

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**^1H NMR chemometrický model pro klasifikaci vlastností
českých vín**

Diplomová práce

**Bc. Aneta Hošťálková
Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů
N-QUALIM**

Doc. Ing. Jaroslav Havlík, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci „¹H NMR chemometrický model pro klasifikaci vlastností českých vín“ vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu doc. Ing. Jaroslavu Havlíkovi, PhD. a Anně Mascellani za odborné vedení, trpělivost a náklonnost. Velmi si vážím času, a cenných rad. Z celého srdce děkuji svým rodičům, Dagmar a Jiřímu za trpělivost, podporu při studiu a finanční zabezpečení. Děkuji Bc. Veronice Faltusové za krásná studijní léta a neuvěřitelnou pomoc. V neposlední řadě děkuji Ing. Pavlovi Stratilovi za významnou pomoc se statistickým vyhodnocením, Mgr. Radce Hostašové, Karolíně Kuchařikové, DiS a Nikolasovi Kubáňovi za psychickou podporu a děkuji Jakubovi Vlčkovi a Jakubovi Strachovi za jejich tvorbu, která mě provázela po celou dobu psaní této diplomové práce. Největší dík patří mé sestře, Ing. Tereze Hošťálkové, která je mi oporou celý život.

¹H NMR chemometrický model pro klasifikaci vlastností českých vín

Souhrn

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je unikátní nedestruktivní analytickou metodou vhodnou pro zkoumání chemického složení vína, od něhož se odvíjí sensorický a aromatický profil daného vína. Cílem této diplomové práce bylo testování hypotézy, zda odezvy chemických sloučenin v NMR spektru, jako jsou například aminokyseliny, organické kyseliny nebo vyšší alkoholy, korelují se sensorickými vlastnostmi vína, konkrétně s jejich aromatickým profilem, a zda je možné jednotlivé aromatické deskriptory na základě obsahu těchto sloučenin predikovat.

Analýza byla provedena u sta vítězných vín soutěže Salonu vín pro rok 2021. Poté byly změřeny na NMR spektrometru Bruker Advance III a díky programu Chenomx bylo anotováno 32 sloučenin naměřených v bílém a červeném víně. Na základě Pearsonovy korelace ($r \geq 0,50$) byla zjištěna závislost mezi aromatickými profilem a jednotlivými koncentracemi sloučenin. Nejsilnější korelace ($r=0,68$) byla zaznamenána u červeného vína, a to mezi alaninem a barikovým aroma. Bylo vyhodnoceno porovnání průměrných aromatických profilů, a to ze dvou nejvíce zastoupených odrůd bílého vína (Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský) a odrůd červeného vína (Rulandské modré a Merlot). Díky porovnání lze tvrdit, že červené víno má komplexnější aromatický profil. Dále byla hodnocena analýza hlavních komponent v závislosti na kategoriích obsahu cukru včetně zbytkového cukru. Výsledná data prokázala, že u bílých vín ovlivňuje obsah cukru nejvíce glukóza a fruktóza a u červených vín citrát, fenylethanol, asparagin a gallát.

Hypotéza, že odezvy sloučenin v NMR spektru korelují se sensorickými vlastnostmi vína a jejich aromatickými deskriptory a lze je na základě těchto sloučenin predikovat, byla tedy potvrzena.

Klíčová slova: ¹H NMR spektroskopie, víno, kvalita vína, profilování vína, falšování

¹H NMR Chemometric Models for Classification of Czech Wine Properties

Summary

Nuclear magnetic resonance (NMR) is a unique non-destructive analytical method suitable for the research of the chemical composition of wine affecting sensory and aroma wine profile. The goal of this thesis was to test the hypothesis stating that responses of chemical components within the NMR spectrum, such as amino acids, organic acids, or higher alcohols, correlate with sensory properties of wine, specifically its aroma profile, and that individual aromatic descriptors may be predicted based on the content of these compounds.

An analysis was performed with 100 winning wines from the Wine Salon competition 2021. They were subsequently measured using a spectrometer Bruker Advance III, and owing to a Chenomx program, 32 compounds detected in white and red wine were annotated. Based on Pearson correlation ($r \geq 0,50$), a dependency between aroma profiles and particular compound concentration has been discovered. The strongest correlation ($r=0,68$) has been detected in red wine between alanine and barrique aroma. A comparison of average aroma profiles of the two most represented white wine varieties (Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský) and red wine varieties (Rulandské modré and Merlot) has been assessed. Owing to this comparison, red wine can be claimed to have a more comprehensive aroma profile. Furthermore, an analysis of the main components dependant on the category of sugar content, including residual sugar, has been assessed. The outcome data have proved glucose and fructose to affect sugar content in white wine, while citrate, phenylethanol, asparagine, and gallate affect the sugar content in red wine.

The hypothesis stating that compounds 'responses within the NMR spectrum correlate with sensory properties of wine and their aromatic descriptors, and can be predicted based on these compounds, has been confirmed.

Keywords: ¹H NMR spectroscopy, wine, wine quality, wine profiling, adulteration

Obsah

1. Úvod.....	4
2. Vědecká hypotéza a cíle práce	5
3. Literární rešerše	6
3.1. Historie vína	6
3.2. Chemické složení vína.....	7
3.2.1. Ethanol, methanol a vyšší alkoholy	8
3.2.2. Glycerol	9
3.2.3. Sacharidy	9
3.2.4. Organické kyseliny	10
3.2.5. Polyfenoly.....	12
3.2.6. Aminokyseliny a biogenní aminy.....	12
3.2.7. Ostatní makronutrienty	13
3.3. Senzorické vlastnosti vína	14
3.3.1. Vizuální posouzení vína	15
3.3.2. Vůně vína.....	16
3.3.3. Chuťový profil vína	17
3.4. Senzorické hodnocení vína ELWIS.....	18
3.5. Metody chemické analýzy vín	21
3.5.1. Spektroskopická analýza	22
3.5.1.1. Vibrační spektroskopie	23
3.5.1.2. Atomová spektroskopie	24
3.5.1.3. Chromatografické analytické metody	24
3.5.2. Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS).....	24
3.5.3. Kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (LC-MS).....	26
3.6. Nukleární magnetická rezonance	27
4. Metodika	31
4.1. Vzorky vína.....	31
4.2. Použité chemické látky	31
4.3. Příprava vzorků pro analýzu	31
4.4. Měření	32
4.5. Analýza dat	32
5. Výsledky a diskuze	34
5.1. Analýza bílého vína dle aromatických profilů	34
5.2. Analýza červeného vína dle aromatických profilů	38

5.3. Analýza hlavních komponent dle kategorií obsahu cukru včetně zbytkového cukru	44
6. Závěr.....	47
7. Literatura.....	48
8. Seznam použitých zkratk a symbolů	58
9. Seznam tabulek	59
10. Seznam obrázků	60

1. Úvod

Víno je po staletí společností považováno za vznešený nápoj, ale také lék. Historie vinařství sahá až do starověké Číny, kde byla réva poprvé vypěstována (Norrie 2019). Z hlediska chemického složení jde pak o vysoce komplexní produkt, a proto se vyznačuje rozmanitostí aromatických profilů (Samphao et al. 2018).

U všech fází výroby vína je prováděno analytické měření (Ruiz-Altisent et al. 2010), a to kvůli zajištění bezpečnosti výsledného produktu. Analýzy odhalují několik zásadních aspektů ovlivňujících výrobu vína, jimiž jsou například mikrobiologické a chemické procesy rozpoznat chemické složení, ale i sensorický profil (de Villiers et al. 2012). Mezi nejčastěji využívané analýzy patří nukleární magnetická rezonance a hmotnostní spektrometrie spojená s plynovou chromatografií (Skogerson et al. 2009).

Nukleární magnetická rezonance je pokročilou metodou, která se využívá ke stanovení molekulární struktury na atomární úrovni vzorků (Krishnan 2019). Jelikož se jedná o nedestruktivní a selektivní metodu, lze ji využít v několika odvětvích, a dá se proto nazývat metodou multidisciplinární. Jedním z těchto vědních oborů je enologie. V případě zkoumání složení vína dokáže NMR odhalit například fázi sklizně, geografický původ a v neposlední řadě i falšování. Metoda analyzuje vzorky pomocí NMR spektra, jež je vytvořeno na základě koncentrací jednotlivých složek ve víně zastoupených (Larsen et al. 2006).

Právě vytvoření chemometrického modelu pro klasifikaci vlastností českých vín pomocí metody ^1H NMR se věnuje tato práce, přičemž primárním objektem výzkumu byla vítězná vína ze soutěže Salón vín České republiky. Teoretická část se zabývá historií vína, dále chemickým složením, sensorickými vlastnostmi a metodami chemické analýzy. Praktická část potom zaznamenává průběh experimentu a prezentuje statistické vyhodnocení výsledků.

2. Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této práce je vytvořit databázi ^1H NMR profilů různých vín a s pomocí algoritmů strojového učení najít klasifikátory odrůd. Dále se práce zabývá vývojem nástroje na určení podobnosti vína využitelné na kontrolu identity šarží.

Naší hypotézou je, že vybrané odezvy sloučenin v NMR spektru, např. aminokyseliny, organické kyseliny, vyšší alkoholy apod., korelují se sensorickými vlastnostmi vína, tzv. aroma profilem a je možné je na základě obsahu těchto sloučenin predikovat.

3. Literární rešerše

Víno je vysoce komplexní produkt vyznačující se širokou rozmanitostí aromatických profilů ovlivněných několika faktory, které poté zasahují do celkového složení konečného produktu. Z řady důvodů je víno je eminentní komoditou. Společnost zajímá rozmanitá škála odrůd, terroir vinic, tedy místo růstu bobulí, půda a mikroflóra. Centrem zájmu je také široké spektrum ročníků a techniky pro výrobu vína. Neodmyslitelnou součástí konzumace vína je blahodárný účinek na zdraví spotřebitele, který je znám již od dávných dob.

3.1. Historie vína

Vinařství neboli pěstování révy vinné údajně započalo v Gruzii asi před 9000 lety. Odtud se rozšířilo do všech velkých kultur na Blízkém východě, přes řeky Tigris a Eufrat do Mezopotámie a poté do Persie. Přesto, že každá z těchto kultur má svůj vlastní mýtus o původu vína, láska k němu je spojuje. Legenda praví, že v Persii (dnešním Íránu) víno objevila milénka krále Jamsheeda, který měl hrozny tak rád, že si je nechal skladovat ve sklenicích, aby je mohl jíst po celý rok. Jednoho dne hrozny v některé z nádob zkvasily, a ztratily tak svou sladkou chuť. Jamsheed předpokládal, že nová tekutina na dně nádoby je jedovatá a sklenici proto náležitě označil. Jeho paní však trpěla úmornými bolestmi hlavy a rozhodla se skoncovat se životem vypitím „jedovaté“ tekutiny z nádoby. Víno jí přineslo nejen úlevu, ale také výrazně zmírnilo bolest a uvedlo ji ke spánku. Když král Jamsheed uslyšel o tomto zázračném léku, sám „jed“ vyzkoušel a víno si užíval natolik, že báječné tonikum dostalo název „Královská medicína“. Vína si následně Peršané začali vážit pro jeho léčivé účinky, a proto také vzniklo nejstarší pouštní přísloví: „Kdo má zdraví, má naději a kdo má naději, má všechno.“ Víno bylo tedy volbou privilegovaných (Norrie 2019).

Dnes je ono tvrzení zapovězeno. Dle výzkumů totiž historie vína započala v Číně a je datována do doby o pět set let dříve než v Gruzii. V neolitickém archeologickém nalezišti Tia-chu (Jiahu) v Číně byly spolu s piktogramy a kostěnými flétnami nalezeny i keramické střepy a fragmenty nádob, které se rozhodl zkoumat profesor Patrick E. McGovern. Při rozboru bylo zjištěno, že v nádobě se nacházela medovina, ovocné víno z hlaholu, rýžové víno a domorodé čínské víno. Nutno podotknout, že tyto nápoje byly vyrobeny dříve než čínský čaj, konkrétně o více než čtyři tisíce let. Knihy čínského lékařství dokládají, že víno zastávalo ve společnosti významnou roli. Bylo součástí čínské *Materia Medica* (lékopis léčivých rostlin a léčiv) či jako médium pro přípravu jiných léků. Červené víno díky své barvě také figurovalo při náboženských obřadech, protože připomínalo krev (Poo 1999).

Čínská *Materia Medica* píše o míchání vína s léčivými rostlinami. Kupříkladu opium bylo běžně míseno s vínem. Do vína se přidávaly nejen byliny, ale také části zvířat, které měly vytvořit zázračné nápoje. Jednou z léčivých směsí, která měla například předcházet potratu, bylo víno s ještěřimi játry, kůží kobyly a cikádami. Standardně se do vína přidávalo maso zmije, nebo se celý had umístil do galonu vína, jenž musel být zapečetěn a zakopán na jeden rok pod koňské stání. Výsledkem byla tekutina léčící apoplexii (mrtvici), bolest žaludku, koliku, bolest srdce, hemeroidy, plynatost nebo krvácení střev. Oslí placenta namočená ve víně

měla napravit alkoholismus a játra černé kočky v bílém víně zase napomohly s léčbou malárie. Proti nachlazení bylo používáno víno ze sovy. Sova byla udušena, oškubána a uvařena a její kosti byly spáleny, rozemlety a zamíchány do vína. S výjimkou homeopatie se však tyto experimenty dnes nepraktikují (Halpern 2008).

Hua Tuo byl nejvýznamějším chirurgem ve starověké Číně. Proslavil se svým nápadem smíchat silný hašiš a kvalitní víno pro vyvolání narkózy před operací, takže pacient cítil pouze malou bolest. O víně jako o léčivu je však celou dobu spekulováno (Norrie 2019).

Dokumentaci vína zajišťovali písaři, jež byli zároveň lékaři. Ti dlouhá léta rozsáhle popisovali medicínské účinky vína. Pravidelná konzumace byla podle tehdejších lékařů neúčinnější prevencí a víno mělo snižovat úmrtnost. Dle dat, která jsou nyní dostupná, opravdu hovoříme o blahodárném nápoji, jenž dokáže předejít mnoha kardiovaskulárním onemocněním, které snižuje až o padesát procent. Vyznačuje se také svým pozitivním účinkem na centrální nervovou soustavu, působí totiž jako relaxant. Spolu se zdravým životním stylem, pohybem a kvalitní stravou může mít víno mnoho benefitů pro naše tělo (Li & Schmiedebach 2015).

Při pohledu do historie mimo jiné zjistíme, že víno se používalo i k účelům antiseptickým – infekce byla v minulých staletích nejčastější příčinou úmrtí. Naopak v dnešní době se víno a jeho střídavá konzumace považuje za pozitivní díky obsahu antioxidantů. Mírná konzumace vína může potenciálně prodloužit život až o několik let. Červené víno obsahuje více antioxidantů oproti bílému vínu, zdravotní pozitiva jsou však připisována oběma variantám. Při výzkumných pracích vědci jasně prokázali, že bílé víno má stejné antioxidační vlastnosti jako víno červené. Bylo totiž zjištěno, že dva monofenoly – tyrosol a hydroxytyrosol vznikají ve víně během fermentačních procesů a nenachází se v hroznu přirozeně. Jedná se o velmi malé molekuly, které se na rozdíl od polyfenolů snáze účastní chemických reakcí, a tím pádem pomáhají při hojení srdeční tkáně po infarktu a tkáň posilují. Klinické studie ukázaly, že červené víno snižuje LDL:HDL v krvi (Fehér et al. 2007).

Osmnácté století bylo pro vinařství zlomové. V roce 1787 totiž vyplula první flotila z Anglie do Austrálie a víno sloužilo jako lék a zdroj vitamínů pro námořníky. Díky vínu bylo možné přežít dlouhou plavbu na moři. Tento fakt se stal odrazovým můstkem pro dnešní výzkumy hledající souvislosti mezi konzumací vína a lidským zdravím (Mansvelt et al. 2002).

3.2. Chemické složení vína

Chemické složení vína je velmi rozmanité. Jedná se totiž o směs několika set sloučenin zastoupených v různých koncentracích. Hlavními složkami je voda, ethanol, glycerol, glukóza a jiné sacharidy a organické kyseliny. Glukóza a ethanol se nejvíce odráží na kvalitě a chuťovém profilu vína. Proto je při produkci nutná pravidelná kontrola jejich přítomnosti při fermentačním procesu. Uhlík z glukózy je zdroj energie pro kvasinky, které metabolizují cukr na ethanol. Zbytková glukóza ovlivňuje sladkost vína (Goriushkina et al. 2009). Každý z těchto hlavních komponentů pak zásadně působí na vlastnosti vína. Nesmíme však opomenout sloučeniny méně koncentrované, které víno rovněž zásadním způsobem ovlivňují. Jedná se o vyšší alkoholy, methanol, estery

organických kyselin, aminokyseliny, těkavé aromatické látky, polyfenoly nebo minerální látky (Samphao et al. 2018).

3.2.1. Ethanol, methanol a vyšší alkoholy

Ethanol je zásadní složkou vína, je vytvářen kvasinkami rodu *Sacchromyces*, které produkují tento alkohol v závislosti na obsahu glukózy v hroznu a druhu kvasinek použitých pro fermentaci. V posledních dvou desetiletích narostla koncentrace ethanolu ve víně o průměrně 2 % ve většině vinařských oblastech. Stalo se tak zřejmě kvůli klimatickým změnám. Snaha omezit množství ethanolu je podle Varela & Varela (2019) zapříčiněna požadavky určitých skupin spotřebitelů, jako jsou například těhotné ženy či řidiči. Vysoký obsah ethanolu negativním způsobem ovlivňuje profil vína, zvyšuje vnímání hořkosti, svíravosti a dochází k maskování těkavých sloučenin. Ethanol také nepřispívá lidskému zdraví a při zhodnocení ekonomické stránky problému je nutno podotknout, že s vyšším množstvím ethanolu ve víně roste i daň (Canonico et al. 2019). Obsah ethanolu ve víně se udává průměrně okolo 70 až 100 g/l. Strategii ke snížení koncentrace vinného alkoholu by měly být vinohradnické postupy – jako je snížení poměru listové plochy k hmotnosti plodů, aby se snížila koncentrace cukru v bobulích, postupy předkvašování a výroby vína, včetně ředění a odstraňování cukru z hroznového moštu, mikrobiologické strategie – jako je použití kvasinek, které vyrábí méně ethanolu, postfermentační postupy a technologie zpracování, a v neposlední řadě odstranění alkoholu po fermentaci (Varela et al. 2015). Kvasinky typické pro produkci menšího množství ethanolu byly široce používány ke zlepšení aroma, chuťového profilu vína a kontrole nežádoucího růstu mikroorganismů (Canonico et al. 2019).

Methanol je ve víně identifikován v nízkých koncentracích, i přesto však evokuje v mnoha lidech obavy. Jeho koncentrace je omezena a kontrolována legislativou. Při výzkumu bylo zjištěno, že obsah methanolu v hroznovém víně je přibližně stejný jako obsah methanolu v čerstvě vylisovaných nepasterizovaných ovocných šťávách, pokud jsou po vylisování určitou dobu skladovány. Při srovnání regulačních limitů bylo zjištěno, že methanol ve víně nemůže představovat žádnou hrozbu spojenou s bezpečností potravin. Pokud by mělo dojít k ohrožení zdraví z otravy methanolem při konzumaci, musel by člověk vypít mnoho litrů v rozmezí jedné hodiny a víno by muselo obsahovat nejvyšší přípustný limit methanolu. Tento alkohol vzniká alkoholovou fermentací při hydrolýze pektinů pektinovými enzymy (pektinmethylesteráza), které se přirozeně vyskytují v ovoci. Více methanolu vzniká při fermentaci moštu na slupce hroznů, proto jsou zaznamenány vyšší koncentrace v červených vínech než v růžových a bílých (Hodson et al. 2017).

Vyšší alkoholy, jako je n-propanol, iso-butanol, iso-pentanol, methionol nebo izoamylalkohol jsou produkovány v průběhu fermentace hroznové šťávy a značně se liší jejich množství dle použitých kvasinek. Jejich obsah ve víně činí 140 až 420 mg/l.

Senzorický profil vína ovlivňují negativně podobně jako ethanol. Vyšší alkoholy výrazně tlumí ovocné nebo dřevnaté tóny. Komplexy vyšších alkoholů s mastnými kyselinami a jejich ethylestery, acetoin, diacetyl a acetaldehyd vytváří specifický zápach, ale v tak složité směsi nelze pachové nuance rozeznat. Při vyšší koncentraci těchto komplexů se v některých případech negativní pachové vjemy snižují a nedochází ke změně (De-La-Fuente-Blanco et al. 2016). 2,3-Butandiol je hlavní dialkohol nacházející se ve víně a je vedlejším produktem fermentace, zřejmě kyseliny pyrohroznové nebo redukce acetoinu. Nižší hladina 2,3-butandiolu indikuje akumulaci acetoinu, což způsobuje negativní senzorické vlastnosti, způsobuje nízký práh chuti a vůně. Obecně se neočekává, že by 2,3-butandiol ovlivňoval senzorický profil alkoholických nápojů vzhledem k jeho vysoké prahové hodnotě přibližně 150 mg/l. Koncentrace ve víně je však od 0,2 g/l do 3 g/l, tudíž lze tvrdit, že má tato látka ve víně významný vliv na senzorický profil, dává vínu hořkou chuť a viskozitu těla (Son et al. 2008).

3.2.2. Glycerol

Glycerol je po ethanolu a vodě nejvíce zastoupenou složkou ve víně. Je charakteristický pro mnoho dalších potravin, jako jsou například rostlinné oleje, pivo, tabák či med. Bylo zjištěno, že glycerol je užitečným indikátorem kvality. Jeho stanovení je zajímavé z toho důvodu, že slouží jako indikátor fermentace a jeho produkce souvisí s přítomností mikroorganismů v potravine. Vysoké koncentrace glycerolu produkují kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae*. Množství vzniklého glycerolu při fermentaci, což je asi 1:10 oproti vytvořenému ethanolu, je ovlivněno odrůdou hroznů, stupněm zralosti, teplotou kvašení, koncentrací SO₂, pH hroznového moštu, složením dusíku, provzdušňováním či kmenem kvasinek a úrovní zaočkování. Jeho koncentrace v suchém víně je obvykle 4 až 10 g/l, u botrytických vín nepřesahuje hranici 20 g/l (Gamella et al. 2008). Botrytické víno je unikátní díky svému vzniku. Hrozny zůstávají na vinnicích, dokud je nenapadne plíseň šedá (*Botrytis cinerea*), která způsobí sesychání hroznů a zahušťování obsahu. Víno je velmi lahodné a má charakteristické chuťové vlastnosti (Ky et al. 2012).

Glycerol zapříčiňuje jemnost vína a oxidací vzniká glycealdehyd, kyselina glycerová či kyselina pyrohroznová (Gamella et al. 2008).

3.2.3. Sacharidy

Volné sacharidy ve víně jsou tvořeny především monosacharidy, cukernými alkoholy, cukernými kyselinami a disacharidy. Některé z nich jsou přirozenou složkou moštů, jiné vznikají jako výsledek fermentace. Nejčastěji je studována přítomnost glukózy, galaktózy, fruktózy, manózy, arabinózy, rhamnózy (Cataldi & Nardiello 2003).

Vinné cukerné alkoholy se skládají z lineárních polyalkoholů a cyklitolů. Erythriol, ribitol, xylitol, sorbitol, mannitol jsou hlášeny ve většině vín, při mé studii ale nebyly zjištěny. V případě cyklitolů, ve víně se standardně vyskytuje myo-inositol, který byl detekován i v mých vzorcích, dále scyllo-inositol nebo chiro-inositol. Kvercetol je zaznamenán pouze u vín, jež zrají v kontaktu s dubovým dřevem, nikoli ve skleněných lahvích (Estrella et al. 1986).

Další sacharidy, které lze ve víně studovat, jsou cukrové kyseliny, jež mají zvláštní význam u vín postižených působením „ušlechtilé hniloby“, která napadá hrozny v prostředí s vysokou vlhkostí a způsobuje produkci vyššího obsahu cukru a kyselin. Konkrétně se jedná o kyselinu glukonovou a galakturonovou (Ruiz-Matute et al. 2009).

Při kvašení vína jsou v hroznovém moštu přítomny hlavní dva cukry, glukóza a fruktóza, které jsou spolu fermentovány na ethanol a oxid uhličitý, vedlejší produkty a metabolity. Glukóza a fruktóza ovlivňují sladkou chuť vína (Lee 1987). Nezkvašený mošt obsahuje přibližně stejné množství dvou hexóz, tedy glukózy a fruktózy, ale výrobci vína se potýkají po prokvašení s vysokými koncentracemi fruktózy (>2 g/l). Kvasinky *Saccharomyces* preferují glukózu před fruktózou. Fruktóza je přibližně dvakrát sladší, tudíž může být příčinou nežádoucí sladkosti suchého vína. Další rizika spojená s vysokým obsahem fruktózy ve víně jsou mikrobiální kontaminace a následné zkažení vína a nižší výtěžek ethanolu (Berthels et al. 2004). Ačkoliv se *Saccharomyces cerevisiae* obecně jeví jako glukofilní, jiné druhy kvasinek, jako je *Candida stellata* nebo *Zygo saccharomyces*, preferují jednoznačně fruktózu (Trabalzini et al. 2003). Důležité je také soustředit se na podmínky prostředí, které rapidně ovlivňují preferenci dané hexózy. Dle Berthels et al. (2004), hladina ethanolu a dusíku nejvíce ovlivňuje tyto preference kvasinek. Vysoké množství ethanolu ve víně inhibuje využití cukru kvasinkami. Zajímavostí ale je, že využití fruktózy se zdá být inhibováno závažněji za podmínek vysoké koncentrace ethanolu. Asimilovaný dusík může stimulovat fermentaci fruktózy přednostně tím, že více působí proti degradaci nosičů hexózy s vyšší afinitou k fruktóze. Celkově bylo v této studii pozorováno vyšší využití cukrů v moštu s vyšším obsahem dusíku (Berthels et al. 2004).

3.2.4. Organické kyseliny

Výzkum Marunaka (2018) odhalil, že pravidelný příjem slabých organických kyselin zlepšuje inzulínovou rezistenci tím, že zvyšuje snížené pH intersticiální tekutiny u diabetes mellitus. Víno je jedním ze zásadních zdrojů organických kyselin, které jsou zodpovědné za organoleptické vlastnosti a estetický charakter. Přesto je důležité nepřekračovat přijatelnou úroveň kyselosti v konkrétní fázi procesu vinifikace. Množství kyselin musí být v souladu s množstvím cukru, a proto je důležité mít metody schopné precizně stanovit a kvalifikovat tyto organické kyseliny (Robles et al. 2019).

Kvantitativní stanovení organických kyselin může sloužit jako kontrola kvality vína, jako indikátor znehodnocení v důsledku skladování nebo zrání (třídy a obsah

organických kyselin dodávají vínu charakteristickou chuť) nebo dokonce ke stanovení pravosti a k zjištění toho, aby potraviny mohly být bezpečně konzumovány (Jurado-Sánchez et al. 2011). Organické kyseliny jsou důležité pro stabilitu vína, a proto je jejich analýza ve víně neodmyslitelnou součástí. Zkoumání probíhá v různých fázích výroby vína, počínaje hroznovou šťávou a dále procesem alkoholového kvašení a stabilizací, protože významné změny ve víně by byly zjištěny změnami v obsahu kyselin (Robles et al. 2019). Organické kyseliny ve víně působí jako pufr v procesu, kdy se pH mění s teplotou. Plní funkci antioxidantů, zabraňují oxidaci lipidů u některých pigmentů. Jejich důležitou úlohou je fungování jako konzervant (Cliff & Pickering 2006).

Kyseliny dělíme na ty, které se přirozeně vyskytují v hroznech, tedy kyselina vinná, jablečná a citronová, a ty, které primárně pocházejí z fermentačních procesů, tedy kyselina jantarová, mléčná či octová. Do vína lze legálně přidávat kyselinu vinnou, citronovou a jablečnou. Kvantifikace kyseliny citronové je důležitá, protože vína určená pro Evropu musí splňovat předpisy, které stanoví, že obsah kyseliny citronové ve víně musí být nižší než 1,0 g/l. Hladina kyseliny jablečné je pečlivě sledována. Mnoho vín totiž prochází procesem známým jako malolaktická fermentace (MLF), která víno zjemňuje, protože se kyselina jablečná mění na kyselinu mléčnou. Koncentrace kyseliny jablečné je přípustná v rozmezí 0 až 4,0 g/l a u kyseliny mléčné je to 0,1 až 3,0 g/l. Tato fermentace je prováděna cíleně u červených vín, u některého typu bílých vín a u šumivých vín. Jedná se o biochemický proces, u kterého se mění kyselina jablečná na kyselinu mléčnou a vzniká oxid uhličitý. Při takovém druhu fermentace se snižuje kyselost vína. Dochází k dekarboxylaci levotočivé kyseliny jablečné na pravotočivou kyselinu mléčnou, snižuje se acidita a víno se tak stává jemnějším. Látka zastavující či potlačující takovou reakci se nazývá kyselina jantarová, taktéž přirozeně se vyskytující kyselina ve víně. Tuto reakci lze ovlivnit i fyzikálními faktory, například chladem, vysokou kyselostí nebo silným sířením způsobujícím nevyhovující prostředí pro tuto reakci (Sumbly et al. 2019). Kyselina vinná zapříčiňuje kovovou chuť ve víně a má relativně agresivní charakter. Její koncentrace se pohybuje v rozmezí 1,5 až 4,0 g/l. Při dlouhodobém zrání vína může být vysrážena do vinného kamene, tedy do vinanu draselného. Fermentace se neúčastní kvasinky, protože je velmi odolná a rozložit ji dokážou pouze některé druhy *Lactobacillus*. V tom případě jde ale o vadu vína z důvodu jablečno-mléčného kvašení a jedná se o zvrhnuté víno. Máselná pachuť vína je způsobena fermentací bakterií mléčného kvašení a kyseliny citronové. V takovéto reakci vzniká diacetyl. Kyselina octová je vedlejším produktem primárního i sekundárního kvašení. Je to těkavá látka, která při vysokých koncentracích způsobuje vadu vína. Limitní koncentrace kyseliny octové je >0,2 g/l (Regmi et al. 2012).

Tyto organické látky s nízkou molekulovou hmotností mohou dramaticky ovlivnit pH a mají také dopad na biologickou stabilitu, senzorické vlastnosti a barvu vína. Profily těchto polárních sloučenin lze použít pro diferenciaci, klasifikaci, identifikaci původu nebo možné falšování nápojů (Regmi et al. 2012).

3.2.5. Polyfenoly

Jednou ze složek hroznů z pohledu chemického složení jsou polyfenoly. Do této skupiny charakterizované pro víno lze zařadit fenolové kyseliny, flavonoidy, taniny, stilbeny, kumariny, ligandy a analogy fenylethanolu. Polyfenoly nelze opomenout hlavně díky velkému významu při sensorickém hodnocení vína. Zodpovídají totiž za vůni, chuť, hořkost a svíravost (Garrido & Borges 2013).

Znalost vztahu mezi kvalitou konkrétního vína a jeho fenolovým složením je v současnosti jednou z výzev enologického výzkumu. Je totiž možné vytvořit určitý antokyanový fingerprint pro určitou odrůdu vína a tento otisk může sloužit jako analytický nástroj pro certifikaci pravosti vína. Snahou je zabránit falšování vína a vytvořit komplexní a udržitelný nástroj pro snadné vyhodnocení (Garrido & Borges 2013).

Fenolové složení vína závisí na mnoha faktorech, například odrůdě, zralosti hroznů, důležité jsou rovněž faktory prostředí, jako je klima, půda, zrání nebo sanitární fáze, a technologie výroby vína, podmínky kvašení a zrání (Fang et al. 2008).

Dle výzkumů na základě fenolového složení hroznů a vína je možné vytvořit jeden nebo více biomarkerů specifických pro konkrétní typ vína, což umožňuje posoudit chemický vývoj během růstu a zrání a je zde možnost vytvořit kvalitativní i kvantitativní metody pro monitorování těchto procesů. Analýza fenolových sloučenin je využívána za účelem ověřování, a tím pádem brání spotřebitele před klamavými informacemi o výrobku (Anastasiadi et al. 2009).

Polyfenoly, známé a často propagované antioxidanty, jsou neopomenutelnou skupinou látek přirozeně se vyskytujících ve víně. Nutno ale poznamenat, že vedlejší produkty při technologii výroby vína obsahují mnohem větší množství polyfenolů (Silva et al. 2018).

Polyfenoly mohou sloužit jako antimikrobiální látky, díky svým vlastnostem a stabilitě při činnosti mikroorganismů. Mohou mít antibakteriální aktivitu proti Gram pozitivním mikroorganismům, které jsou pro technologii výroby vína často nežádoucí. Nabízí se myšlenka využít polyfenoly jako přírodní konzervační látky (Silva et al. 2018).

3.2.6. Aminokyseliny a biogenní aminy

Aminokyseliny se ve víně nevyskytují ve vysokých koncentracích, ale velmi zásadně ovlivňují mnoho faktorů. Aminokyseliny mají různý původ, vznikají degradací hroznových bílkovin, metabolismem kvasinek a bakterií mléčného kvašení. Jejich obsah může být ovlivněn odrůdou hroznů, klimatem, vinohradnickými postupy a technikami výroby vína, především dobou macerace. Nejvíce zastoupené jsou aminokyseliny prolin, jehož koncentrace se zvyšuje s dobou zrání, dále arginin a glutamin (Tuberoso et al. 2015). Sensorický profil vína může být do jisté míry ovlivněn množstvím aminokyselin, jelikož patří k sensoricky aktivním molekulám (Sartor et al.

2021). Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem jako je leucin, izoleucin nebo valin se přeměňují na sloučeniny přispívající ke sladké, ovocné příchuti. Katabolismem aromatických sloučenin, což je fenylalanin, tyrosin nebo tryptofan, se vytváří květinové, chemické a fekální příchutě. Kyselina asparagová je katabolizována do máselných příchutí a sирné aminokyseliny, methionin nebo cystein jsou převedeny na sloučeniny přispívající k chuti vařeného zelí, vajec, masové či česnekové příchuti (Ardö 2006).

Sloučeniny dusíku jsou nezbytné pro růst a metabolismus kvasinek. Pokud dojde ke snížení množství aminokyselin ve víně, dojde také kontinuálně ke zpomalení kvašení. Naopak některé sloučeniny dusíku mohou zapříčinit vznik karcinogenních látek, například ethylkarbamátu. Aminokyseliny jsou dále metabolickými prekurzory vyšších alkoholů, které tvoří hlavní sloučeniny aromatu vína (Valero et al. 2003).

Jak již bylo zmíněno, volné aminokyseliny jsou nezbytné pro růst mikroorganismů v průběhu alkoholového kvašení. Jejich omezení by však mohlo zvýšit riziko pomalé a uvízlé fermentace. V opačném případě u vín s vysokou koncentrací zbytkových aminokyselin hrozí mikrobiologická nestabilita a tvorba biogenních aminů (Wang et al. 2014). Aminokyseliny jsou prekurzorem biogenních aminů, základních dusíkatých sloučenin syntetizovaných v celém živém organismu metabolickými cestami, které obvykle zahrnují dekarboxylaci aminokyselin. Některé biogenní aminy jsou přítomny již v moštu. V hroznech byl nalezen například putrescin nebo kadaverin (Tuberoso et al. 2015). Nejčastěji se však vyskytují aminy histamin a tyramin, které jsou škodlivé pro lidské zdraví (Peña-Gallego et al. 2012).

3.2.7. Ostatní makronutrienty

Vitamíny jsou základními sloučeninami, které jsou součástí metabolických drah kvasinek, včetně aminokyselin, mastných kyselin a alkoholů, což naznačuje jejich pozoruhodnost implikace v průběhu fermentace, stejně jako vývoj aromatických látek ve víně. Vitamíny optimálně řídí několik hlavních metabolických drah a z tohoto důvodu jsou primordiální pro určení fyziologické funkce kvasinek. Bylo zjištěno, že nedostatek vitamínů způsobuje zpomalení fermentace a zhoršení růstu kvasinek (Evers et al. 2021).

Kyselina askorbová, tedy vitamín C, působí jako hlavní antioxidant v metabolických systémech. Má schopnost pohlcovat vzdušný kyslík, tudíž zabraňuje oxidační reakci fenolových sloučenin. Kyselina askorbová funguje jako oxidačně-redukční činidlo a její nestabilní oxidovanou formou je kyselina dehydroaskorbová. Díky chemickým reakcím mohou tyto sloučeniny přispívat k redukci určitých složek vína. Oxidace kyseliny askorbové vede k tvorbě peroxidu vodíku a ten může ovlivnit chemické vlastnosti vína. Pozitivní je protektivní účinek proti oxidaci hroznového moštu (Bradshaw et al. 2001).

Thiamin, vitamín B1, je ve vodě rozpustný a řadí se do B-komplexů. Červená vína obsahují více thiaminu než vína bílá. Je tomu tak proto, že exokarp a semena obsahují více této látky než dužina a šťáva. Během alkoholového kvašení obsah

thiaminu téměř úplně mizí. Jak výzkumy prokázaly, ve víně je pouze 3–5 % koncentrace původního thiaminu, než bylo v původní hroznové šťávě (Perli et al. 2020).

Riboflavin, vitamín B2, existuje ve dvou metabolicky aktivních formách, flavinmononukleotid (FMN) a flavinadeninukleotid (FAD). (Combs & McClung 2017). Pozoruhodné výsledky studie dokázaly, že riboflavin není extrahovaný z pevných částí sklizeného hroznu, ale je produktem fermentace kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Riboflavin je schopný fotosyntézy, a proto může už při zrání vína dojít k vyčerpání jeho hladiny. Z toho však vyplývá, že v bílých vínech dochází k této degradaci mnohonásobně rychleji než ve víně červeném. Proto se můžeme domnívat, že červené víno má určitý protektivní účinek proti degradaci riboflavinu a je na něj bohatší než víno bílé (Evers et al. 2021).

Myo-inositol je vitamín rozpustný ve vodě, jehož koncentrace v hroznových mošttech je hlášena od 340 do 710 mg/l. Při procesu fermentace dojde k jeho významnému snížení. Inositol je stabilní sloučenina, avšak při mikrobiální fermentaci nebo jablečno-mléčném kvašení dochází k jeho vymizení (López-Malo et al. 2015).

V průběhu výroby vína vinaři obohacují hroznový mošt například thiaminem nebo kyselinou askorbovou. Důvodem je zamezení vyčerpání těchto látek při fermentaci, a tím pádem eliminace nutričních nedostatků s následnými nežádoucími dopady na víno. V neposlední řadě posilují antioxidační vlastnosti moštů (Evers et al. 2021).

Bílkoviny jsou zodpovědné za senzorický profil vína v mnoha ohledech. Ovlivňují chuť, stabilitu a hlavně čírost. Chitinázy a proteiny podobné thaumatinu přetrvávají během procesu vinifikace a způsobí zákal a usazeniny v lahvových vínech (Flamini & de Rosso 2006).

3.3. Senzorické vlastnosti vína

Jedním z nejdůležitějších parametrů při hodnocení vína je senzorická analýza. Tato vědecká metoda je podstatná pro zjištění výsledného charakteru vína, jež je ovlivněn klimatickými podmínkami, odrůdou, polohou vinice a technologiemi zpracování. Souhrnný název pro přírodní podmínky ovlivňující výsledný produkt je terroir. Zahrnuje vlivy geologického podloží, složení půdy, vlhkost, srážky, nadmořskou výšku a také tradici a schopnost vinaře. Všechny tyto faktory se rapidně promítají v charakteru vína (Koundouras 2018).

Pro senzorické hodnocení vína využíváme lidské smysly, tedy chuť, zrak, čich, hmat a sluch. V dřívějších dobách byli k tomuto hodnocení zváni vyškolení odborníci, kteří byli schopni posuzovat vlastnosti vína. Dnes se využívá hodnocení senzorickým panelem, což je považováno za spolehlivější a objektivnější než hodnocení zkušeným profesionálem. Na rozdíl od panelu může totiž lidský faktor ovlivňovat výsledky měření dle svých osobních preferencí (Robinson et al. 2014).

3.3.1. Vizuální posouzení vína

Zrak, jeden z pěti lidských smyslů, je důležitý jak pro orientaci, tak pro rozpoznávání podnětů. Při sensorické analýze se jedná o prvotní vjem při posuzování produktu. Z tohoto důvodu mu přikládáme velkou váhu. V oku se nachází zrakové receptory – tyčinky a čípky. Jedná se o světlocitlivé buňky vytvářející nervovou stimulaci na základě absorpce fotonu dopadajícího na sítnici. Tyčinky jsou buňky, jež reagují na nižší intenzitu osvětlení, díky tyčinkám vnímáme kontrasty. Čípky jsou citlivé na světlo různé barvy, tedy různé vlnové délky, intenzity a sytosti barev. Zajišťují fotopické vidění a jsou zodpovědné za zrakovou ostrost (Atchison & Thibos 2016).

Barvu vína způsobují pigmenty, které se přirozeně vyskytují v hroznech. Pigmenty jsou složité a velmi reaktivní molekuly, jejichž vlastnosti jsou ovlivněny oxidačními reakcemi a také stárnutím, bisulfitovým bělením či změnou pH. Barvivo lze extrahovat ze slupek během fermentace. Technologicky jsou pigmenty nejdůležitější pro červené víno, jemuž dodávají jak barvu, tak i organoleptické vlastnosti. Tudíž lze tvrdit, že rozdíl mezi červeným a bílým vínem je ovlivněn také mimo jiné i tímto faktorem. Chemické změny těchto sloučenin způsobují zrání vína. (Håkansson et al. 2003). Pravdou je, že zastoupení pigmentů je pro každé víno charakteristické, tudíž na základě chemického profilu těchto látek může dojít k zamezení falšování vína (Bridle & Garcia-Vigueraab 1996).

Barva je jednou z nejdůležitějších organoleptických vlastností vína, hodnocenou hlavně u vína červeného. Tento faktor také dost rapidně ovlivňuje hodnocení kvality produktu (Bimpilas et al. 2016). Anthokyaniny ve formě kationtu flavyliu produkují červenou barvu vína. Nejsou však jedinou složkou způsobující tuto rudou barvu. Je nutno, aby ve víně byly složky jednotlivých forem anthokyanů zastoupené v daných poměrech, jmenovitě kationty flavyliu, fialové chinonoidní báze, sulfitové adukty či žluté chalkony (Gutiérrez et al. 2005). Na začátku skladování vína jsou složky zastoupeny v určitých poměrech, které ale postupem času, a hlavně zráním vína mění své zastoupení a dochází k barevným změnám. Tomuto procesu se říká kopigmentace a cílem tohoto procesu je ustálit a optimalizovat barvu vína (Liu et al. 2018).

Možnosti, jak zabránit oxidačním změnám barvy vína, jsou pečlivě zkoumány. Fenomén kopigmentace je způsoben molekulárními asociacemi mezi pigmenty a jinými organickými molekulami přítomnými ve víně. Takovéto látky způsobují stabilizaci barevných forem anthokyanů a zvýrazňují jejich barvu. Mezi kofaktory řadíme různé sloučeniny, jako je například fenolová kyselina, flavonoidy (deriváty flavonolů, flavonů), aminokyseliny, alkaloidy a samotné anthokyaniny (Rustioni et al. 2012). Při měření mladých vín je zaznamenáno 30–50 % kopigmentace barvy a během skladování a zrání je zaznamenán rapidní pokles. V takovém procesu narůstají polymerizované formy kofaktorů a ke změnám dochází ve všech odrůdách téměř totožně. Jsou zaznamenávány barevné změny produktu (Bimpilas et al. 2016).

U bílého vína je nutno soustředit se na deriváty xanthyliu, což jsou žluté až oranžové pigmenty s můstkem kyseliny glyoxylové vzniklé dimerizací flavonolů, které

vznikají oxidativním štěpením kyseliny vinné (Bührle et al. 2017). Během skladování a zrání se mohou objevit změny a vady, včetně ztráty charakteristických vůní a nežádoucích barevných změn. Dochází k takzvanému hnědnutí vína, tento jev ve způsoben oxidací polyfenolů zahrnující enzymatické a neenzymatické hnědnutí (Es-Safi et al. 2003). Přestože je výzkum zaměřený na oxidační stabilitu barvy vína ekonomicky zajímavý, řada mechanismů zůstává neprozkoumána (Clark et al. 2007). Oxidace vede ke vzniku chionů, které se účastní polymeračních procesů. Flavanolů, například katechin a epikatechin, souvisí s barevnými změnami ve víně (Curiel et al. 2010). Děj probíhá reakcí flavanolů a látek nefenolických – aldehydů. Kyselina glyoxylová, oxidovaný zbytek kyseliny vinné, obsahuje aldehydovou skupinu a vzniká při skladování vína. S přítomností kovových iontů kontinuálně narůstají i oxidační procesy (Es-Safi et al. 2000). Katechin tvoří žluté pigmenty v přítomnosti kyseliny glyoxylové. Takovýmito sloučeninám se říká xanthyliové deriváty (Guo et al. 2017).

3.3.2. Vůně vína

Čich je u člověka velmi důležitý smysl pro výběr potravy a rozpoznávání chutí. Při žvýkání a polykání je vzduch plný zápachu vytlačován ze zadní části dutiny ústní k čichovým receptorům, což vyvolává mnoho chuťových vjemů, které lidé obvykle přisuzují chuti. Je tak ale způsobeno díky vnímání vůní a zápachů (Mariño-Sanchez et al. 2010).

Moderní metodou hodnocení vůně vína je detekce aromatických sloučenin elektronickým nosem v porovnání s lidským sensorickým panelem. Elektronický nos je založený na tenkovrstevných polovodičových senzorech a byl vyvinut s cílem porovnat výkon při detekci prahu a kvantifikaci koncentrace s vyškoleným lidským sensorickým panelem, aby bylo možné demonstrovat použití elektronického nosu k posouzení enologů, z důvodu časně detekce prahových hodnot některých chemických sloučenin, které způsobují defekty vína. Byly zkoumány prahové hodnoty typických sloučenin červeného vína jako je cis-lakton a sloučenin bílého vína, jako je 3-methylbutanol. Elektronický nos detekoval koncentraci až desetkrát nižší, než lidský panel a správně identifikoval každou úroveň koncentrace, tudíž byl tento systém navržen pro kvantitativní aplikace (Santos et al. 2010).

Za charakteristické aroma vína jsou zodpovědné aminokyseliny ale především těkavé aromatické látky. Aroma vína je komplexní bilancí několika těkavých látek, přičemž dělíme aroma na takzvané „odrádové“, neboli primární, kdy je snaha odlišit od sebe vína na základě odrůdy hroznů typické pro danou oblast (Vilanova & Martínez 2007). Primární aroma způsobují především terpeny, C13-norisoprenoidy, které dodávají ovocné nebo květinové tóny ve vůni (Arrhenius et al. 1996).

Sekundární aroma neboli „fermentativní“ je získáno během alkoholového kvašení. Produkce těchto aromatických látek souvisí s kvasinkami, které se na ní podílejí. Jedná se o vyšší alkoholy, estery, mastné kyseliny, karbonylové sloučeniny a

těkavé fenoly. Důležitý fakt o těkavých esterech pocházejících z metabolismu kvasinek je, že přispívají k chuti vína (Swiegers & Pretorius 2005).

Nejvíce ale záleží na tom, zda jsou dané sloučeniny nad prahem vnímání. Celková koncentrace volných forem těkavých aromatických sloučenin je vždy vyšší než u forem vázaných. Tento jev, jak bylo zjištěno, ovlivňuje fáze zrání a také několik aromatických sloučenin, například geraniol zodpovědný za citrusové aroma (Diéguez et al. 2003). U fermentačního aroma by mohlo docházet k nežádoucím sensorickým vlastnostem, jelikož dochází k vysoké produkci vyšších alkoholů, acetátů, esterů. Bylo zjištěno, že pokud jsou látky v nízkých koncentracích, tedy 300 mg/l, přispívají k požadované komplexnosti vína. Pokud ale dojde k překročení limitu 400 mg/l, vyšší alkoholy mají negativní kvalitativní odezvu (Diéguez et al. 2003). S kvalitou vína je spojována například těkává sloučenina ethylacetát, jelikož koncentrace 200 mg/l se považuje za příčinu negativního aroma ve víně (Vilanova & Martínez 2007).

3.3.3. Chuťový profil vína

Nejdůležitější organoleptickou vlastností vína je chuť. Pro spotřebitele je sensorické hodnocení chuti mnohdy jediné, na co se zaměřuje, tudíž je na toto téma kladen vysoký důraz při hodnocení. Jako u jiných produktů, spotřebitel očekává, že se bude kvalita vína odvíjet od ceny. Víno je zboží, u kterého je vkus spotřebitele velice heterogenní. Jednotlivci se nemusí mnohdy shodnout na tom, které víno preferují, ale dle výzkumu je dokázána pozitivní korelace mezi prožitkem z vína a jeho cenou (Goldstein et al. 2008).

Každá látka obsažená ve víně způsobuje různorodé chuťové vjemy. Jsou jimi například sladkost, kyselost, hořkost a různé vjemy v ústech, jako je mimo jiné sametová, svařetělá a vysušující svíravost. Kvalitativní vnímání vína je řízeno především absencí defektního aroma a sekundárně přítomností netěkavých složek, přesněji fenolickým složením, které je schopno modulovat vnímání kvality (Sáenz-Navajas et al. 2010).

K nejvíce studovaným látkám, spojeným se sensorickým profilem vína, jsou netěkavé molekuly, přičemž většina studií podrobně studuje sloučeniny které přispívají k vnímání svíravosti (Sáenz-Navajas et al. 2012).

Při zkoumání netěkavých sloučenin červeného vína bylo prokázáno, že svíravost je zapříčiněna koncentracemi polymerních frakcí vykazujících molekulové hmotnosti nad 5 kDa, přičemž tento orální vjem je zesílen kyselinami, jako je kyselina kaftarová, gallová a furan-2-karboxylová. Dalšími složkami přítomnými ve víně a způsobujícími svíravou chuť jsou proanthokyanidiny a také obsah ethanolu. (Sáenz-Navajas et al. 2011). Monomerní fenoly byly opakovaně popisovány jako adstringentní a hořké, bylo ale zjištěno, že monomerní fenoly nejsou přítomny v koncentracích nad jejich sensorickým prahem, což znamená, že nemusí hrát významnou roli v sensorickém vnímání (Hufnagel & Hofmann 2008).

Zatímco byla svíravá chuť zkoumána velmi precizně, pouze málo studií se zabývalo chutí hořkou. Hořkost by měla být způsobena polyfenolovými sloučeninami, jako jsou polymerní frakce kyseliny tříslové a taninů, flavan-3-olových monomerů, dimerů a trimerů, což ukazuje, že větší molekuly mají tendenci být méně hořké a svíravější. Dle Peleg et al. (1999) bylo zjištěno, že (-)-epikatechin byl hořčejší než stereoisomer (+)-katechin a že obě látky byly hořčejší, než prokyanidinové trimery.

Při studiu bílých vín byla prokázána významná korelace hořkosti a koncentrace většiny fenolických sloučenin, zejména proanthokyanidinů a polymerních fenolů. U bílého vína bylo také dokázáno, že katechin vyvolává hořkou a svíravou chuť (Gonzalo-Diago et al. 2014)

Chemické složení ale také molekulární interakce mezi složkami vína hrají rozhodující roli v chemické stabilitě vína, a tudíž i jeho senzoričkových vlastností (Sáenz-Navajas et al. 2010). Široce publikován byl také fakt, že ethanol zvyšuje vnímanou hořkost, může ji ale také maskovat nebo potlačit svíravou chuť fenolů (Oberholster et al. 2009). Zvýšená kyselost zvyšuje intenzitu svíravosti. Kyselina vinná je velmi důležitá pro stimulaci kyselé chuti (Gonzalo-Diago et al. 2014).

Chuťový profil vína ovlivňuje mnoho faktorů, jeden z nejzásadnějších je však typ zrání. Konkrétně zrání v sudech, kdy lihoviny prochází smyslovými změnami v důsledku uvolňování molekul vůně a chuti. V dubovém dřevě se nachází netěkavé sloučeniny, takzvané kumariny. Dubové sudy nemají na svědomí pouze hořkou a svíravou chuť, ovlivňují také sladkost vína, díky uvolnění triterpenoidů (Winstel et al. 2020).

3.4. Senzorické hodnocení vína ELWIS

Systém ELWIS (Electronic Wine System) je počítačový systém hojně využívaný pro hodnocení vín. Národní vinařské centrum jej vytvořilo za účelem automatizace, jednodušší organizace a větší efektivity soutěže vín. Systém je navržen tak, že eliminuje chyby při součtu bodů. Degustátor není nucen sčítat body, tudíž se zcela koncentruje na senzoričkový profil vína. Další výhodou tohoto systému je to, že zamezuje padělání výsledků a jelikož je prostřednictvím online formy, je možno jej využít kdekoli (Krška Pavel et al. 2019).

Nejen, že je tento systém propracovaný pro vyhodnocení soutěží, dokáže ale také vytvořit profil struktury a mohutnosti vína a aromatický profil (viz Tabulka 1, 2, 3) na základě vlastností a deskriptorů již dříve zdefinovaných (Krška Pavel et al. 2019).

Mnohdy dochází k mylným představám o tom, co znamená profil struktury a mohutnosti vína. Jedním z klíčových senzoričkových atributů vína je jeho tělo, nebo viskózní vlastnosti v ústech. Vnímané tělo přispívá k taktilnímu pocitu v ústech a je vnímáno spolu s dalšími pocity, jako je svíravost, hořkost či sycení oxidem uhličitým. Rutinně se popisuje pomocí výrazu vodnaté víno, tedy není přítomno tělo, odborně prázdné či plně strukturované. Navzdory důležitosti těla při definování a senzoričném

hodnocení, posuzování kvality vína a podobně, je přesný původ tohoto vjemu nejasný (Skogerson et al. 2009).

Tabulka 1 Profil struktury a mohutnosti vína (Salon vín ČR)

Vlastnosti	Hodnocení
Intenzita vůně	Nízká/ jednoduchá/ vysoká/ bohatá
Intenzita chutě	Nízká/ jednoduchá/ vysoká/ bohatá
Tělo	Prázdňé/ plně strukturované
Komplexnost	Neúplná/plně strukturovaná
Rovnováha	Neharmonické vjemy/ harmonické vjemy
Potenciál zrání	Nízký/ vysoký

Tabulka 2 Aromatický profil bílého vína (Salon vín ČR)

Deskriptor aroma	Specifikace
Květinové	sladký, lehký a lehce parfémovaný dojem spojený s lipovými květy, pomerančovými květy, jabloňovými květy, bezovými květy, lučními květy a růžemi
Tropické ovoce	sladká, květinová a ovocná aromata spojená s banánem, ananasem, mangem, liči, medovým melounem
Citrusové ovoce	kyselá, svíravá a mírně štiplavá aromata spojená s grapefruitem, limetkou, pomerančem, mandarinkou
Jádrové ovoce	sladká, květinová a ovocná aromata spojená s jablko a hruška
Peckové ovoce	sladká, lehce nakyslá a ovocná aromata spojená s broskví, meruňkou, zeli
Bobulovité ovoce	sladká, lehce nakyslá a ovocná aromata spojená s angreštem, bílým rybízem
Sušené a kandované ovoce	sladká aromata běžně spojovaná s tmavým ovocem, jako jsou rozinky a datle

Deskriptor aroma	Specifikace
Karamelizované	sladká a karamelová aromata běžně spojená s medem, sušenkami, pralinkami, karamellem, sladem
Bylinné	listy černého rybízu, kopřiva, tráva, zelené rajče, seno
Kořenité	bílý pepř, nové koření
Barikové	dřevo, pryskyřice, cedr, vanilka, kokos, toast, káva, kouř
Autolyzátové a laktátové	smetana, máslo, droždí, biskvit, brioška
Ostatní	minerální, pazourek, benzín

Tabulka 3 Aromatický profil červeného vína (Salon vín ČR)

Deskriptor	Specifikace
Květinové	sladké, lehké s lehce parfémovaný dojem spojeným s růžemi, fialkami, pivoňkami, šeříkem
Ovoce bez jádra	květinové, ovocné aroma spojené s hruškami, jablky
Tropické ovoce	sladké, květinové a ovocné aroma spojené s banánem
Peckové ovoce	kyselé, ovocné a mírně nahořklé aromata běžně spojované se švestkami, třešněmi, višněmi
Drobné světlé ovoce	kyselé, ovocné a lehce nahořklé aroma běžně spojované s jahodami, malinami, červeným rybízem
Drobné tmavé ovoce	sladká, kyselá aromata spojená s černým rybízem, ostružinami, borůvkami, bezem
Sušené a vařené ovoce	sladké aroma běžně spojované s ovocným salátem nebo švestkovými povidly

Deskriptor	Specifikace
Karamelizované	sladká a karamelová aromata běžně spojovaná s karamellem, čokoládou, medem, pralinkami
Kořenité	mletá paprika, černý pepř, skořice
Čerstvé byliny	paprika, listy černého rybízu, mák, máta
Sušené byliny	tabák, černé olivy, seno
Barikové	dřevo, pryskyřice, cedr, vanilka, kokos, toast, káva, kouř
Ostatní	animální, kožené, lanýžové

3.5. Metody chemické analýzy vín

Chemická analýza je nezbytná pro zajištění bezpečnosti produktu a souladu s regulačními zákony, jimiž se řídí mezinárodní trh. Také díky těmto metodám dochází k pochopení základních aspektů výroby vína a také ke zlepšení výrobních procesů. Jedná se o metody spektroskopické a chromatografické (de Villiers et al. 2012).

Ve všech fázích procesu výroby vína jsou vyžadována přesná analytická měření, počínaje vinicí, následnou přípravou moštu, během fází kvašení a zrání, při plnění lahví a při certifikaci. Tato měření jsou vyžadována z důvodu poskytnutí informací vyžadovaných zákonem pro výrobu a uvádění těchto produktů na trh (Ruiz-Altisent et al. 2010).

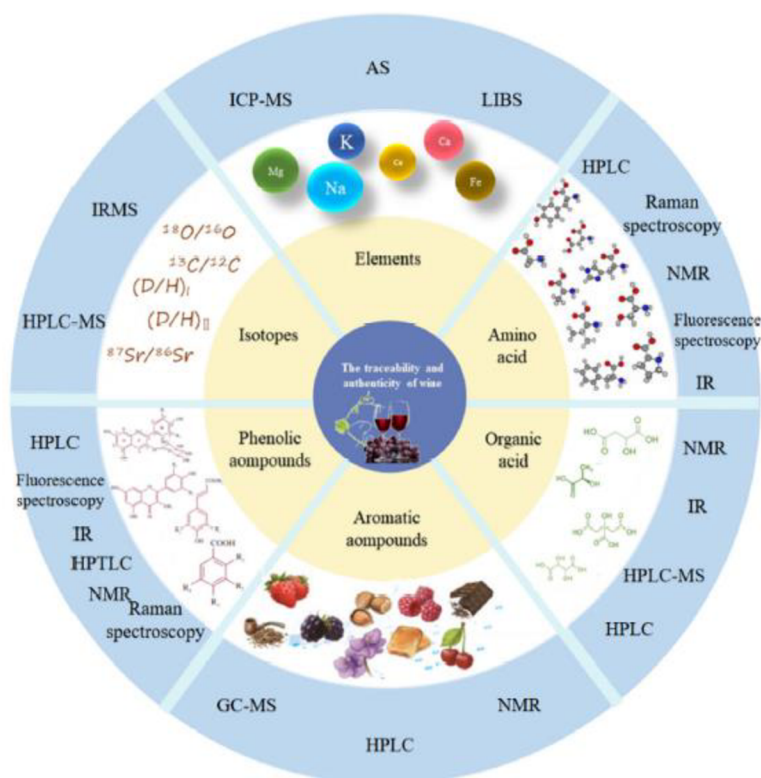
Analýzy se také používají k objasnění zásadních aspektů, jako jsou mikrobiologické, genetické, fyziologické a chemické procesy spojené s výrobou moštu a samotného vína. Analýza nám pomůže pochopit chemické složení daných produktů. Použité techniky se relativně liší, ovšem to, že nám chemické i instrumentální metody dokáží odhalit chemický profil vína, sensorické vlastnosti a podobně, přináší nesčetné výhody. Samozřejmě, že s rostoucí silou konkurence na produkty roste i konkurence výzkumů a metod chemické analýzy vín (de Villiers et al. 2012).

Hmotnostní spektrometrie spojená s plynovou chromatografií a nukleární magnetická rezonanční spektroskopie jsou dva nejčastěji používané nástroje pro profilování metabolitů a oba vytvářejí ucelený soubor chemických údajů. Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie bývá použita při charakterizaci hroznů i vín pro účely autentizace a klasifikace a při zkoumání chemického základu pro terroir (Skogerson et al. 2009).

3.5.1. Spektroskopická analýza

Rychlé, levné a ekologické analytické metody mají zásadní vliv na udržitelnost mezinárodního vinařského průmyslu (de Villiers et al. 2012).

Spektroskopické metody používané při analýze vína a hroznů zahrnují širokou škálu technik, jako je atomová absorpční spektroskopie (AAS) a molekulární spektroskopické metody, jako je infračervená spektrofotometrie či ultrafialová spektrofotometrie, nukleární magnetická rezonance (NMR) a hmotnostní spektrometrie (MS) (Grindlay et al. 2011). Tyto metody jsou využívány po celém světě, konkrétně nejrozšířenější je NMR používané pro autentizaci. Infračervená spektrofotometrie je používána pro nedestruktivní sledování kvality hroznů. Některé vlastnosti spektroskopických technik, konkrétně ultrafialová-viditelná (UV/Vis) spektrofotometrie a infračervená spektrometrie (IR) jsou atraktivní díky manipulaci pouze s objemy nezbytně nutnými. UV/Vis je používána pro stanovení barvy a určení fenolických látek, které se ukázaly být důležitými dle preferencí spotřebitele (Košir & Kidrič 2002). Ačkoliv se setkáváme s případy, kdy dojde k nadhodnocení obsahu polyfenolů, spektrofotometrická analýza zůstává rychlou a levnou metodou (Ruiz-Altisent et al. 2010).



Obrázek 1 Metody chemické analýzy vína – přirozená izotopová frakcionace hroznů (Převzato z Sun et al. 2021) (ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem), AS (absorpční spektrometrie), LIBS (laserový spektrometr), HPLC (vysokoučinná kapalinová chromatografie), Raman spectroscopy (Ramanova spektroskopie), NMR (nukleární magnetická rezonance), Fluorescence spectroscopy (fluorescenční spektroskopie), IR (infračervená spektroskopie), HPLC-MS (vysokoučinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií), GC (plynová chromatografie), HPTLC (vysokoučinná tenkovrstevná chromatografie), IRMS (izotopová hmotnostní spektrometrie)

Na obrázku 1 lze vidět jednotlivé metody chemické analýzy vína rozdělené na základě frakcí, které je nutno analyzovat. Můžeme vidět, že jednotlivé prvky lze stanovit například pomocí metody ICP-MS, tedy hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, což je ultrastopová analytická metoda sloužící ke stanovení obsahu stopových množství jednotlivých prvků ve vzorku. Pro aminokyseliny lze využívat široké spektrum metod, velmi oblíbenou je Ramanova spektroskopie, což je nedestruktivní metoda patřící do elektromagnetické spektroskopie, tudíž je řazena do vibrační molekulové spektroskopie. Je vhodná pro kvalitativní i kvantitativní analýzu. Organické kyseliny je možno stanovit vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS), což je chromatografická technika sloužící k separaci složek za účelem stanovení jejich přítomnosti a koncentrace ve vzorku, následně jsou složky směsi izolovány. Jednotlivé analyty poté prochází do hmotnostního spektrometru, který funguje na principu podílu hmotnosti částice ku náboji fragmentu, výsledkem je hmotnost částice. Aromatické látky se stanovují u vína například pomocí metody nukleární magnetické rezonance, která využívá ke stanovení magneticky aktivní atomová jádra vhodných izotopů jako lokálních sond v měřené látce. Fenolové sloučeniny lze snadno určit například fluorescenční spektroskopií, což je metoda založená na vzájemném působení elektromagnetického záření a zkoumané látky, při kterém dochází k výměně energie. Vzorek je prosvěcován a je měřena intenzita proniklého světla vzorkem. Izotopy lze stanovit metodou IRMS (izotopová hmotnostní spektrometrie), která je založena na principu konverze vzorku na plynné produkty a následně dojde k jejich separaci. Ke konverzi dochází spalováním kyslíkem a následně proběhne redukce. Poté jsou látky převedeny do hmotnostního spektrometru s magnetickým analyzátozem (Sun et al. 2021).

3.5.1.1. Vibrační spektroskopie

Vibrační spektroskopie nabízí několik výhod, je totiž nedestruktivní, dochází k nepřímému měření bez činidel a nevzniká žádný toxický odpad. Doba analýzy se pohybuje v řádu sekund a technologie může být plně automatizována, včetně zpracování a distribuce analytických výsledků. Nevýhodou technologie jsou relativně vysoké počáteční náklady na přístrojové vybavení a náročné kalibrační procedury, jež jsou ale nezbytným předpokladem pro implementaci technologie. Celá technologie je založená na měření frekvencí vibrací kovalentních vazeb ve funkčních skupinách při absorpci záření v blízké infračervené a střední infračervené oblasti (Cerovic et al. 2008). Analýza je už téměř rutinní záležitostí analytických laboratoří určených pro vína. Přístroj je vybaven Michelsonovým interferometrem a kyvetou, která je regulována teplotou. Spektra jsou generována v transmisním režimu a vzorku je potřeba 30 ml. Pokud jde o software, jsou k dispozici takzvané globální kalibrace pro kvantifikaci široké škály sloučenin a vlastností vína, včetně hladin glukózy, fruktózy, organických kyselin – jako

je kyselina vinná, jablečná, octová, mléčná nebo glukonová, kyselina sorbová, citronová, ethanol, hustota, oxid uhličitý, polyfenoly, glycerol, pH, železo, měď, ethylacetát a methanol (Versari et al. 2008). Všechny tyto parametry lze kvantifikovat v jedné analýze, a to v čase i s přípravou za méně než jednu minutu (de Villiers et al. 2012).

3.5.1.2. Atomová spektroskopie

Atomová spektroskopie je používána pro stanovení minerálních látek ve víně. Byla popsána aplikace plamenové atomové absorpční spektroskopie (AAS) a elektrotermální AAS pro analýzu kovů ve víně. Například Coetzee & Vanhaecke (2005) popsali techniku snímání otisků prstů pro klasifikaci vín dle geografického původu na základě elementárního složení (Manley & Baeten 2018). Metoda využívala předpokladu, že půda je primárním činitelem při růstu hroznů, a tím pádem je odrazem jejich chemického složení. Díky stopovým prvkům lze tedy klasifikovat víno dle oblasti růstu. Celá metoda otisku je založena na porovnání dané oblasti a koncentrací daných prvků (de Villiers et al. 2012).

3.5.1.3. Chromatografické analytické metody

Nejběžnější chromatografické metody, které se používají pro analýzu vína, jsou plynová chromatografie (GC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Použití ostatních separačních metod se liší rutinní kvantifikací složek vína a hloubkovým zkoumáním chemického složení (Coetzee et al. 2005). Pokroky ve výzkumu způsobily spojení strojového vybavení, a tím pádem poskytování podrobnějších chemických informací. Jedná se zejména o spojení plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS) a kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (LC-MS) (de Villiers et al. 2012). Dochází ke sloučení klasických metod spolu s pokročilými spektroskopickými detekčními systémy, jako jsou tandemové hmotnostní spektrometry nebo nukleární magnetická rezonance. Neustálý vývoj způsobuje revoluci v chápání chemie vína, stárnutí vína a kontroly kvality (Vorster et al. 2010).

3.5.2. Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS)

Plynová chromatografie je separační technika volená pro menší těkavé a polotěkavé organické molekuly, jako jsou uhlovodíky, alkoholy a aromatické látky. Lze ji využít také pro identifikaci pesticidů, steroidů, mastných kyselin či hormonů, tím pádem je daná technika využívána hojně v mnoha oblastech – v průmyslu, environmentálním testování či při určování bezpečnosti potravin. V kombinaci s detekcí hmotnostní spektrometrie lze GC-MS použít k separaci komplexních směsí, kvantifikaci analytů, identifikaci neznámých piků a stanovení stopových množství kontaminantů. Vzorky mohou být při této analýze kapalné, plynné či pevné a dochází nejprve k odpaření

vzorku do plynné fáze, kdy dojde k rozdělení na různé složky pomocí kapilární kolony potažené stacionární fází. Sloučeniny jsou poháněny inertním nosným plynem (helium, vodík, dusík). Oddělené složky směsi eluují z kolony každá v jinou dobu na základě bodu varu a polaritu. Doba eluce je označena jako retenční čas. Kapacita GC je až stovky sloučenin za poměrně krátký čas (Profumo et al. 2020). Složky, které opustily kolonu jsou ionizovány a fragmentovány pomocí hmotnostní spektrometrie díky elektronové či chemické ionizaci. Ionizované molekuly a fragmenty jsou urychlovány pomocí hmotnostního analyzátoru, kterým je kvadrupól či iontová past. Zde dochází k separaci iontů na základě různých poměrů hmotnosti ku náboji (m/z). Data mohou být získávána v režimu plného skenování, tudíž je pokryt široký rozsah poměrů m/z , nebo pouze ve vybraném režimu monitorování iontů pro sběr dat pro konkrétní požadované hmotnosti. Posledním krokem je detekce a analýza iontů, přičemž fragmentované ionty jsou vyobrazeny jako poměr m/z . Oblasti píku jsou úměrné množství odpovídající sloučeniny. Pokud je komplexní vzorek separován pomocí GC-MS, na spektru lze vidět mnoho různých píků na plynovém chromatogramu a každý pík vytváří jedinečné hmotnostní spektrum využitě pro identifikaci sloučeniny. Pomocí rozsáhlých komerčně dostupných knihoven hmotnostních spekter lze identifikovat a kvantifikovat neznámé sloučeniny a analyty (Marriott & Shellie 2002).

Jak již bylo zmíněno výše, tato metoda je využívána při stanovení pesticidů. Stejně tomu tak bylo ve studii z Brazílie, kdy zkoumali simultánní stanovení multireziduí pesticidů ve víně pomocí SDME/GC-MS (jednokapková extrakce a následná plynová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií). Bylo tomu tak učiněno kvůli obavám z pesticidů, kvůli negativnímu vlivu na lidské zdraví a bezpečnosti spotřebitelů kvůli toxikologickým rizikům (Garbi et al. 2010). Cílem studie bylo stanovit osmáct reziduí pesticidů z různých chemických tříd, což naznačuje, jak unikátní metoda je použita pro tuto problematiku. Bylo detekováno jedenáct reziduí pesticidů, konkrétně karbofuran, molunát, diazinon, disulfoton, malathion, endosulfan, ethion a jiné (dos Anjos & de Andrade 2015). Při tomto experimentu bylo navrženo několik analytických metod pro stanovení multireziduí pesticidů ve vodných matricích, ale vývoj metod je obtížný z důvodu různé polaritu, rozpustnosti a těkavosti látek (Filho et al. 2010). Kvůli různým rozdělovacím koeficientům oktanol/voda také dochází ke ztížení extrakce. Je tedy nutné při přípravě vzorků před instrumentální analýzou absolvovat mnoho kroků (Jin et al. 2012).

V tomto případě byla využita SDME díky jednoduchosti přípravy a malé finanční náročnosti. U SDME není rovněž potřeba využívat rozpouštědel. Tato technika je založena na distribuci analytu mezi mikrokapkou organického rozpouštědla na špičce jehly mikrostříkačky a vodné fáze, což je vzorek. Mikrokapka se vystaví vodnému roztoku, ve kterém je extrahován analyt. Po extrakci se mikrokapka vtáhne dovnitř mikrostříkačky a je vstříknuta do přístrojů pro plynovou chromatografii. Touto metodou lze stanovit také fenolické látky, sloučeniny síry, kovy nebo aminy (dos Anjos & de Andrade 2015).

3.5.3. Kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (LC-MS)

Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií je široce využívaná technika používaná v analýze potravin nebo ekologii, analýze léčiv, metabolomice a podobně. Tato technika má mnoho pozitiv – aplikuje se na široké množství analytů a jde také selektivní, citlivou a přesnou metodu. Získaný biologický materiál prochází laboratorními úpravami, je nutno jej vyčistit, koncentrovat, ultrafiltrat či štěpit. LC funguje na principu průchodu vzorku kapilárami, kde dochází k separaci látek fyzikálně-chemických vlastností. Z průtokového chromatografu jednotlivé látky postupují do MS, kde dochází k ionizaci vzorků a následné detekci. Výsledkem jsou naměřená data v podobě fragmentačních spekter, jež se porovnávají s teoretickými spektry vytvořenými na základě již zjištěných dat. Výsledkem je tabulka s určitými parametry, jako jsou například chemicko-fyzikální vlastnosti. Tato tabulka slouží ke statistickému zpracování (Trufelli et al. 2011). Využívá se při strukturální identifikaci organických látek (Košíř et al. 2004).

LC-MS se používá převážně pro analýzu bílkovin vína spolu s dialýzou, ultrafiltrací, vylučovací chromatografií či elektroforézou. MS se také používá pro studium vinných bílkovin – tato technika je založena na separaci ionizovaných molekul (plynných iontů) podle poměru hmotnosti k náboji (m/z). MS byla nejprve použita samostatně a následně propojena s LC (Flamini & de Rosso 2006).

Dle Košířa et al. (2004) byly identifikovány anthokyaniny ve víně. Díky kapalinové chromatografii proběhla frakcionace jednotlivých anthokyanů v glykosidové formě z methanolových extraktů slupek červených hroznů a extraktů na pevné fázi červeného vína. Tato metoda byla kombinována s nukleární magnetickou rezonancí a hmotnostní spektrometrií. LC je metoda umožňující separaci několika anthokyanů pomocí lineárního gradientu methanolu ve vodě a pomocí kyseliny mravenčí jako modifikátoru (Pezet et al. 1994). V kombinaci s MS v tomto případě došlo pro identifikaci anthokyanů v jednotlivých frakcích LC. Údaje ukázaly, že anthokyanový profil červeného vína může být komplexní, ale pro každý studovaný kultivar zcela odlišný (Košíř et al. 2004).

Analytická metoda LC-MS/MS, což je technika tandemové hmotnostní spektrometrie, je vysoce selektivní a citlivá metoda. Při výzkumu došlo k identifikaci polyfenolů, jejich chromatografické separaci, a tím pádem bylo možné získat izomerní struktury analytů, jako je například katechin-epikatechin, kyselina cis-/trans-para-kumarová nebo cis-/trans-resveratrol a to v jednom chromatografickém běhu (Jaitz et al. 2010).

3.6. Nukleární magnetická rezonance

Nukleární magnetická rezonance je pokročilá charakterizační technika využívaná ke stanovení molekulární struktury na atomární úrovni vzorku. Kromě molekulární struktury může NMR určit fázové změny, konformační a konfigurační změny, rozpustnost a difúzní potenciál (Krishnan 2019).

Primárně je využívána k experimentům na jádrech atomů, nikoli na elektronech. Chemické prostředí typických jader lze zmapovat z informací získaných pomocí NMR spektrometrie (Sakellariou et al. 2000).

Koncept je založen na faktu, že všechna jádra jsou elektricky nabitá a mají více spinů. Vnější magnetické pole díky tomu umožňuje vnější přenos energie, k čemuž dochází obecně z nižších úrovní energie na vyšší, zpravidla v jednom kroku. Takový přenos či absorpce je možná na radiové frekvenci, která je nezbytná pro absorpci energie. Absorpční radiofrekvence závisí na chemickém prostředí jádra. Záleží na určitém umístění jádra v magnetickém poli, jež není rovnoměrné. Jakmile se spin jádra vrací do své základní polohy, dochází k emisi energie se stejnou frekvencí a tento přenos energie se shoduje se signálem, jež je detekován několika způsoby. Je získáno NMR spektrum odpovídajícího jádra (Koshani & Jafari 2020).

Jelikož víno představuje velmi složitý biochemický systém, je jeho složení v posledních letech předmětem zvýšeného zájmu kvůli požadavku spotřebitelů na kvalitu a autenticitu. S ohledem na autenticitu se k získání izotopového otisku ethanolu používá metoda SNIF-NMR (místně specifická frakcionace přirozených izotopů s nukleární magnetickou rezonancí) založená na izotopech, pomocí které se s vysokou přesností stanovuje poměr deuteria a vodíku. Poměr těchto prvků závisí na množství ethanolu a typu a geografickém původu hroznů. Touto metodou se nezískávají žádné informace o dalších složkách ve víně (Larsen et al. 2006).

^1H NMR je silným nástrojem pro hodnocení dalších složek vína, jako jsou aromáty, sacharidy a kyseliny, jež je možné touto metodou detekovat a kvantifikovat. Výsledná spektra jsou poměrně jednoduchá ale komplexní, tudíž se doporučuje analyzovat spektra vícerozměrnými metodami (Larsen et al. 2006). Kvalitativní parametr, jež je pro víno obzvláště zajímavý, určuje poměr jablečné a mléčné kyseliny, jež je nezbytný pro kyselost a plochost. Pro úpravu poměru mezi těmito kyselinami používají vinaři jablečno-mléčnou fermentaci. Tento proces je ale velmi obtížné zastavit, proto se kyselina jablečná často mění zcela na kyselinu mléčnou. Smícháním jablečno-mléčného fermentovaného vína s nefermentovaným vínem se získá požadovaný poměr kyselin (Hong 2011).

Schopnost chemometrických metod sladit NMR spektra umožňuje snažší a spolehlivější identifikaci složek, a tím i lepší kvantifikaci pomocí například faktorových modelů parciálních nejmenších čtverců (Larsen et al. 2006).

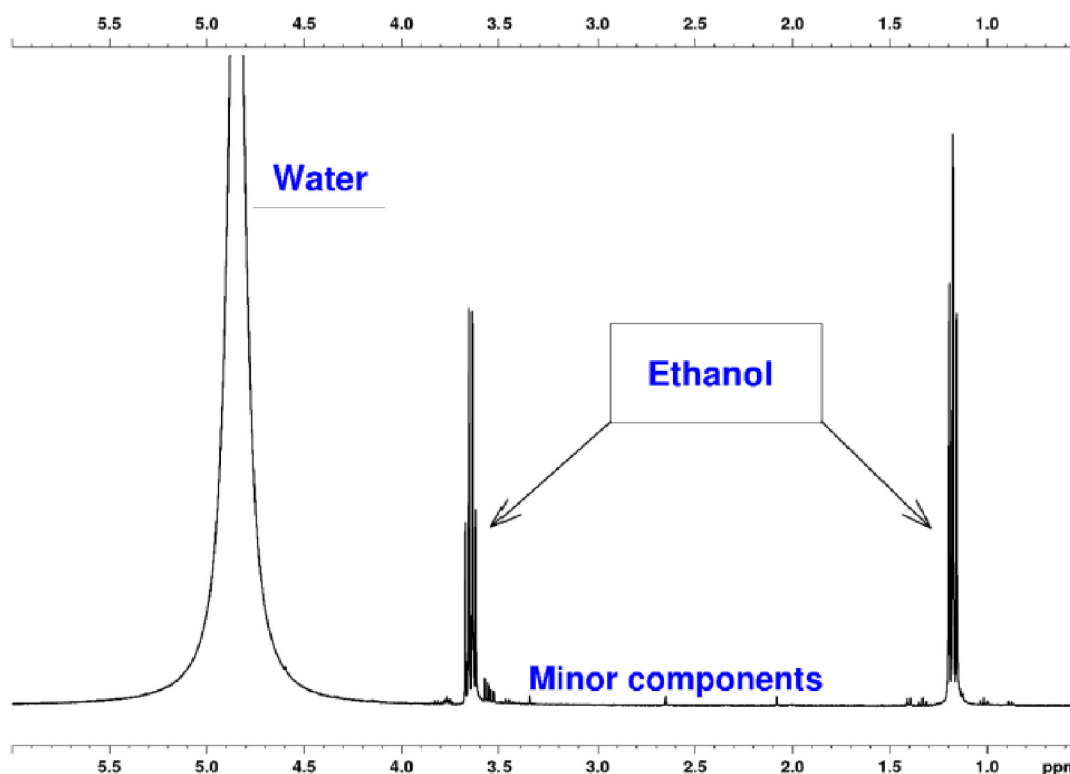
NMR je moderní metoda nyní hojně využívaná kvůli falšování. Víno je totiž falšováno již od pradávna, bývají do něj přidány různé chemikálie zlepšující jeho vlastnosti, přičemž nejznámější je asi skandál, kdy se do vína přidal diethylenglykol.

Dochází rovněž k ředění či náhradám drahých vín levnými a chybnému označení (Cavicchi & Santini 2012). Pouze v roce 2019 došlo k desítkám hlášení falšování vína, a to pouze v Evropské Unii, z tohoto důvodu je dané téma velmi aktuální (Everstine et al. 2013). Vína vysoké hodnoty se mají po zrání uchovávat, přičemž některá z nich se stanou sběrnými víny. Autenticita jako hodnocení a dobrá konzervace vín jsou proto důležitými otázkami. Ekonomická situace na straně jedné vede prodejce k falšování údajů (zeměpisné, ročníkové či odrůdově nesprávné označení) u takto cenných vín. Na straně druhé, během dlouholetého zrání mohou korkové zátky vyschnout v důsledku nedostatku vlhkosti, což způsobí kromě úniku vína i kažení a oxidaci. Proto se tyto dva aspekty stávají velmi významnými pro řízení časné degradace vína. Řešení je vyměnit korek a doplnit lahev podobným vínem, tedy stejného ročníku a stejné výroby. Výrobce vína je jediný, kdo má licenci k provádění těchto úkonů, jež musí být ale provedeny až po kontrole pravosti vína. Proto je NMR velmi výhodnou metodou, jelikož je potřeba nepatrné množství vzorku potřebného pro analýzu (Gougeon et al. 2019).

SNIF-NMR je podle Solovyeva et al. (2021) jedinou analytickou metodou, která dokáže odhalit přídavek řepného cukru před fermentací. Tato kvalitativní metoda totiž spoléhá na nestatistické rozdělení deuteria ve výchozím cukru a jeho výsledný odraz v podobě ethanolu po fermentaci. S vylepšením technologie, zvýšení citlivosti elektroniky, možnosti přesné regulace teploty a vylepšení fázové a základní korelace by mohla být tato technika aplikována na vysoce reprodukovatelné stanovení minoritních organických složek (Gnanasambandan Freiser 1982).

NMR profily poskytují zcela vyčerpávající reprezentaci chemického složení vzorku bez nutnosti rozsáhlých manipulací. Korelaci mezi metabolickým složením a původem vína nelze ale tak jednoznačně stanovit kvůli přirozené variabilitě chemického složení a využití různých manipulačních procesů při výrobě (Imparato et al. 2011).

Každé NMR spektrum je jedinečný otisk vzorku vína a lze díky němu predikovat vlastnosti vína, a tím pádem lze vytvořit klasifikační modely (Godelmann et al. 2016).



Obrázek 2 Typické protonové NMR spektrum vína bez suprese vody a ethanolu (Převzato z (Solovyev et al. 2021))

Většina organických sloučenin poskytuje složité signály díky spin-spinové vazbě, což má za následek překryv píků, a tím pádem hrozí nepřesné určení či neschopnost danou látku identifikovat. Jak lze vidět na obrázku 2, píky vody a ethanolu jsou majoritní, zatímco v porovnání s nimi jsou ostatní prvky minoritní. Je zde tedy riziko chybné identifikace či překryvu (Solovyev et al. 2021).

Analýza vína podle ^1H NMR má dva typy přípravy vzorků. Obě strategie vyžadují jednoduchý, ale nespécifický postup a malý objem vzorku. Analýza je použita buď přímá, která byla použita i při měření dat vedených v této diplomové práci. Druhým způsobem je lyofilizace vzorku kvůli odstranění vody a ethanolu, tímto dějem je docíleno odstranění velkých signálů, a tím pádem se eliminuje překryv píků a nedojde k ovlivnění ostatních složek (Amargianitaki & Spyros 2017). Pokud jde o analýzu fenolických sloučenin, je nutno vzorky specificky extrahovat. Víno musí být taktéž lyofilizované a k extrakci se využívají rozpouštědla deuterová (D_2O). Dále je přidán vnitřní standard pro referenci spektra (Solovyev et al. 2021). Referenčními standardy stupnice chemického posunu v ppm, které se běžně používají pro vodné vzorky v NMR spektroskopii, jsou kyselina mravenčí, kyselina 3-trimethylsilylpropionová (TSP) nebo 2,2-dimethyl-2-silapentan-5-sulfonát (DSS) (López-Rituerto et al. 2009).

^1H NMR spektroskopie je velmi rychlá kvůli přirozeně se vyskytujícímu izotopu ^1H (99,9885 % hmotnostních) (Holden et al. 2018). Měření trvá několik minut, obvykle méně než 15 minut a počet skenů se pohybuje od 6 do 64 (Solovyev et al. 2021). Tato metoda je vysoce reprodukovatelná a má široký rozsah linearitu. Umožňuje kvantifikaci

široké škály metabolitů paralelně a předpovídá cílové vlastnosti vzorku. Velkou výhodou je nedestruktivní měření. NMR spektrometry jsou obecně velmi robustní a ve srovnání například s hmotnostními spektrometry jsou téměř bezúdržbové (Pan & Raftery 2007).

Nevýhodou této metody je nižší citlivost ve srovnání s jinými technikami, například MS, a to přibližně o několik nanomolů při použití kryosond (Ralli et al. 2018).

4. Metodika

4.1. Vzorky vína

V říjnu 2021 byly odebrány vzorky v Národním vinařském centru na zámku Valtice z expozice soutěže Salon vín České republiky. Jednalo se o 100 vítězných vín soutěže roku 2021. Vzorky byly odebrány plastovou stříkačkou o objemu 10 ml, anaerobně uchovány a po dobu transportu chlazeny při 4 °C. Poté byly skladovány při - 80 °C.

Tabulka 4 Kategorizace odebraných vzorků ze soutěže Salonu vín ČR

Kategorie vína	Typ vína	Cukr (včetně zbytkového cukru) [g/l]	Počet vzorků
A	Víno bílé suché a polosuché	0-12	53
B	Víno bílé polosladké	12-45	11
C	Víno sladké	nad 45	5
D	Víno růžové a klarety – suché, polosuché a polosladké	0-45	2
E	Víno červené suché	0-4	27
G	Jakostní šumivé víno	-	2

4.2. Chemikálie

Při přípravě vzorků byly použity chemikálie čistoty p.a. a vyšší. NaN_3 (> 99,5 %), H_3PO_4 (99 %), dále byla použita sodná sůl 2,2-dimethyl-2-silapentan-5-sulfonátu (97%, DSS), KH_2PO_4 (99 %), D_2O (99,9 % D_2O) a HCl (36,5-38,0 %). Dané chemikálie byly zakoupeny od VWR (Radnor, PA, USA).

4.3. Příprava vzorků pro analýzu

NMR roztok byl připraven následujícím postupem. Do kádinky bylo naváženo 200 mg NaN_3 , 109,16 mg (MW 218,32 Da) a 20,41 g 1,5 M KH_2PO_4 . Dále bylo do kádinky odměřeno 80 ml 5 mM D_2O a roztok byl rozmíchán sonikací. pD roztoku bylo

upraveno na hodnotu 4,0. Roztok byl převeden do odměrné baňky a doplněn na objem 100 ml.

Do mikroskopické kumavky o objemu 1,5 ml bylo odpipetováno 540 μ l vzorku daného vína a přidáno 60 μ l NMR roztoku. Vzorky byly vortexovány a převedeny do NMR kyvety o průměru 5 mm (NORELL Inc., Morganton, NC, USA).

4.4. Měření

Měření NMR spekter proběhlo na spektrometru Bruker Avance III 500,23 MHz (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, DE) při teplotě 298K. Byla provedena standardní rutina: kalibrace 90° pulsu, topshim, ladění, zamykání. Každé spektrum bylo změřeno pomocí pulsnímu sekvence noesy1d se supresí signálu vody při 4,70 ppm. Bylo snímáno 128 scanů při relaxační prodlevě 1 s, akvizčním čase 4 s, počtem datových bodů 32k při šířce 16 ppm. Spektra byla zkalibrována na standard TSP. Pomocí software Mnova 14.1.0 (Mestrelab Research S.L, Santiago de Compostela, ES) byla provedena korekce fáze a baseline, k čemuž byl použit algoritmus Whittaker smoother.

4.5. Analýza dat

Spektra byla zpracována díky software Chenomx NMR suite 8.6 (Chenomx Inc., Edmonton, CA), přičemž v tomto programu byly také identifikovány metabolity. Veškerá data byla následně zpracována v programu Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA). Ke zjištění vztahů mezi naměřenými hodnotami koncentrací sloučenin a senzorickými profily byly využity Pearsonovy korelace, na základě kterých byly následně sestrojeny grafy závislosti koncentrací dané sloučeniny a konkrétního aromatického znaku. V grafech jsou barevně odděleny odrůdy a data byla proložena přímkou lineární regrese. Další fází vyhodnocení dat bylo využití PCA analýzy (Principal Component Analysis), což je analýza hlavních komponent, a PLS-DA analýzy (Partial Least Squares Discriminant Analysis), což je částečná diskriminační analýza nejmenších čtverců. Tyto analýzy byly vyhodnoceny díky webovému rozhraní MetaboAnalyst 5.0, které je implementováno na základě technologie JavaServer Faces s využitím knihovny PrimeFaces (v11.0) (Chong et al. 2019).

Sloučeniny byly anotovány a kvantifikovány pomocí software Chenomx (verze 8.4, Chenomx, Edmonton, CA). Celkem se jednalo o 32 sloučenin. Analýza dat byla provedena pouze u vín bílých a červených, data naměřená u vín šumivých, růžových a klaretů byla vyřazena. Anotované sloučeniny a jejich chemické posuny jsou vyobrazeny v Tabulce 5.

Tabulka 5 Seznam anotovaných sloučenin a jejich chemický posun

Sloučenina	Chemický posun (ppm)
2,3-butandiol	1,13; 3,71
p-hydroxyfenylacetát	3,44; 6,48; 7,17
Acetát	2,05
Alanin	1,49; 3,79
Asparagin	2,73; 2,95; 4,10; 6,90; 7,60
Katechin	2,55; 2,90; 4,24; 6,00; 6,09; 6,84; 6,93
Cholin	3,19; 3,51; 4,06
Citrát	2,70; 2,90
Epikatechin	2,77; 2,93; 4,33; 6,09; 6,92; 7,03
Ethanol	1,17; 3,65
Ethylacetát	1,24; 2,07; 4,13
Formiát	8,3
Fruktosa	3,55; 3,69; 3,80; 3,88
Gallát	7,15
Glukosa	3,20; 3,40; 3,50; 3,70; 3,80; 3,90; 4,60; 5,20
Glycerol	3,55; 3,65; 3,76
Histidin	8,65; 7,39; 4,04; 3,34
Isobutanol	0,88; 30,5; 3,35
Isopentanol	0,88; 1,43; 1,65; 3,63
Laktát	1,4; 4,16
Methanol	3,35
Myo-Inositol	3,27; 3,53; 3,61; 4,04
Fenetylalkohol	2,86; 2,91; 3,84; 7,30; 7,37
Fenylalanin	3,12; 3,28; 4,00; 7,32; 7,40
Fenylethanol	1,45; 7,38
Prolin	2,02; 2,34; 3,34; 3,41; 4,12
Sukcinát	2,65
Trigonelín	4,43; 8,08; 8,83; 8,84; 9,13
Turanosa	3,40; 3,60; 3,70; 3,80; 4,0; 4,10; 4,20; 4,3; 5,2; 5,3
Tyrosin	6,88; 7,18
Uracil	5,78; 7,52
Xantin	7,98

5. Výsledky a diskuze

Hodnoty deskriptorů aroma profilů byly pomocí korelační analýzy statisticky porovnány se zastoupením metabolitu v NMR profilu, přičemž prezentovány jsou nejsilnější korelace $r \geq 0,50$. Z aromatických profilů získaných panelem hodnotitelů Salonu vín byly vytvořeny průměrné pavučinové grafy pro jednotlivé nejzastoupenější odrůdy. Na základě kvantifikovaných sloučenin byly vzorky vína porovnány s pomocí vícerozměrných statistických metod a byly identifikovány sloučeniny odlišné mezi bílými a červenými víny, ale i v rámci bílých vín mezi jednotlivými kategoriemi cukru.

5.1. Analýza bílého vína dle aromatických profilů

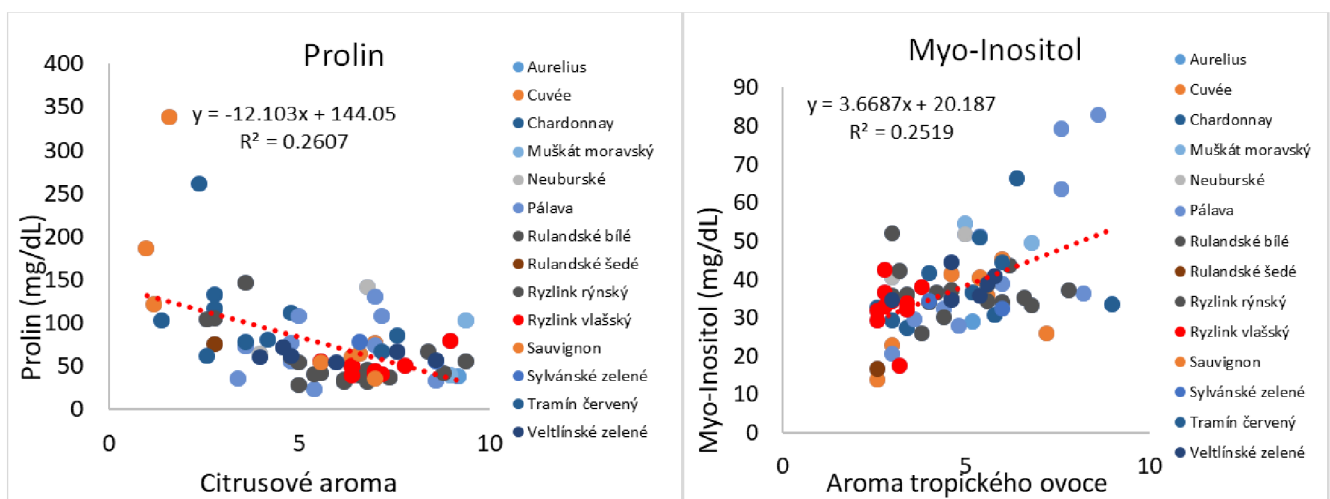
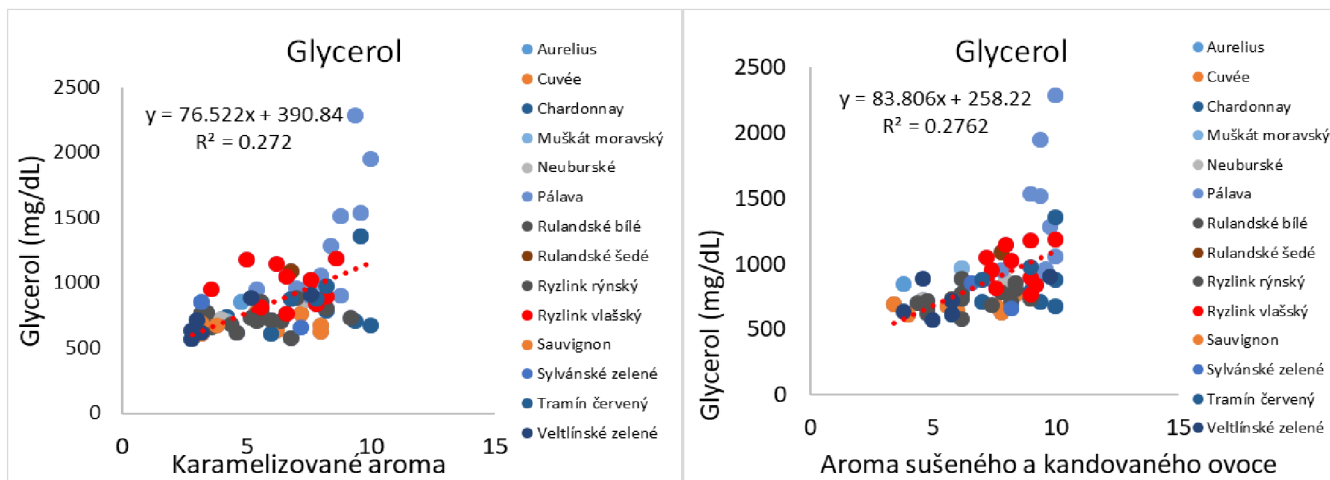
U bílého vína byla prokázána signifikantní korelace nad $r=0,5$ s daným deskriptorem aroma profilu u čtyř sloučenin. Tabulka 6 znázorňuje korelační matici, ze které jsou znatelné vzájemné pozitivní statisticky významné korelace s velmi silnou závislostí ($r \geq 0,5$).

Pozitivní korelace byla prokázána u glycerolu a aroma sušeného a kandovaného ovoce a také u karamelizovaného aroma. Další znázorněná pozitivně statisticky významná korelace byla u myo-inositolu a aroma tropického ovoce. Negativní statisticky významná korelace je mezi prolinem a citrusovým aroma.

Grafy (Obrázek 3) znázorňují závislost chemické látky na aroma, data jsou rozdělena dle daných odrůd a je jimi proložena lineární regrese, ukazující závislost aroma na koncentraci sloučeniny. V grafech jsou jednotlivé odrůdy odlišeny barevně, což umožňuje posoudit, zda korelace není ovlivněná nerovnoměrným zastoupením aroma mezi odrůdami.

Tabulka 6 Signifikantní korelace s daným aromatickým profilem u bílých vín

Sloučenina	Korelace	Korelační koeficient (r)	Aroma
Glycerol	Pozitivní	0,52	Aroma sušeného a kandovaného ovoce
Glycerol	Pozitivní	0,52	Karamelizované aroma
Prolin	Negativní	-0,51	Citrusové aroma
Myo-Inositol	Pozitivní	0,50	Aroma tropického ovoce

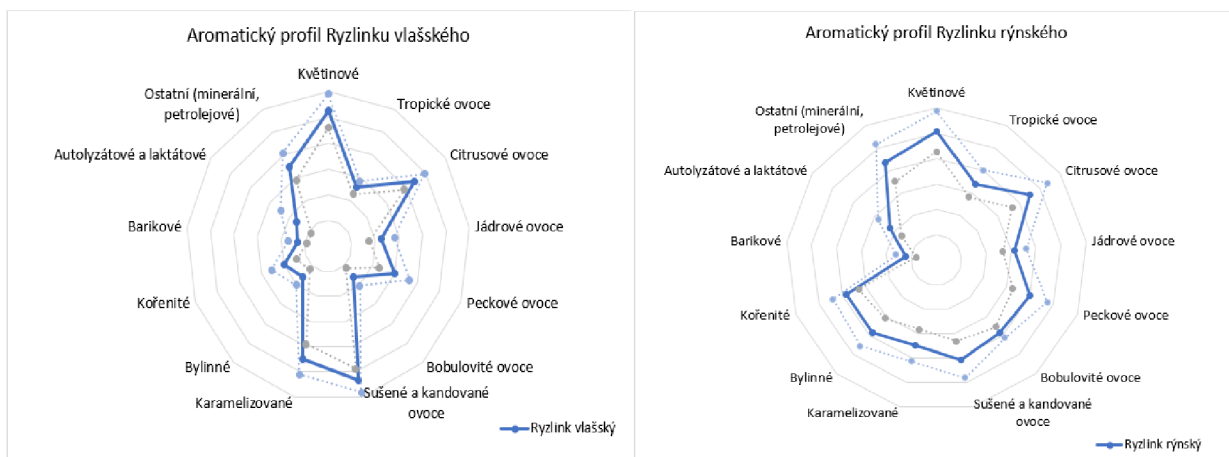


Obrázek 3 Grafy koncentrací sloučenin v závislosti na aromatických profilech bílých vín

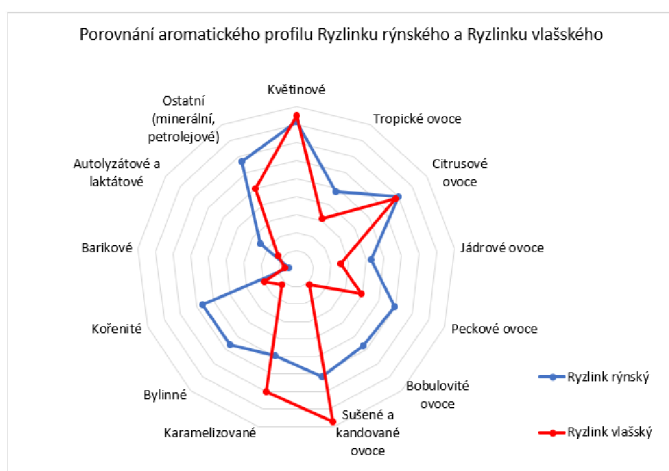
Glycerol, který pozitivně koreloval při našem výzkumu s aroma sušeného a kandovaného ovoce a karamelizovaným aroma, je produkován kvasinkami rodu *Saccharomyces cerevisiae*. Přispívá k jemnosti, sladkosti a komplexnosti vína (Escribano-Viana et al. 2018) a jeho koncentrace je ovlivněna kmenem kvasinek, pH, teplotou (Roberts & Acree 1995). Podle Lubbers et al. (2001) bylo ale zjištěno, že k vytvoření detekovatelného zvýšení sladkosti je potřeba koncentrace glycerolu nad 5,2 g/l, což je relativně vysoká hodnota, koncentrace glycerolu v bílém víně se pohybuje mezi 0,4-5 g/l (Goubet et al. 1998). Toto tvrzení vypovídá o neutrálním vlivu glycerolu na aromatický profil bílého vína. Není ale vyvráceno, že spolu s těkavými a jinými chemickými látkami aroma neformuje. Posouzení korelace v našem výzkumu je tedy diskutabilní a nelze jednoznačně ji potvrdit ani vyvrátit. Prolin je látka, jejíž koncentrace ve víně je určitým biomarkrem odrůd (Cataldi & Nardiello 2003). Prolin hraje významnou roli v kinetice fermentace a produkci aromatických sloučenin (Hernández-Orte et al. 2005). Množství prolinu se zvyšuje v průběhu dozrávání hroznů (Ortega-Heras et al. 2014). Klíčovým faktem je, že aminokyseliny obecně zapříčiňují ovocné a hořké tóny vína ((Hernández-Orte et al. 2005), ale korelace mezi prolinem a citrusovým aroma je v našem případě silně negativní. Výsledky experimentu tak nejsou v souladu s danými zjištěními.

Pro detailnější představu průměrného aromatického profilu byly díky pavučinovým grafům vyobrazeny dvě nejzastoupenější odrůdy bílého vína, tedy Ryzlink vlašský a Ryzlink rýnský. V grafu (Obrázek 4) pro Ryzlink vlašský lze vidět aromatický profil a kladnou a zápornou směrodatnou odchylku. Lze predikovat, že daná odrůda vykazuje výrazně květinové aroma, citrusové aroma, aroma sušeného a kandovaného ovoce a karamelizované aroma. Díky tomuto modelu je možno také tvrdit, že Ryzlink rýnský téměř nevykazuje známky barikového či kořenitého aroma. Aromatický profil Ryzlinku rýnského je poměrně komplexnější, tudíž lze tvrdit, že chuť tohoto vína je vyváženější. Ryzlink rýnský neobsahuje prakticky barikové ani autolyzátové a laktátové aroma.

Při překrytí těchto dvou modelů (Obrázek 5) lze tvrdit, že shoda nastává u barikového aroma, kdy je profil u obou odrůd prakticky totožný, obě odrůdy téměř nevykazují známky tohoto aroma. Aroma citrusového a tropického ovoce je shodné u obou odrůd ve vysoké míře. Značný rozdíl nastává u kořenitého, bylinného aroma a také aroma bobulovitého ovoce. Dle tohoto porovnání lze predikovat odlišnost aromatických profilů pro jednotlivé odrůdy.



Obrázek 4 Pavučinové grafy aromatických profilů Ryzlinku vlašského a Ryzlinku rýnského



Obrázek 5 Pavučinový graf aromatického profilu Ryzlinku rýnského v porovnání s Ryzlinkem vlašským

Podle Knoll et al. (2012) mají ryzlinky obecně ovocné a květinové aroma, toto tvrzení je shodné daty vyobrazenými v grafech (Obrázek 4,5). Aromatický profil však ovlivňuje kombinace několika faktorů, jako jsou klimatické podmínky, terroir, zralost hroznů, sklizeň, technologie výroby, druh kvasinek použitých pro fermentaci nebo způsob zrání (González-Barreiro et al. 2015). U ryzlinku rýnského bylo zjištěno výrazné ovlivnění aromatického profilu těmito faktory. Samotná vinifikace ovlivnila profil vůně a chuťové znaky převážně v závislosti na bakteriálních kmech využitých při výrobě. Jednalo se o *Oenococcus oeni*, tento kmen výrazně přispěl k posílení ovocného aroma (Knoll et al. 2012). Barikové aroma je téměř nezaznamatelné u bílých vín, což může být zapříčiněno zráním v nerezových tancích nebo krátkou dobou zrání u ryzlinků (Genovese et al. 2007).

5.2. Analýza červeného vína dle aromatických profilů

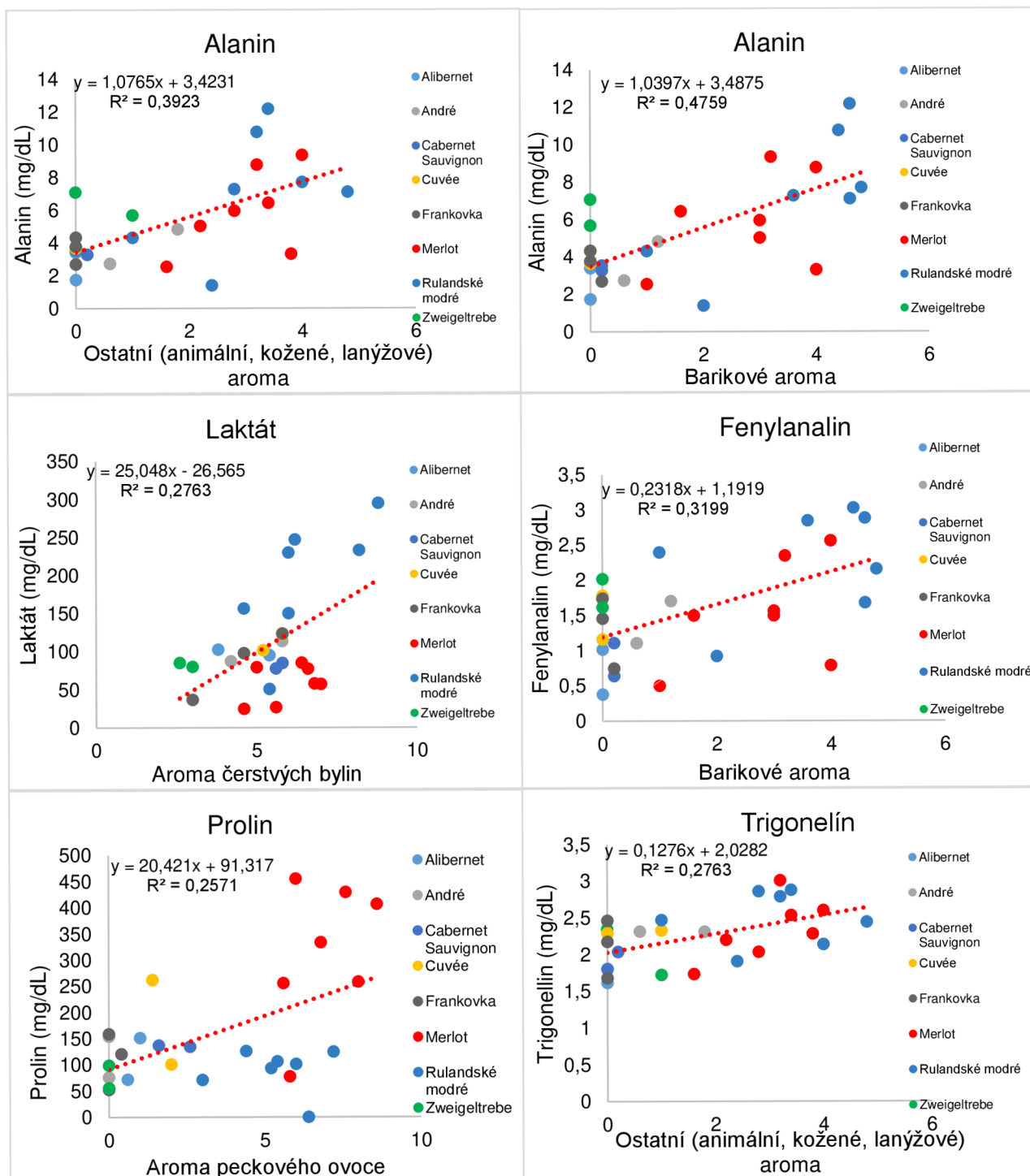
Při statistickém vyhodnocení červeného vína byla jasně prokázána korelace šesti sloučenin s konkrétními aromatickými profily.

Korelační matice v tabulce (Tabulka 7) znázorňuje statisticky významné korelace mezi aromatickým profilem a zkoumanou sloučeninou ($r \geq 0,5$). Alanin pozitivně koreloval s barikovým a ostatním (animálním, koženým, lanýžovým) aroma. Pozitivní korelace byla zaznamenána také u laktátu a aroma čerstvých bylin, prolinu a aroma peckového ovoce, trigonelínu a barikového a ostatního (animálního, koženého, lanýžového) aroma. Negativní korelační závislost myo-inositolu byla dokázána u aroma tropického a jádrového ovoce, karamelizovaného aroma, aroma čerstvých bylin, barikového aroma a ostatního aroma.

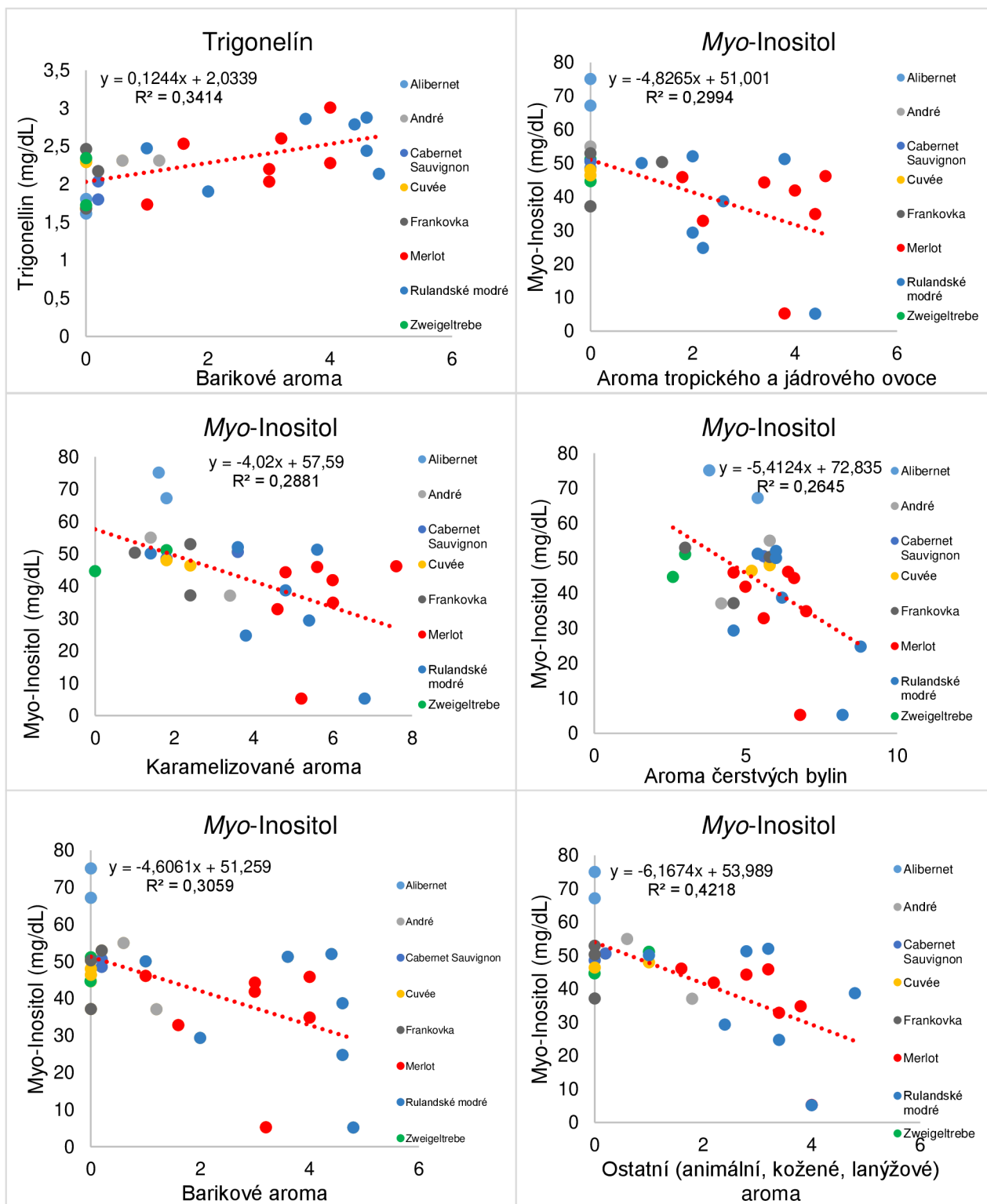
V grafech (Obrázek 6,7) lze vidět grafické znázornění signifikantních korelací mezi sloučeninami a jednotlivými aromatickými profily, data je proložena přímkou lineární regrese. Data jsou rozdělena podle vybraných odrůd, aby mohla být predikována závislost odrůdy a aromatického profilu.

Tabulka 7 Signifikantní korelace mezi daným aromatickým profilem u červených vín

Sloučenina	Korelace	Korelační koeficient (r)	Aroma
Alanin	Pozitivní	0,68	Barikové aroma
Alanin	Pozitivní	0,62	Ostatní (animální, kožené, lanýžové) aroma
Laktát	Pozitivní	0,52	Aroma čerstvých bylin
Fenylalanin	Pozitivní	0,56	Barikové aroma
Prolin	Pozitivní	0,51	Aroma peckového ovoce
Trigonelín	Pozitivní	0,58	Barikové aroma
Trigonelín	Pozitivní	0,52	Ostatní (animální, kožené, lanýžové) aroma
Myo-Inositol	Negativní	-0,54	Aroma tropického a jádrového ovoce
Myo-Inositol	Negativní	-0,53	Karamelizované aroma
Myo-Inositol	Negativní	-0,51	Aroma čerstvých bylin
Myo-Inositol	Negativní	-0,55	Barikové aroma
Myo-Inositol	Negativní	-0,65	Ostatní (animální, kožené, lanýžové) aroma



Obrázek 6 Grafy koncentrací sloučenin v závislosti na aromatických profilech červených vín



Obrázek 7 Grafy koncentrací sloučenin v závislosti na aromatických profilech červených vín

Dle Mandla et al. (2017) je alanin produkován kvasinkami, pokud je v hroznovém moštu k dispozici kyselina pyrohroznová spolu s amoniakem a to převážně při zrání v nerezoých tancích. Při fermentačních procesech s nárústem ethanolu koncentrace alaninu klesá (López-Rituerto et al. 2009). Barikové aroma je ale způsobeno zráním v dubových sudech a dlouhodobým zráním, je charakterizováno jako dřevitá, vanilková nebo kokosová vůně, a podle Frank & Schieberle (2018) koreluje intenzita barikového aroma pouze s *cis*-whiskeylaktonem, vanilinem a fenolovými látkami v červeném víně. Na základě těchto informací se lze domnívat, že významnou korelaci mezi alaninem a barikovým aroma nelze považovat za směrodatnou.

Esenciální aminokyseliny způsobují nežádoucí aroma ve víně, například masové/animální aroma nebo vůni po kysaném zelí (Tian et al. 2021), tudíž by se dalo tvrdit, že vysoká koncentrace alaninu zapříčiňuje znaky ostatního aroma. Laktát podle (Shkotova et al. 2008) způsobuje speciální aroma ve víně, a to jak při fermentaci kvasinkami, tak i při sekundárním způsobu vzniku, a to z glutamátu a alaninu. Je produkován především kvasinkami rodu *Lachancea thermotolerans* a stejně jako acetoin, jež je považován za sloučeninu, která ve vyšších koncentracích může způsobovat máslovou příchut' (Escribano-Viana et al. 2018). Aroma bylinné zapříčiňuje zpravidla alkoholy a aldehydy, může ale docházet k přidavku bylin, a to právě kvůli získání požadovaného aroma (Lakićević et al. 2022). Výsledkem jsou aromatizovaná vína, která voní po pelyňku, anýzu, skořici či lékořici (Comuzzo et al. 2006). Na základě těchto informací nelze korelaci laktátu a aroma čerstvých bylin vysvětlit.

Prolin je charakteristický sladkou chutí a je zodpovědný za plnější tělo a mouthfeel vína (Waterhouse et al. 2016). Pokud je hrozen na vinici vystaven velkému množství světla, zvyšuje se koncentrace prolínu (Robinson et al. 2014). Díky zjištěným informacím lze potvrdit vztah prolínu k aromatickému profilu peckového ovoce. Fenylalanin je prekurzorem květinové a ovocné vůně ve víně, dává vzniku příjemnému aroma a dochází tomu díky fermentaci kvasinkami v hroznovém moštu (Trinh et al. 2010). Existuje ale také korelace mezi fenylalaninem a hořkou trpkou chutí ve víně (Portu et al. 2015). Jelikož je barikové aroma přisuzováno zrání v dubových sudech, dala by se tato pozitivní korelace potvrdit, pokud bychom znali přesné informace o průběhu zrání.

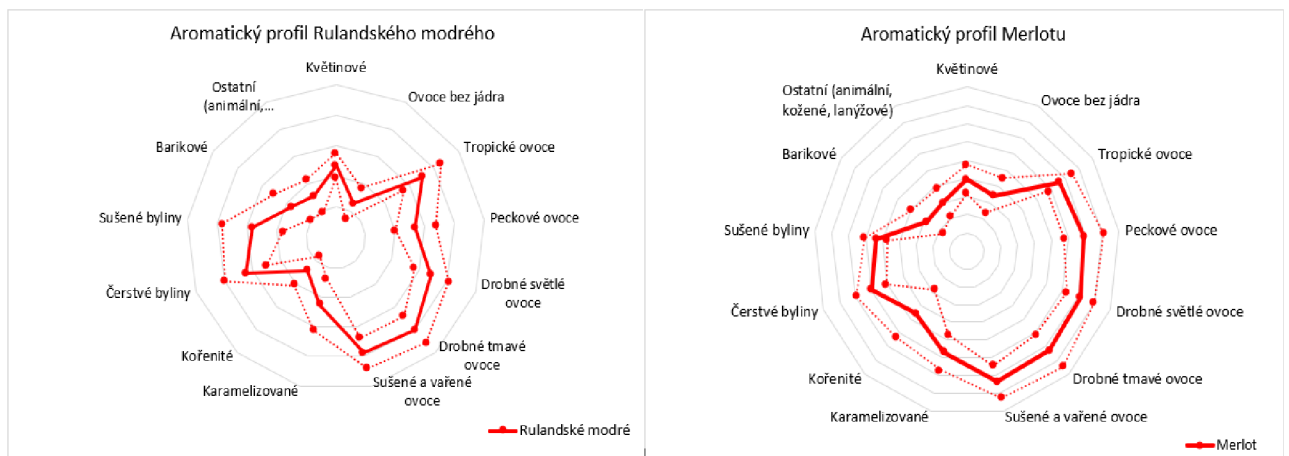
Trigonelín je alkaloid vyskytující se v zelených částech rostlin a má přirozeně hořkou chuť. Koncentrace trigonelínu ve hroznové šťávě se odvíjí od klimatických podmínek v dané oblasti, kde jsou hrozny pěstovány. Je prokázáno, že místa, kde je nízká expozice slunce a vysoké srážky signifikantně korelují s koncentrací trigonelínu ve víně (Son et al. 2009). Není tedy jednoznačně prokazatelné, že se zvyšující se koncentrací trigonelínu roste animální či barikové aroma. Pokud je *myo*-inositol plně fosforylován, vzniká z něj kyselina fytová, která vytváří klastry zachycující kovy (Papaleo et al. 2009). Jelikož u této látky byla zaznamenána pouze negativní korelace, a to u pěti aromat (aroma tropického a jádrového ovoce, karamelizované aroma, aroma čerstvých bylin, barikové a ostatní), je méně těchto chutí detekováno. A to proto, že se ve víně nachází menší koncentrace *myo*-inositolu. Dala by se tedy předpokládat souvislost mezi koncentrací *myo*-inositolu ve víně, kyselinou fytovou a přítomností kovů a následným senzoričným profilem. *Myo*-inositol by měl být příčinou sladké chuti, a to při své prahové koncentraci 17,7 mol/l. Pokud je hodnota nižší, než prahová

koncentrace, může způsobovat vady vína. V kombinaci s 1,2-propandiolem a *D*-mannitolem pomáhají utvářet mouthfeel a tělo vína (Hufnagel & Hofmann 2008).

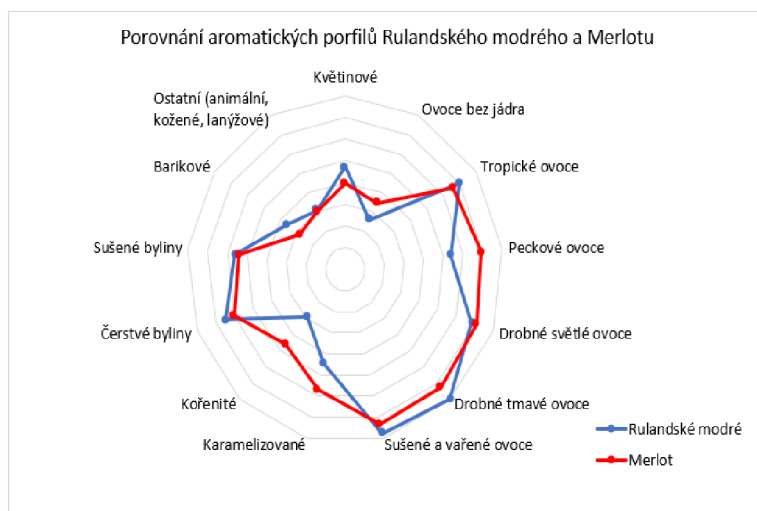
Pavučinové grafy (Obrázek 8) porovnávají průměrný aromatický profil dvou nejvíce zastoupených odrůd červeného vína ze soutěže Salonu vín České republiky pro rok 2021.

Odrůda Rulandského modrého dle následujícího grafického znázornění, založeného na průměrných hodnotách, kladných a záporných směrodatných odchylkách, vyznačuje ovocný aromatický profil. V této odrůdě je nejvíce zastoupeno aroma tropického ovoce, drobného světlého ovoce, drobného tmavého ovoce, sušeného a vařeného ovoce, ale také čerstvých bylin a sušených bylin. Naopak nejnižší hodnoty vykazovalo aroma ovoce bez jádra, kořenité aroma a barikové aroma. U odrůdy Merlotu lze sledovat zřetelně aroma tropického, peckového, drobného světlého, drobného tmavého ovoce a sušeného a vařeného ovoce a čerstvých bylin. Naopak opačný trend lze sledovat u barikového aroma či aroma ovoce bez jader.

Při porovnání Rulandského modrého a Merlotu (Obrázek 9) je zřetelné, že Merlot má poměrně komplexnější aromatický profil. Shodu lze pozorovat u aroma tropického ovoce, drobného světlého ovoce a čerstvých a sušených bylin.



Obrázek 8 Grafy aromatického profilu Rulandského modrého a Merlotu

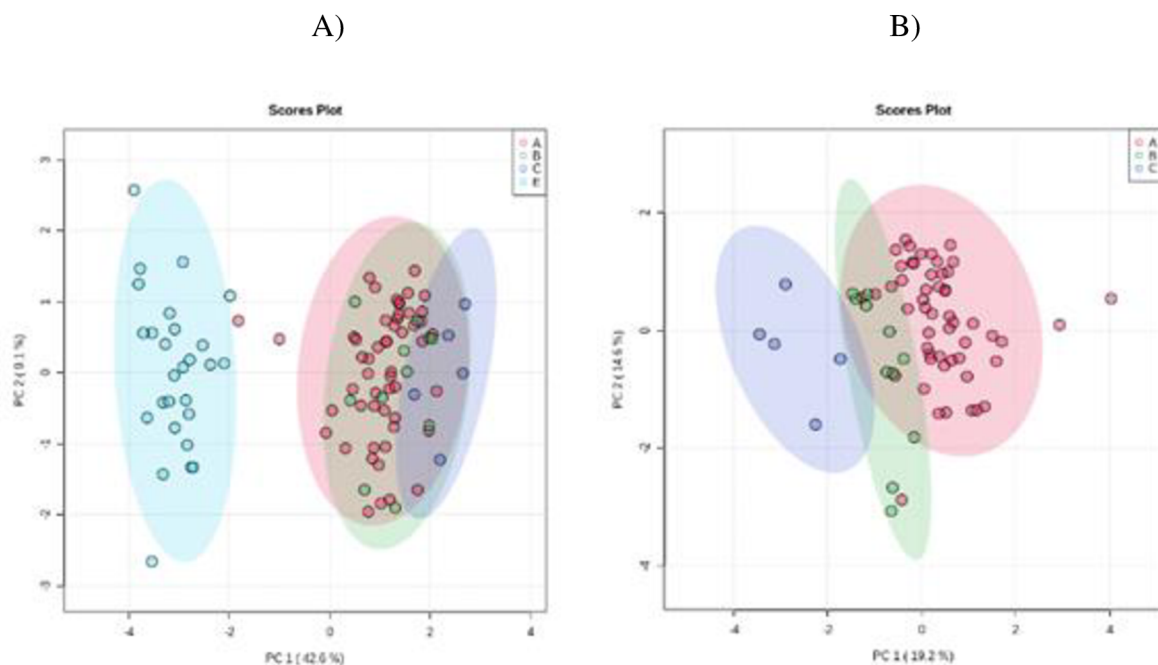


Obrázek 9 Pavučinový graf aromatického profilu Rulandského modrého v porovnání s Merlotem

Aromatický profil vína je ovlivněn několika faktory, od klimatických podmínek až po způsob zpracování a zrání (Evans et al. 2019). U odrůdy Rulandského modrého má aroma rapidní dopad na kvalitu vína. V chladné oblasti v Kalifornii bylo produkováno Rulandské modré s přívlastky čerstvých bobulí, džemem z bobulovitého ovoce, třešněmi a kořenitým aroma, navzdory tomu v teplejším údolí se tato odrůda vyznačovala atributy rostlinného aroma, aroma kůže a kouře (Longo et al. 2021). Odrůda Merlot byla zkoumána na základě teploty zrání a použití různých druhů kvasinek. Analýza jasně ukázala, že zrání při 25 °C snižuje aromatický profil a zrání při 15 °C aromatický profil zvyšuje a je spojeno s deskriptory červeného ovoce, květinového aroma, banánu a mírně nahořklé chuti. Nelze tedy potvrdit hypotézu, že na základě aromatického profilu dokážeme rozpoznat odrůdy, jelikož do procesu zasahuje příliš mnoho faktorů ovlivňujících konečné aroma vína.

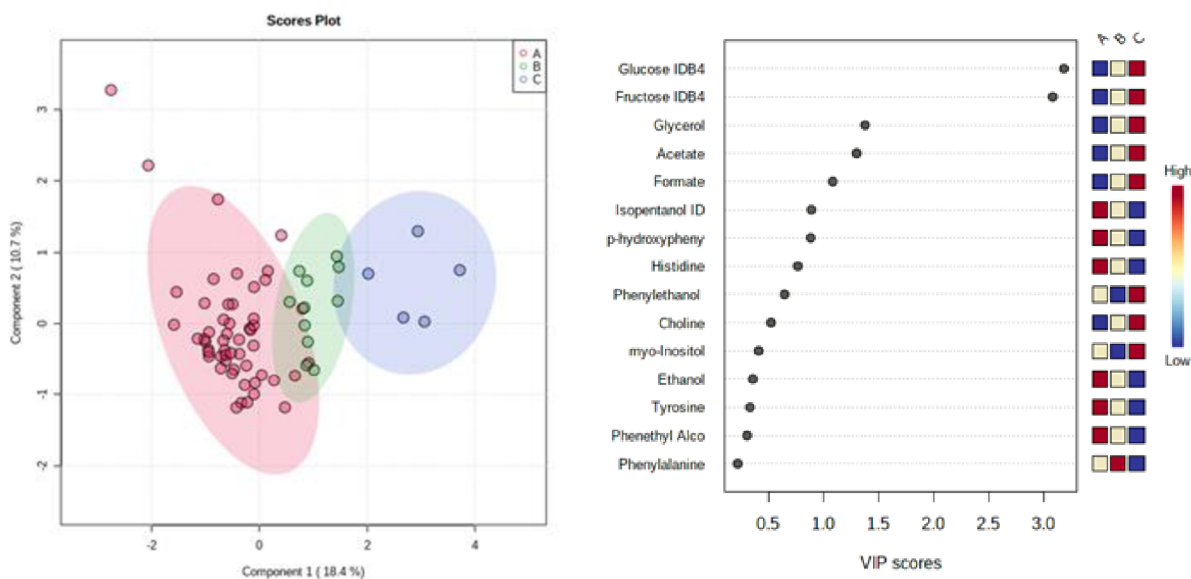
5.3. Analýza hlavních komponent dle kategorií obsahu cukru včetně zbytkového cukru

Metoda PCA a PLS-DA byla provedena na základě kategorií vín dle cukru včetně zbytkového cukru (A, B, C, E). Kategorie byly porovnány mezi sebou.



Obrázek 10 Analýza hlavních komponent vín kategorizovaných do jednotlivých kategorií dle cukru včetně zbytkového cukru - model s bílými a červenými víny (A) a pouze s červenými víny (B). Kategorie A: víno bílé suché a polosladké (cukr včetně zbytkového cukru 0-12 g/l), kategorie B: víno bílé polosladké (cukr včetně zbytkového cukru 12-45 g/l), kategorie C: víno sladké (cukr včetně zbytkového cukru nad 45 g/l), kategorie E: víno červené suché (cukr včetně zbytkového cukru 0-4 g/l)

Byl vytvořen ordinační diagram proměnných (Obrázek 10). Na obrázku A) sledujeme 96 proměnných, tedy vín červených a bílých dohromady. Hodnota rozptylu je 51,7 %. Vzorke jsou rozděleny do jednotlivých klastrů podle variability a osa PC1 rozděluje vína bílé od červených a PC2 rozděluje vína podle obsahu cukru včetně zbytkového cukru. Obrázek B) znázorňuje PCA analýzu 69 bílých vín, součet hodnot PC1 a PC2 je roven 33,8 % variability. PC1 dělí vína podle barvy a PC2 podle obsahu cukru.



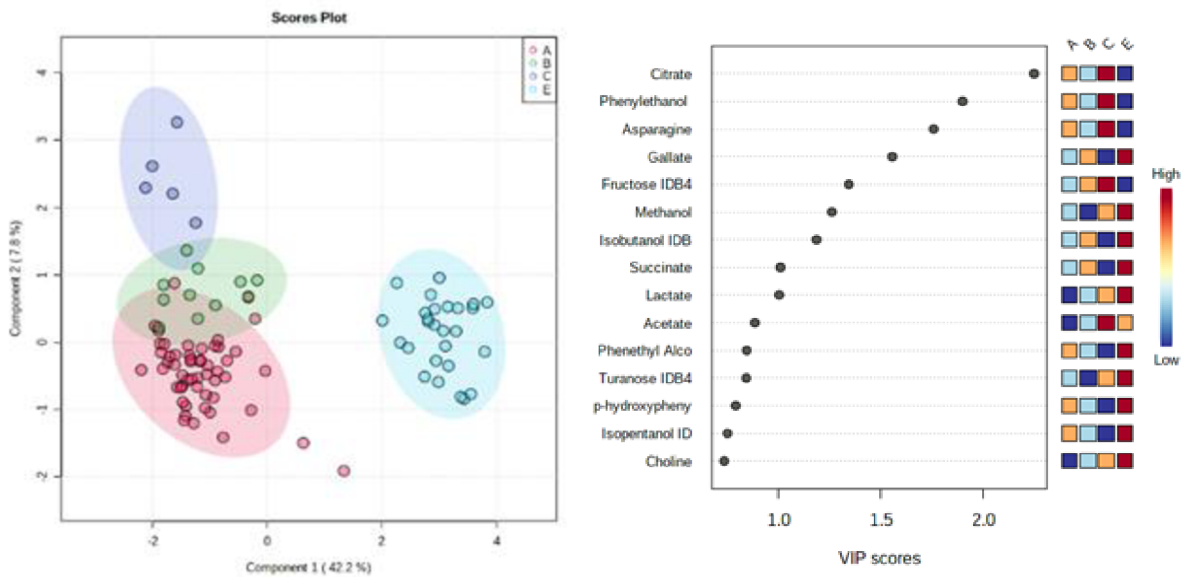
Obrázek 11 PLS-DA analýza vín kategorizovaných do jednotlivých kategorií dle cukru včetně zbytkového cukru u bílých vín. Kategorie A: víno bílé suché a polosladké (cukr včetně zbytkového cukru 0-12 g/l), kategorie B: víno bílé polosladké (cukr včetně zbytkového cukru 12-45 g/l), kategorie C: víno sladké (cukr včetně zbytkového cukru nad 45 g/l). $R^2Y=0,79$; $Q^2=0,66$

PLS-DA je supervizovaná analýza, jejíž model byl sestaven z validovaných dat. Validací modelů byly zjištěny rozpoznávací a predikční schopnosti. Jednalo se o interní validaci, tzv. cross-validaci. Procentuální úspěšnost správně zařazených vzorků analyzovaného souboru do příslušné skupiny se nazývá rozpoznávací schopnost. Predikční schopnost je údaj o procentuální úspěšnosti správného zařazení nově testovaného vzorku.

Kvalita modelu PLS-DA analýzy bílých vín (Obrázek 11) byla hodnocena na základě hodnot komponentních vektorů R^2X (podíl variability proměnných X) a R^2Y (podíl variability proměnných Y) a Q^2 (parametr prediktivní schopnosti). U bílých vín vyšla rozpoznávací schopnost 79 % a predikční schopnost 66 %. Model je hraničně signifikantní, je nutno podotknout, že jednotlivé kategorie mají mezi sebou výraznou spojitost skrze obsah cukru ve víně, tudíž model v tomto případě nemůže být nikdy zcela diskriminační, proto hodnotíme tento model jako velmi přesný.

Obrázek VIP scores (variable importatnt projection) je vytvořen pro komponent 1, který je vyobrazen na obrázku Scores Plot na ose x. Ukazuje nám, jaké proměnné jsou zodpovědné za separaci v komponentu 1. Nejdůležitější v separaci je glukóza, která byla majoritní u vín kategorie C (sladká vína), minoritní u vín kategorie A (suchá vína). Druhou významnou sloučeninou, ovlivňující obsah cukru ve víně je dle modelu fruktóza, která opět dominuje u vín kategorie C, sladkých vín a je v nejmenší míře v kategorii A, u vín suchých. Třetí nejdůležitější parametr pro sestavení modelu byl zvolen glycerol, ale rozdíl mezi hodnotami glukózy a fruktózy v porovnání s glycerolem je rapidní. Tudíž glycerol ovlivňuje obsah cukru ve víně v menší míře. Nejvyšší obsah acetátu a formiátu mají dle modelu vína kategorie C, jelikož sladká vína jsou nejvíce profermentována, takže vzniká největší koncentrace kyseliny octové a mravenčí. Obsah ethanolu byl nejvyšší u kategorie A a nejnižší u kategorie C. U obrázku Scores

Plot na ose y jsou komponenty, které rozdělují vzorky v rámci jednotlivých kategorií, rozptýl pak interpretujeme jako vlastnosti, které se liší v rámci kategorií. Komponenty 2 jsou ortogonální ke komponentu 1.



Obrázek 12 PLS-DA analýza vín kategorizovaných do jednotlivých kategorií dle cukru včetně zbytkového cukru u červených i bílých vín Kategorie A: víno bílé suché a polosladké (cukr včetně zbytkového cukru 0-12 g/l), kategorie B: víno bílé polosladké (cukr včetně zbytkového cukru 12-45 g/l), kategorie C: víno sladké (cukr včetně zbytkového cukru nad 45 g/l), kategorie E: víno červené suché (cukr včetně zbytkového cukru 0-4 g/l); $R^2Y=0,87$, $Q^2=0,90$

Na obrázku 12 sledujeme PLS-DA analýzu provedenou pro klasifikaci bílých a červených vín dle obsahu cukru včetně zbytkového cukru. Model je mnohem prediktivnější, jelikož má rozpoznávací schopnost hodnoty 87 % a predikční schopnost 90 %. Je to proto, jelikož vyobrazuje analýzu bílých i červených vín. VIP scores vyobrazuje komponent 1. Nejdůležitější diskriminační proměnná, která rozlišuje červená a bílá vína, je citrát. Červená vína mají nejméně citrátu, což je rozhodující parametr. Trend také určuje koncentrace phenylethanolu, nejméně této sloučeniny opět obsahují červená vína v porovnání s bílými. Zajímavým zjištěním je vysoký obsah galátu v červených vínech. Ostatní markery nejvíce přispívající k odlišení jsou například fruktóza, metanol, nebo isobutanol. Z diagramu je patrné, že na ose x jsou rozdělena vína dle kategorií na bílé a červené, a na ose y vyobrazuje komponent 2 závislost obsahu cukru ve víně.

6. Závěr

Záměrem práce bylo zanalyzovat sto vzorků vín pomocí metody NMR. Na základě výchozích spekter, jež udávaly koncentrace jednotlivých analytů, bylo zjišťováno, zda je možné klasifikovat odrůdy jednotlivých vín. Anotováno bylo 32 sloučenin. U bílých vín korelovaly tři sloučeniny (glycerol, prolin, *myo*-inositol) se čtyřmi aromaty, například aroma sušeného a kandovaného ovoce a karamelizované aroma bylo asociováno s přítomností glycerolu. U červených byla vyhodnocena korelace šesti sloučenin (alanin, laktát, fenylalanin, prolin, trigonelín, *myo*-inositol) s šesti aromatickými deskriptory, například nejsilnější korelace byla mezi alaninem a barikovým aroma. Negativní korelaci vykazovala sloučenina *myo*-inositol, a to v pěti případech u aroma tropického a jádrového ovoce, karamelizovaného aroma, aroma čerstvých bylin, barikového a ostatního aroma. Vyhodnocené korelace byly relativně silné, hodnota korelačního koeficientu byla $r \geq 0,5$. I přes sílu korelace není jednoznačně prokazatelné, zda snížení či zvýšení koncentrace sloučenin odpovídá danému aromatickému profilu. Práce však potvrdila, že je NMR vhodnou metodou pro analýzu vína, jejímž prostřednictvím lze do jisté míry predikovat jeho sensorický profil.

Dále byly sestrojeny pavučinové grafy porovnávající průměrný aromatický profil na základě specifikace dle odrůdy. Vybrány byly dvě nejzastoupenější odrůdy jak pro bílé, tak červené víno. U bílého vína se jednalo o odrůdy Ryzlink vlašský a Ryzlink rýnský. Z grafu jasně vyplývá, že u Ryzlinku vlašského dominuje aroma květinové či aroma sušeného a kandovaného ovoce, u Ryzlinku rýnského převažuje aroma kořenité a aroma peckového ovoce. Komplexnější aromatický profil přisuzujeme Ryzlinku rýnskému. Nejzastoupenějšími odrůdami červeného vína bylo Rulandské modré a Merlot, mezi nimiž sledujeme výrazně větší podobnost, než je tomu u vybraných odrůd bílého vína. Faktem je, že Rulandské modré a Merlot mají průměrný aromatický profil založen na ovocném aroma a aroma bylinném.

Poslední analýza proběhla na základě porovnání kategorií vín dle obsahu cukru a hlavních komponent vín. Bylo zjištěno, že klasifikaci pro dané vzorky bílých vín ovlivňují nejvíce sloučeninami glukóza a fruktóza, které dominují svým obsahem u vín kategorie C (sladká vína). Při porovnání červených a bílých vín byly zjištěny čtyři chemické látky nejvíce ovlivňující kategorizaci dle obsahu cukru. Jsou jimi citrát, fenylethanol asparagin a gallát.

Jelikož byla zjištěna určitá podobnost průměrných aromatických profilů, lze predikovat schopnost kontroly identity šarží. Práce tak může sloužit jako nástroj pro vytvoření databáze ^1H NMR profilů pro klasifikaci odrůd.

7. Literatura

- Amargianitaki M, Spyros A. 2017, May 24. NMR-based metabolomics in wine quality control and authentication. Springer International Publishing.
- Anastasiadi M, Zira A, Magiatis P, Haroutounian SA, Skaltsounis AL, Mikros E. 2009. H NMR-based metabonomics for the classification of Greek wines according to variety, region, and vintage. comparison with HPLC data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:11067–11074.
- Ardö Y. 2006, March. Flavour formation by amino acid catabolism.
- Arrhenius SP, McCloskey LP, Sylvan M. 1996. Chemical Markers for Aroma of *Vitis vinifera* Var. Chardonnay Regional Wines.
- Atchison DA, Thibos LN. 2016, March 1. Optical models of the human eye. Blackwell Publishing Ltd.
- Berthels NJ, Cordero Otero RR, Bauer FF, Thevelein JM, Pretorius IS. 2004. Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains. *FEMS Yeast Research* **4**:683–689.
- Bimpilas A, Panagopoulou M, Tsimogiannis D, Oreopoulou V. 2016. Anthocyanin copigmentation and color of wine: The effect of naturally obtained hydroxycinnamic acids as cofactors. *Food Chemistry* **197**:39–46. Elsevier Ltd.
- Bradshaw MP, Prenzler PD, Scollary GR. 2001. Ascorbic acid-induced browning of (+)-catechin in a model wine system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**:934–939.
- Bridle P, Garcia-Vigueraab C. 1996. A simple technique for the detection of red wine adulteration with elderberry pigments. *Page Food Chemisfry*.
- Bührle F, Gohl A, Weber F. 2017. Impact of Xanthylum Derivatives on the Color of White Wine. *Molecules (Basel, Switzerland)* **22**.
- Canonico L, Solomon M, Comitini F, Ciani M, Varela C. 2019. Volatile profile of reduced alcohol wines fermented with selected non-*Saccharomyces* yeasts under different aeration conditions. *Food Microbiology* **84**. Academic Press.
- Cataldi TRI, Nardiello D. 2003. Determination of free proline and monosaccharides in wine samples by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:3737–3742. American Chemical Society.
- Cavicchi A, Santini C. 2012. Brunellopoli: a wine scandal under the tuscan sun. *Tourism Review International* **15**:253–267. Cognizant, LLC.
- Cerovic ZG, Moise N, Agati G, Latouche G, ben Ghazlen N, Meyer S. 2008. New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* **21**:650–654. Academic Press Inc.
- Chong J, Yamamoto M, Xia J. 2019. MetaboAnalystR 2.0: From raw spectra to biological insights. *Metabolites* **9**. MDPI AG.
- Clark AC, Prenzler PD, Scollary GR. 2007. Impact of the condition of storage of tartaric acid solutions on the production and stability of glyoxylic acid. *Food Chemistry* **102**:905–916.

- Cliff M, Pickering G. 2006. Determination of odour detection thresholds for acetic acid and ethyl acetate in ice wine. *Journal of Wine Research* **17**:45–52.
- Coetzee PP, Steffens FE, Eiselen RJ, Augustyn OP, Balcaen L, Vanhaecke F. 2005. Multi-element analysis of south african wines by ICP-MS and their classification according to geographical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**:5060–5066.
- Coetzee PP, Vanhaecke F. 2005. Classifying wine according to geographical origin via quadrupole-based ICP-mass spectrometry measurements of boron isotope ratios. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **383**:977–984.
- Combs GF, McClung JP. 2017. Niacin. Pages 331–350 *The Vitamins*. Elsevier. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128029657000137>.
- Comuzzo P, Tat L, Tonizzo A, Battistutta F. 2006. Yeast derivatives (extracts and autolysates) in winemaking: Release of volatile compounds and effects on wine aroma volatility. *Food Chemistry* **99**:217–230.
- Curiel JA, Muñoz R, López De Felipe F. 2010. Delaying effect of a wine lactobacillus plantarum strain on the coloration and xanthylum pigment formation occurring in (+)-catechin and (-)-epicatechin wine model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**:11318–11324.
- de Villiers A, Alberts P, Tredoux AGJ, Nieuwoudt HH. 2012, June 8. Analytical techniques for wine analysis: An African perspective; a review.
- De-La-Fuente-Blanco A, Sáenz-Navajas MP, Ferreira V. 2016. On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry* **210**:107–114. Elsevier Ltd.
- Dessuy MB, Vale MGR, Souza AS, Ferreira SLC, Welz B, Katskov DA. 2008. Method development for the determination of lead in wine using electrothermal atomic absorption spectrometry comparing platform and filter furnace atomizers and different chemical modifiers. *Talanta* **74**:1321–1329. Elsevier.
- Diéguez SC, Lois LC, Gómez EF, de la Pña MLG. 2003. Aromatic composition of the Vitis vinifera grape Albariño. *LWT - Food Science and Technology* **36**:585–590.
- dos Anjos JP, de Andrade JB. 2015. Simultaneous determination of pesticide multiresidues in white wine and rosé wine by SDME/GC-MS. *Microchemical Journal* **120**:69–76. Elsevier Inc.
- Escribano-Viana R, González-Arenzana L, Portu J, Garijo P, López-Alfaro I, López R, Santamaría P, Gutiérrez AR. 2018. Wine aroma evolution throughout alcoholic fermentation sequentially inoculated with non- Saccharomyces/Saccharomyces yeasts. *Food Research International* **112**:17–24. Elsevier Ltd.
- Es-Safi NE, Cheynier V, Moutounet M. 2003. Implication of phenolic reactions in food organoleptic properties. *Journal of Food Composition and Analysis* **16**:535–553. Academic Press Inc.
- Es-Safi NE, le Guernevé C, Cheynier V, Moutounet M. 2000. New phenolic compounds formed by evolution of (+)-catechin and glyoxylic acid in hydroalcoholic solution and their implication in color changes of grape-derived foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**:4233–4240.
- Estrella MI, Hernbndez MT, Olano A. 1986. Changes in Polyalcohol and Phenol Compound Contents in the Ageing of Sherry Wines. Page *Food Chemistry*.

Evans KJ, Bricher PK, Foster SD. 2019. Impact of frost injury incidence at nodes of Pinot Noir on fruitfulness and growth-stage lag. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **25**:201–211. Blackwell Publishing Ltd.

Evers MS, Roullier-Gall C, Morge C, Sparrow C, Gobert A, Alexandre H. 2021. Vitamins in wine: Which, what for, and how much? *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **20**:2991–3035. Blackwell Publishing Inc.

Everstine K, Spink J, Kennedy S. 2013. Economically motivated adulteration (EMA) of food: Common characteristics of EMA incidents. *Journal of Food Protection* **76**:723–735.

Fang F, Li JM, Zhang P, Tang K, Wang W, Pan QH, Huang WD. 2008. Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. *Food Research International* **41**:53–60. Elsevier.

Fehér J, Lengyel G, Lugasi A. 2007, December. The cultural history of wine - Theoretical background to wine therapy.

Ferrero-del-Teso S, Suárez A, Jeffery DW, Ferreira V, Fernández-Zurbano P, Sáenz-Navajas MP. 2020. Sensory variability associated with anthocyanic and tannic fractions isolated from red wines. *Food Research International* **136**. Elsevier Ltd.

Filho AM, dos Santos FN, Pereira PA de P. 2010. Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC-MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples. *Microchemical Journal* **96**:139–145.

Flamini R, de Rosso M. 2006. Mass spectrometry in the analysis of grape and wine proteins.

Frank S, Schieberle P. 2018. Correlation between the Concentrations of Two Oak Derived Key Odorants and the Intensity of a Woody-"Barrique-Type" Odor Note in Different Red Wines. UTC. Available from <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.

Gamella M, Campuzano S, Reviejo AJ, Pingarrón JM. 2008. Integrated multienzyme electrochemical biosensors for the determination of glycerol in wines. *Analytica Chimica Acta* **609**:201–209.

Garbi A, Sakkas V, Fiamegos YC, Stalikas CD, Albanis T. 2010. Sensitive determination of pesticides residues in wine samples with the aid of single-drop microextraction and response surface methodology. *Talanta* **82**:1286–1291. Elsevier B.V.

Garrido J, Borges F. 2013, December. Wine and grape polyphenols - A chemical perspective.

Genovese A, Gambuti A, Piombino P, Moio L. 2007. Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chemistry* **103**:1228–1236.

Gnanasambandan Freiser TH. 1982. Identification of the Origin of Natural Alcohols by Natural Abundance Hydrogen-2 Nuclear Magnetic Resonance. Page *Food Technol.* (Chicago).

Godelmann R, Kost C, Patz CD, Ristow R, Wachter H. 2016. Quantitation of compounds in wine using ¹H NMR spectroscopy: Description of the method and collaborative study. *Journal of AOAC International* **99**:1295–1304. AOAC International.

Goldstein R, Almenberg J, Dreber A, Emerson JW, Herschkowitsch A, Katz J. 2008. Do More Expensive Wines Taste Better? Evidence from a Large Sample of Blind Tastings*. Page *Journal of Wine Economics*. Available from www.wine-searcher.com.

- González-Barreiro C, Rial-Otero R, Cancho-Grande B, Simal-Gándara J. 2015. Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **55**:202–218. Taylor and Francis Inc.
- Gonzalo-Diago A, Dizy M, Fernández-Zurbano P. 2014. Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. *Food Chemistry* **154**:187–198. Elsevier Ltd.
- Goriushkina TB, Soldatkin AP, Dzyadevych S v. 2009. Application of amperometric biosensors for analysis of ethanol, glucose, and lactate in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:6528–6535.
- Goubet I, le Quere J-L, Voilley AJ. 1998. Retention of Aroma Compounds by Carbohydrates: Influence of Their Physicochemical Characteristics and of Their Physical State. A Review.
- Gougeon L, da Costa G, Richard T, Guyon F. 2019. Wine authenticity by quantitative ¹H NMR versus multitechnique analysis: A case study. *Food Analytical Methods* **12**:956–965. Springer.
- Grindlay G, Mora J, Gras L, de Loos-Vollebregt MTC. 2011, April 8. Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications.
- Guo A, Kontoudakis N, Scollary GR, Clark AC. 2017. Production and Isomeric Distribution of Xanthylium Cation Pigments and Their Precursors in Wine-like Conditions: Impact of Cu(II), Fe(II), Fe(III), Mn(II), Zn(II), and Al(III). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65**:2414–2425. American Chemical Society.
- Gutiérrez IH, Lorenzo ESP, Espinosa AV. 2005. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chemistry* **92**:269–283. Elsevier Ltd.
- Håkansson AE, Pardon K, Hayasaka Y, de Sa M, Herderich M. 2003. Structures and colour properties of new red wine pigments. *Tetrahedron Letters* **44**:4887–4891. Elsevier Ltd.
- Halpern GM. 2008, October. A celebration of wine: Wine IS medicine.
- Hernández-Orte P, Ibarz MJ, Cacho J, Ferreira V. 2005. Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chemistry* **89**:163–174.
- Hodson G, Wilkes E, Azevedo S, Battaglene T. 2017. Methanol in wine. *BIO Web of Conferences* **9**:02028. EDP Sciences.
- Holden NE et al. 2018, December 1. IUPAC Periodic Table of the Elements and Isotopes (IPTEI) for the Education Community (IUPAC Technical Report). De Gruyter.
- Hong YS. 2011, December. NMR-based metabolomics in wine science.
- Hufnagel JC, Hofmann T. 2008. Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**:1376–1386.
- Imparato G, di Paolo E, Braca A, Lamanna R. 2011. Nuclear magnetic resonance profiling of wine blends. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**:4429–4434.
- Jaitz L, Siegl K, Eder R, Rak G, Abranko L, Koellensperger G, Hann S. 2010. LC-MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage. *Food Chemistry* **122**:366–372.

- Jin B, Xie L, Guo Y, Pang G. 2012, April. Multi-residue detection of pesticides in juice and fruit wine: A review of extraction and detection methods.
- Jurado-Sánchez B, Ballesteros E, Gallego M. 2011. Gas chromatographic determination of 29 organic acids in foodstuffs after continuous solid-phase extraction. *Talanta* **84**:924–930. Elsevier B.V.
- Knoll C, Fritsch S, Schnell S, Grossmann M, Krieger-Weber S, du Toit M, Rauhut D. 2012. Impact of different malolactic fermentation inoculation scenarios on Riesling wine aroma. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **28**:1143–1153.
- Koshani R, Jafari SM. 2020. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy of nanoencapsulated food ingredients. Pages 411–458 *Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients*. Elsevier.
- Košir IJ, Kidrič J. 2002. Use of modern nuclear magnetic resonance spectroscopy in wine analysis: determination of minor compounds. Page *Analytica Chimica Acta*.
- Košir IJ, Lapornik B, Andrenšek S, Wondra AG, Vrhovšek U, Kidrič J. 2004. Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. Pages 277–282 *Analytica Chimica Acta*.
- Koundouras S. 2018. Environmental and viticultural effects on grape composition and wine sensory properties. *Elements* **14**:173–178. Mineralogical Society of America.
- Krishnan V v. 2019, March 1. Molecular thermodynamics using nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Krška Pavel, Balík Josef, Babisz Marek. 2019. Systém pro hodnocení vín.
- Ky I, Lorrain B, Jourdes M, Pasquier G, Fermaud M, Gény L, Rey P, Doneche B, Teissedre PL. 2012. Assessment of grey mould (*Botrytis cinerea*) impact on phenolic and sensory quality of Bordeaux grapes, musts and wines for two consecutive vintages. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **18**:215–226.
- Lakićević SH, Karabegović IT, Cvetković DJ, Lazić ML, Jančić R, Popović-Djordjević JB. 2022. Insight into the Aroma Profile and Sensory Characteristics of 'Prokupac' Red Wine Aromatised with Medicinal Herbs. *Horticulturae* **8**:277. Available from <https://www.mdpi.com/2311-7524/8/4/277>.
- Larsen FH, van den Berg F, Engelsen SB. 2006. An exploratory chemometric study of ¹H NMR spectra of table wines. Pages 198–208 *Journal of Chemometrics*.
- Lee C-K. 1987. THE CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY OF THE SWEETNESS OF SUGARS. Page 189-213. *ADVANCES IN CARBOHYDRATE CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY*.
- Li W, Schmiedebach HP. 2015. German wine in an American bottle: the spread of modern psychiatry in China, 1898–1949. *History of Psychiatry* **26**:348–358. SAGE Publications Ltd.
- Liu Y, He F, Shi Y, Zhang B, Duan CQ. 2018. Effect of the high pressure treatments on the physicochemical properties of the young red wines supplemented with pyruvic acid. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **48**:56–65. Elsevier Ltd.
- Longo R, Carew A, Sawyer S, Kemp B, Kerslake F. 2021. A review on the aroma composition of *Vitis vinifera* L. Pinot noir wines: origins and influencing factors. Bellwether Publishing, Ltd.

- López-Malo M, García-Rios E, Melgar B, Sanchez MR, Dunham MJ, Guillamón JM. 2015. Evolutionary engineering of a wine yeast strain revealed a key role of inositol and mannoprotein metabolism during low-temperature fermentation. *BMC Genomics* **16**. BioMed Central Ltd.
- López-Rituerto E, Cabredo S, López M, Avenoza A, Busto JH, Peregrina JM. 2009. A thorough study on the use of quantitative ¹H NMR in Rioja red wine fermentation processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:2112–2118.
- Lubbers S, Verret C, Voilley A. 2001. The Effect of Glycerol on the Perceived Aroma of a Model Wine and a White Wine. *LWT - Food Science and Technology* **34**:262–265.
- Mandl K, Silhavy-Richter K, Korntheuer K, Prinz M, Patzl-Fischerleitner E, Eder R. 2017. Influence of different yeasts on the amino acid pattern of rosé wine. *BIO Web of Conferences* **9**:02014. EDP Sciences.
- Manley M, Baeten V. 2018. Spectroscopic Technique: Near Infrared (NIR) Spectroscopy. Pages 51–102 *Modern Techniques for Food Authentication*. Elsevier.
- Mansvelt EPG, van Velden DP, Fourie E, Rossouw M, van Rensburg SJ, Smuts ACM. 2002. The in Vivo Antithrombotic Effect of Wine Consumption on Human Blood Platelets and Hemostatic Factors. *Page Ann. N.Y. Acad. Sci.*
- Mariño-Sanchez FS, Alobid I, Cantellas S, Alberca C, Guilemany JM, Canals JM, de Haro J, Mullol J. 2010. Smell training increases cognitive smell skills of wine tasters compared to the general healthy population. *The WINECAT Study. Rhinology* **48**:273–276.
- Marriott P, Shellie R. 2002. Principles and applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography. Melbourne.
- Marunaka Y. 2018, October 19. The proposal of molecular mechanisms of weak organic acids intake-induced improvement of insulin resistance in diabetes mellitus via elevation of interstitial fluid pH. MDPI AG.
- Massera A, Assof M, Sari S, Ciklic I, Mercado L, Jofré V, Combina M. 2021. Effect of low temperature fermentation on the yeast-derived volatile aroma composition and sensory profile in Merlot wines. *LWT* **142**. Academic Press.
- Norrie Philip. 2019. *The History of Wine As a Medicine : From Its Beginnings in China to the Present Day*. Cambridge Scholars Publishing.
- Oberholster A, Francis IL, Iland PG, Waters EJ. 2009. Mouthfeel of white wines made with and without pomace contact and added anthocyanins. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**:59–69.
- Ortega-Heras M, Pérez-Magariño S, Del-Villar-Garrachón V, González-Huerta C, Moro Gonzalez LC, Guadarrama Rodríguez A, Villanueva Sanchez S, Gallo González R, Martín de la Helguera S. 2014. Study of the effect of vintage, maturity degree, and irrigation on the amino acid and biogenic amine content of a white wine from the Verdejo variety. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **94**:2073–2082. John Wiley and Sons Ltd.
- Pan Z, Raftery D. 2007. Comparing and combining NMR spectroscopy and mass spectrometry in metabolomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **387**:525–527.
- Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, Chiu TT. 2009. Contribution of myo-inositol to reproduction. Elsevier Ireland Ltd.

- Peleg H, Gacon K, Schlich P, Noble AC. 1999. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers †. California.
- Peña-Gallego A, Hernández-Orte P, Cacho J, Ferreira V. 2012, January. High-Performance Liquid Chromatography Analysis of Amines in Must and Wine: A Review.
- Perli T, Wronska AK, Ortiz-Merino RA, Pronk JT, Daran JM. 2020. Vitamin requirements and biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* **37**:283–304. John Wiley and Sons Ltd.
- Pezet R, Pont V, Cuenat P. 1994. Method to determine resveratrol and pterostilbene in grape berries and wines using high-performance liquid chromatography and highly sensitive fluorimetric detection. *Page Journal of Chromatography A*.
- Philip Norrie. 2019. *The History of Wine as a Medicine: From its Beginnings in China to the Present Day* (Paperback), 1st edition. Cambridge Scholar Publishing, Newcastle upon Tyne, UK.
- Poo M. 1999. The Use and Abuse of Wine in Ancient China. *Journal of the Economic and Social History of the Orient*:123–151.
- Portu J, González-Arenzana L, Hermosín-Gutiérrez I, Santamaría P, Garde-Cerdán T. 2015. Phenylalanine and urea foliar applications to grapevine: Effect on wine phenolic content. *Food Chemistry* **180**:55–63. Elsevier Ltd.
- Profumo A, Gorrioni A, Guarnieri SA, Mellerio GG, Cucca L, Merli D. 2020. GC-MS qualitative analysis of the volatile, semivolatile and volatilizable fractions of soil evidence for forensic application: A chemical fingerprinting. *Talanta* **219**. Elsevier B.V.
- Ralli E, Amargianitaki M, Manolopoulou E, Misiak M, Markakis G, Tachtalidou S, Kolesnikova A, Dais P, Spyros A. 2018. NMR spectroscopy protocols for food metabolomics applications. Pages 203–211 *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc.
- Regmi U, Palma M, Barroso CG. 2012. Direct determination of organic acids in wine and wine-derived products by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta* **732**:137–144.
- Roberts DD, Acree TE. 1995. Simulation of Retronasal Aroma Using a Modified Headspace Technique: Investigating the Effects of Saliva, Temperature, Shearing, and Oil on Flavor Release. *Page J. Agric. Food Chem.*
- Robinson AL, Boss PK, Solomon PS, Trengove RD, Heymann H, Ebeler SE. 2014. Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. *American Journal of Enology and Viticulture* **65**:1–24.
- Robles A, Fabjanowicz M, Chmiel T, Płotka-Wasyłka J. 2019, November 1. Determination and identification of organic acids in wine samples. *Problems and challenges*. Elsevier B.V.
- Ruiz-Altisent M, Ruiz-García L, Moreda GP, Lu R, Hernandez-Sanchez N, Correa EC, Diezma B, Nicolai B, García-Ramos J. 2010, November. Sensors for product characterization and quality of specialty crops-A review.
- Ruiz-Matute AI, Sanz ML, Moreno-Arribas MV, Martínez-Castro I. 2009. Identification of free disaccharides and other glycosides in wine. *Journal of Chromatography A* **1216**:7296–7300. Elsevier B.V.

- Rustioni L, Bedgood DR, Failla O, Prenzler PD, Robards K. 2012. Copigmentation and anti-copigmentation in grape extracts studied by spectrophotometry and post-column-reaction HPLC. Pages 2194–2201 *Food Chemistry*.
- Sáenz-Navajas MP, Campo E, Avizcuri JM, Valentin D, Fernández-Zurbano P, Ferreira V. 2012. Contribution of non-volatile and aroma fractions to in-mouth sensory properties of red wines: Wine reconstitution strategies and sensory sorting task. *Analytica Chimica Acta* **732**:64–72.
- Sáenz-Navajas MP, Ferreira V, Dizy M, Fernández-Zurbano P. 2010. Characterization of taste-active fractions in red wine combining HPLC fractionation, sensory analysis and ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta* **673**:151–159.
- Sáenz-Navajas MP, Martín-López C, Ferreira V, Fernández-Zurbano P. 2011. Sensory properties of premium Spanish red wines and their implication in wine quality perception. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**:9–19.
- Sakellariou D, Lesage A, Hodgkinson P, Emsley L. 2000. Homonuclear dipolar decoupling in solid-state NMR using continuous phase modulation. *Page Chemical Physics Letters*. Available from www.elsevier.nl/locate/plett.
- Samphao A, Butmee P, Saejueng P, Pukahuta C, Švorc L, Kalcher K. 2018. Monitoring of glucose and ethanol during wine fermentation by bienzymatic biosensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **816**:179–188. Elsevier B.V.
- Santos JP, Lozano J, Alexandre M, Arroyo T, Cabellos JM, Gil M, Horrillo M del C. 2010. Threshold detection of aromatic compounds in wine with an electronic nose and a human sensory panel. *Talanta* **80**:1899–1906. Elsevier B.V.
- Sartor S, Burin VM, Caliari V, Bordignon-Luiz MT. 2021. Profiling of free amino acids in sparkling wines during over-lees aging and evaluation of sensory properties. *LWT* **140**. Academic Press.
- Shkotova L v., Goriushkina TB, Tran-Minh C, Chovelon JM, Soldatkin AP, Dzyadevych S v. 2008. Amperometric biosensor for lactate analysis in wine and must during fermentation. *Materials Science and Engineering C* **28**:943–948.
- Silva V, Igrejas G, Falco V, Santos TP, Torres C, Oliveira AMP, Pereira JE, Amaral JS, Poeta P. 2018. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food Control* **92**:516–522. Elsevier Ltd.
- Skogerson K, Runnebaum RON, Wohlgemuth G, de Ropp J, Heymann H, Fiehn O. 2009. Comparison of gas chromatography-coupled time-of-flight mass spectrometry and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy metabolite identification in white wines from a sensory study investigating wine body. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:6899–6907.
- Solovyev PA, Faul-Hassek C, Riedl J, Esslinger S, Bontempo L, Camin F. 2021, March 1. *NMR spectroscopy in wine authentication: An official control perspective*. Blackwell Publishing Inc.
- Son HS, Hwang GS, Ahn HJ, Park WM, Lee CH, Hong YS. 2009. Characterization of wines from grape varieties through multivariate statistical analysis of ¹H NMR spectroscopic data. *Food Research International* **42**:1483–1491.

- Son HS, Ki MK, van den Berg F, Hwang GS, Park WM, Lee CH, Hong YS. 2008. ¹H nuclear magnetic resonance-based metabolomic characterization of wines by grape varieties and production areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**:8007–8016.
- Sumby KM, Bartle L, Grbin PR, Jiranek V. 2019, March 1. Measures to improve wine malolactic fermentation. Springer Verlag.
- Sun X, Zhang F, Gutiérrez-Gamboa G, Ge Q, Xu P, Zhang Q, Fang Y, Ma T. 2021. Real wine or not? Protecting wine with traceability and authenticity for consumers: chemical and technical basis, technique applications, challenge, and perspectives. Bellwether Publishing, Ltd.
- Swiegers JH, Pretorius IS. 2005. Yeast modulation of wine flavor.
- Tian T, Sun J, Wu D, Xiao J, Lu J. 2021. Objective measures of greengage wine quality: From taste-active compound and aroma-active compound to sensory profiles. *Food Chemistry* **340**. Elsevier Ltd.
- Trabalzini L, Paffetti A, Scaloni A, Talamo F, Ferro E, Coratza G, Bovalini L, Lusini P, Martelli P, Santucci A. 2003. Proteomic response to physiological fermentation stresses in a wild-type wine strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Page Biochem. J.*
- Trinh TTT, Woon WY, Yu B, Curran P, Liu S-Q. 2010. Effect of L-isoleucine and L-phenylalanine Addition on Aroma Compound Formation During Longan Juice Fermentation by a Co-culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Williopsis saturnus*. *Page J. Enol. Vitic.*
- Trufelli H, Palma P, Famiglini G, Cappiello A. 2011, May. An overview of matrix effects in liquid chromatography-mass spectrometry.
- Tuberoso CIG, Congiu F, Serreli G, Mameli S. 2015. Determination of dansylated amino acids and biogenic amines in Cannonau and Vermentino wines by HPLC-FLD. *Food Chemistry* **175**:29–35. Elsevier Ltd.
- Valero E, Millán C, Ortega JM, Mauricio JC. 2003. Concentration of amino acids in wine after the end of fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83**:830–835.
- Varela C, Dry PR, Kutyna DR, Francis IL, Henschke PA, Curtin CD, Chambers PJ. 2015. Strategies for reducing alcohol concentration in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **21**:670–679. Blackwell Publishing Ltd.
- Varela J, Varela C. 2019, April 1. Microbiological strategies to produce beer and wine with reduced ethanol concentration. Elsevier Ltd.
- Versari A, Boulton RB, Parpinello GP. 2008. A comparison of analytical methods for measuring the color components of red wines. *Food Chemistry* **106**:397–402.
- Vilanova M, Martínez C. 2007. First study of determination of aromatic compounds of red wine from *Vitis vinifera* cv. Castañal grown in Galicia (NW Spain). *European Food Research and Technology* **224**:431–436.
- Vitrac X, Monti J-P, Vercauteren J, Deffieux G, Mérillon J-M. 2002. Direct liquid chromatographic analysis of resveratrol derivatives and flavanonols in wines with absorbance and fluorescence detection. *Page Analytica Chimica Acta.*
- Vorster C, Greeff L, Coetzee PP. 2010. The Determination of ¹¹B/ ¹⁰B and ⁸⁷Sr/ ⁸⁶Sr Isotope Ratios by Quadrupole-Based ICP-MS for the Fingerprinting of South African Wine. Johannesburg. Available from <http://journals.sabinet.co.za/sajchem/>.

Wang YQ, Ye DQ, Zhu BQ, Wu GF, Duan CQ. 2014. Rapid HPLC analysis of amino acids and biogenic amines in wines during fermentation and evaluation of matrix effect. *Food Chemistry* **163**:6–15. Elsevier Ltd.

Waterhouse, Gavin, David. 2016. *Understanding Wine Chemistry*. Department of Food Science, New York.

Winstel D, Gautier E, Marchal A. 2020. Role of Oak Coumarins in the Taste of Wines and Spirits: Identification, Quantitation, and Sensory Contribution through Perceptive Interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **68**:7434–7443. American Chemical Society.

8. Seznam použitých zkratk a symbolů

NMR – nukleární magnetická rezonance

SO₂ – oxid siřičitý

pH – záporná dekadický logaritmus

MLF – maloaktická fermentace (jablečno-mléčné kvašení)

FMN – flavinmononukleotid

FAD – flavinadenindinukleotid

NaN₃ – azid sodný

MW – molární hmotnost (molar weight)

KH₂PO₄ – dihydrogenfosforečnan draselný

D₂O – oxid deuteria (těžká voda)

HCl – kyselina chlorovodíková

kDa – kilodalton

AAS – atomová absorpční spektroskopie

NMR – nukleární magnetická rezonance

MS – hmotnostní spektrometrie

UV/Vis – ultrafialová-viditelná spektrofotometrie

IR – infračervená spektrometrie

GC – plynová chromatografie

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

GC-MS – plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem

LC-MS – kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem

ICP-MS – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

HPLC-MS – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem

m/z – poměr hmotnosti k náboji

SDME/GC-MS – jednokapková mikroextrakce s následnou plynovou chromatografií spojená s hmotnostní spektrometrií

SNIF-NMR – místně specifická frakcionace přerozených izotopů s nukleární magnetickou rezonancí

TSP - kyselina 3-trimethylsilylpropionová

DSS – 2,2-dimethyl-2-silapentan-5-sulfonát

ELWIS – Electronic Wine Systém

PCA - Principal Component Ananlysis (analýza hlavních komponent)

PLS-DA - Partial Least Squares Discriminant Analysis (částečná analýza metody nejmenších čtverců)

9. Seznam tabulek

Tabulka 1 Profil struktury a mohutnosti vína (Salon vín ČR).....	19
Tabulka 2 Aromatický profil bílého vína (Salon vín ČR)	19
Tabulka 3 Aromatický profil červeného vína (Salon vín ČR).....	20
Tabulka 4 Kategorizace odebraných vzorků ze soutěže Salonu vín ČR	31
Tabulka 5 Seznam anotovaných sloučenin a jejich chemický posun	33
Tabulka 6 Signifikantní korelace s daným aromatickým profilem u bílých vín	34
Tabulka 7 Signifikantní korelace mezi daným aromatickým profilem u červených vín.....	38

10. Seznam obrázků

Obrázek 1 Metody chemické analýzy vína – přirozená izotopová frakcionace hroznů (Převzato z Sun et al. (2021)).....	22
Obrázek 2 Typické protonové NMR spektrum vína bez suprese vody a ethanolu (Převzato z Solovyev et al. (2021)).....	29
Obrázek 3 Grafy koncentrací sloučenin v závislosti na aromatických profilech bílých vín ...	35
Obrázek 4 Pavučinové grafy aromatických profilů Ryzlinku vlašského a Ryzlinku rýnského	37
Obrázek 5 Pavučinový graf aromatického profilu Ryzlinku rýnského v porovnání s Ryzlinkem vlašským	37
Obrázek 6 Grafy koncentrací sloučenin v závislosti na aromatických profilech červených vín	39
Obrázek 7 Grafy koncentrací sloučenin v závislosti na aromatických profilech červených vín	40
Obrázek 8 Pavučinové grafy aromatického profilu Rulandského modrého a Merlotu	42
Obrázek 9 Pavučinový graf aromatického profilu Rulandského modrého v porovnání s Merlotem	42
Obrázek 10 Analýza hlavních komponent vín kategorizovaných do jednotlivých kategorií dle cukru včetně zbytkového cukru - model s bílými a červenými víny (A) a pouze s červenými víny (B).....	44
Obrázek 11 PLS-DA analýza vín kategorizovaných do jednotlivých kategorií dle cukru včetně zbytkového cukru u bílých vín.....	45
Obrázek 12 PLS-DA analýza vín kategorizovaných do jednotlivých kategorií dle cukru včetně zbytkového cukru u červených i bílých vín	46