

Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici
Ústav posklizňové technologie
zahradnických produktů

Vliv oxidu siřičitého na vybrané kvalitativní parametry vína

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavel Híc, Ph.D.

Vypracoval:

Bc. Radek Varmuža

Lednice 2016



**Zahradnická
fakulta**

Ústav posklizňové technologie zahradnických produktů
Akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Bc. Radek Varmuža**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Řízení zahradnických technologií
Název tématu: **Vliv oxidu siřičitého na vybrané kvalitativní parametry vína.**
Rozsah práce: 40-50 stran textu, 5 – 7 grafů, 4 – 6 tabulek

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu pojednávající o látkovém složení hroznových vín s důrazem na fenolické složky, o metodách stanovení antioxidační aktivity, důvodech použití oxidu siřičitého ve vinařství. Zpracujte literární část diplomové práce.
2. Do vybraných vín aplikujte oxid siřičitý v rozdílných dávkách.
3. Sledujte vliv oxidu siřičitého ve víně na nameřené hodnoty antioxidační kapacity a na hodnoty polyfenolů.
4. Získaná data vyhodnoťte, sestavte do přehledných grafů a tabulek, výsledky vhodně interpretujte.



Mendelova
univerzita
v Brně



Seznam odborné literatury:

1. CADENAS, E. – PACKER, L. *Handbook of antioxidants*. 2. vyd. New York: Marcel Dekker, 2002. 712 s. Oxidative stress and disease. ISBN 0-8247-0547-5.
2. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. : 1. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 331 s. ISBN 80-86659-00-3.
3. STEIDL, R. – SCHÖDL, H. a kol. *Sklepní hospodářství*. 1. vyd. Valtice: Národní salon vín, 2002. 307 s. ISBN 80-903201-0-4.
4. RIBÉREAU-GAYON, P. – TRADUCTION, A. a kol. *Handbook of enology: The chemistry of wine stabilization and treatments. Volume 2*. 2. vyd. Chichester: John Wiley & Sons, 2005. 441 s. ISBN 0-470-01037-1.
5. Zloch, Z. – Čelakovský, J. – Aujezdská, A. Posuzování biologické hodnoty potravin na základě jejich antioxidační aktivity. *Česká a slovenská hygiena*, 3, 2004. s: 82 – 87.

Datum zadání diplomové práce: prosinec 2014

Termín odevzdání diplomové práce: květen 2016

L. S.


Bc. Radek Varmuža
Autor práce


doc. Ing. Josef Balík, Ph.D.
Vedoucí ústavu




Ing. Pavel Híc, Ph.D.
Vedoucí práce


doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci „**Vliv oxidu siřičitého na kvalitativní parametry vína**“ vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím 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, 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, 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:

.....

podpis

Poděkování

Touto cestou bych chtěl poděkovat všem, kdo mi při vypracování této diplomové práce pomohli. Zejména bych chtěl poděkovat vedoucímu mé diplomové práce, kterým byl Ing. Pavel Híc, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a celkovou podporu při tvorbě této práce. Dále bych chtěl poděkovat všem, kteří mě v průběhu psaní podporovali a měli se mnou trpělivost.

OBSAH

1	Úvod.....	11
2	Cíl práce.....	12
3	Současný stav řešené problematiky	13
3.1	Složení hroznových vín.....	13
3.1.1	Sacharidy	13
3.1.2	Kyseliny	13
3.1.3	Těkavé složky	14
3.1.4	Fenolické látky.....	15
3.1.5	Vitamíny	23
3.2	Oxid siřičitý.....	23
3.2.1	Historie.....	24
3.2.2	Použití	24
3.2.3	Formy.....	25
3.2.4	Předpisy pro použití SO ₂	31
3.2.5	Stanovení oxidu siřičitého titrací odměrným roztokem jódu.....	32
3.3	Antioxidační kapacita.....	33
3.3.1	Antioxidanty ve víně.....	33
3.4	Metody stanovení antioxidační kapacity (TAC)	33
3.4.1	Metoda FRAP	33
3.4.2	Metoda DPPH	34
3.4.3	Metoda FC (Folin-Ciocalteu).....	35
4	Materiál a metody	37
4.1	Popis sledovaných odrůd.....	37
4.1.1	Rulandské bílé.....	37
4.1.2	Svatovavřínecké.....	38
4.2	Materiál	39

4.2.1	Přístroje a pomůcky	39
4.2.2	Chemikálie a roztoky	39
4.3	Metody měření	39
4.3.1	Stanovení antioxidační kapacity metodou FRAP	39
4.3.2	Stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH.....	40
4.3.3	Stanovení celkového obsahu fenolů metodou Folin-Ciocalteu	40
5	Výsledky a diskuze	41
5.1	Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty polyfenolů.....	41
5.2	Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP	44
5.3	Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH	46
6	Závěr	49
7	Souhrn.....	50
8	Resume.....	51
9	Seznam použité literatury	52
10	Přílohy.....	56

Seznam obrázků uvedených v textu

Obrázek 1. Struktura fenolů.....	18
Obrázek 2. Fenolické kyseliny a jejich deriváty (Ribéreau-Gayon et al., 2006).....	19
Obrázek 3. Formy SO ₂ ve víně (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006)	25
Obrázek 4. Piktogram o obsahu alergenu (Michlovský 2012)	32
Obrázek 5. Struktura DPPH a jeho redukovaná forma antioxidantem (Paixao, Perestrello et al. 2007)	35

Seznam tabulek uvedených v textu

Tabulka 1. Fenolické složky vína (RiceEvans, Miller et al. 1996).....	17
Tabulka 2. Fenolické kyseliny a jejich deriváty (Ribéreau-Gayon et al., 2006)	19
Tabulka 3. Nárůst aktivního SO ₂ (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006)	26
Tabulka 4. Vlastnosti různých forem oxidu siřičitého využívané pro uchovávání vín (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).....	28
Tabulka 5. Sloučeniny vázající SO ₂ (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).....	29
Tabulka 6. Limity celkového oxidu siřičitého podle typu vín v ČR (podle nařízení č. 606/2009) (Michlovský 2012)	31
Tabulka 7. Limity celkového oxidu siřičitého v biovínech v ČR (podle nařízení č.203/2012) (Michlovský 2012)	32
Tabulka 8. Základní parametry vín.....	41
Tabulka 9. Porovnání této studie s publikovanými hodnotami celkového obsahu polyfenolických látek v červených vínech (Büyüktuncel, Porgali et al. 2014)	43
Tabulka 10. Korelační koeficient vlivu SO ₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Rulandské bílé“	56
Tabulka 11. Korelační koeficient vlivu SO ₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Svatovavřínecké“	57
Tabulka 12. Korelační koeficient vlivu SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“	58
Tabulka 13. Korelační koeficient vlivu SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“	59
Tabulka 14. Korelační koeficient vlivu SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“	60

Tabulka 15. Korelační koeficient vlivu SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“	61
Tabulka 16. Statistické testování vlivu přídatku SO ₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Rulandské bílé“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl)	61
Tabulka 17. Statistické testování vlivu přídatku SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl).....	62
Tabulka 18. Statistické testování vlivu přídatku SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl).....	62
Tabulka 19. Statistické testování vlivu přídatku SO ₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Svatovavřínecké“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl) .	62
Tabulka 20. Statistické testování vlivu přídatku SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl).....	62
Tabulka 21. Statistické testování vlivu přídatku SO ₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl).....	63

Seznam grafů uvedených v textu

Graf 1. Vliv přídatku SO ₂ do vína na naměřené hodnoty polyfenolů (mg kys. gallové.l ⁻¹)	41
Graf 2. Vliv přídatku SO ₂ do vína na naměřené hodnoty polyfenolů (mg kys. gallové.l ⁻¹)	42
Graf 3. Vliv přídatku SO ₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP (μmol troloxu.l ⁻¹)	44
Graf 4. Vliv přídatku SO ₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP (μmol troloxu.l ⁻¹)	45
Graf 5. Vliv přídatku SO ₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH (μmol troloxu.l ⁻¹)	46
Graf 6. Vliv přídatku SO ₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH (μmol troloxu.l ⁻¹)	47
Graf 7. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Rulandské bílé“ a jejich závislost.....	56

Graf 8. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřinecké“ a jejich závislost.....	57
Graf 9. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP odrůdy „Rulandské bílé“ a jejich závislost	58
Graf 10. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP odrůdy „Svatovavřinecké“ a jejich závislost	59
Graf 11. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH odrůdy „Rulandské bílé“ a jejich závislost.....	60
Graf 12. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH odrůdy „Svatovavřinecké“ a jejich závislost	61
Graf 13. Hodnoty naměřeného volného a vázaného SO ₂ odrůdy „Rulandské bílé“.....	63
Graf 14. Hodnoty naměřeného volného a vázaného SO ₂ odrůdy „Svatovavřinecké“	64

1 ÚVOD

Dnešní moderní vinařství se neobejde bez použití oxidu siřičitého z důvodu fyzikálně chemické a biologické stability vína. Je velice důležité, aby se oxid siřičitý používal při výrobě vína s rozvahou. Jelikož při větších dávkách má prokazatelně negativní působení na zdraví člověka, například bolesti hlavy. Právě z těchto důvodů je potřeba, abychom se v budoucnosti snažily o jeho minimalizaci. Oxid siřičitý je ve vinařství používán také díky jeho silným antioxidačním schopnostem

Antioxidační působení látek je současně silným předmětem zájmu mnohých vědeckých studií. Hlavním důvodem tohoto zájmu je schopnost některých látek zabránit poškození organismu tím, že chrání důležité části buňky před volnými radikály. Velké množství studií potvrzuje příznivé působení antioxidantů na lidské zdraví. Často se setkáváme s definicí antioxidantů jako léků proti stárnutí až jakýmsi všelékem. Tyto tvrzení jsou ovšem pravdivé z části.

Problematika výzkumu antioxidantů je však velmi složitá. Uvádí množství antioxidantů fungujících na různých principech, o čem svědčí i velké množství kategorií antioxidantů, které jsou rozdělené na základě různých kritérií. I metody stanovení jsou proto rozdílné a velmi často navzájem nekorelují. Toto prostředí potom dává možnost publikovat mnoho vědeckých prací, které někdy ukazují jen zjištěné výsledky, z kterých nevyplývají žádné všeobecné závěry a jsou prakticky nezopakovatelné a neporovnatelné.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce je shrnout dostupnou literaturu, která pojednává o látkovém složení hroznových vín, především shrnout fenolické látky. Dále také metody stanovení antioxidační aktivity a polyfenolů. A shrnout důvody použití oxidu siřičitého ve vinařství. Praktická část diplomové práce sleduje vliv oxidu siřičitého ve víně na naměřené hodnoty antioxidační kapacity a polyfenolů.

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

3.1 Složení hroznových vín

3.1.1 Sacharidy

Koncentrace redukujících cukrů v moštu, bývá cca 145 – 250 g.l⁻¹. Koncentrace v suchých vínech je < 5 g.l⁻¹. Polosladká a sladká vína obsahují 60 – 90 g.l⁻¹. Kvasinky preferují glukózu, což vysvětluje, proč víno obsahuje více fruktózy, než glukózy. Sacharóza není běžně ve víně, ale malé množství můžeme nalézt v hroznech a je hydrolyzováno na glukózu a fruktózu během fermentace. Přítomnost sacharózy dokazuje, že do vína byl přidán cukr (Moreno and Peinado 2012).

3.1.2 Kyseliny

Pro většinu vín je vhodné rozmezí celkových kyselin 5,5 – 8,5 g.l⁻¹. U bílých vín je výhodná vyšší kyselost a u vín červených zase nižší z důvodu vhodného pH. Pro bílá vína 3,1 – 3,4 pH a pro vína červená 3,3 – 3,6 pH.

Mnoho kyselin je ve víně z metabolismu kvasinek během vinifikace. Hlavním metabolitem je kyselina jantarová a kyselina octová (hlavní složka těkavé kyselosti), také je produkováno malé množství kyseliny mléčné. Všechny tyto kyseliny pochází z metabolismu kyseliny pyrohroznové (Moreno and Peinado 2012).

3.1.2.1 Kyselina vinná

Je hlavní kyselina vína spolu s kyselinou jablečnou (Jackson 2008).

3.1.2.2 Kyselina jablečná

Kyselina jablečná může představovat asi polovinu celkové kyselosti vína (Jackson 2008).

3.1.2.3 Kyselina mléčná

Kvasinky produkují malé množství této kyseliny během kvašení. Avšak pokud se vyskytuje kyselina mléčná ve větším množství, je to způsobeno metabolickou aktivitou bakterií. Nejčastěji jsou zapojeny bakterie mléčného kvašení *Oenococcus Oeni*. Tato bakterie produkuje enzym, který dekarboxyluje kyselinu jablečnou přímo na kyselinu mléčnou, proto se tento proces nazývá jablečno-mléčná fermentace. Běžně se s ním setkáváme u červených vín a méně u vín bílých. Hlavní užitek je přeměna tvrdší

dikarboxylové kyseliny jablečné na jemnější monokarboxylové kyseliny mléčné (Jackson 2008).

3.1.2.4 Kyselina octová

Malé množství kyseliny octové produkují kvasinky během fermentace. Její hodnota ve víně se pohybuje kolem 300 mg.l^{-1} , může být žádoucí, jelikož zvyšuje komplexnost chutě a vůně vína. Je velice důležitá při vzniku acetátových esterů, které dávají vínu ovocný charakter. Pokud je ovšem její hodnota vyšší než 300 mg.l^{-1} má negativní účinek na organoleptické vlastnosti vína. Vysoké množství kyseliny octové je spojeno s kontaminací hroznů, moštu, nebo vína octovými bakteriemi (Jackson 2008).

3.1.2.5 Kyselina jantarová

Je jedním z nejčastějších vedlejších produktů metabolismu kvasinek. Je odolná proti mikrobiálnímu napadení v anaerobních podmínkách a je velmi stabilní ve víně. Nicméně jeho hořko-slaná chuť omezuje jeho použití pro acidifikaci (Jackson 2008).

3.1.3 Těkavé složky

Jsou produkovány kvasinkami během fermentace a mají velký vliv na organoleptické vlastnosti vína. Kombinace aroma různých těkavých složek ve víně vytváří nové aroma, které dělá každé víno unikátní. Nejdůležitější chemické skupiny, které vznikly v průběhu fermentačního metabolismu kvasinek, jsou popsány níže.

3.1.3.1 Vyšší alkoholy

Vyšší alkoholy mají -OH skupinu a více než 2 karbonové atomy. Jsou bohatou těkavou složkou vína a mohou být klasifikovány jako vyšší alkoholy ($>10 \text{ mg.l}^{-1}$) a nižší alkoholy ($\leq 10 \text{ mg.l}^{-1}$)

- Vyšší alkoholy:
 - Propanol-1
 - Isobutanol (2-methyl-1-propanol)
 - Isoamylové alkoholy (2-methyl-1-propanol a 3-methyl-1-propanol)
 - 2-fenylethanol
- Nižší alkoholy:
 - Butanol
 - Pentanol (n-amylic alkohol)

- Hexanol, atd.

3.1.3.2 *Karbonylové složky*

Mají karbonylovou skupinu ($-C=O$) a záleží na jejich pozici, jsou aldehydy (na konci karbonového řetězce) nebo ketony (uprostřed karbonového řetězce)

- Aldehydy:
 - Ethanal (acetaldehyd)
 - Propanal, hexanal, benzaldehyd, atd.
- Ketony
 - 2,3-butanodion (diacetyl)
 - 3-hydroxy-2-butanone (acetoin)

3.1.3.3 *Estery*

Obsahují $R-CO-O-R'$ skupinu. Chemicky se klasifikují do tří skupin, podle toho na které straně řetězce jsou R nebo R' .

1. Alkoholové acetáty: ve které kyselina $R-COO^-$ pochází z kyseliny octové. Jsou nejvíce těkavé typy esterů.
2. Ethylové estery odvozené z kyselin: když R' je etanol. Jsou více či méně těkavé v závislosti na těkavosti kyseliny, ze které jsou odvozeny. Hlavní ethylové estery jsou
 - Vinan, malát, laktát, monoethyl a diethyl sukcinát
 - Krátké a střední řetězce mastných kyselin ethyl esterů (C_6-C_{10})
3. Ostatní estery, včetně pyruvátu, laktátů, vinanů a sukcinátů alkoholů, jiných než ethanol (Moreno and Peinado 2012).

3.1.4 *Fenolické látky*

Polyfenoly mají různé vlastnosti, ale ty nejzajímavější z vinařského hlediska jsou:

- Baktericidní a antimykotická aktivita
- Senzorické vlastnosti: Barva, chuť (hořkost), plnost (svíravost) a aroma (těkavé fenoly)

Klasifikace polyfenolických sloučenin

1. Jednoduché fenoly- obsahují jeden benzenový kruh

- C6-C1 hydroxybenzoové sloučeniny
 - C6-C3 skořicové sloučeniny
2. Flavonoidy (C6-C3-C6)- mají obecnou strukturu se dvěma benzenovými kruhy, ale liší se podle substituentů
 - Flavonoly
 - Flavanonoly
 - Flavanoly
 - Antokyany
 3. Polymerizované fenolové sloučeniny: třísloviny, které na sebe mohou vzájemně působit s proteiny během macerace
 4. Drobné fenolové sloučeniny: například stilbeny (Moreno and Peinado 2012).

Obsahují je jak bílá, tak i červená vína. Reagují s velkým množstvím kyslíku. Nejlépe však reagují polyfenoly. Dělí se do dvou skupin: flavonoidy a neflavonoidy. Nejvíce běžné flavonoidy ve víně jsou flavonoly (kvercetin, myricetin akaempferol), flavan-3-oly (katechin, epi-katechin a taniny) a anthokyany (cyanidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid, delphinidin-3-glukosid, petunidin-3-glukosid, a malvidin-3-glukosid). Koncentrace flavonoidů je velice ovlivněna zpracování hroznů (lisování, macerace...) (Oliveira, Ferreira et al. 2011).

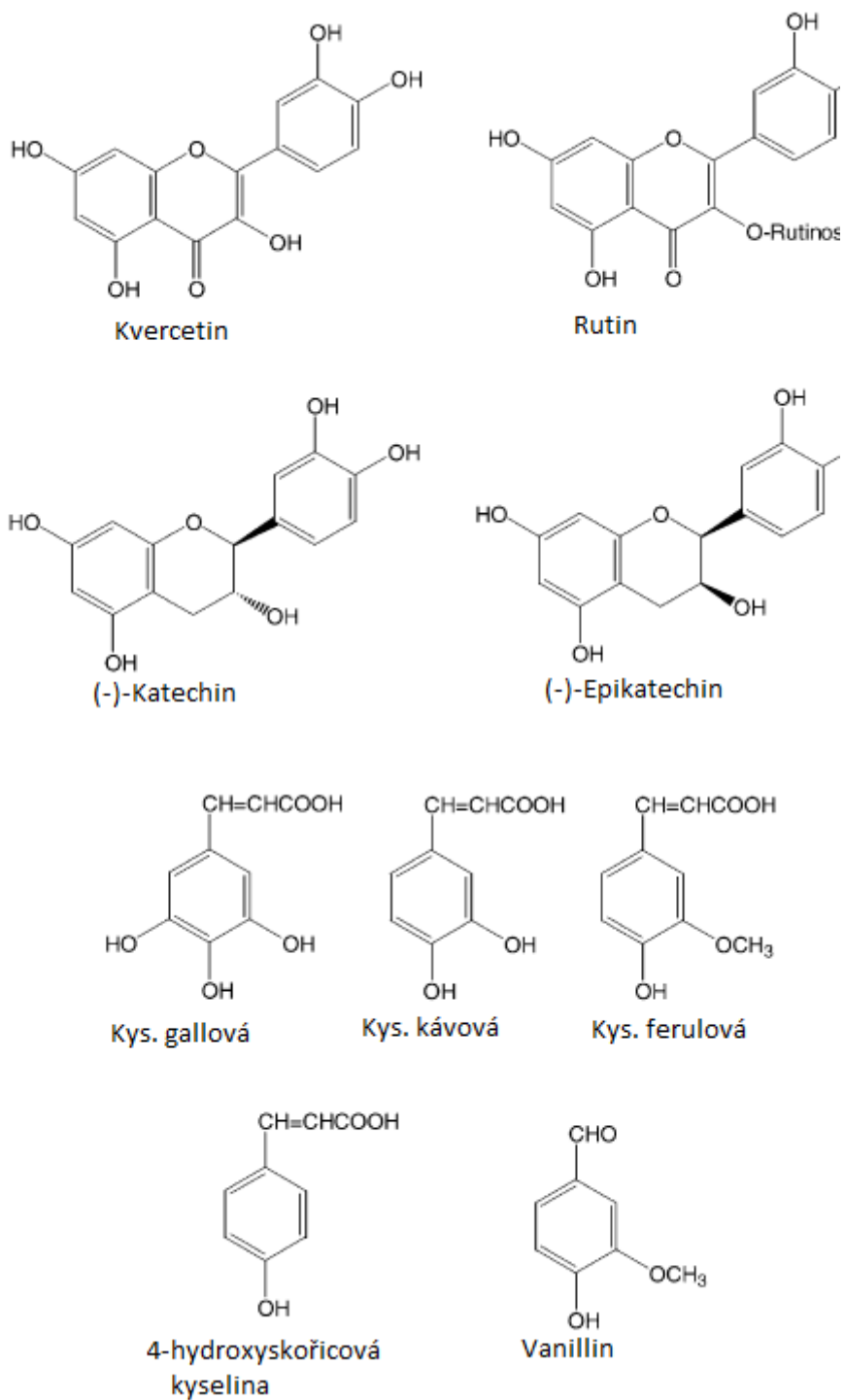
Fenolické sloučeniny jsou jedním z nejdůležitějších kvalitativních parametrů vín, jelikož přispívají k organoleptickým vlastnostem vína, jako je barva, svíravost a hořkost. Mimo to mnohé z nich vykazují antioxidační aktivitu (Paixao, Perestrelo et al. 2007).

Fenolické složení bílých a červených vín se liší, jelikož se liší výroba bílých a červených vín. U červených vín dochází k maceraci a z toho důvodu mají bílá vína menší obsah polyfenolů a tím i antioxidační aktivity (Roussis, Lambropoulos et al. 2008).

Tabulka 1. Fenolické složky vína (RiceEvans, Miller et al. 1996)

	Bílé (mg.l ⁻¹)	Červené (mg.l ⁻¹)
Katechin	35	191
Epikatechin	21	82
Kyselina gallová	7	95
Kyanidin	0	3
Malvidin-3-glukosid	1	24
Rutin	0	9
Kvercetin	0	8
Myricetin	0	9
Kyselina kávová	2,8	7,1
Resveratrol	0	1,5

Fenoly jsou během výroby vína náchylné k enzymatické i neenzymatické oxidaci. Tyto oxidativní procesy mohou vést k hnědnutí vína, které nepříznivě ovlivňuje jeho sensorické vlastnosti a výživovou hodnotu. Aby se zabránilo těmto procesům, přidává se do vína oxid siřičitý. Velká část SO₂ je vázána karbonylové sloučeniny (např. acetaldehyd) (Abramovic, Kosmerl et al. 2015).



Obrázek 1. Struktura fenolů

3.1.4.1 Fenolové kyseliny a jejich hydroxylové deriváty

Jsou dvě skupiny fenolových kyselin: hydroxylové deriváty kyseliny benzoové a deriváty kyseliny skořicové (Michlovský 2014). Jejich koncentrace jsou v řádu

100-200 mg.l⁻¹ v červeném víně a 10-20 mg.l⁻¹ v bílém víně (Ribâereau-Gayon, Dubourdiou et al. 2006).



Obrázek 2. Fenolické kyseliny a jejich deriváty (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

Tabulka 2. Fenolické kyseliny a jejich deriváty (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

Deriváty kys. benzoové	R2	R3	R4	R5	Deriváty kys. skořicové
kys. p-hydroxibenzoová	H	H	OH	H	kys. p-kumarová
kys. protokatechová	H	OH	OH	H	kys. kávová
kys. Vanilová	H	OCH3	OH	H	kys. ferulová
kys. Gallová	H	OH	OH	OH	
kys. Syringová	H	OCH3	OH	OCH3	kys. sinapová
kys. Salicylová	OH	H	H	H	
kys. Gentisová	OH	H	H	OH	

Deriváty kyseliny benzoové

Jedná se o menší složku, zejména u mladších vín. Kyselina gallová je stabilní během zrání vína a je velice snadno viditelná chromatografickou analýzou u starších červených vín. Průměrný obsah derivátu kyseliny benzoové: 70 mg.l⁻¹ v červeném víně a 10 mg.l⁻¹ u vín bílých (Waterhouse 2002).

Deriváty kyseliny skořicové

Hlavní fenolické látky v hroznových moštích a bílých vínech. Tyto látky jsou také první, které mohou být oxidovány a následně způsobovat hnědnutí vína. Nejčastější deriváty kyseliny skořicové v hroznech a víně jsou: kyselina kumarová, kyselina kávová, kyselina ferulová. Obsah hydroxylových derivátů kyseliny skořicové obvykle jsou: 130 mg.l⁻¹ u bílých vín a 60 mg.l⁻¹ u vín červených (Waterhouse 2002).

3.1.4.2 *Flavonoidy*

Skládají se ze středového skeletu se sumárním vzorcem C₆-C₃-C₆. Tato výchozí struktura se nazývá fenylbenzopyran, neboli flavan. Ve většině případů jsou flavanoidy vázány s jednou nebo více molekulami glukózy do glykosidů. Přítomnost těchto molekul glukózy dává větší rozpustnost flavonoidů ve vodně-alkoholickém prostředí, což je víno. (Michlovský 2014).

Flavonoidy běžně představují > 85 % celkového obsahu fenolických látek ($\geq 1 \text{ g.l}^{-1}$) v červených vínech. U bílých vín zastupují < 20 % z celkového obsahu fenolických látek ($\leq 50 \text{ mg.l}^{-1}$) (Stratil, Kuban et al. 2008).

Nejrozšířenějšími flavonoidy jsou flavonoly, což jsou žluté barvivo ve slupce jak bílých tak červených hroznů. Méně běžné jsou potom flavanonoly, které jsou mnohem světlejší barvy. Jejich obsah je cca 100 mg.l^{-1} v červeném víně a $1\text{-}3 \text{ mg.l}^{-1}$ ve víně bílém (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).

3.1.4.3 *Anthokyaniny*

Anthokyaniny jsou červené pigmenty obsažené převážně ve slupce, méně často v dužnině (odrůdy „barvíčky“) bobulí révy vinné. Jsou též přítomny ve velkém množství v listech révy vinné, především na konci vegetačního období.

Základem jejich struktury je tzv. flavyliový kation, složený ze dvou benzenových jader, která jsou spojena nenasyceným kationickým oxygenovaným heterocyklem. Flavyliový kation je derivátem 2-fenyl-benzopyryliového jádra. V závislosti na výskytu substituentů (OH a OCH₃) na bočním benzenovém jádře bylo identifikováno pět různých molekul anthokyanidinů (aglykonů) v hroznech a vínech.

Tyto molekuly jsou daleko více stabilní jako glykosidy (zvané anthokyaniny) než jako aglykony bez cukerného zbytku (zvané anthokyanidiny). V hroznech a víně *Vitis vinifera* byly identifikovány pouze monoglukosidy anthokyaninů, které mohou být acylovány kyselinou p-kumarovou, kávovou nebo octovou (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).

Barva těchto pigmentů je závislá na vlastnostech média (pH, SO₂), jejich molekulární struktuře a vnějším prostředí. Substituce na bočním cyklu vede k posunu maximálně absorbované vlnové délky směrem k fialové, na druhou stranu fixace

glukózy a acylace vede k posunu barvy opačným směrem, tj. k oranžové. Tyto molekuly se nachází především v buňkách slupky bobule, přičemž se jejich koncentrace zvyšuje z vnitřní části směrem k vnější části hroznu (Amrani-Joutei, 1993). Molekuly anthokyaninů ve vakuolách buněk doprovází další fenolické látky (fenolické kyseliny, flavonoidy), které mohou ovlivnit jejich barvu. Probíhající kopigmentace dává obecně vínům fialový nádech.

Ethanol ve vínech působí proti kopigmentaci. Acylované anthokyaniny tak nejsou přítomné již po několika měsících po fermentaci. Ve vínech pak zůstává pět monoglukosidů (především monoglukosid malvidinu). Jejich koncentrace se značně liší v závislosti na stáří vín a odrudách révy vinné. Bezprostředně po fermentaci je jejich koncentrace 100 – 1500 mg/l, v prvních několika letech, během sudového a lahvového zrání, jejich koncentrace rapidně klesá na konečné hodnoty 0 – 50 mg/l. Většina těchto pigmentů se totiž ve víně kombinuje a kondenzuje s taniny a vytváří tak novou, více stabilní, kategorii barevných molekul. Tyto komplexy anthokyaninů a taninů jsou odpovědné za barvu červených vín. Jiná relativně malá část anthokyaninů se buď rozloží působením vnějších faktorů (teplota, světlo, kyslík) nebo se vysráží do větších koloidních barviv. Ztráta těchto pigmentů je zvláště škodlivá pro kvalitu vína, vede totiž ke ztrátě barvy (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).

3.1.4.4 Taniny

Taniny neboli třísloviny jsou látky, které vytváří stabilní kombinace s proteiny a dalšími rostlinnými polymery, např. polysacharidy. Tato reakce taninů s proteiny probíhá při čiření vín přípravky na bázi proteinů nebo při inhibici enzymů pomocí taninů. Trpkou, nebo také svíravou chuť taninů lze vysvětlit jejich reakcí s glykoproteiny a PRP proteiny (proteiny s vysokým podílem prolinu, které se nachází ve slinách).

Z chemického hlediska jsou taniny poměrně rozměrné sloučeniny vznikající polymerizací základních fenolických molekul. Jejich konfigurace má vliv na reaktivitu taninů, které musí být dostatečně rozměrné, aby produkovaly stabilní komplexy s proteiny. Pokud jsou ale příliš velké, tak nejsou schopny se dostat dostatečně blízko k aktivním místům proteinů a výše zmíněné stabilní komplexy nevznikají. Relativní molekulová hmotnost aktivních taninů se pohybuje zhruba v rozmezí 600 – 3500 (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).

Kondenzované (nehydrolyzovatelné) taniny ve vínech a hroznech jsou více či méně komplexní polymery flavan-3-olů (flavanolů) neboli katechinů. Primárními strukturálními jednotkami jsou (+)-katechin a (–)-epikatechin.

Analýza taninů je vzhledem k jejich velké strukturální rozmanitosti velmi složitá. Rozmanitost taninů plyne z velkého počtu hydroxylových skupin, jejich pozice na benzenových jádrech, stereochemie asymetrických atomů uhlíku pyranového cyklu a také z počtu a typu vazeb mezi základními jednotkami. I přes pokrok dosažený v kapalinové chromatografii a hmotnostní a NMR spektrometrii nebyly všechny struktury taninů dostatečně prozkoumány. Jen prokyanidinové dimery a některé trimery byly plně popsány.

Tato různorodost vysvětluje existenci taninů s různými vlastnostmi, především pokud jde o jejich chuť v různých typech hroznů a vín. V tomto směru nelze považovat jako jediný faktor množství přítomných taninů, protože jejich struktura a koloidní stav také velmi ovlivňují výsledný chuťový projev (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).

Je možné frakcionovat a izolovat následující složky hroznů a vína: (+)-katechin, gallokatechin, (–)-epikatechin, epigallokatechin a epikatechin-3-O-gallát. Dále jsou přítomny také dimerní, trimerní, oligomerní a kondenzované prokyanidiny (Burger et al., 1990; Kondo et al., 2000). Primární strukturální jednotky (katechiny a epikatechiny) nelze považovat za taniny, jejich relativní molekulová hmotnost je totiž příliš nízká a jejich vzájemné působení s proteiny je jen velmi omezené. Dostatečně vysokou molekulovou hmotnost mají až dimery, které se stabilně váží s proteiny

Dimerní prokyanidiny mohou být rozděleny do dvou kategorií a jednotlivé prokyanidiny jsou pak označeny písmenem kategorie a číslem.

Prokyanidiny typu B jsou dimery vzniklé kondenzací dvou jednotek flavan-3-olů, které jsou spojeny vazbou C4 – C8 (B1 až B4) nebo C4 – C6 (B5 až B8). Vzhledem k tomu, že existuje pět různých druhů monomerů a dva druhy vazeb mezi nimi, může se ve víně vyskytovat až 50 (2 x 52) rozdílných dimerů této kategorie (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).

3.1.4.5 Stilbeny

Stilbeny jsou menší skupina fenolických látek v hroznech a vínech. Mají dva benzenové cykly, obecně vázané pomocí etanu, nebo také etylenu. Hlavní stilben je resveratrol, který vzniká reakcí révy vinné s houbovými útoky. Nejvíce resveratrolu se nachází v červených vínech. Celkové průměrné množství se pohybuje: červená vína 7 mg.l^{-1} , růžová vína 2 mg.l^{-1} a bílá vína $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Resveratrol může ze zdravotního hlediska snižovat možnost srdečního onemocnění a rakoviny, právě kvůli jeho antioxidačním vlastnostem (Waterhouse 2002) (Garcia-Guzman, Hernandez-Artiga et al. 2015) (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006).

3.1.5 Vitamíny

V moštu a víně najdeme pouze vitamíny rozpustné ve vodě: B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, a B12, vitamín C (kyselina askorbová) a vitamín P (flavonoidy).

Kyselina askorbová oxiduje rychleji, když je v kontaktu s kyslíkem a téměř celá zmizí po extrakci moštu. Ve vinařství je používána jako antioxidant a její hodnoty jsou regulovány (Moreno and Peinado 2012).

Jako antioxidant chrání víno (reaguje s molekulárním kyslíkem). Oxidací kyseliny askorbové vznikne kyselina dehydroaskorbová a peroxid vodíku. Při použití kyseliny askorbové použít i oxid siřičitý, jelikož kyselina askorbová nemá antimikrobiální vlastnosti. Mimo hraje oxid siřičitý důležitou roli pro zajištění efektivního zachycení peroxidu vodíku. Vede také k poklesu volného a tím pádem i celkového oxidu siřičitého (Barril, Clark et al. 2012).

3.2 Oxid siřičitý

Oxid siřičitý se přirozeně vyskytuje ve vínech při nízkých koncentracích (Garcia-Guzman, Hernandez-Artiga et al. 2015). Běžně mezi $12 - 64 \text{ mg.l}^{-1}$ jako výsledek metabolismu kvasinek. Hlavní faktory ovlivňující biosyntézu oxidu siřičitého jsou: kmen kvasinek, teplota kvašení a obsah síry v hroznech (Jackson 2008).

Hlavní složky ve víně, které dokáží vázat oxid siřičitý, jsou acetaldehyd, pyruvát a α -ketoglutarát (Lea, Ford et al. 2000). Díky své antioxidační vlastnosti může působit proti neenzymatické a enzymatické oxidaci. I když je oxid siřičitý používán jako konzervační prostředek do vína, je jeho použití přísně kontrolováno, jelikož může

ohrožit lidské zdraví. Vysoké dávky mohou způsobit organoleptické změny v konečném víně. V poslední době, je věnována pozornost k využití některých látek hroznů a vína (fenolové sloučeniny), jako alternativa k oxidu siřičitému (Garaguso and Nardini 2015).

Bylo prokázáno, že oxid siřičitý nereaguje přímo s kyslíkem, jak se dříve myslelo. Ale je schopen v přítomnosti kovových iontů zachytávat peroxid vodíku a chinony, které vznikly při oxidaci polyfenolů (Comuzzo, Battistutta et al. 2015).

3.2.1 Historie

Poprvé byl oxid siřičitý použit ve vinařství, když Římané zjistili, že pokud zapálí svíčky ze síry uvnitř prázdné nádoby na víno, tak jsou sudy lépe chráněny a nezískají zápach po octu (Henderson and Vineyards 2009). Také staří Egypťané a Řekové jej používali jako fumigant.

První zřejmý důkaz použití oxidu siřičitého při výrobě vína pochází ze zprávy zveřejněné v Rotenburgu v Německu v roce 1487. Tato publikace doporučuje, aby se tři dřevěné dlahy pokryté práškovou sírou (smíchanou s kořenem violy a kadidlem) zapálily v sudech a utěsnily. Aby se vyvarovalo zkažení vína.

První anglická zmínka o použití síry ve vinařství byla publikována Dr. Bealem (Evelyn, 1664). Síru zabalily do látky, vložily do nádoby a zapálily pomocí drátu. Když byla nádoba plná kouře, rychle nalily tekutinu.

I když náhodné přidávání oxidu siřičitého do vína má dlouhou historii, úmyslná aplikace čistého oxidu siřičitého začala až na počátku dvacátého století (Jackson 2008).

3.2.2 Použití

Do vína je přidáván v podobě disiřičitanu draselného ($K_2S_2O_5$), siřičitanu draselného ($KHSO_3$), nebo jako plyn, který může být dávkován automaticky (Bakker and Clarke 2011). Slouží jako antimikrobiální činidlo a antioxidant. Je nezbytný pro zachování kvality a svěžesti vína. Dávka a termín přídatku oxidu siřičitého se odvíjí od typu vína (Henderson and Vineyards 2009). V dnešní době se snažíme o jeho omezení, či náhradu (Pateraki, Paramithiotis et al. 2014).

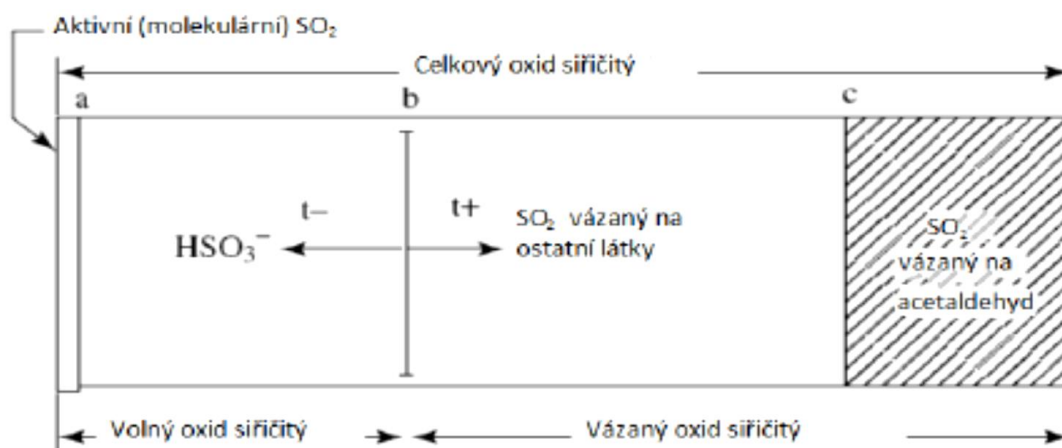
Oxid siřičitý působí silně antimikrobiálně a z toho důvodu je přidáván těsně před fermentací. Potlačí růst apikulárních kvasinek a bakterií. Především mléčných

a octových bakterií. Kmen kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* nejsou příliš citlivé na oxid siřičitý, dokonce ho produkují.

Dále snižuje hnědnutí fenolických sloučenin. Enzym lakázy, který pochází z *Botrytis cinerea* způsobuje také hnědnutí fenolických složek a jeho aktivita může být snížena přidávkou SO_2 . V neposlední řadě působí jako antioxidant, který potlačuje chemickou oxidaci fenolických složek, čímž účinně snižuje hnědnutí vína. Vína mají svěžejší chuť a díky reakci s acetaldehydem chrání odrůdové aroma (Bakker and Clarke 2011).

3.2.3 Formy

Oxid siřičitý se dělí na volný a vázaný oxid siřičitý, pokud tyto dvě hodnoty sečteme, získáme veškerý neboli celkový SO_2 . Vázaný SO_2 se váže na různé produkty kvašení (acetaldehyd, kyselina ketoglutarová, kyselina pyrohroznová aj.) A po navázání na tyto produkty již nepůsobí antimikrobiálně a nezabraňuje oxidaci. Obsah celkového SO_2 je důležitý pro člověka, proto nesmí víno, které je uvedeno do oběhu přesáhnout zákonem dané hodnoty (Jackowetz and de Orduna 2012, Jackowetz and de Orduna 2013).



Obrázek 3. Formy SO_2 ve víně (Ribâereau-Gayon, Dubourdiou et al. 2006)

3.2.3.1 Aktivní SO₂

Volnému SO₂ se připisuje většina účinků oxidu siřičitého. Podstata jeho účinnosti, především proti mikroorganismům, jak se později podařilo zjistit je spojena s „molekulární neboli aktivní formou SO₂“ (Ribéreau-Gayon, Glories et al. 2006).

Aktivita volného SO₂ se zvyšuje s nárůstem podílu alkoholu ve víně, ale rozdíly jsou nepatrné (řádově o 0,1 % aktivního SO₂ v případě prostředí vína). Aktivita volného SO₂ také rychle stoupá zároveň s teplotou. Při nárůstu teploty z 20 °C na 40 °C je aktivita až čtyřikrát vyšší.

Největší vliv na aktivitu SO₂ má především klesající pH tudíž rostoucí kyselé prostředí. Výsledky popisuje tabulka č. 3.

Tabulka 3. Nárůst aktivního SO₂ (Ribéreau-Gayon, Dubourdiou et al. 2006)

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

3.2.3.2 Volný SO₂

Jde o ion kyselého siřičitanu (HSO₃⁻). Antiseptické vlastnosti volného SO₂ proti kvasinkám nebo bakteriím jsou různé vzhledem k hodnotě pH. To znamená, že při stejné hodnotě volného SO₂; čím je víno kyslejší, tím je nepříjemný pach a chuť SO₂ větší.

Podíl volného SO₂ ve víně není tolik závislý na pH. Avšak určuje přebytek oxidu siřičitého, který se nevázal se složkami vína za vzniku vázaného SO₂. Molekulární SO₂ je přínos díky jeho aktivitě vůči mikroorganismům ve víně, avšak volný SO₂ je přínosem především svou antioxidační kapacitou. Jeho největší výhodou je jeho schopnost vázání se s acetaldehydem a neutralizovat jeho oxidativní zápach. Volný SO₂ má také schopnost se vázat s barevnými látkami a tím může snižovat barevnost vína. U bílých vín jde zejména o zamezení žloutnutí a u červených o zamezení poklesu barvy. Volný a molekulární SO₂ se musí hodnotit zvlášť. A to z důvodu, že vína

s nižším pH mají hodnoty molekulárního SO₂ dostačující na zničení a inhibici kvasinek a bakterií, ale volný SO₂ je na nízké hranici, aby dostatečně chránil víno před oxidací. Dávku SO₂ proto musíme přizpůsobit podle množství volného SO₂ ve víně.

Volný a molekulární SO₂ je třeba hodnotit zároveň ve vztahu k mikrobiologické stabilitě a ke kapacitě absorbovatelného kyslíku. Množství volného SO₂ musí být regulováno na základě ochrany vína proti oxidaci (Barril, Clark et al. 2012). Ale množství molekulárního SO₂ se reguluje podle mikroorganismů a také podle chuťových vlastností vína. Už 1 mg.l⁻¹ molekulárního SO₂ způsobuje štípání v nose. Regulovat odděleně molekulární SO₂ a volný SO₂ však není možné. Pokud se zvýší množství volného oxidu siřičitého kvůli jeho antioxidační schopnosti, zvýší se i množství molekulárního SO₂ a jeho agresivita v sensorickém vnímání (Grant-Preece, Fang et al. 2013).

3.2.3.3 Vázaný SO₂

Vázaný oxid siřičitý je součtem všech siřičitanů, které jsou navázány na sloučeniny vína. Žádná z těchto sloučenin není sensoricky rozpoznatelná při degustaci. Důležitá je zde především denní dávka, při které ještě nedochází ke zdravotním komplikacím (Ishiwata, Nishijima et al. 2003). Je označována jako ADI a počítá se dle veškerého SO₂ ve víně, jehož většina je vázána (Corte, Roscini et al. 2012). Vázaný SO₂ má technologicky malý význam. Nepůsobí ani na kvasinky, ani antioxidačně a jeho vliv na mléčné bakterie je malý. Na inhibici mléčných bakterií je potřeba cca 10x více vázaného SO₂, než volného SO₂.

Vázaný oxid siřičitý je takzvaná „paměť“ vývoje vína“, podle které můžeme zjistit kvalitu hroznů a enologické práce (Saidane, Barbe et al. 2013). Množství vázaného a volného SO₂ je přímo úměrné technologickým postupům při výrobě vína. Čím menší je hodnota veškerého SO₂, tím je přístup vinaře k hroznům a vínu šetrnější.

Tabulka 4. Vlastnosti různých forem oxidu siřičitého využívané pro uchovávání vín (Ribâereau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006)

Vlastnosti	SO ₂	HSO ₃ ⁻	R-SO ₃ ⁻
Proti kvasinkám	+	Slabá	0
Proti bakteriím	+	Slabá	Slabá
Antioxidační	+	+	0
Chuťové zlepšení	+	+	0
Neutralizuje acetaldehyd	+	+	+
Senzorická odezva	Štiplavý zápach, štiplavá chuť	Bez pachu, chuť slaná, hořká	Bez pachu, v normálních dávkách bez chuti

3.2.3.4 Sloučeniny vázající SO₂

Rozdíl mezi volným a vázaným SO₂ je znám již více než 100 let. Nejprve byl rozdíl připisován slučováním oxidu siřičitého s cukry, acetaldehydem a s dalšími látkami. Celý tento proces vzniku vazeb oxidu siřičitého a dalších substancí je však stále málo prozkoumán (Saidane, Barbe et al. 2013).

Vazby s karbonylovými sloučeninami jsou jedny z nejdůležitějších vazeb SO₂ ve víně. Jedná se o látky, které mají jednu nebo více aldehydových a ketonových funkcí. Je dokázáno, že nejvíce reaktivní formou oxidu siřičitého je HSO₃⁻ (molekulární SO₂) (Jackowetz and Mira de Orduña 2013).

Tabulka 5. Sloučeniny vázající SO₂ (Ribièreau-Gayon, Dubourdieu et al. 2006)

Sloučeniny, které vytvářejí vazby SO ₂ v mošttech a ve víně	
Hrozny postižené hnilobou	Jiné sloučeniny vázající SO ₂ , úplně jiná balance SO ₂
Mošt ze zdravých hroznů	Kyselina pyrohroznová, kyselina oxoglutarová a glukóza
Bílá vína	Acetaldehyd, kyselina pyrohroznová a kyselina oxoglutarová
Červená vína	Antokyany a další fenolové sloučeniny

Acetaldehyd

Největší část vázaného SO₂ ve víně je na acetaldehyd. Obsah acetaldehydu ve víně se pohybuje v hodnotách mezi 30 až 130 mg.l⁻¹, což odpovídá vázanému SO₂ v hodnotách 44–190 mg/l.

Vazba acetaldehydu má velmi rychlý průběh. Například při pH 3,3 se během 90 minut naváže až 98 % SO₂ na acetaldehyd. Za cca dalších pět hodin je vázání ukončeno.

Acetaldehyd ve víně vzniká při produkci etanolu z cukrů při alkoholové fermentaci. Nejvyšší hodnoty se vyskytují za přítomnosti volného SO₂ a aktivní kvasinky. Ve víně vzniká více acetaldehydu při zdlouhavé fermentaci a při nedostatku tiaminu (Bartra, Casado et al. 2010, Jackowetz and Mira de Orduña 2013).

Kvasinky totiž vytváří acetaldehyd jako ochranu právě proti volnému SO₂. Z tohoto důvodu určuje podíl acetaldehydu síření rmutu a tím i o podílu vázaného SO₂ ve víně.

Pokud chceme produkovat vína s nízkým obsahem vázaného a také celkového SO₂, je doporučováno snížit přidávání SO₂ do kvasícího a dokvášejícího moštu. V tomto případě je SO₂ ihned vázán a ztratí jakoukoliv účinnost. Důkazem toho jsou mnohé pokusy, které vykazují vyšší kapacitu vázání při zasiření moštů (asi o 40 mg/l) oproti nezasířeným moštům (Ribièreau-Gayon, Glories et al. 2006).

Ketokyseliny

Ve víně jsou dvě hlavní ketokyseliny: kyselina pyrohroznová a kyselina 2-oxoglutarová. Jde o sekundární produkty alkoholové fermentace. Tyto kyseliny zastávají významnou roli v podílu kombinací s SO₂ (Sonni, Clark et al. 2011).

Vznik těchto kyselin je již na začátku fermentace. Rychlost jejich vzniku je nejvyšší na počátku fermentace a postupně klesá. Díky tomuto mechanismu můžeme objasnit vysoký obsah ketokyselin ve sladkých vínech. Vyšší teplota fermentace a hodnota pH napomáhají lepšímu hromadění ketokyselin a tím i vyšší hodnotě vázaného SO₂ (Wells and Osborne 2012).

Cukry a deriváty cukrů

Molekuly cukrů, které dokáží vázat SO₂ existují aldehydicke funkce a ketofunkce. Cukr, který dokáže v menší míře vázat SO₂ je glukóza (1 g glukózy váže cca 0,3 mg.l⁻¹ SO₂). V mošttech a likérových vínech je ve větším množství, proto tato vazba ovlivňuje pokles koncentrace volného SO₂ (Ribéreau-Gayon, Glories et al. 2006).

Podstatnou sloučeninou je keto-5-fruktóza (5-oxofruktóza). Vyskytuje se v řádech stovek mg.l⁻¹ především v mošttech z botrytických hroznů. Její koncentrace vzrůstá se zvyšující se schopností vázat SO₂ (Comitini and Ciani 2007).

Dikarboxylové molekuly

Již z názvu je patrné, že se jedná o látky, které mají dvě karboxylové skupiny. Vyskytují se v mošttech, které jsou vyrobeny z hroznů zasáhnutých hnilobou. Tvoří se především v důsledku rozvoje *Botrytis cinerea*. Zejména glyoxal a methylglyoxal. Jejich koncentrace nepřesahuje 3 mg.l⁻¹. Jejich koncentrace rychle klesá při alkoholové fermentaci, proto mají při vázání SO₂ jen zanedbatelnou roli (Saidane, Barbe et al. 2013).

Jiné vazby

Existují i další látky se schopností vázat ve víně oxid siřičitý. Ty ovšem nemají velký vliv na vázání SO₂, jelikož jejich koncentrace jsou velmi malé. Jsou to tyto látky: kyselina gluonová, kyselina glyoxylová, kyselina galakturonová, kyselina oxalátová, glykoaldehyd, acetoin, diacetyl (Jackowetz and de Orduna 2012).

3.2.3.5 Endogenní SO₂

Jedná se o formu SO₂, která je ve vínech přítomnost bez síření. Vzniká enzymatickou činností kvasinky. Kvasinka přetvoří málo se vyskytující elementární síru na sírné aminokyseliny (cystein, cystin, metionin, glutation) a jejich deriváty – sírany. Hodnota endogenního SO₂ se pohybuje od několika mg.l⁻¹ až po 40 mg.l⁻¹.

Tvorba této formy SO₂ závisí na použitém kmenu kvasinek. Vyšší tvorba je u kvasinek citlivých na oxid siřičitý. Ale existují také uměle vyselektované kvasinky, které mají vyšší odolnost vůči SO₂ (Ribéreau-Gayon, Glories et al. 2006, Bizaj, Cordente et al. 2012).

3.2.4 Předpisy pro použití SO₂

Maximální hodnoty oxidu siřičitého pro celou EU určuje nařízení Komise (ES) č. 606/2009. Stanovuje se v nich pouze hodnota celkového SO₂.

Tabulka 6. Limity celkového oxidu siřičitého podle typu vín v ČR (podle nařízení č. 606/2009) (Michlovský 2012)

Červené víno	150 mg.l ⁻¹
Bílé a růžové víno	200 mg.l ⁻¹
Červené víno od 5 g.l ⁻¹ zbytkového cukru	200 mg.l ⁻¹
Bílé a růžové víno od 5 g.l ⁻¹ zbytkového cukru	250 mg.l ⁻¹
Pozdní sběr	300 mg.l ⁻¹
Výběr z hroznů	350 mg.l ⁻¹
Výběr z bobulí, výběr z cibéb, ledové a slámové víno	400 mg.l ⁻¹
Likérové víno s obsahem zbytkového cukru do 5 g.l ⁻¹	150 mg.l ⁻¹
Likérové víno s obsahem zbytkového cukru od 5 g.l ⁻¹	200 mg.l ⁻¹
Šumivé víno jakostní	185 mg.l ⁻¹
Šumivé víno ostatní	235 mg.l ⁻¹

Obsah oxidu siřičitého od hodnoty 10 mg.l⁻¹ musí být v členských státech uveden na etiketě podle nařízení Komise (ES) č. 607/2009 (Michlovský 2012).



Obrázek 4. Piktogram o obsahu alergenu (Michlovský 2012)

V roce 2012 bylo přijato nařízení Komise (EU) č. 203/2012, které určuje enologická pravidla pro biovína. Jeho součástí jsou i limity pro oxid siřičitý, jako konzervační přípravek vína (Michlovský 2012).

Tabulka 7. Limity celkového oxidu siřičitého v biovinech v ČR (podle nařízení č.203/2012) (Michlovský 2012)

Červené biovíno do 2 g.l ⁻¹ zbytkového cukru	100 mg.l ⁻¹
Bílé a růžové biovíno do 2 g.l ⁻¹ zbytkového cukru	150 mg.l ⁻¹
Červené biovíno od 2 g.l ⁻¹ zbytkového cukru	170 mg.l ⁻¹
Bílé a růžové biovíno od 2 g.l ⁻¹ zbytkového cukru	220 mg.l ⁻¹
Pozdní sběr	270 mg.l ⁻¹
Výběr z hroznů	320 mg.l ⁻¹
Výběr z bobulí, výběr z cibéb, ledové a slámové biovíno	370 mg.l ⁻¹
Likérové biovíno s obsahem zbytkového cukru do 5 g.l ⁻¹	120 mg.l ⁻¹
Likérové biovíno s obsahem zbytkového cukru od 5 g.l ⁻¹	170 mg.l ⁻¹
Šumivé biovíno jakostní	155 mg.l ⁻¹
Šumivé biovíno ostatní	205 mg.l ⁻¹

3.2.5 Stanovení oxidu siřičitého titrací odměrným roztokem jódu

Jde o nejpoužívanější metodu pro stanovení oxidu siřičitého ve víně. Dnes ji využívají jak velké podniky, tak také menší soukromníci. Jodometrie je založena na redukci jódu na jodid v neutrálním prostředí.

(Balík 2004) tvrdí, že „odměřený roztok jódu oxiduje přímo volný oxid siřičitý obsažený ve víně, případně po uvolnění oxidu siřičitého z vazeb s karbonylovými sloučeninami v alkalickém prostředí současně i vázaný oxid siřičitý vína.

3.3 Antioxidační kapacita

Antioxidanty jsou důležitou složkou ovoce a zeleniny. Mohou vyhledávat reaktivní kyslík, což má za následek stabilizace potravin proti oxidačním změnám (Bertalanic, Kosmerl et al. 2012).

Oxidační stres se podílí na spoustě onemocnění (ateroskleróza, diabetes, neurodegenerativních onemocněních a rakovině). Právě antioxidanty nás mohou chránit proti těmto chorobám. Epidemiologické studie silně naznačují, že dlouhodobá spotřeba polyfenolů z potravin, nás může proti těmto chorobám chránit. Bylo zjištěno, že konzumace vína, může mít příznivý vliv na lidské zdraví, pokud ho konzumuje přiměřeně. Konzumace vína významně snižuje všechny příčiny zejména kardiovaskulárních úmrtí ve srovnání s abstinenty, nebo těmi, kteří pijí alkoholu více (Garaguso and Nardini 2015).

Siřičitany, především hydrogensiřičitan může reagovat přímo s peroxidem vodíku, čímž se snižuje tvorba kyslíkových radikálů a zvyšuje se antioxidační potenciál. Stejně tak siřičitany a thioly mohou reagovat s chinony, které ve skutečnosti snižují hnědnutí vín, stejně jako antioxidační kapacitu (Zuniga, Perez-Roa et al. 2014).

3.3.1 Antioxidanty ve víně

Přítomnost přirozených antioxidantů ve víně na dostatečné úrovni může výrazně snížit potřebu aditiv jako je kyselina askorbová nebo oxid siřičitý (Stratil, Kuban et al. 2008). Červená vína mají vysokou antioxidační kapacitu, která je o několik řádů vyšší než u bílých vín a přímo souvisí s fenolickými složkami (Dreosti 2000).

3.4 Metody stanovení antioxidační kapacity (TAC)

3.4.1 Metoda FRAP

Byla vyvinuta v roce 1996 na měření redukční schopnosti plazmy. Principem této metody je přenos elektronu z antioxidantu na železitou sloučeninu (2,4,6-tripiridil-s-trianzin). Při tomto procesu se trojmocný ion železa redukuje na dvojmocný, který je barevný a jeho koncentrace je měřena spektrofotometricky při vlnové délce 593 nm

(Benzie and Strain 1996). Elektrický potenciál potřebný k přenosu elektronu je minimálně 0,7 V. Metoda je jednoduchá, rychlá a levná. Není potřeba žádné speciální vybavení. Velkou nevýhodou je nejednotnost při kinetické reakci. Některé sloučeniny zreagují do čtyř minut, jiné tvoří barevný komplex až po třiceti minutách a později (kvercetin, taniny).

Důležitou charakteristikou metody je také, že jde hlavně o redukční schopnost sledovaného vzorku. Proto nejsou některé antioxidanty touto metodou detekovatelné (ty co inaktivují radikály H-transferem.) Také sloučeniny, jako siřičitany, vykazují redukční schopnosti, i když jejich konzumace nemá pozitivní účinky na organismus.

Vysoké hodnoty naměřené metodou FRAP mohou poukazovat na schopnost látek stát se prooxidanty a být tak za určitých podmínek propagátory radikálových reakcí (Cao, Sofic et al. 1997).

3.4.2 Metoda DPPH

Tato metoda byla vyvinuta v roce 1995 (Bondet, Brand-Williams et al. 1997). V metodě se využívá schopnost chemikálie 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu existovat jako radikál a reagovat s vodíkovými donory. Stabilita tohoto dusíkatého radikálu je vysoká a je komerčně velice dobře dostupný.

Radikál má fialové zbarvení a míra poklesu zbarvení je úměrná množství inaktivovaného radikálu antioxidanty. Pokles absorbance je měřený na spektrofotometru při vlnové délce 515 nm. Doba reakce je velmi různá od několika minut až po několik hodin (Bondet, Brand-Williams et al. 1997). Při této metodě je možné změřit několik parametrů. Statická metoda měří jen pokles množství DPPH. V dynamické metodě se měří rychlost startovní reakce rozkladu DPPH (Da Porto, Calligaris et al. 2000). V dynamické metodě byly zavedeny nové sledované parametry jako antioxidační výkonnost a antiradikálová výkonnost (Jimenez-Escrig, Jimenez-Jimenez et al. 2000). Tyto hodnoty jsou však velmi ovlivněny nepatrným množstvím kyselin či zásad ze vzorku (Foti, Daquino et al. 2004).

vliv na zdraví konzumenta. K dalším látkám patří sacharidy, organické kyseliny, aromatické aminy, měďnaté a železité ionty (Box 1983).

4 MATERIÁL A METODY

Pro praktickou část mé diplomové práce jsem zvolil dvě vína, jedno bílé odrůdy „Rulandské bílé“ a druhé červené odrůdy „Svatovavřínecké“. Obě vína měly objem 5 litrů. Vína byly rozděleny na 15 vzorků, každý vzorek o objemu 330 ml.

Po rozdělení vín byl do vín aplikován přídavek oxidu siřičitého v podobě disiřičitanu draselného v množství 0, 25, 50, 75 a 100 mg.l⁻¹ SO₂. Poté byly vína uzavřeny korunkovým uzávěrem a uchovány 3 dny v chladu a temnu.

Po uplynutí této doby byly ve vínech změřen obsah fenolických látek metodou Folin-Ciocalteu (FC) a antioxidační kapacita metodou FRAP a DPPH.

4.1 Popis sledovaných odrůd

4.1.1 Rulandské bílé

Synonyma: Pinot blanc, Gentil blanc, Burgunder weiss, Weissburgunder, Rulander weiss, Pinot bianco, Clevner, Klevner, Pineau blanc, Pino belyj, Morillon blanc, Feherburgundi, Borgognino, Fehér Klevner, Biela Klevanjka, Roučí bílé, Burgundské bílé

Původ odrůdy: Tato odrůda vznikla nejspíše jako pupenová mutace z *Rulandského šedého* ve Francii. Povolena je od roku 1941.

Charakteristika: Má středně velký list, okrouhlý nebo čtvercový, mírně pětilaločnatý. Povrch čepele je mírně bublinatý a matný. Řapíkový výkrojek má tvar V, otevřený. Řapík je narůžovělý a krátký.

Hrozen: Malý až středně velký, válcovitý a hustý. Průměrná hmotnost hroznu je 105 g. Malá až středně malá bobule, která je kulatá a světle žlutozelená. Dužnina je velmi řídká, jemná a neutrální chuti.

Odrůda: Má středně bujný růst, dřevo vyzrává dobře. Středně pozdní rašení, ale kvetení je rané, odrůda dozrává začátkem října. Střední odolnost k houbovým chorobám, je citlivá především k plísní šedé. Středně vysoká plodnost 9 – 12 t.ha⁻¹, cukernatost v moštu je 16 – 22 °NM, obsah kyselin je vyšší 8 – 12 g.l⁻¹. Nejlepší jsou slunné polohy, záhřevné půdy, které jsou dostatečně vlhké. Snáší i vyšší obsah CaCO₃.

Vhodná je většina typů vedení, ale delší tažně. Doporučují se podnože „CR 2“, „K 5BB“, „SO 4“ a „T 5C“.

Víno: Má jemné aroma s typickou květnatou vůní. Je extraktivní s harmonickými kyselinami. Vůně může být i neutrální nebo mandlová, u vyzrálého vína dokonce chlebnatá. Mladá vína mívají někdy tvrdou kyselinu, zráním vína však jakost výrazně stoupá (Sotolář 2006).

4.1.2 Svatovavřinecké

Synonyma: St. Laurent, Lorenztraube, Sankt Lorenztraube, Pinot Saint Laurent, Lovrenac Crni, Szent Loerinc, Lovrijenac, Shentlovrenka, Schwarzer.

Původ odrůdy: Původ této odrůdy není přesně znám, ale usuzuje se, že pochází z Francie (obec St. Laurent). Některé zdroje uvádí jako její pravlast Alsasko, kde se pěstuje odnepaměti pod názvem „Schwarzer“. Také křížení není přesněji známo, ale předpokládá se, že jeden rodič by mohl být Rulandské modré. Povolena je od roku 1941.

Charakteristika: Má středně velký list, okrouhlý, kožovitý a vespod jemně ochlupený. Tří až pětilaločnatý, s mělkými až středně hlubokými horními výkroji. Bazální výkrojek je lyrovitý, úzce otevřený až mírně překrytý. Středně dlouhý načervenalý řapík

Hrozen: Je středně velký, hustý a kuželovitý. Průměrná hmotnost hroznu je 128 g. Má středně velkou, modročervenou, kulatou až oválnou bobuli. Dužnina je velmi řídká, až se rozplývá, plné chuti.

Odrůda: Má středně bujný růst. Raší i kvete raně, dozrává konce září až začátkem října. Nízká odolnost vůči padlí révovému a plísní šedé. Středně odolná vůči plísní révové a mrazu. Je ovšem citlivější na jarní mrazíky. Vcelku dobře snáší sucho. Pokud dojde k přehnojení dusíku má vyšší náchylnost ke sprchávání květenství. Cukernatost v moštu bývá je 17 – 20 °NM, obsah kyselin je 9 – 12 g.l⁻¹, plodnost je střední 9 – 12 t.ha⁻¹. Nemá velké nároky na stanoviště a půdy. Vyšší jakosti dosahuje na lehčích, záhřevných půdách. Vhodná pro většinu vedení, lepší jsou delší tažně. Doporučují se podnože „CR 2“, „K 5BB“, „SO 4“ a „T 5C“.

Vino: Je tmavě červené, harmonické a kvalitní. Má svěží ovocnou vůni a plnou chuť, která připomíná povidla až černý rybíz. Má vyšší obsah tříslovin, je vhodné i pro zrání v barikových sudech (Sotolář 2006).

4.2 Materiál

4.2.1 Přístroje a pomůcky

- a. spektrofotometr Helios beta - Unicam
- b. analytické váhy – KERN ABJ 320-4 - Kern
- c. elektromagnetická míchačka – IKA MS 3 digital - IKA
- d. běžné laboratorní sklo

4.2.2 Chemikálie a roztoky

- a. DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) - Sigma Aldrich
- b. FeCl_3 – Sigma Aldrich
- c. TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazin) – Sigma Aldrich
- d. HCl – Sigma Aldrich
- e. trolox – Merck
- f. deonizovaná voda ze zařízení Aqua osmotic
- g. disiřičitan draselný – Merck
- h. kyselina galová – gallic acid monohydrát 98%, Roth
- i. Folin-Ciocalteu
- j. dekahydrát uhličitanu sodného

4.3 Metody měření

4.3.1 Stanovení antioxidační kapacity metodou FRAP

Stanovení probíhá v prostřední octanového pufru s pH 3,6 (4ml koncentrované kyseliny octové s 0,775 g octanu sodného v 250 ml odměrné baňce). Připraví se směs $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0,081 g rozpustit v 25 ml vody) a komplexu TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazin) v HCl. Reakční směs vznikne smícháním roztoku $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, TPTZ a pufru v poměru 1:1:10. Při měření se do kyvety pipetují 2 ml reakční směsi a 25 μl naředěného vzorku. Poté se obsah kyvety míchá 10 sekund na třepačce. Absorbance se měří po 10 minutách od začátku reakce na spektrofotometru v 10 mm kyvetě při vlnové délce 593 nm. Jako standard se používá trolox. Koncentrace

základního roztoku troloxu je 0,5 mmol. Vzorky byly ředěny u bílého vína 5x a u červeného vína 50x.

4.3.2 Stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH

Do kyvety se pipetuje 1900 μl směsi radikálového roztoku DPPH v metanolu s koncentrací $0,1 \text{ mmol.l}^{-1}$ a 100 μl naředěného vzorku. Poté se obsah kyvety míchá 10 sekund na třepačce. Po 30 minutách od začátku reakce se měří absorbance na spektrofotometru v 10 mm kyvetě při vlnové délce 515 nm. Původně tmavě fialové zbarvení roztoku se odbarvuje. Dochází k poklesu absorbance. Jako standard se používá trolox. Koncentrace základního roztoku troloxu je 0,5 mmol. Vzorky byly ředěny u bílého vína 5x a u červeného vína 50x.

4.3.3 Stanovení celkového obsahu fenolů metodou Folin-Ciocalteu

K 980 μl vody v 1,5 ml eppendorfci, bylo přidáno 20 μl vzorku, 50 μl činidla Folin-Ciocalteu a směs byla pečlivě protřepána. Po uplynutí přesně 3 minut bylo přidáno 150 μl roztoku dekahydrátu uhličitanu sodného (20%), reakční směs byla důkladně protřepána. Poté byla změřena absorbance při 750 nm proti slepému vzorku, který byl připraven ke každé sérii stanovení, kdy vzorek byl nahrazen ředícím pufrem.

Koncentrace celkových fenolů byla vypočítána z kalibrační křivky za použití kyseliny gallové jako standartu. Vzorky byly ředěny u bílého vína 100x a u červeného vína 500x.

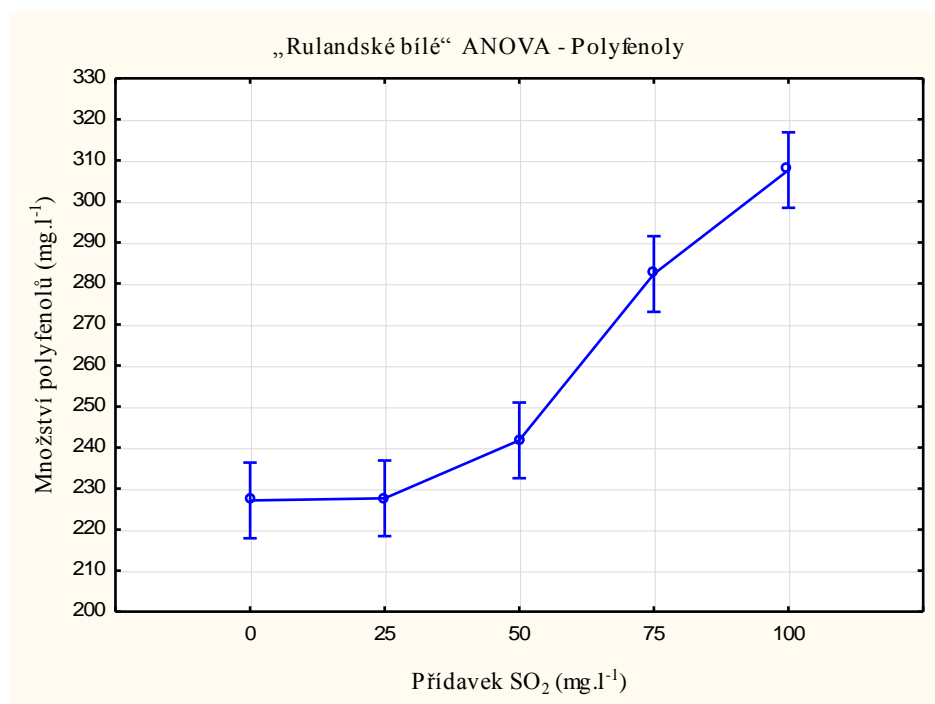
5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tabulka 8. Základní parametry vín

Odrůda	Alkohol (obj. %)	Titrovatelné kyseliny (g.l ⁻¹)	pH	Redukující cukry (g.l ⁻¹)
Rulandské bílé	13	8,4	3,07	5,66
Svatovavřínecké	13,46	8,62	3,01	0,52

Tabulka č. 8 udává základní naměřené parametry použitých vín

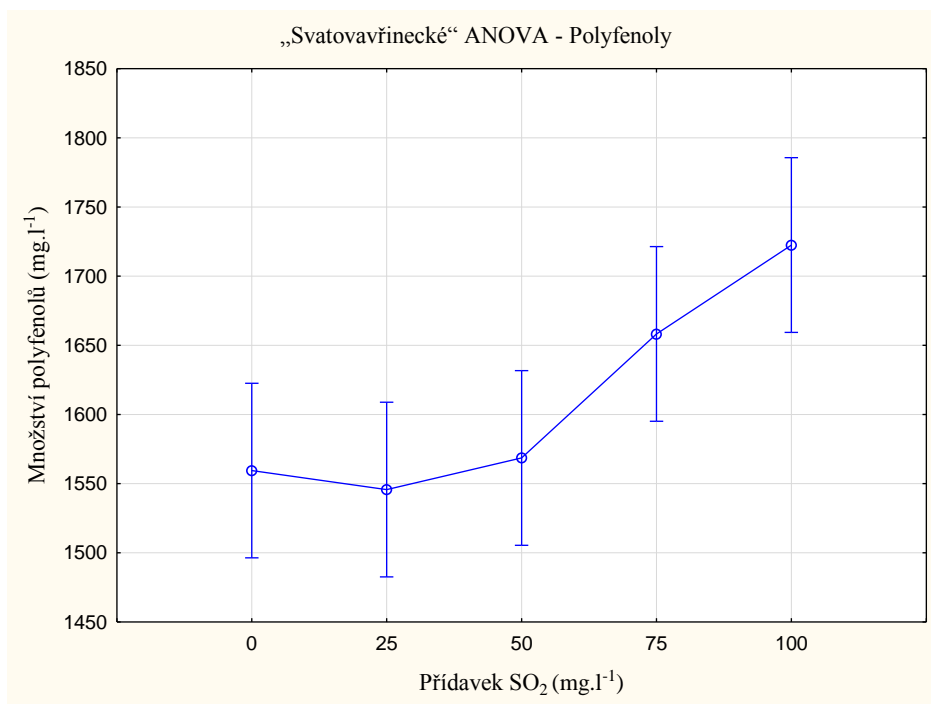
5.1 Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty polyfenolů



Graf 1. Vliv přídavku SO₂ do vína na naměřené hodnoty polyfenolů (mg kys. gallové.l⁻¹)

Z grafu č. 1 vyplývá, že nebyl zjištěn statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách polyfenolů mezi variantami s dávkou oxidu siřičitého 0, 25 a 50 mg.l⁻¹. Ale prokazatelný rozdíl byl zjištěn u variant s přídavkem oxidu siřičitého 75 a 100 mg.l⁻¹. Z těchto naměřených hodnot, lze zjistit, že nízké dávky SO₂ prokazatelně nezvyšují naměřené hodnoty. Při vyšších dávkách již je prokazatelný rozdíl a představuje nárůst o 24,3 % při dávce 75 mg.l⁻¹ a nárůst o 35,46 % při dávce 100 mg.l⁻¹. Naměřené hodnoty polyfenolů byly v rozsahu 227,13 – 307,66 mg.l⁻¹.

Z tabulky č. 9 vyplývá, že závislost mezi přídavkem oxidu siřičitého a množstvím naměřených polyfenolů je velmi silná. Tukeyův test v tabulce č. 15 potvrzuje výše zmíněný statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách.



Graf 2. Vliv přidavku SO₂ do vína na naměřené hodnoty polyfenolů (mg kys. gallové.l⁻¹)

Z grafu č. 2 vyplývá, že nebyl zjištěn statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách polyfenolů mezi variantami s dávkou oxidu siřičitého 0, 25, 50 a 75 mg.l⁻¹. Ale prokazatelný rozdíl byl zjištěn u varianty s přidavkem oxidu siřičitého 100 mg.l⁻¹. Z těchto naměřených hodnot, lze zjistit, že nízké dávky SO₂ prokazatelně nezvyšují naměřené hodnoty. Při vyšších dávkách již je prokazatelný rozdíl a představuje nárůst o 10,45 % při dávce 100 mg.l⁻¹. Naměřené hodnoty polyfenolů byly v rozsahu 1559,5 – 1722,54 mg.l⁻¹.

Z tabulky č. 10 vyplývá, že závislost mezi přidavkem oxidu siřičitého a množství naměřených polyfenolů je nižší, než u bílého vína, ale stále silná. Tukeyův test v tabulce č. 18 potvrzuje výše zmíněný statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách.

Naměřené hodnoty polyfenolů byly 6x vyšší u červeného vína, než u vína bílého. Z čehož lze usuzovat, že antokyany tvoří nejdůležitější část fenolických sloučenin v červených vínech. Podobné hodnoty byly zjištěny také v jiných studiích.

Staško a kol. ve své studii porovnávali 86 bílých a červených vín ze Slovenska a Rakouska. Zjistili, že průměrná hodnota polyfenolů u červených vín, je 10x vyšší, než u bílých vín. Stratil, Kubáň a Fojtová ve své práci naměřili průměrné hodnoty

polyfenolů u bílých vín v intervalu 103 – 125 mg.l⁻¹. Hodnoty naměřených hodnot polyfenolů v červených vínech byly 10-15x vyšší a to v rozmezí 874 – 1973 mg.l⁻¹. Abramovič a kol. tvrdí, že jakákoliv přítomnost SO₂ při měření celkových polyfenolů metodou FC prokazatelně zvýší naměřenou hodnotu. To se shoduje také s předchozími studii (Saucier & Waterhouse, 1999), kde bylo prokázáno, že při absenci dalších antioxidantů SO₂ nemá žádnou významnou reakci při testu FC (Stasko, Brezova et al. 2008, Stratil, Kuban et al. 2008, Abramovic, Kosmerl et al. 2015).

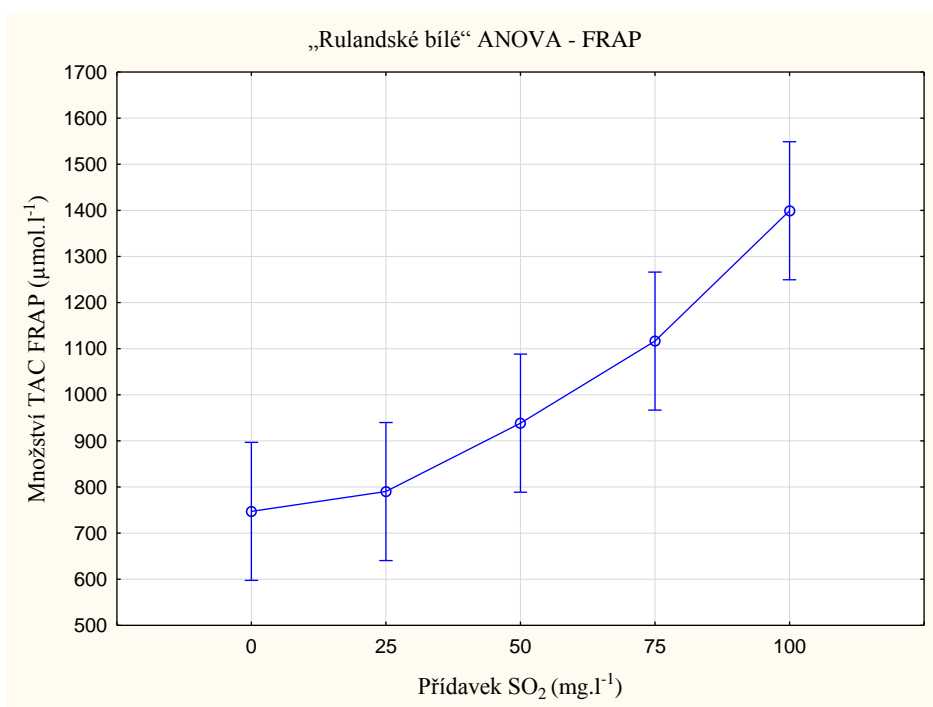
Abramovič a kol. dále tvrdí, že když byl test proveden s bílým vínem s přídavkem SO₂, tak SO₂ významně ovlivnil obsah polyfenolů. Mnohé studie uvádějí, že siřičitan může interferovat s testem FC na celkové fenoly. Studie Gila a Rebeloa ukázala, že zvýšení koncentrace disiřičitanu až na 20 mg.l⁻¹ způsobilo nárůst o 10 mg.l⁻¹ (vyjádřeno v ekvivalentech kyseliny kávové) v celkovém obsahu fenolů. Stevanato, Fabris, a Momo (2004) také zjistili, že siřičitany způsobují nárůst o 11 % v celkovém obsahu fenolů (Stevanato, Fabris et al. 2004, Gil and Rebelo 2009, Abramovic, Kosmerl et al. 2015).

Tabulka 9. Porovnání této studie s publikovanými hodnotami celkového obsahu polyfenolických látek v červených vínech (Büyüktuncel, Porgali et al. 2014)

Publikovali	Polyfenoly v červených vínech (mg.l ⁻¹)
Tato studie, česká vína	1559 – 1722
Büyüktuncel et al. (2014), turecká vína	2600 - 4847
Minussi et al. (2003), italská vína	3314 - 4177
M.S. Fernandez-Pachon et al. (2004), španělská vína	1313 - 2389
Kallithraka et al. (2006), řecká vína	622 - 3200
Dugo et al. (2006), sicilská vína	1794 - 4614
Paixao et al. (2006), portugalská vína	1724 - 1936
Di Majo et al. (2008), italská vína	2340 - 3730
Stratil et al. (2008), česká vína	963 - 2262
Stasko et al. (2008), slovenská a rakouská vína	1460 - 3380
H. Li et al. (2009), čínská vína	1402 - 3130
Lucena et al. (2010), brazilská vína	3200 - 5900
Jordao et al. (2010), portugalská vína	1788 - 3070
Seruga et al. (2011), chorvatská vína	1012 - 3264

Vrcek et al. (2011), chorvatská vína	554 - 2669
Yoo et al. (2011), australská vína	1181 - 3589
Jiang et al. (2012), čínská vína	860 - 2710
Radovanovic et al. (2012), srbská vína	1602 - 1968
Porgah et al. (2012), turecká vína	1837 - 3467

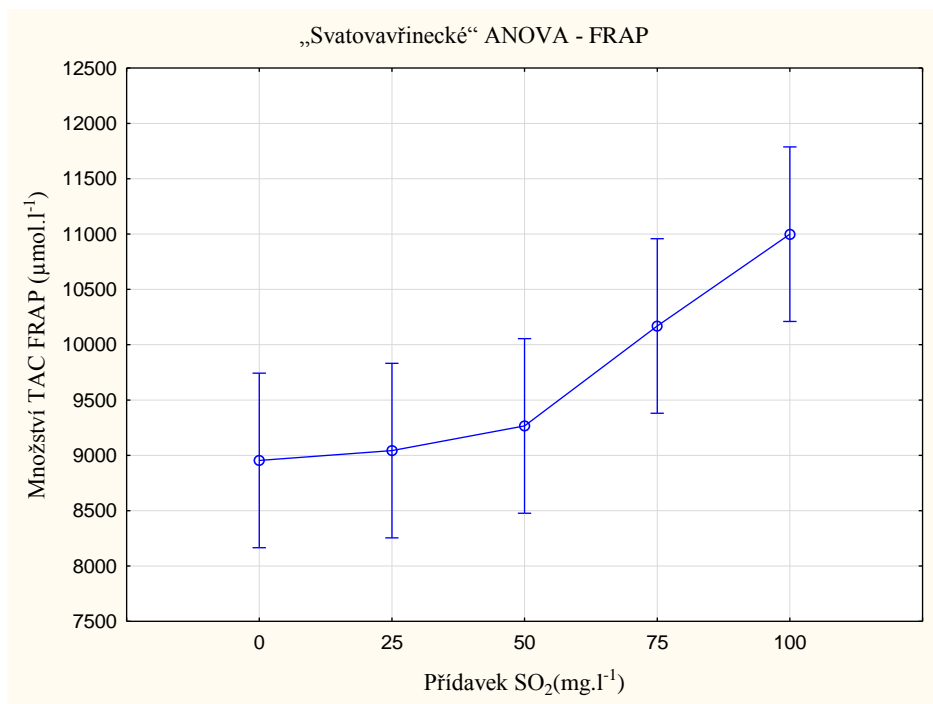
5.2 Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP



Graf 3. Vliv přídavku SO₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP (µmol troloxu.l⁻¹)

Z grafu č. 3 vyplývá, že nebyl zjištěn statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách antioxidační kapacity metodou FRAP mezi variantami s dávkou oxidu siřičitého 0, 25 a 50 mg.l⁻¹. Ale prokazatelný rozdíl byl zjištěn u variant s přídavkem oxidu siřičitého 75 a 100 mg.l⁻¹. Z těchto naměřených hodnot, lze zjistit, že nízké dávky SO₂ prokazatelně nezvyšují naměřené hodnoty. Při vyšších dávkách již je prokazatelný rozdíl a představuje nárůst o 49,47 % při dávce 75 mg.l⁻¹ a nárůst o 87,29 % při dávce 100 mg.l⁻¹. Naměřené hodnoty antioxidační kapacity byly v rozsahu 747,13 – 1399,3 µmol.l⁻¹.

Z tabulky č. 11 vyplývá, že závislost mezi přidavkem oxidu siřičitého a množství naměřené antioxidační kapacity je velmi silná. Tukeyův test v tabulce č. 16 potvrzuje výše zmíněný statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách.



Graf 4. Vliv přidavku SO₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP (μmol troloxu.l⁻¹)

Z grafu č. 4 vyplývá, že nebyl zjištěn statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách antioxidační kapacity metodou FRAP mezi variantami s dávkou oxidu siřičitého 0, 25, 50 a 75 mg.l⁻¹. Ale prokazatelný rozdíl byl zjištěn u varianty s přidavkem oxidu siřičitého 100 mg.l⁻¹. Z těchto naměřených hodnot, lze zjistit, že nízké dávky SO₂ prokazatelně nezvyšují naměřené hodnoty. Při vyšších dávkách již je prokazatelný rozdíl a představuje nárůst o 22,83 % při dávce 100 mg.l⁻¹. Naměřené hodnoty antioxidační kapacity byly v rozsahu 8954,33 – 10998,5 μmol.l⁻¹.

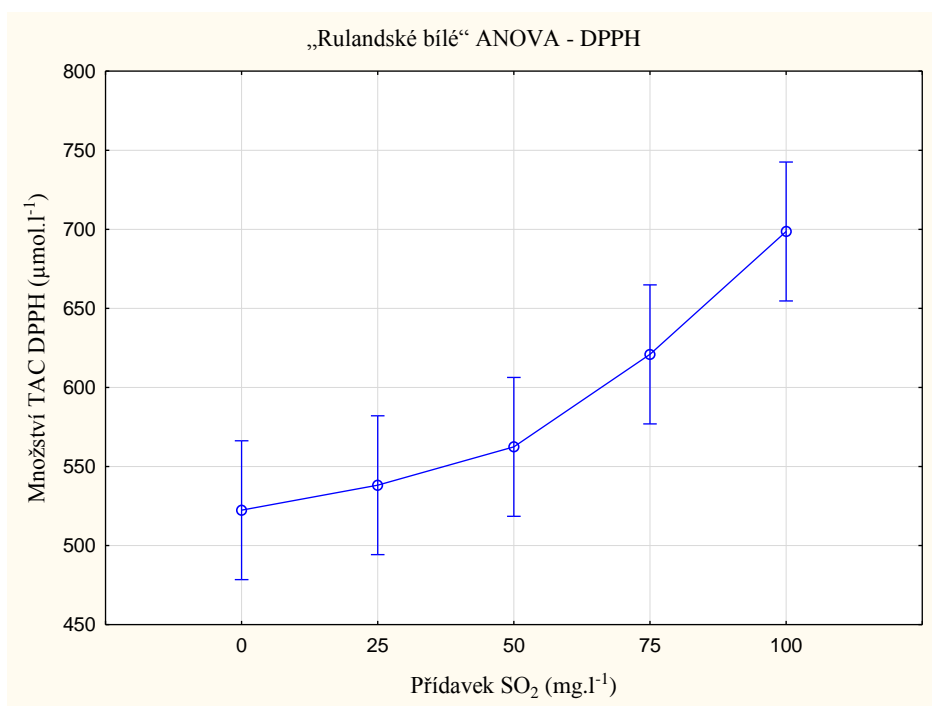
Z tabulky č. 12 vyplývá, že závislost mezi přidavkem oxidu siřičitého a množství naměřené antioxidační kapacity je nižší, než u bílého vína, ale stále silná. Tukeyův test v tabulce č. 19 potvrzuje výše zmíněný statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách.

Naměřená antioxidační kapacita byla 9x vyšší u měření metodou FRAP u červeného vína, než u vína bílého. Další studie, které zjistily naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP.

E. Büyüktuncel et al. naměřily hodnoty antioxidační kapacity v tureckých vínech metodou FRAP v rozmezí 12,65 – 27,68 mmol.l⁻¹. Stratil et al. naměřily hodnoty antioxidační kapacity v českých vínech metodou FRAP v rozmezí 4,92 – 13,94 mmol.l⁻¹. Feliciano et al. naměřily hodnoty antioxidační kapacity v portugalských vínech 8.10 – 17,91 mmol.l⁻¹. Híc také zjistil, přidavek disiřičitanu draselného má statisticky prokazatelný vliv na naměřené hodnoty při metodě FRAP. Zjistil, že 1 g.l⁻¹ představuje nárůst o 18 %.

Nevýhody této metody se týkají sloučenin, které mají nízký redoxní potenciál, a mohou vést ke snížení Fe³⁺ i když se nejedná o antioxidanty (Stratil, Kuban et al. 2008, Feliciano, Bravo et al. 2009, Híc 2011, Büyüktuncel, Porgali et al. 2014).

5.3 Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH

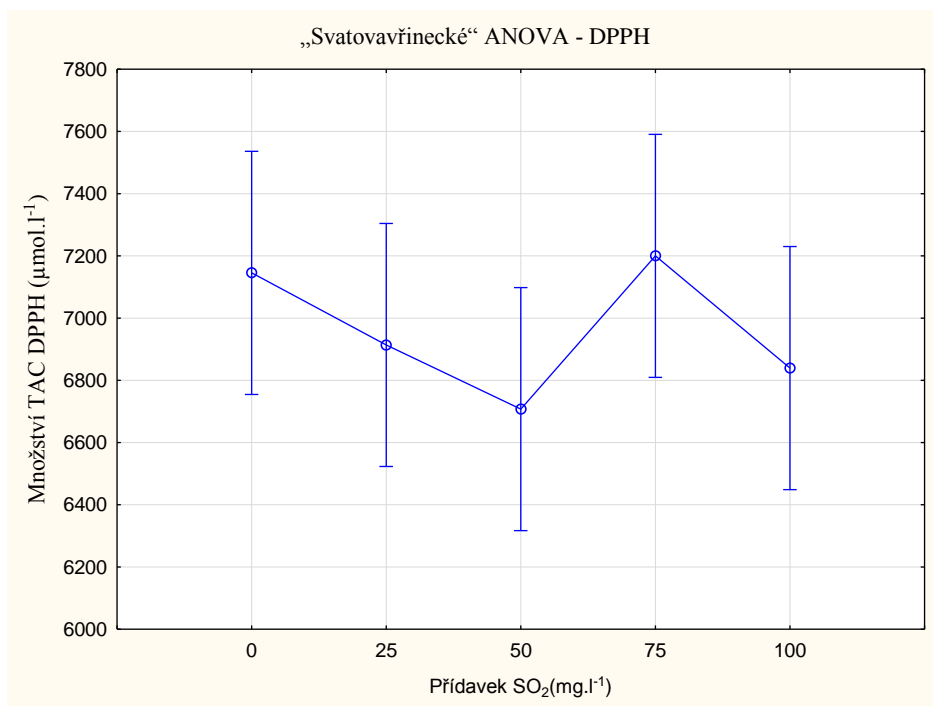


Graf 5. Vliv přidavku SO₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH (µmol troloxu.l⁻¹)

Z grafu č. 5 vyplývá, že nebyl zjištěn statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách antioxidační kapacity metodou DPPH mezi variantami s dávkou oxidu siřičitého 0, 25 a 50 mg.l⁻¹. Ale prokazatelný rozdíl byl zjištěn u variant s přidavkem oxidu siřičitého 75 a 100 mg.l⁻¹. Z těchto naměřených hodnot, lze zjistit, že nízké dávky SO₂ prokazatelně nezvyšují naměřené hodnoty. Při vyšších dávkách již je

prokazatelný rozdíl a představuje nárůst o 18,85 % při dávce 75 mg.l⁻¹ a nárůst o 33,73 % při dávce 100 mg.l⁻¹. Naměřené hodnoty antioxidační kapacity byly v rozsahu 522,42 – 698,64 μmol.l⁻¹.

Z tabulky č. 13 vyplývá, že závislost mezi přidavkem oxidu siřičitého a množství naměřené antioxidační kapacity je velmi silná. Tukeyův test v tabulce č. 17 potvrzuje výše zmíněný statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách.



Graf 6. Vliv přidavku SO₂ do vína na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH (μmol troloxu.l⁻¹)

Z grafu č. 6 vyplývá, že nebyl zjištěn statisticky prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách antioxidační kapacity metodou DPPH u žádné z variant. Z těchto naměřených hodnot, lze zjistit, že tyto dávky SO₂ prokazatelně nezvyšují naměřené hodnoty. Naměřené hodnoty antioxidační kapacity byly v rozsahu 6707,57 – 7200 μmol.l⁻¹.

Z tabulky č. 14 vyplývá, že závislost mezi přidavkem oxidu siřičitého a množství naměřené antioxidační kapacity je minimální a má klesající průběh. Tukeyův test v tabulce č. 20 potvrzuje, že nebyl zjištěn žádný prokazatelný rozdíl v naměřených hodnotách.

Naměřená antioxidační kapacita byla 11x vyšší u měření metodou DPPH u červeného vína, než u vína bílého.

Staško a kol. při porovnání 86 bílých a červených vín ze Slovenska a Rakouska zjistili, že červená vína mají průměrně více než 10x vyšší antioxidační kapacitu, než bílá vína. Roussi a kol. zjistili, že řecká červená vína vykazují vyšší antioxidační aktivitu při měření DPPH. Abramovič a kol. zdůrazňuje, že reaktivita mezi oxidem siřičitým a DPPH zatím nebyla dobře zdokumentována, a reakční mechanismus ještě není zcela znám. Byl zjištěno, že SO₂ reaguje s DPPH i za nepřítomnosti polyfenolů (Roussis, Lambropoulos et al. 2008, Stasko, Brezova et al. 2008, Abramovic, Kosmerl et al. 2015).

Z výsledků vyplývá, že po přidání SO₂ do vína se zvýší naměřená hodnota jak obsahu fenolických látek, tak také antioxidační kapacity. Pouze měření antioxidační kapacity metodou DPPH odrůdy „Svatovavřínecké“ nebyl prokázán průkazný rozdíl vlivu přídavku SO₂. Tento výsledek však mohl být způsoben vysokým množstvím antioxidační kapacity červených vín vzhledem k vlivu SO₂, ale také nepřesným měřením.

Vyšší nárůsty hodnot byly zjištěny u bílého vína. Jelikož červená vína obsahují více fenolických látek, což bylo prokázáno v mnoha studiích a tím pádem i antioxidační kapacitu.

Z výsledků také vyplývá, že oxid siřičitý ovlivňuje naměřené hodnoty antioxidační kapacity více u měření metodou FRAP, než metodou DPPH. A to jak u bílých tak červených vín.

6 ZÁVĚR

V literární části diplomové práce jsou popsány fenolické látky vína, které ovlivňují naměřenou antioxidační kapacitu. V další části je popsán oxid siřičitý, jelikož je ve vinařství velmi důležitý. Používá se z důvodu fyzikálně chemické a biologické stability vína. Je sledovaným parametrem u vín, jelikož vysoké dávky SO₂ mají negativní vliv na zdraví člověka.

Další literární částí jsou antioxidanty obsažené ve víně a jejich možnosti měření. Hlavním přínosem antioxidantů je schopnost zabránit poškození organismu tím, že chrání důležité části buňky před volnými radikály. Velké množství studií potvrzuje příznivé působení antioxidantů na lidské zdraví. Často se setkáváme s definicí antioxidantů jako léků proti stárnutí až jakýmsi všelékem.

V praktické části diplomové práce byl dokázán vliv oxidu siřičitého na měřené hodnoty polyfenolů a hodnoty antioxidační kapacity měřené metodou FRAP a DPPH. Vyšší vliv oxidu siřičitého byl prokázán u bílého vína. Zjištěno bylo také, že metoda FRAP je více ovlivňována oxidem siřičitým, než metoda DPPH.

Při metodě FC byl po přidavku 100 mg.l⁻¹ u bílého vína nárůst naměřených polyfenolů o 35,46 % a u červeného vína o 10,45 %. Při metodě FRAP po přidavku 100 mg.l⁻¹ byl u bílého vína nárůst naměřené antioxidační kapacity o 87,29 % a u červeného vína o 22,83 %. Při metodě DPPH po přidavku 100 mg.l⁻¹ byl u bílého vína nárůst naměřené antioxidační kapacity o 33,73 % a u červeného vína nebyl zjištěn průkazný rozdíl.

Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty polyfenolů je zkreslený, jelikož se po přidavku SO₂ zvyšuje naměřené množství polyfenolů měřené metodou FC. Z toho důvodu je velice důležité v praxi znát hodnotu oxidu siřičitého ve víně. Pokud bychom použily dvě stejná vína a do jednoho by byl přidán oxid siřičitý, naměřily bychom zde vyšší hodnoty.

7 SOUHRN

Diplomová práce na téma Vliv oxidu siřičitého na kvalitativní parametry vína byla vypracována v letech 2014 – 2016 na Ústavu posklizňové technologie zahradnických produktů Zahradnické fakulty, Mendelovy univerzity v Brně.

V diplomové práci byl sledován vliv oxidu siřičitého na celkové polyfenoly, které byly měřeny metodou Folin-Ciocalteu a antioxidační kapacitu, která byla měřena metodami FRAP a DPPH. Pro vybraný experiment byly vybrány 2 vína. Bílé víno odrůdy „Rulandské bílé“ a červené víno odrůdy „Svatovavřínecké“. Dávky oxidu siřičitého byly aplikovány v množství 0 mg.l⁻¹, 25 mg.l⁻¹, 50 mg.l⁻¹, 75 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹. Tyto dávky jsou při výrobě vína běžně používány.

Bylo zjištěno, že oxid siřičitý přidaný do vína ovlivňuje naměřené hodnoty polyfenolů i antioxidační kapacity měřené metodou FRAP i DPPH. Bylo také zjištěno, že metoda FRAP je více ovlivňována oxidem siřičitým, než metoda DPPH.

Klíčová slova: fenolické látky, oxid siřičitý, antioxidační kapacita, Folin-Ciocalteu, FRAP, DPPH

8 RESUME

This thesis dealing with The influence of sulfur dioxide on on qualitative parameters of the wines was developer between 2014 – 2016 at the Department of Post-Harvest Technology of Horticultural Products, Faculty of Horticulture, Mendel University in Brno.

In this thesis was studied influence of sulfur dioxide on total polyphenols, which was measured by Folin-Ciocalteu and antioxidant capacity, which was measured by FRAP and DPPH. For this experiment were chosen two wines. The white wine was „Rulandské bílé“ and the red wine was „Svatovavřinecké“. Doses of sulfur dioxide were applied at 0 mg.l⁻¹, 25 mg.l⁻¹, 50 mg.l⁻¹, 75 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹. These doses are used in winemaking.

Was found, that sulfur dioxide added to wine influence measured values of polyphenols and antioxidant capacity measured by FRAP and DPPH. Also was found, that system FRAP is more affected by sulfur dioxide, than system DPPH.

Key words: polyphenols, sulfur dioxide, antioxidant capacity, Folin-Ciocalteu, FRAP, DPPH

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

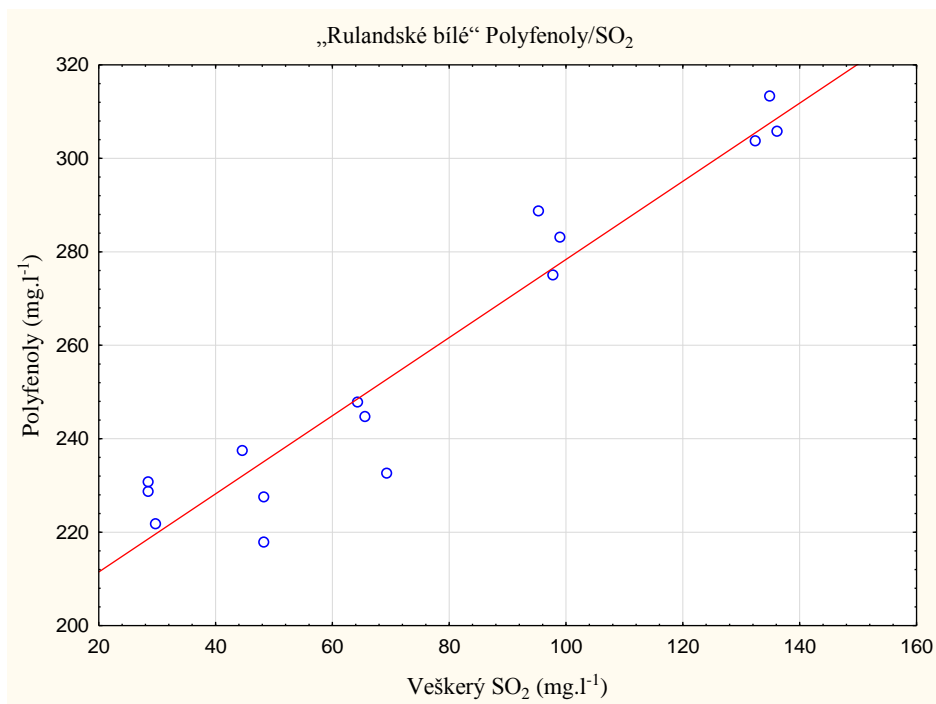
- Abramovic, H., T. Kosmerl, N. P. Ulrih and B. Cigic (2015). "Contribution of SO₂ to antioxidant potential of white wine." Food Chemistry **174**: 147-153.
- Bakker, J. and R. J. Clarke (2011). Wine: flavour chemistry, John Wiley & Sons.
- Balik, J. (2004). "VINARSTVÍ - návody do laboratorních cvičení."
- Barril, C., A. C. Clark and G. R. Scollary (2012). "Chemistry of ascorbic acid and sulfur dioxide as an antioxidant system relevant to white wine." Analytica Chimica Acta **732**: 186-193.
- Barril, C., A. C. Clark and G. R. Scollary (2012). "Chemistry of ascorbic acid and sulfur dioxide as an antioxidant system relevant to white wine." Analytica Chimica Acta **732(0)**: 186-193.
- Bartra, E., M. Casado, D. Carro, C. Campama and B. Pina (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 **109(1)**: 272-281.
- Benzie, I. F. F. and J. J. Strain (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay." Analytical Biochemistry **239(1)**: 70-76.
- Bertalanic, L., T. Kosmerl, N. P. Ulrih and B. Cigic (2012). "Influence of Solvent Composition on Antioxidant Potential of Model Polyphenols and Red Wines Determined with 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl." Journal of Agricultural and Food Chemistry **60(50)**: 12282-12288.
- Bizaj, E., A. G. Cordente, J. R. Bellon, P. Raspor, C. D. Curtin and I. S. Pretorius (2012). "A breeding strategy to harness flavor diversity of *Saccharomyces* interspecific hybrids and minimize hydrogen sulfide production." Fems Yeast Research **12(4)**: 456-465.
- Bondet, V., W. Brand-Williams and C. Berset (1997). "Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH* free radical method." Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie **30(6)**: 609-615.
- Box, J. D. (1983). "Investigation of the Folin-Ciocalteu Phenol Reagent for the Determination of Polyphenolic Substances in Natural-Waters." Water Research **17(5)**: 511-525.
- Büyüktuncel, E., E. Porgali and C. Colak (2014). "Comparison of Total Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Local Red Wines Determined by Spectrophotometric Methods."
- Cao, G. H., E. Sofic and R. L. Prior (1997). "Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships." Free Radical Biology and Medicine **22(5)**: 749-760.
- Comitini, F. and M. Ciani (2007). "The inhibitory activity of wine yeast starters on malolactic bacteria." Annals of Microbiology **57(1)**: 61-66.
- Comuzzo, P., F. Battistutta, M. Vendrame, M. S. Paez, G. Luisi and R. Zironi (2015). "Antioxidant properties of different products and additives in white wine." Food Chemistry **168**: 107-114.
- Corte, L., L. Roscini, C. Zadra, L. Antonielli, B. Tancini, A. Magini, C. Emiliani and G. Cardinali (2012). "Effect of pH on potassium metabisulphite biocidal activity against yeast and human cell cultures." Food Chemistry **134(3)**: 1327-1336.

- Da Porto, C., S. Calligaris, E. Celotti and M. C. Nicoli (2000). "Antiradical properties of commercial cognacs assessed by the DPPH center dot test." Journal of Agricultural and Food Chemistry **48**(9): 4241-4245.
- Dreosti, I. E. (2000). "Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine." Nutrition **16**(7-8): 692-694.
- Feliciano, R. P., M. N. Bravo, M. M. Pires, A. T. Serra, C. M. Duarte, L. V. Boas and M. R. Bronze (2009). "Phenolic Content and Antioxidant Activity of Moscatel Dessert Wines from the Setubal Region in Portugal." Food Analytical Methods **2**(2): 149-161.
- Foti, M. C., C. Daquino and C. Geraci (2004). "Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH center dot radical in alcoholic solutions." Journal of Organic Chemistry **69**(7): 2309-2314.
- Garaguso, I. and M. Nardini (2015). "Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines." Food Chemistry **179**: 336-342.
- Garcia-Guzman, J. J., M. P. Hernandez-Artiga, L. P. P. de Leon and D. Bellido-Milla (2015). "Selective methods for polyphenols and sulphur dioxide determination in wines." Food Chemistry **182**: 47-54.
- Gil, D. M. D. and M. J. F. Rebelo (2009). "Metabisulfite interference in biosensing and Folin-Ciocalteu analysis of polyphenols." Microchimica Acta **167**(3-4): 253-258.
- Grant-Preece, P., H. Fang, L. M. Schmidtke and A. C. Clark (2013). "Sensorially important aldehyde production from amino acids in model wine systems: Impact of ascorbic acid, erythorbic acid, glutathione and sulphur dioxide." Food Chemistry **141**(1): 304-312.
- Henderson, P. and K. Vineyards (2009). "Sulfur Dioxide: Science behind This Anti-microbial, Anti-oxidant, Wine Additive." Practical Winery & Vineyard Journal. January 2009.
- Híc, P. (2011). "Štúdium antioxidačnej kapacity."
- Ishiwata, H., M. Nishijima and Y. Fukasawa (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 **44**(2): 132-143.
- Jackowetz, J. N. and R. M. de Orduna (2012). "Metabolism of SO₂ binding compounds by *Oenococcus oeni* during and after malolactic fermentation in white wine." International Journal of Food Microbiology **155**(3): 153-157.
- Jackowetz, J. N. and R. M. de Orduna (2013). "Survey of SO₂ binding carbonyls in 237 red and white table wines." Food Control **32**(2): 687-692.
- Jackowetz, J. N. and R. Mira de Orduña (2013). "Improved sample preparation and rapid UHPLC analysis of SO₂ binding carbonyls in wine by derivatisation to 2,4-dinitrophenylhydrazine." Food Chemistry **139**(1-4): 100-104.
- Jackowetz, J. N. and R. Mira de Orduña (2013). "Survey of SO₂ binding carbonyls in 237 red and white table wines." Food Control **32**(2): 687-692.
- Jackson, R. S. (2008). Wine Science: principles and applications. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.
- Jimenez-Escrig, A., I. Jimenez-Jimenez, C. Sanchez-Moreno and F. Saura-Calixto (2000). "Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl." Journal of the Science of Food and Agriculture **80**(11): 1686-1690.

- Lea, A. G. H., G. D. Ford and S. Fowler (2000). "Analytical techniques for the estimation of sulphite binding components in ciders and wines." International Journal of Food Science and Technology **35**(1): 105-112.
- Michlovský, M. (2012). Oxid siřičitý v enologii. Rakvice: Vinselekt Michlovský.
- Michlovský, M. (2014). Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře. Rakvice: Vinselekt Michlovský.
- Moreno, J. and R. Peinado (2012). "Composition of Wine." Enological Chemistry: 41-52.
- Moreno, J. and R. A. Peinado (2012). Enological chemistry. Waltham, MA: Academic Press.
- Oliveira, C. M., A. C. S. Ferreira, V. De Freitas and A. M. S. Silva (2011). "Oxidation mechanisms occurring in wines." Food Research International **44**(5): 1115-1126.
- Paixao, N., R. Perestrelo, J. C. Marques and J. S. Camara (2007). "Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines." Food Chemistry **105**(1): 204-214.
- Pateraki, C., S. Paramithiotis, A. I. Doulgeraki, S. Kallithraka, Y. Kotseridis and E. H. Drosinos (2014). "Effect of sulfur dioxide addition in wild yeast population dynamics and polyphenolic composition during spontaneous red wine fermentation from *Vitis vinifera* cultivar Agiorgitiko." European Food Research and Technology **239**(6): 1067-1075.
- Ribâereau-Gayon, P., D. Dubourdieu and B. Doneche (2006). Handbook of enology. Hoboken, John Wiley.
- Ribéreau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujean and D. Dubourdieu (2006). Stabilizing Wine by Physical and Physico-chemical Processes. Handbook of Enology, John Wiley & Sons, Ltd: 369-386.
- Roussis, I. G., I. Lambropoulos, P. Tzimas, A. Gkoulioti, V. Marinos, D. Tsoupeis and I. Boutaris (2008). "Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts." Journal of Food Composition and Analysis **21**(8): 614-621.
- Saidane, D., J.-C. Barbe, M. Birot and H. Deleuze (2013). "Reducing the sulfur-dioxide binding power of sweet white wines by solid-phase extraction." Food Chemistry **141**(1): 612-615.
- Singleton, V. and J. A. Rossi (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." American journal of Enology and Viticulture **16**(3): 144-158.
- Singleton, V. L., R. Orthofer and R. M. Lamuela-Raventos (1999). "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent." Oxidants and Antioxidants, Pt A **299**: 152-178.
- Sonni, F., A. C. Clark, P. D. Prenzler, C. Riponi and G. R. Scollary (2011). "Antioxidant Action of Glutathione and the Ascorbic Acid/Glutathione Pair in a Model White Wine." Journal of Agricultural and Food Chemistry **59**(8): 3940-3949.
- Sotolář, R. (2006). "Multimediální atlas podnožových, moštových a stolních odrůd révy."
- Stasko, A., V. Brezova, M. Mazur, M. Certik, M. Kalinak and G. Gescheidt (2008). "A comparative study on the antioxidant properties of Slovakian and Austrian wines." Lwt-Food Science and Technology **41**(10): 2126-2135.
- Stevanato, R., S. Fabris and F. Momo (2004). "Enzymatic method for the determination of total phenolic content in tea and wine." Journal of Agricultural and Food Chemistry **52**(20): 6287-6293.

- Stratil, P., V. Kuban and J. Fojtova (2008). "Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods." Czech Journal of Food Sciences **26**(4): 242-253.
- Waterhouse, A. L. (2002). "Wine phenolics." Alcohol and Wine in Health and Disease **957**: 21-36.
- Wells, A. and J. P. Osborne (2012). "Impact of acetaldehyde- and pyruvic acid-bound sulphur dioxide on wine lactic acid bacteria." Letters in Applied Microbiology **54**(3): 187-194.
- Zuniga, M. C., R. E. Perez-Roa, C. Olea-Azar, V. F. Laurie and E. Agosin (2014). "Contribution of metals, sulfur-dioxide and phenolic compounds to the antioxidant capacity, of Carmenere wines." Journal of Food Composition and Analysis **35**(1): 37-43.

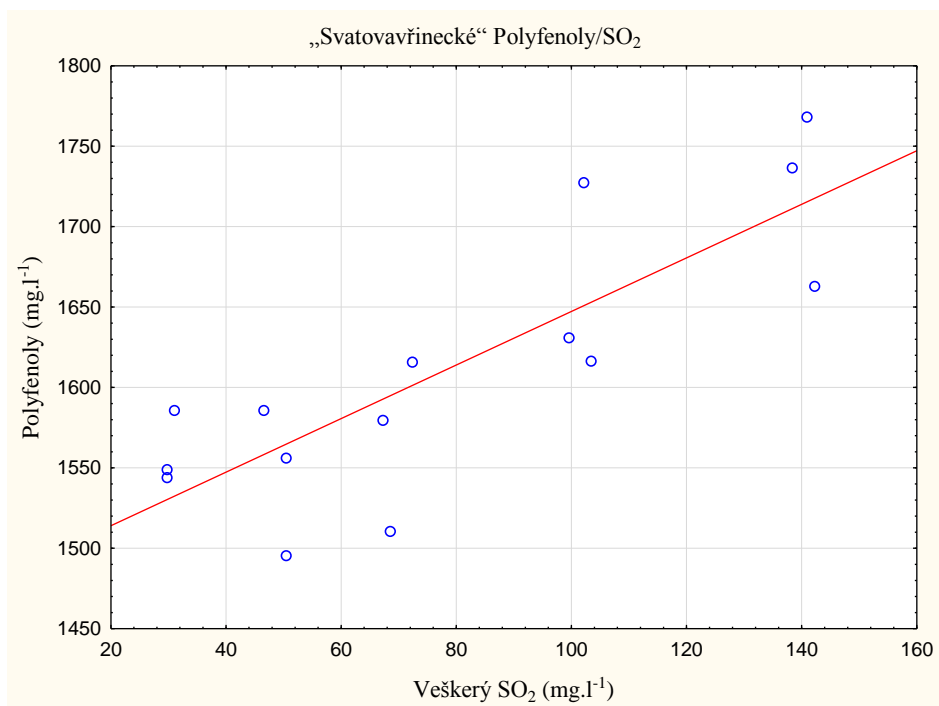
10 PŘÍLOHY



Graf 7. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Rulandské bílé“ a jejich závislost

Tabulka 10. Korelační koeficient vlivu SO₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Rulandské bílé“

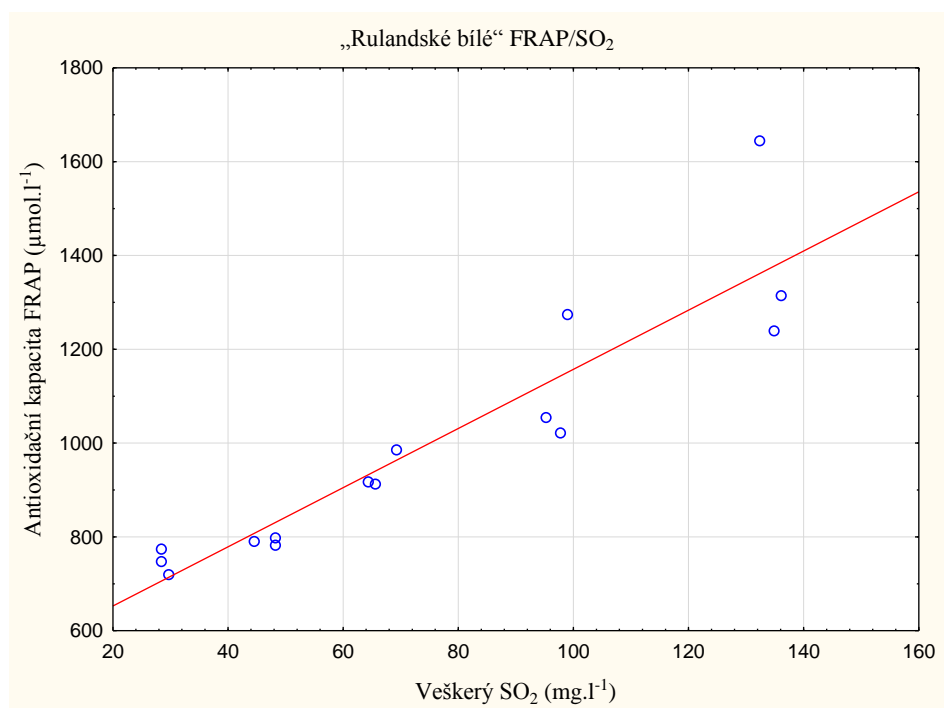
Korelace RB	
	Polyfenoly
Korelační koeficient	0,864044



Graf 8. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“ a jejich závislost

Tabulka 11. Korelační koeficient vlivu SO₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Svatovavřínecké“

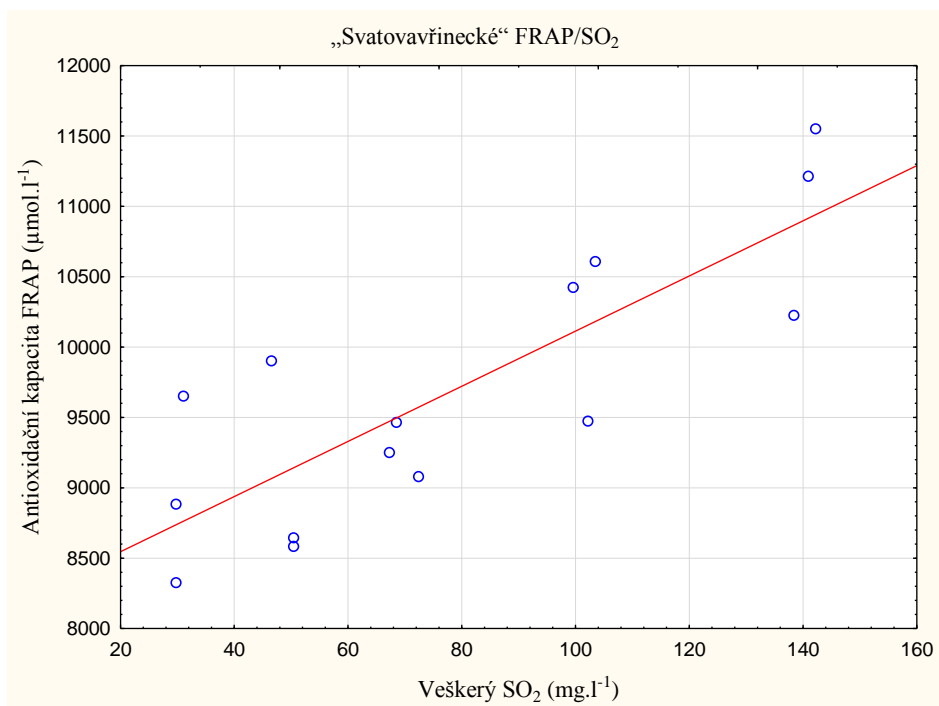
Korelace SV	
 	Polyfenoly
Korelační koeficient	0,787825



Graf 9. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP odrůdy „Rulandské bílé“ a jejich závislost

Tabulka 12. Korelační koeficient vlivu SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“

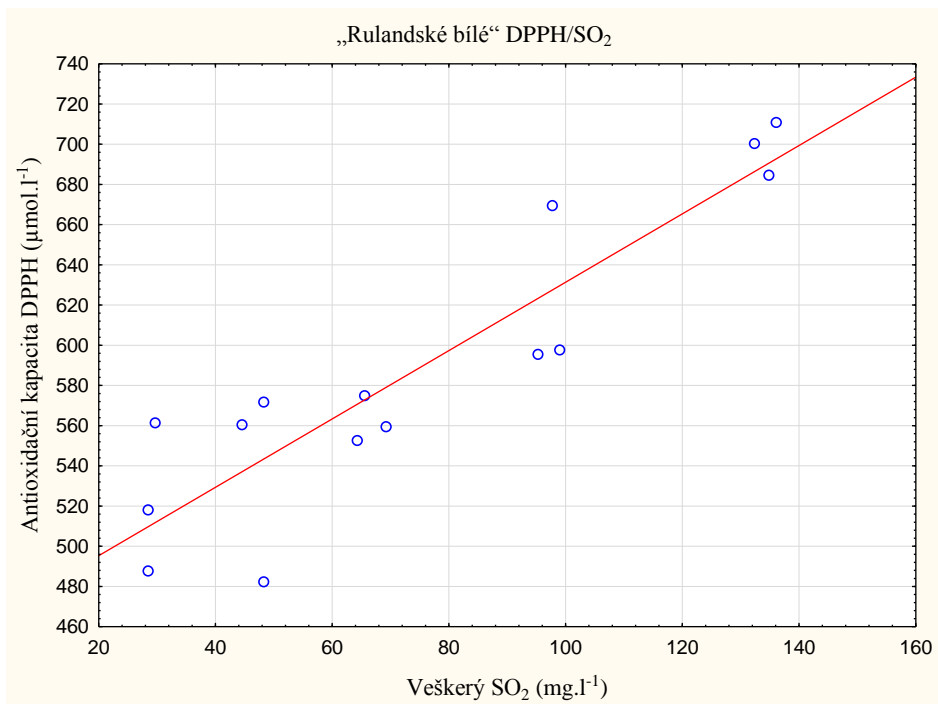
Korelace RB	
 	FRAP
Korelační koeficient	0,957068



Graf 10. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou FRAP odrůdy „Svatovavřínecké“ a jejich závislost

Tabulka 13. Korelační koeficient vlivu SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“

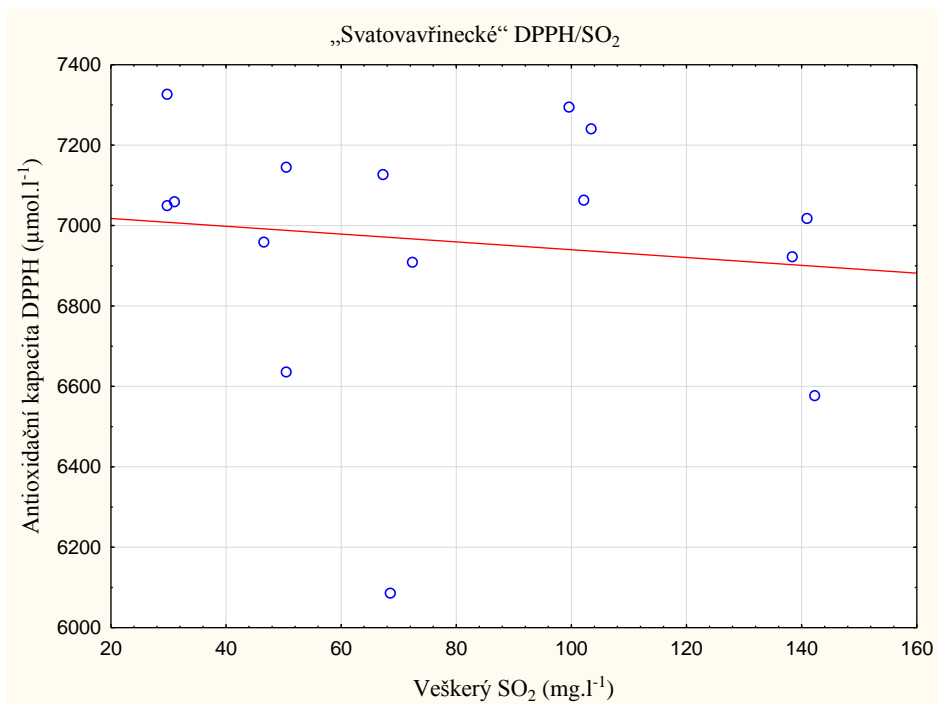
Korelace SV	
FRAP	FRAP
Korelační koeficient	0,762076



Graf 11. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH odrůdy „Rulandské bílé“ a jejich závislost

Tabulka 14. Korelační koeficient vlivu SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“

Korelace RB	
Korelační koeficient	DPPH
	0,858678



Graf 12. Vliv oxidu siřičitého na naměřené hodnoty antioxidační kapacity metodou DPPH odrůdy „Svatovavřínecké“ a jejich závislost

Tabulka 15. Korelační koeficient vlivu SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“

Korelace SV	
	DPPH
Korelační koeficient	- 0,2576

Tukeyův test - RB polyfenoly					
Přídavek SO ₂	0	25	50	75	100
0		0,999984	0,165531	0,000183	0,000176
25	0,999984		0,188256	0,000184	0,000176
50	0,165531	0,188256		0,000429	0,000177
75	0,000183	0,000184	0,000429		0,010183
100	0,000176	0,000176	0,000177	0,010183	

Tabulka 16. Statistické testování vlivu přídavku SO₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Rulandské bílé“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl)

Tukeyův test - RB FRAP					
Přídavek SO ₂	0	25	50	75	100
0		0,989882	0,325884	0,019888	0,000455
25	0,989882		0,551413	0,040076	0,000689
50	0,325884	0,551413		0,387312	0,004813
75	0,019888	0,040076	0,387312		0,081684
100	0,000455	0,000689	0,004813	0,081684	

Tabulka 17. Statistické testování vlivu přídavku SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl)

Tukeyův test - RB DPPH					
Přídavek SO ₂	0	25	50	75	100
0		0,977372	0,621335	0,034439	0,000760
25	0,977372		0,901641	0,082479	0,001464
50	0,621335	0,901641		0,292021	0,004568
75	0,034439	0,082479	0,292021		0,108427
100	0,000760	0,001464	0,004568	0,108427	

Tabulka 18. Statistické testování vlivu přídavku SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Rulandské bílé“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl)

Tukeyův test - SV polyfenoly					
Přídavek SO ₂ (mg.l ⁻¹)	0	25	50	75	100
0		0,996549	0,999330	0,175300	0,015162
25	0,996549		0,976580	0,105264	0,009070
50	0,999330	0,976580		0,241864	0,021420
75	0,175300	0,105264	0,241864		0,526884
100	0,015162	0,009070	0,021420	0,526884	

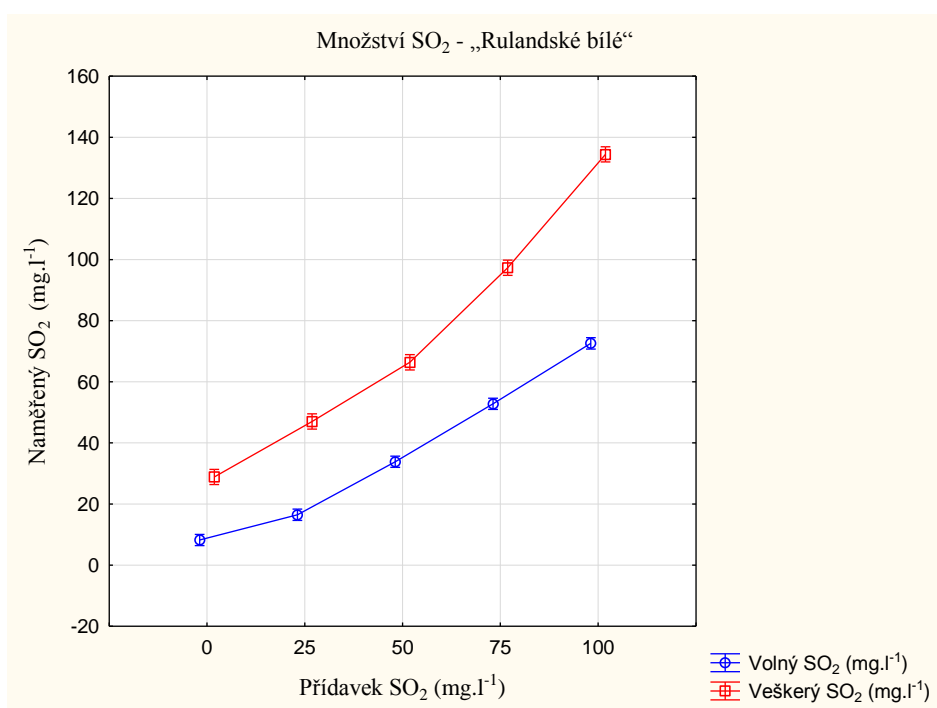
Tabulka 19. Statistické testování vlivu přídavku SO₂ na naměřené hodnoty polyfenolů odrůdy „Svatovavřínecké“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl)

Tukeyův test - SV FRAP					
Přídavek SO ₂ (mg.l ⁻¹)	0	25	50	75	100
0		0,999743	0,968109	0,185181	0,014837
25	0,999743		0,990758	0,238219	0,019449
50	0,968109	0,990758		0,421701	0,038532
75	0,185181	0,238219	0,421701		0,498537
100	0,014837	0,019449	0,038532	0,498537	

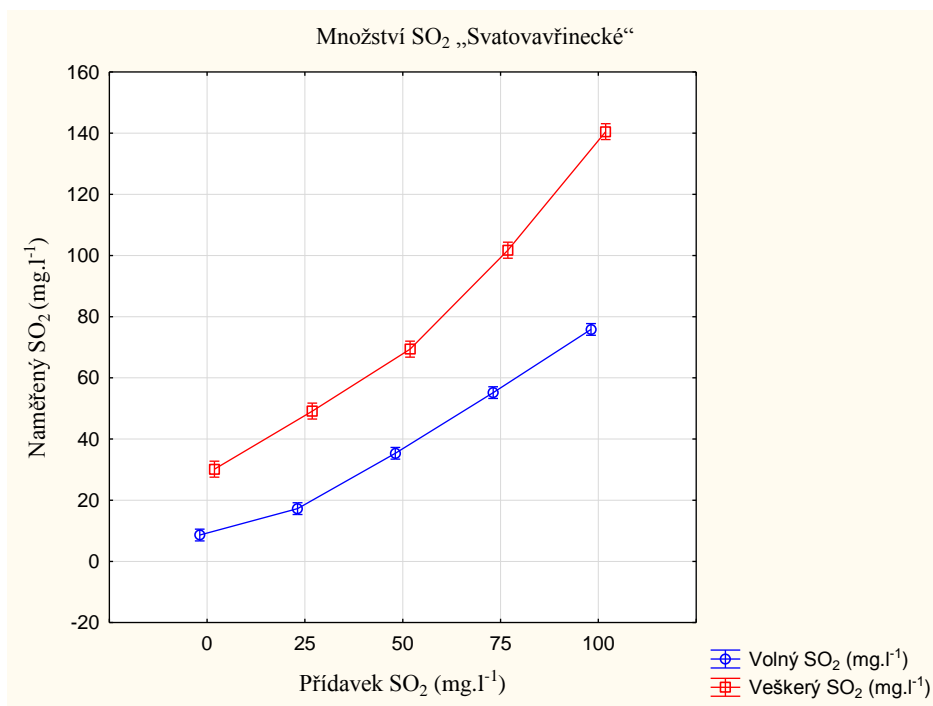
Tabulka 20. Statistické testování vlivu přídavku SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl)

Tukeyův test - SV DPPH					
Přídavek SO ₂ (mg.l ⁻¹)	0	25	50	75	100
0		0,876981	0,440901	0,999412	0,733290
25	0,876981		0,914893	0,775283	0,997984
50	0,440901	0,914893		0,337624	0,981887
75	0,999412	0,775283	0,337624		0,610339
100	0,733290	0,997984	0,981887	0,610339	

Tabulka 21. Statistické testování vlivu přídavku SO₂ na naměřené hodnoty antioxidační kapacity odrůdy „Svatovavřínecké“ (hodnoty pod 0,05 znamenají statisticky průkazný rozdíl)



Graf 13. Hodnoty naměřeného volného a vázaného SO₂ odrůdy „Rulandské bílé“



Graf 14. Hodnoty naměřeného volného a vázaného SO₂ odrůdy „Svatovavřínecké“