

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Zahradnická fakulta v Lednici

SLEDOVÁNÍ SLOUČENIN VÁZAJÍCÍCH OXID SIŘIČITÝ VE VÍNĚ

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Michal Kumšta

Vypracoval:

Bc. Jakub Herzán

Lednice 2016



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatel : **Bc. Jakub Herzán**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Řízení zahradnických technologií
Název tématu: **Sledování sloučenin vázajících SO₂ ve víně**
Rozsah práce: 70 stran textu, grafů, tabulek a chromatogramů

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu týkající se zadaného problému. Vyberte vhodnou metodu pro stanovení karbonylových sloučenin ve víně.
2. Připravte vzorky vína s odstupňovanou celkovou dávkou oxidu siřičitého. Ve vzorcích stanovte základní analytické parametry, obsah karbonylových sloučenin i jednotlivých forem oxidu siřičitého a vzorky porovnejte senzoricky.
3. Získané výsledky zpracujte vhodnou statistickou metodou a vyhodnoťte.




Seznam odborné literatury:

1. BRANCO, J M. – RIBÉREAU-GAYON, P. Handbook of enology. : The chemistry of wine stabilization and treatments. volume 2. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103962, 97804700103722. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010398>.
2. RIBÉREAU-GAYON, P. – BRANCO, J M. Handbook of enology. : The microbiology of wine and vinifications. volume 1. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103651, 97804700103411. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010363>.
3. POLO, C M. – MORENO-ARRIBAS, V M. *Wine chemistry and biochemistry*. 1. vyd. New York: Springer, 2008. 735 s. ISBN 978-0-387-74116-1.

Datum zadání diplomové práce: únor 2015

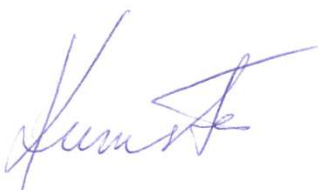
Termín odevzdání diplomové práce: květen 2016

L. S.


Bc. Jakub Herzán
Autor práce


doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.
Vedoucí ústavu




Ing. Michal Kumšta
Vedoucí práce


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

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: **Sledování sloučenin vázajících oxid siřičitý ve víně** vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Lednici dne 9. května 2016

Poděkování:

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu své diplomové práce panu ing Michalovi Kumštovi za jeho čas, který věnoval našim konzultacím a poskytnutí cenných rad. Děkuji také rodině a přátelům za vstřícnost a podporu, kterou mi poskytli při zpracování této práce.

OBSAH:

1	ÚVOD	1
2	CÍL PRÁCE:	2
3	TEORETICKÁ ČÁST	3
3.1	Oxid siřičitý v enologii	3
3.1.1	Antiseptické účinky	4
3.1.2	Antioxidační účinky	5
3.1.3	Antioxidázní účinky	5
3.1.4	Organoleptické účinky	6
3.1.5	Fyziologické účinky	7
3.2	Formy oxidu siřičitého ve víně	8
3.2.1	Aktivní SO ₂	9
3.2.2	Volný SO ₂	9
3.2.3	Vázaný SO ₂	10
3.2.4	Endogenní SO ₂	12
3.3	Sloučeniny vázající oxid siřičitý	12
3.3.1	Acetaldehyd	13
3.3.2	Ketokyseliny	15
3.3.3	Cukry a deriváty cukrů	15
3.3.4	Dikarboonylové molekuly	16
3.3.5	Jiné vazby	16
3.4	Snížení potřeby SO ₂ využitím technologie Surlie	17
3.4.1	SO ₂ při zpracování hroznů při metodě surlie	18
3.4.2	SO ₂ při výrobě vín surlie	18

3.4.3	Malolaktická fermentace (MLF) při výrobě vín surlie.....	19
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	21
4.1	Schéma experimentu.....	21
4.2	Materiál.....	22
4.2.1	Výběr odrůdy.....	22
4.2.2	Průběh experimentu.....	23
4.3	Metody měření.....	26
4.3.1	Stanovení cukernatosti – Refraktometrie	26
4.3.2	Stanovení pH.....	26
4.3.3	Stanovení veškerých titrovatelných kyselin.....	27
4.3.4	Stanovení asimilovatelného dusíku – Formaldehydová titrace.....	28
4.3.5	Stanovení volného a veškerého SO ₂ – Jodometrie.....	29
4.3.6	Stanovení analytických hodnot vín - FTIR analyzátorBrukerAlpha.....	29
4.3.7	Stanovení karbonylových sloučenin ve víně – HPLC.....	30
4.3.8	Stanovení termolabilních bílkovin – Turbidimetrie	32
4.3.9	Použité statistické metody	32
4.4	Výsledky.....	33
4.4.1	Vývoj volného a veškerého SO ₂	33
4.4.2	Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ ve víně	46
4.4.3	Senzorická analýza vzorků experimentu.....	59
4.4.4	Stanovení analytických hodnot vzorků experimentu	69
4.4.5	Stanovení termolabilních bílkovin	69
5	DISKUZE.....	72
6	ZÁVĚR.....	75
7	SOUHRN	76
8	POUŽITÁ LITERATURA.....	78
9	SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ	82

1 ÚVOD

Oxid siřičitý se při výrobě vína používá od konce 18. století. Díky jeho vlastnostem, jako je například působení proti oxidázám, inhibice mikroorganismů, či zamezení oxidace, si dnes víno vyrobené bez přídavku SO_2 téměř nedokážeme představit. Samozřejmě produkce takového vína je možná, nicméně jeho projev se pak výrazně liší od vín dnešních, vín moderních. Mimo své kladné vlastnosti má použití SO_2 i své nevýhody.

Oxid siřičitý je jedním z hlavních alergenů, což je hlavním důvodem provádění mnoha enologických výzkumů zabývajících se především problematikou snížení množství SO_2 ve víně, snížení potřeby jeho použití. Důležitým aspektem pro výrobu vína za nízkých, nebo žádných dávek SO_2 , je znalost původu a vývoje karbonylových sloučenin. Tyto sloučeniny obsahují karbonylovou skupinu (-CHO), díky níž reagují s SO_2 a tím způsobují jeho vyvazování. Většina těchto sloučenin je produktem metabolismu kvasinek či bakterií a jejich vznik a vývoj ovlivňuje mnoho faktorů, jako je například obsah thiaminu v moště nebo přítomnost SO_2 a jeho množství (ať už ve víně či moště) a s tím spjatá celková technologie a filosofie výroby vína.

Pochopení problematiky vzniku a vývoje karbonylových sloučenin může vést ke snížení veškerého SO_2 ve vyrobeném finálním produktu, tedy lahvovém víně, bez používání látek pro víno cizích.

2 CÍL PRÁCE:

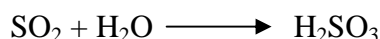
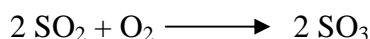
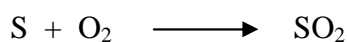
Cílem této diplomové práce bylo pozorovat vývoj karbonylových sloučenin při technologii výroby vín s rozdílným managementem SO₂.

Při experimentu bylo ze stejné suroviny vyrobeno šest vzorků vín s odstupňovanou celkovou dávkou oxidu siřičitého. V průběhu experimentu docházelo k pravidelným odběrům vzorků a stanovení obsahu karbonylových sloučenin i jednotlivých forem oxidu siřičitého. Byly stanoveny základní analytické parametry vín a také byla tato vína porovnána senzoricky. Získané výsledky byly statisticky zpracovány a vyhodnoceny.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Oxid siřičitý v enologii

Oxid siřičitý je bezbarvý, štiplavě zapáchající plyn, který je ve vysokých koncentracích jedovatý. Pod tlakem je lehce zkapalnitelný. Vzniká spalováním síry, čehož se využívá ve vinařské technologii především při konzervaci dřevěných sudů, v menší míře pak při síření vína. V přítomnosti katalyzátorů reaguje s kyslíkem (v chladu pomaleji) za vzniku oxidu sírového, čímž chrání víno proti chemické oxidaci. Ve vodném roztoku se mění na kyselinu siřičitou. Rovnice zmíněných reakcí v uvedeném pořadí:



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

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

I přesto, že při konzumaci nepřiměřených dávek poškozuje kyselina siřičitá zdraví, se bez ní v moderní technologii vína jen těžko obejdeme. Veškeré pokusy vyloučit SO_2 nevedly k uspokojivému výsledku – bezchybnému vínu (Steidl, 2010).

Používání SO₂ představuje jeden z nejúčinnějších prostředků, kterým vinař chrání víno. Sířen by měl být rmut, případně již hrozny. I když se tím mírně zvyšuje vyluhování fenolických látek, může se tak zabránit negativnímu oxidativnímu a mikrobiologickému vývoji. Rozhodování o tom, kdy a kolik oxidu siřičitého přidat, závisí na tom, v jaké fázi výroby vína se nacházíme a na strategii výroby (Barril et al., 2012).

Účinnost SO₂ je závislá především na pH a na hladině fenolických látek. Proti růstu mikroorganismů je ale aktivní pouze molekulární SO₂. Navíc příliš vysoká koncentrace SO₂ poskytuje typický štiplavý zápach a rovněž může u některých spotřebitelů vyvolat alergické reakce (Vally et al., 2003). Proto se dnes ve vinařském průmyslu hledají způsoby jak používání SO₂ alespoň minimalizovat (Jackowetz et al., 2013, Santos et al., 2012).

3.1.1 Antiseptické účinky

Oxid siřičitý inhibuje rozvoj mikroorganismů. Účinky oxidu siřičitého se proti kvasinkám a bakteriím využívají již dávno za účelem zabránění refermentace a bakteriálního onemocnění vína. Oxid siřičitý ve formě H₂SO₃ (aktivní SO₂) proniká rychle do buněk (asi do dvou minut) a v závislosti na případu (druh, stav organismu, koncentrace SO₂ atd.) narušuje jejich rozvoj, růst, rozmnožování a vyvolává vznik sloučenin inaktivujících SO₂ (acetaldehyd, ketokyseliny) nebo způsobuje smrt buňky. Zdá se, že SO₂ blokuje růst bakterií, aniž by zničil jejich životaschopnost. Jejich růst může opět začít v příznivějších podmínkách, například po stočení. Můžeme také pozorovat, že třísloviny zvyšují ochranu oxidem siřičitým proti narůstání těkavých kyselin. Účinnost oxidu siřičitého je větší na bakterie než na kvasinky. SO₂ působí na buňky zevnějšku, reaguje s jejich živinami v prostředí a s jejich stěnami změnou jejich propustnosti a zevnitř reaguje s bílkovinami a enzymy (Michlovský, 2012).

Při malé dávce SO₂ je jeho účinnost přechodná, velké dávky vyvolávají destrukci určité části původní mikrobiální populace. Účinnost dané dávky se zvyšuje snížením podílu původní populace, například filtrací. Během skladování působí proti všem mikroorganismům (kvasinky, mléčné bakterie a v menší míře octové bakterie) a zabraňuje tvorbě zákalů způsobovaných refermentací sladkých vín, rozvoji *Brettanomyces* a tvorbě etylfenolů, rozvoji mázdrových kvasinek (květ) a různým bakteriálním chorobám (Michlovský, 2012).

3.1.2 Antioxidační účinky

Oxid siřičitý chrání vína před intenzivní oxidací fenolových substancí (antokyany a třísloviny) a některých aromatických složek. Zabraňuje madeirizaci a pomáhá upevňovat dostatečně nízkou hladinu oxidoredukce, která je během uchovávání a vyzrávání vína prospěšná pro rozvoj sensorických vlastností vína. SO₂ reaguje s plynným nebo rozpuštěným kyslíkem a oxiduje se na sírany. Tato reakce je katalyzována ionty železa nebo mědi. Vytváření síranů dodává vínu nepříjemný dojem tvrdosti neboli kovovou pachut'. Někdy můžeme hovořit také o termínu „vysušování“ vína (Michlovský, 2012).

U červených vín je nejdůležitější interakce mezi SO₂ a polyfenoly. Polyfenoly jsou snáze oxidovatelné než SO₂, proto plní funkci ochránce SO₂. Dobré technické výsledky, které byly pozorované při velmi nízkých dávkách SO₂ v červených vínech s vyšším pH potvrzují synergii SO₂ s polyfenoly, včetně významné antiseptické aktivity (Michlovský, 2012).

3.1.3 Antioxidační účinky

Ochranné působení SO₂ u moštů a vín pocházejících z nahnilých hroznů bylo jednou z prvních zjištěných aktivit této substance. Oxid siřičitý inhibuje a snadno ničí současně oxidázu hroznů tyrosinázu a obtížněji oxidázu produkovanou plísní *Botrytis cinerea* – lakázu. SO₂ tímto mechanismem chrání mošty před oxidací ještě před jejich fermentačním startem. Zabraňuje rovněž oxidáznímu zákalu bílých a červených vín pocházejících z nahnilých hroznů (Michlovský, 2012a). Oxidace, které způsobují enzymy, jsou velmi rychlými procesy. SO₂ tyto enzymy úplně nebo částečně inhibuje. Ve vínech je standardně polyfenoloxidáza inaktivována za přítomnosti volného SO₂ (Michlovský, 2012).

Rychlost destrukce se zvyšuje s růstem obsahu SO₂. Destrukce lakázy vyžaduje vyšší dávky SO₂. Nicméně však zůstává reziduální oxidativní aktivita a tedy i nebezpečí pozdější oxidace, i když pomalejší, za delší dobu, avšak se závažnými následky. Touto sekundární oxidací vína vysvětlujeme vývoj chuti u mladých vín s obsahem tříslovin z hroznů mírně postižených hnilobou, chuti, která může být na začátku až velmi lichotivá, ale záhy následuje velmi zrychlené stárnutí s možnou destrukcí barvy a kvality. Aktivní formou by zde měl být

hydrogensulfid a ne aktivní SO₂ kalkulovaný jako H₂SO₃. Oxid siřičitý v dávce 5 mg/l značně snižuje oxidázní zákal.

3.1.4 Organoleptické účinky

Tím, že oxid siřičitý váže acetaldehyd a další podobné produkty alkoholové fermentace, chrání aroma vína, odstraňuje pachy zvětralosti, ale má vliv i na barvu a další organoleptické vlastnosti vína (Michlovský, 2012).

To že má SO₂ odbarvující účinky je známe už po tisíciletí. Tyto schopnosti jsou zřetelné i v mošttech a bílých i červených vínech. Jsou důsledkem reakce hnědých sloučenin, které vznikají oxidací např. polyfenolů nebo ze změn antokyanů a tříslovin. Tyto změny mohou být postupné, více nebo méně rychlé a reverzibilní. Jakmile se volný SO₂ ztratí oxidací nebo vznikem sloučenin s reaktivnějšími látkami (nižší disociační konstanta vůči SO₂), původní barva se vrací. Častá je reakce acetaldehydu, který vzniká oxidací etanolu, s polyfenoly. SO₂ reaguje na degradaci nepřímo, blokuje nebo likviduje oxidázní aktivity, popřípadě zabraňuje destrukci polyfenolů.

Zasíření právě sklizených hroznů ulehčuje a zrychluje extrakci buněčných stěn bobulí a uvolňování látek jako jsou antokyaniny a polyfenoly z vakuol buněk. Mošt a později víno je tak mnohem lépe zbarvené. Další možností je nižší obsah polyfenolů a volného SO₂. Dochází ke hnědnutí vína a sensoricky je víno zvětralé

Některé typy látek aromatického charakteru, například různé typy thiolů nebo kvasných esterů jsou velmi citlivé na oxidaci. Proto musíme tyto látky před oxidací chránit. K rozkladu těchto látek dochází buď hyperoxidací, nebo smísením s chinony, které vznikají oxidací polyfenolů. Ve víně je nutno udržovat dostatečnou koncentraci SO₂. Jedině tímto způsobem můžeme zabránit degradaci látek aromatického charakteru, nebo fenolových sloučenin citlivých na oxidaci.

Za nepřítomnosti volného oxidu siřičitého se ve víně projevují specifické pachy acetaldehydu (etanolu) pocházejícího z alkoholové fermentace nebo z oxidace etanolu, pachy zvětralosti, velmi zralého jablka, oxidační pachy a obecně nepříjemné pachy pro víno vůbec. Toto specifické blokování etanolu a dalších těkavých aldehydů je nenahraditelné a nutné pro

všechna vína s výjimkou „oxidativních“ vín, jako jsou sherry vína, vína z Jury apod. (Michlovský, 2012).

Oxid siřičitý má charakteristický zápach označovaný jako „pach po síře“, i přes to, že vlastní síra zapáchá jen málo. Tento pach je přímo úměrný podílu SO_2 vdechovaného spolu se vzduchem. Práh, při kterém vnímáme vdechovaný oxid siřičitý je přibližně 2 - 3 mg SO_2 ve formě H_2SO_3 na litr vína. Limitní hodnoty 20 - 60 mg/l nejsou přesné (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

3.1.5 Fyziologické účinky

U oxidu siřičitého byla studována akutní toxicita pro zvířata. Absorpce jednorázové dávky siřičitanů je mírně toxická. V závislosti na druhu zvířete, LD50 (letální dávka pro 50% jedinců) se pohybuje mezi 0,7 a 2,5 g oxidu siřičitého na kilogram tělesné hmotnosti. Z tohoto zjištění plyne, že například siřičitan sodný by měl akutní toxicitu podobnou neškodným produktům, jako je hydrogenuhličitan sodný nebo chlorid draselný. U zvířat byla rovněž studována chronická toxicita (Til et al., 1972). Během několika generací, jim byla pravidelně podávána strava obsahující 1,5 g SO_2 na kilogram tělesné hmotnosti. Výsledky výzkumu prokázaly nedostatek thiaminu spojený s jeho zničením oxidem siřičitým; histopatologické modifikace žaludku; a zpomalení růstu jedinců. Tato studie umožnila stanovit maximální netoxickou koncentraci pro potkany na 72 mg na kg tělesné hmotnosti. Tato hodnota vedla Světovou zdravotnickou organizaci (WHO) k nastavení RDA (doporučená denní dávka) na hodnotu 0,7 mg oxidu siřičitého na kilogram tělesné hmotnosti (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Pokud jde o jeho toxicitu u člověka, provedené studie ukazují výskyt příznaků intoxikace jako je nevolnost, zvracení a podráždění žaludku po požití značného množství (4 g siřičitanu sodného). U koncentrace 400 mg oxidu siřičitého nebyly pozorovány žádné vedlejší účinky v průběhu 25 dnů. Možná toxicita oxidu siřičitého byla často přičítána zničení thiaminu (vitaminu B1)siřičitany. Bylo ovšem pozorováno, že tento jev je velmi omezený při hodnotě pH přibližně 2, což odpovídá pH žaludku.

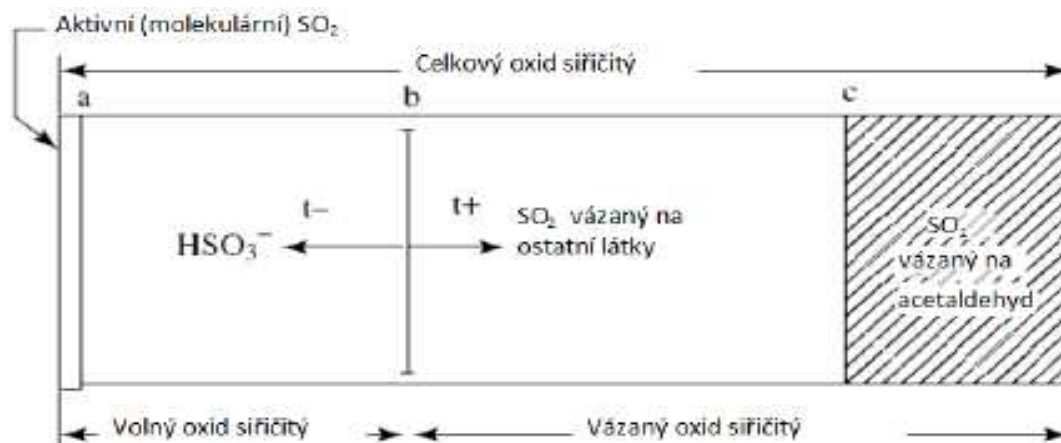
V roce 1973 byla prokázána alergická reakce na siřičitany. Ta se projevuje již při požití velmi nízkých koncentrací (asi 1 mg) a týká se především astmatiků (4 až 10% lidské populace). Astmatikům proto není doporučována konzumace vína (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Oxid siřičitý je tedy zařazen mezi látky způsobující alergie, a proto je nutné uvádět jeho přítomnost ve víně na etiketě, pokud je jeho koncentrace vyšší než 10 mg/l, jak udává legislativa. V Evropské unii toto pravidlo deklaruje směrnice 2000/13 ES z roku 2000.

3.2 Formy oxidu siřičitého ve víně

Není snadné vypočítat potřebné množství k síření, kvůli složité chemické rovnováze této molekule ve víně. Existuje v různých formách, které mají odlišné vlastnosti v závislosti na složení média (vína). Koncentrace SO_2 ve víně je obvykle vyjadřována v mg/l.

Oxid siřičitý je analyticky rozlišován na volný a vázaný, jejich součet pak udává veškerý nebo celkový SO_2 . Vázaný SO_2 se váže na různé produkty kvašení (acetaldehyd, kyselina ketoglutarová, kyselina pyrohroznová aj.) a nepůsobí pak ani antimikrobiálně a nedeaktivuje oxidační enzymy. Pro lidské tělo je rozhodující obsah veškerého SO_2 , proto nesmí víno při uvedení do oběhu přesáhnout zákonem dané hodnoty (Jackowetz et al., 2012, Jackowetz et al., 2013).



Obr. 1: Formy SO_2 ve víně (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

3.2.1 Aktivní SO₂

Většina účinků oxidu siřičitého se připisuje volnému SO₂. Později se však podařilo zjistit, že podstata jeho účinnosti, zejména proti mikroorganismům, je spojena s formou „molekulárního SO₂“ nazývaného „aktivní SO₂“ (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Z výzkumů vyplynulo, že aktivita volného SO₂ se zvyšuje zvýšením podílu alkoholu ve víně, ale rozdíly nejsou příliš výrazné (řádově o 0,1% aktivního SO₂ v případě prostředí vína). Aktivita volného oxidu siřičitého také rychle narůstá současně s teplotou. Při zvýšení teploty z 20 °C na 40 °C je aktivita až čtyřikrát vyšší.

Z pokusů vychází, že aktivita volného SO₂ se zvyšuje především s klesajícím pH čili rostoucí kyselostí prostředí. Výsledky popisuje tabulka 1.

Tab. 1: Nárůst aktivního SO₂ (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

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

3.2.2 Volný SO₂

Jedná se o ion kyselého siřičitanu (HSO₃⁻). Je tedy ve formě plně ionizovaných solí. Antiseptické vlastnosti volného SO₂ vůči kvasinkám nebo bakteriím jsou proměnné v závislosti na pH čili vztahu k aktivní formě. Vycházíme tedy z poznatku, že čím je víno kyslejší, tím je pach a nepříjemná chuť SO₂ větší; samozřejmě při stejné hodnotě volného

SO₂. Nedostatečná kvalita vína, chybějící odrůdové vůně a velmi vysoká acidita ovlivňují intenzitu vnímání volného SO₂. U zdravého vína může být tedy dávka SO₂ přehnaná, ale nepříjemný pach je menší než u vína nekvalitního.

Podíl volného SO₂ ve víně nezávisí tak silně na pH. Vyjadřuje však přebytek oxidu siřičitého, který se nevázal se složkami vína za vzniku vázaného SO₂. Zatímco molekulární SO₂ nás zajímá svou schopností aktivity vůči mikroorganismům ve víně, volný SO₂ je užitečný zejména svou antioxidační kapacitou. Jeho největší předností je schopnost vázat se s acetaldehydem a neutralizovat jeho oxidativní zápach. Volný SO₂ se také váže s barevnými látkami a může snižovat barevnost vína. U bílých vín se jedná o zamezení žloutnutí a u červených pokles barvy. Volný SO₂ se musí hodnotit odděleně od SO₂ molekulárního. Je tomu tak proto, že vína s nižším pH mají hodnoty molekulárního SO₂ dostačující na zničení a inhibici bakterií a kvasinek, zatímco volný SO₂ je na nízké hranici, aby dostatečně ochránil víno před oxidací. Dávku SO₂ musíme proto přizpůsobit podle množství volného SO₂ ve víně.

Pojetí volného a molekulárního SO₂ je třeba hodnotit současně ve vztahu k mikrobiologické stabilitě a ke kapacitě absorbovatelného kyslíku. Množství volného SO₂ musí být regulováno podle požadované ochrany proti oxidaci (Barril et al., 2012), zatímco koncentrace molekulárního SO₂ se upravuje podle cílených mikroorganismů a dále také podle chuťových vlastností vína. Od hladiny 1mg.l⁻¹ molekulárního SO₂ dochází ke štípání v nose. Není možné však regulovat odděleně molekulární SO₂ a volný SO₂. Pokud se zvýší koncentrace volného oxidu siřičitého pro jeho antioxidační schopnost, zvýší se i hodnota molekulárního SO₂ a jeho agresivita v sensorickém vnímání (Grant-Preece et al., 2013).

3.2.3 Vázaný SO₂

Vázaný oxid siřičitý je součtem všech siřičitanů vázaných na sloučeniny vína. Tyto jednotlivé sloučeniny nejsou sensoricky rozpoznatelné při degustaci. Důležitou hodnotou je přijatelná denní dávka, kdy ještě nedochází ke zdravotním komplikacím (Ishiwata et al., 2003). Označujeme ji jako ADI a počítá se podle celkového SO₂ ve víně, jehož většina je vázána (Corte et al., 2012). Z hlediska technologického má vázaný SO₂ malý význam. Nepůsobí antioxidačně ani na kvasinky a jeho působení na mléčné bakterie má malý vliv. Na jejich inhibici je třeba asi desetkrát více vázaného oxidu siřičitého než volného SO₂.

Vázaný oxid siřičitý je takzvaná „paměť“ vývoje vína“. Udává kvalitu hroznů a následně enologické práce (Saidane et al., 2013). Hladina vázaného a volného SO₂ je přímo úměrná technologickým postupům ve vinařství. Čím menší je koncentrace celkového SO₂, tím je přístup vinaře k pěstování hroznů a technologii vína šetrnější. Znamená to důkladnější přístup a ošetřování pěstovaných hroznů, lepší kontrolu nad hygienou ve sklepních prostorách a samotném víně a také správné uložení vína (manipulace bez přístupu vzduchu).

Nejlepším vinařem z tohoto pohledu je ten, který s úspěchem produkuje velké víno, plného výrazu typičností oblasti s nejmenší koncentrací SO₂.

Tab. 2: Vlastnosti různých forem oxidu siřičitého využívané pro uchovávání vín (Ribéreau-Gayon et al., 2006)

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

3.2.4 Endogenní SO₂

kvasinky produkují malá množství SO₂ během fermentace. Obecně platí, že množství, které vytvoří, nepřesáhne 10 mg/l, ale v určitých případech toto množství může překročit i 30 mg/l.

Tímto označením se nazývá forma oxidu siřičitého, kterou obsahují vína bez jakéhokoliv síření. Endogenní SO₂ vzniká enzymatickou činností kvasinky. Kvasinka transformuje málo se vyskytující elementární síru na sirné aminokyseliny (cystein, cystin, metionin, glutation) a jejich deriváty – sírany. Produkce endogenního SO₂ se pohybuje od několika mg/l až po 40 mg/l, v některých případech až do 150 mg/l. Tato produkce je proporcionální se spotřebou cukrů. Vyšší je při nižších teplotách a především v anaerobních podmínkách, dále ve velmi čirém fermentačním prostředí – nízkou turbiditou moštu, tedy v ostře vyčiřených moštech, stejně jako při nedostatku aminokyselin metioninu či cysteinu.

Dále závisí tvorba endogenního SO₂ také na kmenu kvasinek. Tvorba je vysoká u kvasinek citlivých na SO₂, které jsou normálně inhibovány zasířením moštu. Naopak existují uměle vyselektované kvasinky, které mají práh odolnosti vyšší. Většina vyselektovaných kmenů kvasinek produkuje SO₂ v menší míře (Bizajet al., 2012, Ribéreau-Gayon et al., 2006, Maurizio Ugliano et al., 2011).

3.3 Sloučeniny vázající oxid siřičitý

Rozdíl mezi volným a vázaným SO₂ je znám více než jedno století. Nejdříve byl rozdíl připisován slučováním oxidu siřičitého s cukry, acetaldehydem a později i s dalšími látkami. Celý proces tvorby vazeb oxidu siřičitého a dalších substancí je však stále málo poznán (Saidane et al., 2013).

Mezi nejdůležitější vazby SO₂ ve vínech patří vazby s karbonylovými sloučeninami. Jsou to látky, které mají jednu nebo více aldehydových a ketonových funkcí. Je dokázáno, že nejreaktivnější formou oxidu siřičitého je HSO₃⁻ (molekulární SO₂) (Jackowetz et al., 2013).

Sloučeniny, které vytvářejí vazby SO₂ v mošttech a ve víně:

- V mošttech, které pocházejí převážně ze zdravých hroznů, váže téměř všechno volný oxid siřičitý kyselina pyrohroznová, kyselina 2-oxoglutarová a glukóza.
- Ve vínech bílých je vazba se sloučeninami připisována hlavně acetaldehydu. Vedle acetaldehydu váže volný SO₂ (stejně jako v mošttech) kyselina pyrohroznová a kyselina 2-oxoglutarová.
- U hroznů postižených hnilobami se vyskytují však i jiné sloučeniny, silně vázající volný SO₂. V těchto podmínkách se dostáváme k úplné bilanci vázaného SO₂.
- V červených vínech dochází k vazbám oxidu siřičitého společně s antokyany a dalšími fenolovými sloučeninami.

3.3.1 Acetaldehyd

Acetaldehyd představuje největší část SO₂ vázaného ve víně. Jeho hodnota K je extrémně nízká (0,0024 x 10⁻³ M) a tomu odpovídá navázání více než 99% molekul s SO₂ za vytvoření molekul kyseliny acetaldehyd siřičité. Jeho obsah ve víně se pohybuje od 30 do 130 mg.l⁻¹ a odpovídá vázanému SO₂ v hodnotách 44–190 mg.l⁻¹. Jeden mg acetaldehydu na sebe naváže 1,467 mg oxidu siřičitého. Přítomnost volného acetaldehydu se považuje za nemožnou ve víně, které obsahuje volný SO₂. Avšak, bez přítomnosti volného SO₂, kyselina acetaldehyd siřičitá uvolňuje stopové množství acetaldehydu. O něm se říká, že je zodpovědný za plochost vína.

Ve víně, kde je nižší obsah volného SO₂, uvolňuje nízká disociace kyseliny aldehyd-sírové stopy acetaldehydu. Tato reakce má za následek stopy zvětralosti ve víně. Důležitým poznatkem je právě nepřítomnost volného acetaldehydu ve víně, pokud víno obsahuje volný SO₂ (Jackowetz et al., 2013).

Vazba acetaldehydu probíhá velice rychle. Například při pH 3,3 dosahuje vázání SO₂ na acetaldehyd až 98 % během 90 minut. Po dalších pěti hodinách je vázání již zcela ukončeno.

Acetaldehyd ve víně je meziprodukt při produkci etanolu z cukrů. Tvoří se tedy hlavně při alkoholové fermentaci. Nejvyšší koncentrace se vyskytují za přítomnosti volného SO₂ a

aktivní kvasinky. Podíl acetaldehydu je větší při zdlouhavých fermentacích a při nedostatku tiaminu (Bartra et al., 2010, Jackowetz et al., 2013).

Tvorba acetaldehydu

Acetaldehyd se tvoří více způsoby, ale jeho hlavním zdrojem je alkoholová fermentace. Je jejím meziproduktem, vzniká dekarboxylací kyseliny pyrohroznové. Vyšší hodnoty acetaldehydu ve víně jsou pozorované při zasiřené moštu. Při vysokém zasiřené moštu může jeho koncentrace přesáhnout 100 mg/l. Tvorba acetaldehydu je způsob obrany kvasinek před antiseptickými účinky SO₂ (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Z toho důvodu nám všechen SO₂ přidaný do moštu před fermentací zvyšuje hodnotu vázaného SO₂. Stejně tak je zbytečné přidávat SO₂ do kvasícího moštu.

Pokud se snažíme zastavit fermentaci a ponechat ve víně vyšší množství zbytkového cukru, je vhodné před přidáním SO₂ snížit aktivitu kvasinek například podchlazením a nebo snížit jejich množství filtrací.

Tvorba acetaldehydu je totiž ochranným nástrojem kvasinky právě proti volnému SO₂, proto hlavně šíření rmutu rozhoduje o podílu acetaldehydu a tím i o podílu vázaného SO₂ ve víně.

Pokud je naším cílem vyrábět vína s nízkým podílem vázaného a také celkového SO₂, je doporučováno omezit přidávání SO₂ do kvasícího a dokvášejícího moštu. V tomto případě je oxid siřičitý ihned vázán a ztratí jakoukoliv účinnost. Důkazem jsou mnohé pokusy, které vykazují vyšší kapacitu vázání zasiřených moštů (asi o 40 mg.l-1) oproti nezasířeným (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Další možností vzniku acetaldehydu je chemická oxidace etanolu během skladování vína. Pokud je ve víně nulové množství volného SO₂, stačí přidat malé množství SO₂, aby se vzniklý acetaldehyd navázal.

Zdrojem acetaldehydu může být také hrozen napadený šedou hnilobou. Jeho koncentrace se v moště z takového hrozna pohybuje okolo 10 - 20 mg/l. Při šíření takového moštu musíme počítat s tím, že určitá část SO₂ okamžitě přejde do vázané formy (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

3.3.2 Ketokyseliny

Ve víně se vyskytují pravidelně dvě ketokyseliny, a to kyselina pyrohroznová a kyselina 2-oxoglutarová. Jedná se o sekundární produkty alkoholové fermentace. Tyto kyseliny sehrávají důležitou roli v podílu kombinací s SO₂. Množství vázaného oxidu siřičitého těmito dvěma kyselinami je různé (F. Sonni et al., 2011).

Průměrný procentický obsah kyseliny pyrohroznové a 2-oxoglutarové ve vázané formě SO₂ je 20,7% a 16,7%, v daném pořadí. Je proto zajímavé pochopit tvorbu a hromadění těchto kyselin během alkoholové fermentace. Jejich největší podíl vzniká na začátku kvasného procesu a směrem ke konci fermentace se jejich obsah snižuje. To vysvětluje vyšší koncentraci těchto sloučenin u sladkých vín na rozdíl od vín suchých (Wells et al., 2012).

Syntézu a hromadění ketonových kyselin podporuje zvýšená teplota během fermentace, vyšší hodnota pH a také přítomnost kyslíku. Přítomnost thiaminu (v koncentraci 0,5 mg/l) snižuje obsah těchto látek, což není nijak překvapující, jelikož tvoří hlavní složku enzymu pyruvát dekarboxylasa, který zajišťuje dekarboxylaci kyseliny pyrohroznové za vzniku acetaldehydu. Toto je zásadní krok během alkoholového kvašení. Vysoký obsah ketonových kyselin je tedy zřejmě spjat také s nedostatkem thiaminu (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

S akumulací kyseliny pyrohroznové souvisí i jiné látky. Je totiž substrátem pro vznik acetoinu a diacetilu, které mají také karbonylovou skupinu a tedy též poutají SO₂. V anaerobních podmínkách vzniká z kyseliny pyrohroznové v Krebsově cyklu kyselina 2-oxoglutarová.

3.3.3 Cukry a deriváty cukrů

Je známo, že v molekulách cukrů existují aldehydické funkce a ketofunkce, které dokážou vázat oxid siřičitý. Některé cukry jako fruktóza a sacharóza prakticky žádný SO₂ nevážou, naopak arabinóza reaguje (gram arabinózy váže kolem 8 mg SO₂ při obsahu 50 mg volného SO₂ na litr). Vzhledem k tomu, že obsah arabinózy ve víně je menší než jeden gram, tato vazba se zanedbává.

Dalším cukrem je glukóza, která má zřetelně menší vazebnou schopnost (1 g glukózy váže asi 0,3 mg.l⁻¹ SO₂). Je však zastoupena v mošttech a likérových vínech ve velkém množství, proto má tato vazba vliv na pokles koncentrace volného SO₂ (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Důležitou sloučeninou je keto-5-fruktóza (5-oxofruktóza). Tato substance se vyskytuje v řádově stovek mg.l⁻¹ právě v mošttech botritických hroznů. Produkují ji z fruktózy octové bakterie typu glukonobakter. Její koncentrace vzrůstá se zvyšující se schopností vázat SO₂ (Comitini et al., 2007).

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

3.3.4 Dikarboonylové molekuly

Látky, které mají dvě karboonylové skupiny. Vyskytují se v mošttech z hroznů zasáhnutých hnilobou. Tvoří se převážně z důsledku rozvoje *Botrytis cinerea*. Jedná se především o glyoxal a methylglyoxal. Tyto látky nepřesahují koncentraci 3 mg.l⁻¹. Koncentrace glyoxalu a methylglyoxalu ovšem rapidně klesá při alkoholové fermentaci, proto mají uvedené dvě sloučeniny ve vínech při vázání SO₂ jen zanedbatelnou roli (Saidane et al., 2013).

3.3.5 Jiné vazby

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

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

3.4 Snížení potřeby SO₂ využitím technologie Surlie

Jednou z technologických metod jak snížit používání SO₂ při výrobě vína je surlie neboli ležení na kvasnicích. V zásadě se pod tímto pojmem rozumí ponechání hotového, prokvašeného vína na kvasničných kalech, kdy časem dochází k autolýze kvasinek – rozpuštění buněčné stěny, a tak k přechodu různých látek obsažených uvnitř kvasinek do vína. Úspora síření spočívá ve využití redukční síly kvasinek. Vína typu surlie se nevyrábějí jen pro úsporu SO₂, ale především kvůli vzniku kulatějších a stabilnějších vín s delší životností (Gallardo-Chacon et al., 2010, Jackowetz et al., 2012, Pavelescu et al., 2012). Při vínech surlie je často požadováno biologické odbourání kyselin a tak je mošt či mladé víno sířeno jen minimálním množstvím SO₂.

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

Význam sloučenin vzniklých autolýzou kvasinek:

- Polysacharidy zvyšují objem a kulatost vína v chuti.
- Mannoproteiny se vážou s antokyany a tříslovinami a zvyšují barevnou stabilitu a snižují trpkost v chuti.
- Látky z odumřelých kvasinek slouží jako výživa při jablečno-mléčné fermentaci.
- Zvyšuje se délka patra a struktura vína při pozdním uvolňování těkavých látek v polysacharidovém systému.
- Zabraňuje se oxidaci látek ovocných vůní.
- Při procesu proteolýzy dochází k hydrolýze bílkovin na aminokyseliny a peptidy, uvolnění většího množství dusíkatých látek, a to způsobuje složitější chuť vína (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

3.4.1 SO₂ při zpracování hroznů při metodě surlie

Důležité je vyhýbat se hroznům, které mají velké množství tzv. elementární síry (příliš vysoké dávky sirných postřiků ve vinohradě, nevhodný termín ochrany); ta poskytuje velké množství sirných živin pro kvasinky před kvašením a dochází k produkci velkého množství sirovodíku. Nesprávné šíření během zpracování hroznů rovněž vede k velkým problémům. Jestliže přidáváme velké množství SO₂ do moštu, dochází v průběhu fermentace k vyvázání SO₂ s acetaldehydem. Acetaldehyd se přirozeně v průběhu fermentace snižuje za vzniku etanolu. Pokud je nedostatek acetaldehydu v moštu, mohou se následně určité oxidované komponenty sirných látek v moštu, např. sulfáty SO₄²⁻ snáze přeměňovat na sirovodík. Kromě toho se může samotný SO₂ přeměnit na síru elementární a objevit se během následného kvašení či zrání vína ve formě sirovodíku (Kritzinger et al., 2013).

3.4.2 SO₂ při výrobě vín surlie

Vína obsahují malé množství tzv. endogenní SO₂ i bez jakéhokoliv šíření. Enzymatické systémy kvasinky transportují málo se vyskytující elementární síru na sirné aminokyseliny (cystein, cystin, metionin, glutation) (Kritzinger et al., 2012). Produkují se i další aminokyseliny ze sulfidů a jiných těkavých vonných sloučenin, ze síranů a siřičitanů. Produkce SO₂ se pohybuje od několika mg.l⁻¹ až po 30–40 mg.l⁻¹, v některých situacích až do 150 mg.l⁻¹. Tato produkce je proporcionální se spotřebou cukrů. Vyšší je při nižších teplotách a především v anaerobních podmínkách, dále ve velmi čirém fermentačním prostředí – nízkou turbiditou moštu, tedy v ostře vyčiřených mošttech, stejně jako při nedostatku aminokyselin metioninu či cysteinu. Závisí také na kmenu kvasinek, je vyšší u kmenu citlivých na SO₂, které je možné snadno tlumit zasířením moštu (MaurizioUgliano et al., 2011).

Víno by nemělo být zasířeno během doby zrání na kalech, protože by mohlo dojít ke zvýšení koncentrace sirovodíku H₂S. Ten se během zrání na kalech oxiduje a váže na jiné sloučeniny (Gobbi et al., 2013). Pokud je víno určeno ke zrání na kalech, je vhodné stanovit dávku SO₂ přibližně na 30 mg.l⁻¹. Kvasinky samy produkují určité množství sirovodíku, ale pokud při dokončení fermentace není sensoricky zaznamatelné, jen málokdy se tak stane později. To

v praxi znamená, že po dokvašení není nutné přidávat SO₂, neboť kaly mají vysokou antioxidační schopnost. Je třeba si ovšem uvědomit, že ponecháním vína delší dobu na kvasnicích v příliš reduktivních podmínkách přináší i několik rizik – např. vznik „sirky“. V podmínkách sudu pak možnou podporu kvasinek *Brettanomyces*, a tím i vznik nežádoucích „koňských pachů“ (Bizaj et al., 2012, Styger et al., 2011).

Je třeba mít na paměti, že brzké použití SO₂ po kvašení zvyšuje počet sloučenin tvořících vázaný SO₂. Nadměrné síření má tendenci inhibovat vůni a chuť dřeva ve víně, ale nedostatečný obsah SO₂ zase může způsobovat předčasné stárnutí vína a snižovat tělnatost.

3.4.3 Malolaktická fermentace (MLF) při výrobě vín surlie

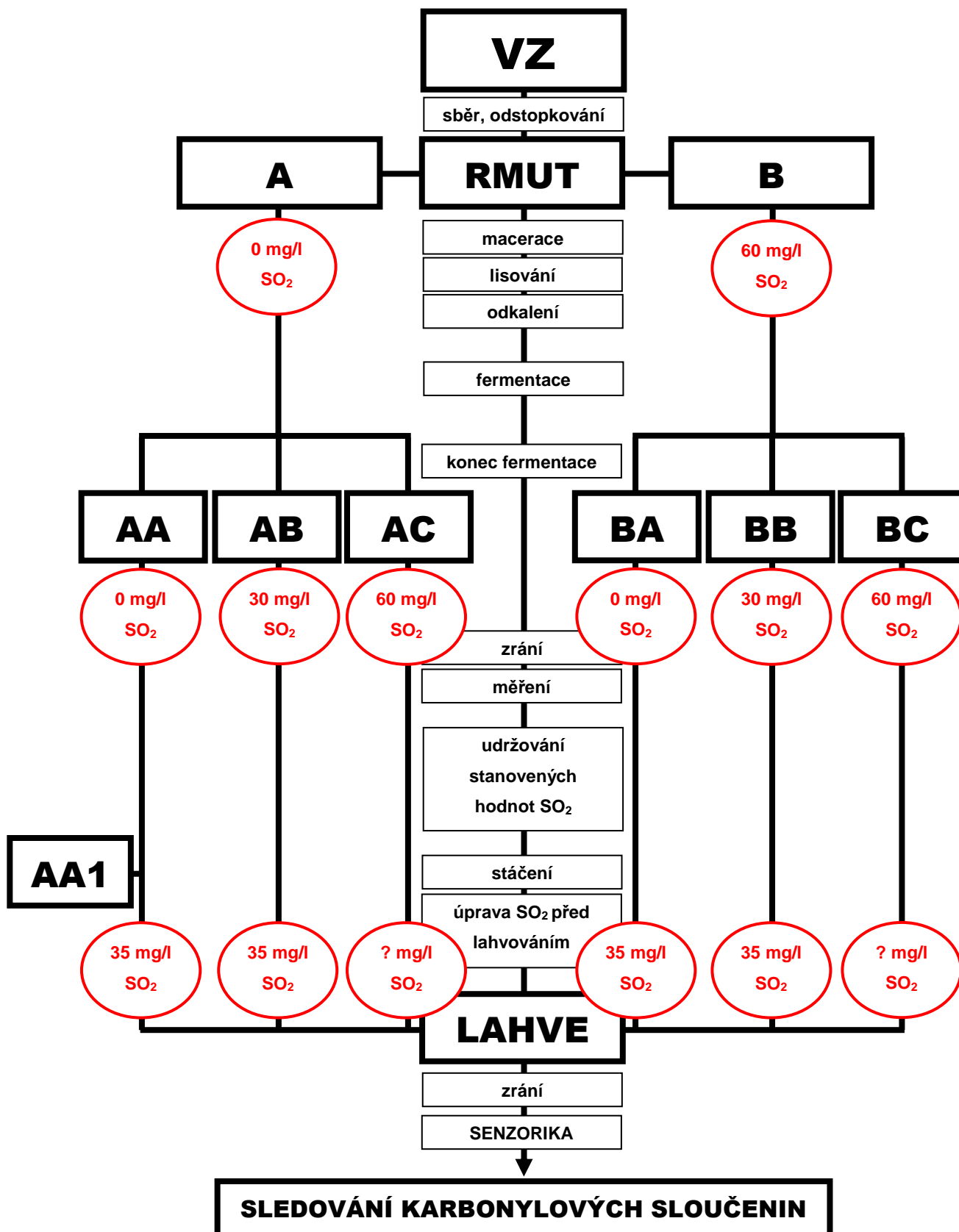
Malolaktická (od malic acid = kyselina jablečná, lactic acid = kyselina mléčná) fermentace, jablečno-mléčná fermentace či biologické odbourání kyselin je proces, při němž dochází k přeměně v chuti drsné kyseliny jablečné, přirozeně vyskytující se v hroznech, na jemnější kyselinu mléčnou. Víno, u něž proběhla MLF, je ve výrazu plnější a kulatější, má jemnější a sametovější kyselinu. Dalším nesporným kladem tzv. „odbouraných vín“ je vyšší stabilita a nižší potřeba oxidu siřičitého. Mnozí vinaři také sdílí pocit, že pro přirozenější souhru ovocnosti a dubového charakteru lze dosáhnout, pokud je MLF provedena v sudu (barrique). Z pohledu konzumenta je MLF technologickým krokem k produktu s nižším obsahem alergenu – SO₂.

Když proběhne MLF u vína typu surlie, nemělo by být ve víně téměř žádné množství SO₂ (volné – nulové množství, jen co vyprodukují samy kvasinky; vázané pouze okolo 20–30 mg.l⁻¹), aby došlo k nastartování MLF a víno bylo částečně bráněno před oxidací pomocí SO₂. Sama metoda surlie v této situaci chrání víno před oxidací (míchání kalů chrání víno a sama produkce kvasinek SO₂), ale také může docházet k nebezpečnému rozvoji nežádoucích bakterií. Nejbezpečnější výsledek proto přináší možnost očkování čistou kulturou bakterií na konci alkoholové fermentace nebo již v průběhu kvašení – zde je riziko, že kvašení neproběhne úplně, u přezrálého materiálu s vysokým pH také vznik kyseliny octové z metabolismu cukrů mléčnými bakteriemi. Doba bez SO₂ má pro MLF kladný význam, neboť autolýza kvasinek pozitivně stimuluje bakterie a funguje jako dusíkatá a mikroprvková výživa. SO₂ představuje pro bakterie velmi silný inhibitor. V případě vín, u kterých

neproběhla MLF, je dobré hladinu SO_2 držet na nízké úrovni okolo 20 mg.l^{-1} volné SO_2 , nebo nechat víno úplně bez přídavku SO_2 a sledovat, zda MLF proběhne zdárně během ležení. Tato metoda však přináší vždy vyšší riziko defektů (Butzke et al., 2011, Ribéreau-Gayon et al., 2006).

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Schéma experimentu



4.2 Materiál

4.2.1 Výběr odrůdy

Pro experiment byla vybrána odrůda Veltlínské zelené, která je typickou středoevropskou odrůdou. Největší výsadby jsou v Rakousku, dále se pěstuje v Maďarsku, bývalé Jugoslávii a na Slovensku. V České republice patří mezi nejvíce pěstované bílé moštové odrůdy, s celkovou osázenou plochou 1994,4 ha.

List je středně velký až velký, listová čepel je středně hluboce pětilaločnatá. Spodní strana listové čepele je slabě ochlupená. Řapíkový výkrojek je překrytý s eliptickým průsvitem. Hrozen je Velký, válcovitě kuželovitý, třapina je u svého základu vícekrát rozvětvená. Uspořádání bobulí v hroznu je středně husté až husté. Bobule je středně velká, žlutozelená, při plné vyzrálости nazlátlá s tečkou. Slupka bobule je voskovitě ojměná. Jednoleté dřevo je šedohnědé.

Kvalitní sklizně a vína poskytuje tato odrůda pouze ve velmi dobrých polohách. Vyžaduje vždy slunné, vzdušné a teplé polohy. Je vhodná na střední a horní části svahovitých pozemků. Vzhledem ke své vysoké plodnosti je náročná na půdní podmínky. Vyžaduje půdy hluboké a dobře zásobené živinami. Nejlepší jsou hlinité nebo sprašové půdy s dostatečnou vododržností. Nejsou vhodné mělké, málo úrodné nebo suché půdy, na kterých slaběji roste, vytváří tenké plodné dřevo a špatně plodí. Nesnáší silně vápenaté půdy.

Je středně odolná proti zimním mrazům, jarní mrazy ji poškozují silněji. Odolnost k houbovým chorobám je nízká. Odrůda má vysokou citlivost na padlí révy a plíseň révy. Odolnost k šedé hnilobě je střední. V mokrých, chladných a silně vápenitých půdách dochází k poruchám ve výživě.

Doporučené zatížení pro produkci přívlastkových vín z této odrůdy je 6 – 8 oček na m². Vhodným pěstitelským tvarem je vysoké vedení s řezem na tažně. V teplých lokalitách a na Slovensku se pěstuje i na jednoduchém závěsu. V Rakousku se tato odrůda velmi často pěstuje metodou minimálního řezu. Hrozny mají velmi zajímavou aromatickou kvalitu a vyšší kyselinu.

Vhodnými parametry sklizně je aromatická zralost bobulí. Aromatickou zralost lze hodnotit na základě zbarvení slupky bobulí a chuťových dojmů v bobuli. Optimální aromatickou zralostí je, jestliže je slupka zlatavá. Jakmile začnou převažovat nahnědlé tóny v bobulích, je již aromatická kvalita horší. Významné je dále sledování cukernatosti a obsah kyselin.

Víno je aromatické s charakterem domácího ovoce, mandlovým aromatem, tóny lipového květu, tóny chřestu a zeleného pepře. Víno má velmi dobrou chuťovou plnost a pikantní kyselinu (Pavloušek, 2007).

4.2.2 Průběh experimentu

Zpracování hroznů

Dne 19.10.2015 byl proveden ruční sběr hroznů odrůdy Veltlínské zelené. Vinice, na které byly tyto hrozny vypěstovány, se nachází v oblasti Morava, podoblasti Velkopavlovická, vinařské obce Kobylí, viniční trati Padělky. Vinice je s jižní expozicí, vysázena na jílovitohlinité půdě roku 2009. Zatížení keřů bylo v průběhu vegetace poměrně vysoké, proto došlo v prvním týdnu září k redukci násady. Hrozny byly v perfektním zdravotním stavu a byly zpracovány na mlínkoodstopkovači. Při této operaci došlo k rozdělení rmutu na dvě varianty (označení A a B) o objemu 300 l a také byl odebrán vzorek pro měření základních analytických parametrů moštu (naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 3).

Okamžitě po zpracování hroznů byl rmut varianty B ošetřen dávkou 60 mg/l oxidu siřičitého, v podobě 12 g disiřičitanu draselného na hektolitr rmutu. Varianta A zůstala bez ošetření. Zde došlo k odebrání prvního vzorku z každé varianty pro měření volného a veškerého SO₂ a karbonylových sloučenin. Pro zamezení přílišné oxidace byly obě varianty přikryty igelitovou fólií a macerovány 24 hodin při teplotě rmutu nepřesahující 10°C. Po uplynutí této doby byly varianty šetrně lisovány na horizontálním mechanickém lisu. Prvních 200 l moštu z každé varianty bylo stočeno do nádob a došlo k aplikaci 50 g/hl bentonitu (Aktivbent od firmy Lipera) pro usnadnění sedimentace při odkalování. Následující den, tedy 21.10.2016, byly odebrány vzorky k měření a poté byly varianty stočeny z usazených kalů a zakvašeny čistou kulturou kvasinek od firmy Lafort s názvem VL1. Odebrané vzorky byly zamrazeny, měření proběhlo dne 14.4.2016.

Tab. 3: Parametry vstupní suroviny

Cukernatost	19,1°NM
Veškeré kyseliny	7,7 g/l
pH	3,24
Asimilovatelný dusík	233 mg/l

Fermentace

Nástup fermentace byl u varianty A patrný už několik hodin po inokulaci, kdežto u varianty B byl pozorován až zhruba po třech až čtyřech dnech od zakvašení. Fermentace probíhala při sklepní teplotě 10 – 12°C. Nebyla použita technologie řízeného kvašení. Varianta A fermentovala pozvolně a čistě, konec fermentace byl zaznamenán po patnácti dnech. Průběh fermentace varianty B byl také pozvolný, však přibližně v jeho polovině byl zaznamenán mírný projev sirkových tónů v kvasícím moštu. Fermentace byla ukončena po 23 dnech.

Školení vína

Po ukončení fermentace byly varianty stočené z hrubých kvasničných kalů a každá byla rozdělena na další tři varianty o objemech 50 litrů. Vzniklo tedy 6 konečných variant experimentu, které dostaly označení AA, AB, AC (vzešlé z varianty A) a BA, BB, BC (z varianty B). Ihned po rozdělení variant došlo k aplikaci oxidu siřičitého u variant AB a BB v množství 30 mg/l, u variant AC a BC 60 mg/l a varianty AA a BA nebyly sířeny vůbec, pouze u nich docházelo k občasnému promíchání jemných kalů (cca 1x za týden). Po prvním síření byly odebrány vzorky všech variant a byly podrobeny analýze volného a veškerého SO₂. Po měření došlo k úpravě SO₂ ve vzorcích na stanovené hodnoty (0 mg/l, 30 mg/l, 60 mg/l). Vzorky k měření byly odebírány přibližně jednou za 14 dnů. KEG sudy, ve kterých víno zrál, byly při každém odběru dolévány totožným vínem uskladněným v PET lahvích tak, aby nevznikala v nádobách příliš velká oxidační plocha, jejímž působením by docházelo k negativnímu ovlivnění výsledků experimentu. Po každém stanovení SO₂ bylo upraveno i jeho množství ve víně na požadovanou hodnotu. Pro úpravu SO₂ byl připraven roztok disiřičitanu draselného, jehož 100g bylo rozpuštěno v destilované vodě a doplněno po rysku nádoby o objemu 1 l (přidáme-li pak 1 ml takového roztoku do 50 l vína, víno bude dosířeno

o 1 mg/l). Tímto způsobem bylo pracováno s variantami po dobu tří měsíců. Všechny zrály na jemných kalech a nijak s nimi nebylo manipulováno (s výjimkou variant AA a BA, u kterých docházelo k míchání jemných kalů a nebo mírnou homogenizací ostatních variant v případech, kdy byly dosířené), aby nedocházelo k vyvazování SO₂ a tedy ovlivnění výsledků. K měření bylo odebíráno vždy 200 ml vína z každé varianty přibližně ze středu nádoby. Varianty AA a BA byly pokaždé před odběrem promíchávány. 25 ml vzorku bylo vždy zamraženo pro měření karbonylových sloučenin, které proběhlo dne 14.4.2016. Zbýlých 175 ml bylo použito pro měření volného a veškerého oxidu siřičitého.

Finalizace vína

Dne 24.2.2016 byly všechny varianty stočeny do demižonů o objemu 40 l. Při tomto úkonu došlo k jejich provzdušnění a úpravě SO₂ na hodnotu, při které budou vína lahvována. U variant AC a BC nebyla hodnota SO₂ nijak upravována. Ostatní varianty byly sířeny na hodnotu 35 mg/l volného SO₂. Následující den bylo provedeno kontrolní měření všech vzorků a dle naměřených hodnot byla míra oxidu siřičitého opět upravena na požadovanou hodnotu. Dne 8.3.2016 byla opět provedena kontrola volného SO₂. Naměřená množství SO₂ přibližně odpovídala jeho požadovanému obsahu (nedocházelo již k vyvazování volného SO₂) a proto byly varianty následující den lahvovány. K měření bylo odebíráno vždy 200 ml vína z každé varianty přibližně ze středu nádoby. 25 ml vzorku bylo pokaždé zamraženo pro měření karbonylových sloučenin, které proběhlo dne 14.4.2016. Zbýlých 175 ml bylo použito pro měření volného a veškerého oxidu siřičitého. Před sířením varianty AA byly naplněny tři lahve tímto vínem, čímž vznikl sedmý vzorek (označovaný AA1), který byl 14.4.2016 také podroben měření a senzorické analýze.

Lahvování a zrání

Dne 9.3.2016 proběhlo lahvování všech variant a to následujícím způsobem. Z každé varianty bylo postupně odebráno 10 l vína. U tohoto množství došlo k úpravě SO₂ na požadovanou hodnotu (35 mg volného SO₂, pouze varianty AC a BC nebyly sířeny, neboť obsahovaly vyšší množství volného SO₂) a poté byly naplněny a uzavřeny korkovou zátkou tři lahve. Lahve byly označeny a uskladněny ve sklepě, kde víno celou dobu zrál (10 – 12°C). Dne 14.4.2016 bylo sedm variant postaveno před skupinu devíti degustátorů, kteří je senzoricky zhodnotili.

Před senzoričným hodnocením (ihned po otevření lahvi) bylo odebráno 300 ml vína k měření. 25 ml vzorku bylo použito k měření karbonylových sloučenin, zbylých 275 ml pro měření volného a veškerého oxidu siřičitého, stanovení termolabilních bílkovin a stanovení základních analytických parametrů jednotlivých variant. Tímto byl experiment uzavřen.

4.3 Metody měření

Metody měření byly zvoleny na základě dostupnosti analytických přístrojů v laboratoři ústavu vinohradnictví a vinařství a na základě zkušeností s danými metodami. Všechny použité analytické metody patří do referenčních metod, tudíž je jejich spolehlivost více než dostačující.

4.3.1 Stanovení cukernatosti – Refraktometrie

Princip: Obsah cukru v moštiě stanovíme na základě měření indexu lomu světla refraktometrem (Balík, 2006).

Přístroje a pomůcky: Kapesní digitální refraktometr PAL firmy ATAGO.

Postup: Naneseme přiměřené množství destilované vody na čidlo přístroje a kalibrujeme. Poté je možné měřit vzorky mošti. Refraktometr zobrazuje naměřené hodnoty v Brixově stupnici. Pro převod na stupně normovaného moštoměru použijeme následující vztah:

$$(^{\circ}\text{Brix} \times 1,5768) - 4,26$$

4.3.2 Stanovení pH

Princip: Hodnota pH je záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových kationtů v moštiě nebo víně. Stanovuje se na základě měření potenciálu skleněné elektrody, jenž závisí od

aktivity vodíkových kationtů, vzhledem k referenční kalomelové elektrodě vhodným milivoltmetrem (pH-metrem), kalibrovaným tlumivými roztoky o známém pH (Balík, 2006).

Přístroje a pomůcky: pH-metr, kalomelová, skleněná a platinová elektroda.

Chemikálie a roztoky: Tlumivé roztoky o známém pH, blízkém oblasti měření.

Postup: Přípravu tlumivých roztoků a kalibraci pH-metru provádíme při laboratorní teplotě podle typu přístroje a doporučení výrobce. V množství 20 až 50 ml vína nebo moštu při laboratorní teplotě měříme hodnotu pH.

4.3.3 Stanovení veškerých titrovatelných kyselin

Princip: Veškerými titrovatelnými kyselinami (veškerou kyselostí vína) se rozumí suma sloučenin titrovatelných odměrným alkalickým roztokem do pH 7. Kyselinu uhličitou do veškeré kyselosti nezahrnujeme (Balík, 2006).

Přístroje a pomůcky: Automatický titrátor „TitroLine® easy“, kombinovaná pH-elektroda, kádinka (objem 50 - 100 ml), magnetické míchadlo, nedělená pipeta (10 ml).

Chemikálie a roztoky: Odměrný roztok NaOH (koncentrace 0,1 mol.l⁻¹) o známém faktoru, uchovávací roztok na elektrodu (3 mol.l⁻¹KCl), destilovaná voda v baňce se sklopnou pipetou.

Postup: Koncovou hodnotu pH nastavíme na 7. Elektrodu vyjmeme z uchovávacího roztoku a opláchneme destilovanou vodou. Nedělenou pipetou odměříme 10 ml vzorku do 50 ml kádinky. Pomocí sklopné pipety přidáme 10 ml destilované vody a vložíme magnetické míchadlo. Kádinku se vzorkem umístíme na elektrickou míchačku u titrátoru, vložíme dávkovací špičku a elektrodu tak, aby byl ponořen její spodní výřez. Rychlost míchání nastavíme na střední hodnotu. Jakmile se hodnota pH ustálí, můžeme titrovat. Po ukončení automatické titrace odečteme spotřebu odměrného roztoku NaOH a pomocí uvedeného vztahu vypočteme množství veškerých titrovatelných kyselin ve vzorku v gramech na litr.

$$x = a \cdot f \cdot 0,75$$

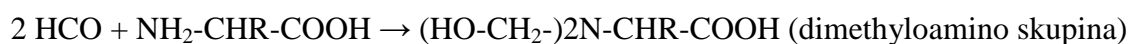
x...g.l⁻¹ veškerých titrovatelných kyselin

a... spotřeba NaOH v ml

f... faktor NaOH

4.3.4 Stanovení asimilovatelného dusíku – Formaldehydová titrace

Princip: Vzhledem k tomu, že aminokyseliny mají amfoterní povahu, se nemůže použít k jejich stanovení běžné acidometrické nebo alkalimetrické titrace. Aminoskupinu však lze zablokovat (např. reakcí s formaldehydem):



Poté se uplatní plnou měrou kyselý charakter karboxylové skupiny. Takto modifikované aminokyseliny se můžou titrovat hydroxidy. Formaldehydová metoda současně detekuje část amonných iontů, které reagují s formaldehydem za vzniku hexamethylentetraaminu a příslušného množství noniových iontů.

Přístroje a pomůcky: Automatický titrátor „TitroLine® easy“, kombinovaná pH-elektroda, kádinka (objem 50-100 ml), magnetické míchadlo, nedělená pipeta (10 ml).

Chemikálie a roztoky: Odměrný roztok NaOH (koncentrace 0,1 mol.l⁻¹) o známém faktoru, uchovávací roztok na elektrodu (3 mol.l⁻¹KCl), destilovaná voda v baňce se sklopnou pipetou, formaldehyd.

Postup: Pro stanovení množství asimilovatelného dusíku se využije automatický titrátor, kdy hodnota pH byla zvýšena v rámci stanovení titrovatelných kyselin na 8,1. Nedělenou pipetou odebereme 10 ml vzorku, sklopnou pipetou přidáme 10 ml destilované vody a 10 ml 36 až 38% vodný roztok formaldehydu. Po ukončení titrace odečteme spotřebu odměrného roztoku NaOH v mililitrech s přesností na dvě desetinná místa a pomocí uvedeného vztahu vypočteme obsah asimilovatelného dusíku v miligramech na litr.

$$x = a \cdot f \cdot 140$$

x...mg.l⁻¹asimilovatelného dusíku

a... spotřeba NaOH v ml

f... faktor NaOH

4.3.5 Stanovení volného a veškerého SO₂ – Jodometrie

Princip: Jedná se o odměrnou analytickou metodu stanovení volného a veškerého oxidu siřičitého, kdy odměrný roztok jodu oxiduje přímo SO₂ obsažený ve víně, případně po uvolnění SO₂ z vazeb s karbonylovými sloučeninami současně i veškerý SO₂.

Přístroje a pomůcky: Nedělená pipeta (50 ml), titrační baňka, bireta, pipeta (10 ml)

Chemikálie a roztoky: Odměrný roztok jódu (0,02 M), škrobový maz, 16 % roztok kyseliny sírové, roztok NaOH (0,1 M)

Postup: Postup stanovení volného SO₂: Do titrační baňky odpipetujeme 50 ml vína. Poté přidáme 10 ml kyseliny sírové a 10 ml škrobového mazu a titrujeme 0,02 M roztokem jódu do modrého zbarvení, které vydrží minimálně 30 sekund.

Postup: stanovení vázaného SO₂: Do titrační baňky odpipetujeme 50 ml vína. Poté přidáme 25 ml roztoku NaOH a ponecháme 15 minut odstát. Pak přidáme 15 ml kyseliny sírové a 10 ml škrobového mazu a titrujeme 0,02 M roztokem jódu do modrého zbarvení, které vydrží minimálně 30 sekund.

U obou případů odečteme spotřebu odměrného roztoku a pomocí uvedeného vztahu vypočítáme obsah volného či veškerého SO₂.

$$x = a \cdot f \cdot 12,8$$

x... mg.l⁻¹ volného/veškerého SO₂

a... spotřeba roztoku jódu v ml

f... faktor roztoku jódu

4.3.6 Stanovení analytických hodnot vín - FTIR analyzátor Bruker Alpha

Princip: FT-IR spektroskopie se používá pro analýzu anorganických a organických materiálů a je schopna látky identifikovat a kvantifikovat. Analýza je založena na využití vlastností světelného záření v infračervené oblasti. Chemické vazby ve vzorku toto záření absorbují.

Vyhodnocení výsledků probíhá na základě odražené světelné energie a kalibračních rovnic, které jsou uloženy v paměti přístroje.

Analyzátor využívá vzorkovací techniku ATR (zeslabeného úplného odrazu). Princip spočívá v tom, že paprsek infračerveného světla je veden do průhledného diamantového krystalu, kde dojde k jeho úplnému odrazu. Povrch vzorku při kontaktu s paprskem absorbuje část záření, která v sobě nese charakteristické znaky pro určité parametry analýzy (Teper, 2013).

Přístroje a pomůcky: FTIR analyzátor BrukerAlpha, stříkačka

Postup: Před zahájením měření vzorku přístroj důkladně propláchneme deionizovanou vodou a změříme pozadí (slepý vzorek = deionizovaná voda). Pro analýzu odebereme pomocí stříkačky 1 ml čirého vzorku, přičemž 0,5 ml poslouží k proplachu systému a z druhého 0,5 ml vzorku provedeme měření. Pomocí softwaru následně dojde v závislosti na kalibraci k automatickému vyhodnocení dat a jejich převedení do tabulky.

4.3.7 Stanovení karbonylových sloučenin ve víně – HPLC

Princip: Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) s detekcí diodovým polem pro detekci a kvantifikaci karbonylových sloučenin ve víně, založené na přidavku 2,4-dinitrofenylhydrazínu.. Stanovení karbonylových sloučenin ve víně je složité, vzhledem k jejich nestabilitě a sklonům reagovat reverzibilně s oxidem siřičitým. Metoda je založena na hydrolýze karbonylových sloučenin vázaných na SO₂. Tato technika nabízí dobrou specifičnost, opakovatelnost (RSD 0,45-10,6 %) a meze detekce (1,29 až 7,53 μg.l⁻¹).

Postup: Vzorek upravíme tak, že do jeho 100 μl přidáme 100 μl 1M roztoku NaOH a necháme 10 minut stát při pokojové teplotě. Po uplynutí této doby přidáme do směsi 100 μl 1,2 M roztoku H₂SO₄ a k tomu ještě 200 μl 12 mM dinitrofenylhydrazinu v acetonitrilu a necháme 10 minut temperovat při teplotě 60 °C. Takto upravený vzorek dávkujeme po 20 μl do přístroje HPLC.

Instrumentace: Binární vysokotlaký systém Shimadzu LC-10A

Systém controler: SCL-10Avp

2 pumpy: LC-10ADvp

Kolonový termostat s manuálním nástřikovým ventilem Rheodyne: CTO-10ACvp

DAD detektor: SPD-M10Avp

Software: LCsolution

Podmínky separace:

Kolona: Alltech Alltima C18 3 μ m; 3 x 150mm + předkolona 3 x 7.5mm

Teplota separace: 60°C

Objem nástřiku vzorku: 20 μ l

Průtok mobilní fáze: 0,6 ml/min

Mobilní fáze A: 15 mM HClO₄

Mobilní fáze B: 15 mM; 90% ACN

Tab. 4: Gradientový program

0,00 min	25 % B
10,00 min	50% B
15,00 min	100% B
16,00 min	100% B
16.01 min	0% B
16.49 min	0% B
16.50 min	25% B

Celková doba mezi dvěma vzorky 22 minut. Data v rozmezí 200-520 nm byla zaznamenávána 19 minut. Hodnocený chromatogram snímáný při 365 nm.

4.3.8 Stanovení termolabilních bílkovin – Turbidimetrie

Princip: Turbidimetrie je optická metoda využívající rozptylu světla heterogenními částicemi v suspenzích a koloidních roztocích.

Přístroje a pomůcky: Turbidimetr, filtrační aparatura, filtrační papír, 100 - 150 ml kádinka, 100 ml baňka, termostat

Postup: Přefiltrovaný čirý vzorek vína vložíme do termostatu a necháme temperovat po dobu 3 hodin při teplotě 80°C, poté vzorek přemístíme do lednice na cca 6 hodin. V případě, že vzorek obsahuje termolabilní bílkoviny, dojde k jejich vysrážení vlivem teplotního šoku. Míra zakalenosti je přímo úměrná obsahu bílkovin ve vzorku. Stupeň zákalu (turbidity) se měří turbidimetrem a je vyjádřen v jednotkách NTU.

4.3.9 Použité statistické metody

Ke zpracování dat byly využity dostupné softwary EXCEL (MS OFFICE 2007) a STATISTICA (StatSoft CR s.r.o) verze 12.0.

Pro zpracování výsledků z hodnocení 100 bodovým systémem byl využit sloupcový graf.

Pro měření síly závislosti dvou číselných proměnných byl využit korelační koeficient. Korelace je matematický postup, který číselně vyjadřuje míru závislosti dvou veličin. Korelační koeficient nabývá hodnot (-1,1). Červeně označené korelace, ať už pozitivní nebo negativní jsou na hladině $p < 0,05$ statisticky významné. Kladný korelační koeficient vyjadřuje pozitivní korelaci mezi veličinami. Když bude stoupat jedna veličina, bude růst i druhá. Záporný korelační koeficient vyjadřuje negativní korelaci (antikorelaci) obou veličin. Když bude jedna veličina stoupat, druhá veličina bude klesat. V diplomové práci byla využita korelační matice pro zjištění závislosti mezi veškerým SO₂ a mírou zakalení vín po provedení teplotního šoku (test bílkovinné stability).

Tab. 5: Hodnoty korelace v absolutní hodnotě a interpretace závislosti

Korelační koeficient v absolutní hodnotě	Interpretace závislosti
0,01 – 0,09	triviální, žádná
0,1 – 0,29	nízká až střední
0,3 – 0,49	střední až podstatná
0,5 – 0,69	podstatná až velmi silná
0,7 – 0,89	velmi silná
0,9 - 99	téměř perfektní

4.4 Výsledky

Experiment představuje 6 variant, u nichž byl měřen vývoj volného a veškerého SO₂, který úzce souvisí s vývojem karbonylových sloučenin, jejichž sledování bylo hlavním předmětem experimentu. Dále bylo provedeno turbidimetrické měření pro zjištění obsahu termolabilních bílkovin ve vzorcích a jejich možné korelace s managementem SO₂, či s vývojem sloučenin vázajících SO₂. Varianty také prošly sensorickým a analytickým hodnocením, čímž byly zjištěny kvalitativní a kvantitativní parametry výsledných vín.

4.4.1 Vývoj volného a veškerého SO₂

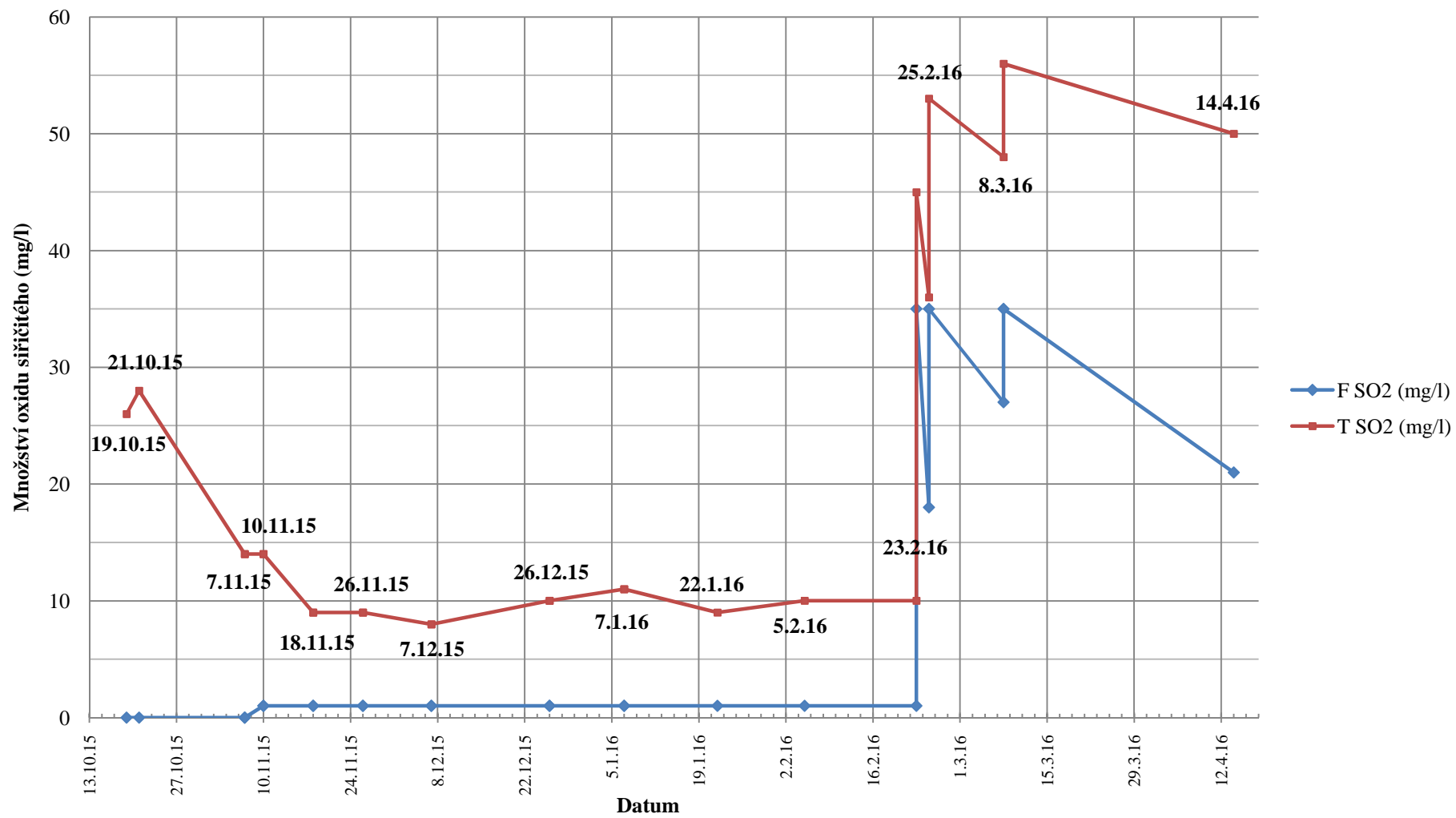
Vývoj volného a veškerého SO₂ byl monitorován zpravidla jednou za dva týdny od ukončení fermentace po dobu tří měsíců (zrání vína) a také při dalších operacích (síření rmutu, úprava SO₂ před lahvováním), kdy byly hodnoty měřeny v nejbližší době po úpravě SO₂. Poslední měření proběhlo 14.4.2016, tedy v den, kdy vína zrála 36 dnů v lahvi.

Varianta AA

Tab. 6: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AA

Datum měření oxidu siřičitého	AA volný SO₂ (mg/l)	AA veškerý SO₂ (mg/l)	Množství přidaného SO₂ (mg/l)
19.10.2015	-	26	-
21.10.2015	-	28	-
7.11.2015	-	-	-
10.11.2015	< 2	14	-
18.11.2015	< 2	9	-
26.11.2015	< 2	9	-
7.12.2015	< 2	8	-
26.12.2015	< 2	10	-
7.1.2016	< 2	11	-
22.1.2016	< 2	9	-
5.2.2016	< 2	10	-
23.2.2016	< 2	10	35
25.2.2016	18	36	17
8.3.2016	27	48	8
14.4.2016	21	50	-

V tabulce jsou shrnuty naměřené hodnoty volného a veškerého SO₂, datum měření vzorků a množství přidaného SO₂. Úprava míry oxidu siřičitého proběhla vždy po měření množství SO₂ a zároveň s ní došlo k doplnění nádoby a homogenizaci jejího objemu. Tato varianta byla 1x týdně promíchána s jemnými kaly a po měření byla vždy doplněna i když nebyla sířena. Naměřené hodnoty znázorňuje graf níže.



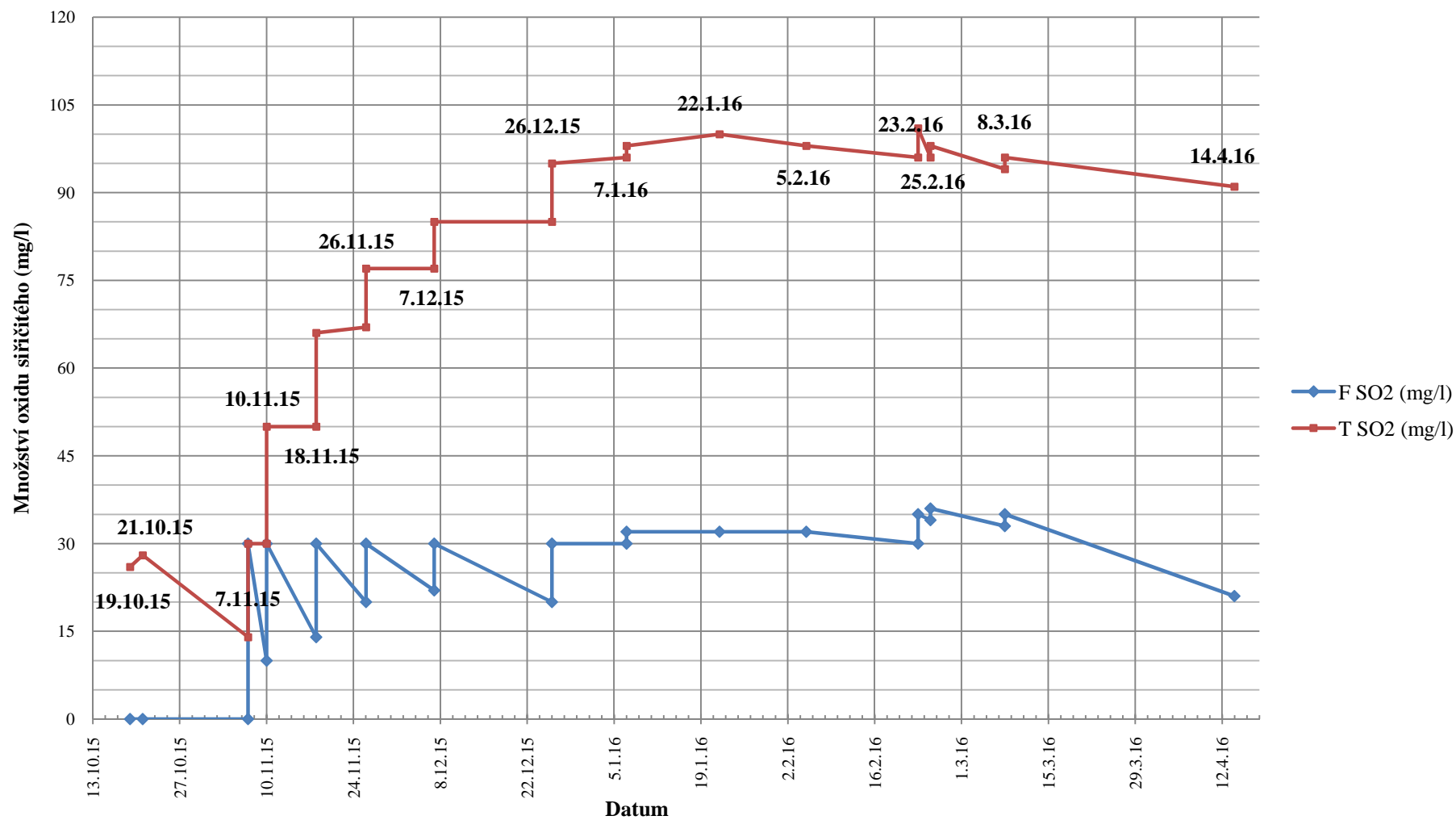
Graf 1: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AA

Varianta AB

Tab. 7: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AB

Datum měření oxidu siřičitého	AB volný SO₂ (mg/l)	AB veškerý SO₂ (mg/l)	Množství přidaného SO₂ (mg/l)
19.10.2015	-	26	-
21.10.2015	-	28	-
7.11.2015	-	-	30
10.11.2015	10	30	20
18.11.2015	14	50	16
26.11.2015	20	67	10
7.12.2015	22	77	8
26.12.2015	20	85	10
7.1.2016	30	96	2
22.1.2016	32	100	-
5.2.2016	32	98	-
23.2.2016	30	96	5
25.2.2016	34	96	2
8.3.2016	33	94	2
14.4.2016	21	91	-

V tabulce jsou shrnuty naměřené hodnoty volného a veškerého SO₂, datum měření vzorků a množství přidaného SO₂. Úprava míry oxidu siřičitého proběhla vždy po měření množství SO₂ a zároveň s ní došlo k doplnění nádoby a homogenizaci jejího objemu. Pokud se zjištěná hodnota volného SO₂ pohybovala kolem 30 mg/l, nebylo s obsahem nádoby nijak operováno. Naměřené hodnoty znázorňuje graf níže.



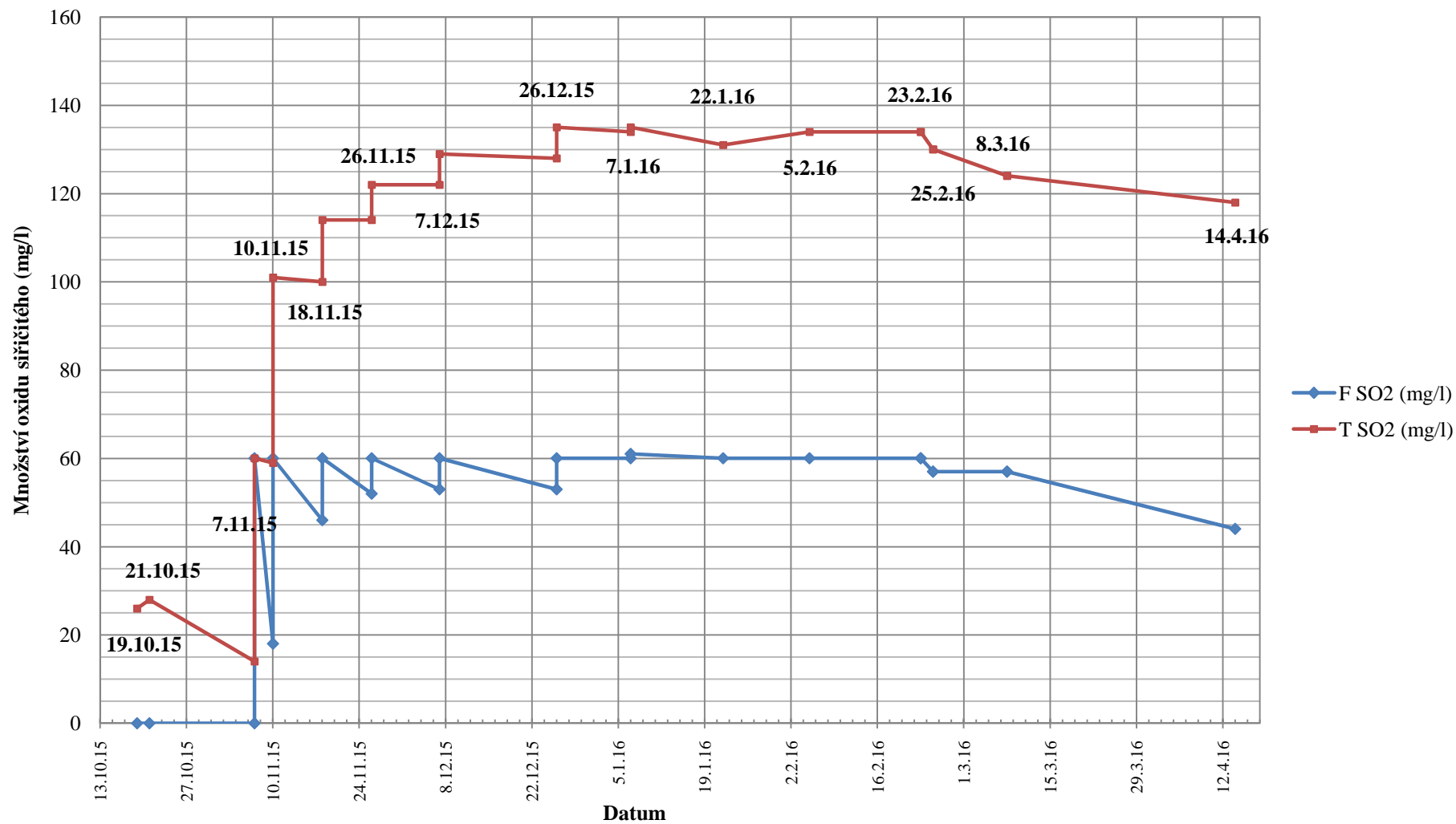
Graf 2: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AB

Varianta AC

Tab. 8: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AC

Datum měření oxidu siřičitého	AC volný SO₂ (mg/l)	AC veškerý SO₂ (mg/l)	Množství přidaného SO₂ (mg/l)
19.10.2015	-	26	-
21.10.2015	-	28	-
7.11.2015	-	-	60
10.11.2015	18	59	42
18.11.2015	46	100	14
26.11.2015	52	114	8
7.12.2015	53	122	7
26.12.2015	53	128	7
7.1.2016	60	134	1
22.1.2016	60	131	-
5.2.2016	60	134	-
23.2.2016	60	134	-
25.2.2016	57	130	-
8.3.2016	57	124	-
14.4.2016	44	118	-

V tabulce jsou shrnuty naměřené hodnoty volného a veškerého SO₂, datum měření vzorků a množství přidaného SO₂. Úprava míry oxidu siřičitého proběhla vždy po měření množství SO₂ a zároveň s ní došlo k doplnění nádoby a homogenizaci jejího objemu. Pokud se zjištěná hodnota volného SO₂ pohybovala kolem 60 mg/l, nebylo s obsahem nádoby nijak operováno. Naměřené hodnoty znázorňuje graf níže.



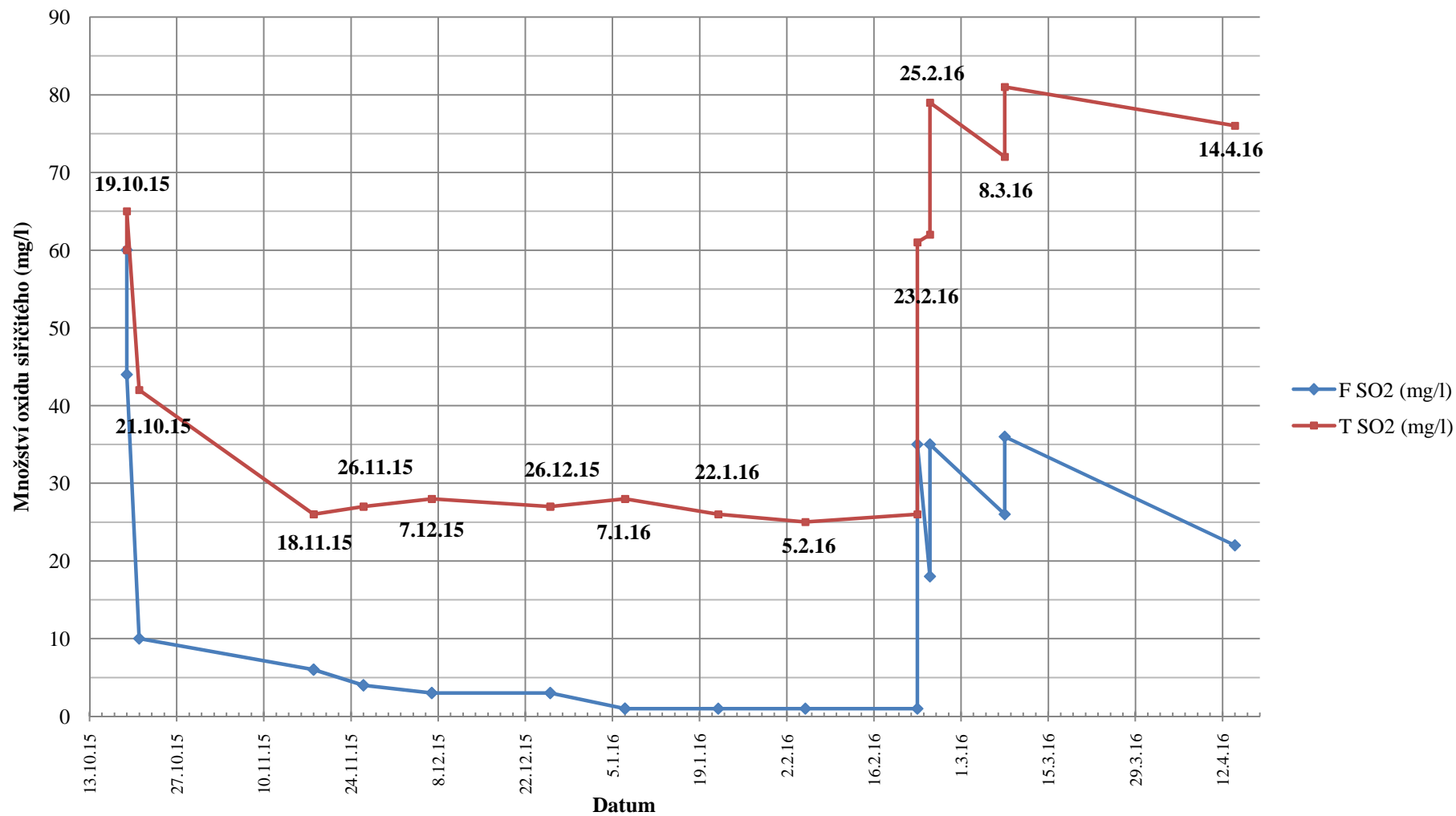
Graf 3: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AC

Varianta BA

Tab. 9: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BA

Datum měření oxidu siřičitého	BA volný SO₂ (mg/l)	BA veškerý SO₂ (mg/l)	Množství přidaného SO₂ (mg/l)
19.10.2015	44	65	60
21.10.2015	10	42	-
7.11.2015	-	-	-
15.11.2015	-	-	-
18.11.2015	6	26	-
26.11.2015	4	27	-
7.12.2015	3	28	-
26.12.2015	3	27	-
7.1.2016	< 2	28	-
22.1.2016	< 2	26	-
5.2.2016	< 2	25	-
23.2.2016	< 2	26	35
25.2.2016	18	62	17
8.3.2016	26	72	9
14.4.2016	22	76	-

V tabulce jsou shrnuty naměřené hodnoty volného a veškerého SO₂, datum měření vzorků a množství přidaného SO₂. Úprava míry oxidu siřičitého proběhla vždy po měření množství SO₂ a zároveň s ní došlo k doplnění nádoby a homogenizaci jejího objemu. Tato varianta byla 1x týdně promíchána s jemnými kaly a po měření byla vždy doplněna i když nebyla sířena. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



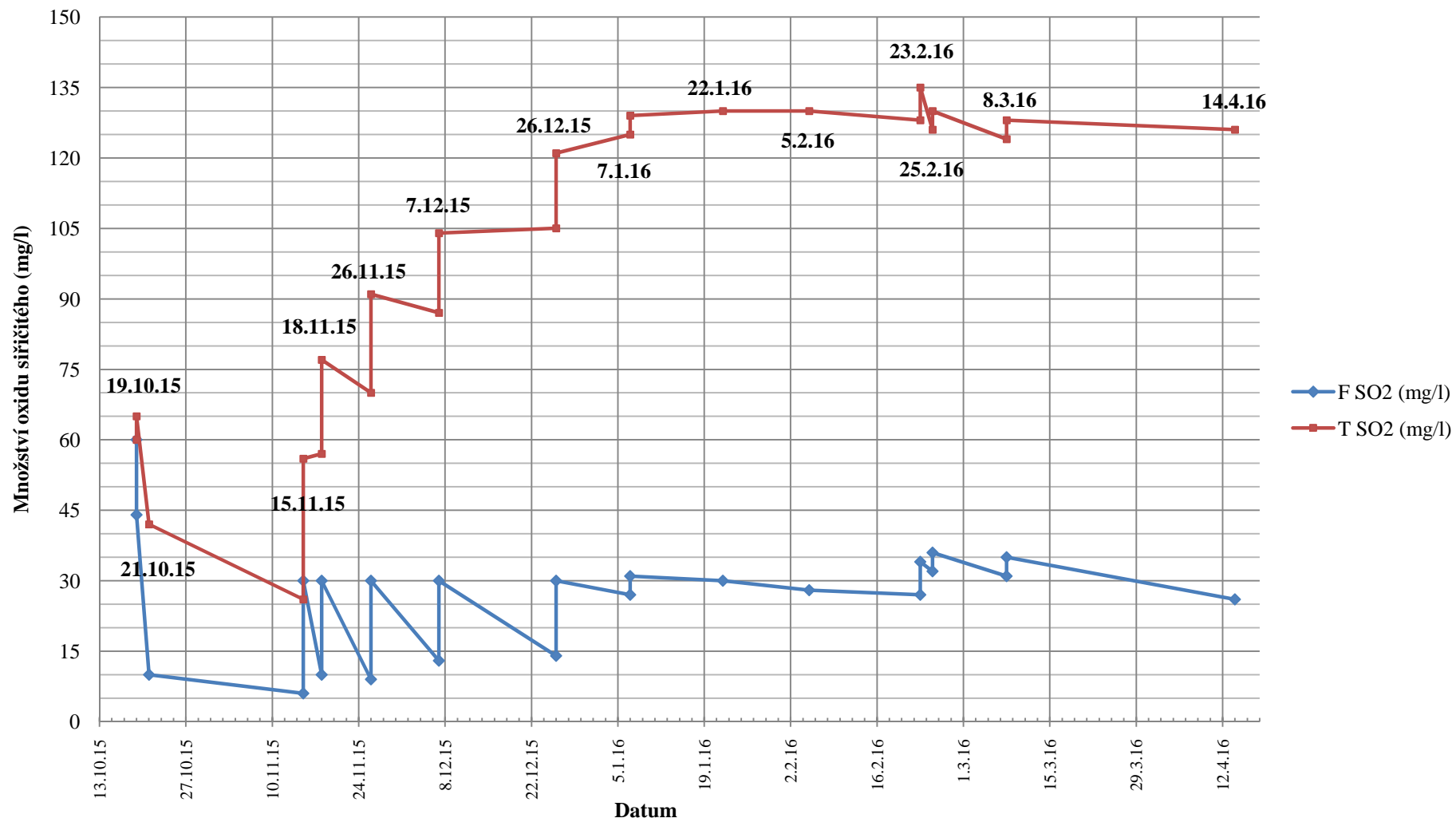
Graf 4: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BA

Varianta BB

Tab. 10: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BB

Datum měření oxidu siřičitého	BB volný SO₂ (mg/l)	BB veškerý SO₂ (mg/l)	Množství přidaného SO₂ (mg/l)
19.10.2015	44	65	60
21.10.2015	10	42	-
7.11.2015	-	-	-
15.11.2015	-	-	30
18.11.2015	10	57	20
26.11.2015	9	70	21
7.12.2015	13	87	17
26.12.2015	14	105	16
7.1.2016	27	125	4
22.1.2016	30	130	-
5.2.2016	28	130	-
23.2.2016	27	128	7
25.2.2016	32	126	4
8.3.2016	31	124	4
14.4.2016	26	126	-

V tabulce jsou shrnuty naměřené hodnoty volného a veškerého SO₂, datum měření vzorků a množství přidaného SO₂. Úprava míry oxidu siřičitého proběhla vždy po měření množství SO₂ a zároveň s ní došlo k doplnění nádoby a homogenizaci jejího objemu. Pokud se zjištěná hodnota volného SO₂ pohybovala kolem 30 mg/l, nebylo s obsahem nádoby nijak operováno. Naměřené hodnoty znázorňuje graf níže.



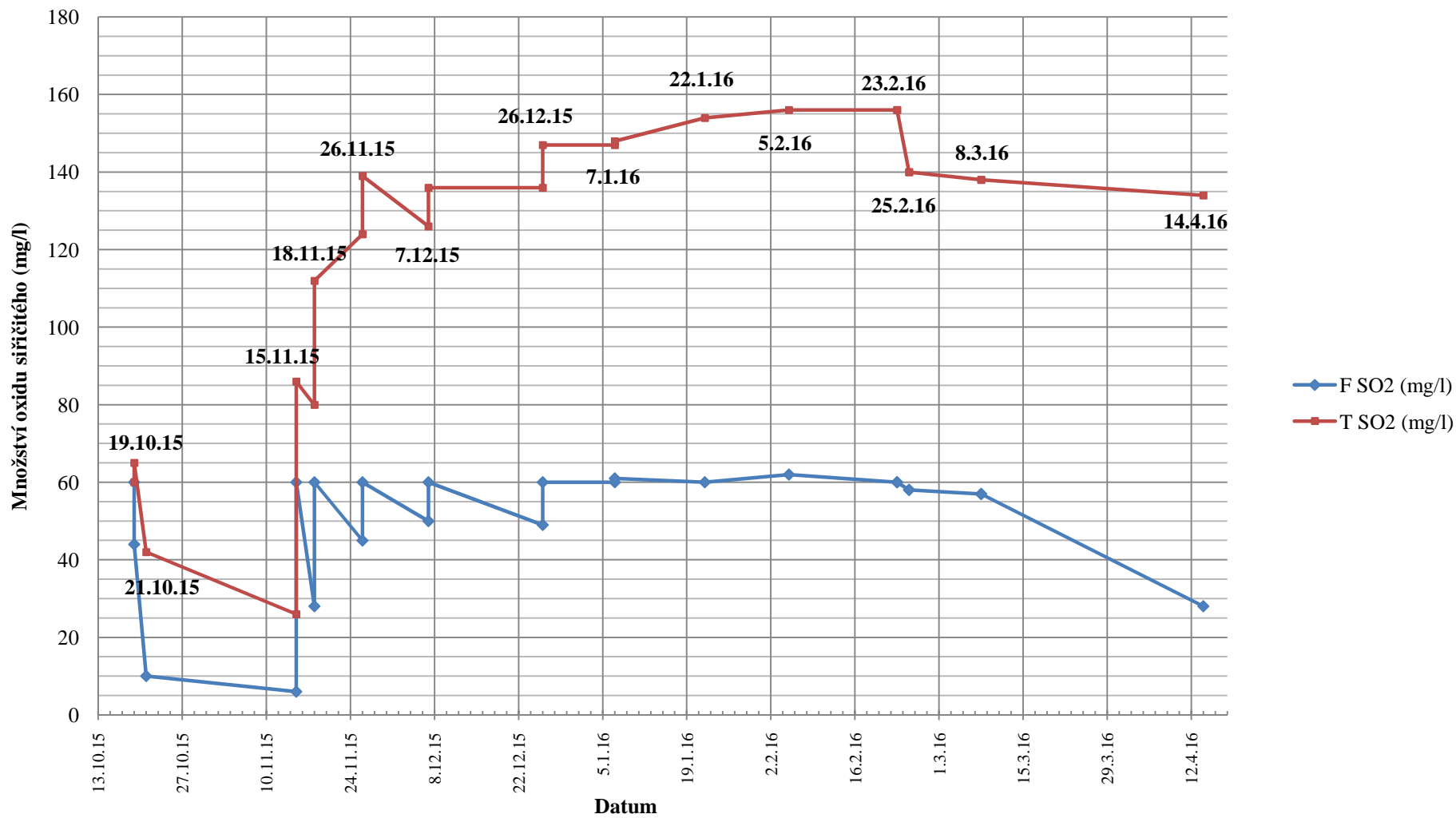
Graf 5: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BB

Varianta BC

Tab. 11: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BC

Datum měření oxidu siřičitého	BC volný SO₂ (mg/l)	BC veškerý SO₂ (mg/l)	Množství přidaného SO₂ (mg/l)
19.10.2015	44	65	60
21.10.2015	10	42	-
7.11.2015	-	-	-
15.11.2015	-	-	60
18.11.2015	28	80	32
26.11.2015	45	124	15
7.12.2015	50	126	10
26.12.2015	49	136	11
7.1.2016	60	147	1
22.1.2016	60	154	-
5.2.2016	62	156	-
23.2.2016	60	156	-
25.2.2016	58	140	-
8.3.2016	57	138	-
14.4.2016	28	134	-

V tabulce jsou shrnuty naměřené hodnoty volného a veškerého SO₂, datum měření vzorků a množství přidaného SO₂. Úprava míry oxidu siřičitého proběhla vždy po měření množství SO₂ a zároveň s ní došlo k doplnění nádoby a homogenizaci jejího objemu. Pokud se zjištěná hodnota volného SO₂ pohybovala kolem 60 mg/l, nebylo s obsahem nádoby nijak operováno. Naměřené hodnoty znázorňuje graf níže.



Graf 6: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BC

4.4.2 Vývoj sloučenin vázajících SO₂ ve víně

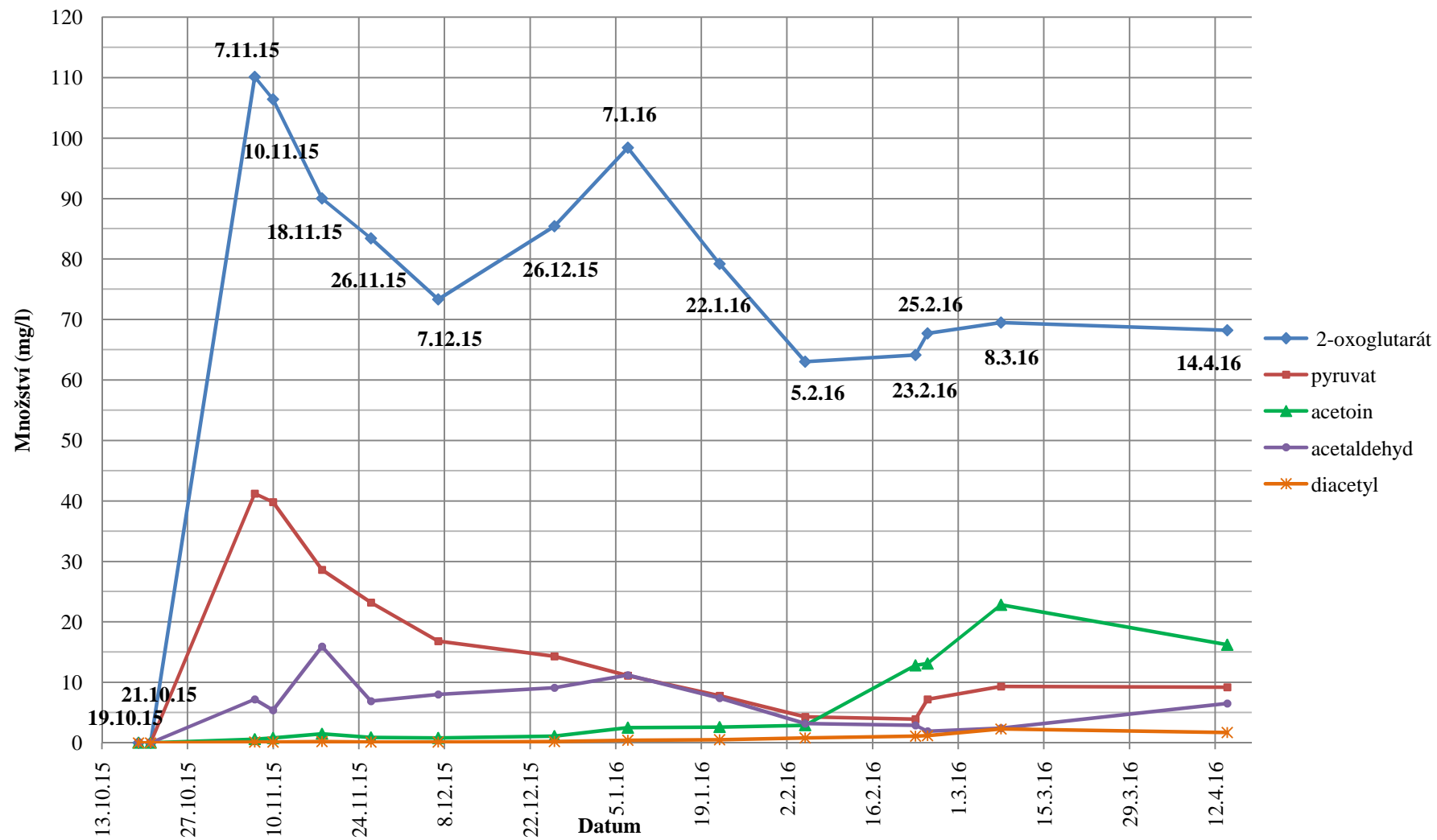
Vzorky pro měření vývoje sloučenin vázajících SO₂, tedy karbonylových sloučenin, byly odebírány současně se vzorky pro měření volného a veškerého SO₂. Pro měření bylo zamrazeno 25 ml vzorku. Měření proběhlo dne 14.4.2016 na přístroji HPLC.

Varianta AA

Tab. 12: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta AA

Datum odběru vzorku	2-oxoglutarát (mg/l)	Pyruvat (mg/l)	Acetoin (mg/l)	Acetaldehyd (mg/l)	Diacetyl (mg/l)
19.10.2015	0	0	0	0	0
21.10.2015	0	0	0	0	0
7.11.2015	110,1	41,2	0,6	7,2	0,1
10.11.2015	106,4	39,8	0,8	5,4	0,1
18.11.2015	90	28,6	1,5	15,9	0,2
26.11.2015	83,4	23,2	0,9	6,9	0,1
7.12.2015	73,3	16,8	0,8	8	0,1
26.12.2015	85,4	14,3	1,1	9,1	0,2
7.1.2016	98,4	11,1	2,5	11,2	0,4
22.1.2016	79,2	7,8	2,6	7,4	0,5
5.2.2016	63	4,3	2,9	3,2	0,8
23.2.2016	64,1	3,9	12,8	2,9	1,1
25.2.2016	67,7	7,2	13,1	1,9	1,2
8.3.2016	69,5	9,3	22,8	2,4	2,3
14.4.2016	68,2	9,2	16,2	6,5	1,7

V tabulce jsou uvedeny naměřené hodnoty stanovovaných karbonylových sloučenin a data odběrů vzorků. Měření všech vzorků proběhlo 14.4.2016 ihned po jejich rozmražení. Kalibrace přístroje proběhla také 14.4.2016. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



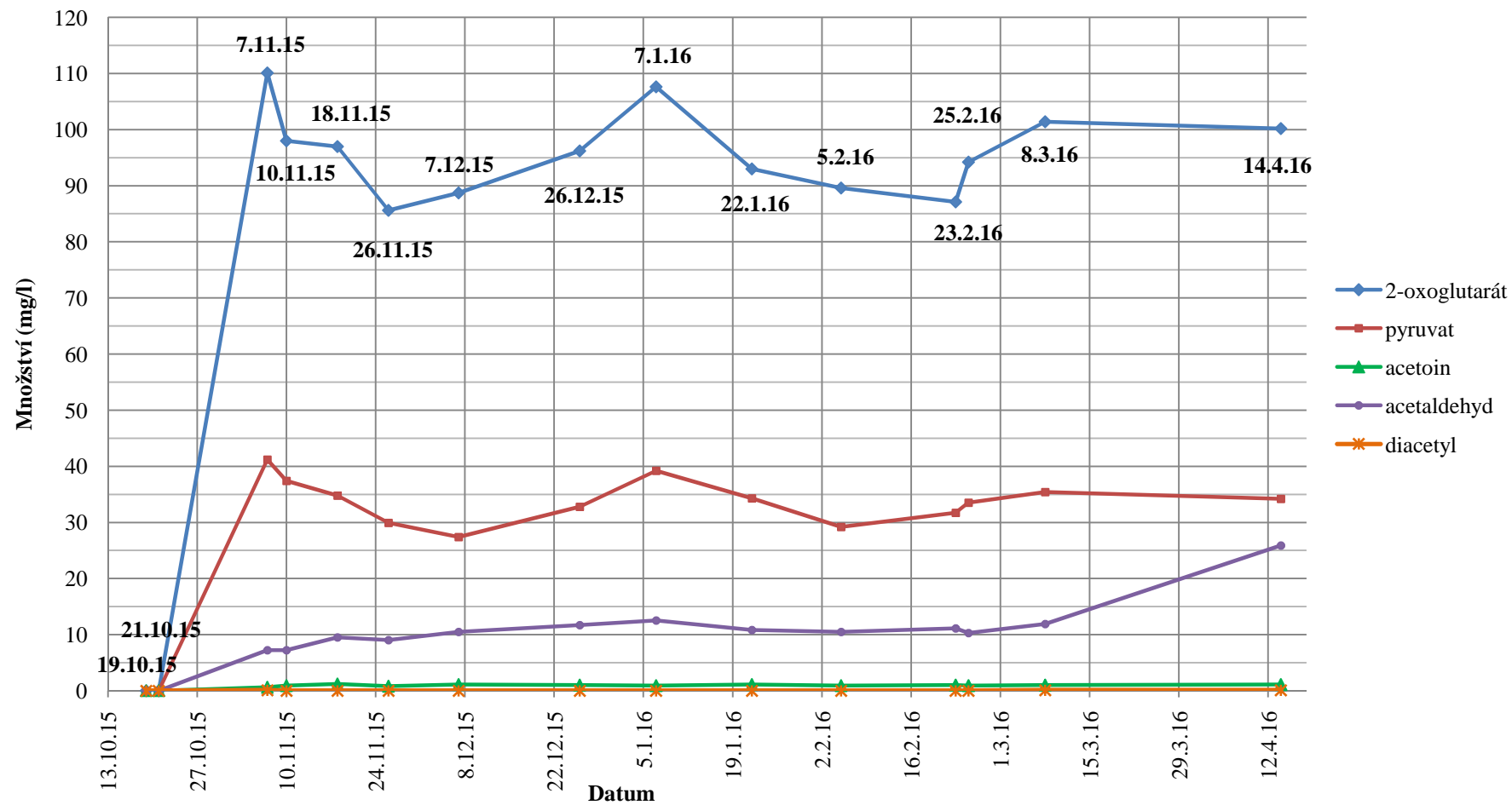
Graf 7: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta AA

Varianta AB

Tab. 13: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta AB

Datum odběru vzorku	2-oxoglutarát (mg/l)	Pyruvat (mg/l)	Acetoin (mg/l)	Acetaldehyd (mg/l)	Diacetyl (mg/l)
19.10.2015	0	0	0	0	0
21.10.2015	0	0	0	0	0
7.11.2015	110,1	41,2	0,6	7,2	0,1
10.11.2015	98	37,4	0,9	7,2	0
18.11.2015	97	34,8	1,2	9,5	0
26.11.2015	85,6	29,9	0,8	9	0
7.12.2015	88,7	27,4	1,1	10,5	0
26.12.2015	96,2	32,8	1	11,7	0
7.1.2016	107,6	39,2	0,9	12,5	0
22.1.2016	93	34,3	1,1	10,8	0
5.2.2016	89,6	29,2	0,9	10,5	0
23.2.2016	87,1	31,7	1	11,1	0
25.2.2016	94,2	33,5	0,9	10,3	0
8.3.2016	101,4	35,4	1	11,9	0,1
14.4.2016	100,2	34,2	1,1	25,9	0,1

V tabulce jsou uvedeny naměřené hodnoty stanovovaných karbonylových sloučenin a data odběrů vzorků. Měření všech vzorků proběhlo 14.4.2016 ihned po jejich rozmražení. Kalibrace přístroje proběhla také 14.4.2016. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



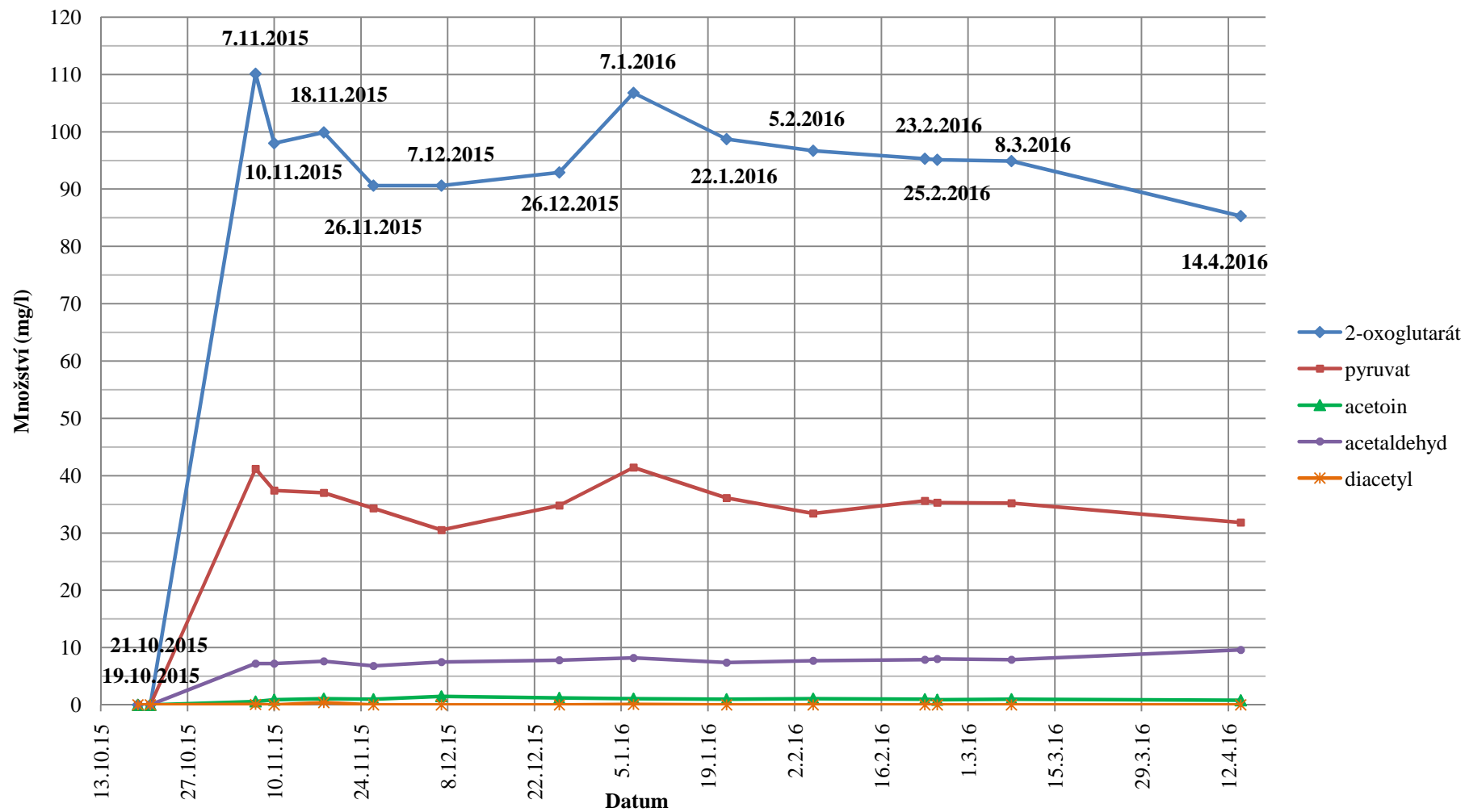
Graf 8: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta AB

Varianta AC

Tab. 14: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta AC

Datum odběru vzorku	2-oxoglutarát (mg/l)	Pyruvat (mg/l)	Acetoin (mg/l)	Acetaldehyd (mg/l)	Diacetyl (mg/l)
19.10.2015	0	0	0	0	0
21.10.2015	0	0	0	0	0
7.11.2015	110,1	41,2	0,6	7,2	0,1
10.11.2015	98	37,4	0,9	7,2	0
18.11.2015	99,9	37	1,1	7,6	0,4
26.11.2015	90,6	34,3	1	6,8	0
7.12.2015	90,6	30,5	1,5	7,5	0
26.12.2015	92,9	34,8	1,2	7,8	0
7.1.2016	106,8	41,4	1,1	8,2	0,1
22.1.2016	98,7	36,1	1	7,4	0
5.2.2016	96,7	33,4	1,1	7,7	0
23.2.2016	95,3	35,6	1	7,9	0
25.2.2016	95,1	35,3	0,9	8	0
8.3.2016	94,9	35,2	1	7,9	0
14.4.2016	85,3	31,8	0,8	9,6	0

V tabulce jsou uvedeny naměřené hodnoty stanovovaných karbonylových sloučenin a data odběrů vzorků. Měření všech vzorků proběhlo 14.4.2016 ihned po jejich rozmražení. Kalibrace přístroje proběhla také 14.4.2016. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



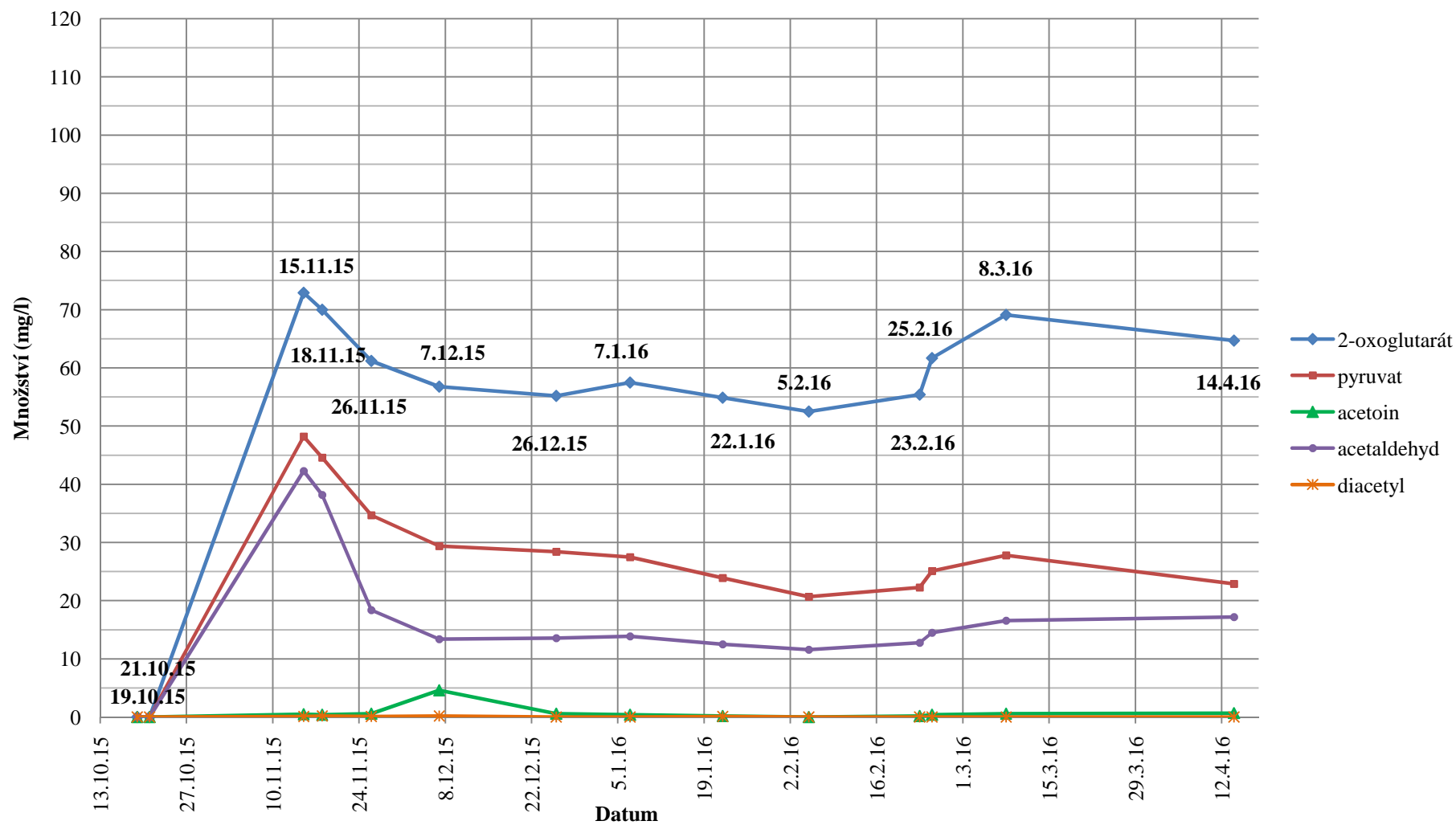
Graf 9: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta AC

Varianta BA

Tab. 15: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta BA

Datum odběru vzorku	2-oxoglutarát (mg/l)	Pyruvat (mg/l)	Acetoin (mg/l)	Acetaldehyd (mg/l)	Diacetyl (mg/l)
19.10.2015	0	0	0	0	0
21.10.2015	0	0	0	0	0
15.11.2015	72,9	48,2	0,5	42,3	0,1
18.11.2015	70	44,6	0,4	38,2	0,2
26.11.2015	61,2	34,7	0,6	18,4	0,1
7.12.2015	56,8	29,4	4,6	13,4	0,2
26.12.2015	55,2	28,4	0,6	13,6	0
7.1.2016	57,5	27,5	0,4	13,9	0
22.1.2016	54,9	23,9	0,2	12,5	0,1
5.2.2016	52,5	20,7	0	11,6	0
23.2.2016	55,4	22,3	0,2	12,8	0
25.2.2016	61,7	25,1	0,4	14,5	0
8.3.2016	69,1	27,8	0,6	16,6	0
14.4.2016	64,7	22,9	0,7	17,2	0

V tabulce jsou uvedeny naměřené hodnoty stanovovaných karbonylových sloučenin a data odběrů vzorků. Měření všech vzorků proběhlo 14.4.2016 ihned po jejich rozmražení. Kalibrace přístroje proběhla také 14.4.2016. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



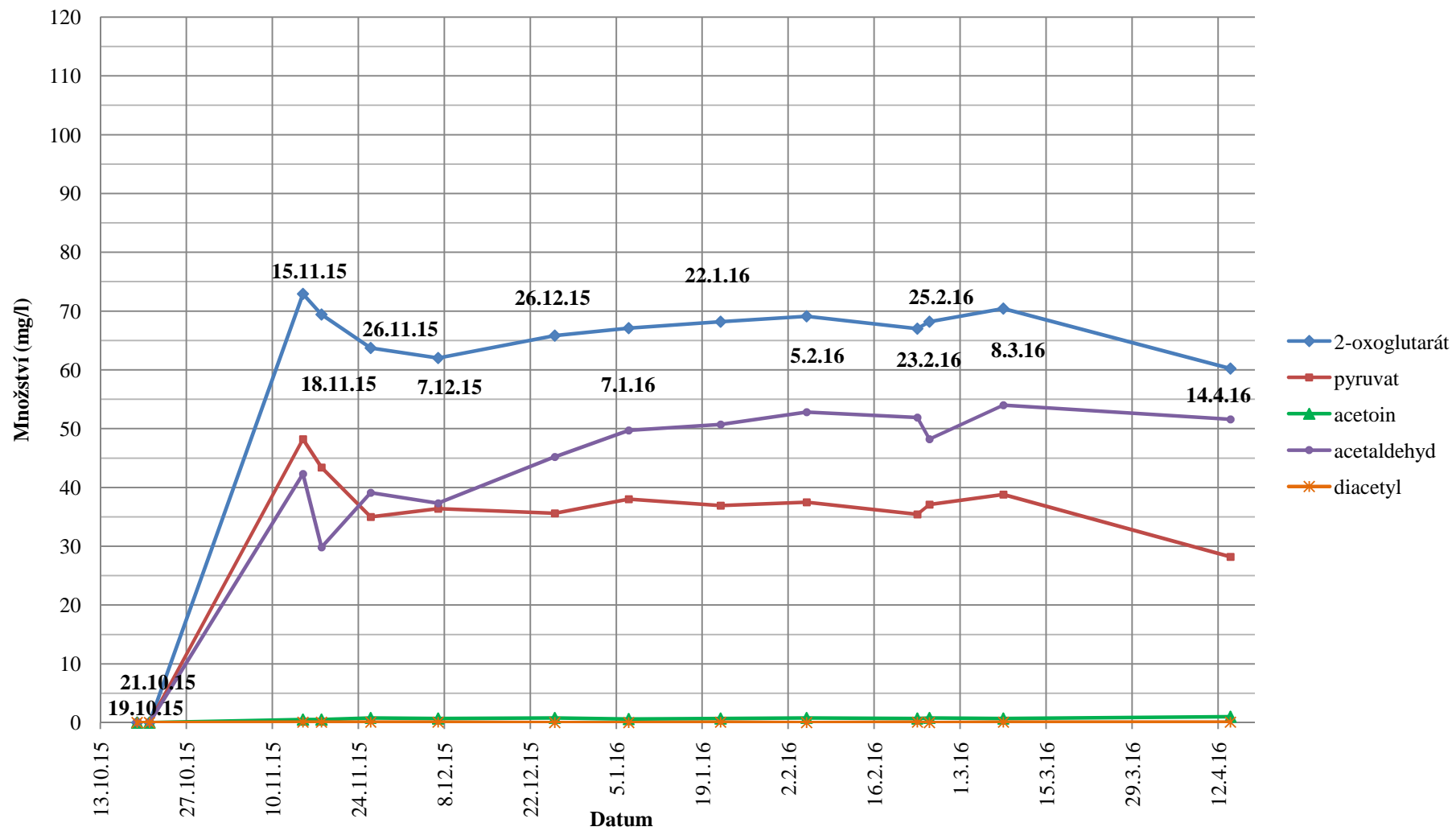
Graf 10: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta BA

Varianta BB

Tab. 16: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta BB

Datum odběru vzorku	2-oxoglutarát (mg/l)	Pyruvat (mg/l)	Acetoin (mg/l)	Acetaldehyd (mg/l)	Diacetyl (mg/l)
19.10.2015	0	0	0	0	0
21.10.2015	0	0	0	0	0
15.11.2015	72,9	48,2	0,5	42,3	0,1
18.11.2015	69,4	43,4	0,5	29,8	0,1
26.11.2015	63,7	35	0,8	39,1	0,1
7.12.2015	62	36,4	0,7	37,3	0,1
26.12.2015	65,8	35,6	0,8	45,2	0
7.1.2016	67,1	38	0,6	49,7	0
22.1.2016	68,2	36,9	0,7	50,7	0,1
5.2.2016	69,1	37,5	0,8	52,8	0
23.2.2016	67	35,4	0,7	51,9	0,1
25.2.2016	68,2	37,1	0,8	48,2	0
8.3.2016	70,4	38,8	0,7	54	0,1
14.4.2016	60,2	28,2	1	51,6	0,1

V tabulce jsou uvedeny naměřené hodnoty stanovovaných karbonylových sloučenin a data odběrů vzorků. Měření všech vzorků proběhlo 14.4.2016 ihned po jejich rozmražení. Kalibrace přístroje proběhla také 14.4.2016. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



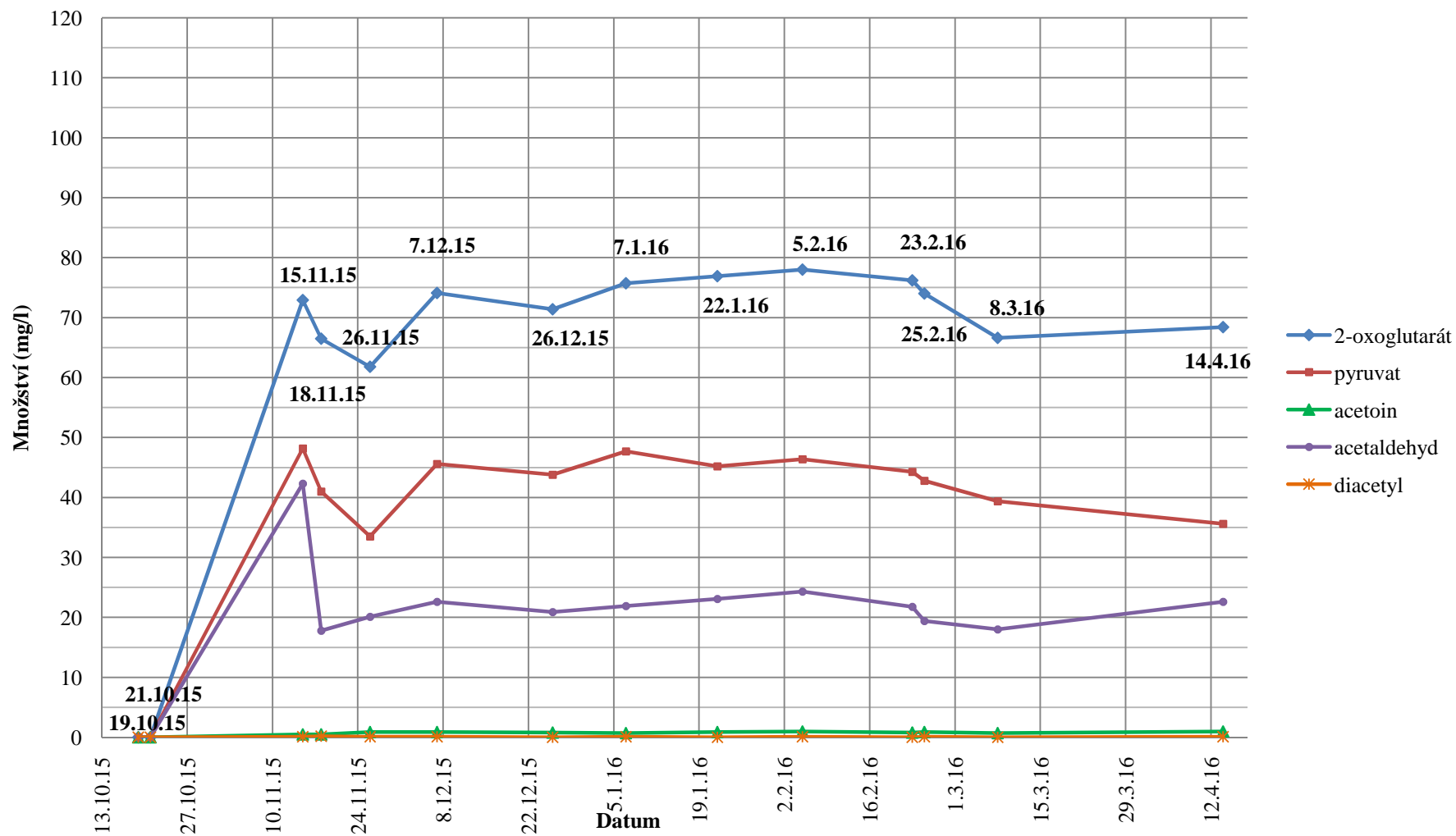
Graf 11: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta BB

Varianta BC

Tab. 17: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta BC

Datum odběru vzorku	2-oxoglutarát (mg/l)	Pyruvat (mg/l)	Acetoin (mg/l)	Acetaldehyd (mg/l)	Diacetyl (mg/l)
19.10.2015	0	0	0	0	0
21.10.2015	0	0	0	0	0
15.11.2015	72,9	48,2	0,5	42,3	0,1
18.11.2015	66,5	41	0,5	17,8	0,2
26.11.2015	61,8	33,5	0,9	20,1	0,1
7.12.2015	74,1	45,6	0,9	22,6	0,1
26.12.2015	71,4	43,8	0,8	20,9	0
7.1.2016	75,7	47,7	0,7	21,9	0,1
22.1.2016	76,9	45,2	0,9	23,1	0
5.2.2016	78	46,4	1	24,3	0,1
23.2.2016	76,2	44,3	0,8	21,8	0
25.2.2016	74	42,8	0,9	19,4	0,1
8.3.2016	66,6	39,4	0,7	18	0
14.4.2016	68,4	35,6	1	22,6	0,1

V tabulce jsou uvedeny naměřené hodnoty stanovovaných karbonylových sloučenin a data odběrů vzorků. Měření všech vzorků proběhlo 14.4.2016 ihned po jejich rozmražení. Kalibrace přístroje proběhla také 14.4.2016. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



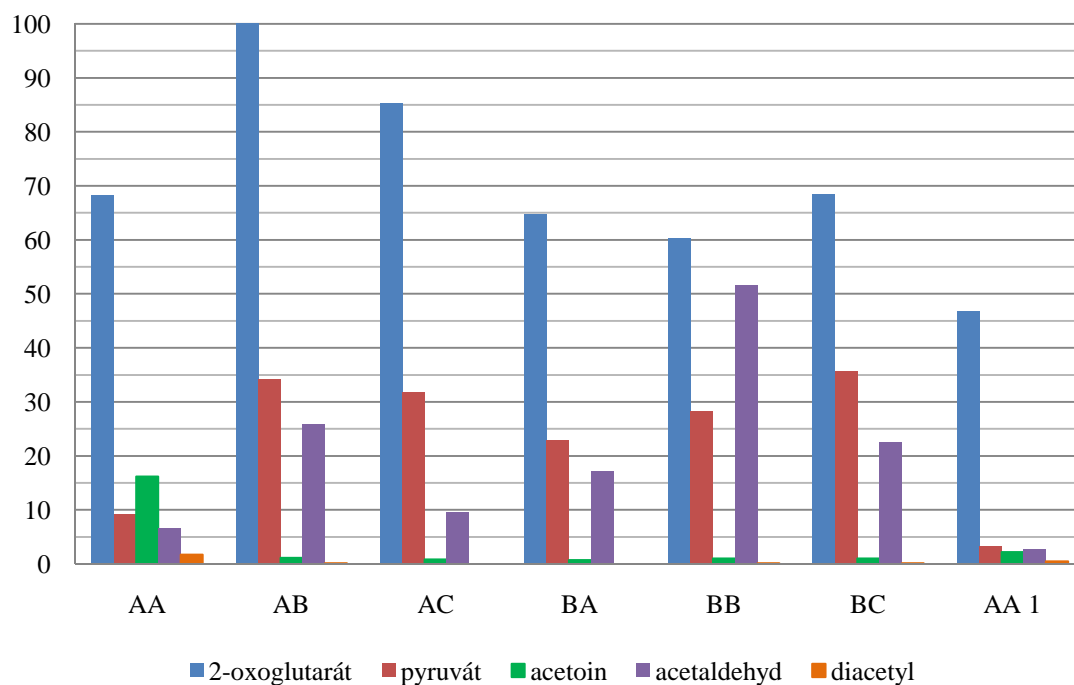
Graf 12: Vývoj sloučenin vázajících SO₂ – varianta BC

Porovnání vývoje sloučenin vázajících SO₂ u jednotlivých variant

Tab. 18: Porovnání vývoje sloučenin vázajících SO₂ u jednotlivých variant

	2-oxoglutarát (mg/l)	Pyruvát (mg/l)	Acetoin (mg/l)	Acetaldehyd (mg/l)	Diacetyl (mg/l)
AA	68,2	9,2	16,2	6,5	1,7
AB	100,2	34,2	1,1	25,9	0,1
AC	85,3	31,8	0,8	9,6	0
BA	64,7	22,9	0,7	17,2	0
BB	60,2	28,2	1	51,6	0,1
BC	68,4	35,6	1	22,6	0,1
AA 1	46,7	3,2	2,2	2,7	0,5

Tabulka uvádí naměřené hodnoty karbonylových sloučenin u jednotlivých variant ve vzorku odebraném 14.4.2016, tedy v den, kdy byla provedena senzorická analýza vín. Uvedené hodnoty znázorňuje graf níže.



Graf 13: Porovnání vývoje sloučenin vázajících SO₂ u jednotlivých variant

4.4.3 Senzorická analýza vzorků experimentu

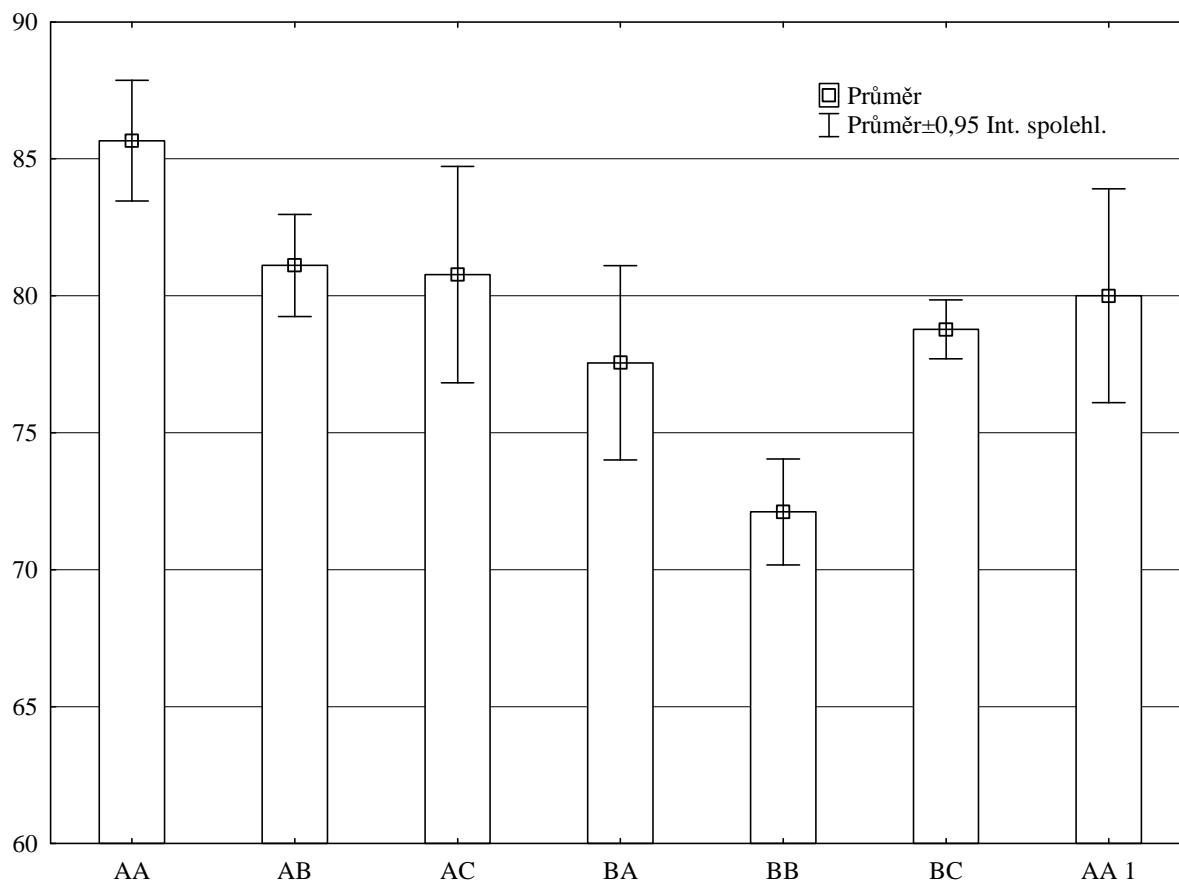
Senzorická analýza proběhla dne 14.4.2016 a účastnilo se jí celkem 9 degustátorů. K hodnocení bylo předloženo 8 vzorků vín. První byl tzv. vzorek nultý, který degustátoři ohodnotili společně. Jednalo se o víno vyrobené ze stejné suroviny jako pokusné vzorky, však experimentu se jinak neúčastnilo. Další vzorky hodnotili degustátoři již samostatně. Pořadí vzorků předložených k degustaci bylo následující: BC, BA, AC, BB, AA, AB a AA1. Degustátoři vína hodnotili na základě Bodovací tabulky k hodnocení vín 100 bodovým systémem dle OIV. Dále pak hodnotili aromatický a chuťový profil vín podle tabulky 20 a 21.

Hodnocení vín 100bodovým systémem

Tab. 19: Výsledky hodnocení vín

Varianta	Hodnocení
AA	85,67
AB	81,11
AC	80,78
BA	77,56
BB	72,11
BC	78,78
AA 1	80

V tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty bodů udělených jednotlivým variantám při hodnocení 100bodovým systémem. Výsledky znázorňuje graf níže.



Graf 14: Statistické zhodnocení výsledků vín hodnocených stobodovým systémem

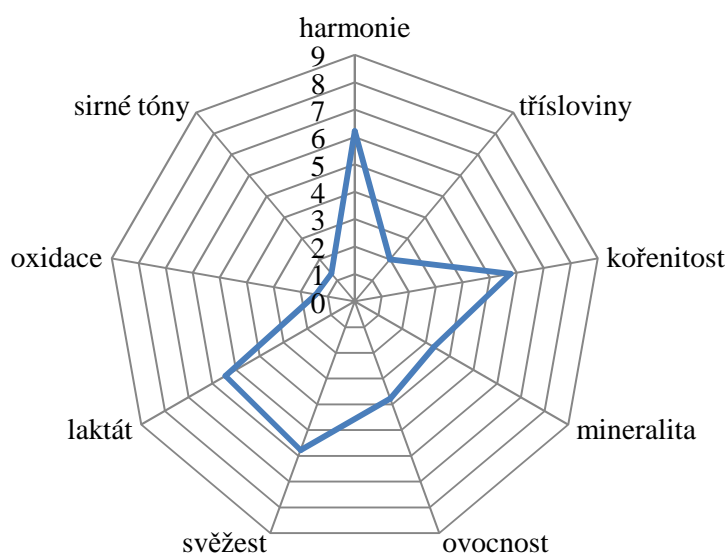
Z grafu vyplývá, že statisticky průkazný rozdíl je například mezi variantami AA a BB. Naopak statisticky průkazný rozdíl se neprojevil u variant AB, AC, BA nebo také AA 1.

Hodnocení aromatického profilu vín

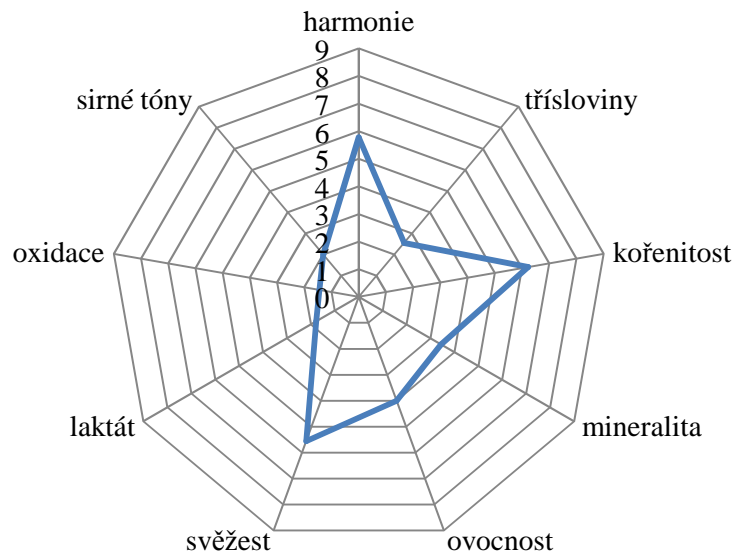
Tab. 20: Aromatický profil vín

	AA	AB	AC	BA	BB	BC	AA 1
Harmonie	6,22	5,78	6	4,89	3,11	4,89	5,78
Třísloviny	2	2,56	2,22	2,11	2,11	2,44	3,22
Kořenitost	5,78	6,22	6,44	6,22	4	6,11	5,89
Mineralita	3,33	3,44	3,33	3,22	2,44	3,33	3,33
Ovocnost	3,78	4	4,11	3,44	2,33	4,22	4,11
Svěžest	5,78	5,56	5,44	4,56	3	4,67	5,22
Laktát	5,44	1,78	2,33	1,67	1,44	1,78	4
Oxidace	1,44	1,44	1,11	1,44	1,33	1,56	3
Sírné tóny	1,33	2	1	4,89	8,89	4	1,77

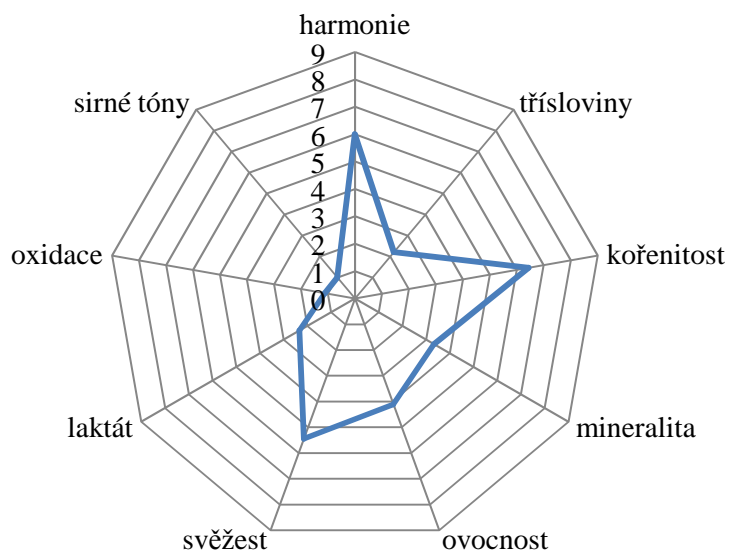
Tabulka 20 obsahuje průměrné hodnocení aromatických vjemů každé varianty na stupnici od jedné do desíti, kde 1 je minimum a 10 maximum, dle intenzity konkrétního vjemu. Uvedené hodnoty znázorňují grafy níže.



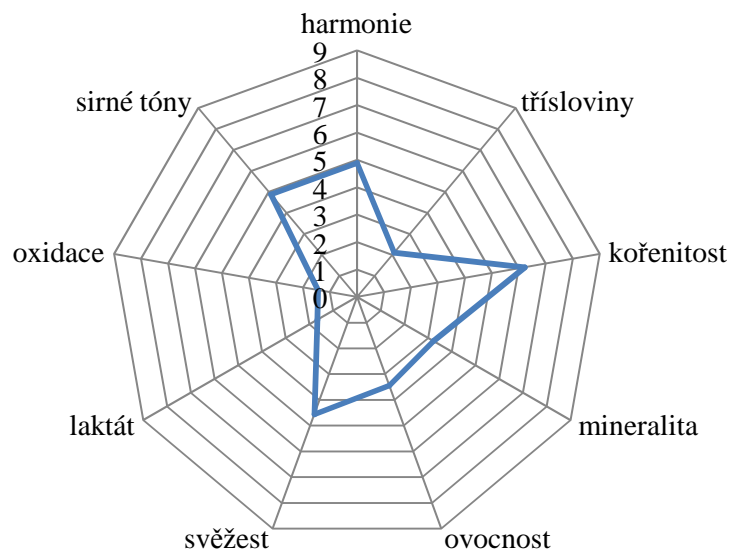
Graf 15: Aromatický profil varianty AA



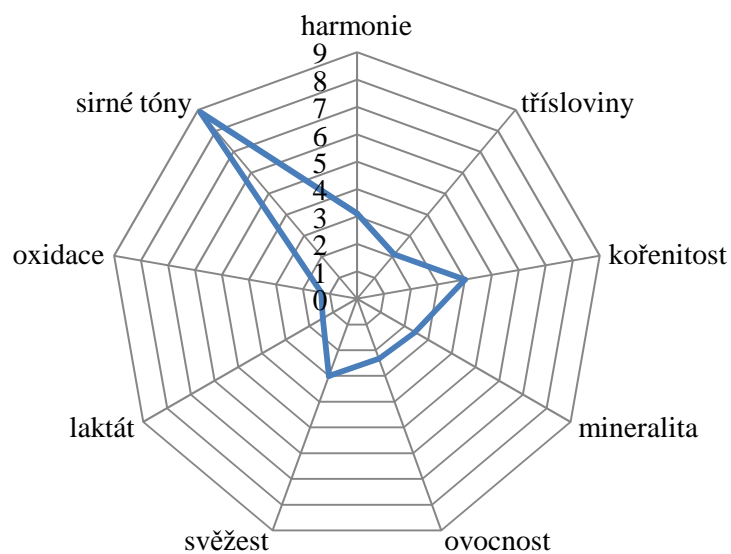
Graf 16: Aromatický profil varianty AB



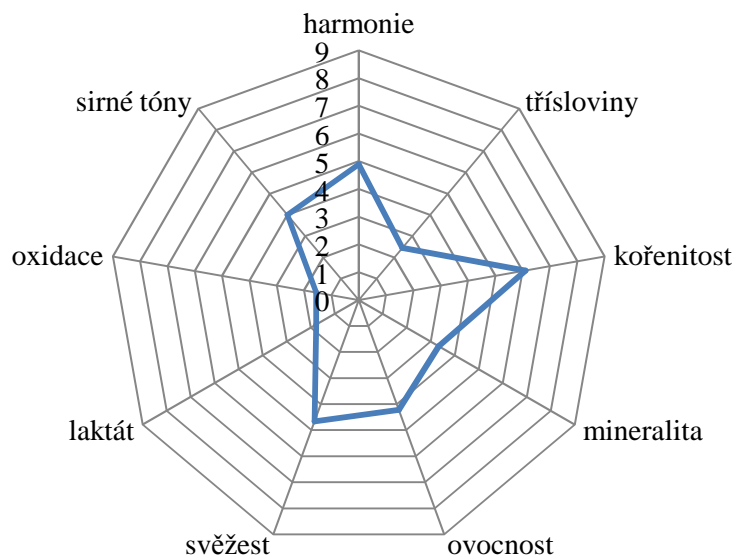
Graf 17: Aromatický profil varianty AC



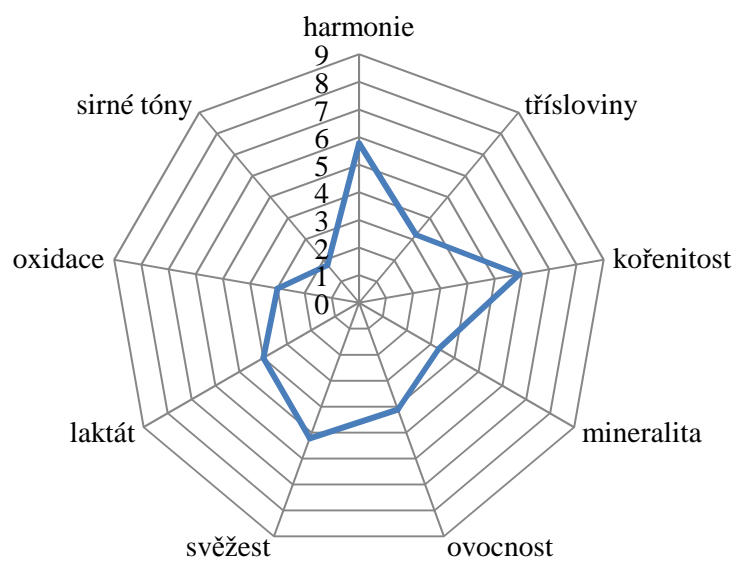
Graf 18: Aromatický profil varianty BA



Graf 19: Aromatický profil varianty BB



Graf 20: Aromatický profil varianty BC



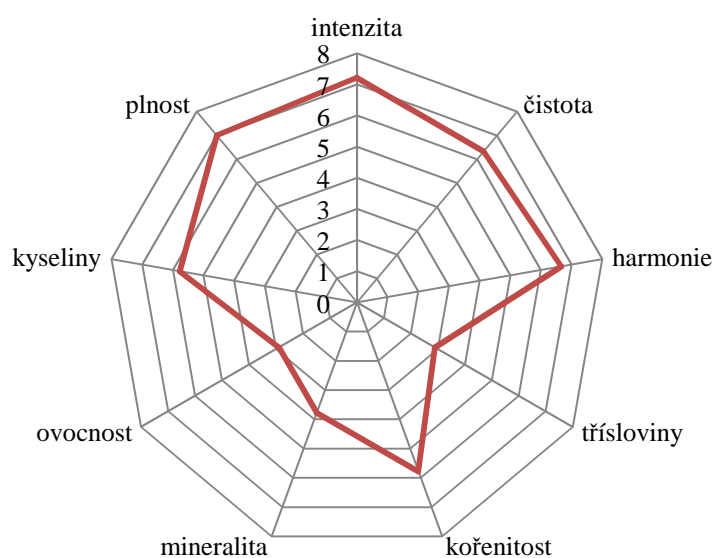
Graf 21: Aromatický profil varianty AA 1

Hodnocení chuťového profilu vín

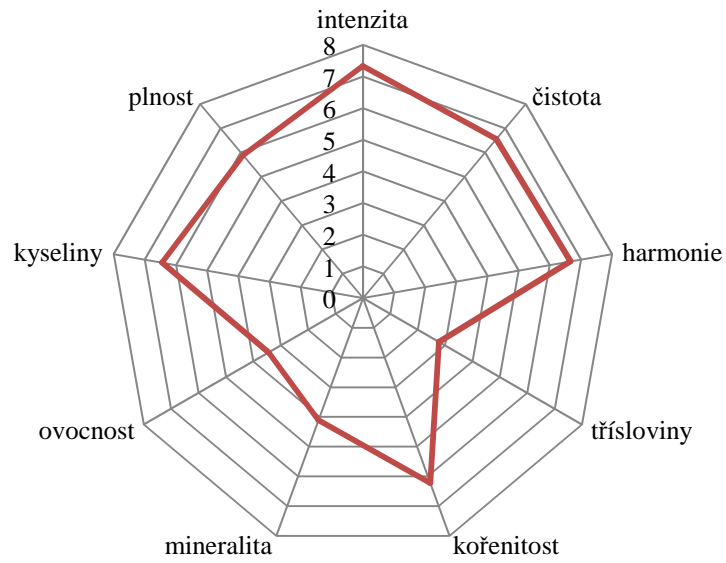
Tab. 21: Chuťový profil vín

	AA	AB	AC	BA	BB	BC	AA 1
Intenzita	7,22	7,33	6,44	6,78	6,67	7	7,22
Čistota	6,33	6,56	6,67	6,22	5,11	6,11	5,67
Harmonie	6,67	6,67	6,67	6	5,44	6,11	5,78
Tříslovin	2,89	2,78	2,78	3,33	2,56	3,22	3
Kořenitost	5,78	6,22	5,67	6	5,56	6,33	4,78
Mineralita	3,78	4,11	3,67	3,67	3,22	3,56	3,56
Ovocnost	2,89	3,44	3,11	3	2,67	3,56	2,22
Kyseliny	5,78	6,44	6	5,44	5,22	5,78	5,67
Plnost	7	5,89	6	5,22	4,89	5,67	5,89

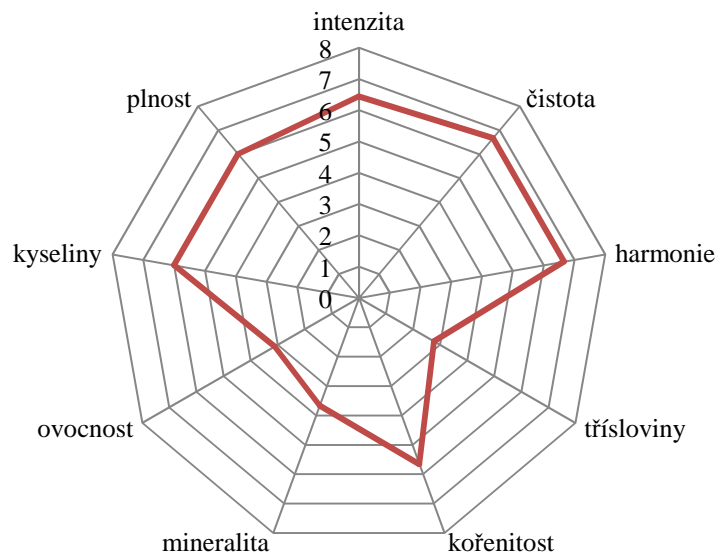
Tabulka 14 obsahuje průměrné hodnocení chuťových vjemů každé varianty na stupnici od jedné do desíti, kde 1 je minimum a 10 maximum, dle intenzity konkrétního vjemu. Uvedené hodnoty znázorňují grafy níže.



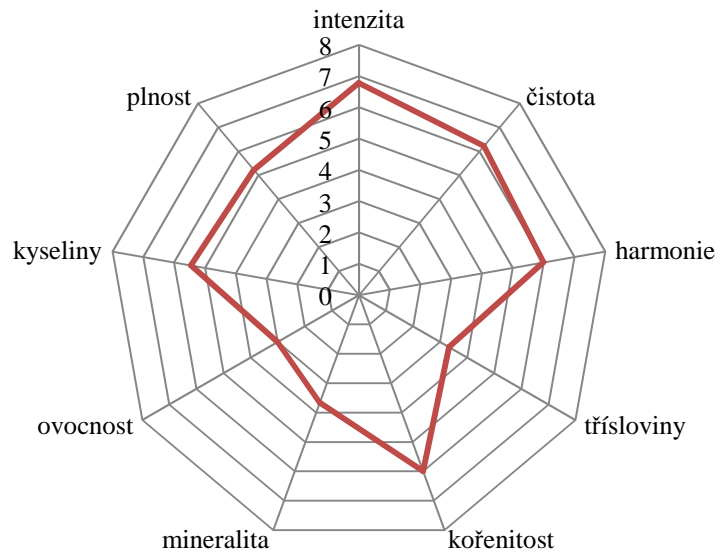
Graf 22: Chuťový profil varianty AA



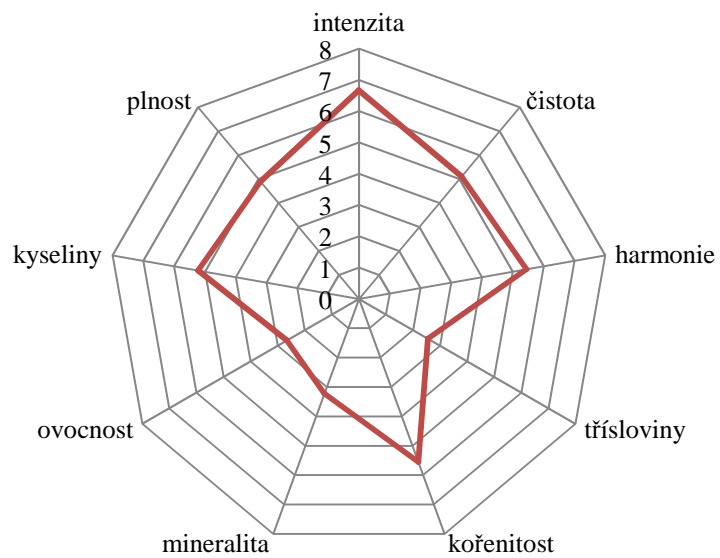
Graf 23: Chuťový profil varianty AB



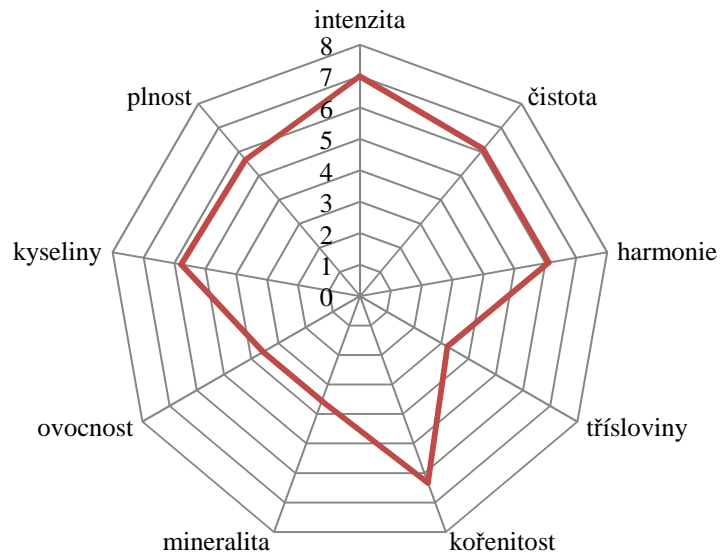
Graf 24: Chuťový profil varianty AC



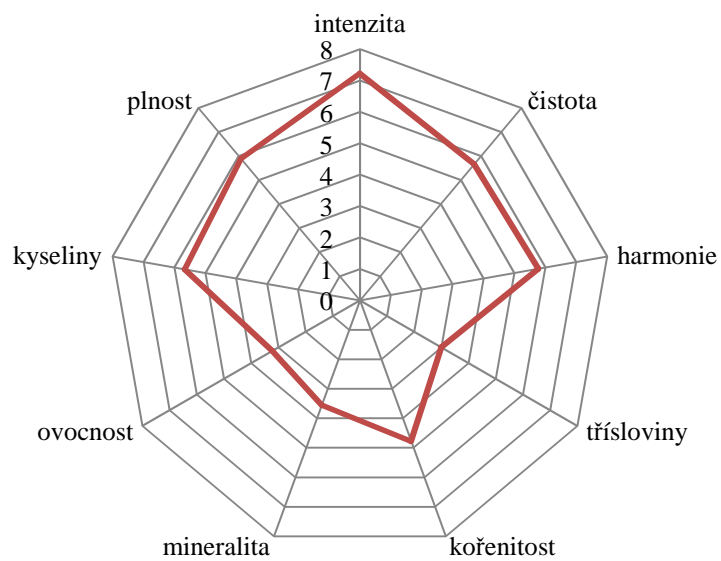
Graf 25: Chuťový profil varianty BA



Graf 26: Chuťový profil varianty BB



Graf 27: Chuťový profil varianty BC



Graf 28: Chuťový profil varianty AA 1

4.4.4 Stanovení analytických hodnot vzorků experimentu

Dne 14.4.2016 proběhlo měření analytických parametrů vín na přístroji FTIR analyzátor BrukerAlpha. pH vín bylo měřeno pH-metrem. Naměřené hodnoty uvádí tabulka 20.

Tab. 22: Analytické hodnoty vzorků experimentu

	AA	AB	AC	BA	BB	BC	AA 1
Alkohol (%)	11,67	11,62	11,56	11,68	11,63	11,63	11,33
Tit. Kys. (g/l)	6,29	6,82	6,86	6,33	6,28	6,24	6,32
Red. Cukry (g/l)	0,03	1,02	0,55	0,25	0,81	0,44	0,49
pH	3,39	3,27	3,31	3,34	3,34	3,38	3,41
Jablečná k. (g/l)	0,38	1,77	1,68	1,83	2,00	1,97	0,01
Mléčná k. (g/l)	1,20	0,29	0,39	0,29	0,07	0,10	1,28
Octová k. (g/l)	0,27	0,26	0,31	0,30	0,25	0,33	0,33
Vinná k. (g/l)	2,86	2,84	2,95	2,78	2,64	2,72	2,60
Glycerol (g/l)	6,67	6,58	7,27	6,64	6,69	7,21	6,47

4.4.5 Stanovení termolabilních bílkovin

Jednotka NTU udává míru zakalení (turbiditu) měřeného vzorku. V případě, že víno obsahuje termolabilní bílkoviny, dojde vlivem teplotního šoku k jejich vysrážení (vznikne zákal). Čím vyšší je turbidita, tím více vzorek obsahuje termolabilních bílkovin a tím více je nutné použít bentonitu k vyčerení vína. V tabulce je uvedena míra zakalení a obsah veškerého SO₂ jednotlivých variant. Uvedené hodnoty byly naměřeny 14.4.2016.

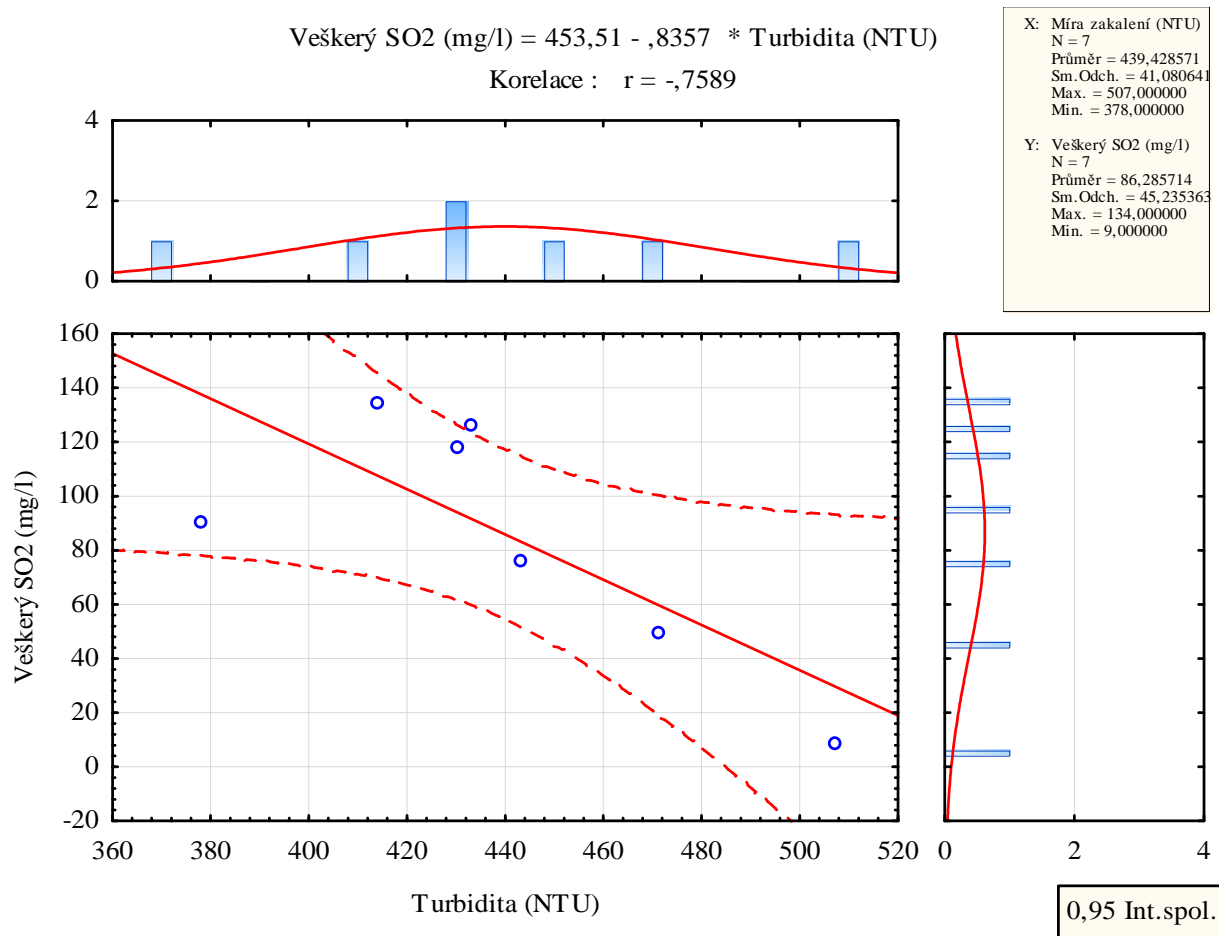
Tab. 23: Turbidita a veškerý SO₂ jednotlivých vzorků experimentu

Varianta	Turbidita (NTU)	Veškerý SO₂ (mg/l)
AA 1	507	9
AA	471	50
AB	378	91
AC	430	118
BA	443	76
BB	433	126
BC	414	134

Tab. 24: Korelační matice

	Turbidita (NTU)	Veškerý SO₂ (mg/l)
Turbidita (NTU)	1,0000	-0,7589
Veškerý SO₂ (mg/l)	-0,7589	1,0000

Tabulka uvádí, že závislost mezi veškerým SO₂ a turbiditou je velmi silná. Ze statistického hlediska se jedná o negativní korelaci, což v tomto případě znamená, že čím více bude víno obsahovat veškerého SO₂, tím méně bude obsahovat termolabilních bílkovin.



Graf 29: Turbidita (NTU) vs. veškerý SO₂

5 DISKUZE

Varianty experimentu pocházejí ze stejné vstupní suroviny a prošly naprosto totožným způsobem vinifikace s jediným rozdílem, a sice odlišným řízením dávek SO₂. Volný, veškerý SO₂ i jednotlivé karbonylové sloučeniny byly sledovány při všech fázích výroby vína. Zpracování hroznů, zrání vína v nerezových nádobách po dobu tří měsíců, příprava vína k lahvování (finalizace) trvající cca 20 dnů a zrání vína v lahvách jeden měsíc.

Jak ukazují výsledky měření, karbonylové sloučeniny jsou v moštích před fermentací v nulových hodnotách, což potvrzuje fakt, že hrozny byly v perfektním zdravotním stavu. Jak uvádí Ribéreau-Gayon et al.(2006), zdrojem acetaldehydu může být hrozen napadený šedou hnilobou. Jeho koncentrace se v mošti z takového hrozna pohybuje okolo 10 - 20 mg/l. Při sřnění takového moštu musíme počítat s tím, že určitá část SO₂ okamžitě přejde do vázané formy.

Při prvním měření po fermentaci vzorků se projevíly značné rozdíly v množství acetaldehydu a kyseliny 2-oxoglutarové. Kyselina 2-oxoglutarová je u vzorků A₋ (bez ošetření rmutu SO₂) vyšší téměř o 40 mg/l, než u vzorků B₋ (60 mg/l), což může mít souvislost s naměřenými hodnotami acetaldehydu, jehož hodnota je zase naopak u vzorků skupiny B₋ vyšší téměř o 40 mg/l, než vzorky A₋. Ribéreau-Gayon et al.(2006) ovšem uvádí, že tvorba acetaldehydu je způsob obrany kvasinek před antiseptickými účinky SO₂. Hlavním zdrojem acetaldehydu je alkoholová fermentace, je jejím meziproduktem a vzniká dekarboxylací kyseliny pyrohroznové. Také uvádí, že zdrojem acetaldehydu může být také hrozen napadený šedou hnilobou. Jeho koncentrace se v mošti z takového hrozna pohybuje okolo 10 - 20 mg/l. Při sřnění takového moštu musíme počítat s tím, že určitá část SO₂ okamžitě přejde do vázané formy (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Při měření vzorků experimentu bylo v každé z variant stanoveno nulové množství acetaldehydu, stejně tak jako dalších karbonylových sloučenin. Jelikož při sběru hroznů byl jejich zdravotní stav stoprocentní, je možné konstatovat, že v případě zdravé suroviny pochází karbonylové sloučeniny ve víně pouze z metabolismu kvasinek či bakterií.

Viljakainen et al. (2002) uvádí že bakterie mléčného kvašení zpracovávají kyselinu citronovou z části na kyselinu octovou a také na diacetyl a acetoin, což můžeme potvrdit. Přítomnost těchto látek byla zjištěna pouze u vína varianty AA, kde proběhla spontání

malolaktická fermentace. Tato varianta byla školená bez přídavku SO_2 , což byla varianta BA též, ovšem u ní proběhlo síření na rmut. Měla tedy během školení na jemných kalech bez síry vyšší veškeré SO_2 na hodnotě kolem 26 mg/l, což může být, jak se ukázalo, dostatečně vysoké množství pro inhibici mléčných bakterií.

Vázaný oxid siřičitý je takzvaná „paměť“ vývoje vína“. Udává kvalitu hroznů a následné enologické práce (Saidane et al., 2013). Jak si můžeme všimnout z tabulky 23, je veškerý obsah všech variant poměrně nízký. Přesto jsou patrné výrazné rozdíly mezi variantami a to i navzdory tomu, že jsou vína vyrobená ze stejné suroviny. Management SO_2 je totiž úzce spjat s aromatickými i chuťovými projevy vín.

Při sensorické analýze byly vína varianty A_ hodnocena bodově výše, než vína varianty B_. Je tomu tak zejména proto, že průběh fermentace varianty B_ byl problematický. Vlivem přítomného volného SO_2 v moštu byl potlačen nástup fermentace. Tento problém se projevil nejen v podobě vyššího obsahu acetaldehydu v mladém víně, ale také projevem sirkových tónů už v průběhu fermentace, což se negativně projevilo i na aroma vína. Můžeme tedy tvrdit, že vína vyrobená z nesířených moštů, nebo obecně za užití nižších dávek SO_2 nabízí konzumentům příjemnější zážitek a obecně nabízí širší spektrum aromatických i chuťových látek, což potvrzuje provedená sensorická analýza u variant experimentu. Grafy aromatických a chuťových profilů znázorňují obsah vjemů u jednotlivých variant. U varianty AA je možné si všimnout, že působí plným a harmonickým dojmem v chuti, což způsobilo zrání vína na jemných kalech za jejich občasného promíchání. Naopak varianty _C jsou hodnoceny jako nejvíce kořenité a ovocné, z čehož lze usoudit, že vína zrající při vyšších hodnotách SO_2 budou působit právě tímto dojmem, oproti vínům vyrobených technologií surlie. Samozřejmě v rámci projevů odrůdy.

Z grafu 13 vyplývá, že nejméně karbonylových sloučenin obsahuje varianta AA 1, při jejímž zrání a finalizaci nebyl použit žádný SO_2 , lahvovala byla s jemnými kaly pouze jako srovnání, či zajímavost k experimentu. Tato varianta byla při sensorické analýze hodnocena lépe, než varianty B_, navzdory tomu že působila mírným oxidativním dojmem. Tento fakt je velice zajímavý z pohledu toho, že varianta neobsahuje téměř žádný acetaldehyd, který právě oxidativní tóny způsobuje. Tato varianta obsahuje oproti variantě AA významně méně acetoinu, diacetylu a dalších, což absolutně potvrzuje fakt, že oxid siřičitý karbonylové sloučeniny ve víně udržuje a že pokud vínu necháme dostatečně dlouhou k vyžrání a až poté jej zasíříme, můžeme docílit vína s velmi nízkým veškerým SO_2 a přesto se sensoricky čistým

a zdravým aromatickým profilem. Dále z grafu vyplývá, že varianty _B, tedy varianty, které zráli při hodnotě 30 mg/l mají nejvyšší obsahy acetaldehydu v konečném víně, nebo také poměrně vysoké množství kyseliny 2-oxoglutarové u variant A_, tedy nezasířených před fermentací.

Nutno podotknout že grafy zobrazující vývoj karbonylových sloučenin nepopisují přesný trend vývoje těchto sloučenin. Pokud bychom chtěli tento vývoj zaznamenat přesně, a tím odhalit kritické body jejich vzniku a vývoje musely by být odběry prováděny v daleko užším časovém horizontu a hlavně před a po každém zásahu do vína, ať už se jedná o jeho síření nebo stáčení.

6 ZÁVĚR

Z výsledků experimentu je patrné, že vývoj karbonylových sloučenin ovlivňuje především dávkování oxidu siřičitého, nebo také zvolená technologie výroby vína. Karbonylové sloučeniny jsou převážně produktem metabolismu kvasinek a bakterií. Proto se jejich nejvyšší obsah ve víně objevuje ihned po fermentaci. Experiment potvrdil fakt, že přídavek oxidu siřičitého na hrozny (rmut) je příčinou zvýšené tvorby acetaldehydu kvasinkami. Tvorba acetaldehydu je totiž způsob obrany kvasinek před antiseptickými účinky SO_2 . Dále bylo prokázáno, že během zrání vína obsah karbonylových sloučenin klesá a naopak při manipulaci s vínem (například stáčení, lahvování) obsah těchto sloučenin roste. U vín, které nebyly sířeny během vinifikace, pouze u nich docházelo k promíchávání jemných kalů, poklesl obsah karbonylových sloučenin na nejnižší hodnoty. Je tedy jasné, že pokud je víno vyrobeno technologií surlie, SO_2 je při jeho síření potom stabilní a nepřechází tolik do vázané formy.

Senzorická analýza vín ukázala, že množství volného SO_2 , při kterém víno zraje, má také dopad na jeho aromatický i chuťový profil. Proto by si měl každý vinař uvědomit daleko dříve, než ve sklepě a na konci října, jaké víno chce vyrobit. Tomuto rozhodnutí musí přizpůsobit nejen práci ve vinici a načasování sklizně, ale také způsob práce s SO_2 . Tato látka je totiž mezi vinaři mnohdy používána bez rozmyslu a s naprostou samozřejmostí. S jeho citlivým a cíleným užitím lze z jedné suroviny vyrobit víno na jedné straně velice strukturní, komplexní, s mohutným tělem a aroma. Tedy víno, které vyžaduje delší pozornost, nebo víno lehčího typu, s výraznou sekundární aromatikou, které je snadno pitelné a příjemně svěží.

Z pohledu snížení SO_2 se dá směle tvrdit, že technologické metody sur-lie a MLF, jenž se vzájemně doplňují a navazují na sebe, představují pravděpodobně nejúčinnější nástroj v technologii vína. Samozřejmě pouze v případech, kde je to vhodné dle typu vína a stylu.

Obecně lze říci, že tímto experimentem bylo potvrzeno staré známé pravidlo, které říká, že víno potřebuje pouze tolik síry, na kolik si ho sklep mistr naučí.

7 SOUHRN

Tato diplomová práce se zabývá sledováním vývoje sloučenin, které jsou schopny vázat oxid siřičitý. Jedná se o sloučeniny karbonylové, které jsou většinou produktem metabolismu kvasinek a bakterií.

Literární část pojednává o oxidu siřičitém, o jeho vlastnostech a formách, které jsou přítomny ve víně a také o sloučeninách, které tento oxid siřičitý váží. Také se zabývá technologií výroby vína metodou Sur-lie a malolaktickou fermentací, díky kterým lze použití SO₂ ve víně snížit na minimum.

Předmětem výzkumu bylo vyrobit ze stejné suroviny šest vzorků vín s odstupňovanou celkovou dávkou oxidu siřičitého. Experiment trval 6 měsíců, během kterých proběhlo zpracování hroznů, fermentace, tříměsíční zrání vín v nerezových tancích, příprava vín k lahvování, lahvování a také měsíční zrání vín v lahvi. Po celou tuto dobu docházelo k pravidelným odběrům vzorků a stanovení obsahu karbonylových sloučenin i jednotlivých forem oxidu siřičitého. Byly stanoveny základní analytické parametry vín a také byla tato vína porovnána sensoricky.

Klíčová slova: Karbonylové sloučeniny, oxid siřičitý, Sur-lie, malolaktická fermentace

RESUME

The diploma thesis deals with observation of development of compounds that are able to bind sulfur dioxide. These are carbonyl compounds that are mostly product of yeast and bacteria metabolism.

Theoretical part deals with sulfur dioxide, its characteristics and forms that are present in wine and it also deals with compounds that bind the sulfur dioxide. The diploma thesis also analyzes technology of production of wine by Sur-lie method and malolactic fermentation that enable reduction of SO₂ in wine to the minimum value.

The subject of research was to produce six types of wine from the same raw material with graduated total dosage of sulfur dioxide. The experiment took six months during which was accomplished grapes processing, fermentation, three-month wine aging in stainless steel tanks, wine preparation for bottling, bottling and one-month aging in bottles. Throughout the whole experiment periodical samplings, evaluation of volume of carbonyl compounds and evaluation of individual forms of sulfur dioxide were realized. Basic analytical parameters of wines were determined and the wine was sensory evaluated.

Keywords: Carbonyl compounds, sulfur dioxide, Sur-lie, malolactic fermentation

8 POUŽITÁ LITERATURA

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

BALÍK, J., 2006: *Vinařství : Návody pro laboratorní cvičení*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 98 s. ISBN 80-7157-933-5.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

GALLARDO-CHACON, J. J., VICHI, S., URPI, P., LOPEZ-TAMAMES, E., BUXADERAS, S., 2010: Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine sur lie aging. *International Journal of Food Microbiology*, ISSN:0168-1605, 143, 1-2: 48-53.

GOBBI, M., COMITINI, F., D'IGNAZI, G., CIANI, M., 2013: Effects of nutrient supplementation on fermentation kinetics, H₂S evolution, and aroma profile in Verdicchio DOC wine production. *European Food Research and Technology*, ISSN:1438-2377, 236, 1: 145-154.

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

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

ISHIWATA, H., NISHIJIMA, M., FUKASAWA, Y., 2003: Estimation of inorganic food additive (nitrite, nitrate and sulfur dioxide), antioxidant (BHA and BHT), processing agent (propylene glycol) and sweetener (sodium saccharin) concentrations in foods and their daily

intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1998. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, ISSN:0015-6426, 44, 2: 132-143.

JACKOWETZ, J. N., DE ORDUNA, R. M., 2012: Metabolism of SO₂ binding compounds by *Oenococcus oeni* during and after malolactic fermentation in white wine. *International Journal of Food Microbiology*, ISSN:0168-1605, 155, 3: 153-157.

JACKOWETZ, J. N., DE ORDUNA, R. M., 2013: Survey of SO₂ binding carbonyls in 237 red and white table wines. *Food Control*, ISSN:0956-7135, 32, 2: 687-692.

JANČÁŘOVÁ, I., JANČÁŘ, L., 2003: *Analytická chemie*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 195 s. ISBN 80-7157-647-6.

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

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

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

PAVELESCU, D., FIECHTER, G., STEIDL, R., EDER, R., KNEIFEL, W., 2012: Sensory and chemical characteristics of wines from the variety 'Gruner Veltliner' in connection with the sur lie method. *Mitteilungen Klosterneuburg*, ISSN:0007-5922, 62, 1: 21-30.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

VILJAKAINEN, S. K., LAAKSO, S. V., 2002: Acidity reduction in northern region berry juices by the malolactic bacterium *Oenococcus oeni*. *European Food Research and Technology*, ISSN:1438-2377, 214, 5: 412-417.

9 SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

Obr. 1: Formy SO ₂ ve víně (Ribéreau-Gayon et al., 2006)	8
Tab. 1: Nárůst aktivního SO ₂ (Ribéreau-Gayon et al., 2006)	9
Tab. 2: Vlastnosti různých forem oxidu siřičitého využívané pro uchovávání vín (Ribéreau-Gayon et al., 2006)	11
Tab. 3: Parametry vstupní suroviny	24
Tab. 4: Gradientový program	31
Tab. 5: Hodnoty korelace v absolutní hodnotě a interpretace závislosti.....	33
Tab. 6: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AA	34
Tab. 7: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AB	36
Tab. 8: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AC	38
Tab. 9: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BA	40
Tab. 10: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BB.....	42
Tab. 11: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BC.....	44
Tab. 12: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta AA	46
Tab. 13: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta AB	48
Tab. 14: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta AC	50
Tab. 15: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta BA	52
Tab. 16: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta BB	54
Tab. 17: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta BC	56
Tab. 18: Porovnání vývoje sloučenin vázajících SO ₂ u jednotlivých variant	58
Tab. 19: Výsledky hodnocení vín	59
Tab. 20: Aromatický profil vín	61
Tab. 21: Chuťový profil vín	65

Tab. 22: Analytické hodnoty vzorků experimentu	69
Tab. 23: Turbidita a veškerý SO ₂ jednotlivých vzorků experimentu	70
Tab. 24: Korelační matice	70
Graf 1: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AA	35
Graf 2: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AB	37
Graf 3: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta AC	39
Graf 4: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BA	41
Graf 5: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BB	43
Graf 6: Vývoj volného a veškerého oxidu siřičitého – varianta BC	45
Graf 7: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta AA	47
Graf 8: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta AB	49
Graf 9: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta AC	51
Graf 10: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta BA	53
Graf 11: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta BB	55
Graf 12: Vývoj sloučenin vázajících SO ₂ – varianta BC	57
Graf 13: Porovnání vývoje sloučenin vázajících SO ₂ u jednotlivých variant	58
Graf 14: Statistické zhodnocení výsledků vín hodnocených stobodovým systémem.....	60
Graf 15: Aromatický profil varianty AA.....	61
Graf 16: Aromatický profil varianty AB	62
Graf 17: Aromatický profil varianty AC.....	62
Graf 18: Aromatický profil varianty BA.....	63
Graf 19: Aromatický profil varianty BB	63
Graf 20: Aromatický profil varianty BC	64
Graf 21: Aromatický profil varianty AA 1.....	64
Graf 22: Chuťový profil varianty AA	65
Graf 23: Chuťový profil varianty AB.....	66
Graf 24: Chuťový profil varianty AC.....	66
Graf 25: Chuťový profil varianty BA.....	67
Graf 26: Chuťový profil varianty BB.....	67
Graf 27: Chuťový profil varianty BC.....	68
Graf 28: Chuťový profil varianty AA 1	68
Graf 29: Turbidita (NTU) vs. veškerý SO ₂	71

