

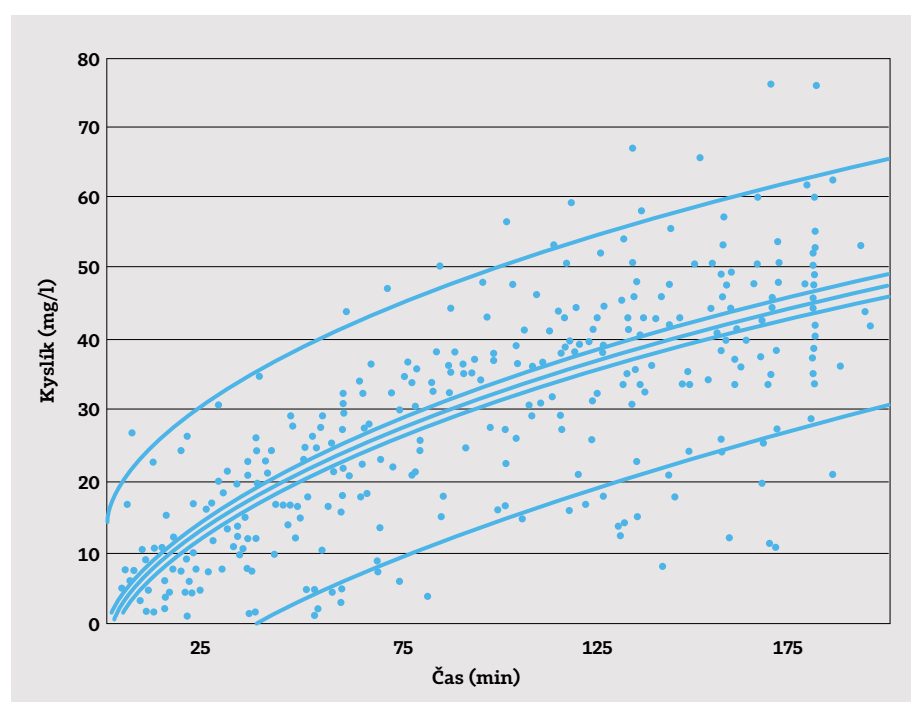
Kyslík – předfermentační operace

1. Úvod

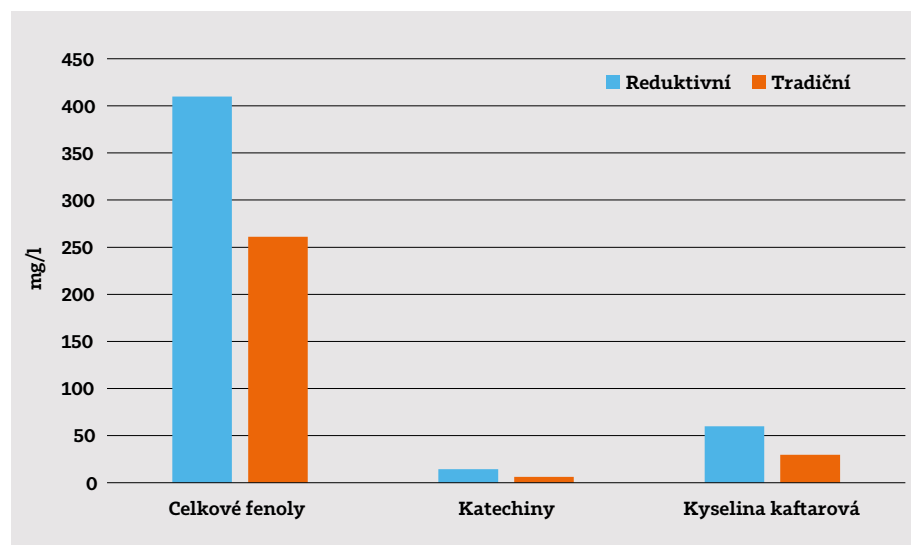
Při výrobě vína, a zejména zpracování hroznů se s otázkou kontaktu s kyslíkem potýkáme při každé operaci. Již při prvním porušení bobulí oxidační enzymy zpracovávají substráty z řad fenolických

sloučenin. O tom, do jaké míry bude mošt oxidován, rozhoduje způsob zpracování a následná vinifikace. Dnešní moderní vinařské provozy umí zpracovat surovinu ve striktně reduktivních podmínkách za pomoci uzavřených lisů, inertních nádob

a antioxydačních přípravků. Nicméně reduktivní zpracování není jedinou možností. V závislosti na požadovaném stylu připravovaného vína lze zvolit míru aerace od striktně reduktivní cesty až po hyperoxidaci moštu. Právě managementem kyslíku v předfermentačních operacích se bude zabývat tento článek.



Obr. 1: Vývoj spotřeby kyslíku moštem. Data převzata a upravena z: SCHNEIDER, 1998



Obr. 2: Porovnání obsahu fenolických látek ve vínech připravených tradiční a reduktivní metodou. Data převzata a upravena z: ANTONELLI a kol., 2010

2. Předfermentační operace ve vztahu k managementu kyslíku

Samotné hrozny většinou vykazují velmi nízkou hladinu kyslíku, takže jeho prudký nárůst způsobuje až narušení slupek při zpracování, a to asi o $9 \text{ mg.l}^{-1} \text{ O}_2$ při $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Z porušených bobulí se vyplavují šťávy a s nimi i látky v nich obsažené. Spotřeba kyslíku moštem v podstatě koreluje s enzymatickou oxidací fenolických sloučenin. Jsou zapojeny dva oxidační enzymy: tyrozináza (PPO) a lakáza. Tyto enzymy používají kyslík jako elektronový akceptor a fenolické sloučeniny jako donor elektronu, což vede k oxidaci fenolických sloučenin. Enzymatická oxidace způsobuje hnědnutí moštu a do značné míry koreluje s obsahem hydroxyskořicových kyselin. V bobulích hroznů révy vinné se nachází ve vakuolách buněk slupky a dužniny. Volné hydroxyskořicové kyseliny se v hroznech vyskytují jen vzácně, většinou je najdeme jako estery kyseliny vinné, tzv. depsidy. Nejběžnějšími depsidy ve víně jsou kyselina kaftarová, kutarová a fertarová. Největší zastoupení má kyselina kaftarová, tedy ester kyseliny vinné a kávové, a to v průměru 170 mg.kg^{-1} hroznů révy vinné. V moštu je první reakcí enzymatického hnědnutí oxidace kyseliny kaftarové a kutarové. Tyto kyseliny se přeměňují na o-chinony. Chinony mohou dále kondenzovat s jinými fenolickými látkami za vzniku polymerizovaných produktů, které dle stupně polymerizace vykazují méně či více hnědé zbarvení. Vlivem enzymatické oxidace se výrazně snižuje obsah fenolických látek, což je pozitivní, neboť některé fenolické látky, zejména flavanoidy, způ-

sobují hořkou a svíravou chuť vín. Zároveň však nadměrná oxidace potlačuje primární aroma, zejména se oxidují vonné thioly.

Na **Obrázku 1** vidíme, že nejvíc kyslíku mošt spotřebuje v prvních minutách. Dál už se rychlost spotřeby snižuje. Pokus s 20 různými odrůdami během dvou let ukazuje, že průměrná spotřeba kyslíku moštem po 175 min. činí cca 45 mg.l⁻¹.

a) Sklizeň

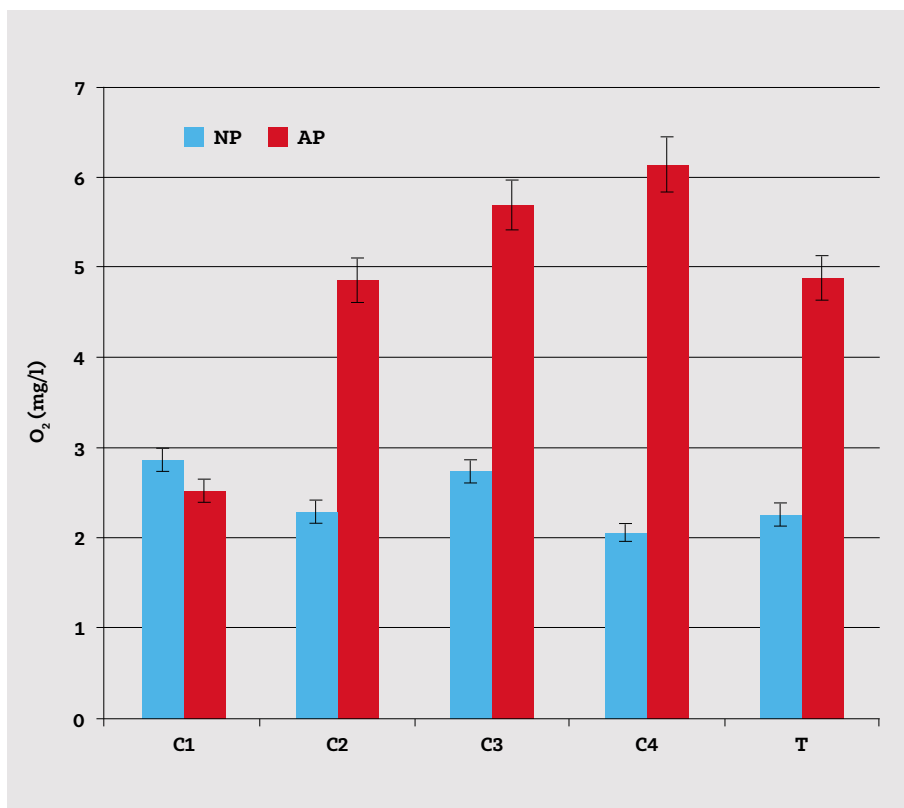
K prvnímu kontaktu s kyslíkem dochází v okamžiku, kdy se naruší slupka bobule. Ať už probíhá sklizeň ručně či mechanizovaně, je důležitá především šetrná manipulace a snaha co nejméně poškodit bobule. Tak se omezí styk moštu s kyslíkem a tím i riziko oxidace a mikrobiální kontaminace. Narušit celistvost bobulí může také působení houbových chorob, hmyzu nebo klimatických podmínek. Takto poškozené hrozny mohou znehodnotit výsledné víno, a proto by se měly sbírat co nejméně. V této fázi již můžeme také poprvé ošetřovat antioxidačními přípravky. Nicméně při šetrném sběru celých zdravých hroznů to zpravidla není nutné.

b) Odstopkování a mletí

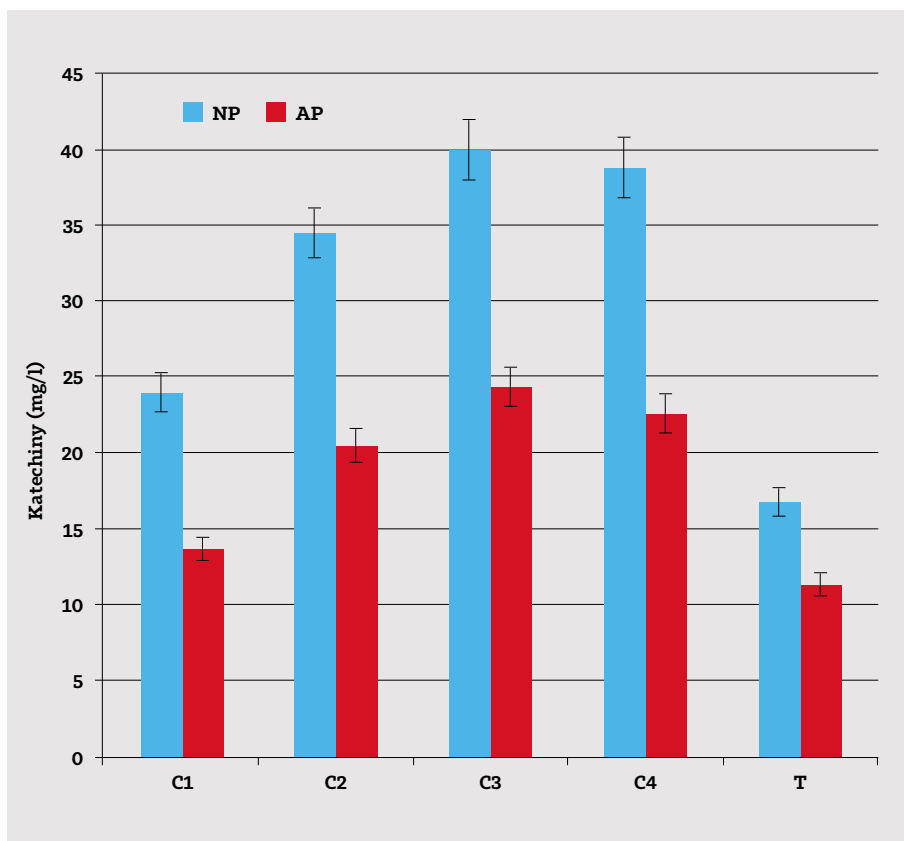
Při mletí, resp. odstopkování hroznů je mošt uvolněný z narušených bobulí v intenzivním kontaktu s kyslíkem. Má-li být mošt zpracován reduktivně, je v této fázi již nezbytné aplikovat ochranné látky – SO₂, kys. askorbovou, taniny. Často se v praxi využívají směsi těchto látek. Pochopitelně, že stejně jako u jiných operací, je základem úspěchu šetrné zpracování, které zamezí přílišné tvorbě kalů. Nadměrné množství kalových částic může být v oxidativních podmínkách příčinou tvorby prekurzorů nežádoucích C₆-alkoholů, které se ve víně projevují nepříjemnými bylinnými tóny. Přečerpávání vzniklého rmutu by mělo být také co nejkratší a nejšetrnější.

c) Macerace

Předfermentační macerace má na složení moštu vliv v celé řadě směrů. Nejčastěji se skloňuje vliv na pH, titrovatelné kyseliny, asimilovatelný dusík a celkově na aroma. Ve vztahu k managementu kyslíku se však jedná především o extrakci výše zmiňovaných fenolických látek a glutathionu. Vzhledem k extrakci nežádoucích fenolic-



Obr. 3: Porovnání množství rozpuštěného kyslíku při lisování s ochranou dusíkem a bez ochrany. (C1-C4) frakce z jednotlivých fází lisování; (T) všechny frakce; (NP) s ochranou dusíkem; (AP) bez ochrany dusíkem. Data převzata a upravena z: CATANIA a kol., 2019



Obr. 4: Porovnání množství extrahovaných katechinů při lisování s ochranou dusíkem a bez ochrany. (C1-C4) frakce z jednotlivých fází lisování; (T) všechny frakce; (NP) s ochranou dusíkem; (AP) bez ochrany dusíkem. Data převzata a upravena z: CATANIA a kol., 2019

kých látek, které mohou způsobit určitou hořkost a svíravost bílých vín, je třeba s touto skutečností počítat. Jsou-li déle macerované rmuty, resp. mošty následně vystaveny působení kyslíku, většinou dojde ke spontánnímu odstranění fenolických sloučenin oxidací s následným odkalením moštu. Při striktně reduktivních podmínkách však tyto látky mohou přejít až do hotového vína (**Obrázek 2**). Je tedy důležité v reduktivních podmínkách zkrátit délku macerace, např. pomocí aplikace enzymů, nebo počítat s odstraněním fenolických látek pomocí bílkovinného čířidla či jiných preparátů k tomuto účelu používaných – např. PVPP. Vyšší obsah glutathionu po maceraci je vnímán pozitivně. Jedná se o mocný antioxidant, který pomáhá stabilizovat barvu moštu i vína, neboť reaguje s oxidačními produkty (chinony) a vytváří relativně stabilní sloučeninu, tzv. GRP (grape reaction product). Jednoduše řečeno se glutathion pozitivně podílí na stabilitě barvy a jeho vyšší obsah dodává vínu sytější a žlutější barvu. V souvislosti se samotnou oxidací je třeba brát na zřetel, že macerace je dalším krokem, který umožňuje rozpustit další kys-

lík ve rmutu. Má-li být tedy získán mošt reduktivní cestou, je třeba provádět maceraci v uzavřené nádobě a ideálně s využitím chlazení, které výrazně sníží aktivitu oxidačních enzymů.

Obrázek 2 znázorňuje výsledky pokusu, při kterém se porovnávala reduktivní technologie zpracování hroznů (aplikace kys. askorbové a SO_2 a ochrana inertním plynem) s tradiční technologií, kdy byl mošt pouze po lisování ošetřen dávkou SO_2 . Výsledky naznačují, že při striktně reduktivní technologii obsahovala vzniklá vína vyšší množství fenolů.

d) Lisování

Při lisování by už mělo být zcela jasné, zda pracujeme v reduktivních podmínkách, anebo je mošt plně vystavený kontaktu s kyslíkem. To určuje přidávek antioxidantních činidel, typ lisu i samotný průběh lisování. Na přípravu striktně reduktivního moštu je vhodné použít uzavřený systém lisu, příp. s možností lisování pod inertním plynem. Pneumatický lis je dnes v technologii reduktivních vín již samozřejmostí. Naopak při zamýšlené oxidaci moštu je možné využít polouzavřených

lisů. Pochopitelně šetrnost lisování je na prvním místě, ať už u reduktivní nebo oxidativní cesty (viz nežádoucí fenoly a C_6 -alkoholy zmiňované výše).

Obrázky 3 a 4 znázorňují rozdíly mezi lisováním s ochranou inertního plynu a bez ní. K pokusu byl použit uzavřený pneumatický lis. Z grafu je patrné, že při lisování bez ochrany dusíkem bylo v moštu rozpuštěno cca dvojnásobné množství kyslíku. Naopak koncentrace katechinů byla u nechráněné varianty téměř o polovinu nižší.

e) Úpravy moštu

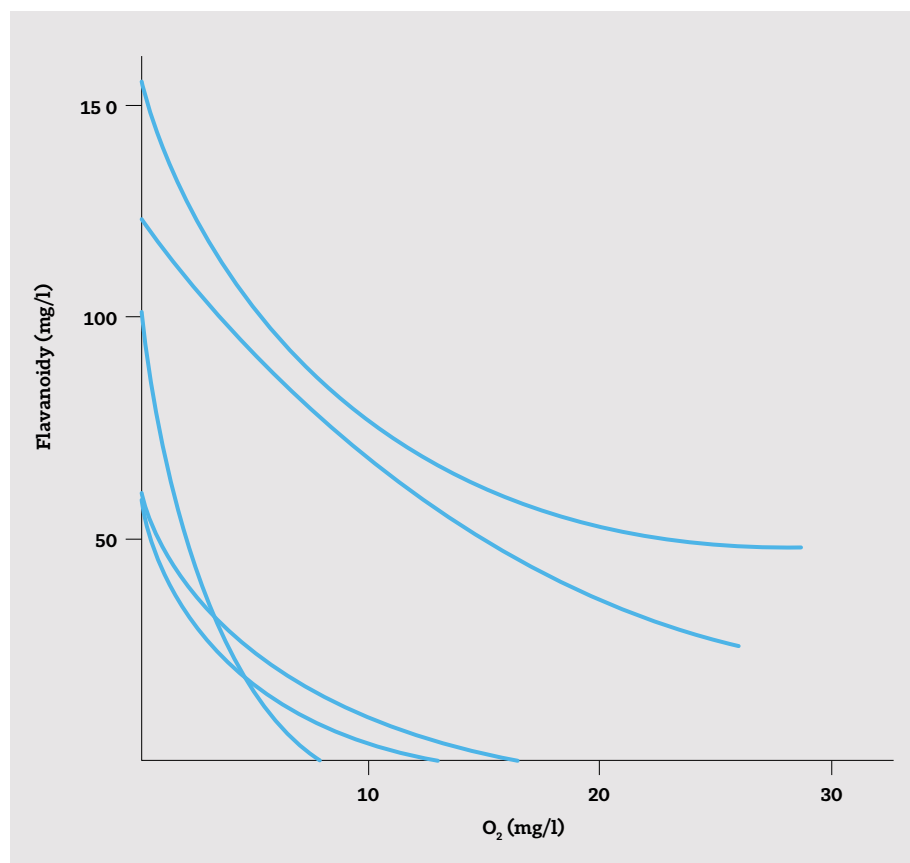
Mošt je po vylišování vystaven kyslíku během přetáčení do odkalovací nádoby a poté i při samotném odkalování. Pokud jsme doposud nepoužili žádný antioxidant, můžeme už počítat s výraznou oxidací moštu. Nejdůležitější úpravou moštu před samotnou fermentací je samozřejmě odkalení. Vedle nastavení optimální turbidity a minimalizace nežádoucí mikroflóry se – v kontextu managementu kyslíku – během odkalení odstraňují oxidační produkty vázané na kaly a zároveň se snižuje riziko vzniku již zmiňovaných C_6 -alkoholů. Samozřejmě nelze v tomto článku opomenout ani hyperoxidaci, tedy záměrnou oxidaci moštu. Podrobně je tento úkon popsán v další kapitole.

3. Možnosti řízení množství kyslíku v moštu před fermentací. Reduktivní, nebo oxidativní cesta?

a) Aplikace antioxidantů

Potlačení vlivu kyslíku na zpracovávaný materiál lze dosáhnout použitím některých antioxidantů. Oxid siřičitý chrání víno před oxidací fenolických látek a některých aromatických složek. Zabraňuje oxidačnímu hnědnutí snížením aktivity a eliminací oxidačních enzymů. Přidání 50 mg.l^{-1} volného SO_2 eliminuje až 90 % aktivity enzymu tyrozináza. Dodání této dávky SO_2 tak prakticky zastaví oxidaci moštu ze zdravých hroznů, dávka však musí být aplikována najednou. Oxid siřičitý se nejčastěji aplikuje ve formě disiřičitanu draselného nebo hydrogensiřičitanu amonného.

Vhodnou pro kombinaci s oxidem siřičitým je kyselina askorbová neboli vitamin C. Důležitou funkcí kyseliny askorbové je regulovat množství aktivních forem



Obr. 5: Pokles obsahu flavonoidů během hyperoxidace. Pozorování pěti různých moštů. Data převzata a upravena z: SCHNEIDER, 1998

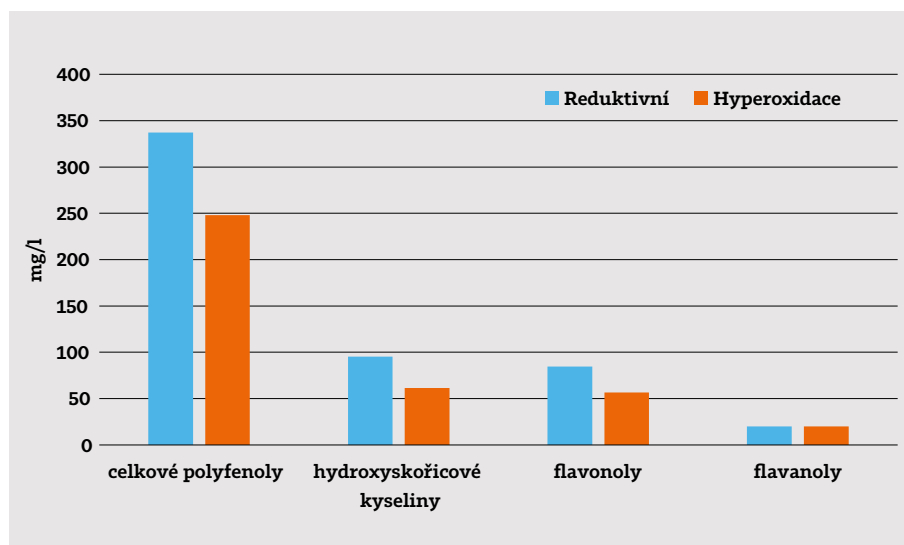
kyslíku. Přídavek kyseliny askorbové do moštu eliminuje enzymatickou oxidaci, ne však potlačením aktivity oxidačních enzymů, ale snížením hladiny kyslíku v moštu. Nevýhodou je její vysoká oxidační citlivost – dokáže sice rychle kompenzovat poškození náhlého provzdušnění, ale pouze tak dlouho, dokud není mošt vystaven delší oxidaci. Oxidaci tedy spíše oddálí. Aplikace kyseliny askorbové je tak vhodná v kombinaci s SO_2 v poměru 1:2.

Glutathion je nejhojněji se vyskytující tripeptid. Vyskytuje se přirozeně v hroznech a moštu v různém množství v závislosti na odrůdě. V samotných hroznech ho můžeme najít od 50 do 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Glutathion má silné antioxidační vlastnosti a během procesu výroby vína se zapojuje nejvíce do procesu enzymatické oxidace moštu, kde zachycuje vznikající o-chinony a snižuje tak množství hnědých pigmentů. Mošty s dostatečným množstvím glutathionu zůstávají i při styku s kyslíkem spíše žluté než hnědé. Tím je chráněna jak barva, tak aroma vína. Jeho velkou výhodou je, že při vzniku stabilní GRP jsou z oxido-redukčních reakcí nastalo vyřazení hydroxykyselin.

V potaz lze brát i antioxidační aktivitu samotných fenolických sloučenin, která závisí na jejich struktuře, a zejména na počtu a pozici hydroxylových skupin (-OH). Mezi fenoly s nejvyšší antioxidační kapacitou patří kvercetin, myricetin a kamferol ze skupiny flavonolů. Těto antioxidační aktivity lze využít použitím přípravků na bázi taninů. Musí však vždy jít o fenolické látky, které nepůsobí v bílém víně neharmonicky. V praxi se často používají kombinované přípravky na bázi SO_2 , kys. askorbové a taninu.

b) Hyperoxidace

Z hlediska množství dodaného kyslíku můžeme dělit oxidaci na mikrooxidaci, makrooxidaci a hyperoxidaci. Během zpracování bílých moštů pak můžeme využít proces hyperoxidace, zahrnující záměrnou a často i úplnou oxidaci moštu, za účelem stabilizace a zlepšení kvality výsledného vína. Tuto techniku navrhli a úspěšně aplikovali již v 80. letech italští vězkumníci. S rozvojem mechanizované sklizně se zvyšoval obsah fenolických látek v moštu a tím se výsledná vína stávala hořkými a hrubými. Příčinou bylo časně drčení hroznů a delší kontakt se slupkami. To vedlo ke studiím zabývajícím se příči-



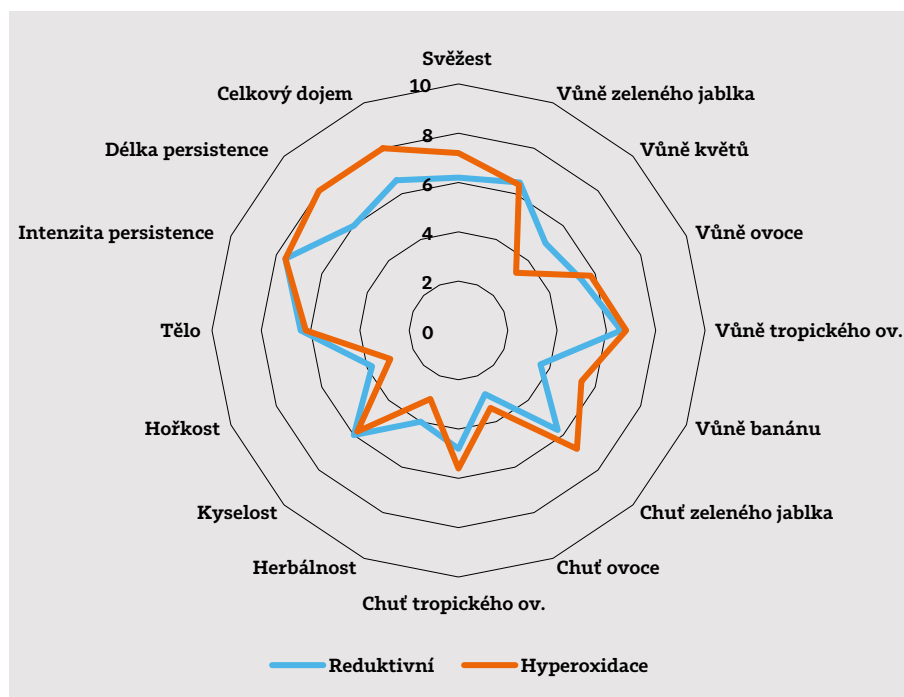
Obr. 6: Porovnání obsahu fenolických látek u reduktivní varianty a po hyperoxidaci. Data převzata a upravena z: CEUIDO-BASTANTE a kol., 2011

nou hnědnutí moštu a vína, kde se předpokládalo, že oxidace moštu se od oxidace vína liší. Základy této metody tedy spočívají v enzymatické oxidaci fenolických sloučenin, které se dále sráží a tvoří hnědé pigmenty s velkou molekulovou hmotností. Tyto sloučeniny pak lze odstranit během odkalení nebo číření. Nejvhodnější je provádět hyperoxidaci ihned po lisování moštu, před jeho odkalením a bez přídavku oxidu siřičitého, který by mohl vést k eliminaci oxidačních enzymů.

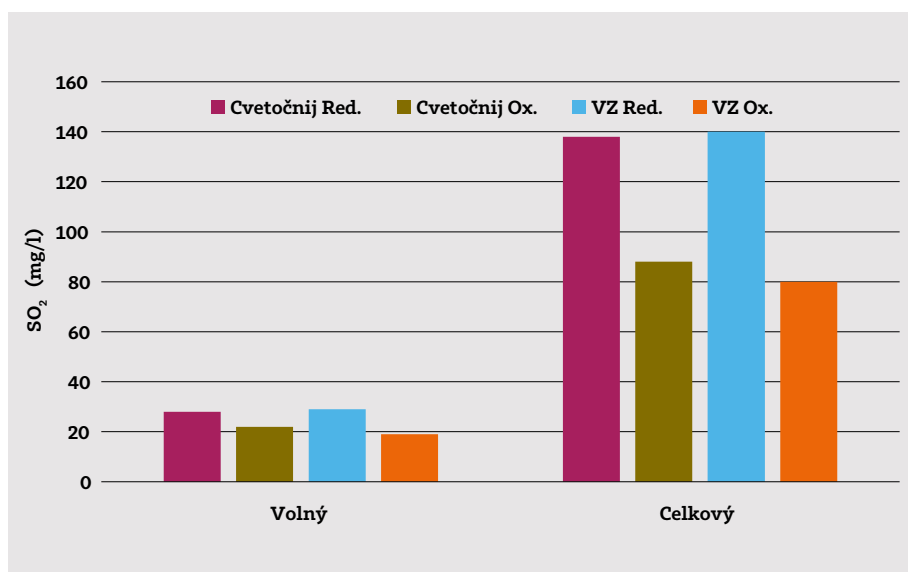
Samotnou operaci je možné provádět několika způsoby. Při čerpání moštu

z jedné nádoby do druhé se kyslík přivádí pomocí difuzéru zavedeného v přívodním potrubí. Případně může být difuzor ponořený přímo do nádrže a kyslík přiváděn během míchání moštu. Namísto čistého kyslíku lze použít i vzduch, pokud není kontaminován těkavými látkami či oleji z maziv používanými v některých kompresorech. Dávka vzduchu je pak v tomto případě pětinasobná, protože běžný vzduch obsahuje pouze 21 % kyslíku.

Na **Obrázcích 6 a 7** jsou znázorněna data z pokusu, ve kterém byl mošt zoxi-



Obr. 7: Porovnání aromatických profilů. Data převzata a upravena z: CEUIDO-BASTANTE a kol., 2011



Obr. 8: Porovnání obsahu oxidu siřičitého u obou variant. Data převzata z: ČAKLOŠOVÁ, 2019.

dován 50 mg.l⁻¹ kyslíku oproti reduktivní variantě, kde byla do moštu přidána dávka oxidu siřičitého. Pokus byl proveden na odrůdě Chardonnay. Na **Obrázku 6** lze opět pozorovat pokles obsahu fenolů po aplikaci kyslíku. Na **Obrázku 7** je znázorněn paprskový graf senzoričkových vlastností obou variant.

Hlavní nevýhoda této metody spočívá v tom, že je těžké určit, kolik kyslíku je potřeba k vyčerpání fenolických sloučenin. Existuje vysoká variabilita v množství fenolických látek a také oxidační enzymatické aktivitě mezi jednotlivými odrůdami. Další nevýhodou je možná destrukce primárních aromatických látek hroznů. Metoda je tedy vhodnější pro vína tvořící buket během fermentace nebo zrání vína. Reakce oxidované kyseliny kaftarové s thioley je právě zodpovědná za ztrátu tónů černého rybízu a grepů, které jsou typické pro Sauvignon a cabernetové odrůdy. Naopak obsah methoxy-pyrazinů, jako další odrůdové aroma těchto odrůd, zpravidla při oxidaci moštu neklesá.

c) Další možnosti

Další možností, jak omezit kontakt se vzduchem, je využít oxid uhličitý ve formě suchého ledu. Rozpuštěním ve rmutu se uvolňuje plynný CO₂ a ten je těžší než vzduch, a proto ho vytlačí z nádoby pryč. Díky velice nízké teplotě se rmut rovněž ochladí a tím se potlačí enzymatická aktivita. Dále lze pak chránit rmut a mošt použitím inertního plynu, např. dusíku.

4. Závěr

Je nadmíru jasné, že kyslík hraje důležitou roli během celého procesu výroby vína. Avšak otázkou zůstává, jestli a do jaké míry je přítomnost kyslíku žádoucí. Reduktivní zpracování je vhodné, pokud je záměrem styl mladého, expresivního vína, s převahou primárních aromatických látek, především vonných thiolů nebo esterů produkovaných kvasinkami. U těchto vín je často třeba vyšších dávek oxidu siřičitého, který však po navázání zůstává ve víně. Síření a ochrana rmutů a moštů jsou však často zbytečné, a buď vedou k vínům s vysokým obsahem polyfenolů – hořčin, trpčin, které jsou senzoričky rušivé –, anebo se s nimi musí technolog vypořádat dalšími prostředky, které však neselektivně víno „očesou“. Ať už přirozená nebo záměrná oxidace moštu přispívá k odstranění oxidačních substrátů a tím výrobě stabilnějších a senzoričky zajímavých vín. Zejména pro výrobu „velkých“ bílých vín je příprava moštu za určitého přístupu kyslíku vhodná. Nejdůležitější je však uvědomit si, jaký styl vína má vzniknout, neboť obě zmiňované cesty mohou přinést skvělá vína, avšak nepromyšlené kombinování obou směrů během celého výrobního procesu bývá zpravidla zdrojem problémů a zřídka vede k uspokojivému výsledku.

Na **Obrázku 8** jsou znázorněna data z práce zabývající se oxidací moštu, kdy byla sledována koncentrace volného a celkového oxidu siřičitého během

procesu výroby vína. Rozdíly v koncentracích SO₂ byly měřeny po čtyřech měsících v hotovém víně. Velký rozdíl v obsahu celkové SO₂ je dán právě dávkou, která přišla do moštu ještě před zahájením fermentace. ■

Použitá literatura:

ANTONELLI, Andrea, et al. Comparison of traditional and reductive winemaking: influence on some fixed components and sensorial characteristics. *European Food Research and Technology*, 2010, 231.1: 85–91.

CEJUDO-BASTANTE, M. J., I. HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, L. I. CASTRO-VÁZQUEZ A M. S. PÉREZ-COELLO Hyperoxygenation and bottle storage of Chardonnay white wines: Effects on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2011, 59(8), 4171–4182.

ČAKLOŠOVÁ, K. Vplyv stupňa oxidácie muštov na senzoričku a analytické vlastnosti vín révy vínnej. Diplomová práce Mendelova univerzita v Brně, 2019.

CATANIA, Pietro, et al. Pneumatic Press Equipped with the Vortex System for White Grapes Processing: First Results. *CHEMICAL ENGINEERING*, 2019, 75.

COETZEE, Carien. Oxygen and sulphur dioxide additions to Sauvignon blanc: effect on must and wine composition. 2011. PhD Thesis. Stellenbosch: University of Stellenbosch.

MORENO-ARRIBAS, M. V. A M. C. POLO *Wine chemistry and biochemistry*. Edition ed.: Springer, 2009.

RIBÉREAU-GAYON, P., D. DUBOURDIEU, B. DONÈCHE A A. LONVAUD *Handbook of enology, Volume 1: The microbiology of wine and vinifications*. Edition ed.: John Wiley & Sons, 2006. ISBN 0470010355.

SCHNEIDER, V. Must hyperoxidation: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1998, 49(1), 65–73.

WATERHOUSE, A. L. *Wine phenolics*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2002, 957(1), 21–36.