

# Vliv šíření vína na jeho vybrané analytické ukazatele

Bc. Dušan Uherek

---

Diplomová práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Dušan UHEREK**  
Osobní číslo: **T11071**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv šíření vína na jeho vybrané analytické ukazatele**

Zásady pro vypracování:

## I. Teoretická část

1. Popište technologii výroby réвовého vína
2. Charakterizujte úlohu  $\text{SO}_2$  při výrobě vína
3. Objasněte úlohu  $\text{SO}_2$  ve víně, popište metody jeho stanovení

## II. Praktická část

1. Připravte sadu modelových vzorků vína, lišící se dávkováním  $\text{SO}_2$
2. Provedte analýzu vzorků na  $\text{SO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , a celkovou antioxidační kapacitu
3. Provedte senzorické hodnocení analyzovaných vzorků
4. Dosažené výsledky vyhodnoťte a diskutujte. Formulujte závěry a doporučení

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. **VELÍŠEK, Jan.** Chemie potravin 2. Tábor: OSSIS – Ing. Václav Šedivý, 2009. ISBN 80-902391-4-5.
2. **MICHLOVSKÝ, Miloš.** Oxid šišičitý v enologii, Rakvice: Vinselekt Michlovský a.s., 2012. ISBN 978-80-905319-0-1.
3. **KRAUS, V., Z. FOFFOVÁ, B. VURM.** Nová encyklopedie českého a moravského vína 2.díl, Praha: Praga Mystica s.r.o., 2008. ISBN 978-80-86767-09-3
4. **RANKINE, Bryce Crossley.** Making good wine, Sydney: Pan Macmillan Australia Pty limited, 2004. ISBN 1-4050-3601-X.
5. **STEIDL, Robert.** Sklepní hospodářství. 1.vyd. Valtice: Národní salon vín, 2002. ISBN 80-903201-0-4.
6. **PAVLOUŠEK, Pavel.** Výroba vína u malovinařů. 2.vyd. Praha: GRADA Publishing, a.s., 2010. ISBN 978-80-247-3487-3.

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Pavel Valášek, CSc.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**11. února 2013**

Termín odevzdání diplomové práce:

**17. května 2013**

Ve Zlíně dne 11. února 2013

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



  
doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně .....2.5.2013.....

  
.....



<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Tématem této diplomové práce bylo stanovení míry vlivu přídavku oxidu siřičitého do lahvovaných vín. Práce také popisuje technologické postupy výroby vína a charakterizuje použití oxidu siřičitého při aplikaci do vína. Celkem bylo analyzováno dvanáct párů vzorků bílých vín s rozdílným obsahem oxidu siřičitého. Kromě analýzy na oxid siřičitý, byl sledován obsah rozpuštěného kyslíku, celková antioxidační kapacita metodou s DPPH a byla provedena analýza aromatických látek pomocí plynové chromatografie. Rozdíly ve zkoumaných vzorcích se na závěr analyzovaly pomocí trojúhelníkové zkoušky. Cílem práce bylo vyhodnotit, zda rozdílná úroveň přídavku SO<sub>2</sub> v lahvích má zásadní vliv na zkoumané kvalitativní ukazatele.

Klíčová slova: víno, oxid siřičitý, analýza vína, antioxidační kapacita, DPPH, GC-MS

## **ABSTRACT**

The topic of this thesis was to determine the degree of sulphur dioxide addition to bottled wines. The work also describes the technological processes of wine production and characterizes the use of sulphur dioxide when applied to wine. Altogether twelve pairs of samples of white wines with different content of sulphur dioxide were analyzed. In addition to sulphur dioxide analysis, dissolved oxygen was monitored, total antioxidant capacity using the DPPH and the analysis of aromatic compounds on a gas chromatography was used. Differences in the tested samples were finally analyzed using a triangle test. The aim of the study was to evaluate whether the different levels of SO<sub>2</sub> addition in bottles had a major impact on the qualitative indicators.

Keywords: wine, sulphur dioxide, wine analysis, antioxidant capacity, DPPH, GC-MS

Chtěl bych touto cestou poděkovat panu doc. Ing. Pavlu Valáškoví, CSc., mému vedoucímu diplomové práce, za odborné rady a pomoc při jejím zpracování. Dále pak patří nemalý dík paní Jaroslavě Řemenovské a ing. Josefu Osičkovi, kteří mě pomohli s analýzou pomocí instrumentálních metod. Nemohu také zapomenout poděkovat zaměstnancům Zámeckého vinařství Bzenec, za pozitivní přístup při sensorickém hodnocení a kolektivu zdejší laboratoře, za poskytnutí podkladů a podporu při analýze.

Zvláštní poděkování patří také celé mé rodině, přátelům a dvěma spolužačkám.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>11</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>12</b>
<b>1 HISTORIE VINAŘSTVÍ</b> .....	<b>13</b>
<b>2 TECHNOLOGIE VÝROBY RÉVOVÝCH VÍN</b> .....	<b>14</b>
2.1 SKLIZEŇ HROZNŮ .....	15
2.2 PŘÍJEM, ODZRŇOVÁNÍ A DRCENÍ HROZNŮ .....	15
2.3 LISOVÁNÍ A ÚPRAVA MOŠTU .....	17
2.3.1 Zvýšení cukernatosti .....	18
2.3.2 Odkalení moštů .....	18
2.3.3 Odkyselování a okyselování moštu.....	19
2.4 KVAŠENÍ MOŠTU.....	19
2.5 JABLEČNO-MLÉČNÁ FERMENTACE.....	21
2.6 ŠKOLENÍ VÍNA .....	21
2.3.4 První stáčení vína .....	22
2.3.5 Druhé stáčení.....	22
2.3.6 Číření, filtrace .....	22
2.3.7 Zrání vína .....	23
<b>3 SÍRA A JEJÍ SLOUČENINY VE VINAŘSTVÍ</b> .....	<b>24</b>
3.1 SÍRA .....	24
3.2 OXID SIŘIČITÝ - SO <sub>2</sub> .....	24
3.3 POUŽITÍ OXIDU SIŘIČITÉHO PŘI VÝROBĚ VÍNA .....	25
3.1.1 Antioxidační účinky .....	26
3.1.2 Antiseptické účinky.....	27
3.1.3 Antienzymatické účinky.....	27
3.4 FORMY OXIDU SIŘIČITÉHO.....	27
3.2.1 Volný SO <sub>2</sub> .....	28
3.2.2 Molekulární forma SO <sub>2</sub> .....	29
3.2.3 Vázaná forma oxidu siřičitého .....	30
3.5 APLIKACE OXIDU SIŘIČITÉHO VE VÍNĚ .....	30
3.4.1 Spalování elementární síry .....	30
3.4.2 Disiřičitan draselný K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .....	31
3.4.3 Síření zkapalněným SO <sub>2</sub> .....	31
3.4.4 Odstranění SO <sub>2</sub> z vína .....	32
3.4.5 Vady vína související se sirnými sloučeninami .....	32
3.4.6 Legislativa upravující obsah SO <sub>2</sub> .....	33
3.4.7 BIO víno a oxid siřičitý.....	34
3.4.8 Oxid siřičitý a aromatické látky .....	35
<b>4 POPIS METOD STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO VE VÍNĚ</b> .....	<b>37</b>
4.1 TITRAČNÍ STANOVENÍ - JODOMETRIE .....	37
3.5.1 Stanovení volného SO <sub>2</sub> .....	37
3.5.2 Stanovení veškerého SO <sub>2</sub> .....	38
4.2 REFERENČNÍ METODA .....	38
4.2.1 Stanovení volného a veškerého SO <sub>2</sub> .....	39



4.2.2	Stanovení molekulárního SO <sub>2</sub> .....	39
4.3	INTERFEROMETRICKÉ STANOVENÍ .....	40
4.4	ENZYMATICKÁ METODA .....	41
4.5	STEIGMANOVA METODA .....	41
4.6	PRŮTOKOVÁ INJEKČNÍ ANALÝZA - FIA (FLOW INJECTION ANALYSIS) .....	42
4.7	CHROMATOGRAFICKÉ METODY .....	42
4.8	POUŽITÍ OSTATNÍCH METOD .....	43
<b>5</b>	<b>CÍL PRÁCE .....</b>	<b>44</b>
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>ANALYZOVANÁ VÍNA A METODY .....</b>	<b>46</b>
6.1	VZORKY VÍN POUŽITÉ PŘI ANALÝZE .....	46
<b>7</b>	<b>PŘEHLEDNÉ USPOŘÁDÁNÍ PROVEDENÍ JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ .....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>POUŽITÁ ČINIDLA, ROZTOKY, POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....</b>	<b>48</b>
8.1	STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO JODOMETRICKY .....	48
8.1.1	Použitá činidla a roztoky .....	48
8.2	STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU VE VÍNĚ.....	48
8.2.1	Použité materiály.....	48
8.2.2	Měřicí přístroje.....	48
8.3	STANOVENÍ CELKOVÉ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY .....	48
8.3.1	Použitá činidla a roztoky .....	48
8.3.2	Pomůcky.....	48
8.3.3	Použité přístroje .....	49
8.4	STANOVENÍ AROMATICKÝCH LÁTEK .....	49
8.4.1	Použité pomůcky .....	49
8.4.2	Přístroje .....	49
<b>9</b>	<b>POPIS JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ .....</b>	<b>50</b>
9.1	STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO JODOMETRICKY .....	50
9.1.1	Postup .....	50
9.1.1.1	Volný oxid siřičitý .....	50
9.1.1.2	Veškerý oxid siřičitý .....	50
9.1.2	Výpočet .....	51
9.1.3	Vyjádření výsledků .....	51
9.2	STANOVENÍ KYSLÍKU ROZPUŠTĚNÉHO VE VÍNĚ.....	51
9.2.1	Princip metody .....	51
9.2.2	Pracovní postup.....	51
9.3	STANOVENÍ CELKOVÉ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY (TAC) .....	52
9.3.1	Metoda s difenylpikrylhydrazylem (dále DPPH).....	52
9.3.2	Princip stanovení .....	52
9.3.3	Příprava základního roztoku .....	52
9.3.4	Příprava pracovního roztoku .....	52
9.3.5	Příprava kalibračních roztoků pro sestavení kalibrační křivky.....	52
9.4	STANOVENÍ POMĚRŮ AROMATICKÝCH LÁTEK .....	53
9.4.1	Princip metody .....	53

9.4.2	Pracovní postup .....	53
9.4.3	Parametry přístroje .....	53
9.5	SENZORICKÁ ANALÝZA .....	54
9.5.1	Postup senzorické analýzy .....	54
9.5.2	Princip testu.....	55
<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>		<b>56</b>
9.6	VÝSLEDKY STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO .....	56
9.7	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU .....	57
9.8	STANOVENÍ CELKOVÉ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY .....	58
9.7.1	Porovnání vín dle vtahu obsahu SO <sub>2</sub> a TAC.....	60
9.9	VÝSLEDKY ANALÝZ AROMATICKÝCH LÁTEK.....	62
9.10	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ SENZORICKÉ ANALÝZY .....	76
<b>ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ .....</b>		<b>77</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>		<b>77</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>		<b>85</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>		<b>87</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>		<b>88</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>		<b>89</b>

## ÚVOD

Víno řadíme mezi alkoholický nápoj vyrobený fermentací hroznů révy vinné. Jeho obliba celosvětově vzrůstá. V současné době patří mezi velmi oblíbené nápoje i v České republice. Roční spotřeba dnes činí 2012 tisíc hektolitřů, což je přes 20 litrů na každého obyvatele ČR. Víno se pěstuje ve vinařských oblastech Čechy a Morava.

Víno je živý organismus, který je složen z navzájem ovlivňujících se různých látek, jako jsou kyseliny, cukry, fenolické látky, aromatické látky apod., jež musíme chránit. Nejpoužívanější exogenní látkou, která nám v současné době uchovává víno před nežádoucími vlivy, je oxid siřičitý. Váže ve víně rozpuštěný kyslík, který může reagovat s fenolickými sloučeninami, dávající vínu nahnědlou barvu.  $\text{SO}_2$  se používá pro zabránění nežádoucí oxidace, nezpůsobuje však přímo odstranění kyslíku z vína. Dále pak působí proti plísním, kvasinkám a aerobním bakteriím. Musí se však stále hledat optimální dávky, které nám zaručí ochranu vína a zároveň nezpůsobí jeho negativní ovlivnění. Příliš vysoké dávky vedou ke snížení vjemu aromatických látek a způsobují charakteristický zápach. Snahou výrobců vín je proto pomocí nových výrobních technologií přídavek oxidu siřičitého snižovat, nebo úplně odstranit, zatím to ale není úplně možné. Již při průběhu fermentace vzniká činností kvasinek malý obsah  $\text{SO}_2$ , proto jeho přítomnost ve víně nelze stoprocentně vyloučit.

Přítomnost oxidu siřičitého má však i svá úskalí. Velké dávky mohou způsobovat také zdravotní potíže, proto byla tato látka zařazena na seznam alergenů a byly stanoveny limity maximálního přípustného množství v jednotlivých druzích vín. Proto je třeba jeho množství monitorovat v celém výrobním postupu výroby vína. K tomu nám slouží několik současných technik pro sledování oxidu siřičitého, které mohou být od jednoduchých a méně přesných, až po složitější, s velkou spolehlivostí stanovení.

Nelze se však omezovat jen na jeden aspekt, a to hodnotu obsahu  $\text{SO}_2$ . Musíme přihlížet k celkovému pohledu na vyráběné víno. Je třeba porozumět problematice oxidu siřičitého ve víně a jeho reakcím, které se v něm vyskytují a pak dělat rozhodnutí, kolik a v jaké výrobní fázi se ho do vína dodá. Nelze jednoznačně určit přesné hodnoty  $\text{SO}_2$ , které jsou univerzální pro všechny.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**



## 1 HISTORIE VINAŘSTVÍ

Původ révy, pramáti dnešní révy vinné, sahá do pradávnej minulosti naší planety [1]. Vinná réva doprovázela člověka již v době kamenné, jak o tom svědčí vykopávky kolových staveb ve Švýcarsku, kde byla nalezena semena vinné révy. První odrůdy kulturní evropské révy vznikaly pravděpodobně na Kavkazu a ve střední Asii. Před šesti tisíci lety kvetlo vinařství v Mezopotámii, Sýrii a Babyloně. Z Blízkého východu se pak rozšířilo a dále v celém Středomoří se rozvíjeli znalosti o vinařství a sklepnictví. Vinařství se stále rozšiřovalo za podpory Karla Velikého, císaře Franské říše. Tento vladař vinařství rozuměl a také jeho rozkvět podporoval [2,11].

Počínaje 14. stoletím nabývala kultura vinné révy stále více na hospodářském významu, takže se vinařství stalo důležitým zemědělským výrobním odvětvím. Avšak díky válkám husitským, a zejména pak válkou třicetiletou byly vinice v Království českém i markrabství moravském značně poničeny. Vesnice se vypalovaly a opuštěné vinice pustly. Rovněž pozdější války česko-uherské, stejně jako napoleonské, vinicím v žádné zemi neprospěly. Další pokrok nastal v 18. století po zrušení nevolnictví, kdy se započalo s výsadbou ušlechtilých odrůd evropské révy a víno se začalo ošetřovat odbornými vinařskými sklepmistry [8,45].

V průběhu 19. století, zejména v jeho druhé polovině, nastává rozkvět vinařství i v našich oblastech. Vrcholu rozvoje na Moravě bylo dosaženo kolem roku 1866, kdy výměra vinic na tomto území činila 30 260 ha. Na začátku 20. století však přichází živočišný škůdce mšička révová, takzvaný révokaz. [8] Mšička postupně zničila podstatnou část evropských vinic, včetně vinic u nás. Další nemalý úpadek vinařství přichází v období 1. světové války. Plocha vinic klesala až do roku 1930, kdy bylo na Moravě jen 3870 ha. K postupnému rozvoji dochází až koncem 30. let, kdy se opět začala zvětšovat plocha vinic, až obnovované vinice postupně dosáhly dnešních 19 000 ha [19].

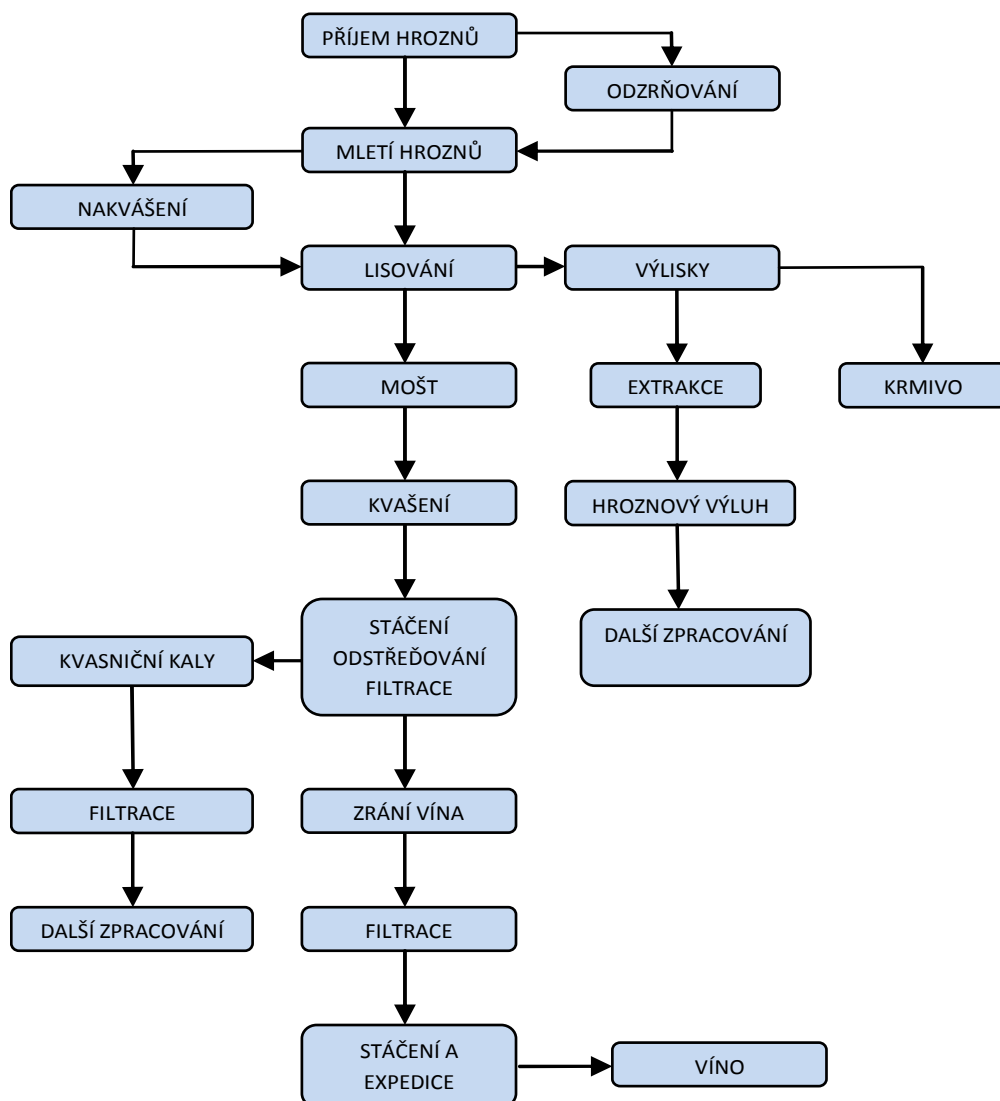
Současné vinařství již využívá nejmodernější technologické postupy a orientuje se na produkci jakostních vín. Vyrábějí se spíše malé partie v pestré odrůdové skladbě a vysoké kvalitě, která především bílá vína řadí mezi světovou špičku [18].

Dnes platnou legislativou pro pěstování révy vinné a pro výrobu a prodej vína je zákon č.256/2011 Sb., s platností od 1.9.2011, kterým se mění zákon č. 321/2004 Sb., o vinnogradnictví a vinařství.

## 2 TECHNOLOGIE VÝROBY RÉVOVÝCH VÍN

Základním principem výroby vína je kvašení moštu nebo rmutu z hroznů *Vitis vinifera* (réva vinná). Postup zpracování hroznů a použitá technologie se řídí mnoha faktory. Mezi nejdůležitější z nich patří poloha vinice, vyzrálость suroviny, nebo také typ vína, kterého chceme výrobou docílit.

Je třeba odlišit technologii zpracování hroznů bílých a hroznů modrých odrůd. Rozdílnost technologie se liší především v počátečních fázích zpracování.



Obr. 1 Schéma výroby přírodních vín [7]

## 2.1 Sklizeň hroznů

Hrozny se skládají z bobulí a třapin. Dužnina představuje až 90 % hmotnosti hroznů. Dužnina obsahuje převážně vodu a dále jednoduché cukry (glukosu a fruktosu), kyseliny (vinnou a jablečnou), dusíkaté a minerální látky. Nejvíce ceněnými složkami slupek jsou barviva a aromatické látky. Semena obsahují třísloviny a oleje [43].

Nejdůležitějším krokem v počátečním stadiu výroby vína je sklizeň. Rozhodnutí, v jakém okamžiku provést sklizeň závisí na mnoha faktorech. Velmi důležitou roli hraje vyzrálost hroznů (obsah cukru, kyselin, tříslovin) a jejich zdravotní stav [4].

Kvalitní a zejména rychlá sklizeň je základem každého dobrého vína. Nejpoužívanější a zároveň nejšetrnější sklizní je ruční sklizeň hroznů, která umožňuje provedení prvotní selekce. Hrozny, které nejsou zdravé, mají nadměrné poškození hmyzem nebo nedokonale vyzrálé, jsou odstraněny. Mezi velkou nevýhodu tohoto způsobu sklizně patří vyšší náklady na sklizeče. Druhou alternativou je mechanizovaná sklizeň, která využívá sklízecí stroje. V porovnání s ručním sběrem, představuje velkou úsporu nákladů. Hrozny jsou odstopkované již ve vinici, lze je přepravit ke zpracování více, v porovnání k objemu hroznů s třapinami z ručního sběru, a na sběr je třeba menší podíl lidské práce. I tato varianta sklizně má však své negativní stránky. Při strojním sběru dochází k narušení celistvosti bobule a také k urychlování biochemických reakcí, které jsou vyvolané uvolněnými enzymy.

V hroznech je přirozeně obsažen enzym fenoloxidáza, který při styku s kyslíkem vyvolává vlivem změn hydroxyskořicových kyselin, rychlé hnědnutí moštu. Částečně lze tomuto zamezit aplikací oxidu siřičitého nebo ochlazením bobulí pomocí suchého ledu (pevná forma CO<sub>2</sub>) [20].

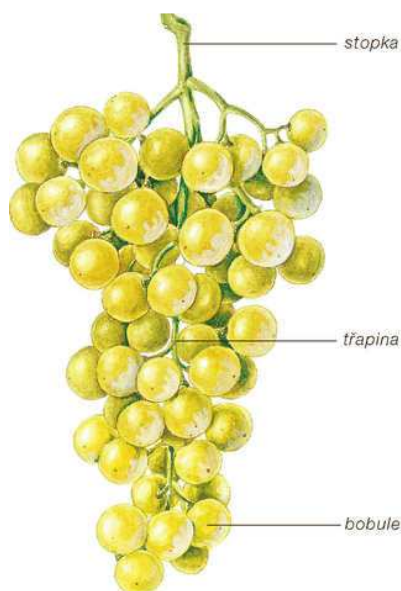
## 2.2 Příjem, odzrňování a drcení hroznů

Sklizené hrozny jsou dopravovány k dalšímu zpracování v různých obalech (bedny, kádě, kontejnery). Zásadou šetrného příjmu jsou krátké dopravní cesty, možnost využití samospádu, velké průměry transportního potrubí, šetrná pomaloběžná vřetenová čerpadla, ideální pak jsou čerpadla peristaltická. Při skládce hroznů se zjišťuje jejich hmotnost, cukernatost a jakost [7].

Množství cukru můžeme stanovovat pomocí několika způsobů:

- Ručním refraktometrem – jednoduché, ale málo přesné, použití především pro předběžné stanovení cukru v době dozrávání
- Moštoměrem Klosterneuburským – udává obsah cukru v hmotnostních procentech, které se nachází ve 100 hmotnostních dílech moštu (°KMW)
- Moštoměrem Oeschleho – použití jen ojediněle, zejména pro výzkum a šlechtění, udává poměr hustoty zkoušené kapaliny k hustotě čisté vody - ° "Oeschle" = (relativní hustota - 1,00) x 1000
- Moštoměrem ČNM – dnes nepoužívanější, udává koncentraci zkvasitelných cukrů révových moštů v kg na 1 hl [17].

Před lisováním bílých hroznů se oddělí bobule od třapin, dochází k tzv. odzrňení. Odzrňování se provádí na odzrňovačích, které bývají často spojené s mlýnkem – hrozny se tak současně melou a odzrňují. Odstranění třapiny je důležité pro zamezení extrakci chlorofylu, tříslovin a kyseliny šťavelové při lisování. Třapiny dodávají moštu obsaženého ve rmutu nepříjemnou trávovou příchuť [10].



Obr. 2 Popis hroznu [13]

Následným drcením se narušují bobule mezi drtícími válci, aby mohla šťáva při lisování lépe odtékat. Válce však nesmí být příliš blízko sebe, jinak dochází k nežádoucímu poško-



zování peciček [6]. Jejich poškozením dochází ke zvýšení obsahu tříslovin a uvolnění oleje z nich do vína a tím se zhoršuje jeho kvalita.

Vína z odzrněných rmutů jsou chuťově jemnější a jakostnější. Hůře se však lisují a pomaleji se číří právě v důsledku sníženého obsahu tříslovin [7].

Aromatické odrůdy a odrůdy z dužnatou dřeni necháváme nalezet na slupkách 12 – 24 hodin [11]. Pro urychlení tohoto procesu můžeme použít pektolytické enzymové přípravky, které štěpí pektinázy obsažené v bobulích. Ležení rmutu se tímto výrazně zkracuje a zlepšuje se jeho lisovatelnost. Délka ležení však vždy závisí na surovině a typu vína, kterého chce technolog dosáhnout.

Při výrobě červených vín odzrněný rmut kvasí v otevřených nebo uzavřených nádobách s pomocnými technologiemi. Každá z nich má za cíl uvolnit barvivo (antokyany) uložené v plastidech (pevných taninových pouzdrech) ve slupce bobulí. Vlivem zvyšujícího se obsahu alkoholu v kvasícím rmutu plastidy křehnou a praskají a barvivo se z nich uvolňuje. Uvolňování barviva z narušených plastidů se mechanicky urychluje promícháváním kvasícího rmutu a ponořováním vytvořeného matolinového koláče [12]. Vedle barviva se však uvolňují i jiné látky, obsažené v bobulích. Je to především trpký, svíravý tanin – tříslovina. Třísloviny z peciček a stopek (katechin, epikatechin) jsou nositelem nežádoucích barev a chutí. Víno má pak trávové a hořké aroma, vyšší podíly žluté a oranžové barvy. Doba vyluhování musí být taková, aby se získal dostatek barvy, ale aby víno nebylo příliš svíravé chuti. Neplatí zde však pravidlo, že čím více bude svíravých látek, tím bude kvalita horší, nebo lepší. Záleží vždy na poměru svíravých látek s obsahem kyselin, cukrů, alkoholu a hořkých látek [13,44].

### 2.3 Lisování a úprava moštu

Lisování má za účel oddělení šťávy, která byla uvolněna z buněk předchozími technologickými operacemi. Rmuty se lisují na lisech různých konstrukcí. Používají se periodické i kontinuální lisy, hydraulické i pneumatické. Podle osy koše je můžeme také rozdělit na horizontální nebo vertikální. Lisuje se pozvolna s občasným přerušením, aby výtěžek moštu byl co největší [3]. Dnes se používají převážně automatické periodické pneumatické lisy moderní konstrukce, které mají nafukovací vodorovný vak uvnitř děrovaného válcového koše, nebo se drť přitlačuje lisovací blánou k jedné děrované stěně válce, nebo je válec zcela uzavřený a mošt odtéká kanálky v plné stěně [1]. Lisování hroznů pneumatickými lisami při nízkém tlaku, zabraňuje přechodu nežádoucích polyfenolických látek do moštu.

Výlisnost hroznů se pohybuje kolem 70 – 75 %, a je dáno odrůdou, kvalitou, stupněm zralosti hroznů. Z celkového moštu získaného lisováním, připadá na samotok asi 60 %, který obsahuje nejvíce monosacharidů a kyselin. Při dalším lisování se obsah monosacharidů a kyselin snižuje, ale naopak se zvyšuje obsah extraktivních látek[45]. Rmut bílých odrůd, pokud je nenecháváme nakvášet, lisujeme co nejdříve a co nejrychleji, aby oxidačními enzymy neutrpěla barva ani chuť vína [11].

Aby byl mošt kvalitní a byl zaručen optimální průběh kvašení a vysoká jakost vyrobeného vína, je možné mošt získaný lisováním dodatečně upravovat. Nejčastěji se provádí zvýšení cukernatosti, odkalení, odkyselování, okyselování, provzdušnění a síření moštu. Povolené úpravy jsou dány příslušnou legislativou [7].

### 2.3.1 Zvýšení cukernatosti

Po vstupu České republiky do Evropské unie je v rámci evropských vinařských oblastí začleněna oblast Čechy se svými podoblastmi do vinařské zóny A a vinařská oblast Morava se svými podoblastmi do zóny B. V zóně A je možné zvýšit obsah alkoholu stolních a jakostních vín nejvýše o 3,5% objemového alkoholu. Toho se dosáhne zvýšením cukernatosti o 5,9 °NM, tedy přidavkem cukru 5,95 kg/hl. V zóně B se smí zvýšit obsah alkoholu stolních a jakostních vín nejvýše o 2,5% objemového alkoholu, což představuje zvýšení cukernatosti o 4,3 °NM, tedy přidavkem 4,25 kg/hl. Zvýšení cukernatosti je možné přidáním sacharózy, zahuštěného hroznového moštu nebo rektifikovaného hroznového koncentrátu do vylisovaného nebo odkaleného moštu nebo rmutu. U vín jakostních s přívlastkem nelze upravovat cukernatost jakýmkoliv způsobem a takto je uvádět do oběhu. Přislazování s kvalitním zahuštěným moštem je jednoznačně lepším řešením, než přislazováním sacharózou [2].

### 2.3.2 Odkalení moštů

Odkalení moštů je velmi důležitým technologickým krokem, který ovlivňuje kvalitu vína. Mošt získaný lisováním je kalný, neboť obsahuje nepatrné úlomky slupek a dužniny. Neodkalený mošt obsahuje vysoký podíl divoké kvasinkové a bakteriální mikroflóry a původce houbových chorob. Při působení divokých kvasinek dochází k rychlému kvašení a velké teplotě moštu. Alkohol, vznikající při kvašení by vyluhoval z kalících částic nežádoucí látky, snižující jakost vína. Také může docházet ke ztrátě buketních látek, které snižují kvalitu produktů a zvyšuje se pravděpodobnost možné tvorby sirných sloučenin [2, 4].

Odkalování se provádí několika možnými způsoby. Nejjednodušší způsob odkalení je pomocí dekantace. Principem je sedimentace pevných částic vylisovaného moštu na dno nádoby po dobu 10 – 24h. Sedimentaci lze zlepšit přidáním bentonitu, želatiny nebo jiných čířidel, popř. přidávkem pektolytických enzymů. Dalším způsobem je dynamické odkalování, vyžadující strojní zařízení. Čistý mošt získáme odstředivkami nebo filtrací přes vakuový filtr či použití flotace, při které dochází vynášení kalických částic na hladinu moštu. Příliš silné odkalování odebírá odrůdové a aromatické látky a ve vínech se projevuje kvasný buket [2].

### 2.3.3 Odkyselování a okyselování moštu

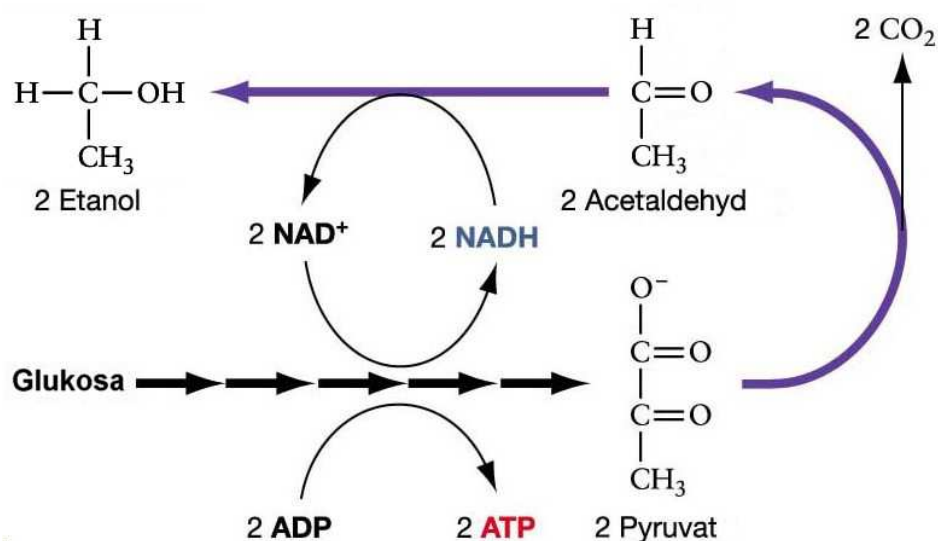
Odkyselování má za účel snížení kyselosti moštů s nízkým obsahem cukru. Odkyseluje se pomocí uhličitanu vápenatého ( $\text{CaCO}_3$ ), kterým se snižuje obsah kyseliny vinné, nebo průtokem přes vrstvu anexu, popř. míšením kyselých moštů s méně kyselými (tzv. scelování). Rozhodující pro způsob odkyselování je obsah kyseliny vinné. Okyselování se provádí v letech s nízkým obsahem kyselin v moštu. Přidává se kyselina vinná v množství 1-2 g/l tak, aby celková kyselost byla 7-8  $\text{g.l}^{-1}$  [6, 64].

## 2.4 Kvašení moštu

Alkoholové kvašení neboli fermentace je nejdůležitějším biochemickým procesem, který se podílí na tvorbě vína. Je způsobeno činností mnoha druhů mikroorganismů, kvasinek. Základem při výrobě vína jsou vinné kvasinky (*Sacharomyces cerevisiae*). Kvasinky jsou ve vinici všudypřítomné. Aby však kvašení probíhalo bezproblémově a rychle bez tvorby nadměrného množství pěny, přidávají se hned zpočátku čisté kultury kvasinek [1,4]. Čisté kultury vinných kvasinek zajišťují rychlé a hluboké prokvašení. Vína se lépe čistí a obsahují menší množství těkavých kyselin.

Kvasný proces zahajují kvasinky přírodní (apikulární), které vytvářejí zvláštní vůně. Nesnášejí vyšší obsah etanolu (4-5%), pak nastupují *Sacharomyces cerevisiae* s vysokou produkcí etanolu [9].

Při kvašení se přeměňuje glukóza a fruktóza na etanol a oxid uhličitý (Obr.3). Teoreticky by mělo ze 100 g glukózy vzniknout 51,11 g etanolu a 48,89 g oxidu uhličitého. Ve skutečnosti vzniká jen 47-48 g etanolu a kromě toho také další produkty [1].



Obr. 3 Schéma etanolové fermentace [46]

Kromě alkoholu a oxidu uhličitého se při kvašení vytváří rovněž velký počet více či méně významných primárních a sekundárních produktů kvašení:

- Primární vedlejší produkty kvašení – glycerol, kyselina mléčná, kyselina octová, kyselina jantarová, kyselina citronová
- Sekundární produkty kvašení – aceton, diacetyl, vyšší alkoholy, estery, aldehydy, ketony, aromatické látky [4]

Fermentaci můžeme z technologického hlediska rozdělit do tří částí:

1. Začátek kvašení, 2. Bouřlivé kvašení, 3. Dokvašení

Na začátku kvašení si buňky kvasinek zvykají na dané prostředí a začínají pučet. Během bouřlivého kvašení začíná exponenciální rozmnožování a růst kvasinek, spojený s produkcí hlavních produktů kvašení. Tvoří se velké množství CO<sub>2</sub> a tepla, kterým se mošt ohřívá. Běžně se doba kvašení pohybuje kolem 7 – 14 dnů [10]. Teplota kvašení je závislá na obsahu cukru v moštu, kyslíku, teplotě kvašení a kmenu použitých kvasinek. Většinou se pohybuje v rozmezí teplot 14 – 16 °C. Při teplotách vyšších než 20 °C může nastat oslabení životní činnosti kvasinek spojené se zpomalením kvašení a nedokonalým prokvašením přítomného cukru, může také nastat rozklad aromatických chuťových látek [16]. Po prokvašení hlavního podílu cukru kvašení ustává. Dokvašení trvá podle zbytku nezkašeného cukru, složení mladého vína a teploty 1 – 2 měsíce [11].

Červená vína lisujeme před skončením kvašení rmutu. Zabráníme tím nejen zbytečné oxidaci, ale i nežádoucímu pomnožení octových bakterií a zvýšení obsahu těkavých kyselin ve víně [15].

## 2.5 Jablečno-mléčná fermentace

Jablečno-mléčná fermentace je enzymatická přeměna kyseliny L-jablečné na kyselinu L-mléčnou za vzniku CO<sub>2</sub>, díky aktivitě mléčných bakterií. Jejím cílem je především minimalizovat chuťově nepříjemné kyseliny jablečné a přeměnit je na jemnější a harmonickou kyselinu mléčnou. Mléčné bakterie, způsobující jablečno-mléčné kvašení, jsou náročné na živiny. Proces odbourávání probíhá až v konečném stádiu kvašení, resp. těsně po jeho skončení, v přítomnosti kvasinek. Odumírající kvasinky podléhají autolýze, přičemž se do vína uvolňují živiny, potřebné pro růst a činnost mléčných bakterií [10].

Mléčné bakterie se rozdělují na homofermentativní a heterofermentativní. Homofermentativní bakterie rodu *Pediococcus* přeměňují glukosu nebo fruktosu na kyselinu mléčnou, heterofermentativní bakterie rodu *Laktobacillus* a *Oenococcus oeni* vytvářejí naopak vedle kyseliny mléčné také další produkty – kyselinu octovou etanol a oxid uhličitý. V praxi se využívají selektované bakterie patřící do druhu *Oenococcus oeni* [4].

Průběh jablečno-mléčné fermentace ovlivňuje obsah SO<sub>2</sub> a teplota. Oxid siřičitý má velký inhibiční účinek na mléčné bakterie. Ve vínech s vyšším obsahem kyseliny jablečné udržujeme teplotu 13-17 °C, čímž podpoříme a urychlíme odbourávání [10].

## 2.6 Školení vína

Pod pojmem školení vína je skryto množství operací, které musí sklep mistr provést. Jedná se především o stáčení, číření (známé také jako kráslení), filtrace, až po přípravu vína k plnění. V jeho průběhu dochází ke stabilizaci vína, zlepšuje se chuť i vzhled.

Po dokvašení se mladé víno, které je velmi kalné, začíná čistit. Kvasinky odumírají, klesají na dno nádob a spolu s bakteriemi a dalšími nečistotami vytvářejí kvasniční kaly [9].

Na usazování rozptýlených částic má vliv množství kyselin, teplota, oxid uhličitý, množství taninu apod. Aby nedocházelo k autolýze kvasnic za vzniku páchnoucího vína s hnilobnou příchutí, je třeba víno z kalů stočit.

### 2.3.4 První stáčení vína

Doba prvního stáčení vína se stanoví na základě obsahu veškerých kyselin. Je pravidlem, že vína s vyšším obsahem kyselin se lépe čistí než vína málo kyselá. Ležením na kvasnicích se obsah kyselin snižuje [8,13]. Vína s malým obsahem kyselin se obvykle čistí velmi pomalu, mají opál, který je způsobem mléčnými bakteriemi. Po stočení se obvykle rychle čistí a zachovávají si harmonický poměr kyselin [15]. V této fázi je víno citlivé na oxidaci vzdušným kyslíkem. Doléváním nádob nebo přidávkem SO<sub>2</sub> chráníme aromatické a buketní látky ve víně před jejich oxidací, použitím ochranné atmosféry z inertních plynů [21].

### 2.3.5 Druhé stáčení

Po 6 – 10 týdnech po prvním stáčení vína následuje stáčení druhé. Vína se stáčí v určitém stupni vývoje, víno ke stáčení má být zdravé, vyzrálé, čiré, svěží a stabilní. Stáčení je možné spojit se scelováním, čiřením a filtrací. V této době by mělo víno smyslovými a chemickými hodnotami již odpovídat hotovému vínu. Je nutné, aby bylo při stáčení zamezeno silnému provzdušňování. Víno při něm ztrácí příjemnou svěží chuť a vůni, rozkládají se buketní látky a vzniká zvětralá chuť [15, 21].

### 2.3.6 Čiření, filtrace

Čiřením vína se rozumí přidávek přírodního nebo syntetického materiálu, které buď působením svého povrchu, nebo vytvářením koloidní sraženiny s některými látkami obsaženými ve víně. Strhávají kalící částice k rychlejší sedimentaci a způsobují tak úplné vyjasnění vína neboli jeho čirost a ke stabilizaci určitých látek obsažených ve víně [45,51].

Čiření vína se používá nejen k získání čirého, jiskrného vína, ale i k úpravě jeho chuťových vlastností a k posílení celkové stability. Většina čiridel obsahuje určitý elektrický náboj. Na principu opačných elektrických nábojů se vážou jiné látky obsažené ve víně. Tyto látky se potom spojují ve větší částice, které sedimentují na dno. K čiření bílých vín se nejčastěji používá kasein nebo bentonit. Do červených vín se přidává želatina a vaječný bílek. Každé čiridlo hraje v této fázi určitou roli. Některá se používají ke zjemnění chuti, odstranění hořkých tónů, snížení obsahu taninů a v neposlední řadě k odstranění termolabilních bílkovin. V zahraničí je rozšířený PVPP (polyvinylpolypyrolidon), který pozitivně ovlivňuje barvu, váže oxidované taniny a zlepšuje celkovou kvalitu vína [4].

Filtrace je stejně důležitou součástí technologie jako volba správného termínu sklizně, podmínek kvašení nebo teploty při zrání vína. Filtrace zajišťuje nejen jiskrnost vína. Při vhodném použití může pozitivně ovlivňovat sensorické vlastnosti tak, že filtrované víno působí harmoničtějším dojmem než víno nefiltrované [71]. Vína s nízkým obsahem konzervovadel - zvláště pak sladká vína, musí být prostá výraznější populace mikroorganismů. Dokonce i velmi malá populace mikroorganismů může v láhvi v průběhu distribuce a skladování, často v nekontrolovaných podmínkách, narůst a dát vznik zákalům, pachutím a nečistotám, které jsou pro konzumenty nepřijatelné. Dnes se pro filtraci stále často používá vložkových filtrů s různou porézností a tato metoda filtrace je po mnoho let velmi oblíbenou metodou. V poslední době se díky svým přednostem rozšiřuje cross-flow filtrace – možnost vyřazení předchozí hrubé filtrace, vyšší filtrační kapacita a absence odpadového materiálu. Nejvíce limitujícím faktorem u této metody jsou vyšší pořizovací náklady [50].

### **2.3.7 Zrání vína**

Pod tímto pojmem rozumíme období od prvního stáčení po ukončení kvašení až po dobu tzv. sudové zralosti, kdy je možné stáčet víno do lahví. Je to stav, při kterém by delší ležení vína v sudech jen uškodilo jeho jakosti, neboť ta se již nemůže dál vyvíjet [66].

Zrání vína je charakteristické vytvářením sloučenin typu vyšších alkoholů, esterů, aldehydů a acetalů, které spolu reagují za účasti kyslíku, tříslovin, bílkovinných látek, aminokyselin apod. Tyto sloučeniny tvoří velmi jemný systém aromatických a chuťových látek, vytvářející charakter vín [12].

### 3 SÍRA A JEJÍ SLOUČENINY VE VINAŘSTVÍ

Ve vinařství od nepaměti používá oxid siřičitý –  $\text{SO}_2$ . Už staří Římané používali  $\text{SO}_2$  na síření nádob na obilí a víno. Počátky jeho používání jsou pevně spjaty s vynálezem sudu, který potřeboval „vypálení“ zevnitř prázdného sudu. Dříve se však používala k desinfekci sudů pryskyřice, která se dodnes aplikuje při výrobě speciálního řeckého vína – retsiny. Používání síry v enologii se v historii měnilo podle potřeb působenými klimatickými změnami, způsoby komercializace a vědeckými poznatky. Od konce 19. a začátku 20. století je uváděno působení síry na mikroorganismy, enzymy a první inaktivační mechanismy sloučenin [10, 23].

#### 3.1 Síra

V přírodě můžeme síru najít v mnohých organických a anorganických látkách. Z anorganických sloučenin jsou nejběžnější elementární síra a sulfidy, oxidy síry, siřičitany a sírany. Pro metabolismus jakékoliv buňky jsou nepostradatelné, protože jsou součástí esenciálních vitaminů, koenzymů, aminokyselin a proteinů. Bez dostatečného množství těchto správných siřičitých sloučenin by nemohlo vzniknout kvalitní víno [22].

Ve vinici se můžeme setkat se sírou převážně ve formě síranů a siřičitanů. Do hroznů se dostávají především hnojením, exhalacemi ze vzduchu a postřiky. Právě postřiky proti houbovým chorobám na bázi síry, aplikované těsně před sklizní, mohou způsobovat pozdější problémy s kvašením.

Optimální koncentrace celkové síry, která zabezpečí optimální průběh fermentace, je  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  [22].

#### 3.2 Oxid siřičitý - $\text{SO}_2$

Oxid siřičitý se vyskytuje v sopečných plynech a rozpuštěný ve vodě jako kyselina siřičitá v podzemních (minerálních) vodách ve vulkanicky aktivních oblastech.

Je to bezbarvý, štiplavě páchnoucí, jedovatý plyn. Je 2,26 krát těžší než vzduch. Je toxický pro rostliny, neboť reaguje s chlorofylem a narušuje tak fotosyntézu. V ovzduší postupně oxiduje vzdušným kyslíkem za přítomnosti vody na kyselinu sírovou [6, 38].

Oxid siřičitý se průmyslově připravuje především spalováním síry:

Zabraňuje rozvoji mikroorganismů jako plísňových hub, kvasinek a bakterií [6].



### 3.3 Použití oxidu siřičitého při výrobě vína

V dnešní době se SO<sub>2</sub> používá jako antimikrobiální a antioxidační látka, kterou vinaři považují za nezbytnou součást vína pro zachování jeho kvality. SO<sub>2</sub> také zlepšuje chuť a zachovává vínu svěžest ve vůni. Nicméně pokud se používá nesprávně, může být účinek i nepříznivý. Antioxidační účinek SO<sub>2</sub> spočívá v jeho schopnosti vázat molekulární kyslík a zabraňovat tak chemickým a enzymových reakcím [22,25].

Jeho používání lze považovat za pozitivní, při nízkých koncentracích, z pohledu zdravotní nezávadnosti. Ve vysoké koncentraci může být nebezpečný pro lidské zdraví. Proto se stal SO<sub>2</sub> důležitým analytickým parametrem v kontrole jakosti vína a jsou vydány předpisy, které stanovují maximální přípustnou koncentraci [36, 39].

Dnes je zařazen mezi alergeny a jeho přítomnost ve víně musí být deklarována na etiketě.

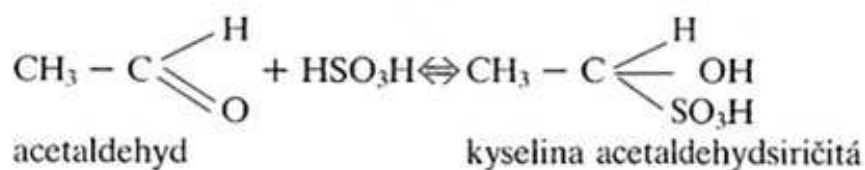
Ve vinařství se SO<sub>2</sub> používá ve všech technologických fázích zpracování hroznů, ošetření vína, kvasných a uskladňovacích nádob a na ošetření uskladňovacích místností a pomocného zařízení při zpracování hroznů a výrobě vína. Z technologického hlediska má nezastupitelnou roli a zatím se nenašla lepší látka, která by měla podobně mnohostranné využití. [10] Většina SO<sub>2</sub> ve víně je dodaná exogenně a pouze část je vytvořená kvasinkami v průběhu kvašení, dle použitého kmenu kvasinek [4]. Hodnoty endogenně vzniklého SO<sub>2</sub> dříve bývaly nižší než 10 mg.l<sup>-1</sup>, ale v současnosti dosahují hodnotu 30 až 50 mg.l<sup>-1</sup>. Speciální kvasinky dosahují produkci dokonce přes 100 mg.l<sup>-1</sup>. Proto nelze zcela vyloučit při výrobě vína použití oxidu siřičitého, i když moderní trend razí cestu jeho minimalizace [23].

Slibným náhradním prostředkem za oxid siřičitý byl ethylpyrokarbonát, který byl použit nejprve v Německu a USA. Tato látka měla silné antimykotické vlastnosti. Zdálo se, že je to ideální látka k použití, ale experimenty ukázaly, že může reagovat se složkami vína a produkovat malé množství ethylkarbamátu. Tato sloučenina je karcinogenní [72].

Oxid siřičitý v mošttech a vínech působí různě a jeho účinky by se daly označit jako: [22]

- antioxidační - zabraňuje oxidaci a vyvázání kyslíku;
- antiseptické – potlačuje nebo zcela likviduje činnost mikroorganismů v průběhu celého procesu vína;
- antienzymatické – aplikace oxidu siřičitého zabraňuje nebo tlumí činnost některých negativně působících enzymů

Důležitou vlastností  $\text{SO}_2$  je, že vytváří s acetaldehydem adiční sloučeninu, bez negativního vlivu na chuť vína. Tvoří se kyselina acetaldehydsiričitá :



[10] ( 1 )

Zvýšené množství vzniká v průběhu kvasného procesu především tehdy, pokud byl původní mošt silně zasířen. Proto přídavek  $\text{SO}_2$  v průběhu kvašení omezujeme. V některých případech se sníží množství acetaldehydu správným průběhem jablečno – mléčné fermentace. Oxid siřičitý ve vazbě s acetaldehydem je také aktivní, ale ve volné formě je přibližně pět až šestkrát účinnější než ve formě vázané. Vazba na acetaldehyd je nevratná [32].

### 3.1.1 Antioxidační účinky

Ochranná role  $\text{SO}_2$  proti oxidaci moštů a vín je všeobecně známá. Oxid siřičitý odnímá moštům a vínům kyslík a tím ničí nebo potlačuje mikroorganismy, včetně divokých kvasinek, octových a mléčných bakterií, které jsou na kyslíku závislé [8]. Odebíráním kyslíku se oxiduje na oxid sírový. Rozpustnost kyslíku ve víně vzrůstá zvyšováním tlaku, snižováním teploty, nižším obsahem extraktu a snižuje se také obsah oxidu siřičitého. Obsah kyslíku ve víně se pohybuje v rozmezí 0,5 – 7,0  $\text{mg.l}^{-1}$ . Na vyvázání 1 mg  $\text{O}_2$  je potřebných 6 mg oxidu siřičitého [40].

Schematická rovnice je:



Tato reakce je pomalá, chrání vína před oxidací chemického původu. Nepůsobí však na velmi rychlou oxidaci enzymatického původu.  $\text{SO}_2$  reaguje s plynným nebo rozpuštěným kyslíkem a oxiduje se na sírany, které jsou katalyzovány ionty železa nebo mědi. Vytváření síranů znamená „vysušování“ vína a dodává mu nepříjemné tvrdosti. Účinně jsou chráněny aromatické sloučeniny, antokyany a třísloviny. Oxid siřičitý se váže ve víně i s cukry (zejména s glukózou a fruktózou), barevnými a slizovitými látkami, pektiny, polypeptidy, kyselinou pyrohroznovou a jinými látkami. V červených vínech je nejdůležitější interakcí interakce mezi  $\text{SO}_2$  a polyfenoly [23, 26].

### 3.1.2 Antiseptické účinky

Antiseptické účinky patří k hlavním vlastnostem oxidu siřičitého. Spočívají v odebrání kyslíku z prostředí za současného vázání na buněčné blány mikroorganismů, které narušuje, tlumí růst rozmnožování a způsobuje smrt buňky. Při nízké hladině  $\text{SO}_2$  je eliminována většina kmenů bakterií, včetně bakterií rodu *Lactobacillus*, *Pediococcus*, a *Oenococcus*, ale je to pouze inhibice jejich růstu na krátkou dobu. Odstranění všech bakterií, plísní a kvasinek nám zabezpečí až vyšší úroveň  $\text{SO}_2$  [1, 31].

Uvnitř buněk reaguje oxid siřičitý s různými enzymy, aminokyselinami, dalšími bílkoviny a tuky. Tyto vlastnosti ukazují na polyvalentní působení oxidu siřičitého. Účinnost oxidu siřičitého je větší na bakterie než na kvasinky [23].

### 3.1.3 Antienzymatické účinky

$\text{SO}_2$  má také antienzymatické působení, brzdí aktivitu enzymů, jako jsou enzymy působící hnědnutí a laktáza. Laktáza je důležitý oxidativní enzym, který pochází z hroznů napadených šedou hnilobou.

## 3.4 Formy oxidu siřičitého

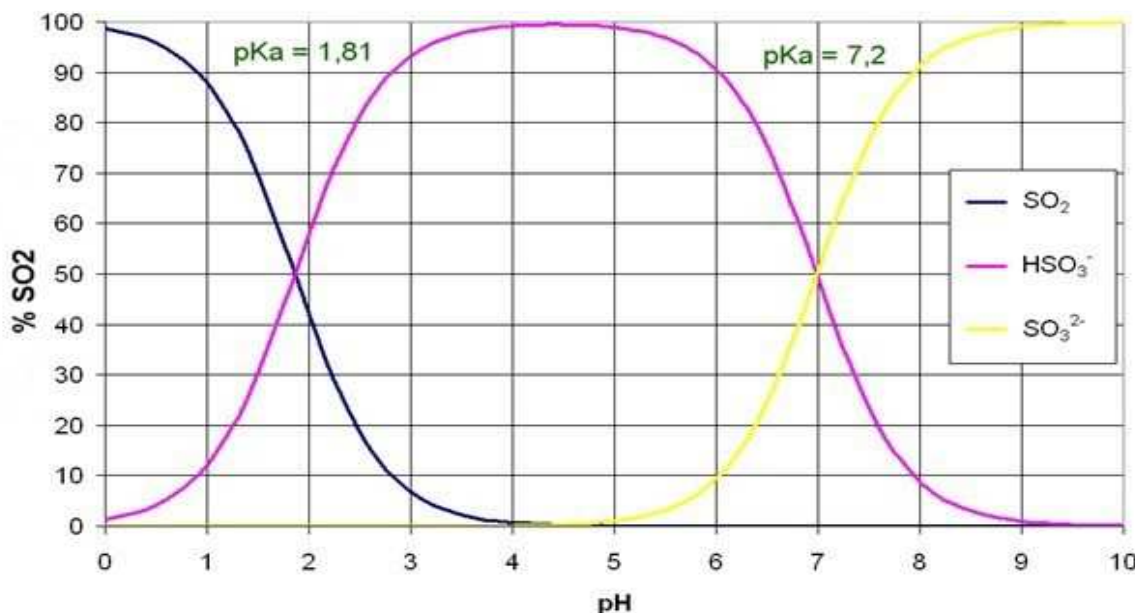
Při síření hroznového moštu se z celkově přidaného oxidu siřičitého většina váže při alkoholovém kvašení na různé sloučeniny, které jsou schopné vázat  $\text{SO}_2$ . Menší část  $\text{SO}_2$  zůstává volná. Protože mošt a víno jsou vodné roztoky, volný oxid siřičitý reaguje s vodou a vytváří  $\text{H}_2\text{SO}_3$ . Převážná část této kyseliny však disociuje a je v moštu a víně přítomná ve formě iontů  $\text{HSO}_3^-$  a  $\text{SO}_3^{2-}$  [10,4].

Rovnováha mezi různými formami oxidu siřičitého ve víně je ovlivněna pH, teplotou, koncentrací etanolu a iontové síly.

Běžně je  $\text{SO}_2$  přidáván do moštu nebo vína v podobě draselné nebo sodné soli. Přídavek je závislý na pH roztoku. Při nízkém pH v rozmezí od 0,0 do 1,8, převládá molekulární oxid siřičitý, který vykazuje baktericidní vlastnosti. Čím více stoupá hodnota pH, tím se snižuje koncentrace molekulárního  $\text{SO}_2$ . Ve víně, které má rozsah pH 3,0 – 4,0, představuje přibližně  $\text{SO}_2$  1-7 %. Zde již působí jako antioxidant [31, 37].

Závislost pH a %  $\text{SO}_2$  je názorně zobrazen na obr. č.4.

Siřičitany ve víně můžeme obecně rozdělit volné a vázané. Volné siřičitany vykazují dezinfekční a antioxidační vlastnosti. Vázané siřičitany jsou nevratně navázány s jinými molekulami. Součet volného a vázaného  $\text{SO}_2$  nám dává jejich celkový obsah [37].



Obr. 4 Závislost forem  $\text{SO}_2$  na pH [31]

### 3.2.1 Volný $\text{SO}_2$

Volný oxid siřičitý může ve víně tvořit vazbu s acetaldehydem, antokyany, kyselinou glutarovou, glukózou, fruktózou, arabinózou nebo fenolickými látkami, v průběhu kvašení moštů, které mají nedostatek thiaminu. Asi nejvýznamnější je vazba s acetaldehydem, který má v nízkých koncentracích příjemné ovocné aroma, ale ve vysoké koncentraci pichlavou, nepříjemnou vůni doprovázenou zelenými, travnatými nebo jablečnými tóny. Vazba s antokyany je v tomto případě žádoucí, protože  $\text{SO}_2$  barviva „konzervuje“ a po snížení jeho obsahu po kvasném procesu je opět uvolňuje z vazby.  $\text{SO}_2$  může také oxidovat na kyselinu octovou, která negativně ovlivňuje sensorický profil vína [4].

Pokud chceme vyrábět vysoce kvalitní vína, je důležité udržovat správnou úroveň volného oxidu siřičitého ve všech fázích procesu výroby vína. Udržení optimální hodnoty  $\text{SO}_2$  je základem k negativním změnám barvy, chuti a vytvoření nepříjemného aroma vyplývající z oxidace a mikrobiální kontaminace.

### 3.2.2 Molekulární forma SO<sub>2</sub>

Hlavním a nejdůležitějším inhibitorem rozvoje mikroorganismů je molekulární forma SO<sub>2</sub>. Jeho obsah je závislý na koncentraci volného oxidu siřičitého a hodnotě pH moštu nebo vína. Tato hodnota velmi výrazně ovlivňuje účinnost aplikovaného oxidu siřičitého [4].

Tab. 1 Přepočítání hodnoty molekulárního SO<sub>2</sub> ve vztahu k pH [4]

Obsah alkoholu % obj.	pH										
	2,80	2,90	3,00	3,10	3,20	3,30	3,40	3,50	3,60	3,70	3,80
0	0,078	0,063	0,051	0,041	0,033	0,026	0,021	0,017	0,013	0,011	0,008
1	0,081	0,066	0,053	0,043	0,034	0,027	0,022	0,017	0,014	0,011	0,009
2	0,085	0,069	0,055	0,044	0,036	0,029	0,023	0,018	0,015	0,012	0,009
3	0,089	0,072	0,058	0,047	0,037	0,030	0,024	0,019	0,015	0,012	0,010
4	0,093	0,075	0,061	0,049	0,039	0,031	0,025	0,020	0,016	0,013	0,010
5	0,097	0,078	0,063	0,051	0,041	0,033	0,026	0,021	0,017	0,013	0,011
6	0,100	0,081	0,066	0,053	0,043	0,034	0,270	0,022	0,017	0,014	0,011
7	0,104	0,085	0,069	0,055	0,044	0,036	0,280	0,023	0,018	0,014	0,012
8	0,109	0,088	0,072	0,058	0,046	0,037	0,300	0,024	0,019	0,015	0,012
9	0,113	0,092	0,075	0,060	0,048	0,039	0,031	0,025	0,020	0,016	0,013
10	0,118	0,096	0,078	0,063	0,050	0,040	0,032	0,026	0,021	0,017	0,013
11	0,122	0,100	0,081	0,065	0,053	0,042	0,034	0,027	0,022	0,017	0,014
12	0,127	0,104	0,084	0,068	0,055	0,044	0,035	0,028	0,023	0,018	0,014
13	0,132	0,108	0,088	0,071	0,057	0,046	0,037	0,030	0,024	0,019	0,015
14	0,138	0,113	0,091	0,074	0,060	0,048	0,039	0,031	0,025	0,020	0,016
15	0,143	0,117	0,095	0,077	0,062	0,050	0,040	0,032	0,026	0,021	0,016

Obsah molekulárního SO<sub>2</sub> je možné vypočítat pro každý mg volného SO<sub>2</sub> s využitím faktoru, který je uveden tabulce nahoře, ve vztahu k pH vína a obsahu alkoholu ve víně. Např. víno s obsahem alkoholu 11 obj. %, které obsahuje 8 mg/l volného SO<sub>2</sub>, je obsah molekulárního SO<sub>2</sub> následující : 8 mg/l volného SO<sub>2</sub> x faktor pro pH 3,10 (0,065) = 0,52 mg/l molekulárního SO<sub>2</sub>

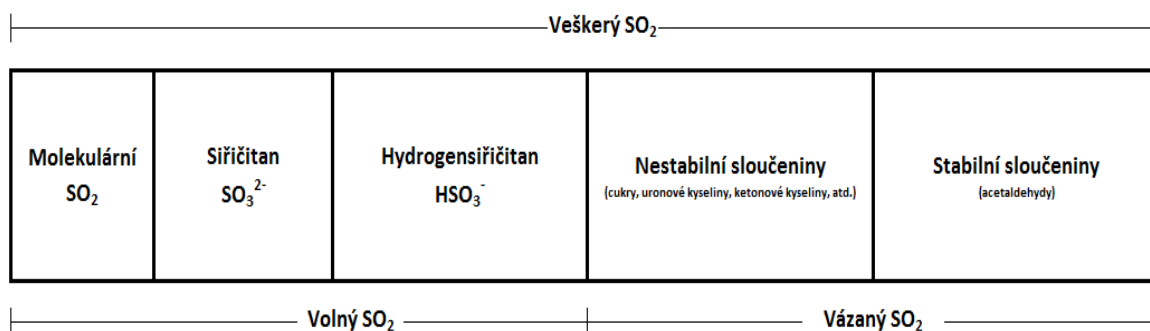
Molekulární forma oxidu siřičitého je obtížně měřitelná. Nicméně, volný oxid siřičitý a pH vína lze změřit snadno. Pak můžeme získat molekulární oxid siřičitý měřením volného oxidu siřičitého a podle hodnoty pH vína [29].

Protože většina z antimikrobiálních vlastností, které jsou spojeny s obsahem SO<sub>2</sub> jsou připisovány molekulární formě, její koncentrace má velký význam pro výrobce vín. Molekulární SO<sub>2</sub> v koncentraci 0,8 mg.l<sup>-1</sup> je stanovena jako účinná koncentrace pro inhibici bakterií a kvasinek. Tato úroveň je nezabývá, ale pomáhá bránit jejich dalšímu množení ve víně [30]. Červená vína mohou být udržována na nižší úrovni než vína bílá. Postačující koncentrace SO<sub>2</sub> je zde 0,5 mg.l<sup>-1</sup>, protože červená vína jsou méně náchylná na oxidaci a mají také vyšší pH. Při striktním dodržení koncentrace 0,8 mg.l<sup>-1</sup> bychom dosáhli příliš vysoké koncentrace celkového SO<sub>2</sub> [25].

### 3.2.3 Vázaná forma oxidu siřičitého

Vázaný oxid siřičitý je součtem všech siřičitanů vázaných na jednotlivé sloučeniny vína. Technologický význam nemá žádný, nepůsobí antioxidačně, ani na kvasinky, ale má vliv na rozvoj mléčných bakterií [23].

Vztah mezi molekulárním oxidem siřičitým, volným, vázaným a celkovým oxidem siřičitým znázorňuje obr. 5. Vázaný oxid siřičitý je více či méně neaktivní [29].



Obr. 5 Rozdělení SO<sub>2</sub> ve víně [42]

Část oxidu siřičitého je vždy vázán na acetaldehyd, barevné pigmenty, cukry a další látky ve víně. S acetaldehydem je vázán až ze 70-90 %. Bílá vína obsahují do 300 mg.l<sup>-1</sup> acetaldehydu a červená 20 – 60 mg.l<sup>-1</sup>. Volný acetaldehyd způsobuje nepříjemnou zvětralou příchut', která je považována za vadu vína. Výjimku tvoří pouze sherry, kde je tato příchut' vyžadována. Z tohoto důvodu je třeba zabránit vzniku volného acetaldehydu. Právě oxid siřičitý je ideální pro zabránění této nepříjemné zvětralé chuti [42].

## 3.5 Aplikace oxidu siřičitého ve víně

Oxid siřičitý můžeme dodávat do moštu a vína ve formě stlačeného plynu, přidáním disiřičitanu draselného nebo sodného, nebo zapálením síry v uzavřeném sudu [27]. Přidávání vodného roztoku SO<sub>2</sub> je zakázáno, z důvodu naředění moštu nebo vína vodou. Při síření moštů se musíme držet několika zásad. Mošt se síří podle zdravotního stavu zpracovávaných hroznů. Zdravé mošty síříme slabě, mošty z napadených hroznů hnilobou nebo botrytickou plísní, středně až silně. U vín se postupuje podobně [10].

### 3.4.1 Spalování elementární síry

Jedná se vlastně o síření plynným SO<sub>2</sub>. Síra je natavená na podpůrné podložky a tvoří tzv. sírné řezy. Používají se především na udržování prázdných sudů a k nepřímému síření vína. Při spálení sírného řezu v omezeném prostoru se síra váže se vzdušným kyslíkem,

přičemž se tvoří oxid siřičitý. Víno, které napustíme do takto zasířeného sudu, oxid siřičitý pohlcuje. Nevýhodou tohoto systému síření vín je, že dávkování není moc přesné, protože není možné předem stanovit, kolik  $\text{SO}_2$  víno pohltní a kolik jej unikne do okolí. [6,10] 10g síry spálené v 225 litrovém sudu poskytuje pouze 13 až 14 g  $\text{SO}_2$  tj. ztráta je asi 30%. Rozdíl odpovídá jednak skutečnosti, že část síry steče nespálená na dno sudu a odpovídá vzniku kyseliny siřičité, silné kyseliny bez antiseptické účinnosti. Tak můžeme vysvětlit deficit síření a acidifikace vína opakovaným spalováním síry [23].

Kromě síření sudů používáme spalování síry také k dezinfekci sklepů, k zamezení činnosti bakterií a plísní, které nepříznivě ovlivňují ovzduší [11].

### 3.4.2 Disiřičitan draselný $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$

Disiřičitan draselný je draselná sůl kyseliny siřičité. Patří k nejpoužívanějšímu způsobu u středních a malých vinařů, ve formě bílého prášku a to zejména díky snadnému dávkování a dobré rozpustnosti. [40] Ve víně reaguje s kyselinou vinnou, přičemž se uvolňuje oxid siřičitý a vzniká hydrogenvinan draselný a voda. Tím se víno odkyseluje a zvyšuje obsah vinného kamene. Molekula  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$  teoreticky obsahuje 57,66 %  $\text{SO}_2$ , který je schopný v kyselém prostředí jakým je víno uvolnit. V praxi se počítá s 50% účinností  $\text{SO}_2$ . Síření disiřičitanem draselným je velmi jednoduché a přesné. Práškový produkt se musí uskladňovat ve vzduchotěsných obalech a na suchých místech, jinak se zmenšuje účinnost a může dojít i k úplné inaktivaci [10].

K síření je možné také použít disiřičitan sodný  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ , pokud chceme zabránit vysrážení vinného kamene. Disiřičitan sodný vlivem působení kyselin uvolní ze své molekuly až 67 % oxidu siřičitého, je tedy účinnější. S disiřičitanem sodným můžeme sířit víno těsně před lahfováním, protože sodná sůl netvoří krystalky a je rozpuštěná ve víně [10, 11].

Na trhu se také můžeme setkat i se siřičitanem amonným, který je však povolen jen do moštu, ne do vína [23].

### 3.4.3 Síření zkapalněným $\text{SO}_2$

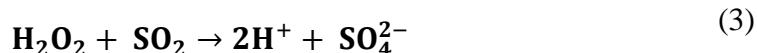
V současnosti je tento způsob velice oblíben, protože je s ním snadná manipulace a výhodou je nízká cena. V ocelových lahvích stlačený  $\text{SO}_2$  neobsahuje žádné příměsi. Síření z tlakových láhví se používá pro jen pro velká množství vína. K odměření množství se používá váha, na které tlaková láhev stojí a odečítá se spotřeba, nebo dávkovací zařízení a průtokoměrem.

Z důvodu vyloučení zředění, se pro dávkování do malých objemů vína dává přednost 5 až 7% roztoku ve vodě nebo v moštu. Roztok se vytvoří ze zkapalněného plynu, jehož použité množství se stanovuje vážením. Kontrola titru se provádí pravidelným měřením hustoty nebo chemickým stanovením [23].

#### 3.4.4 Odstranění SO<sub>2</sub> z vína

Odsíření vína je třeba udělat, pokud je ve víně SO<sub>2</sub> příliš mnoho a potřebujeme jej odstranit nebo snížit. Toto je však možné pouze při zvýšeném obsahu volného SO<sub>2</sub>. Vázaný oxid siřičitý je většinou vázaný na acetaldehyd a jeho odstranění je bez velkého zásahu prakticky nemožné. U mladých vín je nejlepší provézt jejich provzdušnění, naproti tomu starší vína mohou tímto zásahem utrpět, protože s oxidem siřičitým odchází i buketní látky, které už nelze jinak získat. Pokud nejde u těchto vín provézt zcelení s méně zasířenými víny, nastupuje možnost odstranění SO<sub>2</sub> pomocí přídatku peroxidu vodíku ve velmi nepatrném množství.

Reakce pak probíhá takto:



Kvůli možnému předávkování není u nás tento způsob povolen. Pokud použijeme větší koncentraci H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> než je potřebné, způsobí nám to nežádoucí oxidaci vín a víno dostane kovovou příchut', nebo se může objevit pachut' po myšíně. V každém případě je lepší se toho vyvarovat a použít tuto možnost jen v krajním případě.

#### 3.4.5 Vady vína související se sirnými sloučeninami

Pevnou součástí každého vinného aroma jsou i aromatické látky obsahující síru, které se tvoří hlavně při kvašení. Pokud se koncentrace těchto látek pohybují v obvyklém rozmezí, dostaví se příjemná chuť i vůně. Pokud tomu tak není a jsou přítomny ve větší míře, vnímáme je negativně [47].

Nejvíce rozšířenou a zároveň nejrozmanitější vadou v různých formách označujeme vadu známou pod názvem sirka. Popis této vady sahá od „zápachu po zkažených vejcích“, „spálené gumě“ a „vařeném chřestu“, až ke „kapustě, cibuli a česneku“. Rozdělení sirky je obtížné, ale obecně ji lze rozdělit podle aromatických substancí, které ji vyvolávají. Je to sirka zaviněná sirovodíkem a sirka související s merkaptany. „Klasická“ sirka je vyvolaná sirovodíkem. H<sub>2</sub>S je finální produkt asimilační redukce síranu a spojovacím článkem mezi



látkovou přeměnou síry a dusíku. Normálně je vymyt  $\text{CO}_2$  při kvašení moštů. 20 – 30  $\mu\text{g.l}^{-1}$  může kladně přispět ke kvasnému buketu. Zápachová prahová hodnota  $\text{H}_2\text{S}$  ve víně je 10 – 100  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Pokud se tento zápach nerozezná a neodstraní včas, vznikne tzv. „merkaptanová sirka“, která vykazuje pórový až česnekový tón. Ten vzniká reakcí  $\text{H}_2\text{S}$  s etanolem, resp. s acetaldehydem na 1,1-ethanditiol, což je merkaptan [47].

Nejdůležitější prevencí proti sirce je odkalení mladého vína (snížení počtu kvasinek a bakterií) a poté zasířit. Zde je  $\text{H}_2\text{S}$  oxidován  $\text{SO}_2$  :



Pokud již víno sirku má je nejjednodušší cestou víno provětrat. Sirovodík je oxidován kyslíkem ze vzduchu :



#### 3.4.6 Legislativa upravující obsah $\text{SO}_2$

Vzhledem k tomu, že  $\text{SO}_2$  může být při vysokých dávkách pro lidský organismus nebezpečný, přistoupila Evropská komise k vydání nařízení (ES) č. 607/2009 čl. 51 odst.1, pokud obsahuje víno oxid siřičitý, musí být tato složka uvedena na etiketě a musí jí předcházet výraz „obsahuje siřičitany“ nebo „obsahuje oxid siřičitý“ [28].

Není to však jenom tato norma, která použití  $\text{SO}_2$  ve víně upravuje. Mezi další patří:

- Nařízení komise (EHS) č. 2676/90 ze dne 17. Zář 1990, kterým se stanoví metody Společenství používané pro rozbor vín
- Sdělení Komise (ES) č. 2010/C 43/01 - seznam metod rozborů, které se použijí na kontrolu limitů a požadavků stanovených v předpisech Společenství pro produkci vinařských produktů - OXID SIŘIČITÝ (OIV - AS-323-04-DIOSU) – Metoda typ II
- Nařízení komise (ES) č. 606/2009, ze dne 10. Července 2009, kterým se stanoví některá prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 479/2008, pokud jde o druhy výrobků z révy vinné, enologické postupy a omezení, která se na ně použijí - příloha I.B stanovuje mezní hranice celkového oxidu siřičitého.

Pro Českou republiku platí tyto hodnoty SO<sub>2</sub>:

A. *Celkový obsah oxidu siřičitého ve vínu, s výjimkou šumivého a likérového vína, nesmí v okamžiku uvedení do oběhu překročit tyto hodnoty:*

- ❖ 150 mg.l<sup>-1</sup> u červeného vína;
- ❖ 200 mg.l<sup>-1</sup> pro bílé a růžové víno.

A.1 *Horní mez obsahu oxidu siřičitého ve vínech, které obsahují nejméně 5g cukru vyjádřeného jako součet glukosy a fruktosy na litr:*

- ❖ 200 mg.l<sup>-1</sup> u červeného vína;
- ❖ 250 mg.l<sup>-1</sup> u bílého a růžového vína;
- ❖ 300 mg.l<sup>-1</sup> u kterých lze používat výraz „pozdní sběr“;
- ❖ 350 mg.l<sup>-1</sup> u kterých lze používat výraz „výběr z hroznů“;
- ❖ 400 mg.l<sup>-1</sup> u kterých lze používat výraz „výběr z bobulí“, „výběr z cibéb“, „ledové víno“ nebo „slámové víno“.

B. *Celkový obsah oxidu siřičitého v likérovém víně, nesmí překročit tyto hodnoty:*

- ❖ 150 mg.l<sup>-1</sup>, pokud je obsah cukru nižší než 5 gramů na litr;
- ❖ 200 mg.l<sup>-1</sup>, pokud je obsah cukru alespoň 5 gramů na litr;

C. *Celkový obsah oxidu siřičitého v šumivém víně, nesmí překročit tyto hodnoty:*

- ❖ 185 mg.l<sup>-1</sup> u všech kategorií jakostního šumivého vína a
- ❖ 235 mg.l<sup>-1</sup> u všech ostatních šumivých vín.

### 3.4.7 BIO víno a oxid siřičitý

BIO víno, je víno vyráběné z hroznů pěstovaných podle pravidel ekologického zemědělství šetrné k přírodě. Vytváří se podmínky, kde se daří přirozeným nepřítelům škůdců. Mezi řádky révy ve vinicích jsou rostliny, které půdě dodávají přirozené hnojivo a potřebné mikroorganismy, které vytvářejí nezbytnou přírodní rovnováhu. Pěstování a výroba BIO vína podléhá přísným pravidlům, jejichž dodržování je kontrolováno nezávislými organizacemi, v České republice to jsou to společnosti KEZ, BIOKONT a ABCERT.

Bohužel, ani při výrobě BIO vína se nevyhneme použití SO<sub>2</sub>. Množství siřičitanů obsažených v BIO víně musí být však o 30–50 mg.l<sup>-1</sup> menší než je ve víně pěstované v „ne BIO“ produkci.

Za tímto účelem byl maximální obsah siřičitanů u červeného vína stanoven na  $100 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $150 \text{ mg.l}^{-1}$  u konvenčního vína) a u bílého a rosé vína na  $150 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $200 \text{ mg.l}^{-1}$  u konvenčního vína), přičemž v případě severnějších vinařských zemí u vín se zbytkovým obsahem cukru vyšším než  $2 \text{ g.l}^{-1}$  může být obsah siřičitanů až o  $30 \text{ mg.l}^{-1}$  vyšší. U vín s obsahem zbytkového cukru  $2\text{-}5 \text{ g.l}^{-1}$  jsou možné hladiny  $\text{SO}_2$  až  $120 \text{ mg.l}^{-1}$  u červených a  $170 \text{ mg.l}^{-1}$  u bílých a růžových vín, pozdní sběr má limit  $270 \text{ mg.l}^{-1}$  a ledové a slámové víno až  $370 \text{ mg.l}^{-1}$ . Siřičitany prostě nelze vyloučit zcela. Rovněž je zakázáno použití kyseliny sorbové a odsíření vína používané při výrobě konvenčních vín [41].

### 3.4.8 Oxid siřičitý a aromatické látky

Odhaduje se, že vína obsahují 400-600 sloučenin v celkovém množství  $0,8\text{-}1,2 \text{ g.dm}^{-3}$ . Aroma je ve vinařské terminologii označením pro vůni mladých vín, transformací aroma během stárnutí chemickými reakcemi vzniká buket [67].

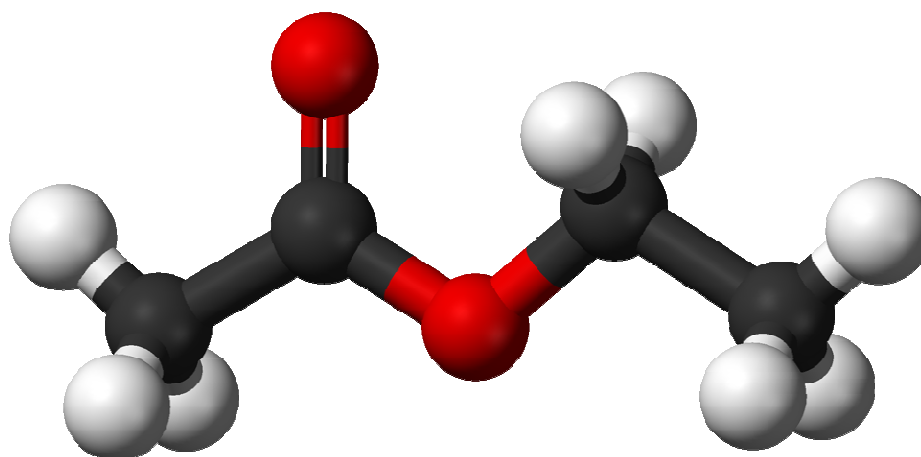
K vonným látkám patří těkavé substance jako alkoholy, estery, zatímco k chuťovým látkám špatně těkavé nebo netěkavé sloučeniny (organické kyseliny, cukr, fenolické sloučeniny). Ve víně rozlišujeme primární, sekundární a terciární aroma. Primární aroma tvoří aromatické látky pocházející z hroznů. Nejvíce aromatických látek najdeme ve slupce, nebo těsně pod jejím povrchem. Pro každou odrůdu je charakteristické složení a poměr aromatických látek, jejichž hodnoty jsou v různých ročnících velmi podobné [65].

Na vývoj aromatických látek v hroznu má vliv i přítomnost ušlechtilé plísně *Botrytis cinerea*, která někdy vcelku eliminuje odrůdový buket a charakter hroznu, přičemž mu přidává specifickou chuť a vůni [69].

Sekundární aroma vzniká při kvašení. Takto vznikající látky jsou velmi těkavé a při kvašení za vyšších teplot z nich velké množství unikne [6]. Z převážné části sekundární aroma tvoří vyšší alkoholy (izobutanol, izoamylalkohol, n-hexylalkohol, izooktanol, geraniol, ad.), těkavé kyseliny (k. octová, k. mravenčí, k. propionová, ad.), karbonylové sloučeniny (formaldehyd, acetaldehyd, aceton, diacetyl, vanilin, ad.), estery (octan metylnatý, octan etylnatý, mravenčan metylnatý, ad.), acetáty apod. [65] Ethylacetát je na obr. 6. Mnoho z těchto sloučenin se nacházejí jen v určitých odrůdách, např. terpeny hrají významnou roli v aroma hroznů odrůdy Muškát, vysoce aromatické methoxypyraziny, které přispívají vůni připomínající chřest a zelené papriky, byly nalezeny v odrůdách Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon [73].

V průběhu dlouhodobého ležení a zrání se tvoří terciální buket. Vzniká reakcí dvou předešlých látek. Nejčastějším typem reakcí zde probíhajících jsou esterifikace, což jsou reakce, kterých se účastní alkoholy s karboxylovými kyselinami a vznikají estery příslušných reagujících sloučenin [65].

Různorodost sensorických dojmů z vína závisí i na koncentraci sloučenin síry, jejich aromatických proporcích a vzájemných protichůdných efektech. Vůně sloučenin obsahujících síru může být popsána termíny jako po zelí, kočičí moči, česneku, zkažených vejcích, cibuli nebo gumě. Tyto charakteristiky jasně ukazují na jejich negativní efekt. Pozitivně ovšem mohou působit sloučeniny připomínající vůni jahod, zimostrázu, jalovce, v některých případech i kouře, či zeleného pepře, grapefruitu, citronové kůry, vařeného pórku, pražené kávy nebo vypalovaného sudu [65].



Obr. 6 Ethylacetát [70]

## 4 POPIS METOD STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO VE VÍNĚ

Metod, k analytickému stanovení oxidu siřičitého je mnoho. Některé metody jsou rychlé, ale zároveň méně přesné, jiné pak právě naopak. Existuje také mnoho variant analytických podmínek, kterými mohou být teplota, oxidační činidla apod. Ve víně měříme všechny formy oxidu siřičitého a stanovujeme jejich sloučeniny ve formě volné a vázané. Součet obou pak nám udává celkový oxid siřičitý.

Mezi nejčastěji používané metody řadíme:

- Titrační jodometrie
- Referenční metoda (proudem plynu)
- Interferometrie
- Chronopotenciometrie
- Enzymatická metoda

### 4.1 Titrační stanovení - jodometrie

Jodometrické stanovení je základní a nejpoužívanější metoda stanovení oxidu siřičitého ve víně.

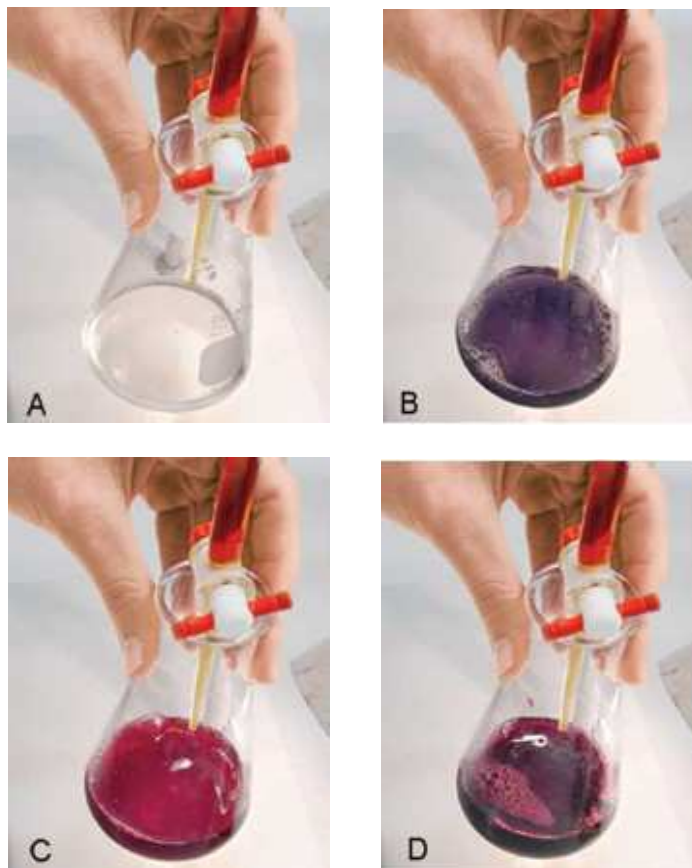
Odměrný roztok jódu oxiduje přímo volný oxid siřičitý obsažený ve víně, případně po uvolnění oxidu siřičitého z vazeb s karbonylovými sloučeninami v alkalickém prostředí současně i vázaný oxid siřičitý vína [46].

#### 3.5.1 Stanovení volného SO<sub>2</sub>

Problémem jodometrické metody je, že jod reaguje s oxidovatelnými látkami ve víně (např. fenoly, kyselinou askorbovou), což vede k vyšší spotřebě jódu a následně nepřesnému stanovení volného SO<sub>2</sub>. Titrace proto musí být rychlá, aby vázaný SO<sub>2</sub> neovlivnil měření. Pokud je množství hydrogensířičitanu malé, může být jeho část uvolněna a ovlivnit stanovení. V červených vínech může uvolnění SO<sub>2</sub> navázaných na antokyany ještě výrazněji vést ke špatnému výsledku. Jak rychle se vazba SO<sub>2</sub> uvolní, závisí na příslušných sloučeninách. SO<sub>2</sub> ve vazbě s acetaldehydem se uvolňuje pomalu, ale ve vazbě s pyruvátem se uvolňuje rychleji. Vína s vysokým obsahem pyruvátu, kyseliny askorbové nebo polyfenolů proto mohou mít za následek vysoké hodnoty naměřeného volného SO<sub>2</sub> [34].

Částečně lze odstranit nepřesnost této metody zlepšením spolehlivosti detekce koncového bodu, např. použitím elektrochemických senzorů, které reagují přesněji a odstraňují čas-

tečně chyby v měření. Navzdory nepřesnosti, je jodometrická metoda běžně používaná pro stanovení volného  $\text{SO}_2$  ve vinařství díky své rychlosti a jednoduchosti [33].



*Obr. 7 Detekce bodu ekvivalence bílého vína A-B a červeného vína C-D [25]*

### 3.5.2 Stanovení veškerého $\text{SO}_2$

Stanovení veškerého oxidu siřičitého vychází z předchozího stanovení volného oxidu siřičitého. Rozdíl ve stanovení je pouze v alkalické hydrolýze vzorku, která musí být provedena před samotnou titrací.

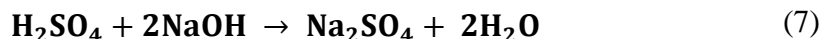
## 4.2 Referenční metoda

Tato metoda je obecně založena na principu unášení oxidu siřičitého proudem vzduchu nebo dusíku, který se váže a oxiduje probubláváním zředěným a neutrálním peroxidem vodíku. Vytvořená kyselina sírová se stanovuje titrací odměrným roztokem hydroxidu sodného [48].

Na vytěsnění  $\text{SO}_2$  z roztoku používáme kyselinu fosforečnou. Volný oxid siřičitý i z vazby uvolněný vázaný oxid siřičitý se po převedení do předlohy s  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxiduje na kyselinu sírovou, podle reakce:



Vzniklá kyselina sírová se titruje s NaOH do neutrální reakce, na indikátor bromfenolovou modř:



#### 4.2.1 Stanovení volného a veškerého $\text{SO}_2$

Volný oxid siřičitý je působením kyseliny fosforečné z testovaného vína přenesen proudem vzduchu nebo dusíku do absorpční nádoby při nízké teplotě ( $10^\circ\text{C}$ ). Veškerý oxid siřičitý je působením kyseliny fosforečné přenesen proudem vzduchu nebo dusíku do absorpční nádoby za varu testovaného vína. V absorpční nádobce je oxid siřičitý zachytáván a oxidován neutrálním roztokem peroxidu vodíku. Vzniklá kyselina sírová je titrována odměrným roztokem NaOH.

#### 4.2.2 Stanovení molekulárního $\text{SO}_2$

Volný  $\text{SO}_2$  ve víně se skládá ze dvou částí hydrogensiřičitanového iontu ( $\text{HSO}_3^-$ ) a molekulární  $\text{SO}_2$ . Molekulární oxid siřičitý je aktivní a nejvíce efektivní forma proti mikroorganismům, snižuje nežádoucí oxidační reakce a působí proti nežádoucím bakteriím ve víně. Doporučená hladina molekulárního oxidu siřičitého u červených vín je  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ , u bílých vín je to  $0,8 \text{ mg.l}^{-1}$ , a pro dezertní vína je až  $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Procentní množství  $\text{SO}_2$  v molekulární formě závisí na pH, snížením pH vína se obsah molekulárního  $\text{SO}_2$  zvyšuje, dále pak záleží na alkoholu a teplotě [53].

Pro danou teplotu platí:



Výpočet se pak provádí podle následujícího vzorce:

$$[\text{H}_2\text{SO}_3] \rightleftharpoons \frac{L}{10^{(\text{pH}-\text{pKM})} + 1}$$

zde platí, že:

$$L = [H_2SO_3] + [HSO_3^-]; pK_M = pK_T - \frac{A\sqrt{I}}{I + B\sqrt{I}}$$

- I = střední iontová síla
- A & B = koeficient, měnící se teplotou a obsahem alkoholu
- $K_T$  = termodynamická disociační konstanta
- $K_M$  = směsná disociační konstanta

Procentuelní vyjádření molekulárního oxidu siřičitého ve volném oxidu siřičitém je uvedeno v tabulce 2. Hodnoty jsou vztaženy k iontové síle  $I = 0,038$  a teplotě  $T = 20^\circ\text{C}$ .

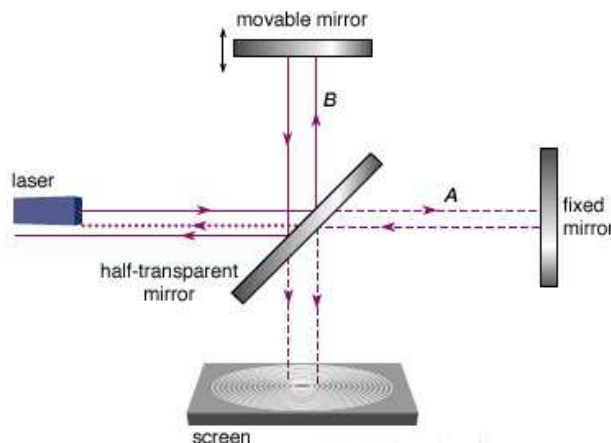
### 4.3 Interferometrické stanovení

Při této metodě je využíván FTIR (Fourierova Transformace Infračervené Spektroskopie) interferometr, který skenuje celé infračervené spektrum.  $\text{SO}_2$  ve formě plynu se ze vzorku vína uvolňuje a následně se skenuje. Sběr dat z celého spektra umožňuje analyzovat mnoho parametrů v krátké době. V dnešní době se převážně používá přístroj od firmy FOSS tzv. WineScan  $\text{SO}_2$ , který se skládá z analyzátoru a Foss Integrator softwaru. WineScan  $\text{SO}_2$  se také dodává s barevným (VIS) modulem a s autosamplerem. Touto metodou lze stanovovat volný a celkový oxid siřičitý. Velkou výhodou je jejich rychlé stanovení (cca. 1 min. / vzorek) v porovnání s běžnými stanoveními [56].

Interferometrie pracuje na principu interference světla, kterou se mění amplituda signálu jako funkce rozdílu délky dráhy mezi dvěma interferujícími zdroji. Toto se provádí pomocí zrcadel a laserového paprsku, který sleduje stejnou dráhu jako infračervený paprsek. Jedna část paprsku, který dopadá na polopropustný dělič paprsků, se od něj odráží na pevné zrcadlo, tady se pak odráží zpět a vrací se dolů k děliču paprsků. Druhá část paprsku přes polopropustný dělič paprsků prochází, odráží se od pohyblivého zrcadla zpět a od polopropustného děliče paprsků se odráží dolů. V tomto místě se setkává s první částí paprsku a interferuje s ní. Změnou vzdálenosti pohyblivého zrcadla se mění vlnová délka zesíleného záření. Získaný signál počítač upraví Fourierovou transformací na absorpční infračervené spektrum [54,55].

Touto metodou lze stanovovat kromě oxidu siřičitého také další analyty obsažené ve víně, např. glukosu, fruktosu, pH, mnoho kyselin, metanol, etanol a mnoho dalších.





Obr. 8 Schéma tradičního Michelsonova interferometru [55]

#### 4.4 Enzymatická metoda

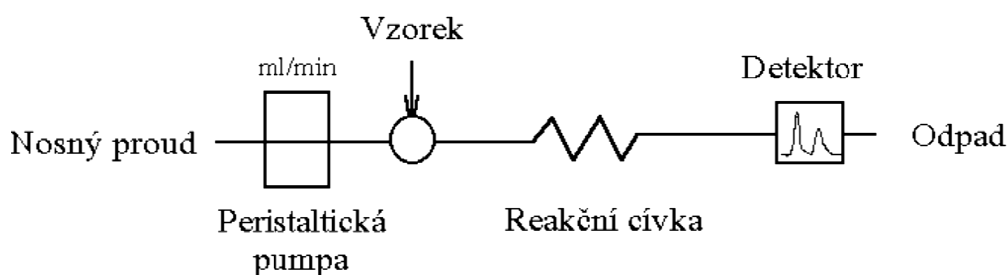
Celkový obsah siřičitanu ve víně se měří při určité hodnotě pH, ve kterém se uvolňují všechny siřičitany z jejich vazebných míst (např. acetaldehyd). Metoda je založena na reakci vína s činidlem, za vzniku určité barvy. Tato barva stechiometricky souvisí množstvím siřičitanů ve vzorku a měří se při vlnové délce 340 nm pomocí spektrofotometru. To znamená, že princip je stejný jako u všech ostatních kolorimetrických testů  $\text{SO}_2$ . Měření se provádí při vlnové délce 340 nm, při které je menší rušení vztahující se k barvě vzorku. Kalibrace se provádí na standard v dávce  $300 \text{ mg.l}^{-1} \text{ SO}_2$ . Zkouška může být provedena také na biochemických analyzátorech. Zde se doporučuje použít vlnovou délku 700 nm [57].

#### 4.5 Steigmanova metoda

Principem této metody je reakce oxidu siřičitého s p-rosanilinem za tvorby kyseliny fuchsinsířičité, která s formaldehydem poskytuje oranžově fialové zbarvení, jehož intenzita se měří při vlnové délce 550 nm. Steigmanova metoda (dále jen spektrofotometrická metoda) umožňuje stanovit jak volný, tak celkový  $\text{SO}_2$ . Metoda je velmi rozšířená, ale během posledních několika let se od ní spíše upouští, a to v důsledku možné karcinogenity p-rosanilinu. Pro spektrofotometrickou metodu jsou hodnoty opakovatelnosti  $r_{95} = 0,51 + 0,1m$  a reprodukovatelnosti  $R_{95} = 0,63 + 0,26m$  ( $m = \text{průměr}$ ) [58].

#### 4.6 Průtoková injekční analýza - FIA (Flow Injection Analysis)

Průtoková injekční (vstříkovací) analýza je analytická metoda s plynulým tokem všech roztoků, založená na vstříkování vzorku do proudu reagentů. Při stanovení oxidu siřičitého se vzorek nastříkne do proudu nosné kapaliny pomocí peristaltického čerpadla, který obsahuje NaOH pro uvolnění vázaného  $\text{HSO}_3^-$ , tento proud je smíšen s proudem, který obsahuje  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Sníží se tak pH a tím se uvolní plynný  $\text{SO}_2$ .  $\text{SO}_2$  je v proudu veden na plynovou difusní membránu, kde je oddělen.  $\text{SO}_2$  dále reaguje s p-rosanilinem (nebo malachitovou zelení) a formaldehydem. Tím vznikne barevný komplex, který je detekován spektrofotometricky. Signál z detektoru je veden na zapisovač nebo zpracován počítačem. Užití metody FIA přináší mnohé výhody oproti manuálním metodám snížení kontaktu s nebezpečnými chemikáliemi, snížení spotřeby reagentů a zvýšení výtěžnosti, tj. za stejný časový interval lze vyhodnotit více vzorků [58,59].



Obr. 9 Schéma základního zapojení průtokové injekční analýzy[59]

Výsledkem analýzy jsou za sebou jdoucí píky závislosti signálu (např. absorbance) na čase, jejich výška je mírou analytické koncentrace. [59]

#### 4.7 Chromatografické metody

HPLC (high performance liquid chromatography) je metodu pro stanovení siřičitanů ve víně s využitím N-(9-akridinyl)-maleimid (NAM) za tvorby fluorescence, která se měří při 436 nm a je úměrná obsahu siřičitanu ve vzorku. Při použití této metody objem vzorku je kolem 100  $\mu\text{l}$ . Volný i vázaný  $\text{SO}_2$  lze stanovit rovněž pomocí plynové chromatografie (GC). Vázaný  $\text{SO}_2$  se uvolní přidáním hydroxidu, je zachycen tetrachlorortuťnatým iontem a dále se okyselí na svoje původní pH. Kalibrace může být provedena vytvořením kalibrační křivky nebo přidáním vnitřního standardu. K detekci se využívá plamenově fotometrický detektor (FPD) nebo také chemiluminiscenční detektor. Alternativou k HPLC a GC

(gas chromatography) je iontově výměnná chromatografie. Jde o kapalinovou chromatografii, kde náplní kolony je silný anex a detekce probíhá pomocí elektrochemického detektoru. Iontově výměnná chromatografie je jednoduchá a rychlá. Metoda má dobrou opakovatelnost a krátký čas analýzy [59].

#### **4.8 Použití ostatních metod**

Stanovení oxidu siřičitého ve víně lze provést také dalšími metodami, které však mohou být vzhledem k předchozím metodám buďto méně přesné (pouze orientační stanovení) nebo jsou velmi nákladné a ve vinařství se s nimi víceméně nesetkáme.

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je v teoretické části popsat technologii výroby révových vín, použití oxidu siřičitého při výrobě vína a popsat jeho charakteristickou roli ve vinařství. V další části je popis různých analytických metod stanovení oxidu siřičitého ve víně.

Praktická část diplomové práce se zaměřuje na provedení analýzy obsahu oxidu siřičitého u připravených vzorků modelových sad vín lišící se jeho dávkováním, stanovit obsah kyslíku, určit celkovou antioxidační kapacitu ve vzorcích a analyzovat aromatické látky obsažené ve vzorcích. Nakonec je třeba provést sensorické hodnocení analyzovaných vín porovnáním jednotlivých párů vzorků.

Na základě vykonaných analýz a provedení jejich zhodnocení, formulovat závěry a doporučení.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 ANALYZOVANÁ VÍNA A METODY

### 6.1 Vzorky vín použité při analýze

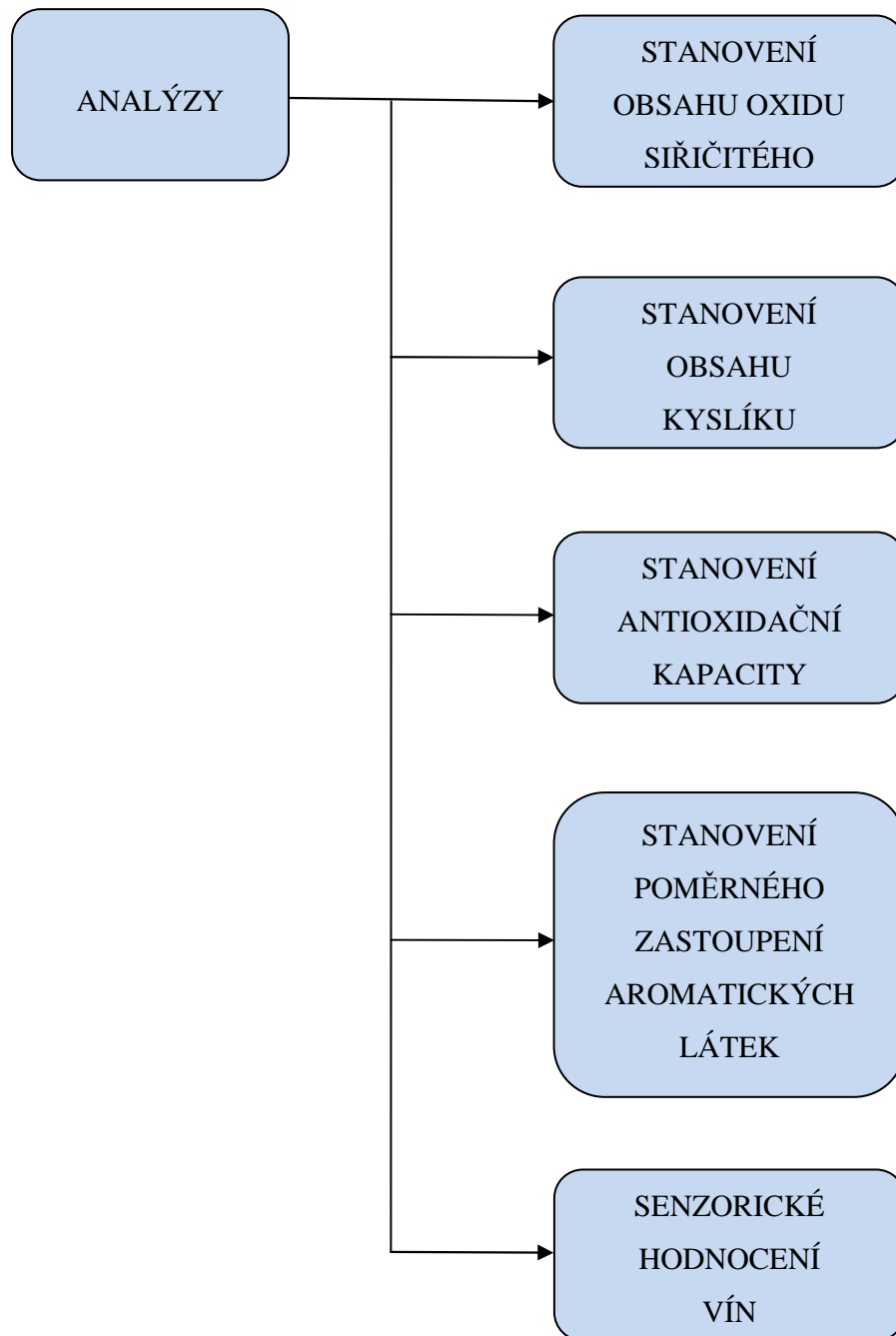
Vzorky vín, použité při analýze a zpracování diplomové práce, byly vyrobeny ve společnosti Zámecké vinařství Bzenec. Analyzovaná vína pocházela ze stejného ročníku, vyrobená stejnou technologií a pro porovnání byla zde zastoupena i Bio vína pocházející ze stejných tratí, jako vína ostatní, pěstovaná běžnými konvenčními postupy.

Rozdělení a popis jednotlivých vzorků je podrobně uvedena v Tab. 2.

Tab. 2 Popis analyzovaných vín

Číslo vzorku	Název odrůdy	Jakostní stupeň	Míra přídávku SO <sub>2</sub>	Vinařská podoblast	Dělení podle obsahu cukru
1	Chardonnay	pozdní sběr	nižší	Slovácká	polosladké
2	Chardonnay	pozdní sběr	vyšší	Slovácká	polosladké
3	Chardonnay BIO	pozdní sběr	nižší	Slovácká	polosladké
4	Chardonnay BIO	pozdní sběr	vyšší	Slovácká	polosladké
5	Rulandské šedé BIO	pozdní sběr	nižší	Slovácká	suché
6	Rulandské šedé BIO	pozdní sběr	vyšší	Slovácká	suché
7	Rulandské bílé	pozdní sběr	nižší	Mikulovská	polosuché
8	Rulandské bílé	pozdní sběr	vyšší	Mikulovská	polosuché
9	Rulandské bílé	pozdní sběr	nižší	Slovácká	polosuché
10	Rulandské bílé	pozdní sběr	vyšší	Slovácká	polosuché
11	Ryzlink vlašský	pozdní sběr	nižší	Mikulovská	suché
12	Ryzlink vlašský	pozdní sběr	vyšší	Mikulovská	suché
13	Tramín červený	výběr z hroznů	nižší	Znojemská	polosuché
14	Tramín červený	výběr z hroznů	vyšší	Znojemská	polosuché
15	Ryzlink rýnský	pozdní sběr	nižší	Mikulovská	suché
16	Ryzlink rýnský	pozdní sběr	vyšší	Mikulovská	suché
17	Muškat moravský	pozdní sběr	nižší	Mikulovská	polosladké
18	Muškat moravský	pozdní sběr	vyšší	Mikulovská	polosladké
19	Sauvignon	pozdní sběr	nižší	Mikulovská	polosuché
20	Sauvignon	pozdní sběr	vyšší	Mikulovská	polosuché
21	Veltlínské zelené	pozdní sběr	nižší	Mikulovská	suché
22	Veltlínské zelené	pozdní sběr	vyšší	Mikulovská	suché
23	Kerner	pozdní sběr	nižší	Mikulovská	polosladké
24	Kerner	pozdní sběr	vyšší	Mikulovská	polosladké

## 7 PŘEHLEDNÉ USPOŘÁDÁNÍ PROVEDENÍ JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ



## 8 POUŽITÁ ČINIDLA, ROZTOKY, POMŮCKY A PŘÍSTROJE

### 8.1 Stanovení oxidu siřičitého jodometricky

#### 8.1.1 Použitá činidla a roztoky

- Hydroxid sodný - 4 mol.l<sup>-1</sup> roztok NaOH p.a.
- Kyselina sírová – h 1:10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96% p.a.
- Jód - 0,02M I<sup>2</sup> p.a., odměrný roztok standardní. Faktor odměrného roztoku se stanovil 0,02M roztokem Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (viz. Kapitola 8.2.1 - Příprava roztoků )
- EDTA Komplexon III (Chelaton 3) - 30g/l EDTA Komplexon III p.a.
- Roztok škrobu - 0,5% roztok p.a. (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>5</sub>)<sub>n</sub>,

### 8.2 Stanovení rozpuštěného kyslíku ve víně

#### 8.2.1 Použité materiály

- Inertní plyn –dusík

#### 8.2.2 Měřicí přístroje

- analyzátor ORBISPHERE MICRO O<sub>2</sub> LOGGER 3650 (PŘÍLOHA VI)
- SAMPLER 26671

Analyzátor spolu se zařízením pro analýzu koncentrace kyslíku v obalu SAMPLER 29971, umožnil jednoduchou a rychlou analýzu O<sub>2</sub> vín naplněných do lahví. Měřicí systém se skládal z polarografického senzoru s difúzní membránou a průtokové komůrky.

### 8.3 Stanovení celkové antioxidační kapacity

#### 8.3.1 Použitá činidla a roztoky

- 2,2–Diphenyl–1– pikrylhydrazyl (Sigma – Aldrich)
- Methanol p.a. (Lach-Ner)
- Kyselina askorbová
- Destilovaná voda

#### 8.3.2 Pomůcky

- Běžně dostupné laboratorní sklo
- Mikropipety



### 8.3.3 Použité přístroje

Absorbance se měřila přístrojem PerkinElmer LAMBDA 25 (Příloha VII). Jednalo se o dvoupaprskový spektrometr pracující v UV/VIS rozsahu. Při měření nebylo nutné střídat referenční vzorek se vzorkem měřeným jako u jednopaprskového přístroje, ale vyměňovat pouze vzorky k měření. Zdrojem světla byla deuteriová lampa nebo halogenová žárovka, pracující dle vlnové délky. Měření probíhalo při vlnové délce 515 nm s vyhodnocením hodnot detektoru na počítači.

## 8.4 Stanovení aromatických látek

### 8.4.1 Použité pomůcky

- laboratorní sklo
- 20 ml vialky

### 8.4.2 Přístroje

- Plynový chromatograf – GAS CHROMATOGRAPH GC-2010 Plus (Schimadzu, Japan)
- Hmotnostní spektrometr - GAS CHROMATOGRAPH MASS SPECTROMETER CGMS-QP2010 Ultra (Schimadzu, Japan)
- Auto sampler AOC-5000 Plus (Schimadzu, Japan)

## 9 POPIS JEDNOTLIVÝCH ANALÝZ

### 9.1 Stanovení oxidu siřičitého jodometricky

Postup stanovení oxidu siřičitého byl použit na základě a ve shodě s :

1. O.I.V. - Compendium of international methods of wine and must analysis, 2011, metoda OIV-MA-AS323-04B:R2009.
2. seznamem a popisem metod rozboru podle čl. 120g prvního pododstavce NR/(ES) č. 1234/2007, NK(EHS) č. 2676/90 ze dne 17.září 1990, kterým se stanoví metody společenství používané pro rozbor vín.

Tyto stanovení jsou akreditovanými metodami, které nyní používají akreditované laboratoře pro provádění zatřídění réвовých vín u Státní zemědělské a potravinářské inspekce.

#### 9.1.1 Postup

Oxid siřičitý se stanovil ihned po otevření láhve s testovaným vínem.

##### 9.1.1.1 Volný oxid siřičitý

- Do kónické 500 ml baňky se odpipetovalo 50 ml testovaného vína.
- Neprodleně přidal 3 ml roztoku  $H_2SO_4$ , 1 ml Chelatonu III a 5 ml škrobu.
- ihned se titrovalo 0,01M roztokem jódu do modrofialového zbarvení, které vydrželo alespoň 15 sekund. Spotřeba jódu na titraci se označila jako  $V_1$ .

##### 9.1.1.2 Veškerý oxid siřičitý

- Ihned po titraci volného  $SO_2$  se přidal 8 ml 4 M NaOH, zazátkovalo a zamíchalo a nechalo 5 minut stát.
- Odměrným válcem se za stálého míchání přidal 10 ml  $H_2SO_4$  a titrovalo roztokem jódu do modrofialového zbarvení, které vydrželo alespoň 15 sekund. Spotřebu jódu na titraci se označila jako  $V_2$ .
- Přidal se 20 ml 4M NaOH, zamíchalo a nechalo 5 minut stát.
- Pak se přidal 200 ml studené destilované vody, promíchalo a odměrným válcem se přidal 30 ml  $H_2SO_4$ , ihned se titrovalo roztokem jódu. Spotřebu jódu na titraci se označila jako  $V_3$ .

### 9.1.2 Výpočet

Obsah volného ( $X_1$ ) a veškerého ( $X_2$ )  $\text{SO}_2$  v  $\text{mg.l}^{-1}$  se vypočítal dle vzorce:

$$X_1 = 12,8 \cdot V_1 \cdot f$$

$$X_2 = 12,8 \cdot (V_1 + V_2 + V_3) \cdot f$$

Kde ..... $V_1$  je množství roztoku jódu spotřebované na titraci volného  $\text{SO}_2$

Kde .....  $V_2$ ,  $V_3$  je množství roztoku jódu spotřebované na titraci veškerého  $\text{SO}_2$

Kde .....  $f$  je faktor 0,02M roztoku  $\text{I}^2$

### 9.1.3 Vyjádření výsledků

Výsledky se vyjádřily jako průměr ze dvou hodnot. Konečný výsledek se zaokrouhlil na celé číslo v  $\text{mg.l}^{-1}$ .

## 9.2 Stanovení kyslíku rozpuštěného ve víně

Analýza proběhla v akreditované laboratoři společnosti Zámecké vinařství Bzenec s.r.o.. Touto metodou se dají analyzovat již naplněné láhve s vínem při použití se samplerem, ale také lze provést měření přímo z uskladňovací nádrže, pomocí speciálního nástavce. Naše měření proběhlo 2x, s naplněnými lahvemi. 1x ihned po naplnění a 1x po 150 dnech.

### 9.2.1 Princip metody

Analýza je založena na průchodu vína přes elektrochemický senzor. Kyslík se na rozhraní vrstvy katoda/elektrolyt elektrochemickou cestou přeměňuje na el. proud, jehož velikost je úměrná koncentraci kyslíku v měřené směsi plynů. Senzor obsahuje olovenou anodu a zlatou katodu, ponořené do elektrolytu na bázi kyseliny octové. K oddělení zlaté katody elektrolytu od analyzované směsi se využívá permeabilní membrána. Proud protékající senzorem je díky redukci kyslíku na katodě převáděn zesilovačem na napětí a poměr mezi proudem a napětím je určován odporem zpětné vazby zesilovače. Napěťový výstup je základní funkcí aktivity kyslíku [63].

### 9.2.2 Pracovní postup

Každá láhev vína se těsně před každým měřením důkladně promíchala na míchacím zařízení. Láhev se upevnila do stojanu SAMPLERU 29971, pomocí páky se propíchla korková

zátku a spustila se do lahve jehla napojená na výtlačný systém. Pomocí plynu (N<sub>2</sub>) umístěného vedle sampleru se postupně víno vytlačovalo z láhve do senzoru kyslíku, napojeného na vyhodnocovací jednotku analyzátoru MicroLogger. Z přístroje se odečítala hodnota v jednotkách ppm. Průtok vína byl nastaven na hodnotě 300 ml.min<sup>-1</sup>. Výsledky měření jsme odečítali po cca 60 sekundách přímo s displeje vyhodnocovacího přístroje. Stanovení jednoho vzorku trvalo 2 minuty. [63]

### 9.3 Stanovení celkové antioxidační kapacity (TAC)

#### 9.3.1 Metoda s difenylpikrylhydrazylem (dále DPPH)

Analýza proběhla v dubnu 2013 v laboratoři Vědecko-technického parku UTB ve Zlíně.

#### 9.3.2 Princip stanovení

DPPH test je založen na schopnosti stabilního volného radikálu 1,1.-difenyl-2-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku. DPPH vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. Při tomto testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem (R) roztok odbarví: [61]



Stupeň a míra poklesu absorbance jsou přiměřené k antioxidační účinnosti analyzované látky. DPPH metoda je rychlá, jednoduchá a levná.

#### 9.3.3 Příprava základního roztoku

Pro přípravu základního roztoku se na analytických váhách navážilo 24 mg DPPH a převedlo do 100 ml odměrné baňky a doplnilo metanolem po rysku a řádně promíchalo. Základní roztok se uchoval v mrazícím prostoru lednice.

#### 9.3.4 Příprava pracovního roztoku

Odebralo se 10 ml základního roztoku a smíchalo se 45 ml metanolu. Po promíchání se roztok převedl do kyvety a změřila se absorbance A<sub>0</sub> pracovního roztoku při vlnové délce 515 nm.

#### 9.3.5 Příprava kalibračních roztoků pro sestavení kalibrační křivky

Nejprve se na analytických vahách navážilo 100 mg kyseliny askorbové, převedlo do 100 ml odměrné baňky a doplnilo po rysku destilovanou vodou. Kalibrační roztoky se získaly

ředěním tohoto roztoku. Tímto ředěním se získaly roztoky o koncentracích 10, 20, 30, 40 mg.l<sup>-1</sup>.

Z kalibračního roztoku se odebralo 400 µl a smíchalo se 7,6 ml pracovního roztoku DPPH, řádně promíchalo a uložilo na 60 minut do temného prostoru. Poté se změřila absorbance na spektrofotometru A<sub>x</sub>, při 515 nm oproti metanolu. Po změření absorbance se vypočítal úbytek absorbance dle vzorce:

$$\Delta A = \frac{A_0 - A_{kr}}{A_0}$$

Z hodnot úbytku absorbance se vytvořila kalibrační křivka. Do regresní rovnice, která byla stanovena, dosadíme hodnoty úbytku absorbance jednotlivých vzorků a stanovíme TAC vyjádřenou v mg.l<sup>-1</sup> kyseliny askorbové na 1 litr.

## 9.4 Stanovení poměrů aromatických látek

Analýza proběhla v dubnu 2013 v laboratoři Vědecko-technického parku UTB ve Zlíně.

### 9.4.1 Princip metody

Použitá metoda (GC-MS) umožňuje vysoce přesnou analýzu měření hmotnostního spektra, pro kvalitativní analýzu nebo identifikaci neznámých stopových prvků.

### 9.4.2 Pracovní postup

Z každého analyzovaného vzorku se odpipetovalo 10ml vína a přeneslo se do připravených 20 ml vialek. Na všech vzorcích se provedla analýza aromatických látek plynovým chromatografem dle přednastavené metody. Identifikace a kvantifikace jednotlivých analytů se prováděla automaticky pomocí instalovaného softwaru, v závislosti na retenčních časech, popř. se provedla ruční integrace píků. Naměřená data a vyhodnocení analýzy jsou v kapitole 9.9.

### 9.4.3 Parametry přístroje

Nastavené parametry přístroje použité pro analýzu aromatických látek jsou uvedeny v tabulce (Tab.3). Identifikace složek se provedl s hmotnostní spektrální databází NIST.

Tab. 3 Podmínky analýzy aromatických látek ve víně plynovou chromatografií

<b>Plynový chromatograf</b>	CG-210 Plus
<b>Kolona</b>	Kapilární kolona SUPELCO Low Bleed - SLB-5ms
<b>Rozměry kolony</b>	30 m x 0,25 mm x 0,25 $\mu$ m
<b>Izolace těkavých látek</b>	HEAD-SPACE (HS) - statická, míchání 15 min. při 80°C
<b>Vzorek</b>	Odběr par
<b>Objem odebraného vzorku</b>	1,5 ml
<b>Dávkování</b>	Dělené
<b>Nosný plyn</b>	Helium
<b>Teplota nástřiku</b>	200 °C
<b>Teplotní program pece</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 40°C, výdrž na teplotě 6 minut,</li> <li>- vzestup na teplotu 57°C rychlostí 3°C/min, výdrž 4 minuty</li> <li>- vzestup na teplotu 180°C rychlostí 5°C/min</li> </ul>
<b>Detektor</b>	CGMS-QP2010 Ultra
<b>Teplota detektoru</b>	220°C

## 9.5 Senzorická analýza

Kvalita vín se posuzuje podle výsledků fyzikálně-chemických rozborů, ale také smyslovým posuzováním vlastností. Fyzikálně-chemickými metodami se však stanoví jen vlastnosti potravin, které odpovídají tzv. vnějším podnětům při sensorické analýze. Skutečnou kvalitu lze zjistit sensorickým posouzením jejich jednotlivých vlastností a celkového charakteru [12,62].

### 9.5.1 Postup sensorické analýzy

Senzorické hodnocení se provádělo ve firmě Zámecké vinařství Bzenec s.r.o.. Posuzovala se všechna analyzovaná vína. Hodnotící komise měla 24 laických posuzovatelů. Před začátkem degustace se komise řádně proškolila jejím předsedou a poté se společně posuzoval

tzv. nultý vzorek. Láhve se před samotnou degustací nechaly otevřené cca 15 minut. Řazení jednotlivých vín se sestavilo dle obsahu cukru, od suchých vín po polosladké. Použily se degustační skleničky dle O.I.V.. Jako neutralizátor sloužila neperlivá voda.

Pro určení odlišnosti mezi jednotlivými vzorky vín po 150 dnech od lahvování se nejlépe hodí použít trojúhelníkový test. Trojúhelníková zkouška nám dovoluje zachytit mezi srovnávanými vzorky menší odchylky v porovnání s metodami, používající ve svém hodnocení stupnice nebo s párovou porovnávací zkouškou [68].

Pro zhodnocení 12 dvojic vzorků vína s nižším a vyšším přídatkem  $\text{SO}_2$  bylo použito normované metody podle BS ISO 4120:2004 [74].

Výsledky jednotlivých hodnocení se zapisovaly do degustačního lístku trojúhelníkové zkoušky, kde se srovnávaly tři vzorky, z nichž dva byly identické (příloha P III).

Celkové výsledky se vyhodnotily a shrnuly do tabulky.

### 9.5.2 Princip testu

Hodnotitelé obdrží sadu tří vzorků, tzv. triádu a jsou informováni, že dva vzorky jsou shodné a jeden je odlišný. Hodnotitelé uvedou, u kterého vzorku si myslí, že je odlišný. Výběr může být pouze odhad v případě, že je rozdíl neznatelný. Počítá se počet správných odpovědí a významnost je určena statistickou tabulkou, která je součástí normy.

Podle sensitivity testu je třeba zvolit počet hodnotitelů. Minimální počet hodnotitelů je 18, typicky však 24 nebo 30 pro testování rozdílnosti a 60 pro testování shodnosti. V případě nižšího dostupného množství hodnotitelů je možné, že hodnotitelé zkouší vzorky opakovaně. Je však nutné, aby toto opakování bylo shodné, např. pro 24 vzorků, 12 hodnotitelů testuje vzorek 2 krát.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

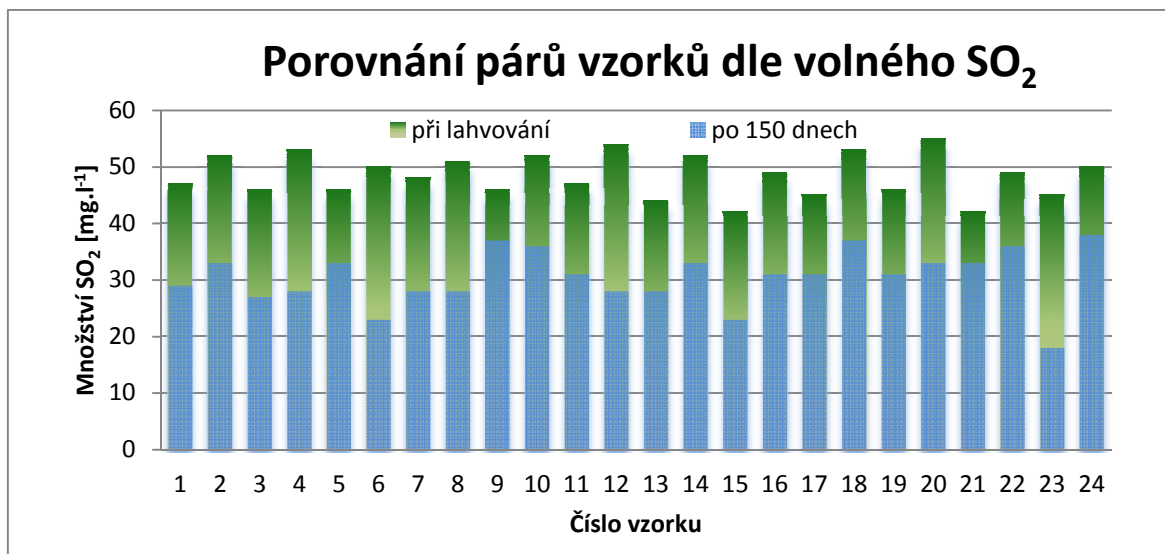
### 9.6 Výsledky stanovení oxidu siřičitého

Tab. 4 Porovnání obsahu  $SO_2$  ve víně

Číslo vzorku	Průměr ze stanovení při lahvování		Průměr ze stanovení po 150 dnech	
	Volný	Veškerý	Volný	Veškerý
1	47	155	29	136
2	52	161	33	141
3	46	154	27	132
4	53	164	28	138
5	46	167	33	154
6	50	174	23	146
7	48	172	28	148
8	51	179	28	148
9	46	148	37	128
10	52	156	36	128
11	47	131	31	118
12	54	146	28	131
13	44	154	28	133
14	52	164	33	128
15	42	138	23	119
16	49	154	31	141
17	45	164	31	157
18	53	179	37	165
19	46	146	31	136
20	55	164	33	136
21	42	120	33	118
22	49	133	36	110
23	45	134	18	110
24	50	143	38	142

Výsledky výše uvedených stanovení volného a veškerého oxidu siřičitého nám sloužily jako základní prvek pro srovnání, do jaké míry ovlivňuje snížená dávka přídatku  $SO_2$  při lahvování. Kvalitu výsledného produktu může ovlivňovat jak pozitivně, tak i negativně. Výsledky stanovení byly nedílnou součástí celkového pohledu na zkoumaná vína a dokreslovaly celkový pohled.



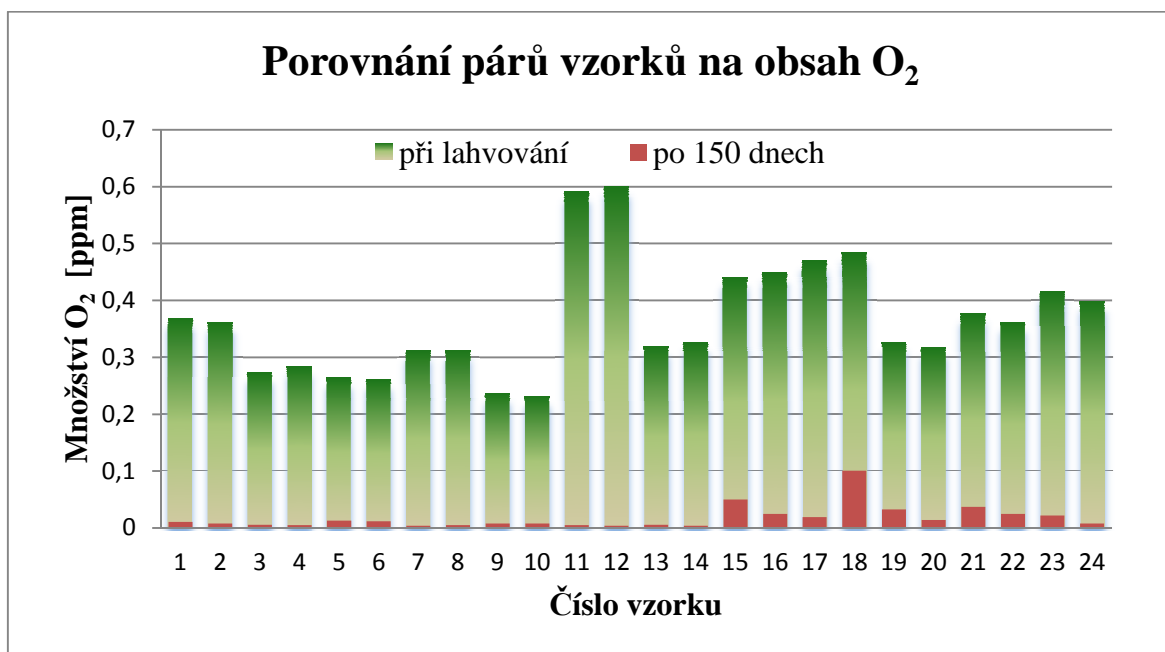
Obr. 10 Úbytek SO<sub>2</sub> po 150 dnech

## 9.7 Výsledky měření rozpuštěného kyslíku

Tab. 5 Obsah kyslíku v lahvi ve vzorcích s nižší a vyšší SO<sub>2</sub>

Číslo vzorku	Průměr ze stanovení O <sub>2</sub> při lahvování [ppm]	Průměr ze stanovení O <sub>2</sub> po 150 dnech [ppm]
1	0,368	0,011
2	0,361	0,008
3	0,272	0,006
4	0,283	0,005
5	0,263	0,013
6	0,260	0,012
7	0,311	0,004
8	0,312	0,005
9	0,236	0,008
10	0,231	0,008
11	0,590	0,005
12	0,599	0,004
13	0,319	0,006
14	0,325	0,004
15	0,440	0,050
16	0,448	0,025
17	0,469	0,019
18	0,483	0,101
19	0,325	0,033
20	0,317	0,014
21	0,376	0,037
22	0,361	0,025
23	0,415	0,022
24	0,398	0,008

Výše uvedená tabulka s grafickým vyjádřením nám ukazuje, do jaké míry se rozpuštěný kyslík po 150 dnech od jejich naplnění do lahví spotřebovává. Dále je vidět, že ve všech námi analyzovaných vínech byla již při lahfování hodnota  $O_2$  na velmi nízké úrovni. Nízká hodnota je způsobena použitím inertních plynů, zejména dusíku.  $N_2$  je používán již při lisování rmutů, dále při školení a stáčení vín. Při přípravě a filtraci vín před lahfováním se vína temperují na  $16\text{ }^\circ\text{C}$  a za použití frit se víno přečerpává přes  $N_2$  a  $CO_2$ . Tím se vytěsňuje navázaný kyslík. Na plnicím monobloku je použito vakuování prázdné lahve, naplnění lahve plynným dusíkem a následně vínem.



Obr. 11 Grafické porovnání spotřeby  $O_2$

Úbytek rozpuštěného kyslíku a rychlost tohoto úbytku je obecně závislá na struktuře a složení vína. Po 150 dnech od naplnění do lahve bylo zjištěno, že hladina  $O_2$  je téměř na nulové úrovni a nelze tedy předpokládat jeho další negativní působení při zrání jednotlivých vín.

## 9.8 Stanovení celkové antioxidační kapacity

Podle postupu popsaného v kapitole 9.3 se získaly hodnoty úbytku absorbance kyseliny askorbové sestavením kalibrační křivky (Obr. 10). Stejným postupem se stanovily i úbytky absorbance vzorků stanovovaných vín. Absorbance  $A_0$  pracovního roztoku byla naměřena:  $A_0 = 0,84506$

Ze sestrojené kalibrační křivky se sestavila tato lineární regrese :

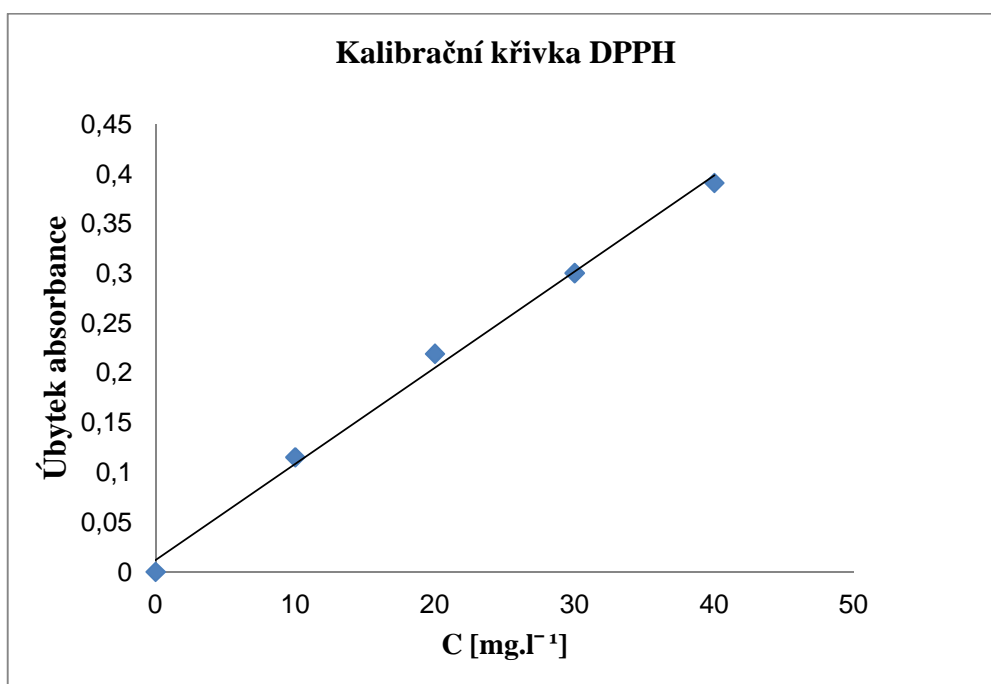
$$y = 0,0097x + 0,0117$$

Z rovnice se stanovil celkový obsah antioxidantních látek vyjádřených jako kyselina askorbová v  $\text{mg.l}^{-1}$ .

Korelační koeficient byl :  $R^2 = 0,9953$ .

Tab. 6 Standard pro stanovení kalibrační křivky

Koncentrace kyseliny askorbové [mg/l]	Stanovená A kalibračních roztoků	Úbytek A dle výpočtu
10	0,74777	0,11513
20	0,65986	0,21916
30	0,59134	0,30024
40	0,51477	0,39085



Obr. 12 Kalibrační křivka

Při výpočtu úbytku absorbance jednotlivých vzorků muselo být zohledněno také ředění 1:1, 1:3 a 1:4. Vyšší ředění bylo použito u vzorků, u kterých byl předpoklad vyššího množství antioxidantů.

Vzorový výpočet antioxidační kapacity můžeme demonstrovat na vzorku č. 23

- hodnota naměřené absorpance – 0,57566

- ředění vzorků 1:3

$$0,3188 = 0,0097x + 0,0117$$

$$x = (0,3188 - 0,0117) / 0,0097$$

$$x = 31,66$$

Po zohlednění ředění a zaokrouhlení byla TAC :  $31,66 * 4 = 126,64 \text{ mg.l}^{-1}$ .

Souhrn všech výsledků vypočítaných z rovnice kalibrační křivky obsahuje tabulka č. 7.

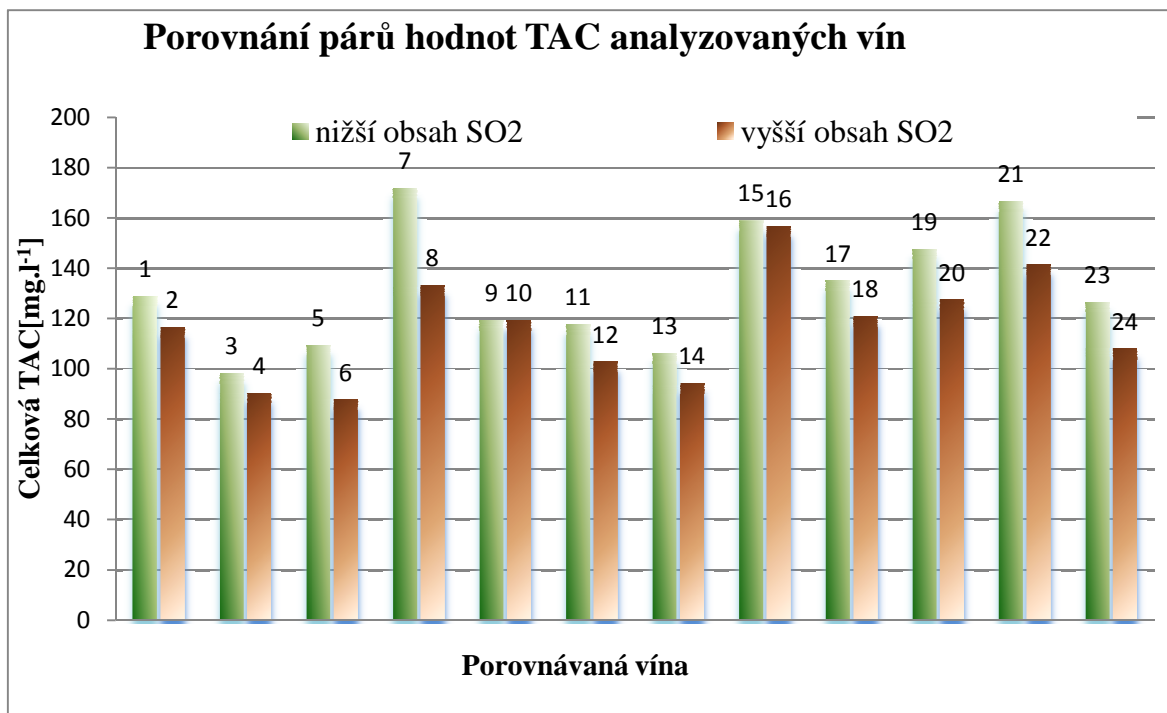
Tab. 7 Výsledky analýz a výpočtů na TAC

Číslo vzorku	Ředění	Naměřená absorpance	Úbytek absorpance	x	Celková antioxidační kapacita
1	1 : 4	0,62393	0,2617	25,77	<b>128,85</b>
2	1 : 1	0,35799	0,5764	58,22	<b>116,44</b>
3	1 : 3	0,63407	0,2497	24,54	<b>98,16</b>
4	1 : 1	0,46511	0,4496	45,14	<b>90,28</b>
5	1 : 3	0,61103	0,2769	27,34	<b>109,36</b>
6	1 : 1	0,47567	0,4371	43,86	<b>87,72</b>
7	1 : 4	0,55325	0,3453	34,39	<b>171,95</b>
8	1 : 1	0,28931	0,6576	66,59	<b>133,18</b>
9	1 : 3	0,59077	0,3009	29,81	<b>119,24</b>
10	1 : 3	0,59091	0,3007	29,79	<b>119,16</b>
11	1 : 4	0,64229	0,2399	23,53	<b>117,65</b>
12	1 : 1	0,41440	0,5096	51,33	<b>102,66</b>
13	1 : 3	0,61776	0,2690	26,53	<b>106,12</b>
14	1 : 1	0,44913	0,4685	47,09	<b>94,18</b>
15	1 : 3	0,50928	0,3973	39,75	<b>159,00</b>
16	1 : 3	0,51428	0,3914	39,14	<b>156,56</b>
17	1 : 3	0,55857	0,3390	33,74	<b>134,96</b>
18	1 : 1	0,33984	0,5979	60,43	<b>120,86</b>
19	1 : 3	0,53273	0,3696	36,90	<b>147,60</b>
20	1 : 1	0,31315	0,6294	63,68	<b>127,36</b>
21	1 : 3	0,49388	0,4156	41,64	<b>166,56</b>
22	1 : 3	0,44907	0,4686	47,10	<b>141,30</b>
23	1 : 3	0,57566	0,3188	31,66	<b>126,64</b>
24	1 : 1	0,39350	0,5344	53,89	<b>107,78</b>

### 9.7.1 Porovnání vín dle vtahu obsahu SO<sub>2</sub> a TAC

Srovnáním hodnot celkové antioxidační kapacity jednotlivých dvojic vzorků (s vyšším a nižším obsahem SO<sub>2</sub>) bylo zjištěno, že vína s vyšším dávkováním SO<sub>2</sub> měla nižší TAC,

jako vína s nižším dávkováním a naopak. Před samotným stanovením se předpokládalo, že se dosažené výsledky budou lišit, avšak rozdílové hodnoty jsou velmi malé. Pro porovnání výsledků byla sestrojena tabulka a graf, ve kterém jsou jednotlivé hodnoty přehledně uspořádány. Hodnoty TAC se pohybují u vzorku č.6 od 87,72 mg.l<sup>-1</sup> do 171,95 mg.l<sup>-1</sup>, u vzorku č. 7.



Obr. 13 Znáznornění rozdílů obsahu TAC

Srovnáním vína s vyšším obsahem SO<sub>2</sub> k běžným průměrným hodnotám TAC ve světě, se mohlo konstatovat, že vína odpovídaly průměru obsahu antioxidantů a nijak se z něj nevykaly. Běžně se TAC bílých vín pohybovala v rozmezí 100 až 125 mg.l<sup>-1</sup>. Mírně nižší TAC se pozorovala u třech analyzovaných vzorků této skupiny.

Lepších výsledků bylo dosaženo u vín se sníženým obsahem oxidu siřičitého, které ve většině případů převyšovaly hodnotu horní hranice. Nicméně ani jedno testované víno se nemohlo srovnávat s červenými víny, kde může být TAC až 15 krát vyšší, tj. že může dosahovat hodnot 2300 mg.l<sup>-1</sup>. Je to dáno pravděpodobně tím, že červená vína jsou velmi bohatá na obsah polyfenolů a antokyanů, na rozdíl od vín bílých.

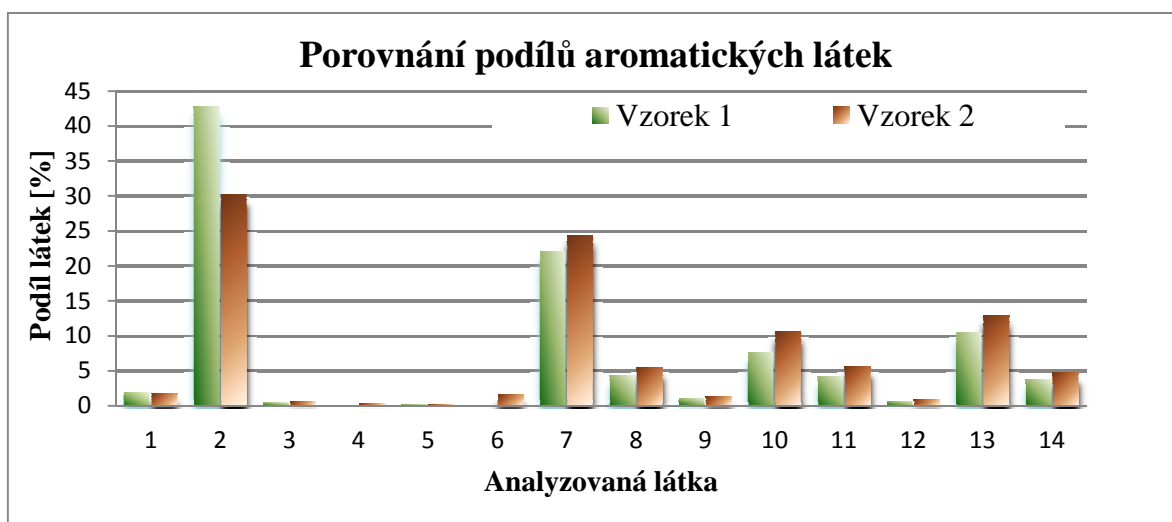
## 9.9 Výsledky analýz aromatických látek

Tab. 8 Průměrné retenční časy stanovovaných látek

Poř. číslo	Název látky	Průměrný retenční čas [min]
1	1-Propanol	2,014
2	Ethylester kyseliny octové	2,255
3	Isobutyl alkohol	2,476
4	Ester kyseliny propionové	3,559
5	Ethan	3,949
6	Pentylester kyseliny mravenčí	4,160
7	Pentanol	4,199
8	Dibutylester kyseliny sírové	4,347
9	Ethylester kyseliny isomáselné	4,705
10	Ethylester kyseliny butanové	6,277
11	Isopentyl acetát (banánový olej)	10,010
12	3-methyl, ethylester pentanové kyseliny	18,106
13	Hexylester kyseliny octové	19,059
14	Limonen	19,580
15	2-Carene	22,411
16	Linalool	23,211
17	Linalyl acetát	25,806
18	Ethylester kyseliny oktanové	26,846
19	$\alpha$ -Terpineol	28,719
20	Nerol, methyl ether	29,609
21	Ethylester kyseliny dekanové	32,790

Tab. 9 Porovnání vzorku č. 1 a 2

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 1		vzorek 2	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	197512	1,91	211543	1,66
2	Ethylester kyseliny octové	4439754	42,85	3836992	30,13
3	Isobutyl alkohol	46263	0,45	76411	0,60
4	Ester kyseliny propionové	12132	0,12	33150	0,26
5	Ethan	20753	0,20	23925	0,19
6	Pentyl ester kyseliny mravenčí	0	0,00	198652	1,56
7	Pentanol	2290344	22,11	3099334	24,34
8	Dibutylester kyseliny sírové	449118	4,33	685652	5,38
9	Ethylester kyseliny butanové	109991	1,06	159014	1,25
10	Isopentyl acetát (banánový olej)	794212	7,67	1345877	10,57
11	3-methyl, ethylester kys. pentanové	440032	4,25	711106	5,58
12	Hexylester kyseliny octové	72426	0,70	118197	0,93
13	Ethylester kyseliny oktanové	1094380	10,56	1642025	12,89
14	Ethylester kyseliny dekanové	393955	3,80	593527	4,66
			100,00		100,00

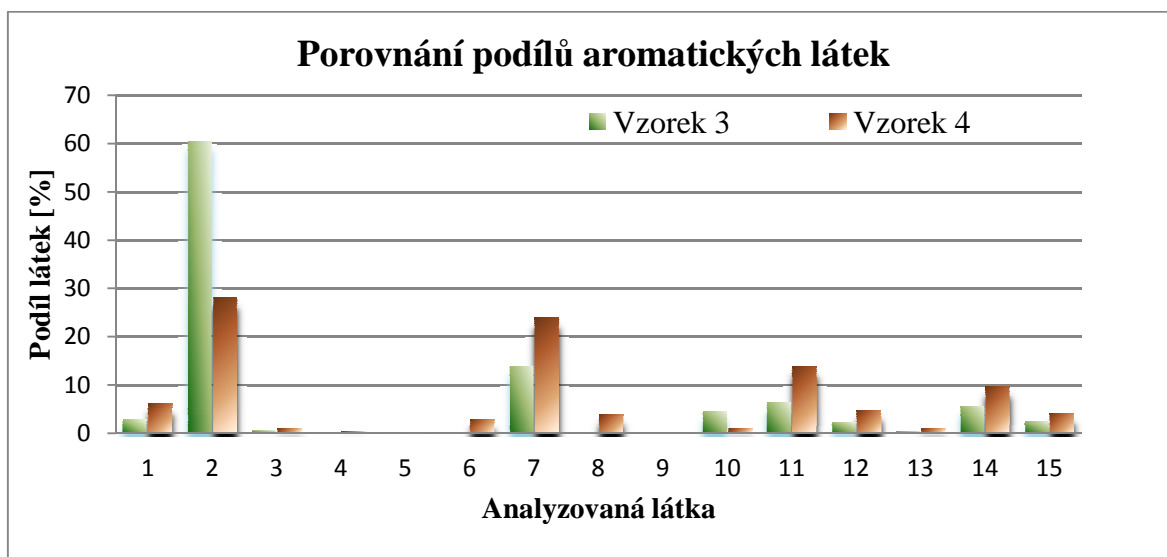


Obr. 14 Aromatické látky ve vzorcích 1 a 2

U ethylesteru kyseliny octové vzorku č. 2 jsme sledovali jeho velmi nízký obsah, zároveň byl také druhým nejmenším v celé analýze. Opak byl u Pentanolu, kde tento vzorek měl nejvyšší obsah této látky. Jeho obsah patřil mezi nejvyšší také u vzorku č. 1.

Tab. 10 Porovnání vzorku č. 3 a 4

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 3		vzorek 4	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	426385	2,80	786911	6,03
2	Ethylester kyseliny octové	9215854	60,60	3656127	28,04
3	Isobutyl alkohol	85246	0,56	119779	0,92
4	Ester kyseliny propionové	0	0,00	45085	0,35
5	Ethan	34658	0,23	13207	0,10
6	Pentylester kyseliny mravenčí	0	0,00	370485	2,84
7	Pentanol	2126583	13,98	3118217	23,91
8	Dibutylester kyseliny sírové	0	0,00	492871	3,78
9	Ethylester kyseliny isomáselné	3206	0,02	0	0
10	Ethylester kyseliny butanové	691188	4,54	117802	0,90
11	Isopentyl acetát (banánový olej)	966827	6,36	1804322	13,84
12	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	341395	2,24	599306	4,60
13	Hexylester kyseliny octové	76223	0,50	131067	1,01
14	Ethylester kyseliny oktanové	858752	5,65	1253700	9,61
15	Ethylester kyseliny dekanové	381794	2,51	530388	4,07
		100,00		100,00	



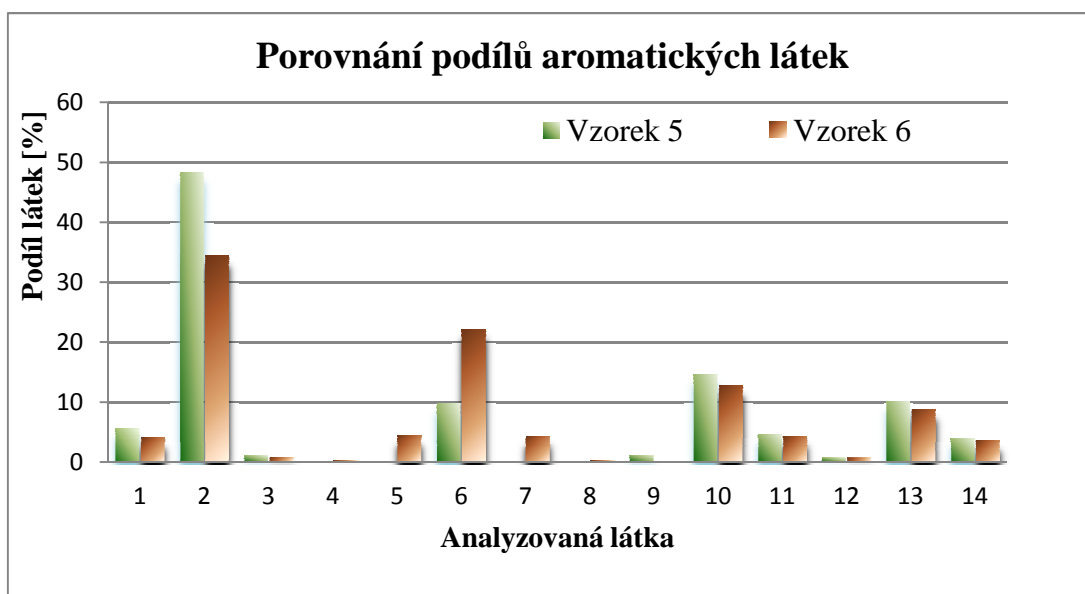
Obr. 15 Aromatické látky ve vzorcích 3 a 4

Vzorky č. 3 a 4 byly charakteristické velkým rozdílem ethylesteru kyseliny octové, kdy vzorek č. 3 měl více než dvojnásobnou hodnotu této látky. Zajímavé byly i výsledky látky č. 7, 11 a 14, které nabývaly u více „sířených“ vín vyšších hodnot, a to téměř o polovinu.



Tab. 11 Porovnání vzorku č. 5 a 6

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 5		vzorek 6	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	490224	5,63	608707	3,98
2	Ethylester kyseliny octové	4213779	48,36	5248333	34,35
3	Isobutyl alkohol	94163	1,08	112904	0,74
4	Ester kyseliny propionové	0	0,00	43427	0,28
5	Pentylester kyseliny mravenčí	0	0,00	660696	4,32
6	Pentanol	851098	9,77	3377372	22,11
7	Dibutylester kyseliny sírové	0	0,00	647600	4,24
8	Ethylester kyseliny isomáselné	0	0,00	35293	0,23
9	Ethylester kyseliny butanové	105181	1,21	0	0,00
10	Isopentyl acetát (banánový olej)	1275850	14,64	1943338	12,72
11	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	404004	4,64	634548	4,15
12	Hexylester kyseliny octové	61336	0,70	94216	0,62
13	Ethylester kyseliny oktanové	875360	10,05	1336826	8,75
14	Ethylester kyseliny dekanové	341513	3,92	535238	3,50
			100,00		100,00

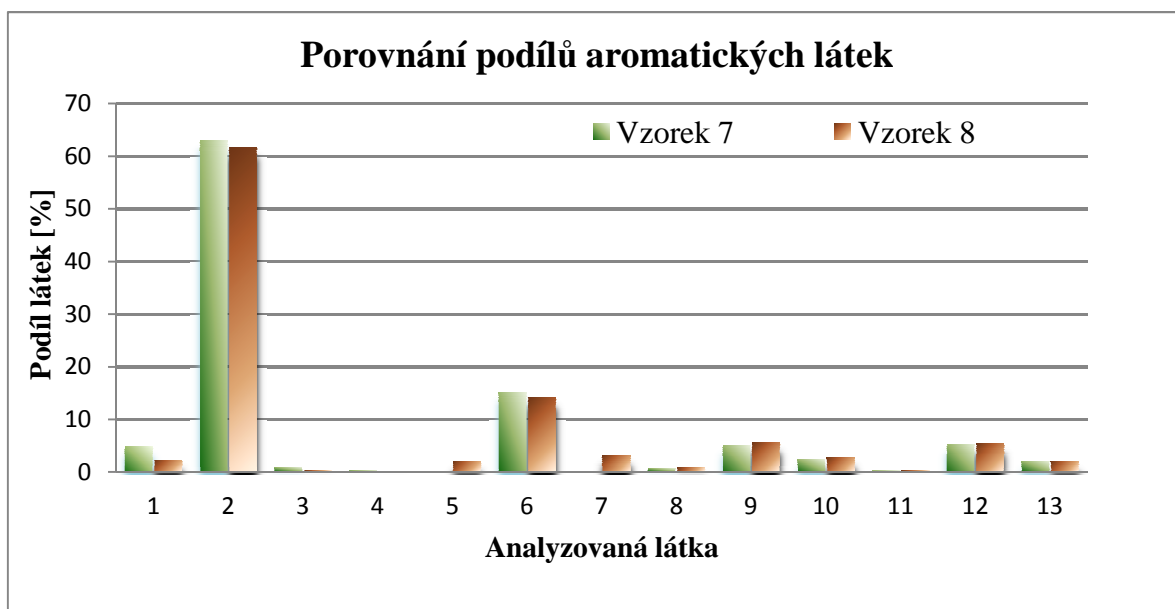


Obr. 16 Aromatické látky ve vzorcích 5 a 6

Nezvykle vysoký podíl nedetekovaných aromatických látek byl u vzorku č. 5 s nižší hodnotou  $\text{SO}_2$ . Jednalo se o látky č.4,5,7 a 8. Tento fakt umocňuje zjištění velikosti daného rozdílu. Pentylester kyseliny mravenčí a dibutylester kys. sírové obsahovali více než 4 %.

Tab. 12 Porovnání vzorku č. 7 a 8

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 7		vzorek 8	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	746248	4,85	535544	2,23
2	Ethylester kyseliny octové	9694721	62,98	14783469	61,70
3	Isobutyl alkohol	142059	0,92	73458	0,31
4	Ester kyseliny propionové	40008	0,26	21842	0,09
5	Pentyl ester kyseliny mravenčí	0	0,00	462981	1,93
6	Pentanol	2335498	15,17	3391440	14,15
7	Dibutylester kyseliny sírové	0	0,00	732964	3,06
8	Ethylester kyseliny butanové	115522	0,75	194457	0,81
9	Isopentyl acetát (banánový olej)	763203	4,96	1333743	5,57
10	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	373403	2,43	651708	2,72
11	Hexylester kyseliny octové	33112	0,22	56698	0,24
12	Ethylester kyseliny oktanové	826192	5,37	1269514	5,30
13	Ethylester kyseliny dekanové	322851	2,10	453954	1,89
			100,00		100,00

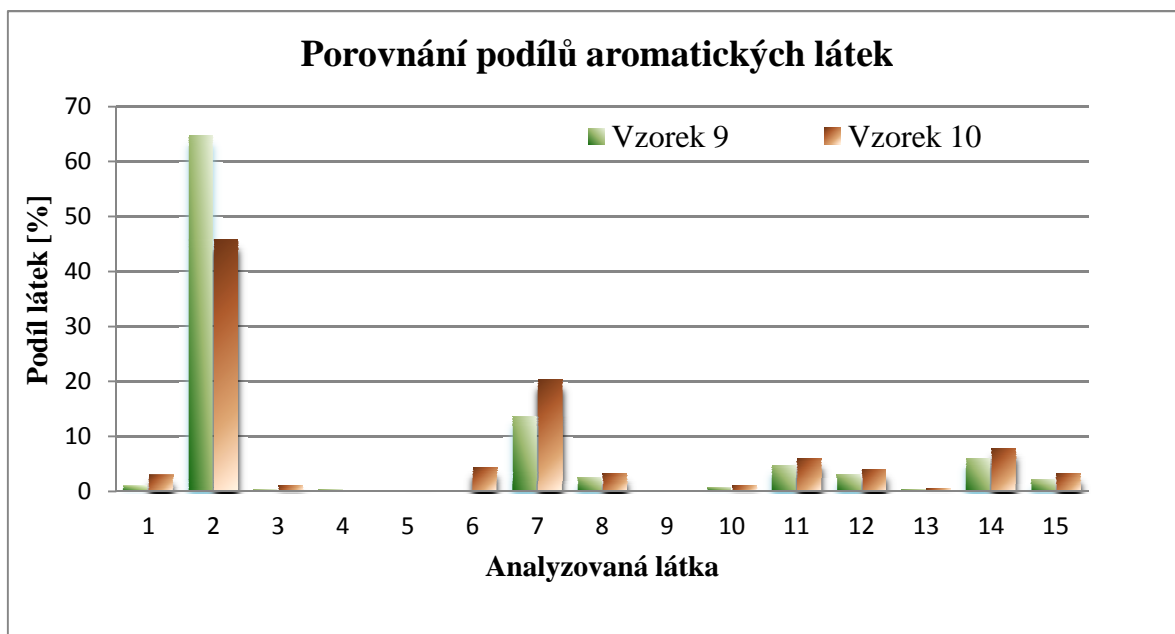


Obr. 17 Aromatické látky ve vzorcích 7 a 8

Vliv přídavku oxidu siřičitého u těchto porovnávaných vín byl téměř zanedbatelný. Z řady vybočovali jen pentylester kyseliny mravenčí a dibutylester kyseliny sírové, kde u vzorku s menším stupněm přídavku SO<sub>2</sub> č.7, jsme sledovali nulovou detekci těchto látek.

Tab. 13 Porovnání vzorku č. 9 a 10

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 9		vzorek 10	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	185591	0,91	351494	2,93
2	Ethylester kyseliny octové	13250612	64,77	5495597	45,74
3	Isobutyl alkohol	59202	0,29	124402	1,04
4	Ester kyseliny propionové	63983	0,31	0	0,00
5	Ethan	12609	0,06	17172	0,14
6	Pentylester kyseliny mravenčí	0	0,00	516187	4,30
7	Pentanol	2803712	13,70	2439708	20,31
8	Dibutylester kyseliny sírové	523512	2,56	385353	3,21
9	Ethylester kyseliny isomáselné	48518	0,24	0	0,00
10	Ethylester kyseliny butanové	146184	0,71	114657	0,95
11	Isopentyl acetát (banánový olej)	979443	4,79	711747	5,92
12	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	636235	3,11	479145	3,99
13	Hexylester kyseliny octové	82111	0,40	58052	0,48
14	Ethylester kyseliny oktanové	1237012	6,05	929295	7,74
15	Ethylester kyseliny dekanové	429263	2,10	391243	3,26
		100,00		100,00	

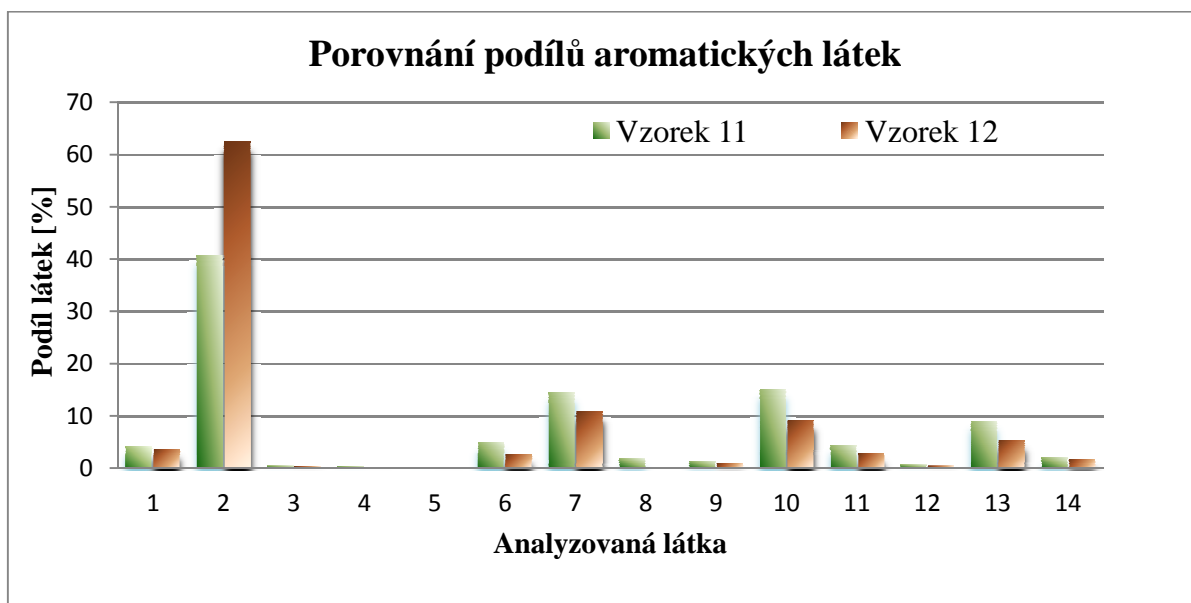


Obr. 18 Aromatické látky ve vzorcích 9 a 10

U vzorků č. 9 a 10 byl analyzován spíše nízký obsah všech aromatických látek. Vyšší hodnoty dosahoval pouze vzorek č. 9. u ethylesteru kyseliny octové.

Tab. 14 Porovnání vzorku č. 11 a 12

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 11		vzorek 12	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	578374	4,06	738636	3,57
2	Ethylester kyseliny octové	5800065	40,74	12907872	62,39
3	Isobutyl alkohol	68045	0,48	74528	0,36
4	Ester kyseliny propionové	56877	0,40	14697	0,07
5	Ethan	13580	0,10	13902	0,07
6	Pentylester kyseliny mravenčí	705098	4,95	527989	2,55
7	Pentanol	2065131	14,51	2240829	10,83
8	Dibutylester kyseliny sírové	268252	1,88	0	0,00
9	Ethylester kyseliny butanové	203107	1,43	179853	0,87
10	Isopentyl acetát (banánový olej)	2154120	15,13	1894704	9,16
11	3-methyl, ethylester kys. pentanové	636932	4,47	556434	2,69
12	Hexylester kyseliny octové	98609	0,69	88228	0,43
13	Ethylester kyseliny oktanové	1287283	9,04	1094313	5,29
14	Ethylester kyseliny dekanové	299834	2,11	356571	1,72
			100,00		100,00

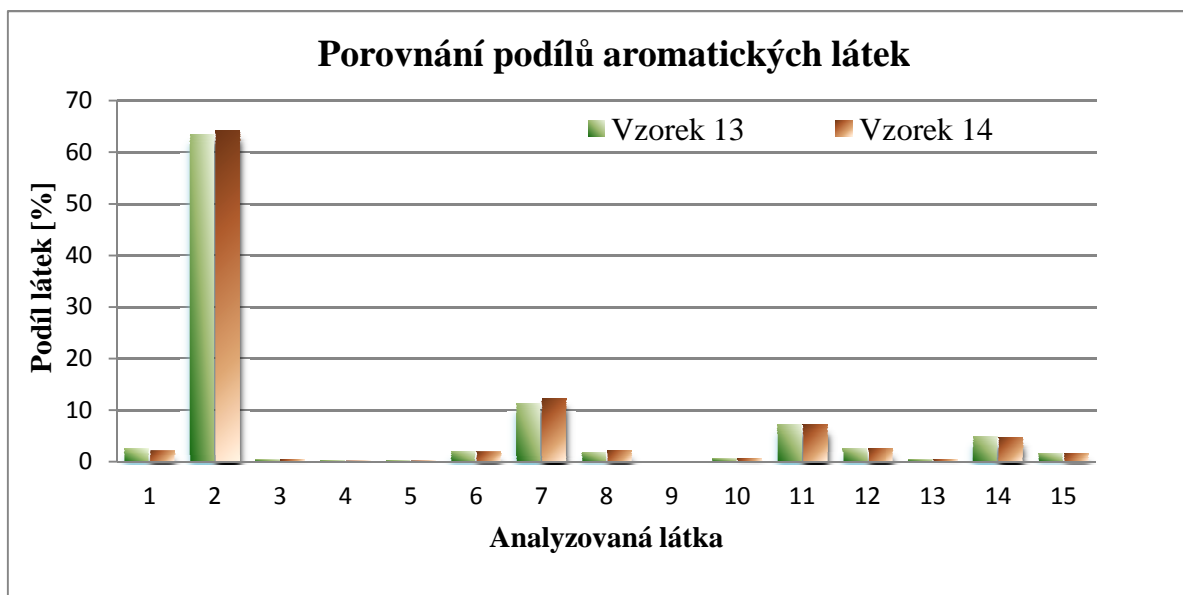


Obr. 19 Aromatické látky ve vzorcích 11 a 12

U vzorků č. 11 a 12 byla analyzována nízká hodnota u všech aromatických látek. Méně „sířená“ vína, kromě látky č.2, která obsahovala větší podíl z celkové analýzy.

Tab. 15 Porovnání vzorku č. 13 a 14

Č. lát-ky	Analyzovaná látka	vzorek 13		vzorek 14	
		Plocha píku	% z plo-chy	Plocha píku	% z plo-chy
1	1-Propanol	665301	2,52	501531	2,03
2	Ethylester kyseliny octové	16786146	63,50	15805310	64,12
3	Isobutyl alkohol	118417	0,45	93641	0,38
4	Ester kyseliny propionové	71366	0,27	24357	0,10
5	Ethan	67888	0,26	30994	0,13
6	Pentylester kyseliny mravenčí	548463	2,07	455443	1,85
7	Pentanol	2984703	11,29	3019792	12,25
8	Dibutylester kyseliny sírové	505131	1,91	527222	2,14
9	Ethylester kyseliny isomáselné	37916	0,14	0	0,00
10	Ethylester kyseliny butanové	176767	0,67	160727	0,65
11	Isopentyl acetát (banánový olej)	1930510	7,30	1760185	7,14
12	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	687116	2,60	620700	2,52
13	Hexylester kyseliny octové	138109	0,52	112140	0,45
14	Ethylester kyseliny oktanové	1283777	4,86	1152307	4,67
15	Ethylester kyseliny dekanové	433487	1,64	386441	1,57
			100,00		100,00

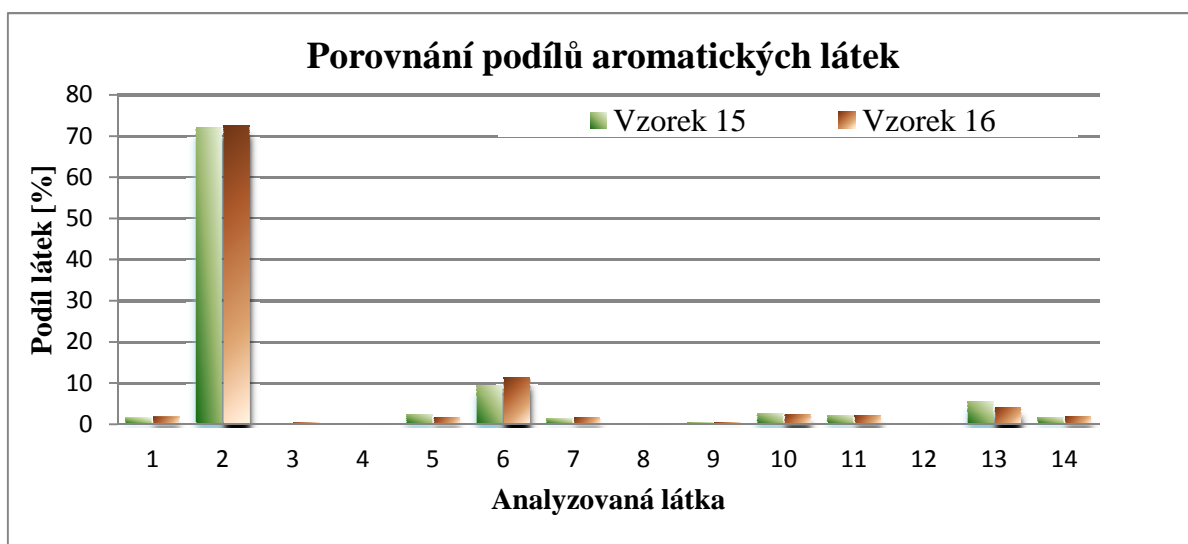


Obr. 20 Aromatické látky ve vzorcích 13 a 14

Velmi vyrovnaný podíl jednotlivých složek byl u těchto porovnávaných vzorků. Více látek nebylo detekováno, byť se jednalo o aromatickou odrůdu Tramín červený. Tato skutečnost byla vyvážena téměř nejvyšším obsahem ethylesteru kyseliny octové.

Tab. 16 Porovnání vzorku č. 15 a 16

Č. lát-ky	Analyzovaná látka	vzorek 15		vzorek 16	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	340774	1,44	398732	1,70
2	Ethylester kyseliny octové	17043467	72,11	17035644	72,42
3	Isobutyl alkohol	64033	0,27	79166	0,34
4	Ester kyseliny propionové	54977	0,23	19147	0,08
5	Pentylester kyseliny mravenčí	592970	2,51	377865	1,61
6	Pentanol	2222568	9,40	2629514	11,18
7	Dibutylester kyseliny sírové	311930	1,32	356598	1,52
8	Ethylester kyseliny isomáselné	0	0,00	38059	0,16
9	Ethylester kyseliny butanové	122524	0,52	118113	0,50
10	Isopentyl acetát (banánový olej)	627500	2,65	566897	2,41
11	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	492706	2,08	467952	1,99
12	Hexylester kyseliny octové	54928	0,23	49677	0,21
13	Ethylester kyseliny oktanové	1304289	5,52	951595	4,05
14	Ethylester kyseliny dekanové	403270	1,71	433031	1,84
			100,00		100,00



Obr. 21 Aromatické látky ve vzorcích 14 a 15

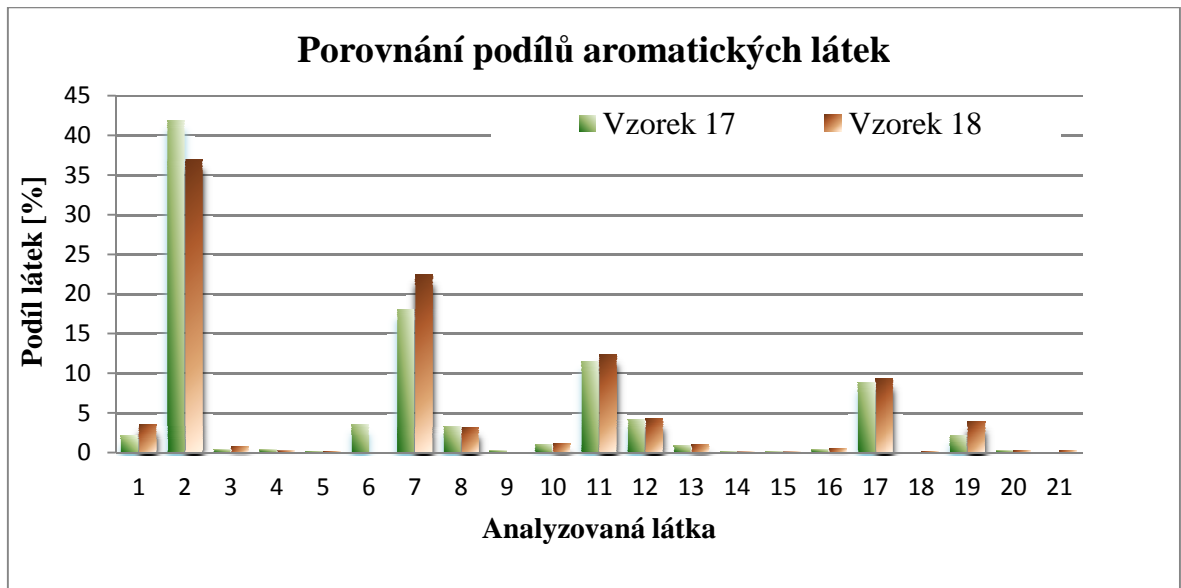
Uvedené vzorky Ryzlinku rýnského patřily mezi vína s nejnižším procentním množstvím pentanolu a obsahovaly druhé nejvyšší množství ethylacetátu. Pokud bychom vycházeli z analytického rozboru, který byl k dispozici, bylo toto množství v přímé korelaci s obsahem kyselin, které bylo v tomto víně nejvyšší z analyzovaných vzorků. Rozdíl v přidávku SO<sub>2</sub> je minimální. Ostatní látky jsou přítomny v minimálních množstvích.

Tab. 17 Porovnání vzorku č. 17 a 18

Č. lát-ky	Analyzovaná látka	vzorek 17		vzorek 18	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	314518	2,07	464083	3,57
2	Ethylester kyseliny octové	6354012	41,88	4797803	36,91
3	Isobutyl alkohol	61650	0,41	99694	0,77
4	Ester kyseliny propionové	57613	0,38	21219	0,16
5	Ethan	22250	0,15	16012	0,12
6	Pentylester kyseliny mravenčí	534487	3,52	0	0,00
7	Pentanol	2734744	18,02	2909853	22,38
8	Dibutylester kyseliny sírové	510256	3,36	412443	3,17
9	Ethylester kyseliny isomáselné	34228	0,23	0	0,00
10	Ethylester kyseliny butanové	164702	1,09	146582	1,13
11	Isopentyl acetát (banánový olej)	1750135	11,53	1600558	12,31
12	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	640533	4,22	546675	4,21
13	Hexylester kyseliny octové	140364	0,93	127553	0,98
14	Limonen	16199	0,11	6041	0,05
15	2-Carene	15935	0,11	5838	0,04
16	Linalool	64329	0,42	66220	0,51
17	Ethylester kyseliny oktanové	1350266	8,90	1202752	9,25
18	Nerol, methylether	11459	0,08	12472	0,10
19	Ethylester kyseliny dekanové	321161	2,12	503772	3,88
20	Linalyl acetát	37195	0,25	25437	0,20
21	$\alpha$ -Terpineol	37240	0,25	34492	0,27
		100,00		100,00	

Z uvedených výsledků se potvrdilo největší zastoupení aromatických látek v těchto vzorcích, protože se jednalo o odrůdu Muškát moravský. Obsah nejvíce zastoupené látky ethylesteru kyseliny octové naopak patřil mezi nižší.

Rozdíl mezi vzorky z hlediska přídatku oxidu siřičitého není jednoznačný.



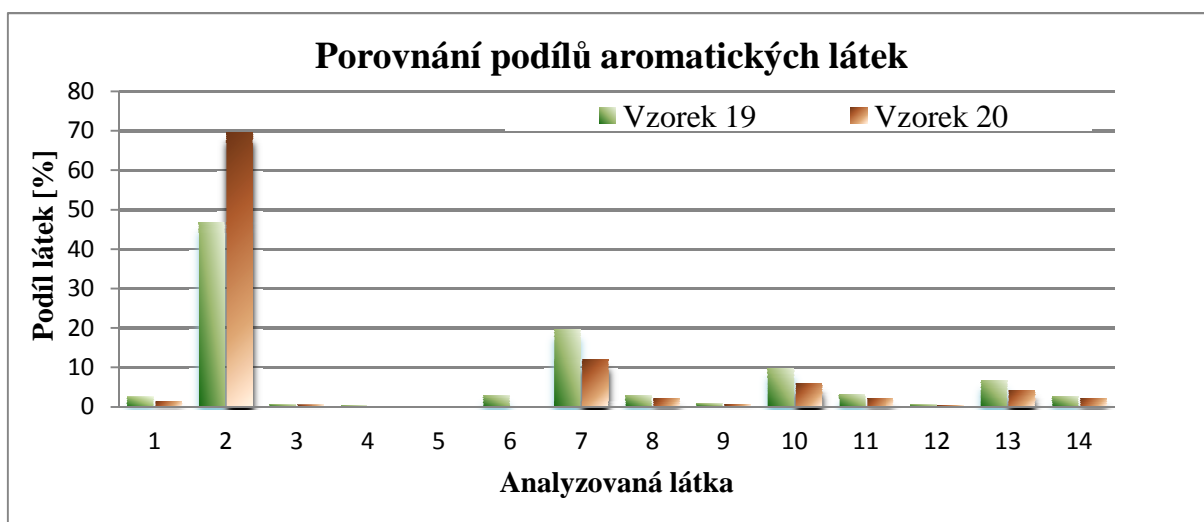
Obr. 22 Aromatické látky ve vzorcích 17 a 18

Na grafickém znázornění bylo vidět, že pouze čtyři látky překročily hranici 5 %, ostatní látky byly ve velmi malých množstvích. Limonen, 2 – Caren, Linalool a  $\alpha$ -Terpineol byly jen ve velmi malých koncentracích, přesto vytvářely krásné charakteristické aroma, typické pro tuto odrůdu.



Tab. 18 Porovnání vzorku č. 19 a 20

Č. lát-ky	Analyzovaná látka	vzorek 19		vzorek 20	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	349683	2,50	364826	1,37
2	Ethylester kyseliny octové	6534870	46,65	18541726	69,50
3	Isobutyl alkohol	99834	0,71	124789	0,47
4	Ester kyseliny propionové	50474	0,36	0	0,00
5	Ethan	20257	0,14	19480	0,07
6	Pentylester kyseliny mravenčí	421157	3,01	0	0,00
7	Pentanol	2753912	19,66	3160750	11,85
8	Dibutylester kyseliny sírové	407277	2,91	528408	1,98
9	Ethylester kyseliny butanové	129279	0,92	140877	0,53
10	Isopentyl acetát (banánový olej)	1375193	9,82	1536605	5,76
11	3-methyl, ethylester kys. Pentanové	452123	3,23	520703	1,95
12	Hexylester kyseliny octové	92316	0,66	105801	0,40
13	Ethylester kyseliny oktanové	940001	6,71	1096065	4,11
14	Ethylester kyseliny dekanové	381627	2,72	537080	2,01
			100,00		100,00

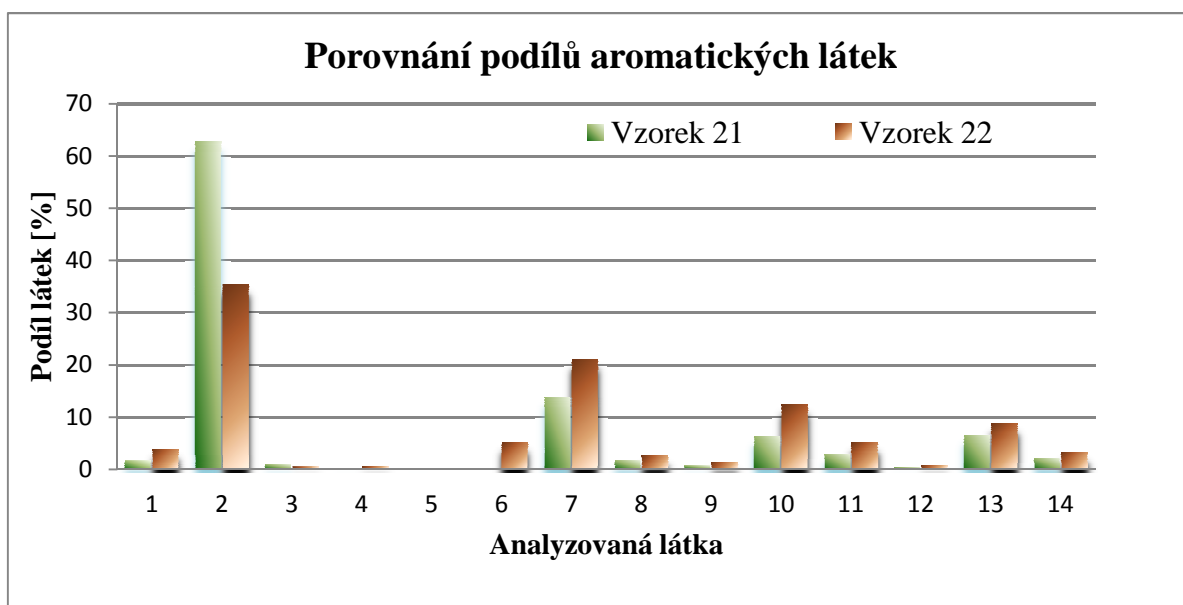


Obr. 23 Aromatické látky ve vzorcích 19 a 20

Mezi vzorky č. 19 a 20 jsme viděli zajímavé rozdíly velikosti „zasíření“, kdy vzorek č. 19 s nižším obsahem  $\text{SO}_2$  vykazoval 46,65 % tj. o jednu třetinu menší hodnoty u ethylesteru kyseliny octové oproti vzorku č.20, který měl 69,50 %. Zcela opačně to bylo u pentylesteru kyseliny mravenčí, kdy ve vzorku č. 19 je 3,01 % a u vzorku č. 20 nebyla tato látka vůbec detekována.

Tab. 19 Porovnání vzorku č. 21 a 22

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 21		vzorek 22	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	396721	1,57	349276	3,77
2	Ethylester kyseliny octové	15826631	62,70	3281064	35,38
3	Isobutyl alkohol	232329	0,92	41082	0,44
4	Ester kyseliny propionové	68751	0,27	52133	0,56
5	Ethan	16564	0,07	0	0,00
6	Pentylester kyseliny mravenčí	0	0,00	472721	5,10
7	Pentanol	3478164	13,78	1949180	21,02
8	Dibutylester kyseliny sírové	427681	1,69	231107	2,49
9	Ethylester kyseliny butanové	169549	0,67	122633	1,32
10	Isopentyl acetát (banánový olej)	1617747	6,41	1142822	12,32
11	3-methyl, ethylester kys. pentanové	723916	2,87	464494	5,01
12	Hexylester kyseliny octové	100674	0,40	68518	0,74
13	Ethylester kyseliny oktanové	1650554	6,54	807293	8,70
14	Ethylester kyseliny dekanové	532219	2,11	291790	3,15
			100,00		100,00

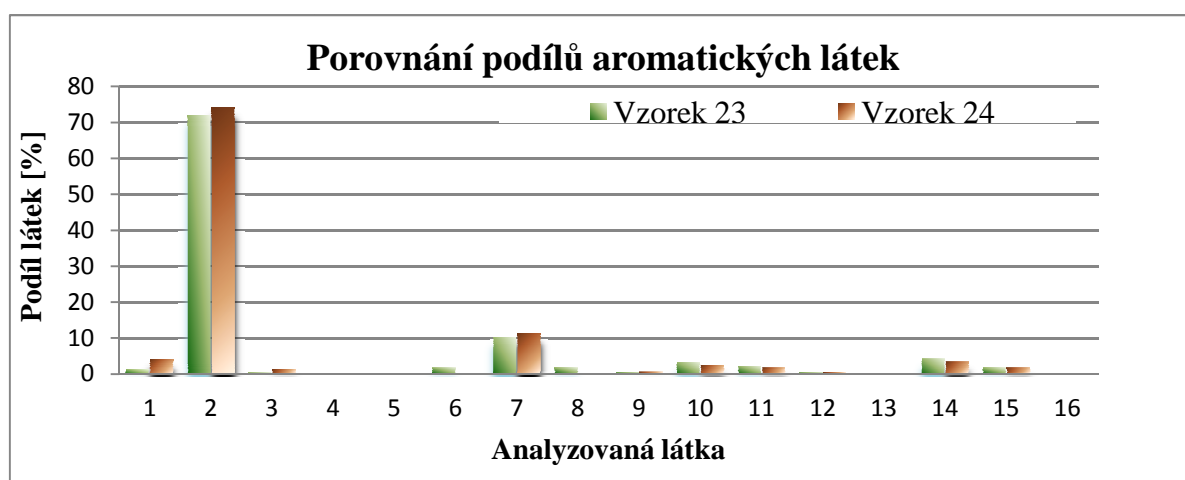


Obr. 24 Aromatické látky ve vzorcích 21 a 20

Vzorky č. 21 a 22 byly charakteristické velkými rozdíly mezi stanovovanými látkami, kdy vzorek č. 21 měl více než dvojnásobnou hodnotu u látky č.2, a zároveň u všech ostatních látek byl poměr opačný. Pentylester kys. mravenčí vzorku č. 21 nebyl vůbec detekován.

Tab. 20 Porovnání vzorku č. 23 a 24

Č. látky	Analyzovaná látka	vzorek 23		vzorek 24	
		Plocha píku	% z plochy	Plocha píku	% z plochy
1	1-Propanol	312071	1,18	676799	4,00
2	Ethylester kyseliny octové	18972787	71,95	12499317	73,96
3	Isobutyl alkohol	90084	0,34	191598	1,13
4	Ester kyseliny propionové	18151	0,07	0	0,00
5	Ethan	31559	0,12	0	0,00
6	Pentylester kyseliny mravenčí	477704	1,81	0	0,00
7	Pentanol	2688780	10,20	1913072	11,32
8	Dibutylester kyseliny sírové	470692	1,78	0	0,00
9	Ethylester kyseliny butanové	147130	0,56	80775	0,48
10	Isopentyl acetát (banánový olej)	850799	3,23	379682	2,25
11	3-methyl, ethyl ester kys. pentanové	594672	2,26	281513	1,67
12	Hexylester kyseliny octové	119736	0,45	56991	0,34
13	Linalool	2947	0,01	0	0,00
14	Ethylester kyseliny oktanové	1126687	4,27	544740	3,22
15	Ethylester kyseliny dekanové	462737	1,75	276619	1,64
16	$\alpha$ -Terpineol	3457	0,01	0	0,00
			100,00		100,00



Obr. 25 Aromatické látky ve vzorcích 23 a 24

Tato analyzovaná vína se lišila od všech ostatních nejvyšším procentem obsahu ethylesteru kyseliny octové s obsahem 73,96 % a zastoupením  $\alpha$ -Terpineolu, který se nachází u aromatických vín, tak jako u vzorku č.17 a 18. Téměř všechny ostatní látky byly ve velmi malých koncentracích.

### 9.10 Vyhodnocení výsledků senzorické analýzy

Pro vyhodnocení na úrovni  $\alpha$  0,05 je požadováno, aby alespoň 13 hodnotitelů rozpoznalo rozdíl. Výsledky zobrazuje následující tabulka (Tab. 21)

Tab. 21 Výsledky senzorického hodnocení

Číslo sady	Čísla vzorků	Počet správných odpovědí	Významný rozdíl
1	1, 2	9	NE
2	3, 4	15	ANO
3	5, 6	8	NE
4	7, 8	12	NE
5	9, 10	11	NE
6	11, 12	10	NE
7	13, 14	11	NE
8	15, 16	9	NE
9	17, 18	9	NE
10	19, 20	12	NE
11	21, 22	8	NE
12	23, 24	18	ANO

Pouze u dvou sad vzorků hodnotitelé rozpoznali rozdíl, kdy správně určili vzorky s vyšším obsahem SO<sub>2</sub>. U sady č. 12 toto zjištění koresponduje s nejvyšším rozdílem obsahu oxidu siřičitého, u sady č. 2, kde není rozdíl v míře přídatku SO<sub>2</sub> podle analytických výsledků významný.

Celkově lze tedy konstatovat, že trojúhelníkový test neidentifikoval rozdíl mezi vzorky.

## ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

Cílem této diplomové práce bylo porovnání odrůdových bílých vín, se zhodnocením vlivu přídavku oxidu siřičitého v nich. Porovnání probíhalo pomocí analytických metod a senzorické analýzy.

Při srovnávání zkoumaných zjištění v jednotlivých párech vín můžeme konstatovat, že při analýze na celkovou antioxidační kapacitu metodou DPPH, byla jednoznačně zjištěna přímá závislost vlivu síření vín před lahvováním. Antioxidační kapacita byla ve všech analyzovaných případech vyšší u vín s nižším přídatkem  $\text{SO}_2$ . Nejlépe z analýzy lze hodnotit vzorek č. 7, Rulandské bílé, z mikulovské vinařské podoblasti. Při hodnocení všech analyzovaných vín jako celku, není celková antioxidační kapacita těchto vín na takové úrovni, která by byla k doporučení jako jediný vhodný prostředek na snížení volných radikálů v organismu člověka. Bílá vína obsahují jen malé množství polyfenolů a celková antioxidační kapacita v porovnání s červenými víny je na nižší úrovni. Důvodem je především krátké ležení rmutů bílých odrůd na slupkách, ve kterých je obsah flavonoidů největší. Červená vína jsou pro tento účel určitě vhodnější.

Množství rozpuštěného kyslíku ve vzorcích bylo v době druhé analýzy již velmi málo. Reakce kyslíku s oxidem siřičitým téměř zcela proběhla, takže velkou redukcí obsahu oxidu siřičitého nelze očekávat. Nelze však vyloučit jeho další pomalé snižování. Vše záleží na podmínkách skladování, mikrooxidaci probíhající přes korkový uzávěr a pokračujících anaerobních procesech.

Senzorickou analýzou nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi jednotlivými porovnávanými vzorky. Tato skutečnost může být dána tím, že hodnocení bylo provedeno po 5 měsících o data lahvování a posuzovaná vína průměrně obsahovala od  $28 \text{ mg.l}^{-1}$  do  $33 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{SO}_2$ , což jsou hodnoty, které nemusí laický posuzovatel, jako tomu bylo v našem případě, vnímat negativně a shledávat ve vínech rozdíly. Správně byla rozeznána pouze dvě, ze všech porovnávaných dvojic vín. Senzorické hodnocení pomocí bodové stupnice za delší časový úsek, by bylo pro tento účel vhodnějším řešením.

Obsah aromatických látek byl téměř ve většině případů na vyšší úrovni, právě při vyšším obsahu  $\text{SO}_2$ . Výjimku tvořil ethylester kyseliny octové, který ve dvou vzorcích dosahoval vyšších hodnot u méně zasířených vín. Množství aromatických látek se u jednotlivých vín mezi sebou detailně neporovnávala, kvůli jejich různorodému charakteru. Jednotlivé aromatické látky se liší dle různorodosti odrůd a vinařských podoblastí.

Pokud bychom provedli komplexní zhodnocení všech provedených analýz a sensorického testu, pak nelze jednoznačně určit, zda snížená dávka přídavku oxidu siřičitého je tím správným hodnotícím kritériem, který by nám měl sloužit pro rozhodování, jaké hodnoty použít a které považovat za nejlepší. Výsledky nebyly analýzou ve vztahu ke stupni zasiřování jednoznačně pozitivní, ale ani negativní. Velmi důležitým aspektem, na který se však nesmí zapomínat, je ještě vliv pH. Jeho sledování a zohlednění je velmi důležitým parametrem v celém procesu výroby. Při vyšším pH je potřeba SO<sub>2</sub> větší.

Na základě uvedených poznatků doporučuji:

- dále zkoumat souvislosti oxidu siřičitého, aromatických látek a sensorického hodnocení, rozšířit na delší časové období, než tomu bylo u této práce,
- oxid siřičitý používat citlivě a v přiměřeném množství,
- dávkování přizpůsobit charakteru vína,
- přizpůsobovat technologii zpracování hroznů a vína, do budoucna přísnějším limitům použití SO<sub>2</sub>
- sledovat dodržování maximálních hodnot obsahu SO<sub>2</sub>

Uvedená doporučení korespondují s poznatky jiných autorů [75].

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] VOGEL, Wolfgang. *Víno z vlastního sklepa: pro začínající i zkušené výrobce domácího vína*. Líbeznice: Víkend, 2010, 134 s. ISBN 978-80-7433-026-1.
- [2] KRAUS, Vilém, Zuzana FOFFOVÁ a Bohumil VURM. *Nová Encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2008, 311 s. ISBN 978-808676709-3
- [3] KADLEC, Pavel et al. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002, 236 s. ISBN 80-708-0510-2
- [4] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů*. 2. aktualizované a rozšířené vydání. Praha: Grada publishing, 2010, 120 s. ISBN 978-80-247-3487-3
- [5] ROP, Otakar a Jan HRABĚ. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009, 129 s. ISBN 978-80-7318-748-4
- [6] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 2., aktualiz. Překlad Jiří Sedlo. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 309 s. ISBN 978-80-903201-9-2.
- [7] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vyd. 1. Překlad Jiří Sedlo. Ostrava: Key Publishing, 2009, 536 s. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-051-4.
- [8] PÁTEK, Jaroslav, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Zrození vína: všechno o zpracování hroznů, výrobě vína a jeho zrání*. 2., rozš. vyd. Překlad Jiří Sedlo. Brno: Jota, 2000, 293 s. Jak na to (Jota). ISBN 80-721-7101-1.
- [9] FIALKOVÁ, Božena, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Enologie a odborná degustace: všechno o zpracování hroznů, výrobě vína a jeho zrání*. 3. vyd. Překlad Jiří Sedlo. Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8, 2007, 140 s. ISBN 978-80-86578-70-5.
- [10] KOVÁČ, Josef a kol.: *Spracovanie hrozna*. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 404 s. ISBN 80-07-00313-4
- [11] MUSIL, Stanislav a Josef MENŠÍK. *Vinařství*. 3. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1970, 439 s. ISBN 07-030-70.
- [12] KUTTELVAŠER, Zdeněk. *Abeceda vína*. 2. vyd. Praha: Radix, 2003, 279 s. ISBN 80-860-3143-8.
- [13] KRAUS, Vilém a Jiří KOPEČEK. *Setkání s vínem*. 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Radix, 2005, 143 s. ISBN 80-860-3167-5.

- [14] ANONYM. *Složení hroznů* [online]. [cit. 2013-02-17]. Dostupné z: <http://www.wineofczechrepublic.cz/r-4-3-1-28-degustace-vina-cz.html>
- [15] KRAUS, Vilém, Vítězslav HUBÁČEK a Petr ACKERMANN. *Rukověť vinaře*. 3. vyd. Praha: Brázda, 2010, 267 s., [12] s. barev. obr. příl. ISBN 978-80-209-0378-5.
- [16] KRAUS, Vilém. *Encyklopedie českého a moravského vína*. 1. vyd. Praha: Melantrich, 1997, 224 s. ISBN 80-702-3250-1.
- [17] HUBÁČEK, Vítězslav a Vilém KRAUS. *Hrozny a víno z vinice i zahrady*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1982, 304s. ISBN 07-040-82.
- [18] ANONYM. *Historie vinařství na Moravě* [online]. [cit. 2013-02-18]. Dostupné z: <http://www.wineofczechrepublic.cz/5-3-krajem-vina-cz.html>
- [19] KRAUS, Vilém. *Pěstujeme révu vinnou*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2012, 111 s., [16] s. barev. obr. příl. Česká zahrada. ISBN 978-80-247-3465-1.
- [20] PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2011, 336 s. Česká zahrada. ISBN 978-80-247-3314-2.
- [21] ANONYM. *Technologie výroby bílého vína* [online]. <http://www.svetvina.cz/rubrika.php?rid=38>. [cit. 2013-02-24]. ISSN 1213-7111.
- [22] FURDÍKOVÁ, Katarína, Fedor Malík. Kolobeh síry vo víne, *Chemické listy* 103, 2009, 154-158
- [23] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Oxid šířičitý v enologii*, Rakvice: Vinselekt Michlovský a.s., 2012, 151 s. ISBN 978-80-905319-0-1
- [24] Oxid šířičitý. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2013-02-24]. Dostupné z: [http://cs.wikipedia.org/wiki/Oxid\\_si%C5%99i%C4%8Dit%C3%BD](http://cs.wikipedia.org/wiki/Oxid_si%C5%99i%C4%8Dit%C3%BD)
- [25] HENDERSON, Pat. PRACTICAL WINERY & VINEYARD JOURNAL. *Sulfur Dioxide Science behind this anti-microbial, anti-oxidant, wine additive* [online]. San Rafael: Wine Communications Group, January/February 2009 [cit. 2013-02-24]. Dostupné z: <http://www.practicalwinery.com/janfeb09/page1.htm>
- [26] FARKAŠ, Ján. *Technológia a biochémia vína*, Bratislava : ALFA, 1973, 773 s.
- [27] FUGELSANG, C. Kenneth a Charles G. EDWARDS. *Wine microbiology*. 2nd ed. /. New York, NY: Springer, 2007, 393 s. ISBN 978-0-387-33341-0.



- [28] NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) Č.607/2009: ze dne 14. července 2009. *Úřední věstník Evropské komise* [online]. 24.7.2009 [cit. 2013-02-26]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:193:0060:0139:CS:PDF>
- [29] SULFUR DIOXIDE IN WINE. In: EISENMAN, Lum. *Winemaking* [online]. 2004 [cit. 2013-02-26]. Dostupné z: <http://www.gencowinemakers.com/docs/Sulfur%20Dioxide.pdf>
- [30] MOLECULAR SO<sub>2</sub>. In: [online]. Walla: ETS Laboratories, 2011 [cit. 2013-02-26]. Dostupné z: <http://www.etslabs.com/assets/PTB006-Molecular%20SO2.pdf>
- [31] JACOBSON, Jean L. *Introduction to wine laboratory practices and procedures*. New York, N.Y.: Springer, 2006, 375 s., 2 p. of plates. ISBN 03-872-4377-1.
- [32] SMITH, Jim. *Technology of reduced additive foods*. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Science, 2004, 221 s. ISBN 06-320-5532-4.
- [33] The Ripper Titration : Recent Improvements in Measuring SO<sub>2</sub>. In: SPORTSMAN, Richard. *Vinmetrica* [online]. 2012 [cit. 2013-02-26]. Dostupné z: <http://vinmetrica.com/the-ripper-titration-recent-improvements-in-measuring-so2/>
- [34] BUECHSENSTEIN J.W., J.W. a C.S. OUGH. SO<sub>2</sub> determination by aeration-oxidation : a comparison with Ripper. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1978, 29(3).
- [35] SARUDI, I., E. VARGA-CSERESNYÉS, Zs. CSAPÓ-KISS a A. SZABÓ. *Elimination of Disturbing Effect Caused by Sulphur Dioxide for Sulphur Derermination in Wines by ICP-OES*. *Analytical Letters*. Taylor & Francis Ltd, 2001/02//, roč. 34, č. 3, s. 449. ISSN 00032719.
- [36] GOMES, M. Teresa, Teresa A. ROCHA, Armando C. DUARTE a João P. OLIVEIRA. *Determination of Sulfur Dioxide in Wine Using a Quartz Crystal Microbalance*. *Analytical Chemistry*. American Chemical Society, 1996/05/01, roč. 68, č. 9, s. 1561-1564. ISSN 00032700.
- [37] MONRO, Tanya M., Rachel L. MOORE, Mai-Chi NGUYEN, Heike EBENDORFF-HEIDPRIEM, George K. SKOUROUMOUNIS, Gordon M. ELSEY a Dennis K. TAYLOR. *Sensing Free Sulfur Dioxide in Wine*. *Sensors (14248220)*. MDPI Publishing, 2012/08//, roč. 12, č. 8, s. 10759-10773. ISSN 14248220.
- [38] VOHLÍDAL, Jiří. *Chemické a analytické tabulky*. 1. vyd. Praha: Grada, 1999, 647 s. ISBN 80-716-9855-5.

- [39] LAHO, Ladislav, Erich, MINÁRIK. *Vinárstvo: chémia, mikrobiológia a analytika vína*. 1. vyd. Bratislava, 1970. 426s.
- [40] MALÍK, Fedor. *Dobré víno*. Bratislava : Polygrafia SAV, 1994. 326 s. :. ISBN 80-88780-00-4
- [41] VÍNO & STYL: *Nová pravidla pro výrobu "biovína" schválena*. Praha: Omega Publishing Group, 2012, č. 48. ISSN 1801-0881.
- [42] FARKAŠ, Ján. *Technologie a biochemie vína*. 2.vyd. Praha: Nakladatelství technické literatury (SNTL), 1980. 872 s..
- [43] DRDÁK, Milan. *Základy potravinárskych technológií: spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 1996, 511 s. ISBN 80-967-0641-1.
- [44] STEIDL, Robert a Wolfgang RENNER. *Moderní příprava červeného vína*. 2. vyd. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006, 72 s. ISBN 80-903-2017-1.
- [45] DOHNAL, Tomáš. *Pěstování révy a využití hroznů*. 2., upr. vyd. Praha, 1972, 252s.
- [46] BALÍK, Josef. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 2., nezměn. vyd. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004, 96 s. ISBN 80-715-7809-6.
- [47] EDER, Reinhard. *Vady vína*. Vyd. 1. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006, 263 s. ISBN 80-903-2016-3.
- [48] NAŘÍZENÍ KOMISE (EHS) č. 2676/90 ze dne 17. září 1990, kterým se stanoví metody Společenství používané pro rozbor vín (Úř. věst. L 272/1, 3.10.1990, 192s.), Dostupný také z : <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:03:10:31990R2676:CS:PDF>
- [49] ANONYM. *Aspirační metoda na stanovení volného a celkového SO<sub>2</sub>* [online]. [cit. 2013-02-24]. <http://www.oenogala.cz/sindex.php?menu=&idvyrb=40&akc=detail>.
- [50] ANONYM. *Filtrace a lahvování* [online]. [cit. 2013-02-24]. <http://www.ekovin.cz/sekce-ekologicke-produkce/filtrace-a-lahvovani>.
- [51] RANKINE, Bryce Crossley. *Making good wine*, Sydney:Pan Macmillan Australia Pty limited, 2004. ISBN 1-4050-3601-X
- [52] OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*. Paris: O.I.V, 2006. 2012: Volume 1.

- [53] ANONYM. *Molecular SO<sub>2</sub>* [online]. [cit. 2013-02-24]. <http://vinoenology.com/calculators/SO2-addition/>.
- [54] PELANT, Ivan et al. *Fyzikální praktikum III. Optika*. Vyd. 3., přeprac. a dopl. Praha: Matfyzpress, 2005. 272 s. ISBN 80-86732-67-3.
- [55] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.
- [56] FOSS. *WineScan™: All-in-one wine analysis including free and total SO<sub>2</sub>*. Hilleroed, Denmark, 2011, 8 s.
- [57] R-BIOPHARM. *Food & Feed Analysis: Enzytec™ Color SO<sub>2</sub>-Total*. Darmstadt, Germany, 2012, 4 s. Dostupné z: <http://www.r-biopharm.com/rbiopharmnews/pdf/RBN%20IV-2012%20engl.pdf>
- [58] *Kvasný průmysl: odborný časopis pro výrobu nápojů a biochemické technologie*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha ve spolup. se Sahn, s. r. o, 2007, roč. 53, 11-12. ISSN 0023-5830.
- [59] KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE UK V PRAZE. *Průtoková injekční analýza se spektrofotometrickou detekcí* [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://web.natur.cuni.cz/analchem/pprakt/fia.pdf>
- [60] *LAMBDA 25, 35, 45*, Návod k použití [online]. [cit. 2013-04-14]. [http://www2.fisica.unlp.edu.ar/materias/experimentoscuanticosI/TP\\_Cianinas/PerkinElmer\\_Lambda25\\_manual\\_EN.pdf](http://www2.fisica.unlp.edu.ar/materias/experimentoscuanticosI/TP_Cianinas/PerkinElmer_Lambda25_manual_EN.pdf)
- [61] *Journal of pharmacological and toxicological methods* [online]. New York, NY: Elsevier Science [cit. 2013-04-02]. ISSN 1873-488X. Dostupné z: [http://sfx.jib.cz/sfxlcl3?url\\_ver=Z39.88-2004&ctx\\_ver=Z39.88-2004&ctx\\_enc=info:ofi/enc:UTF-8&rfr\\_id=info:sid/sfxit.com:opac\\_856&url\\_ctx\\_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&sfx.ignore\\_date\\_threshold=1&rft.object\\_id=954925596549&svc\\_val\\_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch\\_svc&](http://sfx.jib.cz/sfxlcl3?url_ver=Z39.88-2004&ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&rfr_id=info:sid/sfxit.com:opac_856&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&sfx.ignore_date_threshold=1&rft.object_id=954925596549&svc_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:sch_svc&).
- [62] POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSKÁ a Helena VALENTOVÁ. *Sensorická analýza potravin*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1998, 95 s. ISBN 80-708-0329-0.
- [63] Analyzátor kyslíku 3650 Micro Logger, uživatelská příručka, Denwel 1998, 44 s.

- [64] Vinařství a výroba nealko nápojů [online]. [cit. 2013-04-04] Dostupný z : <http://www.vscht.cz/kch/download/sylaby/vinarstvi.pdf>
- [65] STÁVEK, Jan. Aroma vína a sloučeniny síry, *Vinařský obzor*, Velké Bílovice : Svaz vinařů České republiky, 2002, roč.95. č.6, s. 130 ISSN :1212-7884.
- [66] KRAUS, Vilém, Zdeněk KUTTELVAŠER a Bohumil VURM. *Encyklopedie českého a moravského vína*. 1. vyd. Praha: Melantrich, 1997, 224 s. ISBN 80-702-3250-1.
- [67] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin II*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [68] KRÍŽ, Oldřich, František BUŇKA a Jan HRABĚ. *Senzorická analýza potravin II.: statistické metody*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007, 127 s. ISBN 978-80-7318-494-0
- [69] FARKAŠ, Ján.: *Biotechnológia vína*. 2. přeprac. vyd. Bratislava: Alfa, 1983. 978 s.
- [70] Ethylacetát. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2013-04-28]. Dostupné z: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e5/Ethyl-acetate-3D-balls.png>
- [71] STÁVEK, Jan. Filtrace – důležitý fenomén nejen pro čistotu a stabilitu vína, *Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod vínem*, Velké Bílovice : Svaz vinařů České republiky, 2012, roč.105. č.2, s. 130 ISSN :1212-7884.
- [72] RIBÉREAU-GAYON, Pascal. *Handbook of enology: The Microbiology of Wine and Vinifications* . New York: Wiley, c2000, 2 v. *Traité d'oenologie*, v. 1. ISBN 04719736372.
- [73] RIBÉREAU-GAYON, Pascal. *The chemistry of wine stabilization and treatments*. New York: Wiley, c2000, 404 p. *Traité d'oenologie*, v. 2. ISBN 0 471 97363 7.
- [74] BS ISO 4120:2004. *Sensory analysis - Methodology - Triangle test*. London : British Standards Institution, 2004. 22 s.
- [75] VALÁŠEK, Pavel.: nepublikované sdělení, UTB Fakulta technologická, dne 2.5.2013

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

°KMW	Stupně Klosterneuburského moštoměru
°NM	Stupně normalizovaného moštoměru
ADP	Adenosindifosfát
ATP	Adenosintrifosfát
BOK	Biologické odbourávání kyselin
CO <sub>2</sub>	Oxid uhličitý
ČNM	Český normalizovaný moštoměr
DPPH	1,1.-difenyl-2-pikrylhydrazyl
FIA	Průtoková injekční analýza
FPD	Plamenově fotometrický detektor
FTIR	Fourierova Transformace Infračervené Spektroskopie
GC	Plynová chromatografie
H <sub>2</sub> S	Sirovodík
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
HS	Head space – prostor nad hladinou tekutého vzorku
HSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Hydrogensířičitan
MS	Hmotnostní spektrometrie
NAD <sup>+</sup>	Nikotinamid adenin dinukleotid – oxidovaná forma
NADH	Nikotinamid adenin dinukleotid – redukováná forma
NAM	N-(9-akridinyl)-maleimid
O.I.V.	Mezinárodní organizace pro révu a víno
p.a.	Pro analýzu
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidon
SO <sub>2</sub>	Oxid siřičitý
SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Siřičitan
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce

TAC	Celková antioxidační kapacita
UV	ultrafialové záření
VIS	záření v oblasti viditelného spektra

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. 1 Schéma výroby přírodních vín [7]</i> .....	14
<i>Obr. 2 Popis hroznu [13]</i> .....	16
<i>Obr. 3 Schéma etanolové fermentace [46]</i> .....	20
<i>Obr. 4 Závislost forem SO<sub>2</sub> na pH [31]</i> .....	28
<i>Obr. 5 Rozdělení SO<sub>2</sub> ve víně [42]</i> .....	30
<i>Obr. 6 Ethylacetát [70]</i> .....	36
<i>Obr. 7 Detekce bodu ekvivalence bílého vína A-B a</i> .....	38
<i>Obr. 8 Schéma tradičního</i> .....	41
<i>Obr. 9 Schéma základního zapojení průtokové injekční analýzy[59]</i> .....	42
<i>Obr. 10 Úbytek SO<sub>2</sub> po 150 dnech</i> .....	57
<i>Obr. 11 Grafické porovnání spotřeby O<sub>2</sub></i> .....	58
<i>Obr. 12 Kalibrační křivka</i> .....	59
<i>Obr. 13 Znáznornění rozdílů obsahu TAC</i> .....	61
<i>Obr. 14 Aromatické látky ve vzorcích 1 a 2</i> .....	63
<i>Obr. 15 Aromatické látky ve vzorcích 3 a 4</i> .....	64
<i>Obr. 16 Aromatické látky ve vzorcích 5 a 6</i> .....	65
<i>Obr. 17 Aromatické látky ve vzorcích 7 a 8</i> .....	66
<i>Obr. 18 Aromatické látky ve vzorcích 9 a 10</i> .....	67
<i>Obr. 19 Aromatické látky ve vzorcích 11 a 12</i> .....	68
<i>Obr. 20 Aromatické látky ve vzorcích 13 a 14</i> .....	69
<i>Obr. 21 Aromatické látky ve vzorcích 14 a 15</i> .....	70
<i>Obr. 22 Aromatické látky ve vzorcích 17 a 18</i> .....	72
<i>Obr. 23 Aromatické látky ve vzorcích 19 a 20</i> .....	73
<i>Obr. 24 Aromatické látky ve vzorcích 21 a 20</i> .....	74
<i>Obr. 25 Aromatické látky ve vzorcích 23 a 24</i> .....	75

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1</i> Přepočet hodnoty molekulárního $SO_2$ ve vztahu k pH [4] .....	29
<i>Tab. 2</i> Popis analyzovaných vín .....	46
<i>Tab. 3</i> Podmínky analýzy aromatických látek ve víně plynovou chromatografií .....	54
<i>Tab. 4</i> Porovnání obsahu $SO_2$ ve víně .....	56
<i>Tab. 5</i> Obsah kyslíku v lahvi ve vzorcích s nižší a vyšší $SO_2$ .....	57
<i>Tab. 6</i> Standard pro stanovení kalibrační křivky .....	59
<i>Tab. 7</i> Výsledky analýz a výpočtů na TAC .....	60
<i>Tab. 8</i> Průměrné retenční časy stanovovaných látek .....	62
<i>Tab. 9</i> Porovnání vzorku č. 1 a 2 .....	63
<i>Tab. 10</i> Porovnání vzorku č. 3 a 4 .....	64
<i>Tab. 11</i> Porovnání vzorku č. 5 a 6 .....	65
<i>Tab. 12</i> Porovnání vzorku č. 7 a 8 .....	66
<i>Tab. 13</i> Porovnání vzorku č. 9 a 10 .....	67
<i>Tab. 14</i> Porovnání vzorku č. 11 a 12 .....	68
<i>Tab. 15</i> Porovnání vzorku č. 13 a 14 .....	69
<i>Tab. 16</i> Porovnání vzorku č. 15 a 16 .....	70
<i>Tab. 17</i> Porovnání vzorku č. 17 a 18 .....	71
<i>Tab. 18</i> Porovnání vzorku č. 19 a 20 .....	73
<i>Tab. 19</i> Porovnání vzorku č. 21 a 22 .....	74
<i>Tab. 20</i> Porovnání vzorku č. 23 a 24 .....	75
<i>Tab. 21</i> Výsledky senzoričkého hodnocení .....	76



**SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha P I	Stanovení SO <sub>2</sub> titrací odměrným roztokem jód
Příloha P II	Stanovení SO <sub>2</sub> destilační metodou
Příloha P III	Metoda OIV-MA-AS323-04B
Příloha P IV	Degustační lístek pro trojúhelníkovou zkoušku
Příloha P V	Ukázka chromatogramu z analýzy na plynovém chromatografu
Příloha P V	analyzátor kyslíku se samplerem, schéma analýzy O <sub>2</sub>
Příloha P VII	Přístroj Perkin Elmer LAMBDA 25, funkční schéma přístroje
Příloha P VIII	měřicí sestava – GC-MS s autosamplerem

## PŘÍLOHA P I: STANOVENÍ SO<sub>2</sub> TITRACÍ ODMĚRNÝM ROZTOKEM JÓDU [46]

### a) Stanovení volného oxidu siřičitého

Titrační stanovení volného oxidu siřičitého se provádí v konické baňce o objemu 250 ml. Do takto připravené titrační nádoby se odměří pipetou 50 ml testovaného vína. Následně se rychle přidá 10 ml roztoku 16% kyseliny sírové a 5 ml roztoku škrobu (škrobový maz 0,5%). Hned započne titrace odměrným roztokem jódu 0,02 mol.l<sup>-1</sup>. Titrace probíhá za stálého krouživého pohybu, až po bod ekvivalence, který je charakteristický modrým zbarvením. Toto zbarvení vydrží 30 sekund (spotřeba a<sub>1</sub>).

### b) Stanovení veškerého oxidu siřičitého

Stanovení veškerého oxidu siřičitého se provádí v konické baňce o objemu 250 ml. Do takto připravené titrační nádoby se odměří pipetou 25 ml 1 mol . l<sup>-1</sup> roztoku NaOH a 50 ml testovaného vína. Po 15 minutách se přidá 15 ml roztoku 16% kyseliny sírové a 5 ml roztoku škrobu (škrobový maz 0,5%). Hned započne titrace odměrným roztokem jódu 0,02 mol.l<sup>-1</sup>. Titrace probíhá za stálého krouživého pohybu až do modrého zbarvení, které vydrží 30 sekund (spotřeba a<sub>2</sub>). [46]

### c) Stanovení vázaného oxidu siřičitého

Stanovení vázaného oxidu siřičitého vypočítáme z rozdílu naměřených hodnot veškerého SO<sub>2</sub> a volného SO<sub>2</sub>.

### Vyhodnocení

- $x_{1,2} = a_{1,2} \cdot f \cdot 12,8$
- $x_3 = x_2 - x_1$
- $x_1 = \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  volného oxidu siřičitého vyjádřené v celých číslech
- $x_2 = \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  veškerého oxidu siřičitého vyjádřené v celých číslech
- $x_3 = \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  vázaného oxidu siřičitého vyjádřené v celých číslech
- $a_{1,2}$  = spotřeba 0,02 mol . l<sup>-1</sup> roztoku jódu pro volný nebo veškerý oxid siřičitý
- $f$  = faktor 0,02 mol . l<sup>-1</sup> roztoku jódu
- 12,8 = kolik mg oxidu siřičitého se vyváže na 1 ml spotřebovaného roztoku jódu



Opakovatelnost metody

Koncentrace  $\text{SO}_2$  do  $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ :  $r = 1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

Koncentrace  $\text{SO}_2$  nad  $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ :  $r = 6 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

Reprodukovatelnost metody

Koncentrace  $\text{SO}_2$  do  $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ :  $R = 9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

Koncentrace  $\text{SO}_2$  nad  $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ :  $R = 15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$



# PŘÍLOHA P III: METODA OIV-MA-AS323-04B

## COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS - OIV Sulfur dioxide

---

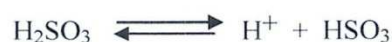
Method OIV-MA-AS323-04B

Type IV method

### Sulfur dioxide (Resolution Oeno 377/2009)

#### 1. Definitions

Free sulfur dioxide is defined as the sulfur dioxide present in the must or wine in the following forms:  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{HSO}_3^-$ , whose equilibrium as a function of pH and temperature is:



$\text{H}_2\text{SO}_3$  represents molecular sulfur dioxide.

Total sulfur dioxide is defined as the total of all the various forms of sulfur dioxide present in the wine, either in the free state or combined with their constituents.

#### 2. Free and Total Sulfur Dioxide

##### 2.1 Principle

Free sulfur dioxide is determined by direct titration with iodine. The combined sulfur dioxide is subsequently determined by iodometric titration after alkaline hydrolysis. When added to the free sulfur dioxide, it gives the total sulfur dioxide.

##### 2.2 Rapid Method

###### 2.2.1 Reagents

2.2.1.1 EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid, *di*-sodium salt

2.2.1.2 4 M Sodium hydroxide solution (160 g/L).

2.2.1.3 Dilute sulfuric acid: 10% sulfuric acid ( $\rho_{20} = 1.84$  g/mL) diluted 10% (v/v).

2.2.1.4 Starch solution, 5 g/L.

Mix 5 g starch with approx. 500 mL water. Bring to a boil stirring continuously and keep boiling for 10 minutes. Add 200 g of sodium chloride. Cool and make to 1 liter.

2.2.1.5 0.025 M Iodine solution

###### 2.2.2 Free sulfur dioxide

Place in a 500 mL conical flask place:

- 50 mL of wine
- 5 mL starch solution
- 30 mg EDTA
- 3 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$

**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS - OIV**  
**Sulfur dioxide**

---

Immediately titrate with 0.025 M iodine, until the blue color persists clearly for 10 to 15 seconds. Let  $n$  mL be the volume of iodine used.

*2.2.3 Combined sulfur dioxide*

Add 8 mL of 4 M sodium hydroxide solution, shake the mixture once and allow to stand for 5 minutes. Add, with vigorous stirring and in one operation, the contents of a small beaker in which 10 mL of sulfuric acid have been placed. Titrate immediately with the 0.025 M iodine solution; let  $n'$  be the volume used.

Add 20 mL of sodium hydroxide solution, shake once and allow to stand for 5 minutes. Dilute with 200 mL of ice-cold water.

Add, while stirring vigorously and in one operation, the contents of a test tube in which 30 mL sulfuric acid has previously been placed. Titrate the free sulfur dioxide immediately with the 0.025 M iodine, and let  $n''$  be the volume of iodine used.

*2.2.4 Expression of the results*

*2.2.4.1 Calculation*

Free sulfur dioxide in milligrams per liter is given by:

$$32 \cdot n$$

Total sulfur dioxide in milligrams per liter is given by:

$$32 (n + n' + n'')$$

*Remarks:*

1. For red wines with low SO<sub>2</sub> concentrations, the 0.025 M iodine may be diluted (for example: 0.01 M). In this case, replace the coefficient 32 by 12.8 in the above formula.
2. For red wines, it is useful to illuminate the wine from below with a beam of yellow light from an ordinary electric light bulb shining through a solution of potassium chromate or from a sodium vapor lamp. The determination should be carried out in a dark room and the transparency of the wine observed: it becomes opaque when the starch endpoint is reached.
3. If the quantity of sulfur dioxide found is close to or exceeds the legal limit, the total sulfur dioxide should be determined with the reference method.
4. If the determination of free sulfur dioxide is specifically required, carry out a determination on a sample kept under anaerobic conditions for two days at 20 °C before analysis. Carry out the determination at 20 °C.
5. Because certain substances are oxidized by iodine in an acid medium, the quantity of iodine used in this way must be assessed for more accurate determinations. To achieve this, combine the free sulfur dioxide in an



**COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS - OIV**  
**Sulfur dioxide**

---

excess of ethanal or propanal before beginning the titration with iodine. Place 50 mL of wine into a 300 mL conical flask, add 5 mL of 7 g/L ethanol solution or 5 mL of a 10 g/L propanal solution.

Stopper the flask and allow to stand for at least 30 minutes. Add 3 mL of sulfuric acid and sufficient iodine, 0.025 M, to cause the starch to change color. Let  $n'''$  mL be the volume of iodine used. This must be subtracted from  $n$  (free sulfur dioxide), and from  $n + n' + n''$  (total sulfur dioxide).

$n'''$  is generally small, from 0.2 to 0.3 mL of 0.025 M iodine. If ascorbic acid has been added to the wine,  $n'''$  will be much higher and it is possible, at least approximately, to measure the amount of this substance from the value of  $n'''$  given that 1 mL of 0.025 M iodine will oxidize 4.4 mg ascorbic acid. By determining  $n'''$ , it is possible to detect quite easily the presence of residual ascorbic acid in amounts greater than 20 mg/L, in wines to which it has been added.

**BIBLIOGRAPHY**

*Rapid method:*

RIPPER M., *J. Prakt. Chem.*, 1892, **46**, 428.

JAULMES, P., DIEUZEIDE J.-C., *Ann. Fals. Fraudes*, 1954, **46**, 9; *Bull. O.I.V.*, 1953, **26**, n° 274, 52.

KIELHOFER E., AUMANN H., *Mitt. Klosterneuburg, Rebe u. Wein*, 1957, **7**, 289.

JAULMES P., HAMELLE M<sup>me</sup> G., *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 1961, **54**, 338

# PŘÍLOHA P IV : DEGUSTAČNÍ LÍSTEK PRO TROJÚHELNÍKOVOU ZKOUŠKU

## Trojúhelníková zkouška

Hodnotitel :

Datum :

Č. vzorku :

Cíl testu : Nalezení rozdílů mezi dvěma vzorky vína

Úkol : V předepsaném pořadí dostanete tři vzorky vína. Určete, které dva vzorky jsou shodné, a který vzorek se odlišuje. Odlišný vzorek označte křížkem.

1.....

2.....

3.....

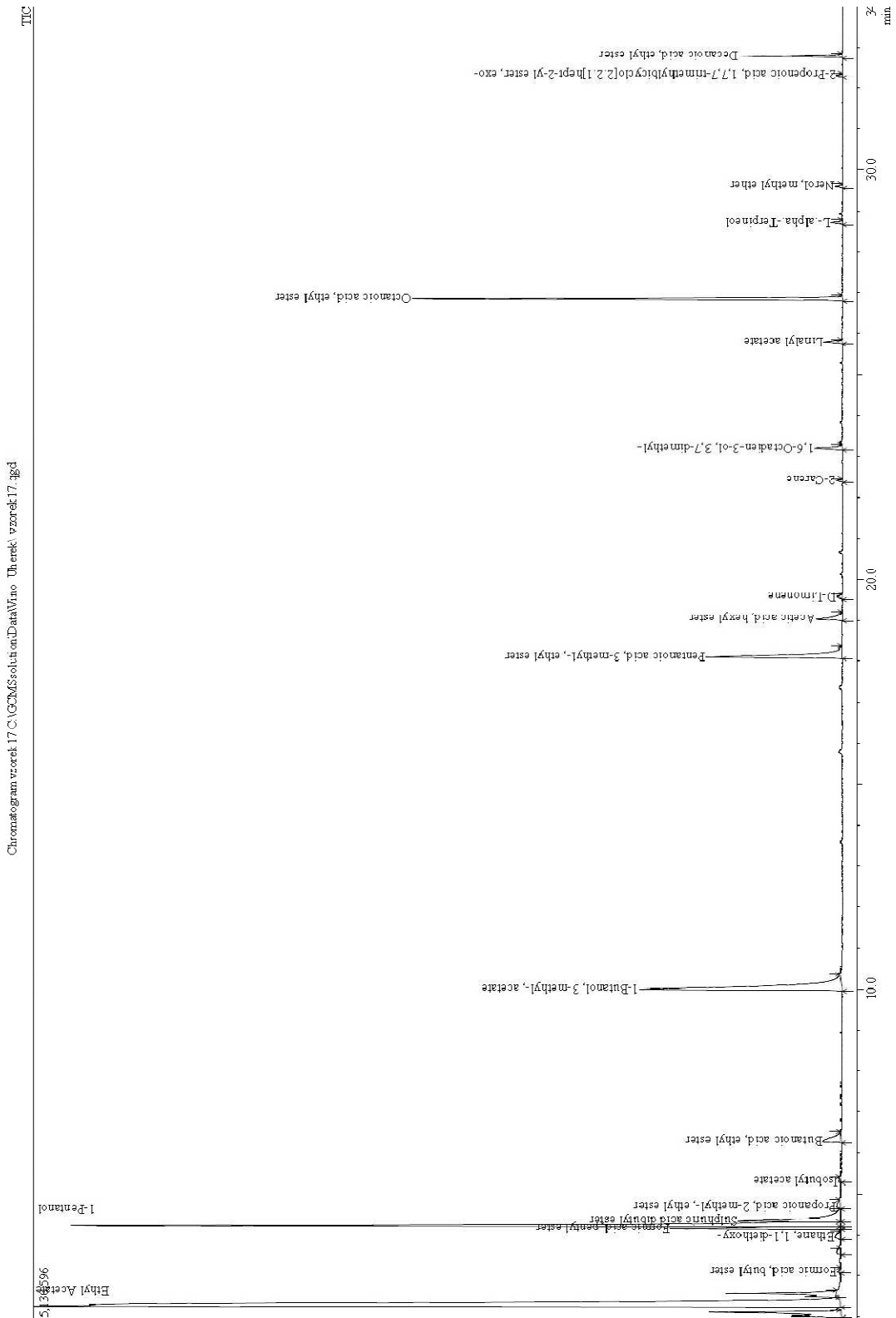
.....

podpis

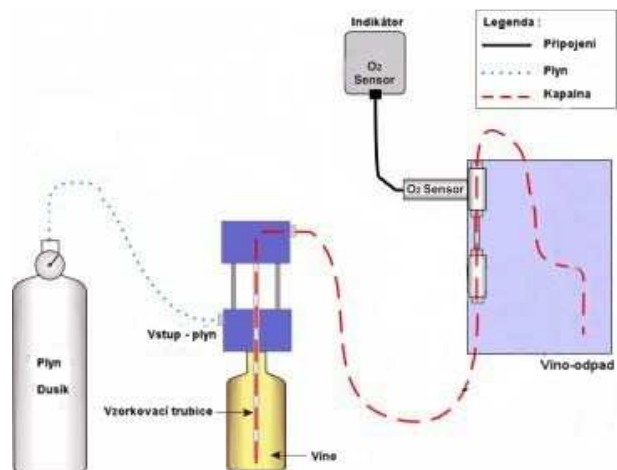


# PŘÍLOHA P V : UKÁZKA CHROMATOGRAMU Z ANALÝZY NA PLYNOVÉHO CHROMATOGRAFU

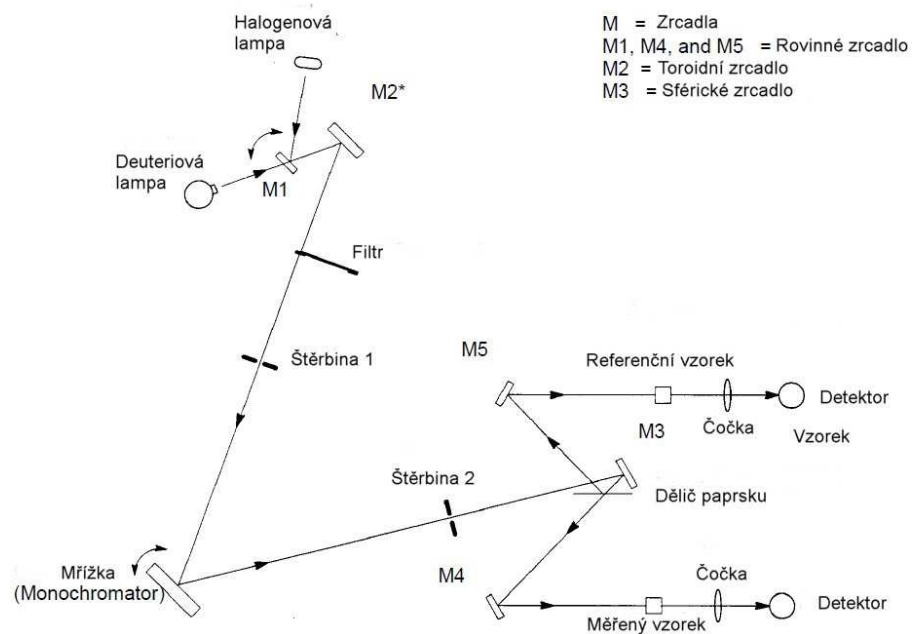
Vzorek č. 17 – Muškát moravský – nižší SO<sub>2</sub>



## PŘÍLOHA P VI : ANALYZÁTOR KYSLÍKU SE SAMPLEREM, SCHEMA ANALÝZY O<sub>2</sub>



# PŘÍLOHA P VII : PŘÍSTROJ PERKIN ELMER LAMBDA 25, FUNKČNÍ SCHÉMA PŘÍSTROJE



**PŘÍLOHA P VIII : MĚŘÍCÍ SESTAVA – CG-MS S  
AUTOSAMPLEREM**



*Obr. 13 Měřicí sestava – CG, CGMS, autosampler*