

Kyslík a víno – úvod do problematiky

Představujeme vám první část minisérie článků věnovaných problematice kyslíku ve víně. Ačkoliv byl kyslík vždy vnímán jako nepřítel vína, je v současném vinařství velmi diskutovaným tématem. Velká pozornost je věnována především oxidačně-redukčním reakcím. Zdánlivě jednoduchá oxidace či redukce vína není pouze o tom, jestli se nám víno zdá naoxidované, nebo naopak příliš reduktivní až sirkové.

Kyslík hraje důležitou roli při každé reakci, ať už jde o chemickou reakci, či důsledek mikrobiální aktivity. Ovlivňuje budoucí víno již od sklizně hroznů přes zpracování a kvašení až po školení a zrání vína, ať už v nádobách, nebo lahvích. Najít rovnováhu mezi oxidací a redukcí je složitý proces, při kterém je nutné dokonale znát reakce kyslíku a látky, se kterými reaguje.

Vzduch kolem nás tvoří z více než 20 % kyslík, a ten proto značně ovlivňuje průběh všech technologických operací. Je třeba se naučit s kyslíkem po dobu výroby vína pracovat, využívat jeho přednosti a potlačit nepříznivé dopady na víno.

Kyslík a jeho význam při výrobě vína

Je obecně známo, že kyslík má velký vliv na chemické složení i sensorické vlastnosti vína. Je tedy třeba kyslíku věnovat během výroby vína zvláštní pozornost (DAY et al., 2015). Je nejrozšířenějším a nejdůležitějším (pro život nezbytným) biogenním prvkem na zemi. Jde o velmi reaktivní (řadí se mezi nejsilnější oxidační činidla), bezbarvý plyn bez chuti a zápachu (KULVEITOVÁ, 2007). Vyskytuje se ve vázané formě ve vodě a mnoha sloučeninách tvořících zemskou kůru. Vyskytuje se i ve formě tříatomových molekul jako ozón O_3 (anonym, 2005).

Je součástí mnoha významných sloučenin, ať už anorganických – sírany (SO_4)^{-II}, dusičnany (NO_3)⁻, fosforečnany (PO_4)^{-III} a voda (H_2O), nebo organických (estery, fenoly, alkoholy). (GREENWOOD, EARNSHAW, 1993)

Vliv kyslíku na víno (+/-)

Kyslík může ve víně hrát dvojí roli – celkovou charakteristiku vína může ovlivnit jak pozitivně, tak i negativně. To, které účinky se projeví, závisí na množství rozpuštěného kyslíku, na okamžiku, kdy je kyslík rozpuštěn, a v nemalé míře i na vlastnostech samotného vína (například červená vína jsou k oxidaci méně náchylná než bílá). Vliv kyslíku se vztahuje zejména na modifikaci fenolových sloučenin, kde způsobuje hnědnutí a změnu barvy mostů vlivem oxidace polyfenolů. Má však pozitivní účinky na vývoj a zrání vína z hlediska sensorického. Dále má kyslík vliv na aroma a množení a růst mikroorganismů.

Rovnováha mezi pozitivními a negativními účinky kyslíku závisí na velkém množství faktorů. Prvním důležitým faktorem je dobrý zdravotní stav hroznů; nemálo účinek kyslíku ovlivňuje i odrůda, resp. preferované odrůdové komponenty. Některé odrůdy jsou na styk s kyslíkem velmi citlivé, jako třeba Sauvignon nebo muškátové odrůdy, jiné méně. Odolnost odrůd vůči vzduchu souvisí s látkovým složením, především s obsahem přírodních antioxidačních sloučenin (např. polyfenoly, glutathion) (ZIRONI et al., 2010).

Dalšími faktory ovlivňujícími účinek kyslíku jsou teplota, fáze, ve které se výrobní proces nachází, nebo i to, jak dlouho jsou mošt či víno vystavené vzduchu ▶



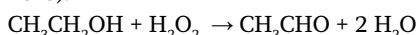
(MOUTOUNET, VIDAL, 2008; ZIRONI et al., 2010).

Reakce kyslíku ve víně

Kyslík není při vývoji vína vždy jen problémem. Již Pasteur dokázal, že přiměřené provzdušnění je pro průběh fermentace velmi důležité. Jak už bylo několikrát zmíněno, kyslík má pozitivní vliv na stabilizaci barvy a snížení množství taninů. Kladně ovlivňuje i alkoholovou fermentaci (ZIRONI et al., 2010).

Jestliže správně určíme množství a termín dodání kyslíku do vína, může nám tento přídatek nemálo pomoci, a to zejména při výrobě červených vín. Nadměrné množství dodaného kyslíku však může způsobit automatickou oxidaci (ZIRONI et al., 2010).

S kyslíkem reagují především fenolové sloučeniny. Vlivem této reakce dochází k hnědnutí a ztrátě barvy. Oxidace fenolových sloučenin může způsobit tvorbu různých těkavých sloučenin ovlivňujících aroma vína (EINSEMAN, 1998; ZIRONI et al., 2010). Na oxidaci fenolových sloučenin navazuje oxidace alkoholu. Oxidace alkoholu není úplně jednoduchá, jde o dvoufázový proces. Nejprve kyslík interaguje s fenolovými sloučeninami ve víně. Jako vedlejší produkt vzniká peroxid vodíku (H₂O₂), který je silným oxidačním činidlem. Následuje reakce mezi alkoholem (CH₃CH₂OH) a peroxidem vodíku (H₂O₂) za vzniku acetaldehydu (CH₃CHO) a vody (H₂O) (EINSEMAN, 1998; ZIRONI et al., 2010).



Oxidace

Jestliže dojde ke kontaktu vína se vzduchem, kyslík obsažený ve vzduchu se ve víně začne díky fyzikálním reakcím rozpouštět. Rozpuštěný kyslík následně reaguje s fenolovými sloučeninami a způsobuje jejich oxidaci, která může probíhat pouze za přítomnosti katalyzátorů. Reakci mezi kyslíkem a kyselinou kaftarovou jsou schopny zprostředkovat enzymy ze skupiny oxidáz a ionty přechodných kovů (DHARMADHIKARI, 2015).

Mechanismus působení i následné reakce jsou u obou katalyzátorů rozdílné. Hlavní oxidací hotového vína je ta neenzymatická, tj. chemická oxidace, katalyzovaná kovovými ionty, a proto je třeba se jí

věnovat mnohem podrobněji než oxidaci enzymatické, která probíhá především v moštích a dozrívá může v mladých vínech (DHARMADHIKARI, 2015; KUMŠTA, 2007).

Enzymatická oxidace

Probíhá především v moštích za přítomnosti enzymů ze skupiny oxidáz, jako jsou o-polyfenoloxidáza (PPO) nebo p-polyfenoloxidáza (lakáza) (KUMŠTA, 2007).

O-polyfenoloxidáza přenáší atomy vodíku z katecholu na kyslík, přičemž vzniká příslušný o-chinon a voda. Aktivitu PPO lze během zpracování hroznů ovlivnit běžnými postupy, jako je zvýšení teploty (tzv. „thermoflesh“) či její snížení, nebo přidávkou oxidu siřičitého. SO₂ inhibuje aktivitu PPO při koncentraci 32 mg.l⁻¹.

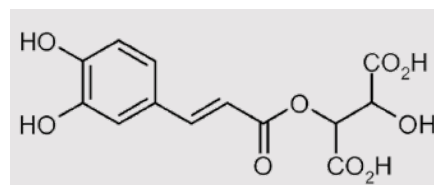
P-polyfenoloxidáza produkuje plíseň šedá (*Botrytis cinerea*) a její odolnost vůči oxidu siřičitému je podstatně vyšší než u PPO. Z tohoto důvodu jsou mošty získané z nahnilých hroznů citlivější na oxidaci (KUMŠTA, 2007).

Chemická oxidace

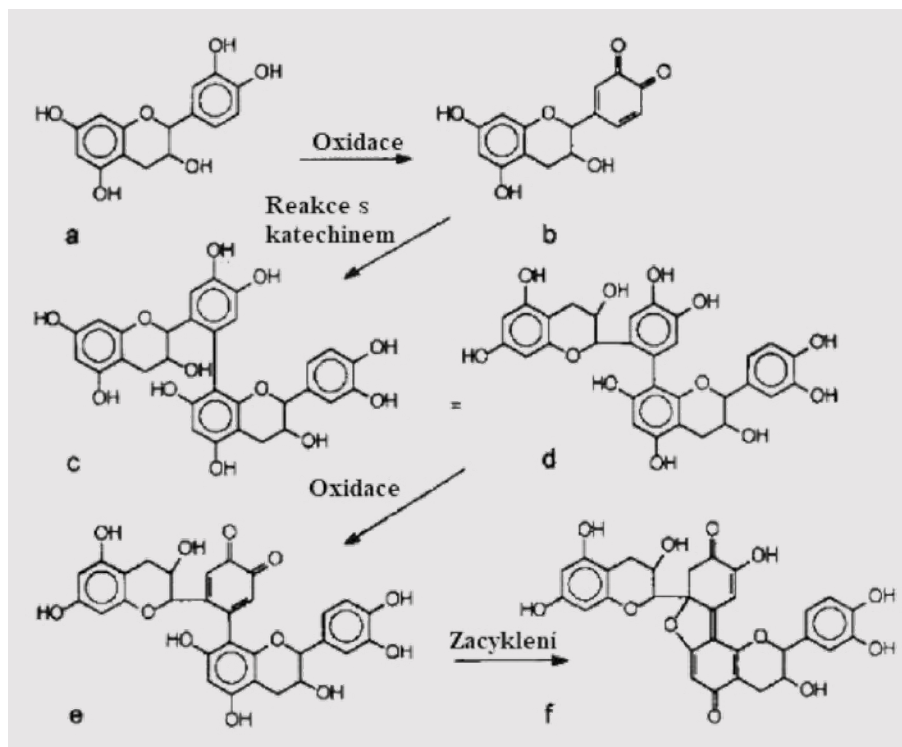
Ve víně převažuje až v období po alkoholové fermentaci a probíhá tzv. radi-

kálovým mechanismem. Přítomnost iontů kovů, jako je Fe²⁺ a Cu, výrazně zvyšuje oxidační aktivitu kyslíku. Jejich prostřednictvím dochází k redukcí kyslíku na superoxidované radikály, které následně tvoří reakci s přítomnými fenolovými látkami obsahujícími ortho-dihydroxybenzenovou část (katechol – kyselina kaftarová [KUMŠTA, 2007]) nebo skupinu galloyl a další látky. Tyto složky jsou oxidovány na semichinon radikály a benzochinony. Vedlejším produktem této reakce je peroxid vodíku, později reagující s etanolem. V přítomnosti železnatých iontů tento proces probíhá dále za vzniku acetaldehydu a dalšího superoxidovaného radikálu (DANILEWICZ et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011; REYNOLDS, 2010). Schéma níže (**Obrázek 2**) zobrazuje příklad chemické oxidace katecholu.

Působením fenolů se oxidované železné ionty zpětně redukuje a železo se pak ve



Obr. 1: Kyselina kaftarová (KUMŠTA, 2007)



Obr. 2: Příklad oxidace katecholu (a) s další reakcí 1,2-chinonového produktu (b) reakcí s katechinem za vzniku dimeru (c) mírně překresleno jako (d), který po další oxidaci poskytl nový 1,2-chinon (e), který může podléhat cyklizaci na strukturu (f). (Zdroj: ALLEN, 1998)

víně vyskytuje ve formě železnatého iontu (KUMŠTA, 2007).

I přes to, že se přítomnost kyseliny kaftarové (obecně fenolových látek) ve víně zdá být spíše negativní, ve skutečnosti zmíněné radikálové reakce tlumí. Deaktivuje totiž superoxidovaný radikál i obzvláště náchylné radikály vzniklé z organických látek, jako jsou terpeny, estery mastných kyselin či estery vyšších alkoholů (KUMŠTA, 2007).

Oxidace způsobená mikrobiální aktivitou

Způsobují ji mikroorganismy, jako jsou octové bakterie, křísotvorné kvasinky (*Candida*) a *Brettanomyces*. Všechny zmíněné mikroorganismy jsou závislé na kyslíku. Octové bakterie napadají etanol a produkuje kyselinu octovou, v některých případech i acetaldehyd a etylacetát. Apikulární kvasinky patřící do skupiny *Kloeckera* a *Hanseniaspora* se v nepřítomnosti oxidu siřičitého množí již v moštu a silně ovlivňují počátky fermentace (ZOECKLEIN, 1995).

Jestliže nejsou nádoby s vínem doplněné do své plné kapacity, hrozí, že křísotvorné kvasinky jako *Candida* spp. a *Pichia* spp. vytvoří na povrchu vrstvu křísu. Tato vrstva křísu je spojena s oxidačními defekty, jako je produkce kyseliny octové, aldehydu a těkavých esterů (ZOECKLEIN, 1995).

Oxidační procesy

Oxidační procesy ve víně probíhají již od počátku zpracování hroznů, dále během zrání, skladování i stárnutí. Hrají významnou roli během celé výroby vína. Ovlivnění charakteru i chuti probíhá ve velké míře a může být jak pozitivní, tak i negativní. Zda bude vliv kyslíku na víno kladný, záleží na mnoha faktorech, například teplotě, obsahu prospěšných fenolových látek či hladině oxidu siřičitého (FARKAŠ, 1983; HORNSEY, 2007).

Oxidačně-redukční procesy

Oxidační procesy velmi úzce souvisí s procesy redukčními, a proto jsou souhrnně nazývány oxidačně-redukční procesy. I ve vínech, která jsou udržována bez přístupu vzduchu, probíhají oxidační a redukční procesy. Víno je schopné oksyločovat se i za nepřístupu kyslíku, a to z vlastních zásob. Tento druh oksyločování je však pomalejší, než když je k vínu umožněn přístup vzdušného kyslíku (FARKAŠ, 1983).

Mnoho sloučenin v moštu a víně existuje jako směs jejich oxidovaných a redukovaných forem, označovaných jako „redoxní páry“. Jestliže se jedna sloučenina redukuje, jiná se automaticky oxiduje. Tyto oxidačně-redukční reakce pokračují až do dosažení rovnovážného bodu, kdy není v převaze ani redukční, ani oxidační sloučenina. Během těchto reakcí se někte-

ré látky chovají jako oxidační činidla a jiné jako redukční látky (ZIRONI et al, 2010).

Nejdůležitějším oxidačním činidlem během výroby vína je kyslík. Jako silné oxidanty mohou působit kovy jako například železo či měď. Jejich obsah v moštech i vínech je obvyklý a jsou silnými katalyzátory oxidačních reakcí. Oxidací fenolových sloučenin vznikají některé volné radikály a peroxidy (např. peroxid vodíku - H_2O_2), podílející se na oxidaci (MICHLOVSKÝ, 2014; ZIRONI et al., 2010).

Nejvýznamnější redukční látkou obsaženou ve víně je oxid siřičitý (SO_2), dále se na redukčních procesech podílí kyselina askorbová, fenolové látky a glutathion. Kyselina askorbová se v moštu nachází v různých koncentracích a hraje důležitou roli při omezování enzymatického hnědnutí. Její působení ve víně je taktéž velmi významné, a to při reakcích s peroxidem vodíku. Z tohoto důvodu se kyselina askorbová používá do vína v kombinaci s oxidem siřičitým, aby zachytila H_2O_2 a snížila riziko oxidace. Glutathion je tripeptid tvořený kyselinou glutamovou, cysteinem a glycinem. V hroznovém moštu se vyskytuje přirozeně a v různém množství. Jeho obsah je v každé odrůdě rozdílný, ale může se pohybovat až v koncentraci $100 \mu g \cdot kg^{-1}$. Syntetizují ho kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* během oxidačního stresu. Působí proti volným radikálům a díky reakcím s produkty enzymatické transformace kyseliny kaftarové může zabránit oxidaci moštu. Během těchto reakcí vzniká

2-S-glutation-trans-caffeoylevinná kyselina (tzv. hroznový reakční produkt - GRP), díky které je glutathion schopen zastavit oxidační řetězec (ZIRONI et al., 2010).

GRP se však může stát substrátem pro enzym lakázu, vyskytující se především v moštech z hroznů napadených *Botrytis cinerea*, pak glutathion nedokáže mošt před hnědnutím uchránit (ZIRONI et al., 2010).

Vyšší odolnost červených vín vůči oxidaci zdůvodňuje fakt, že velmi dobrými antioxidanty jsou polyfenoly a taniny (MICHLOVSKÝ, 2014; ZIRONI et al., 2010).

Rozpustnost kyslíku

Jestliže je víno vystaveno vzduchu, kyslík ze vzduchu se ve víně rozpustí. Jedná se o fyzikální proces. Obecně se dá říct, že v jednom litru vína se rozpustí asi 6 ml kyslíku v závislosti na aktuálních pod-



mínkách. Množství rozpuštěného kyslíku ve víně se v průběhu času mění, protože kyslík je využíván v oxidačních reakcích. Rozpustnost je výrazně ovlivněna teplotou (DHARMADHIKARI, 2018).

Po uvedení plynu do kapalné fáze dochází k postupné difundaci. Maximální množství, které je schopné do vína proniknout, odpovídá saturační úrovni a, tlakovým a teplotním podmínkám (MOUTOUNET, VIDAL, 2008).

Rozpustnost kyslíku pozorovaná při různých teplotách je uvedena v **Tabulce 1**.

Hodnoty rozpustnosti kyslíku ve víně jsou, v závislosti na složení, nižší než ve vodě. Alkohol a rozpuštěné pevné látky jsou mimo jiné faktory, které ovlivňují rozpustnost kyslíku ve víně. Protože teplota rozpustnost velmi ovlivňuje, je důležité chránit víno před výrazným provzdušněním během technologických operací přinášejících makrooxidaci za nízké teploty (DHARMADHIKARI, 2018).

Hyperoxidace

Hyperoxidace je enologický předfermentační zásah, který zahrnuje nucenou oxidaci bílého moštu. Díky přidavku extrémního množství kyslíku se snižuje obsah fenolů, látek zodpovědných za hořkost a svravost budoucích vín. Tento postup výrazně zvyšuje barevnou stabilitu vín (TOIT et al., 2006). Práce s moštem po hyperoxidaci probíhá standardním způsobem. Po sedimentaci se mošt ošetří nízkou dávkou oxidu siřičitého, aby během skladování nedošlo k barevným změnám (CEJUDO-BASTANTE et al., 2013).

Makrooxidace

Makrooxidaci rozumíme přidavek velkého množství kyslíku do vína během primární fermentace. Kyslík během fermentace

Tabulka 1

Rozpustnost kyslíku při různých teplotě

Teplota °C	Rozpuštěný kyslík mg.l ⁻¹
0	15,0
10	11,4
20	9,1
30	7,7

Zdroj: DHARMADHIKARI, 2018, upraveno autorem



podporuje syntézu sterolů a tím posiluje buněčné stěny kvasinek, které jsou pak schopné lépe odolávat stresům, které přicházejí se zvyšováním hladiny alkoholu (GOODE, 2019).

Na makrooxidaci navazuje mikrooxidace, která je způsobena menšími dávkami kyslíku a souvisí se zráním vína v dřevěných sudech nebo tancích s řízenou mikrooxidací (GOODE, 2019).

Mikrooxidace

Mikrooxidace je proces záměrného dodávání nepatrných, ale měřitelných dávek kyslíku do vína v určitém časovém horizontu. Cílem je dodat takové množství kyslíku, aby bylo dosaženo pozitivního vlivu na víno, ať už jde o změnu aroma, stabilizaci barviv či oxidační stabilitu.

Kyslík by se měl přidávat tak, aby jeho přísun byl nižší než spotřeba (BALÍK, STÁVEK, 2017; BAROŇ, PRŮŠOVÁ, 2018).

Mikrooxidaci lze zahájit v kterékoli fázi procesu výroby vína, ale obvykle se provádí na konci alkoholové fermentace a před začátkem malolaktické fermentace. Mikrooxidace na rozdíl od běžného provzdušnění při technologických operacích, jako je stáčení nebo filtrace, podporuje stabilitu barvy vína a zlepšuje aroma (BALÍK, STÁVEK, 2017).

Závěrem výroby vína nastupuje tzv. „nanooxidace“, což je velmi omezená expozice kyslíku, ke které dochází po plnění vína do lahví prostřednictvím uzávěru (GOODE, 2019). ■

Literatura je k dispozici u autorů.