

Oxid siřičitý v technologických postupech přípravy vína

Katarína Anetová

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Katarína ANETOVÁ**
Osobní číslo: **T10799**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Oxid siřičitý v technologických postupech přípravy vína.**

Zásady pro vypracování:

1. Charakterizujte síru a zlúčeniny síry z hľadiska ich vlastností a chemickej štruktúry.
2. Popíšte použitie oxidu siričitého v technologických postupoch prípravy vína.
3. Popíšte pôsobenie oxidu siričitého na ľudský organizmus.
4. Zistite účinok a možnosť obmedzenia siričitanov vo víne.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. STEIDL, Robert. Sklepní hospodářství. V českém jazyce vyd. 2., aktualiz. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 309 s. ISBN 978-80-903201-9-2
2. MICHLOVSKÝ, M. Oxid siřičitý v enologii. Vyd. 1. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2012, 151 s. ISBN 978-80-905319-0-1
3. KAMENÍČEK, J. Anorganická chemie. 4. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009, 316 s. ISBN 978-80-244-2387-6
4. MINÁRIK, E. Chémia a mikrobiológia vína. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1986, 547 s.
5. SANTOS, M.; NUNES, C.; SARAIVA, J.; COIMBRA, M. Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations. European Food Research and Technology. 2012, roč. 234, č. 1, s. 1-12. ISSN 1438-2377, DOI: 10.1007/s00217-011-1614-6
6. Fic, V. Wine Waste Investigation Europe, Brno, 2011

Vedoucí bakalářské práce:

prof. Ing. Vlastimil Fic, DrSc.

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

17. května 2013

Ve Zlíně dne 11. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Aučtová Katarína Obor: Technologie a řízení v gastronomii

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 ¹⁾;
- 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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ 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 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít 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 16. 5. 2013

Aučtová Katarína

²¹ 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.

²² 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).

³¹ 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 výdělků jím dosažených 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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Předmětem bakalářské práce je použití oxidu siřičitého v technologických postupech přípravy vína. Popisuje formy a vlastnosti oxidu siřičitého v enologii. Zaměřuje se na působení oxidu siřičitého na jednotlivé složky vína, které ovlivňují jeho kvalitu. Důraz je kladen na snížení a omezení oxidu siřičitého při vinifikaci. V neposlední řadě se zabývá vlivem oxidu siřičitého a alkoholu na zdraví konzumenta.

Klíčová slova: oxid siřičitý, víno, omezení SO₂, zdraví

ABSTRACT

The thesis focuses on the use of sulfur dioxide in the Technology of wine. Describes the forms and properties of sulfur dioxide in oenology. Focuses on the effect of sulfur dioxide to the individual constituents of the wine, that affect its quality. The emphasis is on the reduction and limitation of sulfur dioxide in winemaking. Finally, it addresses the impact of carbon dioxide and alcohol on the health of the consumer.

Keywords: sulfur dioxide, wine, limitations of sulfur dioxide, health

Chcela by som sa úprimne poďakovať vedúcemu mojej bakalárskej práce pánovi prof. Ing. Vlastimilovi Ficovi, DrSc., ktorý mi dával cenné rady a pripomienky, a tým ma usmerňoval pri písaní tejto práce. Rovnako sa chcem poďakovať pánu prof. RNDr. Vlastimilovi Kubáňovi, DrSc., ktorý mi ochotne pomohol pri konzultácii k danej problematike.

„Dobré víno tvorí dobrú náladu, dobrá nálada prináša dobré myšlienky, dobré myšlienky dávajú vznik dobrým skutkom a dobré skutky robia človeka človekom.“

Stará múdrosť

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

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| ÚVOD | 10 |
| I TEORETICKÁ ČASŤ | 11 |
| 1 CHARAKTERISTIKA SÍRY A ZLÚČENINY SÍRY | 12 |
| 1.1 SÍRA Z HĽADISKA CHÉMIE..... | 12 |
| 1.1.1 Vlastnosti, výroba a použitie síry | 12 |
| 1.1.2 Síra a jej zlúčeniny | 13 |
| 1.2 AKTÍVNY SO ₂ | 14 |
| 1.2.1 Účinky aktívneho SO ₂ | 16 |
| 1.3 VOĽNÝ SO ₂ | 17 |
| 1.4 VIAZANÝ SO ₂ | 17 |
| 1.4.1 Väzby SO ₂ s acetaldehydom | 17 |
| 1.4.2 Väzby SO ₂ s farebnými látkami | 18 |
| 1.4.3 Väzby SO ₂ s cukrami | 18 |
| 2 POUŽITIE OXIDU SÍRIČITÉHO V ENOLÓGIÍ | 20 |
| 2.1 PREDPISY PRE POUŽITIE SO ₂ | 20 |
| 2.2 POUŽITIE SO ₂ DO MUŠTOV A VÍN..... | 21 |
| 2.2.1 Vplyv kyslíka na dávky SO ₂ | 22 |
| 2.3 PÔSOBENIE SO ₂ NA KVASINKY | 23 |
| 2.3.1 Kvasinky a vitamíny..... | 24 |
| 2.4 FORMY POUŽITIA SO ₂ VO VÍNE | 25 |
| 2.4.1 Sírne rezy..... | 25 |
| 2.4.2 K ₂ S ₂ O ₅ alebo Na ₂ S ₂ O ₅ | 26 |
| 2.4.3 Kvapalný roztok SO ₂ 40 % | 26 |
| 2.4.4 Skvapalnený SO ₂ pod tlakom..... | 27 |
| 2.5 ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI SÍRY VO VÍNE | 27 |
| 2.5.1 Vznik sulfánu | 28 |
| 2.5.2 Odstránenie sulfánu..... | 28 |
| 2.5.3 Tioly a ďalšie sírne látky..... | 29 |
| 2.6 ANTIOXIDAČNÉ ÚČINKY | 31 |
| 2.6.1 Kyselina L-askorbová..... | 31 |
| 2.6.2 Celková antioxidačná kapacita (CAK)..... | 32 |
| 2.7 REDUKTÍVNA METÓDA VÝROBY VÍNA..... | 33 |
| 2.7.1 Použitie inertných plynov..... | 33 |
| 2.7.2 Použitie redukujúcich látok..... | 34 |
| 2.8 OXIDATÍVNA METÓDA VÝROBY VÍNA | 34 |
| 2.8.1 Makrooxidácia..... | 35 |
| 2.8.2 Mikrooxidácia | 35 |
| 2.9 METÓDY STANOVENIA SO ₂ | 35 |
| 2.9.1 Optimalizovaná Monier-Williams metóda (voľný SO ₂)..... | 35 |
| 2.9.2 Destilačné stanovenie celkového SO ₂ | 36 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 2.9.3 | Stanovenie voľného SO ₂ jodometricky | 36 |
| 2.9.4 | Stanovenie celkového SO ₂ jodometricky | 37 |
| 2.9.5 | Chromatografické metódy | 37 |
| 3 | PÔSOBENIE OXIDU SIRIČITÉHO NA ĽUDSKÝ ORGANIZMUS..... | 38 |
| 3.1 | VDYCHOVANÝ SO ₂ | 39 |
| 3.2 | ÚČINKY PITIA VÍNA NA ZDRAVIE..... | 39 |
| 4 | MOŽNOSTI OBMEDZENIE SIRIČITANOV VO VÍNE | 41 |
| 4.1 | KYSELINA SORBOVÁ..... | 41 |
| 4.2 | DIMETYLDIKARBONÁT (DMDC) | 41 |
| 4.3 | LYSOZYM | 42 |
| | ZÁVER | 43 |
| | ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY | 44 |
| | ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK..... | 48 |
| | ZOZNAM OBRÁZKOV | 49 |
| | ZOZNAM TABULIEK | 50 |

ÚVOD

Oxid siričitý má široké uplatnenie v potravinárskom priemysle, kde sa používa pri výrobe sušeného ovocia, ovocných a zeleninových nápojov a pri výrobe vína. Oxid siričitý je potravinárske aditívum označované pod kódom E 220.

Použitie oxidu siričitého v enológii je považované za nevyhnutné vzhľadom k jeho priaznivým účinkom. Jeho účinnosť spočíva v antioxidačných, konzervačných a dezinfekčných vlastnostiach. Význam oxidu siričitého začína už vo vinohrade, kedy sa môže aplikovať na zozbierané hrozňá, čím sa znižuje ich oxidácia. K jeho prednostiam patrí mikrobiologická stabilita, ktorá sa uplatňuje predovšetkým v priebehu alkoholovej fermentácie. Vo vzťahu k látkam pridaným, ale aj prirodzene sa vyskytujúcim vo víne, je ovplyvnený jeho synergický účinok.

Vo vinárstve sa oxid siričitý používa v rôznych formách, ktoré sa aplikujú v jednotlivých technologických postupoch. Sú popísané a rozobrané jednotlivé formy SO_2 s možnosťou ich správneho využitia. Dôležité sú dávky oxidu siričitého, ktoré môžu pozitívne, ale aj negatívne ovplyvniť organoleptické vlastnosti vína a jeho kvalitu. Jednou z nežiaducich sírnych zlúčenín je sulfán, ktorý spôsobuje nepríjemné aróma vo víne a tým víno znehodnocuje.

Práca popisuje laboratórne stanovenia SO_2 , ktoré je neodmysliteľnou súčasťou moderných vinárstiev. Význam stanovenia SO_2 spočíva nielen v správnom riadení jeho koncentrácie počas vinifikácie, ale aj k dodržaniu stanoveného maximálneho limitu.

V súvislosti so zdravím nepredstavuje oxid siričitý vážne zdravotné riziko. Náchylní na SO_2 sú predovšetkým astmatici a alergici, u ktorých sa po konzumácii alebo vdýchnutí môžu prejaviť nepríjemné symptómy. Väčšie riziko predstavuje nadmerná konzumácia alkoholu ako takého.

V súčasnej dobe cieľom vinárstiev a svetových organizácii je prijať nové technologické opatrenia, ktoré majú viesť k obmedzeniu použitia oxidu siričitého v enológii. Jednou z možností ako dosiahnuť zníženie je zamerať sa na biologickú hodnotu a zvýšiť celkovú antioxidačnú kapacitu už pri vstupe hrozna do technologických procesov.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA SÍRY A ZLÚČENINY SÍRY

1.1 Síra z hľadiska chémie

Síra ${}_{16}\text{S}$ (sulfur) patrí do 6.A hlavnej skupiny periodickej sústavy chemických prvkov. Prvky tejto skupiny často zahrnujeme pod spoločný názov chalkogény, t. j. rudotvorné prvky. Zaradenie síry do 6.A hlavnej skupiny vyplýva zo šesťelektrónovej konfigurácie valenčnej vrstvy ich atómov $(ns)^2(np_x)^2(np_y)^1(np_z)^1$ [1]. Dosiahnutie elektrónovej konfigurácie vzácneho plynu Ar prijatím dvoch elektrónov, tzn. tvorbou aniónov S^{2-} je náročné a stretávame sa s nimi len v prípade sulfidov tých najelektropozitívnejších kovov s nízkou ionizačnou energiou (alkalické kovy). Dôvodom je nízka elektronegativita síry (len 2,4) a záporná hodnota elektrónovej afinity (pre prechod $\text{S} \rightarrow \text{S}^{2-}$ je -3,4 eV). Preto síra ochotnejšie vytvára kovalentné väzby. Síra má voľné nd-orbitály. Pri vytváraní σ -väzieb môže teda vystupovať až ako šesťväzbová. Pre vytváranie σ -väzieb môže síra použiť p-orbitály, častejšie však hybridné sp^2 , sp^3 , sp^3d , a sp^3d^2 orbitály. Neväzbové orbitály môžu byť obsadené voľným elektrónovým párom. Vedľa σ -väzieb je síra schopná vytvárať aj π_{pd} interakcie so silne elektronegatívnymi prvkami (F, O, Cl) vďaka prítomnosti 3d-vakantných orbitalov. Tieto π -väzby sú zvyčajne delokalizované a prejavujú sa skrátením väzieb väzbových partnerov pod hodnotu súčtu kovalentných polomerov. Hodnota energie väzby S—S je dosť vysoká ($264 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), preto poznáme radu zlúčenín, v ktorých je táto väzba prítomná. Vďaka nízkej elektronegativite síry je veľmi znížená schopnosť väzby S—H tvoriť vodíkové mostíky [3].

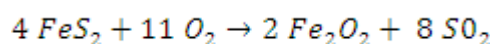
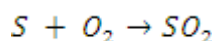
1.1.1 Vlastnosti, výroba a použitie síry

V prírode sa síra nachádza v elementárnej podobe, ďalej viazaná v podobe síranov (sádrovec $\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, baryt BaSO_4 a i.), sulfidov (sfalerit ZnS , galenit PbS , pyrit FeS_2 a i.), v atmosfére je H_2S , SO_2 a ako biogenný prvok je súčasťou esenciálnych aminokyselín (cystin, cystein a methionin). Prírodná síra je zmes štyroch izotopov ${}^{32}\text{S}$, ${}^{33}\text{S}$, ${}^{34}\text{S}$ a ${}^{36}\text{S}$ [3]. Ťaženie síry je buď z povrchových alebo hlbinných ložísk. Relatívne nízka teplota topenia síry sa využíva pri získavaní síry priamo z podzemných ložísk (monoklinická forma má $t_f = 119,6 \text{ }^\circ\text{C}$). Môže sa teda roztápať vháňaním horúcej vody a tlakom prehriatej vodnej pary sondami a vytláčať na povrch teplým tlačným vzduchom. Suchou cestou (pražením) sa vytavuje z hornín obsahujúcich síru sopečného pôvodu. V poslednom čase získava väčší

význam izolácia sulfánu H_2S zo zemného plynu, ktorý ho obsahuje 15 – 20 % a z ropy a dechtov. Elementárna síra sa získa následnou oxidáciou sulfánu, napr. hydratovaným oxidom železitým [2]. Síra je žltá, pevná, vo vode nerozpustná látka, ktorá je zlým vodičom tepla a elektriny. Má väčší počet alotropických modifikácii, ktorý je dôsledkom schopnosti atómov síry vytvárať reťazce [10]. Kryštalickú síru poznáme v dvoch modifikáciách, obsahuje osematómové molekuly S_8 (cyklo-oktasíra) tvaru pravidelne zalomených reťazcov, uzatvorených do kruhu. V závislosti od teploty je dané odlišné usporiadanie molekúl cyklo- S_8 v kryštalovej štruktúre. Ortorombickú kryštalovú modifikáciu (α) vytvára síra do teploty $95,6\text{ }^\circ\text{C}$, ktorá sa pri tejto teplote transformuje na jednoklonnú modifikáciu (β), stálu až do teploty topenia (t.t. = $119,6\text{ }^\circ\text{C}$). Amorfná síra (plastická síra) je nestabilná modifikácia molekuly cyklo- S_8 a vzniká náhlým ochladením jej taveniny (t $\approx 230\text{ }^\circ\text{C}$) vliatím do vody. Rýchlou kondenzáciou pár síry vzniká tzv. sírny kvet. Amorfná síra je metastabilná, postupne sa mení na stálu modifikáciu ortorombickej síry [1].

1.1.2 Síra a jej zlúčeniny

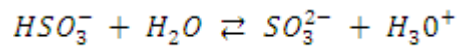
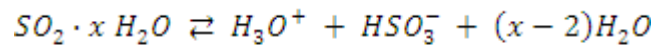
Medzi významné binárne zlúčeniny síry a kyslíka patrí oxid siričitý a oxid sírový. Oxid siričitý SO_2 je bezfarebný, dráždivo páchnuci, dusivý, jedovatý, ľahko skvapalniteľný plyn. Vyrába sa priemyselným spaľovaním síry alebo oxidačným pražením sulfidických rúd, predovšetkým disulfidu železnateho FeS_2 (pyritu) [2].



Obr. 1. Reakcie pri spaľovaní a pražení síry [2]

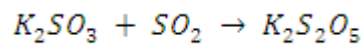
Oxid siričitý má redukčné účinky a v menšej miere oxidačné účinky. Kvapalný je dobrým rozpúšťadlom rôznych organických a anorganických látok. Oxid siričitý sa veľmi dobre rozpúšťa vo vode, pri $20\text{ }^\circ\text{C}$ sa v 1 dm^3 rozpustí $39\text{ dm}^3 SO_2$.

Kyselina siričitá H_2SO_3 je vlastne vodný roztokom SO_2 , v ktorom je hydratovaný oxid siričitý $SO_2 \cdot x H_2O$. Molekuly kyseliny siričitej sú prítomné v malom množstve. Hydratovaný oxid siričitý sa parciálne disociuje, ustáli sa rovnovážny stav. Kyselina siričitá je dvojsýtna kyselina [2].



Obr. 2. Rovnovážný stav SO_2 [2]

Nasýtením koncentrovaných roztokov siričitanov SO_2 , prípadne termickým rozkladom alkalických hydrogensiričitanov, je možné pripraviť disiričitany [3].

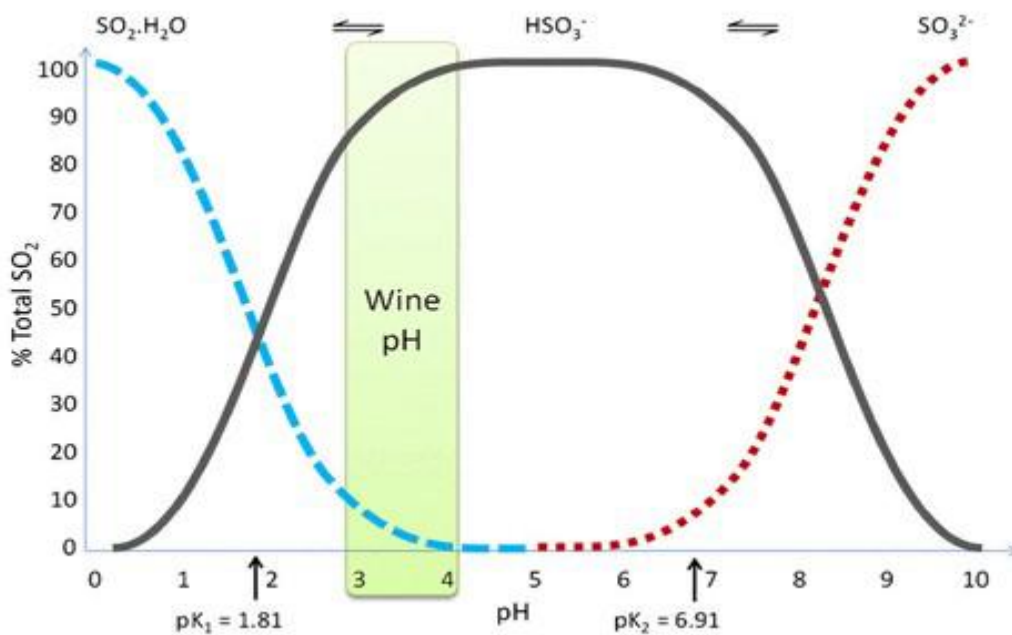


Obr. 3. Reakcia vzniku disiričitanu draselného [3]

Disiričitany majú silné redukčné vlastnosti, pričom sa redukujú na sírany [2].

1.2 Aktívny SO_2

Väčšina účinkov SO_2 sa zvyčajne pripisuje iba koncentrácii voľného SO_2 , avšak sa zistilo, že základ jeho činnosti predovšetkým voči mikroorganizmom je spojená s podielom „molekulárneho SO_2 “ nazývaného „aktívny SO_2 “. Znalosť podielu voľnej kyseliny (alebo aktívneho SO_2) a kyslého siričitanu (HSO_3^-) je veľmi dôležitá vzhľadom k tomu, že podstatou enologických vlastností sú predovšetkým funkcie aktívneho siričitanu [13].



Obr. 4. Forma SO_2 v roztokoch a percentuálne zastúpenie celkového SO_2 na pH, pričom pK_1 a pK_2 je konštanta disociácie reakcie SO_2 znázornenej na Obr. 2. Zvýraznený je optimálny rozsah pH vína [17]

Z praktického hľadiska pre výpočet molekulárneho SO_2 sa používa vzorec, ktorý vyjadruje percento voľného SO_2 prítomného v molekulárnej forme [14].

$$\text{SO}_2 \text{ mol.} = \frac{100}{(10^{\text{pH}-\text{p}K_1} + 1)} \quad (1)$$

Aktivita SO_2 sa zníži približne o 25 % pri každom zvýšení pH o 0,1. S poklesom aktivity súvisí aj pokles obsahu alkoholu a teploty, kedy pri znížení aktivity o 4 % dochádza k zníženiu alkoholu o 1 % obj. Podobne pokles aktivity o 1 % vedie k zníženiu teploty o 1 °C [14].

Tab. 1. Vyjadrenie voľného SO_2 prítomného v molekulárnej forme pri teplote $20\text{ }^\circ\text{C}$ v % [14]

| pH | Alkohol obj. % | | | |
|------|----------------|-------|-------|-------|
| | 10 | 12 | 14 | 16 |
| 2,80 | 13,96 | 15,10 | 16,31 | 17,61 |
| 3,00 | 9,28 | 10,09 | 10,95 | 11,88 |
| 3,20 | 6,06 | 6,61 | 7,20 | 7,84 |
| 3,40 | 3,91 | 4,27 | 4,67 | 5,10 |
| 3,60 | 2,50 | 2,74 | 3,00 | 3,28 |
| 3,80 | 1,59 | 1,74 | 1,91 | 2,09 |
| 4,00 | 1,01 | 1,11 | 1,21 | 1,33 |

1.2.1 Účinky aktívneho SO_2

Molekulárny SO_2 je asi 500-krát účinnejší voči kvasinkám, ako ostatné formy (HSO_3^- , SO_3^{2-}). Vo víne s pH 3,0 – 4,0 sa 94 – 98 % SO_2 vyskytuje vo forme siričitanových (SO_3^{2-}) a hydrogénsiričitanových (HSO_3^-) iónov, a iba malý podiel (2 – 6 %) sa nachádza v molekulárnej forme [15].

Tab. 2. Podiel molekulárneho SO_2 a HSO_3^- v závislosti na pH pri $20\text{ }^\circ\text{C}$ [13]

| Hodnota pH | Molekulárny SO_2 (%) | HSO_3^- (%) |
|------------|-------------------------------|----------------------|
| 3,00 | 6,06 | 93,94 |
| 3,10 | 4,88 | 95,12 |
| 3,20 | 3,91 | 96,09 |
| 3,30 | 3,13 | 96,87 |
| 3,40 | 2,51 | 97,49 |
| 3,50 | 2,00 | 98,00 |
| 3,60 | 1,60 | 98,40 |
| 3,70 | 1,27 | 98,73 |
| 3,80 | 1,01 | 98,99 |
| 3,90 | 0,81 | 99,19 |
| 4,00 | 0,64 | 99,36 |

Boli určené minimálne hodnoty molekulárneho SO_2 vo víne, ktoré chránia pred oxidáciou a pôsobením baktérií. Hodnoty 0,6 až 0,9 mg/l molekulárneho SO_2 majú dobré antioxidačné účinky. 0,8 až 1,3 mg/l molekulárneho SO_2 zaisťujú antibakteriálnu ochranu. 1,5 mg/l molekulárneho SO_2 je dostatočné pre zachovanie čírosti vína so zvyškovým cukrom za predpokladu použitia čistých kvasiniek pre presnú filtráciu. Hodnote 2,5 mg/l je potrebné sa vyvarovať, nakoľko pri tejto dávke je cítiť typický zápach SO_2 [16].

1.3 Voľný SO₂

Oxid siričitý aplikovaný do hroznových rmutov, muštov a vín sa z väčšej časti viaže a len malá časť zostáva vo voľnej forme. Len veľmi malé percento voľnej kyseliny siričitej sa nachádza vo forme nedisociovaných molekúl H₂SO₃. Množstvo nedisociovej kyseliny siričitej v muštoch býva maximálne 1 až 3 mg/l. Nižšia koncentrácia nedisociovej kyseliny siričitej nepôsobí inhibične na kvasinky. Silné inhibičné vlastnosti má len disociovaná kyselina siričitá, ktorá má aj fungicídne vlastnosti. Tieto vlastnosti závisia od hodnoty pH. Je preto pochopiteľné, že množstvo disociovej kyseliny siričitej v substrátoch závisí od koncentrácie voľného a celkového SO₂ [5].

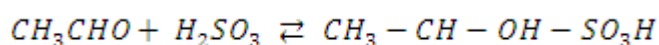
Poňatie voľného a molekulárneho oxidu siričitého je potrebné hodnotiť súčasne vo vzťahu k mikrobiologickej stabilite a ku kapacite absorbovať kyslík. Hladina koncentrácie voľného SO₂ bude regulovaná podľa požadovanej ochrany proti oxidácii, zatiaľ čo koncentrácia molekulárneho SO₂ sa upraví podľa cielených mikroorganizmov, bez toho aby došlo k chuťovým dôsledkom. Ku skutočným problémom patrí nemožnosť regulovať molekulárny SO₂ nezávisle od voľného SO₂. Pokiaľ sa zvýši koncentrácia voľného SO₂ pre jeho antioxidačnú schopnosť, súčasne sa zvyšuje aj koncentrácia molekulárneho SO₂, ktorá spôsobuje nežiaduce organoleptické vlastnosti [13].

1.4 Viazaný SO₂

Oxid siričitý po pridaní do vína je obsiahnutý v rozličných formách. Časť SO₂ zostáva ako voľný a ostatný sa viaže na rôzne látky. Najväčšiu časť vo víne tvorí viazaný SO₂ [5].

1.4.1 Väzby SO₂ s acetaldehydom

Acetaldehyd sa nachádza vo všetkých vínach, a to v množstve 20 až 60 mg/l u červených vín a do 300 mg/l u bielych vín. V muštoch z botrytizovaných hroziem sa vyskytujú koncentrácie acetaldehydu rádovo od 10 mg/l až do 20 mg/l. S acetaldehydom sa viaže 70 až 90 % SO₂, pričom vzniká kyselina acetaldehydsiričitá [5].



Obr. 5. Reakcia vzniku kyseliny acetaldehydsiričitej [5]

Acetaldehyd vo víne pochádza predovšetkým z alkoholovej fermentácie. Je to medziprodukt pri produkcii etanolu z cukrov. Najvyššie koncentrácie sa vyskytujú, keď za prítomnosti voľného SO_2 sú aktívne kvasinky. Tvorba kyseliny acetaldehydsiričitej je ochranným nástrojom kvasiniek proti tomuto antiseptiku. Podiel sírenia rmutu rozhoduje o podiele acetaldehydu a SO_2 , ktorý ho viaže. Voľný acetaldehyd dáva vínu nepríjemnú zvetranú príchuť. Táto príchuť sa vyžaduje len pri špeciálnych vínach sherry, pri odrodových a bežných konzumných vínach sa považuje za nedostatok [5, 13].

Na zvýšenú tvorbu acetaldehydu vo víne má vplyv viacnásobné časté sírenie pred kvasením i v priebehu kvasenia, druhotná fermentácia zvyškového cukru, kvasenie za nízkych teplôt a určitý vplyv má aj použitý druh kvasiniek [18].

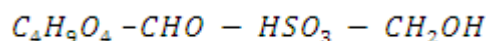
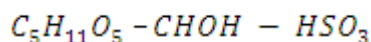
Acetaldehyd sa môže podieľať na vzniku zapáchajúcich acetálov v priebehu prevzdušňovania vína a ovplyvňovať zrenie a stálofarebnosť červených vín. Konkrétne acetaldehyd urýchľuje polymeračné reakcie medzi antokyanínmi a fenolovými zlúčeninami, ktoré vedú ku kondenzačným produktom, ktoré majú vyššiu intenzitu farby a stabilitu [19].

1.4.2 Väzby SO_2 s farebnými látkami

Počas alkoholovej fermentácie SO_2 napomáha extrakcii farbiva zo šupiek hrozna. Pridanie SO_2 do roztoku vína zvýši 5 – 6 % fenolových substancií a tanínov. Oxid siričitý má okrem iného aj rozpúšťajúci účinok. Červené vína pripravené s vyšším obsahom SO_2 , vykazujú spravidla vyššie hladiny antokyanínov počas nakvášania. Rýchlosť extrakcie závisí však od povahy antokyanínov a od odrody viniča. K interakcii medzi farebnými zlúčeninami a v konečnom dôsledku k zmene farby dochádza vďaka reakciám antokyanínov, katechínov a proantokyanidínov za prítomnosti a bez prítomnosti acetaldehydu [20].

1.4.3 Väzby SO_2 s cukrami

SO_2 sa viaže vo víne s cukrami, najmä s glukózou a málo s fruktózou, pričom s glukózou tvorí kyselinu glukózosiričitú a s fruktózou tvorí kyselinu fruktózosiričitú [18].



Obr. 6. Reakcia vzniku kyseliny glukózosiričitej a fruktózosiričitej [18]

Určité množstvo glukózy sa viaže s SO₂ a schopnosť viazať sa s glukózou má len voľný SO₂, pričom 1 g glukózy viaže približne 0,8 mg/l SO₂ pri obsahu 100 mg/l voľného SO₂ a súčasne má veľký vplyv teplota [18].

Tab. 3. Vplyv teploty na formy SO₂ [18]

| Formy SO ₂ [mg/l] | Teplota [°C] | | |
|--------------------------------|--------------|-----|-----|
| | 0 | 15 | 30 |
| Celkový | 412 | 412 | 412 |
| Voľný | 68 | 85 | 100 |
| Viazaný | 344 | 327 | 312 |
| Viazaný s acetaldehydom | 104 | 104 | 104 |
| Viazaný s inými látkami | 240 | 233 | 208 |

Keto-5-fruktóza (5-oxofruktóza), xylozón, kyseliny keto-2-glukonová (2-oxoglukonová) a diketo-2,5-dioxoglukonová môžu v niektorých vínach dosiahnuť niekoľko desiatok miligramov v litre, vzhľadom k ich koncentrácii, ktorá môže mať nezanedbateľnú úlohu pri viazaní sa s SO₂. Na zdravých zrelých hroznách pravdepodobne existujú tieto substancie, ale vo zvýšenej koncentrácii sa tvoria pôsobením *Botrytis cinerea*. K zvýšenej koncentrácii dochádza rovnako aj v dôsledku aktivity octových baktérií (*Acetobacter* a *Gluconobacter*), ktorých rozvoj sprevádzajú veľmi často rôzne formy hniloby. Výraznejšiu afinitu k SO₂ k vyššie uvedeným zlúčeninám nepreukazujú deriváty kyseliny glukonovej, kyseliny 2 a 5-oxoglukonovej. Napriek tomu pri pH muštov a vín pochádzajúcich z botrytických hrozieň je kyselina glukonová v rovnováhe s dvoma laktónmi, γ- a σ-glukonolaktónom, ktoré predstavujú približne 10 % koncentrácie kyseliny. Ich afinita zodpovedá afinite monokarbonylovej zlúčenine. Pri obsahu 50 mg/l voľného SO₂ sú laktóny kyseliny glukonovej schopné viazať až 135 mg/l SO₂ [13].

2 POUŽITIE OXIDU SIRIČITÉHO V ENOLÓGII

Vo vinárstve, ale aj v niektorých potravinárskych odboroch je SO_2 ako aditívum nenahradiateľnou súčasťou výrobných postupov. Negatívny vplyv SO_2 sa však prejavuje len v nadmerných dávkach, preto sú stanovené prísne maximálne limity jeho použitia. Limity sú stanovené nielen v Českej republike, ale vo všetkých krajinách Európskej únie a taktiež vo všetkých krajinách, kde sa vinič hroznorodý pestuje [21].

2.1 Predpisy pre použitie SO_2

Maximálne hodnoty SO_2 stanovuje nariadenie Komisie (ES) č. 606/2009 pre celú EU. Podľa nariadenia Komisie (ES) č. 606/2009 celkový obsah SO_2 vo víne, s výnimkou šumivého a likérového vína, nesmie v okamžiku uvedenia do obehu za účelom priamej ľudskej spotreby prekročiť tieto hodnoty, a to 150 mg/l u červeného vína a 200 mg/l pre biele a ružové víno. Odchýlky nariadenia s maximálnym množstvom použitia celkového obsahu SO_2 sú dané obsahom gramov cukru vyjadreného ako súčet glukózy a fruktózy na liter vína [11].

Tab. 4. Maximálne povolené množstvo SO_2 pri uvádzaní do obehu [4]

| Maximálne povolené množstvo SO_2 v mg/l | | Víno | | Zemské a akostné víno | |
|--|----------------------------|-----------------|---------|-----------------------|---------|
| | | voľný | celkový | voľný | celkový |
| Víno biele, ružové | pod 5 g/l zvyškového cukru | | 200 | 50 | 200 |
| | od 5 g/l zvyškového cukru | | 250 | 50 | 250 |
| Červené víno | pod 5 g/l zvyškového cukru | | 150 | 50 | 150 |
| | od 5 g/l zvyškového cukru | | 200 | 50 | 200 |
| Víno s prívlastkom | pod 5 g/l zvyškového cukru | biele, ružové | | 50 | 200 |
| | | červené | | 50 | 150 |
| | nad 5 g/l zvyškového cukru | neskorý zber | | 50 | 300 |
| | | výber z hroziem | | 60 | 350 |
| | | výber z bobulí | | | |
| | | samotok | | | |
| | | řadové víno | | | |
| slámové víno | | 75 | 400 | | |

Podľa nariadenia Komisie (ES) č. 607/2009 musí byť v členských štátoch na etikete uvedený obsah SO_2 vo víne. V prípade siričitanov sa môžu použiť nasledujúce údaje: „siričitany“ alebo „oxid siričitý“. Povinnosť označenia sa môže doplniť použitím piktogramu [12].



Obr. 7. Piktogram SO_2 [12]

2.2 Použitie SO_2 do muštov a vín

V zásade by mal byť rmut, poprípade aj hrozná sírené, aj keď dochádza k zvyšovaniu výluhu trieslovín. Môže sa tak zabrániť negatívnemu oxidatívne a mikrobiologickému vývoju. Množstvo by malo byť také, aby v mušte bol obsah voľného SO_2 približne 20 – 25 mg/l. Ďalšie sírenie muštu množstvom 10 – 20 g/hl $K_2S_2O_5$ je potrebné iba v prípade dlhšieho státia muštu, veľmi vysokých teplôt pri zbere alebo pri značne nahnitého hrozna [4]. Základné stupne sírenia sú štyri, a to slabé sírenie, stredné sírenie, silné sírenie a veľmi silné sírenie. Stupne sírenia nie sú presne určené a podľa potreby je možné použiť rôzne množstvo SO_2 , avšak musia sa dodržiavať určité zásady. Mušt sa siri na základe zdravotného stavu hrozna, z ktorého je vylisovaný. Slabé sírenie postačí pre mušt zo zdravého hrozna, aby sa podporila činnosť ušľachtilých kvasiniek a zabránilo činnosti oxidáz. Mušty z poškodeného alebo nahnitého hrozna a pod. sa siri stredne až silne. Mušty, ktoré je potrebné odkalovať sa siri silne, a to 50 až 100 mg $SO_2 \cdot l^{-1}$. Toto sírenie sa používa aj pri muštoch, ktoré je potrebné dlhšie prepravovať, aby sa zabránilo skorému kvaseniu. Množstvo síry sa pre vína určuje rozdielne, a predovšetkým od zdravého stavu a veku vína. Mladé vína sa môžu siriť stredne alebo silne a to len do výšky voľného SO_2 vo víne [5].

Tab. 5. Dávky sírenia pre 100 a 1000 l vína alebo muštu [5]

| Spôsoby sírenia | Stupeň sírenia | | | |
|--|----------------|----------------|-------|-----------------|
| | slabé | stredné | silné | veľmi silné |
| Sírnymi rezmi [ks] | | | | |
| Dávka na 100 l | $\frac{1}{3}$ | $\frac{2}{3}$ | 1 | $1\frac{1}{3}$ |
| Dávka na 1000 l | $3\frac{1}{3}$ | $6\frac{2}{3}$ | 10 | $13\frac{1}{3}$ |
| Dávkovač SO ₂ [g] | | | | |
| Dávka na 100 l | 1,7 | 3,3 | 5 | 6,7 |
| Dávka na 1000 l | 17 | 33 | 50 | 67 |
| 5 % vodným roztokom SO ₂ [ml] | | | | |
| Dávka na 100 l | 34 | 66 | 100 | 133 |
| Dávka na 1000 l | 340 | 660 | 1 000 | 1 330 |

2.2.1 Vplyv kyslíka na dávky SO₂

Mušť a víno je roztok, v ktorom sa nachádzajú reverzibilné redoxsystémy, pričom sa jedná o látky v oxidovanej i redukovanej forme. K vzájomným premenám týchto látok dochádza v procese spracovania hrozna, počas etanolového kvasenia muštov, pri dozrievaní a uskladňovaní vín. V praxi sa platinová elektróda nabije v ponorenom víne na určitý potenciál, ktorý závisí od koncentrácie oxidovaných a redukovaných komponentov vína. Spomínaný potenciál, nazývaný redoxný potenciál, sa vypočíta podľa rovnice, ktorej stupnica rH má rozsah od 0 po 42 [6].

$$rH = \frac{E + 57,73 \cdot pH}{28,88} \quad (\text{pri } 20 \text{ } ^\circ\text{C}) \quad (2)$$

pričom $E = E_p + E_k$,

E_p – potenciál platinovej elektródy,

E_k – potenciál kalomelovej elektródy [6].

Počet sírení a ich stupeň je rôzny pri každom víne a určuje sa titráciou, t. j. zisťovaním obsahu voľného a celkového SO₂ a meraním rH. Optimálne rH vo víne je 17 až 19. Keď je rH vyššie ako 19, musí sa víno prisíriť, pri nízkom rH pod 17 sa nemôže víno dobre vyvíjať a zrieť. V takomto prípade je potrebné rH zvýšiť prevzdušením vína. Čím vyššie je rH, tým dochádza k vyššej oxidácii, preto sa musí použiť silnejšie sírenie. Toto pravidlo sa používa len pre vína, pri muštoch je postup iný. Ak má mušť rH 24 a je zo zdravého hrozna, stačí použiť slabé sírenie, pretože kvasením sa hodnota rH podstatne zníži. Zvyšovanie rH je znakom oxidácie a znižovanie rH znakom redukcie [5].

Výška rH má vplyv na rozvoj mikroorganizmov v mušte. Ušľachtilé vínne kvasinky sú schopné vyvíjať sa, rásť a množiť sa aj pri nízkom rH vína, ale apikulátne, octové baktérie a iné nežiaduce mikroorganizmy vyžadujú vyššie rH. Z toho vyplýva, že súčasne s rozvojom mikroorganizmov pri kvasení treba sledovať aj rH muštu a pri jeho zvýšení pridať niektoré redukčné činidlo, ktoré umožní znížiť rH [5].

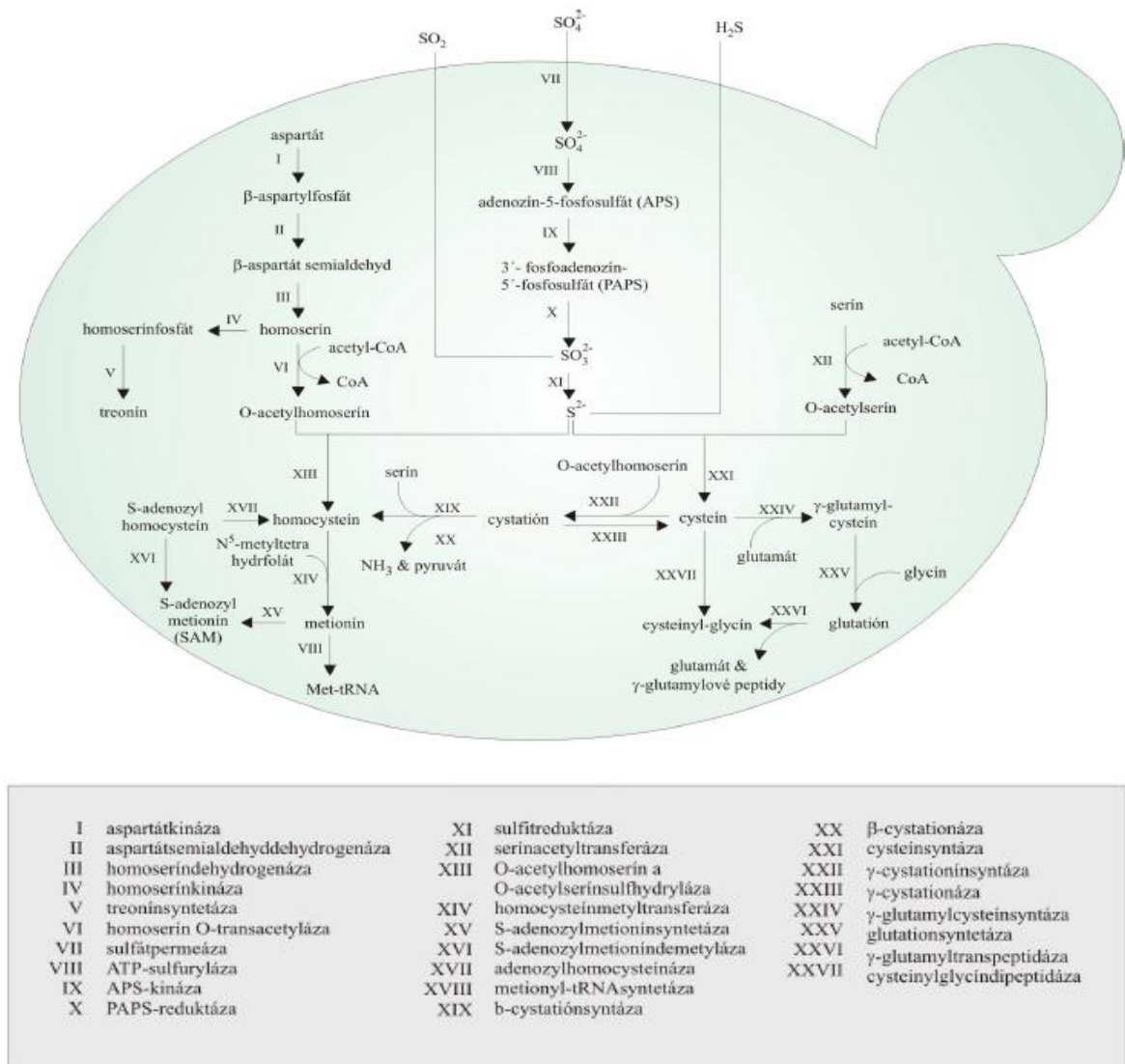
2.3 Pôsobenie SO₂ na kvasinky

Kvasinky predstavujú najvýznamnejšiu skupinu mikroorganizmov vo vinárstve, pretože bez rodu *Saccharomyces* by bola produkcia kvalitných vín nemožná. Okrem rodu *Saccharomyces* existujú ďalšie rody a druhy, ktoré majú v konečnom dôsledku dopad na kvalitu počas vinifikácie, a to jak pozitívny, tak aj negatívny. Napr. kmene *Saccharomyces bayanus* sa zdajú obzvlášť náchylné na produkciu SO₂ počas fermentácie.

Mikroorganizmy potrebujú zdroj síry k syntéze aminokyselín a iných dôležitých metabolitov. Kvasinky potrebujú sírne aminokyseliny, ako sú cystein, metionin, S-adenozylmetionin a glutation pre ich rast a metabolizmus. Pri ich nedostatku vo výžive, si ich musí bunka syntetizovať z anorganických sírnych komponentov. Kvasinky môžu asimilovať buď oxid siričitý (SO₂) alebo síranové ióny (SO₄²⁻), rovnako potrebujú energiu pre transport do bunky. Tieto molekuly sa postupne redukujú prostredníctvom reakcií známych ako redukcia síranov. Ak cytoplazma kvasinky má pH okolo 6, intracelulárny obsah tvorí buď sulfid alebo bisulfid. Sulfidy môžu byť začlenené do organických molekúl obsahujúcich síru, akými sú aminokyseliny methionin a cystein. Sulfid je bezpečne viazaný v týchto aminokyselinách a podieľa sa na vzniku ďalších látok, napríklad proteínov, čo je dôležité pre technológiu výroby vína. Sírny metabolizmus kvasiniek je úzko prepojený s metabolizmom dusíkatých látok, kedy pri dlhodobom nedostatku využiteľného dusíka kvasinky postupne odumierajú a nastáva degradácia proteínov za vzniku sulfánu uvoľneného z aminokyselín. Kvasinky môžu prostredníctvom svojho metabolizmu produkovať SO₂ v množstve 12 až 64 mg/l. Hlavným faktorom ovplyvňujúci biosyntézu SO₂ sú kmene kvasiniek, teplota pri fermentácii a obsah síry v hroznách [7, 8, 13].

SO₂ má veľký vplyv na rast a rozmnožovanie kvasiniek v mušte, ako aj na procesy, ktoré prebiehajú účinkom kyslíka. Priaznivý účinok SO₂ na kvasenie sa vysvetľuje tým, že má schopnosť viazať v roztoku rozpustený labilne viazaný kyslík. Týmto sa brzdí vývoj najmä

apikulátnych kvasiniek a baktérií octového kvasenia, ktoré pre svoju činnosť potrebujú nevyhnutne kyslík [5].



Obr. 8. Sírný metabolizmus vinných kvasiniek [15]

2.3.1 Kvasinky a vitamíny

Vitamíny sú dôležité pre správnu funkciu enzýmových systémov a celkovú aktivitu kvasiniek. Väčšina vitamínov ako inositol, biotín, kyselina listová, kyselina pantoténová je v mušte prítomná v dostatočných koncentráciách. Medzi sírne zlúčeniny patria tiamín (vitamín B₁) a biotín, ktoré sú kritickými rastovými faktormi. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* si dokážu samy syntetizovať tiamín, avšak biotín potrebuje prijímať v hotovej podobe. Nedostatok tiamínu v mušte vedie k zastaveniu fermentácie a rastu kvasiniek. Rast a navýšenie biomasy podporuje prídavok vitamínov do média. Pri dodaní viac než 50 mg/l

SO₂ do muštu by mal byť dodaný tiamín. Pre *S. cerevisiae* je optimálna koncentrácia tiamínu 50-500 µg/l. Vitamín B₁ je do muštu pridávaný vo forme tiamínhydrochloridu, avšak v maximálnej dávke 0,6 mg/l. Určitý podiel kalových častíc v mušte na začiatku kvasenia slúži tiež ako dodávateľ živín a zásobáreň kyslíka pre počiatočné štádia kvasenia [9, 15].

2.4 Formy použitia SO₂ vo víne

2.4.1 Sírne rezy

Sírne rezy obsahujú elementárnu síru a ich spálením vzniká SO₂. Sírne rezy sú zhotovené z podpornej vložky, na ktorej je natavená síra. Vložky sú najčastejšie z azbestu, nakoľko sú nehorľavé a pri spaľovaní síry nedávajú plynu žiadnu príchuť.

Sírne rezy sa používajú k udržiavaniu prázdnych sudov a k nepriamemu síreniu vína. Spálením 1 g síry vzniknú 2 g SO₂, avšak absorpcia závisí na množstve SO₂ v nádobe a na spôsobe vkladania do nádoby. Absorpcia sa pohybuje od 30 % do 70 %. Zistilo sa, že každý liter vína sa nasýti asi 8 mg SO₂, čo zodpovedá len 40 % vzniknutého SO₂. Sírenie sírnymi rezmi je oproti ostatným prípravkom najmenej presné [24, 25].

V praxi sa pri sírení počíta, že spálením 1 g síry v 100 l sude sa 1 l vína nasýti približne 10 mg SO₂ [24].

Spaľovaním sírných rezov sa v pivnici používa tiež pre suchú konzerváciu sudov, síri sa jedenkrát za mesiac v doporučených trojgramových sírných rezoch podľa objemu sudov: do 2 hl – 1 rez, 2-5 hl – 2 rezy a pri 6-12 hl 3-4 rezy. Každý ďalší mesiac by k síreniu mala byť použitá polovičná dávka než v predchádzajúcom mesiaci. Sud sa nemá síriť pokiaľ nie je suchý, nakoľko je riziko vzniku H₂SO₄ v mokrom sude. V mokrom, resp. vlhkom sude sa SO₂ okyslíči na SO₃, ktorý sa viaže na H₂SO₄, tá však nemá konzervačný účinok a pôsobí negatívne. Sud po kyseline sírovej musí byť vylúhovaný roztokom 0,2 % sódy a na týždeň napustený vodou, aby sa odstránili negatívne reziduálne účinky kyseliny vo víne – ostro kyslá a škrabľavá chuť.

Sírne rezy, sviece alebo kusová síra na kameninových miskách môžu byť použité k síreniu pivničných miestností. Asi 1 g síry postačí k zasíreniu 1 m³ priestoru, nakoľko je potrebné pivnicu na druhý deň dôkladne vyvetrať. Sírenie pivničných miestností by malo byť uskutočňované pred zberom a pri manipulácii s vínom, u malovýroby aj jedenkrát za mesiac.

Moderné vínne pivnice vďaka novým materiálom, podlahe, kanalizácii a systému vetrania, sa lepšie udržujú v čistote a nemusia sa siriť [24].

2.4.2 $K_2S_2O_5$ alebo $Na_2S_2O_5$

Disiričitan draselný – $K_2S_2O_5$ (pyrosulfit draselný) je biely prášok, soľ kyseliny disiričitej a má polovičnú účinnosť v porovnaní s SO_2 . Po pridaní $K_2S_2O_5$ do vína nastane reakcia s kyselinou vínnoú, pričom sa uvoľňuje SO_2 a vzniká hydrogenvinán draselný, ktorý sa vylúči ako vínny kameň. Po prídavku teda dochádza k odkysleniu vína. Dávkou 1 g pyrosulfitu draselného vznikne 570 mg SO_2 a z 1 g $Na_2S_2O_5$ vznikne 670 mg SO_2 . Použitím $Na_2S_2O_5$ zabránime vypadávaniu vínneho kameňa. Síriť s pyrosulfitom sodným je možné, na rozdiel od pyrosulfitu draselného, aj pred fľašovaním vína bez rizika vzniku kryštalických zákalov, pretože sodná soľ kyseliny vínnej je vo víne rozpustná a netvorí kryštáliky [24, 25, 26].

Disiričitan draselný sa môže použiť už pri zbere k síreniu hrozna pokiaľ sú napadnuté hnilobou, ale jeho použitie je predovšetkým pre sírenie rmutu. Pre zachovanie buketných látok a zabránenie oxidácii muštu je potrebné včasné sírenie rmutu a muštu [24]. SO_2 vznikne z pyrosulfitu draselného len v kyslom prostredí, nie vo vodnom roztoku, preto jeho použitie je obmedzené len vo víne a mušte. Ku konzervácii prázdnych drevených sudov nie je možné ho použiť bez pridanej kyseliny [4].

$K_2S_2O_5$ sa môže použiť pre mokrú konzerváciu sudov vodným roztokom SO_2 . Na 1 hl roztoku sa použije 100 g $K_2S_2O_5$ a 130 kyseliny vínnej [24].

Istým problémom práškoveho pyrosulfitu draselného pri aplikácii je znižovanie účinnosti starnutím pri pôsobení vzdušného kyslíka [26].

2.4.3 Kvapalný roztok SO_2 40 %

Zloženie a dávkovanie je rôzne a závisí od dodávateľa, bežne je to práškový hydrogensiričitan amónny $(NH_4)HSO_3$, ktorý sa doplní vodou do 100 % , titer v NH_4 je 106 g/l, titer v SO_2 je 400 g/l. Roztok sa použije na hrozná v dávke 15 – 35 g/hl, na víno 5 – 20 g/hl.

Ako kvapalnú SO_2 sa zvyčajne používa 40 % roztok pyrosulfitu, čo odpovedá 20 % čistého SO_2 , ktorý sa používa na hotové víno. Pyrosiričitan amónny sa obvykle používa na sírenie muštov, kedy má funkciu výživy pre následnú fermentáciu vďaka uvoľneným amónnym iónom [24].

2.4.4 Skvapanený SO₂ pod tlakom

Pod tlakom skvapanený SO₂ sa dodáva v oceľových fľašiach rôznych veľkostí. Na oceľovú fľašu sa pevne upevní dávkovacie zariadenie, s ktorým je možné SO₂ dávkovať s veľkou presnosťou. Toto sírenie je veľmi účinné, pretože uskladnením nestráca plynný SO₂ účinnosť. Avšak je potrebné brať do úvahy, že tlak je závislý od teploty, teda pri vyšších teplotách je vyšší tlak. Za nízkych teplôt sa SO₂ mení zo skupenstva kvapalného na plynné [5].

Stlačený SO₂ neobsahuje žiadne prímеси a používa sa na sírenie veľkého množstva vína. Jeho využitie je možné na výrobu konzervačného roztoku pre mokrá konzerváciu sudov, kedy sa dávkuje 50 g SO₂ na 1 hl vody [24].

2.5 Organoleptické vlastnosti síry vo víne

Príznačnú úlohu v aróme vína zohrávajú prchavé sírne zlúčeniny, ktoré sú spojené s ich vysokou prchavosťou, reaktivitou a intenzívnym prejavom aj pri veľmi nízkych koncentráciách. Pre kvalitu vína sú dôležité niektoré zo sírnych zlúčenín, iné spôsobujú silne negatívne zápachy aj pri veľmi nízkych koncentráciách. Na tvorbe a vzniku prchavých sírnych zlúčenín sa podieľajú organické a anorganické sírne zlúčeniny, výživové parametre muštu a metabolizmus kvasiniek. Počas alkoholovej fermentácie sa vytvára kvasinkami *S. cerevisiae* väčšina prchavých sírnych látok nachádzajúcich sa vo víne.

Delenie prchavých sírnych látok podľa prchavosti:

- ľahké s bodom varu pod 90 °C
- ťažké s bodom varu nad 90 °C

S vyzrievaním vína sa koncentrácia ľahkých sírnych zlúčenín zvyšuje. Koncentrácia ťažkých sírnych zlúčenín je nízka a nemení sa s vyzrievaním vína. Koncentráciu ľahkých sírnych zlúčenín je možné z vína odstrániť, oproti tomu z ťažkých to nie je možné. Vznik tzv. „sirky“ je dôsledkom vysokej koncentrácie sírnych zlúčenín vo víne spôsobený metabolickou činnosťou kvasiniek. Na tejto chybe vína sa podieľajú rôzne sírne zlúčeniny – tioly, polysulfidy a sírne alkoholy, pričom majoritné postavenie má sírovodík [15].

2.5.1 Vznik sulfánu

Sulfán alebo „sirka“ patrí vo víne k najrozšírenejším sírnym zlúčeninám. Prah citlivosti vône je 10-80 $\mu\text{g/l}$ a aróma pripomína hnilé vajcia. Sulfán je vysoko reaktívna zlúčenina, ktorá vyvoláva nové sensoricky aktívne látky. Sulfán produkovaný na začiatku alkoholového kvasenia je asociovaný s rastom kvasiniek a typickým nedostatkom výživových faktorov, predovšetkým fosforečnanu amónneho a kyseliny pantoténovej. Príznačné zníženie produkcie H_2S a iných prchavých sírných zlúčenín zabezpečí hladina 60 – 250 mg/l asimilovateľného dusíka a 250 mg/l kyseliny pantoténovej [15].

K príčinám, ktoré podmieňujú vznik sirky je niekoľko. Môže sa jednať o rezidua síru obsahujúce pesticídy, neodkalené mušty, rovnako aj nedostatok kvasinkami asimilovateľný dusík, vysoká fermentačná teplota, či oneskorené stáčanie vína. Možno však vylúčiť s vysokou pravdepodobnosťou vplyv fungicídov obsahujúcich síru.

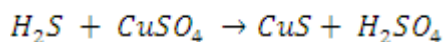
Avšak redukčné spracovanie hrozna s použitím SO_2 a kyseliny L-askorbovej k hroznu pred jeho spracovaním vedie k zníženiu redoxného potenciálu (rH) muštu.

V praxi je známe, že šírenie neodkaleného muštu vedie k vzniku sirky, zatiaľ čo nesírený, neodkalený mušt spravidla sirku nevykazuje. Pri znížení redoxného potenciálu muštu kyselinou L-askorbovou nevedie k vzniku H_2S , ale pri súčasnom ošetrení muštu SO_2 a kyselinou L-askorbovou väčšinou v neodkalenom mušte má synergický účinok na zníženie redoxného potenciálu a sklon k tvorbe H_2S .

K vzniku sirky až do mladého vína môže viesť inokulácia nečíreného či neodkaleného muštu selektovanou kultúrou *S. cerevisiae*. Je pravdepodobné, že je určitá interakcia medzi selektovanými vínnymi kvasinkami a zložkami kvasničných kalov vrátane autochtónnych kvasiniek, preto je potrebné včasné prvé stočenie mladého vína [22].

2.5.2 Odstránenie sulfánu

„Sirka“ vo víne sa ošetruje modrým čírením, a to použitím síranu meďnatého. Meďnaté ióny reagujú s voľnými tiolmi a H_2S a vytvárajú zrazeninu vo forme sulfidov, ktoré sa odfiltrujú [15].



Obr. 9. Reakcia medi so sulfátom [4]

Nakoľko účinnosť reakcie nie je možné presne spočítať, musí sa vychádzať z toho, že po ošetrovaní zostane vo víne isté množstvo medi. Používa sa dávka 0,2 – 1 g/hl síranu meďnatého. Víno pri uvádzaní do obehu nemôže vykazovať viac iónov medi než 1 mg/l.

Síran meďnatý je možné zakúpiť ako pentahydrát ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$). V tejto forme obsahuje 25 % čistej medi a povolené limitné hranice medi vo víne je možné dosiahnuť až od dávky 0,4 g/hl za predpokladu, že víno nebolo v kontakte v medenými armatúrami alebo zariadením.

V praxi sa požadované množstvo $CuSO_4$ presne odváži a rozpustí sa v päťnásobnom množstve vody. Za dôkladného miešania sa roztok vleje priamo do ošetrovaného vína. Víno by malo byť pred ošetrovaním iskerné, pretože kalové častice neumožňujú správne senzorycké víno zhodnotiť. Obsah medi vo víne je potrebné zistiť za jeden až dva týždne po uskutočnenom ošetrovaní. V praxi sa dodržiava obsah medi maximálne do 0,6 mg/l oproti stanovenej limitnej hodnote, pretože vyšší obsah môže viesť k zákalom. Čírenie hexakyanoželeznatým draselným $K_4[Fe(CN)_6]$ je možné len za prítomnosti železa v dávke aspoň 2 – 3 mg/l [4].

2.5.3 Tioly a ďalšie sírne látky

Tioly (merkaptány) patria do jednej z najdôležitejších skupín aromatických látok vo víne. Prekurzorom tiolov je sulfán a tioly vznikajú metabolizmom kvasiniek. Napríklad reakciou sulfánu s etanolom alebo acetaldehydom vzniká etántiol. Aróma merkaptánov závisí od koncentrácie a typu zlúčeniny, kedy sa môžu vytvárať zápachajúce alebo príjemné vône. Tiofén-2-tiol má dymovú arómu, pri nízkych koncentráciách vytvára arómu čerstvo pomletej kávy, vo vyšších zápacha po spálenej gume. K najbežnejším merkaptánom vyskytujúcich sa vo víne sú metántiol a etántiol. Zápach hnijúcej vody je typický pre metántiol a zápach surovej cibule zas pre etántiol.

Merkaptány pri nízkych koncentráciách môžu tvoriť tzv. odrodový charakter hrozna. Napríklad za odrodový charakter Sauvignon Blanc zodpovedá 4-merkaptó-4-metyl-pentán-2-

on (4MMP), na aróme rizlingov sa podieľa 3-merkaptohexylacetát (3MHA). V prípade 3-merkaptohexanolu sú vône po čiernych ríbezliach, grapefruitu alebo granátovom jablku.

Polysulfidy sú ďalšími prchavými sírnymi látkami vo víne, ktoré vznikajú oxidáciou tiolov. Sú to predovšetkým dimetyldisulfid, dimetyltrisulfid a dimetyltetrasulfid, ktoré majú arómu gummy a cesnaku. Polysulfidy nie je možné odstrániť čírením meďnatými iónmi, ale kvasinky ich dokážu spätne redukovať na merkaptány, ktoré reagujú s meďnatými iónmi.

Metionol (3-metyltio-1-propanol) je sírna zlúčenina vo víne, ktorá môže byť metabolizovaná kvasinkami zo sírnej aminokyseliny metioninu. Má karfiolovú arómu, ale po prídavku suplementov (hydrogénfosforečnan amónny) dochádza k značnému úbytku hladiny metionolu vo víne. Sírna zlúčenina 2-aminoacetofenón je zodpovedná za netypické starnutie vína, avšak túto chybu vo víne možno zaznamenať až nad 0,5 µg/l 2-aminoacetofenónu [15].

Vzniku netypického starnutia vína je možné predísť pridaním 150 mg/l kyseliny askorbovej, a to tesne pred alebo krátko po zasírení. Vína, ktoré vykazujú tóny netypického starnutia by mali byť čo najskôr vypité a rozhodne nie sú vhodné na výrobu šumivých vín, pričom by vynikla ich chyba [23].

Tab. 6. Prchavé sírne zlúčeniny vo víne [15]

| Prchavé sírne zlúčeniny | Koncentrácia vo víne [$\mu\text{g/l}$] | Prah vône [$\mu\text{g/l}$] | Aróma |
|---------------------------------------|--|-------------------------------|---|
| Sulfán | stopy - 80 | 10 – 80 | hnilé vajíčka |
| Metántiol | 2,1 - 5,1 | 0,3 | hnilá voda |
| Etántiol | 1,9 - 18,7 | 1,1 | cibuľa, guma |
| Dimetylsulfid | 1,4 - 61,9 | 25 | spargľa, kukurica |
| Metionol | 140 - 5 000 | 500 | karfiol, kapusta |
| Benzotiazol | 0 - 11 | 50 | guma |
| 4-metyltiazol | 0 - 11 | 50 | zelený lieskovec |
| 2-furánmetántiol | 0 - 350 ng/l | 1 ng/l | spálená guma / pražená káva |
| tiofén-2-tiol | 0 - 11 | 0,8 | spálená guma / pražená káva |
| 4-merkpto-4-methyl-pentán-2-on (4MMP) | 0 - 30 ng/l | 0,8 | "Sauvignon blanc" aróma mačací moč / čierne ríbezle |
| 3-merkptohexán-1-ol (3MH) | 0,5 - 5 | 0,8 | granátové jablko, grapefruit |
| 3-merkptohexylacetát (3MHA) | 1 - 100 ng/l | 0,8 | "rizlingová" aróma, granátové jablko |

2.6 Antioxidačné účinky

Oxid siričitý je vo vinárstve všestranne využívanou látkou, ktorej jedna z vlastností je anti-oxidačná schopnosť. Doposiaľ má oxid siričitý nezastupiteľné miesto, pričom zabezpečuje fyzikálno-chemickú a biologickú stabilitu vína.

Oxid siričitý ako redukčné činidlo je schopný viazať vo víne kyslík a tým ho chráni pred enzýmovými a neenzýmovými oxidáciami. Zabraňuje hnednutiu a udržiava správnu farbu bielych a červených vín [25, 27].

2.6.1 Kyselina L-askorbová

Kyselina L-askorbová má redukčné účinky a vo víne viaže na seba kyslík, čím sa oxiduje a vzniká kyselina L-dehydroaskorbová. Ďalším produktom, ktorý môže vzniknúť pri oxidácii je peroxid vodík. Ten môže viesť k nepriaznivým a škodlivým reakciám, hlavne v prítomnosti kovových iónov.

Bolo zaznamenané, že SO_2 vzájomne pôsobí s kyselinou dehydroaskorbovou a jej prvkami rozkladu, ale nie je doposiaľ známe, či takéto vzájomné pôsobenia sú dostatočne silné vo vínnom prostredí tak, aby mali vplyv na zníženie voľných a viazaných zlúčenín oxidu siričitého.

Bol zistený molekulárny pomer 1,7 : 1 v prospech viazaného oxidu siričitého k oxidovanej kyseline L-askorbovej bez pridania iónov kovu. Tento pomer väčší ako 1 : 1 naznačuje, že SO_2 viaže na seba kyselinu dehydroaskorbovú a jej prvky odbúravania ako aj vzniknutý peroxid vodíka.

K dosiahnutiu požadovaného účinku je potrebná synergia s voľným SO_2 , ktorého obsah vo víne je aspoň 35 mg/l.

Kyselina L-askorbová sa môže pridávať do vína až do množstva 150 mg/l, v praxi sa však používa množstvo 100 mg/l [4, 28].

2.6.2 Celková antioxidačná kapacita (CAK)

Cieľom moderných vinárstiev sú úpravy technologických postupov výroby vína a prípravy ďalších produktov na podklade vína či hroznovej šťavy s redukujúcimi hodnotami oxidu siričitého. Jednou z možností je zvýšiť kvalitatívne indikátory vstupom vyšších podielov biologických hodnôt do celého výrobného procesu. Vstupné hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity pochádzajúcej z vinice sa postupne redukujú a do vína sa ich dostáva približne 25 %.

Náležitou funkciou SO_2 je ochrana a stabilizácia prírodne prospešných biologicky aktívnych látok, avšak len pri riadenej a účelovo volenej aplikácii.

Hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity v priebehu technologických postupov radíme do troch fáz:

1. Štádium technologickej zrelosti a vylisovanej hroznovej šťavy a ich analýza hodnôt CAK. V tejto fáze dochádza k prvému zníženiu CAK, nakoľko ich podstatný podiel zostáva v šupkách výliskov, ktoré sú ako zvyšková biomasa nositeľom týchto biologických hodnôt. Ďalšie využitie biologických hodnôt v podobe výliskov je možné len z izolácie látok, ktoré sú využiteľné pre nepotravinársky priemysel napr. kozmetika, farmaceutika atď.

2. Štádium analýzy a vývoja vína, jeho ošetrovania, akýchkoľvek manipulácií vrátane fyzikálnych a chemických zákrokov až do štádia jeho predloženia pre priamy konzum alebo plnenie do fliaš.
3. Štádium zrenia vína vo fľašiach a jeho analýza, ktorá prebieha v časových intervaloch, v rámci dní od doby plnenia do fliaš.

Zámerom týchto biochemických analýz je stanoviť hodnoty celkovej antioxidačnej kapacity. Dôležité je zamerať sa a vystihnúť kritické body deštrukcie prírodných antioxidačných kapacít, sústrediť sa na stabilizačné možnosti a tak povýšiť biologické antioxidačné hodnoty [21].

2.7 Reduktívna metóda výroby vína

Základom tejto metódy je proces výroby vína bez prístupu vzduchu, resp. v reduktívnom prostredí. Prostredníctvom redoxného potenciálu meriame mieru oxidácie či redukcie. Reduktívne prostredie vykazuje záporné hodnoty redoxného potenciálu, naproti tomu oxidačné prostredie zas kladné. Pri reduktívnom víne môže mať redoxný potenciál hodnoty okolo +200 mV, ale počas fermentácie sa môžu znížiť do záporných hodnôt. Prevzdušením vína sa hodnoty redoxného potenciálu pohybujú okolo +400 mV [27].

2.7.1 Použitie inertných plynov

K zabráneniu kontaktu kyslíka s hroznami, muštom a vínom sa používa rada inertných plynov. Najvhodnejší je oxid uhličitý, dusík alebo argón, ich použitie sa odvíja v závislosti od ich fyzikálnych vlastností. Ich aplikácia je za pomoci rôznych difuzérov, resp. kompletných systémov rozvodu a dávkovanie týchto plynov ako ochrana pri plnení a vyprázdňovaní nádob.

CO₂ sa používa vo forme suchého ľadu, ktorý má využitie pri spracovaní hrozna, extrakcii muštu a manipulácii s ním. Dôležité je však nedávať pelety suchého ľadu priamo do hrozna, nakoľko dochádza k namrzaniu hrozna. V dôsledku toho dochádza k praskaniu šupiek a následnému vzniku jemných kalov. Preto by mali byť pelety pridávané až do rmutu, resp. do nádoby rmutového čerpadla [23, 27].

Pri rozpustení kyslíka vo víne môže byť kyslík vytlačený pomocou difúzie inertného plynu tak, že pri prebublání inertného plynu vstupuje kyslík do jeho bubliniek a tým je vyviazaný von [27].

2.7.2 Použitie redukujúcich látok

Cieľom redukujúcich látok je eliminovať kyslík pri spracovaní či manipulácii s muštom alebo vínom. Rovnako aj v reduktívnom vinárstve má svoje opodstatnené miesto oxid siričitý, ktorý spolu s kyselinou L-askorbovou má antioxidačnú schopnosť. Táto kombinácia sa používa z toho dôvodu, aby sa znížilo množstvo použitého SO₂ vo víne a nedochádzalo tak k nadmernému presíreniu vína.

Kyselina askorbová sa po senzorickej stránke vo víne neprejavuje, preto je možné ju použiť ako náhradu pri vysokých koncentráciách SO₂. Nedoporučuje sa použitie samotnej kyseliny askorbovej, pretože by pri kontakte s kyslíkom mohlo dôjsť k znehodnoteniu vína.

Pri reduktívnej výrobe vína je potrebné neustále sledovať stav vína v závislosti na redoxnom potenciály. Dôležité je kontrolovať množstvo antioxidantov v mušte a víne [27].

2.8 Oxidatívna metóda výroby vína

Kyslík má veľmi dôležitú úlohu v technológii výroby vína, aj keď vo vzťahu k jeho kvalite môže mať negatívny ale aj pozitívny vplyv.

Hrozno a víno v priebehu svojho spracovania prichádza neustále do kontaktu s kyslíkom. Mušt prichádza do styku s kyslíkom už v priebehu mletia a lisovania hrozna. Kyslík sa podieľa aj na správnom priebehu kvasenia, pričom je významným faktorom ovplyvňujúcim kinetiku alkoholového kvasenia. Pri nedostatku môže spôsobiť zastavenie alebo spomalenie alkoholového kvasenia. Fenolické látky sú hlavným substrátom pre kyslík v priebehu oxidačných reakcií v mušte a víne. Fenolické látky sa ďalej delia na neflavonoidy, ide o deriváty kyseliny hydroxybenzoovej a hydroxyškoricovej, ktoré sú významné predovšetkým pri bielych vínach.

V začiatkovej fáze vinifikácie bielych vín, zväčša v mušte dochádza k enzymatickej oxidácii fenolov v dôsledku činnosti polyfenoloxidázy. Použitím SO₂ v dávke 25 – 50 mg/l do muštu sa jej aktivita spomalí. Enzymatické hndnutie vo víne je spojené s obsahom hydroxyškoricových kyselín, ktorými sú kyselina kaftarová a kyselina kumarová.

Vplyv na oxidáciu v bielych vínach má hodnota pH, obsah SO₂ a teplota. Význam pre oxidčné procesy v mušte má teplota a hodnota pH už po zbere hrozna vo vinici a v priebehu prepravy [9].

2.8.1 Makrooxidácia

Makrooxidácia je dávkovanie O₂ v objeme 5-8 mg/l/deň. Makrooxidácia je využiteľná pre podporu rastu kvasiniek, tvorbu sterolov a nenasýtených mastných kyselín. Dôležitou funkciou je jej stabilizácia farby a zmeny štruktúry tanínov červených vín [9].

2.8.2 Mikrooxidácia

Jedná sa o technologický postup, pri ktorom sa do vína pridáva malé a kontrolované množstvo kyslíka, so zámerom zlepšiť farbu, arómu a textúru vína.

Senzoricky prospešné a technologicky akceptovateľné je u vín z bielych odrôd objem kyslíka 15-25 mg/l počas celého technologického procesu. Pri červených vínach, kde je žiadané získať maximum farbív, je limit oxidácie približne 180 mg O₂/l [29].

2.9 Metódy stanovenia SO₂

2.9.1 Optimalizovaná Monier-Williams metóda (voľný SO₂)

Jedná sa o destilačnú metódu. Destilačné zariadenie sa skladá z oddeľovacieho lievika, ktorý obsahuje 90 ml 4 M HCl, jednolitrovú destilačnú banku naplnenú 400 ml vody a spätný chladič, ktorý je pripojený k adsorpčnej banke s obsahom 30 ml 3 % H₂O₂. Pred analýzou sa celý systém prepláchnu dusíkom po dobu 15 minút.

Objem 10 ml vína sa zriedi s etanolom na objem 100 ml v pomere 5 : 95 (V/V) a vyleje sa do litrovej banky. Za varu dochádza k uvoľneniu SO₂, ktorý je pôsobením kyseliny chlorovodíkovej prenesený prúdom dusíka do adsorpčnej banky. V adsorpčnej banke dochádza k oxidovaniu SO₂ roztokom H₂O₂. Adsorpčná banka sa odpojí a vzniknutá kyselina sírová sa titruje odmerným roztokom NaOH na indikátor metylovej červenej, farebná reakcia je z červenej na žltú po dobu minimálne 20 sekúnd [31].

2.9.2 Destilačné stanovenie celkového SO₂

Prúdom vzduchu alebo dusíka je celkový oxid siričitý prenesený pôsobením kyseliny fosforečnej do absorpčnej nádoby za varu vína. Obsah nádoby je neutralizovaný roztokom H₂O₂ a kyselina sírová titrovaná etanolovým odmerným roztokom.

Roztok H₂O₂ je potrebné pripraviť čerstvý, navážením 9,1 g H₂O₂ a rozpustením v jednom litri H₂O. Indikátor sa pripraví zmiešaním 100 mg metylovej červene a 50 mg metylovej modrej a rozpustením v 100 ml 50 % etanolu.

Postup stanovenia

Po napipetovaní 3 ml roztoku H₂O₂ a prídavku dvoch kvapiek indikátora do absorpčnej nádoby sa obsah neutralizuje 0,01 mol.l⁻¹ roztokom NaOH a následne sa pripevní k aparátúre. Do 100 ml banky sa pipetuje 20 ml vína a 5 ml kyseliny fosforečnej s pripojením k aparátúre. Obsah banky sa zahrieva so spätným chladičom slabým priamym plameňom, kedy prúdom vzduchu alebo dusíka prebubláva počas varu. Po 15 minútach sa odpojí adsorpčná nádoba a malým množstvom H₂O sa opláchne. Obsah predlohy sa titruje 0,01 mol.l⁻¹ NaOH z modro-fialovej do svetlo zeleno-modrej farby.

Pre výpočet celkového SO₂ v mg/l sa použije rovnica:

$$x'_{SO_2} = 16 \cdot f \cdot b \quad (3)$$

kde f je faktor 0,01 mol.l⁻¹ NaOH, b je spotreba NaOH pri titrovaní [30].

2.9.3 Stanovenie voľného SO₂ jodometricky

Do vzorky vína sa pridá roztok jódu, ktorý na indikátor škrobový maz zmodrá. Modré sfarbenie sa stráca pokiaľ je vo víne prítomný SO₂. Trvalé fialové sfarbenie nastáva, keď vo vzorke sa nenachádza žiadny SO₂.

Postup stanovenia

Do Erlenmayerovej banky sa napipetuje 50 ml vína tak, aby sa pipeta dotýkala neustále dna banky, pridá sa 25 % roztoku H₂SO₄ a približne 5 kvapiek indikátoru škrobového mazu. Titruje sa roztokom 1/128 mol.l⁻¹ jódu až do modrofialového sfarbenia, ktoré trvá minimálne 20 sekúnd.

Obsah voľného SO₂ v mg/l sa vypočíta podľa rovnice:

$$x_{SO_2} = V_{I_2} \cdot 10 \quad (4)$$

kde V_{I_2} je spotreba roztoku jódu [4].

2.9.4 Stanovenie celkového SO₂ jodometricky

Po uvoľnení SO₂ z väzieb s karbonylovými zlúčeninami je možné ho oxidovať odmerným roztokom jódu vo víne.

Postup stanovenia

Do 250 ml Erlenmayerovej banky sa odmeria 25 ml 1 mol.l⁻¹ roztoku NaOH a napipetuje 50 ml vína tak, aby sa pipeta dotýkala dna banky. Banka sa odloží a po 15 minútach sa pridá 15 ml 16 % roztoku H₂SO₄ a približne 5 ml 0,5 % indikátoru škrobového mazu. Pripravený roztok sa ihneď titruje odmerným roztokom 0,02 mol.l⁻¹ jódu do modrého sfarbenia, ktoré vydrží minimálne 30 sekúnd.

Obsah celkového SO₂ v mg/l sa vypočíta podľa rovnice:

$$x_{SO_2} = V_{I_2} \cdot f \cdot 12,8 \quad (5)$$

kde V_{I_2} je spotreba roztoku jódu, f je faktor 0,02 mol.l⁻¹ roztoku jódu [30].

2.9.5 Chromatografické metódy

Pri stanovení siričitanov vo víne metódou HPLC, tzv. vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou, dochádza k tvorbe fluorescenčného produktu reakciou siričitanov s N-(9-akridinyl)-maleimidom (NAM). HPLC stanovenie je časovo výhodné a fluorescencia sa meria pri 436 nm.

Pomocou GC metódy, tzv. plynovej chromatografie sa stanoví voľný aj viazaný SO₂. Pridaním hydroxidu sa uvoľní viazaný SO₂, ktorý je zachytený tetrachlorortuťnatým iónom. Po okyslení na svoje pôvodné pH sa kalibruje vytvorením kalibračnej krivky alebo pomocou vnútorného štandardu. Detekcia sa uskutočňuje na FPD, tzv. plameňofotometrický detektor.

IEC metóda, tzv. iónovo výmenná chromatografia je jednoduchá, rýchla a časovo výhodná. Kolóna je naplnená silným anexom a k detekcii sa využíva elektrochemický detektor [32].

3 PÔSOBENIE OXIDU SIRIČITÉHO NA ĽUDSKÝ ORGANIZMUS

V poslednom období vzrástol záujem konzumenta o potraviny s vysokým obsahom živín, prírodnými vlastnosťami poukazujúcimi na zdravé, biologicky bezpečné a minimálne upravované. Z tohto dôsledku museli výrobcovia zakomponovať nové technológie spracovania potravín a ich konzervovania ako alternatívu tradičnej výroby.

Oxid siričitý je jeden z univerzálnych a najefektívnejších aditív používaných vo vinárstve vzhľadom na jeho antiseptické a antioxidačné vlastnosti.

Napriek všetkým výhodám, ktoré SO_2 prináša, vznik sulfátov po pridaní do vína sa pripisuje mnohým alergickým reakciám u konzumentov. U viacerých ľudí alergických na siričitany sú reakcie vyvolávané množstvom už od 20 mg. Následkom je viacero symptómov akými sú svrbenie a pálenie pokožky, brušné bolesti, hnačky, zablokovanie dýchacích ciest a anafylaxiu. Časté prípady alergií na siričitany sa prejavujú reakciou na pokožke, hlavne v oblasti dýchacích ciest [33].

Citlivosť organizmu na oxid siričitý je rôzna u každého jedinca. Približne 10 až 20 % ľudí, ktorí trpia nedostatkom alebo nadbytkom žalúdočnej kyseliny, ťažko znáša pôsobenie SO_2 . Preto zvýšenie kyslosti žalúdočnej kyseliny nemusí byť spôsobené organickými kyselinami vína, ale citlivosťou na prítomný voľný SO_2 [5].

Astmatici, ktorí užívajú steroidy a majú ťažkosti s dýchaním, sú viac náchylní na prípadnú alergickú reakciu pri konzumácii jedál s obsahom siričitanov. U týchto jedincov môže mať alergia na siričitany vážne následky, kedy zlúčeniny oxidu siričitého aktivujú rakovinové gény a naopak deaktivujú gény zabraňujúce vzniku nádorov [33].

Akútna toxicita SO_2 je stanovená na 1,5 g/kg, pričom chronická toxicita je stanovená na 0,35 mg/kg/deň. Pôsobením oxidu siričitého dochádza k nedostatku tiamínu (vitamín B_1) v organizme pri pH 6,0. Zo štúdií toxicity u človeka neboli preukázané žiadne vedľajšie účinky pri koncentrácii 400 mg oxidu siričitého po dobu 25 dní. K toxicite dochádza pri zmienenom nedostatku tiamínu pôsobením siričitanov. Pri povolených dávkach SO_2 vo vínach v EU nebola doposiaľ toxicita preukázaná [13].

3.1 Vdychovaný SO₂

Určité množstvo SO₂ sa vyskytuje v ovzduší a to buď z prírodných zdrojov alebo z produkcie priemyslu a domácností. Obsah SO₂ v ovzduší je zanedbateľné, avšak u citlivejších ľudí môže spôsobiť podráždenie sliznice, kašeľ, bolesti hlavy, pričom sa nejedná o skutočnú alergiu.

Prah čuchovej detekcie SO₂ je pri koncentrácii 0,5 µg/l, pričom zdravotné riziko sa môže vyskytnúť pri 0,6 µg/l. Hraničnou hodnotou oxidu siričitého, pri ktorej je možné sa vyhnúť bezprostredným alebo krátkodobým toxickým účinkom, je množstvo 2 ppm SO₂ v priebehu 15 minút. Človek dokáže vnímať koncentráciu SO₂ už od 1 ppm, kedy toto množstvo sa môže považovať za toxické pre užívateľa [13].

3.2 Účinky pitia vína na zdravie

Spotreba vína v ČR sa v posledných rokoch zvýšila z približne 16 litrov na osobu a rok na cca 20 litrov na osobu a rok. Je možné predpokladať, že v budúcnosti bude dochádzať k zvyšovaniu spotreby ako vína, tak aj stolného hrozna [34].

Konzumácia vína ako alkoholického nápoja môže mať negatívny, ale aj pozitívny vplyv na zdravie, to však závisí od miery konzumácie.

Je dokázané, že mierna konzumácia alkoholu napomáha k zníženiu rizika srdcového infarktu a tým sa znižuje aj úmrtnosť. Pri konzumácii 48 g alkoholu denne vo forme vína sa zistilo, že úmrtnosť na srdcový infarkt sa znížila o 30 %.

Najvyššia úmrtnosť na srdcový infarkt sa vyskytuje u abstinentov, pričom najnižšie hodnoty úmrtnosti sú zaznamenané pri spotrebe približne 30 g alkoholu na deň. Pri tejto spotrebe je dokázané, že dochádza k zníženiu hladiny LDL cholesterolu a zvýšeniu HDL cholesterolu, rovnako aj k zvýšeniu obsahu acetylsalicylovej kyseliny, ktorá má antitrombotický efekt.

Dávka alkoholu sa líši vzhľadom na pohlavie. Pre ženy je doporučená denná dávka od 20 do 30 g alkoholu, pre mužov je to 20 až 40 g alkoholu na deň. Nižšie dávky u žien sú podmienené nižšou aktivitou alkoholdehydrogenasy, ktorá predstavuje približne 20 až 30 % aktivity preukázanej u mužov. Zohľadňuje sa aj menší objem tela žien, väčšie relatívne množstvo tuku a znížený obsah vody.

Účinnost' pitia vína je rôzna pri bielom a červenom víne. Biele víno má menšie množstvo polyfenolov a jeho antioxidačná kapacita je nižšia v porovnaní s červeným vínom. Antioxidanty, akými sú epikatechin a quercetin, sa vyskytujú desaťkrát viac v červenom víne ako vo víne bielom. Dôvodom je spôsob spracovania hrozna pri výrobe červeného vína, kedy sa šupka hrozna nechá po určitú dobu fermentovať. Obsah fenolových látok úmerne súvisí s množstvom tanínu vo víne. Väčší obsah flavonoidov sa vyskytuje vo vínach suchých ako polosuchých, polosladkých či sladkých.

Pre prevenciu srdcového infarktu je dôležité pravidelné každodenné pitie malého množstva alkoholu [35].

4 MOŽNOSTI OBMEDZENIE SIRIČITANOV VO VÍNE

Použitie oxidu siričitého v enológii bolo považované za nevyhnutné počas niekoľkých rokov vzhľadom k jeho priaznivej činnosti. Naproti tomu u niektorých konzumentov môže mať nežiaduce účinky. Preto rôzne svetové a medzinárodné organizácie navrhujú obmedzenia použitia SO_2 ako vo víne, tak aj v potravinách. Síra sa prirodzene nachádza v bobuliach hrozna, pričom prechádza do rmutu a muštu a jej obsah môže byť až do 50 mg/l. Rovnako určité množstvo síry produkujú kvasinky, preto úplné odstránenie síry z vína nie je z týchto dôvodov možné.

4.1 Kyselina sorbová

Kyselina sorbová je prostriedok používaný na stabilizáciu proti mikrobiologickým zákalom. Úplné nahradenie SO_2 kyselinou sorbovou nie je možné, ale spolu majú synergický účinok proti mikrobiologickým zákalom. Kyselina sorbová pôsobí len proti kvasinkám, na baktérie nemá nijaký účinok skôr naopak, je pre nich zdrojom uhlíkovej výživy. Pri druhej fermentácii alebo jablčno-mliečnom kvasení by mohli nastať nežiaduce sensorické vlastnosti spôsobené prídavkom kyseliny sorbovej. V dôsledku toho sa začne tvoriť kyselina kaprónová, ktorá dáva vínu pelargónovú príchuť [5].

V EU môže víno obsahovať maximálne množstvo 200 mg/l kyseliny sorbovej prídavanej vo forme sorbanu draselného. Rozpustnosť kyseliny sorbovej vo vode je malá, kedy pri 20 °C sa rozpustí len 1,6 g/l. V etanole pri 20 °C sa rozpustí až 112 g/l. Hodnota pH sa rovnako podieľa na antimikrobiálnej účinnosti pri použití kyseliny sorbovej. So znižujúcim sa pH rastie jej aktivita.

Použitie je doporučené len pre oštiepenie vín obsahujúcich redukujúce cukry, teda nie je vhodné použitie pre oštiepenie suchých bielych vín [13].

4.2 Dimetyldikarbonát (DMDC)

Dimetyldikarbonát je schválený EU s použitím v maximálnom množstve 200 mg/l vína. DMDC pôsobí ako inhibitor mikroorganizmov a niektorých enzýmov.

Pri pridaní DMDC do vína dochádza k reakcii s polyfenolmi a organickými kyselinami za vzniku metanolu a malého množstva oxidu uhličitého. Z toxikologického hľadiska vznik-

nutá koncentrácia metanolu je nežiaduca, preto je doporučené 300 mg/l metanolu pre červené vína a 150 mg/l pre vína biele.

Pri odbúravaní DMDC vzniká tiež malé množstvo metylkarbamátu, ktoré svojou nízkou koncentráciou neovplyvňuje arómu vína [13, 33].

4.3 Lysozym

Lysozym mal pred začatím používania v enológii uplatnenie vo farmaceutickom a potravinárskom priemysle. Nakoľko je extrahovaný z vaječného bielku, nepredstavuje pre človeka žiadne riziko. Lysozym sa vyskytuje ako prírodná kryštalická substancia vo vaječnom bielku v množstve 9 g/l. Rýchlo sa vie prispôbiť podmienkam prostredia vína a odstráni sa samovoľným vyzrážaním alebo po použití bentonitu.

Lysozym je schopný hydrolyzovať bunkové steny mliečnych baktérií a oproti SO₂ jeho aktivita vzrastá so zvyšujúcim sa pH. Maximálne množstvo stanovené EU použitia vo vinárstve je 500 mg/l. Pri dávkach od 4 mg/l dochádza k inaktivácii mliečnych baktérií v priebehu 24 hodín, avšak lysozym nepôsobí na octové baktérie. Dávka 100 mg/l lysozymu aplikovaná do rmutu má účinky blízke dávke zasírenia 50 - 70 mg/l SO₂ [13].

K menšiemu účinku pôsobenia lysozymu dochádza v červených vínach v dôsledku obsahu polyfenolov, ktoré ovplyvňujú jeho aktivitu. Za inhibíciu niektorých enzýmov vrátane lysozymu sú zodpovedné interakcie medzi fenolovými zlúčeninami a proteínmi [36].

ZÁVER

Cieľom bakalárskej práce je oboznámiť sa s oxidom siričitým z hľadiska jeho výskytu a foriem použitia, pôsobenia na organizmus a jeho obmedzenie v technologických postupoch výroby vína.

Síra je biogénnym prvkom, ktorý sa podieľa na rôznych premenách. Výskyt síry v prírode je v elementárnej podobe alebo vo forme zlúčenín.

Vo víne sa oxid siričitý nachádza vo voľnej alebo viazanej forme, pričom časť voľného oxidu siričitého tvorí molekulárny oxid siričitý, resp. aktívny oxid siričitý. Aktívny SO₂ sa podieľa na mikrobiologickej stabilite, zatiaľ čo voľný SO₂ chráni víno pred oxidáciou a hndnutím. Pri stanovovaní SO₂ vo víne je dôležité venovať pozornosť hodnotám aktívneho SO₂ vzhľadom k jeho biocídnej schopnosti.

Aplikácia SO₂ na hrozno, ako aj v ďalších procesoch môže pozitívne ovplyvniť konečnú akosť vína, pričom na kvalite sa podieľajú aj ďalšie faktory. Jedným z faktorov sú ušľachtilé kvasinky, ktoré si dokážu prostredníctvom svojho metabolizmu samy produkovať síru, pričom produkcia úzko súvisí s metabolizmom dusíkatých látok. Pri nedostatku dusíkatých látok u kvasiniek dochádza k tvorbe nežiaduceho sulfánu. Koncentrácia a reaktivita sírnych zlúčenín súvisí so vznikom aromatických látok vo víne a odrodovým charakterom hrozna. Sú popísané rôzne prchavé sírne zlúčeniny a ich arómy vo víne.

V enológii je oxid siričitý používaný v niekoľkých osvedčených formách, pričom formy použitia SO₂ sa volia na základe jednotlivých technologických procesov.

Oxid siričitý ako syntetické antioxidačné aditívum je v súčasnej dobe ešte nezastupiteľný. Jeho povolené maximálne dávky sú síce zdravotne neškodné, ale 20 – 25 % dospelaj populácie trpí voči SO₂ aj pri týchto dávkach až silnou alergiou a víno je potom pre nich neprijateľné. V dnešnej dobe sú však možnosti zníženia dávok SO₂ biologickou cestou. Uprednostnenie a stabilizácia hodnôt biologicky aktívnych látok, ktoré tvoria podstatu prírodnej antioxidačnej kapacity, dovoľuje znížiť dávky oxidu siričitého až o 30 – 35 % z povolených hodnôt.

V súčasnosti sa pripravujú cielené zmeny v technologických postupoch, ktoré podmieňujú realizáciu týchto vedeckých poznatkov. Činnosť siričitanov je potrebné ovládať, pretože ich dôsledky sú nielen negatívne, ale aj pozitívne.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] KRAETSMÁR-ŠMOGROVIČ, Juraj. *Všeobecná a anorganická chémia*. Martin: Osveta, 1994, 398 s. ISBN 80-217-0532-9.
- [2] POLÁČEK, Štefan, Jozef KULICH, Ján TOMÁŠ a Alena VOLLMANNOVÁ. *Anorganická chémia*. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárka univerzita, 2003. ISBN 80-8069-137-1.
- [3] KAMENÍČEK, Jiří. *Anorganická chemie*. 4. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009, 316 s. ISBN 978-80-244-2387-6.
- [4] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. 2. vyd. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 309 s. ISBN 978-80-903201-9-2.
- [5] FARKAŠ, Ján. *Biotechnológia vína*. 2. rozš. vyd. Bratislava: Alfa, 1983. 978 s.
- [6] MINÁRIK, Erich. *Chémia a mikrobiológia vína*. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1986, 547 s.
- [7] FUGELANG, K a Charles G EDWARDS. *Wine microbiology*. 2nd ed. /. New York, NY: Springer, c2007, xx, 393 p. ISBN 03-873-3349-5.
- [8] JACKSON, Ron S. *Wine science: principles, practice, perception*. 2nd ed. San Diego: Academic Press, c2000, xv, 648 p. ISBN 01-237-9062-X.
- [9] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinářů*. 2. aktualizované a rozšířené vydání. Praha: Grada publishing, 2010, 120 s. ISBN 978-80-247-3487-3.
- [10] TOUŽÍN, Jiří. *Stručný přehled chemie prvků*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2003, 225 s. ISBN 80-210-2635-9.
- [11] 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. In: *Úřední vestník Evropské unie*. 2009. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:193:0001:0059:CS:PDF>
- [12] NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 607/2009 z 14. júla 2009 , ktorým sa ustanovujú určité podrobné pravidlá vykonávania nariadenia Rady (ES) č. 479/2008, pokiaľ ide o chránené označenia pôvodu a zemepisné označenia, tradičné pojmy, označo-

- vanie a obchodnú úpravu určitých vinárskych výrobkov. In: *Úradný vestník Európskej únie*. 2009. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:193:0060:0139:SK:PDF>
- [13] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Oxid siričitý v enologii*. Vyd. 1. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2012, 151 s. ISBN 978-80-905319-0-1.
- [14] Laffort - info. *SO₂ e conservazione dei vini* [online]. 2005, č. 39 [cit. 2013-03-30]. Dostupné z: <http://www.laffort.com/it/laffort-info>
- [15] FURDÍKOVÁ, Katarína a Fedor MALÍK. Kolobeh síry vo víne. *Chemické listy*. 2009, č. 103, s. 154-158.
- [16] DOMINIQUE DELANOE, Christian Maillard a Carlo Miconi per l'edizione ITALIANA. *Il Controllo tecnologico del vino attraverso l'analisi*. 2. ed. Brescia: AEB, 1992. ISBN 88-712-2446-9.
- [17] DIVOL, Benoit, Maret TOIT a Edward DUCKITT. Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2012, vol. 95, issue 3, s. 601-613 [cit. 2013-04-01]. DOI: 10.1007/s00253-012-4186-x. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-012-4186-x>
- [18] FARKAŠ, Ján. *Technológia a biochémia vína*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1973.
- [19] OSBORNE, J.P., A. DUBE MORNEAU a R. MIRA DE ORDUNA. Degradation of free and sulfur-dioxide-bound acetaldehyde by malolactic lactic acid bacteria in white wine. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2006, vol. 101, issue 2, s. 474-479 [cit. 2013-04-01]. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.02947.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2672.2006.02947.x>
- [20] MINÁRIK, Erich. Vplyv oxidu siričitého na transformáciu antokyanínov a proantokyanidínov vo víne. *Vinič a víno*. 2004, č. 2, s. 9.
- [21] FIC, V. et al.: WINE WASTE INVESTIGATION EUROPE – evropský projekt Brusel, 2011.
- [22] MINÁRIK, Erich. Vznik sirky a možnosti jej prevencie v mušte a víne. *Vinařský obzor*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republik, 2004, č. 6, s. 279.

- [23] STEIDL, Robert. *Po cestách ke špičkovému vínu*. V českém jazyce vyd. 1. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010, 64 s. ISBN 978-80-903201-8-5.
- [24] FIALA, Václav. Síra ve sklepním hospodářství. *Vinařský obzor*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republik, 2010, roč. 103, č. 1, s. 54-55.
- [25] KOVÁČ, Jozef. *Spracovanie hrozna*. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1990. ISBN 80-070-0313-4.
- [26] SINGER, Milan. Problémy šíření u malovinařů. *Vinařský obzor*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republik, 2007, č. 6, s. 297.
- [27] GALA, Aleš. Reduktivní způsob výroby vína. *Vinařský obzor*. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republik, 2007, č. 4, s. 176-177.
- [28] BARRIL, Célia, Andrew C. CLARK a Geoffrey R. SCOLLARY. Chemistry of ascorbic acid and sulfur dioxide as an antioxidant system relevant to white wine. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2012, vol. 732, s. 186-193 [cit. 2013-04-27]. DOI: 10.1016/j.aca.2011.11.011. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267011014863>
- [29] SLUGENĚ, Dušan. Úloha mikroxidácie pri príprave moderných vín. *Vinič a víno*. 2011, č. 5, s. 159-161.
- [30] BALÍK, Josef. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 3., nezměn. vyd. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2006, 96 s. ISBN 80-715-7933-5.
- [31] KOCH, Matthias, Robert KOPPEN, David SIEGEL, Angelika WITT a Irene NEHLS. Determination of Total Sulfite in Wine by Ion Chromatography after In-Sample Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2010-09-08, vol. 58, issue 17, s. 9463-9467 [cit. 2013-04-30]. DOI: 10.1021/jf102086x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf102086x>
- [32] DVOŘÁK, J., P. DOSTÁLEK, P. ČEJKA, V. KELLNER, J. ČULÍK, T. HORÁK a M. JURKOVÁ. Význam oxidu siřičitého v pivu: Část 2.: Metody stanovení oxidu siřičitého v pivu. *KVASNÝ PRŮMYSL*. 2007, roč. 53, 11-12, s. 338-343.
- [33] SANTOS, Mickael C., Cláudia NUNES, Jorge A. SARAIVA a Manuel A. COIMBRA. Chemical and physical methodologies for the replacement/reduction

of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations. *European Food Research and Technology* [online]. 2012, vol. 234, issue 1, s. 1-12 [cit. 2013-05-03]. DOI: 10.1007/s00217-011-1614-6. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-011-1614-6>

- [34] *Situační a výhledová zpráva: Réva vinná a víno*. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky, 2012. ISSN 1211-7692.
- [35] ŠAMÁNEK, Milan a Zuzana URBANOVÁ. *Pít či nepít?: Pití vína a srdeční infarkt*. 1. vyd. Praha: Radix, 2004, 67 s. ISBN 80-860-3146-2.
- [36] DOKUPILOVÁ, Ivana, Martin SÁK, Jana LAKATOŠOVÁ a Ernest ŠTURDÍK. Akergická reakcia po pohárikú vína. *Vinič a víno*. 2013, roč. 8, č. 3, s. 56-57.

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

| | |
|------------------------|---|
| 3MHA | 3-merkaptohexylacetát |
| 4MMP | 4-merkapt-4-metyl-pentán-2-on |
| CAK | Celková antioxidačná kapacita |
| DMDC | Dimetyldikarbonát |
| FPD | Plameňovo fotometrický detektor |
| HDL | Lipoproteín s vysokou hustotou |
| HPLC | Vysokoučinná kvapalinová chromatografia |
| IEC | Iónovo výmenná chromatografia |
| LDL | Lipoproteín s nízkou hustotou |
| NAM | N-(9-aridiny)-maleimid |
| Vitamín B ₁ | Tiamín |

ZOZNAM OBRÁZKOV

| | |
|--|----|
| <i>Obr. 1. Reakcie pri spaľovaní a pražení síry [2]</i> | 13 |
| <i>Obr. 2. Rovnovážny stav SO₂ [2]</i> | 14 |
| <i>Obr. 3. Reakcia vzniku disiričitanu draselného [3]</i> | 14 |
| <i>Obr. 4. Forma SO₂ v roztokoch a percentuálne zastúpenie celkového SO₂ na pH, pričom pK₁ a pK₂ je konštanta diasociácie reakcie SO₂ znázornenej na Obr. 2. Zvýraznený je optimálny rozsah pH vína [17].....</i> | 15 |
| <i>Obr. 5. Reakcia vzniku kyseliny acetaldehydsiričitej [5].....</i> | 17 |
| <i>Obr. 6. Reakcia vzniku kyseliny glukózosiričitej a fruktózosiričitej [18]</i> | 19 |
| <i>Obr. 7. Piktogram SO₂ [12]</i> | 21 |
| <i>Obr. 8. Sírny metabolizmus vínnych kvasiniek [15].....</i> | 24 |
| <i>Obr. 9. Reakcia medi so sulfánom [4]</i> | 29 |

ZOZNAM TABULIEK

| | |
|--|-----------|
| <i>Tab. 1. Vyjadrenie voľného SO_2 prítomného v molekulárnej forme pri teplote 20 °C v % [14]</i> | <i>16</i> |
| <i>Tab. 2. Podiel molekulárneho SO_2 a HSO_3^- v závislosti na pH pri 20 °C [13]</i> | <i>16</i> |
| <i>Tab. 3. Vplyv teploty na formy SO_2 [18]</i> | <i>19</i> |
| <i>Tab. 4. Maximálne povolené množstvo SO_2 pri uvádzaní do obehu [4]</i> | <i>20</i> |
| <i>Tab. 5. Dávky sírenia pre 100 a 1000 l vína alebo muštu [5]</i> | <i>22</i> |
| <i>Tab. 6. Prchavé sírne zlúčeniny vo víne [15].....</i> | <i>31</i> |