

Kyslík a víno

Eva Černošková

Bakalářská práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Eva Černošková**
Osobní číslo: **T16336**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Kyslík a víno**

Zásady pro vypracování:

1. Kategorie vína vstupní.
2. Kategorie vína výstupní.
3. Základní analýzy biochemické, mikrobiologické a enologické.
4. Pozitivní fáze–negativní fáze.
5. Regulace kyslíku ve vztahu k analýzám biochemickým a technologického zaměření finálního produktu.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] Danilewicz, J. C.; Standine, M. J. (2018). Reaction Mechanisms of Oxygen and Sulfite in Red Wine. *American journal of enology and viticulture*, 69(3), 189–195.

[2] Sanchez-Gomez, R., Nevares, I., Martinez-Gil, A. M., Del Alamo-Sanza, M. (2018) Oxygen Consumption by Red Wines under Different Micro-Oxygenation Strategies and Q. Pyrenaica Chips. Effects on Color and Phenolic Characteristics. *Beverages*, 4(3), Article Number: 69.

[3] Vignault, A., Gonzalez-Centeno, M. R., Pascual, O., Gombau, J., Jourdes, M., Moine, V., Iturmendi, N., Canals, J. M., Zamora, F., Teissedre, P.-L. (2018). Chemical characterization, antioxidant properties and oxygen consumption rate of 36 commercial oenological tannins in a model wine solution. *Food chemistry*, 268, 210–219.

[4] Dle databáze Scopus a Web of Science

Vedoucí bakalářské práce:

prof. Ing. Vlastimil Fic, DrSc.

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

1. února 2019

Termín odevzdání bakalářské práce:

10. května 2019

Ve Zlíně dne 1. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
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 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

.....

¹⁾ 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 nevdělečně 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 nahlázení 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.

²⁾ 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 vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ 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

Předkládaná práce byla vytvořena za účelem shrnutí poznatků o působení kyslíku na víno v jednotlivých stádiích výroby a rozdělení tohoto působení na vlivy negativní a pozitivní. Je zahrnuto působení na chemické složení vína, zejména polyfenolické látky, jako látky s významnou antioxidační kapacitou. Kyslík ovlivňuje i sensorickou stránku vína, tedy barvu, chuť a aroma. Změnou množství přítomného kyslíku lze ovlivnit také činnost mikroorganismů, kulturních i jiných přítomných, které mohou vývoji vína napomoci nebo jej naopak naprosto zničit. Práce také zahrnuje možnosti, jak styk vína s kyslíkem řídit a zabránit negativnímu působení.

Klíčová slova: kyslík, enzymatická a chemická oxidace, biochemické, mikrobiologické a enologické analýzy, polyfenolické látky, antioxidační kapacita, oxid siřičitý

ABSTRACT

The presented thesis was created to summarize the knowledge of the oxygen effect in wine during various stages of production and to divide these influences to positive and negative. The effect on the chemical composition of wine, especially effect on polyphenolic substances as substances with significant antioxidant capacity, is included. Oxygen also affects the sensory quality of wine, that is color, taste and aroma. Change quantity of present oxygen can influence the activity of cultural and others microorganisms, which can help to develop or destroy wine. The thesis also includes possibilities how to control contact between wine and oxygen and save the wine from negative effect.

Keywords: oxygen, enzymatic and chemical oxidation, biochemical, microbiological and enological analysis, polyphenolic substances, antioxidant capacity, sulfur dioxide

Ráda bych poděkovala prof. Ing. Vlastimilovi Ficovi, DrSc. za odborné vedení a cenné rady při zpracování této bakalářské práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
1 KATEGORIE VÍNA VSTUPNÍ.....	10
1.1 ENZYMATICKÁ OXIDACE MOŠTU	10
1.1.1 Zdravé hrozny	10
1.1.2 Poškozené hrozny.....	11
1.1.2.1 Botrytis cinerea	12
1.1.2.2 Penicillium expansum.....	13
2 KATEGORIE VÍNA VÝSTUPNÍ.....	14
2.1 CHEMICKÁ OXIDACE VÍNA.....	15
2.2 VLIV KYSLÍKU NA KVALITU ŠUMIVÝCH VÍN.....	15
3 ZÁKLADNÍ ANALÝZY BIOCHEMICKÉ, MIKROBIOLOGICKÉ A ENOLOGICKÉ	16
3.1 BIOCHEMICKÉ ANALÝZY	16
3.1.1 Metody stanovení antioxidační kapacity.....	16
3.2 MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY	17
3.2.1 Mikroskopické metody.....	18
3.2.2 Kultivační metody	18
3.2.3 Screeningové metody	19
3.3 ENOLOGICKÉ ANALÝZY	19
3.3.1 Etanol	20
3.3.2 Aromatické složky	21
3.3.3 Těkavé kyseliny	22
3.3.4 Netěkavé kyseliny	22
3.3.5 Oxid siřičitý.....	23
3.3.6 Sacharidy.....	24
3.3.7 Minerální látky	24
3.3.8 Třísloviny a barviva	25
3.3.9 Dusíkaté látky.....	26
3.3.10 Vitaminy.....	27
4 POZITIVNÍ FÁZE – NEGATIVNÍ FÁZE	28
4.1 POZITIVNÍ FÁZE	28
4.1.1 Hyperoxidace moštu.....	29
4.1.2 Využití kyslíku při řízené fermentaci moštu.....	30
4.1.3 Řízená mikrooxidace vína.....	31
4.1.3.1 Rizika mikrooxidace.....	32
4.1.4 Změny barviv při zrání červených vín	32
4.2 NEGATIVNÍ FÁZE	33
4.2.1 Pinking effect	34
4.2.2 Oxidativní vzhled, vůně a chuť	34
4.2.3 Kovové zákaly.....	35
4.2.4 Mikroflóra vína	36
4.2.4.1 Křísovatění.....	36

4.2.4.2	Vůně a chuť nečisté po myšíně.....	37
4.2.4.3	Octění vína.....	37
5	REGULACE KYSLÍKU VE VZTAHU K ANALÝZÁM BIOCHEMICKÝM A TECHNOLOGICKÉMU ZAMĚŘENÍ FINÁLNÍHO PRODUKTU	39
5.1	OXID SIŘIČITÝ	40
5.1.1	Volný SO ₂	41
5.1.2	Vázaný SO ₂	41
5.1.3	Vliv SO ₂ na zdraví člověka	42
5.2	ZLEPŠENÍ ÚČINKU OXIDU SIŘIČITÉHO PROSTŘEDNICTVÍM ŘÍZENÉ FERMENTACE.....	42
5.3	POUŽITÍ KYSELINY ASKORBOVÉ JAKO ANTIOXIDAČNÍ LÁTKY	43
5.4	ZRÁNÍ NA KVASNIČNÝCH KALECH.....	43
5.5	CHLAZENÍ MOŠTŮ.....	44
5.6	POUŽITÍ INERTNÍ ATMOSFÉRY.....	45
5.7	PŘÍDAVEK KOMERČNÍCH TANINŮ	45
	ZÁVĚR	46
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	47
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	55

ÚVOD

„Kyslík může vytvářet víno, ale také víno poškodit až rozbít.“ tuto hypotézu formuloval již Louis Pasteur. Již po staletí je známo, že vliv kyslíku na víno může být pozitivní i negativní a hraje tedy významnou roli v technologii vína. Ke styku hroznů, rmutu, moštu a vína s kyslíkem dochází neustále a není možné mu zabránit. Kyslík je důležitý také pro správný průběh kvašení, ovlivňuje jeho kinetiku a nedostatek může vést k zastavení nebo zpomalení. ^[1]

Všeobecně lze konstatovat, že by mladá vína měla být před přístupem kyslíku (vzduchu) chráněna, protože jejich kontakt by mohl negativně ovlivnit smyslové charakteristiky tohoto vína. Z opačného pohledu může mít expozice kyslíkem pozitivní účinek při zrání vína, zejména pokud provzdušňování probíhá pomalu a stabilně. ^[2] Kyslík bývá často využíván i pro zlepšení tvorby biomasy kvasinek a je nezbytný pro syntézu sloučenin, které poskytují kvasinkám během fermentace lepší toleranci vůči etanolu. ^[3] Přístup kyslíku k vínu musí být ovšem přísně kontrolován, jelikož se pozitivní účinek může velmi rychle zvrátit na negativní stranu. ^[2] Rozpoznat hranici mezi pozitivním a negativním účinkem je ovšem velmi složité. ^[3]

1 KATEGORIE VÍNA VSTUPNÍ

Konečné druhy a styly vyrobených vín nezávisí jen na použité technologii, ale odvíjí se již od původu hroznů, způsobu pěstování a v neposlední řadě také zdravotního stavu těchto hroznů. Během dozrávání je také nutné sledovat parametry zralosti, a to jak fyziologické, tak technologické. Fyziologická zralost lze stanovit senzory, zejména posuzováním barvy slupky, chuti bobule. Technologické znaky zralosti bývají stanovovány fyzikálně-chemickými metodami, jedná se o cukernatost, obsah celkových titrovatelných kyselin, pH moštu, obsah kyseliny vinné a jablečné. [4]

1.1 Enzymatická oxidace moštu

Z pohledu působení kyslíku na vinné hrozny a mošt lze rozdělit vstupní hrozny do dvou kategorií, na hrozny zdravé a hrozny poškozené nebo narušené. Spotřeba přijatého kyslíku spočívá v enzymatické oxidaci polyfenolických sloučenin a následně ostatních látkových složek vína. K oxidaci těchto sloučenin dochází pomocí enzymů ze skupiny oxidáz. V případě zdravých hroznů se jedná nejčastěji o enzym tyrozinázu. U hroznů nahnilých probíhá ovšem oxidace pomocí jiného enzymu, a to lakázy pocházející z mikroskopické houby *Botrytis cinerea*. [5] Oxidační enzymy jsou přítomny ve slupkách hroznů a jen jejich malá část je rozpustná a přechází tak do zpracovávaného moštu. Enzymatická aktivita těchto enzymů je nejvyšší při rozdrčení hroznů, kdy dochází ke kontaktu enzymů s moštem, který slouží jako substrát. S postupujícím zpracováním aktivita enzymů klesá. [6]

1.1.1 Zdravé hrozny

Oxidace látek zdravých hroznů je zapříčiněna aktivitou enzymu tyrozinázy. Substrátem pro tento enzym je výlučně kyselina skořicová a její estery s kyselinou vinnou, tedy kyseliny kaftarová a kutarová. [5] Červené pigmenty - kyselina kaftarová a kutarová jsou velmi rychle (spotřeba kyslíku až 2 mg.l⁻¹ za minutu) přeměněny na hnědé chinony, což má za následek degradaci chuťově a nutričně významných látek. [7] Pro srovnání, ve víně se spotřeba kyslíku pohybuje asi mezi 1 a 2 mg.l⁻¹ za den. [5] Chinony mohou reagovat s thioly nebo thiolovými skupinami proteinů, aminy, aminokyselinami nebo sirnými sloučeninami, [8] což má dopad na smyslové vlastnosti tříslovin. Reakcí chinonů s fenolovými látkami vznikají nové polymery a tříslovité struktury. [4]

Spolu s chinony vzniká reakcí také peroxid vodíku, který dále reaguje s alkoholy a dalšími složkami vína za vzniku aldehydů a ketonů. V případě červených vín jsou aldehydy klíčem ke stabilizaci barvy vína, protože z nich vznikají taniny, tanin-anthokyaniny a další anthokyaninová barviva vyznačující se odolností vůči bělení oxidem siřičitým a změnám pH. [9] Z peroxidu vodíku mohou vznikat působením dvojmocného železa také hydroxylové radikály, které jsou schopné oxidovat mnoho látkových složek vína, [10] protože jsou velmi nestabilní. Reagují s etanolem za vzniku acetaldehydu, kyselinou jablečnou, ze které vzniká kyselina pyrohroznová, s cukry, glycerolem nebo kyselinou vinnou. Produkty oxidace mohou podléhat dalším reakcím. Vznikající acetaldehyd reaguje s flavanoly, taniny i antokyaninovými barvivy, čímž vznikají nová barviva vyznačující se vyšší stabilitou, taktéž kyselina pyrohroznová vytváří v průběhu zrání vína stabilnější barviva s antokyaniny. Průběh těchto reakcí závisí na dostupnosti kyslíku. [2]

Aktivitu tyrozinázy lze potlačit přidávkem oxidu siřičitého, což zabrání účasti vytvořeného chinonu na tvorbě barevných pigmentů. Přídavek 50 mg.l⁻¹ způsobuje pokles aktivity tyrozinázy o 75-90 %. [11] Možné je i využití bentonitu ke snížení aktivity tyrozinázy, k úplné inhibici ovšem dochází až během alkoholové fermentace. [12]

1.1.2 Poškozené hrozny

Zcela poškozené hrozny je nevhodné až zbytečné sklízet, výlisnost by byla velmi nízká. V případě částečně poškozených hroznů je nutné tyto při zpracování striktně oddělit od hroznů zdravých, nepoškozených. Při sklizni, jakkoliv poškozených hroznů není vhodné vyčkávat, aby nedošlo k ještě vyšším ztrátám. Podmínkou zpracování hroznů poškozených zejména šedou hnilobou je jejich velmi rychlé zpracování a ošetření oxidem siřičitým, případně zchlazení pod 15 °C. Pokud hrozny octovají po napadení octomilkou nebo vosami je vhodné je ihned odstranit. [4]

Stabilitu moštu lze zvýšit odkalením a čiřením. Pro urychlení této části technologie bývají používána čiridla, z nichž pravděpodobně nejvhodnější je použití želatiny a poté bentonitu. Želatina snižuje množství tříslovin vyluhovaných do moštu, čímž se sníží svíravá chuť vína. Bentonit urychluje usazení kalových částic a brzdí aktivitu nežádoucích enzymů. Před fermentací i v jejím průběhu bývají do moštu přidávány amonné soli a vitaminy, kterých je v poškozených hroznech pro správnou činnost kvasinek zpravidla nedostatek. Ke kvašení bývají používány zejména čisté kultury kvasinek až ve dvojnásobném doporučeném množství, aby nedocházelo k rozvoji kvasinek nekulturních, „divokých“. [4]

Mnohem složitější je výroba červeného vína z nahnílých modrých hroznů, u kterých dochází vlivem poškození k destrukci barviv. Vzniklé víno tak může mít nahnědlou barvu. Řešením bývá výroba červeného vína teplou cestou, kdy dochází k poměrně rychlému vyluhování barviv, usmrcení mikroorganismů a inaktivaci enzymů. Hrozny bývají odstopkovány a bez drcení zahřívány na 65-70 °C, přičemž dochází k praskání slupek. Nejdůležitější je ovšem inaktivace oxidačních enzymů tyrozinázy a lakázy při rychlém zahřátí. Pokud by zahřívání proběhlo pomalu, docházelo by naopak k jejich aktivaci a hnědnutí moštu. Následné lisování probíhá při 25 °C, po přidavku výživy pro kvasinky, regulaci kyselin a úpravě cukernatosti pokračuje výroba vína alkoholovou fermentací. [4]

1.1.2.1 *Botrytis cinerea*

Oxidace fenolických látek v případě poškozených hroznů probíhá nejčastěji vlivem činnosti enzymu zvaného lakáza, který pochází z plísně *Botrytis cinerea*. [1] *Botrytis cinerea* způsobuje nekrotické skvrny a šedý povlak na listech, stoncích a plodech. Víno z napadených hroznů vykazuje nižší obsah monosacharidů a vyšší zastoupení glycerolu a kyseliny glukonové. [13] Rozvoji činnosti lakázy nelze snadno zabránit, protože je odolnější vůči působení oxidu siřičitého a taktéž může být jejím substrátem celá řada různorodých sloučenin. [1] Ve víně vzniká hnědý zákal, který ničí barvu červených vín. [7] K redukci kyslíku lakázou dochází ve dvou krocích, při kterých vznikají volné hydroxylové radikály podléhající dalším reakcím, čímž se rozšiřuje dopad působení enzymu i na další sloučeniny. [12]

Hrozny mohou být napadeny botrytidou již jako nezralé, nebo i zralé. Rozlišujeme šedou a ušlechtilou hnilobu. Jako šedá hniloba je *Botrytis cinerea* nežádoucí, protože snižuje kvalitu vyráběného vína. Pokud se jedná o hnilobu ušlechtilou, je naopak rozvoj botrytidy žádoucí, hyfy pronikají slupkou bobule a dochází k odparu vody. V důsledku odpařování vody dochází v bobulích ke zvyšování koncentrace cukrů [14] a produkci kyseliny glukonové, [12] což způsobuje vznik botrytického buketu. [14] Tento buket je žádoucí zejména při výrobě dezertních vín jako je Sherry, Madeira nebo Portské. [12]

Některé sloučeniny mohou tvorbu lakázy dokonce podporovat, jedná se např. o kyselinu gallovou, pektiny nebo terpenoidy. Naopak resveratrol tvorbu lakázy inhibuje. Účinek lakázy lze redukovat dávkou trislovin, případně zasyřením. Oxid siřičitý odstraňuje vznikající peroxid vodíku redukcí na vodu nebo redukuje vznikající chinony zpět na fenolové sloučeniny. Peroxid vodíku vzniká právě z kyslíku rozpouštějícího se ve víně. [5] Pravděpodobně

nejúčinnějším způsobem k odstranění aktivity lakázy je zahřátí moštu na 75 °C po dobu nejméně 2 minut. Jelikož je lakáza kyselý glykoprotein, nelze ji z moštu odstranit čiřením bentonitem, protože se na něj nedokáže účinně navázat. ^[12]

1.1.2.2 Penicillium expansum

Dalším nežádoucím mikroorganismem, který způsobuje hnilobu je *Penicillium expansum*, jehož aktivita se projevuje při poškození hroznů. ^[14] Nebezpečí projevu této plísně je vysoké zejména v teplém a vlhkém podnebí. Infikované bobule měknou a jejich barva se mění na olivově zelenou až světle hnědou, v pokročilém stadiu se mohou bobule rozpadat a smršťovat. Plíseň může napadnout jednotlivé bobule i celé hrozny. Nebezpečí plísně pro lidský organismus tkví v produkci mykotoxinů, zejména patulinu. ^[12] Patulin má negativní dopad lidské tělo, a proto je mezinárodními předpisy stanoven jeho limitní obsah v ovoci a ovocných výrobcích. Nebezpečné působení patulinu pravděpodobně spočívá v mutagenním účinku, kdy poškozuje chromozomy a váže se přes thiolové skupiny na bílkoviny a glutathion. ^[15]

2 KATEGORIE VÍNA VÝSTUPNÍ

Kategorie vyráběných vín jsou stanoveny zákonem č. 321/2004 Sb. O vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů v platném znění ^[16]. Mimo rozdělení dané zákonem lze vína rozdělit na tichá a šumivá nebo perlivá. Jako tiché víno se označuje každé, které nespĺňuje požadavky pro víno šumivé nebo perlivé. Rozdíl mezi šumivými a perlivými víny spočívá v původu oxidu uhličitého. V případě šumivých vín oxid uhličitý vzniká výhradně prvotním nebo druhotným alkoholovým kvašením hroznového moštu nebo vína, přičemž vzniklý přetlak dosahuje minimálně 3 barů při 20 °C. Perlivé víno je oxidem uhličitým zpravidla dosycené a vzniklý přetlak dosahuje nejvýše 2,5 baru. Nejznámější rozdělení vín je podle barvy na bílá, růžová a červená. Bílé víno je vyrobené z bílých nebo červených hroznů révy vinné, popřípadě i z modrých hroznů bez nakvášení rmutu. Bílé víno z modrých hroznů bývá označováno jako tzv. klaret. Růžové víno bývá zpravidla vyráběno z modrých hroznů krátkým kvašením rmutu na slupkách. Konečně červené víno pochází pouze z modrých hroznů vyráběné kvašením rmutu slupkách. ^[17]

Tichá vína rozděluje zákon podle cukernatosti hroznů do dvou základních kategorií – vína jakostní a jakostní s přívlastkem. Jakostní víno je vyrobeno z hroznů, které dosáhly cukernatosti minimálně 15 °NM (stupně normalizovaného moštoměru) a lze jej rozdělit na jakostní víno odrůdové a známkové. Obě tato jakostní vína se vyrábí z hroznů sklizených na vinici vhodné pro jakostní víno stanovené oblasti nebo smíšením jakostních vín, přičemž u odrůdových jakostních vín je možné mísit nejvýše 3 odrůdy. Cukernatostí se rozumí obsah zkvasitelných cukrů v moštu vyjádřený ve stupních normalizovaného moštoměru, které vyjadřují obsah zkvasitelných cukrů v kilogramech na 1 hektolitr hroznového moštu. ^[16]

Jakostní víno s přívlastkem lze rozdělit podle cukernatosti hroznů na další druhy, kterými jsou kabinetní víno, pozdní sběr, výběr z hroznů, výběr z bobulí, výběr z cibéb, ledové a slámové víno. Kromě cukernatosti jsou pro vybrané druhy stanoveny i další požadavky. Jakostní víno s přívlastkem výběr z cibéb je možno vyrábět pouze z vybraných bobulí napadených ušlechtilou plísní *Botrytis cinerea* nebo z přezrálých bobulí s cukernatostí nejméně 32 °NM. Jakostní víno s přívlastkem ledové víno dosahuje cukernatosti 27 °NM, stejně jako víno slámové. Rozdíl spočívá ve zpracování hroznů, přičemž ledové víno lze vyrábět pouze z hroznů, které byly sklizeny při teplotách -7 °C a nižších, které zůstaly zmrazeny v průběhu sklizně i zpracování. Slámové víno je vyrobené z hroznů, které byly

před zpracováním uloženy na slámě, rákosu nebo byly zavěšeny ve větraném prostoru minimálně 3 měsíce. ^[16]

Kromě rozdělení vín zákon stanovuje také požadavky na výrobu vína, jeho označování a uvádění do tržní sítě. Především je striktně zakázáno produkty falšovat, konzervovat jakostní víno s přívlastkem chemickými látkami (s výjimkou oxidu siřičitého) a skladovat ovocné víno nebo jeho směsi v prostorách, kde je skladováno víno z révy vinné. Zvyšovat přirozený obsah alkoholu, měnit obsah kyselin vína a doslazovat je možné pouze s povolením Státní zemědělské a potravinářské inspekce. ^[16]

2.1 Chemická oxidace vína

Chemická oxidace převažuje ve víně, tedy v části výrobního procesu, kdy již proběhla alkoholová fermentace. Prvním substrátem chemické oxidace jsou zpravidla polyfenoly obsahující katechol nebo část kyseliny gallové. Stejně jako při enzymatické oxidaci vznikají chinony, rozdíl je ovšem v průběhu reakce. Kyslík nereaguje přímo s fenolovými sloučeninami, ale postupným přenosem elektronů z iontů přechodných kovů na kyslík. Katalyzujícími přechodnými kovy jsou zejména železo a měď. V průběhu reakce dochází ke vzniku hydroperoxidového a hydroxylového radikálu a peroxidu vodíku. Radikály následně mohou reagovat s prakticky jakoukoliv organickou složkou vína. Pokud by víno zráló při vyšších teplotách, mohlo by docházet k jeho hnědnutí i vlivem karamelizace nebo Maillardových reakcí. Negativnímu působení enzymů lze zabránit použitím antioxidantů např. oxidu siřičitého a kyseliny askorbové. ^[18]

2.2 Vliv kyslíku na kvalitu šumivých vín

Šumivá vína kyslík ovlivňuje negativně. Způsobuje zvýšení oxidačně-redukčního potenciálu, čímž se oxidační reakce ve víně urychlují. Barva vína přechází do žlutých tónů a aroma získává nežádoucí oxidační tón. Nízký oxidačně-redukční potenciál je nutný pro vyváženou chuť, stabilitu a celkovou jakost šumivých vín. Snížením tohoto potenciálu lze přispět ke vzniku složitých esterů, což má podstatný vliv na vývoj buketu vína. U šumivých vín lze riziko okysličení snížit čiřením a odstraněním kationtů kovů, především železa a mědi, které při oxidaci působí jako významné katalyzátory. ^[19]

3 ZÁKLADNÍ ANALÝZY BIOCHEMICKÉ, MIKROBIOLOGICKÉ A ENOLOGICKÉ

Pro pochopení dopadu oxidace na víno je třeba znát přesné látkové složení vína a vliv kyslíku na jednotlivé přítomné sloučeniny. Aby bylo možné negativní působení kyslíku eliminovat, je nutné znát příčiny jeho průniku do bobulí, rmutu, moštu či vína a provést proti nim případná preventivní opatření. Příčinou průniku kyslíku do vína může být i působení mikroorganismů, případně nešetrná manipulace s vínem při výrobě. Jedním z nejdůležitějších parametrů vína je obsah polyfenolických látek, které jsou oxidovány nejdříve a jsou tedy považovány za významné antioxidanty. Prvním substrátem oxidace jsou estery kyseliny hydroxyskořicové s kyselinou vinnou. [4]

3.1 Biochemické analýzy

Biochemické analýzy zahrnují především stanovení přírodní antioxidační kapacity vína. Stanovení antioxidační kapacity je velmi důležité, neboť zahrnuje působení látek, které zabraňují negativnímu působení reaktivních volných kyslíkových radikálů, případně dusíkatých radikálů. Radikály mají schopnost modifikovat funkci a strukturu lipidů, bílkovin a nukleových kyselin, což vede ke změnám v buněčných strukturách, poškození tkání, případně orgánů a důležitých funkcí. Jelikož není možné plně napravit poškození biomolekul, je nutné používat preventivní opatření proti vzniku a působení radikálů, k čemuž slouží antioxidanty (např. vitaminy C a E, karotenoidy, polyfenolické sloučeniny). Ve víně, zejména v červeném, hrají důležitou roli zejména polyfenolické sloučeniny, mezi které patří flavonoidy, katechiny a fenolické kyseliny. Protože mají jmenované sloučeniny rostlinného původu mnohem vyšší účinek než antioxidační vitaminy, jsou velmi důležité v prevenci vzniku např. kardiovaskulárních chorob. Proto je důležité znát jejich antioxidační kapacitu. [20] Vyšší antioxidační účinek polyfenolických látek je pravděpodobně způsoben jejich schopností zůstat poměrně stabilní i po ztrátě vodíku. [3]

3.1.1 Metody stanovení antioxidační kapacity

V dnešní době je známo velké množství metod pro stanovení antioxidační kapacity, což vyplývá z mnoha mechanismů, kterými mohou antioxidanty působit (nejčastěji přímá reakce s radikály nebo reakce s přechodnými kovy). Obecně lze všechny tyto metody rozdělit

na dvě skupiny, kdy do první spadají metody hodnotící schopnost eliminovat radikály a do druhé skupiny metody posuzující redoxní vlastnosti látek. [20]

Mezi metody založené na eliminaci radikálů se řadí především metody hodnotící eliminaci syntetických radikálů (metody využívající ABTS, DPPH, galvinoxyl nebo jiné stabilní radikály), dále metody hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů nebo lipidové peroxidace. Do metod založených na hodnocení redoxních vlastností látek spadají chemické metody jako je FRAP (ferric reducing antioxidant potential) a elektrochemické metody (cyklická voltametrie, HPLC metoda s elektrochemickou detekcí). [20]

Metoda využívající $ABTS^{\cdot+}$ je založena na schopnosti vzorku či látek zhaset kation-radikál $ABTS^{\cdot+}$ (2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)). Zjištěná antiradikálová aktivita je následně porovnávána s antiradikálovou aktivitou Troloxu, což je syntetická 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina. Zhasení radikálu $ABTS^{\cdot+}$ lze indikovat spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra (měření absorbance při 734 nm). Měření může probíhat v hydrofilním i lipofilním prostředí a bývá často využíváno pro svou rychlost, jednoduchost a široké uplatnění. Na podobném principu je založena metoda využívající DPPH, která využívá reakce 1,1-difeny-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl na DPPH-H (difenylpicrylhydrazin) měřitelný při 517 nm. [20]

3.2 Mikrobiologické analýzy

Pro analýzu mikroorganismů jsou používány metody molekulární biologie, které poskytují dostatečně rychlé a přesné výsledky bez potřeby kultivace. Metody slouží ke stanovení kontaminujících mikroorganismů nebo detekci změn vlastností produkčních kmenů vlivem mutací v průmyslovém odvětví nebo jsou využívány také taxonomické a fyziologické studie. Z dnes hojně využívaných postupů lze jmenovat např. analýzu rRNA, ale dříve byly využívány metody založené na testování složení nukleových kyselin, případně hybridizaci. [21]

Stále jsou ale taktéž využívány kultivační, mikroskopické nebo screeningové metody. Vzorky pro mikrobiologickou analýzu mohou být odebírány v průběhu celého procesu výroby pro zjištění příčiny onemocnění vína, vzniku zákalu nebo stanovení účinnosti filtrace. Nejpodstatnější částí rozboru je odběr vzorků, který může nejvíce ovlivnit celou analýzu. V případě bobulí se odběr provádí z různých částí vinice, odstříhnutím několika bobulí nebo celého hroznu. Vzorek moštu nebo vína se odebírá do sterilních lahví pomocí pipet či hadic, z různé hloubky nádoby. [22]

Mikroflóru bobulí hroznů tvoří především kvasinky, nejčastěji se jedná o *Kloeckera apiculata* a *Hanseniaspora uvarum*, v malém množství i jiné druhy. Dále se na bobulích vyskytují octové bakterie, bakterie mléčného kvašení a některé druhy plísní. Nejrizikovějším zástupcem z plísní je *Botrytis cinerea* způsobující zhoubnou hnilobu hroznů, u vybraných odrůd považovanou za ušlechtilou. Taktéž v moštu jsou nejvíce zastoupeny kvasinky pocházející z bobulí nebo vinařského zařízení. Další kvasinky jsou do moštu přidávány jako startovací kultury. Divoké kvasinky pocházející z hroznů mají velký význam na počátku etanolového kvašení, ale postupně jsou nahrazovány kulturními *Saccharomyces cerevisiae*, protože nejsou příliš odolné vůči vyšší koncentraci alkoholu. U červených vín následuje po etanolovém kvašení jablečno-mléčná fermentace, kdy převážnou část mikroflóry tvoří bakterie mléčného kvašení pocházející z vinohradu nebo starterové kultury, konkrétně bakterie *Oenococcus oeni* s vysokou účinností fermentace, tolerancí vůči nízkému pH a obsahu etanolu. Ve víně jsou přítomny zejména druhy odolné vyšší koncentraci alkoholu jako kvasinky *Saccharomyces* sp., *Candida* sp. Případně mohou být přítomny i další mikroorganismy způsobující mikrobiální kažení, kterými mohou být bakterie, kvasinky i plísně. [22]

3.2.1 Mikroskopické metody

Mikroskopické vyšetření je vhodné pro vzorky s nižším počtem mikroorganismů, nejčastěji se používají techniky obarvující buňky, zejména Gramovo barvení pro bakterie a vitální barvení pro kvasinky. Gramovo barvení odlišuje grampozitivní a gramnegativní bakterie. Vitální test založený na semipermeabilitě plazmatické membrány slouží ke zjištění fyziologického stavu buněk kvasinek. Testy bývají vyhodnocovány mikroskopicky. [22]

Ke kvantitativnímu stanovení slouží Bürkerova komůrka – masivní sklíčko s vyrytou mřížkou různě velkých čtverců a obdélníků o definované velikosti, kde lze buňky jednoduše počítat. Podle počtu mikroorganismů je vzorek vyhodnocen. [22]

3.2.2 Kultivační metody

Pro kultivační metody se běžně používají různé typy kultivačních půd, které jsou odlišné svým složením, pH i konzistencí. Živné půdy mohou být pevné nebo tekuté, s různým složením, které závisí na kultivačních nárocích analyzovaných mikroorganismů. Půdy obsahují zdroj energie, uhlíku a dusíku, minerální látky, vitaminy a vodu, složením odpovídají i nárokům na osmotický tlak a pH. Kromě složení půd je nutné při kultivaci dodržovat dobu

kultivace, teplotu a složení atmosféry odpovídající nárokům stanovovaných mikroorganismů. [22]

Ve víně se obvykle stanovuje celkový počet mikroorganismů, k čemuž slouží „Plate Count Agar“, tedy univerzální živná půda, která svým složením odpovídá většině aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů. Dále je používán Chloramfenikolový agar s dichloranem a bengálskou červení pro kultivaci kvasinek a mikromycet, obsahující látky inhibující růst bakterií a zpomalující růst plísní. Pro zjištění počtu laktobacilů ve víně je využíván „Tomato Juice Agar“, který má pH upravené na 5,0 vyhovující právě rodu *Lactobacillus*. Ke kultivaci ostatních bakterií mléčného kvašení slouží agar o pH 6,2 s názvem „De Man Rogosa Sharp“, růst bakterií mléčného kvašení je zde podpořen mikroaerofilními podmínkami kultivace. [22]

3.2.3 Screeningové metody

Screeningové metody slouží k rychlému zjištění kontaminace ploch, přístrojů a zařízení. Tyto metody mohou být přímé, kterými lze přímo stanovit počet mikroorganismů, nebo nepřímé, tedy stanovující pouze parametry na výskytu mikroorganismů závislé. Jedná se o stěr ploch, otisk povrchu na otiskové misky, případně stanovení ATP bioluminiscenční metodou. Screeningové metody jsou důležité, neboť z kontaminovaných ploch se mohou mikroorganismy lehce přenést do vína. [22]

3.3 Enologické analýzy

Enologickými analýzami rozumíme stanovení jednotlivých složek typických pro víno, podle kterých se následně může víno řadit do různých kategorií a které rozhodují o organoleptických vlastnostech vína. Složení látek ve víně se ovšem v průběhu výroby mění. V počátečních fázích je ovlivněno hrozny a faktory, které mají vliv na jejich zrání jako je odrůda, terroir (klimatické a půdní charakteristiky), způsob pěstování a stav hroznů při sklizni. Další fáze výroby jsou již ovlivnitelné vinařem, a právě v důsledku použité technologie se konečná vína řadí do různých kategorií. [4]

Základní složkou vína vzhledem k obsaženému množství je voda, která tvoří 70-90 % celého vína. Ostatní obsažené látky a sloučeniny lze rozdělit na těkavé a netěkavé. Mezi těkavé látky řadíme etanol zaujímající 7-15 % z celého objemu vína, dále aldehydy, ketony a ostatní vyšší alkoholy, aromatické složky, těkavé kyseliny a oxid siřičitý. Těkavé látky jsou varem

oddělitelné, jejich obsah zásadně ovlivňuje celkové aroma vína. Netěkavé látky nejsou podělitelné varem, tvoří extrakt vína a jeho plnou chuť, podílí se také na vnímání harmonie a dochuti vína. Mezi netěkavé složky vína se tedy řadí sacharidy, netěkavé kyseliny, minerální látky, třísloviny a barviva, dusíkaté látky a vitaminy. [4]

Pro stanovení složek vína se používají analýzy kvalitativní, které poukazují na přítomnost jednotlivých složek, a také kvantitativní stanovující množství těchto složek. Metody pro potřeby vinaře bývají co nejjednodušší, jedná se o titrační metody a rychlé testy tzv. „Malé vinařské laboratoře.“ Pokud je požadováno přesné zařazení vína podle zákona, je stanovení prováděno akreditovanou laboratoří podle akreditovaných metod jako jsou různé typy chromatografie, spektrofotometrie nebo metody založené na použití indukčně vázaného plazmatu. [21]

3.3.1 Etanol

Etanol vzniká alkoholovou fermentací, tedy metabolickou přeměnou glukózy a fruktózy kvasinkami za nepřístupu vzduchu. Kromě etanolu vzniká při fermentaci také oxid uhličitý, menší množství jiných sloučenin a tepla. Největší uváděné množství etanolu, které může vzniknout ze 100 g glukózy se rovná 51,11 g. Právní předpisy dělí alkohol na skutečný, možný, celkový a přirozený. Přirozený alkohol představuje koncentraci přepočtenou z původní cukernatosti moštu. Možný alkohol vyjadřuje množství, které by vzniklo překvašením přítomného cukru. Destilací lze stanovit obsah skutečného alkoholu, nejedná se ovšem o čistý etanol, ale jeho směs s dalšími těkavými alkoholy a estery, které nelze destilací oddělit. Obsah skutečného alkoholu je v objemových procentech uváděn na etiketě. Běžně je jeho obsah 11 až 14 obj. %, nižší koncentrací se vyznačují ledová vína, vyšší naopak vína likérová, do kterých je etanol přidáván. Celkový obsah alkoholu vyjadřuje sumu alkoholu skutečného a možného. [4] Ačkoli je etanol oxidací přeměňován na acetaldehyd, je pokles koncentrace etanolu nepodstatný a oxidace nemá tedy na jeho obsah významný vliv. [3]

Mimo etanol obsahuje víno i jiné alkoholy, například metanol, propan-1-ol a další. Tyto alkoholy jsou ovšem obsaženy pouze v malém nebo stopovém množství. Metanol vzniká enzymatickou hydrolýzou pektinů během fermentace, není ovšem vytvářen přímo alkoholovým kvašením. [7]

Obsah skutečného alkoholu, tedy nejen etanolu, ale i ostatních složek neoddělitelných destilací, lze stanovit pomocí hustoty. Stanovení spočívá v oddestilování alkoholu z analyzovaného vzorku vína a následným stanovením jeho hustoty při 20 °C. ^[21] Hustotu lze stanovit pyknometricky, kdy se měří hmotnost přesně daného objemu vzorku. ^[4] Podle zjištěné hustoty je následně z alkoholměrných tabulek odečtena objemová koncentrace alkoholu. ^[21]

3.3.2 Aromatické složky

Aromatické složky lze podle doby vzniku rozdělit na primární, sekundární a terciální. Primární aromatické látky pocházejí z hroznů, vyskytují se volně nebo jako vázané ve formě prekurzorů sekundárních aromatických látek. ^[1] Mezi primární aromatické látky řadíme např. terpeny, pyraziny, thioly, estery nebo těkavé fenoly. ^[4] Často bývá zmiňován například obsah monoterpenů s květinovým aroma v muškátových odrůdách (Muškát moravský, Tramín, ...), β -damascenon typický pro odrůdu Chardonnay nebo methoxypyraziny odpovědné za bylinné a travnaté aroma odrůd Cabernet a Sauvignon. ^[1] Sekundární aroma vzniká v průběhu technologických procesů z prekurzorů, nejčastěji metabolickou aktivitou kvasinek při alkoholové fermentaci. ^[21] Řadíme sem aldehydy, ketony a vyšší alkoholy. Mezi nejdůležitější vyšší alkoholy patří isopropylalkohol, isobutylalkohol, isoamylalkohol a nenasyčený fenyletanol přítomný v červeném víně. Vyšší alkoholy tvoří velmi malý podíl vína, pouze 200-600 mg.l⁻¹, ale hrají velmi důležitou roli při tvorbě aroma. ^[7] Terciální neboli ležácké aroma vína zahrnuje aromatické látky vznikající při zrání a ošetřování vína a taktéž vznikající biochemickými reakcemi při zrání vína v lahvi. Nejdůležitějšími probíhajícími reakcemi jsou esterifikace alkoholů a karboxylových kyselin. Vlivem probíhajících reakcí dochází k přeměně aroma na komplexnější a jemnější. ^[21]

Většina aromatických látek je oxidací ovlivněna negativně, existují ovšem výjimky jako např. linalool, vaniliny nebo aldehydy, které nejsou přítomností kyslíku ovlivněny. ^[23] Negativní působení kyslíku na aromatické látky lze potvrdit senzoryckým hodnocením po několika měsících zrání vína, při kterém lze zaznamenat ztrátu ovocných tónů, ^[24] což je projevem ztráty aromatických esterů (ethylhexanoát, ethyloktanoát nebo ethylacetát). ^[10] Negativní účinek kyslíku na aroma vína pravděpodobně neplatí, pokud se jedná o thiolové sloučeniny primárního aroma, protože výsledky několika výzkumů prokazují, že se jejich obsah vlivem kyslíku zvyšuje. ^[25] Degradaci aromatických látek lze zabránit použitím oxidu siřičitého. ^[26]

Aromatické látky vína bývají často stanovovány pouze senzoričky, protože je jejich analytické stanovení složité a vyžaduje nejprve jejich extrakci z vína s následnou plynovou chromatografií. ^[27] Plynová chromatografie obecně slouží ke stanovení plynů, kapalin nebo pevných látek s bodem varu okolo 400 °C. Metoda spočívá v přenosu analyzovaného vzorku mezi mobilní fází (nosný plyn) a stacionární fází, která je umístěna v chromatografické koloně, přičemž dochází k rozdělení vzorku na jednotlivé složky. Rychlost prostupu kolonou jednotlivých složek je různá, na jejím základě je následně v detektoru zjišťována koncentrace separovaných látek. Nejčastějším detektorem je plamenově ionizační detektor FID, který dokáže stanovit široké rozmezí látek v různých koncentracích pomocí měření změny elektrické vodivosti vodíkového plamene způsobené přítomností analyzované látky. ^[28]

3.3.3 Těkavé kyseliny

Za těkavé kyseliny označujeme organické kyseliny s krátkým uhlíkovým řetězcem jejichž koncentrace ve víně je stanovena právními předpisy na maximálně 1 g.l⁻¹, což odpovídá asi 15 % z obsahu celkových kyselin. ^[4] Největší zastoupení, až 90 %, má kyselina octová, zbytek zaujímají kyseliny propionová, máselná, kapronová a valerová. Kyselina octová může vznikat fermentační činností kvasinek jako meziproduct glykolýzy, k jehož vzniku dochází enzymatickými reakcemi z pyruvátu. ^[21] Další možnou cestou vzniku kyseliny octové je oxidace etanolu vlivem činnosti octových bakterií na nahnilých nebo jinak poškozených hroznech. Již z názvu je zřejmé, že se množství těkavých kyselin vlivem kyslíku snižuje. ^[25]

Pro stanovení těkavých kyselin je třeba nejprve odstranit z vína oxid uhličitý a následně vzorek destilovat s vodní párou. Destilát se následně titruje roztokem hydroxidu sodného na indikátor fenolftalein. ^[21] Pro zpřesnění výsledku analýzy lze zároveň stanovit obsah volného oxidu siřičitého jodometrickou titrací na škrobový maz, který se následně od výsledku odečte. ^[4]

3.3.4 Netěkavé kyseliny

Z netěkavých kyselin jsou ve víně nejvýznamnější kyselina vinná a jablečná, jejichž obsah ve víně zaujímá 70-90 % ze všech organických kyselin. ^[1] Tyto kyseliny se tvoří během zrání přímo v hroznech, a kromě nich je ve víně přítomno také malé množství kyseliny citronové a dalších. Během technologických procesů dochází reakcemi ke vzniku dalších netěkavých kyselin, zejména mléčné, jantarové a pyrohroznové. Obsah těchto kyselin se

ve víně pohybuje mezi 4 a 9 g.l⁻¹, vyšší a žádoucí obsah je typický pro vína bílá, ^[4] kde podporují svěžest vína. Naopak u červených vín je vyšší obsah kyseliny jablečné nežádoucí, proto je odbourávána jablečno-mléčnou fermentací. Nejsilnější kyselinou je právě kyselina vinná odpovědná za kyselou chuť vína. Kyselina jablečná způsobuje drsnou hrubou chuť. Kromě ovlivnění organoleptických vlastností vína slouží kyseliny také jako konzervační činidlo. ^[1] Kyseliny vinná a jablečná také hrají důležitou roli v procesu oxidace tím, že určují katalytickou aktivitu redoxního páru železa. Železo katalyzuje oxidaci polyfenolických látek ve víně na chinony. ^[29]

Obsah netěkavých kyselin ve víně vychází ze stanovení celkových titrovatelných kyselin, od kterých se odečte stanovený obsah těkavých kyselin zjištěný pomocí titrace destilátu z destilace vodní parou. Stanovení celkových titrovatelných spočívá v přidávání 0,1M hydroxidu sodného k roztoku vína s vodou až do hodnoty pH 7, kdy se ze spotřeby odměrného roztoku vypočte právě koncentrace celkových titrovatelných kyselin. ^[21] Obsah kyseliny vinné lze stanovit samostatně spektrofotometricky za použití metavanadičnanu amonného, se kterým tvoří barevný komplex měřitelný spektrofotometricky při 530 nm. ^[22]

3.3.5 Oxid siřičitý

Oxid siřičitý je považován za nezbytnou součást vína, která je důležitá pro zachování kvality. ^[21] Pro své antioxidační a antimikrobiální účinky je oxid siřičitý do vína dodáván v průběhu výroby, ale menší část se vyskytuje i jako endogenní, vznikající fermentací. V průběhu fermentace vzniká transformací sirných sloučenin jako je cystein nebo methionin. ^[30] Použití oxidu siřičitého může mít i negativní dopad, jelikož může být nebezpečný pro lidské zdraví. Proto je velmi důležité znát jeho koncentraci ve víně. ^[21] Při překročení koncentrace 10 mg.l⁻¹ vína musí být tato skutečnost na lahvi vína uvedena, nejvyšší povolené množství je 200 mg.l⁻¹. ^[22] Oxid siřičitý se ve víně vyskytuje volný nebo vázaný. Volná forma zahrnuje molekulární SO₂, kyselinu siřičitou H₂SO₃ a volné ionty HSO₃⁻ a SO₃²⁻. Vázaný oxid siřičitý bývá navázán na karbonylové sloučeniny. ^[4]

Obsah oxidu siřičitého ve víně lze stanovit jodometricky. Po okyselení vína lze stanovit volný oxid siřičitý, naopak pro stanovení celkového oxidu siřičitého je nutné alkalické prostředí, ve kterém dochází k uvolnění oxidu siřičitého z vazeb s karbonylovými sloučeninami. ^[4] Odměrný roztok přímo oxiduje volné molekuly oxidu siřičitého. ^[22] Z rozdílu obou analýz lze následně odečíst obsah vázaného oxidu siřičitého ve víně. ^[4]

3.3.6 Sacharidy

Nejvýznamnější podíl sacharidů ve víně přítomných tvoří D-glukóza a D-fruktóza. Kromě sladké chuti jsou odpovědné také za plnost v chuti a texturu vína. Z pohledu hroznů jsou tyto monosacharidy, vzniklé fotosyntézou a enzymatickým štěpením přítomné sacharózy, důležité pro růst a vývoj. Glukóza s fruktózou jsou také odpovědné za osmotický tlak v buňkách bobulí ^[21] a velmi důležitý význam mají při alkoholové fermentaci, kdy jsou kvasinkami metabolizovány na etanol a buněčnou energii. ^[7] Mezi další sacharidy ve víně přítomné se řadí rafinóza, maltóza, galaktóza, arabinóza a xylóza. ^[1] Sacharóza z celkového množství cukrů zaujímá pouze desetiny gramu a není možno ji do vín přidávat. ^[4] Obsah cukrů ve zralých bobulích může dosáhnout až 250 g.l⁻¹ ^[1] a je důležitý pro určení možného obsahu alkoholu ve víně. ^[21] V průběhu zpracování ovšem dochází k poklesu v obsahu cukrů, přičemž nejrychleji je snižováno množství D-glukózy, protože je upřednostňována kvasinkami. Zbytkový cukr suchých vín je tedy tvořen převážně fruktózou. ^[7]

Obsah cukrů v moštu, tedy cukernatost, je považován za nejdůležitější parametr pro klasifikaci vín podle zákona č. 321/2004 Sb. Zároveň je stanovení velmi jednoduché za použití refraktometru případně areometru. Cukernatost moštu je stanovována ve stupních normalizovaného moštoměru (°NM) a udává možný obsah alkoholu ve víně. Stupeň normalizovaného moštoměru udává obsah cukru v kg na 100 l moštu. ^[1] Ve víně bývají stanovovány redukující cukry, tedy cukry, které jsou schopny za varu redukovat alkalicko-meďnatý roztok síranu měďnatého a uhličitanu sodného. Koncentrace redukujících cukrů se stanoví jodometricky odměrným roztokem thiosíranu sodného, případně manganometricky za použití alkalicko-meďnatých Fehlingových roztoků titrací odměrným roztokem manganistanu draselného. ^[22] Obsah sacharózy lze stanovit z rozdílu obsahu redukujících cukrů po zahřátí s kyselinou chlorovodíkovou a před zahřátím. ^[21]

3.3.7 Minerální látky

Minerální látky se do hroznů dostávají z půdy. Následně jsou tyto látky velmi důležité při biochemických procesech, které během vývoje a zrání bobulí probíhají. V průběhu zrání se obsah minerálních látek zvyšuje, mezi nejvíce zastoupené se řadí draslík, sodík, vápník a hořčík. Zpracováním hroznů se minerální látky také dostávají do hroznového moštu, a to v množství 3 až 5 g.l⁻¹. V nejvyšším zastoupení je opět draslík v množství 500 až 900 mg.l⁻¹. V desítkách miligramů v jednom litru moštu je zastoupen vápník s hořčíkem a v o něco men-

ším množstvím je přítomen také sodík a železo. Ve víně jsou přítomny zejména sodík, draslík, hořčík, lithium a křemík, ^[21] které se zásadním způsobem podílí na plnosti, vyváženosti a doznívání chuti a jsou také důležité při kombinování vína s pokrmy. ^[1] Z pohledu oxidace jsou velmi důležitými prvky vína měď a železo, které mohou vývoj vína v přítomnosti kyslíku výrazně ovlivnit. Oba tyto prvky se ve víně vyskytují v koncentracích 0,1-10 mg.l⁻¹. ^[31] Během oxidace fenolických látek a dalších složek vína je trojmocné železo redukováno na dvojmocné, ale v přítomnosti kyslíku je oxidováno zpět na trojmocné, podobně oxidaci katalyzuje i měď. ^[26]

Stanovení minerálních látek probíhá za použití spektrofotometru na základě tvorby barevného komplexu dané minerální látky s určitou přídatnou látkou. Například železo lze stanovit na základě vzniku barevného produktu reakcí s peroxidem vodíku a thiokyanátem draselným. Vzniklý produkt se měří při 470 nm. ^[22] Obsah minerálních látek je jedním ze základních kritérií při hodnocení kvality a pravosti původu nejen vína. ^[21]

3.3.8 Třísloviny a barviva

Třísloviny a barviva bývají označovány jako polyfenoly vína. Jejich obsah je více než desetkrát vyšší v červených vínech než ve vínech bílých, kde bývají obsaženy v množství do 250 mg.l⁻¹. ^[4] Tyto látky jsou odpovědné především za barvu vína, jeho tříslovitou a hořkou chuť a také jsou významné pro své antioxidační vlastnosti. Obsah polyfenolických látek se ovšem během technologického procesu snižuje, dokonce až na pouhých 10-50 % z původního obsahu v hroznech nebo moštu. ^[21] Koncentrace fenolických látek ve víně se významně snižuje vlivem oxidace. ^[12] Jsou totiž primárními substráty enzymatické i neenzymatické oxidace, která vede ke vzniku chinonů. ^[18]

Obecně lze polyfenolické látky rozdělit na flavonoidy a ne-flavonoidní sloučeniny. Hlavními ne-flavonoidy jsou fenolové kyseliny, hlavní fenolické sloučeniny bílých vín. Jedná se o deriváty kyseliny hydroxybenzoové a hydroxyskořičové, ^[26] které snadno podléhají oxidaci a způsobují tedy hnědnutí bílých moštů a vín. Dále mezi fenolové kyseliny patří stilbeny vyznačující se svými antimikrobiálními vlastnostmi např. resveratrol. ^[21] Přímý vliv oxidace na koncentraci resveratrolu ve víně nebyl prokázán. Enzymatickou oxidací moštu z modrých hroznů však dochází ke snížení obsahu resveratrolu na 50 %, při reduktivním zpracování je naopak obsah zvyšován. Během zrání vína se koncentrace resveratrolu příliš nemění. ^[3]

Dalšími fenolovými látkami jsou flavonoidy, zejména flavonoly působící jako ochrana před ultrafialovým zářením, např. ve víně přítomný kaempferol nebo kvercetin. [21] Vlivem kyslíku podléhají flavonoidy různým polymerizačním reakcím. [26] Pod fenolové látky řadíme také velmi významná přírodní červená barviva antokyaniny. [21] Největší zastoupení antokyaninů je v horních vrstvách slupky hroznů modrých odrůd a v dužnině hroznů nazývaných „barvířky.“ Obsah antokyaninových barviv se v hroznech zvyšuje s postupující zralostí, v největším zastoupení je obsažen malvidin, dále také delphinidin, kyanidin, petunidin nebo peonidin. [1] Ke ztrátám antokyaninových barviv ve víně dochází při zrání vína za přístupu kyslíku, kdy barviva podléhají autooxidačním reakcím nebo se z nich tvoří komplexnější pigmenty. [32]

Jako třísloviny neboli taniny označujeme flavan-3-oly, které se nachází ve slupce a semenech hroznů, kde tvoří stabilní komplexy s proteiny nebo rostlinnými polysacharidy. Chuť těchto látek je hořká a tříslovitá, přičemž za hořkou chuť jsou pravděpodobně odpovědné nízkomolekulární sloučeniny a za tříslovitou sloučeniny vysokomolekulární. V hroznech a víně se vyskytují především katechin, gallokatechin, epikatechin nebo epigallokatechin. [21] Obsah tříslovin v hroznech závisí na klimatických podmínkách, ve kterých je réva pěstována, ale také na konkrétní odrůdě. Obecně platí, že vyšší obsah tříslovin je v hroznech se silnější slupkou jako je například Cabernet Sauvignon, oproti odrůdám se slupkou tenčí (Rulandské modré). Třísloviny jsou obsaženy také v bílých odrůdách, ovšem v podstatně menším množství, než je tomu v případě odrůd modrých. [33]

Polyfenolické látky vína lze stanovit spektrofotometricky. V případě červených vín se ke stanovení používá Folin-Ciocalteuovo činidlo, se kterým fenolické látky reagují za vzniku barevného produktu měřitelného při 700 nm. U bílých vín probíhá spektrofotometrické měření při 600 nm za použití citranu železito-amonného. Ke stanovení polyfenolických látek vína je také možno využít kapalinové chromatografie v kombinaci s hmotnostní detekcí. [22]

3.3.9 Dusíkaté látky

Dusíkatými látkami jsou chápány látky pocházející z hroznů spotřebovávané kvasinkami. Jedná se o rozmanitou skupinu látek zahrnující zejména aminokyseliny, bílkoviny či amonné soli. Obsah těchto látek je velmi ovlivněn použitou technologií zpracování. [21] Dusíkaté látky přímo ovlivňují kvalitu vína, mají totiž vliv na činnost kvasinek a aromatické látky

vína. ^[1] Přítomnost bílkovin bývá ovšem nežádoucí, jelikož se jedná o málo stabilní sloučeniny se schopností tvorby nežádoucího zákalu, ^[21] a proto bývají z vína odstraňovány čířením pomocí bentonitu. ^[1] Jejich koncentrace je také snižována působením kyslíku. ^[25]

Pro činnost kvasinek jsou významné pouze primární aminokyseliny a amonné ionty, které bývají souhrnně označovány jako „asimilovatelný dusík“. Minimální hodnotou pro úspěšnou fermentaci je 150 mg.l⁻¹ asimilovatelného dusíku. Podstatnější je obsah amonných iontů, které jsou jako zdroj výživy kvasinkami upřednostňovány. Aminokyseliny jsou kromě dusíku i důležitým zdrojem síry, největší zastoupení má arginin a prolin. Prolin ovšem není v anaerobních podmínkách využitelný jako zdroj výživy. ^[1] Dusík bývá do moštu dodáván nejčastěji ve formě síranu amonného, v maximální povolené dávce 30 g.hl⁻¹. ^[34]

Některé volné α -aminokyseliny a amonné ionty lze stanovit formolovou titrací, tedy potenciometrickou titrací alkalickým roztokem po přidavku formaldehydu. Nejprve je nutná neutralizace přítomných kyselin do pH 8,1. Přidaný formaldehyd reaguje právě s α -aminokyselinami a amonnými ionty, čímž dochází k uvolnění vodíkových kationtů, které jsou opět titrovány alkalickým roztokem. ^[4]

3.3.10 Vitaminy

Ze zdravotního hlediska není obsah vitaminů ve víně považován za podstatný, jediným vitaminem vyskytujícím se v hojnějším množství je pouze vitamin B₁, a to v průběhu alkoholového kvašení. ^[21] Thiamin může být do vín dodáván, protože je jedním z růstových faktorů kvasinek. ^[7] V menším množství se vyskytuje také biotin a vitamin B₅, které jsou také důležité jako růstové faktory kvasinek. Nedostatek potřebných vitaminů může mít za následek zvýšenou tvorbu sulfanu. ^[1] Vína bývají doplňována i kyselinou L-askorbovou, v povoleném množství bývá ovšem spotřebována oxidačně-redukčními reakcemi ve víně probíhajícími. Přirozeně se kyselina askorbová vyskytuje pouze v hroznech a čerstvých hroznových moštech. ^[21] Pro svůj nízký obsah a téměř nulový význam nebývá obsah vitaminů ve víně stanovován.

4 POZITIVNÍ FÁZE – NEGATIVNÍ FÁZE

Hlavní cestou, kterou se kyslík dostává do vína je jeho přímý kontakt se vzduchem, který může mít na vznikající víno zejména negativní dopad, pokud k tomuto kontaktu dochází opakovaně. ^[35] Obecně dochází prudkou oxidací vína k negativnímu ovlivnění jeho senzorických vlastností, ale naopak pomalá oxidace může mít pozitivní dopad na konečnou kvalitu vína – dochází k rozvinutí komplexnosti vína. ^[4] Z mnohých studií tedy vyplývá, že kyslík může mít na víno pozitivní i negativní dopad a je tedy velmi důležité rozeznat hranici mezi těmito působeními a zabránit vývinu extrémních oxidačních vlastností. Nelze ovšem říci, že lze vyrobit víno, u kterého by nedošlo k naprosto žádné oxidaci, mírná oxidace je naopak velmi vítána, protože může podporovat čerstvou a ovocnou chuť a aroma. ^[36]

Kyslík pohlcuje každé víno, ale v různém množství a odlišnou rychlostí, což závisí na mnoha faktorech, mezi kterými je na prvních místech teplota a tlak, dále se jedná především o obsah alkoholu (je uváděno, že víno s 12 obj. % alkoholu oxiduje až třikrát rychleji než voda), míru okysličování přítomných látek (polyfenolické látky, železo, měď). ^[4] Právě z důvodu nižšího obsahu polyfenolických látek, které se vyznačují antioxidačními vlastnostmi, jsou k oxidaci náchylnější bílá vína. ^[37] Negativní vliv na oxidaci má přítomnost zbytkového oxidu uhličitého (využití při skladování v inertní atmosféře) nebo oxidu siřičitého, který je známý svými silnými antioxidačními účinky. ^[4]

Nejvýznamnějším substrátem pro kyslík jsou při výrobě vína fenolické látky, ať už flavonoidy, nebo látky jiné než flavonoidy označované jako „ne-flavonoidy.“ Ne-flavonoidy jako deriváty kyseliny hydroxybenzoové a hydroxyskořicové jsou významné především u bílých vín. Kromě obsahu těchto látek závisí vliv kyslíku také na typu vína. Negativně působí kyslík například na svěží vína s vysokou ovocitostí. V případě červených vín jsou substrátem pro oxidaci flavonoidy, především antokyany, flavanoly a flavonoly, zde je ovšem mírná oxidace žádoucí a bývá součástí technologického postupu. ^[1]

4.1 Pozitivní fáze

V určitém kontrolovaném množství může mít kyslík na víno pozitivní dopad především z pohledu stabilizace barvy. K tomuto účelu bývá kyslík dávkován především do červených vín v různém množství, podle čehož rozlišujeme makrooxidaci (hyperoxidaci) a mikrooxidaci, přičemž množství dávkovaného kyslíku je při makrooxidaci až 30x vyšší než při mikrooxidaci. Množství dávkovaného kyslíku ovšem závisí na typu vína, odrůdy

s nízkým obsahem barviv a tříslovin jsou náchylnější k předávkování kyslíkem. Předávkování může obrátit pozitivní vliv kyslíku na negativní, což má za následek hnědnutí vína, ztrátu jeho barvy a celkovou oxidaci sloučenin vína. [38]

4.1.1 Hyperoxidace moštu

Pozitivní vliv hyperoxidace na mošty pro výrobu bílých vín prokázal již Müller Spath v 70. letech minulého století [13] nesířením moštu a přidávkem čistého kyslíku do moštu ještě před odkalením. Tento postup měl za důsledek zlepšení stability bílých vín bez vzniku oxidované chuti konečného vína. [5] Dnes hyperoxidací moštu rozumíme vědomý přídavek kyslíku, který podporuje oxidaci polyfenolických látek v moštu obsažených, čímž lze dosáhnout zjemnění mladých bílých vín, proto bývá tento postup doporučován zejména u aromatických odrůd muškátového typu. Vzniklé hnědé oxidační produkty lze odstranit čiřením, odkalením nebo filtrací moštu. [4] Ke zjemnění dochází i z pohledu svíravosti a hořkosti vína. Hyperoxidace může také zvýšit stabilitu barvy vína, ale vliv na aromatické vlastnosti je sporný, protože výzkumy zaznamenaly snížení, zvýšení i změny aromatických profilů vín. [13]

Kyslík bývá do nesířeného moštu dodáván až do nasycení a vlivem jeho vysoké koncentrace dochází u bílých vín k enzymatické oxidaci prekurzorů fenolických látek na hnědé polymery s vysokou molekulovou hmotností. Vzniklé hnědé polymery jsou následně vyráženy, proto je barva výsledného vína pouze mírně světlejší. Reakce má za důsledek také vyšší odolnost vín vůči hnědnutí a víno se také vyznačuje stabilnějšími sensorickými vlastnostmi. Působení kyslíku na víno při hyperoxidaci velmi závisí na odrůdě vinné révy, obecně ovšem platí, že má významný vliv na obsah fenolických sloučenin. Dochází k poklesu koncentrace derivátů kyseliny hydroxyskořicové a flavonolů. [39]

Hyperoxidaci je ovšem možno aplikovat pouze na zdravé hrozny, u hroznů naoctělých nebo nahnilých je nevhodná, stejně jako při výrobě vín růžových. [4] Hyperoxidací bývá do vína dávkován kyslík v množství 5 až 8 mg.l⁻¹ za den. Kromě zlepšení organoleptických vlastností lze tento postup využít pro zlepšení tvorby sterolů a nenasycených mastných kyselin a pro podporu růstu kvasinek. [1] Kyslík taktéž zvyšuje rezistenci kvasinek vůči silně redukтивnímu prostředí, které svou činností vytvářejí. [34]

4.1.2 Využití kyslíku při řízené fermentaci moštu

Přídavkem kyslíku ke kvasicímu moštu lze zrychlit a prohloubit fermentaci, protože jej kvasinky rychle spotřebovávají ke svému množení. S přídavkem kyslíku, který lze do kvasícího moštu dodat pouhým přetáčením, se ovšem zvyšují požadavky kvasinek na asimilovatelný dusík a vitaminy. Dodaný kyslík je kvasinkami využit pro syntézu membrán, které dodávají do buňky cukry, konkrétně se jedná o syntézu sterolů a nenasycených mastných kyselin, ze kterých se tyto membrány sestávají a bez kterých by kvasinková buňka ztratila svou životaschopnost a odolnost vůči alkoholu. ^[4] Pro syntézu sterolů je nutná koncentrace kyslíku 0,3 až 1 mg.l⁻¹ a pro vývoj nenasycených mastných kyselin přibližně 1 mg.l⁻¹. ^[40]

Pokud víno kvasí v dřevěných sudech, mělo by tedy mít dostatek kyslíku pro správný průběh fermentace, do nerezových tanků je ovšem nutné kyslík v malém množství dodat. ^[19] Kvasinkové buňky mohou během alkoholové fermentace pohltnout mnohem více kyslíku, než je nutné, aniž by došlo k nežádoucímu narušení průběhu fermentace. Překvapivě se v nadbytku kyslíku rychlost fermentace ještě zrychluje a kvasinky vykazují vyšší životaschopnost po celou dobu kvašení. Vyšší životaschopnost může být způsobena změnami v membráně buňky vlivem výhodné syntézy sterolů a nenasycených mastných kyselin, případně přímým působením kyslíku na metabolismus kvasinek vlivem využitím alternativních respiračních systémů. ^[40]

I při fermentaci platí, že není vhodné provzdušňovat poškozené, nahnilé nebo jinak porušené hrozny, protože by docházelo k nevratné oxidaci a rozvoji nežádoucích mikroorganismů. V případě zdravých hroznů lze provzdušňování aplikovat pomocí automatických dávkovačů nebo otevřeným stáčením přes vzduch, přičemž při otevřeném stáčení lze víno obohatit až o 10 mg.l⁻¹ kyslíku. ^[4] Provedené studie ukazují, že je v případě bílých vín nejúčinnější kyslík přidávat na konci exponenciální fáze růstu populace kvasinek, čímž dojde k rychlejší fermentaci většího množství cukrů. Vznikne tak víno s nižším obsahem zbytkového cukru. U červeného vína vede okysličení ke vzniku vyváženějších sensorických vlastností, nižší kyselosti a trpkosti. ^[41] Kvasinky a bakterie mléčného kvašení ovlivňují tvorbu acetaldehydu vlivem oxidace. Kvasinky jsou považovány za katalyzátor tvorby acetaldehydu, bakterie mohou naopak tvorbu acetaldehydu potlačovat, proto je velmi důležité znát obsah mikroorganismů v moštu. ^[9]

4.1.3 Řízená mikrooxidace vína

Řízenou mikrooxidací vína lze zabránit jeho nežádoucí oxidaci. Principem mikrooxidace je pomalé přidávání kyslíku do vína takovým způsobem, aby přísun byl nižší než spotřeba tohoto kyslíku. Tento postup je využíván při alkoholovém kvašení a zrání červených vín, kdy podporuje barevnou stabilitu vína, zároveň eliminuje nežádoucí pachutě ^[4] a urychluje zrání vína. ^[3] Pokud by k podpoře barevné stability kyslíkem nedošlo, bylo by víno nestabilní a jeho barva by při každé další operaci degradovala. ^[4] Pro podporu zrání je vhodné kyslík přidávat do vína v malých dávkách po proběhnutí jablečno-mléčné fermentace. ^[42] Mikrooxidace je také využíváno pro nastartování kvašení, aby měly kvasinky příležitost tvořit látky potřebné pro svůj metabolismus, které dokáží tvořit pouze za aerobních podmínek. ^[4]

Nejčastěji dochází k mikrooxidaci přirozeně při zrání vína v sudech, čímž dochází k neutralizaci sirnatého aroma. Pokud víno zraje v nerezových tancích, je kyslík do vína dávkován v přesných dávkách a ve stanovenou dobu. ^[1] Navíc lze do tanků přidávat dubové třísky, aby víno získalo aroma pocházející ze dřeva. ^[42] Do nerezových tanků lze kyslík dávkovat dvěma způsoby, nepřetržitým přidáváním malých pevných dávek kyslíku nebo přidáváním dávek uzpůsobených množství kyslíku rozpuštěného ve víně až do požadované hodnoty. Při přidavku uzpůsobených dávek kyslíku víno pohltí 3 až 3,5krát více kyslíku než při přidavku fixních dávek. Vzhledem k míře možné oxidace je třeba při mikrooxidaci mít na paměti, že může vlivem nadměrného množství kyslíku dojít ke ztrátě antokyaninových barviv a vzniku nežádoucích žlutých tónů. ^[43] Umělé dávkování kyslíku bývá aplikováno pomocí rozprašovače, který distribuuje plyn ve formě malých bublin, nebo pomocí polopropustné trubkové membrány pod tlakem. ^[3]

Vhodné množství dávkovaného kyslíku je 5 až 20 mg.l⁻¹ za měsíc. ^[1] Zráním v sudech se do vína dostane přímou difúzí přes dužniny sudu maximálně 5 mg.l⁻¹ kyslíku za rok. ^[7] Dávkování kyslíku do vína je nutné kontrolovat, aby vlivem nadměrné oxidace nedošlo ke zvýšení hořkosti vín. ^[42] Použití mikrooxidace je nejvíce ovlivněno teplotou, při které procesy probíhají, přičemž doporučená teplota je v rozmezí 14 až 22 °C. Ovšem zastavení dávkování kyslíku je doporučováno již při teplotě 15 °C, protože by hrozilo jeho nahromadění za nízkých teplot, jelikož by pomalu pracující enzymy nedokázaly kyslík zpracovat s dostatečnou rychlostí. ^[4] Vysoká teplota může vést ke špatné rozpustnosti kyslíku. ^[42] Postup mikrooxidace je vhodný zejména u vín vhodných k dlouhodobému zrání v sudech, tedy vín s vysokým obsahem taninů i antokyanů. ^[1] Protože vlivem kyslíku dochází

k polymeraci fenolických látek, je možné mikrooxidaci použít také pro zvýšení sensorické kvality velmi svíravých a bylinných červených vín. ^[42] Bylo prokázáno, že oxidace v případě červených vín pozitivně podporuje rozvoj ovocného aroma vína. ^[32] Hlavním cílem mikrooxidace je tedy stabilizace barvy, snížení hořkosti a modifikace aromatických vlastností vína. ^[44]

4.1.3.1 Rizika mikrooxidace

Nejvýznamnějším rizikem mikrooxidace je rozvoj nežádoucích mikroorganismů, nejčastěji ve fázi neukončeného alkoholového kvašení. Mezi tyto nežádoucí mikroorganismy se řadí zejména bakterie octového kvašení, jejichž činností se zvyšuje obsah těkavých kyselin ve víně. Rizikem jsou také choroby vína jejichž původci jsou kvasinky rodu *Brettanomyces*. Činností kvasinek *Brettanomyces* vznikají těkavé fenoly, které ve vysokých koncentracích ovlivňují kvalitu vína. Kromě rozvoje nežádoucí mikroflóry může dojít i ke změnám sensorických vlastností jako je barva, chuť a vůně vína nebo nadměrné polymerizaci taninů, čímž vzniká tříslovitý pocit v ústech a snižuje se svěžest a barva vína. ^[1] Nejčastější chybou, jejíž vlivem dochází k negativním změnám sensorických vlastností, je příliš rychlé dávkování kyslíku. Prudkou oxidací dochází také ke zvýšení hladin acetaldehydu ve víně, který negativně ovlivňuje právě sensorické vlastnosti ^[42] nepříjemnou zvětralou chutí, kterou vínu dodává. ^[30]

4.1.4 Změny barviv při zrání červených vín

Během zrání dochází vlivem reakcí antokyaninů s acetaldehydem a taniny ve víně ke zintenzivňování barviv, což také souvisí s kondenzací a polymerací antokyaninů, ke které značnou mírou přispívá oxidace. Pro barevnou stabilitu červeného vína je tedy nutné jeho dostatečné provzdušnění, aby mohla kondenzací s přítomnými sloučeninami vznikat nová barviva. ^[4] Vlivem těchto reakcí dochází ke změně červeno-modravé barvy mladého vína na červeno-hnědou, ^[45] typickou pro vína zrající v sudech, případně oranžovo-červenou u vín zrajících v lahvích. ^[26] Kondenzační reakce mohou probíhat mezi polyfenolickými látkami navzájem, případně mezi polyfenoly a jinými látkami, nejčastěji acetaldehydem. Barviva vzniklá kondenzací v provzdušněném víně vykazují vyšší stabilitu a intenzitu oproti barvivům, která by vznikala, pokud by víno nebylo provzdušněno. Množství antokyaninových barviv se ale oxidací snižuje, ^[46] bylo prokázáno, že po 7 měsících skladování dojde

ke ztrátě volných antokyaninových barviv v podstatně větší míře v případě okysličených vín než u vín vyrobených bez přístupu kyslíku. [45]

K tvorbě nových barevných sloučenin dochází v různých fázích výroby vína. Při fermentaci reagují antokyany s taniny, za vzniku bezbarvých sloučenin, ale oxidací při stáčení a v průběhu jablečno-mléčné fermentace se tyto bezbarvé sloučeniny přeměňují na červené. Červené a nafialovělé odstíny vznikají také oxidací při zrání nebo stáčení vína. V této fázi mohou ale antokyanová barviva vlivem nadměrného množství kyslíku také degradovat, což má za následek úbytek barvy vína. Vliv na změny barviv má i nedostatečné provzdušňování vína, kdy dochází ke vzniku žlutého nádechu, případně zrání vína v lahvích, při kterém může docházet ke vzniku cihlových a oranžových odstínů. Vznik takových nežádoucích odstínů je ovlivněn obsahem taninů. [4] Žluté odstíny mohou vznikat i zráním při zvýšené teplotě v kombinaci s vysokou koncentrací kyslíku, proto musí být kyslík přiváděn kontrolovaně. [26]

4.2 Negativní fáze

Negativní působení kyslíku lze obecně shrnout do několika skupin, které spolu ovšem úzce souvisí nebo se prolínají. Kromě negativního ovlivnění sensorických vlastností se jedná o nedostatky konečného produktu způsobené oxidací a také rozvoj nežádoucí mikroflóry ve víně. [21] Ke styku vína s kyslíkem, tedy mírné oxidaci dochází při mnoha operacích probíhajících během výroby vína, jako je např. přečerpávání vína či jeho filtrace. Mezi operace, při kterých se ve víně rozpustí nejvíce kyslíku se řadí stabilizace solí kyseliny vinné, kdy je rozpuštěné množství kyslíku vyšší než $2,6 \text{ mg.l}^{-1}$. [35] Jednoznačně nejvyšší množství kyslíku se ovšem do vína dostává již při drcení bobulí na rmut, kdy se rozpustí až 8 mg.l^{-1} kyslíku. [41]

Výsledkem nepříznivého působení kyslíku na víno mohou být projevy různých vad, nedostatků a nemocí vín. Mezi nedostatky vína řadíme především změny organoleptických vlastností, které nemusí být důvodem pro neuvedení vína na trh. Naopak některé nedostatky se mohou časem stát vadami vína. Vady vína se taktéž projevují změnou organoleptických vlastností, ale jejich příčinou bývají zpravidla určité fyzikální nebo chemické faktory způsobené použitím nedokonalých hroznů, nesprávným technologickým postupem nebo nekvalitními přídatnými látkami. Za nemoci vína považujeme napadení hroznů kvasinkami, plísněmi či bakteriemi, které se projevují např. křisovatěním, octovatěním. [4]

Rozpustnost kyslíku se zvyšuje při manipulaci s vínem pod tlakem, jako je například stáčení pomocí čerpadel, filtrace, lahvování, či přečerpávání. Naopak podstatně menší množství kyslíku je ve víně rozpuštěno, pokud tyto operace probíhají v inertní atmosféře za nepřístupu vzduchu. Celkem bílá vína absorbují během celého výrobního procesu až 80 mg.l^{-1} kyslíku, u červených vín je potom tato hodnota až desetkrát vyšší, protože se kyslík navazuje nejčastěji na polyfenolické látky, kterých je v červených vínech obsaženo mnohem více než ve vínech bílých. Dalšími látkami ve víně, které často podléhají oxidaci jsou oxid siřičitý, etanol a acetaldehyd. ^[4]

4.2.1 Pinking effect

Jako „pinking effect“ se označuje světle růžovo-červený nádech bílých vín, náchylná k této vadě je zejména odrůda Sauvignon blanc. Nejprve dochází ke změně zbarvení vína, zatímco chuť a vůně zůstávají nezměněné. Až při delší oxidaci dochází i ke změnám chuti a vůně na zvětralou. Příčinou této vady je výroba vín za silně reduktivních podmínek a jejich následný rychlý styk s kyslíkem. Růžové zbarvení vzniká oxidací původně bezbarvých fenolických látek, kterých je vlivem reduktivního prostředí ve víně nadbytek, ^[47] za vzniku červených flavyliových solí. ^[8] Vznik vady je pravděpodobně podporován i přítomností plísní, které mohou zbarvení vína podporovat produkcí oxidativních enzymů. Vadu lze odstranit použitím čiridel redukujících třísloniny např. kaseinu a gelu kyseliny křemičité. ^[47]

4.2.2 Oxidativní vzhled, vůně a chuť

Slabou oxidací vína a jeho složek lze napravit přidáním oxidu siřičitého, ale silná oxidace se stává nenapravitelnou vadou, chuť a vůně může připomínat jablka, acetaldehyd až plíseň. Příčinou změny organoleptických vlastností je obvykle oxidace fenolických látek a také etanolu, který oxiduje na acetaldehyd. K největší produkci acetaldehydu dochází při fermentaci divokými kvasinkami. ^[34] Během fermentace je tvořen acetaldehyd z kyseliny pyrohroznové a dále přeměňován na etanol. V chuti je acetaldehyd rozeznatelný již v koncentraci 5 mg.l^{-1} , ale jeho obsah bývá ve víně až 50 mg.l^{-1} . ^[47] Oxidační změny mohou být také prospěšné, zejména v případě, pokud má víno mít specifický „ležácký buket“, který je způsoben zvýšeným obsahem 1,1,6-trimethyl-1,2-dichlornaftalenu, čímž dochází ke vzniku aromat připomínajících vyčinenou kůži, vosk, propolis nebo petrolej. ^[4]

Oxidativním vzhledem vína rozumíme především jeho hnědnutí, k čemuž dochází zejména u vín bílých. Barva vína přechází ze žlutooranžové až do hnědočervené, ve víně se mohou

vytvářet hnědé vločky nebo dochází k hnědnutí pouze na povrchu.^[5] Tento projev oxidace je jednou z nejobávanějších vad vína.^[12] Změna barvy je způsobena polymerací flavanoidů, která může proběhnout enzymatickou nebo neenzymatickou cestou.^[8] Pigmenty odpovídající za oxidační zhnědnutí jsou pravděpodobně kyselina glyoxylová a žluté xanthyliové pigmenty. Kyselina glyoxylová vzniká oxidací kyseliny vinné a xanthyliové pigmenty jsou produktem elektrofilní adice flavanolů (katechin, epikatechin).^[3] Výsledným produktem polymerace jsou chinony, které následně vytváří právě hnědé zabarvení.^[8] Tvorba oxidovaného aroma bílého vína je ovlivněna nejen koncentrací kyslíku, ale také hodnotou pH vína, skladovacími podmínkami, koncentrací oxidu siřičitého a kyseliny askorbové a přítomností fenolických látek.^[26]

Náchylnost vína k hnědnutí je dána především obsahem polyfenolických látek ve víně a přítomností enzymu lakázy,^[5] tvorba chinonů je také podpořena přítomností kovových katalyzátorů, zejména železa a mědi.^[48] Z toho důvodu je současným trendem obsah mědi ve víně snižovat. Zdrojem mědi ve víně je nejčastěji její přidávání pro odstranění sirných pachů. Měď se mimo jiné podílí na tvorbě zákalu a její účinek je spojen také s nestabilitou bílkovin. Na druhou stranu mohou za účasti mědi vznikat oxidací flavan-3-olů nové sloučeniny podporující barvu vína.^[49] Při delším postupu hnědnutí získávají vína až olejovitou strukturu a aroma připomínající spáleninu.^[5] Oxidace se projevuje i změnou chuti, která se stává plochou a prázdnou.^[1] V případě bílých vín může docházet i ke zvýraznění hořkosti, u červených vín bývá oxidace z pohledu chuti spíše přínosná, protože zjemňuje tvrdou a svíravou chuť fenolických látek.^[3] Změny se projevují i ve vůni, která vlivem oxidace připomíná nahnílá jablka.^[1]

4.2.3 Kovové zákal

Vznik kovového zákalu bývá způsoben trojmocným železem, které vzniká oxidací z železa dvojmocného. S kovovým zákallem se můžeme setkat u vína, které přišlo do styku se vzduchem^[4] např. při stáčení nebo lahvování a obsahuje 10 mg.l⁻¹ a více železa v oxidovaném stavu.^[7] Zákal způsobené železem rozeznáváme podle barvy – bílý (našedlý) ve formě sraženiny fosforečnanu železitého, který je ovšem fotoaktivní, proto ho na světle nepozorujeme a objevuje se až bez přístupu světla. Černý zákal bývá způsoben sloučením železa s taniny, bývá tedy pozorován především u červených vín. Zákal lze z vína odstranit filtrací^[4] a čiřením pomocí hexokynoželeznanu draselného.^[34]

Železo se do vína dostává ze slupek bobulí, na které může nasedat z železitých půd při prášení na vinici, případně používáním železných nástrojů. ^[34] Kromě zmiňovaných mohou být ve víně přítomny zákalý původu bílkovinného, krystalického, fenolického nebo mikrobiálního. Tyto zákalý bývají považovány na organoleptické vady, ovšem jejich vznik není spojen s vlivem kyslíku. ^[4]

4.2.4 Mikroflóra vína

Mikroorganismy působící ve víně lze rozdělit na mikroorganismy působící pozitivně a na mikroorganismy s negativním dopadem na vyráběné víno. Negativně působící mikroorganismy pochází z hroznů z vinic, druhou skupinou z pohledu původu jsou mikroorganismy pocházející ze startovacích kultur, takové ovšem mívají pozitivní vliv např. na jablečno-mléčnou fermentaci. Ke znehodnocování vína dochází nejen působením bakteriálních rodů *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Lactobacillus* a *Pediococcus* a jimi produkovanými látkami, ale také vlivem reakcí mezi bakteriemi a kvasinkami vína.

Mikroflóra moštu a vína je odlišná, obecně lze říci, že vína obsahují oproti moštům menší počet mikroorganismů, protože jsou při výrobě vystaveny relativně vysokému obsahu alkoholu, nedostatku kyslíku a přítomnosti velkého množství oxidu siřičitého. Počet a různorodost mikroorganismů se ovšem mění v průběhu celého výrobního procesu, protože je ovlivněna mnoha faktory. Jedná se především o teplotu, oxidačně-redukční prostředí, množství alkoholu, pH prostředí, přítomnost velmi malého množství kyslíku, vysoký osmotický tlak a obsah alkoholu. ^[21]

4.2.4.1 Křísovatění

Křísovatění vína se projevuje tvorbou šedobílého povlaku na povrchu vína, který může svým vzhledem připomínat plíseň. Tento povlak je tvořen zcela neoddělenými buňkami křísotvorných kvasinek, které přišly do styku se vzduchem. Mezi křísotvorné kvasinky patří *Candida vana*, *Hansenula anomala*, *Pichia membranaefaciens* a další. ^[4] Křísotvorné kvasinky jsou přítomny v každém víně, v průběhu fermentace ovšem dochází k jejich inhibici vlivem nepříznivých podmínek a mohou se projevit opět po alkoholové fermentaci. ^[19] Činností křísotvorných kvasinek vrstva křísu narůstá a klesá ke dnu což má za důsledek vznik zvětralé chuti vína, spolu s kterou dochází i ke zvyšování obsahu kyseliny octové ve víně. ^[4] Ke změně vůně a chuti dochází také v důsledku vzniku ethylacetátu, amylacetátu a snižování obsahu alkoholu. ^[1]

Ke křísovatění nejsou náchylná pouze vína s obsahem alkoholu vyšším než 13 obj. %, která jsou uchovávána v plných nádobách a ošetřena oxidem siřičitým, protože v takových podmínkách již křísotvorné kvasinky nerostou. Prevencí proti rozvoji těchto kvasinek je dokonalá hygiena sklepa, dezinfekce používaných zařízení a nádob, ^[4] uchovávání vína v plných sudech a správné síření. Tvorba křísového povlaku může být příznivá u speciálních vín, např. sherry. ^[19]

4.2.4.2 *Vůně a chuť nečisté po myšíně*

Myšina se projevuje naoctělou až zvětralou vůní, která může dosahovat až do odpuzujících vjemů připomínajících myší výkaly. ^[4] Dochází také ke změnám v dochuti vína, tedy až po polknutí. ^[1] Názory na vznik tohoto onemocnění se liší, s určitostí lze ovšem říci, že se vyvíjí vlivem neodborné technologické činnosti spojené s vlivem negativně působících mikroorganismů. Nejčastěji se projevuje při oxidaci vín, u vín s nízkou kyselostí, dlouhou dobou kvašení nebo vín ovocných, u kterých došlo k prudké změně oxidačně-redukčního potenciálu, případně byla ve styku s bakteriemi mléčného kvašení, jejichž metabolismus produkuje sloučeninu 2-acetyl-3,4,5,6-tetrahydropyridin (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus celobiosus*, *Lactobacillus hilgardii*). ^[4]

Na počátku nemusí být tato choroba senzoricky vůbec zaznamenána nebo může být zaměněna s jinými nemocemi či vadami, které se ve víně projevují v chuti a vůni podobně (např. sirka způsobená sirovodíkem). Na projev myšiny má vliv i stáří vína, protože bylo prokázáno, že se neprojevuje u starých vín, ale pouze u mladých, ve kterých je dostatek zbytkového cukru, málo kyselin a jejich kvašení probíhalo při vysokých teplotách. Dalšími faktory, které mohou vznik myšiny ovlivňovat je přístup kyslíku, výše pH a aplikace oxidu siřičitého. Myšinu lze z vína odstranit pouze v počátečních fázích vývoje sířením a filtrací, či kvašením, při větším rozvoji již tuto chorobu nelze odstranit. ^[21]

4.2.4.3 *Octění vína*

Octění vína je způsobeno striktně aerobními bakteriemi octového kvašení, které přeměňují přítomný etanol přes acetaldehyd na kyselinu octovou. Obecně platí, že čím větší je poškození hroznů, tím více dochází k rozvoji bakterií octového kvašení, nejčastěji dochází k jejich rozvoji v průběhu zrání a skladování za přístupu vzduchu a při zvýšené teplotě, především u vín s nízkým obsahem alkoholu. ^[21] Činnost nežádoucích octových bakterií je podporována taktéž vyššími teplotami, optimální teplotou pro množení je 30-35 °C. ^[1] Při octění tvoří

kyselina octová až 95 % ze všech těkavých organických kyselin vína, zároveň dochází k tvorbě octanu ethylnatého, jehož vlivem dochází ke vzniku příchuti po acetonu. ^[4] Octění se tedy projevuje zápachem po hruškách, případně banánech a odlakovači na nehty, nejčastěji ovšem ostrým octovým zápachem. ^[33]

K octění ještě před alkoholovým kvašením jsou náchylné zejména rané odrůdy s tenkou slupkou jako je Veltlínské červené rané, Müller Thurgau a Modrý Portugal. Riziko je velmi vysoké, pokud dochází k praskání bobulí následkem prudkého zvětšení objemu, protože vytékající šťáva poskytuje bakteriím vhodné prostředí pro jejich množení. Nebezpečná je v tomto ohledu i hniloba vzniklá poškozením kroupami nebo vosami. Po alkoholovém kvašení se octové bakterie ve víně množí za dostatečného přístupu vzduchu a dostatečně vysoké teploty a jejich činnost je podporována křísotvornými kvasinkami. Je proto důležité udržovat nádoby s vínem neustále plné a bránit přístupu vzduchu. ^[47]

Mezi bakterie octového kvašení se řadí striktně a obligátně aerobní bakterie rodů *Acetobacter*, *Gluconobacter* a *Gluconacetobacter*. Rody *Acetobacter* a *Gluconobacter* jsou typické svou schopností oxidace kyseliny octové na oxid uhličitý. *Gluconobacter* bývá přítomen moštu, ale s alkoholovým kvašením je jeho růst inhibován, protože je velmi citlivý na přítomnost etanolu a také vyžaduje přítomnost kyslíku. Rod *Acetobacter* bývá přítomen až ve víně. ^[21] Rozvoj octových bakterií lze snížit aplikací oxidu siřičitého a manipulací při nízkých teplotách. ^[1] Kromě octových bakterií se na nežádoucí tvorbě organických kyselin mohou podílet i další bakterie, vznikají tak i jiné produkty než kyselina octová, např. kyselina propionová, máselná, nebo mravenčí. ^[34]

5 REGULACE KYSLÍKU VE VZTAHU K ANALÝZÁM BIOCHEMICKÝM A TECHNOLOGICKÉMU ZAMĚŘENÍ FINÁLNÍHO PRODUKTU

Kyslík má nepříznivý vliv hlavně při výrobě bílých vín, proto je třeba tato vína před jeho vlivy chránit a omezovat jeho přístup k vínu na nezbytné minimum, a to nejen během jednotlivých operací ale v průběhu celého procesu výroby, protože k oxidaci jednotlivých složek vína může dojít kdykoliv. Oxidované víno ztrácí své ovocné aroma a také, v případě bílého vína, svou zelenkavou barvu. Někteří vinaři ovšem zastávají názor, že příliš chráněné mošty jsou naopak k oxidaci následně ještě více náchylné a také jejich zpětná stabilizace je velmi obtížná. ^[5]

V minulosti spočívala ochrana vína před oxidací výhradně v použití oxidu siřičitého. ^[2] Dnes bývá víno chráněno stále dávkami oxidu siřičitého, ale jsou vyvíjeny nové postupy, které zahrnují např. kombinaci oxidu siřičitého a kyseliny L-askorbové, které bývají přidávány do vína již ve stadiu moštu nebo rmutu. Dalšími možnými postupy, kterými bývá přídavek oxidu siřičitého doplňován, je dolévání neplných nádob, případně držení vína pod slabým přetlakem dusíku. ^[4] Zpomalit rychlost oxidačních reakcí lze také ochlazením moštů a rmutů, nebo naopak zahřátím nad 60 °C, což způsobí inaktivaci oxidativních enzymů. ^[5] Důležité je minimalizovat operace, při kterých by víno mohlo přijít do styku se vzduchem. ^[4]

V posledních fázích výroby, tedy po lahfování lze přístup kyslíku do vína ovlivnit použitím vhodného uzávěru lahve. Po 20 měsících zrání vína v lahvách si víno se šroubovým uzávěrem udrží nejvíce oxidu siřičitého a míra jeho zhnědnutí je nejnižší, zatímco nejvyšší ztráty oxidu siřičitého vykazují vína se syntetickými korky. Vysoká ztráta oxidu siřičitého poukazuje na vysokou propustnost uzávěru. Není tedy překvapující, že víno se syntetickým korkem může ztrácet ovocné aroma a vykazovat známky oxidace. ^[26] Nejčastěji využívaným typem zátky je klasický korek, kterým sice může vzduch prostupovat, ale zároveň je tak umožněno zrání vína, aniž by docházelo k uvolňování nežádoucích složek ze samotného uzávěru. ^[14] Již zoxidované víno lze napravit opět přídavkem oxidu siřičitého, čiřením kvasinkami, přídavkem přípravků na bázi kaseinu nebo aktivním uhlím. Přídavek aktivního uhlí je povolen pouze pro úpravu bílých vín, a to v dávce 20-100 g.l⁻¹. ^[4]

5.1 Oxid siřičitý

Oxid siřičitý je považován za nejúčinnější antioxidační a antimikrobiální prostředek, [1] za počátek jeho používání jako antioxidační látky je považováno 18. století. [26] Antimikrobiálně působí především proti množení a činnosti nebezpečných mikroorganismů, zejména bakterií, případně divokých kvasinek. [1] Jeho antioxidační působení je založeno na zpomalení enzymatické oxidace a hnědnutí (působení polyfenoloxidáz – tyrozináza, lakáza). Principem antioxidačního působení je skutečnost, že reaguje s významnými látkovými složkami vína a v menší míře také s kyslíkem. [4] Oxid siřičitý se váže zejména na barevné a aromatické látky moštu, čímž brání jejich ztrátám za vzniku sloučenin měnících barvu moštu. V případě červených vín jsou nejvýznamnější interakce oxidu siřičitého s polyfenolickými sloučeninami. Vzniklé sloučeniny se rozpadají po ukončení fermentace a barviva zase získávají svou původní barvu. [19] Oxid siřičitý může také reagovat s peroxidem vodíku, čímž brání oxidaci etanolu za tvorby hydroxylových radikálů. Neméně významná je také schopnost oxidu siřičitého reagovat s chinony a recyklovat je zpět na fenolické látky, [2] případně jejich deriváty např. polymery nebo jiné adiční produkty. [3]

Dříve bylo obvyklé zasiřovat všechny hrozny a rmuty, včetně těch zdravých, ale postupně se od tohoto postupu upouští. Dnes se při výrobě vína ze zdravých hroznů oxid siřičitý aplikuje až do moštu (dávky nad 50 mg.l^{-1} mohou mít negativní účinky na aromatické látky zejména bílých vín). Při výrobě vína z hroznů se špatným zdravotním stavem se preventivně oxid siřičitý dává na hrozny a rmut. Obvyklé dávky použitého oxidu siřičitého bývají mezi 20 a 50 mg.l^{-1} , přičemž použitá dávka odpovídá stavu zasiřovaných hroznů a následnému postupu výroby vína. Například u silně nahnilých nebo naoctělých hroznů lze použít dávku oxidu siřičitého až dvojnásobnou, naopak minimální množství oxidu siřičitého je vhodné použít, pokud chceme snížit vysoké množství kyseliny jablečné pomocí jablečnomléčné fermentace. [4] Vyšší přídavky jsou obvykle vyžadovány při výrobě bílého vína, kde je velmi důležitý pro své antioxidační vlastnosti. U červených vín jsou antioxidační vlastnosti zabezpečeny přirozeným vyšším obsahem fenolických látek. [1] Obecně ovšem platí, že pro navázání 1 mg kyslíku je třeba 4 mg oxidu siřičitého. [4] Dávka nesmí být příliš vysoká, protože by mohla narušit až zastavit kvasné procesy a způsobovat sirné aroma vína. [50]

Oxid siřičitý vzniká také při kvašení metabolickou činností kvasinek, ale vzniklé množství je, oproti množství přidanému vinařem, nevýznamné. [1] Do vína bývá často dodáván jako

plyn vzniklý spalováním sirných plátek v nádobách určených pro mošt, ^[14] aplikací pevného disířičitanu didraselného, případně sodného nebo jako kapalná kyselina sířičitá. ^[50] Ve víně a moštu se může oxid sířičitý vyskytovat ve dvou formách, a to ve formě volné nebo vázané. Antioxidační a antimikrobiální vlastnosti jsou ovšem přisuzovány právě oxidu sířičitému ve formě volné neboli „aktivní“, přičemž vázaná forma takové vlastnosti nevykazuje. ^[30] Vázaný oxid sířičitý má pouze antimikrobiální vlastnosti na některé bakterie. ^[34]

5.1.1 Volný SO₂

Za volnou formu oxidu sířičitého je považován nejen molekulární SO₂, ale také kyselina sířičitá spolu s hydrogensířičitanovými a sířičitanovými ionty. Samotný molekulární SO₂ je označován jako „aktivní forma.“ ^[30] Největší antioxidační a antimikrobiální účinnost bývá přisuzována právě aktivní formě. Tato je ovšem přítomna pouze v 1-4% obsahu volného oxidu sířičitého, ale koncentrace závisí na pH a obsahu alkoholu. ^[2] Aktivní SO₂ je účinný zvláště proti mikroorganismům, dokonce je mu přisuzována až 500x vyšší účinnost proti kvasinkám než jiným formám oxidu sířičitého. Minimální hodnota aktivního SO₂, která je účinná proti oxidaci, fermentaci a působení bakterií je se pohybuje mezi 0,6 a 0,7 mg.l⁻¹ vína, za maximální hodnotu byla stanovena hranice 2,5 mg.l⁻¹, při které se již ve víně projevuje typický zápach oxidu sířičitého. ^[30]

Pouze malá část aplikovaného oxidu sířičitého zůstává ve volné formě, stejně tak jen malé procento kyseliny sířičité zůstává ve formě nedisociovaných molekul H₂SO₃. Inhibiční vlastnosti na mikroorganismy má jen disociovaná kyselina sířičitá ve formě hydratovaného oxidu sířičitého. ^[30] Antimikrobiální vlastnosti spočívají v odebrání kyslíku z prostředí a vázání na buněčné stěny mikroorganismů, čímž dochází k jejich narušení. Oxid sířičitý je mnohem účinnější vůči bakteriím a divokým kvasinkám, k jejichž inhibici je dostačující dávka 50-100 mg.l⁻¹. K inhibici kulturních kvasinek by bylo nutné použít dávku 200-600 mg.l⁻¹ vína. ^[19] V prostředí buňky váže oxid sířičitý látky důležité pro jejich životnost, zejména aminokyseliny, enzymy, thiamin a další bílkovinné a jiné látky. ^[34]

5.1.2 Vázaný SO₂

Vázaný oxid sířičitý má ve víně taktéž významnou roli, tvoří větší podíl než volný oxid sířičitý. Nejvíce je zastoupen ve formě kyseliny acetaldehydsířičité (70-90 %), vznikající právě z oxidu sířičitého a acetaldehydu (vzniklý oxidací etanolu nebo během alkoholového kvašení). Tvorba této kyseliny působí proti vývoji stařiny ^[4] a podporuje vývoj a uchování

žádaných chuťových látek vína. ^[19] Vazbou s přítomnými aldehydy může oxid siřičitý snižovat výskyt příchutí typických pro oxidaci. ^[4] Dále tvoří oxid siřičitý vazby s anthokyany, kyselinou glutarovou, glukózou nebo fenolickými látkami. ^[1] Vazbou s barevnými sloučeninami zabraňuje oxid siřičitý jejich oxidaci a ztrátě. ^[19]

5.1.3 Vliv SO₂ na zdraví člověka

Vliv oxidu siřičitého na lidské zdraví je negativní stránkou jeho působení. Vliv na člověka je ovšem různý a odvislý od vnímavosti každého jedince. Z důvodu citlivosti některých jedinců je ovšem oxid siřičitý zařazen na seznam alergenních látek a jeho maximální obsah ve víně je regulován. ^[4] U citlivých jedinců může oxid siřičitý vyvolat krátkodobou toxickou reakci nebo chronickou nesnášenlivost. ^[34] Přijatelná denní dávka byla stanovena na 0-0,7 mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti. ^[50] Chronické účinky jsou spojovány se zpomalením růstu, nižší vstřebatelností thiaminu (vitamin B₁) a narušením žaludeční tkáně. Současným trendem je tedy snižování obsahu oxidu siřičitého ve víně. ^[4]

5.2 Zvýšení účinku oxidu siřičitého prostřednictvím řízené fermentace

Fermentace je anaerobním procesem, což znamená, že se redoxní potenciál v průběhu tohoto procesu snižuje na minimum. V důsledku nízkého redoxního potenciálu může docházet k rozpouštění kyslíku ve víně a moštu, aniž by došlo k jeho poškození. Dokonce je vliv kyslíku pozitivní pro podporu růstu kvasinek. Zjištění, že během fermentace nemůže být víno kyslíkem poškozeno vedlo k výzkumu, který prokázal, že fermentace může proběhnout bez přídavku oxidu siřičitého, aniž by došlo k podstatným změnám v chemickém složení vína. Průběh fermentace bez přídavku oxidu siřičitého lze zlepšit a zkrátit také společnou inokulací kvasinek pro alkoholovou fermentaci a bakterií mléčného kvašení pro jablečno-mléčnou fermentaci. Obvykle bývají bakterie mléčného kvašení do vína přidávány až na konci alkoholové fermentace, kdy jsou již všechny cukry metabolizovány. Takový postup ovšem může vést k nadměrné tvorbě kyseliny D-mléčné, což má za následek zvýšení podílu těkavých kyselin ve víně a tím snížení celkové kvality vína. ^[2]

Přídavek oxidu siřičitého lze tedy odsunout až na konec alkoholové fermentace, pokud je inokulace moštu kvasinkami včasná a účinná. Výsledné víno se vyznačuje nižší hladinou acetaldehydu s vyšší ovocnou, intenzivní a plnou chutí. Podmínkou je ovšem použití absolutně zdravých hroznů. ^[4]

5.3 Použití kyseliny askorbové jako antioxidační látky

Vzhledem k negativnímu působení oxidu siřičitého na lidský organismus jsou zkoumány antioxidační schopnosti i jiných látek. Účinek zkoumaných alternativ ovšem není natolik dokonalý, aby jimi oxid siřičitý mohl být úplně nahrazen. Poměrně často je účinek oxidu siřičitého doplňován kyselinou askorbovou, zejména během drcení hroznů. Antioxidační působení kyseliny askorbové je rychlejší^[2] a účinnější vůči molekulárnímu kyslíku než v případě oxidu siřičitého.^[3] Antimikrobiální účinek ovšem kyselina askorbová nevykazuje.^[4] Kyselina recykluje vytvořené chinony zpět na fenolické sloučeniny a taktéž vychytává volné radikály.^[2] Významný účinek má kyselina askorbová na bílá vína s nižším obsahem kyselin a muškátové odrůdy, např. Müller Thurgau nebo Veltlínské zelené.^[14]

Omezení v použití kyseliny askorbové spočívá v tvorbě kyseliny dehydroaskorbové a peroxidu vodíku v přítomnosti kovových katalyzátorů (železo, měď). Proto je nutné používat kyselinu askorbovou jedinež zároveň s oxidem siřičitým, který brání peroxidu vodíku vstupovat do dalších reakcí.^[2] Dávkovat kyselinu je možné i do vína, maximální povolená míra odpovídá 250 mg.l⁻¹.^[4] Kyselina askorbová se přirozeně vyskytuje v moštu, ale pouze v nízkých koncentracích odpovídající 50-100 mg.l⁻¹. Bohužel dochází k její rychlé ztrátě způsobené pravděpodobně reakcí s přítomnými chinony.^[2]

5.4 Zrání na kvasničných kalech

Zrání vína na kvasničných kalech, tedy výroba vín metodou „Sur lie,“ je známo již po velmi dlouhou dobu. Původně se jednalo pouze o dobu, po kterou sedimentovaly kvasnice ke dnu nádoby. Později byla metoda vyzdvihována především pro redukci oxidu siřičitého ve víně. Dnes je za výhodu považován přestup látek z kvasničných buněk do vína, protože delším ležením dochází k autolýze kvasinek. Uvolněné lipidy, aminokyseliny, vitaminy a polysacharidy jsou považovány za důležitou složku aroma vína.^[51] Kvasničnými kaly rozumíme především kvasinkové buňky, ale také vinné soli, bakterie a zbytky rostlinných buněk.^[2]

Kvasničné kaly jsou velmi dobře využívány především při zrání bílého vína. Jsou využívány právě pro svou schopnost zabraňovat nežádoucí oxidaci bílých vín podobně jako v případě taninů u červených vín.^[4] Tento postup zabraňuje především mírné oxidaci při školení nebo lahvování vína, která se projevuje vývojem barvy vína k šedorůžové.^[1] Zabránění oxidaci spočívá v potřebě kyslíku k autolýze kvasinek,^[51] kdy dochází k oxidaci membránových lipidů. Oxidace lipidů v membráně způsobuje významné změny ve struktuře membrány,

přičemž může docházet ke vzniku sloučenin, které mohou příznivě ovlivňovat senzory jakost vín. ^[52] Vyzrávání bílých vín na kvasnicích také zlepšuje stabilitu vůči vysrážení bílkovin a vinného kamene. ^[5] Dochází ke zlepšení celkové stability vína, podporuje bakterie mléčného kvašení, čímž zlepšuje podmínky pro průběh jablečno-mléčné fermentace a zvyšuje obsah dusíkatých látek ve víně. ^[1] Výsledná vína jsou plná, s dlouhou dochutí a komplexním aroma. ^[4]

Zrání na kvasničných kalech bývá aplikováno na vína v sudech před fermentací, kde je víno po dobu několika měsíců s kaly promícháváno. ^[53] Technologie je vhodná především pro bílé odrůdy, které mohou kvasit v sudech, například Rulandské šedé, Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský nebo Chardonnay. Možné je i využití pro výrobu červených vín s kvalitní vyzrálostí a vyšším obsahem alkoholu. ^[1] Nevhodným opatřením proti oxidaci se zrání na kvasničných kalech stává v případě vín, která obsahují sirné sloučeniny ve větším množství. ^[53] Negativní dopad může mít i pokud není sedimentovaný kvasničný kal promícháván, což může vést k tvorbě sirných sloučenin a oxidaci vína, případně rozvoji nežádoucí mikroflóry, zejména kvasinek a bakterií mléčného kvašení. ^[1]

5.5 Chlazení moštů

Chlazení je při zpomalování oxidačních reakcí v moštu velmi účinné. Bylo prokázáno, že při 30 °C je kyslík spotřebováván dokonce třikrát rychleji než při teplotě 12 °C. Účinným způsobem ochlazování je lisování hroznů ochlazených pod 0 °C, kromě zpomalení oxidace má tento způsob lisování příznivý vliv na uvolňování aromatických složek a jejich prekurzorů. ^[5] Velmi často bývá také využíváno macerace rmutu za studena, tedy při teplotě asi 5 °C, u bílých vín po dobu 1 až 5 dnů, u červených 2 až 7 dnů. ^[51] Studenou macerací lze dosáhnout zesílení ovocné chuti vína. ^[14]

Podstatou chlazení je zabránění enzymatické a mikrobiologické činnosti, proto je vhodné zpracovávat rovnou studené hrozny. Nízké teploty hroznů lze dosáhnout jejich chlazením v chladárně za silného proudění vzduchu. Pokud je k chlazení použit oxid uhličitý ve formě kapalné nebo jako suchý led, dochází navíc k vytlačení přítomného kyslíku, není ovšem možné pelety se suchým ledem vkládat přímo mezi hrozny, protože by docházelo k jejich namrzání. Namrzlé bobule následně praskají a vznikají jemné kaly. Po maceraci za chladu je nutné rychlé zahřátí, aby nedocházelo k rozvoji mikrobiologických vad. ^[51]

5.6 Použití inertní atmosféry

Použití inertní atmosféry proti okysličení vína spočívá v přivádění inertního plynu do nádoby při přetáčení nebo jiných manipulacích s vínem, přičemž objem přivedeného inertního plynu odpovídá objemu vypuštěného vína. Pro tento způsob je možno použít hned několik druhů inertních plynů, mezi které se řadí například dusík, který je nejedovatý, bez chuti a bez zápachu a ve vodě se nerozpouští. Méně vhodné je použití oxidu uhličitého, protože je ve vodě rozpustný, je tedy vhodnější jeho použití ve směsi s dusíkem nebo argonem, což umožňuje ve víně vytvořit rovnováhu mezi rozpuštěným a plynným oxidem uhličitým. ^[19] Koncentrace oxidu uhličitého 2 g.l^{-1} může vytlačet kyslík z rmutu, což má za následek snížení potřeby oxidu siřičitého jako antioxidační látky. ^[14]

5.7 Přídavek komerčních taninů

Pro lepší tvorbu stabilních pigmentů se do vína přidávají komerčně vyráběné koncentrované třísloviny. Nejčastěji se jedná o hydrolyzovatelné kondenzované taniny, galotaniny a ellagitaniny, které jsou extrahovány z různých druhů rostlin, nejčastěji ze dřeva stromů nebo ořechů a ^[54] speciálně vyvinuté pro výrobu bílých vín. ^[4] Přídavek těchto taninů k vínu je schválen mezinárodní organizací OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin) pro jejich pozitivní vliv na barevnou stabilitu, schopnost vázat se s proteiny, aby mohly být z vína jednodušeji odstraněny a jako preventivní opatření proti vzniku zákalů. ^[54] Přídavek taninů sice pozitivně ovlivňuje chuť a stabilitu vína, dochází však ke ztrátě jeho původního charakteru. ^[4] Doporučená dávka taninů je mezi 2 a 20 g.hl^{-1} vína, kterou je vhodné do vína přidávat po fermentaci a před lahvováním. ^[54]

Přídavek taninů k vínu vede ke vzniku většího množství acetaldehydu během oxidačního procesu, ale tento acetaldehyd velmi rychle reaguje s ostatními složkami vína za vzniku nových sloučenin. Vlivem reaktivity acetaldehydu se zvyšuje koncentrace polymerních pigmentů, ^[54] protože urychluje polymerační reakce mezi antokyaniny a fenolovými sloučeninami, ^[30] což potvrzuje klíčovou úlohu acetaldehydu při tvorbě stabilních pigmentů vlivem oxidace během zrání vína. Dochází tak ke zvýšení intenzity zabarvení vína. Zároveň nebyla potvrzena zvýšená reaktivita přidávaných taninů se slinnými proteiny, nedochází tedy ke zvýšení svíravé nebo tříslovité chuti vyráběného vína. ^[54]

ZÁVĚR

Je zřejmé, že má kyslík ve víně velmi důležitou pozici. Jeho pozitivní účinek spočívá v podpoře rozvoje kvasinek a tím prohloubení alkoholové fermentace, zjemnění mladých bílých vín nebo stabilizaci a tvorbě nových pigmentů při zrání zejména červených vín. Pro pozitivní vliv na fermentaci může být zaváděn na konci exponenciální fáze růstu kvasinek, pro zlepšení barevné stability bývá zaváděn až po jablečno-mléčné fermentaci. K zajištění pozitivního vlivu oxidace na víno je nutné znát a umět ovlivnit podmínky reakce, mezi důležité vlivy patří nejen teplota, ale také pH a látkové složení vína, jelikož víno obsahuje celou řadu sloučenin, které mohou vykazovat antioxidační působení.

Za hlavní antioxidanty vína jsou považovány polyfenolické látky, které vlivu kyslíku podléhají nejdříve. Obsah polyfenolů je několikrát vyšší v červeném víně než ve bílém, proto je červené víno vůči oxidaci odolnější, a dokonce přísun kyslíku vyžaduje, aby došlo k jeho zjemnění a zlepšení celkové stability. Nesprávně kontrolovaný přístup kyslíku má víno zpravidla negativní dopad, který se projevuje zejména ztrátou sensorické jakosti. Dochází ke změnám barvy, vůně i chuti, které se většinou stávají plochými a nevýraznými, chuť může u bílých vín být hořká. V moštu probíhá enzymatická oxidace působením polyfenoloxidázových enzymů, degradují důležité sloučeniny. Ve víně probíhá oxidace chemická, při které nepůsobí enzymy, ale elektrony jsou přenášeny pomocí iontů přechodných kovů. Může docházet také k rozvoji nežádoucích mikroorganismů, kvůli kterým se víno stává i nepoživatelným. Nejčastěji se jedná o octové bakterie a křísotvorné kvasinky.

Zabránit negativnímu působení kyslíku lze několika postupy, z nichž nejznámějším je využití antioxidačního působení oxidu siřičitého, který je do vína dodáván. Účinek oxidu siřičitého je možné doplnit kyselinou askorbovou, která také vykazuje antioxidační aktivitu. Protože je oxid siřičitý zařazen na seznam alergenů, je trendem jeho použití snižovat, čehož lze dosáhnout jeho použitím až ke konci alkoholové fermentace. Dalším možným snížením přístupu kyslíku k vínu je vyzrávání vína na kvasničných kalech, které kyslík spotřebovávají ke své autolýze namísto vína nebo snižováním teploty zpracování. Při nižších teplotách se kyslík ve víně rozpouští pomaleji, a tedy celkově v menším množství. Jakožto primární substrát kyslíku ve víně lze uměle zvýšit i obsah taninů ve víně, které budou oxidovány přednostně před jinými složkami vína.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-3487-3
- [2] COMUZZO, Piergiorgio a Roberto ZIRONI. Biotechnological Strategies for Controlling Wine Oxidation. *Food Engineering Reviews* [online]. 2013, **5**(4), 217-229 [cit. 2019-03-21]. DOI: 10.1007/s12393-013-9071-6. ISSN 1866-7910. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12393-013-9071-6>
- [3] LAURIE, W. F. a A. C. CLARK. Wine oxidation. *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications, Volume 2 - Management in Different Industry Sectors* [online]. 1. Woodhead Publishing, 2010, s. 445-475 [cit. 2019-03-27]. ISBN 978-0-85-709033-1. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpOFBAAVMK/oxidation-in-foods-beverages/oxidation-in-foods-beverages>
- [4] BALÍK, Josef a Jan STÁVEK. *Vinařská technologie*. Valtice: Národní vinařské centrum, 2017. ISBN 978-80-87498-77-4.
- [5] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Příprava bílých vín*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-809-0531-949.
- [6] POPESCU, Carmen, Elena POSTOLACHE, Gabriela RAPEANU, Mircea BULANCEA a Traian HOPULELE. The dynamics of oxidative enzymes during the white winemaking. *Annals of the University "Dunarea de Jos" of Galati - Fascicle VI: Food Technology* [online]. 2010, **34**(1), 25-31 [cit. 2019-03-01]. ISSN 1843-5157. Dostupné z: <https://www.cabi.org/nutrition/abstract/20113321329>
- [7] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-2-5.
- [8] VAIMAKIS, V. a I.G. ROUSSIS. Must Oxygenation and Polyphenoloxidase Inhibition and the Oxidation of White Wine. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 1993, **26**(2), 133-137 [cit. 2019-03-06]. DOI: 10.1006/fstl.1993.1028. ISSN 00236438. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643883710285>

- [9] HAN, Guomin, Michael R WEBB, Chandra RICHTER, Jessica PARSONS a Andrew L WATERHOUSE. Yeast alter micro-oxygenation of wine: oxygen consumption and aldehyde production. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2017, **97**(11), 3847-3854 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1002/jsfa.8252. ISSN 00225142. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.8252>
- [10] PATRIANAKOU, M. a I. g. ROUSSIS. Decrease of Wine Volatile Aroma Esters by Oxidation. *South African Journal of Enology* [online]. 2013, **34**(2), 241-245 [cit. 2019-03-24]. ISSN 0253939X. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=95273529&scope=site>
- [11] COETZEE, Carien, Klemen LISJAK, Laura NICOLAU, Paul KILMARTIN a Wessel Johannes DU TOIT. Oxygen and sulfur dioxide additions to Sauvignon blanc must: effect on must and wine composition. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2013, **28**(3), 155-167 [cit. 2019-03-13]. DOI: 10.1002/ffj.3147. ISSN 08825734. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ffj.3147>
- [12] KÖNIG, Helmut, Gottfried UNDEN a Jürgen FRÖHLICH. *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine* [online]. 2. New York, NY: Springer International Publishing, 2017 [cit. 2019-03-28]. ISBN 978-3-319-60020-8. Dostupné z: <https://www.springer.com/gp/book/9783319600208>
- [13] CANTORAL, Jesús M. a Isidro G. COLLADO. Chapter 10 - Filamentous Fungi (Botrytis cinerea). *Molecular wine microbiology*. Boston: Academic Press, 2011, s. 257-277. ISBN 978-0-12-375021-1
- [14] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 2., aktualizované. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978-80-903201-9-2.
- [15] JIYUN, Nie. Occurrence, control and determination of patulin contamination in fruits and fruit products. *Scientia Agricultura Sinica Beijing China* [online]. Beijing (China), 2017, **50**(18), 3591-3607 [cit. 2019-03-06]. ISSN 0578-1752. Dostupné z: http://caod.oriprobe.com/articles/52835623/Occurrence__Control_and_Determination_of_Patulin_C.htm

- [16] ČESKO. Zákon č. 321 ze dne 29. dubna 2004 o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o vinohradnictví a vinařství). In: Sbíрка zákonů České republiky. 2004, částka 105 [cit. 2019-03-12]. Dostupný také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-321>
- [17] Naše vína: Rozdělení vín. *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. Brno: Vinařský fond České republiky, c2005-2018 [cit. 2019-03-19]. Dostupné z: <https://www.wineofczechrepublic.cz/nase-vina/rozdeleni-vin/legislativa.html>
- [18] OLIVEIRA, Carla Maria, António César Silva FERREIRA, Victor DE FREITAS a Artur M.S. SILVA. Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International* [online]. 2011, 44(5), 1115-1126 [cit. 2019-03-29]. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.03.050. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996911002092>
- [19] FARKAŠ, Ján. *Technologie a biochemie vína*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1980.
- [20] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy* [online]. Praha, 2004, r. 98, str. 174-179 [cit. 2018-11-07]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf
- [21] FIC, Vlastimil a kol. *Víno: analýza, technologie, gastronomie*. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.
- [22] FIC, Vlastimil a kol. *Sborník aplikačních postupů: víno – analýza, technologie výroby, gastronomie*. Český Těšín: 2 Theta, 2014. ISBN 978-80-86380-71-1.
- [23] CARRASCON, Vanesa, Purificación FERNANDEZ-ZURBANO, Mónica BUENO a Vicente FERREIRA. Oxygen Consumption by Red Wines. Part II: Differential Effects on Color and Chemical Composition Caused by Oxygen Taken in Different Sulfur Dioxide-Related Oxidation Contexts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2015, 63(51), 10938-10947 [cit. 2019-03-20]. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b02989. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.5b02989>

- [24] HERNÁNDEZ-ORTE, P., A.C. LAPENÑA, A. ESCUDERO, et al. Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in wood. *LWT – Food Science and Technology* [online]. 2009, **42**(1), 391-401 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1016/j.lwt.2008.05.020. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643808001394>
- [25] DAY, M.P., S.A. SCHMIDT, W. PEARSON, R. KOLOUCHOVA a P.A. SMITH. Effect of passive oxygen exposure during pressing and handling on the chemical and sensory attributes of Chardonnay wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 2019 [cit. 2019-03-27]. DOI: 10.1111/ajgw.12384. ISSN 13227130. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajgw.12384>
- [26] DU TOIT, W. J., J. MARRAIS, L. S. PRETORIUS a M. DU TOIT. Oxygen in must and wine: A review. *South African journal of enology and viticulture* [online]. 2006, **27**(no. 1), 76-94 [cit. 2019-03-31]. Dostupné z: <http://www.sawislibrary.co.za/dbtextimages/DuToitWJ1.pdf>
- [27] PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné: Moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3314-2.
- [28] ZACHAŘ, Pavel a David SÝKORA. *Plynová chromatografie* [online]. [cit. 2019-02-23]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>
- [29] DANILEWICZ, John C. Role of Tartaric and Malic Acids in Wine Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2014, **62**(22), 5149-5155 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1021/jf5007402. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf5007402>
- [30] FIC, Vlastimil a Petr MARCINČÁK. *Možnosti snížení oxidu siřičitého ve víně biologickou cestou*. Zlín, 2018.
- [31] MOROZOVA, Ksenia, Oliver SCHMIDT a Wolfgang SCHWACK. Impact of headspace oxygen and copper and iron addition on oxygen consumption rate, sulphur dioxide loss, colour and sensory properties of Riesling wine. *European Food Research and Technology* [online]. 2014, **238**(4), 653-663 [cit. 2019-03-29]. DOI: 10.1007/s00217-013-2142-3. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-013-2142-3>

- [32] GAMBUTI, A., T. SIANI, L. PICARIELLO, A. RINALDI, M. T. LISANTI, M. UGLIANO, J. B. DIEVAL a L. MOIO. Oxygen exposure of tannins-rich red wines during bottle aging. Influence on phenolics and color, astringency markers and sensory attributes. *European Food Research and Technology* [online]. 2017, **243**(4), 669-680 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1007/s00217-016-2780-3. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-016-2780-3>
- [33] SIMON, Joanna. *O víně*. Vyd. 3. Praha: Slovart, 2013. ISBN 978-80-7391-819-4.
- [34] KRAUS, Vilém, Zuzana FOFFOVÁ a Bohumil WURM. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2008. ISBN 978-80-86767-09-3.
- [35] CALDERÓN, Juan F., María DEL ALAMO-SANZA, Ignacio NEVARES a V. Felipe LAURIE. The influence of selected winemaking equipment and operations on the concentration of dissolved oxygen in wines. *Ciencia e investigación agraria* [online]. 2014, **41**(2), 273-280 [cit. 2019-03-01]. DOI: 10.4067/S0718-16202014000200014. ISSN 0718-1620. Dostupné z: <https://rcia.uc.cl/index.php/rcia/article/view/1340>
- [36] COETZEE, Carien, et al. Chemical and Sensory Study on the Evolution of Aromatic and Nonaromatic Compounds during the Progressive Oxidative Storage of a Sauvignon blanc Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2016, **64**(42), 7979-7993 [cit. 2019-03-13]. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b02174. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.6b02174>
- [37] DANILEWICZ, John C. a Matthew J. STANDING. Reaction Mechanisms of Oxygen and Sulfite in Red Wine. *American Journal of Enology and Viticulture* [online]. 2018, **69**(3), 189-195 [cit. 2019-03-13]. DOI: 10.5344/ajev.2018.17095. ISSN 0002-9254. Dostupné z: <http://www.ajevonline.org/lookup/doi/10.5344/ajev.2018.17095>
- [38] STEIDL, Robert a Wolfgang RENNER. *Moderní příprava červeného vína*. V českém jazyce 2., upr. Vyd. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006. ISBN 80-903-2017-1.

- [39] CEJUDO-BASTANTE, M. J., M. S. PÉREZ-COELLO, P. M. PÉREZ-JUAN a I. HERMOSÍN-GUTIÉRREZ. Effects of hyper-oxygenation and storage of Macabeo and Airén white wines on their phenolic and volatile composition. *European Food Research and Technology* [online]. 2012, **234**(1), 87-99 [cit. 2019-03-06]. DOI: 10.1007/s00217-011-1619-1. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-011-1619-1>
- [40] FORNAIRON-BONNEFOND, Caroline a Jean-Michael SALMON. Oxygen addition and sterol synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* during enological fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [online]. 2002, **93**(2), 176-182 [cit. 2019-03-29]. DOI: 10.1016/S1389-1723(02)80011-1. ISSN 13891723. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1389172302800111>
- [41] DAY, M.P., S.A. SCHMIDT, P.A. SMITH a E.N. WILKES. Use and impact of oxygen during winemaking. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 09 December 2015, **21**(S1), 693-704 [cit. 2019-03-01]. DOI: 10.1111/ajgw.12199. ISSN 13227130. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajgw.12199>
- [42] ANLI, R. Ertan a Özge Algan CAVULDAK. A review of microoxygenation application in wine. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 2012, **118**(4), 368-385 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1002/jib.51. ISSN 00469750. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jib.51>
- [43] SÁNCHEZ-GÓMEZ, Rosario, Ignacio NEVARES, Ana MARTÍNEZ-GIL a Maria DEL ALAMO-SANZA. Oxygen Consumption by Red Wines under Different Micro-Oxygenation Strategies and Q. Pyrenaica Chips. Effects on Color and Phenolic Characteristics. *Beverages* [online]. 2018, **4**(3) [cit. 2019-03-15]. DOI: 10.3390/beverages4030069. ISSN 2306-5710. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2306-5710/4/3/69>
- [44] SÁENZ-NAVAJAS, María-Pilar, Charlie HENSCHEN, Annegret CANTU, Aude A. WATRELOT a Andrew L. WATERHOUSE. Understanding microoxygenation: Effect of viable yeasts and sulfur dioxide levels on the sensory properties of a Merlot red wine. *Food Research International* [online]. 2018, **108**, 505-515 [cit. 2019-03-25]. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.03.081. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918302710>

- [45] ATANASOVA, Vessela, Hélène FULCRAND, Véronique CHEYNIER a Michel MOUTOUNET. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2002, **458**(1), 15-27 [cit. 2019-03-18]. DOI: 10.1016/S0003-2670(01)01617-8. ISSN 00032670. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267001016178>
- [46] MCRAE, Jacqui M., et al. Effect of early oxygen exposure on red wine colour and tannins. *Tetrahedron* [online]. 2015, **71**(20), ISSN 3131-3137 [cit. 2019-03-01]. DOI: 10.1016/j.tet.2014.08.059. ISSN 00404020. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040402014012654>
- [47] EDER, Reinhard a kol. *Vady vína*. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006. ISBN 80-903201-6-3.
- [48] Wine oxidation. WATERHOUSE, L., Galvin L. SACKS a David W. JEFFERY. *Understanding wine chemistry* [online]. 1. Chichester, United Kingdom: John Wiley, 2016, s. 278-293 [cit. 2019-03-20]. ISBN 9781118730720. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781118730720>
- [49] CLARK, A.C., E.N. WILKES a G.R. SCOLLARY. Chemistry of copper in white wine: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 2015, **21**(3), 339-350 [cit. 2019-03-26]. DOI: 10.1111/ajgw.12159. ISSN 13227130. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajgw.12159>
- [50] RÉBLOVÁ, Martina. Oxid siřičitý ve víně – proč se používá a jeho případná rizika. In: *MojeLahve.cz* [online]. 10. 08. 2014 [cit. 2018-08-03]. Dostupné z: <https://mojelahve.cz/clanek/oxid-siricity-ve-vine-proc-se-pouziva-a-jeho-pripadna-zdravotni-rizika-233>
- [51] STEIDL, Robert. *Po cestách ke špičkovému vínu*. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978-80-903201-8-5.s
- [52] SALMON, Jean-Michel, Caroline FORNAIRON-BONNEFOND, Jean-Paul MAZAURIC a Michel MOUTOUNET. Oxygen consumption by wine lees: impact on lees integrity during wine ageing. *Food Chemistry* [online]. 2000, **71**(4), 519-528 [cit. 2019-03-31]. DOI: 10.1016/S0308-8146(00)00204-1. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814600002041>

- [53] SCHNEIDER, Volker, Jonas MÜLLER a Dominik SCHMIDT. Oxygen Consumption by Postfermentation Wine Yeast Lees: Factors Affecting Its Rate and Extent under Oenological Conditions. *Food Technology and Biotechnology* [online]. 2016, June 30, **54**(4), 395-402 [cit. 2019-03-01]. DOI: 10.17113/ft.b.54.04.16.4651. ISSN 1330-9862. Dostupné z: <https://www.cabi.org/nutrition/abstract/20173007394>
- [54] PICARIELLO, Luigi, Angelita GAMBUTI, Francesca PETRACCA, Alessandra RINALDI a Luigi MOIO. Enological tannins affect acetaldehyde evolution, colour stability and tannin reactivity during forced oxidation of red wine. *International Journal of Food Science and Technology* [online]. 2018, **53**(1), 228-236 [cit. 2019-03-31]. DOI: 10.1111/ijfs.13577. ISSN 09505423. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ijfs.13577>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

např.	Například
°C	Stupeň Celsia
č.	Číslo
Sb.	Sbírky
tzv.	Tak zvaný
°NM	Stupeň normalizovaného moštoměru
FRAP	Ferric reducing antioxidant potential
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ABTS ⁺	2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát
DPPH	1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
DPPH-H	Difenylypikrylhydrazin
rRNA	Ribozomální ribonukleová kyselina
sp.	Species (druh)
ATP	Adenosintrifosfát
Obj. %	Objemová procenta
FID	Plamenově ionizační detektor
M	Molární
SO ₂	Oxid siřičitý
H ₂ SO ₃	Kyselina siřičitá
HSO ₃ ⁻	Hydrogensiřičitanový anion
SO ₃ ²⁻	Siřičitanový anion
OIV	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin