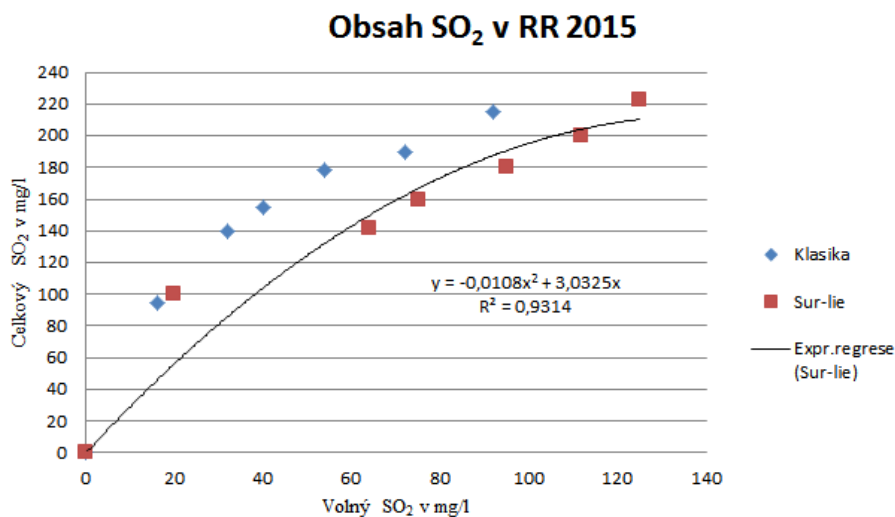
Z roku 2015 byly zkoumány 2 vzorky, byly to odrůdy Ryzlink rýnský a Veltlínské zelené. Obě odrůdy byly ze Znojemské vinařské podoblasti, vinařská obec Sedlešovice-Nový Šaldorf, viniční trať Kraví hora. Odrůda Ryzlink rýnský byla sbírána 24.10.2015, alkoholová fermentace probíhala od 28.10. do 28.11.2015. Odrůda Veltlínské zelené byla sbírána dne 22.10.2015, alkoholová fermentace probíhala od 26.10. do 21.11.2015.

Obsah SO ₂ v Ryzlink rýnský 2015							
Dávka SO ₂ mg/l	Metoda klasická			Metoda Sur-lie			Rozdíl volného SO ₂ mg/l
	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	
0	16	95	17%	20	100	20%	4
60	32	140	23%	64	142	45%	32
80	40	155	26%	75	160	47%	35
100	54	178	30%	95	180	53%	41
120	72	190	38%	112	200	56%	40
140	92	215	43%	125	223	56%	33

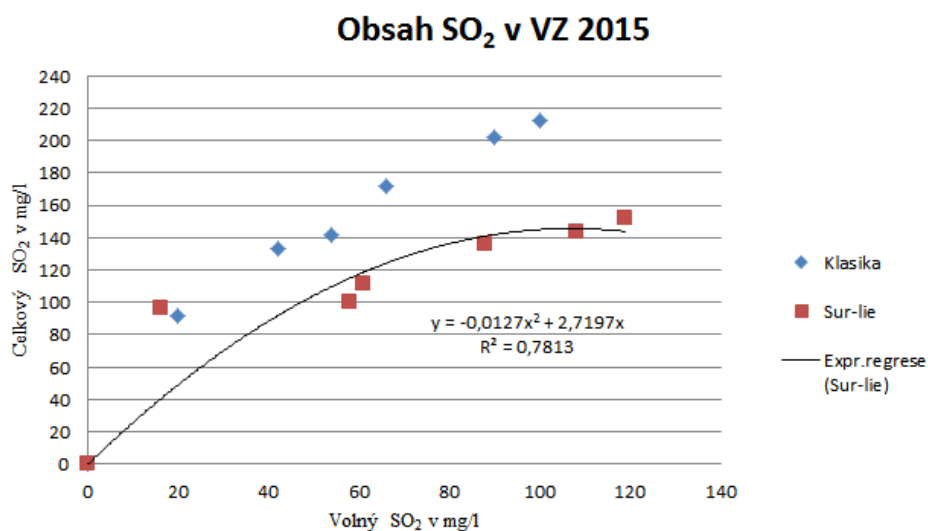
Tabulka 13 Obsah SO₂ v RR 2015

Obsah SO ₂ v Veltlínské zelené 2015							
Dávka SO ₂ mg/l	Metoda klasická			Metoda Sur-lie			Rozdíl volného SO ₂ mg/l
	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	
0	20	92	22%	16	96	17%	-4
60	42	133	32%	58	100	58%	16
80	54	142	38%	61	112	54%	7
100	66	172	38%	88	136	65%	22
120	90	202	45%	108	144	75%	18
140	100	212	47%	119	152	78%	19

Tabulka 14 Obsah SO₂ ve VZ 2015



Graf 1 Obsah SO₂ v RR 2015



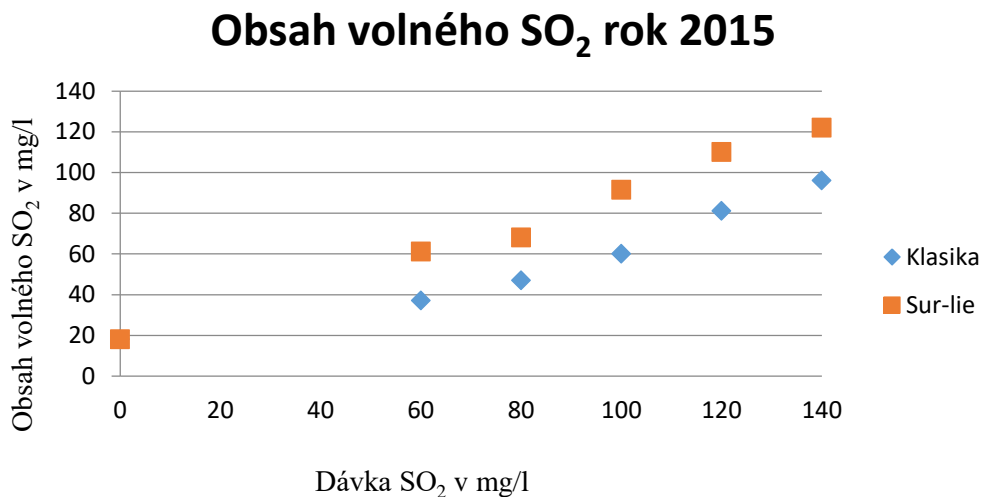
Graf 2 Obsah SO₂ v VZ 2015

Vyšší hodnoty celkového SO₂ po alkoholové fermentaci jsou následkem šíření rmutu a moštu, z důvodu vyššího obsahu zkvasitelných cukrů a vyšších teplot, což by mohlo způsobit nežádoucí samovolnou fermentaci.

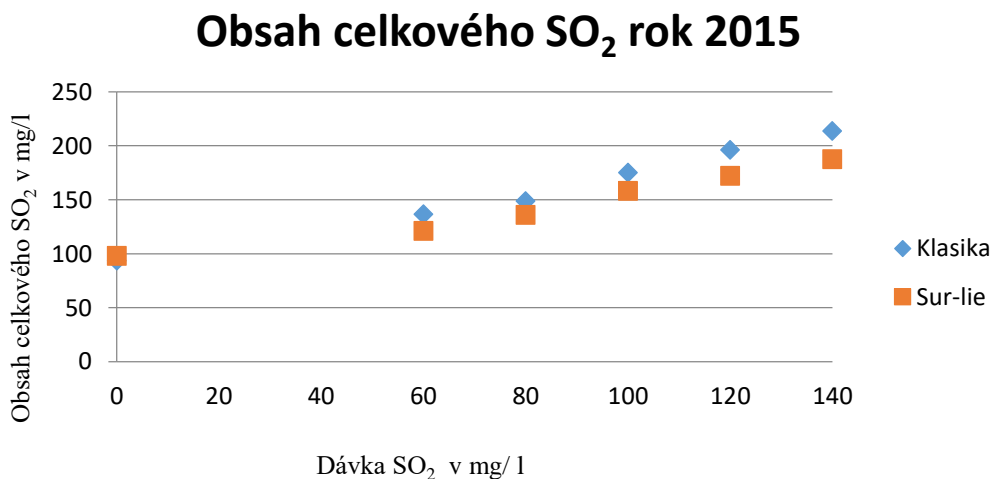
Dle zjištěných údajů, je patrné, že zrání vína na jemných kvasničných kalech má kladný vliv na udržení vysoké hodnoty volného oxidu siřičitého. V tabulkách jsou zaznamenány hodnoty obsahu volného oxidu siřičitého u vín školených klasickou metodou a u vína školených metodou Sur-lie. Dle procentuálních podílů je patrné, že vína zrající na jemných kalech mají vyšší podíl volného SO₂ než vína vyráběna klasickou metodou. U Ryzlink rýnský Sur-lie je podíl volného oxidu siřičitého

v rozmezí 45 – 56%, u vína ryzlink rýnský klasik je podíl jen v rozmezí 23 – 43%. U veltlínské zelené Sur-lir je podíl volného oxidu siřičitého v rozmezí 58 – 78%, u vína veltlínské zelené klasik je podíl volného v rozmezí 32 – 47%. Poměrně velký rozdíl mezi klasickou metodou a metodou Sur-lie je dán tím, že vína ročníku 2015 zrála na jemných kalech po dobu 4 měsíců a byla jednou týdně míchána.

Na základě zjištěných výsledků byl vyhodnocen průměrný obsah volného a celkového oxidu siřičitého ve zkoušených vínech. Průměrné hodnoty byly zaneseny do výsledných grafů, ze kterých je zřejmé, že zrání vína na jemných kalech má jednoznačně kladný vliv na udržení vyšší hodnoty volného oxidu siřičitého ve vínech. Z druhého grafu je také zřejmé, že obsah celkového oxidu siřičitého je u vín klasických nepatrně vyšší než u vín školených metodou Sur-lie.



Graf 3 Obsah volného SO₂ v roce 2015



Graf 4 Obsah celkového SO₂ v roce 2015

5.2 Ročník 2016

Z roku 2016 byly zkoumány 3 vzorky, byly to odrůdy Ryzlink rýnský, Veltlínské zelené a Sauvignon. Všechny odrůdy byly ze Znojemské vinařské podoblasti, vinařská obec Sedlešovice-Nový Šaldorf, viniční trať Kraví hora. Odrůda Ryzlink rýnský byla sbírána 27.10.2016, alkoholová fermentace probíhala od 30.10. do 10.12.2016. Odrůda Veltlínské zelené byla sbírána dne 12.10.2016, alkoholová fermentace probíhala od 15.10. do 20.11.2016. Odrůda Sauvignon byla sbírána dne 15.10.2016, alkoholová fermentace probíhala od 18.10. do 10.12.2016.

Obsah SO ₂ v Ryzlink rýnský 2016							
Dávka SO ₂ mg/l	Metoda klasická			Metoda Sur-lie			Rozdíl volného SO ₂ mg/l
	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	
0	6	47	13%	8	52	15%	2
60	14	73	19%	42	80	53%	28
80	36	119	30%	51	112	46%	15
100	51	127	40%	74	133	56%	23
120	60	142	42%	92	141	65%	32
140	67	150	45%	108	150	72%	41

Tabulka 15 Obsah SO₂ v RR 2016

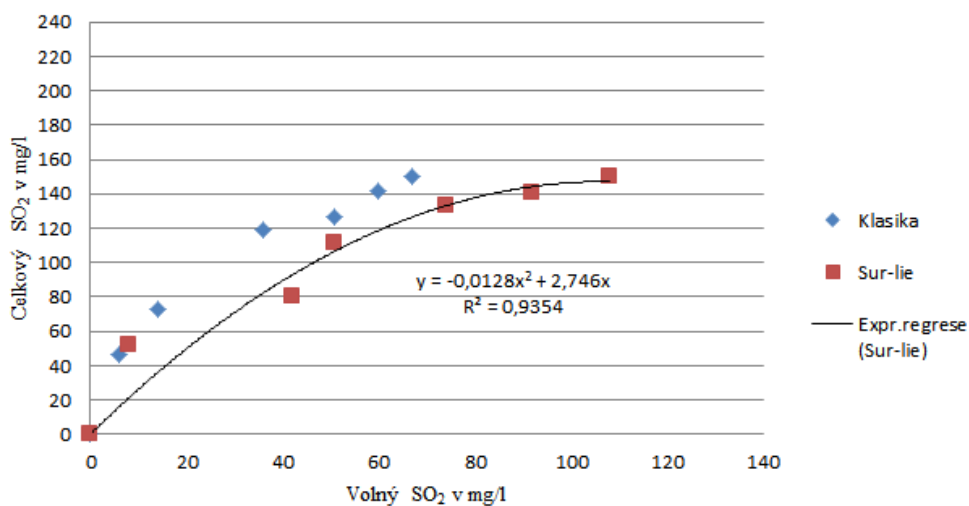
Obsah SO ₂ v Veltlínské zelené 2016							
Dávka SO ₂ mg/l	Metoda klasická			Metoda Sur-lie			Rozdíl volného SO ₂ mg/l
	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	
0	6	39	15%	7	40	18%	1
60	28	94	30%	50	95	53%	22
80	43	108	40%	55	110	50%	12
100	55	127	43%	79	120	66%	24
120	66	142	46%	102	150	68%	36
140	89	190	47%	110	187	59%	21

Tabulka 16 Obsah SO₂ v VZ 2016

Obsah SO ₂ v Sauvignon 2016							
Dávka SO ₂ mg/l	Metoda klasická			Metoda Sur-lie			Rozdíl volného SO ₂ mg/l
	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	Volný SO ₂ mg/l	Celkový SO ₂ mg/l	Podíl volného SO ₂	
0	6	31	19%	17	36	47%	1
60	33	100	33%	42	102	41%	22
80	44	115	38%	55	119	46%	12
100	61	138	44%	68	134	51%	24
120	78	155	50%	90	158	57%	36
140	97	182	53%	105	175	60%	21

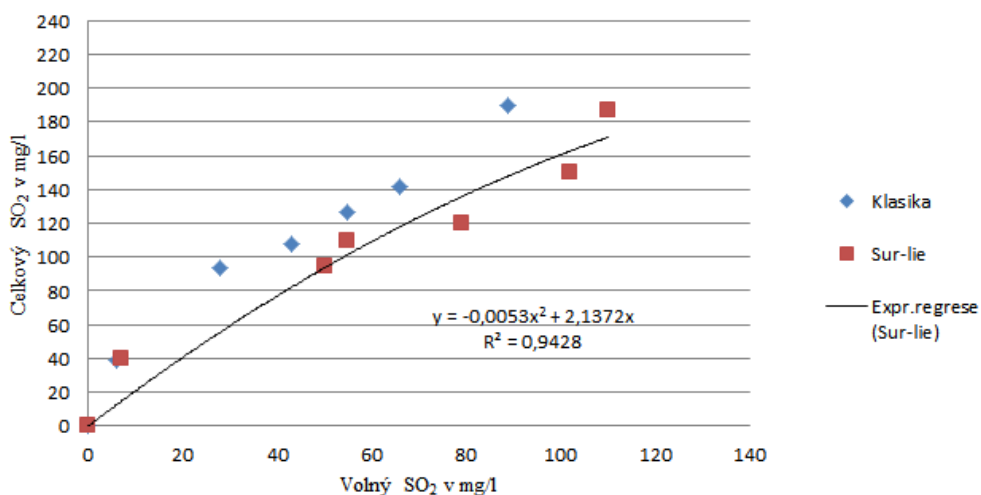
Tabulka 17 Obsah SO₂ v Sg 2016

Obsah SO₂ v RR 2016

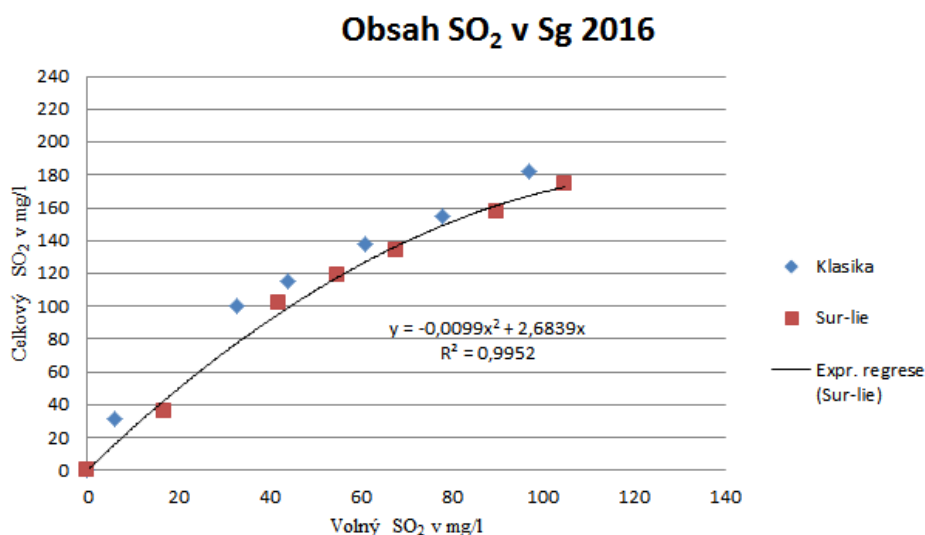


Graf 5 Obsah SO₂ v RR 2016

Obsah SO₂ v VZ 2016



Graf 6 Obsah SO₂ v VZ 2016



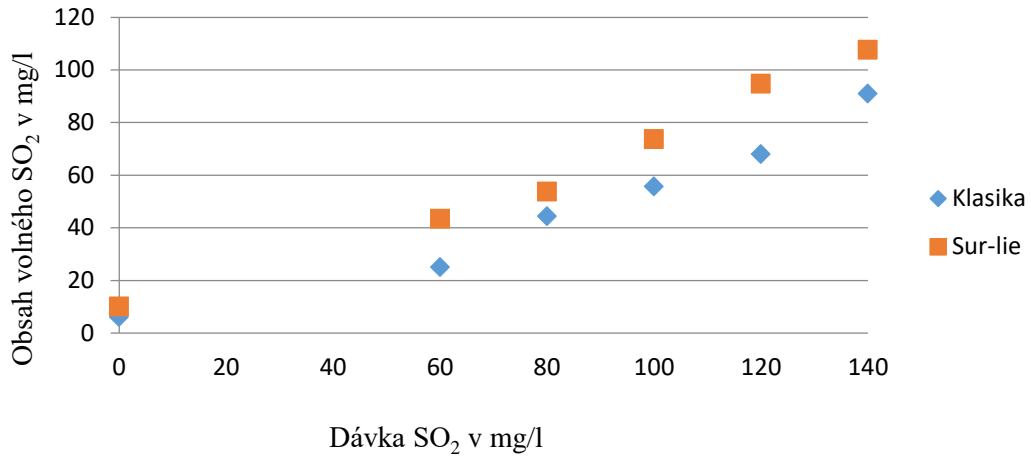
Graf 7 Obsah SO₂ v Sg 2016

Dle zjištěných údajů, je patrné, že i u vín ročníku 2016 má zrání vína na jemných kvasničných kalech kladný vliv na udržení vysoké hodnoty volného oxidu siřičitého. V tabulkách jsou zaznamenány hodnoty obsahu volného oxidu siřičitého u vín školených klasickou metodou a u vína školených metodou Sur-lie. Dle procentuálních podílů je zřejmé, že vína zrající na jemných kalech má vyšší podíl volného SO₂ než vína vyráběna klasickou metodou. U Ryzlink rýnský Sur-lie je podíl volného oxidu siřičitého v rozmezí 46 – 72%, u vína Ryzlink rýnský klasik je podíl jen v rozmezí 33 – 50%. U Veltlínské zelené Sur-lie je podíl volného oxidu siřičitého v rozmezí 53 – 68%, u vína Veltlínské zelené klasik je podíl volného v rozmezí 30 – 47%. U Sauvignon Sur-lie je podíl volného oxidu siřičitého v rozmezí 41 – 60%, u vína Veltlínské zelené klasik je podíl volného v rozmezí 33 – 53%. U odrůdy Ryzlink rýnský je opět poměrně velký rozdíl mezi klasickou metodou a metodou Sur-lie, z důvodu promíchávání jemných kalů po dobu třech měsíců. U zbývajících odrůd Veltlínské zelené a Sauvignon není rozdíl mezi oběma metodami tak rozdílný z důvodu zrání na jemných kalech po dobu 3 měsíce, ale míchání bylo jen první 2 měsíce a pak víno jen leželo na jemných kalech bez míchání.

Na základě zjištěných výsledků byl vyhodnocen průměrný obsah volného a celkového oxidu siřičitého ve zkoušených vínech. Průměrné hodnoty byly zaneseny do výsledných grafů, ze kterých je zřejmé, že zrání vína na jemných kalech má jednoznačně kladný

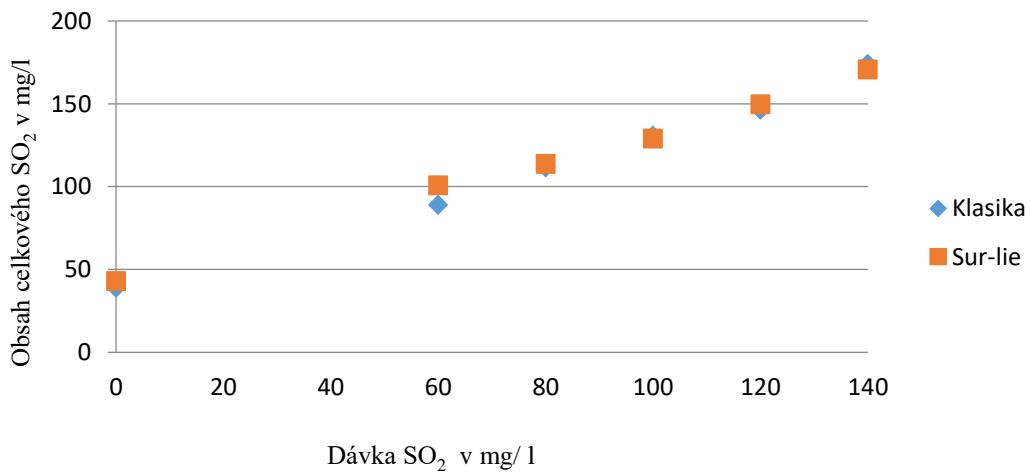
vliv na udržení vyšší hodnoty volného oxidu siřičitého ve vínech. Z druhého grafu je také zřejmé, že obsah celkového oxidu siřičitého je konstantní jak u vín do kterých se dávkoval oxid siřičitý ihned po dokvašení, tak do vín, které zráli na jemných kalech.

Obsah volného SO₂ rok 2016



Graf 8 Obsah volného SO₂ rok 2016

Obsah celkového SO₂ rok 2016



Graf 9 Obsah celkového SO₂ rok 2016

6 Diskuze

Ze zjištěných údajů lze potvrdit, že zrání vína na jemných kalech metodou Sur-lie má mnoho kladných vlastností a jednou z nich je vysoký oxidačně-reduktivní potenciál, který zajišťuje nižší vaznost oxidu siřičitého, tím pádem vyšší hodnoty volného oxidu siřičitého.

Pokud budeme přidávat SO_2 do mladého vína ihned po fermentaci, tak při dávkování 30 mg/l nám v ideálním stavu ve víně zůstane obsah volné SO_2 na hodnotě 20 mg/l, což znamená, že se jedna třetina dávkovaného oxidu siřičitého naváže na acetaldehyd (Michlovský, 2012). V praxi se ale musíme počítat se stavy, které mají za následek vyšší vaznost SO_2 , což se potvrdilo u zkoušených vín. U zkoušených vín bylo zjištěno, že u vín, které byly školeny klasickou metodou, tak se na acetaldehyd ihned po alkoholové fermentaci naváže více volného oxidu siřičitého než je popisovaná jedna třetina. Naopak vína školená metodou Sur-lie naváží jen velmi malé množství SO_2 , maximálně popisovaná jedna třetina dávkovaného oxidu siřičitého, což znamená, že ve víně zůstane vyšší obsah volného oxidu siřičitého a tím pádem nemusíme do vína dávkovat vyšší dávky SO_2 . Také se potvrdilo to, že žádné víno není stejné a každé víno se chová jinak, což znamená, že nikdy nebudou konstantní výsledky, podle kterých je možné stanovit kolik přidat SO_2 do jakého vína.

Jedním z kladných vlastností metody Sur-lie je reduktivní síla kvasinek, což má za následek nižšího dávkování oxidu siřičitého. Zvýšením účinku kvasinek je potřeba provádět pravidelné promíchávání těchto kvasinek v celém objemu vína (Rotter, 2008). Toto tvrzení se potvrdilo a při dávkování oxidu siřičitého do vína, které zrálou metodou Sur-lie. Tato vína vykazovala nižší vaznost SO_2 a vyšší hodnoty volného oxidu siřičitého, tím pádem není nutné dávkovat do hotového vína vyšší dávky oxidu siřičitého. Také se potvrdilo, že vína, u kterých se pravidelně promíchávaly jemné kvasniční kaly, vykazovaly vyšší obsah volné SO_2 než vína, která byla míchána kratší dobu nebo nebyla míchána vůbec. Vína Sur-lie jsou stabilnější na obsah volného oxidu siřičitého, tím pádem se nemusí do vína přidávat další dávky oxidu siřičitého během školení, pokud dodržíme obecně známé zásady, jako jsou doplněné nádoby, minimum stáčení či filtrace. Samozřejmě na vaznost oxidu siřičitého u vín školených metodou

Sur-lie má velký vliv délka zrání vína na jemných kvasničných kalech a také to, jestli je víno s jemnými kaly promícháváno. U zkoušených vín bylo jasně potvrzeno, že míchání jemných kalů má kladný vliv na oxidačně-reduktivní potenciál, který nám zaručuje minimum šíření hotového vína.

Na základě zkoušených vín doporučuji další výzkum zrání vína na jemných kalech s ohledem na dávkování oxidu siřičitého. Jelikož všechny vzorky zkoušených vín kvasily a zrály ve skleněných demižonech, tak bych se zaměřit se na délku zrání, na způsoby školení a na nádoby ve kterých víno zraje. Tímto by se dosáhlo komplexních a ucelených výsledků metody sur-lie s ohledem na dávkování oxidu siřičitého. Dále bych doporučil zkoumat i jiné technologické metody výroby vína, kterými se snižuje dávkování oxidu siřičitého do vína či není potřeba dávkovat žádný oxid siřičitý.

7 Závěr

Úkolem práce bylo studium vaznosti oxidu siřičitého se stanovením prvotní dávky SO_2 po alkoholové fermentaci a provézt porovnání s dávkováním oxidu siřičitého do vín školených metodou Sur-lie. Bylo zjištěno, že pokud dávkujeme oxid siřičitý do vína ihned po alkoholové fermentaci, tak musíme počítat s tím, že se nám až jedna polovina dávkovaného oxidu siřičitého naváže na acetaldehyd a na jiné látky, které jsou obsaženy ve víně. Dále musíme počítat s tím, že pokud budeme s vínem manipulovat, tak se také snižuje obsah volného oxidu siřičitého. Což není úplně ideální stav. Jeden způsob, jak snížit prvotní dávku oxidu siřičitého do vína je školení vína na jemných kalech metodou sur-lie. Tato metoda má mnoho kladných vlastností a jednou z nich je oxidačně-reduktivní potenciál, který má za následek, že se do vína přidává jen minimum oxidu siřičitého. U zkoušených vzorků bylo zjištěno, že u vín školených na jemných kalech se naváže na acetaldehyd a ostatní látky jen minimum volného oxidu siřičitého.

Metoda školení vína na jemných kvasničných kalech je vítanou alternativou s ohledem na snižování oxidu siřičitého ve vínech, kdy se do vína přidává jen minimum či žádný oxid siřičitý.

8 Souhrn, resume a klíčová slova

Souhrn

Diplomová práce se zabývá vazností oxidu siřičitého se zaměřením na stanovení prvotní dávky SO₂ po alkoholové fermentaci. V první části práce je seznámení s oxidem siřičitým, jeho vlastnosti, účinnost, jeho vazby a dávkování. Dále je zde seznámení se školení vína metodou Sur-lie s jeho vlastnostmi spojenými s oxidem siřičitým.

Druhá část práce se zabývá samotným dávkováním oxidu siřičitého do vín ihned po alkoholové fermentaci a do vín, která zrála na jemných kvasničných kalech. U všech zkoušených vín byl hlavní zkoumaný artikl volný oxid siřičitý.

Zkoumáním bylo zjištěno, že vína zrající na jemných kalech mají dobrý vliv na oxidačně-reduktivní potenciál a tím pádem na udržení vyššího obsahu volného oxidu siřičitého, což má za důsledek nižší dávky oxidu siřičitého.

Klíčová slova: oxid siřičitý, Sur-lie, jemné kvasniční kaly, batonáž, způsoby šíření

Resume

The master thesis is focused on the bound sulfur dioxide, especially on its first dosage into the wine after the alcohol fermentation. The first part describes the properties of sulfur dioxide, its effects, bounds and dosing. Next it includes the theoretical background of sur-lie wine aging process in conjunction with the sulfur dioxide.

The second part of the thesis was an experiment with the sulfur dioxide dosing into the wines right after the alcohol fermentation in comparison with sur-lie aged wines. The free sulfur dioxide was examined in the resulting wines.

It was found out that sur-lie aged wines have a positive effect on redox potential and therefore on keeping higher free sulfur dioxide amounts which results in lower sulfiting dosages needed.

Keywords: sulfur dioxide, sur-lie, fine lees, bâtonnage, ways of sulfiting

9 Seznam použité literatury

BAROŇ, Mojmír. *Možnosti snížení oxidu siřičitého ve vínech révy vinné*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013. ISBN 978-80-7375-924-7.

BAŽALÍK, Michal. *Využitie metódy Sur lie pri výrobe bielych vín*. Lednice, 2014. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Ing. Vojtěch Kobližka.

FIALA, Václav. Síra ve sklepním hospodářství: Síření v kostce. *Vinařský obzor*. 2010, 103(1-2), 54-55. ISSN 1212-7884.

FIC, Vlastimil. *Víno: analýza, technologie, gastronomie*. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.

FRANTA, Tomáš. *Komplementární metody k dávkování oxidu siřičitého*. Loděnice, 2015. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

HERZÁN, Jakub. *Management oxidu siřičitého při výrobě bílých vín*. Lednice, 2014. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

JANČÁŘOVÁ, Irena, Luděk JANČÁŘ, Alice NÁPLAVOVÁ a Vlastimil KUBÁŇ. A role of Reductones in the Monitoring of Sulphur Dioxide Content in Wines during their Maturation and Storage. *Czech journal of food sciences*. 2014, 32(3), 232-240. ISSN 1212-1800.

KRAUS, Vilém. *Nová encyklopedie českého a moravského vína: 2. díl*. Praha: Praga Mystica, 2008., 2 v. ISBN 97880867670932.

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Bobule*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-3-2.

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Oxid siřičitý v enologii*. Rakvice: Vinsekt Michlovský, 2012, 151 s. ISBN 978-80-905319-0-1.

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-2-5.

NÁDENÍČKOVÁ, Barbora. *Technologie speciálních vín*. Lednice [i.e. Brno]: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-019-5.

PAVLOUŠEK, Pavel. Zrání vína na jemných kvasničných kalech. *Vinařský obzor*. 2010, 103(11), 550-551. ISSN 1212-7884.

PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1247-4.

RIBÉREAU-GAYON, Pascal.; DUBOURDIEU, D.; DONÉCHE, Bernard.; LONVAUD, Aline. *Handbook of Enology: The mikrobiology of wine and vinifications*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2006. 512 s. ISBN 978-0-470-01034-1.

ROTTER, Ben. Sur-lie and bâtonnage. *Improved winemaking* [online]. 2008, 2001-2008 [cit. 2017-03-02]. Dostupné z: <http://www.brsquared.org/wine/Articles/surlie/surlie.htm>

SCHNEIDER, Volker. O smyslu a nesmyslu technologických zásahů ve sklepeč: Vysoce kvalitní bílá vína: Kvalita s minimálním ošetřováním. *Vinařský obzor*. Velké Bílovice: SV ČR, 2015, 108(1), 37-39. ISSN 1212-7884.

STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. Druhé aktualizované vydání. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978-80-903201-9-2.

STEJSKAL, Ondřej. *Porovnání vín odrůd Rulandské šedé a Rulandské bílé vyrobených klasickou metodou a metodou Sur lie*. Lednice, 2013. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Ing. doc. Mojmír Baroň, Ph.D.

ŠÁTEK, Jan. *Možnosti snižování a náhrady oxidu siřičitého ve víně*. Lednice, 2013. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

USSEGLIO-TOMASSET, Liciano. *Chimie oenologique*. 2. vydání. Paris: Technique & documentation, 1995. ISBN 9782743000592.